

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 肝炎等克服緊急対策研究事業  
(英語) Program for Basic and Clinical Research on Hepatitis

研究開発課題名：(日本語) 次世代シーケンス技術によるウイルス因子解析を基軸としたC型肝炎新規治療の病態解明と臨床応用  
(英語) Clarifying the role of new anti-HCV therapies in the pathogenesis of liver disease through the next-generation viral sequencing technology and its clinical applications

研究開発担当者 (日本語) 山梨大学大学院総合研究部 教授 榎本信幸  
所属 役職 氏名：(英語) Nobuyuki Enomoto, M.D., Ph.D., Professor, First Department of Internal Medicine, Graduate School of Medical and Engineering Science, University of Yamanashi

実施期間：平成28年 4月 1日 ~ 平成30年 3月 31日

分担研究 (日本語) DAA治療による耐性HCV株出現機構の解明:Othello仮説と2-Hit仮説の検証  
開発課題名：(英語) Investigation for the mechanism of the appearance of resistance-associated variants (RAVs) in DAA therapy: Validation of Othello hypothesis and 2-Hit hypothesis.

研究開発分担者 (日本語) 埼玉医科大学医学部 消化器内科・肝臓内科 教授 持田 智  
所属 役職 氏名：(英語) Satoshi Mochida, Professor, Department of Gastroenterology and Hepatology, Faculty of Medicine, Saitama Medical University

分担研究 (日本語) 山形コホート研究における住民基盤検体を用いたウイルス因子の解析  
開発課題名：(英語) Analysis of viral factors involved in pathogenesis of HCV infection using samples from Yamagata Study.  
研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人山形大学医学部 内科学第二講座 教授 上野義之  
所属 役職 氏名：(英語) Department of Gastroenterology, Yamagata University Faculty of Medicine, Professor, Yoshiyuki Ueno

分担研究 (日本語) DAA治療後の線維化改善・発癌の検討  
開発課題名：(英語) Analysis of liver fibrosis and hepatocarcinogenesis after DAA therapy  
研究開発分担者 (日本語) 武蔵野赤十字病院 消化器科 部長 黒崎雅之

所属 役職 氏名： (英 語) Masayuki Kurosaki, Director Department of Gastroenterology and Hepatology, Musashino Red Cross Hospital

分 担 研 究 (日本語) C型肝炎治療の効果に関するウイルス側因子の研究

開 発 課 題 名： (英 語) Analyzing viral factors influencing the efficacy of interferon-free DAAs treatments for chronic hepatitis C

研究開発分担者 (日本語) 国家公務員共済組合連合会虎の門病院 肝臓内科 部長 鈴木文孝

所属 役職 氏名： (英 語) Toranomon Hospital, Department of Hepatology, Director, Fumitaka Suzuki

分 担 研 究 (日本語) NGS技術を用いたC型肝炎のHLAクラスII分子免疫に関する病態解析

開 発 課 題 名： (英 語) Analysis of molecular immunity mediated by HLA class II antigen in patients with chronic hepatitis C using NGS technology

研究開発分担者 (日本語) 福井大学医学部医学科内科学(2) 消化器病学 教授 中本安成

所属 役職 氏名： (英 語) Yasunari Nakamoto, Professor

National University Corporation University of Fukui, Faculty of Medical Sciences, Second Department of internal Medicine

分 担 研 究 (日本語) ウイルス制御下と非制御下における発癌機構の解明およびHCV 細胞内増殖が肝細胞機能異常と発癌に及ぼす影響の解析

開 発 課 題 名： (英 語) Genetic and virological mechanisms of hepatocarcinogenesis before and after viral eradication

研究開発分担者 (日本語) 東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 肝臓病態制御学講座 教授 朝比奈靖浩

所属 役職 氏名： (英 語) Tokyo Medical and Dental University, Professor, Yasuhiro Asahina, M. D., Ph. D.

分 担 研 究 (日本語) HCV 多剤耐性変異・肝移植症例の解明

開 発 課 題 名： (英 語) Analysis of the multi-drug resistant HCVs and of HCVs in the transplanted liver.

研究開発分担者 (日本語) 京都大学大学院医学研究科 消化器内科 准教授 丸澤宏之

所属 役職 氏名： (英 語) Hiroyuki Marusawa, Associate Professor, Department of Gastroenterology and Hepatology, Kyoto University.

分 担 研 究 (日本語) マウスモデルを用いたDAA治療と薬剤耐性変異の検討

開 発 課 題 名： (英 語) Analysis of DAA treatment and drug-resistant mutant using HCV-infected mice model

研究開発分担者 (日本語) 広島大学病院消化器・代謝内科 講師 今村道雄

所属 役職 氏名： (英 語) Department of Gastroenterology and Metabolism, Hiroshima University Hospital, lecturer, Michio Imamura

分 担 研 究 (日本語) 薬剤耐性C型肝炎ウイルスの培養細胞での解析

開 発 課 題 名： (英 語) Analysis of HCV resistant associated variants by cell culture model

研究開発分担者 (日本語) 北海道大学大学院医学研究科 消化器内科 特任助教 須田剛生  
所属 役職 氏名: (英語) Department of Gastroenterology and Hepatology/Graduate School of  
Medicine, Hokkaido University. Assistant professor; Goki Suda

分担研究 (日本語) DAA治療non SVR症例におけるEmerging RAV の探索  
開発課題名: (英語) Examination of emerging RAV in non-SVR HCV patients treated with DAA  
研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人大阪大学 大学院医学系研究科 助教 疋田 隼人  
所属 役職 氏名: (英語) Osaka University Graduate School of Medicine Assistant professor Hayato  
Hikita

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

(和文)

### DAA 治療効果・耐性化を規定するウイルス因子の解析と臨床応用

- ダイレクトシーケンスにおける解析で、RAVs の変異数が増加するほど non-SVR が増加し、3 個以上ではブレイクスルーの確率が最も高くなることを示した (黒崎)。一方、ダイレクトシーケンスでは捉えられず deep sequencing のみで検出される僅かな RAV であっても、RAV が複数かつ同一ウイルスゲノム上に存在する場合、DAA 耐性に関与する可能性があることを示した (疋田・榎本)。
- アスナプレビル・ダクラタスビル不成功症例における、ソホスブビル・レディパスビル再治療での効果は 7 割程度と満足が得られるものではないことを示した (鈴木)。
- DAA 耐性 HCV 出現メカニズムにおいて、bioinformatics と分子動力学シミュレーションを NS5B 耐性解析に応用し、NTP トンネルの通過効率を変化させる NS5B の RAV が臨床的耐性に関与する可能性を示した (持田)。

### DAA 治療後の発癌抑止、肝機能・線維化改善におけるウイルス因子の検討

- DAA 治療後発癌症例における肝癌ゲノム変異と HCV 遺伝子変異について明らかにしてゆくが、H28 年度はウイルス排除後の発癌症例についてゲノム変異解析を行い、ウイルス排除後も発癌は生じ、*hTERT promoter*、*TP53*、*CTNNB1* に高頻度に変異を認めることを明らかとした (榎本・朝比奈)。

### DAA 治療耐性化・病態進展・発癌におけるウイルス因子の基礎的メカニズムの解明

- 一分子シーケンスによる DAA 耐性 HCV 遺伝子構造の解明を行うために、PacBio を用いた一分子シーケンス技術による HCV ゲノム変異の解析法におけるプラットフォームの構築を行った (丸澤)。
- 培養細胞系における変異 HCV の出現機構の解明と制御法の検討するために、感染培養系を用いて DAA 暴露による耐性 HCV の発生を *in vitro* に再現するシステムを樹立、DAA 感受性を明らかとした (須田)。
- HCV 感染モデルマウスによる変異 HCV の動態解析をおこなうため、臨床症例において次世代シーケンス解析で検出される種々の変異から再構成した変異 HCV 感染モデルマウスを作成し、RAV の役割を検討したところ、RAVs の出現および残存様式は、HCV の領域毎に異なっており、特に NS3 領域と NS5B 領域には大きな違いがあることを明らかとした (今村)。

### C 型肝炎の病態形成におけるウイルス因子の検討

- C 型肝炎病態進展における HCV 変異体動態の解析のために、次世代シーケンサーを用いた HCV 全ゲノム長にわたる塩基配列決定法における基礎的検討を行い、精度の高かつ短時間で解析する方法

を開発しつつある（上野）。

- 獲得免疫および自然免疫および HCV 遺伝子変異の動態と肝線維化および発癌病態を明らかとするために、肝組織内 IFN- $\lambda$  4 発現量（mRNA）の分布について検討したところ、組織内の部位（癌組織、実質部、門脈域）により発現量が異なることを示した（中本）。

（英文）

#### Analysis of viral genomes regulating the response to DAA therapy by deep-sequencing technology and its clinical application

- We demonstrated that non-SVR rate is increased when the number of RAVs detected by direct-sequencing is increased (Kurosaki).
- Moreover, we demonstrated that multiple minor-populated RAVs detected only by deep sequencing also lower SVR rate when these RAVs exist in the same viral genome (Hikita and Enomoto).
- The SVR rate in the sofosbuvir plus ribavirin therapy performed for those who had failed in the previous asunaprevir/daclatasvir therapy was  $\sim$  70% (Suzuki).
- Bioinformatics and molecular dynamics revealed that baseline NS5B-A218S mutation developing in high linkage with NS5B-C316N mutations is a crucial factor lowering therapeutic efficacy of SOF (Mochida).

