

- K Tashiro, F Sakurai, M Kusuda-Furue, H Mizuguchi: HNF4 α promotes hepatic maturation from human embryonic stem cell-derived hepatoblasts., The 6th Seoul-Kyoto-Osaka Joint Symposium on Pharmaceutical Sciences for Young Scientists, Seoul, Korea, June, 2011
74. K Takayama, M Inamura, K Kawabata, K Katayama, K Tashiro, F Sakurai, M Kusuda-Furue, H Mizuguchi: Efficient generation of functional hepatocytes from human embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells by HNF4 α transduction., International Society for Stem Cell Research, Tronto, June, 2011
75. Yoshida, T., Satoh, F., Akihiro, W., Kondoh, M., Mizuguchi, H., Sakamoto, N., Yagi, K. Development of an RNA polymerase I-driven adenoviral vector and its application in an HCV replication assay. HCV 2011. September 8-12. Seattle, USA
76. 脇田隆宇, 「新型シーケンサで展開するウイルスゲノム研究」、ランチョンセミナー、第34回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜 (2011, 12.14)
77. 相崎英樹、鈴木哲朗、脇田隆宇、HCV感染に伴う宿主細胞の脂質代謝の変化と代謝産物のメタボロミクス解析、第47回日本肝臓学会総会、ホテルグランパシフィック、(2011, 6.2-3)、シンポジウム1「ウイルス肝炎・肝癌制圧の分子基盤」
78. 加藤孝宣、政木隆博、脇田隆宇、HCV JFH-1 キメラ株を用いた NS5a 阻害剤の株特異的抗ウイルス活性の評価、第15回日本肝臓学会大会、福岡国際会議場、(2011, 10.20-21)、シンポジウム1「C型肝炎治療の新たな展開」
79. 加藤孝宣、椎名正明、脇田隆宇、HCV JFH-1 株のチンパンジー感染実験で得られた適応変異株の機能解析、第15回日本肝臓学会大会、福岡国際会議場、(2011, 10.20-21)、パネルディスカッション4「肝疾患動物モデルと translational research」
80. 武田緑、池田正徳、有海康雄、脇田隆宇、加藤宜之、2種類のヒト肝細胞株を用いた HCV 感染レポーターアッセイ系の開発、第47回日本肝臓学会総会、ホテルグランパシフィック、(2011, 6.2-3)、
81. 相崎英樹、多田有希、松本喜弘、後藤耕司、渡士幸一、鈴木亮介、田中純子、鈴木哲朗、岡部信彦、脇田隆宇、1999年から2009年における日本のC型肝炎の発生状況、第47回日本肝臓学会総会、ホテルグランパシフィック、(2011, 6.2-3)
82. 加藤孝宣、村山麻子、政木隆博、相崎英樹、脇田隆宇。国内献血検体を用いたC型肝炎ウイルス陽性血漿パネルの作製とウイルス量測定法の評価、第47回日本肝臓学会総会、ホテルグランパシフィック、(2011, 6.2-3)
83. 村山麻子、三代俊治、脇田隆宇、加藤孝宣。C型肝炎ウイルス粒子の産生効率の良いHuH-7細胞サブクローンの分離と同定、第15回日本肝臓学会大会、福岡国際会議場、(2011, 10.20-21)
84. 松村卓哉、加藤孝宣、井廻道夫。Vitamin Dとその代謝産物の抗HCV作用の検討。シンポジウム10: C型肝炎ウイルスの性状と治療の新たな展開 第15回日本肝臓学会大会、2010年10月、福岡
85. 阿部雄一、下遠野邦忠、脇田隆宇、土方 誠: HCV粒子の感染性獲得に関与する肝細胞内シグナルの解析、第7回広島肝臓プロジェクト研究センターシンポジウム、平成23年7月1日、広島、2011年6)
86. 土方誠: プロスタノイドによるHCVの感染性粒子産生制御、平成23年度 北海道大学遺伝子病制御研究所 研究集会『感染、免疫、炎症、発癌』、平成23年12月4-5日、札幌 2011
87. ウイルス感染による細胞内SUMO化修飾の動態解析 芦沢暁、森石恒司、藤室雅弘 第34回日本分子生物学会総会 2011年12月13日~16日、横浜
88. 上田 優輝、森 京子、池田 正徳、有海 康雄、加藤 宣之。抗HCV剤の活性評価には複数の細胞株由来のアッセイ系が必要である。第47回日本肝臓学会総会、2011年6月、東京
89. 上田 優輝、森 京子、池田 正徳、有海 康雄、加藤 宣之。抗HCV活性の客観的な評価には複数の細胞株と複数のHCV株由来のアッセイ系が必要である。第26回中国四国ウイルス研究会、2011年6月、徳島
90. 瀬島 寛恵、森 京子、有海 康雄、池田 正徳、加藤 宣之。長期にわたるC型肝炎ウイルスのゲノム複製によって発現が変動した遺伝子群の同定。第26回中国四国ウイルス研究会、2011年6月、徳島

91. 池田 正徳、武田 緑、加藤 宣之 メバロン酸経路を標的とした新しい抗 HCV 剤開発の基礎 第 47 回日本肝臓学会総会、東京、2011 年 6 月
92. 武田 緑、池田 正徳、有海 康雄、脇田 隆字、加藤 宣之. 異なるヒト肝細胞株(HuH-7 と Li23)を用いた HCV 感染レポーターアッセイ系の開発. 第 26 回中国四国ウイルス研究会, 2011 年 6 月, 徳島
93. 中野和司、大崎恵理子、上田啓次. カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV) の vIRF-3/LANA2 が誘導する IFN シグナルを vIRF-1 が抑制する. 第 26 回ヘルペスウイルス研究会. 6 月 2 日~4 日. 大阪アカデミア. 大阪
94. 大崎恵理子、中野和司、Xin Zheng、Zunlin Yang、上田啓次. KSHV ゲノム複製における LANA の機能的役割と書く内骨格構造の重要性. 第 26 回ヘルペスウイルス研究会. 6 月 2 日~4 日. 大阪アカデミア. 大阪
95. 中野和司、大崎恵理子、上田啓次. カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV) の vIRF-3 が誘導する IFN シグナルを vIRF-1 が直接結合し抑制する. 第 8 回 EBV 研究会. 7 月 8 日. 大阪大学大学院 銀杏会館
96. 大崎恵理子、中野和司、Xin Zheng、Zunlin Yang、上田啓次. KSHV LANA と核マトリックス因子 NuMA のキメラ蛋白による ori-P 複製能の検討. 第 8 回 EBV 研究会. 7 月 8 日. 大阪大学大学院 銀杏会館
97. 高山和雄、稲村 充、川端健二、菅原道子、菊池きよ美、櫻井文教、古江一楠田美保、水口裕之: FOXA2・HNF1 α 遺伝子導入によるヒト多能性幹細胞から薬剤代謝能を有した肝細胞の分化誘導、日本薬学会第 132 年会、札幌、2012 年 3 月 28-31 日
98. 水口裕之: ヒト ES/iPS 細胞から肝細胞への分化誘導技術開発と創薬応用、ヒト ES/iPS 細胞: 産業応用最前線セミナー ~細胞治療と創薬スクリーニング~ ダイアローグ社セミナー、東京、2011 年 12 月 12 日
99. 水口裕之: 遺伝子導入技術を駆使したヒト ES/iPS 細胞から肝細胞への分化誘導技術開発と創薬応用、第 26 回長崎 DDS・再生医療研究会、長崎、2011 年 12 月 9 日
100. 水口裕之: ヒト ES/iPS 細胞から肝細胞への分化誘導技術開発と創薬応用、サイエンスエキスポ関西、大阪、2011 年 10 月 21 日
101. 水口裕之: 創薬応用を目指したヒト ES/iPS 細胞から肝細胞への分化誘導技術開発、第 1 回レギュラトリーサイエンス学会学術大会、東京、2011 年 9 月 2-3 日
102. 水口裕之: ヒト iPS 細胞を用いた新規 in vitro 毒性評価系の構築、第 31 回ヒューマンサイエンス基礎研究講習会、大阪、2011 年 9 月 1 日
103. 水口裕之: 遺伝子導入技術を駆使したヒト ES/iPS 細胞から肝臓細胞への分化誘導、第 28 回日本小児肝臓研究会、筑波、2011 年 7 月 16 日
104. 水口裕之: 創薬における iPS 細胞を活用した in vitro 毒性評価、サイエンス&テクノロジーセミナー、東京、2011 年 7 月 15 日
105. 水口裕之: ヒト ES/iPS 細胞から肝細胞への分化誘導技術の開発と in vitro 毒性評価系への応用、第 38 回日本トキシコロジー学会学術年会、東京、2011 年 7 月 13 日
106. 高山和雄、稲村 充、川端健二、田代克久、形山和史、櫻井文教、古江一楠田美保、水口裕之: HNF4 α 遺伝子導入によるヒト ES・iPS 細胞からの成熟肝細胞への高効率分化誘導、第 18 回肝細胞研究会、東京、2011 年 6 月 24-25 日
八木
107. 八木清仁、吉田孟史、近藤昌夫、水口裕之、ヒト iPS 細胞由来肝細胞を利用した C 型肝炎ウイルスの複製・感染評価、日本薬学会第 132 年会、平成 24 年 3 月、札幌
108. 山根誠司、吉田孟史、高山和雄、近藤昌夫、櫻井文教、谷英樹、坂本直哉、松浦善治、水口裕之、八木清仁、ヒト iPS 細胞由来肝細胞を用いた HCV 感染モデルの作製、日本薬学会第 132 年会、平成 24 年 3 月、札幌
109. 吉田孟史、佐藤美美、渡利彰浩、近藤昌夫、水口裕之、八木清仁、RNA ポリメラーゼ I 発現系を利用した長鎖 RNA 発現ベクターの開発、第 27 回日本 DDS 学会、平成 23 年 6 月、東京

