

carcinoma. *Hepatology* 2011; 53: 1206-1216.

- 3) 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: Malnutrition impairs interferon signaling through mTOR and FoxO pathways in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2011; 141: 128-140.
- 4) Takata Y, Nakamoto Y, Nakada A, Terashima T, Arihara F, Kitahara M, Kakinoki K, Arai K, Yamashita T, Sakai Y, Yamashita T, Mizukoshi E, Kaneko S: Frequency of CD45RO+ subset in CD4+CD25(high) regulatory T cells associated with progression of hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett.* 2011; 307: 165-173.
- 5) Yamashita T, Arai K, Sunagozaka H, Ueda T, Terashima T, Yamashita T, Mizukoshi E, Sakai A, Nakamoto Y, Honda M, Kaneko S: Randomized, Phase II Study Comparing Interferon Combined with Hepatic Arterial Infusion of Fluorouracil plus Cisplatin and Fluorouracil Alone in Patients with Advanced Hepatocellular Carcinoma. *Oncology* 2011; 81: 281-290.

## 2. 学会発表

- 1) Nakamoto Y, Yamashita T, Kaneko S: Differential Dynamics of the NF-kappaB subunits RELA and RELB in a Mouse Model of Chronic Hepatitis B. 第62回 **American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) Annual Meeting (San Francisco, California):** *Hepatology* 54 (4, Suppl.) 1300A; 一般; poster: Nov. 8, 2011
- 2) Kakinoki K, Nakamoto Y, Kagaya T, Sakai Y, Mizukoshi E, Mukaida N, C M1 Macrophage Filtration Contributes to the Enhancement of Antitumor Effect with the Combination of Suicide Gene Therapy and Monocyte Chemoattractant Protein-1

Derivery in Mouse Model of Hepatocellular Carcinoma. 第62回 **American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) Annual Meeting (San Francisco, California):** *Hepatology* 54 (4, Suppl.) 981A; 一般; poster: Nov. 7, 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

## 肝炎ウイルスに対する遺伝子治療用ベクターの開発に関する研究

研究分担者 齋藤 泉 東京大学医科学研究所 教授

研究要旨：研究分担者として平成 23 年度から参加した。本研究では肝炎ウイルスの代謝及び免疫系に關与する遺伝子を発現するアデノウイルスベクター(AdV)及びC型肝炎ウイルス研究用 AdV を班員に供給するとともに、肝細胞癌に有効性が期待される新規遺伝子治療用 AdV を開発した。また、肝がん播種モデルマウスについても改良を加え、市販化への道筋をつけた。

### A. 研究目的

アデノウイルスベクター(AdV)は、肝細胞癌由来のHuH-7細胞を含む多くの細胞に高効率で遺伝子導入が可能であり、肝炎ウイルス研究には有用性の高いベクターである。また、齋藤は目的遺伝子の発現を標的化する同時のシステムを複数開発している。本研究では、C型肝炎ウイルス研究に関する最適のAdVを班員の要望に応じて精製ロットで供給し研究を側面的にサポートするとともに、肝細胞癌に対する安全性・有効性の高い遺伝子治療用ベクターを開発し、治療効果の判定のための肝がん播種モデルマウスのシステムを構築する。

### B. 研究方法

AdV の作製は、申請者の開発した「完全長ウイルスゲノム導入法」により行った。ウイルスゲノムの全長を有するコスミドカセットに班員より依頼のあった cDNA を挿

入し、Csp45I 調製後 293 細胞を用いて定法により AdV を回収した。AdV の精製は CsCl のステップ勾配により行い、力価測定は新規に開発した real-time PCR 法により行った。

新規遺伝子治療用 AdV は、従来の「切り出し発現法」とは異なり、ウイルスゲノムの左端側に  $\alpha$ -フェトプロテイン(AFP)のプロモーターから部位特異的組換え酵素 Cre を発現するスイッチユニットとその下流に目的遺伝子の cDNA のみと loxP、ウイルスゲノムの右端側に loxP と EF1 $\alpha$  プロモーターを持つ(「ミニアデノ」と命名)。Cre と loxP を同一分子上に持つコスミドは作製が不可能であるため、分担者の開発した Cre に対する dominant negative を持つコスミドカセットにより作製し、Cre に対する shRNA を高度に発現している 293 細胞を用いて作製した。ベクターは十分に力価の

高いものが得られたため、AFP を発現している HuH-7 細胞による発現効率を「ミニアデノ」と「切り出し発現」で比較した。また HeLa 細胞を用いて特異性の検討を行った。

更に、肝がん播種モデルマウスに関しては、昨年度から止血の方法などを工夫して、マウスの死亡率を軽減した。

(倫理面の配慮)

本研究は遺伝子治療用ベクター作製であり、現時点では倫理面に抵触する研究は行っていない。

### C. 研究結果

班員への AdV の供給は、要望に応じて行った。本年度は 1 件の通常ベクターの要望、VA 欠失ベクターとして 12 件の要望があり、精製ベクターロットとして供給した。