#### Investigation of viral factors contributing to hepatocarcinogenesis/fibrosis/liver dysfunction after DAA therapy

- Cancer-related somatic mutation analysis was performed for the post-SVR HCC tissues, and frequent mutations in *hTERT* promoter, *TP53*, and *CTNMB1* were found in post-SVR HCCs as with in HCV-HCCs (Enomoto and Asahina).

#### Investigation of the mechanism(s) in the appearance of DAA resistance, disease progression, and hepatocarcinogenesis

- We established the third-generation sequencing platform with single molecular real-time technology for HCV genome analysis to clarify the evolution of RAVs in patients receiving DAA treatment (Marusawa).
- We established in vitro HCV cell culture systems with RAVs, which is usually observed after failure to DAAs therapy and conducted in vitro analysis regarding sensitivity of those HCV to various DAAs (Suda).
- Using the human chimeric model mouse, it was disclosed that the dynamics of RAVs is different between NS3-RAVs and NS5B-RAVs. NS3-RAVs remains even after disappearance of mutant strains by deep sequencing (Imamura).

#### Contribution of viral factors in pathogenesis of hepatitis C

- We are developing a method to analyze the full HCV genome deeply with high accuracy using the next generation sequencer (Ueno).
- Distribution of IFN- $\lambda$  4 mRNA expression in liver tissue was investigated, and it was shown that the expression level differs depending on the region (cancer tissue, parenchyma, portal region) (Nakamoto).

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 5 件、国際誌 53 件）

1. Ichikawa, S., U. Motosugi, N. Enomoto, M. Matsuda, and H. Onishi. 2016. Noninvasive hepatic fibrosis staging using mr elastography: The usefulness of the bayesian prediction method. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*.
2. Itakura, J., M. Kurosaki, C. Hasebe, Y. Osaki, K. Joko, H. Yagisawa, S. Sakita, H. Okushin, T. Satou, H. Hisai, T. Abe, K. Tsuji, T. Tamada, H. Kobashi, A. Mitsuda, Y. Ide, C. Ogawa, S. Tsuruta, K. Takaguchi, M. Murakawa, Y. Asahina, N. Enomoto, and N. Izumi. 2016. Complex Pattern of Resistance-Associated Substitutions of Hepatitis C Virus after Daclatasvir/Asunaprevir Treatment Failure. *PloS one* 11:e0165339.
3. Komiyama, Y., M. Kurosaki, H. Nakanishi, Y. Takahashi, J. Itakura, Y. Yasui, N. Tamaki, H. Takada, M. Higuchi, T. Gotou, Y. Kubota, K. Takaura, T. Hayashi, W. Oh, M. Okada, N. Enomoto, and N. Izumi. 2017. Prediction of diuretic response to tolvaptan by a simple, readily available spot urine Na/K ratio. *PloS one* 12:e0174649.
4. Matsuda, S., U. Motosugi, R. Kato, M. Muraoka, Y. Suzuki, M. Sato, K. Shindo, Y. Nakayama, T. Inoue, S. Maekawa, M. Sakamoto, and N. Enomoto. 2016. Hepatic Amyloidosis with an Extremely High Stiffness Value on Magnetic Resonance Elastography. *Magnetic resonance in medical sciences : MRMS : an official journal of Japan Society of Magnetic Resonance in Medicine* 15:251-252.
5. Matsuura, K., H. Sawai, K. Ikeo, S. Ogawa, E. Iio, M. Isogawa, N. Shimada, A. Komori, H. Toyoda, T. Kumada, T. Namisaki, H. Yoshiji, N. Sakamoto, M. Nakagawa, Y. Asahina, M. Kurosaki, N. Izumi, N. Enomoto, A. Kusakabe, E. Kajiwara, Y. Itoh, T. Ide, A. Tamori, M. Matsubara, N. Kawada, K. Shirabe, E. Tomita, M. Honda, S. Kaneko, S. Nishina, A. Suetsugu, Y. Hiasa, H. Watanabe, T. Genda, I. Sakaida, S. Nishiguchi, K. Takaguchi, E. Tanaka, J. Sugihara, M. Shimada, Y. Kondo, Y. Kawai, K. Kojima, M. Nagasaki, K. Tokunaga, and Y. Tanaka. 2017. Genome-Wide Association Study Identifies TLL1 Variant Associated With Development of Hepatocellular Carcinoma After Eradication of Hepatitis C Virus Infection. *Gastroenterology* 152:1383-1394.
6. Murata, K., M. Asano, A. Matsumoto, M. Sugiyama, N. Nishida, E. Tanaka, T. Inoue, M. Sakamoto, N. Enomoto, T. Shirasaki, M. Honda, S. Kaneko, H. Gatanaga, S. Oka, Y. I. Kawamura, T. Dohi, Y. Shuno, H. Yano, and M. Mizokami. 2016. Induction of IFN-lambda3 as an additional effect of nucleotide, not nucleoside, analogues: a new potential target for HBV infection. *Gut*.
7. Sano, K., T. Ichikawa, U. Motosugi, S. Ichikawa, H. Morisaka, N. Enomoto, M. Matsuda, and H. Fujii. 2017. Outcome of hypovascular hepatic nodules with positive uptake of gadoteric acid in patients with cirrhosis. *European radiology* 27:518-525.
8. Takada, H., K. Tsuchiya, Y. Yasui, N. Nakakuki, N. Tamaki, S. Suzuki, H. Nakanishi, J. Itakura, Y. Takahashi, M. Kurosaki, Y. Asahina, N. Enomoto, and N. Izumi. 2016. Irregular vascular pattern by contrast-enhanced ultrasonography and high serum Lens culinaris

agglutinin-reactive fraction of alpha-fetoprotein level predict poor outcome after successful radiofrequency ablation in patients with early-stage hepatocellular carcinoma. *Cancer medicine* 5:3111-3120.

9. Uchida Y, Kouyama J, Naiki K, Sugawara K, Ando S, Nakao M, Motoya D, Inao M, Imai Y, Nakayama N, Mochida S. Significance of variants associated with resistance to NS5A inhibitors in Japanese patients with genotype 1b hepatitis C virus infection as evaluated using cycling-probe real-time PCR combined with direct sequencing. *J Gastroenterol* 2016; 51 (3): 260-270.
10. Uchida Y, Kouyama J, Naiki K, Sugawara K, Inao M, Imai Y, Nakayama N, Mochida S. Development of rare RAVs that are extremely tolerant against NS5A inhibitors during daclatasvir/asunaprevir therapy via a two-hit mechanism. *Hepatol Res* 2016; 46 (12) : 234-246.
11. Uchida Y, Kouyama J, Naiki K, Sugawara K, Inao M, Imai Y, Nakayama N, Mochida S. "Reversi-Type Virologic Failure" Involved in the Development of NS5A-RAVs in Patients with Genotype 1b HCV Carrying No Signature RAVs at Baseline. *Hepatol Res* 2017 Feb 27. doi: 10.1111/hepr.12882. [Epub ahead of print]
12. Hiramane S, Sugiyama M, Furusyo N, Uto H, Ido A, Tsubouchi H, Watanabe H, Ueno Y, Korenaga M, Murata K, Masaki N, Hayashi J, Thomas DL, Mizokami M: Erratum to: A thymine-adenine dinucleotide repeat polymorphism near IL28B is associated with spontaneous clearance of hepatitis C virus. *J Gastroenterol*. Mar 2016; 51(3): 290
13. Fukui H, Saito H, Ueno Y, Uto H, Obara K, Sakaida I, Shibuya A, Seike M, Nagoshi S, Segawa M, Tsubouchi H, Moriwaki H, Kato A, Hashimoto E, Michitaka K, Murawaki T, Sugano K, Watanabe M, Shimosegawa T. Evidence-based clinical practice guidelines for liver cirrhosis 2015. *J Gastroenterol*. Jul 2016; 51(7): 629-50
14. Katsumi T, Ninomiya M, Nishina T, Mizuno K, Tomita K, Haga H, Okumoto K, Saito T, Shimosegawa T, Ueno Y: MiR-139-5p is associated with inflammatory regulation through c-FOS suppression, and contributes to the progres
15. 上野 義之, 榎本 信幸, 三浦 雅人, 丸澤 宏之: 消化器専門医としての HCV 治療のコンセンサス. *日本消化器病学会雑誌*. 2016 年 1 月; 113(1): 185-188
16. 上野 義之: 【高額医薬品の現状】日本の医療に及ぼす高額医薬品 C 型肝炎薬とオプジーボを例に. *宮城県医師会報*. 2016 年 10 月; 849: 813-817
17. 上野 義之(山形大学 医学部内科学第二講座), 坂本 直哉, 丸澤 宏之, 有井 滋樹: 【新規技術が創り出す肝疾患診療のスペクタクル】 新規の技術はわれわれをどこに導くのか. *肝・胆・膵*. 2016 年 11 月; 73(5): 797-810
18. 勝見 智大, 上野 義之: 【新規技術が創り出す肝疾患診療のスペクタクル】 病因の解析 NGS を用

