

201449013A

厚生労働科学研究委託費

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)

HCV に対する抗ウイルス治療後、
SVR 後の病態に関する研究

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 相崎 英樹

平成27(2015)年 3月

厚生労働科学研究委託費

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)

HCV に対する抗ウイルス治療後、
SVR 後の病態に関する研究

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 相崎 英樹

平成27(2015)年 3月

本報告書は、厚生労働省の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)による委託業務として、国立感染症研究所 ウイルス第二部 相崎英樹が実施した平成26年度「HCVに対する坑ウイルス治療後、SVR後の病態に関する研究」の成果を取りまとめたものです。

目 次

I. 総括・委託業務成果報告

1. 総括・SVR 後肝組織の微小構造の解析・新たな検査系の開発・・・ 1
相崎 英樹
2. SVR 後肝癌を含む肝病変の発生・変化について関する研究・・・ 19
小池 和彦
3. SVR 後肝組織の微小構造の解析に関する研究・・・ 23
飯島 尋子
4. C型肝炎の治療前後における血中代謝物の網羅的比較解析・・・ 25
鈴木 哲朗
5. SVR 後肝組織の微小炎症の免疫学的機序の検討・・・ 27
考藤 達哉
6. ペグインターフェロン・リバビリン無効例に対するシメプレビル3剤併用療法の有効性と耐性変異の解析・・・ 30
平松 直樹
7. SVR 後の発がん関連因子の検討・・・ 33
黒崎 雅之
8. HCV 感染ヒト化肝臓キメラマウスの SVR モデル作製と肝病理組織学的及び遺伝子解析・・・ 36
坪田 昭人
9. SVR 後の肝組織ゲノム解析・・・ 40
丸澤 宏之
10. SVR 後肝障害症例の解析・・・ 44
林 和彦

1 1. 非肝臓細胞で複製可能な HCV 変異株とその miR-122 非依存的な複製
..... 4 5

福原 崇介

II. 学会等発表実績 4 9

I. 総括・委託業務成果報告

総括・SVR 後肝組織の微小構造の解析・新たな検査系の開発
業務主任者 相崎英樹 国立感染症研究所 室長

研究要旨：C型慢性肝炎に対する治療の進歩は目覚ましく、直接作用型抗ウイルス薬(DAA)のみの治療で9割以上の患者にウイルス学的著効(SVR)が期待できるようになってきている。一方、SVR後の肝障害や肝癌症例が報告されている。本研究では、今後増加するSVR後症例の適切な管理のため、SVR後の肝病態の解明と新たな検査系・対処法の確立を目指す。臨床研究では、関東、中部、関西、全国（日赤）にて、IFN治療だけでなくDAA治療後SVR症例についても臨床的アウトカムの前向き評価を開始、順調に症例蓄積が進んでいる。基礎研究では、SVR後の病理組織、遺伝子変異、代謝異常、肝微小炎症の免疫学的機序、潜在的感染について解析が進んでおり、それぞれ標的分子が候補に上がってきている。さらに、基礎と臨床グループ間でのサンプルの提供、情報交換を密に行うとともに、HCV感染ヒト化肝臓キメラマウスでの標的の検証を行う体制が整った。

A. 研究目的

C型慢性肝炎に対する治療の進歩は目覚ましく、直接作用型抗ウイルス薬(DAA)のみの治療で9割以上の患者にウイルス学的著効(SVR)が期待できるようになってきている。一方、SVR後の肝障害や肝癌症例が報告されている。本研究では、今後増加するSVR後症例の適切な管理のため、SVR後の肝病態の解明と新たな検査系・対処法の確立を目指す。以上により、肝障害・肝発癌においてその機序や責任分子が同定できれば、肝障害・肝発癌リスクの評価や肝障害・肝発癌抑止法の開発につながると期待できる。

B. 研究方法

1. SVR後の慢性肝疾患の改善度の経時的解析（小池研究分担者）

肝硬度・組織の改善度からSVR達成後の慢性肝疾患の改善の度合いについて解析し、当院におけるSVR後肝発癌の実態の

解明を目指す。

2. SVR後の肝障害症例の解析（林研究分担者）

SVRのうち肝障害例の解析。肝生検でのHCVRNA検討、陽性例においては治療前のウイルスとの配列の差異を検討する。

3. SVR後の肝発癌とそのリスク因子の研究（平松研究分担者）

Peg-IFN/RBV療法によるSVR症例収集、予後調査を行う。

4. SVR後の肝発癌のリスク因子と病理の比較（黒崎研究分担者）

SVR達成症例のうち、65歳以上の高齢者、IFN治療前F3以上の肝線維化進行例、ALT持続異常者、AFP10以上持続例を対象とし、病理所見を検討する。

5. SVR後の肝組織の微細構造の解析（相崎研究代表者、飯島研究分担者、和氣健二郎、市野瀬志津子研究協力者）

SVR患者のうち肝障害例の肝組織のウイルス遺伝子解析、電顕観察を行う。

6. メタボローム解析 (鈴木研究分担者)

