

201030021A

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

# 肝炎ウイルスと代謝・免疫系の 相互作用に関する包括的研究

(H21-肝炎-一般-010)

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 **小池和彦**

東京大学医学部消化器内科学 教授

平成23(2011)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

肝炎ウイルスと代謝・免疫系の相互作用に関する包括的研究

(H21-肝炎-一般-010)

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小池 和彦  
東京大学医学部消化器内科 教授

平成23（2011）年3月

## まえがき

我が国においては、300万人以上の方がC型肝炎ウイルス（HCV）あるいはB型肝炎ウイルス（HBV）に感染しており、慢性肝炎から肝硬変、肝癌へと到る連鎖に苦しんでいる。しかしながら、HCV感染症、HBV感染症には肝臓以外の臓器あるいは全身性の病態が存在する。例えば、C型肝炎には脂質代謝異常や糖代謝異常・インスリン抵抗性が合併しやすく、慢性肝炎の進行に影響を与えることも示唆されてきている。これはHCV感染が代謝性変化を誘発することともに、代謝性変化によってC型肝炎の病態に影響を受けるという相互作用によるものと考えられる。脂質代謝異常やインスリン抵抗性がC型慢性肝炎の進行そのもの、あるいはリバビリン併用ペグ・インターフェロン療法を中心とした抗ウイルス治療に与える影響も不明である。また、C型肝炎における脂質代謝異常や糖尿病が、脳血管疾患、心血管疾患等の動脈硬化性疾患の合併を増加させるのか否かについても不明である。また、Bリンパ球を初めとする免疫系とHCV、HBVの相互作用も重要な役割を演じている。本研究においては、肝炎ウイルスと代謝・免疫系の相互作用について、臨床的研究と基礎的研究の両面から病態・原因の究明を目指している。更に、これら代謝性変化の肝病変と患者の予後に対する影響を明らかにし、臨床的な健康障害の状況を明らかにして国民の健康増進に寄与することを目的とする。今年度の研究の結果、肝脂肪化、インスリン抵抗性がC型肝炎の進展に与える影響、肥満とHCV感染症病態の関係、代謝性変化による肝病態像の変化、脂質代謝とHCV増殖の相互作用について次第に明らかにされてきた。肝脂肪化のリバビリン併用ペグ・インターフェロン療法に対する抵抗性との関連性は我が国でも示されつつあるが、我が国におけるやインスリン抵抗性と治療効果との関連性はまだ確立されたとはいえない。今後の検討によって、C型肝炎、B型肝炎における代謝、免疫系との相互作用について、新しい知見が明らかになることが期待される。

最後に、本研究に貢献いただいていた研究分担者ならびに研究協力者の方々、また外からこの研究を支えて下さった多くの方々に、心から篤く御礼申し上げたい。

平成23年3月

研究代表者 小池 和彦  
東京大学医学部消化器内科

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

「肝炎ウイルスと代謝・免疫系の相互作用に関する包括的研究」班

平成22年度 班の構成

|       |                              |
|-------|------------------------------|
| 小池 和彦 | 東京大学医学部 消化器内科 教授             |
| 岡上 武  | 大阪府済生会吹田病院                   |
| 熊田 博光 | 国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 分院長       |
| 林 純   | 九州大学大学院感染環境医学 九州大学病院総合診療科 教授 |
| 石坂 信和 | 大阪医科大学内科学講座内科学III 教授         |
| 森屋 恭爾 | 東京大学 感染制御部 教授                |
| 松浦 善治 | 大阪大学微生物病研究所 教授               |
| 水落 利明 | 国立感染症研究所 血液・安全性研究部 室長        |
| 小原 恭子 | 熊本大学 特任教授                    |
| 勝二 郁夫 | 神戸大学大学院医学研究科微生物学分野 准教授       |
| 相崎 英樹 | 国立感染症研究所 室長                  |
| 中本 安成 | 福井大学医学部第二内科 教授               |
| 四柳 宏  | 東京大学大学院医学系研究科・生体防御感染症学 准教授   |

## 目 次

### I. 総括研究報告

- 肝炎ウイルスと代謝・免疫系の相互作用に関する包括的研究  
小池 和彦..... 1

### II. 分担研究報告

1. C型肝炎の鉄沈着と hepcidin の動態 -B型肝炎、NASH との比較  
岡上 武..... 25
2. HCV core アミノ酸置換が代謝要因に及ぼす影響  
熊田 博光 ..... 39
3. C型肝炎ウイルス持続感染における心筋障害の可能性の検討  
林 純..... 43
4. C型慢性肝炎症例における肥満度の変化と代謝データの改善に  
ついての検討  
石坂 信和..... 51
5. 脂質代謝に関する研究  
森屋 恭爾..... 57
6. HCV 感染とオートファジー  
松浦 善治..... 61
7. 慢性 C型肝炎患者末梢血 B細胞における HCV 持続感染機構の解明  
水落 利明..... 65
8. HCV の B リンパ腫発症要因の解明に関する研究  
小原 恭子..... 71
9. 肝培養細胞を用いた HCV による糖代謝異常の分子機構の研究  
勝二 郁夫..... 77
10. C型肝炎ウイルス増殖と脂質の相互作用の検討  
相崎 英樹..... 83

|   |    |
|---|----|
| 11. B型肝炎ウイルスと免疫の相互作用  |    |
| 中本 安成.....  | 87 |
| 12. C型肝炎におけるインスリン抵抗性とペグ・インターフェロン/<br>リバビリン併用治療 (PR 治療) の効果との関連性についての<br>多施設後ろ向き調査 (班共同研究) |    |
| 四柳 宏.....   | 91 |
| <br>  |    |
| III. 研究成果に関連した刊行物 (総説抜粋) .....  | 97 |

