

評価

2. バングラデシュ国内の E 型肝炎ウイルス (HEV) 分子疫学研究のため、本国を起源とする HEV 全ゲノム配列と遺伝子解析の実施、および近隣諸国の実態との類似性及び相違性に関する究明
3. バングラデシュ国内の C 型肝炎ウイルス (HCV) 罹病率研究および HCV 感染予防評価のため、HCV となりうる危険因子について準郊外地区を対象とした調査
4. 慢性 HBV キャリアの動物モデル (HBV TM) において HBsAg 特異免疫を誘発する HBcAg の免疫調整の効果とアジュバントの役割。
5. HBV TM 中の免疫反応を調整する骨髄性抑制細胞の役割と慢性 B 型肝炎患者中の治療作用面からみたミエロイド由来サプレッサー細胞 (MDSC) の役割についての分析。
6. HBV TM における、抗原特異的免疫療法と非抗原特異的免疫療法の比較研究
7. バングラデシュ国内の慢性 B 型肝炎患者に実施した第一相及び第二相臨床治験に見られた HBsAg/HBcAg ワクチンによる療法の免疫調節性作用についての解析
8. HBsAg/HBcAg ワクチン第三相臨床治験を実施するとともにペグインターフェロンとワクチン療法との効果の比較。

C. 研究結果

1. 二つの研究はバングラデシュ国内で突発的に発生した散発性急性肝炎と流行性急性肝炎について行われた。臨床的

黄疸の症状が現れた急性肝炎患者 200 名が 2 ヶ月の間にダッカの北部約 400 km にある病院を訪れた。それら全てが HAV、HBV および HCV に対する IgM 抗体については陰性であったのに対し、HEV に対する IgM 抗体については陽性を示したため HEV が急性肝炎の原因であると結果づけた。患者らの年齢は 3 ~ 60 歳であり、浄水された水道水や飲料水を摂取していた。劇症肝炎にまで悪化し、診察にかかり 1 週間のうちに亡くなった患者もあった。また、ダッカの北 50 km にある女子医科大学の寮では急性肝炎が発生した。報告によると、45 名の医学生並びに医師が 7 日以内に入院している。一部の患者は寮で同室であったり、また全ての患者が同じ食堂で食事をとっていた。この突発的流行も HEV が原因的因子である。このことは急性黄疸肝炎の疫学がバングラデシュ国内で変化していることを示唆している。バングラデシュでは長い間 HAV が主な急性肝炎の病因とされてきた。しかしながら、今日では HEV がバングラデシュ国内で起きる急性肝炎の主因となっている。HEV ウイルスはバングラデシュ国内の環境に持続的に存在し、散発性および流行性の急性肝炎、場合によっては重篤な B 型肝炎の発生を引き起こす原因となることを予測させる。これにはバングラデシュ国民だけでなく外国人旅行者にも臨床的関連性がある。国家的レベルでの急性肝炎に関する持続した調査が感染の更なる拡大を抑止するためには必要で

ある。

2. バングラデシュ国民の HEV ジェノタイプがほとんど知られていないため、バングラデシュ国内で発生した急性肝炎の突発的流行に関する前述の2件の症例から血清検体の収集を行った。現在、感染予防対策を確立するために国内の急性流行から検出された HEV について全遺伝子型の配列を試みている。本 HEV 遺伝子型を明らかにし、ひいてはインド地域の HEV 疫学の全体像を評価するために、近隣諸国の型との比較検討を行う。
3. バングラデシュの準郊外地域の計 1018 名の健常者のうち、9 名が HCV 抗体を示した。また、HCV RNA がこれらの患者より検出された。しかしながら、これらの被験者にはいずれも、(1) 輸血、(2) 薬物乱用、(3) 汚染された注射針の使用、(4) 手術歴、(5) 刺青のような HCV 感染につながると考えられてきた危険因子の経歴はなかった。一方で、ほとんどの患者は町医者による治療の経歴があり、剃刀の流用やワクチン接種、ピアスの施術を受けていた。HCV は現時点ではバングラデシュにおける慢性肝炎の主たる原因とは言えないが、伝統的危険因子ではない条件の存在により、きわめて予防が困難な HCV 感染を将来的に引き起こす可能性があることを示唆している。
4. HBV 発症に見られる HBV に関連した抗原の役割は完全に解明されていない。また、治療中のその役割も、大部分が明らかになっていない。そこで、HBV TM

において、誘発した HBcAg が HBsAg 特異免疫反応を免疫を誘導できるかどうかを分析した。加えて、HBcAg の投与により HBV TM 中に HBsAg 特異細胞と体液性免疫を誘発することとなった。このメカニズムを解明したことで、HBcAg 投与によって肝内に HBcAg 特異的 CTL が誘発されること、そして HBsAg に関して抗ウイルス性免疫調整作用を持つ可能性があることが判明した。

