

- France, October 2009.
- 5) Nishimura G, Ikeda M, Mori M, Nakazawa T, Ariumi Y, Dansako H, Kato N. Replicons from genotype 1b HCV-positive sera exhibit diverse sensitivities to anti-HCV reagents. 16th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Nice, France, October 2009.
  - 6) 森 京子、池田 正徳、有海 康雄、團迫 浩方、加藤 宣之。リバビリンの抗 HCV 活性を解析評価できる Li23 細胞由来の HCV-RNA 複製システム。第57回日本ウイルス学会学術集会、東京、2009年10月。
  - 7) 池田 正徳、森 京子、有海 康雄、團迫 浩方、加藤 宣之。オンコスタチン M はインターフェロンの抗 HCV 活性を相乗的に増強する。第57回日本ウイルス学会学術集会、東京、2009年10月。
  - 8) 河合 良成、池田 正徳、阿部 健一、矢野 雅彦、有海 康雄、團迫 浩方、加藤 宣之、山本 和秀。全長 HCV-RNA 複製細胞を基に作成した IFN 治療後再発モデルによる有効な治療法に検討・評価。第44回日本肝臓学会総会、松山、2008年6月。
  - 9) Kato N, Mori K, Abe K, Dansako H, Ariumi Y, Wakita T, Ikeda M. A new human hepatoma cell line enabling persistent reproduction of HCV life cycle and assay for anti-HCV reagents. 15th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, San Antonio, Texas USA, October 2008.
  - 10) Kawai Y, Ikeda M, Abe K, Yano M, Ariumi Y, Dansako H, Yamamoto K, Kato N. Genome-length HCV RNA replicating cells possessing IFN- $\alpha$  resistant phenotype for the development of relapse model. 15th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, San Antonio, Texas USA, October 2008.
  - 11) Mori K, Abe K, Dansako H, Ariumi Y, Ikeda M, Kato N. New efficient replication system with HCV genome derived from a patient with acute hepatitis 15th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, San Antonio, Texas USA, October 2008.
  - 12) 池田 正徳、森 京子、西村 剛、阿部 健一、有海 康雄、團迫 浩方、中沢 貴秀、加藤 宣之。異なる 1b 型 HCV 陽性血清由来の全長 HCV RNA 複製レポーターアッセイ系の開発。第56回日本ウイルス学会学術集会、岡山、2008年10月。
  - 13) 河合 良成、池田 正徳、阿部 健一、矢野 雅彦、有海 康雄、團迫 浩方、山本 和秀、加藤 宣之。IFN 抵抗性全長 HCV-RNA 複製細胞の特徴および有効な治療法を見出すための治療後再発モデルの構築。第56回日本ウイルス学会学術集会、岡山、2008年10月。
  - 14) 西村 剛、池田 正徳、有海 康雄、團迫 浩方、中沢 貴秀、加藤 宣之。異なる HCV 陽性血清由来の 1b 型 HCV レプリコン複製細胞株の樹立と薬剤感受性の評価。第56回日本ウイルス学会学術集会、岡山、2008年10月。
  - 15) 加藤 宣之、森 京子、阿部 健一、團迫 浩方、有海 康雄、脇田 隆字、池田正徳。新しいヒト肝癌細胞

株 Li23 を用いた HCV 生活環再現システム. 第56回日本ウイルス学会学術集会、岡山、2008年10月.

16) Mori K, Abe K, Dansako H, Ariumi Y, Ikeda M, Kato N. New efficient replication system with hepatitis C virus genome derived from a patient with acute hepatitis C. 第67回日本癌学会学術総会、名古屋、2008年10月.

17) Ikeda M, Mori K, Abe K, Nishimura G, Dansako H, Ariumi Y, Nakazawa T, Kato N. Development of genome-length HCV RNA replication reporter assay systems using various genotype 1b HCV strains. 第67回日本癌学会学術総会、名古屋、2008年10月.

18) Kato N, Abe K, Mori K, Ariumi Y, Dansako H, Ikeda M. HCV genetic variability and dynamics in long-term culture of genome-length HCV RNA replicating cells. 第66回日本癌学会学術総会、横浜、2007年10月.

19) Kato N, Abe K, Mori K, Ariumi Y, Dansako H, Ikeda M. HCV genetic variability and dynamics in long-term culture of genome-length HCV RNA-replicating cells. 14<sup>th</sup> International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Glasgow, UK, September, 2007.

20) 加藤 宣之、阿部 健一、森 京子、有海 康雄、團迫 浩方、池田 正徳. 全長 HCV RNA 複製細胞の長期培養により生じる HCV の遺伝的多様性. 第55回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007年10月.

21) 森 京子、阿部 健一、團迫 浩方、有海 康雄、池田 正徳、加藤 宣之. C型急性肝炎患者血清由来の

1b型 HCV レプリコン複製細胞株の樹立. 第55回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007年10月.

