

厚生労働科学研究費補助金

肝炎等克服緊急対策研究事業

肝炎ウイルスの培養系を用いた新規肝炎治療法の開発

平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 脇田 隆字

平成20(2008)年 3月

目次

I. 総括研究報告	
肝炎ウイルスの培養系を用いた新規肝炎治療法の開発 脇田 隆宇	1
II. 分担研究報告	
1. 肝炎ウイルスの培養系を用いた新規肝炎治療法の開発の総括 脇田 隆宇	25
2. 不死化肝細胞の改変によるHCVの高効率感染増殖実験系の開発と これを用いた新規抗HCV薬剤標的分子の同定 土方 誠	35
3. 不死化肝細胞を用いた3次元培養系の試み～HBV感染モデル～ 田中靖人	39
4. HCVコア蛋白質に相互作用する宿主蛋白質の感染における役割 森石恒司	41
5. HCV-IRES依存性タンパク翻訳に関わる宿主因子の同定とHCV複製制御 本多政夫	45
6. HCVゲノムRNA二次構造を標的とした抗HCVペプチドの創製と そのHCV治療薬への応用 原田和雄	47
7. 肝炎ウイルスの培養系を用いた新規肝炎治療法の開発： HCV増殖・感染細胞モデルを用いた抗ウイルス化合物・宿主因子の探索 坂本直哉	55
8. HCV増殖環の全過程を標的とした阻害剤探索を可能とするスクリーニング法の 開発と、それによる低分子量HCVエントリー阻害剤の同定： ポスト-HAART時代のエイズ治療戦略の創出を目指して 武部 豊	59
9. 栄養成分のHCVに及ぼす効果の検討 池田正徳	65
10. ラミブジン耐性獲得に影響をおよぼすHBV遺伝子変異の網羅的解析 竹原徹郎	73
11. GFP挿入ウイルスを用いたHCV感染細胞検出系の確立 加藤孝宣	77
12. B型肝炎ウイルスレセプターのクローニングとin vitro, in vivoにおける 感染系の構築及び応用 上田啓次	85
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	93
IV. 研究成果の刊行物・別冊	103

I. 総括研究報告

総括研究報告書

肝炎ウイルスの培養系を用いた新規肝炎治療法の開発

主任研究者 国立感染症研究所ウイルス第二部 部長 脇田 隆宇

研究要旨 C型肝炎ウイルス（HCV）のウイルス培養系が確立された。また、B型肝炎ウイルス（HBV）の場合、複製増殖実験は可能だが、培養細胞による感染実験系は確立されていない。HCV感染に対する治療はインターフェロンとリバビリンの併用により改善してきたが、未だに不十分である。HBV感染では最近の研究によりウイルスの遺伝子型による病態の差が明らかとなり、ラミブジンなど抗ウイルス療法の導入により治療法も大きく変わりつつあるとともに、両肝炎ウイルスに対する新たな治療法の開発が望まれている。本研究ではHBVやHCVのウイルス培養系や増殖系を用いて新規肝炎治療法を開発する。HBVの感染系を含めて新たな実験系の開発も行うことで、治療法開発のための新たな標的を探索する。

分担研究者 土方 誠
京都大学ウイルス研究所
准教授

分担研究者 田中靖人
名古屋市立大学大学院
准教授

分担研究者 森石恒司
大阪大学微生物研究所
准教授

分担研究者 本多政夫
金沢大学大学院
准教授

分担研究者 原田和雄
東京学芸大学
准教授

分担研究者 坂本直哉
東京医科歯科大学
准教授

分担研究者 武部 豊
国立感染症研究所

室長
分担研究者 池田正徳
岡山大学大学院
准教授

分担研究者 竹原徹郎
大阪大学大学院
准教授

分担研究者 加藤孝宣
東芝病院研究部
医長

分担研究者 上田啓次
浜松大学医学部
教授

A. 研究目的

肝炎ウイルスによる慢性肝炎は我が国の国民病とも呼ばれている。新規感染者は激減したものの、その原因ウイルスであるHBVのキャリアは約130万人、HCVキャリアも約200万人がいまだに存在すると推定されている。

その多くが肝硬変から肝臓癌へ移行し、肝臓癌による年間死亡者は3万人におよぶ。HBV感染にはラミブジンによる化学療法が導入されたが、長期に投与する必要があり、耐性ウイルスの問題が生じている。また、HCV感染に対する治療法はインターフェロンとリバビリンの併用療法が行われているが、その有効率は40-50%程度である。従って、肝炎ウイルスに対する新たな治療法の開発は患者の予後を改善するのみならず、肝硬変および肝臓癌という高度な医療が必要な疾患の患者数を減らすことにより、結果的に医療費の低減に寄与し、社会の福祉に寄与することが可能である。そこで、本研究ではHBVやHCVのウイルス培養系や増殖系を用いて新規肝炎治療法の開発を目的とする。HBVの感染系を含めて新たな実験系の開発も行うことで、治療法開発のための新たな標的の探索を可能とする。

B. 研究方法

1. 肝炎ウイルスの新規感染モデルの開発

- 1) ヒト不死化肝細胞の培養用中空系中による立体培養。HCV感染性の評価。
- 2) 中空系に初代肝細胞や不死化細胞を詰めた3次元培養系を作成する。培養上清中のアルブミン濃度を測定する。培養上清中のHBV-DNA, HBs抗原、細胞内cccDNA(複製中間体)を測定し、HBV感染・複製を確認した。

2. HCV増殖機構の解析と新規治療法の開発

- 1) HCVコア蛋白質を付加し、293T細胞に発現して精製し、SDS-PAGEで泳動後、ゲル内消化物をMALDI TOF-MS/MSにかけて、ペプチドのアミノ酸配列を決定した。SPP抑制剤によるコア蛋白質の細胞画分およびSPPによる切断への影響を持続感染している細胞を用いて解析した。
- 2) HCVの蛋白翻訳因子であるLa protein,

PTB, eIF3 p170, PSMA7, eIF2gamma及びHCV蛋白翻訳を制御するinternal ribosome entry site (IRES)に対するsiRNAを用い、Subgenomic HCV repliconの複製をRTD-PCR法にて検討した。さらにJFH-1の複製をRTD-PCR法及びコア蛋白の発現にて評価した。また肝組織におけるHCV蛋白翻訳因子の発現を正常肝9例、C型慢性肝炎40例の肝組織を用いて検討した。

3) SL2結合ペプチドによるレプリコンRNA複製阻害の評価。アンチターミネーション・システムを用いたSL2 RNAとペプチドとの相互作用の解析。

蛍光偏光度測定によるSL2 RNAと#3d001ペプチドとの相互作用の解析。ゲルシフト法によるSL2と5BSL3.2 RNAとの相互作用の解析。RNAステム・ループによるレプリコンRNA複製阻害の評価。

3. HCV生活環に関与する宿主側因子の探索と新規治療法の開発

1) シクロスポリンAのHCV増殖抑制効果の解析から特定された分子シャペロン蛋白であるシクロフィリン蛋白の機能・HCV複製増殖への関与を解明するため、シクロフィリンA, BおよびCに結合するウイルス・宿主蛋白をmammalian two-hybrid法、及びbacterial two-hybrid法にてスクリーニングをおこなった。

2) JFH-1株感染クローンを用いたGFP挿入ウイルスを作製した。サブジェノミックレプリコンシステムによるGFP挿入可能部位を同定し、効率の良いGFP挿入ウイルス作製のためのコンストラクトを検討した。