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）

**総括研究報告書**

**肝炎ウイルスと代謝・免疫系の  
相互作用に関する包括的研究**

研究代表者 小池 和彦 東京大学医学部消化器内科 教授

## 研究要旨

我が国においては、300 万人以上の人が C 型肝炎ウイルス (HCV) あるいは B 型肝炎ウイルス (HBV) に感染しており、慢性肝炎から肝硬変、肝癌へと到る連鎖に苦しんでいる。しかしながら、HCV 感染症、HBV 感染症には肝臓以外の臓器あるいは全身性の病態が存在しうる。例えば、C 型肝炎には脂質代謝異常や糖代謝異常・インスリン抵抗性が合併しやすく、慢性肝炎の進行に影響を与えることも示唆されてきている。本研究においては、肝炎ウイルスと代謝・免疫系の相互作用について、臨床的研究と基礎的研究の両面から病態・原因の究明を目指している。更に、これら代謝性変化の肝病変と患者の予後に対する影響を明らかにし、臨床的な健康障害の状況を明らかにして国民の健康増進に寄与することを目的とする。今年度の研究の結果、肝脂肪化、インスリン抵抗性が C 型肝炎の進展に与える影響、肥満と HCV 感染症病態の関係、代謝性変化による肝病態像の変化、脂質代謝と HCV 増殖の相互作用について次第に明らかにされてきた。肝脂肪化のリバビリン併用PEG・インターフェロン療法に対する抵抗性との関連性は我が国でも示されつつあるが、我が国におけるインスリン抵抗性と治療効果との関連性については多施設研究では否定的な結果が得られた。また、HCV 感染と B 細胞リンパ腫の発生、成因における HCV の役割についても新しい知見が得られた。本年度の検討によって、C 型肝炎、B 型肝炎における代謝、免疫系との相互作用について解明が進展した。

### 分担研究者 (所属施設名・職名)

岡上 武 (大阪府済生会吹田病院・院長)  
熊田博光 (虎ノ門病院分院・院長)  
林 純 (九州大学大学院医学研究院感染環境医学分野・教授)  
石坂信和 (大阪医科大学循環器内科・教授)  
森屋恭爾 (東京大学医学部感染制御学・教授)

小原恭子 (熊本大学医学薬学感染症阻止学・特任教授)  
勝二郁夫 (神戸大学大学院医学系研究科微生物学分野・准教授)  
相崎英樹 (国立感染症研究所ウイルス第二部・主任研究官)  
中本安成 (福井大学医学部附属病院消化器内科・教授)  
四柳 宏 (東京大学医学部感染症内科・准教授)

松浦善治 (大阪大学微生物病研究所分子ウイルス分野・教授)  
水落利明 (国立感染症研究所血液・安全性研究部・室長)

### A. 研究目的

C 型肝炎ウイルス (HCV) や B 型肝炎ウイルス (HBV) は肝臓に病気を起こすウイルスである。我が国でも、なお約 200 万人の人



が HCV に、約 140 万人が HBV に感染しており、慢性肝炎、肝硬変、肝癌へと到る連鎖に苦しめられている。しかし、HCV 感染症、HBV 感染症は単に肝臓だけの感染症ではない。これまでの我々の検討によって、HCV 感染症とシェーグレン症候群や扁平帯癬との間に強い関連性の存在することが明らかになった。また、C 型肝炎や B 型肝炎において脂質代謝異常や糖代謝異常・インスリン抵抗性が合併しやすく、慢性肝炎の進行に影響を与えることも示してきているが、分子レベルでの解明も含めて、まだ充分解明されたとはいえない。更に、C 型肝炎に対する抗ウイルス治療の効果との関連性についても、ウイルスと代謝因子の相互作用を中心として解明されるべきことは多い。また、ウイルス肝炎に合併する代謝性異常が、動脈硬化や脳血管・心血管障害に及ぼす影響や、そのメカニズムも不明である。B 細胞リンパ腫と HCV の関わりも示唆されているが、日本における実態の詳細と機序は不明である。また、HBV 感染者では、免疫系と HBV との相互作用がその病態に強く反映されているが、病態には不明な点が多い。

そこで、本研究においては、これまでの疫学的な検討によって明らかになってきたウイルス肝炎における代謝および免疫系の障害について、治療効果への影響を含めて、より臨床に密接した観点から明らかにし、次いで、基礎的研究によってその原因・機序を分子レベルで究明する。研究代表者を含む 13 名の研究者によって、臨床、基礎両面からなお包括的な研究を行い、C 型肝炎に加えて B 型肝炎においても詳細な検討を遂行する。初年度は、臨床面からはまず詳

細な臨床的な解析を、基礎面からはモデルシステムの構築を行ない、次年度以降の分子医学的解析を含めた詳細な検討へと発展させる。ウイルス肝炎患者におけるこれらの異常の合併が、いかなる健康障害に到るかを明らかにすることが期待される。肝炎ウイルスと代謝・免疫系との相互作用に関する解析データを基に、新規治療法の開発を図り、国民の健康増進に寄与することを目的とする。

## B. 方法

- 1) 鉄代謝では hepcidin が重要な役割を果たすことが明らかにされている。Hepcidin は主に肝臓で合成され、十二指腸上皮やマクロファージ細胞膜の ferroportin の発現を低下させ、十二指腸からの鉄吸収やマクロファージの鉄放出を抑制する。このようにして hepcidin は鉄の需要と供給のバランスを維持し、鉄過剰に対する負の調節因子としての役割を果たしている。以上の知見を踏まえて、HCV ウイルスと宿主因子の両面から hepcidin とその関連分子の発現の変化を検討した。
- 2) HCV の Core 蛋白アミノ酸(aa)70/91 置換が代謝・宿主要因と肝病態(肝線維化進行度・肝発癌)に及ぼす影響について検討した。
- 3) C 型慢性肝炎患者 99 例(と、性、年齢をマッチさせた対照 198 例を比較し頸動脈超音波検査による解析を行った。頸動脈超音波検査は 7.5MHz プローブでアロカ SSD(アロカ、東京)を用いた。背臥位の患者の左右総頸動脈の内膜中膜複合体厚

