

200933002B

厚生労働科学研究費補助金
肝炎等克服緊急対策研究事業

薬剤耐性肝炎ウイルス感染の病態解明と対策
に関する研究

平成19年度～21年度 総合研究報告書

研究代表者 榎本 信幸

平成22 (2010) 年3月

厚生労働科学研究費補助金
肝炎等克服緊急対策研究事業

薬剤耐性肝炎ウイルス感染の病態解明
と対策に関する研究

平成19年度～21年度 総合研究報告書

研究代表者 榎本 信幸

平成22 (2010) 年3月

目 次

I. 総合研究報告

薬剤耐性肝炎ウイルス感染の病態解明と対策に関する研究に関する研究

榎本 信幸 ----- 1

分担研究報告

1. 薬剤耐性HCVに対する新規治療薬候補化合物の検索

伊藤 正彦 ----- 21

2. 薬剤耐性肝炎ウイルス感染の病態解明と対策に関する研究

松本 武久 ----- 28

3. ペグインターフェロン(PEG-IFN)とリバビリン(RBV)併用療法における
HCVコアとNS5A領域遺伝子変異と治療効果の関連

朝比奈靖浩 ----- 32

4. 薬剤耐性肝炎ウイルス感染の病態解明と対策に関する研究

今村 道雄 ----- 36

5. マウスモデルによる慢性B型肝炎の病態解析

中本 安成 ----- 40

6. C型肝炎ウイルスのインターフェロン耐性及びリバビリン耐性の
分子機構、とくにNS5A機能と耐性機構の研究

堀田 博 ----- 43

7. 培養細胞系による薬剤耐性肝炎ウイルスの解析

鈴木 哲朗 ----- 51

8. 薬剤耐性に関係するHBV, HCV 遺伝子の研究とその対策

鈴木 文孝 ----- 56

9. インターフェロン誘導遺伝子GBP-1の抗ウイルス機構とHCV蛋白との
クロストーク

中川 美奈 ----- 61

10. 核酸アナログ耐性HBVの高感度検出法の開発および治療抵抗性HCV
のSNP解析

加藤 直也 ----- 63

11. インターフェロン耐性HCVの分子機構に関する研究

加藤 宣之 ----- 70

12. HBV、HCV全塩基配列に基づく薬剤耐性機序に関する研究

横須賀 収 ----- 79

II. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 85

III. 研究成果の刊行物・別刷 ----- 121

I. 総合研究報告

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
総合研究報告書

薬剤耐性肝炎ウイルス感染の病態解明と対策に関する研究に関する研究

研究代表者 榎本 信幸 山梨大学 教授

研究要旨：B型肝炎ウイルス（HBV）においては核酸アナログ耐性ウイルスの出現、C型肝炎ウイルス（HCV）においては Peginterferon/Ribavirin 抵抗性 HCV の存在が治療の障害となっている。本研究の目的はこれらの薬剤耐性肝炎ウイルスの感染病態の解明であり、これにより診断法の確立、耐性機構解明とその克服の基盤形成、さらには新規治療法の開発などを目的とした。治療抵抗性を示す肝炎ウイルスの全ゲノムの経時的解析により治療抵抗性を担うウイルス遺伝子変異領域を解明するとともに、自然免疫系、インターフェロン系分子の解析、HCV 培養細胞系・モデル動物を用いて薬剤耐性・病変進展に關与する宿主側因子の解明を行った。コンピューター上で肝炎ウイルス蛋白の活性部位に結合する化合物を *in silico* screening で探索、培養細胞系を用いてその抗耐性ウイルス効果を検証した。多数症例で HCV 全遺伝子配列を網羅的に決定し、HCV コア遺伝子および NS5A 遺伝子の ISDR (interferon sensitivity determining region) および IRRDR (interferon ribavirin resistance determining region) に Peginterferon/Ribavirin 併用療法の治療効果を決定するアミノ酸変異が存在することを証明した。さらに宿主のインターフェロン反応性を規定する IL28B 遺伝子多型がコア 70 番アミノ酸変異と關連すること、IL28B とコア変異、NS5A 遺伝子の ISDR および IRRDR 変異を組み合わせることにより高精度に治療効果を予測することが可能であることを示し、宿主およびウイルス遺伝子変異検査による診断法開発の基盤を確立した。またコア 70 番アミノ酸変異が肝発癌にも關与すること、次世代のプロテアーゼ阻害剤の治療効果にも影響を与える知見を得た。データマイニング解析により肝内脂肪沈着、HDL コレステロール値などの宿主側因子が C 型肝炎の治療効果に影響することを見出した。IFN 誘導遺伝子である GBP-1 が HCV-NS5B 蛋白が特異的に結合し HCV 増殖を特異的に抑制すること、病態に關連するインターフェロン系關連分子(TLR3、2,5AS)の SNP を同定した。次世代の治療薬である NS3 プロテアーゼ阻害剤については培養系、感染マウス系および臨床検体を用いて耐性変異の解析を行った。一方、治療抵抗性 C 型肝炎の肝内においては RIG-I、IPS-1 を始めとする自然免疫系分子の変動が重要であることを明らかとした。核酸アナログ耐性 HBV 遺伝子変異の高感度検出法を TaqmanPCR および Invader assay により開発、また HBV 全遺伝子の解析を行い nt1896、nt1287 の多型が耐性変異に關与することを明らかとした。核酸アナログ治療前の HBV 全遺伝子配列の解析を行い、耐性変異出現に polymerase 領域および preS2 領域のアミノ酸変異が關連することが見出した。HBV による病変進展には慢性炎症に伴う酸化ストレスの亢進が重要な役割を担うことを明らかとした。*In silico* screening および *in vitro* における抑制効果判定実験により抗 NS3 活性を持つ阻害剤を同定することに成功した。以上、薬剤耐性あるいは治療抵抗性肝炎ウイルスの病態にはウイルスゲノム構造および宿主因子が重要な役割を持つことを明らかとした。これらの発見は臨床的な治療方針の決定に重要な情報を与えるとともに、その機序の解明が新たな薬剤耐性機構の研究に展開することが予想される。

A. 研究目的

肝炎ウイルスに対する治療は近年急速な進歩を見せているが、B型肝炎ウイルス（HBV）においては核酸アナログ耐性ウイルスの出現、C型肝炎ウイルス（HCV）においてはインターフェロン・リバビリン抵抗性 HCV の存在が治療の障害となっている。本研究の目的はこれらの薬剤耐性肝炎ウイルスの感染病態の解明であり、これにより診断法の確立、耐性機構解明とその克服の基盤形成、さらには新規治療法の開発などを行う。

B. 研究方法

- 核酸アナログ治療中の HBV ゲノム全体の経時的解析を行い耐性変異の全体像を明らかにすると同時に、核酸アナログ耐性 HBV の高感度検出法の開発を行った。
- インターフェロン・リバビリン併用療法に治療抵抗性を示す HCV の全ゲノムを経時的に解析し、治療抵抗性を担うウイルス遺伝子変異領域を解明し、その臨床的意義を多数例により解析した。HCV 培養細胞系を用いてウイルス側変異による薬剤感受性の変化の検討、インターフェロン応答抑制に関与する HCV 蛋白と標的宿主蛋白を同定を行い、薬剤耐性に関与するウイルス側および宿主側因子の解明を行った。臨床データのデータマイニング解析、宿主の自然免疫・インターフェロン系分子の解析によりインターフェロン耐性における宿主因子を解析した。
- HBV トランスジェニックマウスモデルにより病態進行に関与する宿主遺伝子群を同定する。感染ヒト肝細胞キメラマウスに薬剤耐性肝炎ウイルスを感染させ in vivo での薬剤耐性モデル系の作成を行った。ウイルス遺伝子変異情報よりコンピューター上でウイルス蛋白の活性部位に結合する化合物を in silico screening で探索、培養細胞系を用いてその抗ウイルス効果を検証した。