IFN/プロテアーゼ阻害剤併用治療例の治療効果と代謝物質変動の関係を調べる。

7. ゲノム解析 (丸澤研究分担者)

慢性肝疾患症例、肝癌発生例と非発癌例を用いて、次世代シーケンサーによるゲノム解析を行う。

8. Sterile inflammationの免疫学的解析 (考藤研究分担者)

非SVR肝がん組織からマクロファージ、DCを分離し、Inflammasome構成分子の発現、炎症分子をがん部と非癌部、末梢血免疫細胞間で比較する。

9. ヒト肝キメラマウスの肝病理組織学的・遺伝子解析 (坪田研究分担者)

SVRに至ったHCV感染ヒト肝キメラマウスの肝組織内HCV残存や免疫組織学的検討する。

10. HCV感染を許容しうる非肝臓系細胞の探索 (福原研究分担者)

CLDN1およびmiR-122に注目し、HCVの感染を許容しうる非肝臓系細胞を探索する。

(倫理面への配慮)

本研究は感染研の倫理委員会の認可のもと行われている。検体及びその情報については全て診療所で匿名化し、研究班では個人情報を持しない。また、情報公開の際も個人を識別できる情報は排除する。

C. 研究結果

1. 研究代表者 (相崎英樹)

SVR症例の肝組織のHCVRNA定性検査を行ったところ1割のSVR症例にHCVRNAが検出されたことから、血中のHCVRNA陰性は必ずしも組織内HCV陰性を示すものでないことを見出した。症例を増やして解析中である。

慢性C型肝炎患者の肝細胞オルガネラの所見については統一した報告は少ないので、HCV感染培養細胞と比較しながら電顕レベルで特徴的なオルガネラ変化を見出した。SVR後2, 3, 6, 8, 13年経過した症例の肝組織の電顕観察でオルガネラ変化が観察され、SVR後の長期にわたり、オルガネラ異常が継続されている可能性が示された。SVR後も見出されるオルガネラ異常のうち、核膜不整、小胞膜形成を見出した。

HCVNS4Bと結合する膜タンパクとしてSec12を見出した。これはHCV複製複合体を内包する小胞膜形成に重要な役割を果たしていた。SVR後の肝病態を反映する検査マーカーとなりうるか解析を進めている。

2. 研究分担者(飯島尋子)

これまで電顕観察用に保存してきた数百症例以上のSVR肝組織を研究班に提供した。

3. 研究分担者(黒崎雅之)

126例にIFN療法を施行。その95%で治療前に肝生検を施行。現時点でのウイルス排除成功率(SVR)は、初回治療、前治療再燃で86%、前治療無効で60%。臨床的アウトカムの前向き評価を開始(発がん、肝機能)。IFN freeの経口剤治療を40例開始。従来のIFN治療でのSVRからの発癌リスク因子をDAA後SVR症例でも検討。発がんリスク因子としてAFP高値に注目し、AFPが正常化しない治療前因子として肝線維化進行(F3-4の46%)、高齢(55歳以上の35%)を同定。

4. 研究分担者(小池和彦)

IFN治療後SVR244症例を当院フォロー中。DAA治療を検討している患者は606人。そのうちフィブロスキャン測定された者は184人。

5. 研究分担者(平松直樹)

Peg-IFN/RBV併用療法によるC型肝炎著効例のデータ収集ならびに肝発癌をはじめとした予後調査を行い、順調に症例蓄積が進んでいる。

6. 研究分担者(林和彦)

HCV遺伝子型とコア領域の変異によるSVRを同定した。

7. 研究分担者(丸澤宏之)

C型慢性肝疾患症例の肝組織には多数の遺伝子変異が潜在していることを次世代シーケンサーを用いた全エクソン解析により明らかにした。

8. 研究分担者(鈴木哲朗)

患者検体のメタボローム解析を開始し、インターフェロン/プロテアーゼ阻害剤治療によるウイルス消失に連動したアミノ酸変化を見出した。

9. 研究分担者(考藤達哉)

癌微小環境の構成細胞である線維芽細胞を、非SVR肝がん組織(切除肝)から分離し、肝がん細胞やマクロファージの形質・機能に及ぼす影響を検討したところ、がん関連線維芽細胞が肝がんの病態に参与する可能性が示された。

10. 研究分担者(福原 崇介)

miR-122ノックアウトHuh7細胞を樹立し、miR-122非依存的なHCVの増殖の可能性を明らかにした。

11. 研究分担者(坪田昭人)

超免疫不全TK-NOGマウスを用いてHCV感染ヒト化肝臓キメラマウスを確立した。

D. 考察

本研究において、SVR後の発癌リスクと治療法との関連が明らかとなれば、発癌高リスク群囲い込みによる早期発見および発癌リスクの減少の観点からの治療法選択が可能となる。さらに、SVR後肝発癌に参与する新規血清バイオマーカーが見出されれば、有効な高発癌リスク例の囲い込みが期待できる。