5. HBV についてこの 20 年間のうちに確率された治療型の効果は様々であるが、慢性 HBV 感染被験者群に免疫治療の別な方法を施した際の効果は満足なものではない。骨髓細胞系列の細胞はこの面で一定の効果があるものと仮定したところ、HBV TM の肝臓中、健常なマウスのもものと比較して CD11b と Gr1 を示す MDSC が過剰であることが明らかになった。また、用量依存的に HBV TM 中の HBsAg 特異免疫を抑制した。MDSC の減少が免疫療法において治療的効果をあげることが指摘できる。
6. 抗原特異的免疫療法（ワクチン療法、遺伝子を用いた療法、エピトープを用いた療法）やサイトカインやポリクローナルの免疫調節分子のような非特異的抗原療法は CHB 患者に採用されてきた。しかし、抗原特異的免疫療法や非特異的抗原療法が CHB 患者に有効であるかどうかは議論のあるところである。これらを解明するために HBV TM に IFN-gamma、コンカナバリン A、Poly I:C、GM-CSF のようなポリクローナル免疫

調節分子を投与した。抗特異的免疫調節分子として、HBV TM に HBsAg ワクチン、HBsAg/HBcAg、抗原パルス樹状細胞を投与した。ポリクロナール免疫調節分子によって免疫性の付与された HBV TM は肝炎症を見せたが HBV TM に HBV 特異免疫は誘発されえなかった。また、治療効果は見られなかった。一方、抗原特異的免疫療法は安全であり、HBsAg/HBcAg 特異免疫を誘発した。これは HBV TM 中の HBsAg/HBcAg 特異免疫の回復と HBV DNA の減少によって引き起こされたものである。

7. バングラデシュ国内の CHB 患者に HBsAg/HBcAg ワクチンによる第一相・第二相臨床治験を行った。本治験は十分な臨床的有効性を示した。それを受け今年度は、HBsAg/HBcAg ワクチンを含む混合ワクチンを基本とした免疫療法の免疫調節分子の可能性について評価を行った。HBsAg/HBcAg で免疫性の付与された CHB 患者は炎症性サイトカインの上昇と抗原特異的免疫の誘発を示した。抗原特異的 CTL の誘発に関する更なる研究が現在進行中である。
8. バングラデシュにおける CHB に関する 2 年間にわたる免疫学的研究、及び発症と治療についての調査から、バングラデシュの社会的・経済的状況と発展途上国で採用されてきた抗ウイルス剤 (ANA) を用いた治療法が相いれないことは明白である。こうしたことから、新たな科学的証拠に基づいた治療法、すなわち免疫療法がバングラデシュで開始された。第一相・第二相臨床治験

は安全でありワクチンを用いた免疫療法の高い治療効果を実証した。現在、第三相臨床治験が二つの治療群のもとに着手されている。一つは HBsAg/HBcAg 混合ワクチンを接種した群、もう一つは対照群としてペグインターフェロンを摂取した群を設定している。投与は次の 1 年のうち、すなわち 2012 年内に完了させ患者は投与後翌 1 年の追跡調査を行う。第三相臨床治験でも第一相・第二相臨床治験と同等の安全性と効果の結果を呈すなら発展途上国でのより広い運用が将来見込まれることになる。

D. 考察

急性肝炎および慢性肝炎のほとんどのケースが世界の発展途上国に存在している。一方で、これらのウイルスに関する基礎研究の多数は先進国や富裕国で行われてきた。また、さまざまな抗ウイルス薬剤を用いた多くの無作為比較試験が先進国で実施された。当然のこと、HBV のための予防対策や推奨される治療法は先進国から確立されてきた。これらのアプローチの科学的利点は先進国でも発展途上国でも高く認識されている。しかしながら発展途上国のほとんどの人々はこれらの科学的発展や推奨される治療法の恩恵を受けられてはいないのである。そのため発展途上国において急性肝炎は散発性、流行性の型で蔓延している。これにより急性肝炎は一定の死亡率を保ち、かなりの経済的社会的インパクトを発展途上国に与え続けているのである。また、発展途上国の急性肝炎感染の一部は先進国に

も広がりを見せている。慢性肝炎についても、見逃せない深刻な事態として拡大している。HBV のための有用な予防ワクチンが運用可能な状態にあるにもかかわらず、毎年 HBV に感染した約 5 千万の新たな患者が出現しており、無差別的な抗ウイルス剤（ANA）の使用や不適切な診断により HBV の新患の数は発展途上国で増加の一途にある。一方で、無差別的な抗ウイルス剤（ANA）の使用や不適切な診断により HBV mutant の患者が先進国で増加している。

そこで本研究ではこれら全ての因子を考慮し、先進国、発展途上国の両方の肝炎について相互に信頼しうる、かつ相互に継続可能な調査を発展させた。十分な設備の整った研究所が必要となる基礎研究は先進国、日本国内で行われるべきであると考えた。それに対し非投薬患者を必要とする臨床治験は発展途上国でなされるべきである。このアプローチは発展途上国の肝炎に関する新しく重要な情報を明らかにした。それは発展途上国の社会的経済的状況を考慮した推奨されるべき肝炎予防プログラムのための新たな提案を要求しているということだ。HBV 発症に見られるように発展途上国特有の実態が発見されるようになったのである。これらの状況に対処するため、新規治療法によるアプローチがバングラデシュ現地肝炎専門家によって主導されている。第一相・第二相臨床治験は治療休止期間の 48 週の間フォローアップを行った。現在、第三相試験がバングラデシュでスタートした。また並行して人体実験の正当性を立証するため、日本国内で HBV TM に対する基礎実験を実施している。

