

平成 30 年 5 月 30 日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K06810

研究課題名(和文) ヒト化肝臓キメラマウスを用いたオミクス解析によるB型肝炎の病態解明と標的同定

研究課題名(英文) Integrating multiple omics analysis for understanding the pathological mechanism of chronic hepatitis B virus infection and identifying potential molecular targets using humanized chimeric mice

研究代表者

坪田 昭人 (TSUBOTA, Akihito)

東京慈恵会医科大学・医学部・教授

研究者番号：90322643

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：核酸アナログ体はB型慢性肝炎の標準治療だが、HBVを完全には排除できないため、新たな作用機序をもつ薬剤が必要である。本研究では、低コストのヒト肝細胞キメラマウスを用いて急性感染から慢性化するまでの肝組織内トランスクリプトームを網羅解析した結果、経過を通じて低発現遺伝子群が圧倒的に多く、3つの高発現miRNAを同定した。HBV産生細胞系で候補miRNAを阻害すると感染効率や増殖が低下した。また候補miRNAに特異的に結合するmRNAはHBV増殖に影響していた。プロテオミクス/メタボロミクス解析ではリポ蛋白質系の変動が主であった。HBV自身に有利な環境で宿主に適応するものと考えられた。

研究成果の概要(英文)：Nucleos(t)ide analogues, the standard of care for chronic hepatitis B virus (HBV) infection, cannot eliminate the virus completely from HBV-infected hepatocytes. Therefore, novel agents with different antiviral actions are needed. We have established a humanized liver-chimeric mouse model at a relatively low cost. Using this model, we performed comprehensive transcriptome analyses of liver tissues from the hyperacute phase to the chronic infection phase. Surprisingly, there was a much higher number of weakly expressed mRNAs than of strongly expressed mRNAs. Three miRNAs were consistently upregulated during this period. Inhibitors of these miRNAs reduced the efficiency of HBV infection and replication. Some mRNAs that specifically interacted with these miRNAs affected the chronicity of the infection. Proteomic and metabolomic analyses showed elevated lipoprotein-related concentrations. HBV is suggested to adapt host circumstances by stealth nature against the host innate immune system.

研究分野：肝臓病学

キーワード：B型肝炎 B型肝炎ウイルス ヒト化肝臓キメラマウス トランスクリプトーム解析

## 1. 研究開始当初の背景

(1) B 型肝炎の治療は核酸アナログ体の出現により格段の進歩を遂げたが、DNA ウィルスである B 型肝炎ウイルス (hepatitis B virus, HBV) は完全に駆除できない。それは HBV が核内に潜在することや、宿主ゲノムに HBV 遺伝子が組み込まれるためである。また、B 型肝炎の臨床経過には幅広い多様性があり、現在も世界で 20 億人が感染し、毎年 60 万人が死亡している。このような状況を打開するには、HBV の増殖を抑制するだけでなく、完全に排除する新たな治療が必要である。

(2) HBV には適切な *in vitro* 実験培養系がない。臨床検体は倫理的にも入手利用に限界がある。ヒト肝細胞で置換されたキメラマウスは、ヒト HBV 感染を擬似再現できる動物モデルであり、臨床と *in vitro* の橋渡しとなり得る。超免疫不全 TK-NOG マウスを用いることで高置換率のヒト化肝臓キメラマウスを安価に作製することができる。

(3) HBV は肝細胞に吸着・侵入後、HBV 自身に有利な環境を作りながら宿主に適応すると考えられる。一連の生活環において、特に侵入直後の段階で肝細胞にどのような変化が起きているかはわかっていない。ヒト化肝臓キメラマウスを用いて時系列に網羅的ゲノミクス解析を行うことで、感染成立機序の解明や感染を阻害する分子標的の特定にも繋がると考えられる。

