

- Peripheral B cells as reservoirs for persistent HCV infection. *Frontiers in Microbiology* Volume 2: Article 177, 2011.
- 177) Ito M, Kusunoki H, Mochida K, Yamaguchi K, and Mizuochi T: HCV infection and B-cell lymphomagenesis. *Advances in Hematology* Volume 2011:Article ID 835314, 2011.
- 178) Mizuochi T, Ito M, Takai K, and Yamaguchi K: Resistance of peripheral blood memory B cells to apoptosis in chronic hepatitis C patients. *Virus Research* 155:349-351, 2011.
- 179) Ito M, Masumi A, Mochida K, Kukihara H, Moriishi K, Matsuura Y, Yamaguchi K, and Mizuochi T: Peripheral B cells may serve as a reservoir for persistent infection of hepatitis C virus. *Journal of Innate Immunity* 2:607-617, 2010.
- 180) Ito M, Murakami K, Suzuki T, Mochida K, Suzuki M, Ikebuchi K, Yamaguchi K, and Mizuochi T: Enhanced expression of lymphomagenesis-related genes in peripheral B cells of chronic hepatitis C patients. *Clinical Immunology* 135:459-465, 2010.
- 181) Mizuochi T, Ito M, Saito K, Kasai M, Kunimura T, Morohoshi T, Momose H, Hamaguchi I, Takai K, Iino S, Suzuki M, Mochida S, Ikebuchi K, and Yamaguchi K: Possible recruitment of peripheral blood CXCR3+CD27+CD19+ B cells to the liver of chronic hepatitis C patients. *Journal of Interferon and Cytokine Research* 30:243-252,2010.
- 182) Mizuochi T, Mizusawa S, Nojima K, Okada Y, and Yamaguchi K: Single amino acid substitution in the hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) “a” determinant affects the detection sensitivity of an HBsAg diagnostic kit. *Clinica Chimica Acta* 411:605-606, 2010.
- 183) Mohsan S, Suzuki R, Kondo M, Aizaki H, Kato T, Mizuochi T, Wakita T, Watanabe H, and Suzuki T: Evaluation of hepatitis C virus core antigen assays for detecting recombinant viral antigens derived from various genotypes. *Journal of Clinical Microbiology* 47:4141-4143, 2009.
- 184) Ito M, Mizoroki F, Takai K, Yamaguchi K, and Mizuochi T: Functional phenotypes and gene expression profiles of peripheral blood mononuclear cells in chronic hepatitis C patients who developed non-Hodgkin’s B-cell lymphoma. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 390 : 269-272, 2009.
- 185) Mizuochi T, Ito M, Takai K, and Yamaguchi K: Differential susceptibility of peripheral blood CD5<sup>+</sup> and CD5<sup>-</sup> B cells to apoptosis in chronic hepatitis C patients. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 389:512-515, 2009.
- 186) Saitou M, Kohara, M, Tsukiyama-Kohara K\*. Hepatitis C virus promotes expression of the 3 $\beta$ -hydroxysterol  $\Delta$ 24-reductase through Sp1. *J Med Virol*, 2012 in press.
- 187) Kasama Y, Saito M, Takano T, Nishimura T, Satoh M, Wang Z, Nagla. E. S., Harada S, Kohara M, Tsukiyama-Kohara K\*.

- Translocase of outer mitochondrial membrane 70 induces interferon response and is impaired by hepatitis C virus NS3. *Virus Res* 2012;163: 405-409.
- 188) Satoh M, Saito M, Takano T, Kasama Y, Nishimura T, Nishito Y, Hirata Y, Arai M, Sudoh M, Kai C, Kohara M, Tsukiyama-Kohara K\*: Monoclonal antibody 2-152a suppresses hepatitis C virus infection thorough betaine/GABA transporter-1. *J Infect Dis*, 2011: 204(8):1172-1180.
- 189) Takano T, Tsukiyama-Kohara K, Hayashi M, Hirata Y, Satoh M, Tateno C, Hayashi Y, Hishima T, Funata N, Sudo M, and Kohara M. Augmentation of DHCR24 expression by hepatitis C virus infection facilitates viral replication in hepatocytes. *Hepatology* 2011;55(3) 512-521.
- 190) Takano T, Kohara M, Kasama Y, Nishimura T, Saito M, Kai C, Tsukiyama-Kohara K, Translocase of outer mitochondrial membrane 70 expression is induced by hepatitis C virus and is related to the apoptotic response. *J Med Virol*. 2011: 83, 801-809.
- 191) Tsukiyama-Kohara, K., Sekiguchi, S., Kasama, Y., Nagla, E.S., Machida, K., & Kohara, M. Hepatitis C virus-related lymphomagenesis in a mouse model. *ISRN Hematology*, 2011: 167501.
- 192) Kasama Y, Satoh M, Saito M, Okada S, Kai C, and Tsukiyama-Kohara K. Potential of a recombinant measles virus as expression vector of hepatitis C virus envelope proteins. *World J Vaccine*. 2011: 1 98-103.
- 193) Kasama Y, Sekiguchi S, Saito M, Tanaka K, Satoh M, Kuwahara K, Sakaguchi N, Takeya M, Hiasa Y, Kohara M, and Tsukiyama-Kohara K. Persistent expression of the full genome of hepatitis C virus in B cells induces spontaneous development of B-cell lymphomas in vivo. *Blood* 2010: 116(23): 4926-4933.
- 194) Satoh M, Saito M, Tanaka K, Iwanaga S, Nagla SA, Seki T, Okada S, Kohara M, Harada S, Kai C, and Tsukiyama-Kohara K. Evaluation of a recombinant measles virus expressing hepatitis C virus envelope proteins by infection of human PBL-NOD/Scid/Jak3null mouse. *Comp. Immunol. Immunopathol*. 2010: 33 E81-88.
- 195) Amako Y, Tsukiyama-Kohara K, Katsume A, Hirata Y, Sekiguchi S, Tobita Y, Hayashi Y, Hishima T, Funata N, Yonekawa H, and Kohara M. Pathogenesis of hepatitis C virus infection in *Tupaia belangeri*. *J. Virology* 2010: 84 303-311, [Selected in "Spotlight"].
- 196) Nishimura T, Kohara M, Izumi K, Kasama Y, Hirata Y, Huang Y, Shuda M, Mukaidani C, Takano T, Tokunaga Y, Nuriya H, Satoh M, Saito M, Kai C and Tsukiyama-Kohara K. HEPATITIS C VIRUS IMPAIRS P53 VIA PERSISTENT OVER-EXPRESSION OF 3 $\beta$ -HYDROXYSTEROL  $\Delta$ 24-REDUCTASE. *Biol. Chem*. 2009: 284:36442-36452.

