

った。各クローンで共通してみられる変化部位に注目して整理したところ、非レプリコン自立細胞に比べてメチル化が亢進しているプローブが15,790、低下しているプローブが1,855 検出された。その個所を遺伝子座との関連でプロットすると、遺伝子をコードする上流、下流、遺伝子開始部位などいずれの領域でもメチル化の違いが検出された。また、メチル化亢進している遺伝子の中には肝臓がんでも共通してみられるプローブも含まれていた。

2) BASP1 と CPB2 遺伝子の発現レベルとエピジェネティック解析(加藤)

OL8(OY)細胞や3.5年間培養したOL(3.5Y)細胞に脱メチル化剤である5-azacytidine (5-azaC)(2.5 mM)やヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害剤である4-phenylbutyric acid (4-PBA)(1 mM)を添加して、48時間後にそれぞれの細胞からTotal RNAを調製した。これらのRNA中のBASP1とCPB2のmRNAの発現レベルを定量的RT-PCR法により調べた。その結果、BASP1のmRNAレベルは、培養開始半年後すでに1/16程度に低下し、その後も時間とともに徐々に低下していくことが分かった。従って、HCV RNAの複製増殖による影響が加算的に生じていることが分かった。このような発現低下の経時的パターンとは異なり、CPB2のmRNAレベルは、培養開始半年後においては、ほとんど低下していないにも関わらず、半年～1年後の間に急激に低下し、その後の低下はないという発現レベルの変動パターンが得られた。従って、CPB2遺伝子の発現においては、HCV RNAの複製増殖が特定の時期にのみ大きく影響を与えた結果ではないかと推測された。このような発現低下はそれぞれの遺伝子promoter領域におけるメチル化や脱アセチル化による可能性が考えられる。この可能性を調べるために、OL8(3.5Y)細胞に脱メチル化剤である5-azaCを添加し、添加後48時間における両遺伝子の発現レベルの変化を定量的RT-PCR法により調べた。これと並行して、HDAC阻害剤である4-PBAでも処理し、その効果も同様に調べた。また、5-azaCと4-PBAを併用した効果についても同様に調べた。その結果、BASP1遺伝子の発現レベルは5-azaCで処理した場合のみ、4倍程度上昇して部分的に回復することが分かった。対照として用いたOL(OY)細胞

においては、5-azaCによる発現レベルの上昇は認められなかった。4-PBA添加による発現上昇は2倍程度認められたものの、OL8(OY)やOL8(3.5Y)細胞で共に認められたので、OL8(3.5Y)細胞における発現低下を説明できるものではなかった。

また、5-azaCや4-PBAを併用した場合でも5-azaCの効果のみが観察されたので、4-PBAの効果はほとんどないと判断した。

CPB2遺伝子の発現レベルも5-azaCの添加により4倍程度上昇して部分的に回復することが分かった。対照として用いたOL(OY)細胞においては、5-azaC添加により発現レベルは逆に若干低下する傾向が認められた。4-PBA添加による発現上昇は認められず、OL8(OY)細胞では発現低下傾向にあった。また、5-azaCや4-PBAを併用した場合でも5-azaCの効果のみが観察されたので、4-PBAの効果はほとんどないと判断した。従って、今回の解析では、両遺伝子のpromoter領域のメチル化が発現レベルの低下に関わっていることが示唆された。

D. 考察

C型肝炎ウイルス感染による慢性肝炎、肝硬変、肝がんの発症機構を理解し、予防および治療に役立つ方策を見いだす必要がある。これらの疾患への対処のひとつには、原因となるウイルスを完全に排除することである。そのためにHCV複製を制御する宿主要因を明らかにし、HCVの複製を人為的に制御する方法を見出すことは疾患発症の予防につながる。また、HCV感染による肝疾患の発症には、ウイルスによる宿主細胞の遺伝子発現変化や情報伝達の変化が主要因と考えられる。ウイルス側からみれば感染宿主細胞で効率よく複製する事が重要であり、そのために宿主内の環境をウイルスが複製しやすいように変化させると考えられる。したがって、HCVの感染増殖を制御している新たな宿主要因を探索して明らかにし、そのウイルス複製に及ぼす機能を抑制することによる抗HCV対策を講じる事、HCV感染がどのようにして宿主の遺伝子発現を変化させるのかその分子基盤を明らかにする必要があると考えた。その中にはウイルス蛋白質が直接細胞の遺伝子発現を制御する機構と、細胞がウイルスを外来的な刺激のひと

つであると認識し、エピジェネティック変化を惹起する可能性が考えられる。さらには、HCV 感染によく見られる脂肪代謝異常や糖尿病など、宿主側に特徴的にみられる変化をもたらす要因を明らかにして、それらの病気発症に対処して病態の進展を抑制するという方策も重要であると考えた。さらに、HCV 治療薬に対する応答の違いが、宿主の何に起因しているかを明らかにする事により治療前の診断予測が可能になる可能性があるため、そのような観点からの解析も行った。

このような観点から、得られた研究成果をもとに以下に考察する。

HCV 増殖を制御する宿主因子

HCV 複製を制御する宿主因子として Hsp90、Hsp70、DDX3、DDX6、EWS 等を明らかにした。この HCV 複製における働きの一部を解明し、宿主因子である Hsp90 および Hsp70 は HCV 複製を正に制御する必須因子であることから、HCV の複製を Hsp90 および Hsp70 阻害剤で人為的に制御することにより、治療効果の向上を目指した抗 HCV の創薬開発につながると期待できる。DDX3、DDX6 は自然免疫に関与する RIG-I 経路で働き、RIG-I と複合体を形成し、RIG-I と HCV の RNA との結合を促進する働きをすることを解明した。また、Riplet と名付けた新規ユビキチンライゲスを発見した。解析の結果、この Riplet 分子は細胞質のウイルス認識センサーである RIG-I 分子の活性化に必須であることを発見した。また HCV の蛋白質はこの Riplet 分子を切断することで、宿主の自然免疫応答を回避することを見いだした。このことにより、自然免疫機構を制御して抗 HCV 作用に導く可能性が生まれた。また、RIG-I のアダプター分子である IPS-1 分子が、III 型インターフェロン産生に非常に重要な働きをすることを見だし、III 型インターフェロンの発現制御についても新たな知見を得た。

代謝変化を伴う遺伝子機能制御

HCV 感染細胞では細胞環境にも変化を与えることを見いだした。外からの刺激により、細胞内では mRNA の運命付けを担うと考えられる P-body が出現する。HCV レプリコン複製細胞では P-body が観察されるようになるが、HCV 感染複製細胞では APOBEC3G 及び MOV10 の P-body 局在は見られなくなり、脂肪滴周辺にリクルート

され、HCV Core と共局在するようになった。APOBEC3G 及び MOV10 は HCV Core タンパク質と結合することが判明した。ウイルス複製におけるこれらの変化の意義は現在のところ不明であるが、今後解析を深めて、ウイルス増殖あるいは疾患との関連を明らかにしたい。

HCV 感染による疾患の中で、代謝異常、糖尿病が知られているが、HCV 粒子がリポ蛋白質構成成分のひとつである ApoE と会合する事が、ウイルスの感染性の獲得に重要である事を明らかにした。また、HCV に会合しているリポ蛋白質の性状により感染性が異なる事も明らかにした。ApoE には 4 種類のアイソフォームが知られているが、そのうちのひとつ、ApoE2 を持つ個体から産生される HCV は感染性が極めて低いことを予想させる成果も得た。これらの結果は、リポ蛋白質構成成分の遺伝的変異とウイルス感染性の関連を注意深く解析する重要性を示す。また、糖新生が HCV により制御される事を、糖新生に働く重要な因子 FoxO1 の解析から明らかになった。