これらの共同研究と臨床治験からのデータに基づき、今後アジア発展途上国に肝炎予防プログラムのための科学的に実証された新ガイドラインを供給することができると思う。

E. 結論

肝炎ウイルスの予防、新規治療法の発展に発展途上国と先進国は相互支援的な役割を果たすであろうことを本研究プロジェクトは示している。HEV 疫学について正しい理解をもつことは、発展途上国における HEV 感染予防をもたらすだけでなく先進国からの旅行者に見られる HEV 感染者の削減のための解決の糸口を見出すことにつながる。HBV 及び HCV 感染の発症と疫学的研究は AASLD や EASL によって供給された推奨療法の修正が将来必要とされるかもしれないことを示した。

現在進行している免疫療法臨床治験は社会に適合した治療戦略と新治療ガイドラインを発展途上国にもたらすものである。また、新規治療法の長所は先進国でも応用されうるのであろう。HCV 感染は多くの発展途上国、例えばパキスタン、モンゴル、エジプトで増加している。発展途上国での疫学的研究、危険因子に関する研究はこれらの国々での HCV 増殖を食い止める方法を示唆するであろう。

最終的に、先進国と発展途上国間での包括的研究活動が共有されることにより肝炎ウイルスのための科学的根拠に基づく予防と治療ガイドラインが確立される、ということが言えると思う。

F. 健康被害情報
通報せず。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Akbar SM, Al-Mahtab M, Hiasa Y. Future aspects of therapy for hepatitis B virus infection: value of surrogate markers, innovative therapy, and global collaboration. *J Gastroenterol* 2011; 46(6):717-23
- 2) Akbar SM, Furukawa S, Horiike N, Abe M, Hiasa Y, Onji M. Safety and immunogenicity of hepatitis B surface antigen-pulsed dendritic cells in patients with chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 2011; 18(6):408-14.
- 3) Akbar SM, Horiike N, Chen S, Michitaka K, Abe M, Hiasa Y, Matsuura B, Onji M. Mechanism of restoration of immune responses of chronic hepatitis B patients during lamivudine therapy; increased antigen processing and presentation by dendritic cells. *J Viral Hepat* 2011; 18(3):200-5.
- 4) Akbar SM, Al-Mahtab M. Immune interventional strategies against chronic infections diseases and cancers: present challenges and road map to solution. *Euroasian Journal of Hepato-Gastroenterology* 2011; 1(1):5-13
- 5) Akbar SM, Al-Mahtab M. Immune therapy for chronic hepatitis B: will this lead to Rome. *Euroasian Journal of Hepato-Gastroenterology* 2011; 1(2):47-8

- 6) Chen S, Akbar SM, Abe M, Hiasa Y, Onji M. Immunosuppressive functions of hepatic myeloid-derived suppressor cells of normal mice and in a murine model of chronic hepatitis B virus. *Clin Exp Immunol.* 2011;166(1):134-42
- 7) Al-Mahtab M, Karim F, Foster G, Solaimanm S, Akbar SM, Rahman S. Prevalence and risk factors of asymptomatic HCV infection in Bangladesh. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology* 2011;1(2):3-16
- 8) Al-Mahtab M, Rahman S, Akbar SM, Kamal M, Khan SI. Assessment of clinical utility of low and high normal alanine aminotransferase values in patients with chronic hepatitis B virus infection at Bangladesh. *Digestion* 2011; 83(1-2): 60-4
- 9) Nahar N, Al-Mahtab M, Rahman A, Akbar SM, Habib S. Histopathological assessment of liver biopsy specimens in the context of HBV DNA and HBeAg in patients with chronic hepatitis B. *Euroasian Journal of Hepato-Gastroenterology* 2011; 1(2):83-8

2. 学会発表

- 1) Akbar SM, Al-Mahtab M, Rahman S. Emergency care for intractable liver diseases: Development of novel therapeutic approaches for their containment. 3rd International Conference, Bangladesh Society of Emergency Medicine. Dhaka, Bangladesh, 2011
- 2) Akbar SM, Al-Mahtab M, Aguilar JC, Onji M, Mishiro S. Sustained control of HBV

