

- stimulated response element.
10th International Meeting on
Hepatitis C Virus and Related
Viruses, Kyoto Japan, 2003.
27. 渡士 幸一、土方 誠、石井 直人、下遠野 邦忠、C型肝炎ウイルスゲノム複製を抑制する薬剤の探索、第62回日本癌学会総会、名古屋、平成15年9月
28. 渡士 幸一、土方 誠、下遠野 邦忠、シクロスポリンのC型肝炎ウイルスゲノム複製に与える影響、第2回日本肝臓学会シングルトラックカンファレンス、大津、平成15年10月
29. Ohshima, T. and Shimotohno, K. Involvement of p38 MAP kinase in the SUMO-1 modification of Smad4. 第76回日本生化学会総会、横浜、平成15年10月
30. 高橋 仁、土方 誠、保坂 匡洋、山路 剛史、宮成 悠介、下遠野 邦忠、HCV subgenomic replicon 細胞を用いた HCV genome RNA 5' 末端構造の解析、第51回日本ウイルス学会学術集会、京都、平成15年10月
31. 高橋 仁、土方 誠、土井 崇広、保坂 匡洋、山路 剛史、宮成 悠介、下遠野 邦忠、C型肝炎ウイルス(HCV)持続複製阻害に関与する細胞性因子の探索、第51回日本ウイルス学会学術集会、京都、平成15年10月
32. 宮成 悠介、土方 誠、保坂 匡洋、山路 剛史、高橋 仁、下遠野 邦忠、セミインタクトレプリコン細胞を用いた HCV ゲノム複製機構の解析、第51回日本ウイルス学会学術集会、京都(ワークショップ、WS02-03)、平成15年10月
33. 渡士 幸一、土方 誠、小柳 三千代、下遠野 邦忠、C型肝炎ウイルス Core タンパク質相互作用因子 Sp110b の機能解析、第51回日本ウイルス学会学術集会、京都、平成15年10月
34. 渡士 幸一、土方 誠、石井 直人、下遠野 邦忠、C型肝炎ウイルスのゲノム複製を抑制する薬剤の探索、およびその抗 HCV 効果の分子機構の解析、第51回日本ウイルス学会学術集会、京都、平成15年10月
35. 大島 隆幸、下遠野 邦忠、TGF-beta シグナルにおける p38 MAP kinase 情報伝達系は Smad4 の SUMO 化修飾を介して Smad 依存的な転写を活性化する、第26回日本分子生物学会年会、神戸、平成15年12月
36. 渡士 幸一、土方 誠、小柳 三千代、下遠野 邦忠、RAR 転写コファクター Sp110b の同定およびその機能解析、第26回日本分子生物学会年会、神戸、平成15年12月
37. Naka, K., Dansako, H., Kobayashi, N., Ikeda, M. and Kato, N. Hepatitis C virus NS5B activates TLR3 signaling pathway in non-cancerous hepatocytes. 11th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Heidelberg, Germany, 2004
38. Ikeda, M., Abe, K., Dansako, H., Nakamura, T., Naka, K. and Kato, N. Characterization of cured cells derived from clonal Huh-7 cell line carrying replicating a newly