## 2. 研究の目的

我々が安価に作製した高置換率のヒト化肝臓キメラ超免疫不全マウスモデルを用いて、(1) HBV 感染初期から時系列に肝臓組織内トランスクリプトームの変化を網羅的に解析する、(2) HBV 感染初期から時系列に末梢血を対象としたメタボローム解析を行う、(3) これらの遺伝子・蛋白・代謝を含んだオミクス (omics) 解析により感染成立時の包括的遺伝子・蛋白動態を解明するとともに、感染成立を阻止し得る標的分子を探索する、及び(4) その候補標的分子の機能解析を行う。

## 3. 研究の方法

(1) ヒト化肝臓キメラマウスを用いた HBV 感染実験と網羅的ゲノミクス解析

TK-NOG マウスに GCV を 2~3 回 ip/週で投与、その 1~2 週後にヒト肝細胞 ( $1.0 \sim 2.0 \times 10^6$  cells) を経脾臓的に移植する。血清ヒト albumin 値を経時的に測定、plateau 時に HBV ( $1.0 \times 10^6$  copies) を尾静脈投与する。

時系列に採取した血液の血清 20  $\mu$ L にメタノールを加え専用キットで処理後 MALDI-TOF/MS 質量分析計 (AutoFlex Speed, Bruker) でメタボローム解析を行う。

HBV 感染前/day 3/day10/week 6 時の肝臓より RNA を抽出、Agilent 2100 bioanalyzer で QC check, Chip は GeneChip Human Gene 2.0

ST Array/miRNA 4.0 Array/Transcriptome Array 2.0 (Affymetrix) を用いた。

GeneChip WT Terminal Labeling and Controls Kit により cDNA を合成・精製後、*In vitro* transcription と T7RNA 増幅を行い、GeneChip Hybridization, Wash, and Stain Kit で fragment 処理と labeling、GeneChip Scanner 3000 7G System 上で解析する。

Candidate signatures に対して定量的 real-time RT-PCR 法による validation を行う。

(2) オミクス解析による包括的遺伝子・蛋白動態の解明

“cross-mapping” 法による miRNA マッピングの最適化と RNA editing 解析を行う。miRNA-mRNA 間を中心とした gene regulatory network の解析は、web-available software や literature-based linkage software を用いて機能解析実験への計画・実施に活かす。代謝物や膜蛋白の pathway における gene-miRNA-small RNA の interaction も *in silico* 解析を行う。

(3) オミクス解析から探索された標的分子候補の機能解析

機能解析は、絞り込まれた gene signatures に対して *in vitro* での実験を中心に行う。Hep2.2.15 等の HBV 産生細胞株、及び HBV 感染許容細胞株・非許容細胞株における knockdown/overexpression による細胞特性の変化や細胞内遺伝子変化の解析を行う。それらの変化が HBV 感染にどう影響さえるかを検討する。

HBV 感染の成立における mRNA と miRNA も含めた調整機構について検討する。

## 4. 研究成果

(1) 本動物モデルを用いて HBV 感染の超急性感染から慢性化に移行するまでの網羅的トランスクリプトーム解析を行った結果、高発現遺伝子群より圧倒的に低発現遺伝子群が多くみられた。前者には TLR/apoptosis 関連遺伝子等が含まれていたが、高発現を維持した mRNA は認められなかった。

(2) 一方、validation により経過を通じて高発現していた 3 つの microRNA を同定した。HBV 自立産生肝細胞株でこれらの microRNA を阻害すると HBV の感染効率が低下、増殖も低下していた。

(3) 培養細胞系で候補 microRNA を過剰発現させると HBV 感染効率の向上と感染期間の延長が認められた。逆に inhibitor と HBV の共感染では HBV の感染効率が低下した。

(4) 候補 microRNA の counterpart であるいくつかの mRNA を validation した。mRNA の過剰発現や knockdown は HBV 増殖に影響することが明らかになった。

