

コンを作製した。その結果、J6CF 株の NS3 領域と NS5B から 3'X 領域遺伝子を挿入することにより JFH-1 株の複製能が低下した。さらに、NS3 領域ではヘリカーゼドメインが重要であることがわかった。

さらに JFH-1 株の全長ウイルス遺伝子のキメラウイルスを作成してウイルスゲノム複製だけでなく、ウイルス粒子形成能についても解析した。興味深いことに J6CF 株のコアから NS2 までの主として構造領域遺伝子を JFH-1 へ入れ換えると野生型の JFH-1 株よりも感染性ウイルス粒子産生が増強することがわかった。また、J6CF 株の NS3 ヘリカーゼ領域と NS5B から 3'X 領域遺伝子を、全長 JFH-1 株遺伝子に挿入すると感染性ウイルス粒子の産生を確認できた。NS3 ヘリカーゼ領域はウイルスゲノム複製効率だけでなく、ウイルス粒子産生効率にも関与していた。

#### D. 考察

培養細胞で効率よく複製増殖可能な JFH-1 株とチンパンジーでは感染性があるが、培養細胞では複製しない J6CF 株を比較検討した。その結果、J6CF 株の構造領域遺伝子は感染性ウイルス粒子形成効率が JFH-1 株よりも高いが、J6CF 株の非構造領域遺伝子は培養細胞におけるウイルスゲノム複製能がほとんどなかった。さらに、NS3 ヘリカーゼ領域および NS5B から 3'X 領域遺伝子はその複製能の差に重要であることが明らかとなった。JFH-1 株は劇症肝炎から分離された株であり、J6CF 株は慢性肝炎患者血清をチンパンジーに接種して分離されたウイルス株である。JFH-1 株は

複製増殖能が高いがウイルス粒子形成能が低い。これに対して J6CF 株は複製増殖能が低いがウイルス粒子形成能は高い。

JFH-1 ウイルスをチンパンジーに接種した実験でも感染後、粒子形成を向上させる変異が検出できた。これらの結果から HCV の持続感染化において、ウイルスはその複製能および粒子形成効率を巧みに制御している可能性が示された。

#### E. 結論

JFH-1 株の培養細胞における効率良い増殖には NS3 ヘリカーゼ領域および NS5B から 3'X 領域遺伝子が重要である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Seronello S, Ito C, Wakita T, Choi J. Ethanol enhances hepatitis C virus replication through lipid metabolism and elevated NADH/NAD<sup>+</sup>. J Biol Chem. 2010 285(2):845-54.
- 2) Saeed M, Suzuki R, Kondo M, Aizaki H, Kato T, Mizuochi T, Wakita T, Watanabe H, Suzuki T. Evaluation of hepatitis C virus core antigen assays in detecting recombinant viral antigens of various genotypes. J Clin Microbiol. 2009 47(12):4141-3.
- 3) Angus AG, Dalrymple D, Boulant S, McGivern DR, Clayton RF, Scott MJ, Adair R, Graham S, Owsianka AM, Targett-Adams P, Li K, Wakita T, McLauchlan J, Lemon SM,

- Patel AH. The requirement of cellular DDX3 for Hepatitis C Virus replication is unrelated to its interaction with the viral core protein. *J Gen Virol.* 2010. 91(1):122-32.
- 4) Hara H, Aizaki H, Matsuda M, Shinkai-Ouchi F, Inoue Y, Murakami K, Shoji I, Kawakami H, Matsuura Y, Lai MM, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T. Involvement of creatine kinase B in hepatitis C virus genome replication through interaction with the viral NS4A protein. *J Virol.* 2009 83(10):5137-47.
- 5) Park CY, Jun HJ, Wakita T, Cheong JH, Hwang SB. Hepatitis C virus nonstructural 4B protein modulates sterol regulatory element-binding protein signaling via the AKT pathway. *J Biol Chem.* 2009 284(14):9237-46.
2. 学会発表
- 1) 鈴木亮介、斎藤憲司、安東友美、石井孝司、松浦善治、宮村達男、脇田隆字、鈴木哲朗、C型肝炎ウイルスの *trans*-packaging系を用いたNS2蛋白質の感染性粒子形成における機能解析、日本ウイルス学会第57回学術集会、2008、東京
- 2) 村上裕子、鈴木哲朗、脇田隆字、深澤秀輔、C型肝炎ウイルス(HCV)に対するSERM (Selective Estrogen Receptor Modulator) の作用、日本ウイルス学会第57回学術集会、2008、東京
- 3) 渡邊則幸、村山麻子、赤澤大輔、朝長充則、伊達朋子、加藤孝宣、鈴木哲朗、脇田隆字、HCV E2タンパク質の糖鎖機能の解析、日本ウイルス学会第57回学術集会、2008、東京
- 4) 勝二郁夫、阿部克俊、村上恭子、鈴木哲朗、脇田隆字、宮村達男、小池和彦、堀田博、C型肝炎ウイルス増殖における宿主因子hnRNP H1/H2/Fの役割、日本ウイルス学会第57回学術集会、2008、東京
- 5) 赤澤大輔、森山正樹、尾見法昭、中村紀子、鈴木哲朗、石井孝司、脇田隆字、培養細胞由来HCV粒子ワクチンの免疫による異なる遺伝子型HCV感染阻害活性の誘導、日本ウイルス学会第57回学術集会、2008、東京
- 6) 李天成、武田直和、宮村達男、脇田隆字、培養細胞を用いたE型肝炎ウイルスの安定性の検討、日本ウイルス学会第57回学術集会、2008、東京
- 7) 村山麻子、伊達朋子、赤澤大輔、加藤孝宣、鈴木哲朗、豊田哲也、脇田隆字、C型肝炎ウイルスの複製増殖に関するウイルス遺伝子領域の検討関与するウイルス遺伝子変異および遺伝子構造の解析、日本ウイルス学会第57回学術集会、2008、東京
- H. 知的所有権の出願・取得状況
1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 分担研究報告書

# マウスモデルを用いた変異型C型肝炎ウイルスの研究

研究分担者

茶山 一彰 広島大学大学院分子病態制御内科学

研究要旨： Genotype 1b型の急性重症C型肝炎患者の血清より HCV 全長クローン(HCV KT9)をクローニングした。このHCV KT9はコア領域のaa 70およびaa 91にそれぞれR70QおよびL91Mのアミノ酸変異を認め(Core-Mutant), ISDRには変異を認めなかった。このクローンのコア領域のaa 70およびaa 91を野生型にもどしたクローン(Core-Wild),あるいはISDRに4個の変異を挿入したクローンを作製し,ヒト肝細胞キメラマウスの肝臓内に投与し, HCV感染を惹起した。Core-MutantとCore-WildではHCV感染成立率,マウス血中HCV RNA量およびインターフェロン投与後の血中HCV RNA減少量は同程度であった。一方, ISDR領域に変異を挿入することにより,有意に感染成立率は低下した。ISDRはHCVの感染に何らかの重要な役割を担っていることが示唆された。

