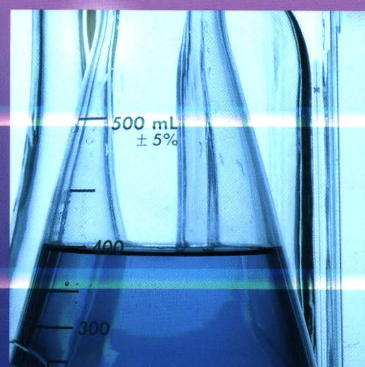
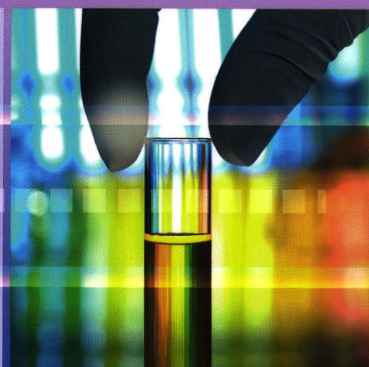


201004007A

厚生労働科学研究費補助金 地球規模保健課題推進研究事業 (国際医学協力研究事業)

主にアジアに蔓延するウイルス性肝疾患の 制御に資する為の日米合作的肝炎ウイルス基礎研究 (H22-国医-指定-007)

平成22年度 総括・分担研究報告書



研究代表者 **小池和彦**
東京大学大学院医学系研究科 教授
平成23(2011)年3月

厚生労働科学研究費補助金
地球規模保健課題推進研究事業（国際医学協力研究事業）

主にアジアに蔓延するウイルス性肝疾患の制御に資する為の

日米合作的肝炎ウイルス基礎研究

（H22-国医-指定-007）

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小池 和彦

東京大学大学院医学系研究科 教授

平成23（2011）年3月

目 次

I. 総括研究報告

- 主にアジアに蔓延するウイルス性肝疾患の制御に資する為の
日米合作的肝炎ウイルス基礎研究
小池 和彦..... 1
- 第 32 回日米合同会議
「アジアにおける経口ウイルス肝炎に関するシンポジウム」報告書..... 14

II. 分担研究報告

1. C型肝炎ウイルス培養細胞を用いた研究
脇田 隆字..... 16
2. ヒト肝細胞キメラマウスを用いた肝炎ウイルスに関する研究
茶山 一彰..... 19
3. B,C,E 型肝炎の疫学, 免疫学, 亜細亜との共同研究に関する研究
アクバル シェイクモハマドファズレ..... 24
4. 包括的遺伝子発現評価を用いた B, C 型ウイルス肝炎に関する研究
金子 周一 30

III. 研究成果に関連した刊行物 (総説抜粋) 33

平成22年度総括研究報告書

主にアジアに蔓延するウイルス性肝疾患の制御に資する為の
日米合作的肝炎ウイルス基礎研究

(H22-国医-指定-007)

主任研究者

小池 和彦 東京大学大学院医学系研究科・教授

研究要旨：本研究は、日米医学協力研究会（USJCMSP）肝炎部会（以下『日米肝炎』と略す）の活動の一環として実施された。日米肝炎が、アジアに特に蔓延する肝炎ウイルスとしてB型とE型（HBV, HEV）、将来の感染拡大が懸念される肝炎ウイルスとしてC型（HCV）を主要標的として定めたことに呼応し、本研究班の今年度の研究活動も主にこの三種の肝炎ウイルスに関するものであった。2010年9月に横浜パシフィコにおいて開催された第32回日米合同会議では、アジアにおける経口ウイルス肝炎に関するシンポジウムを実施した。このシンポジウムには日米およびアジア（中国、韓国、ロシア、インド、パキスタン、バングラデシュ）、欧米（フランス、ドイツ）からの研究者あわせて50名（招待者を含めた米国側29人、日本側21人）が参加した。アジアにおける経口ウイルス肝炎の現状とワクチンを含む対策が議論された。

A. 構成

<主任研究者>

小池和彦 東京大学大学院医学系研究科消化器内科学教授（USJCMSP『部会長』）

科学教授（USJCMSP『部会員』）

金子周一 金沢大学医薬保健研究域医学系
恒常性制御学教授（USJCMSP『部会員』）

<分担研究者>

脇田隆字 国立感染症研究所ウイルス第二部部長（USJCMSP『部会員』）

アクバル シェイクモハマドファズレ 東芝病院研究部主任研究員（USJCMSP『部会員』）

茶山一彰 広島大学医歯薬学総合研究科先進医療開発科学分子病態制御内

<研究協力者（USJCMSP『研究員』）>

榎本信幸 山梨大学医学部第一内科学教授

樋野興夫 順天堂大学医学部病理学教授

小原道法 東京都臨床医学総合研究所感染生体防御研究部門室長

工藤正俊 近畿大学医学部消化器内科学教授

松浦善治 大阪大学微生物病研究所分子ウ

ウイルス分野教授

岡本宏明 自治医科大学感染免疫学講座ウ
イルス学部門教授

Anna Lok

Professor, University of Michigan

佐田通夫 久留米大学医学部消化器疾患情
報講座教授

Rajen Koshy

NIAID, NIH

田中榮司 信州大学医学部第二内科学教授
田中靖人 名古屋市立大学大学院医学研究
科臨床分子情報医学分野教授

B. 研究目的

アジア諸国の肝炎・肝癌の制御を目的と
する。

堀田 博 神戸大学大学院医学系研究科微
生物学分野教授

久保木眞 倉敷成人病センター肝臓病セン
ター医長

C. 研究方法

アジア諸国の肝炎・肝癌の予防と制御を
目的として実施する本研究は、1. 基礎研究、
2. 米国研究者との研究協力、3. アジア諸国
研究者との研究協力、及び4. 日米シンポ
ジウム共催という四つの部分から成る。

正木尚彦 国立国際医療センター戸山病院
消化器内科第二消化器科医長

李 天成 国立感染症研究所ウイルス第二
部主任研究官

考藤達哉 大阪大学大学院医学系研究科樹
状細胞制御治療学准教授

池田健次 共済組合連合会虎の門病院肝臓
科部長

西原利治 高知大学消化器肝臓内科教授

進藤道子 明石市立市民病院肝臓内科部長

西口修平 兵庫医科大学肝胆膵内科学教授

坂井田功 山口大学医学部消化器病態内科
学教授

1. 基礎研究：本研究に参画する班員とその
研究協力者が、それぞれの専門領域に於け
る基礎研究の深化に努力した。具体的には、
HBV と HCV と HEV に関する疫学的、ウイル
ス学的、免疫学的、分子生物学的研究を行
った。

2. 米国研究者との研究協力：従来からの日
米医学協力研究事業肝炎部会の日米両パネ
ル間の研究協力体制を維持し、先端情報の
速やかな相互開示によって、当該領域の知
識と技術の増進に努力した。

3. アジア諸国研究者との研究協力：アジア
諸国の医師・研究者との間に存在する研究
協力体制を更に強化すると同時に、新たな
研究協力の可能性をも模索した。

<研究協力者 USJCMSP 『米国部会員』>

Christopher Walker (USJCMSP 『米国部会長』)

Professor, Ohio State University

Adrian Di Bisceglie

Professor, St Louis University

Michael Gale Jr.