- (IMT) を頸動脈分岐部から頭側へ 2cm、2.5cm と 3.0cm の 3 点での範囲を観察し 6 点平均の頸動脈内皮厚 (IMT) を測定した。
- 4) 2004 年 1 月から 2009 年 12 月に、人間ドックを 2 年連続で受診した 4391 名 (男性 2863 名、女性 1528 名) のうち、HCV コア蛋白についての検査が施行された症例 3852 名 (男性 2541 名、女性 1311 名) を対象として、body mass index (BMI)、ウエスト周囲径の経年変化率がインスリン抵抗性などの変化率との関連について比較検討した。
  - 5) HCV コア蛋白発現培養細胞系において不飽和酵素の活性、および脂質組成を個々に検討し HCV コア蛋白による活性変化を受けている酵素の確認とその酵素活性を抑制する物質のスクリーニングを行なった。
  - 6) HCV レプリコン細胞や JFH1 ウイルスの感染細胞におけるオートファジーを検討するため、オートファゴソームのマーカーである LC3 の性状と局在を、ウェスタンブロット法と共焦点レーザー顕微鏡を用いて解析した。また、ライソソーム阻害剤を用いた。Autophagy flux assay や Tandem fluorescent tagged LC3 (tfLC3) assay により、LC3 の蓄積機序を検討した。ATG4B のプロテアーゼの活性欠損変異体と ATG16L を用いてオートファジーの誘導を阻害した。空胞化した細胞内コンパートメントの性状を各種オルガネラマーカーやデキストランの取り込みを指標にして検討した。
  - 7) 瀉血療法の際に採取された C 型慢性肝炎末梢血液、また対照としては健常人末梢血液より Ficoll を用いて PBMC を分離し、さらに磁気ビーズを用いて CD19 陽性細胞 (B 細胞) を分離した。得られた細胞から RNA とタンパク質を抽出し、リアルタイム PCR (Rt-PCR)、イムノプロテイング (IB) により自然免疫系に関連する遺伝子/タンパク質の発現解析を行った。
  - 8) HCV 感染症における B 細胞リンパ腫発生要因をマウスモデルを用いて解析した。
  - 9) HCV 増殖と脂質の相互作用について JFH1 感染系を用いて解析した。
  - 10) HBV 特異的細胞障害性 T リンパ球と宿主因子、ウイルス因子の相互作用に関する検討を行なった。
  - 11) H22 年度班共同研究：欧米において、インスリン抵抗性は C 型肝炎に対する IFN 治療効果を低下させるとの報告がいくつかある。しかし、欧米に比して BMI の低い日本人において同様な影響があるかどうか不明である。今回この点を明らかにすべく、他施設共同研究 (後ろ向き調査) を行った。5 施設 (虎の門病院、済生会吹田病院、九州大学関連施設、金沢大学、東京大学) でリバビリン併用ペグ・インターフェロン治療を完遂した患者の後ろ向き調査を行った。なお、肝硬変及び明らかな糖尿病 (空腹時血糖 126mg/dL 以上もしくは随時血糖 200mg/dL 以上が少なくとも 2 回あること。) の合併例は除外した。治療効果決定因子の候補としては、年齢、性、BMI、総コレステロール、LDL コレステロール、空腹時血糖、インスリン、HOMA-IR、コア領域 70 番のアミノ酸配列、ISDR のアミノ酸変異数の 10 項目を用いた。
- ### C. 結果
- 1) 肥満を伴わない症例では、C 型肝炎患者は B 型肝炎患者に比較して hepcidin

mRNA/ferritin 値が有意に低下し、hepcidin 合成に關与する HFE2 や TFR2 の発現が有意に低下していた。一方、肥満を伴う B 型肝炎と C 型肝炎や非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) の hepcidin mRNA/ferritin 値はほぼ同等であったが、非肥満の B 型肝炎患者に比較するといずれも有意に低下していた。肥満の症例は hepcidin 合成に關与する TFR2 と BMP6 の発現が有意に低下していた。Hepcidin 合成を促進する血清 BMP6 値は各疾患群で有意差がなかった。B 型肝炎と C 型肝炎はいずれも血清フェリチンと hepcidin mRNA に正の相関が認められた。

- 2) 単変量解析で Core aa70 (Mutant) 又は aa91 (Mutant) の頻度は、年齢が高くなると上昇し ( $P < 0.001$ )、肝病態が進行すると上昇していた ( $P < 0.001$ )。更に、Ribavirin 併用療法 non-SVR 例からの肝発癌に寄与する要因は、単変量解析で Core aa70 (Mutant), Core aa91 (Wild), ISDR 変異数 (2 個以上) が有意差を示し、多変量解析では Core aa70 (Mutant) ( $HR 5.5, P = 0.040$ ) のみが独立要因として抽出された。

Core aa70 (Mutant) と關連する要因を多変量解析で検討すると、*IL28B* 遺伝子多型 (rs8099917 non-TT) ( $OR 6.4, P < 0.001$ ) が独立要因として抽出された。また、*IL28B* 遺伝子多型を除外した代謝要因のみで Core aa70 (Mutant) と關連する要因を検討すると、中性脂肪 ( $\geq 100$  mg/dl) ( $OR 1.6, P = 0.001$ ), LDL-C ( $< 85$  mg/dl) ( $OR 1.4, P = 0.037$ ), 空腹時血糖 ( $\geq 126$  mg/dl) ( $OR 1.8, P = 0.042$ ) という脂質/

糖代謝要因が独立要因として抽出された。糖尿病合併例を除外した検討においても HOMA-IR 値が高くなると Core aa70 (Mutant) の頻度が上昇する傾向が単変量解析で確認された ( $P = 0.072$ )。