4. HBV増殖機構の解析と新規治療法の開発

- 1) HBV genotypeによる感染・複製の違いを検討した。
- 2) ラミブジン投与中に耐性変異が出現した

44例の耐性出現後の血清を解析した。

3) HBV レセプターの分離・同定に成功しマウスを用いた *in vivo* 感染系を構築した。

5. 肝炎ウイルス培養系および増殖系を用いた抗ウイルス薬のスクリーニング

1) 薬剤ライブラリーによる抗 HCV 薬を探索する。HCV レプリコン系・JFH1 培養系を用いて、HCV 増殖を制御する薬剤・化合物の網羅的スクリーニングを進める。生理活性物質ライブラリー、及び Diversity-oriented synthesis 化合物ライブラリー、漢方生薬・抽出精製化合物の抗 HCV 活性を high-throughput screening にて検索した。

2) 栄養成分の HCV RNA 複製に及ぼす効果を検討した。本研究では 18 種類のビタミン類、6 種類のアミノ酸、11 種類の脂肪酸、11 種類の無機塩類について評価した。

3) 新規抗 HCV 薬候補の抗ウイルス活性について解析する。NS3 プロテアーゼ、NS4A、NS5B RNA ポリメラーゼなどに対する抗ウイルス薬の開発が企業において進行している。新規抗 HCV 薬候補の提供を受け、その抗ウイルス活性、細胞障害性、薬剤耐性に関して解析した。

(倫理面への配慮)

各種研究材料の取り扱い及び組換え DNA 実験は、適切な申請を行い承認を受ける。また、本研究で使用するヒト由来試料はすでに樹立された細胞株であり倫理面での問題はないと考えられるが、新たにヒト組織などを使用する必然性が生じた場合には、文部科学省等でまとめられた「ヒトゲノム、遺伝子解析研究に関する倫理指針」及び、平成 13 年 3 月 29 日付 12 文科振第 266 号文部科学省研究振興局長通知に則り、当該研究機関の医学研究倫理審査委員会に申請し、インフォームドコンセントに係る手続きを実施し、提供試料、個人情報厳格に

管理保存する。

C. 研究結果

1. 肝炎ウイルスの新規感染モデルの開発

1) 新たに開発された中空糸培養法を用いてヒト不死化肝細胞を立体培養したところ、天然型 HCV の感染増殖効率はメビオールゲル使用時と同等であり、培養上清は簡便に解析可能であることがわかった。通常の細胞培養と同様に培地へ各種薬剤を添加することが可能であり、インターフェロンやサイクロスポリン A などを用いてその抗 HCV 作用も簡便に評価することが可能であった。天然型 HCV を感染させたところ、一ヶ月間に渡りその細胞内感染増殖が観察された。またこの時培養上清に細胞内 HCV RNA 量の変動とは逆相関する量的変動パターンを伴って HCV RNA の存在が確認された。

2) 初代肝細胞及び不死化細胞の 3 次元培養系で組織形成が見られた。アルブミン産生は、1ヶ月以上保たれた。この細胞に HBV を感染させると培養上清中の HBV-DNA 量は 10^7 copies/mL 以上検出され、約 1 ヶ月は持続した。培養上清中に HBs 抗原やコア蛋白が検出された。さらに細胞内 cccDNA が検出され、感染・複製が確認された。免疫染色により細胞内 HBs 抗原の発現を確認した。再感染実験により感染が確認され、培養上清中に感染性 HBV 完全粒子の存在が示唆された。

2. HCV 増殖機構の解析と新規治療法の開発

1) コア蛋白質の C 末端同定を試みた。HCV コア蛋白質の Asp-N で消化される 160 番目 Asp から検出された断片は、DGVNYATGNLPGCSFSIF であった。従って、成熟コア蛋白質の C 末端は 177 番目の Phe であり、それより大きい断片は検出されなかった。この結果から、SPP によって切断される箇所は 177 番目の Phe と 178 番目の Leu の間であることが明らかとなった。SPP

活性を SPP 抑制剤で抑制した場合、コア蛋白質のほとんどが未成熟状態になり、界面活性剤抵抗性膜画分 (DRM) に分画されなくなった。持続感染している Huh7 細胞を SPP 抑制剤で処理するとコア蛋白質は未切断のものが多くなり、全く DRM に分画されなかった。

2) *in vitro* HCV 蛋白翻訳は La protein, PTB, eIF3 p170, eIF2gamma の発現量依存性に増加したが、同じ IRES 依存性蛋白翻訳を有する EMCV 蛋白翻訳には変化は認められなかった。HCV replicon では、La protein, PTB, PSMA7, eIF2gamma の発現抑制は、薬剤耐性遺伝子と NS3 が EMCV-IRES で繋がれた定型レプリコン (MH14B) の複製には影響しなかったが、EMCV-IRES を HCV-IRES で置き換えたレプリコンの複製を著明に抑制した。したがって、HCV レプリコン複製は HCV 蛋白翻訳に強く依存していた。

JFH-1 用いた検討でも、La protein, PTB, PSMA7, eIF2gamma の発現抑制により HCV の有意な複製抑制が認められた。また興味深いことに、JFH-1 の複製により La protein の有意な発現上昇が認められた。

一方、C 型慢性肝炎肝組織におけるこれらの宿主因子の発現を検討すると La protein, PSMA7, eIF2gamma は正常肝より C 型慢性肝炎肝組織で発現が誘導されており、肝組織の HCV-RNA と有意な相関を示した。

3) SL2 結合ペプチドのレプリコン RNA 複製阻害能を検討したが、#3d001 ペプチドによる HCV RNA の複製阻害効果は認められなかった。アンチターミネーション・システムにより SL2 RNA-#3d001 ペプチド相互作用を解析すると、#3d001 ペプチドと野生型 SL2 RNA との結合活性は +1 以下と大幅な低下が見られた。さらに蛍光偏光度測定による SL2 RNA と #3d001 ペプチドとの相互作用を解析すると、既知の HIV Rev ペプチドと RRE RNA との特異的な相互作用

を観察することができたが、改変型の SL2T RNA と #3d001 ペプチドとの相互作用は検出できなかった。ゲルシフト法で SL2 と 5BSL3.2 RNA との相互作用を解析すると JFH-5BSL3、Con1-5BSL3 と野生型の SL2 の相互作用は特異的なものであった。しかし、RNA ステム・ループによるレプリコン RNA 複製阻害を評価したが、RNA ステム・ループのレプリコン RNA への特異的な結合による複製阻害は検出できなかった。

3. HCV 生活環に関与する宿主側因子の探索と新規治療法の開発

1) シクロフィリン A, B 及び C と HCV 構造・非行蛋白との分子間結合は確認されなかった。しかし、Bacterial two-hybrid 法によりシクロフィリンに結合する肝細胞内蛋白を網羅的に解析したところ、7 種の宿主蛋白が同定された。これらのうち Fumarylacetate hydroxylase の発現を siRNA により knock down したところ HCV レプリコンの発現が有意に低下した。

2) JFH-1 株感染クローンをを用いた GFP 挿入ウイルスの作製を試みた。NS5a 領域 C 末端の遺伝子型 1b のレプリコンシステムで報告されている GFP 挿入可能部位二カ所と、さらにその C 末側一カ所の計三カ所に GFP を挿入したレポーターレプリコンを作製した。その結果、最も N 末側に GFP を挿入したレプリコンではほとんど増殖が認められなかった。他の二つのコンストラクトでは増殖が可能であった。増殖可能であった二カ所の部位に GFP を挿入した JFH-1 株感染性クローンを作製し、Huh7.5.1 細胞に遺伝子導入し、GFP 挿入ウイルスの生成を検討した。その結果、遺伝子導入細胞中で GFP の発現を認め、GFP を持った HCV が増殖していると考えられた。さらにその培養上清を新たな Huh7.5.1 細胞に感染させたところ、感染細胞で HCV コア蛋白と GFP の発現を認め、GFP 遺伝