19. Itakura J, Kurosaki M, Hasebe C, Osaki Y, Joko K, Yagisawa H, Sakita S, Okushin H, Satou T, Hisai H, Abe T, Tsuji K, Tamada T, Kobashi H, Mitsuda A, Ide Y, Ogawa C, Tsuruta S, Takaguchi K, Murakawa M, Asahina Y, Enomoto N & Izumi N. Complex Pattern of Resistance-Associated Substitutions of Hepatitis C Virus after Daclatasvir/Asunaprevir Treatment Failure. *PLoS One* 2016; 11:e0165339.
20. Akuta N, Sezaki H, Suzuki F, Fujiyama S, Kawamura Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Saitoh S, Suzuki Y, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. Retreatment efficacy and predictors of ledipasvir plus sofosbuvir to HCV genotype 1 in Japan. *J Med Virol.* 2017;89(2):284-290.
21. Akuta N, Sezaki H, Suzuki F, Kawamura Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Saitoh S, Suzuki Y, Arase Y, Ikeda K, Kumada H: Relationships between serum asunaprevir concentration and alanine aminotransferase elevation during daclatasvir plus asunaprevir for chronic HCV genotype 1b infection. *J Med Virol* 2016; 88:506-511.
22. Akuta N, Sezaki H, Suzuki F, Kawamura Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Saitoh S, Suzuki Y, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. Relationships between serum asunaprevir concentration and alanine aminotransferase elevation during daclatasvir plus asunaprevir for chronic HCV genotype 1b infection. *J Med Virol.* 2016;88(3):506-11.
23. Akuta N, Sezaki H, Suzuki F, Kawamura Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Saitoh S, Suzuki Y, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. Favorable efficacy of daclatasvir plus asunaprevir in treatment of elderly Japanese patients infected with HCV genotype 1b aged 70 and older. *J Med Virol.* 2017;89(1):91-98.
24. Akuta N, Sezaki H, Suzuki F, Fujiyama S, Kawamura Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Saitoh S, Suzuki Y, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. Ledipasvir plus sofosbuvir as salvage therapy for HCV genotype 1 failures to prior NS5A inhibitors regimens. *J Med Virol.* 2017 Jan 12. doi: 10.1002/jmv.24767.
25. Sezaki H, Suzuki F, Hosaka T, Akuta N, Fujiyama S, Kawamura Y, Kobayashi M, Suzuki Y, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kobayashi M, Kumada H. The efficacy and safety of dual oral therapy with daclatasvir and asunaprevir for genotype 1b in Japanese real-life settings. *Liver Int.* 2017 Feb 8. doi: 10.1111/liv.13384.
26. Hiramatsu K, Matsuda H, Nemoto T, Nosaka T, Saito Y, Naito T, Takahashi K, Ofuji K, Ohtani M, Suto H, Yasuda T, Hida Y, Kimura H, Soya Y, Nakamoto Y. Identification of novel variants in HLA class II region related to HLA DPB1 expression and disease progression in patients with chronic hepatitis C. *J Med Virol.* 2017 Mar 22. doi: 10.1002/jmv.24814.
27. Miwa S, Nishida H, Tanzawa Y, Takeuchi A, Hayashi K, Yamamoto N, Mizukoshi E, Nakamoto Y, Kaneko S, Tsuchiya H: Phase 1/2 study of immunotherapy with dendritic cells pulsed with autologous tumor lysate in patients with refractory bone and soft tissue sarcoma. *Cancer* 2017

(in press)

28. Ofuji K, Saito K, Suzuki S, Shimomura M, Shirakawa H, Nobuoka D, Sawada Y, Yoshimura M, Tsuchiya N, Takahashi M, Yoshikawa T, Tada Y, Konishi M, Takahashi S, Gotohda N, Nakamoto Y, Nakatsura T: Perioperative plasma glypican-3 level may enable prediction of the risk of recurrence after surgery in patients with stage I hepatocellular carcinoma. *Oncotarget*. 2017 (in press)
29. Nakamoto Y: Promising new strategies for hepatocellular carcinoma. *Hepatol. Res.* 47: 251-265, 2017 Review.
30. Ohtani M, Suto H, Nosaka T, Saito Y, Ozaki Y, Hayama R, Naito T, Takahashi K, Ofuji K, Matsuda H, Hiramatsu K, Nemoto T, Shioura H, Kimura H, Aoki Y, Yokoyama O, Nakamoto Y: Long-Term Endoscopic Follow-Up of Patients with Chronic Radiation Proctopathy after Brachytherapy for Prostate Cancer. *Diagn. Ther. Endosc.* 1414090, 2016
31. Akazawa Y, Hiramatsu K, Nosaka T, Saito Y, Ozaki Y, Takahashi K, Naito T, Ofuji K, Matsuda H, Ohtani M, Nemoto T, Suto H, Yamaguchi A, Imamura Y, Nakamoto Y: Preoperative diagnosis of cavernous hemangioma presenting with melena using wireless capsule endoscopy of the small intestine. *Endosc. Int. Open.* 4(3): E249-E251, 2016
32. Tamaki N, Kurosaki M, Kusakabe A, Orito E, Joko K, Kojima Y, Kimura H, Uchida Y, Hasebe C, Asahina Y, Izumi N. Hepatitis B Surface Antigen Reduction by Switching from Long-term Nucleoside/nucleotide Analog Administration to Pegylated Interferon. *J Viral Hepat* 2017 Feb 15.
33. Matsuura K, Sawai H, Ikeo K, Ogawa S, Iio E, Isogawa M, Shimada N, Komori A, Toyoda H, Kumada T, Namisaki T, Yoshiji H, Sakamoto N, Nakagawa M, Asahina Y, Kurosaki M, Izumi N, Enomoto N, Kusakabe A, Kajiwarra E, Itoh Y, Ide T, Tamori A, Matsubara M, Kawada N, Shirabe K, Tomita E, Honda M, Kaneko S, Nishina S, Suetsugu A, Hiasa Y, Watanabe W, Genda T, Sakaida I, Nishiguchi S, Takaguchi K, Tanaka E, Sugihara J, Shimada M, Kondo Y, Kawai Y, Kojima K, Nagasaki M, Tokunaga K, Tanaka Y, on behalf of the Japanese Genome-Wide Association Study Group for Viral Hepatitis. Genome-wide association study identifies 1 a TLL1 variant associated with development of hepatocellular carcinoma after eradication of hepatitis C virus. *Gastroenterology* 2017 Feb 2.
34. Murakawa M, Asahina Y, Nagata H, Nakagawa M, Kakinuma S, Nitta S, Kawai-Kitahata F, Otani S, Kaneko S, Miyoshi M, Tsunoda T, Asano Y, Sato A, Itsui Y, Azuma S, Nouchi T, Furumoto Y, Asano T, Chuganji Y, Tohda S, Watanabe M. ITPA gene variation and ribavirin-induced anemia in patients with genotype 2 chronic hepatitis C treated with sofosbuvir plus ribavirin. *Hepatol Res* 2017 Jan 27.
35. Murakawa M, Asahina Y, Kawai-Kitahata F, Nakagawa M, Nitta S, Otani S, Nagata H, Kaneko S, Asano A, Tsunoda T, Miyoshi M, Itsui Y, Azuma S, Kakinuma S, Tanaka Y, Iijima S, Tsuchiya K, Izumi N, Tohda T, and Watanabe M. Hepatic IFNL4 expression is associated with non-response



to interferon-based therapy through the regulation of basal interferon-stimulated gene expression in chronic hepatitis C patients. *J Med Virol* 2017 early view on Feb 27.