平成24年度

- 1) Y Abe, A H. Hussein, M Imamura, T Wakita, K Shimotohno, K Chayama, M Hijikata, Thromboxane A₂ synthase plays a key role in production of infectious HCV particles, 198th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Palazzo del Cinema, Lido-Venice, Italy, (2012, Oct. 5-9)
- 2) D Akazawa, M Moriyama, H Yokokawa, N Watanabe, T Date, K Morikawa, H Aizaki, K Ishii, T Kato, N Nakamura, T Wakita, Neutralizing Antibodies Induced by Cell Culture-Derived Hepatitis C Virus Was Effective Both *In Vitro* and *In Vivo*, 198th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Palazzo del Cinema, Lido-Venice, Italy, (2012, Oct. 5-9)
- 3) HH Aly, T Wakita. New HCV genotype 4a genotype clone, The 10th JSH Single Topic Conference, “Hepatitis C : Best Practice Based on Science “ Keio Plaza Hotel, Tokyo, Japan (2012, 11. 21-22)
- 4) HH Aly, K Watashi, N Watanabe, M Mizokami, T Kato, T Wakita. Construction of Hepatitis C virus genotype 4a clone, 19th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Palazzo del Cinema, Lido-Venice, Italy, (2012, Oct. 5-9)
- 5) HH Aly, K Shimotohno, T Wakita, H Oshiumi, T Seya. HCV particles production from mouse hepatocytes, 19th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Palazzo del Cinema, Lido-Venice, Italy, (2012, Oct. 5-9)
- 6) Ariumi Y, Kuroki M, Inoue M, Hijikata M, Ikeda M, Wakita T, Shimotohno K, Kato N. Dynamic Regulation of cytoplasmic mRNA-containing bodies in HCV systems. In : 19th international symposium on hepatitis C virus and related viruses: 2012 Oct 5-9: Venice, Italy
- 7) T Ando, H Aizaki, M Sugiyama, M Mizokami, M Kuroda, T Wakita. Independent evolution of multi-dominant viral genome species observed in a single HCV carrier, 198th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Palazzo del Cinema, Lido-Venice, Italy, (2012, Oct. 5-9)
- 8) M Fukasawa, R Anai, Y shirasago, K Saito, Y Murakami, H Fukazawa, T Suzuki, T Wakita, J Chiba, K Hanada, Isolation and characterization of a mutant Hepatitis C virus adapted to mouse CD81, 198th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Palazzo del Cinema, Lido-Venice, Italy, (2012, Oct. 5-9)
- 9) Hara Y, Yanatori I, Kiyokage E, Nishina S, Tomiyama Y, Toida K, Ikeda M, Kishi F, Kato N, Hino K. Hepatitis C virus protein suppresses mitophagy by interacting with Parkin. In : 19th international symposium on hepatitis C virus and related viruses: 2012 Oct 5-9: Venice, Italy
- 10) Ishii K, Kanda T, Sugiura N, Kiyohara T, Yoshizaki S, Shimada T, Nakamura N, Nakashima K, Tada Y, Yokosuka O, Wakita T, Noda M, Epidemiological and genetic analysis of hepatitis A between 2010 and 2011 in Japan, 14th International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease, Shanghai International Convention Center, Shanghai, China (2012, June 22-25)
- 11) Kasai H., Kawakami, K., Yamashita, A., Ikeda, M., Kato, N., Enomoto, N., Matsuura, Y., Kusunoki, M., Moriishi, K. FKBP6 plays an important role in HCV replication through binding to HCV NS5A. 19th International Symposium on Hepatitis C virus and related viruses. 2012. October 5-9.
- 12) Kato T, Matsumura T, Sugiyama N, Murayama A, Wakita T, Imawari M. Anti-Hepatitis C Virus Effect of 25-hydroxyvitamin D₃ Targeting Infectious Virus Production. 19th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. October 5-9, 2012. Venice, Italy.
- 13) S Kim, T Date, H Aizaki, H Watanabe, T Wakita. NS3 protease derived from genotype 1b Con1 attenuates viral replication, The 10th JSH Single Topic Conference, “Hepatitis C : Best Practice Based on Science “ Keio Plaza Hotel, Tokyo, Japan (2012, 11. 21-22)
- 14) S Kim, T Date, H Aizaki, H Watanabe, T Wakita. NS3 protease derived from genotype 1b Con1 attenuates viral replication, 198th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Palazzo del Cinema, Lido-Venice, Italy, (2012, Oct. 5-9)
- 15) M Kuroki, M Inoue. M Hijikata, M Ikeda, T Wakita, K Shimotohno, N Kato, Y Ariumi: Can P-body associated

host factors APOBEC3G and MOV10 restrict HCV infection? 19th International symposium on hepatitis C virus and related viruses. Venice, Italy, Oct 5-9, 2012

16) M Matsuda, R Suzuki, K Watashi, Hideki Aizaki, Y Matsuura, T Miyamura, T Suzuki, T Wakita. An alternative endocytosis pathway for the infectious entry of hepatitis C virus, The 10th JSH Single Topic Conference, "Hepatitis C: Best Practice Based on Science", Keio Plaza Hotel, Tokyo, Japan (2012, 11. 21-22)

17) Y Matsumoto, N Watanabe, K Watashi, R Suzuki, T Matsuura, T Suzuki, T Miyamura, K Wake, T Wakita, H Aizaki, Antiviral activity of glycyrrhizin against Hepatitis C virus in vitro, 198th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Palazzo del Cinema, Lido-Venice, Italy, (2012, Oct. 5-9)

18) Molenkamp, R., Raghwani, J., Thomas, X., Koekkoek, S., Schinkel, J., van de Laar, T., Takebe, Y., Tanaka, Y., Mizokami, M., Rambaut, A. and Pybus, O. Origin and evolution of the unique hepatitis C virus circulating recombinant form 2k/1b. HCV 2012 (October 5, 2012, Venice).

19) Murayama A, Kato T, Sugiyama N, Wakita T. Infectious Virus Production with Hepatitis C Virus Genotype 2b Genome Harboring Minimal Regions of JFH-1. 19th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. October 5-9, 2012. Venice, Italy.

20) Murayama A, Sugiyama N, Yoshimura S, Ishihara-Sugano M, Wakita T, Mishiro S, Kato T. Efficient hepatitis C virus production associated with enhanced virus assembly and evasion of cell cycle arrest. The 63rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. November 9-13, 2012. Boston, MA, USA.

21) A Muroi, S Takahama, M Arimoto, R Morishita, T Suzuki, T Wakita, Y Endo, T Sawasaki, Comprehensive screening of host proteins cleaved by HCV protease using wheat cell-free protein synthesis system, 198th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses.

Palazzo del Cinema, Lido-Venice, Italy, (2012, Oct. 5-9)
22) Y Okuno, N B Ngoc, M Denawa, H Kagechika, N Sakamoto, M Hagiwara. "Identification of novel compound with the anti-Hepatitis C activity, which promotes the expression of Gastrointestinal glutathione peroxidase". The 1st Official Conference of the International Chemical Biology Society, October 4-5, 2012 USA

23) Sejima H, Mori K, Ariumi Y, Ikeda M, Kato N. Identification of host genes showing differential expression profiles with Li23 cell-based long-term replication of Hepatitis C virus RNA. 19th international symposium on hepatitis C virus and related viruses: 2012 Oct 5-9: Venice, Italy

24) Sugiyama M, Tanaka Y, Nakanishi M, Mizokami M. The influence of specific mutations observed in core promoter region of HBV genotype D1 on viral replication. 2012 International Meeting on Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. Sept. 22-25, 2012. Oxford, England

25) R Suzuki, M Matsuda, K Watashi, Hideki Aizaki, Y Matsuura, T Miyamura, T Wakita, T Suzuki. Identification of a host factor that interacts with hepatitis C virus NS2 protein and participates in the viral assembly, The 10th JSH Single Topic Conference, "Hepatitis C: Best Practice Based on Science", Keio Plaza Hotel, Tokyo, Japan (2012, 11. 21-22)

26) R Suzuki, M Matsuda, K Watashi, H Aizaki, Y Matsuura, T Suzuki, T Wakita. An alternative endocytosis pathway for the productive entry of Hepatitis C virus, 198th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Palazzo del Cinema, Lido-Venice, Italy, (2012, Oct. 5-9)

27) Takeda M, Ikeda M, Ariumi Y, Wakita T, Kato N. Development of HCV reporter-assay systems using two hepatoma cell lines and analysis of the factors determining sensitivity to HCV infection. In : 19th international symposium on hepatitis C virus and related viruses: 2012 Oct 5-9: Venice, Italy

28) Y Tsugawa, H Kato, T Fujita, K Shimotohno, M Hijikata: Critical role of Interferon alpha constitutively