E. 結論

臨床研究では、関東、中部、関西、全国(日赤)にて、IFN治療だけでなくDAA治療後SVR症例についても臨床的アウトカムの前向き評価を開始、順調に症例蓄積が進んでいる。基礎研究では、SVR後の病理組織、遺伝子変異、代謝異常、肝微小炎症の免疫学的機序、潜在的感染について解析が進んでおり、それぞれ標的分子が候補に上がってきている。さらに、基礎と臨床グループ間でのサンプルの提供、情報交換を密に行うとともに、HCV感染ヒト化肝臓キメラマウスでの標的の検証を行う体制が整っている。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tsukuda S, Watashi K, Iwamoto M, Suzuki R, Aizaki H, Okada M, Sugiyama M, Kojima S, Tanaka Y, Mizokami M, Li J, Tong S, Wakita T. Dysregulation of Retinoic Acid Receptor Diminishes Hepatocyte Permissiveness to Hepatitis B Virus Infection through Modulation of NTCP Expression. *J Biol Chem.* 2014 30. pii: jbc.M114.602540.
- 2) Saito K, Shirasago Y, Suzuki T,

- Aizaki H, Hanada K, Wakita T, Nishijima M, Fukasawa M. Targeting cellular squalene synthase, an enzyme essential for cholesterol biosynthesis, is a potential antiviral strategy against hepatitis C virus. *J Virol*. In press
- 3) Suzuki R, Ishikawa T, Konishi E, Matsuda M, Watashi K, Aizaki H, Takasaki T, Wakita T. Production of single-round infectious chimeric flaviviruses with DNA-based Japanese encephalitis virus replicon. *J Gen Virol*. 2014;95:60-65.
- 4) Matsuda M, Suzuki R, Kataoka C, Watashi K, Aizaki H, Kato N, Matsuura Y, Suzuki T, Wakita T. Alternative endocytosis pathway for productive entry of hepatitis C virus. *J Gen Virol*. 2014 95:2658-67.
- 5) Kim S, Date T, Yokokawa H, Kono T, Aizaki H, Maurel P, Gondeau C, Wakita T. Development of Hepatitis C Virus Genotype 3a Cell Culture System. *Hepatology*. 2014 60:1838-50.
- 6) 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 12;9(5):e97078. 10.1371/journal.pone.0097078.
- 7) Iwamoto M, Watashi K, Tsukuda S, Aly1 HH, Fukasawa M, Suzuki R, Aizaki H, Ito T, Koiwai O, Kusuhara H, Wakita T, Evaluation and Identification of hepatitis B virus entry inhibitors using HepG2 cells overexpressing a membrane transporter NTCP, *Biochem Biophys Res Commun*. 2014;443:808-13.
- 8) Gilmorel JL, Aizaki H, Yoshida A, Deguchi K, Kumeta M, Junghof J, Wakita T, Takeyasu K. Nanoimaging of ssRNA: Genome Architecture of the Hepatitis C Virus Revealed by Atomic Force Microscopy. *J Nanomed Nanotechnol*. 2014; doi:10.4172/2157-7439.S5-010
- 9) 相崎英樹, 松田麻未, 藤本陽, 脇田隆字. HCV 研究の最先端, HCV 感染実験系における代謝変化. *臨床消化器内科*, 東京:日本メディカルセンター, 2014;29;810-13.
- 10) Minami T, Tateishi R, Shiina S, Nakagomi R, Kondo M, Fujiwara N, Mikami S, Sato M, Uchino K, Enooku K, Nakagawa H, Asaoka Y, Kondo Y, Yoshida H, Koike K. Comparison of improved prognosis between hepatitis B- and hepatitis C- related hepatocellular carcinoma. *Hepatology Res*. 2015 Jan 6. doi: 10.1111/hepr.12468. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25559860.
- 11) Fujiwara N, Tateishi R, Nakagawa H, Nakagomi R, Kondo M, Minami T, Sato