すなわち、HCV 感染細胞では、非感染対照細胞に比べて、転写因子 FoxO1 のリン酸化が抑制され、核内に蓄積する結果、FoxO1 の活性が維持されて新糖合成が活性化するというものである。詳細な解析から、HCV 感染はミトコンドリア ROS 産生の亢進による酸化ストレスを介して JNK を活性化し、これが FoxO1 のリン酸化を抑制して核内蓄積を維持してその転写活性を亢進させ、糖新生律速酵素 PEPCK と G6Pase の遺伝子転写促進を介して糖新生を亢進させると考えられた。また、FoxO1 のリン酸化を制御する因子である MKP3 を HCV 感染は上げて、その結果 FoxO1 リン酸化が低下することもわかった。HCV 感染細胞における MKP3 発現の亢進は、抗酸化剤 NAC や JNK 阻害剤で解除されることが明らかになった。すなわち、HCV 感染による ROS 産生の亢進や JNK 活性化に伴って MKP3 発現が亢進することが示唆されるので、これらの変化を人為的に制御することによる糖新生制御が可能になる、と期待される。なお、FoxO1 制御に働く因子は HCV NS5A である事も明らかにした。

ウイルス蛋白質が宿主因子に直接作用してその機能を変化させる事はよく知られているが、本研究において、HCV コア蛋白質が

EWS と会合する事を見いだした。EWS は HNF4 の機能を制御することが知られているので、コアによる新たな宿主因子の制御機構を通じた抗 HCV に向けた研究が期待される。

マイクロ RNA と HCV 感染病態

インターフェロン投与による効果判定が事前に予測できれば、患者だけでなく医療行政にも大きなメリットがある。SVR(著効例)と NR(無効例)の間に統計的に有意な発現差をもったマイクロ RNA を調べて 8 種類を同定した。その中で、hsa-miR-27b は hect domain and RLD 5(HERC5)を標的にしている事が明らかになった。ペグインターフェロン+リバビリン併用療法効果に応じた遺伝子発現をマイクロ RNA とインターフェロン関連遺伝子別に同定する事ができ、またこの中でインターフェロン関連遺伝子を制御するマイクロ RNA を同定した事で、インターフェロンやマイクロ RNA による抗ウイルスメカニズムを明らかにする可能性を示した。

HCV レプリコン治癒実験によりインターフェロン耐性株に有効なマイクロ RNA を同定した。これらのマイクロ RNA は塩基配列上 HCV を認識する事、マイクロ RNA の機能を抑制した場合過剰発現したときと逆の効果が得られる事より、直接ウイルス複製を抑制すると考えられる。

慢性 C 型肝炎と正常肝の間で血中の miRNA の発現を比較すると、慢性 C 型肝炎にて発現の低下している、または発現が検出できない miRNA が存在したが、逆に正常肝で発現が低下、または発現が検出できない miRNA は存在しなかった、このことより血中に HCV RNA が存在すると miRNA の発現、または細胞から血中への miRNA の移行が低下することが示唆された。また血中の HCV RNA は Ago2 や VLDL などの RNA 結合媒体と存在しているか、エクソソームなどの粒子に含まれていることが明らかになり、そこに特定の miRNA が共存している可能性が示された。エクソソームは HIV の持続感染に関与したり、免疫担当細胞の miRNA 発現プロファイルに影響を与えることが知られている。HCV 感染についてもウイルスの感染、細胞間の感染の拡大、持続感染に深く関与している可能性がある。

HCV 持続感染により変化する宿主遺伝子

HCV 持続感染による宿主遺伝子発現変化を

詳しく調べて、発現レベルが不可逆的に亢進した 5 遺伝子と低下した 4 遺伝子を同定した。

発現レベルが不可逆的に亢進したと考えられる遺伝子として同定した 5 種類について、HCV 複製と関連するという報告は現在までないが、肝がんと関連という面において、血管構造の安定化と血管新生の相反する機能を制御する ANGPT1(Angiopoietin 1)が肝がんで発現上昇しているという報告がある。しかし、その分子機序については不明である。それ以外については、肝がんと関連報告はないが、Wnt1 誘導性の CCN ファミリー分子(CCN6)である WISP3 は大腸がんで発現上昇が報告されている。しかしながら、乳がんでは発現低下しているという報告もあり、がんとの関係はよく分かっていない。発現レベルが不可逆的に低下したと考えられる遺伝子として同定した 4 種類についても、HCV 複製と直接関係するという報告はない。しかし、*BASP1* と *ANXA1* については、がん抑制遺伝子候補として報告されており、*BASP1* については、DNA メチル化による発現低下が肝がんで明らかになっており、早期肝がんの臨床マーカーになると提唱されている。線維素溶解を阻害する機能を有する CPB2 には最近、C5a や osteopontin などの炎症メディエーターを切断して抗炎症作用を示すことが報告された。CPB2 は主に肝臓で発現されているので、肝炎に対してもこのような抗炎症機能を示す可能性がある。また、HCV-RNA の持続的複製により発現が亢進する *SEL1L3* の発現レベルと肝の線維化ステージとの相関関係を明らかにした。今後は、この遺伝子の発現亢進がどのような分子機序により起こるのかを解析する必要がある。また、この遺伝子の機能はあまりよく分かっていないので、過剰発現させた場合に細胞にどのような影響が生じるのかについても解析する必要がある。

また、HCV 発現細胞で誘導される宿主因子に対するモノクローナル抗体を作成して、それを用いて誘導された宿主因子と HCV 増殖及び細胞増殖との関係を調べた。Ku70 は Ku80, DNA-PKcs と複合体を形成し、ゲノム DNA の損傷を修復する。本研究結果から、正常肝臓細胞に近い WRL 細胞では、HCV コア蛋白質が Ku70 を分解し、DNA 修復に必要な DNA-PK 活性を低下させる事が明らかとなった。この事により、HCV のコア蛋白

質は正常肝臓細胞では遺伝子損傷の修復活性を抑制する事を通じ癌の発生などを誘導しやすくしている可能性が考えられた。また、癌部、非癌部における Ku70 の分解機構が異なる可能性もあり、今後の検討が必要である。

DHCR24 はコレステロール合成酵素の 1 つであるが、HCV 複製においても役割を果たす事が明らかとなった。DHCR24 は HMG-CoA からコレステロールを合成する経路のうち、これまで報告された lovastatin の標的であるゲラニル化反応よりも下流のステロール中間体の $\Delta 24$ 結合の還元に作用し、ゲラニル化には影響を与えない。従ってこれまでの報告にはない新規の標的と考えられる (PNAS2005)。また、U18666A という阻害剤も抗ウイルス活性を示した事から、新たな抗 HCV 薬候補である可能性が考えられる。

DHCR24 に対する単クローン抗体 2-152a は HCV 複製抑制作用を持ち、これに BGT-1 が関与している可能性が考えられた。BGT-1 を介したウイルス複製抑制機序の詳細は明らかではないが、BGT-1 は細胞の浸透圧制御に関与している事から、この経路が関連している可能性がある。また、BGT-1 が DHCR24 と直接相互作用している可能性もあり、予備的な知見では、DHCR24 の siRNA 処理により BGT-1 の発現が変化する。また、コレステロール合成経路への作用がウイルス複製に影響を与えている可能性もあるため、BGT-1 との関連を今後検討する必要がある。

