

課題番号 : 23指105  
研究課題名 : C型慢性肝炎患者におけるInterleukin-28B遺伝子多型とToll-like receptorを介した  
内因性サイトカインの反応性  
主任研究者名 : 村田一素  
分担研究者名 : なし

キーワード : C型慢性肝炎、IFN-λ3、Toll-like receptor

(1) 研究成果 :

**TLR7 agonist 刺激による IFN-λの主な産生細胞は plasmacytoid DC であることを世界で初めて証明した。**

IFN-λは、TLR3 agonist である poly I:C で刺激した場合、myeloid DC が主に産生することが最近報告された。我々は C 型肝炎ウイルスは single-stranded RNA であることから、生体内では single-stranded RNA を認識する TLR7 が抗 HCV に重要な働きをしていると考えた。そこで健康成人から採取した末梢血リンパ球 (PBMC) を TLR7 agonist (R-837) で刺激したところ、高度に IFN-λが産生された。さらに末梢血リンパ球から樹状細胞 subset の BDCA1<sup>+</sup>DC、BDCA3<sup>+</sup>DC、BDCA4<sup>+</sup>DC をマグネットビーズを用いて positive selection または negative selection することにより、各種樹状細胞を選択し、同様の実験を行ったところ、TLR7 agonist 刺激で産生される IFN-λ は、主に BDCA4<sup>+</sup>DC、すなわち plasmacytoid DC から産生されていることが判明した。また、既報の如く、poly I:C 刺激における IFN-λ産生細胞は BDCA3<sup>+</sup>DC、すなわち myeloid DC であることも証明した。すなわち、異なった刺激は、それぞれ異なった細胞に対し、IFN-λを誘導するという興味ある知見が得られた。また、IFN-λの誘導には IFN-αの前刺激が重要であることが判明した。このことは、今までの報告で IL28B 異なる SNP 間で IFN-λの発現に差があるかどうか報告によりこととなっていたが、それらは何も刺激しない naïve な検体を用いていたためである可能性が示唆された。

(2) 少量の血液でも IFN-λの誘導が可能である。

樹状細胞は末梢血中では非常に少ない subset (BDCA3<sup>+</sup>DC は 0.05% 程度、BDCA4<sup>+</sup>DC は 0.5% 程度) のため、本実験を遂行するためには多くの血液 (100 ml 程度) が必要となる。患者に対する検査を想定して少量の血液での IFN-λの誘導を試みたところ、2 ml の全血から得られた PBMC でも十分に IFN-λを誘導することが可能であった。また、健康成人において IFN-λの誘導は、IL28B 遺伝子多型と関連することが分かった。すなわち、IL28B の遺伝子多型のうち、Peg-IFN/RBV 治療に反応性の genotype TT (rs8099917) では IFN-λの産生は高く、非反応性の TG/GG では IFN-λの産生は低いことが判明した。

(3) R-837 刺激における IFN-λの動態

R-837 刺激にて mRNA IFN-λ は、4 時間でピークを認め、即座に低下した。一方、我々が開発した Chemiluminescence enzyme immunoassay (CLEIA) を用いた IFN-λ蛋白の解析では、9 時間でピークを認め、その後 48 時間までプラトーを維持した。このことから IFN-λ3 蛋白の測定が安定した結果を出せるものと考えられた。

(4) R-837 刺激による IFN-λの誘導の多寡は IL28B 遺伝子多型に依存する。

当院に通院中の C 型肝炎患者から PBMC を採取し、R-837 刺激にて産生される IFN-λ量を検討すると健康成人と同様に IL28B SNP(rs8099917) が TT の場合は多く誘導され、TG/GG では誘導は不良であった。IL28B 遺伝子多型によって Peg-IFN/RBV 療法の治療効果予測が可能であるとの報告は当センターを含め多くあるが、IL28B にコードされる蛋白 (IFN-λ) が IL28B の phenotype により増減することは本報告が初めてである。

(5) R-837 刺激による IFN-λの誘導の多寡は Peg-IFN/RBV 治療の反応性と関連する。

当院通院中の C 型肝炎患者のうち、過去に Peg-IFN/RBV 治療歴のある患者 46 名において、治療効果 (治療中にウイルスが一旦消失した群とウイルス量に有意な変化がなかった群) と IFN-λの誘導能を検討する

と有意に ( $p = 1 \times 10^{-10}$ ) 治療効果がみられた群で IFN- $\lambda$  が強く誘導されていた。興味深いことに IL28B SNP で治療効果予測に反した症例 (TT の症例で効果不良、あるいは TG/GG の症例治療効果良好) でも IFN- $\lambda$  3 の誘導能によってより正確な治療効果予測が可能であった。よって、IL28B SNP による治療効果予測は 65.2% であるのに対し、IFN- $\lambda$  の誘導能による治療効果予測は 95.7% であった。現在、当院では C 型慢性肝炎の治療効果予測として IL28B 遺伝子多型を用いているが、本方法はさらに良い指標として利用できるものと考えられた。本法については「インターフェロン治療効果予測方法」として特許出願している (特願 2013-228369)。

一方、C 型慢性肝炎の治療は今年度より新たな局面を迎え、従来の Peg-IFN/RBV よりも治療効果のある新規薬剤プロテアーゼ阻害剤を加えた 3 剤併用療法が行われるようになったため、3 剤併用療法においても我々の IFN- $\lambda$  3 の測定が治療効果予測を同様にさらに改善するかの検討を行っていく予定である。

**(6) R-837 刺激による IFN- $\lambda$  の誘導において、IFN- $\lambda$  1 や IFN- $\lambda$  2 ではなく、IFN- $\lambda$  3 が強く誘導される。**

GWAS で Peg-IFN/RBV の治療効果予測として同定されたのは IFN- $\lambda$  2 と IFN- $\lambda$  3 の相同性は 96% であるにも関わらず、IL28B (IFN- $\lambda$  3) のみであった。本研究において治療効果を予測因子として IFN- $\lambda$  1 や IFN- $\lambda$  2 ではなく、IFN- $\lambda$  3 であったとの結果は我々の GWAS 研究を支持するものである。

**(7) TT における IFN- $\lambda$  3 産生低下は、肝線維化と関連する。**

我々の方法により IL28B SNP に関わりなく、IFN- $\lambda$  3 の産生量が Peg-IFN/RBV 治療効果を規定することが判明したが、効果が期待される遺伝子型 (TT) で効果がなかった discrepancy 症例の原因について検討した。C 型慢性肝炎患者 99 名において IFN- $\lambda$  3 産生量低下に関わる因子について多変量解析を行ったところ、超音波下非侵襲的肝線維化解析 (acoustic Radiation Force Impulse; ARFI) が抽出された (単変量解析では低アルブミン血症、低コリンエステラーゼ血症、血小板数低下、IL28B SNP で有意差を認めた)。いずれも肝線維化の進行を示唆し、かつ IFN- $\lambda$  3 産生能とそれぞれの間に関連を認めた。しかし、興味あることに、その相関は IL28B SNP における TT のみで認められ、TG/GG では認められなかった。すなわち、IFN- $\lambda$  3 産生量は TG/GG では遺伝要因が主に影響し、TT における IFN- $\lambda$  3 産生能低下は遺伝子翻訳後の修飾 (post-translational modification) が関連あると考えられる

