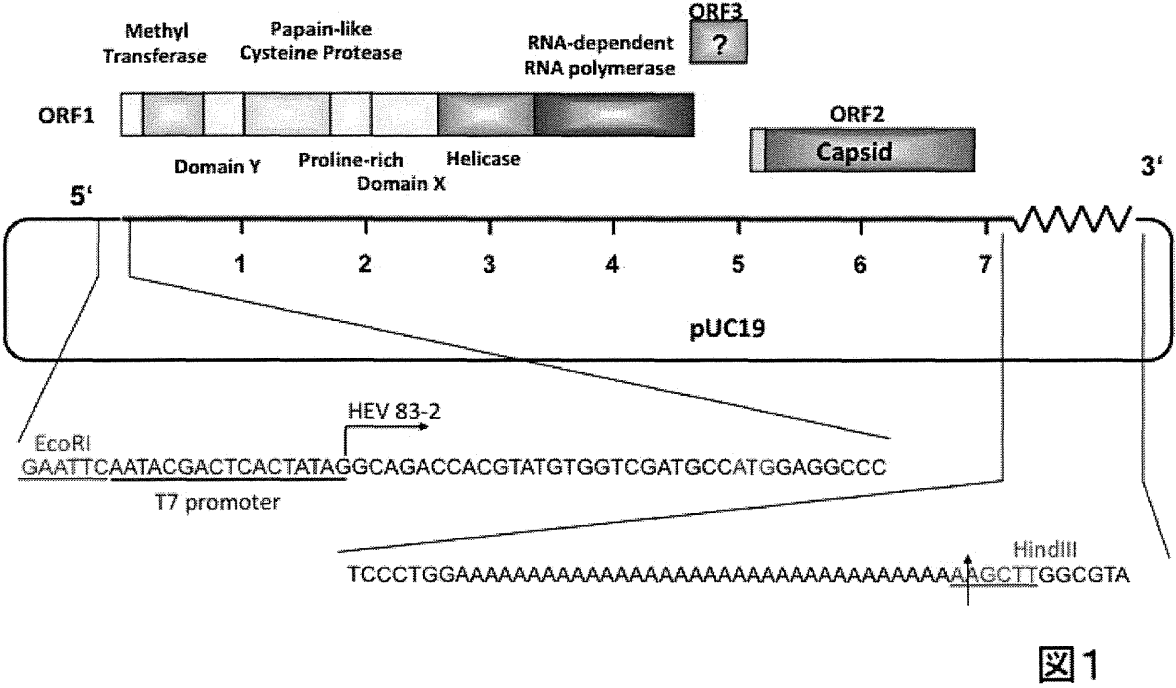
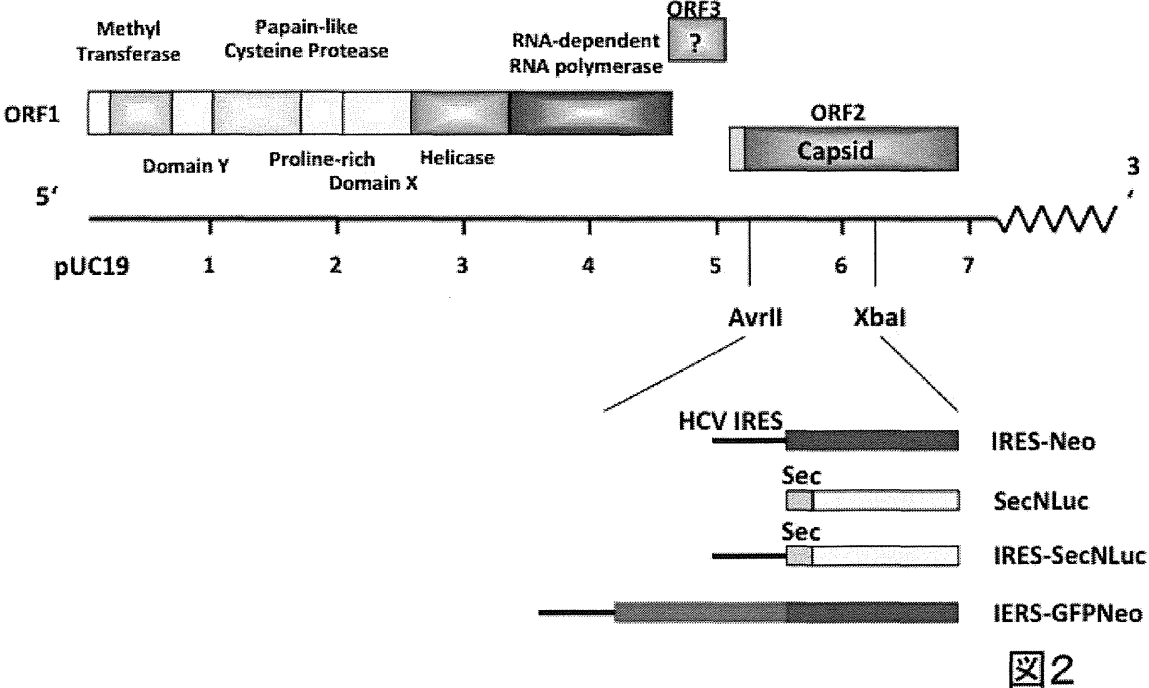


1. Kubota T., Kumagai A., Ito H., Furukawa S., Someya Y., Ishii K., Wakita T., Takeda N., Shirato H. and Narimatsu H. X-ray crystallographic studies on binding specificity of norovirus to Lewis antigens. 4th Asian Communications of Glycobiology and Glycotechnology. Jeju, Korea, October 28-31, 2012
 2. Ishii K., Kanda T., Sugiura N., Kiyohara T., Yoshizaki S., Nakamura N., Shimada T., Nakashima K., Tada Y., Yokosuka O., Wakita T. and Noda M. 8. Epidemiological and genetic analysis of hepatitis A between 2010 and 2011 in Japan. 14th International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Diseases. Shanghai, China. June 22-25, 2012
 3. Li T.C., Yoshimatsu K., Yasuda S., Arikawa J., Kataoka M., Ami Y., Suzuki Y., Ishii K., Takeda N. and Wakita T. Antigenicity and infectivity of rat hepatitis E virus. The 9th Japan-China International Conference of Virology. Sapporo, Japan, June 12-13, 2012
 4. Ishii K., Li T.C., Yoshizaki S., Shiota T., Kato T., Takeda N. and Wakita T. Cloning of permissive and nonpermissive human hepatoma cell lines for hepatitis E virus infection. Asian Pacific Association for the Study of the Liver. Taipei, Taiwan, February 16-19, 2012.
 5. 清原知子、脇田隆字、石井孝司 : B 型肝炎ワクチン力価測定法の比較 : 第 16 回日本ワクチン学会、平成 24 年 11 月、横浜
 6. 原田誠也、西村浩一、李 天成、石井孝司、田中智之、野田 衛 : 熊本県におけるイノシシ、シカ及びブタの E 型肝炎ウイルス汚染実態調査と分子疫学的解析 : 第 60 回日本ウイルス学会、平成 24 年 11 月、大阪
 7. 横川 寛、森山正樹、赤澤大輔、中村紀子、石井孝司、加藤孝宣、脇田隆字 : イオン交換クロマトグラフィーを用いた C 型肝炎ウイルス粒子精製の検討、第 60 回日本ウイルス学会、平成 24 年 11 月、大阪
 8. 塩田智之、李 天成、吉崎佐矢香、武田直和、脇田隆字、石井孝司 : E 型肝炎ウイルス生活環におけるカプシド蛋白 C 末端 52 アミノ酸の機能解析、第 60 回日本ウイルス学会、平成 24 年 11 月、大阪
 9. 清原知子、Niroshana Dahanayaka、脇田隆字、石井孝司 : スリランカにおける A 型肝炎の流行 (2009-2010 年) 、第 16 回日本渡航医学会、平成 24 年 7 月、大阪
- G. 知的所有権の取得状況
なし