36. Itakura J, Kurosaki M, Hasebe C, Osaki Y, Joko K, Yagisawa H, Sakita S, Okushin H, Satou T, Hisai H, Abe T, Tsuji K, Tamada T, Kobashi H, Mitsuda A, Ide Y, Ogawa C, Tsuruta S, Takaguchi K, Murakawa M, [Asahina Y](#), Enomoto N, Izumi N. Complex pattern of resistance-associated substitutions of hepatitis C virus after daclatasvir/asunaprevir treatment failure. *PLoS One* 2016; 11: e0165339.
37. Nitta S, [Asahina Y](#), Matsuda M, Yamada N, Sugiyama R, Masaki T, Suzuki R, Kato N, Watanabe M, Wakita T, Kato T. Effects of Resistance-Associated NS5A Mutations in Hepatitis C Virus on Viral Production and Susceptibility to Antiviral Reagents. *Sci Rep* 2016; 6: 34652.
38. Goto F, Kakinuma S, Miyoshi M, Tsunoda T, Kaneko S, Sato A, Asano Y, Otani S, Azuma S, Nagata H, Kawai-Kitahata F, Murakawa M, Nitta S, Itsui Y, Nakagawa M, [Asahina Y](#), Watanabe M. Bone Morphogenetic Protein-4 Modulates Proliferation and Terminal Differentiation of Fetal Hepatic Stem/Progenitor Cells. *Hepatol Res* 2016 Sep 27.
39. Takada H, Tsuchiya K, Yasui Y, Nakakuki N, Tamaki N, Nakanishi H, Itakura J, Takahashi Y, Kurosaki M, [Asahina Y](#), Enomoto N, Izumi N. Irregular vascular pattern by contrast-enhanced ultrasonography and high serum Lens culinaris agglutinin-reactive fraction of alpha-fetoprotein level predict poor outcome after successful radiofrequency ablation in patients with early-stage hepatocellular carcinoma. *Cancer Med* 2016; 5: 3111-3120.
40. Nagata H, Nakagawa M, Nishimura-Sakurai Y, Asano Y, Tsunoda T, Miyoshi M, Kaneko S, Goto F, Otani S, Kawai-Kitahata F, Murakawa M, Nitta S, Itsui Y, Seishin Azuma S, Kakinuma S, Tojo N, Tohda T, [Asahina Y](#), Watanabe M, the Ochanomizu Liver Conference Study Group. Serial measurement of Wisteria floribunda agglutinin positive Mac-2-binding protein is useful for predicting liver fibrosis and the development of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients treated with IFN-based and IFN-free therapy. *Hepatol Int* 2016;10: 956-964.
41. Kaneko S, Kakinuma S, [Asahina Y](#), Kamiya A, Miyoshi M, Tsunoda T, Nitta S, Asano Y, Nagata H, Otani S, Kitahata F, Murakawa M, Itsui Y, Nakagawa M, Azuma S, Nakauchi H, Iwamoto M, Watashi K, Wakita T, Sugiyama M, Mizokami M, Shimotohno K, Watanabe M. Human induced pluripotent stem cell-derived hepatic cell line as a new model for host interaction with hepatitis B virus. *Sci Rep* 2016; 6:29358.
42. Taniguchi M, Tasaka-Fujita M, Nakagawa M, Watanabe T, Kawai-Kitahata F, Otani S, Goto F, Nagata H, Kaneko S, Nitta S, Murakawa M, Nishimura-Sakurai Y, Azuma S, Itsui Y, Mori K, Yagi S, Kakinuma S, [Asahina Y](#), Watanabe M. Evaluation of Interferon Resistance in Newly Established Genotype 1b Hepatitis C Virus Cell Culture System. *J Clin Transl Hepatol* 2016; 4: 5-11.
43. Otani S, Kakinuma S, Kamiya A, Goto F, Kaneko S, Miyoshi M, Tsunoda T, Asano Y, Kawai-Kitahata F, Nitta S, Nakata T, Okamoto O, Itsui Y, Nakagawa M, Azuma S, [Asahina Y](#), Yamaguchi T, Koshikawa

N, Seiki M, Nakauchi H, Watanabe M. Matrix Metalloproteinase-14 Mediates Formation of Bile Ducts and Hepatic Maturation of Fetal Hepatic Progenitor Cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2016; 469: 1062-8. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.12.105.

44. Kawai-Kitahata F\*, Asahina Y\*, Tanaka S, Kakinuma S, Murakawa M, Nitta S, Watanabe T, Otani S, Taniguchi M, Goto F, Nagata H, Kaneko S, Tasaka-Fujita M, Nishimura-Sakurai Y, Azuma S, Itsui Y, Nakagawa M, Tanabe M, Takano S, Fukasawa M, Sakamoto M, Maekawa S, Enomoto N, Watanabe M. \*These authors contributed equally to this study. Comprehensive analyses of mutations and hepatitis B virus integration in hepatocellular carcinoma with clinicopathological features. *J Gastroenterol* 2016; 51: 473-86. doi: 10.1007/s00535-015-1126-4.
45. Azuma S, Asahina Y, Nishimura-Sakurai Y, Kakinuma S, Kaneko S, Nagata H, Goto F, Ootani S, Kawai-Kitahata F, Taniguchi M, Murakawa M, Watanabe T, Tasaka-Fujita M, Itsui Y, Nakagawa M, Watanabe M. Efficacy of additional radiofrequency ablation after transcatheter arterial chemoembolization for intermediate hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 2016; 46: 312-9. doi: 10.1111/hepr.12566.
46. Asahina Y, Izumi N, Hiromitsu K, Kurosaki M, Koike K, Suzuki F, Takikawa H, Tanaka A, Tanaka E, Tanaka Y, Tsubouchi H, Hayashi N, Hiramatsu N, Yotsuyanagi H. JSH Guidelines for the Management of Hepatitis C Virus Infection: A 2016 update for genotype 1 and 2. *Hepatol Res* 2016; 46: 129-165.
47. Asahina Y and Watanabe M. Need for appropriate programs for prevention of hepatitis B infection: lessons from the latest nationwide survey in Japan. *J Gastroenterol Hepatol* 2016; 31: 12-13.
48. Takeda H, Ueda Y, Inuzuka T, Yamashita Y, Osaki Y, Nasu A, Umeda M, Takemura R, Seno H, Sekine A, Marusawa H. Evolution of multi-drug resistant HCV clones from pre-existing resistant-associated variants during direct-acting antiviral therapy determined by third-generation sequencing. *Sci Rep.* 2017, 7, 45605.
49. Kan H, Imamura M, Uchida T, Hiraga N, Hayes CN, Tsuge M, Abe H, Aikata H, Makokha GN, Chowdhury S, Miki D, Ochi H, Ishida Y, Tateno C, Chayama K. Protease inhibitor resistance remains even after mutant strains become undetectable using deep sequencing. *J Infect Dis.* 2016;214(11):1687-1694
50. Takahiko Kobayashi, Junich Ishida, Yuichi Shimizu, Hiroshi Kawakami, Goki Suda, Tetsuhito Muranaka, Yoshito Komatsu, Masahiro Asaka and Naoya Sakamoto. Decreased RNA-binding motif 5 expression is associated with tumor progression in gastric cancer. *Tumor Biology* March 2017: 1-9
51. Suda G, Ogawa K, Yamamoto Y, Katagiri M, Furuya K, Kumagai K, Konno J, Kimura M, Kawagishi N, Ohara M, Umemura M, Ito J, Izumi T, Nakai M, Sho T, Natsuizaka M, Morikawa K, Tsubota A, Shimada N, Iio E, Tanaka Y, Sakamoto N; NORTE Study Group. Retreatment with sofosbuvir,

ledipasvir, and add-on ribavirin for patients who failed daclatasvir and asunaprevir combination therapy. *J Gastroenterol*. 2017 Mar 18. doi: 10.1007/s00535-017-1328-z. [Epub ahead of print]

52. Suda G, Ogawa K, Kimura M, Nakai M, Sho T, Morikawa K. Novel Treatment of Hepatitis C Virus Infection for Patients with Renal Impairment. *J Clin Transl Hepatol*. 2016 Dec 28;4(4):320-327. doi: 10.14218/JCTH.2016.00032. Review.
53. Suda G, Nagasaka A, Yamamoto Y, Furuya K, Kumagai K, Kudo M, Terashita K, Kobayashi T, Tsunematsu I, Yoshida J, Meguro T, Kimura M, Ito J, Umemura M, Izumi T, Tsunematsu S, Sato F, Tsukuda Y, Nakai M, Sho T, Natsuizaka M, Morikawa K, Ogawa K, Sakamoto N; NORTE Study Group. Safety and efficacy of daclatasvir and asunaprevir in hepatitis C virus infected patients with renal impairment. *Hepatol Res*. 2016 Dec 12. doi: 10.1111/hepr.12851
54. Tsukuda Y, Suda G\*, Tsunematsu S, Ito J, Sato F, Terashita K, Nakai M, Sho T, Maehara O, Shimazaki T, Kimura M, Morikawa K, Natsuizaka M, Ogawa K, Ohnishi S, Chuma M, Sakamoto N. (\*Corresponding author) Anti-adipogenic and antiviral effects of l-carnitine on hepatitis C virus infection. *J Med Virol*. 2016 Sep 24. doi: 10.1002/jmv.24692 in press
55. Tsunematsu S, Suda G\*, Yamasaki K, Kimura M, Izumi T, Umemura M, Ito J, Sato F, Nakai M, Sho T, Morikawa K, Ogawa K, Tanaka Y, Watashi K, Wakita T, Sakamoto N. (\*Corresponding author). Hepatitis B virus X protein impairs  $\alpha$ -interferon signaling via up-regulation of suppressor of cytokine signaling 3 and protein phosphatase 2A. *J Med Virol*. 2017 Feb;89(2):267-275. doi: 10.1002/jmv.24643.
56. Seiji Tsunematsu,<sup>1</sup> Goki Suda,<sup>1\*</sup> Kazushi Yamasaki,<sup>1</sup> Megumi Kimura,<sup>1</sup> Izumi Takaaki,<sup>1</sup> Machiko Umemura,<sup>1</sup> Jun Ito,<sup>1</sup> Fumiyuki Sato,<sup>1</sup> Masato Nakai,<sup>1</sup> Takuya Sho,<sup>1</sup> Kenichi Morikawa,<sup>1</sup> Koji Ogawa,<sup>1</sup> Toshiya Kamiyama,<sup>2</sup> Akinobu Taketomi<sup>2</sup> and Naoya Sakamoto<sup>1</sup> (\*Corresponding author) Combination of neutrophil-to-lymphocyte ratio and early des-gamma-carboxyprothrombin change ratio as a useful predictor of treatment response for hepatic arterial infusion chemotherapy against advanced hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res*. 2016 in press
57. 須田剛生 一免疫抑制・化学療法に伴うB型肝炎の再活性化— 日本耳鼻咽喉科学会会報 2016 119 1581-1583
58. Kai Y, Hikita H, Morishita N, Murai K, Nakabori T, Iio S, Hagiwara H, Imai Y, Tamura S, Tsutsui S, Naito M, Nishiuchi M, Kondo Y, Kato T, Suemizu H, Yamada R, Oze T, Yakushijin T, Hiramatsu N, Sakamori R, Tatsumi T, Takehara T. Baseline quasispecies selection and novel mutations contribute to emerging resistance-associated substitutions in hepatitis C virus after direct-acting antiviral treatment. *Sci Rep*. 2017 Jan 30;7:41660. doi: 10.1038/srep41660.