### A. 研究目的

HCVクローンの投与により,モノクローナルなHCVを感染させたマウスモデルを用いて, HCVコア領域70, 91番目のアミノ酸変異およびISDRの変異がウイルス複製能およびインターフェロン(IFN)感受性にどのように影響するかを明らかにする。

### B. 研究方法

Genotype 1b型の急性重症C型肝炎患者の血清よりHCV全長(HCV KT9)をクローニングした。このHCV KT9はコア領域のaa 70およびaa 91にそれぞれR70QおよびL91Mのアミノ酸変異を認めた。一方, NS5AのISDRには変異を認めなかった。KT9クローン(Core-Mutant)あるいはコア領域のaa 70およびaa 91のアミノ酸変異を野生型のもどしたクロー

ーン(Core-Wild),あるいはISDRに4個の変異を挿入したクローンを作製した。全長cDNAを挿入したplasmidより, *in vitro* transcription法によりRNAを合成し, 30  $\mu$ gのRNAをヒト肝細胞キメラマウスの肝臓内に直接注入し, 感染成立率, 血中HCV RNA量, さらに1000 IU/gのIFN- $\alpha$ を2週間連日投与し, HCV RNAの減少量を比較検討した。

### C. 研究結果

Core-MutantおよびCore-Wildの投与による感染成立(real-time PCRにて血中HCV RNAが定量可能)率は93%(26頭/28頭) vs 94%(16頭/17頭)であり同程度であった。感染が成立したマウスでの血中HCV RNAも

同程度であった。Core-Mutant感染マウスおよびCore-Wild感染マウスでのIFN- $\alpha$ の2週間投与による血中HCV RNA低下量は、 $-1.9 \log$  vs  $-1.8 \log$  (ヒト肝細胞A移植マウス)および  $-0.8 \log$  VS  $-0.9 \log$  (ヒト肝細胞B移植マウス)であり、同程度のIFN感受性を示した。一方、ISDRに4個の変異を挿入したクローンは野生型に比べ、感染成立率が著明に低下した。

#### D. 考察

Coreの野生型および変異型では感染成立、ウイルス複製、IFN感受性において同程度であった。臨床的に見られるCore変異とPegIFN/リバビリン併用療法における治療効果の違いは、何らかの他の原因が関与しているものと思われた。また、HCVのISDRは感染に何らかの重要な役割を担っていることが示唆された。

#### E. 結論

種々の変異を挿入した変異クローンを用いて、変異HCV感染マウスの作成が可能であり、これらのシステムを用いて、変異ウイルスの生物学的特徴および抗ウイルス剤の治療効果の検討が可能である。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Noda I, Kitamoto M, Nakahara H, Hayashi R, Okimoto T, Monzen Y, Yamada H, Imagawa M, Hiraga N, Tanaka J, Chayama K. Regular surveillance by imaging for early

detection and better prognosis of hepatocellular carcinoma in patients infected with hepatitis C virus. *J Gastroenterol*2009.45:105-112

*Gastroenterol*2009.45:105-112

- 2) Hiraga N, Imamura M, Hatakeyama T, Kitamura S, Mitsui F, Tanaka S, Tsuge M, Takahashi S, Abe H, Maekawa T, Ochi H, Tateno C, Yoshizato K, Wakita T, Chayama K. Absence of viral interference and different susceptibility to interferon between hepatitis B virus and hepatitis C virus in human hepatocyte chimeric mice. *J Hepatol*2009.51(6):1046-54
- 3) Ohira M, Ishiyama K, Tanaka Y, Doskali M, Igarashi Y, Tashiro H, Hiraga N, Imamura M, Sakamoto N, Asahara T, Chayama K, Ohdan H. Adoptive immunotherapy with liver allograft-derived lymphocytes induces anti-HCV activity after liver transplantation in humans and humanized mice. *J Clin Invest*2009.119(11):3226-35
- 4) Abe H, Ochi H, Maekawa T, Hatakeyama T, Tsuge M, Kitamura S, Kimura T, Miki D, Mitsui F, Hiraga N, Imamura M, Fujimoto Y, Takahashi S, Nakamura Y, Kumada H, Chayama K. Effects of structural variations of APOBEC3A and APOBEC3B genes in chronic hepatitis B virus infection. *Hepatol Res*2009.39(12):1159-68
- 5) Shindo M, Chayama K, Mochida S, Toyota J, Tomita E, Kumada H, Yokosuka O, Sata M, Hayashi N, Suzuki K, Okanoue T, Tsubouchi H, Ishikawa H, Seriu T, Omata M. Antiviral activity, dose-response relationship, and safety of entecavir