- DNA by a novel vaccine containing HBcAg and HBsAg in patients with chronic hepatitis B. 21st Conference of the Asia Pacific Association for the Study of the Liver (APASL 2011). Bangkok, Thailand, 2011
- 3) Akbar SM. Engineering immune therapy against hepatitis and liver cancer. 19th Annual Conference of Indian National Association for the Study of Liver. Chandigarh, India, 2011
- 4) Akbar et al. Immune therapy for chronic hepatitis B: Will this lead to Rome, Dhaka, Bangladesh. World Hepatitis Day conference by Association for the study of the liver, Bangladesh, Dhaka, Bangladesh, 2011
- 5) Akbar SM. Dendritic cells in chronic hepatitis B. 8th APASL Single Topic Conference, Beijing, China, 2011
- 6) Al-Mahtab M, Akbar SM, Rahman S. Better prognosis of ACLF in patients with compensated cirrhosis and acute assault by HEV: lesson learnt from a Bangladeshi prospective study. 21st Conference of the Asia Pacific Association for the Study of the Liver (APASL 2011). Bangkok, Thailand, 2011
- 7) Al-Mahtab M, Akbar SM, Rahman S. Initial experience of combination therapy with pegylated interferon and entecavir in patients with chronic hepatitis B in Bangladesh. 21st Conference of the Asia Pacific Association for the Study of the Liver (APASL 2011). Bangkok, Thailand, 2011
- 8) Chen S, Akbar SM, Abe M, Hiasa Y, Onji M. Hepatic myeloid-derived suppressor cells controlling intrahepatic immunity in physiological and pathological conditions. The 62nd Annual Meeting of American Association for the Study of the Liver Diseases, San Francisco, USA, 2011
- 9) 陳式儀、ファズレ アクバル、阿部雅則、日浅陽一、恩地森一. 肝臓における Myeloid-derived suppressor cell (MDSC) の機能解析. 第 47 回日本肝臓学会総会, 東京, 2011
- 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

研究分担報告書

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および免疫を包括的に解析し、慢性肝炎および肝細胞がんの病態と発現遺伝子、免疫状態との関連を明らかにした。肝硬変はインターフェロン治療を行ったC型慢性肝炎患者の治療効果に独立して関与する因子である。そこで、本研究では肝硬変が治療抵抗性を示す機序に肝臓内のmTOR分子およびFoxO分子が関与していることを明らかにした。また、肝細胞癌患者における免疫状態を明らかにし、肝癌の進展に伴ってCD45RO(+)/CD4(+)/CD25が増加し、免疫を抑制していることを示した。

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して実施した。研究は該当する委員会の承認を受けて実施した。

C. 研究結果

我々はB型およびC型慢性肝炎では、発現する遺伝子およびmicro-RNAが両者において大きく異なることを報告してきた。また、C型肝炎ではインターフェロンおよびインターフェロンによって誘導される遺伝子(ISG)の発現とIL28B遺伝子変異との相関を示してきた。このIL28B遺伝子変異に加えて肝硬変が及ぼす治療効果への機序を包括的発現遺伝子解析を用いて検討した。肝硬変と関連してみられる栄養状態との関連を解析するため、血液のアミノ酸分

析を行い、これまで報告されているフィッシャー比がインターフェロン治療の効果と関連していることを明らかにした。この機序を解析するため、治療前の肝組織における遺伝子発現を包括的に解析した。その結果と合わせ栄養代謝およびインスリンシグナルに関与する mTOR と FoxO 遺伝子の pathway が変動していることを明らかにした。

また、癌では免疫状態が変動し、その発生と進展、再発に関与していることが報告されている。そこで、肝癌における免疫状態を解析した。肝癌では免疫を抑制する細胞である CD45RO(+)CD4(+)CD25 が肝細胞癌の進展と相関して増加していることを明らかにした。

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を明らかにした。さらに、本年の研究ではインターフェロン治療の効果と関連する肝硬変において変動する遺伝子を明らかにした。

また、CD45RO(+)CD4(+)CD25 陽性細胞が肝癌の進行とともに増加することは、担癌状態に宿主の免疫状態が大きく変動していることを示したものであり、病態の解明だけでなく、今後の癌治療を考える上でも重要な知見であると考えられた。

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) Hajime Sunagozaka, Masao Honda, Taro Yamashita, Ryuhei Nishino, Hajime Takatori, Kuniaki Arai, Tatsuya Yamashita, Yoshio Sakai, Shuichi Kaneko. Identification of a secretory protein c19orf10 activated in hepatocellular carcinoma. *International Journal of Cancer* 2011;129(7):1576-1585.
- 2) Yoshiko Takata, Yasunari Nakamoto, Akiko Nakada, Takeshi Terashima, Fumitaka Arihara, Masaaki Kitahara, Kaheita Kakinoki, Kuniaki Arai, Taro Yamashita, Yoshio Sakai, Tatsuya Yamashita, Eishiro Mizukoshi, Shuichi Kaneko. Frequency of CD45RO(+) subset in CD4(+)CD25(high) regulatory T cells associated with progression of hepatocellular carcinoma. *Cancer Letters* 2011;307(2):165-173.
- 3) Masao Honda, Kenji Takehana, Akito Sakai, Yusuke Tagata, Takayoshi Shirasaki, Shinobu Nishitani, Takahiko Muramatsu,

Tatsuya Yamashita, Yasunari Nakamoto, Eishiro Mizukoshi, Yoshio Sakai, Taro Yamashita, Mikiko Nakamura, Tetsuro Shimakami, MinKyung Yi, Stanley M. Lemon, Tetsuo Suzuki, Takaji Wakita, Shuichi Kaneko; Hokuriku Liver Study Group. Malnutrition Impairs Interferon Signaling through mTOR and FoxO pathways in Patients with Chronic Hepatitis C. *Gastroenterology* 2011;141(1):128-140. e2.

