

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08995

研究課題名(和文) 新規シーケンス技術による単一個体内でのHBV・HCV遺伝子解析と臨床応用

研究課題名(英文) Analysis of quasispecies of HBV / HCV genes in a single individual by a new sequencing technique

研究代表者

坂本 穰 (SAKAMOTO, Minoru)

山梨大学・大学院総合研究部・准教授

研究者番号：60324191

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：HBV、HCVゲノムのquasispecies状態を新規シーケンス技術で解析した。HCVではDAAに対する薬剤耐性変異は、治療前のminor cloneであるresistant associated variants: RAVがdominantとなり、HBVではHBV-PreS2領域のdeletion mutantやPre S1/S2開始コドン変異が混在するquasispecies状態が、抗ウイルス治療の有無にかかわらず持続感染により形成され、mutantの比率1%以上が病態と関連し、肝癌症例ではPreS2領域の変異cloneの存在比率が増すことで肝発癌と関連することが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：The quasispecies state of HBV, HCV genome was analyzed by new sequencing technology.

In HCV, the drug resistance mutation against DAA is minor clone so called drug resistant associated variants: RAV becomes dominant after treatment. In HBV, quasispecies state in which deletion mutant of HBV-PreS2 region and Pre S1 / S2 initiation codon mutation are existed. It is formed by persistent infection with or without antiviral treatment and existent ratio 1% or more is associated with the disease state. Further In HCC cases, an increase in the existent ratio of mutated clone in PreS2 region is closely related to liver carcinogenesis.

研究分野：消化器内科学

キーワード：HBV HCV quasispecies

## 1. 研究開始当初の背景

わが国では年間3万人余りが肝細胞癌で死亡しているが、その多くはHBVやHCV感染に由来しており、肝癌抑止のためにはウイルスを排除することが重要であり、HCVは新規DAA(Direct antiviral agents)製剤の開発により、近い将来これが可能となると考えられる。一方HBVは増殖過程でcccDNAが核内に形成されることから完全な排除は困難で、HBV抑制を図りつつ肝癌抑止を目指すことが必要である。一方HCVに対しては、従来のインターフェロン(Interferon: IFN)、リバビリン(Ribavirin: RBV)を用いることである一定のウイルス排除が得られることが明らかになっているが、この治療成績はHCVゲノムのNS5A領域の遺伝子変異が関連していることを研究代表者がこれまで明らかにしてきた。(New Engl J Med 1996, Hepatology 2012)。現在はIFNを用いない、NS3-4 protease 阻害剤Asunaprevir(ASV)とNS5A阻害剤Daclatasvir(DCV)の組み合わせ治療が実用化され、NS5A阻害剤Sofosbuvir(SOF)に代表されるNS5B polymerase 阻害剤とを組み合わせたIFN freeのDAAsのみの治療が主流となっている。しかし、IFNを用いないDAA治療では、DAAs阻害剤未治療患者でも、これら薬剤に対する自然獲得例が存在し、治療効果を減弱させるのみならず、高度耐性変異が誘導ないしは選択され今後の治療にも悪影響を及ぼすことが懸念されている(Hepatology 2011)。このような薬剤耐性変異ウイルスは、自然獲得例が存在するのみならず、薬剤使用によっても誘導ないしは選択出現するが、この機序については現在まで明らかではない。しかも単一個体内では、ウイルスは均一ではなく、多数の変異体の集合状態(quasispecies)であること研究代表者がこれまで明らかにしてきている(Virology 1996)。しかし、このquasispecies状態が、薬剤耐性変異獲得にどのように影響を及ぼすかは依然不明であり、とくに少数のminor cloneの影響についてはこれまで検討されていない。この理由は、従来の遺伝子クローニング技術や、direct sequencing技術では限界があったからである。一方近年開発された新規シーケンス技術では、単一個体から得られた検体から、数千から数万リードという単位での詳細な遺伝子変異の解析が短時間で可能となり、quasispeciesや単一個体内での耐性ウイルス変異頻度や薬剤耐性変異出現の解析が可能となった。