- established genome-length HCV RNA (HCV-O). 11th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Heidelberg, Germany, 2004
39. Dansako, H., Naka, K., Kobayashi, N., Ikeda, M. and Kato, N. Distraction of interferon signaling pathway in non-cancerous hepatocytes by HCV proteins. 11th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Heidelberg, Germany, 2004
40. Abe, K., Ikeda, M., Dansako, H., Naka, K., Shimotohno, K. and Kato, N. cDNA microarray analysis to compare HCV subgenomic and genome-length RNA replicating cells with their cured cells. 11th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Heidelberg, Germany, 2004
41. 仲 一仁、團迫 浩方、小林 直哉、池田 正徳、加藤 宣之、C型肝炎ウイルスNS5B蛋白質によるTLR3シグナル経路の活性化、第52回日本ウイルス学会学術集会、横浜、平成16年11月
42. 池田 正徳、阿部 健一、團迫 浩方、中村 孝志、仲 一仁、加藤 宣之、HCV-0(1B-2)株由来の全長HCV RNA複製系の開発、第52回日本ウイルス学会学術集会、横浜、平成16年11月
43. 田村 一志、大上 厚志、清水 宣明、加藤 宣之、星野 洪郎、Native formのHCV envelopeを持つVSV pseudotype virusの作製、およびその感染性についての検討、第52回日本ウイルス学会学術集会、横浜、平成16年11月
44. 阿部 健一、池田 正徳、團迫 浩方、仲 一仁、下遠野 邦忠、加藤 宣之、C型肝炎ウイルス(HCV)レプリコン細胞および全長HCV RNA複製細胞を用いたcDNAマイクロアレイ解析、第52回日本ウイルス学会学術集会、横浜、平成16年11月
45. 渡士 幸一、土方誠、下遠野 邦忠、シクロスポリンによるHCVゲノム複製制御のしくみ、第63回日本癌学会学術総会、福岡、平成16年9月
46. 土方 誠、高橋 仁、下遠野 邦忠、C型肝炎ウイルスとインターフェロンシグナル、第63回日本癌学会学術総会、福岡、平成16年9月
47. 村田 貴之、土方 誠、下遠野 邦忠、Erk阻害剤によるHCV IRES活性の増強、第52回日本ウイルス学会学術集会、横浜、平成16年11月
48. 村田 貴之、宮城 悠介、土方 誠、下遠野 邦忠、TGF-βによるC型肝炎ウイルス(HCV)レプリコン複製の抑制、第52回日本ウイルス学会学術集会、横浜、平成16年11月
49. 渡士 幸一、石井 直人、土方 誠、井上 大輔、脇田 隆字、下遠野 邦忠、シクロフィリンによるHCVゲノム複製制御、第52回日本ウイルス学会学術集会、横浜、平成16年11月
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許出願
名称：レポーター遺伝子産物を発現するHCV全長ゲノム複製

製細胞、当該細胞を用いたス
クリーニング方法、および C
型肝炎治療用組成物

発明者：加藤 宣之 他

整理番号：OP00089

特願：2005-133158

2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

II. 分担研究報告

厚生科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
（総合）研究報告書

C型肝炎ウイルスタンパク質による細胞の増殖変化に関する機能解析

主任研究者 加藤 宣之 岡山大学大学院医歯学総合研究科・教授

研究要旨：C型肝炎ウイルス（HCV）感染による肝発がんの予防を目指してひとつには、感染細胞の増殖変化の分子機構の解明、もうひとつとして、感染者からのウイルスの排除および治療をめざして、以下の研究を行った。（1）HCVゲノム自律複製細胞の樹立とその細胞の解析。HCVゲノムが恒常的に自律複製する培養細胞を樹立し、それを用いた、ウイルスゲノム複製機構を解析した。その結果、ウイルスゲノムの複製がサイクロスポリンにより強く阻害されることを見いだした。サイクロスポリンには免疫機構を抑制する作用があるが、HCVゲノム複製の阻害は、サイクロスポリンの免疫抑制阻害活性ではなく、サイクロスポリンと結合し、その酵素活性が抑制されるサイクロフィリンにより制御されていることを示唆する成果を得た。さらにシクロフィリンBがHCVゲノムの複製に重要であることを見出した。（2）HCVタンパク質の中に細胞の増殖を制御するタンパク質が存在するが、その分子機構は不明であった。本研究において、コアタンパク質が核内ホルモン受容体の転写活性をあげることを明らかにした。ATRA処理によるコアタンパク質を産生する細胞のアポトーシス誘導がRAR α の下流遺伝子の活性化で説明出来た。（3）ウイルス複製を制御する細胞側因子の中で自然免疫機能に関与するものを明らかにした。（4）HCVゲノムを定量可能なマウスモデルシステムを樹立した。

分担研究者 下遠野 邦忠
京都大学ウイルス研究所・教授

A. 研究目的

C型肝炎ウイルス（HCV）感染による慢性肝炎の発症には宿主免疫機構の活性化による感染細胞の監視による細胞死、それに伴う肝臓細胞の再生が主たる原因であると考えられているが、その機構の詳細は不明である。HCV蛋白質を産生する細胞においては、細胞の増殖様式が非産生細胞に比べて異なることが観察されている。従って、慢性肝炎発症には宿主免疫による場合に加えてウイルス

