

## II. 分担研究報告(2)

厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服実用化研究事業(肝炎等克服緊急対策研究事業))  
分担研究報告書

網羅的遺伝子発現解析による日本人C型肝炎患者の治療奏効にかかわる新たな宿主分子の同定

研究分担者 坪田 昭人

### 研究要旨

肝炎治療においては種々の宿主側・ウイルス側要因が治療奏効に影響を及ぼすが、それら要因は治療法ごと、患者集団ごとに異なっている。本分担研究ではC型肝炎二剤併用療法の治療奏功にかかわる因子を明らかとすることを目的とした。ペグインターフェロン 2bおよびリバビリン併用療法(全48週間または全72週間)を施行した患者をSVR/再燃(S/R)群と部分応答/不応(P/N)群に分け、各群由来試料を用いたmRNAおよびmiRNAの網羅的発現解析により治療奏功関連因子の探索をおこなった。その結果、MAP3K8 mRNAの発現量がP/N群においてS/R群よりも有意に高かった。また、miR-17-5pの発現量がP/N群においてS/R群よりも有意に低く、MAP3K8と逆相関関係にあった。これと一致して、MAP3K8の3'非翻訳領域にmiR-17-5pが結合することが明らかとなった。さらに、HCV産生モデル細胞においてMAP3K8およびmiR-17-5pの発現や機能を変動させると、それぞれについて、患者治療応答性と一致したHCV産生プロファイルの変動が認められた。以上、本研究の結果から、MAP3K8およびmiR-17-5pはペグインターフェロン 2b/リバビリン併用療法の治療効果関連因子であることが明らかとなった。したがって、これら新たな経路の同定により、これまで不明であった治療奏功や不応患者の原因解明およびそれら患者集団の抽出が可能となることが期待される。しかし、これら遺伝子がどのような分子経路を介してHCV複製・産生に作用するか明らかではなく、今後MAP3K8/miR-17-5pの標的遺伝子(HCV複製に関わる遺伝子や治療薬取り込みトランスポーター遺伝子など)の同定やその治療薬標的としての可能性を明らかとしていく必要があると考えられる。

### A. 研究目的

本研究では、難治性肝炎の奏功率を向上させるため、B型およびC型肝炎治療薬の取り込み輸送体の遺伝情報と肝炎治療臨床経過との関連解析を計画している。本解析遂行のため、分担研究では肝炎患者の臨床的知見の的確な把握と治療応答性の特徴解明を目的の一つとしており、本年度では、ペグインターフェロン 2b/リバビリン併用療法を施行した日本人C型肝炎患者を対象とした。そこで本分担報告書では、これら患者由来試料のmRNAおよびmiRNA発現の網羅的解析から見出された新たな二つの治療応答関連因子、およびそれらのC型肝炎ウイルス(HCV)複製における推定分子機序について報告する。

### B. 研究方法

#### 患者・治療法

ペグインターフェロン 2b(週1回、1.5 μg/kg、

MSD、東京)およびリバビリン(600-1000 mg/day、MSD)による治療を48週間(または72週間)受けたHCV1b型感染日本人患者(2011年12月~2013年3月、東京慈恵会医科大学柏病院)のうち、次(1-4)の条件を満たす130名の患者を対象とした。条件は、(1)C型肝炎患者である；(2)感染HCVの遺伝子型が1bである；(3)肝がん、肝不全、他の肝疾患がない；(4)他疾患に対する薬物療法をおこなっていない；である。

患者から治療前に肝組織を採取し、病理組織学的解析に用いた。また、採取切片の一部を用いてmRNAおよびmiRNAの抽出をおこなった。

#### 治療応答の定義

Sustained virologic response (SVR)は治療完遂後24週の時点で血中HCVが検出限界以下と定義した。治療不応(null)は治療開始後12週の時点で2 log<sub>10</sub> IU/mL以下のウイルス低下量で、そのまま治療期間中ウイルスが検出され続けた例と定義した。また、部分応答は、治療開始後12週の時点で2 log<sub>10</sub>