- 197) Saitou K, Mizumoto K, Nishimura T, Kai C and Tsukiyama-Kohara K. Hepatitis C virus core protein facilitates the degradation of Ku70 and reduces DNA-PK activity in hepatocytes. *Virus Research* 2009;144(1-2):266-271.
- 198) Machida K, Tsukiyama-Kohara K, Sekiguchi S, Seike E, Tone' S, Hayashi Y, Tobita Y, Kasama Y, Shimizu M, Takahashi H, Taya C, Yonekawa H, Tanaka N, and Kohara M. Hepatitis C virus and disrupted interferon signaling promote lymphoproliferation via type II CD95 and interleukins. *Gastroenterology* 2009; 137: :285–296.
- 199) Inoue Y, Tsukiyama-Kohara K, Yoneda M, Sato H, and Kai C. Inhibition of host protein synthesis in B95a cells infected with the HL strain of measles virus. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2009: Jan;32(1):29-41.
- 200) Shoji I., Deng L., and Hotta H. Molecular mechanism of hepatitis C virus-induced glucose metabolic disorders. *Frontiers in Microbiology*, 2012; 2: A278, 1-5.
- 201) Kamada K., Shoji I., 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*, 2012; 14: 69-78.
- 202) El-Shamy A., Ide Y-H., Kim SR., Sasase N., Imoto S., Deng L., Shoji I., and Hotta H. Polymorphisms of hepatitis C virus NS5A and core proteins and clinical outcome of pegylated interferon/ribavirin therapy. *Intervirology*, 2012; 55: 1-11.
- 203) Sasayama M., Shoji I., Ide Y-H., Deng L., and Hotta H. A point mutation at Asn-534 that disrupts a conserved N-glycosylation motif of the E2 glycoprotein of hepatitis C virus markedly enhances the sensitivity to antibody neutralization. *Journal of Medical Virology*, 2012; 84: 229-234.
- 204) El-Shamy A., Shoji I., 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*, 2011; 55: 418-26.
- 205) Deng L., Shoji I., 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*, 2011; 85: 8556-68.
- 206) Inoue, Y., Aizaki, H., Hara, H., Matsuda, M., Ando, T., Shimoji, T., Murakami, K., Masaki, T., Shoji, I., Homma, S., Matsuura, Y., Miyamura, T., Lai, MMC, Wakita, T., and Suzuki, T. Chaperonin TRiC/CCT participates in replication of hepatitis C virus genome via interaction with the viral NS5B protein. *Virology*, 2010; 410: 38-47.
- 207) Hayashida K, Shoji, I., Deng, L., Ide, Y-H., and Hotta, H. 17 $\beta$ -Estradiol inhibits the production of infectious particles of hepatitis C virus. *Microbiology and Immunology*, 2010; 54: 684-90.

- 208) Nasu, J., Murakami, K., Miyagawa, S., Yamashita, R., Ichimura, T., Wakita, T., Hotta, H., Miyamura, T., Suzuki, T., Satoh, T., and Shoji, I. E6AP ubiquitin ligase mediates ubiquitin-dependent degradation of peroxiredoxin 1. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2010; 111: 676-85.
- 209) Kim SR., Imoto S., Kudo M., Nakajima T., Ando K., Mita K., Fukuda K., Hong HS., Lee YH., Nakashima K., Shoji I., Nagano-Fujii M., Hotta H., and Hayashi Y. Autoimmune thrombocytopenic purpura during pegylated Interferon  $\alpha$  treatment for chronic hepatitis C. *Internal Medicine*, 2010; 49: 1119-1122.
- 210) Moriishi K., Shoji, I., Mori, Y., Suzuki, R., Suzuki, T., Kataoka, C., and Matsuura, Y. Involvement of PA28 $\gamma$  in the propagation of hepatitis C virus. *Hepatology*, 2010; 52: 411-420.
- 211) Sanjo M., Saito, T., Ishii, R., Nishise, Y., Haga, H., Okumoto, K., Ito, J., Watanabe, H., Saito, K., Togashi, H., Fukuda, K., Imai, Y., El-Shamy, A., Deng, L., Shoji, I., Hak, H., and Kawata, S. Secondary structure of the amino-terminal region of HCV NS3 and virological response to pegylated interferon plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Journal of Medical Virology*, 2010;82: 1364-70.
- 212) Sasayama, M., Deng, L., Kim, SR., Ide Y-H., Shoji, I., and Hotta, H. Analysis of neutralizing antibodies against hepatitis C virus in patients who were treated with peglated-Interferon plus ribavirin. *Kobe Journal of Medical Sciences*, 2010; 56: E60-E66.
- 213) Kim, SR., Imoto, S., Kudo, M., Mita, K., Taniguchi, M., Kim, KI., Sasase, N., Shoji, I., Nagano, M., El-Shamy, A., Hotta, H., Nagai, T., Nagata, Y., and Hayashi, Y. Double filtration plasmapheresis plus interferon treatment for non-sustained virological response to previous combination therapy: Early viral dynamics. *Intervirology*, 2010; 53: 44-48.
- 214) Sasase, N., Kim, SR., Kudo, M., Kim, KI., Taniguchi, M., Imoto, S., Mita, K., Hayashi, Y., Shoji, I., El-Shamy, A., and Hotta, H. Outcome and early viral dynamics with viral mutation in PEG-IFN/RBV combination therapy for chronic hepatitis in patients with high viral loads of serum HCV RNA genotype 1b. *Intervirology*, 2010; 53: 49-54.
- 215) Bungyoku, Y., Shoji, I., Makine, T., Adachi, T., Hayashida, K., Nagano-Fujii, M., Ide Y., Deng, L., and Hotta, H. Efficient production of infectious hepatitis C virus with adaptive mutations in cultured hepatoma cells. *Journal of General Virology*, 2009; 90: 1681-91.
- 216) Hara, H., Aizaki, H., Matsuda, M., Shinkai-Ouchi, F., Inoue, Y., Murakami, K., Shoji, I., Kawakami, H., Matsuura, Y., Lai, MMC., Miyamura, T., Wakita, T., and Suzuki, T. Involvement of creatine kinase B in hepatitis C virus genome replication through interaction with the viral NS4A protein. *Journal of Virology*, 2009; 83: 5137-47.

- 217) Kasai, D., Adachi, T., Lin, D., Nagano-Fujii, M., Sada, K., Ikeda, M., Kato, N., Ide, Y., Shoji, I., and Hotta, H. HCV replication suppresses cellular glucose uptake through down-regulation of cell surface expression of glucose transporters. *Journal of Hepatology*, 2009; 50: 883-94.
- 218) Ando T, Imamura H, Suzuki R, Aizaki H, Watanabe T, Wakita T, Suzuki T. Visualization and Measurement of ATP Levels in Living Cells Replicating Hepatitis C Virus Genome RNA. *PLOS Pathogen* in press.
- 219) Yamamoto M, Aizaki H, Fukasawa M, Teraoka T, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T, The structural requirements of virion-associated cholesterol for infectivity, buoyant density and apolipoprotein association of hepatitis C virus. *J Gen. Virol.* 2011;92:2082-7.
- 220) Watanabe N, Aizaki H, Matsuura T, Kojima S, Wakita T, Suzuki T. Hepatitis C virus RNA replication in human stellate cells regulates gene expression of extracellular matrix-related molecules. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011;407:135-40.
- 221) Inoue Y, Aizaki H, Hara H, Matsuda M, Ando T, Shimoji T, Murakami K, Masaki T, Shoji I, Homma S, Matsuura Y, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T. Chaperonin TRiC/CCT participates in replication of hepatitis C virus genome via interaction with the viral NS5B protein. *Virology.* 2011;410:38-47.
- 222) Hara H, Aizaki H, Matsuda M, Shinkai-Ouchi F, Inoue Y, Murakami K, Shoji I, Kawakami H, Matsuura Y, Lai MM, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T. Involvement of creatine kinase B in hepatitis C virus genome replication through interaction with the viral NS4A protein. *J Virol.* 83;5137-47: 2009.
- 223) Liu HM, Aizaki H, Choi KS, Machida K, Ou JJ, Lai MM. SYNCRIP (synaptotagmin-binding cytoplasmic RNA-interacting protein) is a host factor involved in hepatitis C virus RNA replication. *Virology* 2009;386:249-256
- 224) Tsutsumi T, Matsuda M, Aizaki H, Moriya K, Miyoshi H, Fujie H, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Miyamura T, Suzuki T, Koike K. Proteomics analysis of mitochondrial proteins reveals overexpression of a mitochondrial protein chaperone, prohibitin, in cells expressing hepatitis C virus core protein. *Hepatology* 2009;50:378-386.
- 225) Saeed M, Suzuki R, Kondo M, Aizaki H, Kat T, Mizuochi T, Wakita T, Watanabe H, Suzuki T Evaluation of hepatitis C virus core antigen assays in detecting recombinant viral antigens o various genotypes. *J Clin Microbiol.* 2009;47:4141-4143.
- 226) Nakamoto Y, 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.* 2011; 163: 165-177.
- 227) Mizukoshi E, Nakamoto Y, Arai K,