## 2. 研究の目的

本研究は、研究代表者のこれまでの臨床的知見の集積・基礎的検討を踏まえ、新規経口DAA剤治療におけるHCVの治療反応性、薬

剤耐性機序、HBVの発癌メカニズムについて次世代シーケンス技術を用いて、とくに単一個体内でのウイルス変異の集合体(quasispecies)から明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

C型肝炎に対する新規DAA製剤投与例のHCV quasispeciesの状態をIon Torrent Sequencer(ライフテクノロジー社)により解析し、単一個体内でのウイルス変異集合体の頻度・分布につき、網羅的かつ詳細に解析し、耐性ウイルス獲得状況と臨床成績を検討する。過去のDAA治療例は保存血清を用いた継時的な検討を行い、薬剤耐性ウイルス獲得しやすいウイルス変異を同定し分子機構の解明をおこなう。B型肝炎例は核酸アナログ(DAA)治療例からの発癌例を中心にHBV quasispeciesの状態を同様に検討し、発癌に関連する遺伝子部位の同定と単一個体内での頻度・意義を検討する。このために、(1)HCVの遺伝子変異の網羅的quasispecies解析と分子機構の解明

HCVのDAA耐性変異は、薬剤により誘導されるほか、宿主中で自然に獲得ないしは存在されることが知られている。そこで、新規シーケンサーIon Torrent Sequencer(ライフテクノロジー社)を用いて、NS3、NS5A、NS5B領域に新たなprimerを設定し新規DAAに耐性変異の出現頻度を明らかにする。とくに、単一個体内で出現頻度およびquasispeciesの状態を検討するためには、点変異の解析ではなく、同一クローン内での複数部位の変異を測定する必要があるため、primerの設計や解析塩基範囲および解析長の設定が本研究の鍵を握る。これは各シーケンサーで異なるため長塩基配列の解析が可能なIon Torrent Sequencerの特徴を生かした解析を行うとともにRoche Genome Sequencer(GS) Juniorでも検討し、解析結果の相関についても明らかとし、今後の研究方法に資するものとする。また新規治療例では、治療開始前のquasispeciesの状態を明らかにするとともに、治療中の変化、また治療不成功例では、HCV再出現時のquasispeciesの状態と単一個体内での薬剤耐性変異の出現頻度および分布につき明らかにする。また、過去のIFNないしはIFN+RBV治療例では治療前・治療中・治療終了後(治療不成功例)の耐性変異頻度および出現様式・分布と、治療効果との関連を明らかにする。とくに、NS5A領域にはHCV増殖に関連するadaptive mutationと言われる特殊な変異が重要であることを、研究代表者がHCVレプリコンから明らかにしており、ISDRやこの下流に位置するIRRDRとともに臨床的な抗ウイルス療法の治療成績と関連することが示唆されている。また、NS5A阻害剤のDCVは例え耐性変異を生じて、臨床試験の成績からは約半数での治療効果が認められ、

かならずしも薬剤耐性変異獲得が治療失敗とはならない。これは薬剤耐性変異とは直接関係なくとも、ウイルス増殖能と密接に関連する変異が想定され、HCV と関連する領域にも標的領域を設定し、NS5A 阻害剤の薬剤耐性変異とともにウイルス増殖能と関連する遺伝子領域について網羅的かつ詳細な検討を個々の症例の quasispecies とともに検討する。

また、NS3 蛋白は HCV 感染細胞内で Cardif 分子を不活化して interferon 伝達系を抑制し、さらには interferon-stimulated response element の活性化も抑制することが知られており、NS3 変異は NS3 protease 阻害剤に対する耐性変異をもたらすのみならず、C 型慢性肝炎の予後に関連することも推測されていることから、NS3 領域の quasispecies の状態を解析し病態との関連を明らかにする。