IU/mL以上の低下が認められたが、治療中血中HCVが検出限界以下にならなかった例とした。再燃 (relapsers)は、治療完遂時点で血中HCVが検出限界以下であったが、経過観察期間に再出現した例とした。

#### HCV RNA測定法

治療前および治療中 (4週に1回)、治療後の血中HCV RNAレベルはAmplacor HCV version (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland)により定量した。

#### mRNAマイクロアレイ

患者由来肝試料 (SVR、n=5; relapsers、n=3; null、n=4)における全mRNA発現プロファイルはGeneChip Human Genome U133 Plus 2.0 Array (Affymetrix, Santa Clara, CA)により解析した。データセットはR 2.12.1 statistical softwareとBioConductor packageを用いて解析した。

#### miRNAマイクロアレイ

患者由来肝試料 (SVR、n=5; relapsers、n=3; null、n=4)における全miRNA発現プロファイルはmiRCURY LNA microRNA Array series (Exiqon, Vedbaek, Denmark)により解析した。Total RNAはHy3でラベルし、miRBASE 14.0に登録されている全miRNAを対象として解析した。データセット解析にはR 2.12.1 statistical softwareを用いた。

#### 治療応答に関連する遺伝子発現変動の抽出

BioConductorを用い、SVRまたはrelapsers群とnullまたは部分応答群の間で発現量に差があるmRNAまたはmiRNAの探索をおこなった。p値はBenjamin i-Hochberg false discovery rate (FDR)法により設定した。

#### クラスター解析法

R statistical softwareを用いて、発現変動のあった遺伝子群に対してクラスター解析をおこなった。発現変動プロファイルの類似性はピアソン関連係数を用いて判定した。ヒートマップは異なる遺伝子発現プロファイル群で作成した。

#### mRNAの定量

マイクロアレイ結果の検証のため、定量的リア

ルタイムPCRを用いてmRNAの発現定量解析をおこなった。解析にはTaqMan Universal PCR Master Mix (Life Technologies) および TaqMan probes (<http://www.roche-appliedscience.com/sis/rtpcr/upl/adc.jsp>)を用いた。各遺伝子の発現は、18S rRNAの発現量に対する相対量として算出した。

#### miRNAの定量

上記と同様に、マイクロアレイ結果の検証のため、定量的リアルタイムPCRを用いてmiRNAの発現定量解析をおこなった。解析にはTaqman probe systemを用いた。各遺伝子の発現は、RNU48の発現量に対する相対量として算出した。

#### miRNAの標的遺伝子予測

マイクロアレイ解析において、SVR/relapsers群とnull/部分応答群の間で発現量に差がある (1.2倍以上でp値が0.005以下) miRNAについて、MicroCosm、Targets、miRanda、PicTar、PITA、およびTargetScanによる標的mRNA予測をおこなった。標的mRNAの抽出条件は、1)マイクロアレイ解析で1.5倍以上の発現量の差異がp値0.003以下で認められる、2)マイクロアレイ解析において、miRNAと逆相関の発現プロファイルが認められる、3)リアルタイムPCRにより発現量の差異が確認できている、とした。遺伝子発現ネットワーク解析は、Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) Pathways、Agilent Literature Search 3.0.3 beta、およびCytoscape 3.0.2を用いておこなった。

#### 細胞培養

Huh7.5.1細胞は、10%牛胎児血清を含むDulbecco's modified Eagle's mediumを用いて培養した。また、JFH1をHuh7.5.1細胞に導入し、この培養上清よりHCVを回収した。

#### プラスミドおよびsiRNA

Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 8 (MAP3K8) に対する3種siRNA (uucgucuuuauaucuugugt、uguugcuagguuuuauauctt、aucuugugccaguauacct) およびスクランブルsiRNAはシグマ (St. Louis, MO) より購入した。miR-17-5p発現プラスミドおよびその阻害プラスミド、コントロールプラスミドは、GeneCopoeia (Rockville, MD) より購入した。

## HCVコアタンパク質定量と細胞生存率解析

細胞ライセートまたは培養上清のHCVコアタンパク質は、GeneCopoeia (Rockville, MD)を用いて定量した。また、細胞生存率は、CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay (Promega, Madison, WI)を用いて解析した。