- produced in–human hepatocytes in response to virus infection. The 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity. 11-14 September 2012
- 29) Y Tsugawa, M Hijikata: Hepatocyte-specific innate immune systems in response to RNA virus infection. The 10th International Student Seminar. Kyoto, 5-8 March 2012.
- 30) Y Tsugawa, H Kato, T Fujita, K Shimotohno, M Hijikata: Hepatocyte-specific innate immune systems in response to viral infection. 19th International symposium on hepatitis C virus and related viruses. Venice, Italy, Oct 5-9, 2012
- 31) T Wakita. Hepatitis C Virus Replication Models and Anti-viral Development. The 25th International Conference on Antiviral Research (ICAR) Sapporo, Japan (2012, 4. 16-19)
- 32) T Wakita. Basic concepts of Hepatitis C, 1st Asian Conference on Hepatitis B and C, HIV and Influenza, Beijing Marriott Hotel City Wall, Beijing, China (2012, 5. 18-19)
- 33) T Wakita. Production of cell culture adapted HCV strain, International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Cancer, Peking University Center for Infectious Diseases Research, Beijing, China (2012, 6. 21)
- 34) T Wakita. Independent Evolution of Multi-dominant Viral Genome Species of Hepatitis C Virus, The 10th JSH Single Topic Conference, “Hepatitis C : Best Practice Based on Science “, Keio Plaza Hotel, Tokyo, Japan (2012, 11. 21-22)
- 35) T Wakita, T Date, S Kim, T Kato, Novel Cell Culture-Adapted Hepatitis C Virus Infectious Clone, 198th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Palazzo del Cinema, Lido-Venice, Italy, (2012, Oct. 5-9)
- 36) N Watanabe, T Date, H Aizaki, T Wakita. The role of envelope N-glycans in HCV lifecycle, The 10th JSH Single Topic Conference, “Hepatitis C : Best Practice Based on Science “ Keio Plaza Hotel, Tokyo, Japan (2012, 11. 21-22)
- 37) N Watanabe, T Date, A H Hussein, H Aizaki, T Wakita. Neutralization antibody induction by immunization with E2 proteins purified from different cells, 198th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Palazzo del Cinema, Lido-Venice, Italy, (2012, Oct. 5-9)
- 38) Watanabe T, Iijima S, Murakami S, Iio E, Shinkai N, Matsuura K, Yokomaku Y, Imamura J, Sugiura W, Tanaka Y. Immune restoration Hepatitis B associated with anti-retroviral therapy for human immunodeficiency virus. 2012 International Meeting on Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. Sept. 22-25, 2012. Oxford, England.
- 39) K Watashi, N Uchida, R Suzuki, H Aizaki, T Wakita. Phospholipase D is a cellular regulator during hepatitis c virus egress and a possible target for antiviral strategy, The 10th JSH Single Topic Conference, “Hepatitis C : Best Practice Based on Science “, Keio Plaza Hotel, Tokyo, Japan (2012, 11. 21-22)
- 40) K Watashi, N Uchida, M Saeed, R Suzuki, H Aizaki, T Wakita, Characterization of anti-HCV release inhibitors targeting Phospholipase D, 198th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Palazzo del Cinema, Lido-Venice, Italy, (2012, Oct. 5-9)
- 41) Ueda Y, Mori K, Dansako H, Kim HS, Wataya Y, Ikeda M, Kato N. Potent anti-HCV activities found in preclinical anti-malarial drugs is promptly exerted through oxidative stress. In : 19th international symposium on hepatitis C virus and related viruses: 2012 Oct 5-9: Venice, Italy
- 42) Yagi, K., Yoshida, T., Yamane, S., Takayama, K., Watari, H., Kondoh, M., Sakurai, F., Sakamoto, N., Matsuura, Y., Mizuguchi, H., Yagi, K. Evaluation of HCV infection and replication using human iPS cell-derived hepatocytes. HCV 2012. October 5-9. Venice, Italy.
- 43) Yeh YJ, Tseng CP, Hsu SD, Chang YL, Sakamoto N, Huang HD, Cheng JC: Let-7b is a novel regulator of hepatitis C virus replication. J Hepatol 2011; in submission.. 19th. International Meeting on Hepatitis C

Virus & Related Viruses. Oct-5-2012, Venice, Italy

- 44) 藤田めぐみ、脇田隆宇、加藤孝宣. HCV genotype1b 株キメラウイルスを後板 HCV core 領域 70/91 変異株の解析、第 48 回日本肝臓学会総会、ホテル日航金沢、(2012, 6.7-8)、ワークショップ 18「C 型肝炎ウイルスの制御を目指した基礎戦略」
- 45) 石田雄二、柳愛美、吉美康美、山崎ちひろ、横道博、渡士幸一、脇田隆宇、茶山一彰、立野知世. ヒト肝細胞キメラマウス由来の初代培養ヒト肝細胞への HBV 感染、第 48 回日本肝臓学会総会、ホテル日航金沢、(2012, 6.7-8)
- 46) 坂田幸太郎、原詳子、鈴木哲朗、渡邊則幸、相崎英樹、高谷大輔、松本武久、脇田隆宇、小嶋聡一. C 型肝炎ウイルス NS3 プロテアーゼによる TGF- β I 型受容体を介した TGF- β シグナルの活性化、第 48 回日本肝臓学会総会、ホテル日航金沢、(2012, 6.7-8)
- 47) 清原知子、脇田隆宇、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学術集会、パシフィコ横浜、(2012, 11.17-18)
- 48) 渡士幸一、内田奈々、大東卓史、史与原知子、鈴木亮介、相崎英樹、脇田隆宇、IL1 および TNF-alpha の B 型肝炎ウイルス感染阻害活性、第 60 回日本ウイルス学会学術集会、グランキューブ大阪、(2012, 11.13-15)
- 49) 松田麻未、鈴木亮介、渡士幸一、相崎英樹、松浦善治、鈴木哲朗、脇田隆宇、1 回感染性 *trans-packaging* 型 C 型肝炎ウイルス粒子を用いたエンドサイトーシス経路の解析、第 60 回日本ウイルス学会学術集会、グランキューブ大阪、(2012, 11.13-15)
- 50) 阿部雄一、アリ・ハッサン・フセイン、今村道雄、脇田隆宇、下遠野邦忠、茶山一彰、土方誠、C 型肝炎ウイルス(HCV)の感染性粒子形成において重要な宿主因子、トロンボキサン A2(TXA2)合成酵素の同定と機能解析、第 60 回日本ウイルス学会学術集会、グランキューブ大阪、(2012, 11.13-15)
- 51) 白砂圭崇、齊藤恭子、村上裕子、深澤秀輔、鈴木哲朗、脇田隆宇、花田賢太郎、千葉丈、安部良、深澤征義、高感染能を有する HCV JFH-1 適応変異株の性状解析、第 60 回日本ウイルス学会学術集会、グランキューブ大阪、(2012, 11.13-15)

- 52) 松本喜弘、渡邊則幸、渡士幸一、鈴木亮介、鈴木哲朗、宮村達男、脇田隆宇、相崎英樹、グリチルリチンの C 型肝炎ウイルスに対する抗ウイルス作用の解析、第 60 回日本ウイルス学会学術集会、グランキューブ大阪、(2012, 11.13-15)
- 53) 渡邊則幸、伊達朋子、Hussein Hassan、相崎英樹、脇田隆宇、異なる細胞を用いて作製した E2 タンパク質の中和抗体誘導効果、第 60 回日本ウイルス学会学術集会、グランキューブ大阪、(2012, 11.13-15)
- 54) 伊藤昌彦、鈴木亮介、福原崇介、松浦善治、脇田隆宇、鈴木哲朗、HuH-7 由来オーバル様細胞における HCV 感受性の解析、第 60 回日本ウイルス学会学術集会、グランキューブ大阪、(2012, 11.13-15)
- 55) 下池貴志、野島清子、脇田隆宇、岡田義昭、血液製剤における C 型肝炎ウイルスの不活化の検討、第 60 回日本ウイルス学会学術集会、グランキューブ大阪、(2012, 11.13-15)
- 56) 津川 陽司、土方 誠：ヒト肝細胞における抗ウイルス自然免疫応答機構の解析、第 8 回広島肝臓プロジェクト研究センターシンポジウム、広島、平成 24 年 7 月 6 日
- 57) 土方 誠：C 型肝炎ウイルス培養系開発過程で最近わかったこと、国立感染症研究所肝炎セミナー、国立感染症研究所、東京平成 24 年年 10 月 31 日
- 58) 津川陽司、加藤博己、藤田尚志、下遠野邦忠、土方誠：ヒト肝細胞における抗ウイルス自然免疫応答機構の解析、第 60 回日本ウイルス学会学術集会、大阪 2012 年 11 月 13-15 日
- 59) 有海康雄、黒木美沙緒、井上万里子、土方誠、池田正徳、脇田隆宇、下遠野邦忠、加藤宣之：P-body 因子と HCV のクロストーク、第 60 回日本ウイルス学会学術集会、大阪 2012 年 11 月 13-15 日
- 60) Yoji Tsugawa, Hiroki Kato, Takashi Fujita, Kunitada Shimotohno, Makoto Hijikata: Constitutively produced Interferon $\alpha 1$ functions in prevention of viral infection in human hepatocytes、第 35 回日本分子生物学会年会、福岡 2012 年 12 月 11~14 日
- 61) 西宏威、河上國洋、平田有佳理、山下篤哉、池田正徳、加藤宣之、岡本徹、松浦善治、楠木正己、森石恆司 新規宿主因子 FKBP6 による HCV 複製制

