

<特集「C型肝炎治療の最前線」>

C型肝炎の抗ウイルス療法

光吉 博則*, 伊藤 義人

京都府立医科大学大学院医学研究科消化器内科学

Antiviral Therapies Against Hepatitis C Virus Infection

Hironori Mitsuyoshi and Yoshito Itoh

*Department of Molecular Gastroenterology and Hepatology,
Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science*

抄 録

C型肝炎ウイルス (HCV) の抗ウイルス療法は劇的な進歩を遂げている。Genotype1 型高ウイルス量はインターフェロン単独では著効 (SVR) が困難であったが、ペグインターフェロンとリバビリンの併用療法で SVR 率が 50% に向上し、さらにプロテアーゼ阻害剤の追加で初回治療と再燃例の SVR 率は 90% に向上している。HCV の非構造領域 (NS) を標的とする direct-acting antiviral agents (DAAs) の併用でインターフェロンフリーの治療も可能である。ダクラタスビル+アスナプレビル併用療法の国内臨床試験では代償性肝硬変を含む genotype 1 型の SVR 率は 85% である。しかし、治療前から NS5A 領域に耐性変異が存在する症例では SVR 率が 41% に低下し、break through や再燃を来した症例に多剤耐性変異や高度耐性変異が検出される。ソホスブビル+リバビリン併用療法の国内臨床試験では代償性肝硬変を含む genotype 2 型の SVR 率は 97% であり同症例の第一選択薬である。ソホスブビル+レディパスビル併用療法の国内臨床試験では代償性肝硬変を含む genotype 1 型の SVR 率が 100% と報告されており、薬剤耐性変異やプロテアーゼ阻害剤治療歴の影響が少ない。今後は副作用が少ない DAA 併用治療の普及が見込まれるが、耐性変異や肝発癌抑制効果を考慮しつつ適切な治療法を選択する必要がある。

キーワード：C型肝炎, 抗ウイルス療法, DAA.

Abstract

Antiviral therapies against hepatitis C virus (HCV) infection have made remarkable progress. Although genotype 1 patients with high viral load were difficult to achieve a sustained viral response (SVR) to interferon monotherapy, the rates of SVR were increased up to 50% by pegylated-interferon + ribavirin combination therapy and were further increased to 90% by additional protease inhibitors. IFN free regimens have been available using direct-acting antiviral agents (DAAs) targeting nonstructural regions of HCV. Daclatasvir + asunaprevir combination therapy provides SVR of 85% in genotype 1 patients with or without compensated cirrhosis. However, the presence of resistance-associated HCV variants results in SVR of 41% and the emergence of multidrug-resistant or highly resistant variants to

平成27年 8月25日受付

*連絡先 光吉博則 〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路上ル梶井町465番地
hmitsu@koto.kpu-m.ac.jp

DAA after treatment failure. Sofosbuvir + ribavirin combination therapy, which is the first line for genotype 2 patients with or without compensated cirrhosis, provides SVR of 97%. Sofosbuvir + ledipasvir combination therapy provides SVR of 100% in genotype 1 patients with or without compensated cirrhosis despite the presence of resistance-associated variants or previous treatment with protease inhibitors. An appropriate therapy must be chosen for individual patients by taking account of resistance-associated variants and inhibitory effects on hepatocarcinogenesis in the spread of DAA combination therapies without severe adverse events.

Key Words: Hepatitis C, Antiviral Therapy, DAA.