HCV ゲノム配列および宿主遺伝子を変化させる要因

C 型慢性肝炎患者には配列が少しずつ異なるウイルスゲノムが多数存在し、それらが病態進展や抗ウイルス治療に違いを与えていると示唆される。HCV-RNA の長期複製による HCV の遺伝的変動解析を行い、 $3.5\sim 4.8 \times 10^{-3}$ /塩基置換/ヌクレオチド/年より少し高い値を得た。変異様式としても U から C と A から G が最も高頻度であった。

さまざまな遺伝子編集酵素ファミリー分子が、HCV のコードするウイルスタンパクの直接作用、ならびに HCV 感染を契機とする炎症反応やインターフェロン産生に応答する形で肝細胞に発現誘導されることが明らかとなった。in vitro での HCV 感染系を用いた検討から、これらの遺伝子編集酵素の

中でも RNA 配列に対して塩基変化を誘導する作用をもつ分子の発現下においては、HCV のウイルスゲノム配列に遺伝子変異が誘導されることがわかった。次世代シーケンサーを用いた HCV ゲノムの deep sequencing 解析からは、従来の Sanger sequence 法では同定できなかった、C 型慢性肝炎症例への抗ウイルス治療と深く関連したウイルス変異クローンの全体像が明らかとなってきた。これらのウイルスゲノム変異には、ウイルス自身の複製エラーにより生じたものと、宿主遺伝子編集酵素により誘導されたものが混在しているものと推定され、宿主により誘導されたウイルスゲノム変異が病態形成や治療に対してどのように寄与しているかを特定することが、HCV に対する新しい抗ウイルス戦略の構築につながるものと期待された。

エピジェネティック変化 (特に DNA メチル化)

ウイルス増殖亢進には直接関係ないと思われる宿主因子の変化も多岐にわたることから、ウイルス蛋白質自身による宿主遺伝子変化だけでなく、ウイルスの感染自身が宿主の遺伝子発現を制御している可能性が考えられた。その場合、宿主は HCV を認識してエピジェネティック変化を引き起こしている可能性が考えられた。そこで、ウイルス感染によるエピジェネティック変化の中でメチル化に焦点を絞り解析を進めた。その結果、予想以上にメチル化度合いの変化が観察された。その中には肝がん組織でみられる部位の変化も観察された。これらのことは、ウイルスタンパク質が直接に宿主標的因子を制御する以外にも、種々の手段で宿主に変化を与えている可能性が示唆され、このような変化が肝疾患の増悪にも関係している可能性が考えられた。

E. 結論

平成 22 ~ 24 年の 3 年間、以下の内容で研究を推進した。

- (1) ウイルス複製を制御する宿主要因を明らかにして、感染阻止に向けた研究に役立てる。
- (2) HCV 感染による宿主の代謝変化やその他細胞の性質を変える要因の分子基盤を明らかにする。
- (3) 感染細胞が増殖能を獲得する分子基盤を明らかにする。
- (4) HCV 感染増殖を抑制する宿主の自然免疫機構を解析する。
- (5) ウイルスによる宿主の情報

制御の機構解析などを行う。(6) 感染者体内のゲノム配列の多様性の蓄積機構と、その意義を解析する。(7) 感染による宿主の情報伝達変化の分子基盤を明らかにする。

ウイルス複製を制御する因子として新規因子も含めて数種類明らかにした。その一部についてはウイルス複製のどの点に作用するかを明らかにした。また、HCV の性状を解析して、ウイルス粒子がリポ蛋白質成分と会合している事を生化学的に明らかにした。特に ApoE の粒子への会合はウイルスに感染性を賦与することが明らかになった。リポ蛋白質が細胞に取り込まれる際に、LDLR, SR-BI, VLDLR などが受容体として働く。HCV 感染時にもこれらの分子の存在が必要である。これまでに、SR-BI, LDLR が HCV の細胞表面への吸着に重要であるとされているが、本研究ではこれらの蛋白質が単独にウイルス感染に寄与するのではなく、複数の受容体がともに必要である可能性を示し、感染阻止を標的にした抗ウイルス剤に向けて新たな知見になると期待される。また、ApoE のアイソフォームの違いがウイルス感染性を制御する事も明らかにした。HCV 感染細胞における代謝変化の原因のひとつを明らかにした。特に HCV 感染による糖尿病と関連すると思われる糖新生の制御に関わる転写因子が HCV NS5A により活性化される事を見いだした。この活性化には ROS 産生、MKP3 発現亢進等が関与しており、感染に由来する糖新生予防に向けた研究に資すると期待される。HCV の持続感染による宿主遺伝子発現変化を、感染細胞を長期間培養して解析した。その結果恒常的に発現が亢進する遺伝子および低下する遺伝子を同定した。これらの遺伝子の発現と HCV 複製との間には直接的な関係は見いだされなかったが、がん化との関連で注目すべき遺伝子が存在した。長期に亘る HCV 複製が、どのような機構でこれらの遺伝子の発現を制御するのか興味が持たれると同時に、発現が変化したこれらの遺伝子が真に HCV 感染細胞のがん化、あるいはがん化の維持に寄与しているか等について、今後の研究が必要である。さらに、長期的に HCV 遺伝子を発現する細胞において、HCV の複製を亢進するばかりではなく、同時に細胞を積極的にがん化に向けると考えられる遺伝子の活性化が起こる事も見

だしており、HCV 感染による発がんは単一の機構によらないと考えられる成果を得た。miRNA の発現も持続感染により変化する事を明らかにした。さらに、肝疾患の違いによる miRNA の変化も見いだした。miRNA は予防や治療の標的分子になると考えられるので、miRNA を制御する事による感染予防あるいは疾患予防に向けた研究が期待される。

HCV 感染は宿主細胞を多岐にわたる方法で変化させている事を明らかにした。ひとつには、複数の遺伝子編集酵素の活性化である。これらは DNA, RNA をともに標的にする。これらの因子の一部の発現亢進は、ウイルス感染によりもたらされる転写因子の活性化によるものもある。RNA 編集酵素の中には HCV ゲノムの配列を多様化するように働くものも存在する事が分かり、感染個体における HCV ゲノム配列の多様性の獲得の一部を説明できると考えられる。このような多様性の獲得には病態変化あるいは治療抵抗性の獲得等と深い関連性があると考えられる。HCV 感染による宿主の情報伝達制御が DNA のメチル化変化による事も明らかになった。感染細胞を長期に培養する事により発現が変化する遺伝子の多くは、このようなエピジェネティック変化による事もできる。