- 御機構の解析 第60回日本ウイルス学会学術集会、2012年11月13日～15日
- 62) 藤本雄介、山下篤哉、池田正徳、加藤宣之、森石恆司 海綿動物 *Amphimedon* sp. 抽出画分による HCVNS3 プロテアーゼ・ヘリカーゼ活性阻害の解析 第60回日本ウイルス学会学術集会、2012年11月13日～15日
- 63) 山下篤哉、沈暉、葛西宏威、藤本雄介、森石恆司 Caffeic acid phenethyl ester とその類縁化合物による HCV ゲノム複製阻害効果の検討 第60回日本ウイルス学会学術集会、2012年11月13日～15日
- 64) 武田 緑、池田 正徳、有海 康雄、脇田 隆字、加藤 宣之 Li23 細胞を用いた新しい JFH-1 株 HCV 感染レポーターアッセイ系の開発と感受性を規定する因子の検討 第16回日本肝臓学会大会、神戸、2012年10月。
- 65) 池田 正徳、是永 匡紹、武田 緑、有海 康雄、日野 啓輔、加藤 宣之 IL28B SNPs の制限酵素法による判定法と比較 第16回日本肝臓学会大会、神戸、2012年10月
- 66) 武田 緑、池田 正徳、有海 康雄、脇田 隆字、加藤 宣之 2 種類の肝細胞株(HuH-7 と Li23)を用いた JFH-1 株 HCV 感染レポーターアッセイシステムの開発と感染効率を規定する宿主因子の検討 第60回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2012年11月
- 67) 池田 正徳、是永 匡紹、武田 緑、有海 康雄、日野 啓輔、加藤 宣之 新規 IL28B SNP(rs8113007) の HCV に対する IFN 応答性の検討 第60回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2012年11月
- 68) 武田緑、池田正徳、有海康雄、脇田隆字、加藤宣之 異なる2種類のヒト肝癌細胞株を用いた HCV 感染レポーターアッセイ系の開発と HCV 感染への感受性を規定する因子の検討 第35回日本分子生物学会年会、福岡、2012年12月
- 69) 池田正徳、武田緑、是永匡紹、有海康雄、日野啓輔、加藤宣之 IL28B SNP rs8113007 による C 型慢性肝炎患者の治療効果予測 第35回日本分子生物学会年会、福岡、2012年12月
- 70) 上田 優輝、森 京子、池田 正徳、加藤 宣之 抗マラリア薬として開発中の化合物に見出された強力な抗 HCV 活性 第48回日本肝臓学会総会、石川、2012年6月
- 71) 瀬島 寛恵、森 京子、有海 康雄、池田 正徳、加藤 宣之 C 型肝炎ウイルスのゲノム複製が長期間に及ぶことで発現レベルに変動を来した宿主遺伝子の同定 第48回日本肝臓学会総会、石川、2012年6月
- 72) 瀬島 寛恵、森 京子、有海 康雄、池田 正徳、加藤 宣之 3年半にわたるC型肝炎ウイルスのゲノム複製によって発現が不可逆的に変動した宿主遺伝子の同定 第27回中国四国ウイルス研究会、鳥取、2012年6月
- 73) 瀬島 寛恵、森 京子、有海 康雄、池田 正徳、加藤 宣之 3年半にわたるC型肝炎ウイルスのゲノム複製によって発現が変動した9個の宿主遺伝子の同定 第71回日本癌学会学術総会、札幌、2012年9月
- 74) 瀬島 寛恵、森 京子、有海 康雄、池田 正徳、加藤 宣之 長期にわたる C 型肝炎ウイルスのゲノム複製によって発現レベルに変動を来した宿主遺伝子の同定 第60回日本ウイルス学会学術総会、大阪、2012年11月
- 75) 上田 優輝、森 京子、團迫 浩方、金 恵淑、綿矢 有佑、池田 正徳、加藤 宣之 強力な抗 HCV 活性が見出された抗マラリア薬として開発中の化合物 第27回中国四国ウイルス研究会、鳥取、2012年6月
- 76) 上田 優輝、森 京子、團迫 浩方、金 恵淑、綿矢 有佑、池田 正徳、加藤 宣之 抗マラリア薬として開発中の化合物に見出された強力な抗 HCV 活性 第71回日本癌学会学術総会、札幌、2012年9月
- 77) 上田 優輝、森 京子、團迫 浩方、金 恵淑、綿矢 有佑、池田 正徳、加藤 宣之 酸化ストレスを介して強い抗 HCV 活性を示す抗マラリア薬として開発中の化合物 第60回日本ウイルス学会学術総会、大阪、2012年11月
- 78) 武部 豊、田中靖人、溝上雅史³ Jayna Raghvani⁴, Richard Molenkamp⁵, Oliver G. Pybus HCV 組換え型流行株 (CRF01_2k/1b) の起源とその進化. 第60回日本ウイルス学会 (Nov. 13-15, 2012, 大阪).

79) Masatoshi Hagiwara, "New chemical therapeutics of congenital genetic disorders targeting pre-mRNA."

文部科学省最先端基盤事業「化合物ライブラリーを活用した創薬等先端研究・教育基盤の整備」国際シンポジウム. 2012.6 月京都

80) 村山麻子、三代俊治、脇田隆字、加藤孝宣. C型肝炎ウイルス産生効率の良いHuH-7細胞サブクローンの同定と解析. 第19回肝細胞研究会、2012年6月、札幌.

81) 藤田めぐみ、脇田隆字、加藤孝宣. HCV genotype 1b株キメラウイルスを用いたHCV core領域アミノ酸70/91変異株の解析. ワークショップ18:C型肝炎ウイルスの制御を目指した基礎戦略 第48回日本肝臓学会総会、2012年6月、金沢.

82) 村山麻子、加藤孝宣、杉山奈央、脇田隆字. C型肝炎ウイルス遺伝子型2b株とJFH-1株のキメラウイルスを用いた抗ウイルス薬評価系の樹立. 第60回日本ウイルス学会学術集会、2012年11月、大阪.

83) 村山麻子、杉山奈央、岡本有加、政木隆博、脇田隆字、加藤孝宣. NS5A領域置換HCVキメラ株を用いたNS5A阻害剤の株特異的抗ウイルス活性の評価. 第35回日本分子生物学会年会、2012年12月、福岡

84) 新海登、田中靖人、松浦健太郎、溝上雅史. B型慢性肝炎患者における核酸アナログ中止症例の検討～中止後長期観察例、プレコア/コアプロモーター変異をふまえて～. 第48回日本肝臓学会総会. 平成24年6月、石川.

85) 田中靖人. ウイルス性肝炎・肝硬変における検査の進歩. 日本臨床検査自動化学会第44回大会. 平成24年10月、横浜.

柏木有美、可児里美、都築祐二、松浦健太郎、五藤孝秋、大橋実、脇本幸夫、田中靖人. リアルタイムPCR法を用いたAbbott m2000 systemによるHBV-DNA定量測定の基礎的検討. 第59回日本臨床検査医学会学術集会. 平成24年11月、京都.

86) Takayama K., Inamura M., Kawabata K., Sugawara M., Kikuchi K., Higuchi M., Nagamoto Y., Watanabe H., Tashiro K., Sakurai F., Furue MK., Mizuguchi H., Generation of metabolically functioning hepatocytes

from human embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells by transduction of FOXA2 and HNF1 α , International Society for Stem Cell Research 10th Annual Meeting、神奈川、2012年6月

87) Nagamoto Y., Tashiro K., Takayama K., Ohashi K., Kawabata K., Tachibana M., Sakurai F., Furue MK., Mizuguchi H., Type I collagen promotes hepatic maturation from human pluripotent stem cells in 3D co-culture with Swiss 3T3 cell sheet. International Society for Stem Cell Research 10th Annual Meeting、神奈川、2012年6月

88) 高山和雄、稲村 充、川端健二、形山和史、櫻井文教、古江一楠田美保、水口裕之、SOX17、HEX、HNF4 α 遺伝子導入によるヒト多能性幹細胞から成熟肝細胞の効率良い分化誘導、第85回大会日本組織培養学会、京都、2012年5月

89) 長基康人、田代克久、高山和雄、大橋一夫、櫻井文教、立花雅史、古江(楠田)美保、川端健二、水口裕之、Swiss 3T3細胞との積層3次元共培養下におけるヒトES/iPS細胞由来肝細胞の肝細胞成熟化・促進機構の解析、第85回大会日本組織培養学会、京都、2012年5月

90) 高山和雄、川端健二、稲村 充、櫻井文教、古江一楠田美保、水口裕之、c/EBP α およびc/EBP β 遺伝子によるTGFBR2遺伝子発現制御を介した肝幹前駆細胞の運命決定、第19回大会肝細胞研究会、北海道、2012年6月

91) 長基康人、田代克久、高山和雄、大橋一夫、岡野光夫、櫻井文教、立花雅史、古江一楠田美保、川端健二、水口裕之、ヒトES/iPS細胞由来肝細胞のSwiss 3T3細胞との積層3次元共培養下における成熟化・促進機構の解析、第19回肝細胞研究会、北海道、2012年6月

92) 高山和雄、稲村 充、川端健二、菅原道子、菊池きよ美、櫻井文教、古江一楠田美保、水口裕之、FOXA2およびHNF1 α 遺伝子導入によるヒトES/iPS細胞から薬剤代謝能を有した肝細胞への分化誘導、第39回日本毒性学会学術年会、宮城、2012年7月

93) 渡辺仁、高山和雄、稲村充、立花雅史、櫻井文教、古江一楠田美保、川端健二、水口裕之、ヒトES/iPS

細胞から肝幹前駆細胞への分化における転写因子 HEX の機能解明、第 62 回日本薬学会近畿支部総会・大会、兵庫、2012 年 10 月

94) Takayama K., Inamura M., Kawabata K., Sugawara M., Kikuchi K., Tashiro K., Sakurai F., Furue MK., Mizuguchi H., Generation of mature hepatocytes from human pluripotent stem cells by FOXA2 and HNF1 α transduction、第 27 回日本薬物動態学会年会、千葉、2012 年 11 月

95) 渡辺仁、高山和雄、稲村充、立花雅史、櫻井文教、川端健二、水口裕之、ヒト ES/iPS 細胞由来内胚葉から肝幹前駆細胞への分化過程における転写因子 HEX の機能解明、第 35 回日本分子生物学会年会、福岡、2012 年 12 月 11-14 日

96) 高山和雄、川端健二、田代克久、神田勝弘、櫻井文教、古江一楠田美保、水口裕之、Nanopillar プレートを用いたヒト ES/iPS 細胞から肝細胞への分化誘導法の開発とその毒性評価への応用、第 12 回日本再生医療学会総会、神奈川、2013 年 3 月

97) 渡辺仁、高山和雄、稲村充、立花雅史、櫻井文教、川端健二、水口裕之、転写因子 HEX によるヒト ES/iPS 細胞由来内胚葉から肝幹前駆細胞への分化機構の解明、第 12 回日本再生医療学会総会、神奈川、2013 年 3 月

G.知的所有権の出願・登録状況

特許出願

1. プロスタグランジン12のアゴニストを含む、C型肝炎ウイルスの感染抑制剤、発明者 土方 誠、阿部雄一、脇田隆字、出願日2010年9月30日、出願番号 特願2010-222045

2. 名称：幹細胞から肝細胞への分化誘導方法
出願番号：特願 2010-154225、出願日：2010/7/6
基礎出願：特願 2009-247342 (2009/10/28)、
特願 2010-121282 (2010/05/27)

出願人：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団
発明者：水口裕之、川端健二、稲村充、古江美保。

3. 上皮性体性肝細胞の製造方法、発明者 土方 誠、アリ ハサン フセイン、山口達哉、出願日 2011 年

3月25日、出願番号 特願2011-67112

4. 型肝炎ウイルスの感染抑制剤、発明者 土方 誠、阿部雄一、脇田隆字、茶山一彰、出願日2011年9月30日、出願番号 PCT/JP2011/072682

5. 出願番号：特願 2011-194082

発明の名称：C型肝炎ウイルスの増殖を抑制する医薬組成物

発明者：坂本直哉、渡辺守、北詰晶子、萩原正敏、奥野友紀子

特許出願人：東京医科歯科大学

提出日：平成23年9月6日

6. 出願番号：特願 2011-194082

発明の名称：C型肝炎ウイルスの増殖を抑制する医薬組成物

発明者：坂本直哉、渡辺守、北詰晶子、萩原正敏、奥野友紀子

特許出願人：東京医科歯科大学

提出日：平成23年9月6日

7. 発明の名称：抗ウイルス組成物

①発明者：萩原正敏、奥野友紀子、細谷孝充、小野木博、吉田優

②日本出願日：2012年3月15日(特願 2012-58340)