## (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. C型肝炎 SVR 後の肝病態進展・肝発癌におけるアルコール代謝関連 SNP の関与 S7-9、口頭、前川伸

- 哉、井上泰輔、榎本信幸 第102回日本消化器病学会総会 2016/4/21-23、京王プラザホテル、新宿、日本
2. HCV 治療における DAA 治療の適正化-DAA 耐性変異の検出と臨床的意義について—PD2-7、口頭 前川伸哉、坂本穰、榎本信幸 第102回日本消化器病学会総会 2016/4/21-23、京王プラザホテル、新宿、日本
  3. Mapping the region responsible for disease progression in the HBV preS1/S2 genome by deep sequencing Poster presentation Yuichiro Suzuki, Shinya Maekawa, Mitsuaki Sato, Masaru Muraoka, Shuya Matsuda, Natsuko Nakakuki, Yasuhiro Nakayama, Taisuke Inoue, Minoru Sakamoto, Nobuyuki Enomoto. 23rd INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON HEPATITIS C VIRUS AND RELATED VIRUSES, Kyoto, Japan 2016 Oct 11-14
  4. The role of alcohol metabolism-related SNP in the progression of liver disease in the HCV-patients achieving viral clearance. Poster presentation Shinya Maekawa, Natsuko Nakakuki, Mitsuaki Sato, Yuichiro Suzuki, Masaru Muraoka, Shuya Matsuda, Yasuhiro Nakayama, Taisuke Inoue, Minoru Sakamoto, Nobuyuki Enomoto. 23rd INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON HEPATITIS C VIRUS AND RELATED VIRUSES, Kyoto, Japan 2016 Oct 11-14
  5. Deep Sequencing of Variants Resistant to Daclatasvir and Asunaprevir in HCV-1b Hepatitis. Oral presentation Mitsuaki Sato, Shinya Maekawa, Natsuko Nakakuki, Shuya Matsuda, Masaru Muraoka, Yuichiro Suzuki, Yasuhiro Nakayama, Taisuke Inoue, Minoru Sakamoto, Nobuyuki Enomoto 23rd INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON HEPATITIS C VIRUS AND RELATED VIRUSES, Kyoto, Japan 2016 Oct 11-14
  6. Deep sequencing analysis of cancer-related genes in early hepatocellular carcinoma in the livers with and hepatitis virus International Symposium-5H、口頭、Shinya Maekawa, Minoru Sakamoto and Nobuyuki Enomoto 第20回日本肝臓学会大会 2016/11/3-4 神戸コンベンションセンター、神戸、日本
  7. ダクラタスビル+アスナプレビルによる薬物性肝障害と治療効果の検討 WS7-8、口頭 倉富夏彦、前川伸哉、榎本信幸 第41回日本肝臓学会東部会 2016/12/8 京王プラザホテル、東京、日本
  8. Uchida Y, Kouyama J, Naiki K, Sugawara K, Inao M, Imai Y, Nakayama N, Mochida S. “Othello Hypothesis” Involved in the Development of RAVs Tolerant to NS5A Inhibitors in Patients with Genotype 1b HCV Infection. The International Liver Congress, EASL 2016 April, Barcelona. (ポスター)
  9. Uchida Y, Kouyama J, Naiki K, Sugawara K, Inao M, Imai Y, Nakayama N, Mochida S. “Othello Hypothesis” Involved in the Development of NS5A-RAVs in Patients with Genotype 1b HCV Infection. The Liver Meeting, AASLD 2016 Nov, Boston. (ポスター)
  10. Mochida S. Mechanisms Involved in the Development of NS5A-RAVs and NS5B-RAVs in Patients Receiving DAA Therapies. APASL Single Topic Conference 2017 Apr, Nagasaki. (口演)

11. 内田義人, 中山伸朗, 持田 智. C型慢性肝疾患における DAA 治療の課題. シンポジウム「C型肝炎治療の新時代と将来への展望」, 第102回日本消化器病学会総会, 2016年4月, 東京. (口演)
12. 内田義人, 中山伸朗, 持田 智. NS5A阻害薬を用いた DAA 治療における RAVs の成立機序: DCV/ASV 併用療法から得られたオセロ仮説. シンポジウム「C型肝炎治療の新時代に向けて」, 第52回日本肝臓学会総会, 2016年5月, 千葉. (口演)
13. 内田義人, , 中山伸朗, 持田 智. DAA 治療に高度耐性変異株の発生機序: DCV/ASV 併用療法から得られた2-ヒット仮説. パネルディスカッション「C型肝炎治療の問題点」, 第52回日本肝臓学会総会, 2016年5月, 千葉. (口演)
14. 持田 智. DAA 治療不成功例における RAVs の特性とその成立機序. 犬山シンポジウム, 2016年8月, 犬山. (口演)
15. 内田義人, 中山伸朗, 持田 智. DAA 治療の非著効例における NS5A-RAVs に基づいた再治療の戦略. パネルディスカッション「C型肝炎の残された問題点」, 第41回日本肝臓学会東部会, 2016年12月, 東京. (口演)
16. 芳賀 弘明, Patel Tushar, 上野 義之: 間葉系幹細胞由来 Extracellular vesicles の肝虚血再灌流障害における肝壊死およびアポトーシスに対する有用性の検討. 第52回日本肝臓学会総会. 千葉市; 2016年5月
17. 勝見 智大, 上野 義之: 自己免疫性肝疾患の今後の展開 原発性胆汁性肝硬変における miR-139-5p を介した新規炎症反応制御メカニズムの同定. 第52回日本肝臓学会総会. 千葉市; 2016年5月
18. 渡辺 久剛, 伊藤 麻衣, 上野 義之: 肝疾患バイオマーカーの新知見 C型肝炎キャリアコホートの肝病態進展予測における M2BPGi の有用性. 第20回日本肝臓学会大会, 神戸市; 2016年11月
19. 芳賀 弘明(山形大学 医学部消化器内科), 齋藤 貴史, 上野 義之: C型肝炎撲滅に向けた地域の取り組み 山形県におけるウイルス性肝疾患対策への取り組み. 第41回日本肝臓学会東部会, 東京; 2016年12月
20. 芳賀 弘明, 水野 恵, 勝見 智大, 奥本 和夫, 鈴木 克典, 鈴木 義広, 阿蘇 里佳, 齋藤 孝治, 武田 忠, 佐藤 司, 石橋 正道, 伊藤 麻衣, 西瀬 雄子, 渡辺 久剛, 齋藤 貴史, 上野 義之: 肝炎地域ネットワークにおける HCV 薬剤耐性変異スクリーニングとダクラタスビル/アスナプレビル併用療法の治療効果の検討. 第102回日本消化器病学会総会, 東京: 2016年4月
21. 渡辺 久剛, 伊藤 麻衣, 水野 恵, 佐藤 智佳子, 奥本 和夫, 西瀬 雄子, 齋藤 貴史, 上野 義之: HCV キャリアコホートにおける M2BPGi の肝線維化および肝発がん予測に対する有用性. 第52回日本肝臓学会総会, 千葉市:2016年5月
22. 芳賀 弘明, 齋藤 貴史, 仁科 武人, 水野 恵, 勝見 智大, 奥本 和夫, 鈴木 克典, 鈴木 義広, 齋藤 孝治, 渡辺 久剛, 西瀬 雄子, 佐藤 司, 石橋 正道, 上野 義之: ダクラタスビル/アスナプレビル併用療法の治療効果および Failure 症例の検討. 第20回日本肝臓学会大会, 神戸市; 2016年11月