宿主が持つ自然免疫機構による抗 HCV 作用を解析して新たな宿主因子を見いだした。ウイルスの持続感染機構を防止する方向に向けて今後の研究の進展が期待される。

以上、本研究では HCV による宿主変化の分子基盤を明らかにして、それを基にした疾患の発症予防法を見いだす事を目的として研究を進めたが、ウイルス感染が多岐にわたる変化を細胞に与える事、および HCV 感染疾患を的確に評価するモデル系が不足していたために、短期間のうちに疾患予防に結びつける成果を得るまでには至らなかった。しかし、これまでの知見を発展させてさらに研究を推進する事により、目的に近づくと期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Shimizu YK, Hijikata M, Oshima M, Shimizu K, Alter HJ, Purcell RH, Yoshikura H, Hotta H. Isolation of human monoclonal antibodies to the envelope E2 protein of hepatitis C virus and their characterization. *PLoS ONE*, 8(2):e55874, 2013.
2. Kuroki M, Ariumi Y, Hijikata M, Ikeda M, Dansako H, Wakita T, Shimotohno K, Kato N. PML tumor suppressor protein is required for HCV production. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 430:592-597, 2013.
3. Nakagawa S, Hirata Y, Kameyama T, Tokunaga Y, Nishito Y, Yano J, Ochiya T, Tateno C, Mizokami M, Tsukiyama-Kohara K, Inoue K, Yoshiba M, Takaoka A, Kohara M. Targeted induction of interferon-1 in humanized chimeric mouse liver abrogates hepatotropic virus infection. *PLoS ONE*, 8: e59611 2013.
4. Salem NE, Saito M, Kasama Y, Ozawa M, Kawabata T, Harada S, Suda H, Asonuma K, El-Gohary A, Tsukiyama-Kohara K. Genomic polymorphisms in 3 β -hydroxysterol Δ 24-reductase promoter sequences. *Microbiol Immunol*, 57: 179-184, 2013
5. Toyoda H, Kumada T, Kiriya T, Tanigawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada Y, and Murakami Y. Higher Hepatic Gene Expression and Serum Levels of Matrix Metalloproteinase-2 are Associated with Steatohepatitis in Non-alcoholic Fatty Liver Diseases. *Biomarkers*.2013;18:82-87, 2013.
6. Kuroki M, Ariumi Y, Hijikata M, Ikeda M, Dansako H, Wakita T, Shimotohno K, Kato N. PML tumor suppressor protein is required for HCV production. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 430:592-597, 2013.
7. Sejima H, Mori K, Ariumi Y, Ikeda M, Kato N. Identification of host genes showing differential expression profiles with cell-based long-term replication of hepatitis C virus RNA. *Virus Res.* 167:74-85, 2012.
8. Takeda M, Ikeda M, Ariumi Y, Wakita T, Kato N. Development of hepatitis C virus production reporter-assay systems using two different hepatoma cell lines. *J. Gen. Virol.* 93:1422-1431, 2012.
9. Osugi K, Suzuki H, Nomura T, Ariumi Y, Shibata H, Maki M. Identification of the P-body component PATL1 as a novel ALG-2-interacting protein by in silico and far-Western screening of proline-rich proteins. *J. Biochem.* 151:657-666, 2012.
10. Mori K, Ueda Y, Ariumi Y, Dansako H, Ikeda M, Kato N. Development of a drug assay system with hepatitis C virus genome derived from a patient with acute hepatitis C. *Virus Genes* 44:374-381, 2012.
11. El-Shamy A, Shindo M, Shoji I, Deng L, Okuno T, Hotta H. Polymorphisms of the core, NS3 and NS5A proteins of hepatitis C virus genotype 1b associate with development of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2012, (in press)
12. Utsumi T, Yano Y, Lusida MI, Nasronudin, Amin M, Juniastuti, Soetjipto, Hotta H, Hayashi Y. Detection of highly prevalent hepatitis B virus co-infection with HIV in Indonesia. *Hepatol Res*, 2012 (in press)
13. Matsui C, Shoji I, Kaneda S, Sianipar IR, Deng L, Hotta H. Hepatitis C virus infection suppresses GLUT2 gene expression via down-regulation of hepatocyte nuclear factor 1 α . *J Virol*, 86(23): 12903-12911, 2012.
14. Shoji I, Deng L, Hotta H. Molecular mechanism of hepatitis C virus-induced glucose metabolic disorders. *Front Microbiol*, 2: A278, 1-5, 2012.

15. Kamada K, Shoji I, Deng L, Aoki C, Ratnoglik SL, Wakita T, Hotta H. Generation of a recombinant reporter hepatitis C virus useful for the analyses of virus entry, intra-cellular replication and virion production. *Microbes Infect*, 14(1): 69-78. 2012.
16. Sasayama M, Shoji I, Adianti M, Jiang D-P, Deng L, Saito T, Watanabe H, Kawata S, Aoki C, Hotta H. A point mutation at ASN-534 that disrupts a conserved N-glycosylation motif of the E2 glycoprotein of hepatitis c virus markedly enhances the sensitivity to antibody neutralization. *J Med Virol*, 84(2): 229-234, 2012.
17. El-Shamy A, Kim SR, Ide YH, Sasase N, Imoto S, Deng L, Shoji I, Hotta H. Polymorphisms of hepatitis C virus NS5A and core proteins and clinical outcome of pegylated Interferon/Ribavirin combination therapy. *Intervirology*, 55(1): 1-11, 2012.
18. El-Shamy A, Shoji I, El-Akel W, Bilasy SE, Deng L, El-Raziky M, Jiang DP, Esmat G, Hotta H. NS5A sequence heterogeneity of hepatitis C virus genotype 4a predicts clinical outcome of pegylated-interferon/ribavirin therapy in Egyptian patients. *J Clin Microbiol*, 50(12): 3886-3892, 2012.
19. El-Shamy A, Shoji I, Kim SR, Ide Y, Imoto S, Deng L, Yoon S, Fujisawa T, Tani S, Yano Y, Seo Y, Azuma T, Hotta H. Sequence heterogeneity in NS5A of hepatitis C virus genotypes 2a and 2b and clinical outcome of pegylated –interferon/ribavirin therapy. *PLoS ONE*, 7(2): e30513, 2012.
20. Yano Y, Seo Y, Miki A, Saito M, Kato H, Hamano K, Oya M, Ouchi S, Fujisawa T, Yamada H, Yamashita Y, Tani S, Hirohata S, Yoon S, Kitajima N, Kitagaki K, Kawara A, Nakashima T, Yu H, Maeda T, Azuma T, El-Shamy A, Hotta H, Hayashi Y. Mutations in non-structural 5A and rapid viral response to pegylated interferon- α -2b plus ribavirin therapy are associated with therapeutic efficacy in patients with genotype 1b chronic hepatitis C. *Int J Mol Med*, 30(5): 1048-1052, 2012.
21. Kim SR, El-Shamy A, Imoto S, Kim KI, Ide YH, Deng L, Shoji I, Tanaka Y, Hasegawa Y, Ota M, Hotta H. Prediction of response to pegylated interferon/ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C genotype 1b and high viral load. *J Gastroenterol*, 47(10): 1143-51, 2012.
22. Nakashima K, Takeuchi K, Chihara K, Horiguchi T, Sun X, Deng L, Shoji I, Hotta H, Sada K. HCV NS5A protein containing potential ligands for both Src homology 2 and 3 domains enhances autophosphorylation of Src family kinase Fyn in B cells. *PLoS ONE*, 7(10): e46634, 2012.
23. Weng L, Tian X, Gao Y, Watashi K, Shimotohno K, Wakita T, Kohara M, Toyoda T. Different mechanisms of hepatitis C virus RNA polymerase activation by cyclophilin A and B in vitro. *Biochim Biophys Acta*. 1820(12):1886-1892, 2012
24. Hirata Y, Ikeda K, Sudoh M, Tokunaga Y, Suzuki A, Weng L, Ohta M, Tobita Y, Okano Ozeki K, Kawasaki K, Tsukuda T, Katsume A, Aoki Y, Umehara T, Sekiguchi S, Toyoda T, Shimotohno K, Soga T, Nishijima M, Taguchi R, Kohara M. Self-enhancement of hepatitis C virus replication by promotion of specific sphingolipid biosynthesis. *PLoS Pathog*. 8(8):e1002860, 2012
25. Aly HH, Shimotohno K, Hijikata M, Seya T. In vitro models for analysis of the hepatitis C virus life cycle. *Microbiol Immunol*. 56(1):1-9. 2012
26. Ujino S, Nishitsuji H, Sugiyama R, Suzuki H, Hishiki T, Sugiyama K, Shimotohno K, Takaku H. The