- following 24-week oral dosing in nucleoside-naive Japanese adult patients with chronic hepatitis B: a randomized, double-blind, phase II clinical trial. *Hepatol Int* 2009.3:445-52
- 6) Kodama H, Aikata H, Takaki S, Azakami T, Katamura Y, Kawaoka T, Hiramatsu A, Waki K, Imamura M, Kawakami Y, Takahashi S, Toyota N, Ito K, Chayama K. Evaluation of portosystemic collaterals by MDCT-MPR imaging for management of hemorrhagic esophageal varices. *Eur J Radiol* 2009. In press.
- 7) Okanoue T, Itoh Y, Hashimoto H, Yasui K, Minami M, Takehara T, Tanaka E, Onji M, Toyota J, Chayama K, Yoshioka K, Izumi N, Akuta N, Kumada H. Predictive values of amino acid sequences of the core and NS5A regions in antiviral therapy for hepatitis C: a Japanese multi-center study. *J Gastroenterol* 2009.44(9):952-63
- 8) Tahara H, Tanaka Y, Ishiyama K, Ide K, Shishida M, Irei T, Ushitora Y, Ohira M, Banshodani M, Tashiro H, Itamoto T, Asahara T, Imamura M, Takahashi S, Chayama K, Ohdan H. Successful hepatitis B vaccination in liver transplant recipients with donor-specific hyporesponsiveness. *Transpl Int*. 2009.22(8):805-13.
- 9) Yotsuyanagi H, Kikuchi Y, Tsukada K, Nishida K, Kato M, Sakai H, Takamatsu J, Hige S, Chayama K, Moriya K, Koike K. Chronic hepatitis C in patients co-infected with human immunodeficiency virus in Japan: a retrospective multicenter analysis. *Hepatol Res* 2009.39(7):657-63
- 10) Kawaoka T, Aikata H, Takaki S, Katamura Y, Hiramatsu A, Waki K, Takahashi S, Hieda M, Toyota N, Ito K, Chayama K. Transarterial infusion chemotherapy using cisplatin-lipiodol suspension with or without embolization for unresectable hepatocellular carcinoma. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2009.32(4):687-94
- 11) Noguchi C, Imamura M, Tsuge M, Hiraga N, Mori N, Miki D, Kimura T, Takahashi S, Fujimoto Y, Ochi H, Abe H, Maekawa T, Tateno C, Yoshizato K, Chayama K. G-to-A hypermutation in hepatitis B virus (HBV) and clinical course of patients with chronic HBV infection. *J Infect Dis* 2009.1;199(11):1599-607
- 12) Nabeshima Y, Tazuma S, Kanno K, Hyogo H, Chayama K. Deletion of angiotensin II type I receptor reduces hepatic steatosis. *J Hepatol*. 2009.50(6):1226-35.
- 13) Matsumura T, Hu Z, Kato T, Dreux M, Zhang YY, Imamura M, Hiraga N, Juteau JM, Cosset FL, Chayama K, Vaillant A, Liang TJ. Amphipathic DNA Polymers Inhibit Hepatitis C Virus Infection by Blocking Viral Entry. *Gastroenterology* 2009.137(2):673-81
- 14) Kamatani Y, Wattanapokayakit S, Ochi H, Kawaguchi T, Takahashi A, Hosono N, Kubo M, Tsunoda T, Kamatani N, Kumada H, Puseenam A, Sura T, Daigo Y, Chayama K, Chantratita W, Nakamura Y, Matsuda K. A genome-wide association study identifies

- variants in the HLA-DP locus associated with chronic hepatitis B in Asians. *Nat Genet* 2009.41(5):591-5.
- 15) Katamura Y, Aikata H, Takaki S, Azakami T, Kawaoka T, Waki K, Hiramatsu A, Kawakami Y, Takahashi S, Kenjo M, Toyota N, Ito K, Chayama K. Intra-arterial 5-fluorouracil/interferon combination therapy for advanced hepatocellular carcinoma with or without three-dimensional conformal radiotherapy for portal vein tumor thrombosis. *J Gastroenterol.* 2009.44(5):492-502
- 16) Mitsui F, Aikata H, Azakami T, Katamura Y, Kimura T, Kawaoka T, Saneto H, Takaki S, Hiraga N, Tsuge M, Waki K, Hiramatsu A, Imamura M, Kawakami Y, Takahashi S, Arihiro K, Chayama K. The first Japanese case of COACH syndrome. *Hepatol Res.* 2009.39(3):318-23.
- 17) Tsuji K, Kawakami Y, Aimitsu S, Kohno H, Aisaka Y, Kimura S, Nagata S, Ohgoshi H, Kitamoto M, Hidaka T, Kawakami H, Nakanishi T, Chayama K. Predicting the response to 48-week combination therapy with peginterferon alpha-2b plus ribavirin from the estimated HCV RNA load index after negative serum change in genotype 1b hepatitis C patients. *Hepatol Res.* 2009.39(6):531-8
- 18) Mori N, Imamura M, Kawakami Y, Saneto H, Kawaoka T, Takaki S, Aikata H, Takahashi S, Chayama K; Hiroshima Liver Study Group. Randomized trial of high-dose interferon-alpha-2b combined with ribavirin in patients with chronic hepatitis C: Correlation between amino acid substitutions in the core/NS5A region and virological response to interferon therapy. *J Med Virol.* 2009.81(4):640-9.
- 19) Tsukada H, Ochi H, Maekawa T, Abe H, Fujimoto Y, Tsuge M, Takahashi H, Kumada H, Kamatani N, Nakamura Y, Chayama K. the Hiroshima Liver Study Group, and Toranomon Hospital. A Polymorphism in MAPKAPK3 Affects Response to Interferon Therapy for Chronic Hepatitis C. *Gastroenterology.* 2009.136(5):1796-805
- 20) Kawaoka T, Aikata H, Takaki S, Uka K, Azakami T, Saneto H, Jeong SC, Kawakami Y, Takahashi S, Toyota N, Ito K, Hirokawa Y, Chayama K. FDG positron emission tomography/computed tomography for the detection of extrahepatic metastases from hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res.* 2009.39(2):134-42.
- 21) Katamura Y, Aikata H, Kimura Y, Azakami T, Kawaoka T, Takaki S, Waki K, Hiramatsu A, Kawakami Y, Takahashi S, Chayama K. Successful treatment of pulmonary metastases associated with advanced hepatocellular carcinoma by systemic 5-fluorouracil combined with interferon-alpha in a hemodialysis patient. *Hepatol Res.* 2009.39(4):415-20.
- 22) Ohira M, Ishifuro M, Ide K, Irei T, Tashiro H, Itamoto T, Ito K, Chayama K, Asahara T, Ohdan H. Significant correlation between spleen volume and thrombocytopenia in liver transplant patients: a concept for predicting