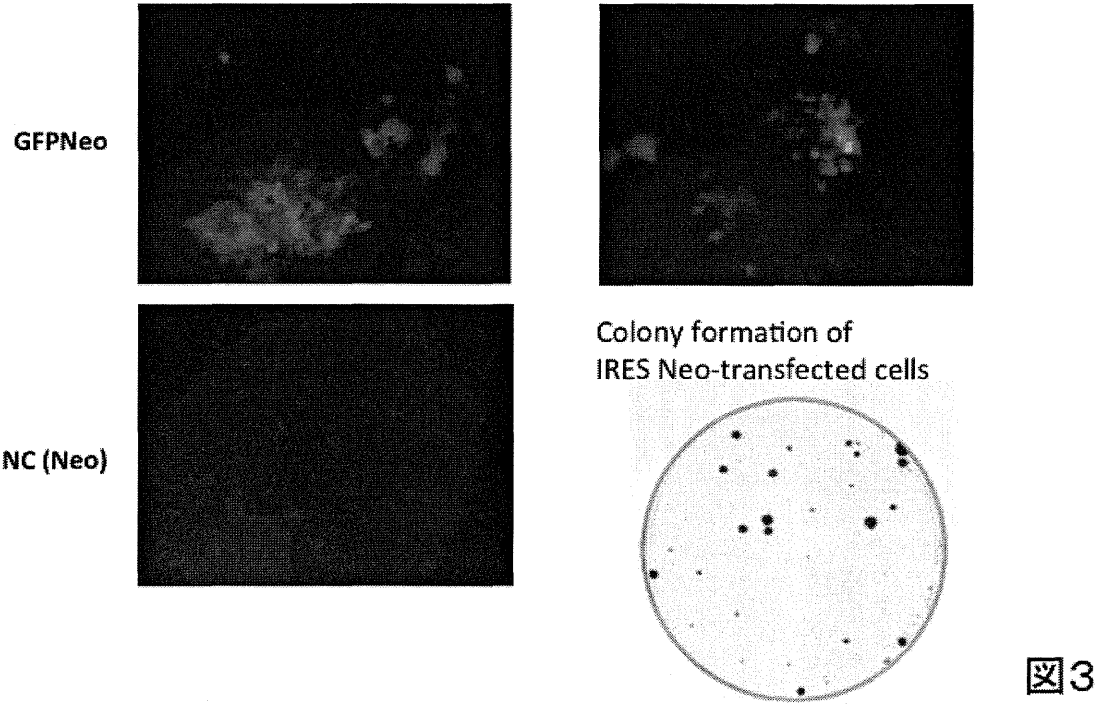
Cloning and RNA synthesis of HEV 83-2



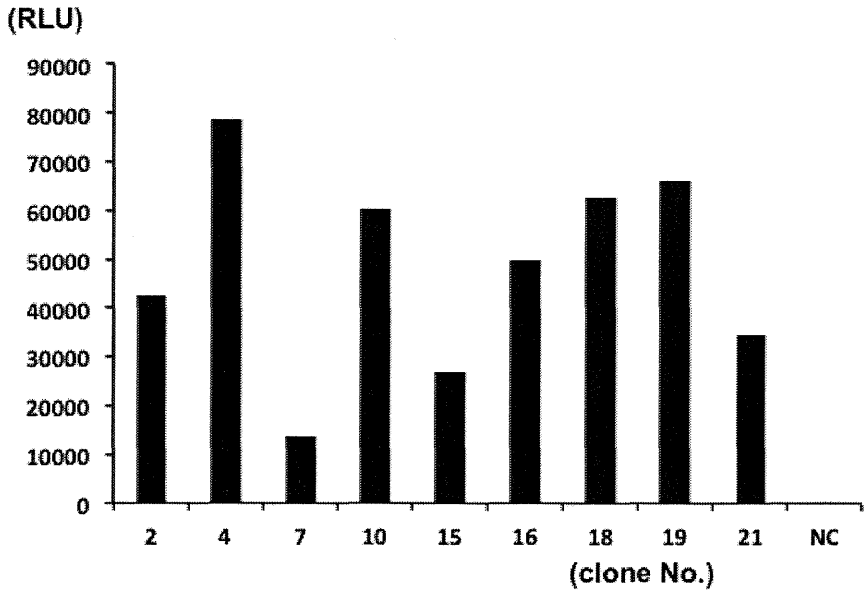
Construction of HEV replicon



Fluorescence of IRES GFPNeo-transfected cells



Secretion of NanoLuc from HEV Replicon RNA-Transfected Cells



Time Course of Luciferase Expression

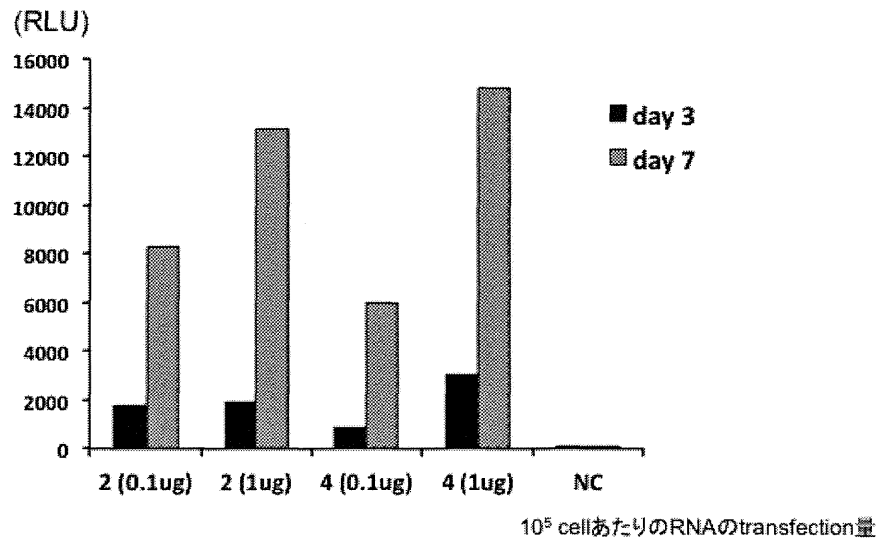


図5

Trans-encapsidation of HEV replicon RNA

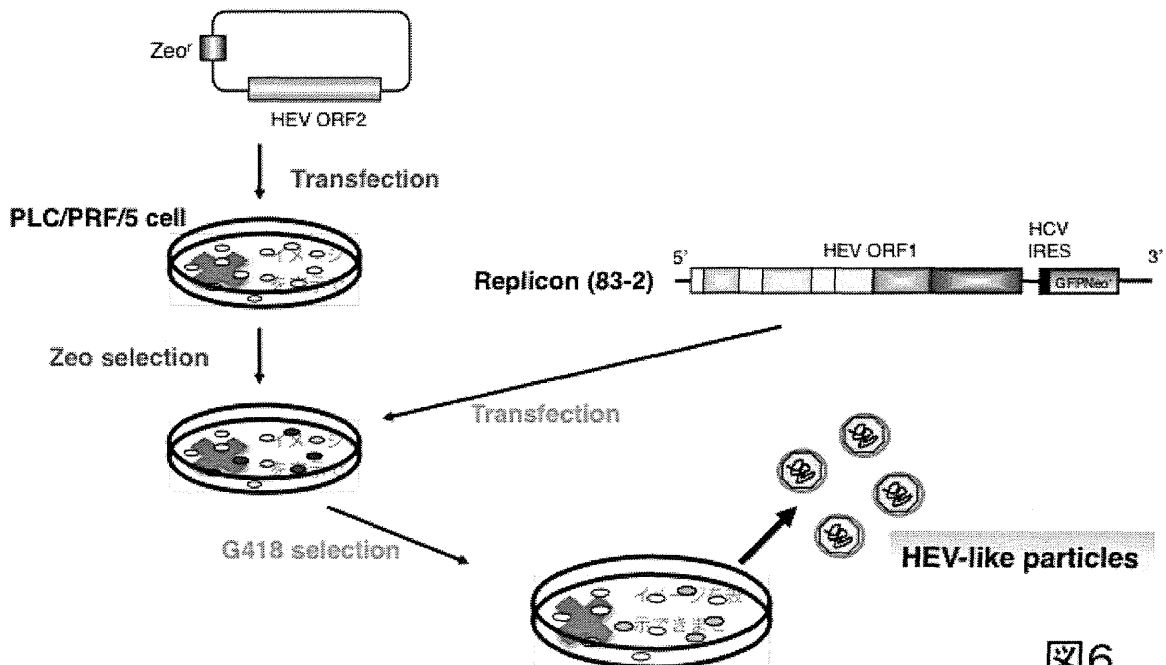


図6

Purification methods of VLPs

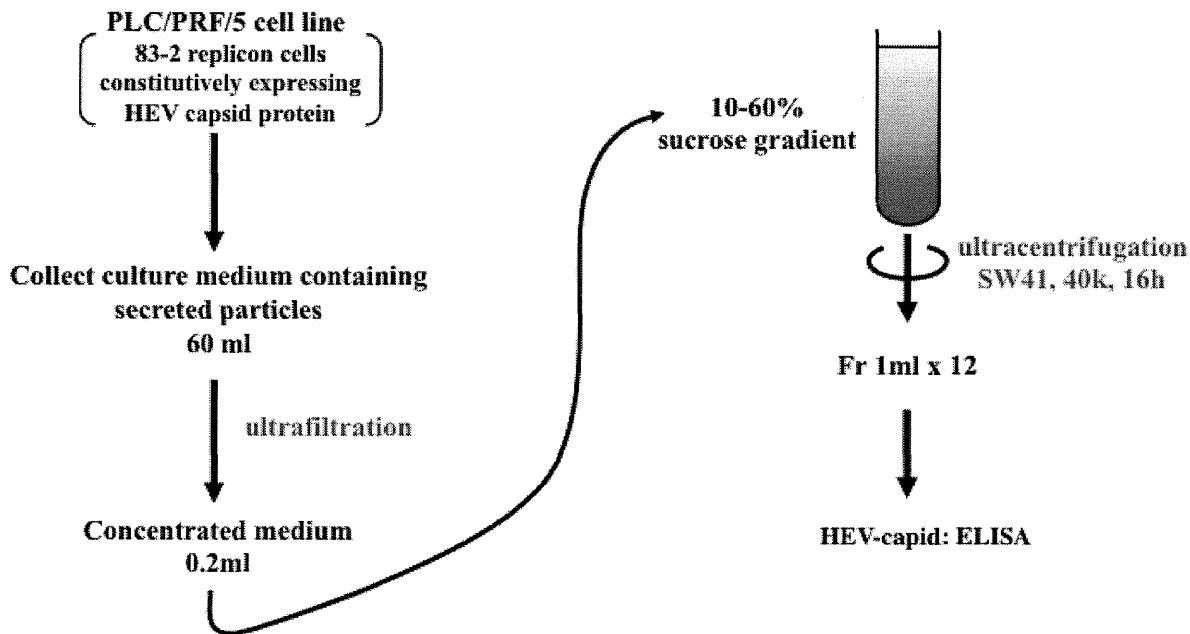


図7

Sucrose Gradient Analysis of HEV VLPs

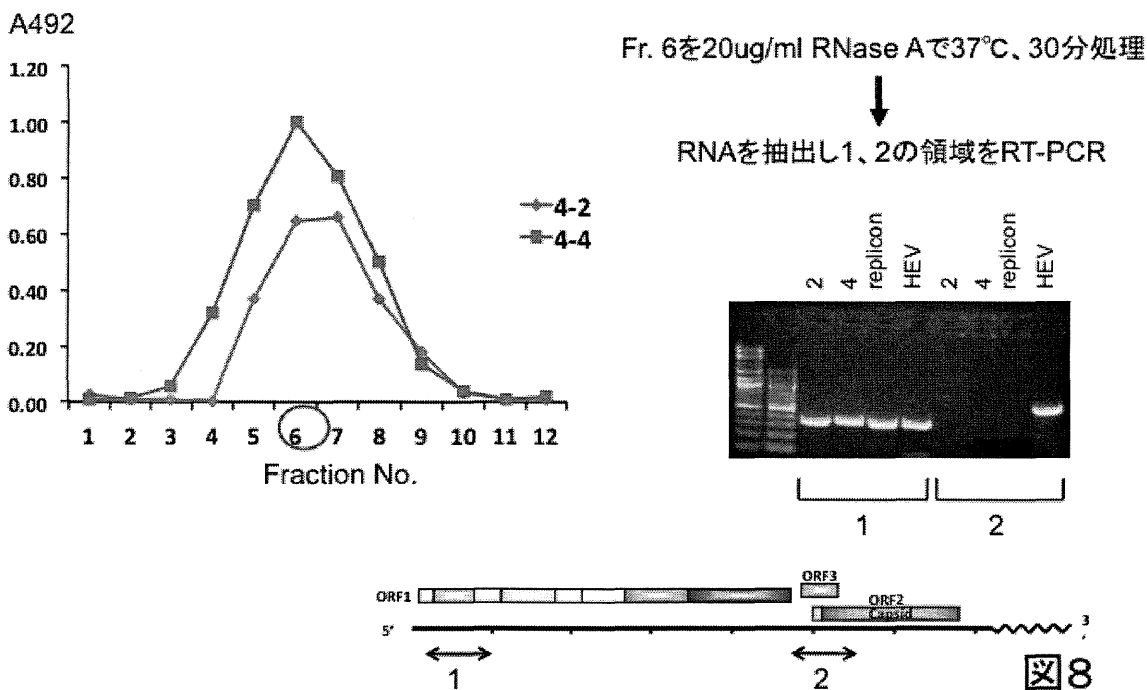