Professor, University of Washington

4. アジアの肝炎に関するシンポジウム：

2010年9月に「アジアにおける経口ウイルス肝炎」に関するシンポジウムを横浜において開催した。

D. 研究結果及び考察

(1) HIV/HCV、HIV/HBV 重複感染の疫学・病理病態・治療について。HIV/HCV 重複感染症 322 例の肝疾患進展度の実態調査によると、重複感染例のうちの約 90% の症例で HCV 量が高値であることが判明した (HCV 単独感染では 72%)。さらに、総ビリルビンが 2.0 mg/dl を越える進行肝硬変が 26 例以上存在することも明らかになった。また、平均 8.5 年間の観察期間で、アルブミン値は平均 0.17g/dl 低下、ビリルビン値は平均 0.16mg/dl 上昇した。C 型慢性肝炎の標準的な抗ウイルス治療であるリバビリン併用 PegIFN 療法によって sustained virological response が得られた例は 36% と HCV 単独感染例 (50%弱) に比して低かった。

(2) HCV の培養細胞を用いた基礎研究により、HCV の理解を深め、その予防と治療に資する研究成果をあげることが目的としている。HCV 表面タンパク質の糖鎖構造を解析した。ウイルス粒子産生および感染性に重要であることが明らかとなった。

(3) バングラデシュ及びインドネシア国内でウイルス肝炎の実態について疫学調査を実施し、その調査に基づき亜細亜の開発途上国の病態の特徴を分析した。加えて、日本国内の基礎実験で安全性と効果の確認された新たな免疫治療法を開発途上国現地

実態調査の結果をもとに現地で臨床治験を行い、開発途上国のためのウイルス性肝疾患新規治療法の開発、及び新ガイドラインの作成を試みた。

(4) 肝炎ウイルスはヒトとチンパンジーのみにしか感染しないため、ウイルスの解析、薬剤棟の解析などが困難であった。我々はヒト肝細胞を移植したキメラマウスを用いてウイルスの感染実験を実施することに成功し、様々な研究を行ってきている。平成 22 年度には B 型肝炎ウイルスの HBx 蛋白の機能解析を行い、ウイルスの増殖にこの蛋白が必須であることを明らかにした。また、NS3-4A protease 阻害剤である Telaprevir の評価、大豆から抽出された新規化合物である ME3732 の評価を行った。

(5) B 型慢性肝炎、C 型慢性肝炎、関連肝細胞がんにおける発現遺伝子、small RNA を包括的に解析し、慢性肝炎および肝細胞がんの病態と発現遺伝子との関連を明らかにした。インターフェロン治療を行った C 型慢性肝炎患者の肝臓では、治療前からインターフェロン誘導遺伝子の発現が高い群と、低い群に分けられた。治療前から発現の高い群ではインターフェロン治療による遺伝子の誘導が低く、低い群では逆に遺伝子の誘導が高かった。この関係はインターフェロン治療効果と相関しており、インターフェロン治療効果との関係が報告されている SNP IL28B の変異とも関連していた。

E. 日米合同会議

2010 年 9 月横浜パシフィコで開催された第 32 回日米合同会議「アジアにおける経口ウイルス肝炎」の概要。

今年で 32 回目となる日米医学肝炎部会（正式には、国際医学協力研究事業日米医学協力委員会肝炎専門部会）ミーティングは、9月7日から9日にわたって、神奈川県横浜市の横浜パシフィコで開催された。日本からは部会員である小池和彦（東京大学）、茶山一彰（広島大学）、金子周一（金沢大学）、脇田隆字（国立感染症研究所）、Sheikh Mohammad Fazle Akbar（東芝病院）の5名の部会員の他、多くの研究協力者（USJCMSP 研究者）が参加した。アメリカからは Christopher Walker, Rajen Koshy, Michael Gale, Jr の部会員初め、多くの研究協力者が参加した。また、アジア各国（中国、インド、バングラデシュ、パキスタン、韓国）からの肝炎の専門家が参加・発表を行なった。会議ではアジア各国の経口肝炎ウイルス感染の状況などが報告された。

まず、Dr. Feinstone と Dr. Purcell により、A型肝炎ウイルス（HAV）、E型肝炎ウイルス（HEV）に関する基調講演が行われた後、アジア出身（韓国、インド、日本）の研究者から最近の疫学状況が報告された。特に韓国における HAV のアウトブレイクは、現在若年者の HAV 抗体保有率が極めて低い日本にとって、“対岸の火事”ではなく、今後ワクチン接種を含めた対策を考える必要があることが痛感させられた。

午後のセッションでは我が国の研究者に加えて、米国 Dr. Krawczynski と中国 Dr. Shih から HAV 及び HEV のワクチンに関する最新の研究成果が報告された。

2日目は HAV 及び HEV と宿主の相互作用に関する発表が行われた。HAV の自然免疫に関しては、米国の Dr. Lanford と Dr.

Lemon から、HAV の獲得免疫に関しては米国の Dr. Zhou、ドイツの Dr. Roggendorf、韓国の Dr. Shin からそれぞれ報告が行われた。

アジアにおける A 型肝炎、E 型肝炎の現状を理解し、今後の対策を講じる上で、各国の参加者に大きなインパクトを与えたものと思われる。日本においてもこの状況は対岸の火事として看過できるものではなく、将来アジアからの HAV、HEV の流入も視野に入れた対策が重要になるものと考えられることから、引き続きこれらの国との交流を続け、A型肝炎、E型肝炎の予防、治療などに関する最新の情報提供も行っていく必要があると思われた。

F. 結論

アジア諸国の肝炎・肝臓の制御という目的のための研究は、予定通りに進捗した。アジアにおけるアジアにおける経口ウイルス肝炎感染症の現状と問題点が明らかになり、対策のポイントが日米両国において確認された。

G. 健康危険情報

なし

H. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Miyoshi H, Moriya K, 著者 14 人中の 14 番目, Koike K. Pathogenesis of lipid metabolism disorder in hepatitis C: polyunsaturated fatty acids counteract lipid alterations induced by the core protein. *J Hepatol* 2011;54:432-438.
- 2) Yoshida S, Watabe H, 著者 14 人中の 13 番目, Koike K, Omata M. Usefulness of multi-detector helical ct with