**(8) TG/GG における IFN- $\lambda$  3 産生良好例では、IL28B プロモーター領域の TA 繰り返し配列が関連する。**

遺伝子解析をおこなったところ、TG/GG で IFN- $\lambda$  3 産生良好例の半数で IL28B のプロモーター領域に TA 繰り返し配列を多く認めた。なお、TT 症例については、IFN- $\lambda$  3 産生と TA 繰り返し配列の関連はなかった。このことは *in vitro* で、TA 繰り返し配列の数依存性に IL28B の翻訳が強くなされることを当センターで確認している。しかし、他の半数は繰り返し配列が少ないにも関わらず、IFN- $\lambda$  3 が良好に産生されているので、その機序に関しては現在検討中である。

**(9) リンパ球の *ex vivo* 刺激による IFN- $\lambda$  3 の産生量は末梢血中の BDCA4<sup>+</sup>DC 数と関連する。**

C 型慢性肝炎患者のリンパ球を *ex vivo* において TLR7 agonist で刺激した際の IFN- $\lambda$  3 産生量の多寡が Peg-IFN/RBV 治療の効果とよく関連することは (5) で述べた。しかし、*ex vivo* において患者リンパ球を刺激し IFN- $\lambda$  3 産生能を測定する手技は煩雑である。また、樹状細胞が IFN- $\lambda$  3 の主要細胞であり、生きた樹状細胞を使用するため凍結保存や後日の実験は行えない。このことから実臨床での応用は難しい。そこで、我々の実験系において IFN- $\lambda$  3 の産生量と関連ある因子を調べたところ、末梢血中の BDCA4<sup>+</sup>DC 数と非常に強い相関を認めた。さらに、末梢血中 BDCA4<sup>+</sup>DC 数は肝線維化の進展と逆相関することも判明した。すなわち、肝線維化進展例では BDCA4<sup>+</sup>DC 数が少ないために IFN- $\lambda$  3 産生量が少なく、そのために Peg-IFN/RBV 療法の効果が低いものと考えられた。一般に、肝線維化が進行している C 型慢性肝炎患者において Peg-IFN/RBV 療法の効果が不良であることは知られていたが、その原因については不明であった。本研究は、その機序の解明としても重要と考えられる

#### (10) 血清 IFN-λ3 による C 型慢性肝炎の治療効果予測。

さらに臨床応用が容易となるように血清 IFN-λ3 により治療効果予測が出来ないかについて検討した。Genotype 1b、高 HCV RNA (>5.0 log copies/ml)の C 型慢性肝炎患者のうち、ペグインターフェロン+リバビリンが 48 週間投与された 177 例中、2 剤が十分投与 (80%以上) された 104 例について、治療前血清 IFN-λ3 と治療効果について検討した。ROC 解析より得られた viral responder (治療中に HCV RNA が測定感度になった症例) 判別の cut-off 値は、15.1 pg/ml であった。Peg-IFN/RBV 治療効果予測として重要である IL28B 遺伝子多型別に検討すると TG/GG (non-TT: rs8099917)では、治療前血清 IFN-λ3 の cut-off 値で 100%の治療効果予測が可能であった。TT 症例でも、血清 IFN-λ3 値が低値の症例は 100%の確率で viral response (VR)が得られたが、高い症例でも VR が得られた。TT 症例のうち血清 IFN-λ3 が高い症例では、さらなる予測因子が必要と考えられた。一方、Peg-IFN/RBV 療法の効果予測因子として報告されている血清 IL-10 を同時に検討したが、治療予測は血清 IFN-λ3 が有意に優れていた。本研究により治療前の血清 IFN-λ3 にて治療効果を予測することが出来れば臨床的に重要と考えられる。また、わが国では C 型慢性肝炎の治療はプロテアーゼ阻害剤を用いた新規治療法 (3 剤併用療法) に移行しようとしているが、主に経済的理由によりそれらが使用できないアジアの患者にとっては特に重要となると考えられる。また、3 剤併用療法の治療効果予測も可能と考えられるため、3 剤併用療法が終了し、効果が判明している患者の治療前血清を用いて現在検討中である。

#### (11) B 型慢性肝炎における血清 IFN-λ3 の意義。

B 型肝炎の治療効果や慢性化と IL28B 遺伝子多型との関連については controversial で未だ結論は得られていない。そこで我々は、血清 IFN-λ3 を用いて病態や治療効果との関連を解析した。B 型急性肝炎患者の血清 IFN-λ3 を経時的に測定しても病態との関連は見いだせなかった。また、asymptomatic carrier、慢性肝炎、肝硬変との病態との関連も認められなかった。さらに、IL28B 遺伝子多型と血清 IFN-λ3 との関連もなかった。ところが、血清 IFN-λ3 の高い症例は、ほとんどが核酸アナログ製剤投与中であることを見出し、さらに adefovir、tenofovir が投与されている患者に限られることが判明した。現在、その機序について検討中である。

Subject No. : 23 指 105  
Title : Cytokine responses via toll-like receptor and interleukin 28B polymorphism in chronic hepatitis C  
Researchers : Kazumoto Murata  
Key word : chronic hepatitis C, IFN- $\lambda$ 3, Toll-like receptor  
Abstract :

We recently found that interleukin (IL)-28B polymorphisms (non-TT) were strong predictive factors for non-responder of pegylated-interferon (IFN)/ribavirin (RBV) treatment. However, the mechanistic roles of IL28B and its protein, IFN- $\lambda$ 3, for chronic hepatitis C are still unknown.

BDCA3<sup>+</sup>dendritic cells (DC) were recently reported to be main producers of IFN- $\lambda$ s. Therefore, we focused on DC. Since HCV is a single stranded RNA, toll-like receptor (TLR) 7 or 8 recognize HCV. BDCA3<sup>+</sup>DCs do not express TLR7 or 8, so we wanted to identify other DC subsets to produce IFN- $\lambda$ 3 by TLR7 or 8 agonist. After negative or positive magnetic selection of BDCA-1, 3, 4<sup>+</sup>DCs using 100 ml of peripheral blood from healthy volunteers, each collection was stimulated with IFN- $\alpha$ , following poly I:C or R-837 as previously reported, and evaluated the mRNA of IFN- $\lambda$ s or the protein levels of IFN- $\lambda$ 3. We firstly found that BDCA4<sup>+</sup>DC were main producers of IFN- $\lambda$ 3 when stimulated with TLR7 agonist, whereas BDCA3<sup>+</sup>DCs were main producers of IFN- $\lambda$ 3 when stimulated with TLR3 agonist. Therefore, different stimulations induce different DC subsets to produce IFN- $\lambda$ s. Next, we tried to seek whether small amount of blood is enough to stimulate DC for clinical application. Then, we found that IFN- $\lambda$ s were clearly induced even with small amount of blood (2ml) and were induced more prominent in patients with TT genotype than those in non-TT genotype.