(2)HBV 遺伝子変異の quasispecies 解析と発癌機構の解明

HBV の遺伝子変異は核酸アナログ治療例の経年的解析により行う。すなわち、ETV 治療例でも HBVDNA が検出感度以下に抑制されいながら発癌する症例が存在する。これらの多くは、高齢、線維化進展例であることが知られている。一方ウイルス学的には HBs 抗原が低値であるにも関わらず HB コア関連抗原 (HBCrAg) が高値である症例が多いことを研究代表者らが報告してきた。HBs 抗原は、HBV の S 領域および pre S 領域から産生されることから、この領域の遺伝子変異が HB 抗原量にも関連する。また HBV pre S2 変異は肝発癌と関連することから、この領域の遺伝子変異と quasispecies の状態を中心に解析し発癌機構の解明を行う。また、遺伝子変異の検討は多くは direct sequencing 法で行ってきた。しかし quasispecies の状態を正確に表現することはできなかった。しかし、特定の DNA chip やインベーター法で半定量することが可能となり、本研究では、遺伝子変異の頻度、すなわち quasispecies の状態を定量・可視化する方法を開発する。

#### 4. 研究成果

HCV のゲノムは、quasispecies の状態であることを新規シーケンス技術を用いて網羅的かつ詳細に解析することにより改めて再確認した。すなわち HCV の薬剤耐性変異ウイルスは、抗ウイルス治療未治療時から存在し、とくに、インターフェロンを用いない DAA (Direct anti-HCV agents) による治療不成功例では、治療前から存在している minor clone が治療不成功時に dominant となることを明らかにした。またこのクローンは遺伝子の分子系統樹解析により、治療によって immune pressure により出現したのではなく、治療前の quasispecies の状態で存在する minor clone であり、resistant associated variants: RAV であることを示すことができた。さらに遺伝

的変異距離の解析では、治療前に存在したわずかな clone が、治療不成功時の主体と極めて近い距離に位置することが判明した。したがって IFN の使用の有無により薬剤耐性獲得の機序が異なることが示された。

また HBV では HBV-PreS2 領域の deletion mutant や Pre S1/S2 開始コドンの変異が存在する quasispecies の状態であることが明らかになった。さらに混在状態を定量的に解析するために mutant の存在割合を deep sequencing 法により解析すると、変異率 1%以上が病態と大きく関連することを明らかにした。しかしこの状態は HBV の場合は抗ウイルス治療とは関連せず、HBV の polymerase 阻害剤(核酸アナログ製剤)を用いても変化しない。この変化は年余にわたる HBV の持続感染の結果形成されており、HBV 増殖を完全に抑制できない各アナログ治療では、容易に変化しないことが明らかになった。さらに肝癌症例では PreS2 領域の変異 clone の存在比率が増しており、PreS2 変異が肝発癌と密接に関連することを明らかにした。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 19 件)

- 1) Maekawa S, Sato M, Kuratomi N, Inoue T, Suzuki Y, Tatsumi A, Miura M, Matsuda S, Muraoka M, Nakakuki N, Amemiya F, Takano S, Fukasawa M, Nakayama Y, Yamaguchi T, Sato T, Sakamoto M, Murakawa M, Nakagawa M, Asahina Y, Enomoto N. Association between alanine aminotransferase elevation and UGT1A1\*6 polymorphisms in daclatasvir and asunaprevir combination therapy for chronic hepatitis C. J Gastroenterol. 2017 Nov 1. doi: 10.1007/s00535-017-1405-3. [Epub ahead of print]、査読有
- 2) Kirito K, Sakamoto M, Enomoto N. Elevation of the Hepatitis B Virus DNA during the Treatment of Polycythemia Vera with the JAK Kinase Inhibitor Ruxolitinib. Intern Med. 2016;55(10):1341-4. doi: 10.2169/internalmedicine.55.5529. Epub 2016 May 15、査読有
- 3) 鈴木雄一郎、佐藤光明、坂本穰、榎本信幸、インターフェロン・フリー療法の今後の展望、医学と薬学、74(5)、557-563、2017、査読無
- 4) 坂本穰、榎本信幸、HBs 抗原・HB コア関連抗原測定の意義 HBs 抗原定量系と HB コア関連抗原をいかに用いるか、医学のあゆみ 262(14):1317-1321、2017、査読無
- 5) 坂本穰、榎本信幸、抗ウイルス薬、新薬展望 2016、医薬ジャーナル 52、S-1、305-312、2016、査読無