- 3) HCV 感染群は、対照群と比べ、糖尿病、脂質異常症の罹患率が低く、NT-proBNP 値が有意に高値であった ( $p < 0.05$ )。心疾患の存在が疑われる  $NT\text{-}proBNP \geq 125\text{pg/ml}$  を認めたのは、HCV 感染群では 20% であり、対照群 0.6% に比べ有意に高率であった ( $p < 0.05$ )。多重ロジスティック回帰分析にて、 $NT\text{-}proBNP \geq 125\text{pg/ml}$  に影響を及ぼす変数として、HCV 感染と BMI 値が抽出された。多重ロジスティック回帰分析にて、HCV 感染群内における  $proBNP \geq 125\text{pg/ml}$  に及ぼす因子については、収縮期血圧値、中性脂肪値、HCV RNA 量が抽出された。
- 4) C 型慢性肝炎患者と対照群における BMI のパーセント変化率 (%dBMI) と各パラメータの変化率について検討した。%dBMI は、中性脂肪、LDL コレステロール、HOMA-IR、GOT、GPT のパーセント変化率と正の相関を認め、回帰直線の傾きに、肝炎症例、非肝炎症例で大きな差を認めなかった。すなわち、10% の BMI の増加 (減少) は肝炎症例では 29% の、非肝炎症例では 30% の HOMA-IR の増加 (減少) に反映される可能性があることが明らかになった。また、同様に 10% の BMI の増加 (減少) は肝炎症例では 21% の、非肝炎症例では 30% の  $\gamma$  GTP の増加 (減少) に反映される可能性があることが明らかになった。HDL コレステロールは肝炎症例と非肝炎症例で

- BMI の変化の反映の方向が異なり、+10% の BMI の変化は肝炎症例では+10%HDL コレステロールの変化に、非肝炎症例では-6%HDL コレステロールの低下(増加)につながっていた。
- 5) HCV コア蛋白による  $\Delta 9$  不飽和酵素活性上昇がマウスモデルのみでなく培養細胞系脂質組成検討でも示された。またこの  $\Delta 9$  不飽和酵素 (Stearoyl CoA desaturase) 活性は PUFA 投与によって抑制にされた。また分枝鎖アミノ酸による肝臓の脂肪化軽減を報告しているが、今回培養細胞においていくつかの物質を検討し有力な肝臓脂肪化抑制物質の同定を行なった。
  - 6) HCV レプリコン細胞や JFH1 ウイルスの感染細胞ではオートファジー誘導のマーカである、LC3 の C 末端のグリシンにホスファチジルエタノールアミンが共有結合した LC3-II が検出され、細胞質内に LC3 の蓄積が点状に観察された。また、レプリコン細胞におけるオートファジーの誘導は遺伝子型で程度が異なった。蓄積した LC3 はライソソームマーカである LAMP1 や、オートファジーにより特異的に分解される p62 と共局在した。Autophagy flux assay と tfLC3 assay により、蓄積した LC3 の一部はオートファジーの成熟過程で阻害されていることが確認された。Atg4B のドミナントネガティブ体の導入によりオートファジーを抑制しても、HCV 増殖には影響しないが、細胞内に顕著な空胞が形成され、細胞死が誘導された。形成された空胞内には Lamp-1 やカテプシンが存在し、デキストランが取り込まれることから、ライソソーム/後期エンドソームが肥大化したものであることと考えられた。空胞にはウイルスの蛋白質や RNA は検出されなかった。
  - 7) B 細胞においては、HCV 感染により IFN  $\beta$  産生に代表される自然免疫能が抑制されているために、HCV が持続感染できることが示唆された。このような B 細胞における HCV の持続感染は、HCV がその増殖の場を肝細胞以外に保持するだけでなく、B 細胞リンパオーマの発症にも関与している可能性があるだろう。
  - 8) RzCD19Cre マウスを HCV 非発現コントロールマウス群 (Rz, CD19Cre, WT) と共に 600 日以上観察した。その結果、600 日以上立つと痩せて衰弱する個体が観察されたため剖検を行って病理組織学的な解析を行った。その結果、約 25% (18/72) のマウスでび慢性大細胞型の B リンパ腫の発症が観察された。HCV を持続的に発現すると B リンパ腫が一定の頻度で発生する事が明らかとなった。HCV の直接作用で B リンパ腫発症を誘導できる事が強く示唆された。B リンパ腫の発症と関連する宿主因子の 1 つとして sIL-2Ra が明らかとなった。
  - 9) HCV J6/JFH1 感染細胞において HNF-1 $\alpha$  の蛋白発現の減少によって GLUT2 転写抑制が引き起こされると考えられた。この際ライソソーム分解系の関与が示唆された。また、HCV NS5A 蛋白質が GLUT2 プロモーター活性を抑制することが示された。今後、HCV NS5A蛋白質と HNF-1 $\alpha$  の相互作用とライソソーム依存性分解誘導の機序を明らかにする必要がある。
  - 10) Huh7 細胞に HCV を感染させると、細胞内総コレステロール TC、中性脂肪 TG、リ

ン脂質 PL 等の増加を認め、一方培養上清中の TC、TG、PL は時間経過とともに減少した。培養上清をゲル濾過 HPLC 分画し、培養上清中のリポ蛋白の割合について解析したところ、感染後時間経過とともに VLDL が増加し、LDL が低下することを見出し、その原因として感染細胞における VLDL 分解酵素である Hepatic lipase の減少を見出した。HCV 感染では解糖系は著明に亢進していたものの、その他の TCA 回路、プリン、ピリミジン合成系など低下傾向であった。HCV 感染は宿主のエネルギー産生、脂質産生は上げるものの、蛋白、核酸合成等は抑制する傾向が見られた。