(5) メタボローム解析ではリポ蛋白系成分の上昇が認められ、pathway 解析やオミクス解析では HBV のステルス性を示す分子機構が示唆された。

【総括】HBV に最適な培養系はなく、臨床検体の入手には限界がある。臨床と *in vitro* の橋渡しとしてヒト肝細胞で置換されたキメラマウスが現時点で適当である。我々は、TK-NOG マウスに独自のプロトコールと移植法を施し、低コストで置換率の高いヒト化肝臓キメラマウスを作製した。この動物モデルを用いて、HBV 感染の超急性感染から慢性化に移行するまでの網羅的トランスクリプトーム解析を行った結果、高発現遺伝子群より圧倒的に低発現遺伝子群が多く、前者には TLR/アポトーシス関連遺伝子が含まれていた。一方、validation により経過を通じて高発現していた 3 つの microRNA を同定した。HBV 産生肝細胞株や Primary なヒト肝細胞系でこれらの microRNA を阻害すると HBV の感染効率や増殖が低下した。いくつかの細胞株で候補 microRNA が特異的に結合、作用する counterpart の mRNA を確定し、その mRNA が HBV 増殖に影響することもわかってきた。またプロテオミクス解析やメタボロミクス解析では、リポ蛋白質系の変動が主であった。HBV 侵入直後の感染超初期で肝細胞にどのような変化が起きているか、十分にわかっていない。感染成立機序を解明することで感染阻止の分子標的を特定でき得ると考えられ、新たな治療の発展につながる可能性がある。HBV は自身に有利な環境を作りながら宿主に適応するものと考えられた。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 31 件)

