

- region on liver steatosis and glucose tolerance in non-cirrhotic patients without overt diabetes. *J Gastroenterol Hepatol* 26:836-842, 2011.
- 24 Yamaguchi K, Itoh Y, Yokomizo C, Nishimura T, Niimi T, Umemura A, Fujii H, Okanoue T, Yoshikawa T. Blockade of IL-6 signaling exacerbates liver injury and suppresses anti-apoptotic gene expression in methionine choline deficient diet-fed db/db mice. *Lab Invest* 91:609-618, 2011.
- 25 Sakamoto N, Nakagawa M, Tanaka Y, Sekine-Osajimal Y, Ueyama M, Kurosaki M, Nishida N, Tamori A, Yuki NS, Itsui Y, Azuma S, Kakinuma S, Hige S, Itoh Y, Tanaka E, Hiasa Y, Izumi N, Tokunaga K, Mizokami M, Watanabe M and the Ochanomizu-Liver Conference Study Group. Association of IL28B variants with response to pegylated-interferon alpha plus ribavirin combination therapy reveals intersubgenotypic differences between genotypes 2a and 2b. *J Med Virol* 83: 871-878, 2011.
- 26 Takasaka T, Itoh Y, Kaneko H, and Ikegaya H. Detection of hepatitis C virus and antibodies in postmortem blood and bloodstains. *J Clin Microbiol* 49: 1122-1123, 2011.
- 27 Jo M, Nishikawa T, Nakajima T, Okada Y, Yamaguchi K, Mitsuyoshi H, Yasui K, Minami M, Kagawa K, Itoh Y, Yoshikawa T. Oxidative stress is closely associated with tumor angiogenesis of hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol* 46:809-821, 2011.
- 28 Tanaka Y, Kurosaki M, Nishida N, Sugiyama M, Matsuura K, Sakamoto N, enomoto N, Yatsushashi H, Nishiguchi S, Hini K, Hige S, Itoh Y, Tanaka E, Mochida S, Honda M, Hiasa Y, Koike A, Sugauchi F, Kaneko S, Izumi N, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-wide association study identified *ITPA/DDRKG1* variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Hum Mol Genet* 20:3507-3516, 2011.
- 29 Yoneda M, Fujii H, Sumida Y, Hyogo H, Itoh Y, Ono M, Eguchi Y, Suzuki Y, Aoki N, Kanemasa K, Imajo K, Chyayama K, Saibata T, Kawada N, Fujimoto K, Khogo Y, Yoshikawa T, Okanoue T, Japan Study Group of Nonalcoholic Fatty Liver Disease (JSG-NAFLD). Platelet Count for Predicting Fibrosis in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *J Gastroenterol* 46:1300-1306, 2011.
- 30 Yokomizo C, Yamaguchi K, Itoh Y, Nishimura T, Minami M, Yasui K, Mitsuyoshi H, tochiki N, Fujii H, Nakajima T, Umemura A, Okanoue T, Yoshikawa T. High expression of p300 in HCC predicts shortened overall survival in association with enhanced epithelial mesenchymal

- transition of HCC cells. *Cancer Lett* 310:140-147, 2011.
- 31 Itoh Y, Nishimura T, Yamaguchi K, Yokomizo C, Fujii H, Minami M, Nagao Y, Sumida Y, Hashimoto H, Umemura A, Shima T, Okanoue T, Yoshikawa T. Hepatic Steatosis in Chronic Hepatitis C Patients Infected with Genotype 2 is Associated with Insulin Resistance, Hepatic Fibrosis and Affects Cumulative Positivity of Serum HCV RNA in Peginterferon and Ribavirin Combination Therapy. *Hepatol Res* 2011 Sep 26 [Epub ahead of print].
- 32 Nakajima T, Nakashima T, Yamaoka J, Shibuya A, Konishi E, Okada Y, Jo M, Nishikawa T, Itoh Y, Yoshikawa T. Greater age and hepatocellular aging are independent risk factors for hepatocellular carcinoma arising from non-B non-C non-alcoholic chronic liver disease. *Pathol Int* 61:572-576, 2011.
- 33 Fukui M, Senmaru T, Hasegawa G, Yamazaki M, Asano M, Kagami Y, Ishigami A, Marymyama N, Iwasa K, Kitawaki J, Itoh Y, Okanoue T, Ohta M, Obayashi H, Nakamura N. 17 beta-estradiol attenuates fatty acid diet-induced liver injury in ovariectomized mice by up-regulating hepatic senescence marker protein-30. *Biochem Biophys Res Commun* 2011 Oct 19 [Epub ahead of print]
- 34 Fujii H, Itoh Y, Ohnishi N, sakamoto M, Ohkawara T, Sawa Y, Nishida K, Ohkawara Y, Yamaguchi K, Minami M, Okanoue T. Factors Associated with the Overall Survival of Elderly Patients with Hepatocellular Carcinoma. *World J Gastroenterol* (in press)

2. 学会発表

- 1) 西村 健、伊藤義人、横溝千尋、新見敏久、橋本宏明、山口寛二、南 祐仁、吉川敏一。Genotype 1b 高ウイルス量の C 型慢性肝炎に対する Peg-IFNH/Ribavirin 併用療法の治療前効果予測式作成の試み。第 95 回日本消化器病学会総会 2009 年 5 月 8 日 (札幌)。
- 2) 伊藤義人、西村 健、吉川敏一。自然経過と治療適応 (高齢者、PNALT を含む)。コンセンサクミーティング 2、C 型肝炎。第 45 回日本肝臓学会総会 2009 年 6 月 5 日 (神戸)。
- 3) 西村 健、伊藤義人、吉川敏一。Genotype 1b 高ウイルス量の C 型慢性肝炎に対する Peg-IFNH/Ribavirin 併用療法の早期治療反応別・治療期間別の治療成績。第 13 回日本肝臓学会大会 2009 年 10 月 14 日 (京都)。
- 4) 西村 健、伊藤義人、吉川敏一。Genotype 1b 高ウイルス量の C 型慢性肝炎における高齢女性に対するペグインターフェロン・リバビリン併用療法の現状とその対策。第 38 回日本肝臓学会西部会 2009 年 12 月 5 日 (米子)。
- 5) 西村 健、伊藤義人、横溝千尋、新美敏久、橋本宏明、山口寛二、光吉博則、安居幸一郎、南 祐仁、岩井眞樹、吉川敏一。Genotype 2 型高ウイルス量の C 型慢性肝炎に

対する Peg-IFN/Ribavirin 併用療法の治療抵抗因子ならびに適切な治療期間の検討
第 95 回日本消化器病学会総会 2010 年 4 月 22 日 (新潟)。

6) 西村 健、伊藤義人、山口寛二、横溝千尋、新見敏久、光吉博則、安居幸一郎、南祐仁、岩井真樹、吉川敏一。Genotype 1b 高ウイルス量の C 型慢性肝炎に対する Peg-IFN/Ribavirin 併用療法における cEVR 最適な治療機関に関する検討。第 46 回日本肝臓学会総会 2010 年 5 月 28 日 (山形)。

7) 西村 健、伊藤義人、山口寛二、横溝千尋、新見敏久、光吉博則、安居幸一郎、南祐仁、岩井真樹、岡上 武、吉川敏一。血清 ALT 持続正常の C 型慢性肝炎の 10 年以上の経過。第 14 回日本肝臓学会大会 2010 年 10 月 14 日 (横浜)。

8) 西村健、伊藤義人、横溝千尋、山口寛二、光吉博則、安居幸一郎、南祐仁、岩井真樹、岡上武、吉川敏一。C 型慢性肝炎における PEG-IFN/Ribavirin 併用療法と肝発癌。第 47 回日本肝臓学会総会 2011 年 6 月 2 日 (東京)。

9) 西村健、伊藤義人、横溝千尋、山口寛二、光吉博則、安居幸一郎、南祐仁、岩井真樹、岡上武、吉川敏一。C 型慢性肝炎に対する PEG-IFN/Ribavirin 併用療法後の肝発癌関連因子の検討。第 15 回日本肝臓学会大会 2011 年 10 月 20 日 (福岡)

10) 西村健、山口寛二、片山貴之、岡田頼久、光吉博則、安居幸一郎、南祐仁、岩井真樹、岡上武、伊藤義人。C 型慢性肝炎に対する PEG-IFN/Ribavirin 併用療法の副作用中止例の検討。第 39 回日本肝臓学会西部会 2011 年 12 月 9 日 (岡山)

G. 知的財産権の出願・登録状況
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）
分担研究報告書（平成 21-23 年度）

研究分担者 金子 周一 金沢大学大学院恒常性制御学 教授

分担研究課題: C 型慢性肝炎症例における肝臓の低栄養状態とインターフェロン応答・不応答の解析

研究要旨: C 型慢性肝炎の治療抵抗性には様々な因子が関与し、肝線維化、脂肪化、インスリン抵抗性などの宿主因子が重要な働きを演じている。肝臓の低栄養状態の指標である Fischer 比の低下はインターフェロン治療抵抗性と有意に関連した因子であった。肝における網羅的遺伝子発現解析から Fischer 比の低下は肝の mTOR シグナル低下と関連することが示された。培養細胞の検討では低アミノ酸状態では mTORC1 の下流である pS6K の発現の低下と同時に pSTAT1 の発現低下が認められた。また、mTOR シグナルと並び重要な栄養調節因子である FoxO の発現を解析したところ、低栄養状態では Foxo3a 総量の増加を認め、Socs3 の発現も上昇した。Socs3 プロモーター領域の解析から Foxo3a が FoxO 結合領域を介して Socs3 プロモーター領域に結合し、Socs3 の転写レベルで上昇させていることを明らかにした。BCAA 投与により、Huh7.5 細胞では mTORC1 の活性化と Foxo3 の発現低下に伴う Socs3 の発現低下が誘導され、インターフェロンシグナルが活性化し、HCV の複製が濃度依存性に抑制された。以上より、BCAA 投与を含めた栄養状態の改善によりインターフェロン応答の回復が認められる可能性を示した。