- interaction between human initiation factor eIF3 subunit c and heat-shock protein 90: a necessary factor for translation mediated by the hepatitis C virus internal ribosome entry site. *Virus Res.* 163(1):390-395, 2012
27. Ujino S, Nishitsuji H, Sugiyama R, Suzuki H, Hishiki T, Sugiyama K, Shimotohno K, Takaku H. The interaction between human initiation factor eIF3 subunit c and heat-shock protein 90: A necessary factor for translation mediated by the hepatitis C virus internal ribosome entry site. *Virus Res.* 163:390-395. 2012.
 28. Noguchi K, Ishibashi K, Miyokawa K, Hokari M, Kanno T, Hirano T, Yamamoto N, Takaku H. HIV-1 suppressive sequences are modulated by Rev transport of unspliced RNA and are required for efficient HIV-1 production. *PLoS One*, 7:e51393, 2012.
 29. Takeshita S, Ichikawa T, Taura N, Miyaaki H, Matsuzaki T, Otani M, Muraoka T, Akiyama M, Miura S, Ozawa E, Ikeda M, Kato N, Isomoto H, Takeshima F, Nakao K. Geranylgeranylacetone has anti-hepatitis C virus activity via activation of mTOR in human hepatoma cells. *J. Gastroenterol.*, 47:195-201, 2012.
 30. Mori K, Ueda Y, Ariumi Y, Dansako H, Ikeda M, Kato N. Development of a drug assay system with hepatitis C virus genome derived from a patient with acute hepatitis C. *Virus Genes*, 44:374-383, 2012
 31. Sejima H, Mori K, Ariumi Y, Ikeda M, Kato N. Identification of host genes showing differential expression profiles with cell-based long-term replication of hepatitis C virus RNA. *Virus Res.* 167:74-85, 2012.
 32. Takeda M, Ikeda M, Ariumi Y, Wakita T, Kato N. Development of hepatitis C virus production reporter assay systems using two different hepatoma cell lines. *J. Gen. Virol.* 93:1422-1431, 2012.
 33. Takeda M, Ikeda M, Mori K, Yano M, Ariumi Y, Dansako H, Wakita T, Kato N. Raloxifene inhibits hepatitis C virus infection and replication. *FEBS Open Bio*, 2:279–283, 2012.
 34. Marozin S, Altomonte J, Apfel S, Dinh P, Toni ED, Rizzani A, Nüssler A, Kato N, Schmid R, Pattnaik A, Ebert, O. Post-translational modification of VSV glycoprotein, but not JNK inhibition, is the antiviral mechanism of SP600125. *J. Virol.* 86:4844-4855, 2012.
 35. Iikura M, Furihata T, Mizuguchi M, Nagai M, Ikeda M, Kato N, Tsubota A, Chiba K. ENT1, a ribavirin transporter, plays a pivotal role in antiviral efficacy of ribavirin in a hepatitis C virus replication cell system. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 56:1407-1413, 2012.
 36. Yamashita A, Salam KA, Furuta A, Matsuda Y, Fujita O, Tani H, Fujita Y, Fujimoto Y, Ikeda M, Kato N, Sakamoto N, Maekawa S, Enomoto N, Nakakoshi M, Tsubuki M, Sekiguchi Y, Tsuneda S, Akimitsu N, Noda N, Tanaka J, Moriishi K. Inhibition of hepatitis C virus replication and viral helicase by ethyl acetate extract of the marine feather star *Alloeocomatella polycladia*. *Mar. Drugs* 10: 744-761, 2012.
 37. Fujimoto Y, Salam KA, Furuta A, Matsuda Y, Fujita O, Tani H, Ikeda M, Kato N, Sakamoto N, Maekawa S, Enomoto N, de Voogd NJ, Nakakoshi M, Tsubuki M, Sekiguchi Y, Tsuneda S, Akimitsu N, Noda N, Yamashita A, Tanaka J, Moriishi K. Inhibition of both protease and helicase activities of hepatitis C virus NS3 by an ethyl acetate extract of marine sponge *Amphimedon* sp. *PLoS One*, 7:e48685, 2012.
 38. Koike K, Takaki A, Kato N, Ouchida M, Kanzaki H, Yasunak T, Shiraha H, Miyake Y, Yamamoto K. Eradication of hepatitis C virus subgenomic

- replicon by interferon results in aberrant retinol related protein expression. *Acta Med. Okayama*, 66:461-468 (2012).
39. Tsukiyama-Kohara K. Role of Oxidative stress in hepatocarcinogenesis induced by hepatitis C virus. *Int J Mol Sci*, 13:15271-15278, 2012.
 40. Sekiguchi, S, Kimura K, Chiyo T, Ohtsuki T, Tobita Y, Tokunaga Y, Yasui F, Tsukiyama-Kohara K., Wakita T, Tanaka T, Miyasaka M, Mizuno K, Hayashi Y, Hishima T, Matsushima K and Kohara M. Immunization with a recombinant vaccinia virus that encodes nonstructural proteins of the hepatitis C virus suppresses viral protein levels in mouse liver. *PLoS ONE*, 7(12):e51656, 2012.
 41. Inoue K, Tsukiyama-Kohara K., Matsuda C, Yoneyama M, Fujita T, Kuge S, Yoshihara M, and Kohara M. Impairment of interferon regulatory factor-3 activation by hepatitis C virus core protein basic amino acid region 1. *Biochem Biophys Res Com*, 428:494-499, 2012.
 42. Saitou M, Kohara M, Tsukiyama-Kohara K. Hepatitis C virus promotes expression of the 3 β -hydroxysterol δ 24-reductase through Sp1. *J Med Virol*, 84:733-746, 2012.
 43. Kasama Y, Saito M, Takano T, Nishimura T, Satoh M, Wang Z, Nagla. E. S., Harada S, Kohara M, Tsukiyama-Kohara K. Translocase of outer mitochondrial membrane 70 induces interferon response and is impaired by hepatitis C virus NS3. *Virus Research*, 163: 405-409, 2012.
 44. Murakami Y., Toyoda H, Tanahashi T, Tanaka J, Kumada T, Yoshioka Y, Kosaka N, Ochiya T, and Y-h Taguchi. Comprehensive miRNA expression analysis in peripheral blood can diagnose liver disease. *PLoS ONE*. 7: e48366, 2012
 45. Toyoda H, Kumada T, Tada T, Hayashi K, Honda T, Katano Y, Goto H, Kawaguchi T, Murakami Y., Matsuda F. Predictive value of early viral dynamics during peginterferon and ribavirin combination therapy based on genetic polymorphisms near the IL28B gene in patients infected with HCV genotype 1b. *J Med Virol*. 84: 61-70, 2012.
 46. Okuyama S, Marusawa H., Matsumoto T, Ueda Y, Matsumoto Y, Endo Y, Takai A, Chiba T. Excessive activity of apolipoprotein B mRNA editing enzyme catalytic polypeptide 2 (APOBEC2) contributes to liver and lung tumorigenesis. *Int J Cancer*. 130: 1294-1301, 2012.
 47. Nishijima N, Marusawa H., Ueda Y, Takahashi K, Nasu A, Osaki Y, Kou T, Yazumi S, Fujiwara T, Tsuchiya S, Shimizu K, Uemoto S, Chiba T. Dynamics of hepatitis B virus quasispecies in association with nucleos(t)ide analogue treatment determined by ultra-deep sequencing. *PLoS ONE*. 7: e35052, 2012.
 48. Ueda Y, Marusawa H., Kaido T, Ogura Y, Oike F, Mori A, Ogawa K, Yoshizawa A, Hatano E, Miyagawa-Hayashino A, Haga H, Egawa H, Takada Y, Uemoto S, Chiba T. Effect of maintenance therapy with low-dose peginterferon for recurrent hepatitis C after living donor liver transplantation. *J Viral Hepat*. 19: 32-38. 2012
 49. Ueda Y, Marusawa H., Kaido T, Ogura Y, Ogawa K, Yoshizawa A, Hata K, Fujimoto Y, Nishijima N, Chiba T, Uemoto S. Efficacy and safety of prophylaxis with entecavir and hepatitis B immunoglobulin in preventing hepatitis B recurrence after living donor liver transplantation. *Hepatol Res*. 43: 67-71, 2012.
 50. Chiba T, Marusawa H., Ushijima T. Inflammation-associated cancer development in digestive organs.