蛋白質による細胞増殖制御が相加的あるいは相乗的に作用する必要がある可能性がある。本研究ではウイルスタンパク質が細胞増殖に及ぼす効果とその機構を明らかにしつつ、HCV感染による病気発症の予防に向けた研究を行うことを目的とする。さらにHCV感染防御の観点からウイルス増殖を制御するウイルスおよび細胞側因子を明らかにするために効率よいウイルスゲノム複製系を構築し、それを用いたウイルスゲノム複製制御を明らかにする。

B. 研究方法

(1) コア産生細胞を用いて種々の薬剤処理による細胞の増殖が、コアの有り無しでどのように変化するかを観察する。本細胞について増殖特性を調べる。通常の状態では増殖に対して顕著な違いを示さないので、細胞増殖を制御する因子を培地に投与しそれによる細胞増殖をコア発現細胞と非発現細胞とで比較する。

(2) コア蛋白質に会合する細胞側蛋白質の単離と機能解析

コア蛋白質と会合する細胞側蛋白質の単離を酵母の two-hybrid 系を用いて行う。

(3) コアと会合する蛋白質の機能から推定されるコア蛋白質の機能解析。

コア蛋白質と会合する蛋白質の機能解析を行うと同時に、コアの細胞増殖へ及ぼす役割を明らかにする。

(4) HCV ゲノムが自律的に複製する培養細胞の樹立。

HCV ゲノムが細胞内で自律的に複製する細胞の樹立を行うために異なる配列からなる HCV ゲノムを作成する。それらを培養細胞 Huh7 に導入し、ゲノムに挿入した薬剤耐性因子をマーカーにして選択し複製効率の高い自律複製細胞（レプリコン細胞を樹立する）

(5) レプリコン細胞を用いた複製制御因子の解析

(4) で得られた細胞について増殖特性を調べる。また、複製効率の高い細胞を選択し、それを用いて HCV ゲノム複製を制御する細胞側因子の解析を行う。そのために、市販されている各種薬剤をレプリコン細胞に投与して、ウイルスゲノム複製変化を調べる。複製が強く抑制する試薬が見つかった場合に、その試薬

の作用機序を指標にして複製の分子機構および複製制御の分子機構の解析を行う。

(6) コアと会合する蛋白質の機能から推定されるコア蛋白質の機能解析。

コア蛋白質と会合する蛋白質の機能解析を行うと同時に、コアの細胞増殖へ及ぼす役割を明らかにする。

(7) 自然免疫に係わる細胞側因子のうち TLR3 からのシグナルが HCV ゲノム複製に与える影響を明らかにする。

(8) 新たに合成された HCV RNA を定量可能なマウスモデル系を樹立する。

(倫理面への配慮)

本研究においては、実験及び解析に用いた材料は全てこれまでに確立されているものであり、本年度の研究にはヒトの臨床材料を用いたものがない。そのために倫理面への配慮は特に必要がない。

C. 研究成果

(1) コア発現細胞を細胞増殖を制御する種々の因子で処理し、そのときの細胞増殖性をアポトーシス感受性で解析した。その結果 ATRA 処理した細胞においてはコアの発現が顕著にアポトーシスを誘導することを観察した。このアポトーシス誘導はコア蛋白質の産生と関連しており、コアの量が多い細胞ではアポトーシスが起こりやすい。ATRA は核内受容体の一つである RAR α 依存的な転写活性を活性化するので、RAR α 結合配列を持つレポータープラスミドを用いて転写活性の解析を行った。その結果、期待していたように

RARalpha 依存的な転写活性化の増強がコア蛋白質の発現で観察された。

(2) コア蛋白質と会合する細胞側蛋白質の単離と同定

RARalpha はリガンドと会合して核内へ移行し標的遺伝子の転写活性化を行う。一方コア蛋白質の大部分は細胞質の核膜周辺に局在する。従ってコアによる RARalpha の転写活性化には細胞内でコアに会合して転写活性化をあげる働きを持つ介在分子があると考えられた。そのために、コア蛋白質と会合する蛋白質を単離する試みを行った。