「ミニアデノ」は、肝細胞癌特異的に治療用遺伝子を発現するベクターであり、播種状の癌を手術などで摘出後に肝臓に投与し「目に見えない癌」をサーチしながら治療するベクターである。先に開発した「切り出し発現型ベクター」は未だ予備的な解析ではあるが、治療効果を示す傾向が認められた。「切り出し発現」では治療用遺伝子がウイルスゲノムから切り出された環状分子として存在しているが、詳細な解析から環状分子は細胞内で不安定であることが明らかになり、細胞内で 6 ヶ月安定に存在するウイルスゲノム上に治療用遺伝子を残しながら肝細胞癌特異性を付加するベクター開発の必要性が生じた。そこで、ベクターゲノムの左端側に AFP プロモーターから

Cre を発現するスイッチユニット、その下流に GFP あるいはヘルペスウイルス TK 遺伝子と loxP を、右端に loxP と分担研究者が「低炎症型ベクター」として報告した EF1 $\alpha$  プロモーターを挿入した「ミニアデノ」ベクターを作製した。この「ミニアデノ」ベクターは AFP 発現 HuH-7 細胞に導入された時のみ AFP プロモーターから Cre が発現し、loxP 間のアデノウイルスゲノムの大半を環状に切り出すが、最終的に治療用遺伝子は安定なウイルスゲノム上で機能する。AFP 発現 HuH-7 細胞と AFP 非発現 HeLa 細胞に「切り出し発現」と「ミニアデノ」ベクターを導入しマーカー遺伝子である GFP の発現を比較した結果、3 日目では「切り出し発現」が高いが 6 日目ではほぼ追いついていた。より長期間の観察では「ミニアデノ」が安定に治療用遺伝子を発現すると考えられる。また HeLa 細胞における特異性の検討では両者に違いは認められなかった。

また肝細胞癌の遺伝子治療では肝がん播種モデルマウスの安定供給が必須である。これまで日本クレア(株)との共同研究で、ルシフェラーゼ高度発現 HuH-7 細胞の門脈内投与による in vivo イメージング可能な播種モデルマウスモデルの開発を行ってきたが、門脈投与による死亡率が高いこと、播種が観察されないマウス個体が約半数出現すること、腸管へ投与されてしまう場合があることなどが問題であった。本年度は止血法の改良により死亡率が大幅に低下した。また播種が観察されないマウスの割合も大きく改善し 15%程度留まるようになった。

た。そのため、市販化を目指して現在調整中である。

#### D. 考察

本研究では、主に肝細胞癌治療用ベクターの開発が進展した。本年度の解析で環状分子が細胞では不安定であることが明らかになり、新規の「ミニアデノ」ベクターの開発へと進展し、このベクターの有用性が確認された。C型肝炎は肝がんへの移行が極めて高いことが知られており、このベクターは極めて「低炎症」であることから術後投与により「目に見えない癌」の治療に有用性が高いと考える。また播種モデルマウスシステムが確立したことは治療効果判定にとっても重要な進展であった。

分担者は更に、AdV で唯一発現している VA RNA を欠失することで miRNA の機能に影響を与えない miRNA 解析用ベクター作製法を開発し C 型肝炎ウイルス研究者に供給を行った。AdV は肝臓細胞に高い遺伝子導入効率を示すため、今後もニーズに応じたベクターを開発していく。

#### E. 結論

分担研究者の斎藤は平成 23 年度のみ参加であったが、当初目的としていた C 型肝炎ウイルス研究に寄与するベクターの作製及び精製ロットでの供給、肝細胞癌に対する治療用ベクターの新規開発及び播種モデルマウスシステムの確立において一定の進展をみた。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Zheng P, Kondo S, Kanegae Y, Saito, I. Copy number of adenoviral vector genome transduced into target cells can be measured using quantitative PCR: Application to vector titration. BBRC 2012;417:945-950.
- 2) Chiyo T, Sekiguchi S, Hayashi M, Tobita Y, Kanegae Y, Saito I, Kohara M. Conditional gene expression in hepatitis C virus transgenic mice without induction if severe liver injury using a non-inflammatory Cre-expressing adenovirus. Virus Res 2011;160:89-97.
- 3) Takata Y, Kondo S, Goda N, Kanegae Y, Saito I. Comparison of efficiency between FLPe and Cre for recombinase-mediated cassette exchange (RMCE) *in vitro* and in adenovirus vector production. Genes Cells 2011;16:765-777.
- 4) Kanegae Y, Terashima M, Kondo S, Fukuda H, Maekawa A, Pei Z, Saito I. High-level expression by tissue/cancer-specific promoter with strict specificity using a single adenoviral vector. Nucleic Acids Res 2011;39:e7.