1. Toyoda H, [Tsubota A](#) (29 番目, 他 32 名). Real-world virological efficacy and safety of elbasvir and grazoprevir in patients with chronic hepatitis C virus genotype 1 infection in Japan. *J Gastroenterol*. 2018 May 8. doi: 10.1007/s00535-018-1473-z.
2. Okubo T, [Tsubota A](#) (3 番目, 他 15 名). Efficacy and safety of ledipasvir/sofosbuvir for genotype 1b chronic hepatitis C patients with moderate renal impairment. *Hepatol Int*. 2018; 12:133-142. doi: 10.1007/s12072-018-9859-9.
3. Kato K, [Tsubota A](#) (last, 他 13 名). Hepatocellular adenoma in a woman who was undergoing testosterone treatment for gender identity disorder. *Clin J Gastroenterol*. 2018 Mar 27. doi:10.1007/s12328-018-0854-4.
4. Arai T, [Tsubota A](#) (3 番目, 他 17 名). Efficacy and safety of ombitasvir/paritaprevir/ritonavir combination therapy for genotype 1b chronic hepatitis C patients complicated with chronic kidney disease. *Hepatol Res*. 2018 Jan 9. doi: 10.1111/hepr.13058.
5. Atsukawa M, [Tsubota A](#) (2 番目, 他 13 名). Serum Wisteria floribunda agglutinin-positive Mac-2 binding protein more reliably distinguishes liver fibrosis stages in non-alcoholic fatty liver disease than serum Mac-2 binding protein. *Hepatol Res*. 2018;48:424-432. doi: 10.1111/hepr.13046.
6. Atsukawa M, [Tsubota A](#) (2 番目, 他 16 名). Analysis of factors predicting the response to tolvaptan in patients with liver cirrhosis and hepatic edema. *J Gastroenterol Hepatol*. 2017 Dec. doi:10.1111/jgh.14047.
7. Lalioti V, [Tsubota A](#), Sandoval IV. Disorders in hepatic copper secretion: Wilson's disease and pleomorphic syndromes. *Semin Liver Dis*. 2017 7;37:175-188. doi: 10.1055/s-0037-1602764.
8. Atsukawa M, [Tsubota A](#) (2 番目, 他 10 名). Effectiveness and safety of community-based treatment with sofosbuvir plus ribavirin for elderly patients with genotype 2 chronic hepatitis C. *Dig Liver Dis*. 2017;49:1029-1035. doi: 10.1016/j.dld.2017.04.012.
9. Atsukawa M, [Tsubota A](#) (2 番目, 他 16 名). Efficacy and safety of ombitasvir/paritaprevir/ritonavir in dialysis patients with genotype 1b chronic hepatitis C. *Hepatol Res*. 2017;47:1429-1437. doi: 10.1111/hepr.12910.
10. Iio E, [Tsubota A](#) (7 番目, 他 15 名). Clinical evaluation of sofosbuvir/ledipasvir in patients with chronic hepatitis C genotype 1 with and without prior daclatasvir/asunaprevir therapy. *Hepatol Res*. 2017; 47:1308-1316. doi:10.1111/hepr.12898.
11. Suda G, [Tsubota A](#) (17 番目, 他 19 名). Retreatment with sofosbuvir, ledipasvir, and add-on ribavirin for patients who failed daclatasvir and asunaprevir combination therapy. *J Gastroenterol*. 2017;52:1122-1129. doi: 10.1007/s00535-017-1328-z.
12. Kondo C, [Tsubota A](#) (3 番目, 他 11 名). Daclatasvir and asunaprevir for genotype 1b chronic hepatitis C patients with chronic kidney disease. *Hepatol Res*. 2017;47:1165-1173. doi: 10.1111/hepr.12879.
13. Inoue T, [Tsubota A](#) (9 番目, 他 10 名). Clinical significance of two real-time PCR assays for chronic hepatitis C patients receiving protease inhibitor-based therapy. *PLoS One*. 2017;12:e0170667. doi: 10.1371/journal.pone.0170667.
14. Kato K, [Tsubota A](#) (Last, 他 8 名). C-arm cone beam computed tomography guidance for radiofrequency ablation in hepatocellular carcinoma. *Oncology*. 2017;92:142-152. doi: 10.1159/000453665.
15. Furihata T, [Tsubota A](#) (6 番目, 他 7 名). Human organic anion transporter 2 is an entecavir, but not tenofovir, transporter. *Drug Metab Pharmacokin*. 2017; 32:116-119. doi: 10.1016/j.dmpk.2016.09.004.
16. Altinel K, [Tsubota A](#) (16 番目, 他 22 名). Single-nucleotide resolution mapping of hepatitis B virus promoters in infected human livers and hepatocellular carcinoma. *J Virol*. 2016;90:10811-10822. PMID: 27681123.
17. Kinoshita C, [Tsubota A](#) (11 番目, 他 11 名). Hepatitis C virus G1b infection decreases the number of small low-density lipoprotein particles. *World J Gastroenterol*. 2016;22:6716-6725. doi:10.3748/wjg.v22.i29.6716.
18. Okubo T, [Tsubota A](#) (3 番目, 他 10 名). Association between vitamin D deficiency and pre-existing resistance-associated hepatitis C virus NS5A variants. *Hepatol Res*. 2017;47:641-9. doi:10.1111/hepr.12784.
19. Nakagawa A, [Tsubota A](#) (3 番目, 他 7 名). Usefulness of portal vein pressure for predicting the effects

