

- 21) 村上恭子、阿部克俊、高宮智史、木村敬朗、鈴木哲朗、宮村達男、小池和彦、脇田隆宇、勝二郁夫、HCV コア蛋白質に結合する新規宿主因子 hnRNPH1/H2 の HCV 生活環における役割、日本ウイルス学会第 5 6 回学術集会、岡山コンベンションセンター(2008, 10.26-28)
- 22) 石橋真理子、脇田隆宇、江角真理子、C 型肝炎ウイルス量の多い肝組織に発現亢進する分子 OASL はウイルス制御分子か?、日本ウイルス学会第 5 6 回学術集会、岡山コンベンションセンター(2008, 10.26-28)
- 23) 浜本いつき、村上恭子、鈴木哲郎、多屋馨子、岡部信彦、脇田隆宇、勝二郁夫、C 型肝炎ウイルス複製を制御する宿主因子 ERGIC-53 の機能、日本ウイルス学会第 5 6 回学術集会、岡山コンベンションセンター(2008, 10.26-28)
- 24) 黒木美沙緒、有海康雄、池田正徳、團迫浩方、脇田隆宇、加藤宜之、亜ヒ酸は酸化ストレスを介して HCV RNA の複製を顕著に阻害する、日本ウイルス学会第 5 6 回学術集会、岡山コンベンションセンター(2008, 10.26-28)
- 25) 武部豊、上西理恵、納富香子、廖華南、長谷彩希、鈴木哲朗、脇田隆宇、袴田航、CD81 を標的とする新しいクラスの低分子性 HCV エントリー阻害剤の同定、日本ウイルス学会第 5 6 回学術集会、岡山コンベンションセンター(2008, 10.26-28)
- 26) 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キメラ HCV ウイルス株および JFH-1 株の免疫の検討、日本ウイルス学会第 5 6 回学術集会、岡山コンベンションセンター(2008, 10.26-28)
- 27) 上西理恵、廖華南、袴田航、納富香子、長谷彩希、赤澤大輔、鈴木哲朗、脇田隆宇、武部豊、HCV JFH-1 infectivity assay を用いた低分子 HCV 阻害剤の探索とその評価、日本ウイルス学会第 5 6 回学術集会、岡山コンベンションセンター(2008, 10.26-28)
- 28) 阿部健一、池田正徳、有海康雄、團迫浩方、脇田隆宇、加藤宜之、Cyclosporine A に対し抵抗性を示す 1b/2a キメラレプリコン、日本ウイルス学会第 5 6 回学術集会、岡山コンベンションセンター(2008, 10.26-28)
- 29) 渋谷悠子、尾見法昭、中村紀子、脇田隆宇、細胞培養系で作製した C 型肝炎ウイルスにより誘導された抗体の性状解析、第 12 回日本ワクチン学会学術集会、崇城大学市民ホール(2008, 11.8-9)
- 30) 千代智子、関口敏、松原明弘、保富康宏、脇田隆宇、志田壽利、水野喬介、村井深、小原道法、HCV 遺伝子組換えワクチニアウイルスの作製とワクチンとしての検討、第 12 回日本ワクチン学会学術集会、崇城大学市民ホール(2008, 11.8-9)
- 31) 勝二郁夫、大崎一直、村上恭子、鈴木哲朗、宮村達男、脇田隆宇、堀田博、C 型肝炎ウイルスコア蛋白質のコピキチン化シグナル、第 3 1 回日本分子生物学会年会、神戸ポートアイランド(2008, 12.9-12)
- 32) 相崎英樹、山本真民、原弘道、森川賢一、谷英樹、松浦善治、斎藤恭子、深澤征義、花田賢太郎、宮村達男、脇田隆宇、鈴木哲朗、脂質の C 型肝炎ウイルス感染における役割、第 3 1 回日本分子生物学会年会、神戸ポートアイランド(2008, 12.9-12)
- 33) 高橋仁、尾見法昭、赤澤大輔、中村紀子、望月英典、鈴木哲朗、脇田隆宇、エビトープタグを付加した組換え HCV 粒子の効率的な産生と性状解析、第 3 1 回日本分子生物学会年会、神戸ポートアイランド(2008, 12.9-12)
- 34) 村上恭子、阿部克俊、高宮智史、木村敬朗、鈴木哲朗、宮村達男、小池和彦、脇田隆宇、勝二郁夫、HCV コア蛋白質に結合する新規宿主因子 hnRNPH1/H2 の HCV 生活環における役割、第 3 1 回日本分子生物学会年会、神戸ポートアイランド(2008, 12.9-12)
- 35) 石橋真理子、脇田隆宇、清水洋子、江角真理子、肝臓類洞内皮 C 型レクチン L-SIGN の C 型肝炎ウイルス受容体機能の解析、第 3 1 回日本分子生物学会年会、神戸ポートアイランド(2008, 12.9-12)
- 36) T. Wakita, HCV replication and virus

- particle formation, The 8th Awaji International Forum on Infection and Immunity, The Hyogo Prefecture Awaji Yumebutai International Conference Center, (2008 9/7-11)
- 37) T Wakita. Development of HCV culture system, Workshop/Hepatitis, The 7th Japan-China International Conference of Virology, Tokyo, Japan (June 1-3, 2008)
- 38) T Wakita. Hepatitis C virus replication and virus particle formation, Symposium: Emerging Viruses and the Control of Viruses, XIVth International Congress of Virology, IUMS 2008. 8.15, Istanbul, Turkey
- 39) Hideki AIZAKI, Kenichi MORIKAWA, Masayoshi FUKASAWA, Hiromichi HARA, Ryosuke SUZUKI, Hideki TANI, Kentaro HANADA, Yoshiharu MATSUURA, Michael M. C. LAI, Tatsuo MIYAMURA, Takaji WAKITA, Tetsuro SUZUKI. Critical roles of virion-associated cholesterol and sphingolipids in the viral infectivity, IUMS 2008. 8.15, Istanbul, Turkey
- 40) Kyoko Murakami, T Wakita et al. Identification of hnRNP1 as a binding partner of hepatitis C virus core protein and the IRES IIIId region of viral RNA, IUMS 2008. 8.15, Istanbul, Turkey
- 41) M Saeed, T Kato, T Wakita, In vitro replication efficiencies of hepatitis C virus JFH-1 strain with mutations emerged in chimpanzee, The Hyogo Prefecture Awaji Yumebutai International Conference Center, (2008 9/7-11)
- 42) Takahashi H, Omi N, Akazawa D, Nakamura N, Mochizuki H, Suzuki T, Wakita T, Biological properties of purified recombinant HCV particles with the epitope-tagged envelope, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 43) Uenishi R, Hakamata W, Nohtomi K, Liao H, Hase S, Suzuki T, Wakita T, Takebe Y, Identification of novel Small molecule HCV entry inhibitor that acts through CD81, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 44) Munakata T, Wakita T, Nomoto A, Induction of hepatic TLR3 by E2F1 during hepatitis C virus infection, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 45) Zeisel MB, Hoffmann M, Jilg N, Stoll-Keller F, Wakita T, Barth H, Henneke P, Baumert TF. Sensing of hepatitis C virus core by toll-like receptor 2 is shielded in enveloped viral particles, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 46) I Hamamoto, K Murakami, T Suzuki, K Taya, N Okabe, T Wakita, I Shoji, ERGIC-53 regulates the HCV RNA replication through interaction with the viral NS3 protein, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 47) Fukasawa M, Nakamura S, Nitahara-Kasahara Y, Shimotohno K, Suzuki T, Wakita T, Nishijima M, Mashino T, Anti-HCV activity of novel Fullerene derivatives, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 48) Kato N, Mori K, Abe K, Dansako H, Ariumi Y, Wakita T, Ikeda M, A new human hepatoma cell line enabling persistent reproduction of HCV life cycle and assay for anti-HCV reagents, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 49) Akazawa D, Morikawa K, Omi N, Takahashi H, Nakamura N, Mochizuki H, Date T, Wakita T, Production and purification of HCV particles