はじめに

我が国のC型肝炎ウイルス(HCV)の抗ウイルス療法は1992年のインターフェロン(IFN)単独治療にはじまる。当時は期待されたほどの著効(sustained virological response: SVR)が得られなかったが、これは我が国の70%のHCV患者がIFN抵抗性のgenotype 1型に感染していたことによる。すなわち、genotype 1型で高ウイルス量($\geq 5 \log \text{IU/ml}$)の症例はIFN単独治療で数%のSVR率しか得られなかったからである。その後、抗ウイルス薬のリバビリン(RBV)が2001年に追加され、長時間作用型のペグ化IFN(Peg-IFN)が2003年に登場した。2004年から始まる48週間のPeg-IFN/RBV併用療法ではSVR率が50%に向上し¹⁾、治療の反応性から投与期間を72週間に延長するresponse-guided therapyも行われた²⁾。一方、HCVコア蛋白のアミノ酸変異(70番と91番)³⁾やinterleukin 28B(IL28B)遺伝子の一塩基多型⁴⁾から治療効果も予測し易くなった。2011年からプロテアーゼ阻害剤/Peg-IFN/RBV併用療法が始まり、現在では初回治療と再燃例におけるSVR率が90%近くまで向上している。このようにIFN治療は著しく進歩したが、高齢やうつ病などのIFN不耐容や、血小板数低下などのIFN不適格の症例は治療が困難という課題が残されている。

プロテアーゼ阻害剤/ Peg-IFN/RBV併用療法

プロテアーゼ阻害剤はHCVの非構造領域(NS)のタンパクであるNS3/4Aのプロテアーゼ活性を阻害してウイルスの増殖を抑制する。わ

が国では2011年にテラプレビル(TVR)が承認され、2013年と2014年にシメプレビル(SMV)とバニプレビル(VAN)がそれぞれ承認されている。プロテアーゼ阻害剤は分子構造の違いで分類される。直鎖状分子構造のTVRは第一世代、大環状分子構造のSMVとVANは第二世代と呼ばれる。プロテアーゼ阻害剤を12週間併用することでPeg-IFN/RBVの投与期間が24週間に短縮される。ただし、VANは前治療無効例に限り24週間併用する。3剤併用療法の適応は初回治療またはプロテアーゼ阻害剤の治療歴がないgenotype 1型高ウイルス量や、IFN治療歴があるgenotype 1型低ウイルス量である。Genotype 2型は再治療に限りTVR/Peg-IFN/RBV併用療法が可能である。なお、いずれも肝硬変は適応外である。Genotype 1型の初回治療に対するTVRの国内第3相臨床試験⁵⁾ではSVR率が73%(92/126)と良好な成績であったが、TVRによる皮膚障害、腎障害、貧血などの重篤な副作用が重視され、一般臨床では使用に際して慎重さが求められている。TVRと比較してSMVやVANは副作用が軽微であり忍容性が高い。Genotype 1型の初回治療に対するSMVとVANの国内第3相臨床試験ではSVR率がそれぞれ89%(109/123)と84%(82/98)であり^{6,7)}、前治療再燃ではいずれもSVR率が90%を超えていた^{7,8)}。SMVやVANはPeg-IFN/RBV無効例にも有用である。すなわち、治療中にHCV-RNAが陰性化しなかったが、12週目のウイルス量低下が2 log以上のpartial responderは3剤併用療法のSVR率が約70%である^{7,9)}。しかし、12週目のウイルス量低下が2 log未満のnull responderは効果が期待できない^{7,9)}。C型肝炎治療ガイドライン(第3.4版)¹⁰⁾はIFN適格

例で genotype 1 型高ウイルス量の初回治療またはプロテアーゼ阻害剤治療歴がない再治療 (null responder を除く) に SMV または VAN の 3 剤併用療法を推奨している。