- 4) Taro Yamashita, Masao Honda, Shuichi Kaneko. Molecular mechanisms of hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis C virus infection. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2011;26(6):960-964.
- 5) Eishiro Mizukoshi, Yasunari Nakamoto, Kuniaki Arai, Tatsuya Yamashita, Akito Sakai, Yoshio Sakai, Takashi Kagaya, Taro Yamashita, Masao Honda, Shuichi Kaneko. Comparative analysis of various tumor-associated antigen-specific t-cell responses in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2011;53(4):1206-1216.

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 |
|-------------------------------------|---------------------------------------|---------------|-------|--|------------------------|------|---------|
| Akbar SM, Al-Mahtab M, Onji M | Hepatitis B virus carriers | | | Jaypee Brothers medical Publishers (P) LTD | New Delhi, India | 2011 | 75-86 |
| Akbar SM, Al-Mahtab M, Onji M | HBeAg-negative chronic hepatitis B | | | Jaypee Brothers medical Publishers (P) LTD | New Delhi, India | 2011 | 105-110 |

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 |
|--|---|-----------------|-------|--|------|
| Goto E, Masuzaki R, Tateishi R, Kondo Y, Imamura J, Goto T, Ikeda H, Akahane M, Shiina S, Omata M, Yoshida H, <u>Koike K.</u> | Value of post-vascular phase (Kupffer imaging) by contrast-enhanced ultrasonography using Sonazoid in the detection of hepatocellular carcinoma. | J Gastroenterol | | 2011 Dec 27. [Epub ahead of print] | |
| Taguwa S, Kambara H, Fujita N, Noda T, Yoshimori T, <u>Koike K.</u> Moriishi K, Matsuura Y. | Dysfunction of autophagy participates in vacuole formation and cell death in cells replicating hepatitis C virus | J Virol | 85 | 13185-13194. | 2011 |
| Kudo Y, Tanaka Y, Tateishi K, Yamamoto K, Yamamoto S, Mohri D, Isomura Y, Seto M, Nakagawa H, Asaoka Y, | Altered composition of fatty acids exacerbates hepatotumorigenesis during activation of the phosphatidylinositol 3-kinase | J Hepatol | 55(6) | 1400-1408. | 2011 |

| | | | | | |
|--|--|---|-------|-----------|------|
| Tada M, Ohta M, Ijichi H, Hirata Y, Otsuka M, Ikenoue T, Maeda S, Shiina S, Yoshida H, Nakajima O, Kanai F, Omata M, <u>Koike K</u> | pathway | | | | |
| Yamashiki N, Sugawara Y, Tamura S, Kaneko J, Yoshida H, Aoki T, Hasegawa K, Akahane M, Ohtomo K, Fukayama M, <u>Koike K</u> , Kokudo N | Diagnostic accuracy of α -fetoprotein and des- γ -carboxy prothrombin in screening for hepatocellular carcinoma in liver transplant candidates. | Hepatol Res | 41 | 1199-1207 | 2011 |
| Ikeda H, Tateishi R, Enooku K, Yoshida H, Nakagawa H, Masuzaki R, Kondo Y, Goto T, Shiina S, Kume Y, Tomiya T, Inoue Y, Nishikawa T, Ohtomo N, Tanoue Y, Ono T, <u>Koike K</u> , Yatomi Y. | Prediction of hepatocellular carcinoma development by plasma ADAMTS13 in chronic hepatitis B and C | Cancer Epidemiol Biomarkers Prev | 20 | 2204-2211 | 2011 |
| Watanabe S, Enomoto N, <u>Koike K</u> , Izumi N, Takikawa H, Hashimoto E, Moriyasu F, Kumada H, Imawari M; PERFECT Study Group | Cancer preventive effect of pegylated interferon α -2b plus ribavirin in a real-life clinical setting in Japan: PERFECT interim analysis. | Hepatol Res | 41 | 955-964 | 2011 |
| Uchino K, Tateishi R, Shiina S, Kanda M, Masuzaki R, Kondo Y, Goto T, Omata M, Yoshida H, <u>Koike K</u> . | Hepatocellular carcinoma with extrahepatic metastasis: Clinical features and prognostic factors | Cancer | 117 | 4475-4483 | 2011 |
| Nakagawa H, Hirata Y, Takeda K, Hayakawa Y, | Apoptosis signal-regulating kinase 1 inhibits | Hepatology | 54(1) | 185-195 | 2011 |