## トランスフェクション

細胞を24ウェルプレートに播種した後、siRNAをLipofectamine RNAiMAX (Invitrogen, San Diego, CA)により、プラスミドをTransIT-LT1 (Mirus, Madison, WI)によりトランスフェクションした。

## ルシフェラーゼレポーターアッセイ

miR-17-5pの標的配列を含むMAP3K8遺伝子の3'非翻訳領域をpGL3レポータープラスミドにサブクローニングした。標的配列に対する変異の導入はPCRによりおこなった。このルシフェラーゼレポータープラスミドとmiR-17-5p発現プラスミド(または空プラスミド)を、上記の方法により同時に細胞へ導入した。この48時間後にDual-Luciferase Reporter Assay System (Promega)によりルシフェラーゼ活性を解析した。

## ウェスタンブロット

肝ホモジネートを調製し、これをSDS-polyacrylamide gel electrophoresisにかけて各タンパク質を分離した。タンパク質をニトロセルロース膜に転写した後、ブロッキングをおこなった。MAP3K8タンパク質は抗MAP3K8抗体 (ab70853, Abcam, San Diego, CA)により、内部標準タンパク質 アクチンは抗  $\beta$ -actin抗体 (EP1123Y, Abcam)により検出した。

## IL28B遺伝子多型およびITPA遺伝子多型の解析

患者ゲノムDNAは全血からMagNA Pure LC and the DNA Isolation Kit (Roche Diagnostics)を用いて採取した。Interleukin 28B (IL28B)のrs8099917およびrs12979860、inosine triphosphatase (ITPA)のrs1127354はTaqMan SNP Genotyping Assaysにより解析した。

## 治療不応/部分応答因子に関わる統計解析

治療不応/部分応答因子同定にかかわる統計解析は、chi-square、Fisher's exact、Student's

t、およびMann-Whitney two-tailed testsによりおこなった。また、SVRと関連する因子の同定には、多変量解析を用い、オッズ比(95%信頼区間)の計算もおこなった。統計計算結果はP値(両側)により示し、本値が $<0.05$ を統計的優位とした。以上の統計計算にはSPSS(ver.17.0、IBM-SPSS, Chicago, IL)を用いた。

## 倫理面への配慮

本研究で解析した臨床検体は、倫理委員会の承認のもと、全てインフォームドコンセントを取得した後に採取した。検体の個人情報には外部に洩れることのないよう厳重に管理し、その試料等は個人情報管理者及び分担管理者を設け連結可能匿名化することにより、研究者に患者の特定ができないよう配慮した。また、本研究成果の発表にあたっては、患者の氏名などは一切公表しない。

## C. 研究結果

### 治療成績

全体として、62名(48%)の症例でSVRが認められ、36名(28%)の症例でRelapse、6名(5%)の症例で部分応答、26名(20%)の症例で治療不応答であった。以降、これら患者をSVR/relapse (S/R)と、部分応答/不応 (P/N)群に分ける。P/N群には  $\beta$ -GTP高値、低アルブミン濃度の患者が多く、IL28Bの遺伝子多型マイナー型も多く認められた。

### 治療効果と関連するmRNA

mRNAマイクロアレイの結果、39種のmRNAの発現上昇と17種のmRNAの発現低下が治療不応と関連していた。発現上昇していたmRNAは、転写・翻訳、細胞周期、リン酸化、シグナル伝達、免疫応答、RNAスプライシング/mRNAプロセッシングおよびウイルス産生の経路に関わる遺伝子由来であった。一方、発現低下していたmRNAは、異物代謝、脂質代謝、および酸化還元反応の経路に関わる遺伝子由来であった。これらの発現変動をより定量的に解析するため、定量的リアルタイムPCRをおこなった。その結果、MAP3K8 ( $p = 5.2461027$ )、TMEM178 (transmembrane protein 178,  $p = 7.31 \times 10^{-6}$ )、PSME4 (proteasome activator subunit 4,  $p = 2.43 \times 10^{-4}$ )、およびEIF3B (eukaryotic translation initiation factor-3B,  $p = 3.16 \times 10^{-6}$ )のmRNAが、P/N群においてS/R群よりも有意に高く発現していた。また、MAP3K8のタンパク質発現量も、P/N群においてS/R群よりも有意に高かった。