IFN フリーの治療

IFN は宿主の免疫を活性化させて抗ウイルス効果を発揮する。これに対して HCV の増殖を直に抑制する抗ウイルス薬は direct-acting antiviral agents (DAAs) と呼ばれる。DAA はウイルスの粒子形成やゲノム複製に重要な HCV の NS 領域を標的とする経口薬である。HCV ゲノムは約 3000 のアミノ酸をコードし、N 末端側から順に core (C1), エンベロープ (E1, E2), P7, NS2-5 から構成される前駆体に翻訳される (図 1)。構造蛋白である C1, E1, E2 は宿主の内因性ペプチダーゼに切断されてウイルス粒子を形成する。一方、NS 領域は NS4A を補因子とする NS3 のプロテアーゼ活性で NS4B, NS5A, NS5B が順次切断される (図 1)。NS5A は HCV ゲノムの複製複合体を形成し、NS5B は RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ活性によりゲノムを複製する。現在、NS3/4A, NS5A, NS5B をそれぞれ標的とする DAA が開発されている (表 1)。TVR, SMV, VAN などのプロテアーゼ阻害剤は NS3/4A を標的とする DAA に含まれる。NS5A 阻害剤と NS5B 阻害剤はそれぞれ異なる作用機序で HCV ゲノムの複製を阻害する。NS5B 阻害剤には chain terminator として作用する核酸型と、ポリメラーゼ活性を直接阻害する非核酸型がある。標的の異なる DAA を併用することで SVR を達成することが可能であり、IFN 治療に

比較して副作用が軽微である。表 2 に日本肝臓学会、米国肝臓学会、欧州肝臓学会がそれぞれ genotype 1 型に推奨する DAA 併用療法を示す。欧米の学会は代償性肝硬変に RBV の追加や治療期間の延長を推奨しているが、我が国では保険適応外である。

ダクラタスビルと アスナプレビル併用療法

わが国では 2014 年 9 月から NS5A 阻害剤のダクラタスビル (DCV) と第二世代プロテアーゼ阻害剤のアスナプレビル (ASV) の併用療法が始まった。適応は代償性肝硬変を含む genotype 1 型で IFN 不耐容・不適格または IFN 無効に限られていたが、初回治療例と再燃例の臨床試験を経て 2015 年 3 月から制限が撤廃された。IFN 不耐容・不適格例と IFN 無効例に対する国内第 3 相臨床試験¹⁾ では 24 週間の DCV/ASV 投与で SVR 率がそれぞれ 87% (118/135) と 81% (70/87) であった。代償性肝硬変症例に限っても SVR 率は 91% (20/22) であった。初回治療例と再燃例に対する第 3 相臨床試験においても良好な成績を収めている。いずれの臨床試験においても IFN 治療効果に関わる宿主側因子やウイルス量と SVR 率との間に相関は認めていない。しかし、後述するように治療前の HCV 耐性変異が治療効果の重要な決定因子となる。IFN 不耐容・不適格例と IFN 無効例に対する臨床試験では 11 名 (5%) が有害事象で治療を中止したが、10 名はグレード 3 (= 正常上限の 5 倍以上) または 4 (= 正常上限の 10 倍以上) のトランスアミナーゼ異常が原因であった。肝機能障害は

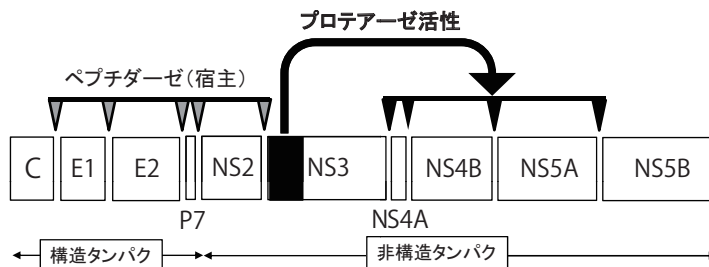


図 1 HCV の遺伝子構造

表1 NS領域を標的とするDAA製剤

| NS3/4Aプロテアーゼ阻害剤 | NS5A阻害剤 | NS5Bポリメラーゼ阻害剤 | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|------------------------------------|
| | | 核酸型 | 非核酸型 |
| Telaprevir Boceprevir Simeprevir Paritaprevir Asunaprevir Vaniprevir Vedroprevir Sovaprevir Grazoprevir ACH-2684 | Daclatasvir Ledipasvir Ombitasvir Elbasvir GS-5816 ACH-3102 | Sofosbuvir MK-3682 ACH-3422 AL-335 | Dasabuvir Beclabuvir GS-9669 |