- persistent thrombocytopenia. Liver Transpl. 2009.15(2):208-15.
- 23) Kodama H, Aikata H, Takaki S, Takahashi S, Toyota N, Ito K, Chayama K. Evaluation of patients with esophageal varices after endoscopic injection sclerotherapy using multiplanar reconstruction MDCT images. AJR Am J Roentgenol. 2009.192(1):122-30.
2. 学会発表
- 1) 茶山一彰. Professor of Research, BCLC Group. Liver Unit, IDIBAPS, Barcelona Josep M Llovet, MDHCC update Seminar Boston 2009
- 2) 茶山一彰. C型慢性肝炎治療の最前線～次世代の治療薬を見据えて～JDDW 2009 Kyoto サテライトシンポジウム京都2009
- 3) 茶山一彰. ヒト肝細胞キメラマウスを用いた治療抵抗性の肝炎に関する研究第27回 犬山シンポジウム「C型肝炎」愛知2009
- 4) Katamura Y, Aikata H, Kimura Y, Kawaoka T, Takaki S, Waki K, Hiramatsu A, Kawakami Y, Takahashi S, Chayama K. INTRAARTERIAL 5-FLUOROURACIL/INTERFERON COMBINATION THERAPY FOR HEPATOCELLULAR CARCINOMA WITH PORTAL VEIN TUMOR THROMBOSIS AND EXTRAHEPATIC METASTASES 3rd International Kobe Liver Symposium on HCC with a JSH-ILCA Joint Scientific Session 神戸市2009
- 5) Waki K, Aikata H, Nagaoki Y, Kimura Y, Hashimoto Y, Katamura Y, Kawaoka T, Takaki S, Hiramatsu A, Takahashi S, Chayama K. PERCUTANEOUS RADIOFREQUENCY ABLATION FOR RECURRENT HEPATOCELLULAR CARCINOMA AFTER CURATIVE TREATMENT: RESULTS AND PROGNOSTIC FACTORS ON LONG-TERM FOLLOW-UP 3rd International Kobe Liver Symposium on HCC with a JSH-ILCA Joint Scientific Session 神戸市2009
- 6) Takaki S, Aikata H, Nagaoki Y, Kimura Y, Hashimoto Y, Katamura Y, Kawaoka T, Hiramatsu A, Waki K, Takahashi S, Chayama K. THE USEFULNESS OF SONAZOID CONTRAST-ENHANCED ULTRASONOGRAPHY FOR GROSS CLASSIFICATION OF HEPATOCELLULAR CARCINOMA 3rd International Kobe Liver Symposium on HCC with a JSH-ILCA Joint Scientific Session 神戸市2009
- 7) Hiramatsu A, Aikata H, Nagaoki Y, Kimura Y, Hashimoto Y, Katamura Y, Kawaoka T, Takaki S, Waki K, Takahashi S, Chayama K. ANALYSIS OF CLINICAL FEATURES OF PATIENTS WITH HEPATOCELLULAR CARCINOMA SURVIVING MORE THAN 10 YEARS 3rd International Kobe Liver Symposium on HCC with a JSH-ILCA Joint Scientific Session 神戸市2009
- 8) 石田友希, 兵庫秀幸, 鍋島由宝, 石飛朋和, 長沖祐子, 橋本義政, 片村嘉男, 高木

- 慎太郎, 脇 浩司, 平松 憲, 相方 浩, 高橋祥一, 茶山一彰. 非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH)の拾い上げに糖代謝異常が重要である可能性について第91回日本消化器病学会中国支部例会岡山市2009
- 9) 橋本義政, 川上由育, 長沖祐子, 石田友希, 横山聡栄, 片村嘉男, 光井富貴子, 河岡友和, 實藤宏美, 石飛朋和, 鍋島由宝, 平賀伸彦, 相方 浩, 高橋祥一, 茶山一彰. C型肝癌根治後のPegIFN  $\alpha$  2a 少量長期投与の可能性第91回日本消化器病学会中国支部例会岡山市2009
- 10) 平松 憲, 相方 浩, 茶山一彰. 肝細胞癌長期生存例の検討第91回日本消化器病学会中国支部例会岡山市2009
- 11) 平松 憲, 高橋祥一, 石田友希, 片村嘉男, 河岡友和, 高木慎太郎, 柘植雅貴, 脇 浩司, 今村道雄, 川上由育, 兵庫秀幸, 相方 浩, 田代裕尊, 板本敏行, 大段秀樹, 茶山一彰. 当院で治療した急性肝不全患者50例の成因と予後第45回日本肝臓学会総会神戸市2009
- 12) 脇 浩司, 相方 浩, 石田友希, 片村嘉男, 阿座上隆広, 河岡友和, 高木慎太郎, 平松 憲, 今村道雄, 川上由育, 高橋祥一, 茶山一彰. 肝細胞癌根治療法後の初回再発癌に対するRFA の治療成績第45回日本肝臓学会総会神戸市2009
- 13) 石飛朋和, 兵庫秀幸, 山岸昌一, 竹内正義, 石田友希, 鍋島由宝, 茶山一彰. 非アルコール性脂肪性肝炎の臨床病態と AGE-RAGE axis の関連性第45回日本肝臓学会総会神戸市2009
- 14) 光井富貴子, 柘植雅貴, 河岡友和, 實藤宏美, 畠山 剛, 北村正輔, 平賀伸彦, 今村道雄, 川上由育, 相方 浩, 高橋祥一, 茶山一彰. B型慢性肝疾患における Lamivudine, Adefovir 併用療法の治療効果と薬剤血中濃度との関連性の検討第45回日本肝臓学会総会神戸市2009
- 15) 片村嘉男, 相方 浩, 石田友希, 阿座上隆広, 河岡友和, 高木慎太郎, 脇 浩司, 平松 憲, 川上由育, 高橋祥一, 茶山一彰. 肝外転移合併肝細胞癌に対するTS-1/CDDP併用療法第45回日本肝臓学会総会神戸市2009
- 16) 河岡友和, 相方 浩, 石田友希, 片村嘉男, 阿座上隆広, 高木慎太郎, 平松 憲, 脇 浩司, 今村道雄, 川上由育, 高橋祥一, 茶山一彰. 肝細胞癌に対するシスプラチン/リピオドールを用いた経カテーテル的肝動脈化学塞栓術において, アナフィラキシー症状を起こした症例の検討第45回日本肝臓学会総会神戸市2009
- 17) 大石和佳, 林 奉権, 楠洋一郎, 藤原佐枝子, 茶山一彰. C型肝炎ウイルスのクリアランスと感染持続における HLA-DRB1 対立遺伝子の影響第45回日本肝臓学会総会神戸市2009
- 18) 畠山 剛, 柘植雅貴, 阿部弘美, 北村正輔, 光井富貴子, 平賀伸彦, 今村道雄, 川上由育, 相方 浩, 高橋祥一, 茶山一彰. C型慢性肝炎患者血清中の欠損型 HCV ゲノムの同定とその臨床的意義の解析第45回日本肝臓学会総会神戸市2009
- 19) 阿座上隆広, 川上由育, 石田友希, 片村嘉男, 河岡友和, 實藤宏美, 平松 憲,