- from serum-free culture, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 50) Machida R, Tong S, Heintges T, Wakita T, Wands JR, Interruption of hepatitis C virus particle formation by an intracellular antibody targeting the viral core protein, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 51) Ishii K, Murakami K, Hmwe SS, Li J, Suzuki R, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T, Trans-encapsidation of HCV subgenomic replicon RNA with viral structure proteins, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 52) Ariumi Y, Kuroki M, Ikeda M, Dansako H, Wakita T, Kato N, The vacuolar protein sorting pathway is essential for HCV budding, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 53) Masaki T, Suzuki R, Murakami K, Aizaki H, Ishii K, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T, The C-terminal serine cluster of NS5A is a determinant of NS5A-core protein interaction and HCV production, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 54) Watanabe N, Murayama A, Akazawa D, Tomonaga M, Date T, Kato T, Suzuki T, Wakita T, Purification and structural analysis of HCV E2 protein, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 55) Angus AGN, Dalrymple DA, Boulant S, McGivern DR, Wakita T, McLauchlan J, Lemon SM, Patel AH, Hepatitis c virus replication does not depend on the interaction between the viral core protein and the cellular RNA helicase DDX3, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 56) Shin K-S, Lim Y-S, Choi S-H, Wakita T, Hwang SB, Regulation of heat shock protein 70 by hepatitis c virus NS5A protein, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 57) Abe K, Murakami K, Takamiya S, Suzuki T, Miyamura T, Koike K, Wakita T, Shoji I, Identification of hnRNPH1 and hnRNPF as binding partners for HCV core protein, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 58) Abe K, Ikeda M, Ariumi Y, Dansako H, Wakita T, Kato N, Cyclophilins A and B mediate the anti-HCV activity of cyclosporine A in 1b/2a chimeric replicon-harboring cells, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 59) Kuroki M, Ariumi Y, Ikeda M, Dansako H, Wakita T, Kato N, Arsenic trioxide inhibits HCV RNA replication through modulation of oxidative stress, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 60) Murayama A, Date T, Akazawa D, Kato T, Suzuki T, Nomoto A, Wakita T, A single amino acid mutation in core region is important for efficient infectious virus particle production in genotype 2b/2a chimeric HCV, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 61) Seronello S, Ito C, Wakita T, Choi J, Ethanol enhances hepatitis c virus replication

in human hepatoma cells supporting infectious virus production, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)

62) I Shoji, M Osaki, K Murakami, T Suzuki, T Miyamura, T Wakita, H Hotta, Ubiquitylation signal of hepatitis C virus core protein, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)

63) Sir D, Chen W-L, Wakita T, Yen TSB, Ou J-HJ, Perturbation of autophagic response by hepatitis c virus, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)

64) Hara H, Aizaki H, Matsuda M, Murakami K, Shoji I, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T, Involvement of creatine kinase B in hepatitis C virus genome replication through interaction with the viral NS4A protein, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)

65) K Morikawa, D Akazawa, Imawari M, T Wakita. The structural analysis of highly purified infectious HCV particles produced in cultured cells. The 59th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, San Francisco, CA, USA (October 31-November 4, 2006)

66) Mishima K, Sakamoto N, Sekine-Osajima Y, Nakagawa M, Itsui Y, Tasaka M, Nishimura-Sakurai Y, Suda G, Onuki Y, Yamamoto M, Wakita T, Watanabe M, Establishment and genetic analysis of cytopathogenic HCV-JFH1 mutants by plaque-forming assay. The 59th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, San Francisco, CA, USA (October 31-November 4, 2006)

67) Kato T, Choi Y, Elmowalid G, Sapp RK, Barth H, T Wakita, Krawczynski K, Liang TJ. Hepatitis

C virus JFH-1 strain infection in chimpanzee is associated with low pathogenicity and emergence of an adaptive mutation. The 59th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, San Francisco, CA, USA (October 31-November 4, 2006)

68) Machida R, Tong S, Heintges T, Wakita T, Wands JR, Li J, Interruption of hepatitis C virus particle formation by an intracellular antibody targeting the viral core protein. The 59th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, San Francisco, CA, USA (October 31-November 4, 2006)

69) アリ フセイン, 齊月, 山口達哉, 下遠野邦 忠, 土方誠 不死化肝細胞の中空糸培養によって再現した患者血清由来天然HCVの感染増殖」(第56回日本ウイルス学会学術集会 2008.10.26岡山コンベンションセンター)

70) HH Aly, Y Qi, K Shimotohno, M Hijikata: A prolonged culture system for the study of the entire life cycle and the pathogenesis of natural HCV infection (第67回日本癌学会学術総会 2008.10.29名古屋国際会議場)

71) HH Aly, K Shimotohno, M Hijikata: Serum derived HCV infection, replication and particle production in immortalized primary human hepatocytes (XIVth International Congress of Virology 2008.8.12 Istanbul)

73) HH Aly, T Yamaguchi, Y Qi, K Shimotohno, M Hijikata: Development of the novel in vitro system supporting the entire life cycle of natural HCV (15th International Symposium Hepatitis C Virus & Related Viruses 2008.10.7 San Antonio,)

74) Kusakabe A, Tanaka Y, Yamaguchi T, Segawa M, Kurbanov F, Sugiyama M, Hijikata M, Shimotohno K, Mizokami M. A novel three-dimensional culture system of immortalized hepatocytes: Assessment on HBV vaccine escape mutant strain infectivity and on