表2 各学会が推奨する genotype 1 型に対する DAA 併用治療

| | NS3/4A阻害剤 | | | NS5A阻害剤 | | | NS5B阻害剤 | | RBV |
|--------|-------------|--------------|------------|-------------|------------|------------|------------|-----------|-----|
| | asunaprevir | paritaprevir | simeprevir | daclatasvir | ledipasvir | ombitasvir | sofosbuvir | dasabuvir | |
| 日本肝臓学会 | ○ | | | ○ | | | | | |
| 米国肝臓学会 | | ○ | | | | ○ | ○ | ○ | △ |
| | | | ○ | | | | ○ | | △ |
| 欧州肝臓学会 | | ○ | | | | ○ | ○ | ○ | △ |
| | | | ○ | | | | ○ | | △ |
| | | | | ○ | | | ○ | | △ |

△=肝硬変のみに併用

中止後に速やかに改善し、8名がSVRを達成している。肝機能障害の頻度が比較的高いため、一般臨床では12週目までは2週間ごとの肝機能検査が推奨されている。主な副作用症状は鼻咽頭炎、頭痛、下痢などでいずれも軽微である。両剤とも併用禁忌薬が多いので注意が必要である。

DAA 耐性ウイルス

DAAは単剤で投与すると標的領域のアミノ酸が変異した耐性ウイルスが出現する。DCVではNS5A領域の31番目(L31M/V)と93番目(Y93H)のアミノ酸変異が、ASVではNS3/4A領域の168番目のアミノ酸変異(D168A/E/V)が耐性変異として知られている。DCV/ASV投与前から耐性を獲得している自然耐性ウイルスも存在する。D168の自然耐性変異が検出される症例は1%未満であるが、Y93の自然耐性変異は11~17%と比較的高い¹¹⁾¹²⁾。ダイレクトシーケンス法で治療前にY93変異なしの症例

はSVR率が91%(168/184)であるが、L31またはY93の変異ありの症例はSVR率が41%(15/37)と大幅に低下する¹¹⁾。さらに、break throughや再燃を来したほとんどの症例(29/34)にD168, L31, Y93のすべての変異が検出される¹¹⁾。D168の変異は増殖適合性(replication fitness)が低いために比較的短期間で検出感度以下になるが、L31とY93の変異はreplication fitnessが保たれるために長期間検出される¹³⁾。しかも、L31とY93の同時変異は野生株に比較して数千倍以上のDCV耐性強度を獲得する¹⁴⁾。このように、DCV/ASV治療前の耐性変異はSVR率の低下だけでなく、多剤耐性変異や高度耐性変異を誘導する危険があるため、C型肝炎治療ガイドライン(第3.4版)¹⁰⁾は治療前にL31とY93の変異を確認するように推奨している。L31やY93の耐性変異が検出される症例はSMVやVANの3剤併用療法が有効な場合もある。過去にプロテアーゼ阻害剤の治療歴がある症例はD168の耐性変異が生じている可能性があり、