- 11) HBV 特異的 CTL が誘導する慢性炎症の病態について、in vivo 系において NFκB 経路の構成分子および cytochrome P450 (CYP) の発現が慢性肝炎早期から亢進し、Stat3 のリン酸化が亢進していた。in vitro 系において、HBx と c-Myc の共発現ががん化に促進的に作用する可能性が示され、Raf/MEK/ERK 経路や転写因子 Stat3 の関与が示唆された。肝臓の慢性炎症の場における HBV 遺伝子産物と宿主の転写因子との相互作用が形質転換、がん化に促進的に作用することが示された。
- 12) H22 年度班共同研究：遺伝子型 1 ではインターフェロン・リバビリン併用療法の治療効果を決める最大の因子はコア領域 70 番のアミノ酸配列であった。インスリン抵抗性を含めたメタボリック因子は SVR と non-SVR との間で大きな相違は見られなかった。遺伝子型 2 では治療開始時の年齢が低い方が SVR になりやすい傾

向があった。

#### D. 考察

HCV コア蛋白変異と肝癌患者の予後、インスリン抵抗性に関する証拠が見いだされてきており、HCV と代謝の相互作用について明らかになってきた。また、C 型肝炎と肥満の関係について新しい知見が得られつつある。また、また、アミノ酸代謝と C 型肝炎の肝病態について新たな知見が得られ、治療法の開発が期待される。糖代謝、脂質代謝と HCV 感染、HCV 複製との関係が明らかになってきており、治療法開発につながることを期待される。

動脈硬化と HCV 感染症の関係についても新しい知見が見いだされてきており、両者の関連性が次第に明らかになってきている。

HCV コア蛋白と相互作用するタンパクが in vitro の系を用いて解明されてきており、病態改善法の開発につながるものと期待される。また、HCV 複製とオートファジーとの関連性についても明らかにされつつある。

C 型肝炎と B リンパ腫の関連性に関する基礎的支持所見が得られてきており、その機序解明においても AID (activation-induced cytidine deaminase) の関与が示されてきている。

B 型肝炎における肝発癌について新たな機序の可能性が示され、今後の発展が期待される。

#### E. 自己評価

- 1) 達成度について：当初設定した目標について、ほぼ各項目について、2 年目の目標通りに研究が遂行されたと考える。

- 2) 研究成果の学術・国際・社会的意義について：C型肝炎を全身疾患として捉えるという概念のもつ社会的な意義は大きいと考えられる。
- 3) 今後の展望について：HCV感染症と代謝系の相互作用について、臨床データ、基礎実験を通じて成果が期待される。

## F. 結論

HCV感染症は肝臓、代謝、循環器等を含む全身疾患である。このような認識をもって感染者の管理・治療に当ることにより、患者の予後、QOLを大幅に改善することが期待される。

## G. 健康危険情報

なし

## H. 研究発表

### 論文発表

- 1) Miyoshi H, Moriya K, Tsutsumi T, Shinzawa S, Fujie H, Shintani Y, Fujinaga H, Goto K, Todoroki T, Suzuki T, Miyamura T, Matsuura Y, Yotsuyanagi H, Koike K. Pathogenesis of lipid metabolism disorder in hepatitis C: polyunsaturated fatty acids counteract lipid alterations induced by the core protein. *J Hepatol* 2011;54:432-438.
- 2) Arano T, Nakagawa H, Tateishi R, Ikeda H, Uchino K, Enooku K, Goto E, Masuzaki R, Asaoka Y, Kondo Y, Goto T, Shiina S, Omata M, Yoshida H, Koike K. Serum level of adiponectin and the risk of liver cancer development in chronic hepatitis C patients. *Int J Cancer* 2010 Dec 17. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 21170963.
- 3) Masuzaki R, Shiina S, Tateishi R, Yoshida H, Goto E, Sugioka Y, Kondo Y, Goto T, Ikeda H, Omata M, Koike K. Utility of contrast enhanced ultrasonography with sonazoid in radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2010 Nov 3. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 21054516.
- 4) Kondo Y, Shiina S, Tateishi R, Arano T, Uchino K, Enooku K, Goto E, Nakagawa H, Masuzaki R, Asaoka Y, Fujie H, Goto T, Omata M, Yoshida H, Koike K. Intrahepatic bile duct dilatation after percutaneous radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma: impact on patient's prognosis. *Liver Int* 2011;31:197-205.
- 5) Yoshida S, Watabe H, Akahane M, Kyoden Y, Ishikawa H, Yamada A, Sugimoto T, Ohta M, Ogura K, Yamaji Y, Ohtomo K, Kokudo N, Koike K, Omata M. Usefulness of multi-detector helical CT with multiplanar reconstruction for depicting the duodenal varices with multiple collateral shunt vessels. *Hepatol Int* 2010;4:775-778.
- 6) Sakamoto A, Ishizaka Y, Toda EI, Nagai R, Koike K, Yamakado M, Ishizaka N. Impact of Changes in Obesity Parameters on Glucose Metabolism and Insulin Resistance Over a One-Year Period. *J Atheroscler Thromb* 2010 Sep 18. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 20877140.
- 7) Koike K, Tsutsumi T, Yotsuyanagi H, Moriya K. Lipid metabolism and pathogenesis of liver disease in hepatitis C