##### 2. 学会発表

なし

#### 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

## C型肝炎における肝脂肪化に影響を及ぼす因子に関する 多施設後ろ向き調査

研究分担者 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

研究要旨：C型肝炎における肝脂肪化に影響を及ぼす因子について多施設で検討を行った。肝組織所見で脂肪化の評価がされた947例について5%以上の肝細胞に脂肪化に関与する因子を抽出した。単変量解析では、肝組織のGrading、鉄沈着度、飲酒歴、BMI、ALT、 $\gamma$ -GTP、中性脂肪、インスリン、HOMA-IR、フェリチン、HCV遺伝子型が抽出された。このうち多変量解析で独立した危険因子として抽出されたのはBMI、中性脂肪であった。肝組織の線維化ステージが0-2の症例のみを対象にしたところ、脂肪化と肝発癌の間に相関があることが認められた。BMIを低く保っておくことは肝脂肪化、さらには肝発癌を抑制することが示唆された。

### A. 研究目的

C型肝炎は慢性肝炎から肝硬変、さらには肝細胞癌と進行していく病気である。C型慢性肝疾患に合併する肝細胞の脂肪化は、肝線維化を進展させることが示されている。従ってC型肝炎においては肝細胞の脂肪化を抑制することが大切である。本研究班では、脂肪化に影響を及ぼす因子の解析を行い、脂肪化抑制の方策に関して検討することとした。

### B. 研究方法

虎の門病院、済生会吹田病院、九州大学医学部附属病院（関連施設を含む）、福井大学医学部附属病院、東京大学医学部附属病院において肝生検が行われたC型慢性肝炎947例を対象とした。調査項目は（表

1）の通りである。得られた結果から5%以上の肝細胞に脂肪化を認めるための条件を抽出し、単変量解析を行った。また、単変量解析で抽出された因子を用いて多変量解析を行った。

線維化の進展により脂肪化が軽減し、脂肪化と肝病態との関連の解析が難しくなることを考慮し、線維化ステージが0から2までの症例のみを対象にした解析も行った。

また、5%以上の肝細胞脂肪化と最もよく相関するBMIをROI解析を用いて求めた。

（倫理面の配慮）

寄せられた調査結果には個人名、イニシャル、など個人を特定する情報は含まれていない。解析は各例にふられた通し番号を

用いて行った。

項目	分類
年齢 (肝生検時)	
性	
身長	
体重	
Body Mass Index (BMI)	なし
飲酒歴	3合/5年未満 3合/5年以上
肝細胞癌合併の有無	
血液生化学	
ALT	
γ-GTP	
総コレステロール	
中性脂肪	
LDLコレステロール	
空腹時血糖	
HbA1c	
IRI	
フェリチン	
HCV関連マーカー	
HCV RNA量	
HCV Genotype	
HCV Core AA 70	Wild, Mutant
HCV Core AA 91	Wild, Mutant
	Wild
HCV ISDR	Intermediate Mutant
その他	
血小板	
ヒアルロン酸	
AFP	
IL28B	Major non-Major
γグロブリン	
肝組織所見	
線維化	F0, 1, 2, 3, 4
炎症	A0, 1, 2, 3
肝細胞脂肪化	5%未満, 5-33%, 34-66%, 67%以上
肝細胞の鉄顆粒	x400でなし, x400で容易に識別, x100で識別可能

表1 調査項目

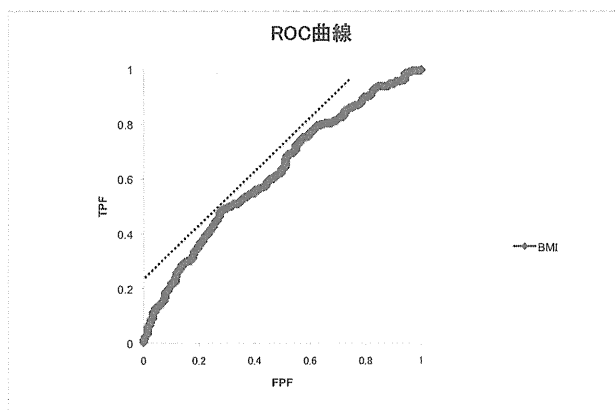
C. 研究結果

脂肪化5%未満の症例は271例 (54.1%)、5%以上の症例は230例 (45.9%)であった。(表1)に示した因子の脂肪化との関連についての程度に影響を及ぼす因子について(表1)に示した項目を用いて単変量解析、多変量解析を行った(表2)。単変量解析では、肝組織のGrading、鉄沈着度、飲酒歴、BMI、ALT、γ-GTP、中性脂肪、インスリン、HOMA-IR、フェリチン、HCV遺伝子型が抽出された。多変量解析ではこのうちBMI、中性脂肪が独立した危険因子として抽出された。

因子	単変量解析		多変量解析	
	p	オッズ比	p	オッズ比
年齢	0.56	0.9897		
性	0.2885	0.8075		
Staging	0.3431	1.0751		
Grading	0.0052	1.4994	0.3445	0.8315
飲酒歴	0.0118	1.2841		
肝組織鉄	0.0001	1.8022	0.76	1.0882
BMI	<0.0001	1.1421	0.0339	1.1208
ALT	0.0001	1.0056	0.5047	1.002
g-GTP	0.0004	1.0072	0.952	0.9998
AFP	0.731	1.0002		
Genotype	0.0096	1.6617	0.3329	1.3923
HCV RNA	0.2747	0.8945		
Core70	0.2108	1.6992		
Core91	0.8376	1.0878		
ISDR	0.3816	1.1596		
IL28B	0.7331	1.1629		
Tchol	0.885	1.0014		
TG	<0.0001	1.0121	0.0125	1.0112
FBS	0.8157	1.0009		
Insulin	0.0021	1.0374	0.8785	1.1474
HOMA-IR	0.0117	1.1172	0.9905	0.9973
Ferritin	0.0005	1.0023	0.4224	1.001
Platelet	0.9725	0.9997		
HCC 合併	0.0539	0.6876		