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

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

HBV、HCV全塩基配列に基づく薬剤耐性機序に関する研究

研究代表者 榎本信幸 山梨大学 第1内科教授

研究要旨: B型、C型慢性肝炎患者の血清から抽出した感染ウイルスの遺伝子配列をPCR/direct sequence 法により決定し、肝病態、抗ウイルス剤による治療効果との関連を検討した。また、肝病態との関連が報告されているC型肝炎ウイルス(HCV) core 70、91変異の機能解析を行った。B型慢性肝炎76例のB型肝炎ウイルス(HBV)全塩基配列と肝病態との関連、肝発癌24例と非発癌20例におけるHBV全塩基配列の比較を行い、病期の進行とともに遺伝子変異の増加がみられ、肝発癌は特定の遺伝子変異、欠失との関連が認められた。ラミブジン投与49例、ラミブジン耐性アデフォビル併用51例の検討では、逆転写酵素領域の変異数とrtL180M+rtM204Vの変異が各々のウイルス学的効果と関連していた。C型慢性肝炎ではPEG-IFNとリバビリン(RBV)併用治療が施行された1型高ウイルス量104例を対象として治療効果に関連する遺伝子変異を検討し、E1の330TがRVR(投与4週後のHCV-RNA 2log以上減少)と、Coreの91LがRVR、EVR(12週後のHCV-RNA 2log以上減少)、SVRと、ISDR $\geq$ 2がSVRと関連していた。さらに各種臨床背景を含めた多変量解析により、Core70R、91Lのdouble wild(DW)はRVR、EVR、SVR、NRと有意な関連が認められた。また、genotype 1のC型慢性肝炎361例(平均観察期間10年)についてHCV core変異と肝発癌の関連を各種臨床背景因子とともに多変量解析で検討したところcore non-DWが発癌に関与する有意な因子であった。PEG-IFN/RBV治療効果や肝発癌と関連の認められたcore70、91の機能解析を行うため発現plasmidを作成し肝癌細胞株HepG2に遺伝子導入しstable cell lineを作成した。IFNおよびcytokineシグナル伝達系にはcore変異による明らかな差異はみられなかったが、real-time PCRによる遺伝子発現の検討では一部のサイトカイン関連遺伝子の発現レベルに違いがみられ、今後更なる検討が必要であると考えられた。B型慢性肝炎およびC型慢性肝炎におけるウイルス遺伝子変異は各種病態、発癌、抗ウイルス剤の治療効果と密接に関係していたが、今後は宿主側因子も含めた検討が必要であると思われる。

研究分担者 横須賀 収・  
千葉大学大学院腫瘍内科学教授

響について検討した。

#### A. 研究目的

B型慢性肝炎、C型慢性肝炎における感染ウイルスの全塩基配列を決定し、各種病態、薬剤耐性、治療効果と関連するウイルス側因子を検討した。

HCV core変異はPEG-IFN/RBV併用治療の効果や肝発癌との関連が認められたが、その作用機序は不明である。そこでCore70/91アミノ酸変異が細胞内IFNおよびcytokineシグナル伝達に与える影

#### B. 研究方法

凍結保存した患者血清より、DNAを抽出しPCR法により増幅後、direct sequence 法により塩基配列を決定し、患者病態との関連を検討した。患者からはウイルス遺伝子検査の同意は得ており本研究の遂行に問題はないと考えられる。

B型慢性肝炎に関しては76例のgenotype C2キャリアー(eAg無症候性キャリア12例、eAg慢性肝疾患46例、eAb慢性肝疾患18例)における各種病態との関連を検討し、発癌に関しては24例の肝発

癌例と20例の非発癌例の比較を行った。またラミブジン治療49例における治療効果との関連、ラミブジン耐性でアデフォビル併用した51例におけるウイルス学的治療効果との関連を検討した。

C型慢性肝炎に関しては、1型高ウイルス量 ( $\geq 100$  KIU/ml)患者 104例を対象とした。治療法は、PEG-IFN  $\alpha$ -2b 1.5  $\mu$ g/kg 週1回、リバビリン (RBV) は体重別に600-1000mg/日を48週間投与した。SVR 5例とnull response (NR) 5例を対象にHCV-RNAの全塩基配列を決定、アミノ酸配列を1か所ごとにHCV-J株と比較し2群間でwild-typeの割合を比較、差の大きいアミノ酸部位を抽出した。抽出したアミノ酸部位を33例で検討し、引き続き治療効果との関連が認められた部位を治療関連候補部位とした。治療関連候補部位とCore 70R、91L、ISDR、PKRBDについて104例で配列を決定しRVR、EVR、SVRとの関連を検討した。さらにCore 70R、91L、ISDRと臨床背景因子を加えてウイルス効果に関連する因子を多変量解析で検討した。

C型肝炎における発癌とHCV core70/91変異の関連を調べるために、肝生検でC型慢性肝炎と診断されたgenotype 1の361例(平均観察期間10年)について各種臨床背景因子とともに多変量解析で検討した。また、Core70、91変異を導入した発現plasmidを作成し、その機能解析を行うため、肝癌細胞株HepG2に遺伝子導入しStable cell lineを作成した。①各Cell lineの細胞増殖能の検討(MTS assayで評価)、②HCV増殖能の検討(レプリコン細胞に対するコア変異の影響をreal-time PCRで評価)、③外因性薬剤刺激に対する反応性の比較(レポーターアッセイ); IFN  $\alpha$ /RBV, poly I.C., TNF- $\alpha$ に対する、ISRE, IFN  $\beta$ , NF- $\kappa$ Bの活性化を検討、④STAT1およびpSTAT1の発現をWestern blottingにより比較検討、⑤Real-time PCRによる検討I; 各cell lineよりRNAを抽出、Cytokine関連遺伝子の発現をreal-time RT-PCRにて測定し比較検討した。