C. 研究結果

● Peginterferon/Ribavirin 併用療法抵抗性 HCV 感染のウイルス側および宿主側因子の解明

主任研究者である榎本はハイスループットの HCV および HBV ゲノムワイド解析システムを構築し、Peginterferon/Ribavirin 併用療法を施行した多数症例で HCV 全遺伝子配列を網羅的に決定し、HCV NS5A 蛋白の ISDR に加えコア蛋白に Peginterferon/Ribavirin 併用療法の治療効果を決定するアミノ酸変異が存在することを明らかとしてきた。多数の治療症例の全 HCV 遺伝子の決定を行い、治療中のウイルス動態に関連するウイルス遺伝子領域を網羅的に同定するため、単一アミノ酸変異の解析は Fisher 検定により、連続アミノ酸領域の変異数の検定には sliding window analysis を用いて解析を行った。その結果、まず、RVR に関与するのは ISDR 内および ISDR 周辺領域のアミノ酸変異数であることが証明された。同様の傾向は治療開始 8 週目までの早期ウイルス消失に関与する変異の探索でも認められた。すなわち、ウイルスの治療感受性を担うのは ISDR であることがウイルス全遺伝子の網羅的探索により証明された。一方、治療開始 12 週でもウイルス量の 2 log 以上の減少の得られない、いわゆる non EVR に関与する変異はコア蛋白 70 番の変異が唯一のものであることが示された。すなわち、HCV の Peginterferon/Ribavirin 抵抗性はコア蛋白 70 番変異により担われており、HCV の治療反応性は ISDR と core の 2 つの遺伝子領域により決定されていることが解明され

た。

さらに Peginterferon/Ribavirin 治療の最終効果に与える HCV 遺伝子領域およびその変異を全 HCV ゲノムから探索した。その結果、48 週標準治療の最終的なウイルス排除に関連する HCV 遺伝子領域は NS5A 蛋白の C 末端に存在する IRRDR (interferon ribavirin resistance determining region)の変異数であることが判明した。治療中のウイルス動態の解析によりこの IRRDR 領域の変異は 48 週治療での再燃を規定していた。これは 48 週標準治療では 70-80%の症例が end of treatment response を達成したのちその約半数が再燃することから、再燃に寄与する因子が最終効果に最も強く影響を与えることによる。抵抗性はコア 70 番変異に関連し、ISDR 変異は高感受性に関連するが、再燃の有無という低感受性症例の予後を左右するのは IRRDR 変異であることが明らかとなった。すなわち ISDR 変異を認めない低感受性 HCV においては IRRDR 変異によって感受性が規定されており、IRRDR に多数の変異を認める症例ではある程度の感受性があり (中感受性)、再燃を認めないのに対して、IRRDR の変異の少ない低感受性 HCV は再燃すると考えられる。

一方、peginterferon/ribavirin 治療の感受性を決定する宿主因子として 2009 年に日米欧より報告された IL28B 多型とウイルス遺伝子変異との関連についても解析を進めた。IL28B 変異型アリルを持つ場合には高率に null viral responder (NVR) となることが確認されたが、本研究により HCV 全ゲノムの中では IL28B 変異はコア 70 番変異と非常に強く相関していることが明らかとなった。治療抵抗性は IL28B とより強く相関しており、コア 70 番変異による治療抵抗性は IL28B 変異を反映したものである可能性が示唆された。実際、大部分の症例で core70 番アミノ酸の変異型および野生型ウイルスは同一宿主内で混在状態にあり治療時には両者は平行して減少することが明らかとなり、臨床的にも core70 番変異は直接的に治療反応性を規定していない可能性が示唆された (加藤直也)。IL28B は HCV の自然排除・慢性化にも関与していると報告されており、特定の HCV ゲノム構造が宿主因子とリンクしていることは宿主の特定の環境下において特定の機能を持った HCV が選択されることを示唆しており、治療反応性、病態形成に大きな影響を与えていることが考えられる。実際、コア 70 番変異は肝病変の進展とともに変異率が高まることを見出しており、HCV の肝障害発生機構の解明の重要な手がかりとなることが予想される。

また、HCV-2a/2b についても peginterferon/ribavirin 治療効果と HCV 全ゲノムの関連解析を行い、HCV-2a については core110 番アミノ酸の変異および NS5A- ISDR 周辺の変異が治療効果に関連することを明らかとした (榎本)。また IRRDR を含む NS5A の多様性と IFN 感受性/抵抗性との相関についても比較検討し、HCV-1b と同様に IRRDR 相当領域の変異が治療効果に関連していることを明らかとした、本領域に変異を認めない場合はこれらの genotype においてもある程度の治療抵抗性が予想されるため、治療期間の延長などを考慮することが考えられた (堀田)。

コア 70 番アミノ酸変異を導入した発現 plasmid を作成し、肝癌細胞株 HepG2 に遺伝子導入し stable cell line を作成し機能解析を行い、real-time PCR による検討で一部のサイトカイン関連遺伝子の発現レベルに違いを認め、今後更なる検討が必要であると考えられた (横須賀)。

次世代治療薬であるプロテアーゼ阻害剤 Telaprevir (MP-424)と PEG-IFN+RBV 12 週間併用療法を施行した 20 例では、SVR 率は 70%であり naive 例では Core aa70 が wild である症例で SVR 率が高いことを見出した。現在 Telaprevir (MP-424)と PEG- IFN+RBV 併用療法は最も効果が期

待される治療薬であり、今後ウイルス学的因子、生体側因子(遺伝子多型など)を含め、総合的に治療効果を予測し、テーラーメイドの医療を行なう必要があると考えられた(鈴木文孝)。

一方、Peginterferon/Ribavirin 併用療法の治療効果を決定する宿主因子を多数症例のデータマイニング解析により肝内脂肪沈着、HDL コレステロール値などの宿主側因子がC型肝炎の治療効果に影響することを見出した。また自然免疫系分子の変動を解析、肝内 RIG-I/IPS-1 比は NVR と関連を認めた。一方、HCV コア変異(R70Q)も NVR に関与していたが、多変量解析では ISG15 または USP18 発現および RIG-I/IPS-1 比と血小板数が NVR に関与する有意因子であった。PBMC 中の RIG-I、ISG15 の PEG-IFN/RBV 投与中の発現誘導は NVR 例に比し SVR 例で高かった(朝比奈)。

● HCV の interferon および ribavirin 耐性機構の基礎的検討

I nterferon 耐性機構の解析として NS5A 結合宿主蛋白を探索(堀田)、遺伝子型 1b で O 株由来の全長 HCV RNA 複製細胞について樹立時と2年間培養後における細胞の IFN 感受性試験を行い2年間培養した全長 HCVRNA 複製細胞から得られた IFN 抵抗性細胞由来の HCV ゲノムは樹立時由来の HCV ゲノムと比較すると遺伝的系統樹において一群のクラスターを形成していることが分かった。また IFN 抵抗性細胞由来の Total RNA を HCV が排除された細胞(治療細胞)に再度導入して得られた HCV RNA 複製細胞(第2世代)を用いた IFN 感受性試験により、IFN 抵抗性の獲得は HCV 側と宿主側因子の両方が関与していることが示唆された(加藤宣之)。