- Yamashita T, Sakai A, Sakai Y, Kagaya T, Yamashita T, Honda M, Kaneko S: Comparative analysis of various tumor-associated antigen-specific T-cell responses in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2011; 53: 1206-1216.
- 228) 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.
- 229) 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.
- 230) Yamagozaka H, Ueda T, Terashima T, Yamashitashita T, Arai K, Suna T, MizukoshiE, 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.
- 231) Iida N, Nakamoto Y, Baba T, Nakagawa H, Mizukoshi E, Naito M, Mukaida N and Kaneko S: Antitumor effect after radio-frequency ablation of murine hepatoma is augmented by an active variant of cc chemokine ligand 3/macrophage inflammatory protein-1alpha. *Cancer Res.* 2010; 70: 6556-6565.
- 232) Kakinoki K, Nakamoto Y, Kagaya T, Tsuchiyama T, Sakai Y, Nakahama T, Fujita Y, Mukaida N and Kaneko S: Prevention of intrahepatic metastasis of hepatocellular carcinoma by combination of suicide gene therapy and monocyte chemoattractant protein-1 delivery in mice. *J. Gene Med.* 2010; 12: 1002-1013.
- 233) Yamashita T, Honda M, Nio K, Nakamoto Y, Yamashita T, Takamura H, Tani T, Zen Y and Kaneko S: Oncostatin m renders epithelial cell adhesion molecule-positive liver cancer stem cells sensitive to 5-Fluorouracil by inducing hepatocytic differentiation. *Cancer Res.* 2010; 70: 4687-4697.
- 234) Wu Y, Wang YY, Nakamoto Y, Li YY, Baba T, Kaneko S, Fujii C Mukaida N: Accelerated hepatocellular carcinoma development in mice expressing the Pim-3 transgene selectively in the liver. *Oncogene* 2010; 29: 2228-2237.
- 235) Mizukoshi E, Nakamoto Y, Arai K, Yamashita T, Mukaida N, Matsushima K, Matsui O, Kaneko S: Enhancement of tumor-specific T-cell responses by

- transcatheter arterial embolization with dendritic cell infusion for hepatocellular carcinoma. *Int. J. Cancer* 2010; 126: 2164-2174.
- 236) Baba T, Nakamoto Y, Mukaida N: Crucial contribution of thymic Sirp alpha+ conventional dendritic cells to central tolerance against blood-borne antigens in a CCR2-dependent manner. *J. Immunol.* 2009; 183: 3053-3063.
- 237) 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.
- 238) 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.
- 239) 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.
- 240) 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.
- I. 知的所有権の出願・取得状況
1. 特許取得
- 1) 「C 型肝炎の予防、治療又は改善用組成物」特願 2011-125440 出願日 平成 23 年 6 月 3 日 発明者 小原恭子、松森昭、西村知裕、小原道法 出願人 国立大学法人熊本大学、松森昭、(一般財団法人)化学及血清療法研究所、財団法人東京都医学研究機構。
- 2) 「肝細胞癌発生予測因子としての血中 ADAMTS13」知的財産管理番号 12B10Y001-1 出願日 平成 22 年 11 月 5 日 発明者 池田均、矢富裕、建石良介、小池和彦、小野智子
2. 実用新案登録  
なし
- J. その他  
なし

## C型肝炎の肝病態における鉄蓄積パターンの意義に関する研究

研究分担者 岡上 武 大阪府済生会吹田病院  
研究協力者 光吉 博則 京都府立医科大学消化器内科  
安居幸一郎 京都府立医科大学消化器内科

研究要旨：C型肝炎における脂質・鉄代謝異常と肝病態の相互作用を宿主とHCVウイルス因子に分けて検討した。初年度の研究では脂質代謝を中心に検討した。非肥満症例では肝組織中の脂肪を燃焼させるperoxisome proliferator-activated receptor $\alpha$ と細胞外へ輸送するmicrosomal triglyceride transfer proteinの発現低下が肝脂肪化に重要であったが、肥満症例では脂肪を合成するsterol regulatory element-binding protein1cの発現亢進が重要と考えられた。次年度は鉄代謝制御因子であるhepcidinを中心に検討を行った。血清フェリチンで補正した肝組織中のhepcidin発現レベルは宿主因子（肥満）に関係なくC型肝炎患者で低下していた。非肥満のC型肝炎症例では対照のB型肝炎患者に比較して肝組織中のhemojuvelinやtransferrin receptor 2の発現が低下していたが、肥満のC型肝炎症例ではtransferrin receptor 2とbone morphogenetic protein 6の発現が有意に低下していた。これらの遺伝子発現はhepcidin合成に重要なことが知られている。最終年度は肝病態進展における鉄蓄積パターン（肝細胞と網内皮系細胞）と肝病態進展について検討した。肝細胞の蓄積はgradeと弱い相関を認めたが、網内皮系細胞の蓄積はstage、grade、steatosisと密接に相関していた。網内皮系細胞の蓄積症例は肝障害度や組織学的進展が鉄陰性症例や肝細胞の鉄蓄積症例に比較して高度であり、網内皮系細胞の蓄積は線維化進展と独立して相関していた。血清フェリチンから予測した網内皮系細胞蓄積のカットオフ値は肝細胞蓄積のカットオフ値に比較して高値であった。肝組織中のTNF- $\alpha$ 発現は混合型蓄積症例で最も高値であった。肝組織中のhepcidin発現レベルは肝細胞蓄積群と混合型蓄積群で亢進していたが、2群間で差は認められず、hepcidinを誘導するIL-6の発現レベルに差はなかった。

## A. 研究目的

C型肝炎では肝の脂肪化や鉄の過剰蓄積が生じ、線維化や発癌の促進因子であることが知られている。これらの

代謝異常の発症には宿主因子とHCV感染が原因と考えられているがこれらの相互作用は不明である。

宿主因子では肥満やインスリン抵抗



性が肝脂肪化に重要であるが、HCVコアタンパクも脂質代謝を制御することが報告されている。メタボリック症候群では鉄の過剰蓄積が認められることから、肥満が鉄代謝異常と密接に関連していると考えられるが、HCV感染も鉄代謝制御因子であるhepcidinの発現に影響を与えることが報告されている。

このように、HCV感染が個々の代謝経路に影響を与えるメカニズムに関する報告は多いが、実際の症例で検証した報告は少ない。そこで、C型肝炎における脂質や鉄代謝異常のメカニズムを解明するために、宿主因子 (=肥満) とウイルス因子からみた個々の脂質・鉄代謝経路に関連する分子の発現を解析した。

## B. 研究方法

### 1. 対象

大阪府済生会吹田病院と京都府立医科大学消化器内科で肝生検を行ったC型肝炎患者を対象とした。

### 2. 血液生化学検査

血液生化学検査値は肝生検時のデータを用いた。一部の症例で血清hepcidin値をELISA法で測定した。

### 3. 肝生検所見

肝生検組織はそれぞれ新犬山分類の基準で評価した。鉄蓄積はBerlin blue染色で評価し、肝細胞の鉄蓄積は顆粒状の鉄が識別できる倍率でスコア化した (識別不能=0、 $\times 400=1$ 、 $\times 200=2$ 、 $\times 100=3$ 、 $\times 40=4$ )。網

内皮系細胞の鉄蓄積は3段階で評価した (なし=0 軽度=1 中等度以上=2)。

## 4. 肝組織中の遺伝子発現解析

肝生検組織の一部からRNAを抽出してcDNAを作成し、標的遺伝子特異的プライマーを用いてRT-PCR法で標的遺伝子の発現を定量した (表1)。内部標準には $\beta$ -actinを用いた。