- multiplanar reconstruction for depicting the duodenal varices with multiple collateral shunt vessels. *Hepatol Int* 2010;4:775-778.
- 3) Koike K, Tsutsumi T, Yotsuyanagi H, Moriya K. Lipid metabolism and pathogenesis of liver disease in hepatitis C viral infection. *Oncology* 2010;78 Suppl 1:24-30.
- 4) Isomura Y, Yamaji Y, 著者 15 人中の 15 番目, Koike K. A genetic polymorphism of CYP2C19 is associated with susceptibility to biliary tract cancer. *J Gastroenterol* 2010;45:1045-1052.
- 5) Tejima K, Masuzaki R, 著者 15 人中の 15 番目, Koike K. Thrombocytopenia is more severe in advanced chronic hepatitis C than B with the same grade of splenomegaly. *J Gastroenterol* 2010;45:876-884.
- 6) Ishizaka N, Ishizaka Y, Toda E, Yamakado M, Koike K, Nagai R. Association between gamma-glutamyl transferase levels and insulin resistance according to alcohol consumption and number of cigarettes smoked. *J Atheroscler Thromb* 2010;17:476-485.
- 7) Mizuno S, Hirano K, 著者 15 人中の 15 番目, Koike K. Bezafibrate for the treatment of primary sclerosing cholangitis. *J Gastroenterol* 2010;45:758-762.
- 8) Ikeda H, Ohkawa R, 著者 14 人中の 13 番目, Koike K, Yatomi Y. Plasma sphingosine 1-phosphate level is reduced in patients with chronic liver disease caused by hepatitis C. *Clin Chim Acta* 2010;411:765-770.
- 9) Okuse C, Yotsuyanagi H, 著者 16 人中の 14 番目, Koike K, Suzuki M, and Itoh F. Effect of nucleoside analogue-interferon sequential therapy on patients with acute exacerbation of chronic hepatitis B. *Hepatol Res* 2010; 40: 461-469.
- 10) Kanamori H, Yuhashi K, Ohnishi S, Koike K, Kodama T. RNA dependent RNA polymerase of hepatitis C virus binds to its coding region RNA stem-loop structure, 5BSL3.2, and its negative strand. *J Gen Virol* 2010;91:1207-1212.
- 11) Moriya K, Miyoshi H, Shinzawa S, Tsutsumi T, Fujie H, Goto K, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Koike K. Hepatitis C virus core protein compromises iron-induced activation of antioxidants in mice and HepG2 cells. *J Med Virol* 2010;82:776-792.
- 12) Molina-Jiménez F, Benedicto I, Koike K, 著者 14 人中の 11 番目, López-Cabrera M. Expression of pituitary tumor transforming gene 1 (PTTG1)/securin in hepatitis B virus-associated liver diseases: Evidence for a hepatitis B virus X protein-mediated inhibition of PTTG1 ubiquitination and degradation. *Hepatology* 2010;51:777-787.
- 13) Hmwe SS, Aizakia H, Date T, Murakami K, Ishii K, Miyamura T, Koike K, Wakita T, Suzuki T. Identification of hepatitis C virus genotype 2a replicon variants with reduced susceptibility to ribavirin. *Antiviral Res* 2010;85:520-524.
- 14) Watanabe S, Enomoto N, Koike K, Izumi N, Takikawa H, Hashimoto E, Moriyasu F, Kumada H, Imawari M, PERFECT STUDY GROUP. Prolonged treatment with PEG-IFN a-2b and ribavirin can improve SVR in chronic hepatitis C genotype 1 patients with late response in a clinical real-life setting in Japan. *Hepatol Res* 2010;40:135-144.
- 15) Koike K, Moriya K, Matsuura Y. Animal models for hepatitis C and related liver disease. *Hepatol Res* 2010;40:69-82.
- 16) Hishiki T, Shimizu Y, Tobita R, Sugiyama K, Ogawa K, Funami K, Ohsaki Y, Fujimoto T, Takaku H, Wakita T, Baumert TF, Miyanari Y, Shimotohno K. Infectivity of hepatitis C virus is influenced by association with apolipoprotein E isoforms. *J Virol*. 2010

84(22):12048-57.

17) Podevin P, Carpentier A, Pène V, Aoudjehane L, Carrière M, Zaïdi S, Hernandez C, Calle V, Méritet JF, Scatton O, Dreux M, Cosset FL, Wakita T, Bartenschlager R, Demignot S, Conti F, Rosenberg AR, Calmus Y. Production of infectious hepatitis C virus in primary cultures of human adult hepatocytes. *Gastroenterology*. 2010 139(4):1355-64.

18) Kushima Y, Wakita T, Hijikata M. A disulfide-bonded dimer of the core protein of hepatitis C virus is important for virus-like particle production. *J Virol*. 2010 84(18):9118-27.

19) Banaudha K, Orenstein JM, Korolnek T, St Laurent GC 3rd, Wakita T, Kumar A. Primary hepatocyte culture supports hepatitis C virus replication: a model for infection-associated hepatocarcinogenesis. *Hepatology*. 2010 51(6):1922-32.

20) Arnaud N, Dabo S, Maillard P, Budkowska A, Kalliampakou KI, Mavromara P, Garcin D, Hugon J, Gatignol A, Akazawa D, Wakita T, Meurs EF. Hepatitis C virus controls interferon production through PKR activation. *PLoS One*. 2010 5(5):e10575.

21) Murayama A, Weng L, Date T, Akazawa D, Tian X, Suzuki T, Kato T, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T, Toyoda T. RNA polymerase activity and specific RNA structure are required for efficient HCV replication in cultured cells. *PLoS Pathog*. 2010 6(4):e1000885.

22) Takahashi H, Akazawa D, Kato T, Date T, Shirakura M, Nakamura N, Mochizuki H, Tanaka-Kaneko K, Sata T, Tanaka Y, Mizokami M, Suzuki T, Wakita T. Biological properties of purified recombinant HCV particles with an epitope-tagged envelope. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010 395(4):565-71.

23) Liu X, Wang T, Wakita T, Yang W. Systematic identification of microRNA and messenger RNA profiles

in hepatitis C virus-infected human hepatoma cells. *Virology*. 2010 398(1):57-67.

24) Seronello S, Ito C, Wakita T, Choi J. Ethanol enhances hepatitis C virus replication through lipid metabolism and elevated NADH/NAD⁺. *J Biol Chem*. 2010, 285(2):845-54.