A. 研究目的

C 型慢性肝炎の治療抵抗性には様々な因子が関与している。近年 IL28B の遺伝子多型が Peg-IFN+Rib 併用療法の治療反応性を決定する重要な宿主因子であることが報告された。しかしながら、それ以外にも年齢、肝線維化、脂肪化、インスリン抵抗性などの宿主因子をはじめ、ISDR やコア領域変異を代表とするウイルス側因子も治療抵抗性に寄与していると考えられる。本研究では、特に肝臓の低栄養状態の観点からインターフェロン応答・不応答の解析を行った。

B. 研究方法

ペグイントロン+レボトル併用療法を行った 168 例を対象とし、全症例において、血中アミノグラム解析を行い各種臨床パラメーターと併せ解析した。95 症例において肝組織の遺伝子発現を affymetrix gene chip により解析した。Huh7 細胞及び HCV 感染クローン(G1a 由来)を用いて低アミノ酸状態における IFN シグナルを解析した。

C. 研究結果

168 例の治療効果の内訳は SVR70 例、TR55 例、NR43 例であった。多変量解析の結果、線維化進展 (Odds=5.91, $p=0.0018$)、IL28B マイナー (Odds=20.0, $p<0.001$)、肝組織 ISGs (Odds=4.60, $p=0.021$)、Fischer 比 (Odds=8.07, $p=0.014$)、ISDR 変異 (Odds=4.23,

$p=0.016$) が有意因子として抽出された。Fischer 比の低下はインターフェロン治療抵抗性と有意に関連した因子であった。

肝における網羅的遺伝子発現解析では BCAA 代謝に関わる BCAT1 の発現は Fischer 比と有意に逆相関を示した。また BCAT1 を誘導する c-myc と BCAT1 の発現に有意な正相関を認めた。mTORC1 下流の S6K により転写レベルで負の制御を受ける PDCC4 は BCAT1 と正の相関を認めた。以上より、慢性 C 型慢性肝炎組織では c-myc の発現上昇と共に BCAT1 の誘導が起こり BCAA の低下、mTORC1 シグナルの低下が起こっていると考えられた。

培養細胞 Huh7 において低アミノ酸状態ではリン酸化 mTOR の発現低下、mTORC1 下流の pS6K の発現低下を認めると同時に pSTAT1 の発現低下が認められた。

一方、mTOR シグナルと並び重要な栄養調節因子である FoxO につき解析したところ、低栄養状態ではリン酸化 pFoxo3a が低下し、Foxo3a 総量の増加を認めた。Foxo3a の増加と比例して Socs3 の増加が認められた。Socs3 プロモーター領域には FoxO 結合領域が存在することから、Socs3 プロモーターに変異を導入したレポーターアッセイを行うと FoxO 結合領域変異により、Socs3 プロモーター活性が低下した。またクロマチン免疫沈降により Foxo3a が FoxO 結合領域を介して Socs3 プロモーター領域に結合していることを確認した。

HCV 感染クローンを用いた検討では低アミノ酸状態

では Huh7.5 細胞において HCV の複製亢進が起こり、BCAA 投与により、mTORC1 の活性化と Foxo3 の発現低下に伴う Socs3 の発現低下が誘導され、pSTAT の発現上昇と ISGs の発現上昇が認められた。HCV の複製は BCAA 濃度依存性に抑制された。

D. 考 察

C 型慢性肝炎の治療抵抗性には様々な因子が関与し、肝線維化、脂肪化、インスリン抵抗性などの宿主因子が重要な働きを演じている。なかでも肝線維化の進行に伴い治療抵抗性が増強することは、異なるゲノタイプでも共通して認められ、その機序に関して十分に解明されてこなかった。肝線維化の進行に伴う治療抵抗性のメカニズムには血流、薬物の delivery など様々な因子が関連する可能性があるが、今回、肝の栄養状態に注目して解析を行った。血中アミノグラムの解析から Fischer 比の低下が治療抵抗性と密接に関連することが明らかとなり、BCAA の低下が重要な因子であった。培養細胞を用いた検討では低アミノ酸状態では mTOR シグナル及び下流の pS6K の発現低下を認めると同時に pSTAT1 の発現低下が認められた。一方、mTOR シグナルと並び重要な栄養調節因子である FoxO につき解析したところ、低栄養状態では Foxo3a 総量の増加を認め、比例して Socs3 の増加が認められた。Socs3 プロモーター領域には FoxO 結合領域が存在し、Foxo3a が Socs3 を転写レベルで上昇させていることを明らかにした。さらに、BCAA 投与により、Huh7.5 細胞では mTORC1 の活性化と Foxo3 の発現低下に伴う Socs3 の発現低下が誘導され、インターフェロニンシグナルが活性化し、HCV の複製が濃度依存性に抑制された。このように、肝の栄養状態からもたらされるインターフェロニンシグナルの変化が、治療成績と密接に関連しており、BCAA 投与を含めた栄養状態の改善によりインターフェロニン応答の回復が認められる可能性を示した。

E. 結 論

肝の低栄養状態では mTORC1 の低下、Foxo3-Socs3 の上昇を介したインターフェロニン応答の低下が起こっており、BCAA 投与を含めた栄養状態の改善によりインターフェロニン応答の回復が認められる可能性がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Differential microRNA expression between hepatitis B and hepatitis C leading disease progression to hepatocellular carcinoma.

Ura S, Honda M, Yamashita T, Ueda T, Takatori H,

Nishino R, Sunakozaka H, Sakai Y, Horimoto K, Kaneko S.

Hepatology. 2009 Apr;49(4):1098-112.

A liver-derived secretory protein, selenoprotein P, causes insulin resistance.

Misu H, Takamura T, Takayama H, Hayashi H, Matsuzawa-Nagata N, Kurita S, Ishikura K, Ando H, Takeshita Y, Ota T, Sakurai M, Yamashita T, Mizukoshi E, Yamashita T, Honda M, Miyamoto K, Kubota T, Kubota N, Kadowaki T, Kim HJ, Lee IK, Minokoshi Y, Saito Y, Takahashi K, Yamada Y, Takakura N, Kaneko S.

Cell Metab. 2010 Nov 3;12(5):483-95.

Differential interferon signaling in liver lobule and portal area cells under treatment for chronic hepatitis C.

Honda M, Nakamura M, Tateno M, Sakai A, Shimakami T, Shirasaki T, Yamashita T, Arai K, Yamashita T, Sakai Y, Kaneko S.

J Hepatol. 2010 Nov;53(5):817-26. Epub 2010 Jul 15.

La protein required for internal ribosome entry site-directed translation is a potential therapeutic target for hepatitis C virus replication.

Shirasaki T, Honda M, Mizuno H, Shimakami T, Okada H, Sakai Y, Murakami S, Wakita T, Kaneko S.

J Infect Dis. 2010 Jul 1;202(1):75-85.

Oncostatin m renders epithelial cell adhesion molecule-positive liver cancer stem cells sensitive to 5-Fluorouracil by inducing hepatocytic differentiation.

Yamashita T, Honda M, Nio K, Nakamoto Y, Yamashita T, Takamura H, Tani T, Zen Y, Kaneko S.

Cancer Res. 2010 Jun 1;70(11):4687-97.

Hepatic ISG expression is associated with genetic variation in interleukin 28B and the outcome of IFN therapy for chronic hepatitis C.

Honda M, Sakai A, Yamashita T, Nakamoto Y, Mizukoshi E, Sakai Y, Yamashita T, Nakamura M, Shirasaki T, Horimoto K, Tanaka Y, Tokunaga K, Mizokami M, Kaneko S; Hokuriku Liver Study Group.

Gastroenterology. 2010 Aug;139(2):499-509.

Characterization of naturally occurring protease inhibitor-resistance mutations in genotype 1b hepatitis C virus patients.

Shindo H, Maekawa S, Komase K, Sueki R, Miura M,

Kadokura M, Shindo K, Amemiya F, Kitamura T, Nakayama Y, Inoue T, Sakamoto M, Okada SI, Asahina Y, Izumi N, Honda M, Kaneko S, Enomoto N.
Hepatol Int. 2011 Aug 18. [Epub ahead of print]

3. その他 なし

Genome-wide association study identified ITPA/DDRGK1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C.

Tanaka Y, Kurosaki M, Nishida N, Sugiyama M, Matsuura K, Sakamoto N, Enomoto N, Yatsushashi H, Nishiguchi S, Hino K, Hige S, Itoh Y, Tanaka E, Mochida S, Honda M, Hiasa Y, Koike A, Sugauchi F, Kaneko S, Izumi N, Tokunaga K, Mizokami M.
Hum Mol Genet. 2011 Sep 1;20(17):3507-16.

Comparative analysis of various tumor-associated antigen-specific t-cell responses in patients with hepatocellular carcinoma.

Mizukoshi E, Nakamoto Y, Arai K, Yamashita T, Sakai A, Sakai Y, Kagaya T, Yamashita T, Honda M, Kaneko S.
Hepatology. 2011 Apr;53(4):1206-16

Malnutrition impairs interferon signaling through mTOR and FoxO pathways in patients with chronic hepatitis C.

Honda M, Takehana K, Sakai A, Tagata Y, Shirasaki T, Nishitani S, Muramatsu T, Yamashita T, Nakamoto Y, Mizukoshi E, Sakai Y, Yamashita T, Nakamura M, Shimakami T, Yi M, Lemon SM, Suzuki T, Wakita T, Kaneko S; Hokuriku Liver Study Group.
Gastroenterology. 2011 Jul;141(1):128-40,

Pre-treatment prediction of response to pegylated-interferon plus ribavirin for chronic hepatitis C using genetic polymorphism in IL28B and viral factors.