- M, Uchino K, Enooku K, Kondo Y, Asaoka Y, Shiina S, Yoshida H, Koike K. Slight elevation of high sensitivity C-reactive protein to predict recurrence and survival in patients with early stage hepatitis C-related hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 2014 Jul 29. doi: 10.1111/hepr.12398. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25070147.
- 12) Nakagawa H, Fujiwara N, Tateishi R, Arano T, Nakagomi R, Kondo M, Minami T, Sato M, Uchino K, Enooku K, Asaoka Y, Kondo Y, Shiina S, Yoshida H, Koike K. Impact of serum levels of IL-6 and adiponectin on all-cause, liver-related, and liver-unrelated mortality in chronic hepatitis C patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2015;30(2):379-388. PubMed PMID: 25168107.
- 13) Fujiwara N, Tateishi R, Kondo M, Minami T, Mikami S, Sato M, Uchino K, Enooku K, Masuzaki R, Nakagawa H, Kondo Y, Asaoka Y, Shiina S, Yoshida H, Koike K. Cause-specific mortality associated with aging in patients with hepatocellular carcinoma undergoing percutaneous radiofrequency ablation. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2014;26(9):1039-1046. PubMed PMID: 25051219.
- 14) Asaoka Y, Tateishi R, Nakagomi R, Kondo M, Fujiwara N, Minami T, Sato M, Uchino K, Enooku K, Nakagawa H, Kondo Y, Shiina S, Yoshida H, Koike K. Frequency of and predictive factors for vascular invasion after radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma. *PLoS One* 2014 Nov 14;9(11):e111662. doi:10.1371/journal.pone.0111662. eCollection 2014. PubMed PMID: 25397677.
- 15) Sato M, Kato N, Tateishi R, Muroyama R, Kowatari N, Li W, Goto K, Otsuka M, Shiina S, Yoshida H, Omata M, Koike K. The impact of PNPLA3 polymorphisms on the development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C virus Infection. *Hepatol Res* 2014;44(10):E137-44. PubMed PMID: 24125181.
- 16) Ikeda K, Izumi N, Tanaka E, Yotsuyanagi H, Takahashi Y, Fukushima J, Kondo F, Fukusato T, Koike K, Hayashi N, Tsubouchi H, Kumada H. Discrimination of fibrotic staging of chronic hepatitis C using multiple fibrosis markers. *Hepatol Res* 2014;44(11):1047-1055. PubMed PMID: 23941604.
- 17) Minami T, Tateishi R, Shiina S, Fujiwara N, Mikami S, Sato M, Uchino K, Enooku K, Asaoka Y, Kondo Y, Yoshida H, Koike K. Spontaneous clearance of serum hepatitis C virus RNA during the clinical course of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis

- C. Hepatol Res 2014;44(10):E32-37. PubMed PMID: 23841664.
- 18) Kondo M, Ishizawa T, Enooku K, Tokuhara Y, Ohkawa R, Uranbileg B, Nakagawa H, Tateishi R, Yoshida H, Kokudo N, Koike K, Yatomi Y, Ikeda H. Increased serum autotaxin levels in hepatocellular carcinoma patients were caused by background liver fibrosis but not by carcinoma. Clin Chim Acta 2014;433:128-134. PubMed PMID: 24642343.
- 19) Kumada H, Suzuki Y, Ikeda K, Toyota J, Karino Y, Chayama K, Kawakami Y, Ido A, Yamamoto K, Takaguchi K, Izumi N, Koike K, Takehara T, Kawada N, Sata M, Miyagoshi H, Eley T, McPhee F, Damokosh A, Ishikawa H, Hughes E. Daclatasvir plus asunaprevir for chronic HCV genotype 1b infection. Hepatology 2014;59(6):2083-2091 PubMed PMID: 24604476.
- 20) Enooku K, Nakagawa H, Soroida Y, Ohkawa R, Kageyama Y, Uranbileg B, Watanabe N, Tateishi R, Yoshida H, Koike K, Yatomi Y, Ikeda H. Increased serum mitochondrial creatine kinase activity as a risk for hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis C patients. Int J Cancer 2014;135(4):871-879. PubMed PMID: 24420733.
- 21) Sato M, Kato N, Tateishi R, Muroyama R, Kowatari N, Li W, Goto K, Otsuka M, Shiina S, Yoshida H, Omata M, Koike K. IL28B minor allele is associated with a younger age of onset of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C virus infection. J Gastroenterol 2014;49(4):748-754. doi: 10.1007/s00535-013-0826-x. PMID : 23689989.
- 22) Sato M, Kondo M, Tateishi R, Fujiwara N, Kato N, Yoshida H, Taguri M, Koike K. Impact of IL28B Genetic Variation on HCV-Induced Liver Fibrosis, Inflammation, and Steatosis: A Meta-Analysis. PLoS One 2014 Mar 17;9(3):e91822. doi: 10.1371/journal.pone.0091822. eCollection 2014. PubMed PMID: 24637774.
- 23) Masaki T, Matsunaga S, Takahashi H, Nakashima K, Kimura Y, Ito M, Matsuda M, Murayama A, Kato T, Hirano H, Endo Y, Lemon SM, Wakita T, Sawasaki T, Suzuki T. Involvement of Hepatitis C Virus NS5A Hyperphosphorylation Mediated by Casein Kinase I- α in Infectious Virus Production. J Virol. 88: 7541-7555, 2014.
- 24) Saito K, Shirasago Y, Suzuki T, Aizaki H, Hanada K, Wakita T, Nishijima M, Fukasawa M. Targeting Cellular Squalene Synthase, an Enzyme Essential for Cholesterol Biosynthesis, Is a Potential Antiviral Strategy against Hepatitis C Virus. J