25) H Sunagozaka, M Honda, T Yamashita, R Nishino, H Takatori, K Arai, T Yamashita, Y Sakai, S Kaneko. Identification of a secretory protein c19orf10 activated in hepatocellular carcinoma. *Intl J Cancer* (in press)

26) K Kakinoki, Y Nakamoto, T Kagaya, T Tsuchiyama, Y Sakai, T Nakahama, N Mukaida, S Kaneko. Prevention of intrahepatic metastasis of liver cancer by suicide gene therapy and chemokine ligand 2/monocyte chemoattractant protein-1 delivery in mice. *J Gene Med* 12(12):1002-13, 2010 Dec.

27) Y Nakamoto, E Mizukoshi, M Kitahara, F Arihara, Y Sakai, K Kakinoki, Y Fujita, Y Marukawa, K Arai, T Yamashita, N Mukaida, K Matsushima, O Matsui, S Kaneko. Prolonged recurrence-free survival following OK432-stimulated dendritic cell transfer into hepatocellular carcinoma during transarterial embolization. *Clin Exp Immunol* 163(2):165-77, 2011 Feb.

28) J Furuse, T Okusaka, S Kaneko, M Kudo, K Nakachi, H Ueno, T Yamashita, K Ueshima. Phase I/II study of the pharmacokinetics, safety and efficacy of S-1 in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 101(12):2606-11, 2010 Dec.

29) H Misu, T Takamura, H Takayama, H Hayashi, N Matsuzawa-Nagata, S Kurita, K Ishikura, H Ando, Y Takeshita, T Ota, M Sakurai, T Yamashita, E Mizukoshi, T Yamashita, M Honda, K Miyamoto, T Kubota, N Kubota, T Kadowaki, HJ Kim, IK Lee, Y Minokoshi, Y Saito, K Takahashi, Y Yamada, N Takakura, S Kaneko. A

- liver-derived secretory protein, selenoprotein P, causes insulin resistance. Cell Metab 12(5):483-95, 2010 Nov.
- 30) S Kaneko, M Sata, T Ide, T Yamashita, S Hige, E Tomita, S Mochida, Y Yamashita, Y Inui, SR Kim, N Komada, T Mikami, S Satoh, S Morita, K Takaguchi, N Hirashima, Y Nishio, D Watanabe, K Kioka, K Fujiwara. Efficacy and safety of double filtration plasmapheresis in combination with interferon therapy for chronic hepatitis C. Hepatol Res 40(11):1072-1081, 2010 Nov.
- 31) M Honda, M Nakamura, M Tateno, A Sakai, T Shimakami, T Shirasaki, T Yamashita, K Arai, T Yamashita, Y Sakai, S Kaneko. Differential interferon signaling in liver lobule and portal area cells under treatment for chronic hepatitis C. J Hepatol 53(5):817-26, 2010 Nov.
- 32) M Honda, Y Sakai, T Yamashita, T Yamashita, A Sakai, E Mizukoshi, Y Nakamoto, I Tatsumi, Y Miyazaki, H Tanno, S Kaneko; Hokuriku Liver Study Group. Differential gene expression profiling in blood from patients with digestive system cancers. Biochem Biophys Res Commun 400(1):7-15, 2010 Sep.
- 33) N Iida, Y Nakamoto, T Baba, H Nakagawa, E Mizukoshi, M Naito, N Mukaida, S Kaneko. Antitumor Effect after Radiofrequency Ablation of Murine Hepatoma Is Augmented by an Active Variant of CC Chemokine Ligand 3/Macrophage Inflammatory Protein-1 α . Cancer Res 70(16):6556-65, 2010 Aug.
- 34) M Honda, A Sakai, T Yamashita, Y Nakamoto, E Mizukoshi, Y Sakai, T Yamashita, M Nakamura, T Shirasaki, K Horimoto, Y Tanaka, K Tokunaga, M Mizokami, S Kaneko; Hokuriku Liver Study Group. Hepatic ISG expression is associated with genetic variation in IL28B and the outcome of IFN therapy for chronic hepatitis C. Gastroenterology 139(2):499-509, 2010 Aug.
- 35) T Shirasaki, M Honda, H Mizuno, T Shimakami, H Okada, Y Sakai, S Murakami, T Wakita, S Kaneko. La Protein Required for Internal Ribosome Entry Site-Directed Translation Is a Potential Therapeutic Target for Hepatitis C Virus Replication. J Infect Dis 202(1):75-85, 2010 Jul.
- 36) T Yamashita, M Honda, K Nio, Y Nakamoto, T Yamashita, H Takamura, T Tani, Y Zen, S Kaneko. Oncostatin m renders epithelial cell adhesion molecule-positive liver cancer stem cells sensitive to 5-Fluorouracil by inducing hepatocytic differentiation. Cancer Res 70(11):4687-97, 2010 Jun.
- 37) E Mizukoshi, Y Nakamoto, K Arai, T Yamashita, N Mukaida, K Matsushima, O Matsui, S Kaneko. Enhancement of tumor-specific T cell responses by transcatheter arterial embolization with dendritic cell infusion for hepatocellular carcinoma. Int J Cancer 126(9):2164-74, 2010 May
- 38) Y Hodo, SI Hashimoto, M Honda, T Yamashita, Y Suzuki, S Sugano, S Kaneko, K Matsushima. Comprehensive gene expression analysis of 5'-end of mRNA identified novel intronic transcripts associated with hepatocellular carcinoma. Genomics 95(4):217-23, 2010 Apr.
- 39) H Takatori, T Yamashita, M Honda, R Nishino, K Arai, T Yamashita, H Takamura, T Ohta, Y Zen, S Kaneko. dUTP pyrophosphatase expression correlates with a poor prognosis in hepatocellular carcinoma. Liver Int 30(3):438-46, 2010 Mar.
- 40) Abe H, Imamura M, Hiraga N, Tsuge M, Mitsui F, Kawaoka T, Chayama K, et al. ME3738 enhances the effect of interferon and inhibits hepatitis C virus replication both in vitro and in vivo. J Hepatol 2010.
- 41) Abe H, Ochi H, Maekawa T, Hayes CN, Tsuge M,