Next, we wanted to analyze whether ex vivo induced IFN- $\lambda$ 3 could predict the response to Peg-IFN/RBV that is a current standard of care for chronic hepatitis C (CHC). Consecutive 100 HCV-RNA positive CHC patients with genotype 1b (35 male, 65 female) were enrolled in this study. Our patients with the TG/GG genotype were more prevalent (41.0%, 41/100) than in the normal population (about 20%), which was expected given that patients who had previously failed to benefit from HCV treatment tended to visit our center. Among them, there were 36 patients who had histories of Peg-IFN/RBV was treated with Peg-IFN/RBV treatment. We found that amount of ex vivo induced IFN- $\lambda$ 3 by stimulation with TLR7 agonist determines the outcome of peg-IFN/RBV treatment, using peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from patients. That is, high IFN- $\lambda$ 3 protein were induced by ex vivo stimulation with TLR7 agonist in patients who had shown viral response (VR) whereas only low IFN- $\lambda$ 3 protein were induced by ex vivo stimulation with TLR7 agonist in patients who had shown non-VR. Interestingly, patients with TT genotype who expected to be responders, but had failed peg-IFN/RBV treatment showed lower induced-IFN- $\lambda$ 3 levels, whereas patients with non-TT genotype who were supposed to be non-responders, but had shown favorable response to peg-IFN/RBV showed higher induced-IFN- $\lambda$ 3. These results

may suggest the reason why *IL28B* genotype alone fails to predict the efficacy of Peg-IFN/RBV therapy at about 20%. Our method may be superior to *IL28B* genotype to predict the efficacy of Peg-IFN/RBV therapy. This study, for the first time, presents compelling evidence that genetic variations in *IL28B* confer a functional phenotype and potentially explains our GWAS data. In addition, these results may explain discrepant cases related to *IL28B* genotyping in the response to Peg-IFN/RBV treatment. Thus, *ex vivo* induction of IFN- $\lambda$ 3 in PBMC by a TLR7-agonist may be a more accurate predictive method for determining the outcome of Peg-IFN/RBV therapy.

Furthermore, in patients with TT genotype and lower IFN- $\lambda$ 3 production, peripheral platelet counts were lower and higher non-invasive assessment for liver fibrosis (acoustic radiation force impulse; ARFI), suggesting that advanced fibrosis as one of post-translational modifications affect IFN- $\lambda$ 3 production.

The drawback of our method is too complicated for clinical applications. In addition, *ex vivo* induction of IFN- $\lambda$ 3 needed fresh DC and frozen samples were not available. Then, we seek to find other factors that are correlated with IFN- $\lambda$ 3 production induced by TLR7 agonist. Since BDCA4<sup>+</sup>DCs are main producers of IFN- $\lambda$ 3 when stimulated with TLR7 agonist, we measured the ratio of peripheral BDCA4<sup>+</sup>DCs in CHC patients and compared with *ex vivo* induced IFN- $\lambda$ 3 levels. We found strong correlation between *ex vivo* induced IFN- $\lambda$ 3 levels and the number of peripheral BDCA4<sup>+</sup>DCs. Patients who had shown VR have higher number of BDCA4<sup>+</sup>DCs in the peripheral blood whereas low number of BDCA4<sup>+</sup>DCs are observed in patients who had failed Peg-IFN/RBV therapy. Interestingly, the number of peripheral BDCA4<sup>+</sup>DCs was well-correlated with acoustic radiation force impulse (ARFI) which is a non-invasive measurement of liver fibrosis under ultrasonography. Generally, liver fibrosis is a risk factor for Peg-IFN/RBV treatment, but the precise mechanisms for that are unknown. Our results may implicate the mechanism for poor response in advanced liver fibrosis (the reduction of peripheral BDCA4<sup>+</sup>DCs in liver fibrosis results in poor induction of IFN- $\lambda$ 3).

Next, we tried to seek easier methods to predict the response to Peg-IFN/RBV treatment because genotyping is costly, making worldwide clinical application difficult. Frozen serum samples were collected from 170 CHC Japanese patients (genotype 1b) who had completed PEG-IFN/RBV with  $\geq 80\%$  drug-adherence. Serum IFN- $\lambda$ 3 levels measured using our newly developed chemiluminescence enzyme immunoassays and interferon gamma-inducible protein-10 (IP-10) levels were compared with clinical data and therapeutic outcome. Serum levels of IFN- $\lambda$ 3 and IP-10 were significantly lower in patients with virologic response (VR), but no differences were observed among different *IL28B* genotypes. Serum IFN- $\lambda$ 3 below the cutoff yielded a positive predictive value of 98.1% for VR, regardless of *IL28B* genotype (category a); however IP-10 levels failed to set up clear cutoff values. None of the patients with high serum IFN- $\lambda$ 3 level and non-TT (an unfavorable genotype in *rs8099917*) showed VR (category b). Patients with high serum IFN- $\lambda$ 3 level and TT genotype were further divided into favorable response (category c1) or the other group (category c2) according to low or high FIB-4 index, respectively. Furthermore, a data mining analysis confirmed these

findings. Taking together, pre-treatment levels of serum IFN- $\lambda$ 3 together with clinical data could be used to categorize CHC patients into four groups, each showing distinct treatment responses, which may provide a simple, cost-effective, and accurate tool for prediction of CHC treatment.