酵母を用いた two-hybrid 法を施行してコア蛋白質と会合する蛋白質を単離した。その中から RARalpha の転写活性をあげる候補蛋白質を得るために発現プラスミドに候補蛋白質の遺伝子を組み込み、それらを細胞に導入し RARalpha 依存的な転写活性を測定したところ、一つの遺伝子にその活性が存在した。その遺伝子を Sp110b と呼びこのものの機能解析を行った。

(3) Sp110b はコアと結合すると同時に RARalpha にも結合して RARalpha 依存的な転写活性を阻害した。

Sp110b を強制発現させると RARalpha 依存的な転写活性を抑制した。この状態の細胞にコアを産生させると抑制効果が緩和された。次に、コアと結合できなくなる Sp110b を作成して同様の実験を行ったが、この場合にはコアを産生させた条件でも活性化は見られなかった。従ってコアによる RARalpha 依存的な転写活性化には Sp110b が必要であると考えられ、また、Sp110b の機能がコアによるこの転写活性化には必須

である事が分かった。すなわち、コアは核内に通常時に存在する Sp110b を細胞質側に局在を変える。その結果 RARalpha 依存的な転写活性を抑制できなくなると考えられる。

(4) RARalpha の下流に存在する tissue transglutaminase (tTG) は細胞のアポトーシスを促進する。

コア蛋白質産生細胞では ATRA 処理によりアポトーシスが誘導されやすくなる事に対して、RARalpha の下流遺伝子の中にアポトーシスを起こしやすくする遺伝子の存在が期待された。種々の候補遺伝子を解析してゆく中で、コア産生細胞を ATRA 処理すると tTG の遺伝子の発現促進が観察された。tTG 遺伝子産物の抑制剤を添加した場合アポトーシスはある程度抑制されたので、本遺伝子産物がアポトーシス誘導に関与していると推定された。

(5) HCV ゲノム自律複製細胞の樹立

HCV ゲノム配列を HCV 感染者の血清中に含まれる HCV RNA の解析をもとにして明らかにした。そのうちの一つについて、ネオマイシン耐性遺伝子をつないだレプリコン RNA を構築した。試験管内反応でゲノム RNA を作成し、それを培養細胞 Huh7 電気閃光法により導入した。その後 G418 で細胞を選択し生き残ってくる細胞を解析し、ウイルスゲノムが自律複製しているのを得た。このようにして、部分ゲノムおよび全ゲノムが自律複製する細胞を得た。

(6) HCV ゲノム自律複製細胞を用いた HCV ゲノム複製機構の解析

HCV ゲノム複製に関与する細胞側因子の解析を目的として、市販の薬の中に HCV ゲノム複製に及ぼすも

のがあるかを解析した。広く用いられている種々の薬は、その薬理作用などが解析されているので、もし、抗 HCV 複製作用を示すものがあれば、すでに明らかにされている薬の作用機序をもとにして HCV ゲノム複製に関わる細胞側の役割が解明できると期待される。約 100 種類の薬について HCV の複製に及ぼす影響を調べ、その結果、インターフェロンアルファおよびベータに加えて、サイクロスポリン A に強い抗 HCV 複製効果を見いだした。すなわち、1 マイクログラム/m¹ 濃度のサイクロスポリンで 1 週間処理すると、ウイルス RNA 量は処理前の約 1000 分の 1 に低下した。また、サイクロスポリンとインターフェロンを同時に処理するとウイルス RNA は単独投与の場合よりもさらに低下した。サイクロスポリンは免疫抑制作用があり、臓器移植患者に用いられている。類似の免疫抑制剤である FK506 にはこのような HCV ゲノム複製抑制能は観察されない。このことは、サイクロスポリンの免疫抑制能以外の働きが HCV ゲノム抑制に重要であると考えられる。そこで、サイクロスポリンの誘導体で免疫抑制能が欠失している化合物について HCV 複製能に与える効果を解析した。その結果、免疫抑制能がないサイクロスポリンの誘導体でも HCV ゲノム複製抑制能が存在することを確認した。