- Miki D, Chayama K, et al. Common variation of IL28 affects gamma-GTP levels and inflammation of the liver in chronically infected hepatitis C virus patients. *J Hepatol* 2010; 53: 439-443.
- 42) Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Chayama K, et al. Amino acid substitution in hepatitis C virus core region and genetic variation near the interleukin 28B gene predict viral response to telaprevir with peginterferon and ribavirin. *Hepatology* 2010; 52: 421-429.
- 43) Chayama K, Hayes CN, Yoshioka K, Moriwaki H, Okanoue T, Sakisaka S, et al. Accumulation of refractory factors for pegylated interferon plus ribavirin therapy in older female patients with chronic hepatitis C. *Hepatology Res* 2010; 40: 1155-1167.
- 44) Hayes CN, Kobayashi M, Akuta N, Suzuki F, Kumada H, Abe H, Chayama K, et al. HCV substitutions and IL28B polymorphisms on outcome of peg-interferon plus ribavirin combination therapy. *Gut* 2011; 60: 261-267.
- 45) Huang YW, Chayama K, Tsuge M, Takahashi S, Hatakeyama T, Abe H, et al. Differential effects of interferon and lamivudine on serum HBV RNA inhibition in patients with chronic hepatitis B. *Antivir Ther* 2010; 15: 177-184.
- 46) Ide T, Sata M, Chayama K, Shindo M, Toyota J, Mochida S, et al. Evaluation of long-term entecavir treatment in stable chronic hepatitis B patients switched from lamivudine therapy. *Hepatology Int* 2010; 4: 594-600.
- 47) Kamiya N, Iwao E, Hiraga N, Tsuge M, Imamura M, Takahashi S, Chayama K, et al. Practical evaluation of a mouse with chimeric human liver model for hepatitis C virus infection using an NS3-4A protease inhibitor. *J Gen Virol* 2010; 91: 1668-1677.
- 48) Kawaoka T, Hayes CN, Ohishi W, Ochi H, Mae kawa T, Abe H, Chayama K, et al. Predictive value of the IL28B polymorphism on the effect of interferon therapy in chronic hepatitis C patients with genotypes 2a and 2b. *J Hepatol* 2010.
- 49) Kawaoka T, Hiraga N, Takahashi S, Takaki S, Mitsui F, Tsuge M, Chayama K, et al. Prolongation of interferon therapy for recurrent hepatitis C after living donor liver transplantation: analysis of predictive factors of sustained virological response, including amino acid sequence of the core and NS5A regions of hepatitis C virus. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 1488-1496.
- 50) Kimura Y, Hyogo H, Yamagishi S, Takeuchi M, Ishitobi T, Nabeshima Y, Chayama K, et al. Atorvastatin decreases serum levels of advanced glycation endproducts (AGEs) in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients with dyslipidemia: clinical usefulness of AGEs as a biomarker for the attenuation of NASH. *J Gastroenterol* 2010; 45: 750-757.
- 51) Kitamura S, Tsuge M, Hatakeyama T, Abe H, Imamura M, Mori N, Chayama K, et al. Amino acid substitutions in core and NS5A regions of the HCV genome can predict virological decrease with pegylated interferon plus ribavirin therapy. *Antivir Ther* 2010; 15: 1087-1097.
- 52) Mishima K, Sakamoto N, Sekine-Osajima Y, Nakagawa M, Itsui Y, Azuma S, Chayama K, et al. Cell culture and in vivo analyses of cytopathic hepatitis C virus mutants. *Virology* 2010; 405: 361-369.
- 53) Mitsui F, Tsuge M, Kimura T, Kitamura S, Abe H, Saneto H, Chayama K, et al. Importance of serum concentration of adefovir for Lamivudine-adefoviro combination therapy in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B. *Antimicrob Agents Chemother*

ther 2010; 54: 3205-3211.

54) Al-Mahtab M, Rahman S, Akbar SM, Kamal M, Khan SI. Assessment of clinical utility of low and high normal alanine aminotransferase values in patients with chronic hepatitis B virus infection at Bangladesh. *Digestion* 2011;83:60-64.

55) Akbar SM, Furukawa S, Horiike N, Abe M, Hiasa Y, Onji M. Safety and immunogenicity of hepatitis B surface antigen-pulsed dendritic cells in patients with chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 2010; PMID: 20487261

56) Akbar SM, Horiike N, Chen S, Michitaka K, Abe M, Hiasa Y, Matsuura B, Onji M. Mechanism of restoration of immune responses of chronic hepatitis B patients during lamivudine therapy; increased antigen processing and presentation by dendritic cells. *J Viral Hepat* 2010 PMID: 20367796

57) Akbar SM, Yoshida O, Chen S, Aguilar AJ, Abe M, Matsuura B, Hiasa Y, Onji M. Immune modulator and antiviral potential of dendritic cells pulsed with both hepatitis B surface antigen and core antigen for treating chronic HBV infection. *Antivir Ther* 2010; 15: 887-95.

58) Al-Mahtab M, Rahman S, Akbar SM, Khan SI, Uddin H, Karim F, Ahmed F. Combination therapy with antiviral drugs and hepatitis B vaccine in incidentally-detected and asymptomatic chronic hepatitis B virus carriers at Bangladesh. *Viral Immunol.* 2010; 23:335-8.

59) Al-Mahtab M, Rahman S, Akbar SM, Kamal M, Khan SI. Clinical use of liver biopsy for the diagnosis and management of inactive and asymptomatic hepatitis B virus carriers in Bangladesh. *J Med Virol* 2010;82:1350-4.

60) Al-Mahtab M, Rahman S, Akbar SM, Khan Si, Karim MF, Ahmed F. Combination therapy of

lamivudine and interferon alpha in pediatric patients with chronic hepatitis B at Bangladesh: A safe and effective therapeutic approach for pediatric CHB patients of developing countries. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2010;23: 659-64.

61) Akbar SM, Al-Mahtab M. Immune-mediated damages of the hepatocytes: mechanisms of destruction of hepatocytes and progression of liver diseases by non-cytopathic virus. *Bangladesh Liver Journal* 2010; 1: 26-9.

2. 学会発表

1) Masuzaki, R., R. Tateishi, S. Shiina, H. Yoshida, H. Nakagawa, T. Arano, K. Uchino, K. Enooku, E. Goto, Y. Kondo, T. Goto, Y. Sugioka, H. Ikeda, M. Omata, K. Koike. Prospective risk assessment for hepatocellular carcinoma recurrence by transient elastography after curative radiofrequency ablation. 45th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL). 2010. Viena, Austria.

2) Uchino, K., R. Tateishi, S. Shiina, T. Arano, K. Enooku, E. Goto, R. Masuzaki, H. Nakagawa, Y. Kondo, T. Goto, M. Omata, H. Yoshida, K. Koike. Clinical features of advanced hepatocellular carcinoma with extrahepatic metastasis. 45th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL). 2010. Vienna, Austria.

3) Arano T, Nakagawa H, Yoshida H, Tateishi, R., Uchino Y, Enooku K, T. Sato, R. Masuzaki, T. Ohki, E. Goto, Goto, R. Masuzaki, Y. Kondo, T. Goto, Shiina S, M. Omata, K. Koike. Association between serum adiponectin level

and the risk for hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis C patients. The 62th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD). 2010. Boston, USA.

