

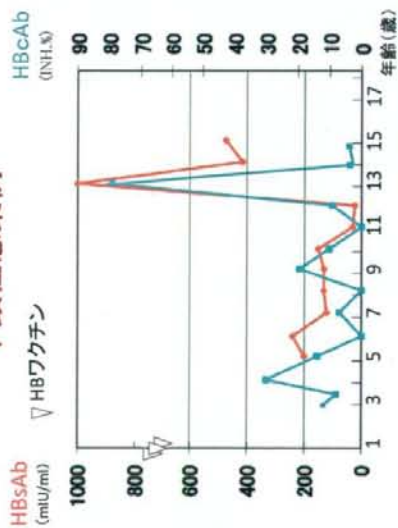
アンケート調査から明らかになったこと

- 対象患児120名中、標準予防措置 (HBIGおよびHBワクチン投与) が全て行われた児は112名 (93%)であった (HBIGなし1例、ワクチン投与漏れ7例)
- 今回のアンケート調査ではHBVキャリア化例は確認されなかった。
- 6ヶ月の治療効果判定は101名 (84%)のみで行われていた。
- 産科からの紹介状なしの症例があり、産科小児科間の更なる連携の強化が必要である。

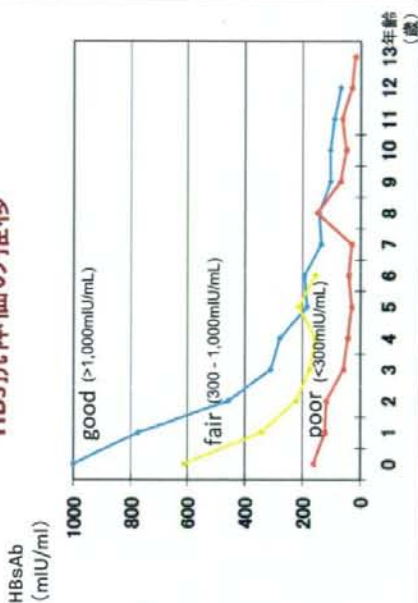
HBワクチン投与後の抗HBs抗体価推移

「B型肝炎母子感染防止事業」が1986年から施行されるようになり、小児におけるB型肝炎ウイルス (HBV) のキャリア率は0.04%程度までに激減した。しかし予防処置後の長期経過観察に関する報告は乏しく、追加ワクチンの意義についても確立した見解はない。

不顕性感染例



HBs抗体価の推移



HBワクチン投与後の抗HBs抗体価の推移を 長期観察した結果明らかになったこと

- B型肝炎感染予防成功症例でその後キャリア化する例は非常にまれとされているが、**不顕性HBV感染が低頻度ながら発生していた。**
- 追加ワクチンに対する反応はさまざまで、予防処置により抗体獲得良好であった群であっても、必ずしもブースター効果は得られなかった。このことから、**HBs抗体を獲得した個体であっても、HBs抗体価が低い状態でHBVに暴露した際に、すみやかな免疫応答が得られにくい症例がある可能性が示唆された。**
- 不顕性HBV感染はHBs抗体価が低い症例に多く見られたことから、HBキャリアと同様して一般人よりHBV感染リスクが高い小児期には、**HBs抗体を高く保つために状況に応じてHBIG投与やHBワクチン追加接種を考慮すべきである。**

Adequate anti-HBs Ab titer for HBV prevention

USA	Japan
RIA: 10 SRU \leq ¹⁾	● Positive ²⁾
EIA: Positive ³⁾	PHA: 16 \leq ⁴⁾ or Positive ⁵⁾
● 10 mIU/mL \leq ²⁾	● 10 mIU/mL \leq ²⁾

¹⁾ CDC (1990)

²⁾ CDC (2001, 2003, & 2006)

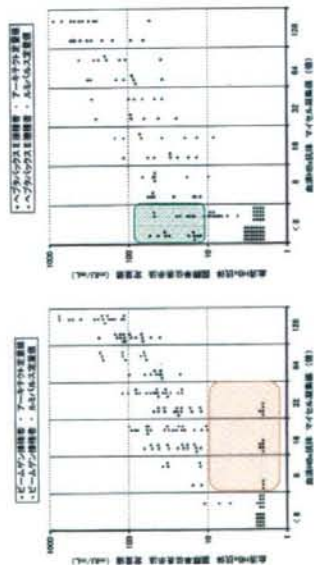
³⁾ Japan Ministry of Health, Labour, and Welfare (2004)

⁴⁾ Yoshizawa & Iino, Sodeyama (2002, 2004)

⁵⁾ Japanese Society of Gastroenterology (2001 & 2006)

● Assay methods are not specified

ビームゲン接種者・ヘプタバックスⅡ接種者における 血清HBs抗体・3キット測定値の乖離状況

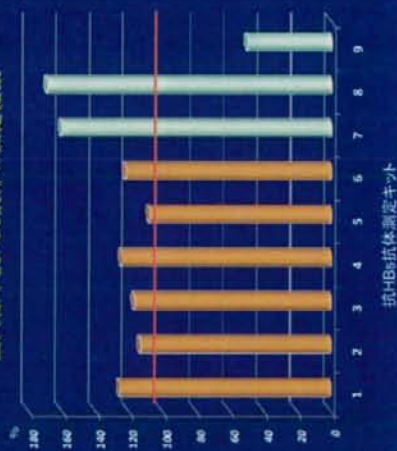


HBワクチンが誘導する血清HBs抗体評価： ルミパルスとアーキテクトの相違

ルミパルス定量化値 / アーキテクト定量化値
one sample t-test, compared to 1

HBV (ayw) : 0.90 (p < 0.05)
Bimmugen(adr) : 2.18 (p < 0.0001)
Meinyu (adr) : 2.20 (p < 0.0001)
Heptavax II (adw) : 1.04 (p = 0.6459)

国内で販売/使用されている抗HBs抗体測定用キットによる
国内標準抗HBs抗体の測定結果



抗HBs抗体測定用体外診断薬の性能比較

- 測定に用いた9種類のキットにおいて、6種類のキットではほぼ100%付近の対表示値を示したが、2種類のキットでは約160%、1種類のキットでは約50%の対表示値を示した。
- 高い対表示値を示したキットでは、WHO標準品ではなく自社標準品を用いて検量線作成を行っていた。
- 低い対表示値を示したキット (WHO標準品により検量線を作成) について、その原因は不明である。
- WHO/CDCは「10mIU/ml以上の抗体価」があればHBV感染に対して防御可能としている。臨床現場においてワクチン投与の効果を判定する際には、信頼のおける測定キットを用いて抗HBs抗体価を測定する必要があるだろう。