- 6) 坂本穰、榎本信幸、C 型肝炎 SVR 後の肝発癌関連因子、医学のあゆみ 299(4)、293-298、2016、査読無
- 7) Murata K, Asano M, Matsumoto A, Sugiyama M, Nishida N, Tanaka E, Inoue T, Sakamoto M, Enomoto N, Shirasaki T, Honda M, Kaneko S, Gatanaga H, Oka S, Kawamura Y, Dohi T, Shuno Y, Yano H, Mizokami M. Induction of IFN-λ3 as an additional effect of nucleotide, not nucleoside, analogs: a new potential target for hepatitis B virus infection. *Gut*. 2016 Oct 27. pii: gutjnl-2016-312653. doi: 10.1136/gutjnl-2016-312653. [Epub ahead of print]、査読有
- 8) Kawai-Kitahara 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. Comprehensive analyses of mutations and hepatitis B virus integration in hepatocellular carcinoma with clinicopathological features. *J Gastroenterol*. 2016 May;51(5):473-86. 査読有
- 9) Sato M, Maekawa S, Komatsu N, Tatsumi A, Miura M, Muraoka M, Suzuki Y, Amemiya F, Takano S, Fukasawa M, Nakayama Y, Yamaguchi T, Uetake T, Inoue T, Sato T, Sakamoto M, Yamashita A, Moriishi K, Enomoto N. 2015. Deep sequencing and phylogenetic analysis of variants resistant to interferon-based protease inhibitor therapy in chronic hepatitis induced by genotype 1b hepatitis C virus. *J Virol* 89:6105-6116. 2015、査読有
- 10) Tatsumi A, Maekawa S, Sato M, Komatsu N, Miura M, Amemiya F, Nakayama Y, Inoue T, Sakamoto M, Enomoto N. Liver stiffness measurement for risk assessment of hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 45:523-532. 2015、査読有
- 11) Shindo K, Maekawa S, Komatsu N, Tatsumi A, Miura M, Sato M, Suzuki Y, Matsuda S, Muraoka M, Amemiya F, Fukasawa M, Yamaguchi T, Nakayama Y, Uetake T, Inoue T, Sakamoto M, Sato T, Enomoto N. 2015. Semiannual imaging surveillance is associated with better survival in patients with non-B, non-C hepatocellular carcinoma. *Mediators Inflamm*. 2015;2015:687484. doi: 10.1155/2015/687484. Epub 2015 Sep 30 2015、査読有
- 12) 坂本穰、榎本信幸 C 型肝炎治療における宿主因子とウイルス因子、日本臨床 73(2)、208-212、2015、査読無
- 13) 坂本穰、HBV 薬剤耐性変異とその対応、*medicina* 52(2)、286-289、2015
- 14) 坂本穰、榎本信幸、HCV : DAA 時代における IFN 治療の意義、*Medical Practice*、32(3)、501-504、2015、査読無
- 15) 坂本穰、榎本信幸、【C 型肝炎】治療反応性、薬剤耐性変異と肝発癌リスクを考慮した治療法選択、消化器の臨床、18(1)、80-85、2015、査読無
- 16) 坂本穰、榎本信幸、Direct Acting Antivirals (DAA) に対する薬剤耐性変異の問題と対策、最新医学、70(9)、1829-1835、2015、査読無
- 17) 坂本穰、榎本信幸、C 型肝炎の治療と肝発癌抑止、化学療法の領域、31(4)、74-79、2015、査読無
- 18) 坂本穰、佐藤光明、榎本信幸、次世代シーケンサーによる HCV ゲノム解析と薬剤耐性機構の解明、慢性炎症と疾患 肝・胆・膵の慢性炎症 (編集主幹小池和彦) 別冊 BIO Clinica 4、154-158、2015、査読無
- 19) 坂本穰、榎本信幸、発癌リスクと薬剤耐性変異と考慮した C 型肝炎治療、新ウイルス性肝炎学、日本臨床増刊号、165-170、2015、査読無
- 〔学会発表〕(計 35 件)
- 1) 坂本穰、佐藤光明、榎本信幸、肝癌抑止を目指した C 型肝炎治療の現状と課題、第 103 回日本消化器病学会総会(シンポジウム) 2017.4.20 東京 S7-11
- 2) 佐藤光明、坂本穰、榎本信幸、薬剤の特性を生かした C 型肝炎の DAA 選択、第 103 回日本消化器病学会総会(パネルディスカッション) 2017.4.20 東京 PD11-3
- 3) 坂本穰、佐藤光明、榎本信幸、C 型肝炎根絶のための課題と検証、第 53 回日本肝臓学会総会(シンポジウム) 2017.6.8 広島 SY2-15
- 4) 前川伸哉、坂本穰、榎本信幸、Deep sequence と系統樹解析を用いた DAA 耐性 HCV 由来の病態解析、第 53 回日本肝臓学会総会(ワークショップ) 2017.6.8 広島 SY2-15
- 5) 坂本穰、前川伸哉、榎本信幸、ウイルス因子、宿主因子、薬剤特性を考慮した SVR100% の C 型肝炎治療、第 21 回日本肝臓学会大会(JDDW)(パネルディスカッション) 2017.10.12 福岡 PD2-2
- 6) 坂本穰、前川伸哉、榎本信幸、治療反応性と薬剤耐性変異を考慮した C 型肝炎治療、第 102 回日本消化器病学会総会(シンポジウム) 2016/4/22、東京、S2-4
- 7) 鈴木雄一郎、坂本穰、榎本信幸、宿主遺伝子、ウイルスマーカーから考察する B 型肝炎病態進展、第 102 回日本消化器病学会総会(シンポジウム) 2016/4/22、東京、S4-7