子を持った HCV が培養上清中に分泌された。

4. HBV 増殖機構の解析と新規治療法の開発

1) 上記研究により作製した HBV の感染実験系で Genotype による複製効率の差を検討すると、遺伝子導入実験と類似の傾向であった (C>Ae)。

2) ラミブジン耐性ウイルスを解析した。44 例から抽出された HBV 株を分子系統樹解析を行ったところ、全株が Genotype C2 に分類された。L180M 変異を有するものが 30 例、L180M を有しないものが 14 例であった。HBV DNA の全遺伝子配列の比較を行ったところ、L180M を有しない株は全例 M204I 変異を有しており、M204V 変異を有する例はみられなかった。Genotype C の発現プラスミドをバックボーンとして pre Core 変異、pre S2 欠失をもつプラスミドを作成し、さらにこれらのプラスミドに M204V/I 変異および L180M 変異を挿入した。これらのプラスミドを Huh7 細胞に導入し、ウイルス増殖をサザン法で検討したところ、pre Core 変異、pre S2 欠失を有するウイルスは野生型に比し、全般的に高いウイルス増殖がみられた。また、M204V/I 変異を挿入するとすべての型で増殖が低下した。L180M 変異を導入することにより、M204I による増殖低下はやや改善した。しかし、pre Core あるいは pre S2 変異は L180M 変異より強力にウイルス増殖を増強した。

3) レトロウイルスゲノム供給ベクターを構築し、肝がん由来培養細胞 Huh7 及びヒト腎実質細胞 293GP2 で安定発現株 GFP/H7、GFP/GP2 をそれぞれ樹立した。GFP/H7 細胞にレトロウイルス gag-pol (gp) を導入し gp/GFP/H7 細胞を樹立した。VSV-G pseudotype の実験から gp/GFP/H7 細胞、GFP/GP2 細胞がともに packaging 細胞として機能することを確認した。HBV の large S (LS)、middle S (MS)、small S

(SS) の三つの膜蛋白を発現する発現ベクター、pCEP4-LS、pREP8-LS、pHBg を構築し、gp/GFP/H7 細胞、GFP/GP2 へトランスフェクションし培養上清中に目的の pseudotype HBV が形成されているかを、粒子を分離し、粒子内ゲノムを標的とした RT-PCR により検討中である。

5. 肝炎ウイルス培養系および増殖系を用いた抗ウイルス薬のスクリーニング

1) 薬剤ライブラリーによる抗 HCV 薬の探索をおこなった。LOPAC ライブラリーは 1268 の化合物が利用可能だが、現在 720 化合物を検討した。その結果、3 化合物がウイルス分泌を増加、4 化合物がウイルス分泌を抑制した。抗ウイルス作用を示した化合物の一つはサイクロスポリンであり、細胞毒性を示さなかったが、他の抗ウイルス作用を示した 3 化合物はいずれも細胞障害性が強く、抗ウイルス作用は主として細胞障害性によると考えられた。

Diversity-Oriented Synthesis (DOS) 法で合成した 8,000 種の化合物のスクリーニングを施行したところ、replicon 増殖を抑制する 41 種の化合物が同定された。構造活性相関 (SAR) 解析によりさらに IC50 の優れた 5 個の epoxide 誘導体を同定した

漢方生薬成分化合物の細胞内 HCV 増殖に対する効果を HCV レプリコンシステムを用いて解析を行い、甘草由来の 2 種の化合物、isoliquiritigenin、及び glycycomarin に HCV replicon 増殖抑制作用を見出した。これらの薬剤は、HCV-JFH1 培養系においてもウイルス感染増殖を抑制することを確認した。

化合物ライブラリー (分子量 300-550) (8,000 化合物) より 4 個のヒット (化合物 A-D) を得た。中でも化合物 A の EC50 = 70 nM, CC50 = 35 μM (Selective index = 500) で、現在最も期待されている抗 HCV 治療薬候補である VX-950 (Telaprevir: NS3/NS4A プロテアー

ゼ阻害剤)の replicon EC50 (354nM)に匹敵する。しかしながら、非常に興味深いことに、化合物 A は、genotype 1b, 2a の双方ともレプリコン・アッセイによっては活性を示さない。化合物 A は HCV pseudoparticle assay において HCV E1/E2 発現 pseudoparticle (HCVpp) の感染を用量依存的に阻害した。阻害の EC50 は infectivity assay のそれにほぼ一致する (数十 nM レベル)。また Time of addition 実験によれば、化合物 A が抗 HCV 作用を発揮するには、HCV 感染前から直後の HCV ライフサイクルの極早期に添加する必要があることが明らかになった (data not shown)。

2) 46 種類の栄養成分について HCV RNA の複製に及ぼす効果を検討した。HCV RNA 複製に対して抑制効果を示したのは、β-カロテン、ビタミン D2、リノール酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸、Fe (II) SO4、Fe (III) (NO3) 2、ZnCl2 の 9 種類であった。一方、HCV RNA 複製に対して増強効果があったのは、ビタミン A、C、E、K1、K2、K3、トリプトファン、Na2SeO4 の 8 種類であった。残りの 29 種類の栄養成分は HCV RNA 複製に対して影響を与えなかった。β-カロテン、ビタミン D2、リノール酸をこれまでに抗 HCV 効果の報告がされている IFN-α、フルバスタチン、サイクロスポリン A と併用した時の効果について検討した。IFN-α に各栄養成分を併用した時相加効果が認められた。フルバスタチンに各栄養成分を併用した時にも相加効果が認められた。一方、サイクロスポリン A に各栄養成分を併用した時には、相乗効果が認められた。これらの結果は β-カロテン、ビタミン D2、リノール酸は、既存の抗 HCV 効果の認められている薬剤の効果を補助し増強させる可能性を示唆している。

3) 新規抗 HCV 薬候補の抗ウイルス活性

ベーリンガー社から分与された、NS3 プロテ

アーゼ阻害剤 BILN2061 の JFH-1 感染細胞に対する高ウイルス作用を解析した。HCV 持続感染細胞を用いて、薬剤を添加し培養上清中のウイルスコア蛋白濃度を測定した。BILN2061 添加 0.1 μM 以上の濃度で 80%以上の阻害活性を示した。また、1 μM 以下の濃度で細胞障害性はほとんど示さなかった。さらに、他社から分与された薬剤を現在解析中である。

D. 考察

HCV は 1989 年に遺伝子がクローニングされたが、ウイルス培養が困難であり、ウイルス学的研究や抗ウイルス薬の開発が進んでこなかった。1999 年に RNA レプリコンが開発され (Lohmann, 1999 Science)、培養細胞におけるウイルスゲノム複製が可能となった。さらに、2005 年に申請者らが世界に先駆けて HCV のウイルス培養系を開発した (Wakita, 2005 Nat Med)。これら HCV のウイルス培養系やレプリコン実験系を用いてウイルスの生活環をより詳細に解析し、その成果を新たな抗ウイルス治療法の開発につなげることが重要である。しかし、ウイルスの培養系は未だに単一のウイルス株でのみ可能であり、患者血清からウイルスを分離培養することはできない。日本や他の国で感染者が多く、インターフェロンの効きにくい遺伝子型 1 のウイルスの培養系の確立が急務である。そのために、より効率の良いウイルス複製系の開発が望まれる。一方、HBV もウイルス培養は困難だが、ウイルスゲノムの培養細胞への導入により、ウイルスの複製増殖が可能であり、この実験系を使用してウイルスゲノムの機能的解析が行われてきた。最近、HBV の遺伝子型の研究が進展し、遺伝子型と病態の関連が報告されている。ラミブジンなどの抗ウイルス薬が HBV 感染症の治療に臨床導入され、B 型肝炎の治療は変革しようとしている。しかし、耐性ウイルスの出現が問題