- 脇 浩司, 相方 浩, 高橋祥一, 有広光司, 大段秀樹, 茶山一彰. 肝癌組織における fluorouracil 関連遺伝子の検討第45回日本肝臓学会総会神戸市2009
- 20) 平賀伸彦, 今村道雄, 岩尾英治, 柘植雅貴, 光井富貴子, 河岡友和, 實藤宏美, 高橋祥一, 茶山一彰. HCV感染マウスを用いたTelaprevir の抗ウイルス効果の検討第45回日本肝臓学会総会神戸市2009
- 21) 相方 浩, 児玉英章, 片村嘉男, 河岡友和, 阿座上隆広, 高木慎太郎, 平松憲, 脇 浩司, 今村道雄, 川上由育, 高橋祥一, 茶山一彰. 食道静脈瘤患者のマネージメントにおけるMDCTによる門脈系再構築画像の有用性第45回日本肝臓学会総会神戸市2009
- 22) 高橋祥一, 河岡友和, 茶山一彰. 慢性肝疾患に対する生体肝移植後の効果的な抗ウイルス療法と術後胆管狭窄に対する対策第45回日本肝臓学会総会神戸市2009
- 23) 柘植雅貴, 高橋祥一, 高木慎太郎, 石田友希, 片村嘉男, 阿座上隆広, 河岡友和, 實藤宏美, 光井富貴子, 平賀伸彦, 平松 憲, 脇 浩司, 今村道雄, 川上由育, 兵庫秀幸, 相方 浩, 茶山一彰. HBs抗体に対するescape mutant の出現とその解析第45回日本肝臓学会総会神戸市2009
- 24) 阿部弘美, 越智秀典, 前川敏郎, 藤本佳史, 柘植雅貴, 今村道雄, 平賀伸彦, 高橋祥一, 茶山一彰. APOBEC3B遺伝子の欠失多型がB型肝炎ウイルスの持続感染と病態に及ぼす影響第45回日本肝臓学会総会神戸市2009
- 25) 茶山一彰, 今村道雄, 高橋祥一. 治療方針のコンセンサス第45回日本肝臓学会総会神戸市2009
- 26) 今村道雄, 平賀伸彦, 茶山一彰. HCVCore, ISDRのアミノ酸変異とPEG-IFN+リバビリン療法の治療成績およびHCV感染モデルマウスを用いたウイルス学的検討第45回日本肝臓学会総会神戸市2009
- 27) 児玉英章, 相方 浩, 阿座上隆広, 片村嘉男, 河岡友和, 高木慎太郎, 平松憲, 脇 浩司, 今村道雄, 川上由育, 高橋祥一, 茶山一彰. 当科における食道静脈瘤破裂の治療成績と標準化に向けた治療方針第77回 日本消化器内視鏡学会総会名古屋市2009
- 28) Tsuge M, Chayama K, Shindo M, Toyota J, Mochida S, Tomita E, Kumada H, Yamada G, Yatsunami H, Sata M, Yokosuka O, Hayashi N, Ishikawa H, Seriu T, Omata M. Evaluation of long-term entecavir(ETV)treatment in chronic hepatitis B (CHB)patients swiched from 24 weeks lamivudine(LVD)therapyAPASL 2009
- 29) 兵庫秀幸, 田妻 進, 茶山一彰. 非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) の診断・経時的変化に終末糖化産物が有用である可能性について第95回日本消化器病学会総会札幌市2009
- 30) 河岡友和, 高橋祥一, 茶山一彰. 生体肝移植後のウイルス肝炎に対する治療第95回日本消化器病学会総会札幌市2009
- 31) 平松 憲, 相方 浩, 茶山一彰. B型肝炎癌根治治療後の核酸アナログ投与による肝癌再発抑制効果の検討第95回日本消

化器病学会総会札幌市2009

32) 川上由育, 高橋祥一, 茶山一彰. PEG-IFN $\alpha$ -2b/Ribavirin併用療法におけるHCV core抗体価比を指標とした治療期間の設定第95回日本消化器病学会総会札幌市2009

33) 柘植雅貴, 今村道雄, 茶山一彰.in vitro, in vivoモデルを用いた核酸アナログに対するHBVの抗ウイルス効果の検討第95回日本消化器病学会総会札幌市2009

34) 相方 浩, 片村嘉男, 茶山一彰.進行肝細胞癌に対するIFN併用5FU肝動注療法における、門脈腫瘍栓への3次元体放射線照射併用の意義第95回日本消化器病学会総会札幌市2009

3.その他

なし

H. 知的所有権の出願・取得状況

1.特許取得

特願2008-305643)インターフェロン療法の効果予測用マーカーおよびインターフェロン作用増強剤のスクリーニング方法

(特願2006-167871) 発明の名称 HCVの治療剤または予防剤

(特開平05-337000、特許番号2869759)C型肝炎ウイルスの検査方法および それに用いるプライマーセット

2.実用新案登録

なし

## 分担研究報告書

### B, C, E型肝炎の疫学, 免疫学, 亜細亜との共同研究に関する研究

研究分担者

アクバル シェイクモハマドファズレ 東芝病院研究部主任研究員

研究要旨：亜細亜の開発途上国では肝炎ウイルス、特にB型肝炎ウイルスが蔓延しており、また、B型肝炎ウイルスやC型肝炎ウイルスとHIVの共感染が広がっており、これは非常に大きな医療問題かつ社会問題となっている。しかし、これらの問題の実態は明らかになっておらず、また予防や治療も適切に行われていない。この主要な原因の一つとして、先進国が提案した医療がそのまま亜細亜の開発途上国で行われていることがある。先進国の提案する医療は、先進国の社会、経済、医療状況に基づいたものであるため、開発途上国の医療状況に完全に適応することができず、あまり効果をあげていない。そのため、亜細亜の開発途上国におけるウイルス肝炎の蔓延の実態が先進国の状況とは異なることを現地での臨床と基礎実験によって明らかにし、亜細亜の開発途上国の社会、経済、医療状況に適したウイルス肝炎の予防と治療を開発する必要がある。今回の研究では、亜細亜におけるウイルス肝炎の実態を調査し、また、その調査により亜細亜の開発途上国の病態の特徴を分析した。また、HBs抗原とHBc抗原のワクチンにて、B型慢性肝炎患者に対して新しい免疫治療を行い、このワクチンのB型慢性肝炎に対する安全性と有効性の確認を試みた。

#### A. 研究目的

開発途上国の実情を念頭に置いた新規治療法の開発、及び新ガイドラインの作成。

#### B. 研究方法

1. バングラデシュにおける702人の無症候性HBVキャリア（＝出国前検査等で偶発的にHBsAg-positiveが判明した健康人）と、141人の非活動性慢性B型肝炎患者について、血中のHBV DNA、HBe抗原、ALT、及び病理像（肝組織の炎症と繊維化）を検討。
2. アメリカ肝臓学会が推奨するALT新基