NS4B が Cardif 及びその下流の RIG-I 依存性インターフェロン β 発現応答を抑制することを確認し、その作用エピトープが NS4B の N 末端よりのドメインであることを見出した。C型肝炎ウイルス感染におけるインターフェロン関連蛋白とウイルスの相互作用を解析し、抗ウイルス療法のあらたな標的宿主蛋白を同定することを目的に研究を行い、HCV 培養系において IFN 誘導遺伝子である GBP-1、IFI27、IFI6-16 が HCV 増殖を特異的に抑制することを新たに見出し、GBP1 と NS5B 蛋白が特異的に結合すること、またその結合エピトープを含むドメインを特定した。また、NS5B が GBP-1 のもつ GTPase 活性を阻害すること、さらに NS5B 自体が GBP-1 蛋白発現を抑制することを見いだした(中川美奈)。

昨年度、C型肝炎ウイルス(HCV) JFH-1 株持続感染細胞を NS3 セリンプロテアーゼ阻害剤 BILN2061 存在下で長期間培養することにより、NS3 領域に2カ所の耐性変異(V71A、K122R)が同定された。今回、この薬剤耐性ウイルスについてさらに解析を進め、この耐性変異は HCV の複製効率に影響を与えないこと、BILN2061 非存在下での1ヶ月間の培養後も両変異は完全に維持されることを見出した。また、この変異ウイルスは、別のプロテアーゼ阻害剤 VX-950 には耐性でないことなどから薬剤選択性の高い耐性変異である可能性が示された(鈴木哲朗)。

● 薬剤耐性 HBV の病態解明

エンテカビル耐性ウイルスは HBV ポリメラーゼ領域内の reverse transcriptase(rt)領域の rt184, rt202, rt250 に認められる。これらの変異を検出するために Invader assay による測定系を作成した(鈴木文孝)。Lamivudine 耐性化には HBV 遺伝子の preS2 領域の変異が関連することを明らかとした(榎本)。また、過去に核酸アナログ製剤を使用していないエンテカビル投与症例 371 例からは2例にエンテカビル耐性ウイルスの出現を認めた。ラミブジン単独投与中に YMDD motif

mutation の出現が疑われた 390 例からのアデフォビルまたはエンテカビル耐性ウイルスの出現は 8 例(2%)であった。さらにラミブジン耐性ウイルスに対してエンテカビルを投与した 66 症例からのエンテカビル耐性出現は 10 例 (15%) であった (鈴木文孝)。

● 動物モデルを用いた薬剤耐性肝炎ウイルス感染の解析

治療抵抗性の B 型肝炎ウイルスによる肝病変進行の制御法を開発するため慢性ウイルス肝炎トランスジェニックマウスモデル系の DNA マイクロアレイ解析により、慢性肝炎から発がんに至る B 型肝炎マウスモデルを用いて、慢性炎症およびがん化過程のそれぞれに関わる宿主因子の相互関係について検討、慢性炎症の誘導は CD8 陽性細胞障害性 T リンパ球 (CTL) が直接関与していた。経時的観察において、慢性肝炎の前期には炎症反応や細胞障害・再生に関与する遺伝子群の変動が観察された。後期になると遺伝子の転写に関わる一群が有意に変動した。さらに、発がん期には腫瘍組織特有な遺伝子群が検出されたが、約 60% は肝炎の前期と共通していた。これより、CTL が誘導する慢性肝炎に伴って宿主因子の相互作用が惹起され、がん化への分子病態が構築されていく過程が示された (中本安成)。

ヒト肝細胞キメラマウスに C 型肝炎ウイルス(HCV)陽性患者血清を投与し、HCV 感染マウスを作製、HCV 感染マウスに protease 阻害剤 (telaprevir, 200 mg/kg, 1 日 2 回)あるいは RNA polymerase 阻害剤(MK-0609, 3 mg/kg, 1 日 2 回)を単独あるいは併用投与した。両薬剤とも単独投与にて著明にマウス血中 HCV RNA を低下させたが、投与中、それぞれに耐性ウイルス(NS3 領域の V36A 変異ウイルス, NS5B 領域の S282T 変異ウイルス)が出現し、HCV RNA 値の再上昇を認めた。Telaprevir と IFN- α と併用することにより、より強い抗ウイルス効果および耐性株出現の抑制効果を認めた。耐性型クローンを投与したマウスでは、野生型クローンを投与したマウスに比べ、血中 HCV RNA は低値であり、耐性株は増殖能が低いことが示唆された。両薬剤を併用投与したところ、投与 2 週後には HCV RNA は感度以下まで低下し、投与中の耐性ウイルスの出現が予防された。Telaprevir に高用量の MK-0609 (50 mg/kg)を 4 週間併用投与したところ、投与 1 週後に HCV RNA は感度以下に低下し、観察した投与終了 18 週後まで再上昇を認めず、おそらく完全排除されたものと思われた。これらの結果から異なる HCV 蛋白を標的とした薬剤を組み合わせることにより、インターフェロン製剤を使用せずとも HCV を感染排除することが可能であることが示唆された (今村道雄)。

● 新規抗肝炎ウイルス剤の開発

HCV の NS2/3 プロテアーゼを薬剤標的にして、その活性ポケット部位の立体構造情報に基づいて、コンピューター上 (in silico) でプロテアーゼ活性部位に結合する化合物を探索した。NS2/3 プロテアーゼタンパク質は大腸菌で大量に発現するが、封入体を形成し不溶化するため、その巻き戻し条件を複数検討した。細胞レベルでの阻害剤アッセイ系を確立するため、NS2/NS3/NS4A 下流に GAL4 結合ドメインと VP-16 との融合タンパク質を発現する遺伝子を導入した細胞の作製に着手した (松本)。In silico screening system を用いて選び出した NS3 プロテアーゼ阻害剤候補化合物のうちの 2 つが共通構造を有していた。この構造を基に、様々な誘導体を作製し、そのうちのひとつが、より高い HCV 増殖抑制活性を有していた (伊藤)。

D. 考察

● 本年度までの HCV 全ゲノム解析研究の成果により、HCV の peginterferon/ ribavirin 治療の感受性を決定しているのは ISDR および IRRDR の 2 つの NS5A 蛋白領域および core 蛋白 70 番アミノ酸変異であることが解明された。堀田らは従来の ISDR に加えて NS5A 末端に IRRDR という新たな Peginterferon/ribavirin 療法に対する抵抗性を規定する領域を同定した。IRRDR \geq 6 は Peginterferon/ribavirin 併用療法開始 1 日後～4 週間後という非常に早期のウイルス量の減少と相関しており抗ウイルス効果と相関している可能性が示唆され、IRRDR についても今後のより詳細な解析が必要と考えられた。ISDR 変異が 2 個以上ある HCV は高感受性、ISDR 変異が 0/1 個の HCV は低感受性であるが、この中でも IRRDR 変異の多い HCV は中等度の感受性を示すのに対して、IRRDR 変異の少ない症例は低感受性であり多くが治療終了後に再燃することが判明した。一方、core 蛋白 70 番に変異のある HCV は抵抗性を示し、NVR となる可能性が高い。このようにこれら 3 つの HCV 遺伝子領域は階層的に HCV の peginterferon/ribavirin 感受性を規定している。これを利用して治療効果を予測するアルゴリズムを作成可能であり、今後その実証が重要となると考えられた。