(倫理面の配慮)

臨床試験の目的・方法、検査の副作用、患者に関する個人情報の守秘義務、患者の権利保護等について十分な説明を行い、患者が熟考するに十分な時間と理解の後に書面による同意を得たうえで臨床試験を遂行した (新GCPに遵守)。

## C. 研究結果

### 1. 脂質代謝関連分子の解析

23名の肥満症例 ( $BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ) で肝脂肪化群と非脂肪化群を比較したところ、年齢、性別、BMI、ウイルス学的所見、血液生化学所見、肝生検組織所見 (炎症、線維化、鉄蓄積) に有意差はなかった。2群間の肝組織中の脂質代謝関連遺伝子の発現比較では、SREBP1c、ACADM、MTPの発現が非脂肪肝群に比較して脂肪化群が有意に高値であった (図1)。これらの遺伝子発現レベルで、SREBP1cのみが脂肪化の面積と有意な正の相関を示した (図2)。一方、非肥満症例 ( $BMI < 25 \text{ kg/m}^2$ ) ではMTPとPPAR $\alpha$ の発現が非脂肪化群に比較して脂肪化群が有意に低値であった。

## 2. 鉄代謝関連分子の解析

BMIが25 kg/m<sup>2</sup>未満のB型肝炎（HBV-L）とC型肝炎（HCV-L）でしたところ、肝組織中のhepcidin mRNAレベルはHBV-Lがやや高値であったが有意差はなかったが、Hepcidin mRNAレベルをフェリチンで補正した値（hepcidin mRNA/ferritin）はHCV-Lが有意に低値であった（図3）。HFE2、TFR2、HFE、BMP6はhepcidinの合成に重要なことが知られているが、HFE2とTFR2の発現はHCV-LがHBV-Lに比較して有意に低値であった。HFEとBMP6の発現は2群間で有意差がなかった（図4）。

BMIが25 kg/m<sup>2</sup>以上のB型肝炎（HBV-H）とC型肝炎（HCV-H）、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、HBV-Lの間でhepcidin 発現レベルに有意差はなかったが、hepcidin mRNA/ferritin値はHBV-Lが他の群と比較して有意に高値であった（図5）。HBV-H、HCV-H、NAFLDの群間でhepcidin mRNA/ferritin値に有意差はなかった（図5）。HFE2 発現レベルはHBV-H、HCV-H、NAFLDの順に従って有意に減少していたが、NAFLDのみがHBV-Lに比較して有意に発現が低かった。TFR2 発現レベルはHBV-Lが他のすべての群に比較して有意に高値を示し、NAFLDのTFR2発現レベルは他群に比較して有意に低値であった（図6）。HFE 発現レベルはHBV-LがHBV-HとHCV-Hに比較して有意に高値であった（図6）。BMP6発現レベルはHBV-Lが他群に比較して有意に高値を示し、NAFLDはHCV-Hに比較して有意に高値であった（図6）。

B型肝炎患者全体では血清フェリチンと hepcidin mRNAは正に相関する傾向を示し、C型肝炎患者全体では有意な正の相関関係を認めた（図7）。一方、NAFLDでは有意な相関関係を認めなかった（図7）。

## 3. 鉄蓄積パターンの解析

139名の症例を解析した結果、肝細胞単独蓄積（HC）30名、網内皮系細胞単独蓄積（REC）8名、混合型蓄積（MIX）44名、蓄積なし（NONE）57名であった。肝細胞鉄スコアが grade と弱い相関を示したのに対して、網内皮系細胞鉄スコアは stage、grade、steatosis と密接な正の相関を示した（表2）。

鉄蓄積パターンで4群間を比較した結果、性別、トランスアミナーゼ値、血小板数、フェリチン値に有意差を認めた（図8）。MIX群では男性が多く、トランスアミナーゼ値やフェリチン値も高値であった（図8）。軽度線維化群（stage1-2）と高度線維化群（stage3-4）で多変量解析を行った結果、BMIとRECスコアは独立して高度線維化群と相関していた（図9）。

ROC解析を用いて血清フェリチン値による鉄蓄積の予測を検討した結果、男性では肝細胞鉄蓄積と網内皮系細胞鉄蓄積のAUCはそれぞれ0.787、0.885と有意に高値であり、カットオフ値はそれぞれ84.5ng/ml、224.5ng/mlであった。女性ではいずれのAUCも有意差がなかった。

TNF- $\alpha$ の発現は4群間で有意差はなかったが、MIX群で高い傾向を示した（図10）。ALT値は網内皮系細胞鉄スコアと

有意な正の相関を示したが、肝細胞鉄スコアと相関しなかった（図 10）。

Hepcidin の発現は 4 群間で有意差を認められた。HC 群と MIX 群で高値を示したが、これらの 2 群の間に有意差はなかった（図 11）。IL-6 の発現は 4 群間で有意差がなかった（図 11）。

#### D. 考察

C 型肝炎では高頻度に肝脂肪化が生じ、肝病態進展促進因子として重要な役割を果たしている。HCV コアタンパクは脂質代謝に直接影響していると報告されており、C 型肝炎の肝脂肪化のメカニズムは複雑である。宿主側の影響を除外した非肥満症例では肝組織中の PPAR $\alpha$  発現低下が重要と考えられたが、肥満症例では SREBP1c の発現亢進が重要と考えられた。すなわち、非肥満症例では PPAR $\alpha$  の発現低下によって肝組織中の中性脂肪分解が低下し、肥満症例では SREBP1c の発現亢進によって中性脂肪合成が促進する。今回の検討から、宿主の条件によって C 型肝炎は異なる経路で肝脂肪化が促進する可能性が示された。

鉄は生体に必須の元素である一方、過剰になると有害な作用を及ぼす。生体内では hepcidin が鉄の量を一定に保つ調節因子の役割を果たしている。Hepcidin は十二指腸やマクロファージの細胞膜に存在する鉄トランスポーター（ferroportin）の分解を促進させ、鉄の吸収や放出を抑制して鉄代謝の恒常性を維持している。遺伝性ヘモクロマトーシスでは遺伝子変異（HFE、HFE2、TFR2）による hepcidin の合成障害のため、需要を上回る鉄が十二指腸から吸収される。

本邦ではこのような遺伝子変異の頻度は少ないが、C 型肝炎では hepcidin の合成に何らかの支障を来している可能性がある。実際に、HCV コアタンパクが hepcidin の発現を抑制する成績が報告されている。

非肥満症例では C 型肝炎患者の hepcidin 合成能（hepcidin mRNA/ferritin 値）が B 型肝炎患者と比較して有意に低下していた。すなわち、HCV コアタンパクが hepcidin 合成に負の影響を与えている報告<sup>3)</sup>と一致する。Hepcidin の合成に重要役割を果たしている HFE2 や TFR2 の発現低下が関与している可能性が推測された。肥満症例の検討でも C 型肝炎患者の hepcidin 合成能は非肥満の B 型肝炎患者と比較して有意に低下していたが、その程度は肥満の B 型肝炎や NAFLD 患者と比較して同等であった。すなわち、肥満そのものが hepcidin 合成能に影響を与えている可能性を示唆している。そのメカニズムには hepcidin 合成に重要な TFR2 や BMP6 の発現低下が関与している可能性が推測された。BMP6 は hepcidin 合成を促進させる作用が報告されているが、BMP6 は小腸でも合成されることに注意する必要がある。

Hepcidin の合成促進因子は鉄、炎症、低酸素などが知られている。C 型肝炎でも血清フェリチンと hepcidin mRNA の間に正の相関関係が認められており、鉄代謝の feedback 機構は機能していると考えられる。しかし、hepcidin mRNA/ferritin が低下していたことから、十分な hepcidin 合成が阻害されて鉄過剰状態になった可能性がある。