| | | | | | |
|---|---|-----------------|--------|-----------|------|
| Sato T, Kinoshita H, Sakamoto K, Nakata W, Hikiba Y, Omata M, Yoshida H, <u>Koike K</u> , Ichijo H, Maeda S | hepatocarcinogenesis by controlling the tumor-suppressing function of stress-activated MAPK | | | | |
| Kojima K, Takata A, Vadnais C, Otsuka M, Yoshikawa T, Akanuma M, Kondo Y, Kang YJ, Kishikawa T, Kato N, Xie Z, Zhang WJ, Yoshida H, Omata M, Nepveu A, <u>Koike K</u> | MicroRNA122 is a key regulator of α -fetoprotein expression and biologically aggressive behavior of hepatocellular carcinoma | Nat Commun | 2:338 | 1-10 | 2011 |
| Tsukada K, Sugawara Y, Kaneko J, Tamura S, Tachikawa N, Morisawa Y, Okugawa S, Kikuchi Y, Oka S, Kimura S, Yatomi Y, Makuuchi M, Kokudo N, <u>Koike K</u> | Living donor liver transplantations in HIV- and hepatitis C virus-coinfected hemophiliacs: Experience in a Single Center | Transplantation | 91(11) | 1261-1264 | 2011 |
| Kumar V, Kato N, Urabe Y, Takahashi A, Muroyama R, Hosono N, Otsuka M, Tateishi R, Omata M, Nakagawa H, <u>Koike K</u> , Kamatani N, Kubo M, Nakamura Y, Matsuda K | Genome-wide association study identifies a susceptibility locus for HCV-induced hepatocellular carcinoma | Nat Genet | 43 | 455-458 | 2011 |
| Kershenobich K, Razavi HA, Cooper CL, Alberti A, Dusheiko GM, Pol S, Zuckerman E, <u>Koike K</u> , Han K-H, Wallace CM, Zeuzem S, Negro F | The global health burden of hepatitis C virus infection | Liver Int | 31(S2) | 4-17 | 2011 |

| | | | | | |
|--|--|-------------------------|--------|---------|------|
| Sievert W, Altraif I, Razavi HA, Abdo A, Ahmed EA, AlOmair A, Amarapurkar D, Chen C-H, Dou X, El Khayat H, elShazly M, Esmat G, Guan R, Han K-H, <u>Koike K</u> , Largen A, McCaughan G, Mogawer S, Monis A, Nawaz A, Piratvisuth T, Sanai FM, Sharara AI, Sibbel S, Sood A, Suh DJ, Wallace C, Young K, Negro F | A systematic review of hepatitis C virus epidemiology in Asia, Australia and Egypt | Liver Int | 31(S2) | 61-80 | 2011 |
| Masuzaki R, Shiina S, Tateishi R, Yoshida H, Goto E, Sugioka Y, Kondo Y, Goto T, Ikeda H, Omata M, <u>Koike K</u> . | Utility of contrast enhanced ultrasonography with sonazoid in radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma | J Gastroenterol Hepatol | 26 | 759-764 | 2011 |
| 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, <u>Koike K</u> | Pathogenesis of lipid metabolism disorder in hepatitis C: polyunsaturated fatty acids counteract lipid alterations induced by the core protein | J Hepatol | 54 | 432-438 | 2011 |
| 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, <u>Koike K</u> | Intrahepatic bile duct dilatation after percutaneous radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma: impact on patient's prognosis | Liver Int | 31 | 197-205 | 2011 |

| | | | | | |
|--|--|-----------------------------|-----------|-----------|------|
| Arnaud N, Dabo S, Akazawa D, Fukasawa M, Shinkai-Ouchi F, Hugon J, <u>Wakita T</u> , Meurs EF. | Hepatitis C virus reveals a novel early control in acute immune response. | PLoS Pathog. | 7(10) | e1002289. | 2011 |
| Saeed M, Suzuki R, Watanabe N, Masaki T, Tomonaga M, Muhammad A, Kato T, Matsuura Y, Watanabe H, <u>Wakita T</u> , Suzuki T. | Role of the endoplasmic reticulum-associated degradation (ERAD) pathway in degradation of hepatitis C virus envelope proteins and production of virus particles. | J Biol Chem. | 286(43) | 37264-73. | 2011 |
| Okamoto Y, Masaki T, Murayama A, Munakata T, Nomoto A, Nakamoto S, Yokosuka O, Watanabe H, <u>Wakita T</u> , Kato T. | Development of recombinant hepatitis C virus with NS5A from strains of genotypes 1 and 2. | Biochem Biophys Res Commun. | 410(3) | 404-9. | 2011 |
| Yamamoto M, Aizaki H, Fukasawa M, Teraoka T, Miyamura T, <u>Wakita T</u> , Suzuki T. | Structural requirements of virion-associated cholesterol for infectivity, buoyant density and apolipoprotein association of hepatitis C virus. | J Gen Virol. | 92(9) | 2082-7. | 2011 |
| Akazawa D, Morikawa K, Omi N, Takahashi H, Nakamura N, Mochizuki H, Date T, Ishii K, Suzuki T, <u>Wakita T</u> . | Production and characterization of HCV particles from serum-free culture. | Vaccine. | 29(29-30) | 4821-8. | 2011 |
| Aly HH, Oshiumi H, Shime H, Matsumoto M, <u>Wakita T</u> , Shimotohno K, Seya T. | Development of mouse hepatocyte lines permissive for hepatitis C virus (HCV). | PLoS One. | 6(6) | e21284. | 2011 |
| <u>Akbar SM</u> , Al-Mahtab M, Hiasa Y. | Future aspects of therapy for hepatitis B virus infection: value of surrogate markers, innovative therapy, and global | J Gastroenterol | 46 | 717-723 | 2011 |