● HCV の治療抵抗性に関与するウイルス側因子以外の宿主側因子として本研究で肝線維化および脂肪化、年齢、性別、AFP、コレステロール、薬剤投与量、投与期間などを明らかとしたが、治療抵抗性に関して 2009 年国内外の研究グループより IL28B 多型が報告され、本研究においてもこの宿主遺伝子多型は NS5A 変異とは独立に治療効果を規定することが明らかとなった。core70 番アミノ酸変異と IL28B 多型は強く相関しており、core70 番変異による治療抵抗性は IL28B 遺伝子多型を反映している可能性が考えられた。一方、この core70 番変異は肝病変の進展、肝発癌にも関与しており、宿主とウイルス遺伝子変異の相互作用により治療反応性、病態が形成されることが示唆され今後さらに詳細な解析が必要と考えられた。

● 本年度は HCV-2a/2b における治療抵抗性のウイルス変異についても解析を進めた。HCV-2a の全ゲノム解析では core 蛋白 110 番アミノ酸の変異が治療反応性に関連することを見出し、genotype 1b 同様、2a においても core 蛋白が重要な役割を担っていることが示唆された。今後、これらの変異の機能的な解析が重要と考えられる。一方、NS5A 蛋白においては ISDR および IRRDR 領域がやはり治療反応性に関連しており、今後症例を集積して治療アルゴリズムの確立を目指す基礎的知見を得た。

● 70 番アミノ酸変異の培養細胞内発現実験では、細胞のインターフェロン反応性に明らかな差異がみられなかったが、Real-time PCR による検討では一部の Cytokine 関連遺伝子(CHUK, HSPD1)の発現レベルに違いがみられたことから、今後これらの遺伝子産物の治療効果、病態形成における役割についての解析が重要であると考えられた。

● プロテアーゼ阻害剤 telaprevir と peginterferon/ribavirin の 3 剤併用療法においても core 蛋白 70 番アミノ酸変異は治療効果に影響しており、70 番アミノ酸野生型において著効率が高かった。

今後、IL28B 多型との関連を明らかにする必要があると考えられる。

● 治療抵抗性の宿主因子の検討として、朝比奈らは自然免疫系に注目し併用療法に抵抗する症例では治療前の肝内 ISG15、USP18RIG-I 発現が亢進していたが、IPS-1 発現はウイルス排除が得られる症例で高値であり、治療に抵抗する難治例では内因性 IFN の up-regulation が起こっていると考えられた。本現象がウイルス変異などのウイルス側因子に関わっているか否かは今後の検討課題である。また、中川らは IFN 発現応答の抑制蛋白として NS34A 以外に NS4B が同定、その標的蛋白・作用エピトープを特定することは新規クラスの抗ウイルス療法剤の開発につながる事が期待された。

● HCV の治療抵抗性の宿主因子として臨床症例における自然免疫系分子の動態を解析したところ、PEG-IFN/RBV 併用療法の難治例では、治療前の肝内自然免疫系発現が亢進していた。これは内因性 IFN による IFN 誘導遺伝子の発現誘導が、難治例では高いためと考えられた。一方、外因性 IFN によるこれらの遺伝子誘導は、難治例では低く外因性 IFN への遺伝子発現段階における不応性が難治要因に関与していると考えられた。そして、これら自然免疫系遺伝子や IFN 誘導遺伝子の不応性は難治要因を規定する HCV 変異とは独立して関与していることが分かった。従って、難治性 C 型肝炎を克服するためには、IFN 誘導の不応性に対する対策と、ウイルス変異によりもたらされる難治要因への対策が別個に必要と考えられた。

● 全長 HCV RNA 複製細胞を 2 年間培養すると、HCV ゲノムの多様性が増大し、系統樹解析を行うと、オリジナルの O2 細胞由来の HCV クローン群とは離れた位置に IFN 耐性の O2r 細胞由来の HCV クローンが遺伝的クラスターを作ることが判明した。STAT1 のリン酸化実験においては、O2 細胞と O2r 細胞では IFN 応答性に差がなかったことから、両細胞における IFN のシグナル伝達効率に違いはないものと考えられる。従って、HCV ゲノムのどこかに IFN 感受性を規定する領域の存在が予想されることから、IFN により誘導される宿主遺伝子群 (ISGs) の発現レベルに差が出ないかどうかについても今後調べる必要があると考えられた。IFN に対する感受性が宿主側因子とウイルス側因子の両方でも様々な割合で効いていることを示しているものと考えられる。今後、第 2 世代の HCV RNA 複製細胞から得られた IFN 抵抗性細胞内で複製している HCV ゲノムや細胞の IFN への応答性を詳細に調べていくことにより結論が得られるのではないと思われる。

● NS5B が GBP-1 の GTPase 活性を阻害すること、さらに NS5B 存在下では GBP-1 蛋白発現が抑制されることが確認され、生体内の防御機構と HCV ウイルス蛋白の相互作用がウイルス排除あるいは持続感染に関与していることを明らかとした。今後、抗ウイルス蛋白に拮抗するウイルス側の蛋白・エピトープを特定することにより、IFN 抵抗性を解除する新たな抗ウイルス分子標的療法創出へ応用可能となる可能性がある。

● HCV JFH-1 が安定的に持続感染増殖する Huh7 細胞系を作製し、プロテアーゼ阻害剤 BILN2061 を長期間添加した結果、耐性ウイルスを取得し、その責任変異 V71A、K122R を同定した。この変異による薬剤耐性獲得のメカニズムを考察するため、変異 NS3-BILN2061 のドッキングシミュレーションを行った。その結果、71 番目アラニン、122 番目リジンとも BILN2061 の予想結

合部位から 10 Å 以上離れていると推定され、通常、二者間の相互作用が期待される 3 Å 以下に比べ離れている可能性が高いことが示され未知の耐性獲得機構の存在が示唆された。BILN2061、VX950 とも NS3 蛋白のセリンプロテアーゼ活性中心の近傍に結合するものと推定されているが、両化合物の構造の違いにより、結合に伴うプロテアーゼ活性への影響が異なる可能性が考えられ今後のプロテアーゼ阻害剤耐性 HCV に対策の基礎的知見を得た。

● HBV に関しては現在は耐性ウイルスの出現率の少ないエンテカピルの使用例が主体となっている。naive 例に対する成績では 371 例中 2 例にのみエンテカビル耐性ウイルスが検出されており、今後より長期の成績が検討される必要がある。一方ラミブジンは、YMDD motif 以外の rt 領域にも種々の変異を起こす。今回の検討では、頻度は少ないもののアデフォビル耐性と関係する変異が認められており、ラミブジン耐性ウイルスにアデフォビルを投与した症例で抗ウイルス効果が少ない症例では、HBV の遺伝子配列を検討する必要がある。

● 慢性 B 型肝炎マウスモデルで慢性肝炎の遺伝子発現プロファイルを経時的に観察することによって、慢性炎症の単純な持続ではなく時間の経過とともに分子病態の特徴が変化していく様子が観察され、慢性肝炎の経過と併せて検討することによって、炎症と相関する遺伝子群に加えて、炎症と相関しないがん組織にユニークな遺伝子群が同定され、新たな概念に基づく標的分子が含まれる可能性が示唆された。

● 慢性 C 型肝炎マウスモデルではプロテアーゼ阻害剤およびポリメラーゼ阻害剤とも単独投与では耐性ウイルスの出現を認めたが、標的の異なるこれら 2 剤を併用することにより、耐性ウイルスの出現が予防され、より強い抗ウイルス効果を認めた。さらには HCV の完全排除も可能であった。今後、各種抗ウイルス薬を併用投与することで更なる治療効果の向上が期待された。

● In silico screening で探索してきた化合物による NS2/3 プロテアーゼタンパク質阻害剤の開発では NS2/3 プロテアーゼ阻害活性の評価には細胞レベルでのアッセイ系を利用することが不可欠と考えられた。今後、NS2/NS3/NS4A 下流に GAL4 結合ドメインと VP-16 との融合タンパク質を発現する遺伝子を Huh-7 細胞に導入し、細胞レベルでの阻害剤アッセイ系を完成させる予定である。