となり、HIV ウイルスの化学療法導入初期と同様の問題が生じている。このため、HBV に対して作用機序の異なる複数の抗ウイルス薬の開発が望まれる。

今年度の研究では分担研究者により多くの成果が得られた。まず、初代肝細胞や不死化肝細胞の立体培養により、B型肝炎ウイルスの培養系に一定の目途が付き、薬剤のスクリーニングにも使用できる可能性がある。この培養システムはC型肝炎ウイルスの培養にも有効であることが示された。C型肝炎ウイルスの増殖複製機構の解析が進み、関与する宿主因子に関する研究も進んだ。これらの宿主因子は抗ウイルス療法の新たな標的となる。また、RNA結合ペプチドの探索によりHCV RNAに特異的に結合するペプチドは得られているが、複製阻害能は確認できていない。さらなるスクリーニングにより、多くのHCV RNA結合ペプチドを得る必要がある。B型肝炎ウイルスの感染増殖機構の解析も進んだ。レセプター探索のためのシェードウイルス作製も着々と進行している。また、遺伝子型により複製効率の差があることが判明した。病態との関連の解明が待たれる。抗ウイルス薬のスクリーニングにおいては大きな成果が得られた。低分子ライブラリーから、C型肝炎ウイルスの感染初期過程を阻害する候補分子が同定された。その効果も既存の抗ウイルス薬とすでに遜色無いことが示された。今後の進展が大いに期待できる。

E. 結論

本研究により下記に記した成果をあげた。来年度以降の研究により、さらに研究を進展させていく。

1. 中空系を用いたヒト不死化肝細胞培養系は血清由来の天然型HCVの感染増殖を再現するために基礎となる実験系であることが考えられた。抗HCV薬の開発や薬効評価に用いるため

の新しい実験系開発のために有用な基礎実験系である。

2. 不死化肝細胞を用いた3次元培養系は、安価・簡便で非常に有用なHBV感染モデルである。

3. SPPによるコア蛋白質の切断は、ウイルス産生機構にとって必要である。宿主膜内蛋白質分解酵素SPPは、新規C型肝炎治療法開発の標的蛋白質として期待できる。

4. HCVの複製はHCVの蛋白翻訳に強く依存していた。HCV蛋白翻訳関連因子をターゲットとした治療法の可能性につき更に検討する

5. HCVキメラリポーターレプリコン系を用いて薬剤・化合物の大規模スクリーニングを行い、HCV発現・増殖を抑制する複数の化合物を同定し、HCV培養系にて効果を確認し得た。

6. 効率的にGFP遺伝子を持ったHCVを作製した。しかし、その生成効率は現状では全長レプリコンに及ばず、今後は生成効率を良くする適応変異の導入等さらに検討が必要である。

7. B型肝炎ウイルスの核酸アナログ耐性の獲得にはポリメラーゼ遺伝子のRTドメインの変異とともに、それ以外の領域の変異が補助的に影響している可能性がある。このような変異の検討を行うことは、核酸アナログ耐性を起こしやすい株を同定する上で重要である。

8. HCVの感染からウイルス放出までのHCV増殖サイクルのいずれのステップの阻害剤も検出できる新規のHCV阻害剤アッセイ系を確立した。本アッセイによって、低分子化合物ライブラリーからいくつかのヒット化合物を同定した。その一つは、これまでに報告のない低分子性のHCVエンタリー阻害剤である可能性が高い。

9. β -カロテン、ビタミンD2、リノール酸がHCV RNAの複製を抑制する栄養成分であることを明らかにした。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Tasaka M, Sakamoto N, Itakura Y, Nakagawa M, Itsui Y, Sekine-Osajima Y, Nishimura-Sakurai Y, Chen CH, Yoneyama M, Fujita T, Wakita T, Maekawa S, Enomoto N, Watanabe M. Hepatitis C virus non-structural proteins responsible for suppression of the RIG-I/Cardif-induced interferon response. *J Gen Virol*. 2007 88:3323-33.
2. Zeisel MB, Koutsoudakis G, Schnober EK, Haberstroh A, Blum HE, Cosset FL, Wakita T, Jaeck D, Doffoel M, Royer C, Soulier E, Schvoerer E, Schuster C, Stoll-Keller F, Bartenschlager R, Pietschmann T, Barth H, Baumert TF. Scavenger receptor class B type I is a key host factor for hepatitis C virus infection required for an entry step closely linked to CD81. *Hepatology*. 2007. 46 (6) :1722-1731.
3. Sekine-Osajima Y, Sakamoto N, Mishima K, Nakagawa M, Itsui Y, Tasaka M, Nishimura-Sakurai Y, Chen CH, Kanai T, Tsuchiya K, Wakita T, Enomoto N, Watanabe M.
 1. Development of plaque assays for hepatitis C virus-JFH1 strain and isolation of mutants with enhanced cytopathogenicity and replication capacity. *Virology*. 2007 Oct 18; [Epub ahead of print]
4. Ariumi Y, Kuroki M, Abe K, Dansako H, Ikeda M, Wakita T, Kato N. DDX3 DEAD-box RNA helicase is required for hepatitis C virus RNA replication. *J Virol*. 2007 81(24):13922-6.
5. Miyanari Y, Atsuzawa K, Usuda N, Watashi K, Hishiki T, Zayas M, Bartenschlager R, Wakita T, Hijikata M, Shimotohno K. The lipid droplet is an important organelle for hepatitis C virus production. *Nat Cell Biol*. 2007 Sep;9(9):1089-97.
6. Delgrange D, Pillez A, Castelain S, Cocquerel L, Rouillon Y, Dubuisson J, Wakita T, Duverlie G, Wychowski C. Robust production of infectious viral particles in Huh-7 cells by introducing mutations in hepatitis C virus structural proteins. *J Gen Virol*. 2007 88(Pt 9):2495-503.
7. Kim CS, Jung JH, Wakita T, Yoon SK, Jang SK. Monitoring the antiviral effect of alpha interferon on individual cells. *J Virol*. 2007 81(16):8814-20.
8. Murayama A, Date T, Morikawa K, Akazawa D, Miyamoto M, Kaga M, Ishii K, Suzuki T, Kato T, Mizokami M, Wakita T. The NS3 helicase and NS5B-to-3'X regions are important for efficient hepatitis C virus strain JFH-1 replication in Huh7 cells. *J Virol*. 2007 81(15):8030-40.
9. Hiraga N, Imamura M, Tsuge M, Noguchi C, Takahashi S, Iwao E, Fujimoto Y, Abe H, Maekawa T, Ochi H, Tateno C, Yoshizato K, Sakai A, Sakai Y, Honda M, Kaneko S, Wakita T, Chayama K. Infection of human hepatocyte chimeric mouse with genetically engineered hepatitis C virus and its susceptibility to interferon. *FEBS Lett*. 2007 581(10):1983-7.
10. Hussein H, Aly, Koichi Watashi, Makoto Hijikata, Hiroyasu Kaneko, Yasutugu Takada, Hiroto Egawa, Shinji Uemoto, Kunitada Shimotohno: Serum-derived hepatitis C virus infectivity in interferon regulatory factor-7-suppressed human primary hepatocytes. *J. Hepatol*. 46:26-36, 2007