- of tolcapant in cirrhotic patients. *World J Gastroenterol.* 2016;22:5104-13. doi:10.3748/wjg.v22.i21.5104.
20. Iio E, Tsubota A (13 番目, 他 8 名). Efficacy of daclatasvir/asunaprevir according to resistance-associated variants in chronic hepatitis C with genotype 1. *J Gastroenterol.* 2017;52:94-103. doi:10.1007/s00535-016-1225-x.
21. Kondo C, Tsubota A (3 番目, 他 4 名). Evaluation of factors associated with relapse in telaprevir-based triple therapy for chronic hepatitis C. *J Postgrad Med.* 2016;62:20-25. doi:10.4103/0022-3859.173191.
22. Itokawa N, Tsubota A (3 番目, 他 6 名). Effects of sorafenib combined with low-dose interferon therapy for advanced hepatocellular carcinoma: a pilot study. *Int J Clin Oncol.* 2016; 21:676-683. doi: 10.1007/s10147-015-0942-0.
23. Nagano T, Tsubota A (9 番目, 他 8 名). Impact of chronic hepatitis C virus genotype 1b infection on triglyceride concentration in serum lipoprotein fractions. *Int J Mol Sci.* 2015;16: 20576-20594. doi: 10.3390/ijms160920576.
24. Atsukawa M, Tsubota A (2 番目, 他 15 名). Effect of native vitamin D3 supplementation on refractory chronic hepatitis C patients in simeprevir with pegylated interferon/ribavirin. *Hepato Res.* 2016;46:450-458. doi: 10.1111/hepr.12575.
25. Atsukawa M, Tsubota A (2 番目, 他 18 名). Influencing factors on serum 25-hydroxyvitamin D3 levels in Japanese chronic hepatitis C patients. *BMC Infect Dis.* 2015;15:344. doi: 10.1186/s12879-015-1020-y.
26. Furihata T, Tsubota A (6 番目, 他 3 名). Differential inhibition features of direct-acting anti-hepatitis C virus agents against human organic anion transporting polypeptide 2B1. *Int J Antimicrob Agents.* 2015;46:381-8. doi:10.1016/j.ijantimicag.2015.05.013.
27. Ito K, Tsubota A (30 番目, 他 38 名). Geographic distribution and characteristics of genotype A hepatitis B virus infection in acute and chronic hepatitis B patients in Japan. *J Gastroenterol Hepatol.* 2016;31: 180-189. doi: 10.1111/jgh.13030.
28. Arai T, Tsubota A (3 番目, 他 9 名). Vitamin D-related gene polymorphisms do not influence the outcome and serum vitamin D level in pegylated interferon/ribavirin therapy combined with protease inhibitor for patients with genotype 1b chronic hepatitis C. *J Med Virol.* 2015;87:1904-1912. doi: 10.1002/jmv.24244.