● NS3/4A プロテアーゼ阻害物質の in silico screening のヒット化合物 2 種の共通構造を基に、再度の In silico による化合物のデザインに行い、その結果、HCV71_con_CG1 と名付けた化合物は、1 回目の In silico screening のヒット化合物 2 種より、高い HCV 増殖抑制効果が得られ、現在、更なる最適化を行うための情報を得るため、化合物と NS3 protease の共結晶構造解析を行っている。

E. 結論

● HCV の peginterferon/ribavirin 治療に対する感受性を決定しているウイルス因子は NS5A の ISDR および IRRDR を中心とした領域であることが明らかとなった。ISDR に変異により感受性は大きく決定され、同じ ISDR 変異であれば感受性は IRRDR 変異よりさらに細かく規定されていると考えられた。一方、core 蛋白変異は、宿主の IL28B 多型、肝病変進展と関連しており宿主因子との相互作用

により治療反応性・病態を規定していることが示唆された。今後、これらの知見の臨床アルゴリズムへの応用、機能解明が重要になるものと考えられる。特に治療抵抗性に関わるウイルス因子と宿主因子（自然免疫系、IL28B系）の関連を培養細胞系、モデル動物系で解析してゆくことがますます重要になると予想される。

F. 研究発表

1. 論文発表

19年度

1. Amemiya F, Maekawa S, Itakura Y, Kanayama A, Matsui A, Takano S, Yamaguchi T, Itakura J, Kitamura T, Inoue T, Sakamoto M, Yamauchi K, Okada S, Yamashita A, Sakamoto N, Itoh M, Enomoto N.

Targeting lipid metabolism in the treatment of hepatitis C virus infection.

J Infect Dis. 2008 Feb 1;197(3):361-70.

PMID: 18248300 [PubMed - indexed for MEDLINE]

2. Tasaka M, Sakamoto N, Itakura Y, Nakagawa M, Itsui Y, Sekine-Osajima Y, Nishimura-Sakurai Y, Chen CH, Yoneyama M, Fujita T, Wakita T, Maekawa S, Enomoto N, Watanabe M.

Hepatitis C virus non-structural proteins responsible for suppression of the RIG-I/Cardif-induced interferon response.

J Gen Virol. 2007 Dec; 88(Pt 12): 3323-33.

PMID: 18024902 [PubMed - indexed for MEDLINE]

3. Sekine-Osajima Y, Sakamoto N, Mishima K, Nakagawa M, Itsui Y, Tasaka M, Nishimura-Sakurai Y, Chen CH, Kanai T, Tsuchiya K, Wakita T, Enomoto N, Watanabe M.

Development of plaque assays for hepatitis C virus-JFH1 strain and isolation of mutants with enhanced cytopathogenicity and replication capacity.

Virology. 2008 Feb 5;371(1):71-85. Epub 2007 Oct 22.

PMID: 17949770 [PubMed - in process]

4. Sakamoto N, Tanabe Y, Yokota T, Satoh K, Sekine-Osajima Y, Nakagawa M, Itsui Y, Tasaka M, Sakurai Y, Cheng-Hsin C, Yano M, Ohkoshi S, Aoyagi Y, Maekawa S, Enomoto N, Kohara M, Watanabe M.

Inhibition of hepatitis C virus infection and expression in vitro and in vivo by recombinant adenovirus expressing short hairpin RNA.

J Gastroenterol Hepatol. 2007 Aug 7; [Epub ahead of print]

PMID: 17683479 [PubMed - as supplied by publisher]

5.

1) 坂本 穰, 榎本信幸. C型肝炎治療のコンセンサス Peg-IFN/ribavirin 併用療法 ISDR と初期抗ウイルス効果からみた治療効果. コンセンサス肝疾患 B型肝炎・C型肝炎の治療 96-101, 2007

2) 坂本 穰, 榎本信幸. C型慢性肝炎. 消化器疾患最新の治療 2007-2008 287-291, 2007

- 3) 坂本 穰, 井上泰輔, 榎本信幸. ウイルス肝炎の臨床・治療 実地診療における C 型肝炎の治療の実際 インターフェロン単独療法をどう使うか?—ペグから自己注射までの実際—. Medical Practice 24(4): 713-716, 2007
- 4) 吉田貴史, 坂本 穰, 榎本信幸. リバビリン併用インターフェロン治療抵抗例の病態とその対策 治療効果を規定するウイルス側の要因. Modern Physician 28(1): 35-36, 2007
- 5) 坂本 穰, 榎本信幸. 特集 ウイルス性慢性肝炎: 診断と治療の進歩 IV. C 型慢性肝炎の抗ウイルス療法 1. インターフェロン療法の現況: 標準治療のエビデンス. 日本内科学会雑誌 97(1): 57-63, 2008
- 6) 坂本 穰, 榎本信幸. C 型肝炎治療 up to date C 型慢性肝炎—HCV 遺伝子変異と治療効果—. Mebio 25(3): 89, 2008
- 7) 坂本 穰, 榎本信幸. ウイルス性肝炎のプライマリケア 総論 慢性ウイルス性肝炎の診断と節目 検診. 診断と治療 96(3), 2008

2. 学会発表

- 1) Nobuyuki Enomoto. Treatment of Chronic Hepatitis C in Japan. China- Japan Joint-lab Symposium on Emerging Pathogens and Immunology 2007. August 11, 2007. Beijing, China.
- 2) Nobuyuki Enomoto. New Therapeutic Targets for HCV infection. 2007 Seoul International Liver Symposium. September 7, 2007. Seoul, Korea.
- 3) Nobuyuki Enomoto. Treatment Strategy of Hepatitis C in Japan. Asian Hepatitis Forum "Difference and similarity among three countries". December 15, 2007. Tokyo, Japan.
- 4) Shinya Maekawa, Fumitake Amemiya, Shin-ichi Takano, Akira Matsui, Asuka Kanayama, Chikako Miyazaki, Tatsuya Yamaguchi, Takatoshi Kitmura, Taisuke Inoue, Minoru Sakamoto, Shun-ichi Okada, Nobuyuki Enomoto. Molecular evolution of hepatitis C virus genome in a patient with liver transplantation. 14th International symposium on hepatitis C virus & related viruses. 9-13 Sept. Glasgow, Scotland, UK.
- 5) 坂本 穰. ISDR からみた C 型慢性肝炎に対する PEG-IFN/Ribavirin (R) 併用療法の治療効果. 第 81 回日本感染症学会総会 4.10-11, 2007 京都
- 6) 榎本信幸. HCV ゲノムと治療に関わる宿主因子. 第 81 回日本感染症学会総会 4.10-11, 2007 京都
- 7) 坂本 穰, 井上泰輔, 榎本信幸. ISDR からみた高齢者の C 型慢性肝炎患者に対する治療法. 第 93 回日本消化器病学会総会. 4.19-21, 2007 青森
- 8) 前川伸哉. HCV の遺伝子構造による自然免疫 RIG-I 経路阻害、およびウイルス増殖能変化についての検討. 第 93 回日本消化器病学会総会. 4.19-21, 2007 青森
- 9) 前川伸哉, 進藤邦明, 山下篤哉, 伊藤正彦, 榎本信幸. ペグインターフェロン・リバビリン併用療法治療効果を規定する HCV ゲノム領域の検索. 第 17 回抗ウイルス療法研究会 5.25, 2007 高松
- 10) 前川伸哉, 板倉嘉恵, 榎本信幸. C 型肝炎ウイルス遺伝子構造による自然免疫回避の検討. 第 43