HBワクチン 国内第Ⅲ相臨床試験成績

組成	エチピローワイ	ヒームゲン	ヘプタバックス
HBs抗原量	10 µg	10 µg	10 µg
水酸化アルミニウム	0.26 mg	0.16 mg	0.16 mg
水酸化アルミニウムカリウム	-	-	4.396 mg
アジドチオール	0.01 mol %	0.001 mol %	0.000 mol %
副成分	卵清	卵清	ヒト免疫グロブリン (pHOK-14)
製剤	major B	major B	major B
サブタイプ	ADP	ADP	ADP
接種回数	1871/1809	1942/1804	782/810
成功率	97.8%	94.1%	92.8%
CL1.05 or DR2.15			
平均値 (mIU/mL)	916.7	665.7	665.7
標準偏差	400.9	4.689	4.689
接種率 (接種/接種回数)	13.4%	11.6%	5.6%
次化接種率 (接種/接種)	MS (7)	MS (7)	MS (7)
特異感度 (感度/感度)	ADSM (7)	ADSM (7)	ADSM (7)

* 2013年～15年
厚生労働省提供

HB ワクチン標準接種完了1~3ヶ月後の
PHA法による抗体価分布

- エッチピローワイ: 4,096 倍凝集価以上
- ヒームゲン: 512 倍凝集価
- 明乳: 4,096 倍凝集価以上
- ヘプタバックス: 128 倍凝集価

ところが！

2008年11月現在日本において使用可能な

なHBワクチンは以下の二種類

ヒームゲン (国産)

ヘプタバックスII (輸入・FDA認可)

(1990年代には5種類存在したが ---)
どちらも高い抗体価が期待できない！

本邦のB型肝炎急性患者のHBVワクチン
エスネープ変異株 (HBV-EM) の発生頻度



HBV-EMの発生頻度は3.1%

今後のHBワクチン接種施策を考慮する上で重要か？

免疫予防を受けた幼児のHBV感染率と
Escape Mutantの横出頻度

国名	感染率 (HBs抗原陽性)	Escape mutant*
Universal vaccination 米国		
中国	42/340 (12.4%)	4/24 (17%)
アメリカ	94/1092 (8.6%)	22/94 (23%)
シンガポール	41/345 (11.9%)	16/41 (39%)
台湾	115/1200 (9.6%)	8/103 (8%)
1984 (美産科)	52/1134 (4.5%)	10/50 (20%)
1989	20/1515 (1.3%)	0/32 (28%)
1994		
Universal vaccination 非米国		
イギリス	20/321 (6.2%)	2/17 (12%)
太平洋諸国	19/784 (2.4%)	0/15 (0%)

*HBワクチン、HBIG投与による

まとめ

HBVの主要感染経路



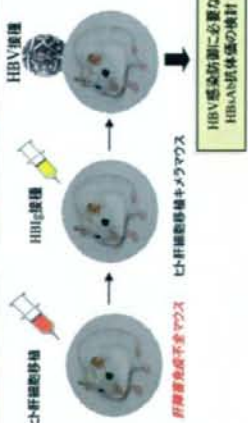
もはや「性感染症 (STD)」として捉えるべきでは？

これからのHBワクチン接種は？

“Universal Vaccination”の導入について徹底的な検討が必要

- 接種対象者の範囲 / 接種ワクチンの選択 / 接種回数 / 追加接種の有無
- 接種効果判定基準の統一 - HBs抗体定量法の標準化 (PHA法からIUへ)
- 感染防御に必要なHBs抗体価の検証 (10mIU/ml が適切か?)
- HBV変異株について、その発生経路、ワクチンの有効性についての検討
- HBワクチン導入の安全性とコストについての検証

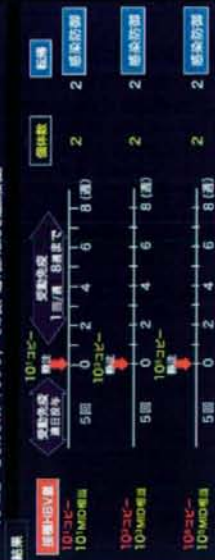
ヒト肝細胞移植キメラマウスを用いた HBV感染実験



2. HBIGによる受動免疫後のHBV genotype A感染実験

実験と方法

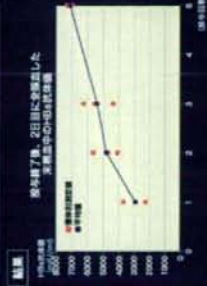
- マウス: ヒト肝細胞移植キメラマウス (3匹/群・3群: 計9匹)
- 実験材料: HBV感染性Hc抗原FFP感染液、57日目のチンパンジー血清
HBV genotype A
HBV DNA 2.6x10⁶コピー/ml
HBc抗体陽性
チンパンジー感染液 (ICID) : ~10⁷コピー/キメラマウス感染液 (1MID) : ~10⁷コピー
- プロトコール: 受動免疫 (HBIG) 5日間後、感染性添加量のHBV genotype A 10⁷コピー、10⁶コピー、10⁵コピーそれぞれをそれぞれ投与し、その後、週1回HBIGを追加投与。



1. HBIGによる受動免疫後の末梢血中のHBs抗体価の推移

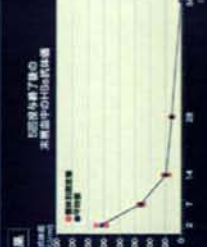
1) HBIGの投与回数別にみたHBs抗体価の上昇

ヒト肝細胞移植キメラマウス (計10匹) を無菌状態で、HBIG (2000U/ml) 500μl/回を1回投与、2回投与、3回投与、5回投与の4群、各5群ずつ、2日目、7日目、14日目、20日目、26日目に採血し、末梢血中のHBs抗体価を測定した。



2) HBIG5回投与後のHBs抗体価の推移

ヒト肝細胞移植キメラマウス (計10匹) を無菌状態で、HBIG (2000U/ml) 500μl/回を5回投与し、2日目、7日目、14日目、20日目、26日目に採血し、末梢血中のHBs抗体価を測定した。