### C. 研究結果

76例のB型肝炎genotypeC2の解析では病期の進行とともに遺伝子変異は増加し、特にprecore/core領域、X領域、preS2領域に顕著であった。肝発癌24例を非発癌20例と比較検討したところ、発癌例に遺伝子変異の頻度が高く、特にpreS2欠失、Xプロモーター領域の変異が発癌

の予測因子になると考えられた。

また、49例のラミブジン治療例における治療効果とウイルス遺伝子変異との検討では、投与24週以内にHBV-DNA $<2.6$  logcopies/mlになる症例では、プレコア領域のG1896A変異、エンハンサー1領域のA1287G/C変異、および逆転写酵素領域の変異数が有意に多く認められた。

ラミブジン耐性でアデフォビル併用した51例のIVR(投与24週目におけるHBV-DNA $<4.0$  log copies/ml)と関連するウイルス因子に治療前のHBV-DNA量とともにrtL180M+rtM204Vの変異が認められた。

C型肝炎PEG-IFN、RBV併用治療例では、SVR5例とNR5例のウイルス遺伝子全塩基配列を比較検討し、①E1領域の308I、330T、E2領域の477P、NS2領域の983I、1942A、NS5A領域の2064A、NS5B領域の2554D、2906Sの8か所に差が認められた。②この8か所について33例でSVR、RVR、EVRとの関連を調べたところ、308I、330T、983I、1942AはSVRと、330T、983IはRVR、EVRと有意に関連が認められた。③そこで、さらに104例で308I、330T、983Iの3か所とSVR、RVR、EVRとの関連を検討したところ330TがRVRとのみ有意に関連していた。④さらに104例でCore 70R、91LとSVR、RVR、EVRとの関連を検討したところ、Core 91LとSVR、RVR、EVRが、Core 70/91 double wild (DW)とSVR、RVRが有意に関連していた。⑤ISDRとPKRBD領域の塩基変異数とSVR、RVR、EVRとの関連では、ISDR $\geq 2$ はSVRと有意な関連が認められたが、PKRBD $\geq 6$ は効果との関連は見られなかった。⑥Core 70R、91LとISDR変異数に各種臨床背景を含めた因子のなかでSVR、RVR、EVRに関連する因子を多変量解析により検討したところ、Core 70R、91LのDWはRVR、EVR、SVR、NRと有意な関連が認められた。また、ISDR $\leq 1$ かつコアnon-DWで60歳以上の症例はSVR率が2/19(11%)と最も低く難治であった。

C型肝炎における肝発癌の危険因子として、男性、高齢、線維化進展、非SVR、AST高値、AST/ALT比高値とともにHCV core 70/91 non-DWが有意な因子として認められ、core70/91は肝硬変への進展にも関連が見られた。

PEG-IFN/RBV治療効果、肝発癌と関係の認められたCore70/91の機能解析を行うためcore70/91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を作成した。①各stable細胞における細胞増殖能に違いはみられなかった。②各stable細胞の上清添加、あるいはcoreを一過性に導入したレプリコン細胞においてHCV増殖能に差はなかった。③IFN/RBV投与後のISREプロモーター活性、TNF投与におけるNFkB活性、Poly I . C. 投与におけるIFNβ活性はcore 70/91変異による明らかな差異を認めなかった。④IFN投与後にpSTAT1の活性化がみられたがcore70/91変異による明らかな活性化の違いはみられなかった。⑤core70/91変異導入細胞でCHUKとHSPD1遺伝子の発現低下がみられた。

#### D. 考察

B型慢性肝炎では、多数例で全塩基配列を決定し解析することにより、遺伝子変異と病態、治療効果との関連を詳細に検討することができた。

C型慢性肝炎では、SVR例とNR例の全塩基配列の比較により、SVRと関連する遺伝子変異部位として、従来報告されていたCore 70R、91L以外の新たな部位は抽出できなかった。Core のDWとISDR≥2とを組み合わせることにより、SVRの予測に有用であることが示された。また、core non-DWは肝発癌にも関連する有意な危険因子であることが示された。

Core 70/91変異の機能解析ではインターフェロン反応性に明らかな差異はみられなかったが、Real-time PCRによる検討では一部のCytokine関連遺伝子の発現レベルに違いがみられ、抽出された個々の遺伝子について今後更なる検討が必要であると考えられた。