4) Kojima K, Otsuka M, Takata A, Yoshikawa T, Kato N, Tateishi R, Shiina S, Yoshida H, Omata M, Koike K. miRNA-122, a liver-specific miRNA, is a key regulator for bridging the clinical phenomena between alpha-feto-protein expression and biologically malignant phenotype in HCC. The 62th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD). 2010. Boston, USA.

5) Tanoue Y, Tomiya T, Ohtomo N, Nishikawa T, Inoue Y, Shirataki H, Ikeda H, Koike K, Fujiwara K. Insulin-like growth factor I stimulates proliferation and protein production in rat hepatocytes through an mTOR signaling pathway. The 62th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD). 2010. Boston, USA.

6) Takahashi H, Okuse C, Yamada N, Takatsu Y, Yotsuyanagi H, Yasuda K, Moriya K, Suzuki M, Koike K, Itoh F. Hepatitis B virus clearance in acute hepatitis is prolonged in genotype A HBV infection. The 62th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD). 2010. Boston, USA.

7) Tsutsumi T., Goto K, Fujinaga H, Miyoshi H, Fujie H, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Moriya K, Suzuki T, Koike K. Association of the substitution of amino acid 75 in the hepatitis virus core region with IL-8 upregulation and hepatocarcinogenesis. 17th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related

Viruses, Yokohama, 2010.

8) Li W, Muroyama R, Hu Z, Kawatari N, Goto T, Chang JH, Yoshida H, Omata M, Koike K, Kato N. Amino acid substitutions in genotype 1b HCV core protein and response to PEG-IFN/RBV treatment. 17th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Yokohama, 2010.

9) Yuhashi K, Kodama T, Koike K, Kanamori H. Identification of hepatic mRNA 3'-untranslated regions that bind to HCV NS5B. 17th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Yokohama, 2010.

10) 工藤洋太郎, 立石敬介, 田中康雄, 山本恵介, 金井文彦, 小俣政男, 小池和彦. 脂肪肝から肝発がんを呈する新たなモデルマウスの作成と解析. 第47回日本臨床分子医学会学術総会. 2010. 東京.

11) 大塚基之, 高田朱弥, 小島健太郎, 前田慎, 立石敬介, 池上恒雄, 平田善裕, 建石良介, 椎名秀一朗, 吉田晴彦, 小池和彦. microRNA machinery 構成因子 DDX20 の発現低下に伴う microRNA 機能の減弱によって惹起される肝発癌経路の同定. 第47回日本臨床分子医学会学術総会. 2010. 東京.

12) 脇田隆字, 「C型肝炎ウイルスの複製増殖および持続感染機構」、第23回肝臓フォーラム (東部)、日本工業倶楽部会館 (2010, 6.5)

13) 脇田隆字, 「C型肝炎ウイルスの複製増殖および持続感染機構の解析」、第9回KMU研究推進セミナー、北陸がんプロ教育セミナー、金沢医科大学病院 新館12階大会議室 (2010, 6.18)

14) 脇田隆字, 「C型肝炎ウイルスの複製増殖および持続感染機構の研究」、第17回ソニックフォーラム、

- ソニックシテイビル 6階 602会議室 (2010, 11.25)
- 15) 茶山一彰, B型慢性肝炎の治療, 第96回日本消化器病学会総会, 新潟, 2010
- 16) 今村道雄, 越智秀典, 茶山一彰, C型慢性肝炎に対するインターフェロン治療における IL28 多型と Core 領域変異の影響, 第96回日本消化器病学会総会, 新潟, 2010
- 17) 茶山一彰, C型肝炎の最新の話, 第500回広島市医科学術講演会, 広島, 2010
- 18) 茶山一彰, C型肝炎の最新情報, 第46回日本肝臓学会総会 ランチョンセミナー1, 山形, 2010
- 19) 今村道雄, 越智秀典, 茶山一彰, C型慢性肝炎患者における IL28 多型とウイルス側および宿主側因子との関連, 第46回日本肝臓学会総会 山形, 2010
- 20) 河岡友和, 高橋祥一, 田代裕尊, 大段秀樹, 茶山一彰, 肝移植後 C型肝炎再燃に対する IFN 治療の現況と SVR 率改善のための検討, 第46回日本肝臓学会総会, 山形, 2010
- 21) 石田友希, 兵庫秀幸, 石飛朋和, 鍋島由宝, 長沖祐子, 橋本義政, 片村嘉男, 河岡友和, 高木慎太郎, 脇 浩司, 平松 憲, 川上由育, 相方 浩, 高橋祥一, 茶山一彰, 非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) における肝線維化と糖代謝異常の関連性について, 第46回日本肝臓学会総会, 山形, 2010
- 22) 阿部弘美, 越智秀典, 柘植雅貴, 三木大樹, 光井富貴子, 平賀伸彦, 今村道雄, 高橋祥一, 茶山一彰, C型慢性肝炎患者に対する PegIFN/RBV 療法の治療効果と IL28locus の SNP および肝内 IFN 誘導遺伝子発現量の関連, 第46回日本肝臓学会総会, 山形, 2010
- 23) 阿部弘美, 越智秀典, 柘植雅貴, 三木大樹, 光井富貴子, 平賀伸彦, 今村道雄, 高橋祥一, 茶山一彰, IL28 の多型と C型慢性肝炎の炎症、繊維化、 γ GTP との関連, 第46回日本肝臓学会総会, 山形, 2010
- 24) 北本幹也, 井川 敦, 松本陽子, 山田博康, 川上由育, 茶山一彰, Genotype1b・高ウイルス量以外の C型慢性肝炎に対する Response-guided therapy, 第46回日本肝臓学会総会, 山形, 2010
- 25) 大石和佳, 吉田健吾, 林 奉権, 楠洋一郎, 藤原佐枝子, 柘植雅貴, 茶山一彰, C型肝炎ウイルス感染における HLA DRB1 と NKG2D 遺伝子多型の影響, 第46回日本肝臓学会総会, 山形, 2010
- 26) 茶山一彰, C型慢性肝炎の治療の予測因子, 第28回犬山シンポジウム「肝炎・肝癌の新しい診断と治療」, 愛知, 2010
- 27) Chayama K, Personalized Medicine in Chronic Hepatitis B, TAsL 2010 Single Topic Conference, 台北, 2010
- 28) 茶山一彰, B型・C型肝炎合併 CKD 患者におけるステロイド薬、免疫抑制薬使用に関する考え方, 第40回日本腎臓学会西部学術大会, 広島, 2010
- 29) 茶山一彰, C型慢性肝炎の最新の治療, 第239回世羅郡医師会学術講演会, 広島, 2010
- 30) 茶山一彰, Hepatitis C Virus Replication and
- 31) Response to Anti-viral Drugs in Human Hepatocyte Chimeric Mice, 第7回アジア太平洋肝臓病学会議 (APASL) シングルトピックカンファレンス, 千葉, 2010
- 32) 柘植雅貴, 今村道雄, 茶山一彰, B型慢性肝炎における核酸アナログ治療中止例の検討, 第14回日本肝臓学会大会 第52回日本消化器病学会, 横浜, 2010
- 33) 越智秀典, 今村道雄, 茶山一彰, C型慢性肝