- Viol. 89: 2220–2232, 2015.
- 25) Matsuda M, Suzuki R, Kataoka C, Watashi K, Aizaki H, Kato N, Matsuura Y, Suzuki T, Wakita T. Alternative endocytosis pathway for productive entry of hepatitis C virus. *J Gen Virol.* 95: 2658–2667, 2014.
- 26) Fang L, Wang Z, Song S, Kataoka M, Ke C, Suzuki T, Wakita T, Takeda N, Li TC. Characterization of human bocavirus-like particles generated by recombinant baculoviruses. *J Virol Methods* 207: 38–44, 2014.
- 27) Ahmed SR, Hossain MA, Park JY, Kim SH, Lee D, Suzuki T, Lee J, Park EY. Metal enhanced fluorescence on nanoporous gold leaf-based assay platform for virus detection. *Biosens Bioelectron.* 58:33–39, 2014.
- 28) Mukaide M, Sugiyama M, Korenaga M, Murata K, Kanto T, Masaki N, Mizokami M. High-throughput and sensitive next-generation droplet digital PCR assay for the quantitation of the hepatitis C virus mutation at core amino acid 70. *J Virol Methods.* 2014; 207: 169–77
- 29) Harada N, Hiramatsu N, Oze T, Morishita N, Yamada R, Hikita H, Miyazaki M, Yakushijin T, Miyagi T, Yoshida Y, Tatsumi T, Kanto T, Kasahara A, Oshita M, Mita E, Hagiwara H, Inui Y, Katayama K, Tamura S, Yoshihara H, Imai Y, Inoue A, Hayashi N, Takehara T. Risk factors for hepatocellular carcinoma in hepatitis C patients with normal alanine aminotransferase treated with pegylated interferon and ribavirin. *J Viral Hepatitis.* 2014 5: 357–65
- 30) Oze T, Hiramatsu N, Yakushijin T, et al. Using early viral kinetics to predict anti viral outcome in response-guided pegylated interferon plus ribavirin therapy among patients with hepatitis C virus genotype 1. *J Gastroenterol.* 2014 Apr;49(4):737–47
- 31) 2) Harada N, Hiramatsu N, Oze T, et al. Risk factors for hepatocellular carcinoma in hepatitis C patients with normal alanine aminotransferase treated with pegylated interferon and ribavirin. *J Viral Hepat.* 2014 May;21(5):357–65.
- 32) Hiramatsu N, Oze T, Takehara T. Suppression of hepatocellular carcinoma development in hepatitis C patients given interferon-based antiviral therapy. *Hepatol Res.* in press
- 33) Yasui Y, Kudo A, Kurosaki M, Matsuda S, Muraoka M, Tamaki N, Suzuki S, Hosokawa T, Ueda K, Matsunaga K, Nakanishi H, Tsuchiya K, Itakura J, Takahashi Y, Tanaka S, Asahina Y, Enomoto N, Arii S & Izumi N. Reduced organic anion transporter

- expression is a risk factor for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients: a propensity score matching study. *Oncology* 2014; 86:53–62.
- 34) Tamaki N, Kurosaki M, Matsuda S, Nakata T, Muraoka M, Suzuki Y, Yasui Y, Suzuki S, Hosokawa T, Nishimura T, Ueda K, Tsuchiya K, Nakanishi H, Itakura J, Takahashi Y, Matsunaga K, Taki K, Asahina Y & Izumi N. Prospective comparison of real-time tissue elastography and serum fibrosis markers for the estimation of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients *Hepatology Res* 2014;44:720–727.
- 35) Tamaki N, Kurosaki M, Matsuda S, Muraoka M, Yasui Y, Suzuki S, Hosokawa T, Ueda K, Tsuchiya K, Nakanishi H, Itakura J, Takahashi Y, Asahina Y & Izumi N. Non-invasive prediction of hepatocellular carcinoma development using serum fibrosis marker in chronic hepatitis C patients. *J Gastroenterol* 2014; 49:1495–1503.
- 36) 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.
- 37) 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*. 2014:549709.
- 38) 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.
- 39) Furihata T, Matsumoto S, Fu Z, Tsubota A, Sun Y, Matsumoto S, Kobayashi K, Chiba K. Different interaction profiles of direct-acting anti-hepatitis C virus agents with human organic anion transporting polypeptides. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58:4555–64.
- 40) 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.* 2014 [Epub ahead of print]
- 41) 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.
- 42) 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.
- 43) Tsubota A, Shimada N, Atsukawa M, Abe H, Kato K, Ika M, Matsudaira H, Nagatsuma K, Matsuura T, Aizawa Y. Impact of IL28B polymorphisms on 24-week telaprevir-based combination therapy for Asian chronic hepatitis C patients with hepatitis C virus genotype 1b. *J Gastroenterol Hepatol.* 2014;29:144-50.
- 44) Nagatsuma K, Hano H, Murakami K, Shindo D, Matsumoto Y, Mitobe J, Tanaka K, Saito M, Maehashi H, Owada M, Ikegami M, Tsubota A, Ohkusa T, Aizawa Y, Takagi I, Tajiri H, Matsuura T. Hepatic stellate cells that coexpress LRAT and CRBP-1 partially contribute to portal fibrogenesis in patients with human viral hepatitis. *Liver Int.* 2014;34:243-52.
- 45) Ikeda A, Shimizu T, Matsumoto Y, Fujii Y, Eso Y, Inuzuka T, Mizuguchi A, Shimizu K, Hatano E, Uemoto S, Chiba T, Marusawa H: Leptin Receptor Somatic Mutations are frequent in HCV-infected Cirrhotic Liver and associated with Hepatocellular Carcinoma. *Gastroenterology.* 2014. 146(1): 222-232.
- 46) Ueda Y, Kaido T, Ito T, Ogawa K, Yoshizawa A, Fujimoto Y, Mori A, Miyagawa-Hayashino A, Hga H, Marusawa H, Chiba T, Uemoto S: Chronic rejection associated with antiviral therapy for recurrent hepatitis C after living donor liver transplantation. *Transplantation.* 2014. 97: 344-350.
- 47) Inuzuka T, Ueda Y, Morimura H, Fujii Y, Umeda M, Kou T, Osaki Y, Uemoto S, Chiba T, Marusawa H: Reactivation from occult HBV carrier status is characterized by low genetic