③出願人：国立大学法人京都大学、国立大学法人東京医科歯科大学、株式会社キノファーマ

④発明の内容の概略：宿主細胞の蛋白質リン酸化酵素を阻害し抗ウイルス活性を示す新規化合物に関する特許

8. 発明の名称：スクリーニング方法、タンパク質の不安定性及び/又は安定性を誘導する物質、及び、タンパク質の活性評価

①発明者：萩原正敏、喜井勲、細谷孝充、隅田有人、吉田優

②日本出願日：2012年6月6日(特願 2012-129094)

③出願人：国立大学法人京都大学、国立大学法人東京医科歯科大学

II. 分担研究報告

肝炎ウイルス感染複製増殖過程の解明と新規治療法開発の総括

研究代表者 国立感染症研究所・ウイルス第二部 部長 脇田 隆宇

分担研究課題：肝炎ウイルス感染複製増殖過程の解明と新規治療法開発の総括

研究要旨 肝炎ウイルス感染症は我が国における最も重要な疾患のひとつであり、その対策については社会的要請もあり、迅速に進める必要がある。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。一方HBV感染では、ラミブジンなど核酸アナログ剤による抗ウイルス療法の導入により治療法が大きく変化した。核酸アナログ剤の長期投与によりHBVキャリアの肝癌発生率は低下する。しかし、長期間にわたる治療が必要であり、HBV排除は容易に達成できない。さらに薬剤耐性ウイルスの出現およびそのコントロールが問題である。また、人獣共通感染症としてのE型肝炎ウイルス（HEV）感染症が問題となってきた。特に老人における感染の中には重症化・劇症化する場合がある。これらの肝炎ウイルスに関する問題点を解決するためには、新たな治療薬の開発が必要である。そのために肝炎ウイルスの感染複製増殖過程の解明に寄与する研究を遂行する。

A. 研究目的

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、未だに不十分であり、新たな抗ウイルス薬の開発による治療効果の改善が望まれている。HBV感染では、核酸アナログ剤の長期投与によりHBVキャリアの肝癌発生率は低下するが、薬剤耐性ウイルスの出現およびそのコントロールが問題である。また、HEV感染では、老人の感染が重症化・劇症化する場合がある。これらの肝炎ウイルスに関する問題点を解決するためには、新たな治療薬の開発が必要である。

本研究では肝炎ウイルス培養系や増殖系を用いて、ウイルス感染増殖過程の解明による新規治療標的の探索と新規肝炎治療法の開発を目的とする。HCVにはウイルス培養系が開発され、ウイルスライフサイクルの各過程を標的とすることができる。このウイルス培養系を利用してHCVの感染増殖複製過程を詳細に解析し、関与する宿主因子を同定して、新たな治療標的を同定する。さらに、HCV感染レセプターが明らかとなり、レセプター導入トランスジ

ェニックマウスによる新規感染動物モデルを開発し、治療薬開発に役立てる。HBVは感染レセプターの同定を含めて、HBVの新たな感染実験系の開発を実施する。さらに、HBV、HCVともにハイスループット実験系を構築して低分子化合物ライブラリーによる抗ウイルス薬のスクリーニングを進め、同定した化合物の作用機序、標的の解析を進める。HEVも最近ウイルス培養系が確立された。このHEVのウイルス培養系を用いた抗ウイルス薬の開発を進める。また、ヒトiPS細胞の肝細胞分化誘導法が開発され、従来不可能とされていた薬物代謝酵素活性を有する肝細胞分化誘導条件を確立されつつある。この技術により、肝炎ウイルス感染増殖が成立する肝細胞分化誘導状態を特定し、関与する宿主因子を網羅的に解析する。

分担研究としてはHBV、HCV、HEVのウイルス増殖機構の解析、抗ウイルス活性を有する化合物の同定などを進めるとともに、研究班に参加する研究分担者の研究をまとめ、研究者間の共同研究を推進する。

B. 研究方法

1. HBV増殖細胞の解析

抗ウイルス薬スクリーニングに適したHBVゲノムが増殖する細胞を探索した。Hep2215細胞、HepAD38細胞、HepaRG細胞などを入手しウイルス増殖を解析した。

2. HCVのE2タンパク質に結合する環状ペプチドによる感染阻害

S2細胞で発現させた精製E2タンパク質を東京大学の菅研究室に提供し、結合する環状ペプチドを探索した。その環状ペプチドを用いてHCVの感染阻害活性をシュードタイプ粒子および感染性HCVの実験系で解析した。

3. 遺伝子型3のHCVレプリコンの樹立と解析

肝移植後HCV再感染症例の血清からウイルス遺伝子を分離し、S310株と命名した。S310サブジェノミックレプリコンを構築してRNAを合成し、Huh7細胞に導入し、G418による薬剤選択培養をおこない、コロニー形成を確認した。レプリコン細胞をクローニングして、複製するレプリコンRNAのコピー数を定量した。さらにレプリコンゲノム配列を決定し、変異の有無を確認した。レプリコン細胞で発現するHCVタンパク質を免疫染色およびウエスタンブロット法により解析した。変異をS310サブジェノミックレプリコン構築に挿入して、コロニー形成能およびルシフェラーゼレポーターレプリコンにおける一過性複製能を検討した。S310レプリコン複製に対する抗HCV薬の感受性を検討した。

4. 遺伝子型2aの新規HCVレプリコンおよび感染性クローンの樹立と解析

心臓手術後に劇症肝炎を発症した症例の血清からウイルス遺伝子を分離し、JFH-2株と命名した。JFH-2サブジェノミックレプリコン構築からRNAを合成し、Huh7細胞に導入し、G418による薬剤選択培養し、コロニー形成を確認した。レプリコンゲノム配列を決定し、変異の有無を確認した。最も複製効率増強効果の高かった適合変異(2217AS)を全長遺伝子に組み換えた。全長のウイルスRNAを合成してHuh7.5.1細胞に導入して、細胞の経代を約4ヶ月間継続した。

(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. HBV増殖細胞の解析

HBVは培養細胞による感染実験系が存在しない。このためHBVのウイルスゲノムをタンデムに結合したプラスミドを培養細胞に導入することにより、ウイルスゲノム複製とウイルス粒子産生を観察できる。Hep2215細胞はHBVプラスミドが組み込まれ安定的にウイルス増殖が見られるが、入手した細胞ではウイルス産生能は低かった。そこで米国のDr. SeegerよりHepAD38細胞を入手し検討した。HepAD38細胞ではHBV遺伝子がテトラサイクリンで発現制御可能なプロモーターで転写され、テトラサイクリン非存在下でHBV複製増殖が誘導される。また、HepaRG細胞ではHBVの感染が可能と報告されているが、感染効率は低いためウイルス感染増殖を解析するには感染効率を向上させる必要がある。

2. HCVのE2タンパク質に結合する環状ペプチドによる感染阻害

HCVのE2タンパク質をハエ由来のS2細胞で発現させ、Hisタグによるアフィニティ精製およびゲル濾過により精製した。単量体のE2タンパク質を数ミリグラム得ることができた。精製E2タンパク質はHCVシュードタイプ粒子および感染性HCVのHuh7細胞への感染を容量依存的に阻害した。従ってこの精製E2蛋白はHCVの細胞表面のレセプター結合を競合的に阻害できると考えられた。こ

の精製E2蛋白に特異的に結合する環状ペプチドを東大・菅研究室でスクリーニングしてもらい、4種類のペプチド(D2, D4, L1, L7)を提供された。このなかで、L1およびL7のペプチドは感染性HCVのHuh7細胞への感染を容量依存的に阻害した。

3. 遺伝子型3のHCVレプリコンの樹立と解析

肝移植後に遺伝子型3aのHCV再感染した症例の血清からウイルス遺伝子(S310株)を分離した。S310サブジェノミックレプリコンは1cfu/ug RNA以下と低いながらコロニー形成能を認めた。レプリコン細胞内では 10^7 ~ 10^8 copy/ug total RNAのレプリコンゲノムが複製した。さらに免疫染色法およびウエスタンブロット法により、レプリコン細胞で特異的に発現するHCVタンパク質を検出した。細胞内で増殖するレプリコンゲノムの配列を解析すると、NS3遺伝子に1箇所(T1286I)、NS5A遺伝子に2箇所(T2188A, R2198H)、NS5B遺伝子に2箇所のアミノ酸変異を伴う変異(T2496I, R2895G, R2895K)を見いだした。T1286Iは7箇所のレプリコン細胞で共通して同定された。これらの変異と遺伝子型1のレプリコンでS2204Iとして見いだされた適合変異を、遺伝子型3aでは配列の関係でS2210Iとして野生型S310サブジェノミックレプリコン構築に挿入してコロニー形成能を解析した。その結果、S2210I, T1286I, T2188A, R2198H, R2895G, R2895Kはそれぞれコロニー形成を100~10000倍程度増強した。S310レプリコンの複製はインターフェロンおよび核酸型NS5B阻害剤でJFH-1と同様に抑制された。しかし、非核酸型NS5B阻害剤にはS310はJFH-1よりも強く抑制され、プロテアーゼ阻害剤では逆に抑制が弱かった。

4. 遺伝子型2aの新規HCVレプリコンおよび感染性クローンの樹立と解析

劇症肝炎症例の血清からウイルス遺伝子(JFH-2)を分離した。JFH-2サブジェノミックレプリコン細胞内では 10^7 ~ 10^8 copy/ug total RNAのレプリコンゲノムが複製していた。レプリコンゲノム配列の解析により、NS3遺伝子に4箇所(1109EG, 1547FL, 1614CW, 1651TN)、NS5A遺伝子に5箇所(2195AT, 2217AS, 2222HQ, 2280QR, 2373GS)、NS5B遺伝子に