11. Mohamed A. El-Farrash, Hussein H. Aly, Koichi Watashi, Makoto Hijikata, Hiroto Egawa, Kunitada Shimotohno: In vitro infection of immortalized primary hepatocytes by HCV genotype 4a and inhibition of virus replication by cyclosporine. *Microbiol. Immunol.* 51(1):127-133, 2007
12. Yusuke Miyanari, Kimie Atsuzawa, Nobuteru Usuda, Koichi Watashi, Takayuki Hishiki, Margarita Zayas, Ralf Bartenschlager, Takaji Wakita, Makoto Hijikata, Kunitada Shimotohno: The lipid droplet is an important organelle for hepatitis C virus production. *Nat. Cell Biol.* 9 (9), 1089-1097, 2007
13. Koichi Watashi, Daisuke Inoue, Makoto Hijikata, Kaku Goto, Hussein H. Aly, Kunitada Shimotohno: Anti-hepatitis C virus activity of tamoxifen reveals the functional association of estrogen receptors with viral RNA polymerase NS5B. *J. Biol. Chem.*, 282, 32765-32772, 2007
14. Sugiyama M, Tanaka Y, Kurbanov F, Nakayama N, Mochida S, Mizokami M. Influences on hepatitis B virus replication by a naturally occurring mutation in the core gene. *Virology.* 365(2):285-91. 2007.
15. Moriishi K, Mochizuki R, Moriya .., Miyamoto H, Mori Y, Abe T, Murata .., Tanaka K, Miyamura T, Suzuki T, Koike K, and Matsuura Y. Critical role of PA28 γ in hepatitis C virus-associated steatogenesis and hepatocarcinogenesis. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2007, 104, 1661-1666.
16. Abe T., Kaname Y., Hamamoto I., Tsuda Y., Wen X., Taguwa S., Moriishi K., Takeuchi O., Kawai T., Kanto T., Hayashi N., Akira S., and Matsuura Y. Hepatitis C Virus Nonstructural Protein 5A Modulates TLR-MyD88-Dependent Signaling Pathway in the Macrophage Cell Lines. *J. Virol.*, 2007, 81, 8953-8966.
17. Mori Y., Yamashita T., Tanaka Y., Tsuda Y., Abe T., Moriishi K., and Matsuura Y. Processing of Capsid Protein by Cathepsin L Plays a Crucial Role in Replication of the Japanese Encephalitis Virus in Neural and Macrophage Cells. *J. Virol.*, 2007, 81, 8477-8487.
18. Tani H., Komoda Y., Matsuo E., Suzuki K., Hamamoto I., Yamashita T., Moriishi K., Fujiyama K., Kanto T., Hayashi N., Owsianka A., Patel A.H., Whitt M.A., and Matsuura Y. Replication-competent recombinant vesicular stomatitis virus encoding hepatitis C virus envelope proteins. *J. Virol.*, 2007, 81, 8601-8612.
19. Moriishi K., and Matsuura Y. Host factors involved in the replication of hepatitis C virus. *Rev. Med. Virol.*, 2007, 17, 343-354.
20. Moriishi K., and Matsuura Y. Evaluation systems for anti HCV drugs. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2007, 59, 1213-1221.
21. Miyamoto H., Moriishi K, Moriya K, Murata S, Tanaka K, Suzuki T, Miyamura T, Koike K, Matsuura Y. Involvement of the PA28 gamma-dependent pathway in insulin resistance induced by hepatitis C virus core protein. *J. Virol.*, 2007, 81, 1727-1735.
22. Honda M, Shimazaki T, Kaneko S. La

- protein is a potent regulator of replication of hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis C through internal ribosomal entry site-directed translation. *Gastroenterology*. 2005 Feb;128(2):449-62.
23. M. Sugaya, R. Saito, Y. Matsumura, K. Harada and A. Katoh "A facile method for the detection of specific RNA-polypeptide interactions using MULDI-Tof MS spectrometry" *J. Peptide Science*, 14: in press (2008).
 24. M. Sugaya, N. Nishino, A. Katoh and K. Harada* "Combinatorial analysis of the amino acid requirements for the high affinity arginine-rich peptide-RNA interaction" *J. Peptide Science*, 14: in press (2008).
 25. M. Sugaya, F. Nishimura, A. Katoh and K. Harada* "Tailoring the peptide-binding specificity of an RNA by combinations of specificity-altering mutations" *Nucleosides, Nucleotides, and Nucleic Acids*, in press (2008).
 26. Sekine-Osajima Y, Sakamoto N, Nakagawa M, Itsui Y, Tasaka M, Nishimura-Sakurai Y, Chen CH, Suda G, Mishima K, Onuki Y, Yamamoto M, Maekawa S, Enomoto N, Kanai T, Tsuchiya K, Watanabe M: Two flavonoids extracts from a herb, *Glycyrrhizae radix*, inhibit in-vitro hepatitis C virus replication. *Hepatology Res*, in press
 27. Jin H, Yamashita A, Maekawa S, Yang P, He L, Takayanagi S, Wakita T, Sakamoto N, Enomoto N, Ito M: Griseofulvin, an oral antifungal agent, suppresses HCV replication in vitro. *Hepatology Res*, in press.
 28. Aragaki M, Tsuchiya K, Okamoto R, Yoshioka S, Nakamura T, Sakamoto N, Kanai T, Watanabe M: Proteasomal degradation of Atoh1 by aberrant Wnt signaling maintains the undifferentiated state of colon cancer. *Biochem Biophys Res Commun*, in press.
 29. Asahina Y, Izumi N, Hirayama I, Tanaka T, Sato M, Yasui Y, Komatsu N, Umeda N, Hosokawa T, Ueda K, Tsuchiya K, Nakanishi H, Itakura J, Kurosaki M, Enomoto N, Tasaka M, Sakamoto N, Miyake S: Potential relevance of cytoplasmic viral sensors and related regulators involving innate immunity in antiviral response. *Gastroenterology*, in press.
 30. Sakamoto N, Tanabe Y, Yokota T, Saito K, Sekine-Osajima Y, Nakagawa M, Itsui Y, Tasaka M, Sakurai Y, Chen CH, Yano M, Ohkoshi S, Aoyagi Y, Maekawa S, Enomoto N, Kohara M, Watanabe M: Inhibition of hepatitis C virus infection and expression in vitro and in vivo by recombinant adenovirus expressing short hairpin RNA. *J Gastro Hepatol* 2007; Epub.
 31. Amemiya F, Maekawa S, Itakura Y, Kanayama A, Takano S, Yamaguchi T, Itakura J, Kitamura T, Inoue T, Sakamoto M, Yamauchi K, Okada S, Sakamoto N, Enomoto N: Targeting lipid metabolism in the treatment of hepatitis C. *J Infect Dis* 2008; 197(3):361-370.
 32. Peng LF, Kim SS, Matchacheep S, Lei X, Su S, Lin W, Runguphan W, Choe WH, Sakamoto N, Ikeda M, Kato N, Beeler AB, Porco JA Jr, Schreiber SL and Chung RT: Identification of novel epoxide inhibitors of HCV replication, a