#### E. 結論

B型慢性肝炎のウイルス遺伝子変異、欠失は各種病態、発癌と密接に関係していた。

C型慢性肝炎のHCV-RNA 1型高ウイルス例における、core 70R、91Lの変異は、PEG-IFN/RBV併用療法のウイルス学的治療効果および肝発癌と有意に関連していた。今後は宿主側因子も含めた検討が必要であると思われる。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Chiba T, Kamiya A, Yokosuka O, Iwama A. Cancer stem cells in hepatocellular carcinoma: Recent progress and perspective. *Cancer Lett.* 2009 Dec 28;286(2):145-53.
2. Nakamoto S, Imazeki F, Fukai K, Fujiwara K, Arai M, Kanda T, Yonemitsu Y, Yokosuka O. Association between mutations in the core region of hepatitis C virus genotype 1 and hepatocellular carcinoma development. *J Hepatol.* 2009 Oct 23.
3. Kanda T, Gauss-Müller V, Cordes S, Tamura R, Okitsu K, Shuang W, Nakamoto S, Fujiwara K, Imazeki F, Yokosuka O. Hepatitis A virus (HAV) proteinase 3C inhibits HAV IRES-dependent translation and cleaves the polypyrimidine tract-binding protein. *J Viral Hepat.* 2009 Nov 2.
4. Yonemitsu Y, Imazeki F, Chiba T, Fukai K, Nagai Y, Miyagi S, Arai M, Aoki R, Miyazaki M, Nakatani Y, Iwama A, Yokosuka O. Distinct expression of polycomb group proteins EZH2 and BMI1 in hepatocellular carcinoma. *Hum Pathol.* 2009 Sep;40(9):1304-11.
5. Fujiwara K, Kojima H, Yonemitsu Y, Yasui S, Imazeki F, Miki M, Suzuki K, Sakaida I, Okita K, Tanaka E, Omata M, Yokosuka O. Phylogenetic analysis of hepatitis A virus in sera from patients with hepatitis A of various severities. *Liver Int.* 2009 Jul;29(6):838-45.
6. Kobashi H, Fujioka S, Kawaguchi M, Kumada H, Yokosuka O, Hayashi N, Suzuki K, Okanoue T, Sata M, Tsubouchi H, Sato C, Kiyosawa K, Tanikawa K, Seriu T, Ishikawa H, Takaki A, Iwasaki Y, Osawa T, Takaki T, Sakaguchi K, Shiratori Y, Yamamoto K, Tenney DJ, Omata M. Two cases of development of entecavir resistance during entecavir treatment for nucleoside-naive chronic.

- hepatitis B. *Hepatol Int.* 2009 Jun;3(2):403-10.
7. Kobashi H, Takaguchi K, Ikeda H, Yokosuka O, Moriyama M, Imazeki F, Kage M, Seriu T, Omata M, Sakaguchi K, Shiratori Y. Efficacy and safety of entecavir in nucleoside-naive, chronic hepatitis B patients: phase II clinical study in Japan. *J Gastroenterol Hepatol.* 2009 Feb;24(2):255-61.
  8. Nakamoto S, Kanda T, Yonemitsu Y, Arai M, Fujiwara K, Fukai K, Kanai F, Imazeki F, Yokosuka O. Quantification of hepatitis C amino acid substitutions 70 and 91 in the core coding region by real-time amplification refractory mutation system reverse transcription-polymerase chain reaction. *Scand J Gastroenterol.* 2009;44(7):872-7.
  9. Chiba T, Miyagi S, Saraya A, Aoki R, Seki A, Morita Y, Yonemitsu Y, Yokosuka O, Taniguchi H, Nakauchi H, Iwama A. The polycomb gene product BMI1 contributes to the maintenance of tumor-initiating side population cells in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2008; 68 (19): 7742-7749.
  10. Tada M, Kanai F, Tanaka Y, Tateishi K, Ohta M, Asaoka Y, Seto M, Muroyama R, Fukai K, Imazeki F, Kawabe T, Yokosuka O, Omata M. Down-regulation of hedgehog-interacting protein through genetic and epigenetic alterations in human hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2008; 14 (12): 3768-3776.
  11. Inada M, Yokosuka O. Current antiviral therapies for chronic hepatitis B. *Hepatol Res.* 2008;38 (6):535-542.
  12. Imazeki F, Yokosuka O, Fukai K, Kanda T, Kojima H, Saisho H. Prevalence of diabetes mellitus and insulin resistance in patients with chronic hepatitis C: comparison with hepatitis B virus-infected and hepatitis C virus-cleared patients. *Liver Int* 2008; 28 (3): 355-362.
  13. Fujiwara K, Yasui S, Yonemitsu Y, Fukai K, Arai M, Imazeki F, Suzuki A, Suzuki H, Sadahiro T, Oda S, Yokosuka O. Efficacy of combination therapy of antiviral and immunosuppressive drugs for the treatment of severe acute exacerbation of chronic hepatitis B. *J Gastroenterol.* 2008; 43(9):711-719.
  14. Fujiwara K, Kojima H, Yonemitsu Y, Yasui S, Imazeki F, Miki M, Suzuki K, Sakaida I, Okita K, Tanaka E, Omata M, Yokosuka O. Phylogenetic analysis of hepatitis A virus in sera from patients with hepatitis A of various severities. *Liver Int.* 2008 Nov 25.
  15. Zhang KY, Imazeki F, Fukai K, Arai M, Kanda T, Mikata R, Yokosuka O. Analysis of the complete hepatitis B virus genome in patients with genotype C chronic hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci.* 2007; 98:1921-1929.
  16. Fukai K, Zhang KY, Imazeki F, Kurihara T, Mikata R, Yokosuka O. Association between lamivudine sensitivity and the number of substitutions in the reverse transcriptase region of the hepatitis B virus polymerase. *J Viral Hepat.* 2007; 14: 661-666.
  17. Zhang K, Imazeki F, Fukai K, Arai M, Kanda T, Mikata R, Yokosuka O. Analysis of the complete hepatitis B virus genome in patients with genotype C chronic hepatitis in relation to HBeAg and anti-HBe. *J Med Virol.* 2007; 79: 683-693.