図8

ラット E 型肝炎ウイルス様粒子の作製および粒子形成に必須な領域の同定

分担研究者 李 天成 国立感染症研究所ウイルス第二部 主任研究官
協力研究者 片岡 紀代 国立感染症研究所感染病理部

研究要旨 E型肝炎ウイルス（Hepatitis E virus、HEV）はE型肝炎の原因ウイルスである。E型肝炎は発展途上国で常時散発的に発生し、時として飲料水などを介し大流行を引き起こす。先進国においても、E型肝炎はすでに土着していて、人畜共通感染症として注目されている。最近、ウサギ、イノシシ、ラットから新しい遺伝子型のHEVは続々発見されていたが、これらのウイルスが増殖できる培養細胞系は確立されておらず、ウイルス増殖、複製機序および抗原性、病原性は未だに明らかではない。これまでわれわれは組換えバキュロウイルス発現システムを用いてrat HEVの構造蛋白を発現し、ウイルス様粒子（Rat HEV-LPs）の作製に成功し、これを用いた抗体検出ELISA法を樹立し、ベトナム野生ラットにおけるRat HEV感染実態を調査した。本研究ではrat HEV構造蛋白のN末端、あるいはC末端、さらに両端を欠失した構造蛋白を発現し、ネイティブなウイルス粒子と類似するウイルス様粒子の作製および粒子形成に必須な領域の同定を試みた。