## 治療効果と関連するmiRNA

miRNAマイクロアレイの結果、76種のmiRNAの発現上昇と111種のmiRNAの発現低下が治療不応と関連していた。これらのうち、1) MAP3K8、TMEM178、PSME4、またはEIF3BのいずれかのmRNAを標的とし、2) その発現変動が、MAP3K8、TMEM178、PSME4、またはEIF3BのいずれかのmRNAの発現変動と逆相関していること、を満たすmiRNAを探索した。その結果、MAP3K8に対してはhsa-let-7g<sup>\*</sup>、hsa-miR-17-5p、-20b、-297、-374b、-494、-602、-668、および-1297が、TMEM178に対してはhsa-miR-106b<sup>\*</sup>、-122-5pが、PSME4に対してはhsa-miR-492、-675-5pが見出された(EIF3Bに対するmiRNAは見いだされなかった)。

これらmiRNAの発現変動とmRNAの発現変動の逆相関をより定量的に解析するため、miRNAの定量的リアルタイムPCRをおこなった。その結果、miR-122-5p ( $p=2.75 \times 10^{-8}$ )、miR-675-5p ( $p=1.00 \times 10^{-5}$ )、およびmiR-17-5p ( $p=1.73 \times 10^{-8}$ )のmiRNAが、P/N群においてS/R群よりも有意に低く発現していた。特に、MAP3K8 mRNAはmiR-17-5pと高い逆相関が認められた ( $r=-0.592$ ,  $p=4.31 \times 10^{-3}$ )。

## 治療応答関連解析

単変量解析で統計的差異が認められた因子について多変量解析をおこなったところ、P/N群に関連する因子として、rs8099917 [ $p=3.67 \times 10^{-3}$ , odds ratio (OR) = 7.51, 95% confidence interval (CI) = 2.14-29.27]、miR-122-5p ( $p=5.60 \times 10^{-4}$ , OR = 0.11, 95% CI = 0.03-0.38)、miR-17-5p ( $p=2.02 \times 10^{-4}$ , OR = 0.56, 95% CI = 0.41-0.76)、およびMAP3K8 ( $p=8.58 \times 10^{-3}$ , OR = 2.86, 95% CI = 1.31-6.25)が見出された。

## HCV複製に対するMAP3K8の影響

MAP3K8は、細胞増殖、炎症、アポトーシスなど様々な細胞機能に関与する遺伝子として知られている。そこで、MAP3K8のHCV産生に対する役割を、siRNAを用いて検討した。MAP3K8 siRNAまたはコントロールsiRNAをHCV感染Huh7.5.1細胞に導入した結果、細胞上清中のHCVコアタンパク質量は有意に減少し、この時、細胞内のmiR-17-5p発現量は有意に上昇した。しかしながら、細胞内HCVコアタンパク質量に変化は認められなかった。したがって、MAP3K8はmiR-17-5pの発現抑制を介して、HCV粒子の産生・放出促進に関与すると考えられた。

次に、miR-17-5pの阻害または過剰発現におけるMAP3K8発現変動およびHCV産生変動を解析した。その結果、miR-17-5pを阻害するとMAP3K8の発現は上昇し、その過剰発現ではMAP3K8の発現は低下することが明らかとなった。また、miR-17-5pを阻害するとHCVコアタンパク質の発現は上昇し、その過剰発現では低下することが明らかとなった。

したがって、miR-17-5pはMAP3K8を標的とすることでその発現を制御し、これよりHCV粒子産生に関与すると考えられた。

最後に、ルシフェラーゼアッセイにより、miR-17-5pによるMAP3K8 mRNAの3'非翻訳領域を介した発現制御を検証した。その結果、miR-17-5pの過剰発現によりMAP3K8の3'非翻訳領域を有するレポーターの活性は低下し、結合配列と考えられる領域に変異を導入すると、miR-17-5pによる発現抑制作用は認められなくなった。