29. Ishiguro H, Tsubota A (10 番目, 他 9 名). Interferon- $\lambda$ 3 polymorphisms in pegylated-interferon- $\alpha$  plus ribavirin therapy for genotype-2 chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol.* 2015;21:3904-3911. doi:10.3748/wjg.v21.i13.3904.
30. Kondo C, Tsubota A (3 番目, 他 12 名). Safety and efficacy of partial splenic embolization in telaprevir-based triple therapy for chronic hepatitis C. *Intern Med.* 2015;54:119-26. doi: 10.2169/internalmedicine.54.3066.
31. Abe H, Tsubota A (2 番目, 他 12 名). 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. *Hepato Res.* 2015; 45:387-396. doi: 10.1111/hepr.12360.
- 〔学会発表〕(計 37 件)
1. 新井泰央, 他 11 名 (坪田昭人: 11 番目). 本邦の NAFLD 症例の病態に vitamin D 代謝関連 SNPs の与える影響. 第 21 回日本肝臓学会大会 2017.10.13 (福岡).
  2. 加藤慶三, 安部宏, 坪田昭人. 完璧な局所コントロールを目指した RFA の工夫. 第 21 回日本肝臓学会大会 2017.10.13 (福岡).
  3. Aoyagi H, 他 20 名 (Tsubota A: 15 番目). Abnormal hepatocellular organelles remain to be observed in sustained virological response patients. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会 2017.10.25 (大阪).
  4. Omoto S, 他 9 名 (Tsubota A: 4 番目). A novel device for estimating olfactory threshold for differential diagnosis of parkinsonian syndrome: a pilot study. WCN2017: XXIII World Congress of Neurology 2017.7.17 (Kyoto).
  5. 青柳東代, 他 20 名 (坪田昭人: 14 番目). SVR 後の肝臓のオルガネラ異常の解析. 第 27 回抗ウイルス療法学会総会 2017.5.19 (熊本).
  6. 加藤慶三, 他 8 名 (坪田昭人: Last). 急性胆道炎に合併した播種性血管内凝固への遺伝子組み換え型トランボモジュリン製剤の使用経験. 第 103 回日本消化器病学会総会. 2017.4.20 (東京).
  7. Aoyagi H, 他 17 名 (Tsubota A: 12 番目). Abnormal hepatocellular organelles remain to be observed in sustained virological response patients. APASL Single Topic Conference in Nagasaki 2017.4.11 (Nagasaki).
  8. 坪田昭人. ヒト化肝キメラマウスにおける HCV 排除後の肝病理組織学的検討. 平成 28 年度 AMED 肝炎克服実用化研究事業 (肝炎等克服緊急対策研究事業) 合同班会議 HCV に対する抗ウイルス治療後、SVR 後の病態に関する研究班. 2017.1.20 (東京).
  9. Aoyagi H, 他 19 名 (Tsubota A: 14 番目). Ultrastructure of hepatocytes in chronic hepatitis C patients who achieve a sustained virological response. APASL 2017 (The 26<sup>th</sup> Conference of Asian Pacific Association for the Study of the Liver) 2017.2.16 (Beijing, China).
  10. 新井泰央, 他 8 名 (坪田昭人: 8 番目). 本邦における NAFLD 患者と血清ビタミン D 代謝. 第 20 回日本肝臓学会大会 2016.11.3 (神戸).
  11. 厚川正則, 他 9 名 (坪田昭人: 7 番目). C 型慢性肝炎における背景因子の特徴による薬剤選択. 第 20 回日本肝臓学会大会 2016.11.3 (神戸).
  12. 青柳東代, 他 10 名 (坪田昭人: 8 番目). 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. 第 26 回抗ウイルス療法学会総会 2016.5.13 (名古屋).
  13. 加藤慶三, 他 10 名 (坪田昭人: Last).