- viral infection. *Oncology* 2010;78 Suppl 1:24-30.
- 8) Tejima K, Masuzaki R, Ikeda H, Yoshida H, Tateishi R, Sugioka Y, Kume Y, Okano T, Iwai T, Gotoh H, Katoh S, Suzuki S, Yatomi Y, Omata M, Koike K. Thrombocytopenia is more severe in advanced chronic hepatitis C than B with the same grade of splenomegaly. *J Gastroenterol* 2010;45:876-884.
  - 9) 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* 2010;17:476-485.
  - 10) Ohtomo N, Tomiya T, Tanoue Y, Inoue Y, Nishikawa T, Ikeda H, Seyama Y, Kokudo N, Shibahara J, Fukayama M, Koike K, Shirataki H, Fujiwara K. Expression of alpha-taxilin in hepatocellular carcinoma correlates with growth activity and malignant potential of the tumor. *Int J Oncol* 2010;37:1417-1423.
  - 11) Ikeda H, Ohkawa R, Watanabe N, Nakamura K, Kume Y, Okubo S, Yokota H, Tomiya T, Inoue Y, Nishikawa T, Ohtomo N, Tanoue Y, Koike K, Yatomi Y. Plasma sphingosine 1-phosphate level is reduced in patients with chronic liver disease caused by hepatitis C. *Clin Chim Acta* 2010;411:765-770.
  - 12) 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* 2010; 40: 461-469.
  - 13) Kanamori H, Yuhashi K, Ohnishi S, Koike K, 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;91:1207-1212.
  - 14) 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* 2010;82:776-792.
  - 15) Molina-Jiménez F, Benedicto I, Murata M, Martín-Vílchez S, Seki T, Pintor-Toro JA, Tortolero M, Moreno-Otero R, Okazaki K, Koike K, Barbero JL, Matsuzaki K, Majano PL, López-Cabrera M. Expression of pituitary tumor transforming gene 1 (PTTG1)/securin in hepatitis B virus-associated liver diseases: Evidence for a hepatitis B virus X protein-mediated inhibition of PTTG1 ubiquitination and degradation. *Hepatology* 2010;51:777-787.
  - 16) Hmwe SS, Aizakia H, Date T, Murakami K, Ishii K, Miyamura T, Koike K, Wakita T, Suzuki T. Identification of hepatitis C virus genotype 2a replicon variants with reduced susceptibility to ribavirin. *Antiviral Res* 2010;85:520-524.

- 17) Watanabe S, Enomoto N, Koike K, 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. *Hepatol Res* 2010;40:135-144.
- 18) Koike K, Moriya K, Matsuura Y. Animal models for hepatitis C and related liver disease. *Hepatol Res* 2010;40:69-82.
- 19) Kumada H, Okanoue T, Onji M, Moriwaki H, Izumi N, Tnaka E, Chayama K, Sakaida S, Takehara T, Oketani M, Suzuki F, Toyota J, Nomura H, Yoshioka K, Seki M, Yotsuyanagi H, Ueno Y and The Study Group for the Standardization of Treatment of Viral Hepatitis including Cirrhosis, Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan. Guidelines for the treatment of chronic hepatitis and cirrhosis due to hepatitis C virus infection for the fiscal year 2008 in Japan. *Hepatol Res* 40: 8-13, 2010
- 20) Park H, Ishigami A, Shima T, Mizuno M, Maruyama N, Yamaguchi K, Mitsuyoshi H, Minami M, Yasui K, Itoh Y, Yoshikawa T, Fukui M, Hasegawa G, Nakamura N, Ohta M, Obayashi H, Okanoue T. Hepatic senescence marker protein-30 is involved in the progression of nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol* 45: 426-434, 2010
- 21) Tsuji K, Yasui K, Gen Y, Endo M, Dohi O, Zen K, Mitsuyoshi H, Minami M, Itoh Y, Taniwaki M, Tanaka S, Arie S, Okanoue T, Yoshikawa T. *PEG10* is probable target for the amplification at 7q21 detected in hepatocellular carcinoma. *Cancer Genetics Cytogenetics* 198: 118-125, 2010
- 22) Fujii H, Itoh Y, Sakamoto M, Ohkawara T, Sawa Y, Nishida K, Nishimura T, Yamaguchi K, Yasui K, Minami M, Okanoue T, Yoshikawa T. Relapse of hepatitis C in a pegylated-interferon- $\alpha$ -2b plus ribavirin-treated sustained virological responder. *Hepatol Res* 30: 654-660, 2010
- 23) Sumida Y, Yonei Y, Kanemasa K, Hara T, Inada Y, Sakai K, Imai S, Hibino S, Yamaguchi K, Mitsuyoshi H, Yasui K, Minami m, Itoh Y, Naito Y, Yoshikawa T, Okanoue T. Lower circulatory levels of dehydroepiandrosterone, independent of insulin resistance, is an important determinant of severity of non-alcoholic steatohepatitis in Japanese patients. *Hepatol Res* 40:901-910, 2010
- 24) Chamaya K, Hayes N, Yoshioka K, Moriwaki H, Okanoue T, Sakisaka S, Takehara T, Oketani M, Toyota J, Izumi N, Hisa Y, Matsumoto A, Nomura H, Saike M, Ueno Y, Yotsuyanagi H, Kumada H. Accumulation of refractory factors for pegylated interferon plus ribavirin therapy in older female patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Res* 40: 1155-1167, 2010
- 25) Park H, Shima T, Yamaguchi K, Mitsuyoshi H, Minami M, Yasui K, Itoh Y, Yoshikawa T, Fukui M, Hasegawa G, Nakamura N, Ohta M, Obayashi H,