## D. 考察

本研究は、C型肝炎治療患者の治療応答に関連するmRNAとmiRNAの網羅的発現解析をおこなった初めての報告である。

これまでに治療応答不良患者においては、治療応答患者と比べ、治療前のインターフェロン応答遺伝子群 (ISGs) の発現量が高いことが報告されている。したがって、このような患者では外からインターフェロンを投与しても十分なインターフェロン応答が得られず、そのため治療効果に乏しいと考えられる。このISGsの高発現常態はIL28B遺伝子多型と関連することが報告されており、さらに、IL28B遺伝子多型の解析と比べ、ISGs発現量を解析する方が治療応答予測により有効であるとする報告もある。しかしながら、今回の検討においては、ISGsの発現は確かにP/N群でS/R群よりも高い傾向にあったものの、これは統計的有意な差異には至らなかった。このように本研究と上記報告で異なる結果が得られた原因は定かではないが、人種、HCV遺伝子型、治療応答に対する定義、評価指標、治療方法などによる違いに起因する可能性があると考えられる。

MAP3K8は免疫応答や炎症反応に関わる機能を有すると考えられている。HCVはToll-like receptor 4 (TLR4)を活性化することが知られており、活性化TLR4はinhibition of kappa B kinase (IKK)を介してnuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B) p105を活性化することが知られている。通常、リン酸化されていないNF- $\kappa$ B p105はMAP3K8と不活性な複合体を形成しているが、NF- $\kappa$ Bが活性化されることによ

り、MAP3K8は遊離する。この遊離したMAP3K8により、MAPK/ERK kinase (MEK)-extracellular signal-regulated kinase (ERK) 経路が活性化され、様々なサイトカインやケモカインが放出されると考えられている。

上記に加え、本研究では新たにMAP3K8がHCV治療抵抗性と関連することを見出した。本研究の結果から、MAP3K8はHCVの放出または粒子形成に関わると考えられるものの、HCVコアタンパク質発現量にも影響する可能性も現時点では否定できない。もしMAP3K8がHCVの放出や粒子形成に影響するのみであれば、miR-17-5pの過剰発現や阻害時に、MAP3K8の発現変動に伴い培養上清ばかりでなく細胞内のHCV発現量も変動したことは、他の因子の関与が無い限り説明できない。このような現象はHCVの複製・産生に関わる他の因子においても報告されている。したがって、MAP3K8はHCVライフサイクルの何等かの経路に作用するものと考えられるものの、現時点ではその詳細な機序は不明である。

これまでにmiR-17-5pは、細胞増殖または抑制遺伝子の発現制御をおこなうことにより、細胞依存的にがん抑制に働くともがん促進に働くとも考えられている。ウイルス複製に関しては、これまでにhsa-miR-17-5pが存在する遺伝子座はHIV複製に対して促進的に働くことが報告されているが、今回の我々の結果からは、miR-17-5pはHCV産生に対しては抑制的に働くことが明らかとなった。さらにこの分子機序として、miR-17-5pはMAP3K8の発現を転写および翻訳レベルで抑制すると考えられた。

一般に、miRNAは多くの標的mRNAを同時に制御しており、また、上述のとおりMAP3K8の活性は多岐に渡る細胞機能に影響を及ぼすと考えられる。したがって、これら因子はその下流に存在する多くの遺伝子が、HCVの複製や産生に関与する可能性が考えられる。例えばこれまでにmiR-17-5pはlow density lipoprotein receptor (LDLR)を標的としていることが知られており、LDLRの発現低下は肝細胞内脂質代謝を変動させると考えられる。細胞内脂質代謝はHCVの複製にとって重要な役割を担っていることが報告されていることから、miR-17-5pは肝細胞内の脂質代謝変動を介してHCV複製に関与する可能性も考えられる。