Kurosaki M, Tanaka Y, Nishida N, Sakamoto N, Enomoto N, Honda M, Sugiyama M, Matsuura K, Sugauchi F, Asahina Y, Nakagawa M, Watanabe M, Sakamoto M, Maekawa S, Sakai A, Kaneko S, Ito K, Masaki N, Tokunaga K, Izumi N, Mizokami M.
J Hepatol. 2011 Mar;54(3):439-48

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

HCV 陽性肝移植症例に対するステロイドフリー免疫抑制法と preemptive 抗ウイルス療法の意義と IL28B 遺伝子多型に関する研究

研究分担者 永野浩昭 大阪大学大学院 消化器外科学 准教授

研究要旨

HCV 陽性症例に対する肝移植後の HCV 肝炎再発に対して、ステロイドフリー免疫抑制法と術後早期から低用量より開始する preemptive インターフェロン+リバビリン療法 (Low dose interferon ribavirin (LDIR) therapy) の有効性と、さらには、上記症例のゲノム解析 (IL28B-遺伝子多型: SNIP) を施行することでステロイドフリー免疫抑制法と LDIR therapy の有効性との関係について検討した。その結果、ステロイドフリー免疫抑制法は早期の HCV 再発を抑制していたが、HCV に対する抗ウイルス療法の効果については、IL28B-SNIP の結果と有意に相関しており、LDIR のプロトコールの有用性との関係は明らかではなく、今後の検討課題であると思われた。

A. 研究背景、目的
(背景)

HCV 陽性症例に対する肝移植後の HCV 肝炎再発は必発であり、他の原疾患による肝移植と比較して成績不良である。そこで本研究においては、術後免疫抑制としてステロイドを使用しないステロイドフリー免疫抑制法と術後早期から低用量より開始する preemptive インターフェロン+リバビリン療法 (Low dose interferon ribavirin (LDIR) therapy) を導入し、HCV 肝炎の再発予防の有効性について検討した。さらに、最近注目されている、ゲノム解析 (IL28B-遺伝子多型: SNIP) を施行することで、ステロイドフリー免疫抑制法と LDIR therapy の有効性との関係について検討した。

B. 研究方法

(1) ステロイドフリー免疫抑制法と LDIR therapy の有用性

1999 年より 2008 年の間に行われた成人間生体肝移植 85 例中、HCV 肝炎陽性 31 例のうちで、ABO 不適合肝移植症例、HBV との混合感染症例、ステロイドを術中 1g のみ使用した症例を除く 28 例を対象とした。抗ウイルス治療は、術後肝機能が安定し次第速やかに低用量 (ペグインターフェロン α -2b 0.5 μ g/kg/week+ribavirin 400mg/day) より開始し、副作用に応じて増減を行い、HCVRNA が陰性化してから 48 週間投与を行った。免疫抑制剤はステロイドを全く使用しないステロイド

フリー群 (F 群、n=17) とステロイドを漸減し 3 か月で終了するステロイド群 (S 群、n=11) を用いた。HCV 肝炎再発の診断は、肝機能異常、HCVRNA 陽性、および組織学的に A2 あるいは F2 以上と定義した。

(2) IL28B-遺伝子多型: SNIP と、HCV 関連肝移植における抗ウイルス療法との関係

1999 年より 2011 年の間に行われた成人間生体肝移植 123 例中、HCV 肝炎陽性 46 例のうちで、ABO 不適合肝移植症例、HBV との混合感染症例、ステロイドを術中 1g のみ使用した症例を除く 39 例を対象とした。上記の 39 症例中 36 例について、ゲノム解析 (IL28B-遺伝子多型: SNIP) を施行した。研究 (1) の結果とあわせ、ステロイドフリー免疫抑制法と LDIR therapy の有効性との関係について検討した。

C. 研究結果

(1) ステロイドフリー免疫抑制法と LDIR therapy の有用性

LDIR は 14 例 (50%) に施行しえた。LDIR が施行できなかった原因は、HCV 早期再発 6 例 (21.4%)、早期グラフト損失 4 例 (14.3%)、その他 (血小板減少、腎機能障害など) 4 例 (14.3%) であった。LDIR 治療導入率は、免疫抑制法別では F 群: 70.6%、S 群: 18.2% と F 群で高かった。28 例中 HCV 肝炎再発を 8 例 (29.6%) で、SVR は 9 例 (33.3%) に認められた。HCV 肝炎再発危険因子は、LDIR 施行 (P=0.001)、S 群 (P=0.026)、急性拒絶反応 (P

<0.001)であった。

(2)IL28B-遺伝子多型:SNIP と、HCV 関連肝移植における抗ウイルス療法との関係
IL28B 遺伝子多型の結果については、TT:30 例、GT/GG:6 例で、83%が MAJOR であった。抗ウイルス療法の効果については、LDIR は IL28B 遺伝子多型の結果に有意に相関しており、抗 HCV 治療のプロトコールによる治療効果については明らかでなかった。その一方で、ステロイドフリー免疫抑制療法については、移植直後の HCV-RNA の上昇を抑制することで、早期の HCV 再発と FCH の発症を認めなかった。

D. 考察

HCV 陽性症例に対する肝移植後の HCV 肝炎再発に対するステロイドフリー免疫抑制療法および低用量 preemptive 抗ウイルス療法は、安全かつ有効性が期待できると考えられた。その一方で、ゲノム解析(IL28B-遺伝子多型:SNIP)を施行することで、肝移植後のウイルス治療効果にレシピエント IL28B 遺伝子多型が有意に関与していたことが明らかになった。次に、ステロイドフリー免疫抑制法により、HCV 肝炎早期再発頻度を抑制することが可能であり、HCV 肝硬変・肝移植症例のウイルス治療に意義がある可能性が示唆された。また、Preemptive にウイルス治療を開始することで、肝線維化の進行を抑制することが可能であったが、IL28B 遺伝子多型の結果を考慮すると、その意義については明らかではなかった。

E. 結論

ステロイドフリー免疫抑制療法および低用量 preemptive 抗ウイルス療法は安全なプロトコールであった。また、ステロイドフリー免疫抑制法は早期の HCV 再発を抑制していたが、HCV に対する抗ウイルス療法の効果については、IL28B-SNIP の結果と有意に相関しており、その意義については、今後の検討課題であると思われた。

F. 健康危険情報 特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kim C, Aono S, Marubashi S, Wada H, Kobayashi S, Eguchi H, Takeda Y, Tanemura M, Okumura N, Takao T, Doki Y, Mori M, Nagano H. Significance of Alanine Aminopeptidase N (APN) in Bile in the Diagnosis of Acute Cellular Rejection After Liver Transplantation. J Surg Res. (in press)
2. Marubashi S, Nagano H, Wada H, Kobayashi S, Eguchi H, Takeda Y, Tanemura M, Doki Y, Mori M. Donor hepatectomy for living donor liver transplantation: learning steps and surgical outcome. Dig Dis Sci. 2011; 56(8):2482-2490.
3. Marubashi S, Nagano H, Wada H, Kobayashi S, Eguchi H, Takeda Y, Tanemura M, Umeshita K, Doki Y, Mori M. Clinical significance of alpha-fetoprotein mRNA in peripheral blood in liver resection for hepatocellular carcinoma. Ann Surg Oncol. 2011; 18(8): 2200-2209.
4. Kobayashi S, Nagano H, Marubashi S, Wada H, Takeda Y, Eguchi H, Tanemura M, Umeshita K, Doki Y, Mori M. Successful adult ABO incompatible living donor liver transplantation: Experience with double infusion through the hepatic artery and portal vein. Hepatogastroenterol. 2011; 58(106): 503-507.
5. Marubashi S, Dono K, Nagano H, Asaoka T, Hama N, Kobayashi S, Miyamoto A, Takeda Y, Umeshita K, Monden M. Efficacy of Minimal Dosage of Calcineurin Inhibitor for Living Donor Liver Transplant Recipients with Preoperative Renal Dysfunction. Hepatogastroenterol. 2011; 58(106): 508-511.
6. Marubashi S, Wada H, Kobayashi S, Eguchi H, Tanemura M, Umeshita K, Doki Y, Mori M, Nagano H. Once-Daily Prolonged-Release Tacrolimus in De Novo Liver Transplantation: A Single Center Cohort Study. Hepatogastroenterol. 2011; 14(59): 115-116.
7. Marubashi S, Nagano H, Yamanouchi E, Kobayashi S, Eguchi H, Takeda Y, Tanemura M, Maeda N, Tomoda K, Hikita H, Tsutsui S, Doki Y, Mori M. Salvage cystic duct anastomosis using a magnetic compression technique for