- high-throughput screen. *Antimicrob Agent Chemother* 2007; 51 (10):3756-3759.
33. Sekine-Osajima Y, Sakamoto N, Nakagawa M, Itsui Y, Tasaka M, Nishimura-Sakurai Y, Chen CH, Kanai T, Tsuchiya K, Wakita T, Enomoto N and Watanabe M: Development of plaque assays for hepatitis C virus and isolation of mutants with enhanced cytopathogenicity and replication capacity. *Virology* 2008;371:71-85.
 34. Tasaka M, Sakamoto N, Itakura Y, Nakagawa M, Itusi Y, Sekine-Osajima Y, Nishimura-Sakurai Y, Chen CH, Yoneyama M, Fujita T, Wakita T, Maekawa S, Enomoto N, Watanabe M: HCV nonstructural proteins responsible for suppression of RIG-I/Cardif-induced interferon response. *J Gen Virol* 2007; 88:3323-3333.
 35. Sakamoto N, Yoshimura M, Kimura T, Toyama K, Sekine-Osajima Y, Watanabe M, Muramatsu M: Suppression of hepatitis C virus replication by bone morphogenetic protein-7 and synergistic action with interferon-alpha. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 357:467-473.
 36. Kim SS, Peng LF, Lin W, Choe WH, Sakamoto N, Schreiber SL, Ikeda M, Kato N, Chung RT: A cell-based, high-throughput screen for small molecule regulators of HCV replication. *Gastroenterology* 2007; 132:311-320.
 37. 中川美奈、坂本直哉：小胞体ストレスによるシグナル伝達。 *分子消化器病* 2007; 4(4):367-372.
 38. 坂本直哉：C型慢性肝炎の進展と治療抵抗性：ウイルス変異の観点から。 *日本内科学会雑誌* 2007; 97(1):64-68.
 39. 中川美奈、坂本直哉：C型肝炎ウイルスの構造と病態。 *治療学* 2007 in press.
 40. Dansako H, Ikeda M, Kato N. Limited suppression of the interferon-beta production by hepatitis C virus serine protease in cultured human hepatocytes. *FEBS J.* 274:4161-4176 (2007).
 41. Ikeda M, Kato N. Life style-related diseases of the digestive system: cell culture system for the screening of anti-HCV reagents: suppression of HCV replication by statins and synergistic action with interferon. *J Pharmacol Sci.* 105:145-150 (2007).
 42. Ikeda M, Kato N. Modulation of host metabolism as a target of new antivirals. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 59:1277-1289 (2007).
 43. Peng LF, Kim SS, Matchacheep S, Lei X, Su S, Lin W, Runguphan W, Choe WH, Sakamoto N, Ikeda M, Kato N, Beeler AB, Porco JA Jr, Schreiber SL, Chung RT: Identification of Novel Epoxide Inhibitors of HCV Replication Using a High-Throughput Screen. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 51(101):3756-3759 (2007)
 44. Ariumi Y, Kuroki M, Abe K, Dansako H, Ikeda M, Wakita T, Kato N. DDX3 DEAD box RNA helicase is required for hepatitis C virus (HCV) RNA replication. *J. Virol.* 81:13922-13926 (2007).
 45. Yano M, Ikeda M, Abe K, H. Dansako H., Ohkoshi S, Aoyagi Y, Kato N. Comprehensive Analysis of the Effects of Ordinary Nutrients on Hepatitis C Virus RNA Replication in Cell Culture. *Antimicrob. Agents Chemother.* 51: 2016-2027 (2007).

46. Abe K, Ikeda M, Ariumi Y, Dansako H, Kato N. Serum-free cell culture system supplemented with lipid-rich albumin for hepatitis C virus (strain O of genotype 1b) replication. *Virus Res.* 125:162-168 (2007).
47. Abe K, Ikeda M, Dansako H, Naka K, Kato N. Cell culture-adaptive NS3 mutations required for the robust replication of genome-length hepatitis C virus RNA. *Virus Res.* 125: 88-97 (2007).
48. Kanada A, Takehara T, Ohkawa K, Tatsumi T, Sakamori R, Yamaguchi S, Uemura A, Kohga K, Sasakawa A, Hikita H, Hijioka T, Katayama K, Deguchi M, Kagita M, Kanto T, Hiramatsu N, Hayashi N. Type B Fulminant Hepatitis Is Closely Associated with a Highly Mutated Hepatitis B Virus Strain. *Intervirology* 50:349-401, 2007.
49. Kurashige N, Hiramatsu N, Ohkawa K, Oze T, Inoue Y, Kurokawa M, Yakushijin T, Igura T, Kiso S, Kanto T, Takehara T, Tamura S, Kasahara A, Oshita M, Hijioka T, Katayama K, Yoshihara H, Hayashi E, Imai Y, Kato M, Hayashi N. Initial viral response is the most powerful predictor of the emergence of YMDD mutant virus in chronic hepatitis B patients treated with lamivudine. *Hepatol Res* (in press).
50. Yu X, Qiao M, Atanasov I, Hu Z, Kato T, Liang TJ, Zhou ZH. Cryo-electron microscopy and three-dimensional reconstructions of hepatitis C virus particles. *Virology* 2007 367:126-34.
51. Murayama A, Date T, Morikawa K, Akazawa D, Miyamoto M, Kaga M, Ishii K, Suzuki T, Kato T, Mizokami M, Wakita T. The NS3 helicase and NS5B-to-3'X regions are important for efficient hepatitis C virus strain JFH-1 replication in Huh7 cells. *J Virol.* 2007 81(15):8030-40.
52. Date T, Miyamoto M, Kato T, Morikawa K, Murayama A, Akazawa D, Tanabe J, Sone S, Mizokami M, Wakita T. An infectious and selectable full-length replicon system with hepatitis C virus JFH-1 strain. *Hepatol Res.* 2007 37(6):433-43.
53. Kato T, Matsumura T, Heller T, Saito S, Sapp RK, Murthy K, Wakita T, Liang TJ. Production of infectious hepatitis C virus of various genotypes in cell cultures. *J Virol.* 2007 81(9):4405-11.
2. 学会発表
1. 脇田隆字, 「C型肝炎のウイルス培養系の開発とその応用」、第43回肝形態科学研究会、ホテルグランパシフィックメリディアン、(2007, 5.30)
 2. 脇田隆字, 「in vivo と in vitro における HCV 複製」、第4回ウイルス学キャンプ in 湯河原、ウエルシティ湯河原、(2007, 6.6-7)
 3. 脇田隆字, 「C型肝炎ウイルスの基礎研究」、第3回広島肝臓プロジェクト研究センターシンポジウム、広島大学廣仁会館、(2007, 6.29)
 4. 脇田隆字, 「C型肝炎ウイルスの感染増殖機構」、The 6th Hepatitis Expert Meeting、軽井沢プリンスホテル、(2007, 8.25)
 5. 脇田隆字, 「C型肝炎ウイルスの複製および増殖機構」、第27回名古屋肝炎セミナー 第116回名古屋肝疾患研究会、名古屋東急ホテル、(2007, 9.21)
 6. 脇田隆字, 「Infection and replication of hepatitis C virus」、アジア太平洋消