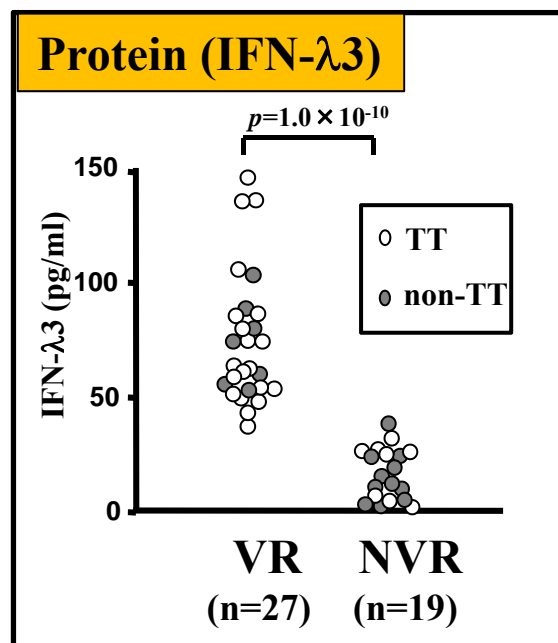
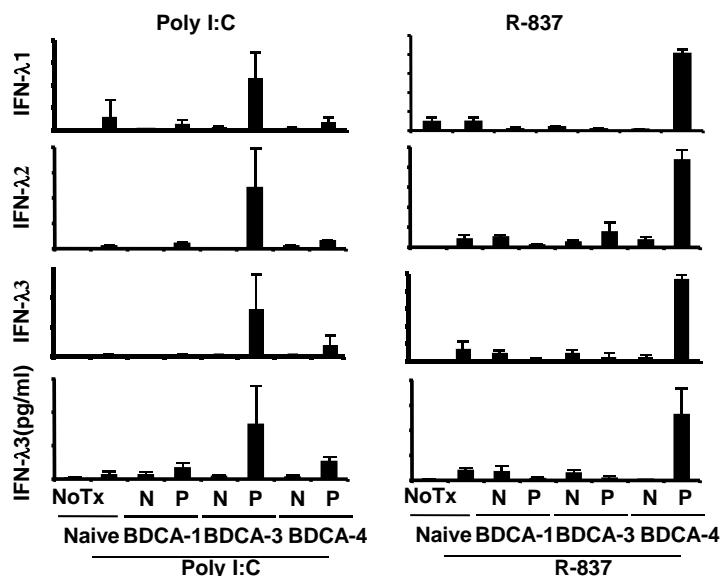
Because IFN- $\lambda$ 3 is a cytokine that associate with innate immunity, and the receptor for IFN- $\lambda$ 3 was found in various organ including skin, colon, liver and so on, except for brain, blood stem cells, we measured serum IFN- $\lambda$ 3 levels in various diseases. So far, we found that high serum IFN- $\lambda$ 3 levels were observed in acute hepatitis E patients. Interestingly, no changes in serum IFN- $\lambda$ 3 levels in hepatitis A patients were observed although hepatitis A virus is a single stranded RNA as well as hepatitis C virus and hepatitis E virus. We are now analyzing the association between severities of hepatitis E virus infection and serum IFN- $\lambda$ 3 levels.

We are also interested in analyzing the serum IFN- $\lambda$ 3 levels in hepatitis B patients because there are still discussion in the association between chronicity or treatment response in hepatitis B (HBV) infection and IL-28B genotypes. We measured serum IFN- $\lambda$ 3 in different status of HBV infection (i.e, asymptomatic carrier, chronic hepatitis and liver cirrhosis). However, we found no relation between those. There are no association between IL-28B genotypes and serum IFN- $\lambda$ 3 levels as well. No changes in serum IFN- $\lambda$ 3 levels were observed during the clinical course of acute hepatitis B infection. However, interestingly, we found that high serum IFN- $\lambda$ 3 levels were only observed in HBV patients who were treated with nucleotide analogues (adefovir, tenofovir), not nucleoside analogues (lamivudine, entecavir), that is a standard of care for chronic HBV infection worldwide. Since, in previous reports, adefovir showed the activation of natural killer cells in mice, and tenofovir induced several cytokines in vitro, we hypothesize that nucleotide analogues have any effects on innate immunities as well as polymerase inhibitors of HBV. These projects are now ongoing.

**「C型慢性肝炎患者におけるInterleukin-28B遺伝子多型と Toll-like receptorを介した内因性サイトカインの反応性」  
(2011年5月26日国立国際医療研究センター倫理委員会承認)**

**国際医療研究開発費  
(23指105)  
(研究代表者: 村田一素)  
H23-H25年度: 1,380万円**

治療効果が判明している患者のリンパ球をex vivoにて、TLR7 agonistで刺激し、上清中のIFN-λ3を測定。



**IL28B遺伝子多型と IFN-λ3 による正診率**

|     | IL28B |        |    | IFN-λ3 |     |    |
|-----|-------|--------|----|--------|-----|----|
|     | TT    | non-TT |    | High   | Low |    |
| VR  | 17    | 7      | 24 | 23     | 1   | 24 |
| NVR | 8     | 9      | 17 | 0      | 17  | 17 |
|     | 25    | 16     | 41 | 23     | 18  | 41 |
|     | 63.4% |        |    | 97.6%  |     |    |

\* は、正しい効果判定が出来た症例

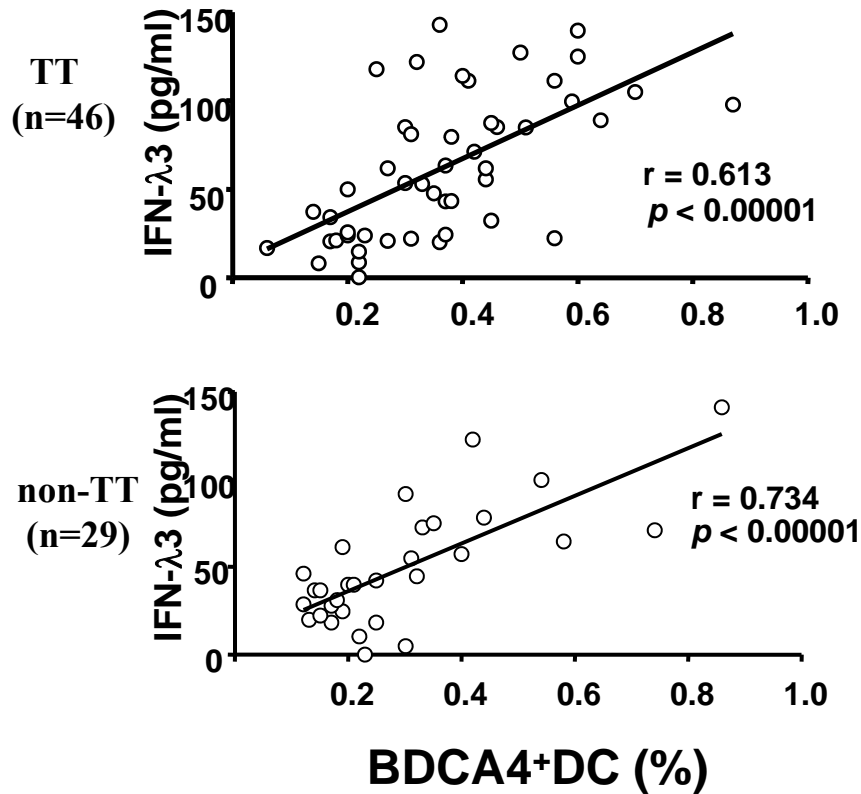
VR: virologic response  
NVR: non-virologic response