- incomplete bile duct reconstruction in living donor liver transplantation. *Liver Transpl.* 2010; 16(1):33-37.
8. Marubashi S, Nagano H, Kobayashi S, Eguchi H, Takeda Y, Tanemura M, Umeshita K, Monden M, Doki Y, Mori M. Evaluation of a new immunoassay for therapeutic drug monitoring of tacrolimus in adult liver transplant recipients. *Journal of Clinical Pharmacology.* 2010;50(6): 705-709.
 9. Kobayashi S, Nagano H, Marubashi S, Hama N, Asaoka T, Eguchi H, Takeda Y, Tanemura M, Doki Y, Mori M. GBP2 mRNA in peripheral blood leukocytes of liver transplant recipients as a marker for acute cellular rejection. *Transplant Immunol.* 2010; 23(4):390-396.
 10. Okuyama M, Nagano H, Kobayashi S, He L, Ota H, Shimizu J, Takeda Y, Marubashi S, Eguchi H, Tanemura M, Dono K, Sakon M, Umeshita K, Gotoh M, Monden M. ROLE of the liver in determining allo-immune response in-vitro following donor-specific spleen cells injection. *Transplant Immunol.* 2010; 22(3): 150-156.
 11. Tomimaru Y, Nagano H, Eguchi H, Kobayashi S, Marubashi S, Wada H, Tanemura M, Umeshita K, Hiramatsu H, Takehara T, Doki Y, Mori M. Effects of preceding interferon therapy on outcome after surgery for hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. *J of Surg Oncol.* 2010; 102: 308-314.
 12. Ohmura Y, Tanemura M, Kawaguchi N, Machida T, Tanida T, Deguchi T, Wada H, Kobayashi S, Marubashi S, Eguchi H, Takeda Y, Matsuura N, Ito T, Nagano H, Doki Y, Mori M. Combined-transplantation of pancreatic islets and adipose tissue-derived stem cells enhances the survival and insulin-function of islet grafts in diabetic mice. *Transplantation.* 2010; 90(12): 1366-1373.
 13. 永野浩昭、丸橋 繁、小林省吾、和田浩志、江口英利、種村匡弘、土岐祐一郎、森 正樹. 脳死肝移植の現状と問題点—これからの脳死移植— *日消病誌*, 108(5): 2011
 14. 永野浩昭、丸橋 繁、小林省吾、江口英利、武田 裕、種村匡弘、梅下浩司、土岐祐一郎、森 正樹. 特集:肝移植の画像診断—生体ドナーの安全とレシピエントの予後向上を目指して 生体ドナーに必要な術前画像診断 肝胆膵画像、12(1); 25-32: 2010.
2. 学会発表
 1. Marubashi S., Nagano H., Wada H., Kobayashi S., Eguchi H., Takeda Y., Tanemura M., Umeshita K., Doki Y., Mori M. Improvement of donor hepatectomy for living donor liver transplantation : 10 year single center experience of 124 cases. *American Transplant Congress.* 2010.5.1-5.4.(San Diego)
 2. Marubashi S., Wada H., Kobayashi S., Eguchi H., Takeda Y., Tanemura M., Umeshita K., Doki Y., Mori M., Nagano H. Evaluation of immune monitoring with Cylex ImmuKnow assay in liver transplantation. XXIII international congress of the transplantation society.2010.8.15-8.19(Canada)
 3. 永野浩昭、丸橋繁、小林省吾、江口英利、武田裕、種村匡弘、和田浩志、梅下浩司、土岐祐一郎、森正樹: 成人生体肝移植における自己門脈および中肝静脈をもちいた肝静脈再建に関する工夫: 第22回 日本肝胆膵外科学会・学術集会、2010.5.26-5.28(仙台)
 4. 永野浩昭、丸橋繁、和田浩志、小林省吾、江口英利、種村匡弘、小川馨、梅下浩司、土岐祐一郎、森正樹: 教室における成人生体肝移植施行例の短期成績: 第72回 日本臨床外科学会総会、2010.11.21-11.23(横浜)
 5. 小林省吾、永野浩昭、和田浩志、江口英利、武田裕、種村匡弘、中川雄公、大須賀章倫、平松直樹、薬師神崇、別所一彦、上野豪久、小川馨、梅下浩司、土岐祐一郎、森正樹: 劇症肝炎ワーキングの取り組みと肝移植の成績: 第46回 日本腹部救急医学会総会、2010.3.18-3.19(富山)
 6. 丸橋繁、永野浩昭、和田浩志、小林省吾、江口英利、武田裕、種村匡弘、梅下浩司、土岐祐一郎、森正樹: 生体部分肝移植における胆道再建の工夫: 第22回 日本肝胆膵外科学会・学術集会、

- 2010.5.26-5.28(仙台)
7. 丸橋繁、永野浩昭、森正樹:C型肝炎に対する肝移植:ステロイドフリー免疫抑制法と preemptive 抗ウイルス療法の意義:第46回 日本肝臓学会総会、第22回 日本肝胆膵外科学会・学術集会、2010.5.26-5.28(仙台)
 8. 丸橋繁、永野浩昭、森正樹:肝移植後晩期合併症の傾向と対策:JDDW2010、2010.10.13-10.16(横浜)
 9. 小林省吾、丸橋繁、和田浩志、江口英利、武田裕、種村匡弘、梅下浩司、松原謙一、土岐祐一郎、森正樹、永野浩昭:肝移植・拒絶反応診断における分子生物学的検索の可能性と臨床応用:第46回 日本移植学会総会、2010.10.20-10.22(京都)
 10. 桂宣輝、和田浩志、小林省吾、丸橋繁、江口英利、武田裕、種村匡弘、小川馨、梅下浩司、土岐祐一郎、森正樹、永野浩昭:肝移植術直後の免疫抑制剤としてのタクロリムス水和物除放射性カプセルの使用経験:第46回 日本移植学会総会、2010.10.20-10.22(京都)
 11. 和田浩志、丸橋繁、小林省吾、江口英利、武田裕、種村匡弘、小川馨、梅下浩司、土岐祐一郎、森正樹、平松直樹、考藤達哉、竹原徹郎、永野浩昭:肝移植後の HCV 肝炎再発予防を目的としたステロイドフリー免疫抑制法と preemptive 抗ウイルス療法の意義:第46回 日本移植学会総会、2010.10.20-10.22(京都)
 12. 永野浩昭、丸橋 繁、福澤正洋:当院における脳死肝移植の経験とこれからの課題、第47回日本肝臓学会総:2011.6.2-3(東京)
 13. 和田浩志、竹原徹郎、永野浩昭:教室における肝移植後 C 型肝炎再発抑制の取り組み、第37回日本肝臓学会西部会肝移植後における肝疾患の再発と対策 2011.12.9-10(岡山)
 14. 丸橋 繁、永野浩昭、森 正樹:肝移植成績向上のための取り組みと将来展望、JDDW2011:我が国の肝移植の現状と将来:2011.10.20-23(福岡)
 15. 丸橋 繁、小林省吾、和田浩志、江口英利、川本弘一、種村匡弘、梅下浩司、土岐祐一郎、森 正樹、永野浩昭:肝細胞癌に対する肝移植の適応条件、第47回 日本肝癌研究会、肝細胞癌治療に対する肝移植の Responsibility:2011.7.28-29(静岡)
 16. 丸橋 繁、小林省吾、和田浩志、江口英利、川本弘一、種村匡弘、梅下浩司、土岐祐一郎、森 正樹、永野浩昭:肝細胞癌に対する肝移植における工夫と成績、第47回日本肝癌研究会、肝細胞癌の肝移植:2011.7.28-29(静岡)
 17. 永野浩昭、丸橋 繁、小林省吾、和田浩志、江口英利、種村匡弘、川本弘一、梅下浩司、土岐祐一郎、森 正樹、小川馨、萩原邦子、上野豪久、近藤宏樹、平松直樹、竹原徹郎、福澤正洋:当院における脳死肝移植の経験とこれからの課題、第29回日本肝移植研究会、改正臓器移植法1年の総括ー脳死肝移植の体制強化に向けてー2011.7.22-23(仙台)
 18. 小林省吾、丸橋 繁、和田浩志、江口英利、種村匡弘、梅下浩司、土岐祐一郎、森 正樹、永野浩昭:原発性胆汁性肝硬変に対する成人間生体肝移植の長期成績と再発治療に関する検討、第29回日本肝移植研究会 シンポジウム2 原疾患の差異により生じているわが国の肝移植の特殊性(PSC, PBC) 2011.7.22-23(仙台)
 19. 和田浩志、丸橋 繁、小林省吾、江口英利、川本弘一、種村匡弘、梅下浩司、土岐祐一郎、森 正樹、永野浩昭:原発性胆汁性肝硬変に対する成人間生体肝移植の長期成績と再発治療に関する検討、第29回日本肝移植研究会 シンポジウム3 移植後胆道狭窄に対する治療の長期成績、) 2011.7.22-23(仙台)
 20. 丸橋 繁、和田浩志、小林省吾、江口英利、種村匡弘、小川 馨、萩原邦子、梅下浩司、中川雄公、平松直樹、竹原徹郎、土岐祐一郎、森 正樹、永野浩昭:肝移植適応評価と周術期および長期 follow-up マネジメント効率化への取り組み、第29回日本肝移植研究会 シンポジウム4 理想的な肝移植チームの在り方:2011.7.22-23(仙台)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

- 1.特許取得
特になし。
- 2.実用新案登録
特になし。
- 3.その他
特になし。

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）
分担研究報告書

C型肝炎難治症例の病態解明と抗ウイルス治療に関する研究

研究分担者 坂本 直哉 東京医科歯科大学・分子肝炎制御学講座 准教授

研究要旨：我々はC型肝炎難治症例の病態解明のため、HCV複製増殖に関連する遺伝子および分子間ネットワークの網羅的解析、およびHCVコア蛋白変異株培養系を用いた増殖動態、インターフェロン感受性の解析をおこない以下の知見を得た。(1) HCV-JFH-1 (G2a)株とGT 2b培養株のIFN感受性の比較により、JFH 1 感染細胞では、SOCS3およびそれを強力に誘導するIL-6の発現が増強していた。(2) Core70/91変異HCV-JFH1クローンではウイルス蛋白の細胞内への蓄積傾向が見られ、インターフェロン応答能が低下していた。(3) PEG-IFN/RBV治療を行った患者を対象に血清IL-6レベルを測定したところ、C型肝炎患者では、健常者、他の慢性肝疾患患者に比べ高値であった。今後他のインターフェロン抵抗株（1b型など）へ解析対象を広げ、インターフェロン抵抗性の分子機構などについて解析を進めるとともに、テラプレビル・インターフェロン・リバビリン併用療法についてもIL6と治療抵抗性の関連について検討を進める。