- heterogeneity with the wild-type or G1896A variant prevalence. *J Hepatology*. 2014. 61: 492-501.
- 48) 林 和彦. C型慢性肝炎におけるNS3とNS5A領域の薬剤耐性変異とペグインターフェロン $\alpha 2b$ ・リバビリン・テラプレビル併用療法の効果について
- 49) Fukuhara T, Wada M, Nakamura S, Ono C, Shiokawa M, Yamamoto S, Motomura T, Okamoto T, Okuzaki D, Yamamoto M, Saito I, Wakita T, Koike K, and Matsuura Y. Amphipathic α -Helices in apolipoproteins are crucial to the formation of infectious hepatitis C virus particles. *PLoS Pathogens* 2014; DOI: 10.1371/journal.ppat.1004534
- 50) Shiokawa M, Fukuhara T, Ono C, Yamamoto S, Okamoto T, Watanabe N, Wakita T, and Matsuura Y. Novel permissive cell lines for a complete propagation of hepatitis C virus. *J. Virol.* 2014; 88: 5578-5594
2. 学会発表
- 1) Watashi K, Iwamoto M, Sluder A, Matsunaga S, Ryo A, Morishita R, Kwon ATJ, Suzuki H, Tsukuda S, Suzuki R, Aizaki H, Borroto-Esoda K, Sugiyama M, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T. Characterization of a culture system reproducing the NTCP-mediated HBV entry and ITS application to drug development. 2014 International Meeting on Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, Los Angeles (USA), Sep, 2014
- 2) Iwamoto M, Watashi K, Sugiyama M, Suzuki R, Aizaki H, Tanaka Y, Mizokami M, Ohtani N, Koiwai O, Wakita T. Microtubule-dependent hepatitis B virus (HBV) replication revealed by chemical screening on an efficient HBV-replicating cell line. 2014 International Meeting on the Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, Los Angeles (USA), Sep, 2014
- 3) Tsukuda S, Watashi K, Iwamoto M, Suzuki R, Aizaki H, Kojima S, Sugiyama M, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T. Retinoid inhibitors abolish the host permissiveness to HBV infection by modulating NTCP expression. 2014 International Meeting on Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, Los Angeles (USA), Sep, 2014
- 4) Saga R, Fujimoto A, Watanabe N, Matsuda M, Suzuki R, Hasegawa M, Watashi K, Aizaki H, Nakamura N, Konishi E, Kato T, Takeyama H, Wakita T. Japanese encephalitis virus-subviral particles harboring HCV neutralization

- epitopes induce neutralizing antibodies against HCV. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
- 5) Suzuki R, Saito K, Matsuda M, Sato M, Kanegae Y, Watashi K, Aizaki H, Chiba J, Saito I, Wakita T, Suzuki T. Single domain intrabodies against HCV core inhibit viral propagation and core-induced NF- κ B activation. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
 - 6) Watanabe N, Date T, Kono T, Aizaki H, Wakita T. Identification of an important envelope region by competitive inhibition experiment with envelope peptides. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
 - 7) Fujimoto A, Aizaki H, Matsuda M, Watanabe N, Watashi K, Suzuki R, Suzuki T, Wakita T. Maintenance of HCV infectivity by down-regulating hepatic lipase expression. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
 - 8) Goto K, Fujimoto A, Watashi K, Suzuki R, Yamagoe S, Moriya K, Yotsuyanagi H, Koike K, Suzuki T, Wakita T, Aizaki H. NS5A-associated membrane protein, embryonic lethal, abnormal vision, drosophila-like 1, regulates hepatitis C virus RNA synthesis and translation. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
 - 9) Ohashi H, Watashi K, Nakajima S, Kim S, Suzuki R, Aizaki H, Kamisuki S, Sugawara F, Wakita T. Flutamide Inhibits Hepatitis C Virus Assembly through Disrupting Lipid Droplets. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
 - 10) Nakajima S, Watashi K, Kamisuki S, Takemoto K, Suzuki R, Aizaki H, Sugawara F, Wakita T. Regulation of hepatitis C virus replication by liver X receptor is disrupted by a fungi-derived neoechinulin B. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
 - 11) Hmwe SS, Suda G, Sakamoto N, Imamura M, Hiraga N, Chayama K,