IFN-λ3の主産生細胞は、  
Poly I:C刺激の場合、BDCA3  
R-837刺激の場合、BDCA4  
であった。

基本的に産生されるIFN-λの量は、  
IL28B遺伝子多型によるが、IFN-λ3蛋白の  
産生能がPeg-IFN/RBVの治療効果を規定する。

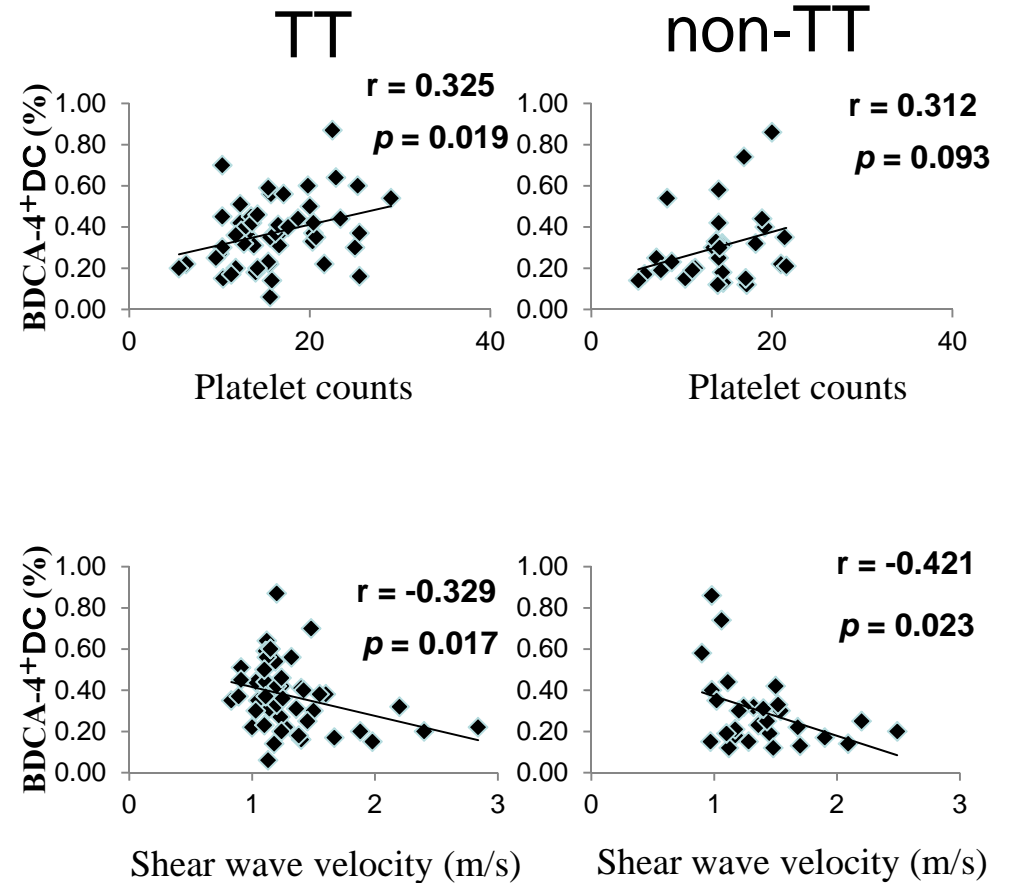
# BDCA4+DC 数と誘導IFN-λ3 産生量および臨床データ

## BDCA4+DC 数 (%)とIFN-λ3 産生



末梢血BDCA4+DC数と  
IFN-λ3の産生量は相関する

## BDCA4+DC 数 (%)と血小板数・肝線維化

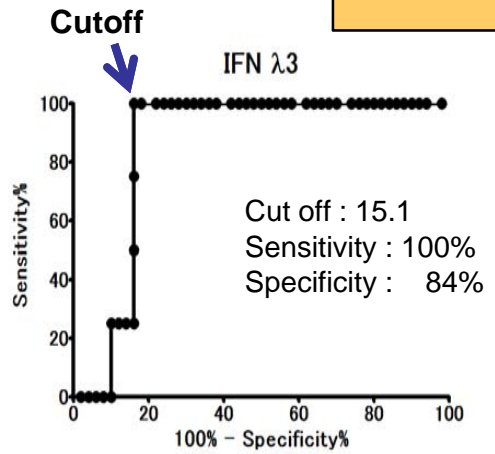


肝線維化とBDCA4+DC頻度は相関する

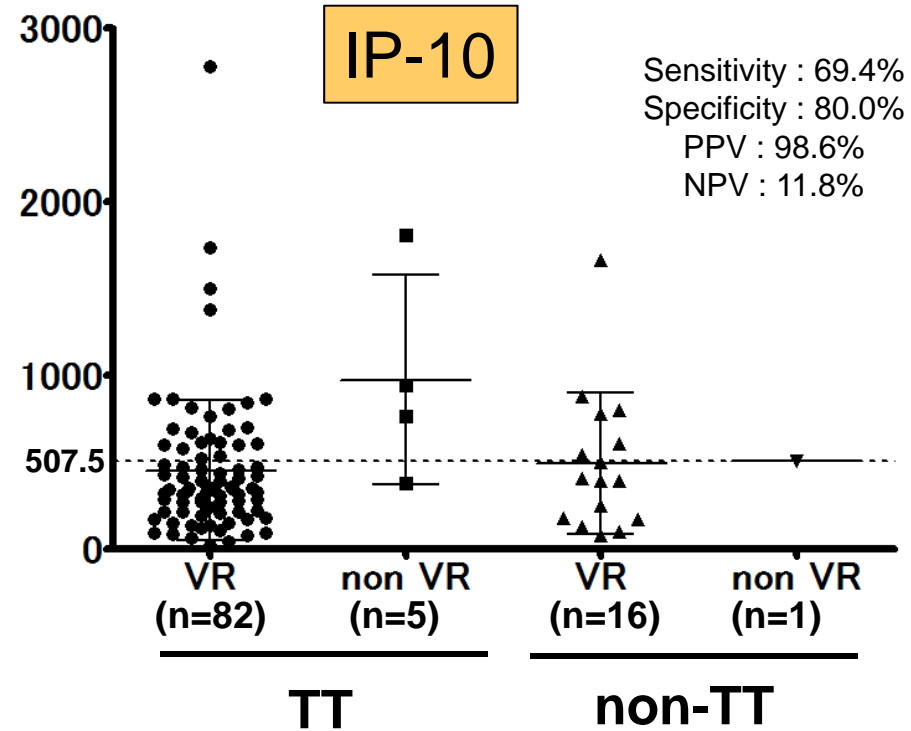