SCIDマウスでは、感染初期により上昇した末梢血中のHBs抗体価の半減期は、約1週間であり、ヒト (等価量投与量) に対して高いことが明らかとなった。

Ultimate Goal of the Project
Establishment of the Scientific Rationale for
Implementation of
Universal Vaccination in Japan
HB



平成20年度 肝炎等克服緊急対策研究事業 成果概要

研究課題：non-coding RNAを用いた新たな慢性C型肝炎制御による治療法開発

課題番号：H19-肝炎一般-006

研究代表者：村上善基

I. 研究の意義

(1) 日本人に多いC型肝炎ウイルス遺伝子型1b型に罹患している慢性C型肝炎では現在の標準的な治療方法では奏効率が約50%前後であり、再発率が多く、特に女性や比較的年齢の高い患者では副作用のために治療中止例が少なくない。また現在ワクチンのような有効な感染防止手段がない。

(2) 慢性肝炎の進行した結果肝硬変、肝臓に至り、特に肝臓での死亡者は近年増加傾向にある。

II. 研究の目的、期待される成果

(1) 慢性肝疾患の状態別に得られたマイクロRNA発現プロファイルを用いて、炎症、線維化の進展、発癌のメカニズムを明らかにする。

(2) マイクロRNAを利用した有効で副作用の少ない慢性C型肝炎治療の確立を目標とする。

(3) ウイルスの遺伝子型、線維化、炎症、性別、年齢、罹患期間、など患者個別の情報に応じたテーラーメイド治療の確立を目標とする。

III. 2年間の研究成果

・主任研究者

(1) *in vitro* 実験で確立したHCV複製の制御を*in vivo* 実験応用の予備実験を行なった

(2) 慢性C型肝炎組織を用いて線維化の程度別(F1-3)のマイクロRNA発現プロファイルを作成した

(3) インターフェロン・リバビリン併用療法の効果別のマイクロRNA発現プロファイルを作成し、投与前での効果予測を可能にした。

・分担研究者(井ノ上逸朗)

(1) マイクロRNAのターゲット遺伝子を絞り込むための新たな解析ツールの作成。

(2) インターフェロン、サイクロスポリン投与におけるマイクロRNA発現変化を利用し、抗ウイルス剤の効果発現メカニズムの解析と、新規抗ウイルス活性を持つ遺伝子の同定。

・分担研究者(下遠野邦忠)

(1) マイクロRNA実験で得られた結果の検証。

(2) インターフェロン耐性レプリコン細胞の作成。

IV. 21年度の課題

- (1) マイクロ RNA を利用した HCV 複製制御のための in vivo 実験の確立
- (2) 患者個人の状態に応じた肝炎治療確立を目指したインターフェロン治療効果予測の確立
- (3) 線維化の制御を目指したメカニズム解析、線維化進行防止を目的とした遺伝子治療開発のための情報整備
- (4) 肝癌の発生に関係する遺伝子候補の機能解析

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) インターフェロン治療効果予測をする事により患者個人の臨床情報に応じた治療方法が選択でき、医療費の削減が期待できる。
- (2) 肝線維化程度別のマイクロ RNA 発現プロファイルを用いて客観的な病理診断が出来、診断、治療の標準化が出来る。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

- (1) 村上善基 (主任研究者)

論文

Murakami Y, Aly HH, Tajima A, Inoue I, and Shimotohno K. Regulation of the Hepatitis C Virus genome replication by miR-199a*. *Journal of Hepatology* (in press)

学会発表

村上善基、岡上武、下遠野邦忠。Aberrant expression of miR-224 has a potential for hepatocarcinogenesis. 第67回日本癌学会学術集会

- (2) 井ノ上逸朗(分担研究者)

Murakami Y, Aly HH, Tajima A, Inoue I, and Shimotohno K. Regulation of the Hepatitis C Virus genome replication by miR-199a*. *Journal of Hepatology* (in press)

Saigo K, Yoshida K, Ikeda R, Sakamoto Y, Murakami Y, Urashima T, Asano T, Kenmochi T, Inoue I. Integration of hepatitis B virus DNA into the myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia (*MLL4*) gene and rearrangements of *MLL4* in human hepatocellular carcinoma. *Hum Mutat* 29, 703-708, 2008.

- (3) 下遠野邦忠(分担研究者)

Murakami Y, Aly HH, Tajima A, Inoue I, and Shimotohno K. Regulation of the Hepatitis C Virus genome replication by miR-199a*. *Journal of Hepatology* (in press)

Zhang J, Yamada O, Kawagishi K, Araki H, Yamaoka S, Hattori T, Shimotohno K. Human T-cell leukemia virus type 1 Tax modulates interferon-alpha signal transduction through competitive usage of the coactivator CBP/p300. *Virology*. 379(2):306-313, 2008

Noguchi T, Otsubaki T, Ando I, Ogura N, Ikeda S, Shimotohno K. Isolation and gene analysis of interferon alpha-resistant cell clones of the hepatitis C virus subgenome. *Virology*. 375(2):424-432, 2008

VI. III (2年間の研究成果)の概要図等

HCVに感染すると慢性肝炎から肝硬変に至り肝細胞癌に発育する。

この一年で行った事

来年度行なう事

感染防止機能

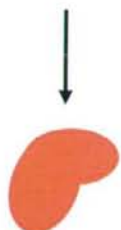
ウイルス遺伝子をターゲットに持つ
マイクロ RNA をあらかじめ発現させておくと
in vitro にウイルス感染が阻害できた。



正常肝

ウイルス遺伝子の制御

慢性肝炎において in vitro でウイルスの
複製を制御するマイクロ RNA の同定
マウス肝に効率よく肝毒性のないように
マイクロ RNA 発現実験を行なった。



慢性肝炎

患者個人の状態に応じた
肝炎治療確立を目指した
インターフェロン治療効果予測の
確立

新たな観点での肝炎治療

目的：肝炎の進行防止をウイルス側要因と
宿主側要因から行なう。

肝線維化防止のメカニズム解明のため

慢性肝炎の線維化の程度別の

マイクロ RNA 発現プロファイルの作成

患者個人の臨床情報を利用した

インターフェロン+リバビリン併用療法

効果別のマイクロ RNA 発現プロファイルの作成



線維化の制御を目指したメカニズム
解析
線維化進行防止を目的とした
遺伝子治療開発のための情報整備



肝硬変

肝癌と肝硬変、慢性肝炎別にマイクロ
RNA 発現プロファイルを作成した。



肝細胞癌

肝癌の発生に関係する遺伝子候補
の機能解析

・過去に所属した研究機関の履歴

- 1995-1999 京都府立医科大学大学院医学研究科病理学専攻
1999-2001 フランス国立保険医学研究所
2004-2007 京都大学ウイルス研究所 ヒトがんウイルス研究部門
2007- 京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