- Aizaki H, Wakita T. Construction of novel infectious genotype 2b culture system. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
- 12) Wakita T, Kong L, Aizaki H. Regulation of viral lifecycle in hepatitis C virus infection. Dynamic interplay between viruses and their hosts, Yokohama, Nov, 2014
- 13) Tsukuda S, Watashi K, Iwamoto M, Suzuki R, Aizaki H, Kojima S, Sugiyama M, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T. Retinoic acid receptor plays an important role in mediating hepatitis B virus infection through regulation of NTCP expression. The 11th JSH Single Topic Conference, Hiroshima, Nov, 2014
- 14) 青柳東代、相崎英樹、藤本陽、松本喜弘、松田麻未、Su Su Hmwe、渡邊則幸、渡士幸一、鈴木亮介、市野瀨志津子、松浦知和、鈴木哲朗、和氣健二郎、脇田隆字。グリチルリチンによる抗 HCV 作用 - phospholipase A2 および Autophagy による C 型肝炎ウイルス (HCV) 分泌過程に与える影響 -。第 24 回抗ウイルス療法研究会総会、富士急、2014 年 5 月
- 15) 渡士幸一、Ann Sluder、松永智子、梁明秀、森下了、岩本将士、九十田千子、鈴木亮介、相崎英樹、Katyna Borroto-Esoda、田中靖人、楠原洋之、杉山真也、溝上雅史、脇田隆字。B 型肝炎ウイルス (HBV) L タンパク質と NTCP の相互作用阻害による抗 HBV 戦略。第 24 回抗ウイルス療法研究会総会、富士急、2014 年 5 月
- 16) 大橋啓史、渡士幸一、中嶋翔、金ソレイ、鈴木亮介、相崎英樹、紙透伸治、菅原二三男、脇田隆字。C 型肝炎ウイルス粒子の構築を阻害する flutamide の作用機序の解析。第 24 回抗ウイルス療法研究会総会、富士急、2014 年 5 月
- 17) 九十田千子、渡士幸一、岩本将士、鈴木亮介、相崎英樹、小嶋聡一、脇田隆字。HBV 感染受容体 NTCP の発現調節機構の解析およびこれを阻害する低分子化合物の抗 HBV 効果。第 24 回抗ウイルス療法研究会総会、富士急、2014 年 5 月
- 18) 渡士幸一、相崎英樹、脇田隆字。培養系を用いた抗 B 型肝炎ウイルス化合物の同定と作用機序解析。第 50 回日本肝臓学会総会、東京、2014 年 5 月
- 19) 青柳東代、相崎英樹、松本喜弘、鈴木亮介、渡士幸一、市野瀨志津子、松浦知和、鈴木哲朗、和氣健二郎、脇田隆字。グリチルリチンによる抗 C 型肝炎ウイルス作用 - phospholipase A2 および Autophagy による HCV 分泌過程の