回日本肝臓学会総会 (ワークショップ) 5.31、2007 東京

11) 坂本 稔, 井上泰輔, 雨宮史武, 北村敬利, 前川伸哉, 岡田俊一, 榎本信幸. ISDR からみた C 型慢性肝炎に対する PEG-IFN+Ribavirin 療法の治療効果と 72 週治療の試み. 第 43 回日本肝臓学会総会 (ワークショップ) 6.1、2007 東京

12) 小松信俊, 朝比奈靖浩, 梅田尚季, 細川貴範, 上田 研, 土屋 薫, 中西浩之, 板倉 潤, 黒崎雅之, 内原正勝, 榎本信幸, 泉 並木. 肝細胞癌 (HCC) に対するラジオ波治療 (RFA) の合併症とその防止~1403 例での経験~. 第 43 回日本肝臓学会総会 (ワークショップ) 6.1、2007 東京

13) 中川美奈, 坂本直哉, 陳 正新, 井津井康浩, 箆島裕子, 田坂めぐみ, 櫻井 幸, 小貫優子, 須田剛生, 渡辺秀樹, 榎本信幸, 渡辺 守. 高齢者 C 型慢性肝炎に対するインターフェロン療法の安全性と有効性. 第 43 回日本肝臓学会総会 5.31、2007 東京

14) 中西裕之, 黒崎雅之, 朝比奈靖浩, 中西かおる, 野田隆政, 穴見公隆, 小松信俊, 梅田尚季, 細川貴範, 上田 研, 土谷 薫, 北村敬利, 板倉 潤, 内原正勝, 三宅祥三, 樋口輝彦, 榎本信幸, 泉 並木. 顕性及び潜在性肝性脳症の診断における NIRS の有用性の検討. 第 43 回日本肝臓学会総会 5.31、2007 東京

15) 須田剛生, 中川美奈, 坂本直哉, 陳 正新, 井津井康浩, 箆島裕子, 田坂めぐみ, 櫻井 幸, 小貫優子, 榎本信幸, 渡辺 守. C 型慢性肝炎に対する Peg-IFN α 2b/Ribavirin 併用療法の早期治療効果予測因子の解析. 第 43 回日本肝臓学会総会 6.1、2007 東京

16) 小貫優子, 中川美奈, 坂本直哉, 陳 正新, 井津井康浩, 箆島裕子, 田坂めぐみ, 櫻井 幸, 渡辺秀樹, 榎本信幸, 渡辺 守. Genotype2 の C 型慢性肝炎に対する interferon 投与プロトコールと治療効果の比較. 第 43 回日本肝臓学会総会 6.1、2007 東京

17) 箆島裕子, 坂本直哉, 中川美奈, 田坂めぐみ, 櫻井 幸, 井津井康浩, 陳 正新, 榎本信幸, 脇田隆字, 渡辺 守. Plaque-forming assay を用いた細胞障害性 HCV の選択と昨日解析. 第 43 回日本肝臓学会総会 6.1、2007 東京

18) 田坂めぐみ, 坂本直哉, 中川美奈, 井津井康浩, 箆島裕子, 櫻井 幸, 陳 正新, 榎本信幸, 渡辺 守. HCV-NS4B 蛋白による interferon 発現応答抑制機構の解析. 第 43 回日本肝臓学会総会 6.1、2007 東京

19) 雨宮史武, 前川伸哉, 金山明日香, 北村敬利, 井上泰輔, 坂本 稔, 岡田俊一, 榎本信幸. 細胞内脂質制御による C 型肝炎治療の可能性. 第 43 回日本肝臓学会総会 6.1、2007 東京

20) 坂本 稔. Y-PERS における治療効果規定因子の解析. 第 1 回東京肝疾患研究会 (PERFECT) 6.23、2007 東京

21) 坂本 稔, 井上泰輔, 榎本信幸. ISDR からみた C 型慢性肝炎の PEG-IFN/Ribavirin 療法の解析. DDW-Japan 2007 (シンポジウム) 10.18、2007 神戸

22) 前川伸哉, 金山明日香, 雨宮史武, 高野伸一, 松井 啓, 宮崎千賀子, 山口達也, 進藤邦明, 北村敬利, 井上泰輔, 坂本 稔, 岡田俊一, 榎本信幸. 肝移植症例における HCV 遺伝子構造変化の解析. 第 11 回日本肝臓学会大会 (ポスター) 10.18、2007 神戸

23) 雨宮史武, 前川伸哉, 金山明日香, 北村敬利, 井上泰輔, 坂本 稔, 岡田俊一, 榎本信幸. HCV レプリコンに対する脂質代謝抑制剤の効果. 第 11 回日本肝臓学会大会 (ポスター) 10.18、2007 神戸

24) 井上泰輔, 坂本 稔, 雨宮史武, 北村敬利, 植竹智義, 前川伸哉, 岡田俊一, 榎本信幸. C 型慢性肝

炎に対する PEG-IFN α 2a 単独療法の治療成績. 第 11 回日本肝臓学会大会 (ポスター) 10.18, 2007
神戸

25) 柏木賢治, 志村浩己, 小林哲郎, 今村俊一, 増山敬祐, 坂本 穰, 榎本信幸, 塚原重雄. インター
ネットを用いた慢性疾患診療支援システムの現状. 第 27 回医療情報学連合大会 11, 2007 神戸

25) 柏木賢治, 志村浩己, 小林哲郎, 今村俊一, 増山敬祐, 坂本 穰, 榎本信幸, 塚原重雄. インター
ネットを用いた慢性疾患診療支援システムの現状. 第 27 回医療情報学連合大会 11, 2007 神戸

20 年度

1. 論文発表

1) Amemiya F, Maekawa S, Itakura Y, Kanayama A, Matsui A, Takano S, Yamaguchi T,
Itakura J, Kitamura T, Inoue T, Sakamoto M, Yamauchi K, Okada S, Yamashita A,
Sakamoto N, Itoh M, Enomoto N.

Targeting lipid metabolism in the treatment of hepatitis C virus infection.

J Infect Dis. 2008 Feb 1;197(3): 361-70.

PMID: 18248300 [PubMed - indexed for MEDLINE]

2) Tasaka M, Sakamoto N, Itakura Y, Nakagawa M, Itsui Y, Sekine-Osajima Y,
Nishimura-Sakurai Y, Chen CH, Yoneyama M, Fujita T, Wakita T, Maekawa S, Enomoto
N, Watanabe M.

Hepatitis C virus non-structural proteins responsible for suppression of the RIG-I /
Cardif-induced interferon response.

J Gen Virol. 2007 Dec;88(Pt 12): 3323-33.

PMID: 18024902 [PubMed - indexed for MEDLINE]

3) Sekine-Osajima Y, Sakamoto N, Mishima K, Nakagawa M, Itsui Y, Tasaka M,
Nishimura-Sakurai Y, Chen CH, Kanai T, Tsuchiya K, Wakita T, Enomoto N, Watanabe M.
Development of plaque assays for hepatitis C virus-JFH1 strain and isolation of mutants
with enhanced cytopathogenicity and replication capacity.

Virology. 2008 Feb 5;371(1):71-85. Epub 2007 Oct 22.

PMID: 17949770 [PubMed - in process]

4) Sakamoto N, Tanabe Y, Yokota T, Satoh K, Sekine-Osajima Y, Nakagawa M, Itsui Y,
Tasaka M, Sakurai Y, Cheng-Hsin C, Yano M, Ohkoshi S, Aoyagi Y, Maekawa S,
Enomoto N, Kohara M, Watanabe M.