(7) シクロフィリン B による HCV ゲノム複製制御

サイクロスポリン A による HCV ゲノム複製抑制効果の分子機構の解析するために、シクロスポリンの標的タンパク質の産生を siRNA で抑制した細胞を樹立し、それらについて HCV

ゲノム複製能を調べた。その結果、シクロフィリン B を抑制するとゲノム複製が強く抑制された。

(8) TLR3 からのシグナルは HCV ゲノム複製を強く抑制する。

HCV ゲノム自律複製細胞に二本鎖 RNA 処理すると TLR3 の発現がない細胞では複製効率に大きな差はないが、TLR3 を発現させると抑制された。この抑制効果は IRF3 の転写活性化と逆相関していた。

(9) 新しく合成される HCVRNA を定量可能にするマウスモデル系を樹立した。これを用いて、生体内での抗 HCV 剤の評価が可能であると期待される。

D. 考察

HCV による肝疾患の発症にはウイルス蛋白質による細胞増殖の制御異常が存在すると考えられる。本研究ではコア蛋白質が核内受容体の転写活性を増進させることを明らかにした。核内転写因子により活性化される細胞側因子は多岐に亘り、その結果細胞増殖も種々に制御される。ATRA 添加によるコア発現細胞のアポトーシスの誘導は核内受容体の下流に位置する遺伝子のひとつである tissue trans-glutaminase によるものと考えられる。事実、コア発現によりこの遺伝子の発現が亢進される。これまでに HCV 感染細胞でホルモンの作用により病態が変化するという報告は多くない。分担者がここに報告した研究内容は HCV 感染とレチノイドとが密接に関連することを示唆している。今後この様な方面からの研究が重要であると考えられる。これまでに HCV 感染細胞でホルモンの作用により病態が変化するという

報告は多くない。分担者がここに報告した研究内容は HCV 感染とレチノイドとが密接に関連することを示唆している。また、Sp110b のアミノ酸配列には LXXLL モチーフが存在する。このモチーフの存在は Sp110b が RARalpha 以外の核内ホルモン受容体に結合することを示唆する。たとえば RXR や PPAR にも結合してそれらの転写活性化を抑制することが考えられる。コアタンパク質は Sp110b の作用を抑制するので、結果的にコアタンパク質による各種核内ホルモン受容体の活性化が推定される。核内ホルモン受容体の下流の遺伝子のひとつに TGF ベータ II が存在するが本因子はコラーゲンの産生を促進することが知られている。HCV 感染患者は肝硬変を発症しやすいと言われているが、これらの患者においては肝組織の繊維化も観察される。HCV 感染により生じる肝の繊維化にはコアのこのような働きが関与する可能性が考えられる。

サイクロスポリンによる HCV ゲノム複製は HCV ゲノム複製の分子機構を解明する点で興味があるだけでなく、肝臓移植患者に於ける C 型慢性肝炎の発症を予防する点においても重要な知見である。近年の生体肝移植を受ける患者には C 型肝炎ウイルス感染による患者が多い。これらの患者に対しては免疫抑制剤が使用されるが、用いる免疫抑制剤の種類により慢性肝炎の発症を制御できる可能性がある。この分野での臨床研究が重要である。また、サイクロスポリンによる HCV ゲノム複製抑制には本薬剤が持つ免疫抑制機能は関係ない。従って、免疫抑制作用のない抗 HCV 剤がサイクロスポリンの研究か

ら見いだされる可能性が考えられると期待される。また、シクロフィリン B を標的にした抗 HCV 剤の開発に道を拓くものである。

自然免疫機能が HCV 複製を制御している可能性が考えられた。インターフェロンに無効な患者に対して自然免疫機能を活性化する様な治療法が開発されれば、効率よいウイルス排除が期待出来る。