- Okanoue T. Efficacy of long-term ezetimibe therapy in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol* in press
- 26) Kanemasa K, Hara T, Inada Y, Sakai K, Imai S, Yoshida N, Yasui K, Itoh Y, Okanoue T., Yoshikawa T. Impact of amino acid substitutions in the hepatitis C virus genotype 1b core region on liver steatosis and glucose tolerance in non-cirrhotic patients without overt diabetes. *J Gastroenterol Hepatol*, in press.
- 27) Kobayashi M, Akuta N, Suzuki F, Hosaka T, Sezaki H, Kobayashi M, Suzuki Y, Arase Y, Ikeda K, Watahiki S, Mineta R, Iwasaki S, Miyakawa Y, Kumada H. Influence of amino-acid polymorphism in the core protein on progression of liver disease in patients infected with hepatitis C virus genotype 1b. *J Med Virol* 2010;82:41-48.
- 28) Kawamura Y, Arase Y, Ikeda K, Hirakawa M, Hosaka T, Kobayashi M, Saitoh S, Yatsuji H, Sezaki H, Akuta N, Suzuki F, Suzuki Y, Kumada H. Diabetes enhances hepatocarcinogenesis in noncirrhotic, interferon-treated hepatitis C patients. *Am J Med* 2010;123:951-956.
- 29) Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Chayama K, Nakamura Y, Kumada H. Amino acid substitution in hepatitis C virus core region and genetic variation near the interleukin 28B gene predict viral response to telaprevir with peginterferon and ribavirin. *Hepatology* 2010;52:421-429.
- 30) Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. Amino acid substitutions in the hepatitis C virus core region of genotype 1b affect very early viral dynamics during treatment with telaprevir, peginterferon, and ribavirin. *J Med Virol* 2010;82:575-582.
- 31) Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Chayama K, Nakamura Y, Kumada H. Amino acid substitution in HCV core region and genetic variation near *IL28B* gene affect viral dynamics during telaprevir, peginterferon and ribavirin. *Intervirology* 2010 (in press).
- 32) Suzuki F, Suzuki Y, Akuta N, Sezaki H, Hirakawa M, Kawamura Y, Hosaka T, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kobayashi M, Chayama K, Kamatani N, Nakamura Y, Miyakawa Y, Kumada H. Influence of *ITPA* polymorphism on decreases of hemoglobin during treatment with pegylated IFN, ribavirin and telaprevir. *Hepatology* 2010 in press.
- 33) Kainuma M, Furusyo N, Kajiwara E, Takahashi K, Nomura H, Tanabe Y, Satoh T, Maruyama T, Nakamura M, Kotoh K, Azuma K, Shimono J, Shimoda S, Hayashi J. Pegylated interferon  $\alpha$ -2b plus ribavirin for older patients with chronic hepatitis C, *World Journal of Gastroenterology*,

- 2010;16(35):4400-4409.
- 34) Ogawa E, Furusyo N, Toyoda K, Taniai H, Otaguro S, Kainuma M, Murata M, Sawayama Y, Hayashi J, Excellent superiority and specificity of COBAS TaqMan HCV assay in an early viral kinetic change during pegylated interferon alpha-2b plus ribavirin treatment, *BMC Gastroenterology*, 2010;10:38.
- 35) 林 純、古庄憲浩、村田昌之、ウイルス肝炎の予防のあり方, *臨床とウイルス*, 2010;38(4):277-283.
- 36) 林 純、古庄憲浩、C型肝炎ウイルスの疫学的・臨床的研究, *福岡医学雑誌*, 2010;101(3):46-52.
- 37) 古庄憲浩、林 純、B型急性肝炎に対する核酸アナログ製剤の適応, *Expert Opinion on Hepatitis B*, 2010;8:10-13.
- 38) 林 純、B型肝炎もSTI, *臨床研修プラクティス*, 2010;7(2):70-71.
- 39) Sakamoto A, Ishizaka Y, Toda E, Nagai R, Koike K, Yamakado M, Ishizaka N. Impact of changes in obesity parameters on glucose metabolism and insulin resistance over a one-year period. *J Atheroscler Thromb* 2010; 17(12):1246-1255.
- 40) Ishizaka N, Ishizaka Y, Toda E, Yamakado M, Koike K, Nagai R. Association between gamma- glutamyltransferase levels and insulin resistance according to alcohol consumption and number of cigarettes smoked. *J Atheroscler Thromb* 2010; 17(5):476-485.
- 41) Ishizaka N, Hongo M, Matsuzaki G, Furuta H, Saito K, Sakurai R, Sakamoto A, Koike K, Nagai R. Effects of the AT1 receptor blocker, losartan and calcium channel blocker, benidipine, on accumulation of lipid in the kidney of rat model of metabolic syndrome. *Hypertension Research* 2010;33(3): 263-268.
- 42) Ishizaka N, Ishizaka Y, Toda A, Tani M, Toda E, Koike K, Yamakado M, Nagai R. Changes in waist circumference and body mass index in relation to changes in serum uric acid in Japanese individuals. *J Rheumatol* 2010;37(2): 410-416.
- 43) Moriishi K, Shoji I, Mori Y, Suzuki R, Suzuki T, Kataoka C, and Matsuura Y. Involvement of PA28g in the propagation of hepatitis C virus. *Hepatology* 2010; 52, 411-420.
- 44) Tani H, Shiokawa M, Kaname Y, Kambara H, Mori Y, Abe T, Moriishi K, and Matsuura Y. Involvement of ceramide in the propagation of Japanese encephalitis virus. *J Virol* 2010; 84, 2798-2807.
- 45) Masaki T, Suzuki R, Saeed M, Mori KI, Matsuda M, Aizaki H, Ishii K, Maki N, Miyamura T, Matsuura Y, Wakita T, and Suzuki T. Production of infectious hepatitis C virus by using RNA polymerase I-mediated transcription. *J Virol* 2010; 84, 5824-5835.
- 46) Kaname Y, Tani H, Kataoka C, Shiokawa M, Taguwa S, Abe T, Moriishi K, Kinoshita T, and Matsuura Y. Acquisition of complement resistance through incorporation of CD55/DAF into viral particles bearing baculovirus GP64. *J Virol*