A. 研究目的

HCV感染に対して現在までにDAAを含めた多くの抗HCV薬の開発がさかんに行われているがIFNは今なお、抗HCV薬のkey drugである。しかしながら近年登場したテラプレビル(TPV)、ペグインターフェロン(IFN)とリバビリン(RBV)併用療法においてもIFN低感受性に起因する治療難治群が存在する。その為、現在IFN治療の成績を規定する因子のin-vitroにおける検討が必要である。

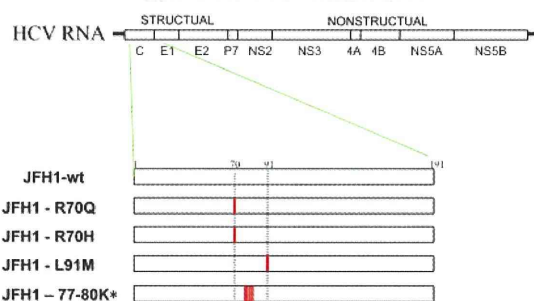
本研究で我々は、独自に開発したHCV培養増殖系を用い、抗ウイルス薬感受性に関わる宿主蛋白の探索・機能解析を進め、新たな抗ウイルス療法を開発することを目的として研究を遂行している。本年度我々は、(1) 異なるHCV株間のIFN感受性の差異の発現機構、および(2) HCVコア領域のアミノ酸70番および91番変異のPEG-IFN・Ribavirin治療抵抗性発現の分子機構、およびコア70/91変異がHCV増殖・粒子形成・interferon(IFN)感受性に与える影響を検討した。(2) PEG-IFN+RBV療法を施行した患者献体を用いてIFN抵抗性のキー分子であるIL-6の血中レベルと臨床像、IFN治療成績との関連を検討した。

B. 研究方法

(1) 急性C型肝炎genotype 2b患者の急性期血清からRT-PCRを用いて、コンセンサスシ

ークエンスを有する全長genotype 2b-cDNAを構築した。構築した全長genotype2bHCVの構造遺伝子部位とJFH 1 株の非構造遺伝子を有するキメラウイルスを構築した。構築したgenotype2b/JFH1キメラウイルスとJFH1のIFN感受性の比較検討を行いその差異を規定する因子の検討を行った。

(2) HCV-JFH1プラスミドpJFH1full (HCV-wild)にin-vitro mutagenesisによりcore aa70 (R70Q, R70H)、aa91 (L91M)変異をそれぞれ導入した。合成HCV-RNAをHuh7細胞に導入し、培養上清中のコア抗原および上清・細胞内のHCV-RNA・コア蛋白を測定した。HCV-core野生株、変異株をそれぞれ細胞に導入し、種々の濃度のIFN- α を添加しコア抗原およびHCV-RNAを測定した。また種々のインターフェロン誘導遺伝子(ISG)、SOCS、およびERストレス関連蛋白を検出・比較した。



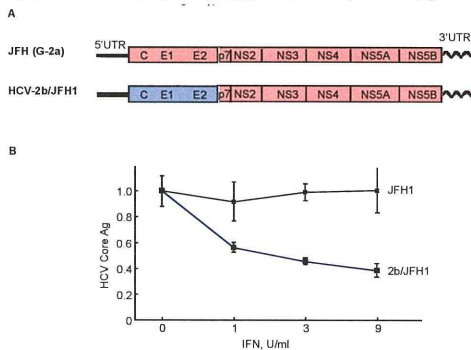
(3) PEG-IFN/RBV治療を施行したgenotype 1b患者149例を対象に治療前、治療中の血清IL-6レベルを測定し、臨床像、治療成績との関連を解析した。

厚生労働科学研究費補助金（肝炎緊急対策研究事業）
分担研究報告書

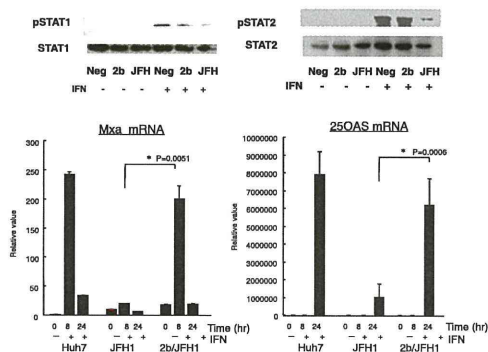
C. 研究結果

(1) genotype2b HCV 株の構造遺伝子部位と JFH1 株の非構造遺伝子部位からキメラクローンは培養細胞内での増殖、培養上清への感染性ウイルスの分泌、更に培養上清を naïve huh751 細胞へ接種する事により再感染が確認された。更に、培養上清をヒト肝細胞キメラマウスに接種する事により感染が成立する事が確認された。

続いて、構築した genotype2b/JFH1 株 (C3 株) と JFH1 株の IFN 感受性の差異の検討を行った。それぞれの HCV 感染後に、IFN を添加し培養上清中のウイルスの減少率を比較検討したところ JFH1 株が C3 株に比して IFN 耐性である事が確認された (図 1B)。

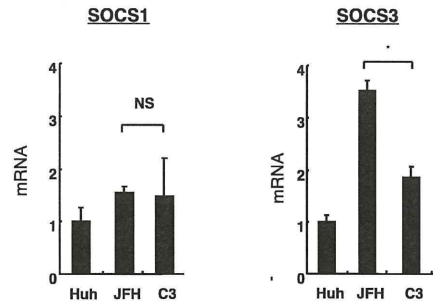


そこで、各 HCV 感染細胞に IFN 添加後の IFN signal 構成因子である STAT1、2 のリン酸化、更にその下流の抗ウイルス作用を有する ISG の発現を比較検討したところ JFH1 株感染細胞で有意にその発現が抑制されていた。

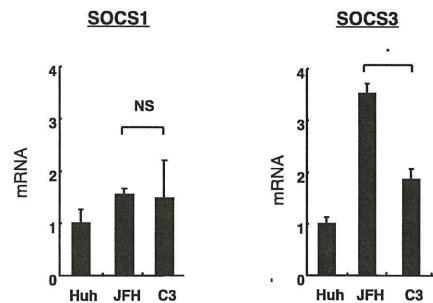


そこで、Jak のリン酸化を阻害する事により STAT1、2 のリン酸化を抑制する SOCS1、3 の発現を比較検討したところ IFN 耐性であった JFH1 感染細胞内で SOCS3 の発現が mRNA、蛋白レベルともに上昇していた。更に、

siRNA にて SOCS3 を knock-down する事により IFN に対する耐性が改善する事が確認された。



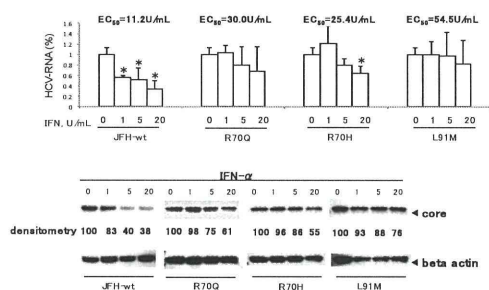
肝細胞においては、SOCS3 は IL6 を介して強力に誘導される事が報告されている。そこで、JFH1、C3 株感染細胞のそれぞれの IL6 の発現を検討したところ JFH1 感染細胞において強く IL6 が発現されている事が確認された。IL6 による SOCS3 発現、更に IFN 感受性への影響を検討する為に IFN 添加前に抗 IL6 抗体にて処理を行ったところ感染細胞内の SOCS3 の発現は有意な低下を認めるとともに、IFN 抵抗性の改善も確認された。



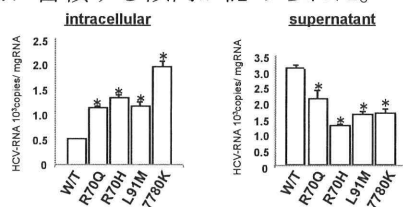
肝細胞においては、SOCS3 は IL6 を介して強力に誘導される事が報告されている。そこで、JFH1、C3 株感染細胞のそれぞれの IL6 の発現を検討したところ JFH1 感染細胞において強く IL6 が発現されている事が確認された。IL6 による SOCS3 発現、更に IFN 感受性への影響を検討する為に IFN 添加前に抗 IL6 抗体にて処理を行ったところ感染細胞内の SOCS3 の発現は有意な低下を認めるとともに、IFN 抵抗性の改善も確認された。

(2) HCV-core 変異株、HCV-R70Q, -R70H および-L91M は、wild 株に比べ IFN に対し抵抗性が認められた。

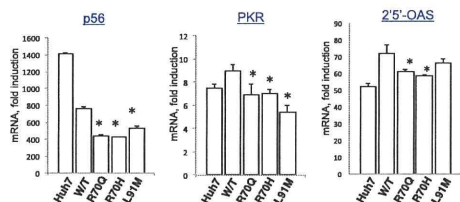
厚生労働科学研究費補助金（肝炎緊急対策研究事業）
分担研究報告書



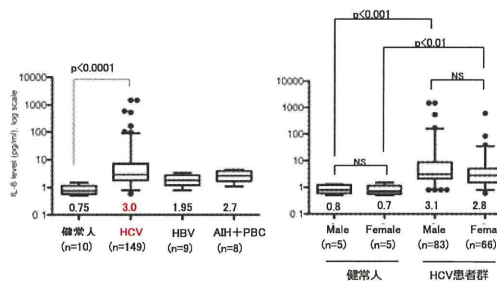
HCV-core 変異株、HCV-R70Q, -R70H および -L91M は、wild 株に比べ細胞内 HCV-RNA レベルが高い一方で、上清中 HCV 蛋白は HCV-wild に比し低値であり、コア蛋白が細胞内に蓄積する傾向が認められた。