23. IFN-free 経口抗 HCV 薬の治療効果と薬剤耐性変異の影響, 口頭, 瀬崎ひとみ, 鈴木文孝, 熊田博光. 第 102 回日本消化器病学会総会, 2016/4/22, 国内.
24. 各種 IFN-free 経口抗 HCV 療法の治療効果と治療不奏効例に対する対策, 口頭, 瀬崎ひとみ, 鈴木文孝, 熊田博光. 第 52 回日本肝臓学会総会, 2016/5/19, 国内.
25. 直接作用型抗ウイルス薬併用療法-HCV 新薬市販後の実態. 口頭, 芥田憲夫, 鈴木文孝, 熊田博光. 第 52 回日本肝臓学会総会, 2016/5/20, 国内.
26. C 型肝炎に対するインターフェロンフリー-DAA 併用療法の治療成績, 口頭, 鈴木文孝, 瀬崎ひとみ, 熊田博光. 第 20 回日本肝臓学会大会, 2016/11/3, 国内.
27. The impact of IL28B polymorphism and HCV NS5A resistance associated variants on treatment response with ledipasvir and sofosbuvir regimen in Japanese real-life settings. 口頭, Sezaki H, Suzuki F, Fujiyama S, Kawamura Y, Hosaka T, Akuta N, Kobayashi M, Suzuki Y, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kobayashi M, Kumada H: AASLD, 2016/11/14. 国外.
28. 高齢化社会における C 型肝炎治療-直接作用型抗ウイルス薬併用療法市販後の実態. 口頭, 芥田憲夫, 鈴木文孝, 熊田博光. 第 41 回日本肝臓学会東部会, 2016/12/8, 国内.
29. Perioperative plasma glypican-3 levels predict the risk of post-operative recurrence. ポスター発表, Ofuji K, Saito K, Nosaka T, Takahashi K, Naito T, Matsuda H, Ohtani M, Hiramatsu K, Nemoto T, Nakamoto Y, (第 67 回 American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) Annual Meeting) , 2016/11/11, 国外.
30. Development of a Novel Circulating Tumor Cells Isolation System in Patients with Hepatocellular Carcinoma Using a Microcavity Array. ポスター発表, Takahashi K, Ofuji K, Nosaka T, Ozaki Y, Matsuda H, Ohtani M, Hiramatsu K, Nemoto T, Matsunaga Tatsuya Nakamoto Y, (第 67 回 American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) Annual Meeting) , 2016/11/13, 国外.
31. Comparison of patient characteristics and survival between elderly and younger patients with hepatocellular carcinoma related to hepatitis C virus infection. ポスター発表, Nemoto T, Matsuda H, Ohtani M, Nakamoto Y, 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses Kyoto, 2016/10/13, 国外.
32. Analysis of glypican-3 as a predictive marker for postoperative recurrence of HCV related hepatocellular carcinoma. ポスター発表, Ofuji K, Saito K, Matsuda H, Ohtani M, Hiramatsu K, Nemoto T, Nakamoto Y, Nakatsura T, 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses Kyoto, 2016/10/13, 国外.
33. High-dose cyclophosphamide Eradicates Hepatoma Cells by rapid recruitment of CD4+ cytolytic T cells into tumor sites via the CCL3/CCR5 axis. ポスター発表, Naito T, Baba T, Takeda K, Sasaki S, Matsuda H, Ohtani M, Hiramatsu K, Nemoto T, Mukaida N, Nakamoto Y , The 12th JSH Single Topic Conference in Kanazawa, 2016/9/23, 国外.

34. Endoscopic long-term follow-up of chronic radiation proctopathy after brachytherapy for prostate cancer. ポスター発表, Takahashi K, Suto H, Nosaka T, Saito Y, Ozaki Y, Hayama R, Naito T, Ohtani M, Ofuji K, Matsuda H, Hiramatsu K, Nemoto T, Nakamoto Y, Digestive Disease Week 2016 Chicago U.S.A., 2016/5, 国外.
35. Asahina Y. Recent progress in anti-HCV therapy and challenges toward HCC eradication. Academic Forum of Liver Disease in Northeast China and the Annual Convention for the Study of Liver Diseases in Jilin Province in 2016. Oct 29 2016, Changchun, China. 口頭. 国外.
36. Asahina Y. Hepatocarcinogenesis after hepatitis C viral eradication. The 10th APASL Single Topic Conference. June-8, 2016, Kaoshiung, Taiwan. 口頭. 国外.
37. Seto WK, Asahina Y, Peng, Stanciu CYC, Abdurakhmanov D, Flaherty JF, Kim K, Gaggar A, Subramanian M, Tabak F, Tuan T. Nguyen TT, Chan HLT. Reduced changes in bone mineral density in CHB patients receiving tenofovir alfenamide (TAF) compared with tenofovir disoproxil fumarate. The 67th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease (AASLD The Liver Meeting 2016). November 11-15, 2016, Boston, USA. 口頭. 国外.
38. Kaneko S, Kakinuma S, Asahina Y, Kamiya A, Miyoshi M, Tsunoda T, Nitta S, Sato A, Asano Y, Nagata H, Otani S, Kawai-Kitahata F, Murakawa M, Nakagawa M, Azuma S, Watanabe M. Genetically modified human induced pluripotent stem cell-derived hepatic progenitor-like cell lines as a model for interaction between hepatitis B virus and host cells. The 67th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease (AASLD The Liver Meeting 2016). November 11-15, 2016, Boston, USA. ポスター. 国外.
39. Kaneko S, Kakinuma S, Asahina Y, Kamiya A, Nitta S, Tsunoda T, Miyoshi M, Asano Y, Nagata H, Goto F, Otani S, Kitahata F, Murakawa M, Itsui Y, Nakagawa M, Azuma AS, Watanabe M. A model for interaction between HBV and host cells derived from human induced pluripotent stem cells. The 51th annual meeting of the European association for the study of the liver (EASL The International Liver Congress 2016). April 2016, Barcelona, Spain. ポスター. 国外.
40. 朝比奈靖浩. 基調講演 C型慢性肝疾患における抗ウイルス療法と発癌抑止効果：ポストC型肝炎ウイルス時代における今後の課題. 第52回日本肝臓学会, 東京, 2016年7月. 口頭. 国内.
41. 新田 沙由梨, 加藤 孝宣, 朝比奈 靖浩. 特別企画 未来を担うエキスパートに学ぶC型肝炎治療における薬剤耐性変異ウイルスに関する課題と対策. 第41回日本肝臓学会東部会, 東京, 2016年12月. 口頭. 国内.
42. 東 正新, 朝比奈 靖浩, 渡辺 守. ワークショップ 非ウイルス性肝臓の現況と治療戦略 非B非C型肝細胞癌の臨床背景. 第41回日本肝臓学会東部会, 東京, 2016年12月. 口頭. 国内.
43. 村川 美也子, 朝比奈 靖浩, 渡辺 守. パネルディスカッション B型肝炎 根治を目指して HBV 関連肝疾患における核酸アナログ治療効果と肝発癌の関連. 第41回日本肝臓学会東部会, 東京, 2016年12月. 口頭. 国内.