- 1995-1999 京都府立医科大学病理学第一 芦原 司、内科学第三 岡上 武
1999-2001 フランス国立保険医学研究所 Christian Brechot, Patrizia Paterlini-Brechot
2004- 京都大学ウイルス研究所 下遠野邦忠、東海大学生命科学 井ノ上逸朗、田島敦、千葉東病院 西郷健一、大垣市民病院 豊田秀徳、

・主な研究課題

- 1995- HBV ゲノムの宿主遺伝子組み込みにおける発癌メカニズムの解析
2004- miRNA 発現プロファイルを用いた慢性肝疾患の進展、特に発癌メカニズムの解析、HCV 感染、複製の制御

・これまでの研究実績

1. Murakami Y, Aly HH, Tajima A, Inoue I, and Shimotohno K. Regulation of the Hepatitis C Virus genome replication by miR-199a*. *Journal of Hepatology* (in press)
2. Saigo K, Yoshida K, Ikeda R, Sakamoto Y, Murakami Y, Urashima T, Asano T, Kenmochi T, and Inoue I. Integration of Hepatitis B Virus DNA into the Myeloid/Lymphoid or Mixed-Lineage Leukemia (*MLL4*) Gene and Rearrangements of *MLL4* in Human Hepatocellular Carcinoma. (in press) *Human mutation*
3. Toyoda H, Kumada T, Kaneoka Y, and Murakami Y. Impact of Hepatitis B Virus (HBV) X Gene Integration in Liver Tissue on Hepatocellular Carcinoma Development in Serologically HBV-Negative Chronic Hepatitis C Patients. *Journal of Hepatology*. 2008; 48: 43-50
4. Murakami Y, Yasuda T, Saigo K, Urashima T, Toyoda H, Okanoue T, and Shimotohno K Comprehensive analysis of microRNA expression patterns in hepatocellular carcinoma and non-tumorous tissues. *Oncogene*. 2006; 25: 2537-2545
5. Murakami Y, Saigo K, Takashima H, Minami M, Okanoue T, Brechot, C, and Paterlini-Brechot P. Large scaled analysis of Hepatitis B Virus (HBV) DNA integration in HBV-related hepatocellular carcinomas (HCC). *Gut*. 2005; 54: 1162-1168
6. Paterlini-Brechot P, Saigo K, Murakami Y, Chami M, Gozuacik D, Mugnier C, Lagorce D, Brechot C. Hepatitis B virus-related insertional mutagenesis occurs frequently in human liver cancers and recurrently targets human telomerase gene. *Oncogene*. 2003 ; 22: 3911-6.

発明特許

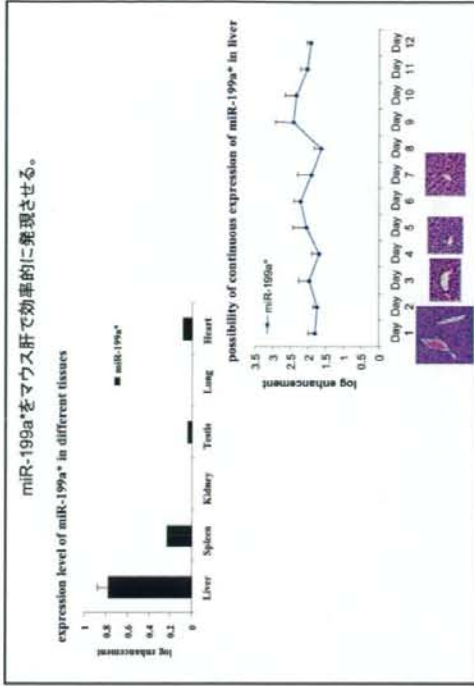
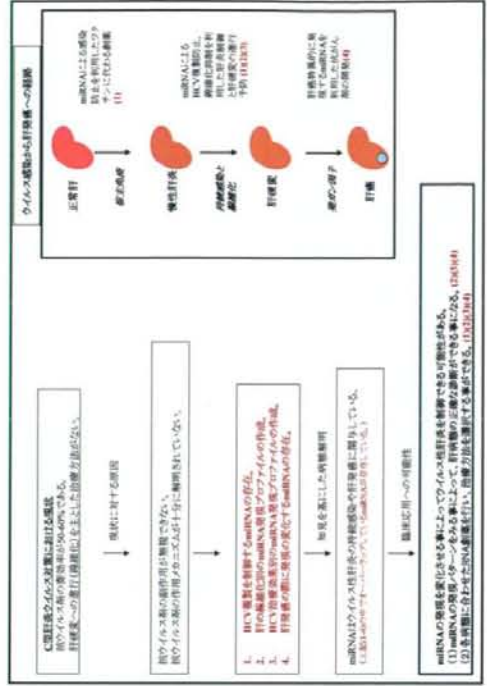
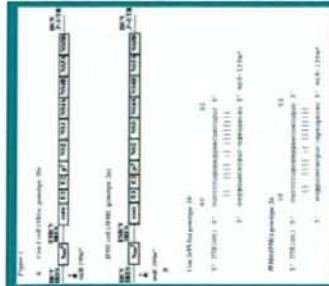
C型肝炎ウイルスの複製を制御するマイクロRNA 特願2007-91723 (H19-3-30) 下遠野邦忠、村上善基

non-coding RNAを用いた新たな慢性C型肝炎制御による治療法開発

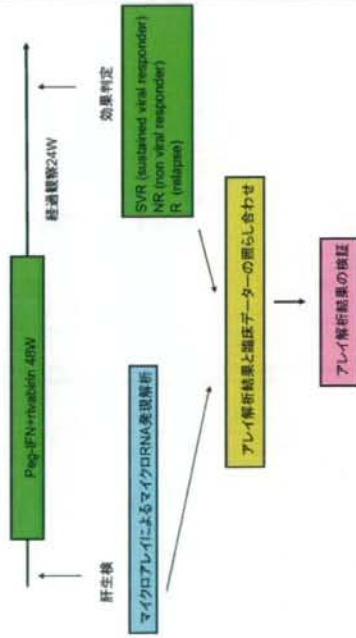
京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター
村上 晋憲