- 化器病週間 Asian Pacific Digestive Week 2007 サテライトシンポジウム、神戸商工会議所会館、(2007, 10. 17)
7. 脇田隆字, 「基礎研究に基づく C 型肝炎ウイルスの新規治療とワクチン開発」、第 10 回熊本ウイルス感染症研究会、熊本全日空ホテル、(2007, 10. 26)
 8. 脇田隆字, 「C 型肝炎ウイルスの基礎研究」、第 22 回臨床肝臓カンファレンス、日本海運倶楽部、(2007, 11. 10)
 9. 脇田隆字, 「C 型肝炎ウイルス基礎研究の進歩」、第 167 回高知肝疾患症例検討会、高知新阪急ホテル、(2007, 11. 20)
 10. 脇田隆字, 「C 型肝炎ウイルスの複製および粒子形成」、学術講演会第 10 回 リサーチフォーラム「ウイルスとヒト」、芝蘭会館別館、(2007, 12. 22)
 11. 脇田隆字, 「C 型肝炎ウイルスに対するワクチン開発」第 11 回日本ワクチン学会学術集会、パシフィコ横浜、(2007, 12. 8-9)
 12. 今村道雄、平賀伸彦、木村俊之、畠山剛、柘植雅貴、野口千笑、高橋祥一、本多政夫、金子周一、脇田隆字、茶山一彰、培養細胞および動物モデルを用いた肝炎ウイルスのインターフェロン感受性の検討、第 43 回日本肝臓学会総会、ホテルグランパシフィックメリディアン、(2007, 5. 31-6. 1)、ワークショップ 1「肝炎ウイルス研究の進歩」
 13. 相崎英樹、原弘道、森川賢一、宮村達男、脇田隆字、鈴木哲朗、脂質の C 型肝炎ウイルス感染、粒子形成における役割、第 43 回日本肝臓学会総会、ホテルグランパシフィックメリディアン、(2007, 5. 31-6. 1)、ワークショップ 1「肝炎ウイルス研究の進歩」
 14. 森川賢一、脇田隆字、培養細胞で作製した感染性 C 型肝炎ウイルス (HCV) 粒子のワクチン開発への応用、第 43 回日本肝臓学会総会、ホテルグランパシフィックメリディアン、(2007, 5. 31-6. 1)、ワークショップ 1「肝炎ウイルス研究の進歩」
 15. 脇田隆字、C 型肝炎ウイルスの感染および複製増殖機構、第 31 回阿蘇シンポジウム「ウイルスと戦う」、阿蘇プリンスホテル、(2007, 7. 27-28)
 16. 有海康雄、黒木美沙緒、阿部健一、團迫浩方、池田正徳、脇田隆字、トロノ ディディエ、加藤宣之、DNA 損傷センサー ATM と Chk2 は HCV の RNA 複製に必要な宿主因子である、日本ウイルス学会第 55 回学術集会、札幌コンベンションセンター (2007, 10. 21-23)、ワークショップ 6 ウイルスと癌
 17. 政木隆博、鈴木亮介、松田麻未、松浦善治、宮村達男、脇田隆字、鈴木哲朗、RNA polymerase I システムを用いた感染性 C 型肝炎ウイルス粒子の作成と抗ウイルス薬の薬効評価への応用、第 43 回日本肝臓学会総会、ホテルグランパシフィックメリディアン、(2007, 5. 31-6. 1)
 18. 箴島裕子、坂本直哉、中川美奈、田坂めぐみ、櫻井幸、井津井康浩、陳正新、榎本信幸、脇田隆字、渡辺守、plaque-forming assay を用いた細胞障害性 HCV の選択と機能解析、第 43 回日本肝臓学会総会、ホテルグランパシフィックメリディアン、(2007, 5. 31-6. 1)
 19. 平賀伸彦、今村道雄、木村俊之、柘植雅貴、野口千笑、高橋祥一、本多政夫、金子周一、脇田隆字、茶山一彰、リバーズジェネティクスにより作製した HCV 感染マウスを用いた genotype 別のインターフェロン感受性の検討、第 43 回日本肝臓学会総会、ホテルグランパシフィック

- メリディアン、(2007, 5. 31-6. 1)
20. 伊達朋子、村山麻子、赤澤大輔、森川賢一、石井孝司、野本明男、鈴木哲朗、脇田隆宇、遺伝子型 2a/2b 間でのキメラウイルスの作製および性状解析、日本ウイルス学会第 5 5 回学術集会、札幌コンベンションセンター (2007, 10. 21-23)
 21. 有海康雄、黒木美沙緒、阿部健一、團迫浩方、池田正徳、脇田隆宇、加藤宣之、HCV の RNA 複製に必要な宿主因子 DDX3 DEAD box RNA ヘリカーゼ、日本ウイルス学会第 5 5 回学術集会、札幌コンベンションセンター (2007, 10. 21-23)
 22. 村山麻子、伊達朋子、赤澤大輔、森川賢一、石井孝司、鈴木哲朗、脇田隆宇、HCV JFH-1 株の複製および感染性ウイルス粒子形成に重要な領域の解析、日本ウイルス学会第 5 5 回学術集会、札幌コンベンションセンター (2007, 10. 21-23)
 23. 下池貴志、Mckenna Sean, Lindhout Darrin, 脇田隆宇、Puglisi Joseph、HCV IRES は PKR を活性化するが、それによる翻訳は eIF2 のリン酸化耐性である、日本ウイルス学会第 5 5 回学術集会、札幌コンベンションセンター (2007, 10. 21-23)
 24. 阿部克俊、村上恭子、市村徹、高宮智史、大崎一直、鈴木哲朗、宮村達男、小池和彦、脇田隆宇、勝二郁夫、HCV コア蛋白と結合する新規宿主因子 hnRNP H1/H2 の同定と相互作用、日本ウイルス学会第 5 5 回学術集会、札幌コンベンションセンター (2007, 10. 21-23)
 25. 加藤孝宣、脇田隆宇、HCV JFH-1 株の *in vivo* での病原性の検討、日本ウイルス学会第 5 5 回学術集会、札幌コンベンションセンター (2007, 10. 21-23)
 26. 海老原敬、松本美佐子、脇田隆宇、瀬谷司、HCV 感染アポトーシス細胞を介した樹状細胞の成熟化、日本ウイルス学会第 5 5 回学術集会、札幌コンベンションセンター (2007, 10. 21-23)
 27. 上西理恵、納富香子、長谷彩希、鈴木哲朗、脇田隆宇、竹部豊、新規阻害剤探索のための HCV 感染・増殖アッセイ系の樹立とその評価、日本ウイルス学会第 5 5 回学術集会、札幌コンベンションセンター (2007, 10. 21-23)
 28. 尾見法昭、赤澤大輔、高橋仁、森川賢一、伊達朋子、石井孝司、鈴木哲朗、脇田隆宇、細胞培養により産生された HCV ウイルスの免疫原性に関する検討、日本ウイルス学会第 5 5 回学術集会、札幌コンベンションセンター (2007, 10. 21-23)
 29. 竹部豊、上西理恵、納富香子、長谷彩希、鈴木哲朗、脇田隆宇、感染性 HCV クローン JFH-1 を用いた感染・増殖アッセイに基づくスクリーニングによる新規標的を持つ HCV 阻害剤の同定とその解析、日本ウイルス学会第 5 5 回学術集会、札幌コンベンションセンター (2007, 10. 21-23)
 30. 村上恭子、勝二郁夫、木村敬郎、鈴木哲朗、宮村達男、脇田隆宇、血球系細胞に HCV JFH-1 株の感染および複製の検討、日本ウイルス学会第 5 5 回学術集会、札幌コンベンションセンター (2007, 10. 21-23)
 31. 赤澤大輔、伊達朋子、森川賢一、村山朝子、尾見法昭、高橋仁、白倉雅之、鈴木哲朗、脇田隆宇、肝細胞株における感染性 HCV 粒子の作製と性状解析、日本ウイルス学会第 5 5 回学術集会、札幌コンベンションセンター (2007, 10. 21-23)
 32. 高橋仁、尾見法昭、赤澤大輔、白倉雅之、鈴木哲朗、脇田隆宇、エピトープタグを付加した組換え HCV 粒子の作製と性状解析、日本ウイルス学会第 5 5 回学術集会、