C型肝炎治療ガイドライン（第3.4版）^{10）}はDCV/ASV併用療法前にD168変異の確認を推奨している。

ソホスブビル

ソホスブビル（SOF）は核酸型のNS5B阻害剤である。肝細胞内でウリジン三リン酸型に変換された活性体がHCVゲノム複製の際に取り込まれて伸長反応を止める。ヒトDNA及びRNAポリメラーゼの阻害作用はない。SOFは複数のHCV genotypeに抗ウイルス効果を発揮する。わが国では2015年5月から代償性肝硬変を含むgenotype 2型にSOFとRBVの併用療法が開始された。2015年7月には代償性肝硬変を含むgenotype 1型にSOFとNS5A阻害剤であるレディパスビル（LDV）の併用療法が承認されている。いずれもIFN不耐容・不適格やIFN無効の制限はなく投与期間は12週間である。SOF/RBV併用療法の国内第3相臨床試験^{15）}では初回治療と治療歴がある症例のSVR率がそれぞれ98%（88/90）と95%（60/63）であった。代償性肝硬変に限ってもSVR率は94%（16/17）であった。これらの良好な成績からC型肝炎治療ガイドライン（第3.4版）^{10）}はSOF/RBV併用療法をgenotype 2型の第一選択に推奨している。SOF/LDV併用療法の国内第3相臨床試験^{16）}ではSOF/LDV投与群とSOF/LDV/RBV投与群が比較検討された。SOF/LDV群とSOF/LDV/RBV群のSVR率はそれぞれ100%（171/171）と98%（167/170）で差を認めなかった。両群とも同程度の肝硬変症例が含まれてお

り（SOF/LDV群=24%、SOF/LDV/RBV群=21%）、肝硬変に対するRBVの追加効果はないように見える。DCV/ASV併用療法では治療困難が予想されるNS5A領域の耐性変異やプロテアーゼ阻害剤治療歴がある症例でもSVR率がそれぞれ99%（75/76）と100%（40/40）であった。SOF/RBVとSOF/LDVの主な副作用は鼻咽頭炎、頭痛、倦怠感、皮膚掻痒感などでありいずれも軽微である。SOFは腎排泄型であるため重度の腎機能障害者（eGFR<30ml/min/1.73m²）には禁忌となっている。RBVは貧血を来しやすいのでヘモグロビン値によって用量調節が必要である。

おわりに

IFN治療の進歩で多くのC型肝炎患者がSVRを達成するようになり、DAA併用療法の登場でIFNが使用困難な患者もSVRが可能になった。DAA併用療法は副作用が軽度でIFN治療と同等以上のSVR率が期待できるため、今後はDAA併用治療が普及していくと予想される。しかし、IFN治療はDAA耐性変異の影響を受けにくい利点がある。さらに、IFN治療は肝発癌抑制効果が報告されているが^{17）}、DAA併用療法については今後、確認が必要である。これらの問題点を考慮しながら症例によって最適の治療法を選択する必要がある。

伊藤義人は Bristol-Myers Squibb (株)、MSD (株) から講演料を Bristol-Myers Squibb (株)、MSD (株)、アッヴィ 合同会社 から研究費を受領している。

文

- 1) Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Gonçales FL Jr, Häussinger D, Diago M, Carosi G, Dhumeaux D, Craxi A, Lin A, Hoffman J, Yu J. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002; 347: 975-82.
- 2) Mangia A, Minerva N, Bacca D, Cozzolongo R, Ricci GL, Carretta V, Vinelli F, Scotto G, Montalto G, Romano M, Cristofaro G, Mottola L, Spirito F, Andriulli

献

- A. Individualized treatment duration for hepatitis C genotype 1 patients: A randomized controlled trial. *Hepatology* 2008; 47: 43-50.
- 3) Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. Predictors of viral kinetics to peginterferon plus ribavirin combination therapy in Japanese patients infected with hepatitis C virus genotype 1b. *J Med Virol* 2007; 79: 1686-95.