44. 中川 美奈, 村川 美也子, 朝比奈 靖浩. パネルディスカッション C型肝炎の残された問題点 C型慢性肝疾患に対するインターフェロンフリー治療の効果と安全性の検討. 第41回日本肝臓学会東部会, 東京, 2016年12月. 口頭. 国内.
45. 金子 俊, 柿沼 晴, 朝比奈 靖浩. ワークショップ B型肝炎治療のアップデート HBV排除にむけたヒトiPS細胞由来肝細胞系譜細胞を用いた培養系の開発. 第20回日本肝臓学会大会, 神戸, 2016年11月. 口頭. 国内.
46. 永田 紘子, 中川 美奈, 朝比奈 靖浩. ワークショップ 肝疾患バイオマーカーの新知見 C型慢性肝炎に対する抗ウイルス治療後の発癌予測因子の検討. 第20回日本肝臓学会大会, 神戸, 2016年11月. 口頭. 国内.
47. 北畑 富貴子, 朝比奈 靖浩, 渡辺 守. パネルディスカッション 肝炎ウイルス制御下時代の肝癌診療 宿主ゲノム変異の網羅的解析からみたウイルス制御下における発癌の検討. 第20回日本肝臓学会大会, 神戸, 2016年11月. 口頭. 国内.
48. 中川 美奈, 朝比奈 靖浩, 渡辺 守. 統合プログラム C型慢性肝疾患に対する抗ウイルス治療の意義の検討. 第20回日本肝臓学会大会, 神戸, 2016年11月. 口頭. 国内.
49. 中川 美奈, 朝比奈 靖浩, 渡辺 守. 新規技術を用いた肝疾患診療の未来 診断から治療へ C型慢性肝炎に対するIFN-based/free治療の比較とMac2 Binding Protein(M2BP)Giの有用性の検討. 第102回日本消化器病学会総会, 東京, 2016年4月. 口頭. 国内.
50. 金子 俊, 朝比奈 靖浩, 渡辺 守. B型肝炎ウイルス排除にむけて 創薬への新知見 ヒトiPS細胞由来肝細胞系譜細胞を用いた創薬を目指したHBV感染培養研究. 第102回日本消化器病学会総会, 東京, 2016年4月. 口頭. 国内.
51. 新田 沙由梨, 朝比奈 靖浩, 加藤 孝宣. ウイルス性肝炎研究の新戦略 HCV NS5A 阻害剤耐性変異株の特徴と薬剤感受性に関する検討. 第102回日本消化器病学会総会, 東京, 2016年4月. 口頭. 国内.
52. 北畑 富貴子, 朝比奈 靖浩, 渡辺 守. 肝癌の病態解明を見据えた新戦略 肝細胞癌の病態に関連する宿主ゲノム変異とB型肝炎ウイルスX蛋白の機能解析. 第102回日本消化器病学会総会, 東京, 2016年4月. 口頭. 国内.
53. 村川 美也子, 朝比奈 靖浩, 渡辺 守. C型肝炎治療の新時代と将来への展望 C型慢性肝炎治療後の発癌リスクを考慮した治療戦略. 第102回日本消化器病学会総会, 東京, 2016年4月. 口頭. 国内.
54. 永田 紘子, 中川 美奈, 朝比奈 靖浩. ワークショップ 明日から役立つ肝臓病理 Viral Hepatitis ウイルス性肝炎の線維化診断におけるM2BPGiの意義とその機序における病理学的考察. 第52回日本肝臓学会総会, 千葉, 2016年5月. 口頭. 国内.
55. 新田 沙由梨, 朝比奈 靖浩, 加藤 孝宣. パネルディスカッション C型肝炎治療の問題点 NS5A 阻害剤耐性変異のHCVライフサイクルへの影響と薬剤感受性の解析. 第52回日本肝臓学会総会, 千葉,



2016年5月. 口頭. 国内.

56. 中川 美奈, 朝比奈 靖浩, 渡辺 守. シンポジウム C型肝炎治療の新時代に向けて C型慢性肝疾患に対するインターフェロンフリー治療の効果と安全性の検討. 第52回日本肝臓学会総会, 千葉, 2016年5月. 口頭. 国内.
57. 金子 俊, 柿沼 晴, 朝比奈 靖浩. シンポジウム B型肝炎研究のUp-To-Date ヒト iPS細胞由来肝細胞系譜細胞を用いた新たなHBV感染培養系モデル. 第52回日本肝臓学会総会, 千葉, 2016年5月. 口頭. 国内.
58. 朝比奈 靖浩. 特別企画 抗ウイルス療法による発癌抑制効果. 第52回日本肝臓学会総会, 千葉, 2016年5月. 口頭. 国内.
59. RAVs determined by deep sequencing analyses. 口頭 Marusawa H. The 25th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL 2016). 2016/02/21. Tokyo. 国内
60. Ultra-Deep Sequencing for Detection of Low Abundant Drug-Resistant HCV in Patients Receiving DAAs. 口頭 Takeda H, Ueda Y, Inuzuka T, Otsuru S, Takahashi K, Marusawa H. The 25th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL 2016). 2016/02/21. Tokyo. 国内
61. Low abundant pre-existing drug resistant variants in Genotype 1b HCV patients treated with daclatasvir and asunaprevir dual therapy, 口頭, Takeda H, Ueda Y, Inuzuka T, Takahashi K, Takai A, Marusawa H, Digestive Disease Week 2016 (DDW2016), 2016/5/22-24, San Diego, California, USA. 国外
62. SVRを目指したDAA製剤の選択～肝移植後C型肝炎に対するインターフェロンフリー治療効果と薬剤耐性変異の意義, 口頭, 竹田治彦, 上田佳秀, 丸澤宏之, JDDW2016(第58回日本消化器病学会大会. 第20回日本肝臓学会大会. 合同), 2016/11/3, 神戸コンベンションセンター. 国内
63. 肝移植後 C型肝炎に対する直接作用型抗ウイルス薬の治療効果と薬剤耐性変異の意義, 口頭, 竹田治彦, 上田佳秀, 丸澤宏之, 日本消化器病学会近畿支部第105回例会, 2016/9/17, 大阪国際交流センター. 国内
64. Protease inhibitor resistance remains even after mutant strains become undetectable by deep sequencing. ポスター. Michio Imamura, Hiromi Kan, Takuro Uchida, Masataka Tsuge, Hiromi Abe, Hiroshi Aikata, Nelson Hayes and Kazuaki Chayama. Kyoto, 2016/11/3, 国内.
65. 「Daclatasvir/Asunaprevir 併用療法の C型肝炎合併透析患者に対する治療効果と安全性の検討」シンポジウム/口演 須田剛生 工藤峰生 坂本直哉、第102回 消化器病学会総会 京王プラザ 2016年4月22日 国内
66. 「SVR後発癌・治療最適化を考慮したIFN併用・非併用DAA療法前後のDAA耐性ウイルス・発癌リスクマーカー変化の検討」シンポジウム/口演 須田剛生 永坂敦 坂本直哉、肝臓病学会総会 幕張、

2016年5月19日 国内

67. 「C型肝炎合併慢性腎不全透析患者に対する Daclatasvir/Asunaprevir 併用療法の検討」ランチョンセミナー/口演 須田剛生 肝臓病学会総会、幕張、2016年5月19日 国内
68. 「治療困難例を含めた慢性C型肝炎に対する治療戦略の検討」シンポジウム/口演、須田剛生、山本義也、坂本直哉 JDDW 神戸コンベンションセンター 2016年11月3日 国内
69. Goki Suda, Mineo Kudo , Atsushi Nagasaka, Ken Furuya, Yoshiya Yamamoto , Tomoe Kobayashi , Keisuke Shinada , Miki Tateyama, Jun Konno, Yoko Tsukuda, Kazushi Yamasaki, Megumi Kimura, Machiko Umemura, Takaaki Izumi, Seiji Tsunematsu, Fumiyuki Sato, Katsumi Terasita, Masato Nakai, Hiromasa Horimoto, Takuya Sho, Mitsuteru Natsuzika, Kenichi Morikawa , Koji Ogawa, and Naoya Sakamoto for the Efficacy and safety of IFN-free direct acting antivirals therapy for patients with renal impairment HCV meeting 2016 Oral presentation, Kyoto, JAPAN, 2016 11-15 October 国内
70. Goki Suda Yoko Tsukuda Koji Ogawa Kenichi Morikawa Naoya Sakamoto L carnitin suppress hepatitis C virus assembly through anti-adeopogenetic effect APASL (Asian Pacific Association for The Study of the Liver) . Poster presentation. Shanghai, China 2017 15-18 February
71. C型肝炎におけるダクラタスビル・アスナプレビル併用療法の治療成績ならびに薬剤耐性変異の解析、口頭、森下直紀，平松直樹，小瀬嗣子，薬師神崇行，山田涼子，田畑優貴，卜部彩子，宮城琢也，法水淳，飯尾禎元，山田晃，三田英治，稲田正己，田村信司，今井康陽，疋田隼人，巽智秀，林紀夫，竹原徹郎、第52回日本肝臓学会総会、2016年5月19日、国内。
72. ダクラタスビル・アスナプレビル併用療法における薬剤耐性変異が及ぼす治療効果への影響について、ポスター、森下直紀，平松直樹，小瀬嗣子，卜部彩子，田畑優貴，山田涼子，薬師神崇行，宮城琢也，法水淳，飯尾禎元，三田英治，田村信司，今井康陽，疋田隼人，巽智秀，林紀夫，竹原徹郎、第20回日本肝臓学会大会（JDDW2016）、2016年11月3日、国内。
73. Both selection from quasispecies and new mutation during treatment are involved in emerging resistance-associated substitution of HCV after DAA treatment、ポスター、Hayato Hikita, Yugo Kai, Tomohide Tatsumi, Naoki Morishita, Ryoko Yamada, Takayuki Yakushijin, Yasuteru Kondo, Takanobu Kato, Hiroshi Suemizu, Ryotaro Sakamori, Tetsuo Takehara、23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses、2016年10月13日、国内。
- (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
1. ウイルス肝炎の治療について，鈴木文孝，虎の門病院分院 市民公開講座，2017/1/28，国内。

(4) 特許出願  
なし

## 平成28年度医療研究開発推進事業費補助金 (肝炎等克服緊急対策研究事業) 成果報告書

### I. 基本情報

事業名： (日本語) 肝炎等克服緊急対策研究事業  
(英語) Program for Basic and Clinical Research on Hepatitis

補助事業課題名： (日本語) 次世代シーケンス技術によるウイルス因子解析を基軸としたC型肝炎新規治療の病態解明と臨床応用  
(英語) Elucidation of pathogenesis of novel hepatitis C therapy and clinical application based on viral factor analysis by next generation sequencing technology

補助事業担当者 (日本語) 相崎英樹  
所属 役職 氏名： (英語) National Institute of Infectious Diseases, Chief, Hideki Aizaki

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究課題名： (日本語) 培養細胞系を用いた耐性ウイルスの解析  
(英語) Analysis of resistant virus using cell culture system.