E. 結論

ウイルス蛋白質が細胞の増殖を種々の機構で修飾していることを示す報告は多くあるが、コア蛋白質がどのような分子機構で細胞の増殖制御に関わるかについてはほとんど知られていない、本研究においては、コア蛋白質が核内受容体の転写を制御するばかりでなく、細胞側の各種転写活性を Sp110b の機能抑制を介して制御していることが示唆された。このような制御活性が細胞の増殖を変化させている可能性が示唆された。また、HCV ゲノム複製を制御している新たな機構の存在を示し、その機構を標的にした抗 HCV 剤の開発が期待される。自然免疫機能を活性化することによるウイルス排除の可能性が示唆された。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表 論文発表

1. Kishine H, Sugiyama K, Hijikata M, Kato N, Takahashi H, Noshi T, Nio Y, Hosaka M, Miyanari Y, Shimotohno K. Subgenomic replicon derived from a cell line

- infected with the hepatitis C virus. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 293, 993-999, 2002.
2. Shimotohno K., Watashi K, Tsuchihara K, Fukuda K, Marusawa H, Hijikata M. Hepatitis C virus and its roles in cell proliferation. *J. Gastroenterol.*, 37, 50-54, 2002.
 3. Ueda Y, Hijikata M, Takagi S, Takada R, Takada S, Chiba T, Shimotohno K. Wnt/beta-catenin signaling suppresses apoptosis in low serum medium and induces morphologic change in rodent fibroblasts. *Int. J. Cancer.*, 99, 681-688, 2002.
 4. Kato N, Sugiyama K, Namba K, Dansako H, Nakamura T, Takami M, Naka K, Nozaki A, Shimotohno K. Establishment of a hepatitis C virus subgenomic replicon derived from human hepatocytes infected in vitro. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 306, 756-766, 2003.
 5. Miyanari Y, Hijikata M, Yamaji M, Hosaka M, Takahashi H, Shimotohno K. Hepatitis C virus Non-structural proteins in the probable membranous compartment function in viral genome replication. *J. Biol. Chem.*, 278, 50301-50308, 2003.
 6. Ohshima T, Shimotohno K. TGF- β mediated signaling via the p38 MAP kinase pathway activates Smad-dependent transcription through SUMO-1 modification of Smad4. *J. Biol. Chem.*, 278, 50833-50842, 2003.
 7. Watashi K, and Shimotohno K. The roles of hepatitis C virus proteins in modulation of cellular functions: A novel action mechanism of the HCV core protein on gene regulation by nuclear hormone receptors. *Cancer Sci.*, 94, 937-943, 2003.
 8. Watashi K, Hijikata M, Hosaka M, Yamaji M, Shimotohno K. Cyclosporin A suppresses replication of hepatitis C virus genome in cultured hepatocytes. *Hepatology*, 38, 1282-1288, 2003
 9. Watashi K, Hijikata M, Tagawa A, Doi T, Marusawa H, Shimotohno K. Modulation of retinoid signaling by a cytoplasmic viral protein via sequestration of Sp110b, a potent transcriptional corepressor of retinoic acid receptor, from the nucleus. *Mol. Cell. Biol.*, 23, 7498-7509, 2003.
 10. Zhang J, Yamada O, Sakamoto T, Yoshida H, Iwai T, Matsushita Y, Shimamura H, Araki H, Shimotohno K. Down-regulation of viral replication by adenoviral-mediated expression of siRNA against cellular cofactors for hepatitis C virus. *Virology*, 320, 135-143, 2004.
 11. Ohshima T, Koga H, Shimotohno K. Transcriptional activity of peroxisome proliferator-activated receptor gamma is modulated by SUMO-1 modification. *J. Biol. Chem.*, 279, 29551-29557, 2004.
 12. Namba K, Naka K, Dansako H, Nozaki A, Ikeda M, Shiratori Y, Shimotohno K. Kato N. Establishment of hepatitis C virus replicon cell lines possessing interferon-resistant phenotype. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 323, 299-309, 2004.
 13. Shimakami, T., Hijikata, M., Luo, H., Ma, Y. Y., Kaneko, S., Shimotohno, K. and Murakami, S.: Effect of