- 4) Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, Kurosaki M, Matsuura K, Sakamoto N, Nakagawa M, Korenaga M, Hino K, Hige S, Ito Y, Mita E, Tanaka E, Mochida S, Murawaki Y, Honda M, Sakai A, Hiasa Y, Nishiguchi S, Koike A, Sakaida I, Imamura M, Ito K, Yano K, Masaki N, Sugauchi F, Izumi N, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet* 2009; 41: 1105-9.
- 5) Kumada H, Toyota J, Okanoué T, Chayama K, Tsubouchi H, Hayashi N. Telaprevir with peginterferon and ribavirin for treatment-naive patients chronically infected with HCV of genotype 1 in Japan. *J Hepatol* 2012; 56: 78-84.
- 6) Hayashi N, Izumi N, Kumada H, Okanoué T, Tsubouchi H, Yatsushashi H, Kato M, Ki R, Komada Y, Seto C, Goto S. Simeprevir with peginterferon/ribavirin for treatment-naive hepatitis C genotype 1 patients in Japan: CONCERTO-1, a phase III trial. *J Hepatol* 2014; 61: 219-27.
- 7) MSD. バニヘップインタビューフォーム 2014.
- 8) Izumi N, Hayashi N, Kumada H, Okanoué T, Tsubouchi H, Yatsushashi H, Kato M, Ki R, Komada Y, Seto C, Goto S. Once-daily simeprevir with peginterferon and ribavirin for treatment-experienced HCV genotype 1-infected patients in Japan: the CONCERTO-2 and CONCERTO-3 studies. *J Gastroenterol* 2014; 49: 941-53.
- 9) Zeuzem S, Berg T, Gane E, Ferenci P, Foster GR, Fried MW, Hezode C, Hirschfield GM, Jacobson I, Nikitin I, Pockros PJ, Poordad F, Scott J, Lenz O, Peeters M, Sekar V, De Smedt G, Sinha R, Beumont-Mauviel M. Simeprevir increases rate of sustained virologic response among treatment-experienced patients with HCV genotype-1 Infection: a phase IIb trial. *Gastroenterology* 2014; 146: 430-41.
- 10) 日本肝臓学会肝炎診療ガイドライン作成委員会 C型肝炎治療ガイドライン (第3.4版) 2015年5月.
- 11) Kumada H, Suzuki Y, Ikeda K, Toyota J, Karino Y, Chayama K, Kawakami Y, Ido A, Yamamoto K, Takaguchi K, Izumi N, Koike K, Takehara T, Kawada N, Sata M, Miyagoshi H, Eley T, McPhee F, Damokosh A, Ishikawa H, Hughes E. Daclatasvir Plus Asunaprevir for Chronic HCV Genotype 1b Infection. *Hepatology* 2014; 59: 2083-2091.
- 12) Suzuki F, Sezaki H, Akuta N, Suzuki Y, Seko Y, Kawamura Y, Hosaka T, Kobayashi M, Saito S, Arase Y, Ikeda K, Kobayashi M, Mineta R, Watahiki S, Miyakawa Y, Kumada H. Prevalence of hepatitis C virus variants resistant to NS3 protease inhibitors or the NS5A inhibitor (BMS-790052) in hepatitis patients with genotype 1b. *J Clin Virol* 2012; 54: 352-4.
- 13) Yoshimi S, Imamura M, Murakami E, Hiraga N, Tsuge M, Kawakami Y, Aikata H, Abe H, Hayes CN, Sasaki T, Ochi H, Chayama K. Long term persistence of NS5A inhibitor-resistant hepatitis C virus in patients who failed daclatasvir and asunaprevir therapy. *J Med Virol*. 2015 doi: 10.1002/jmv.24255. [Epub ahead of print]
- 14) Pawlotsky JM. NS5A inhibitors in the treatment of hepatitis C. *J Hepatol* 2013; 59: 375-82.
- 15) Omata M, Nishiguchi S, Ueno Y, Mochizuki H, Izumi N, Ikeda F, Toyoda H, Yokosuka O, Nirei K, Genda T, Umemura T, Takehara T, Sakamoto N, Nishigaki Y, Nakane K, Toda N, Ide T, Yanase M, Hino K, Gao B, Garrison KL, Dvory-Sobol H, Ishizaki A, Omote M, Brainard D, Knox S, Symonds WT, McHutchison JG, Yatsushashi H, Mizokami M. Sofosbuvir plus ribavirin in Japanese patients with chronic genotype 2 HCV infection: an open-label, phase 3 trial. *J Viral Hepat* 2014; 21: 762-8.
- 16) Mizokami M, Yokosuka O, Takehara T, Sakamoto N, Korenaga M, Mochizuki H, Nakane K, Enomoto H, Ikeda F, Yanase M, Toyoda H, Genda T, Umemura T, Yatsushashi H, Ide T, Toda N, Nirei K, Ueno Y, Nishigaki Y, Betular J, Gao B, Ishizaki A, Omote M, Mo H, Garrison K, Pang PS, Knox SJ, Symonds WT, McHutchison JG, Izumi N, Omata M. Ledipasvir and sofosbuvir fixed-dose combination with and without ribavirin for 12 weeks in treatment-naive and previously treated Japanese patients with genotype 1 hepatitis C: an open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Infect Dis* 2015; 15: 645-53.
- 17) Izumi N, Asahina Y, Kurosaki M, Yamada G, Kawai T, Kajiwara E, Okamura Y, Takeuchi T, Yokosuka O, Kariyama K, Toyoda J, Inao M, Tanaka E, Moriwaki H, Adachi H, Katsushima S, Kudo M, Takaguchi K, Hiasa Y, Chayama K, Yatsushashi H, Oketani M, Kumada H. Inhibition of hepatocellular carcinoma by PegIFNalpha-2a in patients with chronic hepatitis C: a nationwide multicenter cooperative study. *J Gastroenterol* 2013; 48: 382-90.