- ability of anti-PreS2 to prevent the infection. 13th International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease. March 2009. Washington DC.
- 75) Kusakabe A, Tanaka Y, Yamaguchi T, Segawa M, Kurbanov F, Sugiyama M, Hijikata M, Shimotohno K, Mizokami M. A novel three-dimensional culture system of immortalized hepatocytes; Assessment on HBV vaccine escape mutant strain infectivity and on ability of anti-PreS2 to prevent the infection. 59th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. November 2008. San Francisco.
- 76) 日下部篤宣、田中靖人、杉山真也ら
新規3次元培養系を用いたHBV感染防御実験の試み. 第12回日本肝臓学会大会. 2008.10月. 東京
- 77) 森石恆司、松浦善治、C型肝炎ウイルス感染と肝発癌. 第82回日本感染症学会総会、教育講演、松江、2008年4月
- 78) 阿部隆之、要祐喜、森石恆司、考藤達哉、林紀夫、松浦善治、第56回日本ウイルス学会総会(ワークショップ)、岡山2008年10月
- 79) 山下哲生、宮崎直之、森嘉生、森石恆司、李天成、宮村達男、武田直和、吉村政人、月原富武、松浦善治、分解能3.5ÅのE型肝炎ウイルス様粒子のX線結晶構造解析. 第56回日本ウイルス学会総会(ワークショップ)、岡山2008年10月
- 80) 谷英樹、泉貴之、寒原裕登、要祐喜、森嘉生、森石恆司、松浦善治、日本脳炎ウイルスの細胞侵入におけるセラミドの関与. 第56回日本ウイルス学会総会(一般口演)、岡山2008年10月
- 81) 田鍛修平、阿部隆之、森嘉生、森石恆司、松浦善治、C型肝炎ウイルスの複製におけるhB-ind1のコシヤペロン活性. 第56回日本ウイルス学会総会(一般口演)、岡山2008年10月
- 82) 森石恆司、松浦善治、C型肝炎ウイルス感染におけるプロテアソーム活性化蛋白質PA28γの役割. 第56回日本ウイルス学会総会(一般口演)、岡山2008年10月
- 83) 久木原博、森石恆司、松浦善治、ヒトVAP-CはC型肝炎ウイルスの複製を抑制する. 第56回日本ウイルス学会総会(一般口演)、岡山2008年10月
- 84) 田中佳典、森嘉生、谷英樹、阿部隆之、森石恆司、巽正志、松浦善治、患者血清中に存在するC型肝炎ウイルスの感染複製を検出可能な指示細胞の樹立. 第56回日本ウイルス学会総会(一般口演)、岡山2008年10月
- 85) 森嘉生、山下哲生、嶋亮一、森石恆司、李天成、武田直和、松浦善治、E型肝炎ウイルス様粒子の形成に重要なアミノ酸同定と細胞吸着阻害モノクローナル抗体の作製. 第56回日本ウイルス学会総会(一般口演)、岡山2008年10月
- 86) Tani, H, Izumi, T., Kanbara, H., Kaname, Y., Mori, Y., Moriishi, K., Matsuura, Y., Ceramide plays a crucial role on the entry of Japanese encephalitis virus, 15th International Symposium on Hepatitis C virus & related viruses, San Antonio, USA, 2008, October.
- 87) Abe, T., Kaname, Y., Moriishi, K., Kanto, T., Hayashi, N., Matsuura, Y. HCV infection induces IP-10 production through the TLR signaling pathway. 15th International Symposium on Hepatitis C virus & related viruses, San Antonio, USA, 2008, October.
- 88) Kukihara H, Moriishi K, Matsuura Y. Human vesicle-associated membrane protein-associated protein subtype C inhibits HCV replication. 15th International Symposium on Hepatitis C virus & related viruses, San Antonio, USA, 2008, October.
- 89) Tanaka, Y., Mori, Y., Tani, H., Abe, T., Moriishi, K., Matsuura, Y. Establishment of an indicator cell line that detects the replication of HCV in sera from hepatitis C patients. 15th International Symposium on Hepatitis C virus & related viruses, San Antonio, USA, 2008, October.

- 90) Moriishi, K., Matsuura, Y. Proteasome activator PA28gamma is required for efficient growth of hepatitis C virus. 15th International Symposium on Hepatitis C virus & related viruses, San Antonio, USA, 2008, October.
- 91) N Sakamoto, K Mishima, Y Sekine-Osajima, M Nakagawa, M Tasaka, et al.: Establishment and genetic analyses of cytopathogenic HCV-JFH1 mutants by plaque-forming assay. 15th. International Meeting on Hepatitis C Virus & Related Viruses. Oct-4-2008, San Antonio, TX.
- 92) K Mishima, N Sakamoto, Y Sekine-Osajima, et al.: Establishment and genetic analyses of cytopathogenic HCV-JFH1 mutants by plaque-forming assay. Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, Nov-1-2008, San Francisco, CA.
- 93) M. Tasakal, N. Sakamoto, M. Nakagawa, Y. Itsui, Y. Nishimura-Sakurai, et al.: Suppression of interferon induction and response pathway by Hepatitis C virus NS4B. Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, Nov-1-2008, San Francisco, CA.
- 94) Takebe, Y., Uenishi, R., Isogai, M., Hakamata, W., Tetsuro Suzuki, T., Wakita, T., Nohtomi, K. Identification of novel small molecule HCV entry inhibitor that may act through CD81. 3rd Hepatitis C, resistance and new compounds workshop (June 5-6, 2008, Boston).
- 95) Takebe, Y., Uenishi, R., Nohtomi, K., Liao, H., Hase, S., Suzuki, T., Wakita, T., Hakamata, W. Identification of novel small molecule HCV entry inhibitor that acts through CD81. HCV2008 (San Antonio, Texas, Oct. 5-9, 2008).
- 95) 上西理恵、廖 華南、納富香子、長谷彩希、赤澤大輔、鈴木哲朗、脇田隆宇、武部 豊. HCV JFH-1 infectivity assay を用いた低分子 HCV 阻害剤の探索とその評価. 第 56 回 日本ウイルス学会抄録 (岡山 Nov 26-28, 2008)
- 96) 武部 豊、上西理恵、納富香子、廖華南、長谷彩希、鈴木哲朗、脇田隆宇、袴田 航. CD81 を標的とする新しいクラスの低分子性 HCV エントリ一阻害剤の同定 (岡山 Nov 26-28, 2008) .
- 97) H. Dansako, Y. Ariumi, M. Ikeda, and N Kato. Modulation of dsRNA-induced IFN-beta and inflammatory cytokine productions by HCV NS3-4As derived from patients with different hepatic diseases. 15th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, San Antonio, USA. October, 2008.
- 98) K. Abe, M. Ikeda, H. Tani, Y. Ariumi, H. Dansako, Y. Matsuura, N. Kato. Low permissive cell lines obtained from a high permissive HCV RNA replication cell line by negative selection system: A new strategy for identification of novel host factors. 15th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, San Antonio, USA. October, 2008.
- 99) K. Mori, K. Abe, H. Dansako, Y. Ariumi, M. Ikeda, N. Kato. New efficient replication system with HCV genome derived from a patient with acute hepatitis. 15th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, San Antonio, USA. October, 2008.
- 100) M. Ikeda, K. Abe, M. Kuroki, Y. Ariumi, H. Dansako, N. Kato. Identification of 5-HETE as the anti-HCV molecule among the arachidonic acid metabolites. 15th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, San Antonio, USA. October, 2008.
- 101) N. Kato, K. Mori, K. Abe, H. Dansako, Y. Ariumi, T. Wakita, M. Ikeda. A new human hepatoma cell line enabling persistent reproduction of HCV life cycle and assay for anti-HCV reagents. 15th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, San Antonio, USA. October, 2008.
- 102) Y. Kawai, M. Ikeda, K. Abe, M. Yano, Y.