- Interaction between hepatitis C Virus NS5A and NS5B on hepatitis C virus RNA replication with the hepatitis C virus replicon. *J. Virol.*, 78, 2738-2748. 2004
14. Iwai, A., Marusawa, H., Matsuzawa, S., Fukushima, T., Hijikata, M., Reed J. C., Shimotohno, K. and Chiba, T. : Siah-1L, a novel transcript variant belonging to the human Siah family of proteins, regulates β -catenin activity in a p53-dependent manner. *Oncogene*. 23, 7593-7600, 2004.
 15. Kodama, Y., Hijikata, M., Kageyama, R., Shimotohno, K. and Chiba T. : The role of Notch signaling in the development of intrahepatic bile ducts. *Gastroenterology*, 127, 1776-1786, 2004.
 16. Lin, J-Y. Ohshima, T. and Shimotohno, K.: Association of Ubc9, an E2 ligase for SUMO conjugation, with p53 is regulated by phosphorylation of p53. *FEBS Letters*, 573, 15-18, 2004.
 17. Abe, K., Ikeda, M., Dansako, H., Naka, K., Shimotohno, K. and Kato, N. : cDNA microarray analysis to compare HCV subgenomic replicon cells with their cured cells. *Virus Res.*, 107, 73-81, 2005
 18. Takahashi H, Yamaji M, Hosaka M, Kishine H, Hijikata M, Shimotohno K. Analysis of the 5' end structure of HCV subgenomic RNA replicated in a Huh7 cell line. *Intervirology*, 48, 104-111, 2005.
 19. Obata Y, Yamamoto K, Miyazaki M, Shimotohno K., Kohno S, Matsuyama T. Role of cyclophilin B in activation of interferon regulatory factor-3. *J. Biol. Chem.*, 280, 18355-18360, 2005
 20. Kato N, Nakamura T, Dansako H, Namba K, Abe K, Nozaki A, Naka K, Ikeda M, Shimotohno K. Genetic variation and dynamics of hepatitis C virus replicons in long-term cell culture. *J. Gen. Virol.*, 86:645-656, 2005.
 21. Murata T, Ohshima T, Yamaji M, Hosaka M, Miyanari Y, Hijikata M, Shimotohno K. Suppression of hepatitis C virus replicon by TGF-beta. *Virology*, 331, 407-417, 2005.
 22. Zhang J, Yamada O, Sakamoto T, Yoshida H, Araki H, Shimotohno K. Exploiting cis-acting replication elements to direct hepatitis C virus-dependent transgene expression. *J. Virol.*, 79, in press, 2005.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
1) Kishine, H. (加藤) (下遠野)	Subgenomic replicon derived from a cell line infected with the hepatitis C virus.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	293	993-999	2002
2) Nozaki, A. (加藤)	Quantitative method of intracellular hepatitis C virus RNA using LightCycler PCR.	Acta Med. Okayama	56	107-110	2002
3) Alam, S. (加藤)	Hepatitis C virus quasispecies in cancerous and noncancerous hepatic lesions: The core protein-encoding region.	Acta Med. Okayama	56	141-147	2002
4) Hara, K. (加藤)	Lactoferrin inhibits hepatitis B virus infection in cultured human hepatocytes.	Hepatology Res.	24	228-235	2002
5) Shimotohno, K (下遠野)	Hepatitis C virus and its roles in cell proliferation.	J. Gastroenterol.	37	50-54	2002

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
6) Ueda, Y. (下遠野)	Wnt/beta-catenin signaling suppresses apoptosis in low serum medium and induces morphologic change in rodent fibroblasts.	Int. J. Cancer	99	681-688	2002
7) Nozaki, A (加藤)	Identification of a lactoferrin-derived peptide possessing binding activity to hepatitis C virus E2 envelope protein.	J. Biol. Chem.	278	10162-10173	2003
8) Kato, N. (加藤) (下遠野)	Establishment of a hepatitis C virus subgenomic replicon derived from human hepatocytes infected in vitro.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	306	756-766	2003
9) Dansako, H. (加藤)	Differential activation of interferon-inducible genes by hepatitis C virus core protein mediated by the interferon stimulated response element.	Virus Res.	97	17-30	2003