炎治療効果に対するゲノムワイド SNP 関連解析-IL28B 遺伝子多型と HCV ウィルスゲノム変異に関連して, 第 14 回日本肝臓学会大会 第 52 回日本消化器病学会, 横浜, 2010

34) 長沖祐子, 相方 浩, 橋本義政, 片村嘉男, 河岡友和, 高木慎太郎, 脇 浩司, 平松 憲, 今村道雄, 川上由育, 高橋祥一, 茶山一彰, C 型肝炎に対する IFN SVR 後肝発癌に対する局所治療後の再発, 予後の検討, 横浜, 2010

35) 相方 浩, 長沖祐子, 橋本義政, 片村嘉男, 河岡友和, 高木慎太郎, 脇 浩司, 平松 憲, 今村道雄, 川上由育, 高橋祥一, 茶山一彰, C 型肝炎 IFN SVR 後の肝癌サーベイランスについての検討, 第 14 回日本肝臓学会大会, 横浜, 2010

36) 柘植雅貴, B 型肝炎治療における最新の話, 第 52 回日本消化器病学会, 横浜, 2010

37) Tsuge M, Kohno T, Abe H, Miki D, Hiraga N, Imamura M, Takahashi S, Ochi H, Chayama K, Identification of Novel Hepatitis C Virus Deletion Mutants in Chronic Hepatitis C Patients, THE 61TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LIVER DISEASES, Boston, 2010.

38) ファズレ・アクバル, 吉田理、阿部雅則、陳式儀、三宅映己、日浅陽一、恩地森一. 肝に局在する regulatory NK 細胞の同定と機能解析 第 24 回肝類洞壁細胞研究会, 福島, 2010.

39) Akbar SM, Yoshida O, Chen S, Aguilar JC, Abe M, Hiasa Y, Onji M. A preclinical study to assess therapeutic and immune modulatory effects of antigen-specific immune therapy over non antigen-specific immune therapy for treating chronic hepatitis B virus infection. 61st

Annual meeting of the American Association for the Study of the Liver Diseases, Boston, 2010

40) Akbar SM, Al-Mahtab M, Rahman S, Aguilar JC, Onji M, Mishiro S. Therapeutic potential of a novel therapeutic vaccine containing both hepatitis B surface antigen (HBsAg) and hepatitis B core antigen (HBcAg) administered through mucosal and parental route in patients with chronic hepatitis B. 61st Annual meeting of the American Association for the Study of the Liver Diseases, Boston, 2010

41) Akbar SM, Al-Mahtab M. Safety, efficacy and immunogenicity of a combination vaccine containing HBsAg and HBcAg through nasal and parental route in patients with chronic hepatitis B. 第 21 回 The Meeting of the Liver and Immunology. Tokyo, 2010.

42) Akbar SM, Al-Mahtab M, Khan SI. Rationality and designing immune therapy against chronic hepatitis B virus infection. 9th Biannual Conference of Association for the Study of the Liver, Bangladesh, 2010

43) Mahtab MA, Akbar SM, Rahman S, Rubido JCA, Mishiro S. Safety, efficacy and immunogenicity of a therapeutic vaccine containing HBsAg and HBcAg by nasal route in patients with chronic hepatitis B. 45th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver. Vienna, 2010

44) Akbar SM, Al-Mahtab M, Rahman S, Aguilar JC, Onji M, Mishiro S. A therapeutic nasal vaccine containing both HBsAg and HBcAg was safe, had antiviral potential, and

induced antigen-specific immunity in patients with chronic hepatitis B. 20th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver. Beijing, 2010

45) Chen S, Akbar SM, Michitaka K, Horiike N, Abe M, Matsuura B, Hiasa Y, Onji M.

Mechanism of restoration of immune responses of chronic hepatitis B patients during lamivudine therapy: Increased antigen processing and presentation by dendritic cells.

20th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver. Beijing, 2010

I. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

第32回 日米医学研究協力会 肝炎専門部会 概要報告書

部会長 小池 和彦

第32回日米医学肝炎部会は、平成22年9月7日から9月9日まで、横浜市（横浜パシフィコ展示ホール ハーバーラウンジB）にて開催された。日米およびアジアからの研究者あわせて50名（招待者を含めた米国側29人、日本側21人）が参加した。Christopher Walker、Stanley Lemon、Rajen Koshy、脇田隆宇、三代俊治、矢野公士、小池和彦がオーガナイザーを務めた。

「アジアにおける経口伝播性のウイルス肝炎であるA型肝炎とE型肝炎」をテーマに、アジアにおける現状を把握するとともに、これらのウイルスに関する最新の情報を入手し、日米両国とアジア諸国が共同して、これら経口肝炎ウイルス感染症の制圧を目指し前進することを目的とした。計29題の研究発表がなされたが、いずれも世界の先端的なデータ、あるいはこれまで明らかにされていなかったアジアにおけるA型肝炎とE型肝炎の現状に関する情報であり、これらを共有することができた。発表後は活気あふれる質疑応答が展開された。

1日目夜の晩餐会は、折からの台風接近のために豪雨となり、残念ながら横浜三溪園での庭園散策はできなかったが、鶴翔閣における晩餐会は、海外参加者の建物への好奇心もあり、好評のうちに和気藹々で行なわれた。以下に、プログラム概要を示す。

9月7日（火） レセプション Pier 21（インターコンチネンタル横浜グランドホテル）

9月8日（水） 午前 研究会

横浜パシフィコ展示ホール ハーバーラウンジB

Welcome from the USJCMSP and Workshop Organizers.

Introduction to Enteric Hepatitis Viruses A and E.

昼食 展示ホール2F リストランテ・アッティモ

午後 研究会

The Epidemiology of Viral Hepatitis A and E in Asia. II

Vaccines for HAV and HEV infection.

歓迎晩餐会 横浜三溪園

9月9日（木） 午前 研究会

Pathogenesis and Immunity.