鉄蓄積パターンの検討から網内皮系細胞

の鉄蓄積が病態進展と密接に関連することが明らかとなった。網内皮系細胞は肝炎を悪化させる炎症性サイトカインを分泌するが、鉄が過剰に蓄積することでこれらのサイトカインが過剰に分泌能されていると推測される。実際、肝組織中のTNF- $\alpha$ の発現が混合型蓄積群で最も高値であったこと。マクロファージに鉄が蓄積するとサイトカイン分泌量が増加するとの報告があり、今回の結果と一致している。

肝細胞単独蓄積群では非蓄積群に比較して hepcidin の発現が亢進していたため、C型肝炎とヘモクロマトーシスの病態は根本的に異なる。しかし、C型肝炎では肝細胞に蓄積する鉄はほとんどが門脈域周囲であったことから、過剰に吸収された鉄が門脈血流を介して蓄積したと考えられる。したがって、hepcidin 合成障害によって発症するヘモクロマトーシスに類似する病態と思われる。Hepcidin 合成のメカニズムは十分に解明されていないが、IL-6 は重要な因子の一つである<sup>1)</sup>。しかし、肝組織中の IL-6 発現レベルは hepcidin と相関しなかったことから、C型肝炎では別の因子が hepcidin 合成に関与する可能性が示唆された。

網内皮系細胞の鉄蓄積には hepcidin が重要な役割を果たしている。すなわち、網内皮系細胞の膜上に存在する ferroportin が hepcidin によって分解され、鉄の放出が阻害されて鉄が蓄積する。実際に鉄が網内皮系細胞に蓄積している群では hepcidin の発現が亢進していた。しかし、肝細胞単独蓄積群と比較して有意差がなかったため、

hepcidin 以外にも網内皮系細胞の鉄蓄積に関与する因子が存在する可能性が示唆された。

#### E. 結論

肥満の C 型肝炎例では肝組織中の SREBP1c の発現亢進が肝脂肪化に重要である。しかし、HCV 感染自体が PPAR $\alpha$  の発現を低下させて脂肪化を促進させる可能性がある。

C型肝炎では hepcidin 合成能の低下で鉄過剰を来すと考えられる。Hepcidin 合成低下には非肥満の症例では HFE2 や TFR2 の発現低下が関与し、肥満の症例では TFR2 や BMP6 の発現低下が関与していると推測された。

C型肝炎ではまず肝細胞に鉄が蓄積し、肝障害の進展とともに網内皮細胞へ鉄が蓄積していくと考えられる。網内皮系細胞の鉄蓄積は炎症性サイトカインの産生を増加させて肝病態を悪化させていると考えられる。

#### F. 健康危険情報

該当事項なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Kumada H, Toyota J, Okanoue T, 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 2012;56: 78-84
- 2) Hayashi N, Okanoue T, 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* 2012;19: 134-142
- 3) 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, Okanoue T. Validation of the FIB4 index in a Japanese nonalcoholic fatty liver disease population. *BMC Gastroenterol* 2012;12: 2
  - 4) 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, Okanoue T, 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* 2011;9: 428-433
  - 5) Okanoue T, Umemura A, Yasui K, Itoh Y. Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis in Japan. *J Gastroenterol Hepatol* 2011;26:Suppl 153-162
  - 6) Park H, Shima T, Yamaguchi K, Mitsuyoshi H, Minami M, Yasui K, Itoh Y, Yoshikawa T, Fukui M, Hasegawa G, Nakamura N, Ohta M, Obayashi H, Okanoue T. Efficacy of long-term ezetimibe therapy in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol* 2011;46:101-107
  - 7) 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). Simple clinical scoring system using ferritin, fasting insulin, and type IV collagen 7S for predicting steatohepatitis in nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol* 2011;46:257-268
  - 8) Itoh Y, Nishimura T, Hashimoto H, Yamaguchi K, Niimi T, Yokomizo C, Fujii H, Minami M, Yasui K, Mitsuyoshi H, Okanoue T, Takehara T, Hiasa Y, Onji M, Yoshikawa T. Simple formula to predict response to peginterferon alpha2b and ribavirin combination therapy in genotype 1 chronic hepatitis C patients with high viral loads. *Hepatol Res* 2011;41:126-32
  - 9) Chayama K, Hayes CN, Yoshioka K, Moriwaki H, Okanoue T, Sakisaka S, Takehara T, Oketani M, Toyoto J, Izumi N, Hiasa Y, Matsumoto 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* 2011;46: 545-555
  - 10) Yasui K, Sumida Y, Mori Y, Mitsuyoshi H, Minami M, Itoh Y, Kanemasa K, Matsubara H, Okanoue T, Yoshikawa T. Nonalcoholic steatohepatitis and increased risk of chronic kidney disease. *Metabolism* 2011;60:735-739
  - 11) Sumida Y, Kanemasa K, Hara T, Inada Y,

- Sakai K, Imai S, Yoshida N, Yasui K, Itoh Y, Okanoue T, 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* 2011;26: 836-842
- 12) Fukui M, Senmaru T, Hasegwa G, Yamazaki M, Asano M, Kagami Y, Ishigami A, Maruyama N, Iwasa K, Itoh Y, Okanoue T, Ohta M, Obayashi H, Nakamura N. 17 $\beta$ -estradiol attenuates saturated fatty acid diet-induced liver injury in ovariectomaized mice by up-regulating hepatic senescence marker protein-30. *BBRC* 2011;415: 252-257
- 13) Chamaya K, Hayes N, Yoshioka K, Moriwaki H, Okanoue T, Sakisaka S, Takehara T, Oketani M, Toyota J, Izumi N, Hisa Y, Matsumoto A, Nomura H, Saike M, Ueno Y, Yotsuyanagi H, Kumada H. Accumulation of refractory factors for pegylated interferon plus ribavirin therapy in older female patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Res* 2010;40: 1155-1167
- 14) Yasui K, Harano Y, Mitsuyoshi H, Tsuji K, Endo M, Nakajima T, Minami M, Itoh Y, Zen Y, Nakanuma Y, Yoshikawa T, Okanoue T. Steatosis and hepatic expression of genes regulating lipid metabolism in Japanese patients infected with hepatitis C virus. *J Gastroenterol* 2010;45: 95-104
- 15) Kumada H, Okanoue T, Onji M, Moriwaki H, Izumi N, Tnaka E, Chayama K, Sakaida S, Takehara T, Oketani M, Suzuki F, Toyota J, Nomura H, Yoshioka K, Seki M, Yotsuyanagi H, Ueno Y and The Study Group for the Standardization of Treatment of Viral Hepatitis including Cirrhosis, Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan. Guidelines for the treatment of chronic hepatitis and cirrhosis due to hepatitis C virus infection for the fiscal year 2008 in Japan. *Hepatol Res* 2010;40: 8-13
- 16) Park H, Ishigami A, Shima T, Mizuno M, Maruyama N, Yamaguchi K, Mitsuyoshi H, Minami M, Yasui K, Itoh Y, Yoshikawa T, Fukui M, Hasegawa G, Nakamura N, Ohta M, Obayashi H, Okanoue T. Hepatic senescence marker protein-30 is involved in the progression of nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol* 2010;45: 426-434
- 17) Tsuji K, Yasui K, Gen Y, Endo M, Dohi O, Zen K, Mitsuyoshi H, Minami M, Itoh Y, Taniwaki M, Tanaka S, Arii S, Okanoue T, Yoshikawa T. *PEG10* is probable target for the amplification at 7q21 detected in hepatocellular carcinoma. *Cancer Genetics Cytogenetics* 2010;198: 118-125
- 18) Fujii H, Itoh Y, Sakamoto M, Ohkawara T, Sawa Y, Nishida K, Nishimura T, Yamaguchi K, Yasui K, Minami M, Okanoue T, Yoshikawa T. Relapse of hepatitis C in a peglated-interferon- $\alpha$ -2b plus ribavirin-treated sustained virological responder. *Hepatol Res* 2010;30: 654-660
- 19) Sumida Y, Yonei Y, Kanemasa K, Hara T, Inada Y, Sakai K, Imai S, Hibino S, Yamaguchi K, Mitsuyoshi H, Yasui K, Minami m, Itoh Y, Naito Y, Yoshikawa T, Okanoue T. Lower circulating levels of