- 8) 前川伸哉、坂本穰、榎本信幸、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、第 102 回日本消化器病学会総会 (パネルディスカッション) 2016/4/22、東京、PD2-7
- 9) 松田秀哉、坂本穰、榎本信幸、高感度 HBsAg 定量と従来法との比較による B 型肝炎臨床像の検討、第 102 回日本消化器病学会総会 (パネルディスカッション) 2016/4/22、東京、PD4-2
- 10) 坂本穰、前川伸哉、榎本信幸、DAA による C 型肝炎治療と肝予備能の改善、第 52 回日本肝臓学会総会(シンポジウム) 2016/5/20、幕張、SY3-10
- 11) 鈴木雄一朗、坂本穰、榎本信幸、Deep sequence による Pre S 変異解析と HCC 発癌の関連性、第 52 回日本肝臓学会総会、2016/5/20、幕張、O-62
- 12) 佐藤光明、前川伸哉、松田秀哉、村岡優、鈴木雄一朗、辰巳明久、雨宮史武、中山康弘、井上泰輔、坂本穰、榎本信幸、ディープシークエンスによる DAA 耐性変異の解析、第 52 回日本肝臓学会総会、2016/5/20、幕張、O-152
- 13) 前川伸哉、坂本穰、榎本信幸、HCV 排除後の肝病態進展・発癌におけるアルコール代謝関連 SNP 関与の検討、第 52 回日本肝臓学会総会、2016/5/20、幕張、O-234
- 14) 松田秀哉、鈴木雄一朗、今川直人、村岡優、佐藤光明、中山康弘、井上泰輔、前川伸哉、坂本穰、榎本信幸、超高感度 HBs 抗原定量の臨床的意義、第 52 回日本肝臓学会総会、2016/5/20、幕張、P-57
- 15) 佐藤光明、松田秀哉、村岡優、鈴木雄一朗、中山康弘、井上泰輔、前川伸哉、坂本穰、榎本信幸、ダクラタスビル+アスナプレビル併用療法との肝発癌の検討、第 52 回日本肝臓学会総会 (ワークショップ) 2016/7/1~2、東京、WS1-1
- 16) 坂本穰、松田秀哉、村岡優、鈴木雄一朗、佐藤光明、中山康弘、井上泰輔、前川伸哉、榎本信幸、非ウイルス性肝細胞癌の新たな分類とその特徴、第 52 回日本肝臓学会総会 (ワークショップ) 2016/7/1~2、東京、WS2-3
- 17) S. Maekawa, M Sakamoto, N Enomoto, Deep sequencing analysis of cancer-related genes in early hepatocellular carcinoma in the livers with and without hepatitis virus. International Session (Symposium), 第 20 回日本肝臓学会大会 (JDDW2016) 2016/11/3、神戸 IS-S1-5 H
- 18) 鈴木雄一朗、坂本穰、榎本信幸、HBsAg 低値かつ HBcrAg 高値が HBV 肝癌の高リスク群である、第 20 回日本肝臓学会大会 (JDDW2016) (ワークショップ) 2016/11/3、神戸 肝 W9-15
- 19) 佐藤光明、松田秀哉、村岡優、鈴木雄一朗、中山康弘、井上泰輔、前川伸哉、坂本穰、榎本信幸、ダクラタスビル+アスナプレビル併用療法における肝細胞癌既往例の特徴、第 20 回日本肝臓学会大会 (JDDW2016) 2016/11/3、神戸 肝 P-29
- 20) 坂本穰、松田秀哉、村岡優、鈴木雄一朗、佐藤光明、中山康弘、井上泰輔、前川伸哉、榎本信幸、C 型肝炎に対する治療法選択と肝予備能の改善、第 20 回日本肝臓学会大会 (JDDW2016) 2016/11/3、神戸 肝 P-215
- 21) 坂本穰、前川伸哉、榎本信幸、DAA による治療法選択と肝予備能の改善と肝発癌抑制の検討、第 41 回日本肝臓学会東部会 (パネルディスカッション) 2016/12/8、東京、PD1-14
- 22) 鈴木雄一朗、坂本穰、榎本信幸、核酸アナログ未投与例における各種 HBV ウィルスマーカー検出感度以下症例の検討、第 41 回日本肝臓学会東部会 (パネルディスカッション) 2016/12/8、東京、PD3-4
- 23) 佐藤光明、坂本穰、榎本信幸、ダクラタスビル+アスナプレビル投与後に HBV が活性化した C 型代償性肝硬変の 1 例、第 41 回日本肝臓学会東部会(特別企画 1 症例に学ぶ) 2016/12/8、東京、SP1-11
- 24) 坂本穰、前川伸哉、榎本信幸、薬剤耐性変異を考慮した C 型肝炎の治療法選択とウイルス排除による発癌抑制、第 101 回日本消化器病学会総会 (パネルディスカッション) 2015/4/23、仙台
- 25) 鈴木雄一朗、坂本穰、榎本信幸、HBV 発癌時背景からみた B 型肝炎治療の問題点、第 101 回日本消化器病学会総会(シンポジウム) 2015/4/23、仙台
- 26) 前川伸哉、坂本穰、榎本信幸、肝病態における C 型肝炎ウイルスゲノムの多様性の意義について、第 101 回日本消化器病学会総会 (Basic Research Workshop) 2015/4/23、仙台
- 27) 佐藤光明、前川伸哉、鈴木雄一朗、小松信俊、辰巳明久、雨宮史武、中山康弘、井上泰輔、坂本穰、榎本信幸、Telaprevir 耐性変異の発生と quasispecies の動態の解析、第 101 回日本消化器病学会総会、2015/4/23、仙台
- 28) 坂本穰、前川伸哉、榎本信幸、宿主ウイルス因子、薬剤耐性変異を考慮した C 型肝炎の治療法選択とウイルス排除による発癌抑制、第 51 回日本肝臓学会総会 (シンポジウム) 2015/5/22、熊本
- 29) 鈴木雄一朗、坂本穰、榎本信幸、HBCrAg からみた B 型肝炎の疾患進展、第 51 回日本肝臓学会総会 (シンポジウム) 2015/5/22、熊本
- 30) 前川伸哉、坂本穰、榎本信幸、DAA 耐性変異の検出と臨床的意義の検討、第 51 回日本肝臓学会総会 (パネルディスカッション) 2015/5/22、熊本
- 31) 佐藤光明、前川伸哉、村岡優、鈴木雄一