- Gastroenterology. 143: 550-563, 2012.
51. Osaki Y, Ueda Y, Marusawa H, Nakajima J, Kimura T, Kita R, Nishikawa H, Saito S, Henmi S, Sakamoto A, Eso Y, Chiba T. Decrease in alpha-fetoprotein levels predicts reduced incidence of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C virus infection receiving interferon therapy. *J Gastroenterol.* 47: 444-451. 2012
 52. Teratani T, Tomita K, Suzuki T, Oshikawa T, Yokoyama H, Shimamura K, Tominaga S, Hiroi S, Irie R, Okada Y, Kurihara C, Ebinuma H, Saito H, Hokari R, Sugiyama K, Kanai T, Miura S, Hibi T. A high-cholesterol diet exacerbates liver fibrosis in mice via accumulation of free cholesterol in hepatic stellate cells. *Gastroenterology*, 142:152-164, 2012
 53. Dua H, Yoshimura K, Kobayashi N, Sugiyama K, Sawada JI, Saito Y, Morisseau C, Hammock BD, Akatsuka T. Development of monoclonal antibodies to human microsomal epoxide hydrolase and analysis of "preneoplastic antigen"-like molecules. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 260:17-26, 2012
 54. Tomita K, Teratani T, Suzuki T, Oshikawa H, Yokoyama K, Shimamura K, Nishiyama N, Mataka R, Irie T, Minamino Y, Okada C, Kurihara H, Ebinuma H, Saito I, Shimizu Y, Yoshida R, Hokari K, Sugiyama K, Hatsuse J, Yamamoto T, Kanai S, Miura S, Hibi T. p53/p66Shc-mediated signaling contributes to the progression of non-alcoholic steatohepatitis in humans and mice. *J Hepatol.* 57 :837-843, 2012
 55. Seya T, Shime H, Takaki H, Azuma M, Oshiumi H, Matsumoto M. TLR3/TICAM-1 signaling in tumor cell RIP3-dependent necroptosis. *Oncoimmunology*, 1:917-923, 2012
 56. Azuma M, Ebihara T, Oshiumi H, Matsumoto M, Seya T. Cross-priming for antitumor CTL induced by soluble Ag + polyI:C depends on the TICAM-1 pathway in mouse CD11c(+)/CD8α(+) dendritic cells. *Oncoimmunology*, 1:581-592, 2012
 57. Shime H, Matsumoto M, Oshiumi H, Tanaka S, Nakane A, Iwakura Y, Tahara H, Inoue N, Seya T. Toll-like receptor 3 signaling converts tumor-supporting myeloid cells to tumoricidal effectors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109:2066-2071, 2012
 58. Abe Y, Fujii K, Nagata N, Takeuchi O, Akira S, Oshiumi H, Matsumoto M, Seya T, Koike S. The toll-like receptor 3-mediated antiviral response is important for protection against poliovirus infection in poliovirus receptor transgenic mice. *J Virol*, 86:185-194, 2012
 59. Torikoshi K, Abe H, Matsubara T, Hirano T, Ohshima T, Murakami T, Araki M, Mima A, Iehara N, Fukatsu A, Kita T, Arai H, Doi T. Protein inhibitor of activated STAT, PIASy regulates alpha-smooth muscle actin expression by interacting with E12 in mesangial cells. *PLoS One* 7:e41186-41199 2012
 60. Mukai R, Ohshima T. Dual effects of HTLV-1 HBZ bZIP factor in suppression of interferon regulatory factor 1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 409:328-332, 2011:
 61. Aly HH, Shimotohno K, Hijikata M, Seya T. In vitro models for the analysis of HCV life cycle. *Microbiol Immunol.* 56: 1-9, 2011
 62. Ujino S, Nishitsuji H, Sugiyama R, Suzuki H, Hishiki T, Sugiyama K, Shimotohno K, Takaku H. The interaction between human initiation factor eIF3 subunit c and heat-shock protein 90: A necessary factor for translation mediated by the hepatitis C virus internal ribosome entry site. *Virus Res.* 163: 390-395, 2011