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
10) Suzuki, K. (加藤)	Adenovirus-mediated gene transfer of interferon alpha improves dimethylnitrosamine-induced liver cirrhosis in rat model.	Gene Ther.	10	765-773	2003
11) Suzuki, K. (加藤)	Adenovirus-mediated gene transfer of interferon α inhibits hepatitis C virus replication in hepatocytes.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	307	814-819	2003
12) Naganuma, A. (加藤)	Promotion of microsatellite instability by hepatitis C virus core protein in human non-neoplastic hepatocyte cells.	Cancer Res.	64	1307-1314	2004
13) Watashi, K. (下遠野)	Cyclosporin A suppresses replication of hepatitis C virus genome in cultured hepatocytes.	Hepatology	38	1282-1288	2003

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
14) Watashi, K. (下遠野)	Modulation of retinoid signaling by a cytoplasmic viral protein via sequestration of Sp110b, a potent transcriptional corepressor of retinoic acid receptor, from the nucleus.	Mol. Cell. Biol.	23	7498-7509	2003
15) Miyanari, Y. (下遠野)	Hepatitis C virus non-structural proteins in the probable membranous compartment function in viral genome replication.	J. Biol. Chem.	278	50301-50308	2003
16) Ohshima, T. (下遠野)	TGF- β mediated signaling via the p38 MAP kinase pathway activates Smad-dependent transcription through SUMO-1 modification of Smad4.	J. Biol. Chem.	278	50833-50842	2003

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌	巻名	ページ	出版年
17) Watashi, K. (下遠野)	The roles of hepatitis C virus proteins in modulation of cellular functions: A novel action mechanism of the HCV core protein on gene regulation by nuclear hormone receptors.	Cancer Sci.	94	937-943	2003
18) Namba, K. (加藤) (下遠野)	Establishment of hepatitis C virus replicon cell lines possessing interferon-resistant phenotype.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	323	299-309	2004
19) Abe, K. (加藤) (下遠野)	cDNA microarray analysis to compare HCV subgenomic replicon cells with their cured cells.	Virus Res.	107	73-81	2005
20) Tamura, K. (加藤)	Efficient formation of vesicular stomatitis virus pseudotypes bearing the native forms of hepatitis C virus envelope proteins detected after sonication.	Microbes Infect.	7	29-40	2005

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
21) Kato, N. (加藤) (下遠野)	Genetic variation and dynamics of hepatitis C virus replicons in long-term cell culture.	J. Gen. Virol.	86	645-656	2005
22) Shimakami, T. (下遠野)	Effect of interaction between hepatitis C virus NS5A and NS5B on hepatitis C virus RNA replication with the hepatitis C virus replicon.	J. Virol.	78	2738-2748	2004
23) Zhang, J. (下遠野)	Down-regulation of viral replication by adenoviral-mediated expression of siRNA against cellular cofactors for hepatitis C virus.	Virology	320	135-143	2004
24) Ohshima, T. (下遠野)	Transcriptional activity of peroxisome proliferator-activated receptor γ is modulated by SUMO-1 modification.	J. Biol. Chem.	279	29551-29557	2004
25) Lin, J-Y. (下遠野)	Association of Ubc9, an E2 ligase for SUMO conjugation, with p53 is regulated by phosphorylation of p53.	FEBS Letters	573	15-18	2004

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
26) Iwai, A. (下遠野)	Siah-1L, a novel transcript variant belonging to the human Siah family of proteins, regulates β -catenin activity in a p53-dependent manner.	Oncogene	23	7593-7600	2004
27) Kodama, Y. (下遠野)	The role of Notch signaling in the development of intrahepatic bile ducts.	Gastroenterology	127	1775-1786	2004
28) Murata, T. (下遠野)	Suppression of hepatitis C virus replicon by TGF- β .	Virology	331	407-417	2005
29) Takahashi, H. (下遠野)	Analysis of the 5' end structure of HCV subgenomic RNA replicated in a Huh7 cell line.	Intervirology	48	104-111	2005
30) Obata, Y. (下遠野)	Role of cyclophilin B in activation of interferon regulatory factor-3.	J. Biol. Chem.	280	18355-18360	2005

IV. 研究成果の刊行物・別刷