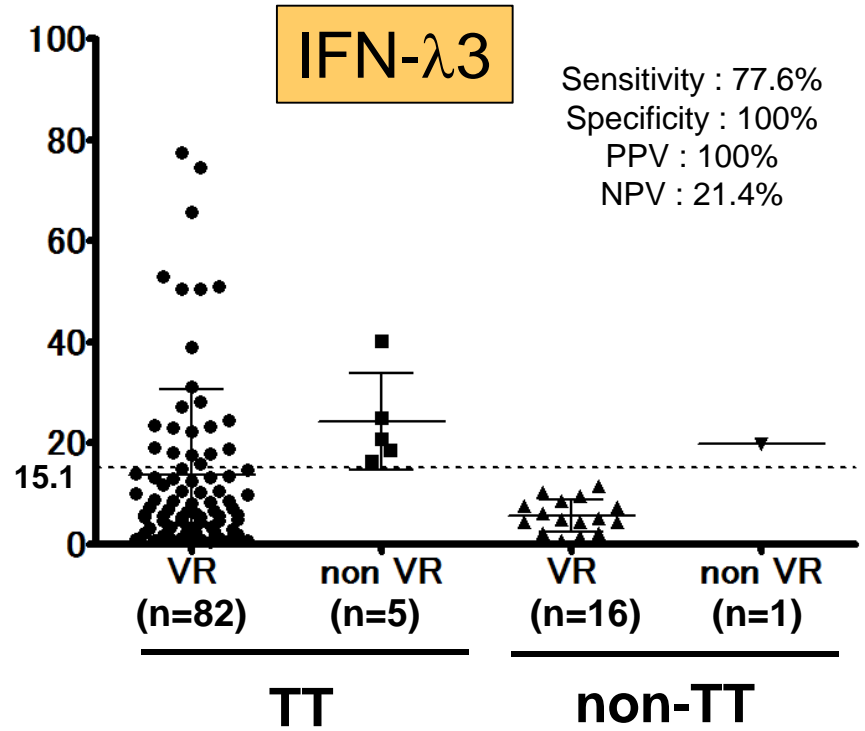
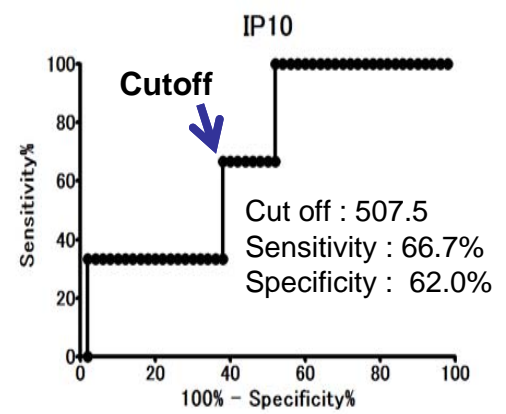
今まで線維化進展例でPeg-IFN/RBVの治療効果が低い原因は明らかではなかったが、BDCA4+DC頻度の低下に伴うIFN-λ3産生能低下が原因のひとつであることを示唆した。



# IL28B遺伝子多型別の治療前血清IFN-λ3 (virological response (VR) vs. non-VR)

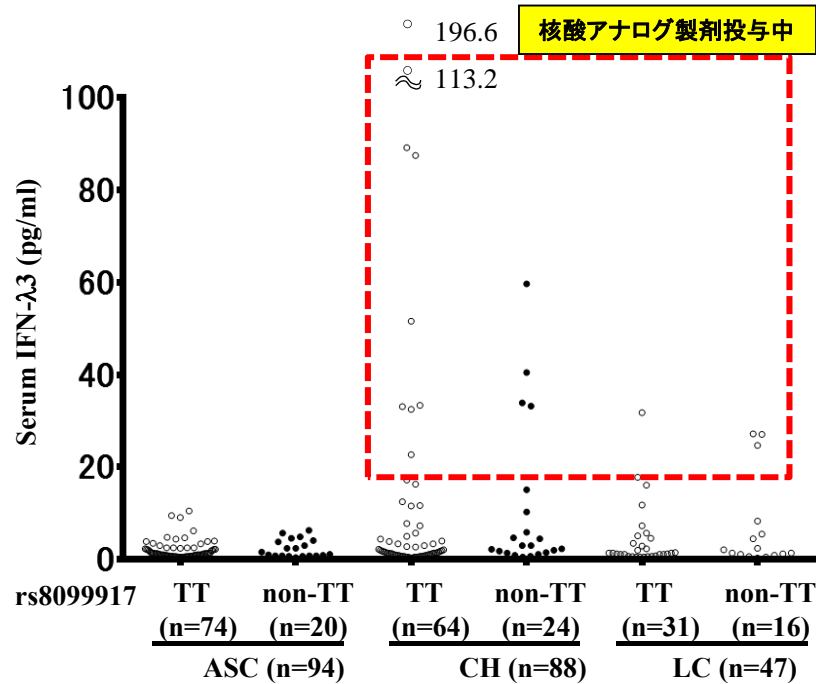


治療前血清IFN-λ3は、  
治療効果予測として有用である。



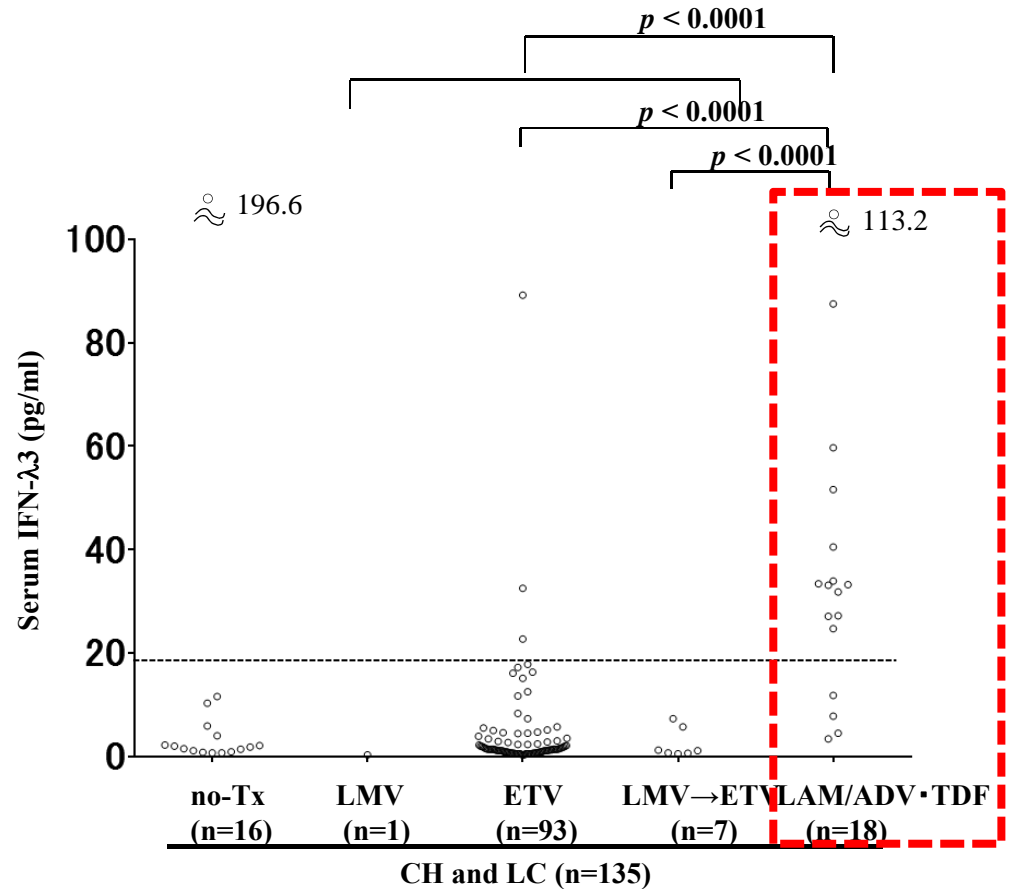
血清IFN-λ3が低値の場合は、ほぼ100%の確率でPeg-IFN/RBV治療にてVRが得られる。