A. 研究目的

E型肝炎ウイルス (hepatitis E virus, HEV) はエンベロープを持たない一本鎖のポジティブストランドRNAウイルスであり、ヘペウイルス科 (*Hepeviridae*)、ヘペウイルス属 (*Hepevirus*) に分類されている。HEVは急性E型肝炎の原因ウイルスである。E型肝炎は発展途上国で常時散発的に発生し、時として飲料水などを介し大流行を引き起こす。E型肝炎の一つの特徴は感染妊婦の死亡率が高いことで、実に20%に達するという報告もある。これまで先進国においてE型肝炎は輸入感染症とわれてきたが、近年、まったく海外渡航歴のない急性E型肝炎患者が発見されるなど、日本でもすでに土着しているウイルスであることが明らかになってきた。また、HEVはヒトだけではなく、家畜や野生動物などにも感染する。これまでに、ヒトから四つの遺伝子

型が分離されたが、最近、ウサギ、イノシシ、ラットから新しい遺伝子型のHEVは続々発見されていた。これらのウイルスが増殖できる培養細胞系は確立されておらず、ウイルス増殖、複製機序は未だに明らかではない。その抗原性や病原性などはまだ解析されていない。これまでわれわれは組換えバキュロウイルス発現システムを用いてrat HEVの構造蛋白を発現し、ウイルス様粒子の形成およびその抗原性の解析をした。ラットE型肝炎ウイルス (rat HEV) は直径約35-40nmの小型球形ウイルスである。N末端から100アミノ酸を欠失させた構造蛋白を組換えバキュロウイルスで発現すると、直径約23nmのウイルス様粒子 (VLP) が産生される。アミノ酸配列解析によって、N末端の100個のアミノ酸のほかにC末端から数十個のアミノ酸が欠失していることが明らかになっている。本研

究ではrat HEV構造蛋白のN末端、あるいはC末端、さらに両端を欠失した構造蛋白を発現し、ネイティブなウイルス粒子と類似するウイルス様粒子の作製および粒子形成に必要な領域の同定を試みた。

B. 研究方法

Rat HEV (GU345042) 構造蛋白をコードする ORF2 の配列を合成し、定法どおり、N あるいは C 末端、さらに両端を欠失した rat HEV 構造蛋白を RT-PCR で増幅して組換えバキュロウイルスを作製し、昆虫細胞 Tn5 および Sf9 で発現した。発現蛋白は SDS-PAGE、ウェスタンブロット法等で、粒子形成の有無およびその形状を電子顕微鏡で確認した。

(倫理面への配慮)

本研究では、特定の研究対象者は存在せず、倫理面への配慮は不要である。

C. 研究結果

昆虫細胞 Sf9 と Tn5 に MU KI VP1 を持つ組換えバキュロウイルスをそれぞれ感染し、構造蛋白の発現の確認および発現量を比較した。昆虫細胞 Tn5 と Sf9 では感染後 3 日に予想通り分子量が約 41 kDa の VP1 蛋白は産生された。ただし、JC, BK, MCV とは異なって、MU VP1 と KI VP1 の発現量はともに極めて少なかった。培養上清を超速心によって濃縮したあと塩化セシウム密度勾配遠心で精製した結果、Sf9 細胞培養上清から 41 と 39 kDa の二種類の蛋白が得られた。41 kDa の蛋白は比重 1.30 g/cm³ 分画に分布し、電子顕微鏡で直径約 50nm の球形粒子が観察された。39 kDa の蛋白は比重 1.29 g/cm³ 分画に分布し、電子顕微鏡観察したところ、直径約 22nm から 50nm まで数種類の直径の異なる粒子が存在する。KI-VLP を用いて抗体検出 ELISA を開発し我が国の健常人における KI に対する抗体保有率を調査した。その結果、若年層から高い抗体保有率を示し、平均の健常成人の 52.8% が KI に対する抗体を有することが明らかとなり、約 20% のヒトは、乳幼児期に感染する可能性が考えられ

た。

また、構造蛋白発現量を向上させるため、KI VP1 の N 末端から 9 個アミノ酸を欠損した組換えバキュロウイルスを作製し、同じ方法で構造蛋白を発現してみた。その結果、抗原発現量と粒子産生量は共に増加した。

D. 考察

N 末端から 12 個のアミノ酸を欠失した rat HEV ORF2 を Tn5 細胞で発現させることによって感染細胞内から直径約 23nm の中空粒子と 35nm の非中空粒子を得た。35nm の粒子は形態上ネイティブなウイルスと類似し、粒子内には rat HEV RNA が取り込まれていた。また、N 末端から 100 個のアミノ酸を欠失させた上に、C 末端から 593 番目まで 52 個のアミノ酸を欠損させても粒子の形成には影響を与えなかったが、これ以上欠失させると粒子は形成されなくなった。したがって、粒子形成には C 末端は 593 番目のアミノ酸までが必須であった。

E. 結論

本研究ではネイティブな HEV と類似する直径を持つ粒子の作製に成功した。ウイルス様粒子形成には ORF2 C 末端 593 番目アミノ酸まで必須であることが明らかになった。これらの結果は rat HEV 粒子の三次構造解析に有用である。また、大きな粒子内部には HEV 特異配列を持つ核酸が取り込まれていたことから、rat HEV のパッケージングに関する情報が得られることが期待される。

F. 健康危険情報 特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1). Li TC, Yoshizaki S, Ami Y, Suzaki Y, Yasuda SP, Yoshimatsu K, Arikawa J, Takeda N, Wakita T. Susceptibility of laboratory rats against genotypes 1, 3, 4, and rat hepatitis E viruses. *Vet Microbiol.* 2013, 163:54-61.

2). Tian-Cheng Li, Yasushi Ami, Yuriko Suzaki, Shumpei P. Yasuda, Kumiko Yoshimatsu, Jiro Arikawa, Naokazu Takeda, and Wakita Takaji. Full-Genome Characterization of a Rat Hepatitis E Virus Strain Isolated in Vietnam. EID. 2013 Jan;19(1):115-8.

3). Pitchanee Jariyapong, Li Xing, Nienke E. van Houten, Tian-Cheng Li, Wattana Weerachatanukul, Benjamin Hsieh, Carlos G. Moscoso, Chun-Chieh Chen, Masahiro Niikura, R. Holland Cheng, Chimeric hepatitis E virus-like particle as a carrier for oral-delivery. Vaccine. 2013, 31:417-424

4). Hiroshi Yamamoto, Juri Suzuki, Atsushi Matsuda, Takafumi Ishida, Yasushi Ami, Yuriko Suzaki, Adachi Isao, Takaji Wakita, Naokazu Takeda, and Tian-Cheng Li Hepatitis E Outbreak in Monkey Facility, Japan. EID 2012, 18 (12) 2032-2034.