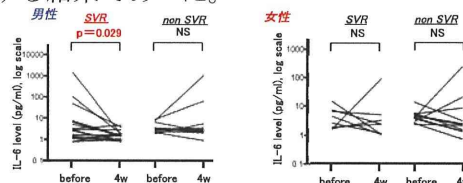
Core 変異株では IFN 抵抗性が認められ、IFN 伝達経路の抑制因子である SOCS-1, SOCS-3 の発現が野生株に比べて増強しており、25-AS や MXA などの ISG は変異株で低下していた。



(3) PEG-IFN/RBV 治療を行った患者を対象に血清 IL-6 レベルを測定したところ、C 型肝炎患者では、健常人、他の慢性肝疾患患者に比べ高値であった。



IFN 治療経過中の IL-6 の推移を治療効果別に検討したところ、男性では、治療が効いた群では速やかに IL-6 が低下し、低値のまま推移するのに対して、治療抵抗群である nonSVR 群では IL-6 は持続高値で経過しており、IL-6 高値により IFN 抵抗性がもたらされるという in vitro の実験結果と一致する結果であった。



D. 考察

HCV 感染においては、IL6 の産生亢進が起こり SOCS2 を介しインターフェロン低感受性を引き起こすと考えられる。Core70/91 アミノ酸変異等を導入した HCV 培養系を用いた解析により、C70/91 変異株では SOCS1/3 などの高発現とともにリン酸化 STAT1/2 を始めとしたインターフェロン応答能が低下しており、ウイルスの特定領域のアミノ酸変異がインターフェロン不応性を来し、その機序に ER ストレスや IFN 伝達経路の抑制因子が関与している可能性が考えられた。

C 型肝炎患者の血清 IL-6 値は、健常人および他の慢性肝疾患と比して有意に高値であった。インターフェロン治療前および治療後早期の血清 IL-6 値は男性における治療効果と有意に関連した。

E. 今後の研究課題

他のインターフェロン抵抗株 (1b 型など) へ解析対象を広げ、in-vitro および in-vivo における増殖能、インターフェロン抵抗性の分子機構などについて解析を進めるとともに、テラプレビル・インターフェロン・リバビリン併用療法についても IL6 と治療抵抗性の関連について検討を進める。

厚生労働科学研究費補助金（肝炎緊急対策研究事業）
分担研究報告書

F. 研究発表

論文発表

1. Kaushik-Basu N, Sakamoto N: Inhibition of hepatitis C virus NS5B polymerase by S-trityl-L-cysteine derivatives. *Eur J Med Chem* 2012; in press.
2. Kurosaki M, Hiramatsu N, Sakamoto M, Suzuki Y, Iwasaki M, Tamori A, Matsuura K, Kakinuma S, Sugauchi F, Sakamoto N, Nakagawa M, Yatsuhashi H, Izumi N: Age and total ribavirin dose is an independent predictor of relapse among early virological responders to peg-interferon plus ribavirin therapy in chronic hepatitis C revealed by data mining analysis. *Antivir Ther* 2011; in press.
3. Kusano-Kitazume A, Sakamoto N, Okuno Y, Sekine-Osajima Y, Nakagawa M, Kakinuma S, Kiyonashi K, Nitta S, Murakawa M, Azuma S, Nishimura-Sakurai Y, Hagiwara M, Watanabe M: Identification of novel N-(morpholine-4-carboxyloxy) amidine compounds as potent inhibitors against hepatitis C virus replication. *Antimicrob Agent Chemother*; 2011 Epub ahead of Print.
4. Kurosaki M, Hiramatsu N, Sakamoto M, Suzuki Y, Iwasaki M, Tamori A, Matsuura K, Kakinuma S, Sugauchi F, Sakamoto N, Nakagawa M, Izumi N: Data Mining Analysis of Hepatocellular Carcinoma Risk Predictors in Chronic Hepatitis C. *J Hepatol* 2011; Epub ahead of Print
5. Asahina Y, Tsuchiya K, Muraoka M, Tanaka K, Suzuki Y, Tamaki N, Hoshioka Y, Yasui Y, Katoh T, Hosokawa T, Ueda K, Nakanishi H, Itakura J, Takahashi Y, Kurosaki M, Enomoto N, Nitta S, Sakamoto N, Izumi N: Association of gene expression involving innate immunity and genetic variation in IL28B with antiviral response. *Hepatology* 2011; 55(1):20-29.
6. Kadokura M, Maekawa S, Sueki R, Miura M, Komase K, Shindo H, Amemiya F, Uetake T, Inoue T, Sakamoto M, Nakagawa M, Sakamoto N, Watanabe M, Enomoto N: Analysis of the complete open reading frame of hepatitis C virus in genotype 2a infection reveals critical sites influencing the response to peginterferon and ribavirin therapy. *Hepatol Int* 2011; 5(3):789-799.
7. Yoshida T, Takayama K, Kondoh M, Sakurai F, Tani H, Sakamoto N, Matsuura Y, Mizuguchi H, Yagi K: Use of human hepatocyte-like cells derived from induced pluripotent stem cells as a model for hepatocytes in hepatitis C virus infection. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 416(1-2):119-124.
8. Takaya D, Yamashita A, Kamijo K, Gomi J, Ito M, Maekawa S, Enomoto N, Sakamoto N, Watanabe Y, Arai R, Umeyama H, Honma T, Matsumoto T, Yokoyama S: A new method for induced fit docking (GENIUS) and its application to virtual screening of novel HCV NS3-4A protease inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2011; 19(22):6892-6905.
9. Ueyama M, Nakagawa M, Sakamoto N, Onozuka I, Funaoka Y, Watanabe T, Nitta S, et al: Serum interleukin-6 levels correlate with resistance to treatment of chronic hepatitis C infection with pegylated-interferon-alpha2b plus ribavirin. *Antivir Ther* 2011;16(7):1081-1091.
10. Tanaka Y, Kurosaki M, Nishida N, Sugiyama M, Matsuura K, Sakamoto N, Enomoto N, Yatsuhashi H, Nishiguchi S, Hino K, Hige S, Itoh Y, Tanaka E, Mochida S, Honda M, Hiasa Y, Koike A, Sugauchi F, Kaneko S, Izumi N, Tokunaga K, Mizokami M: Genome-wide association study identified ITPA/DDR1G1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Human Molecular Genetics* 2011; 20(17):3507-3516.
11. Hiramatsu N, Kurosaki M, Sakamoto N, Iwasaki M, Sakamoto M, Suzuki Y, Sugauchi F, Tamori A, Kakinuma S, Matsuura K, and Izumi N: Pretreatment Prediction of Anemia Progression by Peginterferon Plus Ribavirin Therapy in Chronic Hepatitis C: Decision-Tree Analysis. *J Gastroenterol* 2011; 46 (9): 1111-1119.
12. Kadokura M, Maekawa S, Sueki R, Miura M, Komase K, Shindo H, Amemiya F, Uetake T, Inoue T, Sakamoto M, Nakagawa M, Sakamoto N, Watanabe M, Enomoto N: Analysis of the complete open reading frame of genotype 2b hepatitis C virus in association with the response to peginterferon and ribavirin therapy. *PLoS One* 2011;6 (9):e24514.

厚生労働科学研究費補助金（肝炎緊急対策研究事業）
分担研究報告書

13. Kurosaki M, Sakamoto N, Iwasaki M, Sakamoto M, Suzuki Y, Hiramatsu N, Sugauchi F, Yatsushashi H, Izumi N: Pretreatment prediction of response to peginterferon plus ribavirin therapy in genotype 1 chronic hepatitis C using data mining analysis. *J Gastroenterol* 2011; 46(3):401-409.
14. Yoshida T, Kondoh M, Ojima M, Mizuguchi H, Yamagishi Y, Sakamoto N, Yagi K: Adenovirus vector-mediated assay system for hepatitis C virus replication. *Nucleic Acids Res* 2011; 39(10):e64.
15. Funaoka Y, Sakamoto N, Suda G, Itsui Y, Nakagawa M, Kakinuma S, Watanabe T, Mishima K, Ueyama M, Onozuka I, Nitta S, Kitazume A, Kiyohashi K, Murakawa M, Azuma S, Tsuchiya K, Watanabe M: Analysis of interferon signaling by infectious hepatitis C virus clones with substitutions of core amino acids 70 and 91. *J Virol* 2011; 85(12):5986-5994.
16. Watanabe T, Sakamoto N, Nakagawa M, Kakinuma S, Itsui Y, Nishimura-Sakurai Y, Ueyama M, Funaoka Y, Kitazume A, Nitta S, Kiyohashi K, Murakawa M, Azuma S, Tsuchiya K, Oooka S, Watanabe M: Inhibitory effect of a triterpenoid compound, with or without alpha interferon, on hepatitis C virus infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55(6):2537-2545.
17. Yamamoto M, Sakamoto N, Nakamura T, Itsui Y, Nakagawa M, Nishimura-Sakurai Y, Kakinuma S, Azuma S, Tsuchiya K, Kato T, Wakita T, Watanabe M: Studies on virus kinetics using infectious fluorescence-tagged hepatitis C virus cell culture. *Hepato Res* 2011;41:258-269.
18. Toyoda M, Kitaoka A, Machida K, Nishinakagawa T, Yada R, Kohjima M, Kato M, Kotoh K, Sakamoto N, Shiota G, Nakamura M, Nakashima M, Enjoji M: Association between lipid accumulation and the cannabinoid system in Huh7 cells expressing HCV genes. *Int J Mol Med* 2011;27:619-624.
19. Sakamoto N, Nakagawa M, Tanaka Y, Sekine-Osajima Y, Ueyama M, Kurosaki M, Nishida N, Tamori A, Yuki NS, Itsui Y, Azuma S, Kakinuma S, Hige S, Itoh Y, Tanaka E, Hiasa Y, Izumi N, Tokunaga K, Mizokami M, Watanabe M: Association of IL28B variants with response to pegylated-interferon alpha plus ribavirin combination therapy reveals intersubgenotypic differences between genotypes 2a and 2b. *J Med Virol* 2011;83:871-878.
20. Onozuka I, Kakinuma S, Kamiya A, Miyoshi M, Sakamoto N, Kiyohashi K, Watanabe T, Funaoka Y, Ueyama M, Nakagawa M, Koshikawa N, Seiki M, Nakauchi H, Watanabe M: Cholestatic liver fibrosis and toxin-induced fibrosis are exacerbated in matrix metalloproteinase-2 deficient mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2011;406:134-140
21. Kurosaki M, Tanaka Y, Nishida N, Sakamoto N, Enomoto N, Honda M, Sugiyama M, Matsuura K, Sugauchi F, Asahina Y, Nakagawa M, Watanabe M, Sakamoto M, Maekawa S, Sakai A, Kaneko S, Ito K, Masaki N, Tokunaga K, Izumi N, Mizokami M: Pre-treatment prediction of response to pegylated-interferon plus ribavirin for chronic hepatitis C using genetic polymorphism in IL28B and viral factors. *J Hepatol* 2011;54:439-448.
22. Kurosaki M, Sakamoto N, Iwasaki M, Sakamoto M, Suzuki Y, Hiramatsu N, Sugauchi F, Tamori A, Nakagawa M, Izumi N: Sequences in the interferon sensitivity-determining region and core region of hepatitis C virus impact pretreatment prediction of response to PEG-interferon plus ribavirin: data mining analysis. *J Med Virol* 2011;83:445-452.
23. Suda G, Sakamoto N, Itsui Y, Nakagawa M, Tasaka-Fujita M, Funaoka Y, Watanabe T, Nitta S, Kiyohashi K, Azuma S, Kakinuma S, Tsuchiya K, Imamura M, Hiraga N, Chayama K, Watanabe M: IL-6-mediated intersubgenotypic variation of interferon sensitivity in hepatitis C virus genotype 2a/2b chimeric clones. *Virology* 2010;407:80-90.
24. Sakamoto N, Tanaka Y, Nakagawa M, Yatsushashi H, Nishiguchi S, Enomoto N, Azuma S, Nishimura-Sakurai Y, Kakinuma S, Nishida N, Tokunaga K, Honda M, Ito K, Mizokami M, Watanabe M:

厚生労働科学研究費補助金（肝炎緊急対策研究事業）
分担研究報告書

- ITPA gene variant protects against anemia induced by pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for Japanese patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2010;40:1063-1071.
25. 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* 2010;45:523-536.
 26. 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* 2010;45:656-665.
 27. 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* 2010;45:195-203.
 28. Mishima K, Sakamoto N, Sekine-Osajima Y, Nakagawa M, Itsui Y, Azuma S, Kakinuma S, Kiyohashi K, Kitazume A, Tsuchiya K, Imamura M, Hiraga N, Chayama K, Wakita T, Watanabe M: Cell culture and in vivo analyses of cytopathic hepatitis C virus mutants. *Virology* 2010;405:361-369.
 29. Kim K, Kim KH, Kim HY, Cho HK, Sakamoto N, Cheong J: Curcumin inhibits hepatitis C virus replication via suppressing the Akt-SREBP-1 pathway. *FEBS Lett* 2010;584:707-712.
 30. Karakama Y, Sakamoto N, Itsui Y, Nakagawa M, Tasaka-Fujita M, Nishimura-Sakurai Y, Kakinuma S, Oooka M, Azuma S, Tsuchiya K, Onogi H, Hagiwara M, Watanabe M: Inhibition of hepatitis C virus replication by a specific inhibitor of serine-arginine-rich protein kinase. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54:3179-3186.
 31. Kameyama K, Nemoto Y, Kanai T, Shinohara T, Okamoto R, Tsuchiya K, Nakamura T, Sakamoto N, Totsuka T, Hibi T, Watanabe M: IL-2 is positively involved in the development of colitogenic CD4+ IL-7R alpha high memory T cells in chronic colitis. *Eur J Immunol* 2010;40:2423-2436.
 32. Wang SY, Tseng CP, Tsai KC, Lin CF, Wen CY, Tsay HS, Sakamoto N, Tseng CH, Cheng JC: Bioactivity-guided screening identifies pheophytin a as a potent anti-hepatitis C virus compound from *Lonicera hypoglauca* Miq. *Biochem Biophys Res Commun* 2009;385:230-235.
 33. Toma S, Yamashiro T, Arakaki S, Shiroma J, Maeshiro T, Hibiya K, Sakamoto N, Kinjo F, Tateyama M, Fujita J: Inhibition of intracellular hepatitis C virus replication by nelfinavir and synergistic effect with interferon-alpha. *J Viral Hepat* 2009;16:506-512.
 34. Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, Kurosaki M, Matsuura K, Sakamoto N, Nakagawa M, Korenaga M, Hino K, Hige S, Ito Y, Mita E, Tanaka E, Mochida S, Murawaki Y, Honda M, Sakai A, Hiasa Y, Nishiguchi S, Koike A, Sakaida I, Imamura M, Ito K, Yano K, Masaki N, Sugauchi F, Izumi N, Tokunaga K, Mizokami M: Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet* 2009;41:1105-1109.
 35. Tai AW, Benita Y, Peng LF, Kim SS, Sakamoto N, Xavier RJ, Chung RT: A functional genomic screen identifies cellular cofactors of hepatitis C virus replication. *Cell Host Microbe* 2009;5:298-307.
 36. 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. *Hepatology* 2009;49:60-69.

厚生労働科学研究費補助金（肝炎緊急対策研究事業）
分担研究報告書

37. Ohira M, Ishiyama K, Tanaka Y, Doskali M, Igarashi Y, Tashiro H, Hiraga N, Imamura M, Sakamoto N, Asahara T, Chayama K, Ohdan H: Adoptive immunotherapy with liver allograft-derived lymphocytes induces anti-HCV activity after liver transplantation in humans and humanized mice. *J Clin Invest* 2009;119:3226-3235.
38. Kim K, Kim KH, Ha E, Park JY, Sakamoto N, Cheong J: Hepatitis C virus NS5A protein increases hepatic lipid accumulation via induction of activation and expression of PPARgamma. *FEBS Lett* 2009;583:2720-2726.
39. Itsui Y, Sakamoto N, Kakinuma S, Nakagawa M, Sekine-Osajima Y, Tasaka-Fujita M, Nishimura-Sakurai Y, Suda G, Karakama Y, Mishima K, Yamamoto M, Watanabe T, Ueyama M, Funaoka Y, Azuma S, Watanabe M: Antiviral effects of the interferon-induced protein guanylate binding protein 1 and its interaction with the hepatitis C virus NS5B protein. *Hepatology* 2009;50:1727-1737.
40. Chatterji U, Bobardt M, Selvarajah S, Yang F, Tang H, Sakamoto N, Vuagniaux G, Parkinson T, Gallay P: The isomerase active site of cyclophilin A is critical for hepatitis C virus replication. *J Biol Chem* 2009;284:16998-17005.
41. 坂本直哉, 須田剛生、渡辺守: HCV genotype 2a/2b 感染クローンを用いた Interferon 抵抗性発現機構の解析. *消化器と免疫* 2010; 47:37-40.
- ネットワーク 肝胆膵 2011; 63: 1112-1118, 2011.12.1 発行
5. 藤田めぐみ、加藤孝宣、坂本直哉: HCV による自然免疫系の抑制機構: NS3、NS4B. *肝胆膵* 2011; 63:1 107-1111, 2011.12.1 発行.
6. 箆島裕子、中川美奈、坂本直哉: HCV の複製・増殖機構と遺伝子型・遺伝子変異. *日本臨床* 2011; 69:52-58.
7. 中川美奈、坂本直哉、渡辺守: シクロフィリン阻害剤. *肝胆膵* 2011;62:403-412.
8. 坂本直哉: STAT-C 多剤併用療法: 脱インターフェロン治療なるか? *肝胆膵* 2011; 62:421-426.
9. 唐鎌優子、坂本直哉、井津井康浩、中川美奈、藤田めぐみ、桜井幸、柿沼晴、大岡真也、東正新、土屋輝一郎、小野木博、萩原正敏、渡辺守: SR 蛋白質リン酸化酵素阻害剤による HCV 増殖抑制効果の解析. *消化器内科* 2010;51(6): 632-635.
10. 坂本直哉: 新しいインターフェロン製剤: PEG インターフェロン λ を中心に. *肝胆膵* 2010; 61(6):955-958.
11. 箆島裕子、中川美奈、坂本直哉: C 型肝炎の日常診療: 治療の適応、選択の実際. *medicina* 2010;47(3):2010-2103
12. 坂本直哉: PEG-IFN+RBV 非著効例に対する PEG-IFN+RBV の再治療戦略. *日経 CME* 2010 年 8 月号別冊.
13. 坂本直哉: 新規治療薬の開発動向. *最新医学* 2010; 65(9):1919-1924.
14. 坂本直哉: STAT-C(Specifically Targeted Antiviral Therapy for hepatitis C) 開発の動向. *肝胆膵* 2010 増刊号: 204-208.
15. 坂本直哉: 膵癌における TGF- β シグナル伝達系の関与. *肝胆膵* 2010; 61(1):67-72.
16. 植山真由美、中川美奈、坂本直哉、渡辺守: IL-6 と肝炎・肝発癌. *肝胆膵* 2010; 60(5):849-856.
17. 坂本直哉、中川美奈、渡辺守: 肝疾患における血液生化学検査, IL28B 肝胆膵 2010; 60(4):657-660.