表2 5%以上の肝細胞の脂肪化に関連する因子

脂肪化とBMIとの間に強い相関関係があることが判明したが、5%以上の肝細胞の脂肪化を判別するためのBMIをROC解析を行い調べた。BMI23.7が“5%以上の脂肪化群”と“5%未満の脂肪化群”の判別感度が最も高かった(図1)。ただし、曲線下面積は0.6程度であり、脂肪化の判定をBMIのみで行うことは難しいと思われた。



線維化の進展により脂肪化が軽減し、脂肪化と肝病態との関連の解析が難しくなることはNon-Alcoholic Steatohepatitis (NASH)ではよく知られている(burned out NASH)。C型肝炎でも同じような現象が考え得ることをでは考慮し、線維化ステージが0から2までの症例のみを対象にした解析も行った。解析の結果は(表3)に示す通りである。単変量解析では、肝組織のGrading、鉄沈着度、飲酒歴、BMI、ALT、 $\gamma$ -GTP、中性脂肪、インスリン、HOMA-IR、フェリチン、HCV遺伝子型、HCCの有無が抽出された。多変量解析ではこのうちBMI、中性脂肪が独立した危険因子として抽出された。

D. 考察

肥満者、アルコール多飲者、糖尿病患者に肝細胞癌が多い。このことは、脂肪肝と

因子	単変量解析		多変量解析	
	p	オッズ比	p	オッズ比
年齢	0.3723	1.0089		
性	0.3252	0.8017		
Staging	0.0862	1.4561		
Grading	0.049	1.5599	0.4818	0.7573
飲酒歴	0.005	1.2841	0.8629	1.0373
肝組織鉄	0.0013	1.4372	0.7109	1.136
BMI	0.0096	1.117	0.0417	1.1671
ALT	0.0002	1.0068	0.3651	0.9965
$\gamma$ -GTP	<0.0001	1.0162	0.242	1.0075
AFP	0.5286	0.9981		
Genotype	0.0216	1.7222	0.5228	1.2895
HCV RNA	0.2747	0.8945		
Tchol	0.8058	0.9992		
TG	0.0001	1.0134	0.0419	1.0131
FBS	0.8281	0.9987		
Insulin	0.0059	1.0479	0.6166	1.0216
HOMA-IR	0.0268	1.1488	0.6973	0.9451
Ferritin	0.0001	1.0035	0.3654	1.0017
Platelet	0.9035	0.9988		
HCC 合併の有無	0.0317	0.4464	0.5259	0.3092

表2 5%以上の肝細胞の脂肪化に関連する因子 (F0-2の症例のみ)

肝発癌との間に密接な関係があることを示唆する成績である。また、C型慢性肝疾患に合併した肝細胞の脂肪化は、肝線維化を進展させることが示されている。従ってC型肝炎において脂肪化をもたらす因子を解析することは大切なことである。

今回の解析では全体でも、F0-2の症例に限定した解析でも、BMIと中性脂肪が、5%以上の肝細胞の脂肪化を予測する独立因子として抽出された。単変量解析で認められた多くの因子は体重の増加による影響を少なからず受ける因子であるために多変

量解析では抽出されなかったものと思われる。中性脂肪が BMI と独立した因子として抽出されたことは興味深い。C型肝炎では sterol regulatory element binding protein-1 (SREBP-1) の発現増加による脂肪酸合成の促進が起こることが知られており、BMI と無関係に中性脂肪の合成が亢進すること可能性があると考えられる。

F0-2 の症例に限定した解析では単変量で肝発癌の有無が抽出された。全体ではこの因子が抽出されておらず、線維化の進展と共に脂肪が消失した可能性が考えられる。いずれにしても肝細胞の脂肪化は弱いながら発癌を亢進させる可能性があることを示唆する成績である。

ROC 解析の結果からは BMI を 23 未満に保つことで肝細胞の脂肪化を軽減させる可能性が示唆された。肝細胞の脂肪化はインターフェロン治療の効果も低下させると考えられる。C型肝炎において適正な減量を行うことは長期予後の改善にとって大切である。

## E. 結論

C型肝炎の脂肪化は BMI と血清中性脂肪レベルに大きく反映されている。適正な減量を行うことがC型肝炎の長期予後を改善させる可能性がある。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 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;54:432-8.

2) Fujinaga H, Tsutsumi T, Yotsuyanagi H, Moriya K, Koike K. Hepatocarcinogenesis in hepatitis C: HCV shrewdly exacerbates oxidative stress by modulating both production and scavenging of reactive oxygen species. Oncology. 2011;81 Suppl 1:11-7.