5). Koma T, Yoshimatsu K, Yasuda SP, Li TC, Amada T, Shimizu K, Isozumi R, Mai LT, Hoa NT, Nguyen V, Yamashiro T, Hasebe F, Arikawa J. A survey of rodent-borne pathogens carried by wild Rattus spp. in Northern Vietnam. Epidemiology and Infection. Epidemiol Infect. 2012 Nov 1:1-9.

6). Kitamoto N, Oka T, Katayama K, Li TC, Takeda N, Kato Y, Miyoshi T, Tanaka T. Novel monoclonal antibodies broadly reactive to human recombinant sapovirus-like particles. Microbiol Immunol. 2012 Nov;56 (11):760-770.

7). Ishii K., Li T.C., Yoshizaki S., Shiota T., Kato T., Takeda N. and Wakita T. Cloning of permissive and nonpermissive human

hepatoma cell lines for hepatitis E virus infection. Hepatology International. 6: 292 (2012)

8). Tian-Cheng Li, Susumu Ochiai, Hiroaki Ishiko, Takaji Wakita, Tatsuo Miyamura and Naokazu Takeda. A retrospective study on imported hepatitis E in Japan. Travel Med Infect Dis. 2012;10(2):80-5.

2.学会発表

1). 李 天成、片岡 紀代、網 康至、須崎 百合子、安田 俊平、吉松 組子、有川 二郎、武田 直和、脇田 隆字。ラットE型肝炎ウイルス様粒子の作製および粒子形成に必須な領域の同定。第60回日本ウイルス学会学術集会 2012年11月 大阪。

2). 塩田 智之、李 天成、吉崎 佐矢香、武田 直和、脇田 隆字、石井 孝司。E型肝炎ウイルス生活環にカプシド蛋白C末端52アミノ酸の機能解析。第60回日本ウイルス学会学術集会 2012年11月大阪。

3). 田中聖一、山本 博、万年 和明、李天成。ニホンザルにおけるE型肝炎ウイルス感染状況。第60回日本ウイルス学会学術集会 2012年11月 大阪。

4). 原田 誠也、西村浩一、李 天成、石井孝司、田中智之、野田衛。熊本県におけるイノシシ、シカおよびブタのE型肝炎ウイルス汚染実態調査と分子疫学解析。第60回日本ウイルス学会学術集会 2012年11月大阪。

5). 李 天成、安田 俊平、吉松 組子、片岡 紀代、吉崎 佐矢香、網 康至、須崎百合子、有川 二郎、武田 直和、脇田隆字。E型肝炎ウイルスに対するラットの感受性。第154回日本獣医学会学術集会 2012年9月 岩手。

6). 清水健太郎、李 天成、安田 俊平、吉松組子、駒 貴明、長谷部 太、山本哲、有川 二郎。ベトナムのラットおよびヒトにおけるラット E 型肝炎ウイルスの感染状況の調査。第 154 回日本獣医学会学術集会 2012 年 9 月 岩手。

7). Tian-Cheng Li, kumiko Yoshimatsu, Shumpei P. Yasuda, Jiro Arikawa, Yasushi Ami³, Yuriko Suzaki and Takaji Wakita. Characterizations of the infectivity of genotype 1, 3, 4 and rat hepatitis E viruses in laboratory rats. 14th international Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease (14th ISVHLD). June 22-25, 2012 China Shanghai.

8). Tian-Cheng Li, Kumiko Yoshimatsu, Shumpei P. Yasuda, Jiro Arikawa, Michiyo Kataoka, Yasushi Ami, Yuriko Suzaki, Koji Ishii, Naokazu Takeda and Takaji Wakita. Antigenicity and infectivity of rat hepatitis E viruses. 第 9 回日中国際ウイルス学会. Jun 12-13. 2012. Sapporo.

H. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

子宮頸癌の治療薬を目指した特殊ペプチドによる E6AP 阻害剤の開発

分担研究者 勝二 郁夫 神戸大学大学院医学研究科微生物学分野 准教授

研究要旨 子宮頸癌の 90%以上はハイリスクグループのヒトパピローマウイルス (HPV) 感染により発症する。HPV による発癌では、HPV 由来の E6, E7 蛋白質による癌抑制遺伝子 p53, pRb の分解誘導が必須であり、発癌の抑制にはこれらの経路を遮断することが重要である。そこで、子宮頸癌の特異的治療薬の分子基盤の構築を目指し、HPV16E6/E6AP による癌抑制遺伝子 p53 の不活化を抑制する小分子の開発および E6 のユビキチン化機構の解析を行った。フレキシザイムを用いた遺伝暗号リプログラミング法と、天然物様特殊ペプチドライブラリー合成とその網羅的探索技術 (RaPID system) により、E6AP HECT domain と結合する環状 N-メチルペプチドを 8 種類得た。その中から、環状 N-メチルペプチド CM₁₁-1 および CM₁₁-1S が E6AP のユビキチンリガーゼ活性を強く抑制することを明らかにした。また、E6 のユビキチン化機構の解析から、*in vitro* において E6AP が HPV11 および HPV16 の E6 のユビキチン化させることを示した。

A. 研究目的

子宮頸癌の 90%以上にハイリスク型のヒトパピローマウイルス (HPV) 感染と E6, E7 蛋白質の組込みがあり、癌抑制遺伝子 p53, pRb のユビキチン-プロテアソーム系による分解誘導が発癌において重要であることが知られている。HPV ワクチンが近年、実用化され、若年女子の HPV 感染を予防し、将来的に子宮頸癌の発症が抑制されることが期待されているが、すでに HPV に感染している患者に対する特異的な抗パピローマウイルス薬は未だ存在しない。子宮頸癌の特異的治療薬の開発を目指し、HPV16E6/E6AP による癌抑制遺伝子 p53 の不活化を抑制する小分子の開発、および、HPV E6 のユビキチン化機構の解析を行った。

B. 研究方法

(1) フレキシザイムを用いた遺伝暗号リプログラミング法と、天然物様特殊ペプチドライブラ

リーを合成する技術とその網羅的探索技術

RaPID (the random non-standard peptides integrated discovery) system で E6AP の HECT ドメインに結合する特殊ペプチド(環状 N-メチルペプチド)を作製した (東京大学理学部、菅教授との共同研究)。

(2) 得られた特殊ペプチドの E6AP 阻害活性を Prx1 および p53 を基質にして *in vitro* ユビキチン化アッセイで検討した。

(3) HPV E6 のポリユビキチン化を解析した。ユビキチン経路の構成蛋白質を得るために、His₆-E1, MEF-E6AP を発現する組換えバキュロウイルスを昆虫細胞 Hi5 細胞に感染させ、各組換え蛋白質を発現した。その後、細胞から Ni-NTA または FLAG-beads で各蛋白質をアフィニティ精製した。His₆-UbcH7 を大腸菌 BL21 (DE3) で、GST-11E6, GST-16E6 を大腸菌 DH5 α で発現し、Ni-NTA または精製した。これらの組換え蛋白質を用い、HPV E6 蛋白質の *in*

in vitro ユビキチン化を解析した。

(倫理面への配慮)

取り扱うすべての DNA および病原性微生物に関しては適切な封じ込めレベルの実験施設で取り扱われた。

C. 研究結果

(1) RaPID system により、E6AP HECT domain と結合する 11-13 アミノ酸の環状 N-メチルペプチドを計 8 種類得た。

(2) 環状 N-メチルペプチド CM₁₁-1 は HECT domain への Ub conjugation を抑制したが、同じ配列でリニア状ペプチドの LM₁₁-1 や N-メチル化されていない CP₁₁-1 は抑制作用は著しく乏しかった。