| | | | | | |
|---|---|---|-----|---------|------|
| | collaboration. | | | | |
| <u>Akbar SM</u> , Furukawa S, Horiike N, Abe M, Hiasa Y, Onji M. | Safety and immunogenicity of hepatitis B surface antigen-pulsed dendritic cells in patients with chronic hepatitis B. | J Viral Hepat | 18 | 408-414 | 2011 |
| <u>Akbar SM</u> , Horiike N, Chen S, Michitaka K, Abe M, Hiasa Y, Matsuura B, Onji M. | Mechanism of restoration of immune responses of chronic hepatitis B patients during lamivudine therapy; increased antigen processing and presentation by dendritic cells. | J Viral Hepat | 18 | 200-205 | 2011 |
| <u>Akbar SM</u> , Al-Mahtab M. | Immune interventional strategies against chronic infections diseases and cancers: present challenges and road map to solution. | Euroasian J Hepato-Gastroenterology | 1 | 5-13 | 2011 |
| <u>Akbar SM</u> , Al-Mahtab M. | Immune therapy for chronic hepatitis B: will this lead to Rome | Euroasian Journal of Hepato-Gastroenterology | 1 | 47-48 | 2011 |
| Chen S, <u>Akbar SM</u> , Abe M, Hiasa Y, Onji M. | Immunosuppressive functions of hepatic myeloid-derived suppressor cells of normal mice and in a murine model of chronic hepatitis B virus. | Clin Exp Immunol | 166 | 134-142 | 2011 |
| Al-Mahtab M, Karim F, Foster G, Solaiman S, <u>Akbar SM</u> , Rahman S | Prevalence and risk factors of asymptomatic HCV infection in Bangladesh | Journal of Clinical and Experimental Hepatology | 1 | 3-16 | 2011 |

| | | | | | |
|--|---|--|-----|---------|------|
| Al-Mahtab M, Rahman S, <u>Akbar SM</u> , Kamal M, Khan SI. | Assessment of clinical utility of low and high normal alanine aminotransferase values in patients with chronic hepatitis B virus infection at Bangladesh. | Digestion | 83 | 60-64 | 2011 |
| Nahar N, Al-Mahtab M, Rahman A, <u>Akbar SM</u> , Habib S. | Histopathological assessment of liver biopsy specimen in the context of HBV DNA and HBeAg in patients with chronic hepatitis B | Euroasian Journal of Hepato-Gastroenterology | 1 | 83-88 | 2011 |
| Tsuge M, Takahashi S, Hiraga N, Fujimoto Y, Zhang Y, Mitsui F, Abe H, Kawaoka T, Imamura M, Ochi H, Hayes CN, <u>Chayama K</u> . | Effects of hepatitis B virus infection on the interferon response in immunodeficient human hepatocyte chimeric mice. | J Infect | 2 | 224-8 | 2011 |
| Tsuge M, Fujimoto Y, Hiraga N, Zhang Y, Ohnishi M, Kohno T, Abe H, Miki D, Imamura M, Takahashi S, Ochi H, Hayes CN, Miya F, Tsunoda T, <u>Chayama K</u> | Hepatitis C virus response in the liver of the human hepatocyte chimeric mouse. | PLoS One. | 6 | e23856. | 2011 |
| <u>Chayama K</u> , Hayes CN, Hiraga N, Abe H, Tsuge M, Imamura M. | Animal model for study of human hepatitis viruses. | J Gastroenterol Hepatol. | 26(| 13-18s | 2011 |
| Miki D, Ochi H, Hayes CN, Abe H, Yoshima T, Aikata H, Ikeda K, Kumada H, Toyota J, Morizono T, Tsunoda T, Kubo M, Nakamura Y, Kamatani N, <u>Chayama K</u> | Variation in the DEPDC5 locus is associated with progression to hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C virus carriers | Nat Genet | 43 | 797-800 | 2011 |

| | | | | | |
|--|---|---------------------------------------|--------|-------------|------|
| Hajime Sunagozaka, Masao Honda, Taro Yamashita, Ryuhei Nishino, Hajime Takatori, Kuniaki Arai, Tatsuya Yamashita, Yoshio Sakai, <u>Shuichi Kaneko.</u> | Identification of a secretory protein c19orf10 activated in hepatocellular carcinoma. | International Journal of Cancer | 129(7) | 1576-1585 | 2011 |
| Yoshiko Takata, Yasunari Nakamoto, Akiko Nakada, Takeshi Terashima, Fumitaka Arihara, Masaaki Kitahara, Kaheita Kakinoki, Kuniaki Arai, Taro Yamashita, Yoshio Sakai, Tatsuya Yamashita, Eishiro Mizukoshi, <u>Shuichi Kaneko.</u> | Frequency of CD45RO(+) subset in CD4(+)CD25(high) regulatory T cells associated with progression of hepatocellular carcinoma. | Cancer Letters | 307(2) | 165-173 | 2011 |
| Masao Honda, Kenji Takehana, Akito Sakai, Yusuke Tagata, Takayoshi Shirasaki, Shinobu Nishitani, Takahiko Muramatsu, Tatsuya Yamashita, Yasunari Nakamoto, Eishiro Mizukoshi, Yoshio Sakai, Taro Yamashita, Mikiko Nakamura, Tetsuro Shimakami, MinKyung Yi, Stanley M. Lemon, Tetsuo Suzuki, Takaji Wakita, <u>Shuichi Kaneko</u> ; Hokuriku Liver Study Group. | Malnutrition Impairs Interferon Signaling through mTOR and FoxO pathways in Patients with Chronic Hepatitis C. | Gastroenterolog y | 141(1) | 128-140. e2 | 2011 |