Inhibition of hepatitis C virus infection and expression in vitro and in vivo by recombinant
adenovirus expressing short hairpin RNA.

J Gastroenterol Hepatol. 2007 Aug 7; [Epub ahead of print]

PMID: 17683479 [PubMed - as supplied by publisher]

1) 坂本 穰, 榎本信幸. C型肝炎治療のコンセンサス Peg-IFN/ribavirin 併用療法 ISDR と初期抗
ウイルス効果からみた治療効果. コンセンサス肝疾患 B型肝炎・C型肝炎の治療 96-101, 2007

- 2) 坂本 稔, 榎本信幸. C型慢性肝炎. 消化器疾患最新の治療 2007-2008 287-291, 2007
- 3) 坂本 稔, 井上泰輔, 榎本信幸. ウイルス肝炎の臨床・治療 実地診療における C 型肝炎の治療の実際 インターフェロン単独療法をどう使うか?—ペグから自己注射までの実際—. Medical Practice 24(4): 713-716, 2007
- 4) 吉田貴史, 坂本 稔, 榎本信幸. リバビリン併用インターフェロン治療抵抗例の病態とその対策 治療効果を規定するウイルス側の要因. Modern Physician 28(1): 35-36, 2007
- 5) 坂本 稔, 榎本信幸. 特集 ウイルス性慢性肝炎: 診断と治療の進歩 IV. C 型肝炎の抗ウイルス療法 1. インターフェロン療法の現況: 標準治療のエビデンス. 日本内科学会雑誌 97(1): 57-63, 2008
- 6) 坂本 稔, 榎本信幸. C 型肝炎治療 up to date C 型肝炎—HCV 遺伝子変異と治療効果—. Mebio 25(3): 89, 2008
- 7) 坂本 稔, 榎本信幸. ウイルス性肝炎のプライマリケア 総論 慢性ウイルス性肝炎の診断と節目 検診. 診断と治療 96(3), 2008

2. 学会発表

- 1) Nobuyuki Enomoto. Treatment of Chronic Hepatitis C in Japan. China- Japan Joint-lab Symposium on Emerging Pathogens and Immunology 2007. August 11, 2007. Beijing, China.
- 2) Nobuyuki Enomoto. New Therapeutic Targets for HCV infection. 2007 Seoul International Liver Symposium. September 7, 2007. Seoul, Korea.
- 3) Nobuyuki Enomoto. Treatment Strategy of Hepatitis C in Japan. Asian Hepatitis Forum "Difference and similarity among three countries". December 15, 2007. Tokyo, Japan.
- 4) Shinya Maekawa, Fumitake Amemiya, Shin-ichi Takano, Akira Matsui, Asuka Kanayama, Chikako Miyazaki, Tatsuya Yamaguchi, Takatoshi Kitmura, Taisuke Inoue, Minoru Sakamoto, Shun-ichi Okada, Nobuyuki Enomoto. Molecular evolution of hepatitis C virus genome in a patient with liver transplantation. 14th International symposium on hepatitis C virus & related viruses. 9-13 Sept. Glasgow, Scotland, UK.
- 5) 坂本 稔. ISDR からみた C 型肝炎に対する PEG-IFN/Ribavirin (R) 併用療法の治療効果. 第 81 回日本感染症学会総会 4.10-11, 2007 京都
- 6) 榎本信幸. HCV ゲノムと治療に関わる宿主因子. 第 81 回日本感染症学会総会 4.10-11, 2007 京都
- 7) 坂本 稔, 井上泰輔, 榎本信幸. ISDR からみた高齢者の C 型肝炎患者に対する治療法. 第 93 回日本消化器病学会総会. 4.19-21, 2007 青森
- 8) 前川伸哉. HCV の遺伝子構造による自然免疫 RIG-I 経路阻害、およびウイルス増殖能変化についての検討. 第 93 回日本消化器病学会総会. 4.19-21, 2007 青森
- 9) 前川伸哉, 進藤邦明, 山下篤哉, 伊藤正彦, 榎本信幸. ペグインターフェロン・リバビリン併用療法治療効果を規定する HCV ゲノム領域の検索. 第 17 回抗ウイルス療法研究会 5.25, 2007 高松

- 10) 前川伸哉, 板倉嘉恵, 榎本信幸. C型肝炎ウイルス遺伝子構造による自然免疫回避の検討. 第43回日本肝臓学会総会(ワークショップ) 5.31, 2007 東京
- 11) 坂本 穰, 井上泰輔, 雨宮史武, 北村敬利, 前川伸哉, 岡田俊一, 榎本信幸. ISDR からみた C 型慢性肝炎に対する PEG-IFN+ Ribavirin 療法の治療効果と 72 週治療の試み. 第 43 回日本肝臓学会総会(ワークショップ) 6.1, 2007 東京
- 12) 小松信俊, 朝比奈靖浩, 梅田尚季, 細川貴範, 上田 研, 土屋 薫, 中西浩之, 板倉 潤, 黒崎雅之, 内原正勝, 榎本信幸, 泉 並木. 肝細胞癌(HCC)に対するラジオ波治療(RFA)の合併症とその防止~1403例での経験~. 第43回日本肝臓学会総会(ワークショップ) 6.1, 2007 東京
- 13) 中川美奈, 坂本直哉, 陳 正新, 井津井康浩, 箆島裕子, 田坂めぐみ, 櫻井 幸, 小貫優子, 須田剛生, 渡辺秀樹, 榎本信幸, 渡辺 守. 高齢者 C 型慢性肝炎に対するインターフェロン療法の安全性と有効性. 第 43 回日本肝臓学会総会 5.31, 2007 東京
- 14) 中西裕之, 黒崎雅之, 朝比奈靖浩, 中西かおる, 野田隆政, 穴見公隆, 小松信俊, 梅田尚季, 細川貴範, 上田 研, 土谷 薫, 北村敬利, 板倉 潤, 内原正勝, 三宅祥三, 樋口輝彦, 榎本信幸, 泉 並木. 顕性及び潜在性肝性脳症の診断における NIRS の有用性の検討. 第 43 回日本肝臓学会総会 5.31, 2007 東京
- 15) 須田剛生, 中川美奈, 坂本直哉, 陳 正新, 井津井康浩, 箆島裕子, 田坂めぐみ, 櫻井 幸, 小貫優子, 榎本信幸, 渡辺 守. C 型慢性肝炎に対する Peg-IFN α 2b/Ribavirin 併用療法の早期治療効果予測因子の解析. 第 43 回日本肝臓学会総会 6.1, 2007 東京
- 16) 小貫優子, 中川美奈, 坂本直哉, 陳 正新, 井津井康浩, 箆島裕子, 田坂めぐみ, 櫻井 幸, 渡辺秀樹, 榎本信幸, 渡辺 守. Genotype2 の C 型慢性肝炎に対する interferon 投与プロトコールと治療効果の比較. 第 43 回日本肝臓学会総会 6.1, 2007 東京
- 17) 箆島裕子, 坂本直哉, 中川美奈, 田坂めぐみ, 櫻井 幸, 井津井康浩, 陳 正新, 榎本信幸, 脇田隆字, 渡辺 守. Plaque-forming assay を用いた細胞障害性 HCV の選択と昨日解析. 第 43 回日本肝臓学会総会 6.1, 2007 東京
- 18) 田坂めぐみ, 坂本直哉, 中川美奈, 井津井康浩, 箆島裕子, 櫻井 幸, 陳 正新, 榎本信幸, 渡辺 守. HCV-NS4B 蛋白による interferon 発現応答抑制機構の解析. 第 43 回日本肝臓学会総会 6.1, 2007 東京
- 19) 雨宮史武, 前川伸哉, 金山明日香, 北村敬利, 井上泰輔, 坂本 穰, 岡田俊一, 榎本信幸. 細胞内脂質制御による C 型肝炎治療の可能性. 第 43 回日本肝臓学会総会 6.1, 2007 東京
- 20) 坂本 穰. Y-PERS における治療効果規定因子の解析. 第 1 回東京肝疾患研究会 (PERFECT) 6.23, 2007 東京
- 21) 坂本 穰, 井上泰輔, 榎本信幸. ISDR からみた C 型慢性肝炎の PEG-IFN/Ribavirin 療法の解析. DDW-Japan 2007 (シンポジウム) 10.18, 2007 神戸
- 22) 前川伸哉, 金山明日香, 雨宮史武, 高野伸一, 松井 啓, 宮崎千賀子, 山口達也, 進藤邦明, 北村敬利, 井上泰輔, 坂本 穰, 岡田俊一, 榎本信幸. 肝移植症例における HCV 遺伝子構造変化の解析. 第 11 回日本肝臓学会大会 (ポスター) 10.18, 2007 神戸
- 23) 雨宮史武, 前川伸哉, 金山明日香, 北村敬利, 井上泰輔, 坂本 穰, 岡田俊一, 榎本信幸. HCV レプリコンに対する脂質代謝抑制剤の効果. 第 11 回日本肝臓学会大会 (ポスター) 10.18, 2007 神戸