(2) 特殊ペプチドと E6AP HECT ドメインの結合解析の結果、Kd は CM₁₁-1 で 0.602 nM, LM₁₁-1 で 180nM, CP₁₁-1 で >1000 nM となり、環状で N メチル化された CM₁₁-1 が最も強固な結合力を有することが示された。直鎖状 LM₁₁-1 や N メチル化されていない CP₁₁-1 では結合力が弱かった。

(3) CM₁₁-1 は E6AP の基質 Prx1 のユビキチン化を効率良く阻害した。また、HPV16E6/E6AP による p53 のユビキチン化も抑制することが示された。

(4) CM₁₁-1S1 も E6AP 依存性のポリユビキチン化を阻害した。

(5) 精製した MEF-E6AP は GST-11E6, GST-16E6 をポリユビキチン化したが、陰性コントロールの GST はポリユビキチン化されなかったことから、E6AP が 11E6, 16E6 のポリユビキチン化を促進するユビキチンリガーゼとして機能することが示唆された。

D. 考察

RaPID system により、E6AP HECT domain と結合する環状 N-メチルペプチド 8 種類を得た。ペプチドと E6AP HECT ドメインの結合解析の結果、環状で N メチル化された CM₁₁-1 が最も強固な結合力を有することが示された。直鎖状 LM₁₁-1 や N メチル化されていない CP₁₁-1 では結合力が弱

かった。CM₁₁-1 は E6AP の基質 Prx1 のユビキチン化を効率良く阻害した。さらに、HPV16E6/E6AP による p53 のユビキチン化も抑制することが示された。また、CM₁₁-1S1 も E6AP 依存性のポリユビキチン化を阻害した。以上の結果より RaPID system で環状 N-メチルペプチドを作製する技術は E3 リガーゼ阻害剤を作製するのに強力な技術となることが示された。

HPV 11E6, 16E6 のユビキチン化反応が E6AP により促進されることが示された。近年、16E6 の脱ユビキチン化酵素として USP15 が同定されたが、今回樹立した in vitro ユビキチン化系と精製 USP15 を用いることで、USP15 の活性測定、阻害剤探索に応用可能であると考えられた。

E. 結論

子宮頸癌の特異的治療薬の開発を目指し、HPV16E6/E6AP による癌抑制遺伝子 p53 の不活化を抑制する小分子の開発を行った。RaPID system により、E6AP HECT domain と結合する環状 N-メチルペプチド 8 種類を得た。抗 E6AP 環状 N-メチルペプチド CM₁₁-1, CM₁₁-1S1 が HPV16E6/E6AP による p53 のユビキチン化を抑制することを示した。また、E3 ユビキチンリガーゼ E6AP による HPV 11E6, 16E6 の in vitro ユビキチン化アッセイ系を樹立した。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ichimura, T., Taoka, M., Shoji, I., Kato, H., Hatakeyama, S., Isobe, T., and Hachiya, N. 14-3-3 Proteins sequester a pool of soluble TRIM32 ubiquitin ligase to repress autoubiquitination and cytoplasmic body formation., *Journal of Cell Science*, in press.
- 2) Matsui, C., Shoji, I., Kaneda, S., Sianipar, IR., Deng, L., and Hotta, H. Hepatitis C virus infection suppresses GLUT2 gene expression via down-regulation of hepatocyte nuclear factor 1α.

- J Virol*, 2012, 86 (23): 12903-11.
- 3) Shoji, I. Roles of the two distinct proteasome pathways in hepatitis C virus infection. *World J Virol*, 2012, 1, 44-50.
 - 4) El-Shamy, A., Shoji, I., El-Akel, W., Bilasy SE, Deng, L., El-Raziky, M., Jiang, D., Esmat, G., and Hotta, H. NS5A sequence heterogeneity of hepatitis C virus genotype 4a predicts clinical outcome of pegylated-interferon/ribavirin therapy in Egyptian patients. *J Clinical Microbiology*, 2012, 50 (12): 3886-92.
 - 5) Nakashima, K., Takeuchi, K., Chihara, K., Deng, L., Shoji, I., Hotta, H., and Sada, K. HCV NS5A protein containing potential ligands for both Src homology 2 and 3 domains enhances autophosphorylation of Src family kinases Fyn in B cells. *PLoS One*, 2012, 7 (10):e46634.
 - 6) Kim, S-R., El-Shamy, A., Imoto, S., Kim, KI., Ide, Y-H., Deng, L., Shoji, I., Tanaka, Y., Hasegawa, Y., Ota, Mitsuhiro., and Hotta, H. Prediction of response to pegylated interferon/ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C genotype 1b and high viral load. *Journal of Gastroenterology*, 2012, 47 (10): 1143-51.
 - 7) El-Shamy, A., Shoji, I., Kim S-R., Ide, Y-H., Imoto, S., Deng, L., Yoon, S., Fujisawa, T., Tani, S., Yano, Y., Seo, Y., Azuma, T., and Hotta, H. Sequence heterogeneity in NS5A of hepatitis C virus genotypes 2a and 2b and clinical outcome of pegylated-Interferon /Ribavirin therapy. *PLoS One*, 2012, 7, e30513, 1-10.
- 2.学会発表
- 1) Matsui C, Shoji I, Deng L, Hotta H. HCV infection induces lysosomal degradation of hepatocyte nuclear factor 1 α via interaction with HCV NS5A protein. 19th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Venice, Italy, October 5-9, 2012.
 - 2) Deng L, Chen M, Jiang DP, Shoji I, Hotta H. Up-regulation of MAPK phosphatase 3 is involved in HCV-induced suppression of FoxO1 phosphorylation. 19th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Venice, Italy, October 5-9, 2012.
 - 3) Jiang DP, Ratnoglik S L, Aoki C, Deng L, Shoji I, Hotta H. Development of therapeutic and preventive vaccines against Hepatitis C virus. 19th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Venice, Italy, October 5-9, 2012.
 - 4) Chen M, Gan X, Deng L, Shoji I, Hotta H. Identification and characterization of a novel NS5A-interacting protein, SMYD3. 19th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Venice, Italy, October 5-9, 2012.
 - 5) 松井千絵子、勝二郁夫、Deng Lin、堀田 博. C型肝炎ウイルスによる GLUT2 遺伝子発現抑制の分子機構. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会. 大阪、2012 年 11 月 13-15 日.
 - 6) Deng Lin、金子昌裕、河本真理、姜大鵬、勝二郁夫、堀田博. C型肝炎ウイルス感染による転写因子 FoxO1 脱リン酸化の分子機序の解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会. 大阪、2012 年 11 月 13-15 日.
 - 7) 陳明、甘翔、Deng Lin、勝二郁夫、堀田博. C型肝炎ウイルス NS5A 蛋白質の新規結合因子 ヒストンメチル基転移酵素 SMYD3 の同定と機能解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会. 大阪、2012 年 11 月 13-15 日.
 - 8) 姜大鵬、Ratnoglik Lulut Suratno1、青木千恵、Deng Lin、勝二郁夫、堀田博. C型肝炎ウイルスに対する予防および治療ワクチン開発に関する研究. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会. 大阪、2012 年 11 月 13-15 日.
 - 9) Deng Lin、勝二郁夫、堀田博. C型肝炎ウイルス感染による Bax 活性化の分子機序の解析. 第 65 回日本細菌学会関西支部総会. 神戸、2012 年 11 月 17 日
 - 10) 中島 謙治、竹内健司、千原一泰、堀口朋子、孫雪東、Deng Lin、勝二郁夫、堀田博、定清直.