- 札幌コンベンションセンター (2007, 10. 21-23)
33. 江角眞理子、石橋眞理子、清水洋子、森田奈央子、山口裕美、高山由理子、野本聡美、脇田隆宇、清水一史、L-SIGN 陽性細胞の C 型肝炎ウイルス感染感受性解析、日本ウイルス学会第 55 回学術集会、札幌コンベンションセンター (2007, 10. 21-23)
34. 相崎英樹、原弘道、森川賢一、井上寧、谷英樹、松浦善治、斎藤恭子、深澤征義、花田賢太郎、マイケル・ライ、宮村達男、脇田隆宇、鈴木哲朗、C 型肝炎ウイルス脂質成分の感染における役割、日本ウイルス学会第 55 回学術集会、札幌コンベンションセンター (2007, 10. 21-23)
35. 村上裕子、山越智、鈴木哲朗、脇田隆宇、深澤秀輔、培養細胞を用いた C 型肝炎ウイルス (HCV) の阻害剤のスクリーニング、日本ウイルス学会第 55 回学術集会、札幌コンベンションセンター (2007, 10. 21-23)
36. 石橋眞理子、清水洋子、山口裕美、高山由理子、野本聡美、脇田隆宇、清水一史、江角眞理子、C 型肝炎ウイルス感染における肝臓類洞内皮 C 型レクチン (L-SIGN) の役割、第 30 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜 (2007, 12. 11-15)
37. Munakata T, Wakita T, Nomoto A, Toll-like receptor 3 is a downstream target of Rb/E2F pathway activated by hepatitis C virus, 第 30 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜 (2007, 12. 11-15)
38. T Wakita. HCV replication in vitro and in vivo, 3rd Pasteur-Areva Course on Blood-Borne Viruses: Hepatitis C Virus, Shanghai, China (Oct 15-18, 2007)
39. T Wakita, H Aizaki, Critical roles of virion-associated cholesterol and sphingolipids in the viral infectivity, The 7th Awaji International Forum on Infection and Immunity, The Hyogo Prefecture Awaji Yumebutai International Conference Center, (2007 9/1-5)
40. H Aizaki, M Fukazawa, K Morikawa, H Hara, H Tani, K Hanada, Y Matsuura, M Lai, T Miyamura, T Wakita, T Suzuki, Critical roles of virion-associated cholesterol and sphingolipids in the viral infectivity, 14th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Glasgow, Scotland, UK (2007, 9. 9-13)
41. R Fischer, S Gorke, L Lan, S J. Rau, T Wakita, H E. Bluml, M B. Zeisel, T F. Baumert, Hepatitis C virus replication sensitizes human hepatoma cells to TRAIL-induced apoptosis, 14th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Glasgow, Scotland, UK (2007, 9. 9-13)
42. G Mateu, R O. Donis, J Bukh, T Wakita, A Grakoui, Intragenotypic chimeric hepatitis C viruses produce high levels of infectious particles but cause increased cell death, 14th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Glasgow, Scotland, UK (2007, 9. 9-13)
43. D Sir, W-l Chen, T Wakita, T. S. B Yen and J. -H. J Ou, INDUCTION OF AUTOPHAGY BY HEPATITIS C VIRUS VIA ENDOPLASMIC RETICULUM STRESS, 14th International Meeting on Hepatitis C and Related

- Viruses. Glasgow, Scotland, UK (2007, 9. 9-13)
44. P Podevin, S Lagaye, A Carpentier, L Aoudjehane, M Carrière, S Zaïdi, M Dreux, O Scatton, T Wakita, F-L Cosset, F Conti, Y Calmus, A R Rosenberg, Production of infectious hepatitis C virus in primary culture of human adult hepatocytes, 14th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Glasgow, Scotland, UK (2007, 9. 9-13)
 45. Murayama A, Date T, Morikawa K, Akazawa D, Ishii K, Wakita T, The important regions for RNA replication and infectious virus particle formation of JFH-1, 14th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Glasgow, Scotland, UK (2007, 9. 9-13)
 46. K Murakami, I Shoji, I Hamamoto, T Suzuki, T Miyamura, T Wakita, Virological characterization of HCV JFH-1 strain in B-lymphocytes, 14th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Glasgow, Scotland, UK (2007, 9. 9-13)
 47. Kato T, Choi Y, Elmowalid G, Sapp R, Furusaka A, Wakita T, Krawczynski K, Liang J, The hepatitis C virus JFH-1 is associated with attenuated infection and low virulence in chimpanzee, 14th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Glasgow, Scotland, UK (2007, 9. 9-13)
 48. Machida K, Huang J, Wang C-H, Liu H, Kondo Y, Sung V, Wakita T, Lai M, Preferential lymphotropism vs. hepatotropism of different HCV isolates established through infectious full-length viral RNA studies, 14th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Glasgow, Scotland, UK (2007, 9. 9-13)
 49. Shimoike T, Mckenna SA, Lindhout DA, Wakita T, Puglisi JD, The HCV IRES is a potent activator of PKR but resistant to eIF2 phosphorylation, 14th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Glasgow, Scotland, UK (2007, 9. 9-13)
 50. Masaki T, Suzuki R, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T, Analysis of NS5A region for hepatitis C virus particle production, 14th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Glasgow, Scotland, UK (2007, 9. 9-13)
 51. Ariumi Y, Kuroki M, Abe K, Dansako H, Ikeda M, Wakita T, Trono D, Kato N, DNA damage sensors, ATM and Chk2, are required for hepatitis C virus RNA replication, 14th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Glasgow, Scotland, UK (2007, 9. 9-13)
 52. Fukasawa M, Nitahara-Kasahara Y, Shinki-Ouchi F, Sato S, Suzuki T, Murakami K, Wakita T, Hanada K, Miyamura T, Nishijima M, Cellular vimentin affects the protein level of hepatitis C virus core protein and the activity of hepatitis C virus production in cultured cells, 14th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Glasgow, Scotland, UK (2007, 9. 9-13)

53. Sakamoto N, Sekine-Osajima Y, Mishima K, Nakagawa M, Tasaka M, Nishimura-Sakurai Y, Yamamoto M, Onui Y, Sudo G, Itsui Y, Wakita T, Watanabe M. Development of plaque-forming assays for hepatitis C virus and isolation of mutants with enhanced cytopathogenicity and replication capacity. 14th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Glasgow, Scotland, UK (2007, 9. 9-13)
54. Takahashi H, Akazawa D, Omi N, Nakamura N, Mochizuki H, Suzuki T, Wakita T. An adaptive mutation in E2 glycoprotein allow an efficient production of HCV particles with epitope-tagged envelope. 14th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Glasgow, Scotland, UK (2007, 9. 9-13)
55. Zeisel MB, Koutsoudakis G, Schnober EK, Haberstroh A, Blum HE, Cosset FL, Wakita T, Jaeck D, Doffoel M, Royer C, Soulier E, Schvoerer E, Schuster C, Stoll-Keller F, Bartenschlager R, Pietschmann T, Barth H, Baumert TF. Scavenger receptor BI is required for an entry step closely linked to CD81. 14th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Glasgow, Scotland, UK (2007, 9. 9-13)
56. Akazawa D, Takahashi H, Omi N, Date T, Morikawa K, Murayama A, Nakamura N, Mochizuki H, Wakita T. Characterization of infectious HCV particles produced from various liver-derived cell lines. 14th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Glasgow, Scotland, UK (2007, 9. 9-13)
57. Isogai M, Uenishi R, Hase S, Suzuki R, Suzuki T, Wakita T, Takebe Y. Identification of new class of HCV inhibitors targeted to the entry or late stages in HCV replication cycle using newly developed JFH-1 based infectivity/replication assay. 14th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Glasgow, Scotland, UK (2007, 9. 9-13)
58. Delgrange D, Pillez A, Castelain S, Cocquerel L, Rouille Y, Dubuisson J, Wakita T, Duverlie G, Wychowski C. Robust production of infectious viral particles in Huh-7 cells by introducing mutations in HCV structural proteins. 14th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Glasgow, Scotland, UK (2007, 9. 9-13)
59. P Podevin, S Lagaye, A Carpentier, L Aoudjehane, M Carrière, S Zaïdi, JF Meritet, M Dreux, O Scatton, T Wakita, F-L Cosset, F Conti, A R Rosenberg, Y Calmus. Production of infectious hepatitis C virus in primary culture of human adult hepatocytes. The 58th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, Boston, MA, USA (November 2-6, 2007)
60. Masaki Wakita T. Analysis of NS5A region important for hepatitis C virus particle production. The 58th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, Boston, MA, USA (November 2-6, 2007)