平成20年度厚生労働省研究費補助金(肝炎等重症緊急対策)研究事業

(1) miR-199a*はHCV複製を抑制する。

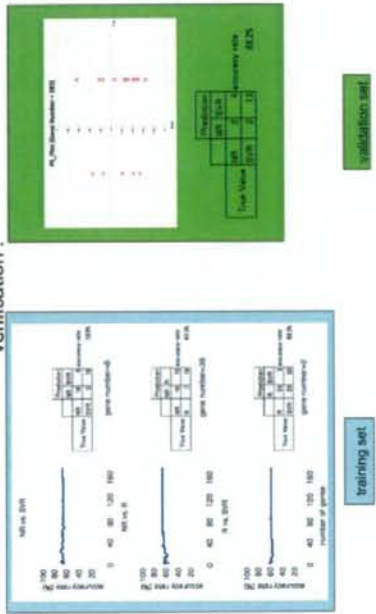


(2) インターフェロン治療に関連するマイクロRNA

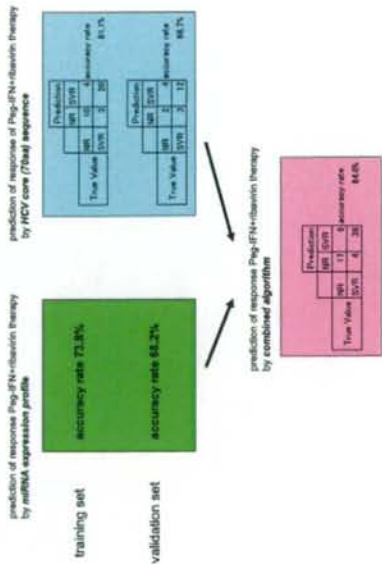


マイクロRNA発現プロファイルを用いたIFN効果予測

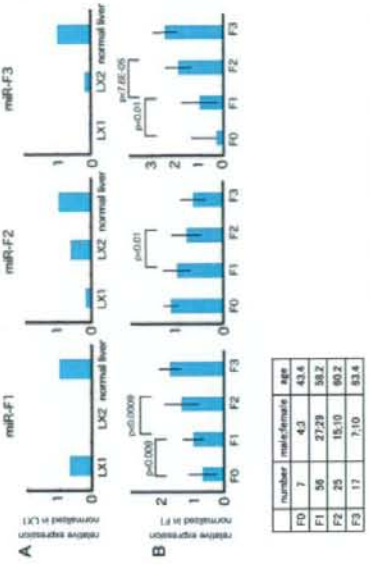
verification!



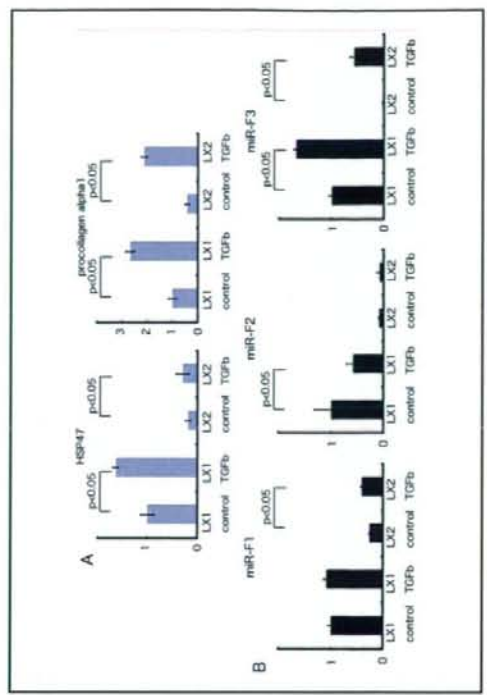
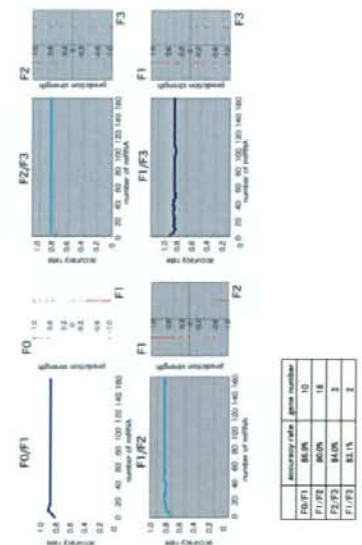
IFN効果予測の比較



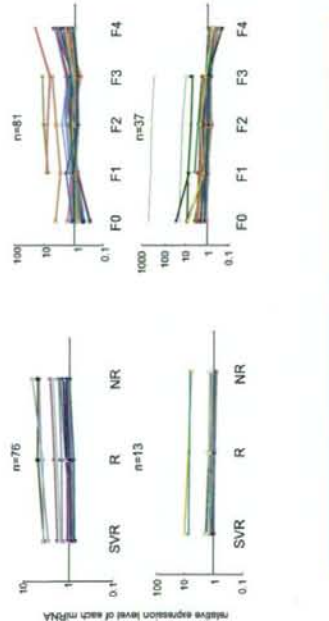
(3) 肝線維化の進展に関係するマイクロRNA



マイクロRNA発現プロファイルを用いた肝線維化の予測

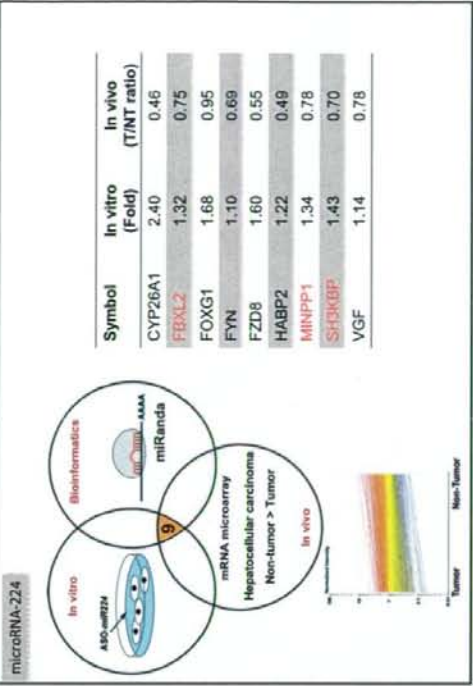
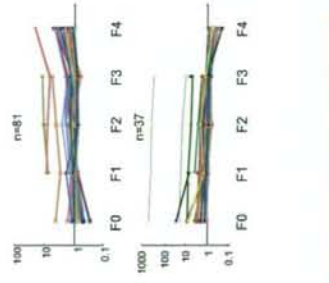