## 2. 学会発表

1. 中本晋吾、今関文夫、深井健一、藤原慶一、新井誠人、米満裕、神田達郎、横須賀收. HCV コア aa70、91 変異に  
関係する臨床背景の検討. 第 45 回日本  
肝臓学会総会 神戸(2009/6/4).  
肝臓 50 卷 A70, 2009 年
2. 今関文夫、深井健一、横須賀 收. HBV  
変異と病態. 第 45 回日本肝臓学会総  
会 神戸(2009/6/4). 肝臓 50 卷 A37,  
2009 年
3. 今関文夫、中本晋吾、横須賀收.  
PEG-IFN、RBV 併用治療無効例の背景  
と対策. 第 13 回日本肝臓学会大会  
京都(2009/10/14). 肝臓 50 卷 A452,  
2009 年
4. 中本晋吾、今関文夫、米満裕、新井誠、  
神田達郎、藤原慶人、深井健一、金井  
文彦、横須賀收. HCV コア変異の IFN  
シグナルに与える影響に関する解析.  
第 13 回日本肝臓学会大会 京都  
(2009/10/14). 肝臓 50 卷 A516, 2009  
年
5. 中本晋吾、今関文夫、米満裕、新井誠、  
神田達郎、藤原慶人、深井健一、金井  
文彦、横須賀收. HCV コア変異と肝発  
癌との関連に関する解析. 第 13 回日  
本肝臓学会大会 京都(2009/10/14).  
肝臓 50 卷 A559, 2009 年
6. 神田達郎、今関文夫、横須賀收. C 型  
肝炎ウイルス NS5A によるインターフ  
ェロンガンマ産生抑制の検討. 第 51  
回日本消化器病学会大会 京都  
(2009/10/14) 日本消化器病学会雑誌  
106 卷、A555, 2009 年
7. 今関文夫、中本晋吾、横須賀收.  
PEG-IFN、RBV 併用治療無効例の背景  
と対策. 第 51 回日本消化器病学会大  
会 京都(2009/10/14) 日本消化器病  
学会雑誌 106 卷、A629, 2009 年
8. Nakamoto S, Imazeki F, Fukai K,  
Fujiwara K, Arai M, Kanda T, Kanai  
F, Yokosuka O. Association of  
hepatitis C virus core mutation  
with hepatocarcinogenesis. 13th  
International Symposium on Viral  
Hepatitis and Liver Disease.  
Washington DC. (2009/3/24).
9. 深井健一、今関文夫、横須賀 收. 核  
酸アナログ製剤を用いた B 型慢性肝  
疾患の治療成績. 第 94 回日本消化器  
病学会総会 福岡, 2008/5/10.
10. 今関文夫、深井健一、藤原慶一、新井  
誠人、米満裕、中本晋吾、横須賀 收.  
C 型慢性蔓延に対するペグインターフ  
ェロン、リバビリン併用治療の成績と  
治療不応例の対策. 第 44 回日本肝  
臓学会総会 松山, 2008/6/5.
11. 深井健一、今関文夫、藤原慶一、新井  
誠人、米満裕、呉霜、江東玲子、横  
須賀 收. B 型慢性肝疾患に対する核  
酸アナログ剤の長期治療効果. 第 44  
回日本肝臓学会総会 松山,  
2008/6/6.
12. 深井健一、今関文夫、藤原慶一、新井  
誠人、米満裕、呉霜、榎昇、横須  
賀 收. Lamivudine 長期投  
与中の B 型慢性肝炎例に対する HB ワ  
クチン併用療法の治療効果について.  
第 44 回日本肝臓学会総会 松山,  
2008/6/6.
13. 今関文夫、中本晋吾、横須賀 收. ペ  
グインターフェロン、リバビリン併用  
治療の有効性向上を目指して. 第 50  
回日本消化器病学会大会 (JDDW2008)  
東京, 2008/10/1
14. 深井健一、今関文夫、横須賀 收.  
Lamivudine 耐性 B 型慢性肝炎に対  
する核酸アナログ治療の有効性と耐性  
出現に関する検討. 第 12 回日本肝臓  
学会大会 (JDDW2008) 東京,  
2008/10/2.
15. 中本晋吾、今関文夫、深井健一、藤原  
慶一、新井誠人、米満裕、横須賀 收.  
PEG-IFN、RBV 併用治療効果に影響す  
る HCV-RNA 遺伝子変異の解析. 第 50  
回日本消化器病学会大会 (JDDW2008)  
東京, 2008/10/2.
16. 深井健一、今関文夫、横須賀 收.  
Lamivudine 耐性 B 型慢性肝疾患に対  
する adefovir 併用療法の長期治療  
成績と抗ウイルス効果に関与する因  
子の検討. 第 37 回日本肝臓学会東部  
会 東京, 2008/12/3.
17. 今関文夫、中本晋吾、横須賀 收. ペ  
グインターフェロン、リバビリン併用  
療法における HCV-RNA 陰性化時期別  
SVR に寄与する因子の検討. 第 37 回  
日本肝臓学会東部会 東京,  
2008/12/4.
18. 中本晋吾、今関文夫、深井健一、藤原  
慶一、新井誠人、米満裕、横須賀 收.  
PEG-IFN、RBV 併用治療効果に影響す

る HCV-RNA 遺伝子変異の解析. 第 37  
回日本肝臓学会東部会 東京,  
2008/12/3.