- Ariumi, H. Dansako, K. Yamamoto, N. Kato. Genome-length HCV RNA replicating cells possessing IFN- α resistant phenotype for the development of relapse model. 15th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, San Antonio, USA. October, 2008.
- 103) Y. Ariumi, M. Kuroki, M. Ikeda, H. Dansako, T. Wakita, N. Kato. The vacuolar protein sorting pathway is essential for HCV budding. 15th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, San Antonio, USA. October, 2008.
- 104) K. Abe, M. Ikeda, Y. Ariumi, H. Dansako, T. Wakita, N. Kato. Cyclophilins A and B mediate the anti-HCV activity of cyclosporine A in 1b/2a chimeric replicon-harboring cells. 15th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, San Antonio, USA. October, 2008.
- 105) M. Kuroki, Y. Ariumi, M. Ikeda, H. Dansako, T. Wakita, N. Kato. Arsenic trioxide inhibits HCV RNA replication through modulation of oxidative stress. 15th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, San Antonio, USA. October, 2008.
- 106) 加藤 宣之, 森 京子, 阿部 健一, 團迫 浩方, 有海 康雄, 脇田 隆字, 池田 正徳. 新しいヒト肝癌細胞株Li23を用いたHCV生活環再現システム. 第56回日本ウイルス学会学術集会・総会、岡山、2008年10月.
- 107) 西村 剛, 池田 正徳, 有海 康雄, 團迫 浩方, 中沢 貴秀, 加藤宣之. 異なるHCV陽性血清由来の1b型HCVレプリコン複製細胞株の樹立と薬剤感受性の評価. 第56回日本ウイルス学会学術集会・総会、岡山、2008年10月.
- 108) 有海 康雄, 黒木 美沙緒, 團迫 浩方, 阿部 健一, 池田 正徳, 脇田 隆字, 加藤 宣之. DNA損傷センサーATM及びChk2とHCV NS5Bとの相互作用. 第56回日本ウイルス学会学術集会・総会、岡山、2008年10月.
- 109) 團迫 浩方, 有海 康雄, 池田 正徳, 加藤 宣之. 二本鎖RNAによるIFN- β 及び炎症性サイトカイン産生誘導に対する肝病態の異なるHCV NS3-4Aの影響. 第56回日本ウイルス学会学術集会・総会、岡山、2008年10月.
- 110) 黒木 美沙緒, 有海 康雄, 池田 正徳, 團迫 浩方, 脇田 隆字, 加藤 宣之. 亜ヒ酸は酸化ストレスを介してHCV RNAの複製を顕著に抑制する. 第56回日本ウイルス学会学術集会・総会、岡山、2008年10月.
- 111) 池田 正徳, 阿部 健一, 黒木 美沙緒, 有海 康雄, 團迫 浩方, 加藤 宣之. 抗HCV活性を示すアラキドン酸代謝産物5-HETEの同定. 第56回日本ウイルス学会学術集会・総会、岡山、2008年10月.
- 112) 森 京子, 加藤 宣之, 阿部 健一, 有海 康雄, 團迫 浩方, 池田 正徳. 新しいヒト肝癌細胞株Li23由来の全長HCV-RNA複製細胞を用いた薬剤評価システム. 第56回日本ウイルス学会学術集会・総会、岡山、2008年10月.
- 113) 阿部 健一, 池田 正徳, 有海 康雄, 團迫 浩方, 脇田 隆字, 加藤 宣之. Cyclosporine Aに対し抵抗性を示す1b/2aキメラレプリコン. 第56回日本ウイルス学会学術集会・総会、岡山、2008年10月.
- 114) 河合 良成, 池田 正徳, 阿部 健一, 矢野 雅彦, 有海 康雄, 團迫 浩方, 山本 和秀, 加藤 宣之. IFN抵抗性全長HCV-RNA複製細胞の特徴および有効な治療法を見出すための治療後再発モデルの構築. 第56回日本ウイルス学会学術集会・総会、岡山、2008年10月.
- 115) 池田 正徳, 森 京子, 西村 剛, 阿部 健一, 有海 康雄, 團迫 浩方, 中沢 貴秀, 加藤 宣之. 異なる1b型HCV陽性血清由来の全長HCV RNA複製レポーターアッセイ系の開発. 第56回日本ウイルス学会学術集会・総会、岡山、2008年10月.
- 116) 阿部 健一, 池田 正徳, 谷 英樹, 有海 康雄, 團迫 浩方, 松浦 善治, 加藤 宣之. HCV

複製に関する宿主因子探索用細胞株の Negative Selection 法による樹立. 第 56 回日本ウイルス学会学術集会・総会、岡山、2008 年 10 月.

117) 森 京子、阿部 健一、團迫 浩方、有海 康雄、池田 正徳、加藤 宣之. 急性 C 型肝炎患者由来の新しい C 型肝炎ウイルスゲノム複製系. 第 67 回 日本癌学会総会、名古屋、2008 年 10 月.

118) 池田 正徳、森 京子、阿部 健一、西村 剛、團迫 浩方、有海 康雄、中沢 貴秀、加藤 宣之. 異なる HCV (1b 型) 株由来の全長 HCV RNA 複製レポーターアッセイ系の開発. 第 67 回 日本癌学会総会、名古屋、2008 年 10 月.

119) 有海 康雄、黒木 美沙緒、團迫 浩方、阿部 健一、池田 正徳、脇田 隆字、加藤 宣之. ATM DNA 損傷センサーは C 型肝炎ウイルスの RNA 複製に必要である. 第 67 回 日本癌学会総会、名古屋、2008 年 10 月.

120) 上田啓次、第 56 回日本ウイルス学会 平成 20 年 10 月岡山、B 型肝炎 pseudotype の作製と感染系樹立への応用

2006 年 10 月 4 日、特願 2006-260088. 東洋紡績株式会社、京都大学.

(国際出願番号 PCT/JP2007/068611)

4) 特願(2008-221980) PA28 γ 遺伝子の発現又は機能を抑制する物質を含む抗 C 型肝炎ウイルス組成物、森石

5) 不活性化遺伝子再活性化ペプチド

発明者：鈴木敏和、原田和雄、鈴木信夫、喜多和子

出願者：国立大学法人 千葉大学

出願日：平成 20 年 12 月 9 日

特願 2008-522343

6) 「HCV 阻害剤」(特願 2008-115873、2008 年 4 月 25 日) 武部豊

7) 特願 2008-063642、HBs ペプチド融合体、上田啓次 (申請中)

G. 知的所有権の出願・登録状況

特許出願

1) 感染性 C 型肝炎ウイルス粒子の製造方法、およびその利用」

発明者/出願者：山口達哉、土方誠、アリ ハッサン フセイン

2008 年 6 月 26 日出願 出願番号 特願 2008-167942

2) 「C 型肝炎ウイルスの感染増殖性の評価方法、およびその利用」

発明者/出願者：山口達哉、土方誠、アリ ハッサン フセイン

2008 年 6 月 26 日出願 出願番号 特願 2008-167943

3) 肝炎ウイルスの増殖方法、及び肝炎ウイルス感染増殖細胞を培養するための中空糸並びにその利用.

山口達哉、瀬川昌也、溝上雅史、田中靖人、土方誠、下遠野邦忠.

II. 分担研究報告

肝炎ウイルスの培養系を用いた新規肝炎治療法の開発の総括

研究代表者 国立感染症研究所・ウイルス第二部 部長 脇田 隆字

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を導入により治療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。

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る、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。

B. 研究方法

1. 薬剤ライブラリーによる抗HCV薬の探索
SIGMA社から市販されている、LOPACライブラリーを用いた抗HCV薬探索を継続した。化合物濃度は1 μ Mとした。培養細胞に感染後6時間後に化合物を添加して72時間の培養後、培養上清中のコアタンパク量を測定した。
2. 新規抗HCV薬候補の抗ウイルス活性
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。
3. 新規HCV培養系の開発
これまで感染性のウイルスを産生することができなかったウイルス株の全長cDNAに変異を導入することで培養細胞におけるウイルスゲノムの複製増殖とウイルス粒子産生を検討

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、個人情報等を厳格に管理保存する。

C. 研究結果

1. 薬剤ライブラリーによる抗 HCV 薬の探索

J6/JFH-1 株の全長 cDNA からウイルス RNA を合成し、その RNA を Huh7 細胞に導入して得られた HCV ウイルスを持続感染させた Huh7 細胞を用いた。HCV 感染細胞を 96well plate に播種し、6 時間後に薬物を 1 μ M の最終濃度で添加した。72 時間の培養後、培養上清を回収してコアタンパク質の濃度を ELISA 法により測定した。LOPAC ライブラリーに含まれる 1268 の化合物を検討した。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った。得られた化合物に対して容量依存性および再現性を確認したところ、ウイルス分泌の増加は確認できなかった。ウイルス分泌を抑制した化合物は容量依存性の作用を確認できたが、細胞障害性試験を実施したところ、サイクロスポリン以外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。そこで、スクリーニング試験に用いる化合物濃度を 10 μ M として抗 HCV 作