1箇所のアミノ酸変異を伴う変異(2519KN)を見いだした。この中で2217AS変異のみがコロニー形成を6,000倍程度増強した。そこで、2217AS変異をJ6株の構造領域を有する全長遺伝子に導入した。この構築から全長ウイルスRNAを合成してHuh7.5.1細胞に導入し、細胞を4ヶ月間経代培養した。培養液中のコアタンパク質を継続して測定したところ、トランスフェクション直後は200~300fmol/Lに上昇したものの徐々に低下した。しかし、30日以上経代培養を継続するとコアタンパク質濃度は徐々に上昇し、2ヶ月から4ヶ月にかけて、2,000~5,000fmol/Lまで上昇した。培養液中の感染力価は最終的に4,000~13,000ffu/mlまで上昇した。培養上清を繰り返し感染後ウイルスゲノムの塩基配列を決定したところ、独立した2つの実験で2217AS以外に7カ所および9カ所の変異を同定した。そこでこれらの変異を全長ウイルス遺伝子に組み換えた構築を作成し、合成ウイルスRNAを作成してHuh7.5.1細胞にトランスフェクションすると直ちに培養液中にコアタンパク質および感染力価の上昇を認めた。従って、2217AS以外に7カ所および9カ所の変異は適合変異であると考えられた。

D. 考察

HCVにはウイルス培養系が開発され、ウイルスライフサイクルの各過程を標的とすることができる。このウイルス培養系を利用してHCVの感染増殖複製過程を詳細に解析し、関与する宿主因子を同定して、新たな治療標的を同定する。HBVの場合、ウイルスゲノム導入による複製増殖系は確立しているものの、ウイルス感染が可能な培養細胞系が存在しないため、ウイルスライフサイクルの解析は限定的である。そこで、HBVの新たな感染実験系の開発も実施する。さらに、HBV、HCVともにハイスループット実験系を構築して低分子化合物ライブラリーによる抗ウイルス薬のスクリーニングを進めたい。同定した化合物についてはその作用機序、標的の解析を進める。

初年度はHBV増殖系の評価を行った。HepAD38細胞によりウイルス増殖・ウイルス粒子産生を解析

できることが明らかとなったので、来年度は抗ウイルス薬のスクリーニング、作用標的の同定などを進めていく。

また、HCVのE 2タンパク質に結合する環状ペプチドを共同研究による入手し、その感染阻害活性を解析した。ペプチドおよびE 2タンパク質上の結合領域の同定などを進めていく。感染初期過程を阻害する抗ウイルス薬の開発が期待される。

二年度は世界に先駆けて遺伝子型 3a のレプリコン細胞の樹立に成功した。我が国および米国においては遺伝子型 1 および 2 型の感染が主体だが、アジア諸国、オセアニア、ヨーロッパにおいては遺伝子型 3 の感染は広く見られる。インターフェロンおよびリバビリンの治療に加えて、プロテアーゼ阻害剤が承認され、今後は HCV に対する特異的阻害剤の開発が進むと考えられる。しかし、本研究で明らかとなった様に、特異的阻害剤は遺伝子型によりその効果が異なる。従って、S310 サブジェノミックレプリコンは遺伝子型 3 に対する抗ウイルス薬開発に重要な研究ツールとなることが期待される。また、遺伝子型 3 の HCV 感染は脂肪肝との関連が報告されている。遺伝子型により病原性や複製増殖に必要な宿主因子の要求性などが異なる可能性がある。S310 サブジェノミックレプリコンや今後開発予定の全長ウイルス複製系などを用いて遺伝子型 3 の HCV の解析を進める。

最終年度は新たな感染性クローンの樹立をおこなった。現在 HCV のライフサイクル研究には遺伝子型 2a の JFH-1 株が広く用いられているが、その他に培養細胞で効率よく感染増殖可能なウイルス株は存在しない。今年度は JFH-1 とは別の劇症肝炎症例から新たに JFH-2 株を分離し、レプリコンの樹立を行い、さらに感染性クローンの樹立に成功した。JFH-1 株は適合変異なしに培養細胞で感染増殖が可能であったが、他の HCV 株ではレプリコンの段階で適合変異なしに増殖可能なものは他になく、さらに感染性クローンとして効率よく経代培養できるウイルス株は存在しない。この点から、今回樹立した JFH-2 株は野生型の配列では培養細胞での複製はみられないが、適合変異の導入により、まずレプリコンで複

製が可能となった。さらに、2217AS 変異を導入した全長遺伝子を用いることにより感染性ウイルスの作成にも成功した。2217AS 変異のみでは感染複製増殖は可能ではなく、新たな適合変異が 7 カ所あるいは 9 カ所同定された。これらのすべての変異が効率のよい感染複製増殖に必要なかどうかは不明であるため、今後さらに最低限必要な変異およびその機能的な意義についての解析を進める必要がある。

E. 結論

1. HepAD38 細胞により HBV のウイルス増殖・ウイルス粒子産生を解析できた。
2. HCV の E 2 タンパク質に結合する環状ペプチドの HCV 感染阻害活性を確認した。
3. 遺伝子型 3a の S310 株によるサブジェノミックレプリコンを樹立した。レプリコン細胞におけるウイルス遺伝子複製を確認し、薬剤感受性を検討した。
4. 遺伝子型 2a の JFH-2 株により新たなレプリコンおよび感染性クローンを樹立した。本実験系によりこれまで JFH-1 株のみで実施していた HCV のライフサイクル研究に新たな研究手法を加えることができ、その複製増殖機構の解析や創薬研究に有意義であると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1: 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.
- 2: von dem Bussche A, Machida R, Li K, Loevinsohn G, Khander A, Wang J, Wakita T, Wands JR, Li J. Hepatitis C virus NS2 protein triggers endoplasmic reticulum stress and suppresses its own viral replication. *J Hepatol.* 2010 53(5):797-804.
- 3: 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(2):361-9.
- 4: 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.
- 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(18):9118-27.
- 6: 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.
- 7: Shirasaki T, Honda M, Mizuno H, Shimakami T, Okada H, Sakai Y, Murakami S, Wakita T, Kaneko S. La protein required for internal ribosome entry site-directed translation is a potential therapeutic target for hepatitis C virus replication. *J Infect Dis*. 2010 202(1):75-85.
- 8: 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.
- 9: 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.
- 10: 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.
- 11: Masaki T, Suzuki R, Saeed M, Mori K, Matsuda M, Aizaki H, Ishii K, Maki N, Miyamura T, Matsuura Y, Wakita T, Suzuki T. Production of infectious hepatitis C virus by using RNA polymerase I-mediated transcription. *J Virol*. 2010 84(11):5824-35.
- 12: Weng L, Kohara M, Wakita T, Shimotohno K, Toyoda T. Detergent-induced activation of the hepatitis C virus genotype 1b RNA polymerase. *Gene*. 2012 496(2):79-87.
- 13: Murayama A, Kato T, Akazawa D, Sugiyama N, Date T, Masaki T, Nakamoto S, Tanaka Y, Mizokami M, Yokosuka O, Nomoto A, Wakita T. Production of Infectious Chimeric Hepatitis C Virus Genotype 2b Harboring Minimal Regions of JFH-1. *J Virol*. 2012 86(4):2143-52.
- 14: Salim MT, Aoyama H, Sugita K, Watashi K, Wakita T, Hamasaki T, Okamoto M, Urata Y, Hashimoto Y, Baba M. Potent and selective inhibition of hepatitis C virus replication by novel phenanthridinone derivatives. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011 415(4):714-9.
- 15: Sugiyama M, Tanaka Y, Wakita T, Nakanishi M, Mizokami M. Genetic Variation of the IL-28B Promoter Affecting Gene Expression. *PLoS One*. 2011;6(10):e26620.
- 16: Arnaud N, Dabo S, Akazawa D, Fukasawa M, Shinkai-Ouchi F, Hugon J, Wakita T, Meurs EF. Hepatitis C virus reveals a novel early control in acute immune response. *PLoS Pathog*. 2011 7(10):e1002289.
- 17: Saeed M, Suzuki R, Watanabe N, Masaki T, Tomonaga M, Muhammad A, Kato T, Matsuura Y, Watanabe H, Wakita T, Suzuki T. Role of the endoplasmic reticulum-associated degradation (ERAD) pathway in degradation of hepatitis C virus envelope proteins and production of virus particles. *J Biol Chem*. 2011 286(43):37264-73.
- 18: Okamoto Y, Masaki T, Murayama A, Munakata T, Nomoto A, Nakamoto S, Yokosuka O, Watanabe H, Wakita T, Kato T. Development of recombinant hepatitis C virus with NS5A from strains of genotypes 1 and 2. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011 410(3):404-9.