## 2. 学会発表

1. 堤武也, 森屋恭爾, 新澤靖子, 後藤耕二, 藤永秀綱, 三好秀征, 藤江肇, 新谷良澄, 四柳宏, 松浦善治, 小池和彦. C型肝炎ウイルス NS5A 蛋白はトランスジェニックマウスにおいて自然免疫を抑制する. 第 47 回日本肝臓学会. 東京. 2011 年

## H. 知的所有権の出願・取得状況

### 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



研究成果の刊行に関する一覧表

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
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, <u>Koike K</u>	Serum level of adiponectin and the risk of liver cancer development in chronic hepatitis C patients	Int J Cancer	129	2226-2235	2011
Kudo Y, Tanaka Y, Tateishi K, Yamamoto S, Yamamoto S, Mohri D, Isomura Y, Seto M, Nakagawa H, Asaoka Y, 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>	Altered composition of fatty acids exacerbates hepatotumorigenesis during activation of the phosphatidylinositol 3-kinase pathway	J Hepatol	55(6)	1400-1408	2011
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 $\alpha$ -fetoprotein and des- $\gamma$ -carboxy prothrombin in screening for hepatocellular carcinoma in liver transplant candidates	Hepatol Res	41(12)	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	Prediction of hepatocellular carcinoma development by plasma ADAMTS13 in chronic hepatitis B and C	Cancer Epidemiol Biomarkers Prev	20(10)	2204-2211	2011

Y					
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 $\alpha$ -2b plus ribavirin in a real-life clinical setting in Japan: PERFECT interim analysis.	Hepato Res	41(10)	955-964	2011
Otsuka M, Takata A, Yoshikawa T, Kojima K, Kishikawa T, Shibata C, Takekawa M, Yoshida H, Omata M, <u>Koike K</u>	Receptor for Activated Protein Kinase C: Requirement for Efficient MicroRNA Function and Reduced Expression in Hepatocellular Carcinoma. PLoS One	PLoS One	6(9)	e24359.	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(19)	4475-4483	2011
Takata A, Otsuka M, Kojima K, Yoshikawa T, Kishikawa T, Yoshida H, <u>Koike K</u>	MicroRNA-22 and microRNA-140 suppress NF- $\kappa$ B activity by regulating the expression of NF- $\kappa$ B coactivators	Biochem Biophys Res Commun	411(4)	826-831	2011
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 $\alpha$ -fetoprotein expression and biologically aggressive behavior of hepatocellular carcinoma	Nat Commun	2	338	2011
Tsukada K, Sugawara Y, Kaneko J, Tamura S, Tachikawa N, Morisawa Y, Okugawa S, Kikuchi Y,	Living donor liver transplantations in HIV- and hepatitis C virus-coinfected	Transplantation	91(11)	1261-1264	2011

Oka S, Kimura S, Yatomi Y, Makuuchi M, Kokudo N, <u>Koike K</u>	hemophiliacs: Experience in a Single Center				
Kumar V, Kato N, Urabe Y, Takahashi A, Muroyama R, Hosono N, Otuska 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(5)	455-458	2011
Nakagawa H, Ikeda H, Nakamura K, Ohkawa R, Masuzaki R, Tateishi R, Yoshida H, Watanabe N, Tejima K, Kume Y, Iwai T, Suzuki A, Tomiya T, Inoue Y, Nishikawa T, Ohtomo N, Tanoue Y, Omata M, Igarashi K, Aoki J, <u>Koike K</u> , Yatomi Y	Autotaxin as a novel serum marker of liver fibrosis	Clin Chim Acta	412(13-14)	1201-1206	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

Kumada H, Toyota J, <u>Okanoue T</u> , Chayama K, Tsubouchi H, Hayashi N.	Telaprevir with peginterferon and ribavirin for treatment-naïve chronically infected with HCV of genotype 1 in Japan.	J Hepatol	56	78-84	2012
Hayashi N, <u>Okanoue T</u> , Tsubouchi H, Toyota J, Chayama K, Kumada H.	Efficacy and safety of Telaprevir, a new protease inhibitor, for difficult-to-treat patients with genotype 1 chronic hepatitis C.	J Viral Hepat	19	134-142	2012
Sumida Y, Yoneda M, Hyogo H, Itoh Y, Ono M, Fujii E, Eguchi Y, Suzuki Y, Aoki N, Kanemasa K, Fujita K, Chayama K, Saibara T, Kawada N, Fujimoto K, Kohgo Y, Yoshikawa T, <u>Okanoue T</u> .	Validation of the FIB4 index in a Japanese nonalcoholic fatty liver disease population.	BMC Gastroenterol	12	2	2012
Yasui K, Hashimoto E, Komorizono Y, Koike K, Arii S, Imai Y, Shima T, Kanbara Y, Saibara T, Mori T, Kawata S, Uto H, Takami S, Sumida Y, Takamura T, Kawanaka M, <u>Okanoue T</u> , and The Japan NASH Study Group, The Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.	Characteristics of patients with nonalcoholic steatohepatitis who develop hepatocellular carcinoma: a multicenter study in Japan.	Clin Gastroenterol Hepatol	9	428-433	2011
<u>Okanoue T</u> , Umemura A, Yasui K, Itoh Y.	Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis in Japan.	J Gastroenterol Hepatol	26	Suppl 153-162	2011