準（正常範囲：男性30 U/L以下、女性19 U/L以下）がバングラデシュに於いても有用か否かを、病理所見の得られた255人の無症候性B型肝炎ウイルスキャリアで検討。

3. インドネシアにおけるHIVとHBV/HCVの混合感染の疫学的検討。
4. HBV-transgenic mouse に対するHBs/HBc-conjugate vaccineと樹状細胞を用いた免疫治療の基礎的検討。
5. 肥満マウスを用いた予防ワクチン有効性の検討。

6. バングラデシュにおける HBs/HBc-conjugate vaccine (nasal vaccine と parenteral vaccine)の安全性と治療効果の phase I 臨床治験。

#### (倫理面の配慮)

バングラデシュとインドネシアにおける全ての臨床研究において、現地の共同研究の責任者を通じて、現地の大学、病院の倫理委員会により研究の許可を得、また患者に対して研究、治療に伴う危険性の説明を行い、患者から研究、治療を行うことの了承を得ている。日本における動物実験の際には、実験を行う大学側に実験計画を提出し、実験の許可を得て実験を行っている。以上のことから倫理面の問題がないと判断している。

#### C. 研究結果

1. バングラデシュにおける 702 人の無症候性 HBV キャリアの 91%が HBV DNA の血中濃度  $> 10^5$ /ml であり、49%が ALT 値  $>$  正常上限であり、10%は ALT 値  $>$  正常上限二倍値であり、組織学的には 18%に中等度の炎症、22%に高度の繊維化を認めた。また、従前「非活動性肝炎」と診断されていた 141 人の患者に於いても、25%に中等度の炎症、12%に高度の繊維化を認めた。

2. アメリカ肝臓学会の勧める ALT の新基準 (正常範囲: 男性 30 U/L 以下、女性 19 U/L 以下) に従ってバングラデシュの B 型慢性肝炎患者を「low ALT」と「high ALT」に二分割し、組織学的所見 (HAI score) との相関をみたところ、

二群の間には HAI-NI も HAI-F も有意差が存在しなかった。例えば HAI-NI  $\geq 9$  and HAI-F  $\geq 3$  は「low ALT」83 例中の 5 例 (6.0%) vs 「high ALT」172 例中の 9 例 (5.2%) で有意差なし。

3. インドネシアにおいて、一般集団の中では HBV 感染者 (2-8%) が HCV 感染者 (1-2%) より多いが、我々がロンボク島で行った研究によれば、HIV との co-infection の場合は HCV の方が HBV より遥かに高率であった (51% vs 12%)。Phylogenetic analysis の結果から、同地域に於ける HCV と HIV の混合感染の原因として、麻薬使用時の同一注射器の複数回使用が考えられた。
4. HBs 抗原と HBc 抗原を共に含む HBs/HBc 複合ワクチンは HBs 単独ワクチンに較べて HBV-TM に対する治療効果が高かった。また HBs/HBc 複合ワクチンでパルスした樹状細胞は、HBV-TM の脾臓と肝臓内に、HBV に対する強力な細胞性免疫 (CTL) と疫性免疫 (抗 HBs 抗体) を誘導した。
5. 肥満マウスでは予防ワクチンの効果が通常のマウスに比べて低かった。原因として、肥満型マウスの樹状細胞の抗原生成機能と抗原提示機能の低下が考えられた。
6. バングラデシュにおける phase I 臨床治験において、全ての患者に対して HBs/HBc 複合ワクチンの安全性が確認された。結果として 33%の患者に HBV DNA の陰性化がみられた。また、90%以上の患者に HBs と HBc 抗原特異的な免

疫反応がみられた。

#### D. 考察

世界で4億人の慢性B型肝炎キャリアがいる中でそのおよそ7-8割が亜細亜の開発途上国に集中している。B型肝炎の予防・治療に関しては先進国によってガイドラインが示されているが、先進国のガイドラインは開発途上国の社会、経済、医療状況に適していない。亜細亜の開発途上国のB型肝炎患者は貧しく、また、医療保険制度が整っていないため、先進国のガイドラインに基づいた治療を受けることが困難である。2009年9月米国のポートランドで行われたUS-Japan Joint AIDS-Hepatitis Meetingで行われた亜細亜の12カ国の代表者の発表によって、このことが明らかにされた。先進国のガイドラインではB型肝炎治療には抗ウイルス剤の投与と継続的な経過観察が推奨されている。しかし、抗ウイルス剤は高価で副作用に対する継続的な経過観察を必要とするため、開発途上国で用いることは困難である。また、どのような患者に治療を施すべきか、あるいは治療を必要とする患者にいかにして治療を受けさせるかということが亜細亜の開発途上国では見極められていない。

今回我々の研究により、開発途上国に無症候性のB型肝炎キャリアや非活動性のB型肝炎キャリアが多く存在し、また多くのキャリアが自らの感染に気づいていないということが明らかとなった。また、HIVとB,C型肝炎ウイルスの混合感染の疫学、分子学的な検討から、麻薬の使用など社会的問題も提起された。さらに多くの患者が感

染に気付いていないため、今後も感染の拡大が予想される。これらの現状を踏まえ、今回、バングラデシュでのphase I臨床試験において、安全性と有効性が確認されたHBs抗原とHBc抗原を含んだワクチン療法には、大きな期待が寄せられる。まず、安価であり、貧困層も含めた大勢に対し治療を施すことができる。さらに高い有効性を示している。これらのことから引き続きバングラデシュでの免疫治療のphase II、IIIを行っていくことが重要だと考える。

#### E. 結論

開発途上国に対する独自の疫学的な調査や病態の解明と新治療法を開発することによって、開発途上国のB型肝炎の広がりや患者のB型肝炎の進行を食い止められる。またこの研究を継続していくことにより、この研究が開発途上国において他の肝炎ウイルスに対する臨床研究や臨床試験につながってゆくと考える。

#### F. 健康危険情報 通報せず。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

##### 1) Akbar SM, Hiasa Y, Mishiro S, Onji M.

Treatment of hepatitis B virus-infected patients: utility of therapeutic recommendations in developing countries. Expert Opin Pharmacother 2009;10:1605-1614