- Genotype 1 C 型慢性肝疾患に対するダクラタスビル・アスナプレビルの初期治療反応と抗ウイルス効果の関係. 第 52 回日本肝臓学会総会 2016.5.19 (千葉).
14. 近藤千紗, 他 10 名(坪田昭人:9 番目). 実臨床における Genotype 2 の C 型慢性肝炎患者に対するソホスビル, リバビリン併用療法の治療成績. 第 52 回日本肝臓学会総会 2016.5.20 (千葉).
15. 青柳東代, 他 11 名(坪田昭人:9 番目). 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. 第 12 回広島肝臓プロジェクト研究センターシンポジウム 2016.6.25 (広島).
16. 相崎英樹, 他 14 名(坪田昭人:13 番目). C 型肝炎ウイルス治療後ウイルス学的著効症例の肝細胞の超微細構造の観察. 第 23 回肝細胞研究会 2016.7.8 (大阪).
17. 坪田昭人, 他 3 名. 低コスト化した HBV 感染ヒト化肝臓キメラマウスを用いた網羅的トランスクリプトーム解析. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) 創薬実用化等研究事業「次世代生命基盤技術を用いた B 型肝炎制圧のための創薬研究」2016.9.18 (東京).
18. Aoyagi H, 他 17 名(Tsubota A:12 番目). Ultrastructure of liver cells in chronic hepatitis C patients who achieve a sustained virological response. The 15th Awaji International Forum on Infection and Immunity 2016.9.7 (Awaji, Japan).
19. 新井泰央, 他 8 名(坪田昭人:8 番目). 本邦における NAFLD 患者と血清ビタミン D 代謝. 第 20 回日本肝臓学会大会 2016.11.3 (神戸).
20. 厚川正則, 他 9 名(坪田昭人:7 番目). C 型肝炎における背景因子の特徴による薬剤選択. 第 20 回日本肝臓学会大会 2016.11.4 (神戸).
21. Arai T, 他 12 名(Tsubota A:6 番目). Efficacy and safety of ombitasvir/ritonavir/paritaprevir combination therapy for genotype 1b chronic hepatitis C patients complicated with chronic kidney disease. AASLD 2016 (The Liver Meeting, the 67th Conference of American Association for the Study of Liver Diseases), 2016.11.12, (Boston, USA).
22. 青柳東代, 他 9 名(坪田昭人:7 番目). 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. 第 41 回日本肝臓学会東部会 2016.12.8 (東京).
23. Arai T, 他 8 名(Tsubota A:8 番目). Serum 25(OH)D3 levels are related to the severity of liver fibrosis in patients with NAFLD. APASL (2016 in Tokyo, 25th Conference) 2016.2.22 (Tokyo).
24. Kondo C, 他 11 名(Tsubota A:4 番目). Efficacy of daclatasvir/asunaprevir for chronic hepatitis C patients with renal insufficiency. APASL (2016 in Tokyo, 25th Conference) 2016.2.22 (Tokyo).
25. 厚川正則, 他 11 名(坪田昭人:10 番目). C 型肝炎に対する DCV/ASV 療法の成績に与える因子の解析. 第 19 回日本肝臓学会大会 2015.10.8 (東京).
26. 島田紀朋, 他 12 名(坪田昭人:12 番目). 治療開始 4 週後の HCV RNA 量から見た SMV3 剤併用療法の治療効果予測. 第 19 回日本肝臓学会大会 2015.10.8 (東京).
27. 島田紀朋, 他 6 名(坪田昭人:6 番目). DCV+ASV 併用療法の薬剤耐性変異別の治療効果及び AFP の推移. 第 19 回日本肝臓学会大会 2015.10.8 (東京).
28. 大久保知美, 他 11 名(坪田昭人:11 番目). DAAs に対する NS5A 領域の薬剤耐性変異を有する症例の特徴. 第 19 回日本肝臓学会大会 2015.10.8 (東京).
29. 加藤慶三, 他 7 名(坪田昭人:Last). C 型肝炎に対するダクラタスビル・アスナプレビルの初期治療効果の検討. 第 19 回日本肝臓学会大会 2015.10.8 (東京).
30. 加藤慶三, 他 7 名(坪田昭人:Last). 肝硬変に伴う腹水に対するトルバプタンの治療成績. 51 回日本肝臓学会総会 2015.5.21 (熊本).
31. 厚川正則, 他 11 名(坪田昭人:11 番目). C 型肝炎に対する DCV/ASV 療法の成績に Host 因子が与える影響. 51 回日本肝臓学会総会 2015.5.21 (熊本).
32. 大久保知美, 他 10 名(坪田昭人:Last). DAAs に対する NS5A 領域の薬剤耐性変異を有する症例の特徴. 51 回日本肝臓学会総会 2015.5.21 (熊本).
33. 島田紀朋, 他 14 名(坪田昭人:3 番目). SMV 3 剤併用療法の成績から見た難治要因の検討. 第 51 回日本肝臓学会総会 2015.5.21 (熊本).
34. 杉田知典, 他 9 名(坪田昭人:9 番目). Genotype 1b C 型肝炎に対する Simeprevir+ Peginterferon + Ribavirin 3 剤療法早期治療効果. 第 101 回日本消化器病学会総会 2015.4.23 (仙台).
35. 島田紀朋, 厚川正則, 坪田昭人. IFN 反応性とウイルス変異から見た治療戦略. 第 101 回日本消化器病学会総会 2015.4.23 (仙台).
36. 厚川正則, 島田紀朋, 坪田昭人. C 型肝炎治療における vitamin D の影響. 第 101 回日本消化器病学会総会 2015.4.23 (仙台).
37. 加藤慶三, 島田紀朋, 坪田昭人. 静脈瘤治療に対する抗ウイルス治療の影響. 第 101 回日本消化器病学会総会 2015.4.23 (仙台).

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

坪田 昭人 (TSUBOTA Akihito)  
東京慈恵会医科大学・医学部・教授  
研究者番号: 90322643