| | | | | | |
|--|---|--|-------|-----------|------|
| Taro Yamashita, Masao Honda, <u>Shuichi Kaneko</u> . | Molecular mechanisms of hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis C virus infection. | Journal of Gastroenterolog y and Hepatology | 26(6) | 960-964 | 2011 |
| Eishiro Mizukoshi, Yasunari Nakamoto, Kuniaki Arai, Tatsuya Yamashita, Akito Sakai, Yoshio Sakai, Takashi Kagaya, Taro Yamashita, Masao Honda, <u>Shuichi Kaneko</u> . | Comparative analysis of various tumor-associated antigen-specific t-cell responses in patients with hepatocellular carcinoma. | Hepatology | 53(4) | 1206-1216 | 2011 |

8

Chapter

Hepatitis B Virus Carriers

SM Fazle Akbar, Mamun-Al-Mahtab, Morikazu Onji

INTRODUCTION

Hepatitis B virus (HBV) is a DNA virus of the *hepadnaviridae* family. The HBV genome is about 3.2 kb in length that replicates in a unique manner through an RNA intermediate. The genome encodes four open reading frames for surface, core, polymerase, and X genes. The respective proteins are known as hepatitis B surface antigen (HBsAg), hepatitis B core antigen (HBcAg), hepatitis B polymerase antigens, and hepatitis B X antigen. The core gene can also produce a soluble small molecular weight protein called hepatitis B e-antigen (HBeAg) by an alternate start codon and post-translational modification.

After infection, the virus enters into hepatocytes, the primary site of infection, through yet undefined receptors, and mostly unknown mechanisms. After entry, HBVDNA is transported to the nucleus and converted to covalently closed circular DNA (cccDNA), which serves as the stable template for transcription of both messenger RNA (for translation of viral proteins) and pre-genomic RNA (for reverse transcription into genomic DNA).

As shown in Table 8.1, HBV-infected patients may exhibit different HBV-related markers. All of these markers may not be detected in all patients and all stages of pathological processes. Again, some of these markers are detectable in the sera, whereas, the others can be detected in the liver. Different methods such as molecular biological approaches, immune assays and histopathological techniques are required to detect HBV-related markers in HBV-infected subjects. Sensitivity and specificity of these methodologies are important for detecting different HBV-related markers. Different HBV-related antigens and antibodies as well HBV DNA are differentially expressed in acute and chronic HBV-infected subjects. In addition, patients with chronic HBV-infection may also exhibit diverse arrays of HBV replication and heterogeneous expression of HBV-related markers on the basis of different phases of pathological processes. For simplicity and better understanding among general physician, the term 'chronic HBV carrier' would be used to denote any person that express HBV DNA and HBsAg in the sera for more than 6 months after primary infection.

Table 8.1: Different hepatitis B virus (HBV)-related markers and their significance

| | | |
|----------------|---|-------------|
| HBV DNA | Active viral replication | Liver, Sera |
| HBsAg | Active viral replication | Liver, Sera |
| Anti-HBs | HBsAg seroconversion, low viral replication | Sera, Liver |
| HBcAg | Viral replication | Liver |
| Anti-HBc | HBcAg seroconversion Differential role | Sera |
| HBeAg | Viral replication | Sera, Liver |
| Anti-HBe | HBeAg seroconversion Reduced HBV replication or defective HBV replication | Sera |
| DNA polymerase | Viral replication | Sera, Liver |

CHRONIC HBV-INFECTION

Deviation from Traditional Acute and Chronic Microbial Infections and its Practical Implications

Conventional wisdom indicates that when a virus is completely eliminated after initial infection, it is regarded as an acute infection. On the other hand, when the virus establishes a persistent infection in the hosts, it is regarded as chronic infection. This is not so straight forward in the context of chronic HBV-infection. Subjects with resolved acute hepatitis B (AHB) do not express HBV DNA and HBsAg in the sera. Moreover, anti-HBs, a protective antibody against the HBV, are detected in these subjects, usually for life. On the contrary, chronic HBV-infected persons express both HBV DNA and HBsAg in the sera for more than 6 months after initial infection. Most of the physicians, especially those of the developing countries, consider that distinction between acute and chronic HBV-infection is made on the basis of complete negativity or presence of HBV DNA in the infected hosts. Due to recent advances in detection system of the HBV DNA, it is now evident that the HBV DNA also persist in patients with resolved AHB. These are usually present in the liver. In addition, the HBV also replicates, albeit at low levels, in patients with resolved AHB. Some investigators have detected HBV DNA from patients with resolved AHB, several decades after initial HBV-infection. These subjects have been expressing anti-HBs for decades. These points have been highlighted in this chapter because these factors have tremendous importance in the context of prevention and management of HBV-infection, especially in the developing countries of the world. It is generally assumed that resolved AHB patients are free from the HBV. Blood and other body fluids from these subjects are also transfused to healthy persons in many developing countries