##### 2) Akbar SM. Meeting Report: United States-Japan Cooperative Medical Science Program

- (USJCMPS) US-Japan Joint AIDS-Hepatitis Meeting Report, Portland, OR, USA, September 19-21, 2009. Kanzo 2009;50:681-682
- 3) Khan SI, Akbar SM, Hossain ST, Mahtab MA. Swine influenza (H1N1) pandemic: developing countries' perspective. Rural Remote Health 2009;9:1-4
- 4) Akbar SM, Khan MS, Mishiro S. Chronic microbial infection; manipulation of host immunity as interventional approach. Bangladesh Liver Journal 2009;1:13-19
2. 学会発表
- 1) Akbar SM, Al-Mahtab M, Aguilar JC, Onji M, Mishiro S. Hepatitis B vaccine; beyond commercial adjuvants, prophylactic antigens, and traditional route of administration. 8<sup>th</sup> Single Topic Conference — Japan Society of Hepatology “HBV in Asia”. Tokyo, Japan. November 21-22, 2009
- 2) Akbar SM and Hoff R. Socio-economic influences on the prevailing epidemiology of co-infection in Asia and Session Summary. US-Japan Joint AIDS-Hepatitis Meeting, Portland, OR, USA, Sept 19-21, 2009
- 3) Achwan WA, Mulyanto, Sumoharjo S, Akbar SM, Takahashi K, Abe N, Mishiro S. HIV and hepatitis B co-infection in Indonesia. US-Japan Joint AIDS-Hepatitis Meeting, Portland, OR, USA, Sept 19-21, 2009
- 4) Akbar SM. Traditional and emerging therapies against hepatitis B: Relevance in China and also in other developed and developing countries. Summit Forum on Digestive Diseases. Changchun, Jinlin, China. August 8-9, 2009
- 5) Mahtab MA, Rahman S, Akbar SM, Karim MF, Shrestha A, Khan M, Kamal M. High Viral Load Does Not Necessarily Represent Significant Liver Damage in Patients with Chronic HBV Infection in Bangladesh. 19<sup>th</sup> Conference of the Asian Pacific association for the Study of the Liver, Hong Kong, February 13-16, 2009
- 6) Mahtab MA, Rahman S, Akbar SM, Karim MF, Shrestha A, Khan M, Kamal M. Profile of HBeAg +ve Chronic HBV Infection in Bangladesh. 19<sup>th</sup> Conference of the Asian Pacific association for the Study of the Liver, Hong Kong, February 13-16, 2009
- H. 知的所有権の出願・取得状況
1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 分担研究報告書

### 包括的遺伝子発現評価を用いたB, C型ウイルス肝炎に関する研究

研究分担者

金子 周一 金沢大学 教授

研究要旨：B型慢性肝炎、C型慢性肝炎、関連肝細胞がんにおける発現遺伝子、micro-RNAを包括的に解析し、慢性肝炎および肝細胞がんの病態と発現遺伝子との関連を明らかにした。肝炎ウイルスの感染後に引き起こされるmicro-RNAの変動は、B型およびC型で大きく異なり、この変動は培養細胞においても臨床材料においても確認された。Micro-RNAの変動と発現遺伝子の変動は良く相関していた。慢性肝炎から肝細胞がんに至る変動はmicro-RNAにおいても認められ、この変動が発現遺伝子の変動と相関していた。こうした発現遺伝子の変動は肝細胞がんにおいても認められるが、肝細胞がんでは予後と関連して発現遺伝子プロファイルが大きく異なっていた。予後の悪い肝細胞がんでは特徴的な遺伝子の発現が認められ、がん幹細胞との関連も示唆された。

#### A. 研究目的

アジアに蔓延するB型肝炎(HBV)およびC型肝炎ウイルス(HCV)感染症を制御する為、肝炎ウイルスおよび宿主が発現する遺伝子を包括的に解析し、その病態を発現遺伝子の観点から理解するとともに、診断、治療および予防の標的とする遺伝子および分子経路を明らかにする。

#### B. 研究方法

BおよびC型の慢性肝炎、肝硬変および関連する肝細胞がんを対象とする。培養細胞、実験動物系、ヒト臨床材料より核酸を抽出しreal time PCR, DNA chipを始めとする解析を行う。臨床情報と合わせ包括的に各種の情報を解析し、遺伝子の変化、ネットワークの変化と、病態との関連を解析する。

(倫理面の配慮)

関連する各種の倫理指針を遵守する。研

究は該当する委員会の承認を受けて実施する。

#### C. 研究結果

我々はB型およびC型慢性肝炎では、発現する遺伝子が両者において大きく異なることを報告してきた。本研究では、発現遺伝子プロファイルが異なる原因を明らかにするため、遺伝子の発現に関与すると考えられるmicro-RNAについて包括的な解析を行った。B型およびC型慢性肝炎では、micro-RNAの発現プロファイルも大きく異なっていることが明らかにされ、この変動と発現遺伝子の変動が密接に関連していることを示した。また、ウイルス感染系の培養細胞におけるmicro-RNAの変動は臨床材料における変動と良く相関しており、慢性肝炎ではウイルス感染によってmicro-RNA

が変動することが示された。さらに、慢性肝炎から肝細胞がんになると、変動する micro-RNA が異なることから、肝病変の進行と相関する micro-RNA の存在が示された。

また、ヒト肝細胞がんの解析から、肝細胞がんの進行にいたる経過においては肝細胞の代謝経路が大きく変動しており、脂質代謝の変化と発がんとの関連が示された。

とくに肝細胞がんにおける発現プロファイルを解析すると、予後の悪い肝細胞がんと予後の良い肝細胞がんではプロファイルが大きく異なっていることを明らかにした。予後の悪い肝細胞がんでは EpCAM が陽性であり、がん幹細胞との関連も示唆された。

#### D. 考察

B 型と C 型の慢性肝炎は肝細胞に感染する肝炎ウイルスに対する長年の炎症が持続することにより生じる。最終的には、肝硬変、そして肝細胞がんが引き起こされる。この間、同様な臨床像、病理所見を呈するものの、本研究ではそこにいたる病態が両者で異なっていること、変動する遺伝子が異なること、それと関連する micro-RNA の発現が異なることを明らかにした。さらに、これらの変化を見ることによって予後の推定が可能であることを示唆した。

#### E. 結論

肝炎ウイルス感染症の病態と包括的な発現遺伝子解析との関連を示した。両者は密接に関連しており、さらなる解析によって、診断、治療、予後と関連する標的遺伝子および経路の解明が可能であると期待される。

F. 健康危険情報  
なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) E Mizukoshi, Y Nakamoto, K Arai, T Yamashita, N Mukaida, K Matsushima, O Matsui, S Kaneko. Enhancement of tumor-specific T cell responses by transcatheter arterial embolization with dendritic cell infusion for hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* (in press)
- 2) S Ura, M Honda, T Yamashita, T Ueda, H Takatori, R Nishino, H Sunakozaka, Y Sakai, K Horimoto, and S Kaneko. Differential microRNA expression between hepatitis B and hepatitis C leading disease progression to hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2009, 49(4):1098-1112.
- 3) T Yamashita, J Ji, A Budhu, M Forgues, W Yang, HY Wang, H Jia, Q Ye, LX Qin, E Wauthier, LM Reid, H Minato, M Honda, S Kaneko, ZY Tang, XW Wang. EpCAM-Positive Hepatocellular Carcinoma Cells Are Tumor-Initiating Cells With Stem/Progenitor Cell Features. *Gastroenterology* 2009, 136(3):1012-1024.
- 4) T Yamashita, M Honda, H Takatori, R Nishino, H Minato, H Takamura, T Ohta, and S Kaneko. Activation of lipogenic pathway correlates with cell proliferation and poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *J Hepatology* 2009, 50(1):100-110.