一方、MAP3K8は肝細胞リバビリン取り込みトランスポーターであるequilibrative nucleoside transporter 1 (ENT1)の発現・活性制御にも関与する可能性がある。これまでにPKC-zeta、Raf-1、MEK、and p38 MAPK経路によりENT1の発現が減少するが報告されている。したがって、MAP3K8によりこれらシグナル経路が活性化されて、ENT1の発現や活性が減弱すると、リバビリンの取り込み量が低下し、それに伴い薬効発現が減弱する可能

性も否定できない。

上述のとおり、MAP3K8/miR-17-5p経路がHCV複製にどの程度かかわっているか、また、MAP3K8/miR-17-5p経路の下流でどのような遺伝子が制御されているか、今後更なる*in vitro*・*in vivo*の検討が必要である。このような検討の中では、HCVの複製・産生に関わる様々な経路に着目した解析とともに、治療薬トランスポーターとの関連に着目した解析も進める必要があると考えられる。

## E . 結論

患者由来試料を用いたmRNAおよびmiRNAの網羅的解析およびそれらの関連解析から、治療効果と関連する新たな分子(MAP3K8およびmiR-17-5p)が明らかとなった。本結果は、HCV感染と治療薬薬効発現に関わる新たな経路を明らかとしたばかりでなく、今後二剤または三剤併用療法において患者治療効果を予測する因子を同定することにもつながる可能性もある。しかし、これら遺伝子がどのような分子経路を介してHCV複製・産生に作用するか明らかではなく、今後MAP3K8/miR-17-5pの標的遺伝子(HCV複製に関わる遺伝子や治療薬取り込みトランスポーター遺伝子など)の同定やその治療薬標的としての可能性を明らかとしていく必要があると考えられる。

## F . 研究発表

### 1. 論文発表

Kondo C, Atsukawa M, Tsubota A, Shimada N, Abe H, Itokawa N, Nakagawa A, Fukuda T, Matsushita Y, Nakatsuka K, Kawamoto C, Iwakiri K, Aizawa Y, Sakamoto C. Safety and efficacy of partial splenic embolization in telaprevir-based triple therapy for chronic hepatitis C. Intern Med. 2015;54:119-26.

Abe H, Tsubota A, Shimada N, Atsukawa M, Kato K, Takaguchi K, Asano T, Chuganji Y, Sakamoto C, Toyoda H, Kumada T, Ide T, Sata M, Aizawa Y. Factors associated with sustained virological response in 24-week telaprevir-based triple therapy for chronic hepatitis C genotype 1b patients with the IL28B minor genotype. Hepatol Res. 2015;45:387-96.

Nakagawa A, Atsukawa M, Tsubota A, Shimada N, Abe H, Kondo C, Itokawa N, Arai T, Hashimoto S, Matsushita Y, Fukuda T, Nakatsuka K, Iwakiri K,

Kawamoto C, Aizawa Y, Sakamoto C. Relationship between HCV dynamics and sustained virological responses in chronic hepatitis C genotype 1b patients treated with telaprevir-based triple therapy. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2014;26:1329-34.

Abe H, Tsubota A, Shimada N, Atsukawa M, Kato K, Takaguchi K, Asano T, Chuganji Y, Sakamoto C, Toyoda H, Kumada T, Ide T, Sata M, Aizawa Y. Predictors of response to 24-week telaprevir-based triple therapy for treatment-naïve genotype 1b chronic hepatitis C patients. *Gastroenterol Res Pract.* 2014;2014:549709.

Masaki N, Sugiyama M, Shimada N, Tanaka Y, Nakamuta M, Izumi N, Watanabe S, Tsubota A, Komatsu M, Masaki T, Enomoto N, Yoneda M, Murata K, Ito K, Koike K, Mizokami M. Pretreatment prediction of the outcome of response-guided peginterferon- and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol.* 2014;29:1996-2005.

Atsukawa M, Tsubota A, Shimada N, Abe H, Kondo C, Itokawa N, Nakagawa A, Iwakiri K, Kawamoto C, Aizawa Y, Sakamoto C. Serum 25(OH)D3 levels affect treatment outcomes for telaprevir/peg-interferon/ribavirin combination therapy in genotype 1b chronic hepatitis C. *Dig Liver Dis.* 2014;46:738-43.