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, <u>Okanoue T.</u>	Efficacy of long-term ezetimibe therapy in patients with nonalcoholic fatty liver disease.	J Gastroenterol	46	101-107	2011
Sumida Y, Yoneda M, Hyogo H, Yamaguchi K, Ono M, Fujii H, Eguchi Y, Suzuki Y, Imai S, Kanemasa K, Fujita K, Chayama K, Yasui K, Saibara T, Kawada N, Fujimoto K, Kohgo Y, Okanoue T; Japan Study Group of Nonalcoholic Fatty Liver Disease (JSG-NAFLD).	A simple clinical scoring system using ferritin, fasting insulin, and type IV collagen 7S for predicting steatohepatitis in nonalcoholic fatty liver disease.	J Gastroenterol	46	257-268	2011
Chayama K, Hayes CN, Yoshioka K, Moriwaki H, <u>Okanoue T</u> , Sakisaka S, Takehara T, Oketani M, Toyoto J, Izumi N, Hiasa Y, Matsumot A, Nomura H, Seike H, Ueno Y, Yotsuyanagi H, Kumada H.	Factors predictive of sustained virological response following 72 weeks of combination therapy for genotype 1b hepatitis C.	J Gastroenterol	46	545-555	2011
Sumida Y, Kanemasa K, Hara T, Inada Y, Sakai K, Imai S, Yoshida N, Yasui K, Itoh Y, <u>Okanoue T</u> , Yoshikawa T.	Impact of amoni acid substitutions in the hepatitis C virus genotype 1b core region on liver steatosis and glucose toleranace in non-corhotic patients without overt diabetes.	J Gastroenterol Hepatol	26	836-842	2011

Fukui M, Senmaru T, Hasegwa G, Yamazaki M, Asano M, Kagami Y, Ishigami A, Maruyama N, Iwasa K, Itoh Y, <u>Okanoue T</u> , Ohta M, Obayashi H, Nakamura N.	17 $\beta$ -estradiol attenuates saturated fatty acid diet-induced liver injury in ovariectomized mice by up-regulating hepatic senescence marker protein-30.	BBRC	415	252-257	2011
Chamaya K, Hayes N, Yoshioka K, Moriwaki H, <u>Okanoue T</u> , 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
Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M, Kawamura Y, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Chayama K, Nakamura Y, <u>Kumada H</u> .	Amino acid substitution in HCV core region and genetic variation near the IL28B gene affect viral dynamics during telaprevir, peginterferon and ribavirin treatment.	Intervirology	Epub ahead of print		2011
Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M, Kawamura Y, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Chayama K, Nakamura Y, <u>Kumada H</u> .	Amino acid substitution in HCV core/NS5A region and genetic variation near IL28B gene affect treatment efficacy to interferon plus ribavirin combination therapy.	Intervirology	Epub ahead of print		2011
Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M, Kawamura Y, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T,	Amino acid substitutions in hepatitis C virus core region predict hepatocarcinogenesis	J Med Virol	83(6)	1016-22	2011

Kobayashi M, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, <u>Kumada H.</u>	following eradication of HCV RNA by antiviral therapy.				
C Nelson H, Kobayashi M, Akuta N, Suzuki F, <u>Kumada H</u> , Abe H, Miki D, Imamura M, Ochi H, Katanamik N, Nakamura Y, Chayama K.	HCV substitutions and IL28B polymorphisms on outcome of peg-interferon plus ribavirin combination therapy.	Gut	60	261-7	2011
Suzuki F, Suzuki Y, Akuta N, Sezaki H, Arase Y, Hirakawa M, Kawamura Y, Hosaka T, Kobayashi M, Saitoh S, Ikeda K, Kobayashi M, Kamatani N, Nakamura Y, Chayama K, <u>Kumada H.</u>	Infliecnce of ITPA polymorphisms on decreases of hemoglobin during treatment with pegylated interferon, ribavirin, and telaprevir.	Hepatology	53(2)	415-21	2011
Chayama K, C Nelson H, Abe H, Miki D, Ochi H, Karino Y, Toyota J, Nakamura Y, Kamatani N, Sezaki H, Kobayashi M, Akuta N, Suzuki F, <u>Kumada H.</u>	IL28B but not ITPA polymorphism is predictive of responce to pegylated interferon, ribavirin, and telaprevir triple therapy in patients with genotype 1 hepatitis C.	J Infect Dis	204	84-93	2011
<u>Ishizaka N</u> , Hongo M, Sakamoto A, Saito K, Furuta K, Koike K.	Liver lipid content is reduced in rat given 7-day administration of angiotensin II.	J Renin Angiotensin Aldosterone Syst	12(4)	462-468	2011
Sakamoto A, <u>Ishizaka N</u> , Saito K, Imai Y, Morita H, Koike K, KohroT, Nagai R	Serum levels of IgG4 and soluble interleukin-2 receptor in patients with coronary artery disease.	Clinica Chimica Acta	413(5-6)	577-581	2012
Takahashi M, Shimizu T, Inajima T, Hosoya Y, Takeda N, <u>Ishizaka N</u> , Yamashita H, Hirata Y,	A case of localized IgG4-related thoracic periarteritis and recurrent nerve palsy.	Am J Med Sci	341(2)	166-169	2011