24) 井上泰輔, 坂本 稔, 雨宮史武, 北村敬利, 植竹智義, 前川伸哉, 岡田俊一, 榎本信幸. C型慢性肝炎に対する PEG-IFN α 2a 単独療法の治療成績. 第 11 回日本肝臓学会大会 (ポスター) 10.18, 2007 神戸

25) 柏木賢治, 志村浩己, 小林哲郎, 今村俊一, 増山敬祐, 坂本 稔, 榎本信幸, 塚原重雄. インターネットを用いた慢性疾患診療支援システムの現状. 第 27 回医療情報学連合大会 11, 2007 神戸

21 年度

1. 論文発表

1) Mutations in the interferon sensitivity determining region and virological response to combination therapy with pegylated-interferon alpha 2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C-1b infection.

Nakagawa M, Sakamoto N, Ueyama M, Mogushi K, Nagaie S, Itsui Y, Azuma S, Kakinuma S, Tanaka H, Enomoto N, Watanabe M.

J Gastroenterol. 2010 Jan 30.

2) A predictive model of response to peginterferon ribavirin in chronic hepatitis C using classification and regression tree analysis.

Kurosaki M, Matsunaga K, Hirayama I, Tanaka T, Sato M, Yasui Y, Tamaki N, Hosokawa T, Ueda K, Tsuchiya K, Nakanishi H, Ikeda H, Itakura J, Takahashi Y, Asahina Y, Higaki M, Enomoto N, Izumi N.

Hepatol Res. 2010 Mar 1;40(3):251-60. Epub 2010 Jan 11.

3) HCV genetic elements determining the early response to peginterferon and ribavirin therapy.

Enomoto N, Maekawa S.

Intervirology. 2010;53(1):66-9. Epub 2010 Jan 5.

4) Comparison of HCV-associated gene expression and cell signaling pathways in cells with or without HCV replicon and in replicon-cured cells.

Nishimura-Sakurai Y, Sakamoto N, Mogushi K, Nagaie S, Nakagawa M, Itsui Y, Tasaka-Fujita M, Onuki-Karakama Y, Suda G, Mishima K, Yamamoto M, Ueyama M, Funaoka Y, Watanabe T, Azuma S, Sekine-Osajima Y, Kakinuma S, Tsuchiya K, Enomoto N, Tanaka H, Watanabe M.

J Gastroenterol. 2010 May;45(5):523-36. Epub 2009 Dec 12.

5) Prolonged treatment with pegylated interferon alpha 2b plus ribavirin improves sustained virological response in chronic hepatitis C genotype 1 patients with late response in a clinical real-life setting in Japan.

Watanabe S, Enomoto N, Koike K, Izumi N, Takikawa H, Hashimoto E, Moriyasu F, Kumada H, Imawari M; PERFECT Study Group.

Hepatol Res. 2010 Feb;40(2):135-44. Epub 2009 Sep 25.

6) Inhibition of hepatitis C virus replication by chloroquine targeting virus-associated

autophagy.

Mizui T, Yamashina S, Tanida I, Takei Y, Ueno T, Sakamoto N, Ikejima K, Kitamura T, Enomoto N, Sakai T, Kominami E, Watanabe S.

J Gastroenterol. 2010 Feb; 45(2): 195- 203. Epub 2009 Sep 17.

7) Viral factors influencing the response to the combination therapy of peginterferon plus ribavirin in chronic hepatitis C.

Maekawa S, Enomoto N.

J Gastroenterol. 2009;44(10):1009-15. Review.

8) Two flavonoids extracts from Glycyrrhizae radix inhibit in vitro hepatitis C virus replication.

Sekine-Osajima Y, Sakamoto N, Nakagawa M, Itsui Y, Tasaka M, Nishimura-Sakurai Y, Chen CH, Suda G, Mishima K, Onuki Y, Yamamoto M, Maekawa S, Enomoto N, Kanai T, Tsuchiya K, Watanabe M.

Hepatol Res. 2009 Jan;39(1):60-9. Epub 2008 Jul 20.

1) ウイルス性肝炎の最新の治療と展望

Author：榎本信幸(山梨大学 第一内科)

Source：日本内科学会雑誌(0021-5384)99 巻 3 号 Page499-505(2010.03)

1) 【ウイルス肝炎の最新実地診療 抗ウイルス療法のコツと落とし穴】 ウイルス肝炎診療に必要な知見 Up to Date 最新の検査と臨床

肝炎ウイルスの遺伝子解析 病態・治療効果との関連 C型肝炎ウイルス(HCV)

Author：三浦美香(山梨大学 医学部第1内科), 坂本穰, 榎本信幸

Source：Medical Practice(0910-1551)27 巻 1 号 Page65-68(2010.01)

2) 【新しい臨床検査】 消化器 B型肝炎マーカー

Author：井上泰輔(山梨大学 医学部内科学講座第1教室), 榎本信幸

Source：診断と治療(0370-999X)97 巻 9 号 Page1817-1822(2009.09)

3) 【C型慢性肝炎のペグインターフェロンとリバビリン療法の治療成績と投与の工夫】 ウイルス変異からみたC型慢性肝炎の治療法

Author：坂本穰(山梨大学 大学院医学工学総合研究部肝疾患地域先端医療システム学講座), 榎本信幸

Source：消化器科(0289-8756)49 巻 1 号 Page79-84(2009.07)

4) 【ここが知りたいウイルス性肝炎への抗ウイルス療法の問題点と将来展望】 C型肝炎 PEG-IFN/Riba 治療の治療効果予測

Author：榎本信幸(山梨大学 医学部内科学講座第1教室), 坂本穰, 前川伸哉

Source：肝・胆・膵(0389-4991)58 巻 5 号 Page635-640(2009.05)

5) 【ウイルス性肝炎 最新治療コンセンサス】 C型肝炎 C型肝炎ウイルス変異に基づく治療戦略

Author：坂本穰(山梨大学 大学院医学工学総合研究部肝疾患地域先端医療システム学講座), 榎本信幸

Source：医学のあゆみ(0039-2359)229 巻 1 号 Page59-63(2009.04)