総説

1. 坂本直哉: インターロイキン 28-29 (IL-28・IL-29) -インターフェロン λ . *臨床免疫・アレルギー科特集: サイトカインのすべて* 2011 in press.
2. 坂本直哉: 海外における DAA 開発臨床試験: 最近の動向. *化学療法* 2011; 63: 1112-1118, 2011.12.1 発行.
3. 坂本直哉: 海外における DAA 開発臨床試験: 最近の動向. *肝胆膵* 2011; 63: 1112-1118, 2011.12.1 発行.
4. 須田剛生、坂本直哉: インターフェロン治療抵抗性に関わるサイトカイン.

厚生労働科学研究費補助金（肝炎緊急対策研究事業）
分担研究報告書

18. Sakamoto N, Wu GY: Prospects for future therapy of hepatitis C virus infection. *Future Virology* 2009; 4(5):453-462.
 19. Sakamoto N, Watanabe M: New therapeutic approaches to HCV. *J Gastroenterol* 2009; 44(7):643-649.
 20. 櫻井幸, 坂本直哉, 渡辺守: HCV 増殖に関連する糖脂質代謝遺伝子ネットワーク. *肝胆膵* 2009; 59(6):1163-1172.
 21. 坂本直哉: HCV 増殖・培養系を用いた抗ウイルス化合物の同定. *医学のあゆみ* 2009; 229(1):107-110.
- 学会発表
1. Sakamoto N, Tanaka Y, Nakagawa M, Yatsuhashi H, Nishiguchi S, Enomoto N, Azuma S, Nishimura-Sakurai Y, Kakinuma S, Nishida N, Tokunaga K, Mizokami M, Watanabe M: ITPA gene variant protects against treatment-induced anemia and improves viral clearance by pegylated interferon-alfa and ribavirin therapy in chronic hepatitis C patients. 62th. Annual Meeting of American Association for the Study of Liver Diseases, Nov-4-2011, San Francisco, CA. (Poster #1016)
 2. Kakinuma S, Kamiya A, Sakamoto N, Nakauchi H, Watanabe M: MMP-2 and MMP-14 derived from donor cells enhance therapeutic efficacy of liver cell transplantation in mice. 62th. Annual Meeting of American Association for the Study of Liver Diseases, Nov-4-2011, San Francisco, CA. (Poster #670)
 3. Kusano-Kitazume A, Sakamoto N, Okuno Y, Yamamoto M, Sekine-Osajima Y, Nakagawa M, Kakinuma S, Kiyohashi K, Nitta S, Murakawa M, Hagiwara M, Watanabe M: A high-content screening assay using infectious fluorescence-tagged hepatitis C virus reveals candidates for small molecule inhibitors of viral entry. 62th. Annual Meeting of American Association for the Study of Liver Diseases, Nov-4-2011, San Francisco, CA. (Poster #383)
 4. Kiyohashi K, Kakinuma S, Kamiya A, Sakamoto N, Nakauchi H, Watanabe M: Low wnt5A promotes biliary differentiation of murine hepatic stem/progenitor cells. 62th. Annual Meeting of American Association for the Study of Liver Diseases, Nov-4-2011, San Francisco, CA. (Oral presentation #176)
 5. Itsui Y, Sakamoto N, Yauchi T, Watanabe M: Antiviral effect of a novel interferon-inducible protein, IFI-27, against hepatitis C virus replication. 62th. Annual Meeting of American Association for the Study of Liver Diseases, Nov-4-2011, San Francisco, CA. (Poster #2086)
 6. Suda G, Sakamoto N, Itsui Y, Nakagawa M, Tasaka-Fujita M, Funaoka Y, Watanabe T, Nitta S, Kiyohashi K, Azuma S, Kakinuma S, Tsuchiya K, Imamura M, Hiraga N, Chayama K, Watanabe M: IL-6-mediated intersubgenotypic variation of interferon sensitivity in hepatitis C virus genotype 2a/2b chimeric clones. 62th. Annual Meeting of American Association for the Study of Liver Diseases, Nov-4-2011, San Francisco, CA. (Poster #2040)
 7. Kurosaki M, Itakura J, Yasui Y, Tsuchiya K, Nakanishi H, Takahashi Y, Asahina Y, Tanaka Y, Mizokami M, Sakamoto N, Enomoto N, Izumi N: Prediction model of ribavirin-induced anemia incorporating ITPA genotype could identify chronic hepatitis C patients at high risk of relapse among virological responders to pegylated-interferon and ribavirin. 62th. Annual Meeting of American Association for the Study of Liver Diseases, Nov-4-2011, San Francisco, CA. (Poster #982)
 8. Matsuura K, Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, Watanabe T, Sugauchi F, Kurosaki M, Izumi N, Sakamoto N, Enomoto N, Yatsuhashi H, Nishiguchi S, Hino K, Kaneko S, Nojiri S, Joh T, Tokunaga K, Mizokami M: IL28B and ITPA gene variants correlate with treatment efficacy in pegylated-interferon plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C. 62th. Annual Meeting of American Association for the Study of Liver Diseases, Nov-4-2011, San Francisco, CA. (Poster #994)
 9. Kurosaki M, Sakamoto N, Matsuura K, Kakinuma S, Nakagawa M, Asahina Y, Enomoto N, Izumi N: Mutations in the interferon sensitivity determining region of HCV, age and total ribavirin dose is an

厚生労働科学研究費補助金（肝炎緊急対策研究事業）
分担研究報告書

- independent predictor of relapse among early virological responders to peg-interferon plus ribavirin therapy. 62th. Annual Meeting of American Association for the Study of Liver Diseases, Nov-4-2011, San Francisco, CA. (Poster #995)
10. Takeshi Yoshida, Fumi Satoh, Watari Akihiro, Masuo Kondoh, Hiroyuki Mizuguchi, Naoya Sakamoto, Kiyohito Yagi: Development of an RNA polymerase I-driven adenoviral vector and its application in an HCV replication assay. 18th. International Meeting on Hepatitis C Virus & Related Viruses. Sep-8-2011, Seattle, WA.
 11. Naoya Sakamoto, Yusuke Funaoka, Goki Suda, Mina Nakagawa, Sei Kakinuma, Mamoru Watanabe: Analysis of interferon signaling by infectious hepatitis C virus clones with substitutions of core amino acids 70 and 91. 18th. International Meeting on Hepatitis C Virus & Related Viruses. Sep-8-2011, Seattle, WA.
 12. Sayuri Nitta, Naoya Sakamoto, Megumi Tasaka-Fujita, Kei Kiyohashi, Akiko Kusano-Kitazume, Miyako Murakawa, Kouhei Yoshino, Kako Mishima, Sei Kakinuma, Mina Nakagawa, Mamoru Watanabe: HCV-NS4B targets STING and abrogates RIG-I-mediated type-I interferon- dependent innate immune response. 18th. International Meeting on Hepatitis C Virus & Related Viruses. Sep-8-2011, Seattle, WA.
 13. Yoshiaki Yamagishi, Takeshi Yoshida, Masuo Kondoh, Hiroyuki Mizuguchi, Naoya Sakamoto, Akihiro Watari, Kiyohito Yagi: Development of RNA pol-driven adenovirus vector expressing hepatitis C virus replicon. Experimental Biology 2011, Apr-13-2011, Washington, DC.
 14. Naoya Sakamoto, Yasuhito Tanaka, Mina Nakagawa, Hiroshi Yatsushashi, Shuhei Nishiguchi, Nobuyuki Enomoto, Seishin Azuma, Yuki Nishimura-Sakurai, Sei Kakinuma, Nao Nishida, Katsushi Tokunaga, Masashi Mizokami, and Mamoru Watanabe: ITPA gene variant protects against treatment-induced anemia and improves viral clearance by pegylated interferon-alfa and ribavirin therapy in chronic hepatitis C patients. 46th. Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver. Mar-30-2011, Berlin, Germany.
 15. Naoya Sakamoto, Goki Suda, Yusuke Funaoka, Mamoru Watanabe: Molecular analyses of interferon resistance by using HCV cell culture systems. Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL) The 7th Single Topic Conference, Dec-17-2010, Chiba, Japan.
 16. Naoya Sakamoto, Yasuhito Tanaka, Mina Nakagawa, Sei Kakinuma, Nao Nishida, Katsushi Tokunaga, Masashi Mizokami, and Mamoru Watanabe: ITPA gene variant protects against treatment-induced anemia and improves viral clearance by pegylated interferon-alfa and ribavirin therapy in Japanese chronic hepatitis C patients. Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL) The 7th Single Topic Conference, Dec-17-2010, Chiba, Japan.
 17. Mina Nakagawa, Naoya Sakamoto, Sei Kakinuma, Yasuhito Tanaka, Masashi Mizokami, Mamoru Watanabe: IL-28B SNPs and HCV genetic profiles, NS5A-ISDR and Core mutations are significant predictors of PEG-interferon plus ribavirin treatment outcomes. Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL) The 7th Single Topic Conference, Dec-17-2010, Chiba, Japan.
 18. Masayoshi Yada, Ryoko Yada, Motoyuki Kojima, Kazuto Goto, Naoya Sasamoto, Akihide Masumoto and Makoto Nakamura: Ezetimibe and interferon synergistically suppress subgenomic replication of hepatitis C virus via the acceleration of IFN-mediated ISG15 conjugation system. Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL) The 7th Single Topic Conference, Dec-17-2010, Chiba, Japan.
 19. Naoya Sakamoto, Mina Nakagawa, Sei Kakinuma, Yasuhito Tanaka, Masashi Mizokami, Mamoru Watanabe: IL-28B SNPs and HCV genetic profiles, NS5A-ISDR and Core mutations are significant predictors of PEG-interferon plus ribavirin treatment outcomes.