Nagai R					
Ikutomi M, Matsumura T, Iwata H, Nishimura G, <u>Ishizaka N</u> , Hirata Y, Ono M, Nagai R	Giant tumorous legions surrounding the right coronary artery associated with immunoglobulin-G4-related systemic disease.	Cardiology	120(1)	22-26	2011
Ito M, Kusunoki H, and <u>Mizuochi T</u>	Peripheral B cells as reservoirs for persistent HCV infection.	Frontiers in Microbiology	2	Article 177	2011
Ito M, Kusunoki H, Mochida K, Yamaguchi K, and <u>Mizuochi T</u>	HCV infection and B-cell lymphomagenesis.	Advances in Hematology	2011	Article ID 835314	2011
<u>Shoji I.</u> , Deng L., and Hotta H.	Molecular mechanism of hepatitis C virus-induced glucose metabolic disorders.	Frontiers in Microbiology	2	A278, 1-5	2012
Kamada K., <u>Shoji I.</u> , Deng L, Wakita T., and Hotta H.	Generation of a recombinant reporter hepatitis C virus useful for the analyses of virus entry, intra-cellular replication and virion production.	Microbes and Infection	14	69-78	2012
El-Shamy A., Ide Y-H., Kim SR., Sasase N., Imoto S., Deng L., <u>Shoji I.</u> , and Hotta H.	Polymorphisms of hepatitis C virus NS5A and core proteins and clinical outcome of pegylated interferon/ribavirin therapy.	Intervirolgy	55	1-11	2012
Sasayama M., <u>Shoji I.</u> , Ide Y-H., Deng L., and Hotta H.	A point mutation at Asn-534 that disrupts a conserved	Journal of Medical Virology	84	229-234	2012



	N-glycosylation motif of the E2 glycoprotein of hepatitis C virus markedly enhances the sensitivity to antibody neutralization.				
El-Shamy A., <u>Shoji I.</u> , Saito T., Watanabe H., Ide Y-H., Deng L., Kawata S., and Hotta H.	Sequence heterogeneity of NS5A and core proteins of hepatitis C virus and virological responses to Pegylated-Interferon/Ribavirin combination therapy.	Microbiology and Immunology	55	418-26	2011
Deng L., <u>Shoji I.</u> , Oawa W., Kaneda S., Soga T., Jiang D. P., Ide Y-H., and Hotta H.	Hepatitis C virus infection promotes hepatic gluconeogenesis through an NS5A-mediated, FoxO1-dependent pathway.	Journal of Virology	85	8556-68	2011
Kurano M, Iso-O N, Hara M, Ishizaka N, <u>Moriya K.</u> , Koike K, Tsukamoto K.	LXR agonist increases apoE secretion from HepG2 spheroid, together with an increased production of VLDL and apoE-rich large HDL.	Lipids Health Dis	10	134	2011
Koshiyama A, Ichibangase T, <u>Moriya K.</u> , Koike K, Yazawa I, Imai K.	Liquid chromatographic separation of proteins derivatized with a fluorogenic reagent at cysteinyl residues on a non-porous column for differential proteomics analysis	J Chromatogr A	1218(22)	3447-52	2011
Kambara H, Fukuhara T, Shiokawa M, Ono C, Ohara Y, Kamitani W, and <u>Matsuura Y.</u>	Establishment of a novel permissive cell line for propagation of hepatitis C virus by the expression of microRNA122.	J.Virol.	86	1382-1393	2012
Taguwa S, Kambara H, Fujita N, Noda T, Yoshimori T, Koike K,	Dysfunction of autophagy participates in vacuole formation and cell death	J.Virol.	85	13185-13194	2011