##### 2. 学会発表

- 1) M Honda, A Sakai, M Nakamura, S Kaneko.



Pretreatment prediction of virological response to peginterferon plus ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C using hepatic gene expression profiling.  
The Liver Meeting 2009, Boston, 2009

H. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

特になし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Onji M & Akbar SM	Hepatitis B Virus: Advances in management	LIVER: A complete Book on Hepato-Pancreato-Biliary Diseases	Mamun-Al-Mahatab, Salimur Rahman	Elsevier Health Sciences	India	2009	225-228
今村道雄, 茶山一彰	ヒト肝細胞キメラマウスを用いた肝炎ウイルス研究	田中正広	最新医学	最新医学社	大阪市	2009	144-149
今村道雄, 柘植雅貴, 茶山一彰	キメラマウス		Medical Practice	文光堂	大阪市	2010	105-106

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Moriya K, Miyoshi H, Shinzawa S, Tsutsumi T, Fujie H, Goto K, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Koike K	Hepatitis C virus core protein compromises iron-induced activation of antioxidants in mice and HepG2 cells.	J Med Virol		In press	2010
Okuse C, Yotsuyanagi H, Yamada N, Okamoto M, Ikeda H, Kobayashi M, Fukuda Y, Takahashi H, Nagase Y, Suzuki Y, Matsunaga K, Ishii T, Matsumoto N, Koike K, Suzuki M, and Itoh F	Effect of nucleoside analogue-interferon sequential therapy on patients with acute exacerbation of chronic hepatitis B.	Hepatol Res		In press	2010
Ishizaka N, Ishizaka Y, Toda E, Yamakado M, Koike K, Nagai R.	Association between gamma-glutamyl transferase levels and insulin resistance according to alcohol consumption and number of cigarettes smoked.	J Atheroscler Thromb		In press	2010

Kanamori H, Yuhashi K, Ohnishi S, <u>Koike K</u> , Kodama T	RNA dependent RNA polymerase of hepatitis C virus binds to its coding region RNA stem-loop structure, 5BSL3.2, and its negative strand.	J Gen Virol		2010 Jan 6. [Epub ahead of print]	2010
Ishizaka N, Hongo M, Matsuzaki G, Furuta K, Saito K, Sakurai R, Sakamoto A, <u>Koike K</u> , Nagai R	Effects of the AT(1) receptor blocker losartan and the calcium channel blocker benidipine on the accumulation of lipids in the kidney of a rat model of metabolic syndrome.	Hypertens Res		2010 Jan 8. [Epub ahead of print]	2010
Hmwe SS, Aizakia H, Date T, Murakami K, Ishii K, Miyamura T, <u>Koike K</u> , Wakita T, Suzuki T	Identification of hepatitis C virus genotype 2a replicon variants with reduced susceptibility to ribavirin.	Antiviral Res		2009 Dec 28. [Epub ahead of print]	2009
Ishizaka N, Ishizaka Y, Toda E, <u>Koike K</u> , Nagai R, Yamakado M	Impact of changes in waist circumference and BMI over one-year period on serum lipid data in Japanese individuals.	J Atheroscler Thromb	16(6)	764-771	2009
Ishizaka N, Ishizaka Y, Toda A, Tani M, Toda E, <u>Koike K</u> , Nagai R, Yamakado M	Changes in waist circumference and body mass index in relation to changes in serum uric acid in Japanese individuals.	J Rheumatol		2009 Dec 23. [Epub ahead of print].	2009
Ishizaka N, Ishizaka Y, Toda E, Yamakado M, <u>Koike K</u> , Nagai R.	Impacts of changes in obesity parameters for the prediction of blood pressure change in Japanese individuals.	Kidney Blood Press Res	32	421-427	2009

Watanabe S, Enomoto N, <u>Koike K</u> , Izumi N, Takikawa H, Hashimoto E, Moriyasu F, Kumada H, Imawari M, PERFECT STUDY GROUP.	Prolonged treatment with PEG-IFN a-2b and ribavirin can improve SVR in chronic hepatitis C genotype 1 patients with late response in a clinical real-life setting in Japan.	Hepato Res	40	135-144	2010
<u>Koike K</u> , Tsutsumi T, Yotsuyanagi H, Moriya K	Lipid metabolism and pathogenesis of liver disease in hepatitis C viral infection.	Oncology		In press	2010
<u>Koike K</u> , Moriya K, Matsuura Y	Animal models for hepatitis C and related liver disease.	Hepato Res	40	69-82	2010
Moriya K, Miyoshi H, Tsutsumi T, Shinzawa S, Fujie H, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Moriishi K, Matsuura Y, Suzuki T, Miyamura T, <u>Koike K</u> .	Tacrolimus ameliorates metabolic disturbance and oxidative stress caused by hepatitis C virus core protein: Analysis using mouse model and cultured cells.	Am J Pathol	175	1515-1524	2009
Tsutsumi T, Matsuda M, Aizaki H, Moriya K, Miyoshi H, Fujie H, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Miyamura T, Suzuki T, <u>Koike K</u> .	Proteomics analysis of mitochondrial proteins reveals overexpression of a mitochondrial protein chaperone, prohibitin, in cells expressing hepatitis C virus core protein.	Hepatology	50	378-386	2009
Yotsuyanagi H, Kikuchi Y, Tsukada K, Nishida K, Kato M, Sakai H, Takamatsu J, Hige S, Chayama K, Moriya K, <u>Koike K</u> .	Chronic hepatitis C in patients coinfecting with human immunodeficiency virus in Japan: a retrospective multicenter analysis.	Hepato Res	39	657-663.	2009