著者プロフィール



光吉 博則 Hironori Mitsuyoshi

所属・職：京都府庁健康管理医（総括）

京都府立医科大学医学研究科消化器内科学・講師（併任）

略 歴：1992年3月 京都府立医科大学医学部 卒業

1992年5月 京都府立医科大学第三内科

1999年4月～2000年3月 大阪労働衛生センター第一病院消化器科

2000年4月～2003年3月 洛和会丸太町病院消化器科

2003年4月～2007年3月 京都府生活福祉室医務主幹

2007年4月～2009年3月 京都府立医科大学消化器内科学助教

2009年4月～2014年3月 京都府立医科大学消化器内科学講師（学内）

2014年4月～現職

専門分野：肝臓病

- 業績：1. Mitsuyoshi H, Nakashima T, et al. Ursodeoxycholic acid enhances glucocorticoid-induced tyrosine aminotransferase-gene expression in cultured rat hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997 Nov 26; 240(3): 732-6.
2. Mitsuyoshi H, Nakashima T, Sumida Y, Yoh T, Nakajima Y, Ishikawa H, Inaba K, Sakamoto Y, Okanoue T, Kashima K. Ursodeoxycholic acid protects hepatocytes against oxidative injury via induction of antioxidants. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999 Sep 24; 263(2): 537-42.
3. Mitsuyoshi H, Senmaru H, Okanoue T. Insulin resistance/beta-cell function and serum ferritin level in non-diabetic patients with hepatitis C virus infection. *Liver Int*. 2003 Aug; 23(4): 294-9.
4. Mitsuyoshi H, Itoh Y, Sumida Y, Minami M, Yasui K, Nakashima T, Okanoue T. Evidence of oxidative stress as a cofactor in the development of insulin resistance in patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Res* 2008 Apr; 38(4): 348-53.
5. Mitsuyoshi H, Yasui K, Harano Y, Endo M, Tsuji K, Minami M, Itoh Y, Okanoue T, Yoshikawa T. Analysis of hepatic genes involved in the metabolism of fatty acids and iron in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res* 2009 Apr; 39(4): 366-73.
6. Mitsuyoshi H, Yasui K, Yamaguchi K, Minami M, Okanoue T, Itoh Y. Pathogenic Role of Iron Deposition in Reticuloendothelial Cells during the Development of Chronic Hepatitis C. *Int J Hepatol* 2013; 2013: 686420.