63. Shimizu Y, Hishiki T, Ujino S, Sugiyama K, Funmi K, Shimotohno K. Lipoprotein components associated with hepatitis C virus is essential for virus infectivity. *Current Opinion in Virology*. 1: 19-26, 2011
64. 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*. 6(6): e21284, 2011
65. Onomoto K, Morimoto S, Kawaguchi T, Toyoda H, Tanaka M, Kuroda M, Uno K, Kumada T, Matsuda F, Shimotohno K, Fujita T, Murakami Y. Dysregulation of IFN system can lead to poor response to pegylated interferon and ribavirin therapy in chronic hepatitis C. *PLoS One*. 6(5): e19799, 2011
66. Morohashi K, Sahara H, Watashi K, Iwabata K, Sunoki T, Kuramochi K, Takakusagi K, Miyashita H, Sato N, Tanabe A, Shimotohno K, Kobayashi S, Sakaguchi K, Sugawara F. Cyclosporin A associated helicase-like protein facilitates the association of hepatitis C virus RNA polymerase with its cellular cyclophilin B. *PLoS One*. 6(4): e18285. 2011
67. Murakami Y, Toyoda H, Tanaka M, Kuroda M, Harada Y, Matsuda F, Tajima A, Kosaka N, Ochiya T, Shimotohno K. The Progression of Liver Fibrosis Is Related with Overexpression of the miR-199 and 200 Families. *PLoS One*. Jan 24;6(1): e16081, 2011
68. Sugiyama R, Nishitsuji H, Furukawa A, Katahira M, Habu Y, Takeuchi H, Ryo A, Takaku H. Heat shock protein 70 inhibits HIV-1 Vif-mediated ubiquitination and degradation of APOBEC3G. *J Biol Chem*, 286: 10051-10057. 2011.
69. Sugiyama R, Naganuma H, Nishitsuji H, Takaku H. Human immunodeficiency virus-1 Nef suppresses Hsp70-mediated Tat activation. *FEBS Lett*, 585:3367-3371, 2011.
70. Nishitsuji H, Yokoyama M, Sato H, Yamauchi S, Takaku H. Identification of amino acid residues in HIV-1 reverse transcriptase that are critical for proteolytic processing of Gag-Pol precursors. *FEBS Lett* 585:3372-3377, 2011
71. Noguchi K, Ishitu Y, Takaku H. Evaluating target silencing by short hairpin RNA mediated by the group I intron in cultured mammalian cells. *BMC Biotechnol*, 11:79, 2011.
72. Deng L, Shoji I, Ogawa W, Kaneda S, Soga T, Jiang DP, Ide YH, Hotta H. Hepatitis C virus infection promotes Hepatic gluconeogenesis through an NS5A-mediated, FoxO1-dependent pathway. *J Virol*, 85(17): 8556-8568, 2011.
73. Nakashima K, Takeuchi K, Chihara K, Hotta H, Sada K. Inhibition of hepatitis C virus replication through AMP-activated protein kinase-dependent and -independent pathways. *Microbiol Immunol*, 55(11): 774-782, 2011.
74. El-Shamy A, Shoji I, Saito T, Watanabe H, Ide YH, Deng L, Kawata S, Hotta H. Sequence heterogeneity of NS5A and core proteins of hepatitis C virus and virological responses to pegylated-interferon/ribavirin combination therapy. *Microbiol Immunol*, 55(6): 418-426, 2011.
75. Kim SR, Saito J, Imoto S, Komaki T, Nagata Y, Nakajima T, Ando K, Fukuda K, Otono Y, Kim KI, Ohtani A, Sugimoto K, Hasegawa Y, Fujinami A, Ohta M, Hotta H, Maekawa Y, Hayashi Y, Kudo M. Correlation between insulin resistance and outcome of pegylated interferon and ribavirin therapy, hepatic steatosis, hepatic fibrosis in chronic hepatitis C-1b and high viral

- load. *Digestion*, 84 Suppl 1: 5-9. 2011.
76. Kim SR, Saito J, Imoto S, Komaki T, Nagata Y, Kim KI, Sasase N, Kimura N, Sasatani K, Konishi E, Hasegawa Y, Fujinami A, Ohta M, El-Shamy A, Tanaka Y, Sugano M, Sakashita M, Nakamura A, Tsuchida S, Makino T, Kawada T, Nakajima T, Morikawa T, Muramatsu A, Kasugai H, Hotta H, Kudo M. Double-filtration plasmapheresis plus interferon- β for HCV-1b patients with non-sustained virological response to previous combination therapy. *Digestion*, 84 Suppl 1: 10-16. 2011.
 77. Ariumi Y, Kuroki M, Maki M, Ikeda M, Dansako H, Wakita T, Kato N. The ESCRT system is required for hepatitis C virus production. *PLoS One* 6(1):e14517, 2011.
 78. Wen X, Abe T, Kukihara H, Taguwa S, Mori Y, Tani H, Kato N, Suzuki T, Tatsumi M, Moriishi K, and Matsuura Y. Elimination of hepatitis C virus from hepatocytes by a selective activation of therapeutic molecules. *PLoS One* 6(1): e15967, 2011.
 79. Mori K, Ikeda M, Ariumi Y, Dansako H, Wakita T, Kato N. *Virus Res.*, 151(1): 61-70, 2011.
 80. Ikeda M, Kawai Y, Mori K, Yano M, Abe K, Nishimura G, Dansako H, Ariumi Y, Wakita T, Yamamoto K, Kato N. Anti-ulcer agent teprenone inhibits hepatitis C virus replication: Potential treatment for hepatitis C. *Liver Int.*, 31(6):871-880, 2011.
 81. Ariumi Y, Kuroki M, Kushima Y, Osugi K, Hijikata M, Maki M, Ikeda M, Kato N. Hepatitis C virus hijacks P-body and stress granule components around lipid droplets. *J. Virol.*, 85(14):6882-6892, 2011.
 82. Ueda Y, Mori K, Ariumi Y, Ikeda M, Kato N. Plural assay systems derived from different cell lines and hepatitis C virus strains are required for the objective evaluation of anti-hepatitis C virus reagents. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 409(4):663-668, 2011.
 83. Satoh M, Saito M, Takano T, Kasama Y, Nishimura T, Nishito Y, Hirata Y, Arai M, Sudoh M, Kai C, Kohara M, Tsukiyama-Kohara K. Monoclonal antibody 2-152a suppresses hepatitis C virus infection through betaine/GABA transporter-1. *J Infect Dis*, 204(8): 1172-1180, 2011.
 84. Takano T, Tsukiyama-Kohara K, Hayashi M, Hirata Y, Satoh M, Tateno C, Hayashi Y, Hishima T, Funata N, Sudo M, Kohara M. Augmentation of DHCR24 expression by hepatitis C virus infection facilitates viral replication in hepatocytes. *J Hepatology*, 55(3): 512-521, 2011.
 85. Takano T, Kohara M, Kasama Y, Nishimura T, Saito M, Kai C, Tsukiyama-Kohara K. Translocase of outer mitochondrial membrane 70 expression is induced by hepatitis C virus and is related to the apoptotic response. *J Med Virol*, 83: 801-809, 2011.
 86. Tsukiyama-Kohara K, Sekiguchi S, Kasama Y, Nagla ES, Machida K, Kohara M. Hepatitis C virus-related lymphomagenesis in a mouse model. *ISRN Hematology*, 167501, 2011
 87. Kasama Y, Satoh M, Saito M, Okada S, Kai C, and Tsukiyama-Kohara K. Potential of a recombinant measles virus as expression vector of hepatitis C virus envelope proteins. *World J Vaccine*, 1: 98-103, 2011.
 88. Toyoda H, Kumada T, Hayashi K, Honda T, Katano Y, Goto H, Kawaguchi T, Murakami Y, Matsuda F. Antiviral combination therapy with peginterferon and ribavirin does not induce a therapeutically-resistant mutation in the HCV core region regardless of genetic polymorphism near the IL28B gene. *J Med Virol*. 83: 1559-1564, 2011
 89. Onomoto K, Morimoto S, Kawaguchi