IFN治療反応に関連したmiRNA

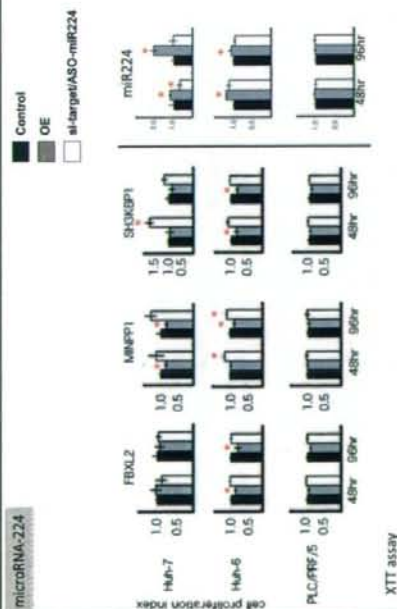


IFN治療反応性で、線維化が進行していると発現量が上昇しているmiRNA 9種
IFN治療反応が良好で、線維化が進行していないと発現量が上昇しているmiRNA 33種

肝線維化の進展に関連したmiRNA



microRNA-224



結果

1. マイクロRNAを過剰発現しHCVの複製を抑制できた。また肝毒性がほとんどなくマウス肝にマイクロRNAを発現させることが出来た。
2. 慢性C型肝炎に対するベグインターフェロン+リビリン療法効果別のマイクロRNA表現プロファイルを作成し、高い精度で効果予測が出来た。
3. 肝線維化のステージ別のマイクロRNA表現プロファイルを作成し、肝線維化のステージを評価することが出来た。また肝疾患の進展と薬剤応答に共通するマイクロRNAが存在した。
4. 肝疾患に関係している可能性のあるマイクロRNAを同定し、そのターゲット遺伝子を同定した。

今後の予定

1. マイクロRNAを用いてin vivoでのHCV複製抑制実験を試みる。
2. 肝線維化に關与したマイクロRNAの機能解析を行い、肝線維化の抑制を目的した遺伝子治療に向けての予備実験を行なう。また肝線維化を診断するための新たなツールの開発を行なう。
3. ベグインターフェロン+リビリン治療効果判定のための診断ツールの開発、マイクロRNA表現プロファイルを用いた新たな広ウイルス機能を持つマイクロRNAの同定を行ない、新規抗ウイルス治療法の開発を試みる。
4. 肝疾患に關与したマイクロRNAの機能解析と、新たに同定した肝疾患に關与した遺伝子の機能解析を行なう。

研究メンバー

東海大学	医学部生命科学	井ノ上逸朗、田嶋敦
慶応義塾大学	総合医科学研究センター	下邊野邦志
大塚市民病院	消化器科	熊田卓、豊田秀徳
DNAチップ研究所		林克之

平成20年度 肝炎等克服緊急対策研究事業 成果概要

研究課題：B型及びC型肝炎ウイルスの感染による肝がん発症の病態解明とその予防・治療法の開発に関する研究

課題番号：H19-肝炎一般-007

研究代表者：林 紀夫

I. 研究の意義

- (1) ウイルス性肝炎を基盤とした肝がんの発生とそれによる死亡が増加している
- (2) ウイルス性肝炎からの肝がんの発生のメカニズムが不明であり、予防法が確立していない
- (3) 肝がんは時間的・空間的に多発性を示し、再発・転移を制御する治療法が確立していない

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 肝炎ウイルスの増殖・発がん機構の解明と発がん抑止法の開発
- (2) 肝がんの分子病態の網羅的解析と新規診断マーカー・治療法の開発
- (3) 肝がんの免疫病態の解明と再発抑止を目指したがん免疫治療法の探索

III. 2年間の研究成果

・研究代表者

- (1) 肝がんに対する樹状細胞治療のアジュバントとして α GalCerが有用であることを解明（林）
- (2) 1型IFNがNK細胞を介したがん治療に有用であることを解明（林）
- (3) MICA分泌阻害活性のある薬剤の候補を探索（林）
- (4) C型肝炎における樹状細胞機能の低下のメカニズムをToll様レセプター経路の視点から解明（林）

・研究分担者

- (1) HCV コア蛋白のSPPによる成熟機構を解明（松浦）
- (2) HCV コアによる肝脂肪化、発がんにおけるPA28 γ による分解の意義の解明（松浦）
- (3) HCV コア蛋白による病態形成機構をプロテオーム解析により網羅的に解析（小池）
- (4) HCV コアによるミトコンドリア機能障害におけるプロヒピチンの意義の解明（小池）
- (5) HBV preS1に結合する宿主因子の候補の同定（上田）
- (6) 血清プロテオーム解析により肝がん患者の診断マーカーとしてC3aフラグメントを同定（井戸）
- (7) 炎症性発がんにおけるオステアクチビンの意義の解明（井戸）
- (8) 肝がん患者におけるHLA-A24拘束性エピトープを同定（中本）
- (9) 肝がんにおけるCTLエピトープとしてMRP31の意義の解明（中本）

- (10) 1型IFNにより樹状細胞による免疫治療効果が増強することを解明（広石）
- (11) 肝がん患者において可溶性MICAが増加しており治療により低下することを解明（竹原）
- (12) 肝がんからのMICAの分泌にADAMファミリー蛋白が関与することを同定（竹原）
- (13) 肝がん患者において制御性T細胞が増加していることを解明（考藤）

IV. 21年度の課題

- (1) HCV感染の成立と発がんにおけるコア蛋白成熟の意義を解明する
- (2) HCV感染による病態形成の包括的な理解のもとに、治療法を構築する
- (3) HBVのエントリ機構を解明し、HBV感染の成立と発がんのメカニズムを解明する
- (4) 肝臓の線維化と発がんにおけるオステオアクチビンの意義を解明する
- (5) 肝がんに対するCTLエピトープの全容を解明し、ペプチド治療法を開発する
- (6) MICA分泌抑制を標的とした肝がん治療法を開発する
- (7) 肝発がんにおける制御性T細胞の意義を解明する
- (8) 肝がんに対する樹状細胞とアジュバントの併用治療法を開発する