C型肝炎ウイルス NS5A 蛋白質の Src homology 2/3 ドメイン結合能と B 細胞での発現による Src ファミリーキナーゼ Fyn の活性化. 第 35 回日本分子生物学会年会, 福岡, 2012 年 12 月 11-14 日.

11) 勝二郁夫, 松井千絵子, 兼田崇作, Imelda Rosalyn Sianipar, Deng Lin, 堀田博. C型肝炎ウイルス感染は HNF-1 α の発現を負に制御し GLUT2 遺伝子発現を抑制する. 第 35 回日本分子生物学会年会, 福岡, 2012 年 12 月 11-14 日.

12) 市村徹, 八谷如美, 加藤大樹, 勝二郁夫. 14-3-3 タンパク質は TRIM32 ユビキチンリガーゼの機能性プールを維持する. 第 35 回日本分子生物学会年会, 福岡, 2012 年 12 月 11-14 日.

13) 金守良, 井本勉, 堀田博, 金啓二, 谷口美幸, 小牧孝充, 井出良浩, 勝二郁夫. 2 者併用療法における relapse 例と NVR 例の 3 者併用療法時 SVR 予測の試み. 第 48 回日本肝臓学会総会, ワークショップ, 金沢, 2012 年 6 月 7-8 日.

14) 金守良, 井本勉, 金啓二, 谷口美幸, 小牧孝充, 井出良浩, 勝二郁夫, 堀田博. PEG-IFN/RBV (2

者併用療法) の SVR 予測における IRRDR 変異数の検討. 第 48 回日本肝臓学会総会, 金沢, 2012 年 6 月 7-8 日.

15) 金守良, 井本勉, 堀田博, 金啓二, 谷口美幸, 小牧孝充, 井出良浩, 勝二郁夫. PEG-IFN/RBV (2 者併用療法) の治療効果に係るウイルス因子とウイルス排除機序の検討. 第 48 回日本肝臓学会総会, 金沢, 2012 年 6 月 7-8 日.

16) 瀬尾靖, 矢野嘉彦, 斎藤雅也, 三木章, 勝二郁夫, 堀田博, 東健. プロテアーゼ阻害薬併用時代での PEG-IFN α -2a/Ribavirin 療法の位置付け. 第 16 回日本肝臓学会大会, 神戸, 2012 年 10 月 10-13 日.

H. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

なし

雑誌

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|---|---|------------------|-----|-----------|------|
| Saeed M, Gondeau C, Hmwe S, Yokokawa H, Date T, Suzuki T, Kato T, Maurel P, Wakita T, Shimakami T, Yi M, Lemon SM, Suzuki T, Wakita T, Kaneko S. T. | Replication of Hepatitis C Virus Genotype 3a in Cultured Cells. | Gastroenterology | 144 | 56-58 | 2013 |
| Murakami Y, Fukasawa M, Kaneko Y, Suzuki T, Wakita T, Fukazawa H. | Selective estrogen receptor modulators inhibit hepatitis C virus infection at multiple steps of the virus life cycle. | Microbes Infect | 15 | 45-55 | 2013 |
| Suzuki T. | Morphogenesis of infectious hepatitis C virus particles | Front Microbiol | 3 | 38 | 2012 |
| Ando T., Imamura H., Suzuki R., Aizaki H., Watanabe T., Wakita T, and Suzuki T. | Visualization and measurement of ATP levels in living cells replicating hepatitis C virus genome RNA. | PLoS Pathog | 8 | e1002561 | 2012 |
| Suzuki R., Saito K., Kato T., Shirakura M., Akazawa D., Ishii K., Aizaki H., Kanegae Y., Matsuura Y., Saito I., Wakita T., and Suzuki T. | Trans-complemented hepatitis C virus particles as a versatile tool for study of virus assembly and infection. | Virology | 432 | 29-38 | 2012 |
| Fukazawa H, Suzuki T, Wakita T, Murakami Y. | A cell-based, microplate colorimetric screen identifies 7,8-benzoflavone and green tea gallate catechins as | Biol Pharm Bull | 35 | 1320-1327 | 2012 |

| | | | | | |
|---|---|------------|-----|------------------------|------|
| | inhibitors of the hepatitis C virus. | | | | |
| Hansman, G. S., Shahzad-Ul-Hussan, S., McLellan, J. S., Chuang, G. Y., Georgiev, I., Shimoike, T., Katayama, K., Bewley, C. A., Kwong, P. D. | Structural basis for norovirus inhibition and fucose mimicry by citrate. | J Virol | 86 | 284-292 | 2012 |
| Hansman, G.S., David W. Taylor, Jason S. McLellan, Thomas J. Smith, Ivelin Georgiev, Jeremy R. H. Tame, Sam-Yong Park, Makoto Yamazaki, Fumio Gondaira, Motohiro Miki, Kazuhiko Katayama, Kazuyoshi Murata, and Peter D. Kwong. | Structural Basis for Broad Detection of Genogroup II Noroviruses by a Monoclonal Antibody That Binds to a Site Occluded in the Viral Particle | J Virol | 86 | 3635-3646 | 2012 |
| Seiya Harada, Tomoichiro Oka, Eisuke Tokuoka, Naoko Kiyota, Koichi Nishimura, Yasushi Shimada, Takehiko Ueno, Shigeru Ikezawa, Takaji Wakita, Qihong Wang, Linda J. Saif, and Kazuhiko Katayama. | A confirmation of sapovirus re-infection gastroenteritis cases with different genogroups and genetic shifts in the evolving sapovirus genotypes, 2002-2011. | Arch Virol | | 1007/s00705-012-1387-7 | 2012 |
| Matsuhira, T., Kaji, C., Murakami, S., Maebashi, K., Oka, T., Takeda, N. and Katayama, K. | Evaluation of four antiseptics using a novel murine norovirus | Exp Anim | 61 | 35-40 | 2012 |
| Oka, T., Mori, K., Iritani, N., Harada, S., Ueki, | Human sapovirus classification based on complete capsid nucleotide | Arch Virol | 157 | 349-352 | 2012 |

| | | | | | |
|---|--|------------------------|----|---------------|------|
| Y., Iizuka, S., Mise, K., Murakami, K., Wakita, T., and Katayama, K. | sequences. | | | | |
| Tyler M Sharp, Sue E Crawford, Nadim J Ajami, Frederick Neill, Robert L Atmar, Kazuhiko Katayama, Budi Utama, Mary K Estes. | Secretory pathway antagonism by calicivirus homologues of Norwalk virus nonstructural protein p22 is restricted to noroviruses. | Virology Journal | 9 | 181 | 2012 |
| Yoshiki Fujii, Takashi Shimoike, Hirotaka Takagi, Kosuke Murakami, Reiko Todaka-Takai, YoungBin Park and Kazuhiko Katayama. | Amplification of all 11 RNA segments of group A rotaviruses based on reverse transcription polymerase chain reaction. | Microbiol Immunol | 56 | 630-638 | 2012 |
| Masaru Yokoyama, Tomoichiro Oka, Hirotatsu Kojima, Tetsuo Nagano, Takayoshi Okabe, Kazuhiko Katayama, Takaji Wakita, Tadahito Kanda and Hironori Sato. | Structural basis for specific recognition of substrates by sapovirus protease. | Frontiers Microbiol | 3 | 1-10 | 2012 |
| Motohiro Miki and Kazuhiko Katayama. | 3D structure analysis accelerates the solution of a real viral structure and antibodies docking mechanism. | Frontiers Microbiol | 3 | 1-6 | 2012 |
| Kitamoto N, Oka T, Katayama K, Li TC, Takeda N, Kato Y, Miyoshi T, Tanaka T. | Novel monoclonal antibodies broadly reactive to human recombinant sapovirus-like particles. | Microbiol Immunol | 56 | 760-770 | 2012 |
| 田中智之、三好龍 也、内野清子、吉田 永祥. | 感染症迅速診断キットの有 用性と限界-ノロウイルス- | 小児科 | 53 | 437-442 | 2012 |
| 田中智之、小林尚 明、豊田 茂、佐藤 | ノロウイルス抗原迅速診断 試薬クイックナビ™ -ノロ2 | 医学と新薬 | 68 | 1033-10 39 | 2012 |