19. Nakamoto S, Imazeki F, Fukai K,  
Fujiwara K, Arai M, Yokosuka O.  
Association of hepatitis C virus  
core mutation with resistance to a  
combination therapy of pegylated  
interferon and ribavirin.  
EASL-AASLD-APASL-ALEH-IASL  
Conference Paris, France,  
2008/02/
20. O. Yokosuka, H. Kumada, J. Toyota,  
K. Takaguchi, H. Kobashi, M.  
Shindo, S. Fujioka, N. Hayashi, K.  
Chayama, M. Sata, N. Izumi, S.  
Mochida, H. Ikeda, Y. Katano, E.  
Orito, K. Suzuki, T. Okanoue, H.  
Tsubouchi, H. Ishikawa, T. Seriu,  
and M. Omata. Three-Year Assessment  
of Entecavir (ETV) Resistance in  
Nucleoside-Naive and Lamivudine  
(LVD) Refractory Japanese Patients  
with Chronic Hepatitis B (CHB).  
APASL 2008 SEOUL Seoul, Korea,  
2008/3/25.
21. N. Izumi, H. Kumada, J. Toyota, O.  
Yokosuka, H. Kobashi, M. Shindo, M.  
Sata, Y. Katano, E. Orito, M. Kage,  
M. Moriyama, F. Imazeki, C. Sato, K.  
Kiyosawa, K. Tanikawa, H. Ishikawa,  
T. Seriu, and M. Omata. Efficacy and  
Safety of 3 Years Treatment with  
Entecavir (ETV) in Lamivudine  
(LVD)-Refractory Japanese Chronic  
Hepatitis B (CHB) Patients. APASL  
2008 SEOUL Seoul, Korea,  
2008/3/26.

G. 知的所得権の所得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし



## Ⅱ. 研究成果の刊行に関する一覧表

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
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	坪内博仁 監修	コンセンサス 肝疾患 B型 肝炎・C型肝炎 の治療	日本メデ ィカルセ ンター	東京	2007	96-101
坂本 穰, 榎本 信幸	C型慢性肝炎	菅野健太 郎編集	消化器疾患最 新の治療 2007-2008	南江堂	東京	2007	287-29 1

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
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 の診療の実際 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
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
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
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
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.	197(3)	361-70	2008

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.	88(Pt 12)	3323-33	2007
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	371(1)	71-85	2008
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	Epub ahead of print		2007

## 別紙 4

## 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
榎本信幸	C型肝炎 正しい治療がわかる本			研友企画出版		2008.8.17	
松井 啓, 榎本信幸	からだと水の辞典 3. 病気と水代謝 3.9		肝硬変	朝倉書店		2008	286-293
北村敬利, 榎本信幸	25ウイルス肝炎		病期・病態・重症度からみた疾患別看護過程+病態関連図	医学書院		2008	461-469

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻	ページ	出版
Kurosaki M, Matsunaga K, Hirayama I, Tanaka T, Sato M, Komatsu N, Umeda N, Hosokawa T, Ueda K, Tsuchiya K, Nakanishi H, Itakura J, Asahina Y, Miyake S, Enomoto N, Izumi N.	The presence of steatosis and elevation of alanine aminotransferase levels are associated with fibrosis progression in chronic hepatitis C with non-response to interferon therapy.	J Hepatol	48(5)	736-42	2008 May
Jin H, Yamashita A, Maekawa S, Yang P, He L, Takayanagi S, Wakita T, Sakamoto N, Enomoto N, Ito M	Griseofulvin, an oral antifungal agent, suppresses hepatitis C virus replication in vitro.	Hepatol Res	38(9)	909-18	2008 Sep
Sakamoto N, Tanabe Y, Yokota T, Satoh K, Sekine-Osajima Y, Nakagawa M, Itsui Y, Tataka 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.	23(9)	1437-47	2008 Sep
Asahina Y, Izumi N, Hirayama I, Tanaka T, Sato M, Yasui Y, Komatsu N, Umeda N, Hosokawa T, Ueda K, T	Potential relevance of cytoplasmic viral sensors and related regulators involving innate immunity in antiviral response.	Gastroenterology.	134(5)	1396-405.	2008 May