V. 行政施策への貢献の可能性

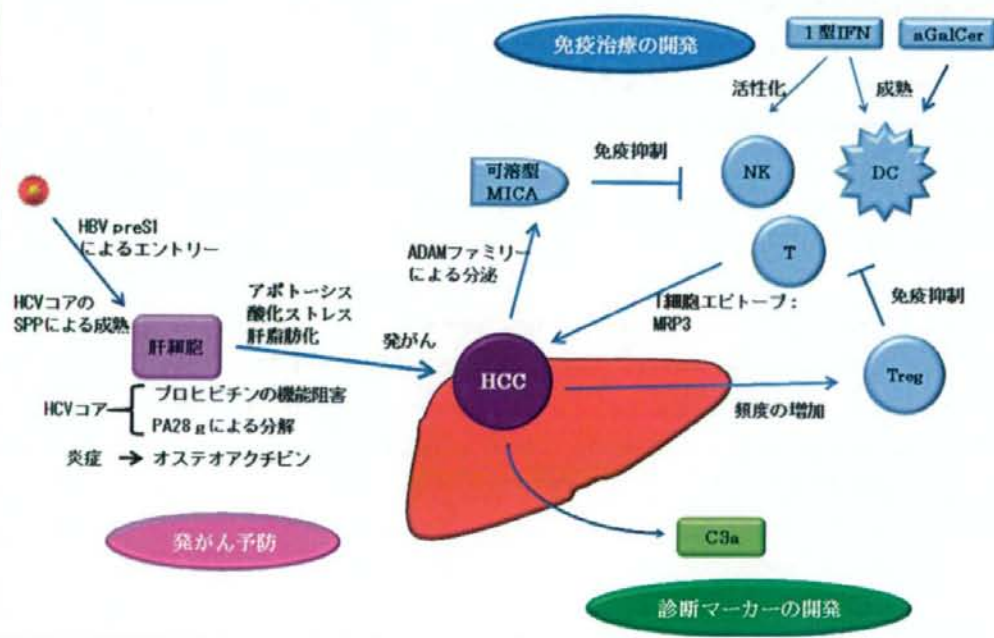
- (1) 肝発がんのメカニズムが解明され、発がんや再発の予防法が提示できる可能性がある
- (2) 肝がんの早期診断血清マーカーが開発される可能性がある
- (3) 肝がんの免疫病態が解明され、新規の免疫治療法が開発される可能性がある

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

(1) Jinushi M, Takehara T, Tatsumi T, Yamaguchi S, Sakamori R, Hiramatsu N, Kanto T, Ohkawa K, Hayashi N. Natural killer cell and hepatic cell interaction via NKG2A leads to dendritic cell-mediated induction of CD4+ CD25+ T cells with PD-1-dependent regulatory activities. **Immunology** **120**: 73-82, 2007. 2) Takehara T, Uemura A, Tatsumi T, Suzuki T, Kimura R, Shiotani A, Ohkawa K, Kanto T, Hiramatsu N, Hayashi N. Natural killer cell-mediated ablation of metastatic liver tumors by hydrodynamic injection of IFN α gene to mice. **Int J Cancer** **120**: 1252-1260, 2007. 3) Tatsumi T, Takehara T, Yamaguchi S, Sasakawa A, Sakamori R, Ohkawa K, Kohga K, Uemura A, Hayashi N. Intrahepatic delivery of α -galactosylceramide-pulsed dendritic cells suppresses liver tumor. **Hepatology** **45**: 22-30, 2007. 4) Miyatake H, Kanto T, Inoue M, Sakakibara M, Kaimori A, Yakushijin T, Itose I, Miyazaki M, Kuzushita N, Hiramatsu N, Takehara T, Kasahara A, Hayashi N. Impaired ability of interferon-alpha-primed dendritic cells to stimulate Th1-type CD4 T-cell response in chronic hepatitis C virus infection. **J Viral Hepat** **14**: 404-412, 2007. 5) Tatsumi T, Takehara T, Yamaguchi S, Sasakawa A, Miyagi T, Jinushi M, Sakamori R, Kohga K, Uemura A, Ohkawa K, Storkus WJ, Hayashi N. Injection of IL-12 gene-transduced dendritic cells into mouse liver tumor lesions activates both innate and acquired immunity. **Gene Ther** **14**: 863-871, 2007. 6) Itose I, Kanto T, Inoue M, Miyazaki M, Miyatake H, Sakakibara M, Yakushijin T, Oze T, Hiramatsu N, Takehara T, Kasahara A, Katayama K, Kato M, Hayashi N. Involvement of dendritic cell frequency and function in virological relapse in pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C patients. **J Med Virol** **79**: 511-521, 2007. 7) Yamaguchi S, Tatsumi T, Takehara T, Sakamori R, Uemura A, Mizushima T, Ohkawa K, Storkus WJ, Hayashi N. Immunotherapy of murine colon cancer using receptor tyrosine kinase EphA2-derived peptide-pulsed dendritic cell vaccines. **Cancer** **110**: 1469-1477, 2007. 8) Ae 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. 7) Kanmura S, Uto H, Kusumoto K, Ishida Y, Hasuike S, Nagata K, Hayashi K, Ido A, Stuver SO, Tsubouchi H. Early diagnosis potential for hepatocellular carcinoma using the SELDI ProteinChip system. **Hepatology** 2007; 45: 948-56. 8) Tsuchiyama T, Nakamoto Y, Sakai Y, Marukawa Y, Kitahara M, Mukaida N and Kaneko S: Prolonged, NK cell-mediated antitumor effects of suicide gene therapy combined with monocyte chemoattractant protein-1 against hepatocellular carcinoma. **J. Immunol.** 178: 574-583, 2007. 9) Miyazaki M, Kanto T, Inoue M, Itose I, Miyatake H, Sakakibara M, Yakushijin T, Kakita N, Hiramatsu N, Takehara T, Kasahara A, Hayashi N. Impaired cytokine response in myeloid dendritic cells in chronic hepatitis C virus infection regardless of enhanced expression of Toll-like receptors and retinoic acid inducible gene-I. **J Med Virol** 80:980-988, 2008. 10) Yamaguchi S, Tatsumi T, Takehara T, Sasakawa A, Hikita H, Kohga K, Uemura A, Sakamori R, Ohkawa K, Hayashi N. Dendritic cell-based vaccines suppress metastatic liver tumor via activation of local innate and acquired immunity. **Cancer Immunol Immunother** 57: 1861-1869, 2008. 11) Tanaka H, Imai Y, Hiramatsu N, Ito Y, Imanaka K, Oshita M, Hijioka T, Katayama K, Yabuuchi I, Yoshihara H, Inoue A, Kato M, Takehara T, Tamura S, Kasahara A, Hayashi N, Tsukuma H. Declining incidence of hepatocellular carcinoma in Osaka, Japan, from 1990 to 2003. **Ann Intern Med** 148: 820-826, 2008. 12) Kohga K, Takehara T, Tatsumi T, Ohkawa K, Miyagi T, Hiramatsu N, Kanto T, Kasugai T, Katayama K, Kato M, Hayashi N. Serum levels of soluble MHC class I-related chain A in patients with chronic liver diseases and the changes during transcatheter arterial embolization for hepatocellular carcinoma. **Cancer Sci** 99 1643-1649, 2008. 13) Tatsumi T, Takehara T, Yamaguchi S, Sasakawa A, Yamamoto M, Fujita Y, Miyagi T, Ohkawa K, Hayashi N. Decreased expressions of CD1d molecule on liver dendritic cells in subcutaneous tumor bearing mice. **J Hepatol** 49:779-786, 2008. 14) Okamoto K., Mori Y., Komoda Y., Okamoto T., Okochi M., Takeda M., Suzuki T., Moriishi K., and Matsuura Y. Intramembrane processing by signal peptide peptidase regulates the membrane localization of hepatitis C virus core protein and viral propagation. **J Virol** 82: 8349-8361, 2008. 15) Tanaka N, Moriya K, Kiyosawa K, Koike K, Gonzalez FJ, Aoyama T. PPAR- α is essential for severe hepatic steatosis and hepatocellular carcinoma induced by HCV core protein. **J Clin Invest** 118: 683-694, 2008.