Tsubota A, Mogushi K, Aizaki H, Miyaguchi K, Nagatsuma K, Matsudaira H, Kushida T, Furihata T, Tanaka H, Matsuura T. Involvement of MAP3K8 and miR-17-5p in poor virologic response to interferon-based combination therapy for chronic hepatitis C. *PLoS One.* 2014;9:e97078.

Atsukawa M, Tsubota A, Shimada N, Kondo C, Itokawa N, Nakagawa A, Fukuda T, Matsushita Y, Narahara Y, Osada Y, Yamaguchi H, Nakatsuka K, Iwakiri K, Kawamoto C, Sakamoto C. Effect of fluvastatin on 24-week telaprevir-based combination therapy for hepatitis C virus genotype 1b-infected chronic hepatitis C. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2014;26:781-7.

Shimada N, Tsubota A, Atsukawa M, Abe H, Ide T, Takaguchi K, Chuganji Y, Toyoda H, Yoshizawa K,

Ika M, Sato Y, Kato K, Kumada T, Sakamoto C, Aizawa Y, Sata M. A 48-week telaprevir-based triple combination therapy improves sustained virological response rate in previous non-responders to peginterferon and ribavirin with genotype 1b chronic hepatitis C: A multicenter study. *Hepatol Res.* 2014;44:E386-96.

Atsukawa M, Tsubota A, Shimada N, Kondo C, Itokawa N, Nakagawa A, Hashimoto S, Fukuda T, Matsushita Y, Narahara Y, Iwakiri K, Nakatsuka K, Kawamoto C, Sakamoto C. Serum 25-hydroxyvitamin D3 levels affect treatment outcome in pegylated interferon/ribavirin combination therapy for compensated cirrhotic patients with hepatitis C virus genotype 1b and high viral load. *Hepatol Res.* 2014;44:1277-85.

Shimada N, Toyoda H, Tsubota A, Ide T, Takaguchi K, Kato K, Kondoh M, Matsuyama K, Kumada T, Sata M. Baseline factors and very early viral response (week 1) for predicting sustained virological response in telaprevir-based triple combination therapy for Japanese genotype 1b chronic hepatitis C patients: a multicenter study. *J Gastroenterol.* 2014;49:1485-94.

## 2. 学会発表

坪田昭人. Bovine lactoferrinの酸化ストレス状態における効果と作用機序 ~ラクトフェリンのこれから~. 第4回臨床ラクトフェリンシンポジウム (2014.4.9 東京)

島田紀朋、高口浩一、井出達也、加藤慶三、坪田昭人、豊田秀徳、熊田 卓、佐田通夫. TVR3剤併用療法の早期HCV動態から見た治療効果予測. 第100回日本消化器病学会総会 (2014.4.24 東京)

近藤千紗、厚川正則、島田紀朋、安部 宏、中川 愛、糸川典夫、加藤慶三、福田 健、松下洋子、檜原義之、中塚雄久、岩切勝彦、川本智章、坪田昭人、相澤良夫、坂本長逸. IL28B minor genotypeのC型慢性肝炎に対する3剤併用療法における再燃に寄与する因子の検討. 第100回日本消化器病学会総会 (2014.4.24 東京).

中川 愛、厚川正則、島田紀朋、糸川典夫、近藤千紗、安良岡高志、橋本知実、福田 健、松下洋子、

城所秀子、榎原義之、中塚雄久、坪田昭人、岩切勝彦、川本智章、坂本長逸. 代償性肝硬変に対するpeg-IFN/ribavirin併用療法に血清25(OH)D3濃度に与える影響. 第100回日本消化器病学会総会(2014.4.24 東京).

糸川典夫、厚川正則、坪田昭人、近藤千紗、橋本知美、松下洋子、福田 健、城所秀子、榎原義之、中塚雄久、金沢秀典、坂本長逸. C型慢性肝炎IL28B minor genotypeに対するAlfacalcidol併用3剤療法についての検討; Pilot Study. 第100回日本消化器病学会総会(2014.4.25 東京).