昼食 展示ホール2F リストランテ・ダンゼロ

午後 研究会

Pathogenesis and Immunity. II

Dr. FeinstoneとDr. Purcellにより、A型肝炎ウイルス (HAV)、E型肝炎ウイルス (HEV) に関する基調講演が行われた後、アジア出身 (韓国、インド、日本) の研究者から最近の疫学状況が報告された。特に韓国における HAV のアウトブレイクは、現在若年者の HAV 抗体保有率が極めて低い日本にとって、“対岸の火事”ではなく、今後ワクチン接種を含めた対策を考える必要のあることが痛感させられた。

午後のセッションでは我が国の研究者に加えて、米国 Dr. Krawczynski と中国 Dr. Shih から HAV 及び HEV のワクチンに関する最新の研究成果が報告された。

2日目は HAV 及び HEV と宿主の相互作用に関する発表が行われた。HAV の自然免疫に関しては、米国の Dr. Lanford と Dr. Lemon から、HAV の獲得免疫に関しては米国の Dr. Zhou、ドイツの Dr. Roggendorf、韓国の Dr. Shin からそれぞれ報告が行われた。

Business meeting (9月9日昼食時開催) 出席部会員

(日本側)

小池 和彦 (東京大学)

脇田隆宇 (国立感染症研究所)

茶山一彰 (広島大学)

金子周一 (金沢大学)

アクバル・シェイクモハマドドファズレ (東芝病院)

(米国側)

WALKER, Christopher

GALE, Michael

KOSHY, Rajen (Secretariat)

BERNABE, Gayle (Administrator)

PURCELL, Robert (Former panel member)

LEMON, Stanley (Former panel member)

日本における仕分け作業の過程にあるため、来年度の計画は決定できなかったが、是非とも継続開催したいとの意向で日米両部会員の思いは一致した。

研究分担報告書

C型肝炎ウイルス培養細胞を用いた研究

研究分担者

脇田 隆字 国立感染症研究所ウイルス第二部 部長

研究要旨：アジア諸国の肝炎・肝癌の予防と制御を目的として本研究は実施されている。そこで、本分担研究はC型肝炎ウイルスの培養細胞を用いた基礎研究により、C型肝炎ウイルスの理解を深め、その予防と治療に資する研究成果をあげることがを目的としている。そのためにC型肝炎ウイルスの培養細胞におけるウイルス産生に重要な表面タンパク質の糖鎖構造の解析をおこなった。

A. 研究目的

C型肝炎ウイルス(HCV)は1989年に発見されたが培養細胞でのウイルス培養が困難でウイルス学的研究が進んでこなかった。2005年に我々がJFH-1株を用いたウイルス培養系を報告してからHCV研究は急速に進んでいる。ウイルス粒子の形成や分泌、感染に表面タンパク質の糖鎖修飾が重要と考えられているが詳細は不明である。そこで、HCVのリバースジェネティクス実験系によりHCVの表面タンパク質の糖鎖構造の重要性について解析した。

B. 研究方法

HCVの表面タンパク質であるE1タンパク質には4ヶ所の、E2タンパク質には11ヶ所の糖鎖修飾部位が存在する。JFH-1株の感染性cDNA構築に糖鎖修飾部位を変異させた構築を作成して、試験管内で全長ウイルスRNAを作成してHuh7細胞にトランスフェクションすることでウイルス粒子産生を解析した。

(倫理面の配慮)

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

E1の4ヶ所すべての変異ウイルス、E2の11ヶ所すべての変異ウイルス、E1およびE2の15ヶ所すべての変異ウイルスを作成して解

析した。変異ウイルスでは細胞内のウイルス複製はほとんど変化がなかったが、培養液へのウイルス分泌はどの変異ウイルスも70%以上減少した。またこれらの変異ウイルスRNAをトランスフェクションした細胞を経代培養したが、ウイルス感染は広がらなかった。

そこで、E1およびE2の糖鎖修飾部位を1ヶ所ずつ変異させたウイルス構築を作成して解析した。その結果E1の2ヶ所、E2の2ヶ所の変異により70%以上ウイルス分泌が低下した。それ以外の糖鎖は30-50%程度の低下を示すのが5ヶ所、ほとんど変化がないのが6ヶ所であった。さらに感染性を検討すると2ヶ所の変異で感染性の増強を認めた。

D. 考察

今年度はHCVの表面タンパク質の糖鎖修飾について解析した。E1およびE2タンパク質上の糖鎖修飾部位を変異させることによりウイルス粒子の分泌や感染性が変化することを見いだした。特に糖鎖修飾の欠損により感染性が増強する部位が存在した。ウイルス表面上の糖鎖によりウイルス感染に重要なエピトープがマスクされている可能性が考えられる。この意義についてさらに解析を進めることにより、HCVが感染中和抗体と共存しているメカニズムを解明し、ワクチン開発につながる可能性がある。

E. 結論

HCV表面タンパク質の糖鎖構造を解析した。ウイルス粒子産生および感染性に重要であることが明らかとなった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Inoue Y, Aizaki H, Hara H, Matsuda M, Ando T, Shimoji T, Murakami K, Masaki T, Shoji I, Homma S, Matsuura Y, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T. Chaperonin TRiC/CCT participates in replication of hepatitis C virus genome via interaction with the viral NS5B protein. *Virology*. 2011 410:38-47.
- 2) Weng L, Hirata Y, Arai M, Kohara M, Wakita T, Watashi K, Shimotohno K, He Y, Zhong J, Toyoda T. Sphingomyelin activates hepatitis C virus RNA polymerase in a genotype-specific manner. *J Virol*. 2010 84:11761-70.
- 3) Hishiki T, Shimizu Y, Tobita R, Sugiyama K, Ogawa K, Funami K, Ohsaki Y, Fujimoto T, Takaku H, Wakita T, Baumert TF, Miyanari Y, Shimotohno K. Infectivity of hepatitis C virus is influenced by association with apolipoprotein E isoforms. *J Virol*. 2010 84:12048-57.
- 4) Mishima K, Sakamoto N, Sekine-Osajima Y, Nakagawa M, Itsui Y, Azuma S, Kakinuma S, Kiyohashi K, Kitazume A, Tsuchiya K, Imamura M, Hiraga N, Chayama K, Wakita T, Watanabe M. Cell culture and in vivo analyses of cytopathic hepatitis C virus mutants. *Virology*. 2010 405:361-9.
- 5) Kushima Y, Wakita T, Hijikata M. A disulfide-bonded dimer of the core protein of hepatitis C virus is important for virus-like particle production. *J Virol*. 2010 84:9118-27.
- 6) Arnaud N, Dabo S, Maillard P, Budkowska A, Kalliampakou KI, Mavromara P, Garcin D,