suchiya K, Nakanishi H, Itakura J, Kurosaki M, <u>Enomoto N</u> , Tasaka M, Sakamoto N, Miyake S.					
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, <u>Enomoto N</u> , Kanai T, Tsuchiya K, Watana be M.	wo flavonoids extracts from Glycyrrhizae radix inhibit in vitro hepatitis C virus replication.	Hepato Res.	39(1)	60-9	2009 Jan;
北村敬利, 榎本信幸.	ウイルス肝炎からの発癌の早期発見 イメージ戦略—最新鋭の肝癌画像診断—.	Medical Practice	25(10)	1819-1824	2008
前川伸哉, 坂本穰, 榎本信幸.	Hepatitis Virus Genome Wide Analysis.	肝疾患Review 2008-2009		92-97	2008
三浦美香, 井上泰輔, 榎本信幸.	各種疾患の病態と輸液 69. 肝不全の輸液.	胃と透析2007 臨時増刊号		383-388	2008
三浦美香, 前川伸哉, 榎本信幸.	新しい治療 C型肝炎に対するプロテアーゼインヒビターとポリメラーゼインヒビター治療.	治療学	42(1)	91-93,	2008
北村敬利, 市川智昭, 相川良人, 佐野芳知, 榎本信幸, 荒木 力.	術前画像診断とNavigation Surgery 2.Navigation Surgeryに役立つ新しい画像診断法.	日本外科学会雑誌	109(2)	65-70	2008
坂本 穰, 榎本信幸.	特集Ⅱ 高齢者C型慢性肝炎に対する治療のあり方 ISDRからみた高齢者のC型慢性肝炎に対する治療法.	消化器科	46(4)	464-469	2008
坂本穰, 榎本信幸.	特集 C型肝炎のすべて・2009 Interferon sensitivity determining region: ISDR.	肝胆膵	57 (5)	773-779	2008
坂本穰, 榎本信幸.	特集 日本におけるC型肝炎治療のコンセンサス 5. ISDRにより治療効果はどう変わるか?	Progress in Medicine	28(11)	2647- 2651	2008
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)	422-428	2008

## 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

## 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
榎本信幸	ウイルス性肝炎の最新の治療と展望	日本内科学会雑誌	99 巻 3 号	499-505	2009
三浦美香, 坂本穰, 榎本信幸	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)	Medical Practice	27 巻 1 号	65-68	2009
井上泰輔, 榎本信幸	消化器 B 型肝炎マーカー	診断と治療	97 巻 9 号	1817-1822	2009
坂本穰, 榎本信幸	C 型慢性肝炎の治療法	消化器科	49 巻 1 号	79-84	2009
榎本信幸, 坂本穰, 前川伸哉	C 型肝炎 PEG-IFN/Riba 治療の治療効果予測	肝・胆・膵	58 巻 5 号	635-640	2009
坂本穰, 榎本信幸	C 型肝炎 C 型肝炎ウイルス変異に基づく治療戦略	医学のあゆみ	229 巻 1 号	59-63	2010
榎本信幸, 坂本穰	肝・胆・膵 C 型慢性肝炎	治療	91 巻 4 月増刊	962-967	2009
坂本穰, 榎本信幸	遺伝子変異からみた C 型慢性肝炎に対するインターフェロン治療効果予測	日本消化器病学会雑誌	106 巻 4 号	485-492	2009
坂本穰, 榎本信幸	治療効果予測とテーラード治療の可能性	消化器の臨床	12 巻 1 号	68-73	2009
前川伸哉, 榎本信幸	C 型肝炎に対する新規治療薬剤の開発状況	Virus Report	5 巻 2 号	40-44	2009
坂本穰, 榎本信幸	ウイルスゲノム・ヒトゲノム情報の治療への応用 Interferon sensitivity determining region ISDR	肝・胆・膵	57 巻 5 号	773-779	2009
坂本穰, 榎本信幸	ISDR により治療効果はどう変わるか?	Progress in Medicine	28 巻 11 号	2647-2651	2009

Nakagawa M, Sakamoto N, Ueyama M, Mogushi K, Nagaie S, Itsui Y, Azuma S, Kakinuma S, Tanaka H, Enomoto N, Watanabe M.	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.	J Gastroenterol.	Jan 30		2010
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.	A predictive model of response to peginterferon ribavirin in chronic hepatitis C using classification and regression tree analysis.	Hepatol Res.	40(3)	251-60	2010
Enomoto N, Maekawa S	HCV genetic elements determining the early response to peginterferon and ribavirin therapy.	Intervirology.	53(1)	66-9	2010
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	Comparison of HCV-associated gene expression and cell signaling pathways in cells with or without HCV replicon and in replicon-cured cells.	J Gastroenterol	45(5)	523-36	2009

Watanabe S, Enomoto N, Koike K, Izumi N, Takikawa H, Hashimoto E, Moriyasu F, Kumada H, Imawari M; PERFECT Study Group.	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.	Hepatol Res.	40(2)	135-44	2009
Mizui T, Yamashina S, Tanida I, Takei Y, Ueno T, Sakamoto N, Ikejima K, Kitamura T, Enomoto N, Sakai T, Kominami E, Watanabe S.	Inhibition of hepatitis C virus replication by chloroquine targeting virus-associated autophagy.	J Gastroenterol.	45(2)	195-203	2009
Maekawa S, Enomoto N.	Viral factors influencing the response to the combination therapy of peginterferon plus ribavirin in chronic hepatitis C.	J Gastroenterol	44(10)	1009-15	2009
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	Two flavonoids extracts from Glycyrrhizae radix inhibit in vitro hepatitis C virus replication	Hepatol Res	39(1)	60-9	2009



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
Morimoto M, Tanabe F, Kasai H, Ito M.	Effect of a thiol proteinase inhibitor, E-64-d, on susceptibility to infection with Staphylococcus aureus in Chediak-Higashi syndrome (beige) mice.	Int Immunopharmacol.	7	973-980	2007
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, Ito M, Enomoto N.	Targeting lipid metabolism in the treatment of hepatitis C virus infection.	J Infect Dis.	197	361-370	2008
Okuyama T, Kurata S, Tomimori Y, Fukunishi N, Sato S, Osada M, Tsukinoki K, Jin HF, Yamashita A, Ito M, Kobayashi S, Hata RI,	p63(TP63) elicits strong trans-activation of the MFG-E8/lactadherin/BA46 gene through interactions between the TA and DeltaN isoforms.	Oncogene	27	308-317	2008
Ikawa Y, Katoh I.					