- dehydroepiandrosterone, independent of insulin resistance, is an important determinant of severity of non-alcoholic steatohepatitis in Japanese patients. *Hepatol Res* 2010;40:901-910
- 20) Yamaguchi K, Itoh Y, Yokomizo C, Nishimura T, Niimi T, Fujii H, Okanoue T, Yoshikawa T. Blockade of interleukin-6 signaling enhances hepatic steatosis but improves liver injury in methionine choline-deficient diet-fed mice. *Lab Invest* 2010;90:1169-1178
- 21) Okanoue T, Itoh Y, Hashimoto H, Yasui K, Minami M, Takehara T, Tanaka E, Onji M, Toyota J, Chayama K, Yoshioka K, Izumi N, Akuta N, Kumada H. Predictive value of amino acid sequences of the core and NS5A regions in antiviral therapy for hepatitis C: a Japanese multi-center study. *J Gastroenterol* 2009;44: 952-963
- 22) Gen Y, Yasui K, Zen K, Nakajima T, Tsuji K, Endo M, Mitsuyoshi H, Minami M, Itoh Y, Tanaka S, Taniwaki M, Arii S, Okanoue T, Yoshikawa T. A novel amplification target, ARHGAP5, promotes cell spreading and migration by negatively regulating RhoA in Huh-7 hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Lett* 2009;275: 27-34
- 23) Sumida Y, Yoshikawa T, Okanoue T. Role of hepatic iron in non-alcoholic steatohepatitis. *Hepatol Res* 2009;39: 212-222
- 24) Mitsuyoshi H, Yasui K, Harano Y, Endo M, Tsuji K, Minami M, Itoh Y, Okanoue T, Yoshikawa T. Analysis of hepatic genes involved in the metabolism of fatty acids and iron in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res* 2009;39: 366-373
- 25) Matsuura K, Tanaka Y, Hige S, Yamada G, Murawaki Y, Komatsu M, Kuramitsu T, Kawata S, Tanaka E, Izumi N, Okuse C, Kakumu S, Okanoue T, Hino K, Hiasa Y, Sata M, Maeshiro T, Sugauchi F, Nojiri S, Joh T, Miyakawa Y, Mizokami M. Distribution of hepatitis B virus genotypes among patients with chronic infection in Japan shifting toward an increase of genotype A. *J Clin Microbiol.* 2009;47: 1476-1483
- 26) Kobashi H, Fujioka S, Kawaguchi M, Kumada H, Yokosuka O, Hayashi N, Suzuki K, Okanoue T, Sata M, Tsubouchi H, Sato C, Kiyosawa K, Tanikawa K, Seriu T, Ishikawa H, Takaki A, Iwasaki Y, Osawa T, Takaki T, Sakaguchi K, Shiratori Y, Yamamoto K, Tenney DJ, Omata M. Two cases of development of entecavir resistance during entecavir treatment for nucleoside-naive chronic hepatitis B. *Hepatol Int* 2009;3: 403-410
- 27) Zen K, Yasui K, Gen Y, Dohi O, Wakabayashi N, Mitsufuji S, Itoh Y, Zen Y, Nakanuma Y, Taniwaki M, Okanoue T, Yoshikawa T. Defective expression of polarity protein PAR-3 gene (PARD3) in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncogene* 2009;28: 2910-2918
- 28) Kunimoto K, Nojima H, Yamazaki Y, Yoshikawa T, Okanoue T, Tsukita S. Involvement of IQGAP3, a regulator of Ras/ERK-related cascade, in hepatocyte proliferation in mouse liver regeneration and

- development. *J Cell Physiol* 2009;220: 621-631
- 29) Nishikawa T, Nakajima T, Katagishi T, Okada Y, Jo M, Kagawa K, Okanoue T, Itoh Y, Yoshikawa T. Oxidative stress may enhance the malignant potential of human hepatocellular carcinoma by telomerase activation. *Liver Int* 2009;29: 846-856
- 30) Shindo M, Chayama K, Mochida S, Toyota J, Tomita E, Kumada H, Yokosuka O, Sata M, Hayashi N, Suzuki K, Okanoue T, Tsubouchi H, Kobashi H, Fujioka S, Kawaguchi M, Kumada H, Yokosuka O, Hayashi N, Suzuki K, Okanoue T, Sata M, Tsubouchi H, Sato C, Kiyosawa K, Tanikawa K, Seriu T, Ishikawa H, Takaki A, Iwasaki Y, Osawa T, Takaki T, Sakaguchi K, Shiratori Y, Yamamoto K, Tenney DJ, Omata M. Anitviral activity, dose-response relationship, and safety of entecavir following 24-week oral dosing in nucleoside-naive Japanese adult patients with chronic hepatitis B: a randomized, double-blind, phase II clinical trial. *Hepatol Int* 2009;3: 445-452
- 31) 岡上 武. 非アルコール性脂肪性肝疾患の治療。総合臨床 2011;60: 102-106
- 32) 岡上 武. NASH/NAFLD の最近の知見。日消誌 2011;108:1161-1169
- 33) 岡上 武. 特集 全身疾患としての非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD)。NAFLD はどのような病気か—診断と治療の最近の進歩と実地診療における問題点のオーバービュー。診断と治療 2011;99: 14541459
- 34) 角田圭雄、安居 幸一郎、岡上 武. 特集 全身疾患としての非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD)。診断の進め方—消化器内科の立場から。診断と治療 2011;99: 14541459
- 35) 岡上 武. 特集 肝炎治療—最近の進歩。NAFLD, NASH の病因・病態。Pharma Medica 2011;29: 43-46
- 36) 岡上 武 C 型肝炎。ALT 値持続正常例の診療—IFN 療法, IFN・リバビリン併用療法の適応。Medical Practice 27:125-128, 2010
- 37) 岡上 武 わが国の C 型肝炎のガイドラインを解釈する。肝胆膵 60:181-184, 2010
- 38) 岡上 武 島 俊英、橋本宏明、伊藤義人、西村 健。Normal ALT 治療の工夫。特集 C 型肝炎の臨床最前線。肝胆膵。61:85-89, 2010
- 39) NASH/NAFLD の診療ガイド 2010 日本肝臓学会編 (編集責任者 日本肝臓学会企画広報担当理事 岡上 武)、文光堂、東京、2010年5月27日発行

## 2. 学会発表

- 1) Hironori Mitsuyoshi, Kohichiroh Yasui, Kanji Yamaguchi, Masahito Minami, Takeshi Okanoue, Yoshito Itoh. Pattern of hepatic iron deposition and the role of hepcidin in the development of non-alcoholic fatty liver disease. America Association for the Study of Liver Diseases. San Francisco, 2011
- 2) Okanoue T, Hayashi N, Tsubouchi H, Chayama K, Toyota J, Kumada H. Telaprevir in combination with peginterferon alfa 2b and ribavirin therapy for genotype 1 chronic HCV