- 朗、小松信俊、辰巳明久、雨宮史武、中山康弘、井上泰輔、坂本穰、榎本信幸、次世代シークエンサーによるシメプレビル耐性変異の解析、第 51 回日本肝臓学会総会、2015/5/22、熊本
- 32) 坂本穰、鈴木雄一郎、佐藤光明、小松信俊、中山康弘、井上泰輔、前川伸哉、榎本信幸、治療反応性、薬剤耐性変異からみた 1b 型 C 型肝炎の治療選択、第 19 回日本肝臓学会大会 (JDDW2015) 2015/10/8、東京都品川区
- 33) S. Maekawa, N. Komatsu, Y. Suzuki, M. Sato, T.Inoue, M. Sakamoto, N. Enomoto. The role of preS region in liver disease progression and hepatocarcinogenesis in chronic HBV infection analyzed by ultradeep sequencing. 第 19 回日本肝臓学会大会 (JDDW2015) 2015/10/8、東京都品川区
- 34) 佐藤光明、村岡優、鈴木雄一郎、小松信俊、辰巳明久、雨宮史武、中山康弘、井上泰輔、前川伸哉、坂本穰、榎本信幸、ディープシークエンサーによる DAA 耐性変異の解析、第 19 回日本肝臓学会大会 (JDDW2015) 2015/10/8、東京都品川
- 35) 大澤玲於奈、佐藤光明、松田秀哉、村岡優、小松信俊、中山康弘、井上泰輔、前川伸哉、坂本穰、榎本信幸、透析合併の C 型肝炎患者に対するアスナプレビル、ダクラタスビル併用療法を行った 1 例、第 57 回日本消化器病学会甲信越支部例会 第 79 回日本消化器内視鏡学会甲信越支部例会合同地方会、2015/11/21、熊本