## HBV感染の病態と血清IFN-λ3



血清IFN-λ3値は、HBVの病態とは関連がないが、核酸アナログ製剤投与中で高値を示す。

## 核酸アナログ製剤による治療と血清IFN-λ3



Mann-Whitney's U test

血清IFN-λ3値の高値例は、核酸アナログ製剤のうち Adefovir (ADV), tenofovir (TDF)投与中であった。その機序については現在検討中。

## 研究発表及び特許取得報告について

課題番号： 23指105

研究課題名： C型慢性肝炎患者におけるInterleukin-28B遺伝子多型とToll-like receptorを介した内因性サイトカインの反応性

主任研究者名： 村田一素

### 論文発表

| 論文タイトル   | 著者  | 掲載誌                  | 掲載号 | 年    |
|--|---|----------------------|-----|------|
| Hepatitis B virus-induced lipid alterations contribute to natural killer T cell-dependent protective immunity.   | Zeissig S, <b>Murata K</b> , et al  | Nat Med              | 18  | 2012 |
| Factors responsible for the discrepancy between IL28B polymorphism prediction and the viral response to peginterferon plus ribavirin therapy in Japanese chronic hepatitis C patients. | Saito H, Sugiyama M, Matsui T, Aoki Y, Imamura M, <b>Murata K</b> , et al   | Hepatol Res          | 42  | 2012 |
| Development of specific and quantitative real-time detection PCR and immunoassays for $\lambda$ 3-interferon.  | Sugiyama M, Kimura T, Naito S, Mukaide M, Shinauchi T, Ueno M, Ito K, <b>Murata K</b> , et al   | Hepatol Res          | 42  | 2012 |
| LecT-Hepa, a glyco-marker derived from multiple lectins, as a predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients.   | Ito K, Kuno A, Ikehara Y, Sugiyama M, Saito H, Aoki Y, Matsui T, Imamura M, Korenaga M, <b>Murata K</b> , et al   | Hepatology           | 56  | 2012 |
| Human BDCA3(+) dendritic cells are a potent producer of IFN- $\lambda$ in response to hepatitis C virus.   | Yoshio S, Kanto T, Kuroda S, Matsubara T, Higashitani K, Kakita N, Ishida H, Hiramatsu N, Nagano H, Sugiyama M, <b>Murata K</b> , et al   | Hepatology           | 57  | 2013 |
| Scirrhous colonic metastasis from lobular carcinoma of breast.   | Takeda T, <b>Murata K</b> , et al   | Clin J Gastroenterol | 6   | 2013 |
| Interleukin-1 and tumor necrosis factor-alpha trigger restriction of hepatitis B virus infection via a cytidine deaminase AID.   | Watashi K, Liang G, Iwamoto M, Marusawa H, Uchida N, Daito T, Kitamura K, Muramatsu M, Ohashi H, Kiyohara T, Suzuki R, Li J, Tong S, Tanaka Y, <b>Murata K</b> , et al.   | J Biol Chem          | 288 | 2013 |
| Risk factors for long-term persistence of serum hepatitis B surface antigen following acute hepatitis B virus infection in Japanese adults.  | Ito K, Yotsuyanagi H, Yatsuhashi H, Karino Y, Takikawa Y, Saito T, Arase Y, Imazeki F, Kurosaki M, Umemura T, Ichida T, Toyoda H, Yoneda M, Mita E, Yamamoto K, Michitaka K, Maeshiro T, Tanuma J, Tanaka Y, Sugiyama M, <b>Murata K</b> , et al. | Hepatology           | 59  | 2014 |

研究発表及び特許取得報告について

|  |   |                 |    |      |
|--|---|-----------------|----|------|
| Ex vivo induction of IFN-λ3 by a TLR7 agonist determines response to Peg-IFN/RBV therapy in chronic hepatitis C patients.        | <b>Murata K</b> , Sugiyama M, Kimura T, Yoshio S, Kanto T, Kirikae I, Saito H, Aoki Y, Hiramane S, Matsui T, Ito K, Korenaga M, Imamura M, Masaki N, Mizokami M.  | J Gastroenterol | 49 | 2014 |
| New susceptibility and resistance HLA-DP alleles to HBV-related diseases identified by a trans-ethnic association study in Asia. | Nishida N, Sawai H, Kashiwase K, Minami M, Sugiyama M, Seto WK, Yuen MF, Posuwan N, Poovorawan Y, Ahn SH, Han KH, Matsuura K, Tanaka Y, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N, Kang JH, Hige S, Ide T, Yamamoto K, Sakaida I, Murawaki Y, Itoh Y, Tamori A, Orito E, Hiasa Y, Honda M, Kaneko S, Mita E, Suzuki K, Hino K, Tanaka E, Mochida S, Watanabe M, Eguchi Y, Masaki N, <b>Murata K</b> , et al. | PLoS ONE        | 9  | 2014 |