- patients: phase 3 study in Japan. 63<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease (AASLD). 2011 Nov 7; San Francisco, USA
- 3) Shima T, Umemura A, Seki K, Okanoue T. Cause of liver injury in 5642 Japanese type 2 Diabetes mellitus patients- nationwide study. 63<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease (AASLD). 2011 Nov 7; San Francisco, USA
- 4) Yamaguchi K, Itoh Y, Yokomizo C, Nishimura T, Umemura A, Okanoue T. Blockade of interleukine-6 signaling improves systemic insulin resistance and hepatic steatosis in high fa-fed lean mice. 63<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease (AASLD). 2011 Nov 7; San Francisco, USA
- 5) Mitsuyoshi H, Yasui K, Endo M, Tsuji K, Minami M, Itoh Y, Yoshikawa T, Okanoue T. Limited synthesis of hepcidin against iron overload in nonalcoholic fatty liver disease. America Assosiation for the Study of Liver Diseases. Boston. 2010
- 6) Sumida Y, Kanemasa K, Hara T, Inada Y, Sakai K, Yasui K, Itoh Y, Yoshikawa T, Okanoue T. Amino acid substitutions in the hepatitis virus genotype 1b core region are the most important predictors of liver steatosis in non-cirrhotic patients without overt diabetes independent of glucose intolerance. 62<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease (AASLD). 2010 Nov 3; Boston
- 7) Nishimura T, Itoh Y, Yamaguchi K, Yokomizo C, Minami M, Mitsuyoshi H, Yasui K, Hashimoto H, Okanoue T, Yoshikawa T. Moderate and severe hepatocyte steatosis predispose impaired early decline in serum HCV RNA levels and associates with resistance peginterferon and ribavirin combination therapy in genotype 2 chronic hepatitis C. 62<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease (AASLD). 2010 Nov 3; Boston,
- 8) Yokomizo C, Itoh Y, Yamaguchi K, Nishimura T, Okanoue T, Yoshikawa T. High expression of a transcriptional cofactor p300 in HCC downregulates E-cadherin, promotes tumor invasion, and predicts shortened overall survival of HCC patients. 62<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease (AASLD). 2010 Nov 3; Boston
- 9) 光吉博則、安居幸一郎、山口寛二、南 祐仁、伊藤義人、岡上 武、吉川敏一 非アルコール性脂肪性肝疾患における鉄代謝関連分子の検討 日本肝臓学会総会、東京、2011
- 10) 光吉博則、安居幸一郎、山口寛二、南 祐仁、伊藤義人、岡上 武 非アルコール性脂肪性肝疾患における鉄蓄積パターンの解析 日本肝臓学会西部会、岡山、2011
- 11) 光吉博則 安居幸一郎 遠藤美生 辻 和宏 山口寛二 伊藤義人 吉川敏一 岡上 武 非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) における鉄の過剰蓄積. ワークショップ. 肝病態形成における酸化ストレスの意義. 山形.2010
- 12) 千藤麗、南祐仁、宮川昌巳、藤井恒太、安居幸一郎、伊藤義人、嘉数直樹、岡上武. 染色体脆弱部位は、HBV感染肝細胞におけるHBV DNA組み込みの標的部位である. ワーク

シヨップ. B型肝炎の基礎と臨床. 神戸. 2009

13) 橋本宏明、伊藤義人、西村健、山口寛二、光吉博則、安居幸一郎、加藤隆弘、岡上武、吉川敏一. ワークシヨップ: C型肝炎の基礎と臨床. 神戸. 2009

14) 長尾泰孝、沖田美香、鈴木健太郎、松山竜三、磯崎豊、松本尚之、小山田裕一、榎村敦詩、中山美加、水野雅之、島俊英、岡上武、光本保英、森敬弘、角田圭雄、吉川敏一. ペグインターフェロンとリバビリン併用療法の治療期間の延長は患者の健康関連QOLを悪化させるか?. C型肝炎: 臨床  
4. 2009年6月5日: 神戸

15) 橋本宏明、伊藤義人、西村健、山口寛二、光吉博則、安居幸一郎、加藤隆弘、岡上武、吉川敏一. Core70/91, ISDRのアミノ酸変異と治療早期のHCV dynamicsからみたPegIFN/Rib療法のNVR早期予測の検討. ワークシヨップ3: C型肝炎の基礎と臨床. 神戸. 2009

16) 橋本宏明、伊藤義人、西村健、山口寛二、光吉博則、安居幸一郎、加藤隆弘、岡上武、吉川敏一. PegIFN/Rib併用療法における治療前IFN $\alpha$  2b投与による治療反応性予測の試み. ポスターセッション9: C型肝炎: 臨床6. 神戸. 2009

17) 光吉博則、安居幸一郎、山口寛二、伊藤義人、吉川敏一、岡上武. 肝細胞における2型トランスフェリン受容体発現の解析.

ポスターセッション36: NASH・脂肪肝・アルコール性肝障害1. 神戸. 2009

## H.知的所有権の出願・取得状況

### 1.特許取得

今回の研究内容については特になし。

### 2.実用新案登録

今回の研究内容については特になし。

### 3.その他

今回の研究内容については特になし。

表1 Specific primers

	Sense primers	Antisense primers
PPAR $\alpha$	5'-GGAAAGCCCACTCTGCCCCCT-3'	5'-AGTCACCGAGGAGGGGCTCGA-3'
ACADM	5'-TTGAGTTCAACCGAACAGCAG-3'	5'-AGGGGGACTGGATATTCACC-3'
ACOX	5'-TGATGCGAATGAGTTTCTGC-3'	5'-AGTGCCACAGCTGAGAGGTT-3'
CYP2E1	5'-CCCAAAGGATATCGACCTCA-3'	5'-AGGGTGTCTCCACACACTC-3'
FATP5	5'-ACACACTCGGTGTCCCTTTC-3'	5'-CTACAGGGCCCACTGTCATT-3'
MTP	5'-CATCTGGCGACCCTATCAGT-3'	5'-GGCCAGCTTTCACAAAAGAG-3'
SREBP1c	5'-TGCATTTTCTGACACGCTTC-3'	5'-CCAAGCTGTACAGGCTCTCC-3'
ACACA	5'-GAGAACTGCCCTTTCTGCAC-3'	5'-CCAAGCTCCAGGCTTCATAG-3'
Hepcidin	5'-ACCAGAGCAAGCTCAAGACC-3'	5'-AAACAGAGCCACTGGTCAGG-3'
TfR2	5'-GACCCTGCAGTGGGTGACT-3'	5'-CAGTCGCTCGTCTCTCTCCT-3'
Matriptase	5'-CCTGATGTCTGCTCCAGTGA-3'	5'-CGGGATGTAGAACCAGCATT-3'
Hemojuvelin	5'-CTGCAGTCCAGGGTTGAAAT-3'	5'-GAGGCTGGAAAAATTGGTGA-3'
Furin	5'-ACTACTATGGGACGCTGACC-3'	5'-TGGACACAGCTCTTCTGGT-3'
BMPRI1A	5'-TGATGTGCCCTTGAATACCA-3'	5'-ATTCTTCCACGATCCCTCCT-3'
BMP6	5'-AAGAAGGCTGGCTGGAATTT-3'	5'-CACGTGCACCTCACTCACTT-3'
HFE	5'-ATTGCCTGACGAACCTCTTG-3'	5'-GAGGTGACGGAGGAAATGAA-3'
TfR1	5'-ATGCATTTTGCAGCAGTGAG-3'	5'-TCCAAAAGGCCCTACTCCTT-3'
DMT1	5'-AAACCCGGCCTGATAAAAGT-3'	5'-TGCCTGACGGAGAAAGAAGT-3'
Ferroporin	5'-TGGGAAACAAGCTCTTTGCT-3'	5'-ACACCCAGCCATTTATTGGA-3'
TNF- $\alpha$	5'-TCCTTCAGACACCCCTCAACC-3'	5'-CAGGGATCAAAGCTGTAGGC-3'
IL-6	5'-ATGCCCTAACCACCCCTGAC-3'	5'-GAGGTGCCCATGCTACATTT-3'
$\beta$ -actin	5'-GTCCACCTTCCAGCAGATGT-3'	5'-TGTTTTCTGCGCAAGTTAGG-3'