〔図書〕(計 3 件)

- 1) 坂本穰、榎本信幸、抗ウイルス薬、NS5A 阻害剤、肝疾患治療マニュアル - ガイドラインを理解し応用する (竹原徹郎、持田智編) 143-146、南江堂、2017
- 2) 坂本穰、榎本信幸、耐性変異への対策、C 型肝炎治療のための DAA の使い方 (田中篤編) 92-100、2016
- 3) 坂本穰、C 型肝炎治療の変遷と現状、最新 C 型肝炎経口薬治療マニュアル (伊藤義人、中島淳監修) 診断と治療社 2-5、2016

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：  
 発明者：  
 権利者：  
 種類：  
 番号：  
 出願年月日：  
 国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：  
 発明者：  
 権利者：  
 種類：  
 番号：  
 取得年月日：  
 国内外の別：

〔その他〕  
 ホームページ等  
 なし

6 . 研究組織

(1) 研究代表者  
坂本 穰 (SAKAMOTO, Minoru)  
 山梨大学・大学院総合研究部・准教授  
 研究者番号:60324191

(2) 研究分担者  
榎本 信幸 (ENOMOTO, Nobuyuki)  
 山梨大学・大学院総合研究部・教授  
 研究者番号:20251530

(3) 連携研究者  
 なし

(4) 研究協力者  
 なし