Yang PT, Xiao WG, Zhao LJ, Lu J, He LM, Kasai H, Ito M	Increase in the level of macrophage colony-stimulating factor in patients with systemic lupus erythematosus.	Ann Rheum Dis.	67	429-430	2008
Jin H, Yamashita A, Maekawa S, Yang P, He L, Takayanagi S, Wakita T, Sakamoto N, Enomoto N, Ito M.	Griseofulvin, an oral antifungal agent, suppresses hepatitis C virus replication in vitro.	Hepatol Res.	38	909-918	2008
Kawamura T, Koyanagi Y, Nakamura Y, Ogawa Y, Yamashita A, Iwamoto T, Ito M, Blauvelt A, Shimada S.	Significant virus replication in Langerhans cells following application of HIV to abraded skin: relevance to occupational transmission of HIV	J Immunol.	180	3297-3304	2008
Tanabe F, Kasai H, He L, Kin T, Fujikado T, Kumamoto T, Hara T, Iwata T, Ito M.	Improvement of deficient natural killer activity and delayed bactericidal activity by a thiol proteinase inhibitor, E-64-d, in leukocytes from Chediak-Higashi syndrome patients in vitro.	Int Immunopharmacol.	9	366-370	2009

Ogawa Y, Kawamura T, Kimura T, Ito M, Blauvelt A, Shimada S.	Gram-positive bacteria enhance HIV-1 susceptibility in Langerhans cells, but not in dendritic cells, via Toll-like receptor activation	Blood.	1	5157-66	2009
---	--	--------	---	---------	------

## 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
朝比奈靖浩	C型肝炎の自然免疫系遺伝子発現プロファイルと抗ウイルス療法の治療効果	犬山シンポジウム記録刊行会	C型肝炎	Medical Tribune	東京	2009	13

## 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
Asahina Y, Izumi N, Hirayama I, Tanaka T, Sato M, Yasui Y, Komatsu N, Umeda N, Hosokawa T, Ueda K, Tsuchiya K, Nakanishi H, Itakura J, Kurosaki M, Enomoto N, Tasaka M, Sakamoto N, Miyake S.	Potential relevance of cytoplasmic viral sensors and related regulators involving innate immunity in antiviral response.	Gastroenterology	134	1396	2008
Itakura J, Kurosaki M, Itakura Y, Maekawa S, Asahina Y, Izumi N, Enomoto N	Reproducibility and usability of chronic virus infection model using agent-based simulation; comparing with a mathematical model	Biosystems	99	70	2009
Asahina Y, Nakanishi H, Izumi N.	Laparoscopic radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma.	Dig Endosc	21	67	2009
西口修平、泉並木、日野啓輔、鈴木文孝、熊田博光、伊藤義人、朝比奈靖浩、田守昭博、平松直樹、林紀夫、工藤正俊	日本肝臓学会コンセンサス神戸2009:C型肝炎の診断と治療	肝臓	50	665	2009
朝比奈靖浩	ペグインターフェロン・リビリン併用療法の難治要因	医学のあゆみ	229	77	2009
朝比奈靖浩、泉並木	C型慢性肝炎に対するペグインターフェロンとリビリン併用療法における治療成績と難治例に対する対策	消化器科	49	91	2009

## 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
------	---------	---------------	-------	------	-----	-----	-----

## 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
Mizukoshi E, <u>Nakamoto Y</u> , Arai K, Yamashita T, Mukaida N, Matsushima K, Matsui O, Kaneko S	Enhancement of tumor-specific T-cell responses by transcatheter arterial embolization with dendritic cell infusion for hepatocellular carcinoma.	Int. J. Cancer	(in press)		2009
Baba T, <u>Nakamoto Y</u> , Mukaida N	Crucial contribution of thymic Sirp alpha+ conventional dendritic cells to central tolerance against blood-borne antigens in a CCR2-dependent manner.	J. Immunol.	183(5)	3053-3063	2009
Iida, N., <u>Nakamoto, Y.</u> , Baba, T., Kakinoki, K., Li, Y. Y., Wu, Y., Matsushima, K., Kaneko, S., Mukaida, N	Tumor cell apoptosis induces tumor-specific immunity in a CCR2-dependent manner in mice.	J. Leukoc. Biol.	84(4)	1001-1010	2008
Sakai, Y., Honda, M., Fujinaga, H., Tatsumi, I., Mizukoshi, E., <u>Nakamoto, Y.</u> , Kaneko, S	Common transcriptional signature of tumor-infiltrating mononuclear inflammatory cells and peripheral blood mononuclear cells in hepatocellular carcinoma patients.	Cancer Res.	68(24)	10267-10279	2008