- 制御 - 。第 50 回日本肝臓学会
総会、東京、2014 年 5 月
- 20) 脇田隆字、相崎英樹、渡士幸一。
C 型肝炎ウイルス生活環全体を標
的とした新規作用を有する抗ウ
イルス剤の探索。第 50 回日本肝
臓学会総会、東京、2014 年 5 月
- 21) 岩本将士、渡士幸一、九十田千子、
Hussein Aly、藤本陽、鈴木亮介、
相崎英樹、脇田隆字、深澤征義、
小祝修、楠原洋之。ヒト NTCP 安
定発現による B 型肝炎ウイルス
(HBV) 感染許容性の獲得とそれ
を用いた HBV 侵入機構の解析。第 22
回肝病態生理研究会、東京、2014
年 5 月
- 22) 渡邊則幸、伊達朋子、河野環、溝
上雅史、相崎英樹、脇田隆字。
E1 ペプチドによる HCV 感染阻害
機構の解析。第 62 回日本ウイル
ス学会学術集会、横浜、2014 年
11 月
- 23) 大橋啓史、渡士幸一、中嶋翔、金
ソレイ、鈴木亮介、相崎英樹、紙
透伸治、菅原二三男、脇田隆字。
Aryl hydrocarbon receptor によ
る脂肪滴形成及び C 型肝炎ウイル
ス粒子構築の制御。第 62 回日
本ウイルス学会学術集会、横浜、
2014 年 11 月
- 24) Lingbao Kong、青柳春代、松田麻
未、藤本陽、渡士幸一、鈴木亮介、
山越智、堂前直、鈴木健裕、鈴木
哲朗、脇田隆字、相崎英樹。
Prolactin regulatory element
binding protein is involved in
hepatitis C virus replication
by interacting with NS4B. 第
62 回日本ウイルス学会学術集
会、横浜、2014 年 11 月
- 25) 中嶋翔、渡士幸一、紙透伸治、竹
本 健 二、Jesus
Izaguirre-Carbonell、鈴木亮介、
相崎英樹、菅原二三男、脇田隆字。
天然有機化合物 Neoechinulin B
を利用した liver X receptor に
よる C 型肝炎ウイルス産生制御
機構の解析。第 62 回日本ウイル
ス学会学術集会、横浜、2014 年
11 月
- 26) 岩本将士、渡士幸一、杉山真也、
鈴木亮介、相崎英樹、田中靖人、
溝上雅史、大谷直子、小祝修、脇
田隆字。効率的な B 型肝炎ウイル
ス (HBV) 複製評価系を用いた
微小管依存的な HBV 複製機構の
解析。第 62 回日本ウイルス学会
学術集会、横浜、2014 年 11 月
- 27) 九十田千子、渡士幸一、岩本将士、
鈴木亮介、相崎英樹、小嶋聡一、
杉山 真也、田中靖人、溝上雅史、
脇田隆字。レチノイド阻害剤は
NTCP 発現修飾を介して宿主細胞
の B 型肝炎ウイルス感染感受性
を消失させる。第 62 回日本ウイル
ス学会学術集会、横浜、2014
年 11 月
- 28) 松田麻未、鈴木亮介、嵯峨涼平、
藤本陽、渡士幸一、相崎英樹、森
石恆司、岡本 徹、松浦善治、黒
田俊一、脇田隆字。遺伝子組換え
酵母由来 B 型肝炎ウイルス様粒
子の細胞表面への結合に關与す
る宿主因子の解析。第 62 回日本
ウイルス学会学術集会、横浜、
2014 年 11 月

- 29) 渡士幸一、Sluder Ann、松永智子、梁明秀、森下了、岩本将士、九十田千子、鈴木亮介、相崎英樹、Borroto-Esoda Katyna、田中靖人、楠原洋之、杉山真也、溝上雅史、脇田隆字。B 型肝炎ウイルス (HBV) large S タンパク質と NTCP の相互作用阻害による抗 HBV 戦略。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月
- 30) 嵯峨涼平、藤本陽、渡邊則幸、松田麻未、長谷川慎、渡士幸一、相崎英樹、中村紀子、小西英二、加藤孝宣、田島茂、高崎智彦、竹山春子、脇田隆字、鈴木亮介。日本脳炎ウイルスおよび C 型肝炎ウイルス 2 価ワクチン抗原の発現と中和抗体の誘導。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月
- 31) Aizawa Nobuhiro, Nakano Chikage, Hasegawa Kunihiro, Takata Ryo, Aoki Tomoko, Hashimoto Kenji, Ishii Akio, Takashima Tomoyuki, Sakai Yoshiyuki, Ikeda Naoto, Tanaka Hironori, Iwata Yoshinori, Enomoto Hirayuki, Saito Masaki, Iijima Hiroko, Iimuro Yuji, Fujimoto Jiro, Nishiguchi Shuhei. Relationship between the mitochondria gene abnormality in liver tissues in patients with chronic viral hepatitis C and the hepatocarcinogenesis. The 65rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD2014) 2014. 11 Boston
- 32) Kanto T, Yoshio S, Sugiyama M, Mizokami M. Natural killer cells as immunological sentinels against HBV infection. The 2nd Japan-Italy Liver workshop, Hepatitis, setatosis and hepatocellular carcinoma: molecular basis and clinical links. Hiroshima, Japan, 2014.
- 33) Yoshio S, Kanto T, Sugiyama M, Shouji H, Mano Y, Aoki Y, Nishida N, Korenaga M, Murata K, Mizokami M. Distunct helper roles of dendritic cell subsets in NK cell-dependent HBV suppression in bystander infected cells. The Liver Meeting AASLD 65th Annual Meeting and Postgraduate Course, Boston, MA, USA, 2014
- 34) 平松直樹、林 紀夫、竹原徹郎。 “TVR/Peg-IFN/RBV 併用療法における TVR 投与量が与える治療効果ならびに副作用へのインパクト” シンポジウム「難治性 C 型肝炎治療の展望」第 100 回日本消化器病学会大会 (東京) 2014
- 35) 小瀬嗣子、平松直樹、竹原徹郎。 “高齢者 C 型肝炎に対するプロテアーゼ阻害剤併用療法の現況と有用性 - 多施設共同研究 - ” ワークショップ「高齢者肝疾患の最適医療：個別化医療の工夫」第 18 回日本肝臓学会大会、第 56 回日本消化器病学会大会 (神戸) 2014
- 36) 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