- 19: Yamamoto M, Aizaki H, Fukasawa M, Teraoka T, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T. Structural requirements of virion-associated cholesterol for infectivity, buoyant density and apolipoprotein association of hepatitis C virus. *J Gen Virol*. 2011 92(Pt 9):2082-7.
- 20: Akazawa D, Morikawa K, Omi N, Takahashi H, Nakamura N, Mochizuki H, Date T, Ishii K, Suzuki T, Wakita T. Production and characterization of HCV particles from serum-free culture. *Vaccine*. 2011 29(29-30):4821-8.
- 21: Saeed M, Shiina M, Date T, Akazawa D, Watanabe N, Murayama A, Suzuki T, Watanabe H, Hiraga N, Imamura M, Chayama K, Choi Y, Krawczynski K, Liang TJ, Wakita T, Kato T. In vivo adaptation of hepatitis C virus in chimpanzees for efficient virus production and evasion of apoptosis. *Hepatology*. 2011 54(2):425-33.
- 22: Honda M, Takehana K, Sakai A, Tagata Y, Shirasaki T, Nishitani S, Muramatsu T, Yamashita T, Nakamoto Y, Mizukoshi E, Sakai Y, Yamashita T, Nakamura M, Shimakami T, Yi M, Lemon SM, Suzuki T, Wakita T, Kaneko S; Hokuriku Liver Study Group. Malnutrition impairs interferon signaling through mTOR and FoxO pathways in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2011 141(1):128-40,140.e1-2.
- 23: Aly HH, Oshiumi H, Shime H, Matsumoto M, Wakita T, Shimotohno K, Seya T. Development of mouse hepatocyte lines permissive for hepatitis C virus (HCV). *PLoS One*. 2011;6(6):e21284.
- 24: Saeed M, Gondeau C, Hmwe S, Yokokawa H, Date T, Suzuki T, Kato T, Maurel P, Wakita T. Replication of Hepatitis C Virus Genotype 3a in Cultured Cells. *Gastroenterology*. 2013 144(1):56-58.
- 25: Date T, Kato T, Kato J, Takahashi H, Morikawa K, Akazawa D, Murayama A, Tanaka-Kaneko K, Sata T, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T. Novel Cell Culture-Adapted Genotype 2a Hepatitis C Virus Infectious Clone. *J Virol*. 2012 86(19):10805-20.
- 26: Suzuki R, Saito K, Kato T, Shirakura M, Akazawa D, Ishii K, Aizaki H, Kanegae Y, Matsuura Y, Saito I, Wakita T, Suzuki T. Trans-complemented hepatitis C virus particles as a versatile tool for study of virus assembly and infection. *Virology*. 2012 432(1):29-38.
- 27: Ando T, Imamura H, Suzuki R, Aizaki H, Watanabe T, Wakita T, Suzuki T. Visualization and measurement of ATP levels in living cells replicating hepatitis C virus genome RNA. *PLoS Pathog*. 2012;8(3):e1002561.
- 28: Date T, Morikawa K, Tanaka Y, Tanaka-Kaneko K, Sata T, Mizokami M, Wakita T. Replication and infectivity of a novel genotype 1b hepatitis C virus clone. *Microbiol Immunol*. 2012 56(5):308-17.
2. 学会発表および講演など
1. 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）
2. 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）
3. 脇田隆字, 「C型肝炎ウイルスの培養細胞でのウイルス複製と生体における持続感染機構」、京都大学ウイルス研究所 学術講演会、京都大学 京大会館 101号室（2010, 7.15）
4. 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、ソニックシティビル 6階602会議室（2010, 11.25）
5. 政木隆博、松永智子、高橋宏隆、加藤孝宣、宮村達男、遠藤弥重太、澤崎達也、脇田隆字、鈴木哲朗、HCVNS5A 蛋白のリン酸化に関する新規セリン/スレオニンキナーゼの探索、第46回日本肝臓学会総会、ホテルメトロポリタン山形、(2010, 5.27-28)、ワークショップ5 「C型肝炎ウイルスの感染・増殖メカニズムと臨床応用」
6. 有海康雄、黒木美沙緒、土方誠、Qi Yue、池田正徳、脇田隆字、下遠野邦忠、加藤宜之、ESCRT 小胞輸送系の HCV 産生への関与、日本ウイルス学会第58回学術集会、あわぎんホール(2010, 11.7-9)、シンポジウム6 ウイルス培養系を用いたC型肝炎ウイルスの性状と病原性の解明

7. 加藤孝宣、岡本有加、村山麻子、政木隆博、脇田隆宇、HCVの増殖適応変異とその意義、日本ウイルス学会第58回学術集会、あわぎんホール(2010, 11.7-9)、シンポジウム6 ウイルス培養系を用いたC型肝炎ウイルスの性状と病原性の解明
8. 相崎英樹、後藤耕司、松本喜弘、山本真民、佐藤慈子、高橋信弘、本島清人、深澤征義、花田賢太郎、松浦善治、宮村達男、脇田隆宇、鈴木哲朗、HCV粒子形成に關与する脂肪滴周辺膜蛋白の機能解析、第46回日本肝臓学会総会、ホテルメトロポリタン山形、(2010, 5.27-28)
9. 鈴木亮介、齋藤憲司、赤澤大輔、石井孝司、松浦善治、脇田隆宇、鈴木哲朗、C型肝炎ウイルスの*trans-packaging*型粒子を用いた感染機構の解析、日本ウイルス学会第58回学術集会、あわぎんホール(2010, 11.7-9)
10. 白砂圭崇、齊藤恭子、村上裕子、深澤秀輔、鈴木哲朗、脇田隆宇、花田賢太郎、千葉丈、深澤征義、感染・増殖能が上昇したC型肝炎ウイルス変異株の分離と性状解析、日本ウイルス学会第58回学術集会、あわぎんホール(2010, 11.7-9)
11. 阿部雄一、Aly Hassan Hussein、脇田隆宇、下遠野邦忠、土方誠、Exploration of a new signaling pathway related to infectious HCV production、日本ウイルス学会第58回学術集会、あわぎんホール(2010, 11.7-9)
12. 土方誠、阿部雄一、Aly Hassan Hussein、齊月、脇田隆宇、下遠野邦忠、臨床分離 HCV 株の培養と性状、日本ウイルス学会第58回学術集会、あわぎんホール(2010, 11.7-9)
13. 深澤秀輔、鈴木哲朗、脇田隆宇、村上裕子、C型肝炎ウイルス(HCV)に阻害作用を示す物質の探索、日本ウイルス学会第58回学術集会、あわぎんホール(2010, 11.7-9)
14. 渡士幸一、下遠野邦忠、Kuan-Teh Jeang、脇田隆宇、マイクロRNA経路のC型肝炎ウイルス複製における意義とその創薬標的としての役割、日本ウイルス学会第58回学術集会、あわぎんホール(2010, 11.7-9)
15. 江角真理子、石橋真理子、鶴田浩一、山口裕美、菊田幸子、榎原由子、脇田隆宇、C型肝炎ウイルス感染に対する自然防御について、日本ウイルス学会第58回学術集会、あわぎんホール(2010, 11.7-9)
16. 渡邊則幸、村山麻子、Mohsan Saeed、伊達朋子、加藤孝宣、相崎英樹、脇田隆宇、HCVエンベロープタンパク質に付加されるN型糖鎖の機能解析、日本ウイルス学会第58回学術集会、あわぎんホール(2010, 11.7-9)
17. 脇田隆宇、「新型シーケンサで展開するウイルスゲノム研究」、ランチョンセミナー、第34回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜(2011, 12.14)
18. 相崎英樹、鈴木哲朗、脇田隆宇、HCV感染に伴う宿主細胞の脂質代謝の変化と代謝産物のメタボロミクス解析、第47回日本肝臓学会総会、ホテルグランパシフィック、(2011, 6.2-3)、シンポジウム1「ウイルス肝炎・肝癌制圧の分子基盤」
19. 加藤孝宣、政木隆博、脇田隆宇、HCV JFH-1キメラ株を用いたNS5a阻害剤の株特異的抗ウイルス活性の評価、第15回日本肝臓学会大会、福岡国際会議場、(2011, 10.20-21)、シンポジウム1「C型肝炎治療の新たな展開」
20. 加藤孝宣、椎名正明、脇田隆宇、HCV JFH-1株のチンパンジー感染実験で得られた適応変異株の機能解析、第15回日本肝臓学会大会、福岡国際会議場、(2011, 10.20-21)、パネルディスカッション4「肝疾患動物モデルと translational research」
21. 武田緑、池田正徳、有海康雄、脇田隆宇、加藤宜之、2種類のヒト肝細胞株を用いたHCV感染レポーターアッセイ系の開発、第47回日本肝臓学会総会、ホテルグランパシフィック、(2011, 6.2-3)、
22. 相崎英樹、多田有希、松本喜弘、後藤耕司、渡士幸一、鈴木亮介、田中純子、鈴木哲朗、岡部信彦、脇田隆宇、1999年から2009年における日本のC型急性肝炎の発生状況、第47回日本肝臓学会総会、ホテルグランパシフィック、(2011, 6.2-3)
23. 加藤孝宣、村山麻子、政木隆博、相崎英樹、脇田隆宇、国内献血検体を用いたC型肝炎ウイルス陽性血漿パネルの作製とウイルス量測定法の評価、第47回日本肝臓学会総会、ホテルグランパシフィック、(2011, 6.2-3)
24. 藤田めぐみ、脇田隆宇、加藤孝宣、HCV