PPAR $\alpha$ , Peroxisome proliferator-activative receptor  $\alpha$ ; ACADM, Medium chain acyl-CoA dehydrogenase; ACOX, Acly-CoA oxidase; CYP2E1, Cytochrome P450 2E1; FATP5, Fatty acid transporor protein 5; MTP, Microsomal triglyceride transfer protein; SREBP1c, Sterol regulatory element-binding protein 1; ACACA, Acetyl CoA carboxylase; TfR2, transferrin receptor 2; BMPRI1A, bone morphogenetic protein receptor 1A; BMP 6, bone morphogenetic protein 6; HFE, hemochromatosis; TfR1, transferrin receptor 1; DMT1, divalent metal transporter 1; TNF- $\alpha$ , tumor necrosis factor  $\alpha$ ; and IL-6, interleukin 6;

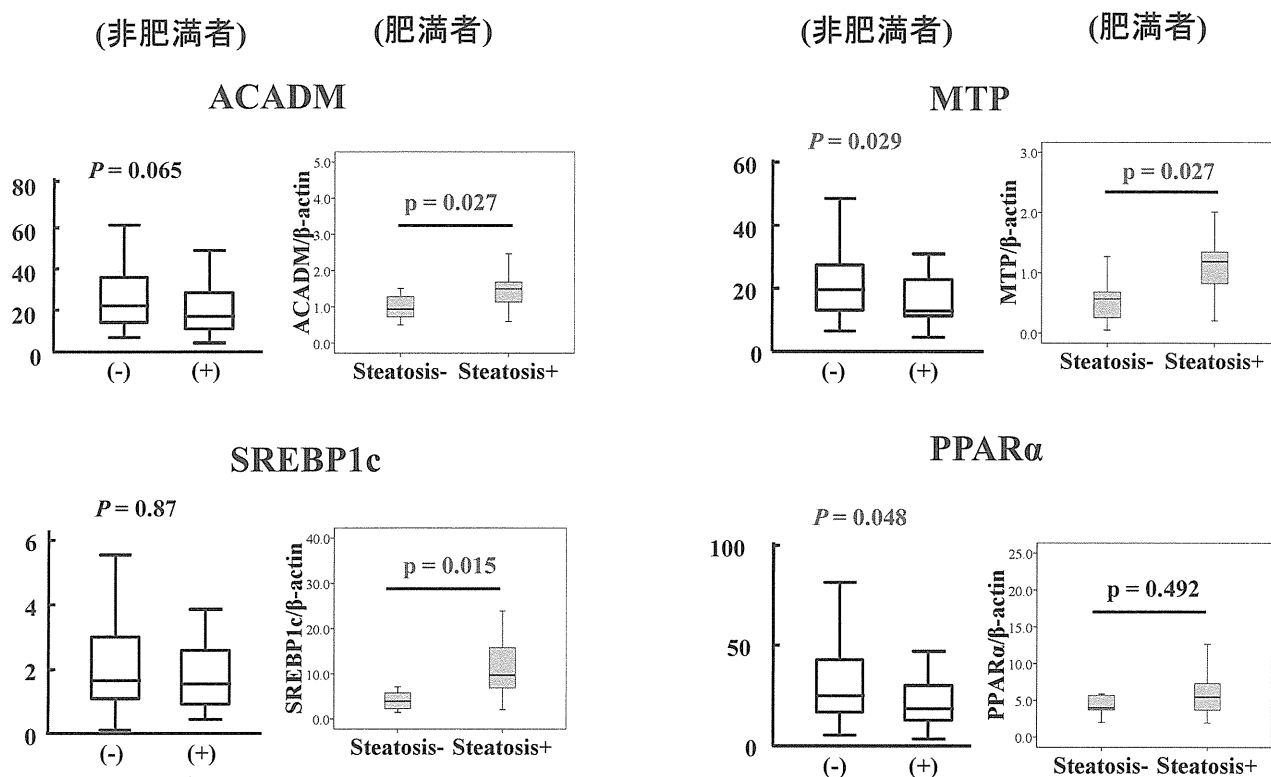


図1 非肥満者 (BMI < 25) と肥満者 (BMI ≥ 25) の脂質代謝関連遺伝子の比較

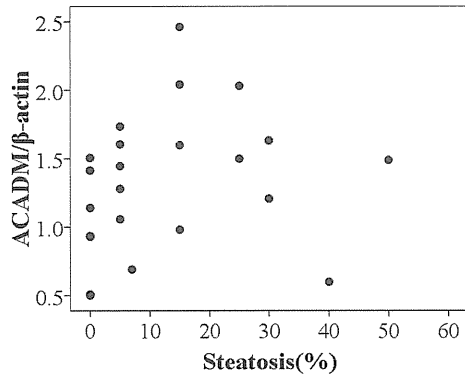
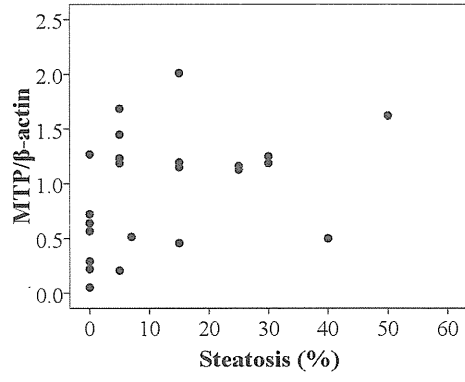
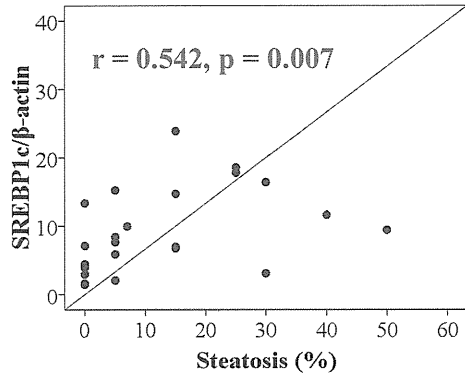


図2 脂質代謝遺伝子と脂肪化面積の比較

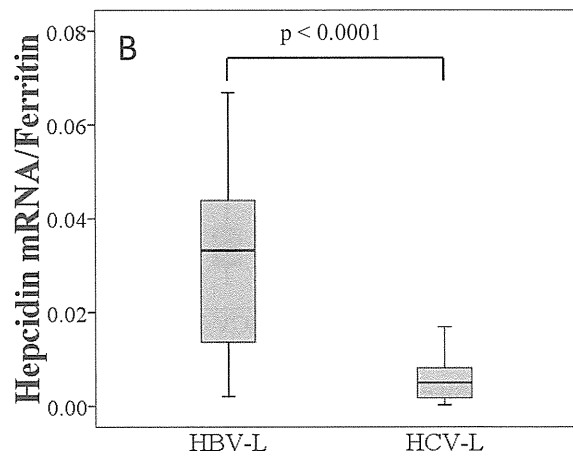
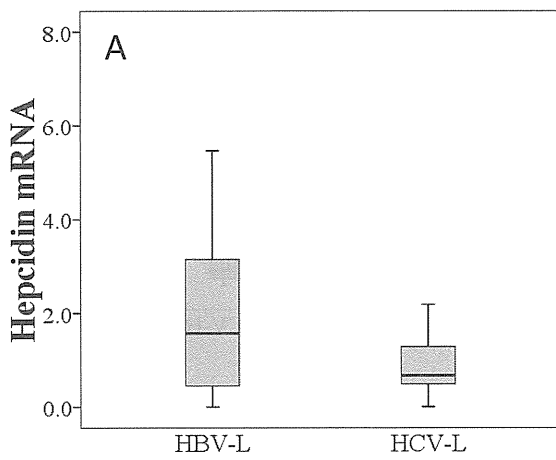


図3 Hepcidin mRNAレベル (BMIが25kg/m<sup>2</sup>未満)