| | | | | | |
|---|--|-------------------|-----|-----------|----------|
| 雅久、佐野康子、竹田弘、柏井健作、家永信彦、中田修二、宇加江進、佐藤勇、原錬太郎、中野徳、田中敏博、五十嵐隆夫、水澤一郎、田尻 仁 | の評価 | | | | |
| 本村和嗣, 横山勝, 岡智一郎, 片山和彦, 野田衛, 田中智之, 佐藤裕徳 | Norovirus Surveillance Group of Japan. ノロウイルスのゲノム解析と流行発生のしくみ. | 感染症学雑誌 | 86 | 563-568 | 2012 |
| 田中智之 | 新規に保険収載された検査法ノロウイルス抗原迅速定性検査 | モダンメディア | 58 | 337-341 | 2012 |
| 佐藤裕徳、横山勝、本村和嗣 | ヒトノロウイルス流行の基礎知識と検査法 | 日本臨床 | 70 | 1272-1276 | 2012 |
| Motomura K., YOKOYAMA M., OKA T., KATAYAMA K., NODA M., TANAKA T., SATO H. | A Mechanism of Norovirus Pandemic Based on Comprehensive Genome Analysis | Jpn. J Infect Dis | 86 | 563-568 | 2012 |
| 本村和嗣、大石和徳 | ノロウイルス感染症 | からだの科学 | 12 | | 2012 |
| Watanabe M, Phamduong E, Huang C-H, Itoh N, Bernal J, Nakanishi A, Rundell K, Gjoerup O, and Kasamatsu H. | Formation of covalently modified folding intermediates of simian virus 40 Vp1 in large T antigen-expressing cells. | J Virol | | | In press |
| Soma J, Tsunamitsu H, Miyamoto T, Suzuki G, Sasaki T, Suzuki T. | Whole-genome analysis of two bovine rotavirus C strains: Shintoku and Toyama. | J Gen Virol | 94 | 128-135 | 2013 |
| Suzuki T, Soma J, Miyazaki A, Tsunemitsu H. | Phylogenetic analysis of nonstructural protein 5 (NSP5) gene sequences in porcine rotavirus B strains. | Infect Genet Evol | 12 | 1661-1668 | 2012 |
| Marthaler D, Rossow K, Gramer M, Collins J, Goyal S, Tsunemitsu H, Kuga, Suzuki T, | Detection of substantial porcine group B rotavirus genetic diversity in the United States, resulting in a modified classification proposal | Virology | 433 | 85-96 | 2012 |

| | | | | | |
|--|---|------------------|-----|-----------------|------|
| Ciarlet M, Matthijnssens J. | for G genotypes. | | | | |
| Fukuda M, Kuga K, Miyazaki A, Suzuki T, Tasei K, Aita T, Mase M, Sugiyama M, Tsunemitsu H. | Development and application of one-step multiplex reverse transcription PCR for simultaneous detection of five diarrheal viruses in adult cattle. | Arch Virol | 157 | 1063-1 069 | 2012 |
| Kanda T., Wu S., Kiyohara T., Nakamoto S., Jiang X., Miyamura T., Imazeki F., Ishii K., Wakita T. and Yokosuka O. | Interleukin 29 suppresses hepatitis A and C viral internal ribosomal entry site-mediated translation. | Viral Immunol | 25 | 379-38 6 | 2012 |
| Kubota T., Kumagai A., Ito H., Furukawa S., Ishii K., Wakita T., Takeda N., Someya Y., Narimatsu H. and Shirato H. | Structural basis for the recognition of Lewis antigens by genogroup I norovirus. | J Virol | 86 | 11138- 11150 | 2012 |
| Tominaga A., Kanda T., Akiie T., Komoda H., Ito K., Abe A., Aruga A., Kaneda S., Saito M., Kiyohara T., Wakita T., Ishii K., Yokosuka O. and Sugiura N. | Hepatitis A outbreak associated with a revolving sushi bar in Chiba, Japan: application of molecular epidemiology. | Hepatol Res | 42 | 828-83 4 | 2012 |
| Miyamura T., Ishii K., Kanda T., Tawada A., Sekimoto T., Wu S., Nakamoto S., Arai M., Fujiwara K., Imazeki F., Kiyohara T., Wakita T. and Yokosuka O. | Possible widespread presence of hepatitis A virus subgenotype IIIA in Japan: recent trend of hepatitis A causing acute liver failure. | Hepatol Res | 42 | 248-25 3 | 2012 |

| | | | | | |
|---|--|-----------------------|-----|---------|------|
| Ishii K., Li T.C., Yoshizaki S., Shiota T., Kato T., Takeda N. and Wakita T. | Cloning of permissive and nonpermissive human hepatoma cell lines for hepatitis E virus infection. | Hepatol International | 6 | 292 | 2012 |
| Ishii K., Kiyohara T., Yoshizaki S., Wakita T., Shimada T., Nakamura N., Nakashima K., Tada Y. and Noda M. | Epidemiological and genetic analyses of a diffuse outbreak of hepatitis A in Japan, 2010. | J Clin Virol | 53 | 219-224 | 2012 |
| 石井孝司、清原知子 | A型肝炎ワクチン | BIO Clinica | 28 | 25-29 | 2013 |
| 石井孝司、脇田隆字 | 海外におけるA型肝炎集団発生 -わが国への警鐘- | 化学療法の領域 | 28 | 984-992 | 2012 |
| 石井孝司 | 2010年春季のA型肝炎のdiffuse outbreakの分子疫学的解析 | 消化器内科 | 54 | 233-238 | 2012 |
| Li TC, Yoshizaki S, Ami Y, Suzaki Y, Yasuda SP, Yoshimatsu K, Arikawa J, Takeda N, Wakita T. | Susceptibility of laboratory rats against genotypes 1, 3, 4, and rat hepatitis E viruses. | Vet Microbiol | 163 | 54-61 | 2013 |
| Tian-Cheng Li, Yasushi Ami, Yuriko Suzaki, Shumpei P. Yasuda, KumikoYoshimatsu, Jiro Arikawa, Naokazu Takeda, and Wakita Takaji. | Full-Genome Characterization of a Rat Hepatitis E Virus Strain Isolated in Vietnam | EID | 19 | 115-118 | 2013 |
| Pitchanee Jariyapong, Li Xing, Nienke E. van Houten, Tian-Cheng Li, Wattana Weerachatanukul, Benjamin Hsieha, Carlos G. Moscoso, Chun-Chieh Chen, Masahiro Niikura, R. Holland Cheng, | Chimeric hepatitis E virus-like particle as a carrier for oral-delivery. | Vaccine | 31 | 417-424 | 2013 |