学会発表

| タイトル   | 発表者                                | 学会名   | 場所        | 年月                 |
|--|------------------------------------|---|-----------|--------------------|
| Induction of interleukin-28B by ex vivo stimulation of peripheral blood mononuclear cells predicts the efficacy of pegylated interferon-α/ribavirin therapy in chronic hepatitis C | <b>Murata K</b> , et al            | The 22 <sup>th</sup> conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver     | Taipei    | Feb 16-19, 2012    |
| Hepatocyte lipid antigen presentation and natural killer cell activation as central regulators of the immune response against hepatitis B virus.                                   | Zeissig S, <b>Murata K</b> , et al | The 20 <sup>th</sup> United European Gastroenterology Week                                      | Amsterdam | Oct 20-24, 2012    |
| Toll-like receptor 7 agonist刺激による末梢血リンパ球IFN-λ3誘導とその臨床的意義   | <b>村田一素</b> 、杉山真也、溝上雅史             | 第48回 日本肝臓学会総会   | 金沢        | 6月7日～6月8日、2012     |
| IL28B遺伝子多型による治療効果予測不一致に寄与する宿主因子の検討   | <b>村田一素</b> 、杉山真也、溝上雅史             | 第16回 肝臓学会大会   | 神戸        | 10月10日～10月12日、2012 |
| Interferon-λ3 determines response to pegylated interferon/ribavirin therapy in chronic hepatitis C   | <b>Murata K</b> , et al            | The 63 <sup>th</sup> annual meeting of the American association for the study of liver diseases | Boston    | Nov 9-13, 2012     |
| Different amount of IFN-λ3 determines the outcome of Peg-IFN/RBV therapy in HCV patients   | <b>Murata K</b> , et al            | The 10 <sup>th</sup> JSH Single Topic Conference  | Tokyo     | Nov 21-22, 2012    |
| HBV遺伝子組み込みアデノウイルスを用いたB型急性肝炎発症機序の検討   | <b>村田一素</b> 、T. Jake Liang、溝上雅史    | 第39回日本肝臓学会東部会   | 東京        | 12月6日～12月7日、2012   |
| B型急性肝炎におけるnatural killer T (NKT)細胞活性化機序  | <b>村田一素</b> 、T. Jake Liang、溝上雅史    | 第49回日本肝臓学会総会  | 東京        | 6月6日～6月7日、2013     |

研究発表及び特許取得報告について

|   |   |   |               |                  |
|---|---|---|---------------|------------------|
| C型慢性肝炎の経過観察におけるvirtual Touch Tissue Quantificationの有用性  | 是永圭子、溝上雅史、是永匡紹、今村雅俊、茶谷 成、竹田 努、 <u>村田一素</u> 、他   | 第49回日本肝臓学会総会  | 東京            | 6月6日～6月7日、2013   |
| 新規開発した高感度HBV-DNA検出装置による各種肝疾患患者のHBV-DNAの陽性率  | 竹田 努、 <u>村田一素</u> 、他  | 第49回日本肝臓学会総会  | 東京            | 6月6日～6月7日、2013   |
| 慢性肝疾患におけるamino acid imbalanceとインスリン抵抗性・酸化ストレスのクロストーク  | 是永匡紹、是永圭子、竹田 努、山極洋子、今村雅俊、 <u>村田一素</u> 、他  | 第49回日本肝臓学会総会  | 東京            | 6月6日～6月7日、2013   |
| Ex vivo induction of IFN-λ3 by a TLR7 agonist determines response to Peg-IFN/RBV therapy in chronic hepatitis C patients  | <u>Murata K.</u> , Sugiyama M, Mizokami M, et al  | The 19th Annual Meeting of the Korean Association for the Study of the Liver        | Seoul         | June 14-15, 2013 |
| Length of TA Repeat near IL28B Could Improve the Predictive Value for HCV Spontaneous Clearance with IL28B SNPs   | Hiramine S, Sugiyama M, Furusyo N, Nishida N, Takeda T, Aoki Y, Korenaga M, <u>Murata K.</u> , et al. | ID week 2013  | San Francisco | Oct 2-6, 2013    |
| Pre-treatment levels of serum IFN-λ3 more accurately predict sustained virological response by pegylated interferon/ribavirin therapy than IL28B genotyping in chronic hepatitis C patients | Aoki Y, <u>Murata K.</u> , et al.   | The 64th annual meeting of the American association for the study of liver diseases | Washington DC | Nov 1-5, 2013    |
| Genetic variation of IL28B and serum levels of IFN-λ3 does not affect clinical outcome of hepatitis B virus infection   | Takeda T, <u>Murata K.</u> , et al,   | The 64th annual meeting of the American association for the study of liver diseases | Washington DC | Nov 1-5, 2013    |
| Number of peripheral BDCA4 <sup>+</sup> dendritic cells determines the response to pegylated interferon/ribavirin therapy in chronic hepatitis C patients                                   | <u>Murata K.</u> , , et al.   | The 64th annual meeting of the American association for the study of liver diseases | Washington DC | Nov 1-5, 2013    |
| Significant roles of IFN-λ3 with reciprocal levels in serum and ex vivo stimulated PBMC in chronic hepatitis C  | Aoki Y, <u>Murata K.</u> , , et al.   | The 64th annual meeting of the American association for the study of liver diseases | Washington DC | Nov 1-5, 2013    |
| Human BDCA3 <sup>+</sup> dendritic cells as a potent interferon- λ producer and an enhancer of helper T cell and natural killer cell responsive to hepatitis C virus                        | Yoshio S, Kanto T, Matsubara T, Sugiyama M, <u>Murata K.</u> , et al.                                 | The 64th annual meeting of the American association for the study of liver diseases | Washington DC | Nov 1-5, 2013    |

研究発表及び特許取得報告について

|   |   |  |               |               |
|---|---|--|---------------|---------------|
| Risk factors for long-term persistence of serum hepatitis B surface antigen following acute hepatitis B virus infection in Japanese adults.                         | Ito K, Yotsuyanagi H, Yatsunami H, Karino Y, Takikawa Y, Saito T, Arase Y, Imazeki F, Kurosaki M, Umemura T, Ichida T, Toyoda T, Yoneda M, Mita E, Yamamoto K, Michitaka K, Maeshiro T, Tanuma J, Tanaka Y, Sugiyama M, <b>Murata K.</b> , et al. | <b>The 64th annual meeting of the American association for the study of liver diseases</b> | Washington DC | Nov 1-5, 2013 |
| Polymorphisms consisting of (TA) <sub>n</sub> dinucleotide repeat near IL28B gene could improve the predictive value for HCV spontaneous clearance with IL28B SNPs. | Sugiyama M, Hiramane S, Furusho N, Ido A, Tsubouchi H, Watanabe H, Ueno Y, Korenaga M, <b>Murata K.</b> et al.  | <b>The 64th annual meeting of the American association for the study of liver diseases</b> | Washington DC | Nov 1-5, 2013 |

その他発表(雑誌、テレビ、ラジオ等)

| タイトル | 発表者 | 発表先 | 場所 | 年月日 |
|------|-----|-----|----|-----|
| 該当なし |     |     |    |     |

特許取得状況について ※出願申請中のものは( )記載のこと。

| 発明名称             | 登録番号        | 特許権者(申請者)<br>(共願は全記載)    | 登録日(申請日)   | 出願国 |
|------------------|-------------|--------------------------|------------|-----|
| インターフェロン治療効果予測方法 | 2013-228369 | 溝上雅史、杉山真也、村田一素、木村達治、内藤成子 | 2014年11月1日 | 日本  |
|                  |             |                          |            |     |
|                  |             |                          |            |     |

※該当がない項目の欄には「該当なし」と記載のこと。

※主任研究者が班全員分の内容を記載のこと。