用を再度検討している。この試験では複数の化合物が候補として得られているため、作用機序の解析などを進める予定である。

2. 新規抗 HCV 薬候補の抗ウイルス活性

NS3 プロテアーゼ阻害剤 BILN2061 の JFH-1 感染細胞に対する抗ウイルス作用を解析した。今年度は BILN2061 耐性ウイルスを分離した。BILN2061 耐性ウイルスのゲノムをシーケンズ解析すると NS3 プロテアーゼ領域に 2 カ所の変異を認めた。この変異をリバーシジェネティクス法により導入したウイルスは BILN2061 耐性であることを確認した。また、新規 NS5B ポリメラーゼ阻害剤の複製阻害作用を検討したところ、その抗ウイルス作用は弱く、細胞障害性が認められた。

3. 新規 HCV 培養系の開発

遺伝子型 Con1 株の全長遺伝子に NS3 領域に 2 カ所 (1202EG, 1280TI) および NS5A 領域に 1 カ所 (2197SP) の変異を単独あるいは組み合わせで導入した。3 つの変異をすべて持つ、いわゆる NK5.1 と呼ばれる高適合変異株は細胞内複製能が最も高いものの、細胞外へウイルス分泌はみられない。一方、2197SP 変異のみを導入した場合、細胞内ウイルス増殖は低いがウイルスの分泌が観察された。さらに、1202EG と 2197SP の 2 カ所の変異を導入した場合、細胞内増殖は NK5.1 に次いで高く、ウイルスの分泌も 2197SP 変異のみよりも増加した。この結果から、従来ウイルス複製を増強する適合変異はウイルス粒子産生を抑制すると考えられていたが、適合変異の組み合わせによって複製とウイルス粒子産生の両方を増強することが明らかとなった。

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。

昨年度に引き続き、LOPACライブラリーのスクリーニングをおこなっている。化合物濃度が1 μ Mではウイルス粒子産生を抑制する化合物を得られなかったため、10 μ Mでスクリーニングを継続している。新たに抗HCV薬の候補化合物を得ているのでその作用機序の解析などをおこなっていく。また、既報および新規抗HCV薬を用いてその薬効と薬剤耐性について解析した。プロテアーゼ阻害剤は強力な抗HCV活性を有するが、容易に薬剤耐性ウイルスが出現することから、薬剤耐性の機序や、複数の抗HCV

薬の組み合わせなどを検討していく必要がある。さらに、新規HCV培養系の開発においては遺伝子型1bのCon1株を用いて感染性ウイルス粒子の産生に成功した。これまでに遺伝子型1bの感染性HCVの報告はなく、この実験系は日本や欧米に多い遺伝子型1bのHCV研究での活用が期待される。

E. 結論

1. LOPACライブラリーを用いて抗HCV薬のスクリーニングをおこない、抗HCV薬候補化合物を得たが、細胞障害性によるものが含まれていた。
2. 抗NS3薬のJFH-1ウイルスに対する活性を検討し、薬剤耐性ウイルスを分離した。
3. 新規HCV培養系の開発で遺伝子型1bの感染性ウイルスの作成に成功した。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Kondo Y, Machida K, Liu HM, Ueno Y, Kobayashi K, Wakita T, Shimosegawa T, Lai MM. Hepatitis C Virus Infection of T Cells Inhibits Proliferation and Enhances Fas-Mediated Apoptosis by Down-Regulating the Expression of CD44 Splicing Variant 6. *J Infect Dis.* 2009 199(5):726-736.
2. Kuroki M, Ariumi Y, Ikeda M, Dansako H, Wakita T, Kato N. Arsenic Trioxide Inhibits Hepatitis C Virus RNA Replication through Modulation of the Glutathione Redox System and Oxidative Stress. *J Virol.* 2009 83(5):2338-2348.
3. Suzuki R, Moriishi K, Fukuda K, Shirakura M, Ishii K, Shoji I, Wakita T, Miyamura T, Matsuura Y, Suzuki T. Proteasomal Turnover of Hepatitis C Virus Core Protein Is Regulated by Two Distinct Mechanisms: a Ubiquitin-Dependent Mechanism and a Ubiquitin-Independent but

- PA28(γ)-Dependent Mechanism. *J Virol.* 2009 83(5):2389-2392.
4. Nitahara-Kasahara Y, Fukasawa M, Shinkai-Ouchi F, Sato S, Suzuki T, Murakami K, Wakita T, Hanada K, Miyamura T, Nishijima M. Cellular vimentin content regulates the protein level of hepatitis C virus core protein and the hepatitis C virus production in cultured cells. *Virology.* 2009 383(2):319-27.
 5. Wakita T. Isolation of JFH-1 strain and development of an HCV infection system. *Methods Mol Biol.* 2009;510:305-27.
 6. Akazawa D, Date T, Morikawa K, Murayama A, Omi N, Takahashi H, Nakamura N, Ishii K, Suzuki T, Mizokami M, Mochizuki H, Wakita T. Characterization of infectious hepatitis C virus from liver-derived cell lines. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008 377(3):747-51.
 7. Lan L, Gorke S, Rau SJ, Zeisel MB, Hildt E, Himmelsbach K, Carvajal-Yepes M, Huber R, Wakita T, Schmitt-Graeff A, Royer C, Blum HE, Fischer R, Baumert TF. Hepatitis C virus infection sensitizes human hepatocytes to TRAIL-induced apoptosis in a caspase 9-dependent manner. *J Immunol.* 2008 181(7):4926-35.
 8. Kimura T, Imamura M, Hiraga N, Hatakeyama T, Miki D, Noguchi C, Mori N, Tsuge M, Takahashi S, Fujimoto Y, Iwao E, Ochi H, Abe H, Maekawa T, Arataki K, Tateno C, Yoshizato K, Wakita T, Okamoto T, Matsuura Y, Chayama K. Establishment of an infectious genotype 1b hepatitis C virus clone in human hepatocyte chimeric mice. *J Gen Virol.* 2008 89(9):2108-13.
 9. Kato T, Choi Y, Elmowalid G, Sapp RK, Barth H, Furusaka A, Mishiro S, Wakita T, Krawczynski K, Liang TJ. Hepatitis C virus JFH-1 strain infection in chimpanzees is associated with low pathogenicity and emergence of an adaptive mutation. *Hepatology.* 2008 48(3):732-40.
 10. Sir D, Chen WL, Choi J, Wakita T, Yen TS, Ou JH. Induction of incomplete autophagic response by hepatitis C virus via the unfolded protein response. *Hepatology.* 2008 48(4):1054-61.
 11. Ariumi Y, Kuroki M, Dansako H, Abe K, Ikeda M, Wakita T, Kato N. The DNA damage sensors ataxia-telangiectasia mutated kinase and checkpoint kinase 2 are required for hepatitis C virus RNA replication. *J Virol.* 2008 82(19):9639-46.
 12. Murakami K, Kimura T, Osaki M, Ishii K, Miyamura T, Suzuki T, Wakita T, Shoji I. Virological characterization of the hepatitis C virus JFH-1 strain in lymphocytic cell lines. *J Gen Virol.* 2008 89(7):1587-92.
 13. Ebihara T, Shingai M, Matsumoto M, Wakita T, Seya T. Hepatitis C virus-infected hepatocytes extrinsically modulate dendritic cell maturation to activate T cells and natural killer cells. *Hepatology.* 2008 48(1):48-58.
 - 14: Masaki T, Suzuki R, Murakami K, Aizaki H, Ishii K, Murayama A, Date T, Matsuura Y, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T. Interaction of hepatitis C virus nonstructural protein 5A with core protein is critical for the production of infectious virus particles. *J Virol.* 2008 82(16):7964-76.
 15. Mateu G, Donis RO, Wakita T, Bukh J, Grakoui A. Intragenotypic JFH1 based recombinant hepatitis C virus produces high levels of infectious particles but causes increased cell death. *Virology.* 2008 376(2):397-407.