- 2010; 84, 3210-3219.
- 47) Fukuhara T, Taketomi A, Motomura T, Okano S, Ninomiya A, Abe T, Uchiyama H, Soejima Y, Shirabe K, Matsuura Y, and Maehara Y. Variants in IL28B in liver recipients and donors correlate with response to peginterferon and ribavirin therapy for recurrent hepatitis C. *Gastroenterology* 2010; 39,1577-1585.
- 48) Koike K, Moriya K, and Matsuura Y. Animal models for hepatitis C and related liver disease. *Hepatology Res* 2010; 40, 69-82.
- 49) Ito M, Masumi A, Mochida K, Kukihara H, Moriishi K, Matsuura Y, Yamaguchi K, and Mizuochi T. Peripheral B Cells May Serve as a Reservoir for Persistent Hepatitis C Virus Infection. *J Innate Immun* 2010; 2, 607-617.
- 50) Tripathi LP, Kataoka C, Taguwa S, Moriishi K, Mori Y, Matsuura Y, and Mizuguchi K. Network based analysis of hepatitis C virus Core and NS4B protein interactions. *Mol Biosyst* 2010; 6, 2539-2553.
- 51) Mizuochi T, Ito M, Takai K, and Yamaguchi K: Resistance of peripheral blood memory B cells to apoptosis in chronic hepatitis C patients. *Virus Research* 155:349-351, 2011.
- 52) Ito M, Masumi A, Mochida K, Kukihara H, Moriishi K, Matsuura Y, Yamaguchi K, and Mizuochi T: Peripheral B cells may serve as a reservoir for persistent infection of hepatitis C virus. *Journal of Innate Immunity* 2:607-617, 2010.
- 53) Ito M, Murakami K, Suzuki T, Mochida K, Suzuki M, Ikebuchi K, Yamaguchi K, and Mizuochi T: Enhanced expression of lymphomagenesis-related genes in peripheral B cells of chronic hepatitis C patients. *Clinical Immunology* 135:459-465, 2010.
- 54) Mizuochi T, Ito M, Saito K, Kasai M, Kunimura T, Morohoshi T, Momose H, Hamaguchi I, Takai K, Iino S, Suzuki M, Mochida S, Ikebuchi K, and Yamaguchi K: Possible recruitment of peripheral blood CXCR3+CD27+CD19+ B cells to the liver of chronic hepatitis C patients. *Journal of Interferon and Cytokine Research* 30:243-252,2010.
- 55) Mizuochi T, Mizusawa S, Nojima K, Okada Y, and Yamaguchi K: Single amino acid substitution in the hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) "a" determinant affects the detection sensitivity of an HBsAg diagnostic kit. *Clinica Chimica Acta* 411:605-606, 2010.
- 56) Takano T., Kohara M, Kasama Y, Nishimura T, Saito M, Kai C, Tsukiyama-Kohara K. Translocase of outer mitochondrial membrane 70 expression is induced by hepatitis C virus and is related to the apoptotic response. *J Med Virol.* accepted.
- 57) Takano T, Tsukiyama-Kohara T, Hayashi M, Hirata Y, Satoh M, Tateno C, Hayashi Y, Hishima T, Funata N, Sudo M, Kohara M. Augmentation of DHCR24 expression by

- hepatitis C virus infection facilitates viral replication in hepatocytes. *J. Hepatology*, in press.
- 58) Kasama Y, Sekiguchi S, Saito M, Tanaka K, Satoh M, Kuwahara K, Sakaguchi N, Takeya M, Hiasa Y, Kohara M, Tsukiyama-Kohara K. Persistent expression of the full genome of hepatitis C virus in B cells induces spontaneous development of B-cell lymphomas in vivo. *Blood* 116(23): 4926-4933, 2010.
- 59) Satoh M, Saito M, Tanaka K, Iwanaga S, Salem NE, Seki T, Okada S, Kohara M, Harada S, Kai C, Tsukiyama-Kohara K. Evaluation of a recombinant measles virus expressing hepatitis C virus envelope proteins by infection of human PBL-NOD/Scid/Jak3null mouse. *Comp. Immunol. Immunopathol.* 33 E81-88, 2010.
- 60) Amako Y, Tsukiyama-Kohara K, Katsume A, Hirata Y, Sekiguchi S, Tobita Y, Hayashi Y, Hishima T, Funata N, Yonekawa H, Kohara M. Pathogenesis of hepatitis C virus infection in *Tupaia belangeri*. *J. Virology* 84 303-311, 2010.
- 61) El-Shamy, A., Ide, Y-H., Kim, SR., Sasase, N., Imoto, S., Deng, L., Shoji, I., and Hotta, H. Polymorphisms of hepatitis C virus NS5A and core proteins and clinical outcome of pegylated interferon/ribavirin therapy. *Intervirology*, in press.
- 62) Inoue, Y., Aizaki, H., Hara, H., Matsuda, M., Ando, T., Shimoji, T., Murakami, K., Masaki, T., Shoji, I., Homma, S., Matsuura, Y., Miyamura, T., Lai, MMC, Wakita, T., and Suzuki, T. Chaperonin TRiC/CCT participates in replication of hepatitis C virus genome via interaction with the viral NS5B protein. *Virology*, 2010, 410, 38-47.
- 63) Hayashida K, Shoji, I., Deng, L., Ide, Y-H., and Hotta, H. 17 $\beta$ -Estradiol inhibits the production of infectious particles of hepatitis C virus. *Microbiology and Immunology*, 2010, 54, 684-90.
- 64) Nasu, J., Murakami, K., Miyagawa, S., Yamashita, R., Ichimura, T., Wakita, T., Hotta, H., Miyamura, T., Suzuki, T., Satoh, T., and Shoji, I. E6AP ubiquitin ligase mediates ubiquitin-dependent degradation of peroxiredoxin 1. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2010, 111, 676-85.
- 65) Kim SR., Imoto S., Kudo M., Nakajima T., Ando K., Mita K., Fukuda K., Hong HS., Lee YH., Nakashima K., Shoji I., Nagano-Fujii M., Hotta H., and Hayashi Y. Autoimmune thrombocytopenic purpura during pegylated Interferon  $\alpha$  treatment for chronic hepatitis C. *Internal Medicine*, 2010, 49, 1119-1122.
- 66) Moriishi K., Shoji, I., Mori, Y., Suzuki, R., Suzuki, T., Kataoka, C., and Matsuura, Y. Involvement of PA28 $\gamma$  in the propagation of hepatitis C virus. *Hepatology*, 2010, 52 411-420.
- 67) Sanjo M., Saito, T., Ishii, R., Nishise, Y., Haga, H., Okumoto, K., Ito, J., Watanabe, H., Saito, K., Togashi, H., Fukuda, K., Imai, Y., El-Shamy, A., Deng, L., Shoji, I., Hak, H., and Kawata, S. Secondary structure of the amino-terminal region of HCV NS3 and