補助事業分担者 (日本語)  
所属 役職 氏名： (英語)

### II. 成果の概要 (総括研究報告)

補助事業分担者による報告の場合

補助事業代表者： 山梨大学・消化器内科・榎本信幸 総括研究報告を参照。

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 2件、国際誌 4件)

1. Puig-Basagoiti F, Fukuhara T, Tamura T, Ono C, Uemura K, Kawachi Y, Yamamoto S, Mori H, Kurihara T, Okamoto T, Aizaki H, Matsuura Y. Human Cathelicidin Compensates for the Role of Apolipoproteins in Hepatitis C Virus Infectious Particle Formation. J Virol. 2016 12;90(19):8464-77.
2. Saga R, Fujimoto A, Watanabe N, Matsuda M, Hasegawa M, Watashi K, Aizaki H,

Nakamura N, Tajima S, Takasaki T, Konishi E, Kato T, Kohara M, Takeyama H, Wakita T, Suzuki R. Bivalent vaccine platform based on Japanese encephalitis virus (JEV) elicits neutralizing antibodies against JEV and hepatitis C virus. *Sci Rep.* 2016 27;6:28688.

3. Suzuki R, Saito K, Matsuda M, Sato M, Kanegae Y, Shi G, 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- $\kappa$ B Activation. *J Gen Virol.* 2016 97(4):887-92.
4. Kong L, Fujimoto A, Nakamura M, Aoyagi H, Matsuda M, Watashi K, Suzuki R, Arita M, Yamagoe S, Dohmae N, Suzuki T, Sakamaki Y, Ichinose S, Suzuki T, Wakita T, Aizaki H. Prolactin regulatory element binding protein is involved in hepatitis C virus replication compartment by interacting with NS4B. *J Virol.* 2016 90(6):3093-111.
5. 相崎英樹、和気健二郎、脇田隆字、ここまでわかったC型肝炎ウイルスの感染・複製機構、目覚しく治療効果を発揮するC型肝炎治療、Mebio、メジカルビュー社、東京、2017;34(1);4-13.
6. 相崎英樹、脇田隆字、C型肝炎治療における新時代の幕開け、C型肝炎ウイルスの複製・増殖のメカニズム、医薬ジャーナル、医薬ジャーナル社、大阪 2016;52;67-70.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Bivalent vaccine antigen for Japanese encephalitis virus and Hepatitis C virus. 口頭、Saga R, Fujimoto A, Watanabe N, Matsuda M, Watashi K, Aizaki H, Kato T, Takeyama H, Wakita T, Suzuki R. 25th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver. Tokyo, Japan 2016. 2. 20-24. 国内.
2. Prolactin regulatory element binding protein and Surfeit 4 are involved in hepatitis C virus replication compartment by interacting with NS4B. 口頭、Kong L, Fujimoto A, Nakamura M, Aoyagi H, Matsuda M, Watashi K, Suzuki R, Arita M, Yamagoe S, Dohmae N, Suzuki T, Sakamaki Y, Ichinose S, Suzuki T, Wakita T, Aizaki H. 25th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver. Tokyo, Japan 2016. 2. 20-24. 国外.
3. Ultrastructure of hepatocytes in chronic hepatitis C patients who achieve a sustained virological response. 口頭、Aoyagi H, Iijima H, Puig-Basagoiti F, Zheng X, Kao YT, Hossam GE, Zaitso T, Matsuda M, Watashi K, Suzuki R, Masaki T, Shimada N, Kato K, Tsubota A, Mimata A, Sakamaki Y, Ichinose S, Wake K, Wakita T, Aizaki H. The 15th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji, Japan. 2016. 9. 6-9. 国内.
4. Sphingomyelin is a component in the membranous replication factories. 口頭、Gewaid HE, Aoyagi H, Watashi K, Suzuki R, Aly H, Kumagai K, Yamaji T, Fukasawa M, Mimata A, Sakamaki Y, Ichinose S, Hanada K, Wakita T, Aizaki H. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Kyoto, Japan. 2016. 10. 11-15. 国内.
5. Human hepatic stellate cells are permissive for hepatitis C virus

- infection/replication and play important roles in fibrosis. ポスター、Zaitso T, Aoyagi H, Matsuda M, Watanabe N, Fujimoto A, Watashi K, Suzuki R, Fukuhara T, Matsuura Y, Wake K, Suzuki T, Matsuura T, Tamura K, Wakita T, Aizaki H. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Kyoto, Japan. 2016. 10. 11-15. 国内.
6. Activation of protein kinase R by hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase. ポスター、Suzuki R, Matsuda M, Shimoike T, Watashi K, Aizaki H, Kato T, Suzuki T, Wakita T. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Kyoto, Japan. 2016. 10. 11-15. 国内.
  7. Role of lipid droplets in the emergence of drug resistant virus against direct acting antivirals. ポスター、Ohashi H, Nakajima S, Kim S, Suzuki R, Aizaki H, Fukasawa M, Kamisuki S, Sugawara F, Ohtani N, Wakita T, Watashi K. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Kyoto, Japan. 2016. 10. 11-15. 国内.
  8. Surfeit 4 is involved in HCV replication by interacting with NS4B. Positive-strand RNA viruses, ポスター、Lingbao Kong L, Aoyagi H, Matsuda M, Fujimoto A, Watashi K, Suzuki R, Suzuki T, Wakita T, Aizaki H, Austin, TX, 2016. 5. 2-5. 国外.
  9. Ultrastructure of hepatocytes in chronic hepatitis C patients who achieve a sustained virological response. 口頭、Aoyagi H, Iijima H, Puig-Basagoiti F, Zheng X, Kao YT, Hossam GE, Zaitso T, Matsuda M, Watashi K, Suzuki S, Masaki T, Shimada N, Kato K, Tsubota A, Mimata A, Sakamaki Y, Ichinose S, Wake K, Wakita T, Aizaki H. The Asian Pacific Association for the Study of the Liver, Shanghai, China, 2017. 2. 16-19. 国外.
  10. HCV に対する抗ウイルス治療後、SVR 後の肝細胞の超微細構造の変化. 口頭、青柳東代、飯島尋子、松田麻未、渡士幸一、鈴木亮介、政木隆博、坂巻有里子、市野瀬志津子、坪田昭人、和氣健二郎、脇田隆字、相崎英樹. 第 26 回抗ウイルス療法学会総会、名古屋、2016 年 5 月 13-15 日. 国内.
  11. スフィンゴ脂質の C 型肝炎ウイルス複製における役割の解析. ホッサムゲワイド、口頭、青柳東代、渡士幸一、鈴木亮介、熊谷圭悟、山地俊之、深澤征義、酒巻有里子、市野瀬志津子、花田賢太郎、脇田隆字、相崎英樹. 第 58 回日本脂質生化学学会 秋田、2016 年 6 月 9-10 日. 国内.
  12. Aryl hydrocarbon receptor regulates the assembly of hepatitis C virus and affects the emergence of drug resistant virus against DAAs. 口頭、Ohashi H, Nakajima S, Kim S, Suzuki R, Aizaki H, Fukasawa M, Kamisuki S, Sugawara F, Ohtani N, Wakita T, Watashi K. 日本ウイルス学会第 64 回学術集会, 札幌, 2016 年 10 月 23-25 日. 国内.
  13. CV に対する抗ウイルス治療後、SVR 後の肝細胞の超微細構造の変化、口頭、青柳東代、飯島尋子、松田麻未、渡士幸一、鈴木亮介、政木隆博、三又絢子、酒巻有里子、市野瀬志津子、坪田昭人、和氣健二郎、脇田隆字、相崎英樹、H 広島肝臓プロジェクト研究センターシンポジウム、広島、2016 年 6 月 25 日. 国内.
  14. HCV に対する抗ウイルス治療後、SVR 後の肝細胞の超微細構造の変化、口頭、青柳東代、飯島尋子、松田麻未、渡士幸一、鈴木亮介、會澤信弘、政木隆博、坪田昭人、和氣健二郎、脇田隆字、相崎英樹、第 41 回日本肝臓学会東部会、東京、2016 年 12

月 8-9 日. 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 肝炎ウイルス検査のすすめ、相崎英樹、脇田隆字、くらしの豆知識、国民生活センター、東京、2016, 200-201. 国内.
2. 肝炎ウイルスについて、相崎英樹他、知って肝炎&感染研一般公開, 2016/10/1, 国内.

(4) 特許出願

なし