16. Ishii K, Murakami K, Hmwe SS, Zhang B, Li J, Shirakura M, Morikawa K, Suzuki R, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T. Trans-encapsidation of hepatitis C virus subgenomic replicon RNA with viral structure proteins. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008 371(3):446-50.

17. Nahmias Y, Goldwasser J, Casali M, van Poll D, Wakita T, Chung RT, Yarmush ML. Apolipoprotein B-dependent hepatitis C virus secretion is inhibited by the grapefruit flavonoid naringenin. *Hepatology*. 2008 47(5):1437-45.

18. Aizaki H, Morikawa K, Fukasawa M, Hara H, Inoue Y, Tani H, Saito K, Nishijima M, Hanada K, Matsuura Y, Lai MM, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T. Critical role of virion-associated cholesterol and sphingolipid in hepatitis C virus infection. *J Virol*. 2008 82(12):5715-24.

2. 学会発表および講演など

1) 脇田隆宇, 「C型肝炎ウイルス研究の進展: ウイルス増殖からワクチン開発へ」、第134回日本医学会シンポジウム「感染症をめぐる最近の話題」、日本医師会館、(2008, 7. 17)

2) 森川賢一、脇田隆宇、培養細胞で作製した感染性C型肝炎ウイルス粒子の免疫原性の解析およびワクチン応用への可能性、第44回日本肝臓学会総会、愛媛県民文化会館、(2008, 6. 5-6)、ワークショップ7「肝炎ウイルスの感染・複製・排除のメカニズム」

3) 加藤孝宣、三代俊治、脇田隆宇、HCV JFH-1株のチンパンジーへの感染実験: in vivo 適応変異の機能的解析、第44回日本肝臓学会総会、愛媛県民文化会館、(2008, 6. 5-6)、ワークショップ7「肝炎ウイルスの感染・複製・排除のメカニズム」

4) 脇田隆宇、C型肝炎ウイルス研究の最先端、第12回日本肝臓学会大会、グランドプリンス

ホテル新高輪、(2008, 10. 1)、シンポジウム1「肝炎ウイルス研究のカッティングエッジ: 基礎から臨床への贈り物」

5) 脇田隆宇、ウイルス培養系を用いたC型肝炎ウイルス研究、日本ウイルス学会第56回学術集会、岡山コンベンションセンター(2008, 10. 26-28)、シンポジウム4 C型肝炎

7) 原弘道、相崎英樹、松田麻美、村上恭子、勝二郁夫、松浦善治、宮村達男、脇田隆宇、鈴木哲朗、creatine kinase BはC型肝炎ウイルスNS4Aとの相互作用によりウイルスゲノム複製複合体へ運ばれエネルギー供給に働く、日本ウイルス学会第56回学術集会、岡山コンベンションセンター(2008, 10. 26-28)、ワークショップ2 ウイルス複製機構

8) 政木隆博、鈴木亮介、村上恭子、相崎英樹、石井孝司、村山麻子、伊達朋子、松浦善治、宮村達男、脇田隆宇、鈴木哲朗、HCV粒子形成におけるNS5A蛋白の役割、日本ウイルス学会第56回学術集会、岡山コンベンションセンター(2008, 10. 26-28)、ワークショップ6 ウイルス侵入・粒子機構

9) 山下篤哉、松本武久、高谷大輔、上條加寿恵、前川伸哉、雨宮史武、坂本直哉、脇田隆宇、梅山秀明、横山茂之、榎本信幸、伊藤正彦、In silico screeningによるHCV NS3プロテアーゼ阻害化合物の検索、日本ウイルス学会第56回学術集会、岡山コンベンションセンター(2008, 10. 26-28)、ワークショップ8 ウイルス感染症の診断と治療

10) 脇田隆宇、C型肝炎ウイルスのウイルス培養とワクチン開発、第67回日本癌学会学術総会、名古屋国際会議場(2008, 10. 28-30)、シンポジウム4 ウイルス発癌

11) 有海康雄、黒木美沙緒、團迫浩方、阿部健一、池田正徳、脇田隆宇、加藤宜之、ATM DNA損傷センサーはC型肝炎ウイルスのRNA複製に必要である、第67回日本癌学会学術総会、名古屋国際会議場(2008, 10. 28-30)、ワークショップ3-4 HCV

- 12) 政木隆博、鈴木亮介、村上恭子、相崎英樹、石井孝司、宮村達男、脇田隆宇、鈴木哲朗、HCVの粒子形成におけるNS5A蛋白の役割、第44回日本肝臓学会総会、愛媛県民文化会館、(2008, 6.5-6)
- 13) 平賀伸彦、今村道雄、木村俊之、畠山剛、光井富喜子、三木大樹、森奈美、柘植雅貴、高橋祥一、脇田隆宇、茶山一彰、HBVとHCVはインターフェロン感受性が異なる-ウイルス複製培養細胞および動物モデルを用いた検討-、第44回日本肝臓学会総会、愛媛県民文化会館、(2008, 6.5-6)
- 14) 脇田隆宇、「C型肝炎ウイルスの細胞内粒子形成過程の解析」「感染現象のマトリックス」横系の会、東京大学医科学研究所(2008, 5.29-30)
- 15) 相崎英樹、脇田隆宇、「C型肝炎ウイルスの生活環における脂質の役割に関する研究」「感染現象のマトリックス」横系の会、兵庫医科大学(2008, 6.28-29)
- 16) 加藤宜之、森京子、阿部健一、團迫浩方、有海康雄、脇田隆宇、池田正徳、新しいヒト肝臓細胞株Li23を用いたHCV生活環再現システム、日本ウイルス学会第56回学術集会、岡山コンベンションセンター(2008, 10.26-28)
- 17) 下池貴志、SA McKenna、DA Lindhout、脇田隆宇、JD. Puglisi、HCV IRES 依存的翻訳はeIF2のリン酸化耐性である、日本ウイルス学会第56回学術集会、岡山コンベンションセンター(2008, 10.26-28)
- 18) 有海康雄、黒木美沙緒、團迫浩方、阿部健一、池田正徳、脇田隆宇、加藤宜之、DNA損傷センサーATMおよびChk2とHCV NS5Bとの相互作用、日本ウイルス学会第56回学術集会、岡山コンベンションセンター(2008, 10.26-28)
- 19) 石井孝司、村上恭子、ススムエー、張斌、李津、白倉雅之、森川賢一、鈴木亮介、宮村達男、脇田隆宇、鈴木哲朗、C型肝炎ウイルスのsubgenomic repliconを持つウイルス用粒子の形成と感染性、日本ウイルス学会第56回学術集会、岡山コンベンションセンター(2008, 10.26-28)
- 20) 棟方翼、脇田隆宇、野本明男、TLR3はC型肝炎ウイルス感染を抑制する、日本ウイルス学会第56回学術集会、岡山コンベンションセンター(2008, 10.26-28)
- 21) 村上恭子、阿部克俊、高宮智史、木村敬朗、鈴木哲朗、宮村達男、小池和彦、脇田隆宇、勝二郁夫、HCVコア蛋白質に結合する新規宿主因子hnRNPH1/H2のHCV生活環における役割、日本ウイルス学会第56回学術集会、岡山コンベンションセンター(2008, 10.26-28)
- 22) 石橋真理子、脇田隆宇、江角眞理子、C型肝炎ウイルス量の多い肝組織に発現亢進する分子OASLはウイルス制御分子か?、日本ウイルス学会第56回学術集会、岡山コンベンションセンター(2008, 10.26-28)
- 23) 浜本いつき、村上恭子、鈴木哲郎、多屋馨子、岡部信彦、脇田隆宇、勝二郁夫、C型肝炎ウイルス複製を制御する宿主因子ERGIC-53の機能、日本ウイルス学会第56回学術集会、岡山コンベンションセンター(2008, 10.26-28)
- 24) 黒木美沙緒、有海康雄、池田正徳、團迫浩方、脇田隆宇、加藤宜之、亜ヒ酸は酸化ストレスを介してHCV RNAの複製を顕著に阻害する、日本ウイルス学会第56回学術集会、岡山コンベンションセンター(2008, 10.26-28)
- 25) 武部豊、上西理恵、納富香子、廖華南、長谷彩希、鈴木哲朗、脇田隆宇、袴田航、CD81を標的とする新しいクラスの低分子性HCVエントリー阻害剤の同定、日本ウイルス学会第56回学術集会、岡山コンベンションセンター(2008, 10.26-28)
- 26) 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キメラHCVウイルス株およびJFH-1株の免疫の検討、日本ウイルス学会第56回学術集会、岡山コンベンションセンター(2008, 10.26-28)