VII. III (2年間の研究成果)の概要図等



○研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

昭和 49 年 7 月 大阪大学医学部第一内科

昭和 54 年 9 月 米国テキサス大学医学部生化学教室

昭和 56 年 5 月 大阪大学医学部第一内科

平成 10 年 9 月 大阪大学大学院医学系研究科分子制御治療学

平成 17 年 6 月 大阪大学大学院医学系研究科消化器内科学

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

鎌田武信, JA Peterson, 笠原彰紀, 佐々木 裕

・主な研究課題

アルコール性肝障害の病態解明

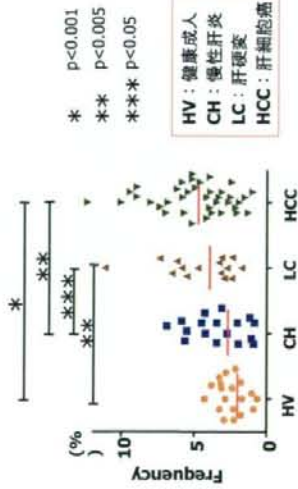
ウイルス性肝炎・肝がんの病態解明と新しい治療法の開発

・これまでの研究実績

1. Signal transducer and activator of transcription 3 signaling within hepatocytes attenuates systemic inflammatory response and lethality in septic mice. **Hepatology** 46: 1564-1573, 2007.
2. Intrahepatic delivery of α -galactosylceramide-pulsed dendritic cells suppresses liver tumor. **Hepatology** 45: 22-30, 2007.
3. Negative regulation of NK cell activities by inhibitory receptor CD94/NKG2A leads to altered NK cell-induced modulation of dendritic cell functions in chronic hepatitis C virus infection. **J Immunol** 173: 6072-6081, 2004.
4. Concanavarin A injection activates intrahepatic innate immune cells to provoke an anti-tumor effect in murine liver. **Hepatology** 40: 1190-1196, 2004.
5. Hepatocyte-specific disruption of Bcl-xL leads to continuous hepatocyte apoptosis and liver fibrotic responses. **Gastroenterology** 127: 1189-1197, 2004.
6. Hepatitis C virus core functions as a suppressor of cyclin-dependent kinase-activating kinase and impairs cell cycle progression. **J Biol Chem** 279: 11719-11726, 2004.
7. Autocrine/paracrine IL-15 that is required for type I IFN-mediated dendritic cell expression of MHC class I-related chain A and B is impaired in hepatitis C virus infection. **J Immunol** 171: 5423-5429, 2003.
8. Hepatitis C virus core protein differentially regulates the JAK-STAT signaling pathway under interleukin-6 and interferon- γ stimuli. **J Biol Chem** 278: 28562-28571, 2003.
9. Critical role of MHC class I-related chain A and B expression on interferon α -stimulated dendritic cells in NK cell activation: Impairment in chronic hepatitis C virus infection. **J Immunol** 170:1249-1256, 2003.
10. Administration of interleukin-12 enhances the therapeutic efficacy of dendritic cell-based tumor vaccines in mouse hepatocellular carcinoma. **Cancer Res** 61:7563-7567, 2001.

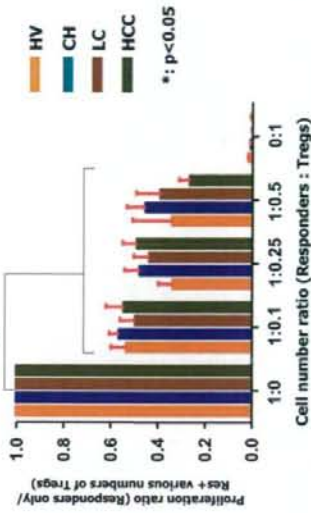
C型慢性肝疾患におけるNatural Treg頻度

CD4+CD25^{high}FOXP3+ cells



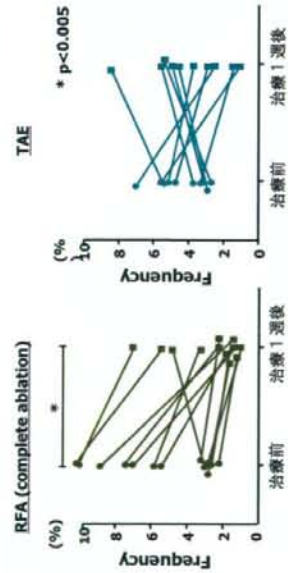
Tregの機能解析

CD4+CD25^{high}CD127- cells



HCC治療によるNatural Treg 頻度の変化

CD4+CD25^{high}FOXP3+ cells



NK細胞による肝がん認識機構