Moriishi K, and <u>Matsuura Y.</u>	in cells replicating hepatitis C virus.				
Katoh H, Mori Y, Kambara H, Abe T, Fukuhara T, Morita E, Moriishi K, Kamitani W, and <u>Matsuura Y.</u>	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2 participates in the replication of Japanese encephalitis virus through an interaction with viral proteins and RNA.	J.Virol.	85	10976-10988	2011
Kambara H, Tani H, Mori Y, Abe T, Katoh H, Fukuhara T, Taguwa S, Moriishi K, and <u>Matsuura Y.</u>	Involvement of cyclophilin B in the replication of Japanese encephalitis virus.	Virology	412	211-219	2011
Wen X, Abe T, Kukihara H, Taguwa S, Mori Y, Tani H, Kato N, Suzuki T, Tatsumi M, Moriishi M, and <u>Matsuura Y.</u>	Elimination of hepatitis C virus from hepatocytes by a selective activation of therapeutic molecules.	PLoS One	6	e15967	2011
Fukuhara T, Tani H, Shiokawa M, Goto Y, Abe T, Taketomi A, Shirabe K, Maehara Y, and <u>Matsuura Y.</u>	Intracellular delivery of serum-derived hepatitis C virus.	Microbes Infect.	13	405-412	2011
Mori Y, and <u>Matsuura Y.</u>	Structure of hepatitis E viral particle.	Virus Res.	61	59-64	2011
Saito M, Kohara, M, <u>Tsukiyama-Kohara K</u>	Hepatitis C virus promotes expression of the 3 $\beta$ -hydroxysterol $\Delta$ 24-reductase through Sp1.	J Med Virol,		In press	
Kasama Y, Saito M, Takano T, Nishimura T, Satoh M, Wang Z, Nagla. E. S., Harada S, Kohara	Translocase of outer mitochondrial membrane 70 induces interferon response and is impaired	Virus Res	163	405-409	2012

M, <u>Tsukiyama-Kohara K</u>	by hepatitis C virus NS3.				
Satoh M, Saito M, Takano T, Kasama Y, Nishimura T, Nishito Y, Hirata Y, Arai M, Sudoh M, Kai C, Kohara M, <u>Tsukiyama-Kohara K</u>	Monoclonal antibody 2-152a suppresses hepatitis C virus infection thorough betaine/GABA transporter-1.	J Infect Dis,	204	1172-1180	2011
Takano T, <u>Tsukiyama-Kohara K</u> , Hayashi M, Hirata Y, Satoh M, Tateno C, Hayashi Y, Hishima T, Funata N, Sudoh M, and Kohara M.	Augmentation of DHCR24 expression by hepatitis C virus infection facilitates viral replication in hepatocytes.	J. Hepatology	55(3)	512-521	2011
Takano T, Kohara M, Kasama Y, Nishimura T, Saito M, Kai C, <u>Tsukiyama-Kohara K</u>	Translocase of outer mitochondrial membrane 70 expression is induced by hepatitis C virus and is related to the apoptotic response.	J Med Virol.	83	801-809	2011
<u>Tsukiyama-Kohara, K.</u> , Sekiguchi, S., Kasama, Y., Nagla, E.S., Machida, K., & Kohara, M.	Hepatitis C virus-related lymphomagenesis in a mouse model.	ISRN Hematology	2011	167501	2011
Kasama Y, Satoh M, Saito M, Okada S, Kai C, and <u>Tsukiyama-Kohara K.</u>	Potential of a recombinant measles virus as expression vector of hepatitis C virus envelope proteins.	World J Vaccine.	1	98-103	2011
<u>Furusyo N</u> , Murata M, Ogawa E, Toyoda K, Ihara T, Ikezaki H, Hayashi T, Koga T, Kainuma M, Hayashi J	Ribavirin concentration in the later stages of 48-week pegylated interferon-alfa 2b plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C is	J Antimicrob Chemother	66	1127-1139	2011

	useful for predicting virological response.				
Ikezaki H, <u>Furusyo N</u> , Ihara T, Hayashi T, Ogawa E, Toyoda K, Taniai H, Kainuma M, Murata M, Hayashi J.	Abbott RealTime PCR Assay is useful for evaluating virological response to antiviral treatment for Chronic Hepatitis C	J Infect Chemother	17	737-743	2011
<u>Furusyo N</u> , Walaa AH, Eiraku K, Toyoda K, Ogawa E, Ikezaki H, Ihara T, Hayashi T, Kainuma M, Murata M, Hayashi J	Eradication treatment of Helicobacter pylori infection for chronic hepatitis C patients.	Gut and Liver	5	447-453	2011
Ogawa E, <u>Furusyo N</u> , Murata M, Ohnishi H, Kazuhiro T, Tania H, Ihara T, Ikezaki H, Hayashi T, Kainuma M, Hayashi J.	Longitudinal assessment of liver stiffness by transient elastography for chronic hepatitis B patients treated with nucleoside analog.	Hepatol Res	41	1178-1188	2011
Ogawa E, <u>Furusyo N</u> , Kajiwara E, Takahashi K, Nomura H, Tanabe Y, Satoh T, Maruyama T, Nakamuta M, Kotoh K, Azuma K, Dohmen K, Shimoda S, Hayashi J.	An evaluation of the adverse effect of premature discontinuation of pegylated interferon alpha-2b and ribavirin treatment for chronic hepatitis C virus infection.	J Gastroenterol Hepatol			In press
<u>Nakamoto Y</u> , Mizukoshi E, Kitahara M, Arihara F, Sakai Y, Kakinoki K, Fujita Y, Marukawa Y, Arai K, Yamashita T, Mukaida N, Matsushima K, Matsui O, Kaneko S	Prolonged recurrence-free survival following OK432-stimulated dendritic cell transfer into hepatocellular carcinoma during transarterial embolization.	Clin. Exp. Immunol.	163(2)	165-177	2011