- 27) 上西理恵、廖華南、袴田航、納富香子、長谷彩希、赤澤大輔、鈴木哲朗、脇田隆宇、武部豊、HCV JFH-1 infectivity assay を用いた低分子 HCV 阻害剤の探索とその評価、日本ウイルス学会第 56 回学術集会、岡山コンベンションセンター(2008, 10.26-28)
- 28) 阿部健一、池田正徳、有海康雄、團迫浩方、脇田隆宇、加藤宜之、Cyclosporine A に対し抵抗性を示す 1b/2a キメラレプリコン、日本ウイルス学会第 56 回学術集会、岡山コンベンションセンター(2008, 10.26-28)
- 29) 渋谷悠子、尾見法昭、中村紀子、脇田隆宇、細胞培養系で作製した C 型肝炎ウイルスにより誘導された抗体の性状解析、第 12 回日本ワクチン学会学術集会、崇城大学市民ホール(2008, 11.8-9)
- 30) 千代智子、関口敏、松原明弘、保富康宏、脇田隆宇、志田壽利、水野喬夫、村井深、小原道法、HCV 遺伝子組換えワクチニアウイルスの作製とワクチンとしての検討、第 12 回日本ワクチン学会学術集会、崇城大学市民ホール(2008, 11.8-9)
- 31) 勝二郁夫、大崎一直、村上恭子、鈴木哲朗、宮村達男、脇田隆宇、堀田博、C 型肝炎ウイルスコア蛋白質のエピキチン化シグナル、第 31 回日本分子生物学会年会、神戸ポートアイランド(2008, 12.9-12)
- 32) 相崎英樹、山本真民、原弘道、森川賢一、谷英樹、松浦善治、斎藤恭子、深澤征義、花田賢太郎、宮村達男、脇田隆宇、鈴木哲朗、脂質の C 型肝炎ウイルス感染における役割、第 31 回日本分子生物学会年会、神戸ポートアイランド(2008, 12.9-12)
- 33) 高橋仁、尾見法昭、赤澤大輔、中村紀子、望月英典、鈴木哲朗、脇田隆宇、エピトープタグを付加した組換え HCV 粒子の効率的な産生と性状解析、第 31 回日本分子生物学会年会、神戸ポートアイランド(2008, 12.9-12)
- 34) 村上恭子、阿部克俊、高宮智史、木村敬郎、鈴木哲朗、宮村達男、小池和彦、脇田隆宇、勝二郁夫、HCV コア蛋白質に結合する新規宿主因子 hnRNP H1/H2 の HCV 生活環における役割、第 31 回日本分子生物学会年会、神戸ポートアイランド(2008, 12.9-12)
- 35) 石橋真理子、脇田隆宇、清水洋子、江角眞理子、肝臓類洞内皮 C 型レクチン L-SIGN の C 型肝炎ウイルス受容体機能の解析、第 31 回日本分子生物学会年会、神戸ポートアイランド(2008, 12.9-12)
- 36) T Wakita, HCV replication and virus particle formation, The 8th Awaji International Forum on Infection and Immunity, The Hyogo Prefecture Awaji Yumebutai International Conference Center, (2008 9/7-11)
- 37) T Wakita, Development of HCV culture system, Workshop/Hepatitis, The 7th Japan-China International Conference of Virology, Tokyo, Japan (June 1-3, 2008)
- 38) T Wakita, Hepatitis C virus replication and virus particle formation, Symposium: Emerging Viruses and the Control of Viruses, XIVth International Congress of Virology, IUMS 2008, 8.15, Istanbul, Turkey
- 39) Hideki AIZAKI, Kenichi MORIKAWA, Masayoshi FUKASAWA, Hiromichi HARA, Ryousuke SUZUKI, Hideki TANI, Kentaro HANADA, Yoshiharu MATSUURA, Michael M.C. LAI, Tatsuo MIYAMURA, Takaji WAKITA, Tetsuro SUZUKI. Critical roles of virion-associated cholesterol and sphingolipids in the viral infectivity, IUMS 2008, 8.15, Istanbul, Turkey
- 40) Kyoko Murakami, T Wakita et al. Identification of hnRNPH1 as a binding partner of hepatitis C virus core protein and the IRES IIIId region of viral RNA, IUMS 2008, 8.15, Istanbul, Turkey
- 41) M Saeed, T Kato, T Wakita, In vitro replication efficiencies of hepatitis C

- virus JFH-1 strain with mutations emerged in chimpanzee, The Hyogo Prefecture Awaji Yumebutai International Conference Center, (2008 9/7-11)
- 42) Takahashi H, Omi N, Akazawa D, Nakamura N, Mochizuki H, Suzuki T, Wakita T, Biological properties of purified recombinant HCV particles with the epitope-tagged envelope, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 43) Uenishi R, Hakamata W, Nohtomi K, Liao H, Hase S, Suzuki T, Wakita T, Takebe Y, Identification of novel Small molecule HCV entry inhibitor that acts through CD81, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 44) Munakata T, Wakita T, Nomoto A, Induction of hepatic TLR3 by E2F1 during hepatitis C virus infection, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 45) Zeisel MB, Hoffmann M, Jilg N, Stoll-Keller F, Wakita T, Barth H, Henneke P, Baumert TF. Sensing of hepatitis C virus core by toll-like receptor 2 is shielded in enveloped viral particles, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 46) I Hamamoto, K Murakami, T Suzuki, K Taya, N Okabe, T Wakita, I Shoji, ERGIC-53 regulates the HCV RNA replication through interaction with the viral NS3 protein, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 47) Fukasawa M, Nakamura S, Nitahara-Kasahara Y, Shimotohno K, Suzuki T, Wakita T, Nishijima M, Mashino T, Anti-HCV activity of novel Fullerene derivatives, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 48) Kato N, Mori K, Abe K, Dansako H, Ariumi Y, Wakita T, Ikeda M, A new human hepatoma cell line enabling persistent reproduction of HCV life cycle and assay for anti-HCV reagents, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 49) Akazawa D, Morikawa K, Omi N, Takahashi H, Nakamura N, Mochizuki H, Date T, Wakita T, Production and purification of HCV particles from serum-free culture, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 50) Machida R, Tong S, Heintges T, Wakita T, Wands JR, Interruption of hepatitis C virus particle formation by an intracellular antibody targeting the viral core protein, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 51) Ishii K, Murakami K, Hmwe SS, Li J, Suzuki R, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T, Trans-encapsidation of HCV subgenomic replicon RNA with viral structure proteins, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 52) Ariumi Y, Kuroki M, Ikeda M, Dansako H, Wakita T, Kato N, The vacuolar protein sorting pathway is essential for HCV budding, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 53) Masaki T, Suzuki R, Murakami K, Aizaki