安部 宏、島田紀朋、厚川正則、加藤慶三、坪田昭人、坂本長逸、相澤良夫. C型慢性肝炎Naïve症例に対するTelaprevir+Peginterferon+Ribavirin3剤療法の治療成績. 第100回日本消化器病学会総会(2014.4.25 東京).

中川 愛、厚川正則、島田紀朋、安部 宏、加藤慶三、近藤千紗、糸川典夫、福田 健、松下洋子、中塚雄久、長田祐二、岩切勝彦、川本智章、坪田昭人、相澤良夫、坂本長逸. C型慢性肝炎に対する3剤併用療法のHCV RNA陰性化時期がSVRに与える影響~48週延長投与例も含めた解析. 第50回日本肝臓学会総会(2014.5.29 東京).

島田紀朋、厚川正則、坪田昭人. Non-responderに対するT12PR48はSVRを向上させる. 第50回日本肝臓学会総会(2014.5.29 東京).

近藤千紗、厚川正則、島田紀朋、安部 宏、中川 愛、糸川典夫、加藤慶三、福田 健、松下洋子、榎原義之、中塚雄久、岩切勝彦、川本智章、坪田昭人、相澤良夫、坂本長逸. Peg-IFN/ribavirin/telaprevir三剤併用療法における再燃に寄与する因子の検討. 第50回日本肝臓学会総会(2014.5.29 東京).

神田達郎、島田紀朋、厚川正則、篠崎正美、三上 繁、中本晋吾、新井誠人、今関文夫、坪田昭人、横須賀収. B型慢性肝炎に対するペグインターフェロン療法~開始直前HBe抗原からみた治療効果の検討~. 第50回日本肝臓学会総会(2014.5.29 東京).

安部 宏、島田紀朋、厚川正則、坪田昭人、關 伸嘉、杉田知典、会田雄太、加藤慶三、坂本長逸、相澤良夫. C型慢性肝炎に対するTelaprevir+Peginterferon+Ribavirin3剤療法の治療成績. 第50回日本肝臓学会総会(2014.5.29

東京).

新井泰央、厚川正則、島田紀朋、安部 宏、大久保知美、中川 愛、糸川典夫、近藤千紗、坪田昭人、相澤良夫、川本智章、坂本長逸. C型慢性肝炎における血清25(OH)D3濃度の特徴についての検討. 第18回日本肝臓学会大会(2014.10.23 神戸).

安部 宏、島田紀朋、厚川正則、坪田昭人、關 伸嘉、杉田知典、会田雄太、井家麻紀子、相澤良夫. Telaprevir3剤療法を導入したIL28B Major genotypeのC型慢性肝炎における非SVRに關与する因子の検討. 第18回日本肝臓学会大会(2014.10.23 神戸市).

厚川正則、島田紀朋、吉澤 海、安部 宏、中川 愛、糸川典夫、近藤千紗、坪田昭人、相澤良夫、坂本長逸. Simeprevir3剤併用療法におけるvitamin D併用療法の治療初期効果について. 第18回日本肝臓学会大会(2014.10.23 神戸).

安部 宏、石黒晴哉、島田紀朋、關 伸嘉、杉田知典、会田雄太、富田陽一、永野智久、板垣宗徳、須藤 訓、坪田昭人、相澤良夫. Response-guided Peginterferon +Ribavirin療法施行Genotype2型C型慢性肝炎の治療効果におけるIL28B遺伝子多型測定の意義. 第40回日本肝臓学会東部会(2014.11.27 東京).

中川 愛、厚川正則、島田紀朋、阿部 宏、吉澤 海、浅野 徹、大久保雄介、荒木眞裕、池上 正、糸川典夫、近藤千紗、中塚雄久、忠願寺義通、坪田昭人、相澤良夫、坂本長逸. 我が国におけるC型慢性肝炎患者の血清25(OH)D3濃度の特徴. 第40回日本肝臓学会東部会(2014.11.27 東京).

## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 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