- genotype1b 株キメラウイルスを後板 HCV core 領域 70/91 変異株の解析、第 48 回日本肝臓学会総会、ホテル日航金沢、(2012, 6.7-8)、ワークショップ 18「C 型肝炎ウイルスの制御を目指した基礎戦略」
25. 石田雄二、柳愛美、吉美康美、山崎ちひろ、横道博、渡士幸一、脇田隆字、茶山一彰、立野知世。ヒト肝細胞キメラマウス由来の初代培養ヒト肝細胞への HBV 感染、第 48 回日本肝臓学会総会、ホテル日航金沢、(2012, 6.7-8)
26. 坂田幸太郎、原詳子、鈴木哲朗、渡邊則幸、相崎英樹、高谷大輔、松本武久、脇田隆字、小嶋聡一。C 型肝炎ウイルス NS3 プロテアーゼによる TGF- β I 型受容体を介した TGF- β シグナルの活性化、第 48 回日本肝臓学会総会、ホテル日航金沢、(2012, 6.7-8)
27. 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学術集会、パシフィコ横浜、(2012, 11.17-18)
28. 渡士幸一、内田奈々、大東卓史、史与原知子、鈴木亮介、相崎英樹、脇田隆字、IL1 および TNF- α の B 型肝炎ウイルス感染阻害活性、第 60 回日本ウイルス学会学術集会、グランキューブ大阪、(2012, 11.13-15)
29. 松田麻未、鈴木亮介、渡士幸一、相崎英樹、松浦善治、鈴木哲朗、脇田隆字、1 回感染性 *trans*-packaging 型 C 型肝炎ウイルス粒子を用いたエンドサイトーシス経路の解析、第 60 回日本ウイルス学会学術集会、グランキューブ大阪、(2012, 11.13-15)
30. 阿部雄一、アリ・ハッサン・フセイン、今村道雄、脇田隆字、下遠野邦忠、茶山一彰、土方誠、C 型肝炎ウイルス(HCV)の感染性粒子形成において重要な宿主因子、トロンボキサン A2(TXA2)合成酵素の同定と機能解析、第 60 回日本ウイルス学会学術集会、グランキューブ大阪、(2012, 11.13-15)
31. 白砂圭崇、齊藤恭子、村上裕子、深澤秀輔、鈴木哲朗、脇田隆字、花田賢太郎、千葉丈、安部良、深澤征義、高感染能を有する HCV JFH-1 適応変異株の性状解析、第 60 回日本ウイルス学会学術集会、グランキューブ大阪、(2012, 11.13-15)
32. 松本喜弘、渡邊則幸、渡士幸一、鈴木亮介、鈴木哲朗、宮村達男、脇田隆字、相崎英樹、グリチルリチンの C 型肝炎ウイルスに対する抗ウイルス作用の解析、第 60 回日本ウイルス学会学術集会、グランキューブ大阪、(2012, 11.13-15)
33. 渡邊則幸、伊達朋子、Hussein Hassan、相崎英樹、脇田隆字、異なる細胞を用いて作製した E2 タンパク質の中和抗体誘導効果、第 60 回日本ウイルス学会学術集会、グランキューブ大阪、(2012, 11.13-15)
34. 伊藤昌彦、鈴木亮介、福原崇介、松浦善治、脇田隆字、鈴木哲朗、HuH-7 由来オーバル様細胞における HCV 感受性の解析、第 60 回日本ウイルス学会学術集会、グランキューブ大阪、(2012, 11.13-15)
35. 下池貴志、野島清子、脇田隆字、岡田義昭、血液製剤における C 型肝炎ウイルスの不活化の検討、第 60 回日本ウイルス学会学術集会、グランキューブ大阪、(2012, 11.13-15)
36. T Wakita. HCV replication and persistent infection, Cold Spring Harbor Asia Conference on Emerging Infectious Diseases: Emerging Viruses and the Control of Viruses, Cold Spring Harbor Asia Conference, October 18 - 22, 2010, Suzhou Dushu Lake Conference Center, Suzhou, China
37. T Wakita. HCV replication in vitro, The 7th Single Topic Conference: Hepatitis C Virus, Asia Pacific Association of the Study of the Liver (APASL), Makuhari Messe, Chiba, Japan (2010 Dec 17-18)
38. R Suzuki, D Akazawa, K Ishii, Y Matsuura, T Wakita, T Suzuki, Efficient production of *trans*-complemented hepatitis C virus particles: Use for study of viral entry process, 17th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan (2010, Sep. 10-14)
39. T Masaki, S Matsunaga, H Takahashi, T Kato, Y Endo, T Sawasaki, T Wakita, T Suzuki, Identification of hepatitis C virus NS5A-associated protein kinases, 17th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan (2010, Sep. 10-14)
40. N Watanabe, A Murayama, M Saeed, T Date, T Kato, T Wakita, Analysis of envelope N-glycans required for HCV lifecycle, 17th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Pacifico Yokohama, Yokohama,

Japan (2010, Sep. 10-14)

41. H Yokokawa, D Akazawa, M Moriyama, N Nakamura, H Mochizuki, T Suzuki, T Kato, K Ishii, T Wakita, Development of a Purification Method of Highly Purified HCV Virion for Industrial Production, 17th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan (2010, Sep. 10-14)

42. M Moriyama, H Yokokawa, D Akazawa, K Nishimura, N Nakamura, H Mochizuki, T Suzuki, T Kato, K Ishii, T Wakita, The exploration of effective adjuvant for HCV vaccine to induce neutralizing immunoglobulin in mice, 17th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan (2010, Sep. 10-14)

43. K Watashi, K Shimotohno, K-T Jeang, T Wakita, Inhibition of HCV replication by a small molecule that suppresses microRNA pathway, 17th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan (2010, Sep. 10-14)

44. M Saeed, T Kato, M Shiina, M Imamura, K Chayama, Y Choi, K Krawczynski, T. J Liang, T Wakita, Hepatitis C Virus JFH-1 Strain That Adapted In Vivo Acquired Abilities for Efficient Virus Production and Anti-apoptosis, 17th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan (2010, Sep. 10-14)

45. T Kanda, R Tamura, F Imazeki, S Nakamoto, S Wu, T Roger, T Wakita, H Shirasawa, O Yokosuka, HEPATITIS C VIRUS NS5A ATTENUATES LPS-INDUCED APOPTOSIS BY DOWNREGULATION OF TOLL-LIKE RECEPTOR 4 SIGNALING PATHWAY, 17th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan (2010, Sep. 10-14)

46. Y OKAMOTO, T MASAKI, A MURAYAMA, T KATO, H WATANABE, T Wakita, Affects of NS5a replacement in HCV JFH-1 genome on viral replication and infectious particle production in cell culture, 17th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan (2010, Sep. 10-14)

47. T Wakita. Hepatitis C Virus Infection and Replication, annual meeting of Prof. Juei-Low Sung's Research Foundation, Taipei, Taiwan (2011, 8. 6)

48. T Wakita. HCV RNA replication and drug development. The 8th APASL Single Topic Conference Beijing, China (2011, 10. 7)

49. T Wakita. Hepatitis C virus replication in vitro and persistent infection in vivo: mechanistic analysis and antiviral development, Singapore-Japan Forum on Emerging Concepts in Microbiology, National University of Singapore, Singapore (2011 Nov 15-16)

50. T Wakita. Hepatitis C virus replication in vitro and persistent infection in vivo: mechanistic analysis and antiviral development, Challenges to overcome Emerging Infectious Diseases in South-eastern Asia, Siran Kaikan, Kyoto University. Kyoto (2012 Jan 13)

51. T Wakita. Hepatitis C virus replication models and anti-viral development, The 1st International Symposium on Latent TGF-beta Activation Reaction, RIKEN Kobe Inst, Ctr. For Devel Biol, Auditorium, Kobe (2012 Feb 25)

52. Takebe, Y., Uenishi, R., Tani. H., Suzuki, R., Hase, S., Akazawa, D., Takagi, M., Tsuchiura, T., Nagasawa, K., Suzuki, T., Irie, K., Shinya, K., Wakita, T., Matsuura, Y., Patel, A., Small molecules that elicit anti-HCV activity through down-modulation of HCV entry receptors, 18th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Seattle Sheraton Hotel, Seattle, USA (2011, Sep. 8-12)

53. N Watanabe, K Futai, H Suga, T Wakita, E2 binding peptide identified by RAPID system inhibited HCV infection, 18th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Seattle Sheraton Hotel, Seattle, USA (2011, Sep. 8-12)

54. K Goto, T Kimura, K Watashi, R Suzuki, S Yamagoe, T Miyamura, K Moriya, H Yotsuyanagi, K Koike, T Suzuki, T Wakita, H Aizaki, Identification of novel NS5A-associated proteins in

- the host-cell membrane fraction and their role in HCV life cycle, 18th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Seattle Sheraton Hotel, Seattle, USA (2011, Sep. 8-12)
55. R Suzuki, T Suzuki, K Saito, M Matsuda, K Watashi, Y Matsuura, T Wakita, H Aizaki, Identification and characterization of signal peptidase complex 1 that interacts with hepatitis C virus NS2 protein and is involved in the viral assembly, 18th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Seattle Sheraton Hotel, Seattle, USA (2011, Sep. 8-12)
56. J Law, D Hockman, S Frey, R Khoshy, T Wakita, J Bukh, C Rice, M Houghton, Does a vaccine derived from a single HCV strain elicit broadly cross-neutralising antibodies in humans?, 18th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Seattle Sheraton Hotel, Seattle, USA (2011, Sep. 8-12)
57. Y Okamoto, T Masaki, A Murayama, T Wakita, T Kato, Development of chimeric hepatitis C virus expressing NS5A from strains of genotypes 1 and 2: virus production and susceptibility to NS5A inhibitor, 18th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Seattle Sheraton Hotel, Seattle, USA (2011, Sep. 8-12)
58. M Fukasawa, Y Shirasago, K Saito, Y Murakami, H Fukazawa, T Suzuki, R Suzuki, T Wakita, K Hanada, J Chiba, Isolation of a highly infectious hepatitis C virus with adaptive mutations, 18th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Seattle Sheraton Hotel, Seattle, USA (2011, Sep. 8-12)
59. H Yokokawa, D Akazawa, M Moriyama, N Nakamura, T Kato, K Ishii, T Wakita, Development of purification method for HCV particles using chromatographic technique, 18th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Seattle Sheraton Hotel, Seattle, USA (2011, Sep. 8-12)
60. M Esumi, S Kikuta, H Yamaguchi, S Nakajima, M Ishibashi, T Wakita, Serum and trypsin inhibitors inhibit the early step of hepatitis C virus infection, 18th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Seattle Sheraton Hotel, Seattle, USA (2011, Sep. 8-12)
61. M Moriyama, D Akazawa, H Yokokawa, K Nishimura, N Nakamura, H Mochizuki, T Kato, K Ishii, T Wakita, Immunological memory response to induce neutralizing immunoglobulin in HCV particles-immunized mice, 18th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Seattle Sheraton Hotel, Seattle, USA (2011, Sep. 8-12)
62. K Watashi, N Uchida, R Suzuki, H Aizaki, T Wakita, Identification of small molecules affecting late steps of hepatitis C virus life cycle, 18th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Seattle Sheraton Hotel, Seattle, USA (2011, Sep. 8-12)
63. N Uchida, K Watashi, R Suzuki, H Aizaki, J Chiba, T Wakita, Halopemide inhibited a post-assembly step in hepatitis C virus life cycle, 18th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Seattle Sheraton Hotel, Seattle, USA (2011, Sep. 8-12)
64. N Watanabe, A Murayama, M Saeed, T Date, T Kato, H Aizaki, T Wakita, Identification and analysis of envelope N-glycans required for HCV lifecycle, XV International Congress of Virology. Sapporo Convention Center, Sapporo, Japan (2011, Sep. 11-16)
65. Y Okamoto, T Masaki, A Murayama, A Nomoto, T Wakita, T Kato, Strain Specific Susceptibility to The Hepatitis C Virus NS5A Inhibitor, XV International Congress of Virology. Sapporo Convention Center, Sapporo, Japan (2011, Sep. 11-16)
66. R Suzuki, K Saito, M Matsuda, K Watashi, Y Matsuura, T Wakita, T Suzuki, H Aizaki, Identification of a host factor that interacts with hepatitis C virus NS2