- H, Ishii K, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T, The C-terminal serine cluster of NS5A is a determinant of NS5A-core protein interaction and HCV production, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 54) Watanabe N, Murayama A, Akazawa D, Tomonaga M, Date T, Kato T, Suzuki T, Wakita T, Purification and structural analysis of HCV E2 protein, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 55) Angus AGN, Dalrymple DA, Boulant S, McGivern DR, Wakita T, McLauchlan J, Lemon SM, Patel AH, Hepatitis c virus replication does not depend on the interaction between the viral core protein and the cellular RNA helicase DDX3, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 56) Shin K-S, Lim Y-S, Choi S-H, Wakita T, Hwang SB, Regulation of heat shock protein 70 by hepatitis c virus NS5A protein, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 57) Abe K, Murakami K, Takamiya S, Suzuki T, Miyamura T, Koike K, Wakita T, Shoji I, Identification of hnRNPH1 and hnRNPF as binding partners for HCV core protein, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 58) Abe K, Ikeda M, Ariumi Y, Dansako H, Wakita T, Kato N, Cyclophilins A and B mediate the anti-HCV activity of cyclosporine A in 1b/2a chimeric replicon-harboring cells, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 59) Kuroki M, Ariumi Y, Ikeda M, Dansako H, Wakita T, Kato N, Arsenic trioxide inhibits HCV RNA replication through modulation of oxidative stress, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 60) Murayama A, Date T, Akazawa D, Kato T, Suzuki T, Nomoto A, Wakita T, A single amino acid mutation in core region is important for efficient infectious virus particle production in genotype 2b/2a chimeric HCV, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 61) Seronello S, Ito C, Wakita T, Choi J, Ethanol enhances hepatitis c virus replication in human hepatoma cells supporting infectious virus production, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 62) I Shoji, M Osaki, K Murakami, T Suzuki, T Miyamura, T Wakita, H Hotta, Ubiquitylation signal of hepatitis C virus core protein, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 63) Sir D, Chen W-L, Wakita T, Yen TSB, Ou J-HJ, Perturbation of autophagic response by hepatitis c virus, 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA (2008, 10. 5-9)
- 64) Hara H, Aizaki H, Matsuda M, Murakami K, Shoji I, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T, Involvement of creatine kinase B in hepatitis C virus genome replication through interaction with the viral NS4A protein, 15th International Meeting on Hepatitis C

and Related Viruses. San Antonio TX, USA
(2008, 10. 5-9)

65) K Morikawa, D Akazawa, Imawari M, T Wakita. The structural analysis of highly purified infectious HCV particles produced in cultured cells. The 59th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, San Francisco, CA, USA (October 31-November 4, 2006)

66) Mishima K, Sakamoto N, Sekine-Osajima Y, Nakagawa M, Itsui Y, Tasaka M, Nishimura-Sakurai Y, Suda G, Onuki Y, Yamamoto M, Wakita T, Watanabe M, Establishment and genetic analysis of cytopathogenic HCV-JFH1 mutants by plaque-forming assay. The 59th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, San Francisco, CA, USA (October 31-November 4, 2006)

67) Kato T, Choi Y, Elmowalid G, Sapp RK, Barth H, T Wakita, Krawczynski K, Liang TJ. Hepatitis C virus JFH-1 strain infection in chimpanzee is associated with low pathogenicity and emergence of an adaptive mutation. The 59th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, San Francisco, CA, USA (October 31-November 4, 2006)

68) Machida R, Tong S, Heintges T, Wakita T, Wands JR, Li J, Interruption of hepatitis C virus particle formation by an intracellular antibody targeting the viral core protein. The 59th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, San Francisco, CA, USA (October 31-November 4, 2006)

G. 知的所有権の出願・登録状況
なし

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

研究分担者 京都大学ウイルス研究所 准教授 土方 誠

研究要旨 これまでに独自に樹立したヒト不死化肝細胞を用いて C 型肝炎ウイルス (HCV) の感染増殖を高効率で再現する培養細胞実験系の開発をおこなった。中空糸を用いた簡便な立体培養法を用いることでいろいろな患者血液由来天然 HCV の感染増殖が平面培養した時の約 100 倍近くまで HCV-RNA が増幅することが分かった。その培養上清には浮遊密度 1.12 にピークをもつ感染性の HCV 粒子が産生されることが推定された。さらにこの浮遊密度画分を超速心し沈殿させたものを酢酸ウラニウムによりネガティブ染色し電子顕微鏡で観察したところ直径約 40 nm の粒子に長さ約 7nm のスパイク状構造をもつウイルス様粒子が観察された。以上からこの培養実験系により天然の HCV の生活環をすべて再現することが可能になったと考えられた。さらに平面培養と立体培養が細胞に与える影響の相違を調べるため立体培養下で発現が変化する遺伝子をマイクロアレイ法によって解析したところ、ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 (PPAR)alpha のシグナルが活性化されていることが明らかとなった。PPARalpha に対するアゴニストおよびアンタゴニストで細胞を処理することにより患者由来の HCV の感染増殖は亢進そして抑制されることが分かった。このことから、PPARalpha のシグナルあるいはそのシグナルによって誘導される遺伝子の中に抗 HCV 薬の標的になるものが含まれることが示唆された。

A. 研究目的

独自に樹立した不死化肝細胞を用いて、患者血液由来の天然型 C 型肝炎ウイルスが効率良く感染増殖する新たな細胞培養系を構築する。この培養系を用いて HCV の感染増殖機構を解析することにより、このウイルスの感染増殖に関わる細胞側因子の詳細を明らかにして、これを効果的に抑制させることによる抗 HCV 戦略構築を目指した。

B. 研究方法

1. これまでに新規に樹立しているヒト不死化肝細胞を中空糸をもちいて立体培養することにより種々の患者血清由来 HCV の感染増殖を効率良くおこなう培養実験系の構築を試みた。

2. この実験系を用いて、種々の患者血液由来 HCV の感染増殖ならびに細胞との相互作用の解析をおこなった。
3. マイクロアレイ法を用いて通常培養と立体培養によって変化する遺伝子発現パターンを解析し、立体培養法によって HCV の感染増殖に変化を与えるに細胞側要因の解析をおこなった。

(倫理面への配慮)

ヒト初代培養肝細胞は、京都大学附属病院移植外科においておこなわれた先天性代謝異常症患者への生体肝臓移植において切除された患者肝臓組織を用いて作成されたものである。この研究はあらかじめ京都大学医学部医の倫理委員会に申請し、審査の後に承認された