- T, Toyoda H, Tanaka M, Kuroda M, Uno K, Kumada T, Matsuda F, Shimotohno K, Fujita T, and Murakami Y. Dysregulation of IFN system can lead to poor response to pegylated interferon and ribavirin therapy in chronic hepatitis C. *PLoS One*. 6: e19799, 2011
90. Toyoda H, Kumada T, Tada T, Kawaguchi T, Murakami Y, Matsuda F. Impact of genetic polymorphisms near the IL28B gene and amino acid substitutions in the hepatitis C virus core region on interferon sensitivity/resistance in patients with chronic hepatitis C. *J Med Virol*. 83: 1203-1211, 2011
 91. Murakami Y, Toyoda H, Tanaka M, Kuroda M, Harada Y, Matsuda F, Tajima A, Kosaka N, Ochiya T, Shimotohno K. Overexpression of miR-199 and 200 families is associated with the progression of liver fibrosis. *PLoS One*. 6: e16081, 2011
 92. Murakami Y, Toyoda H, Tanaka M, Kuroda M, Harada Y, Matsuda F, Tajima A, Kosaka N, Ochiya T, Shimotohno K. The Progression of Liver Fibrosis Is Related with Overexpression of the miR-199 and 200 Families. *PLoS One*. 24;6(1):e16081, 2011
 93. Shimizu Y, Hishiki T, Ujino S, Sugiyama K, Funami K, Shimotohno K. Lipoprotein component associated with hepatitis C virus is essential for virus infectivity. *Current Opinion Virol*, 1:19-26, 2011
 94. Ujino S, Nishitsuji H, Sugiyama R, Suzuki H, Hishiki T, Sugiyama K, Shimotohno K, Takaku H. The interaction between human initiation factor eIF3 subunit c and heat-shock protein 90: A necessary factor for translation mediated by the hepatitis C virus internal ribosome entry site. *Virus Res*, 163:390-395, 2011
 95. Nasu A, Marusawa H, Ueda Y, Nishijima N, Takahashi K, Osaki Y, Yamashita Y, Inokuma T, Tamada T, Fujiwara T, Sato F, Shimizu K, Chiba T. Genetic Heterogeneity of Hepatitis C Virus in Association with Antiviral Therapy Determined by Ultra-deep Sequencing. *PLoS ONE*. 6: e24907, 2011
 96. Oshiumi H, Matsumoto M, Seya T. Ubiquitin-mediated modulation of the cytoplasmic viral RNA sensor RIG-I. *J Biochem*, 151:5-11, 2012
 97. Oshiumi H, Okamoto M, Fujii K, Kawanishi T, Matsumoto M, Koike S, Seya T. The TLR3/TICAM-1 pathway is mandatory for innate immune responses to poliovirus infection. *J Immunol*, 187: 5320-5327, 2011
 98. Miyashita M, Oshiumi H, Matsumoto M, Seya T. DDX60, a DEXD/H box helicase, is a novel antiviral factor promoting RIG-I-like receptor-mediated signaling. *Mol Cell Biol*, 31:3802-3819, 2011
 99. 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*, 6:e21284, 2011
 100. Matsumoto M, Oshiumi H, Seya T. Antiviral responses induced by the TLR3 pathway. *Rev Med Virol*, doi: 10.1002/rmv.680. 2011
 101. Ariumi Y, Kuroki M, Maki M, Ikeda M, Dansako H, Wakita T, Kato N. The ESCRT system is required for hepatitis C virus production. *PLoS One*, 6(1): e14517, 2011.
 102. Ariumi Y, Kuroki M, Kushima Y, Osugi K, Hijikata M, Maki M, Ikeda M, Kato N. Hepatitis C virus hijacks P-body and stress granule components around lipid droplets. *J Virol*, 85(14): 6882-6892, 2011.
 103. Mori K, Ikeda M, Ariumi Y, Dansako H, Wakita T, Kato N. Mechanism of action of ribavirin in a novel hepatitis C virus replication cell system. *Virus Res*, 157(1): 61-70,

- 2011.
104. Ueda Y, Mori K, Ariumi Y, Ikeda M, Kato N. Plural assay systems derived from different cell lines and hepatitis C virus strains are required for the objective evaluation of anti-hepatitis C virus reagents. *Biochem Biophys Res Commun*, 409(4): 663-668, 2011.
 105. Ikeda M, Kawai Y, Mori K, Yano M, Abe K, Nishimura G, Dansako H, Ariumi Y, Wakita T, Yamamoto K, Kato N. Anti-ulcer agent teprenone inhibits hepatitis C virus replication: potential treatment for hepatitis C. *Liver Int*, 31(6): 871-880, 2011.
 106. Oshiumi H, Ikeda M, Matsumoto M, Watanabe A, Takeuchi O, Akira S, Kato N, Shimotohno K, Seya T. Hepatitis C virus core protein abrogates the DDX3 function that enhances IPS-1-mediated IFN-beta induction. *PLoS One*. 2010 Dec 8;5(12):e14258.
 107. Murakami Y, Tanaka M, Toyoda H, Hayashi K, Kuroda M, Tajima A, Shimotohno K. Hepatic microRNA expression is associated with the response to interferon treatment of chronic hepatitis C. *BMC Med Genomics*. 3(1): 48, 2010.
 108. 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*. 84(22):11761-1170, 2010.
 109. 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*. 84(22): 12048-12057, 2010
 110. Shimizu Y, Hishiki T, Sugiyama K, Ogawa K, Funami K, Kato A, Ohsaki Y, Fujimoto T, Takaku H, Shimotohno K. Lipoprotein lipase and hepatic triglyceride lipase reduce the infectivity of hepatitis C virus (HCV) through their catalytic activities on HCV-associated lipoproteins. *Virology*. 407(1):152-159, 2010
 111. Ujino S, Yamaguchi S, Shimotohno K, Takaku H. Combination therapy for hepatitis C virus with heat-shock protein 90 inhibitor 17-AAG and proteasome inhibitor MG132. *Antivir Chem Chemother*, 20:161- 167, 2010.
 112. Shimizu Y, Hishiki T, Sugiyama K, Ogawa K, Funami K, Kato A, Ohsaki Y, Fujimoto T, Takaku H, Shimotohno K. Lipoprotein lipase and hepatic triglyceride lipase reduce the infectivity of hepatitis C virus (HCV) through their catalytic activities on HCV-associated lipoproteins. *Virology*, 407:152-159, 2010.
 113. Abe M, Suzuki H, Nishitsuji H, Shida H, Takaku H. Interaction of human T-cell lymphotropic virus type I Rex protein with Dicer suppresses RNAi silencing. *FEBS Lett*, 584: 4313-4318, 2010.
 114. Hayashida K, Shoji I, Deng L, Jiang D-P, Ide Y-H, Hotta H. 17 β -Estradiol inhibits the production of infectious particles of hepatitis C virus. *Microbiol Immunol*, 54(11): 684-690, 2010.
 115. Sasase N, Kim SR, Kudo M, Kim KI, Taniguchi M, Imoto S, Mita K, Hayashi Y, Shoji I, El-Shamy A, Hotta H. Outcome and early viral dynamics with viral mutation in PEG-IFN/RBV therapy for chronic hepatitis in patients with high viral loads of serum HCV RNA genotype 1b. *Intervirology*, 53(1):49-54, 2010.
 116. Sanjo M, Saito T, Ishii R, Nishise Y, Haga H, Okumoto K, Ito J, Watanabe H, Saito K, Togashi H, Fukuda K, Imai Y, El-Shamy A, Deng L, Shoji I, Hotta H, Kawata S. Secondary

- structure of the amino-terminal region of HCV NS3 and virological response to pegylated interferon plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *J Med Virol*, 82(8): 1364–1370, 2010.
117. Nasu J, Murakami K, Miyagawa S, Yamashita R, Ichimura T, Wakita T, Hotta H, Miyamura T, Suzuki T, Satoh T, Shoji I. E6AP ubiquitin ligase mediates ubiquitin-dependent degradation of peroxiredoxin 1. *J Cell Biochem*, 111(3): 676–685, 2010.
 118. Kim SR, Imoto S, Kudo M, Nakajima T, Ando K, Mita K, Fukuda K, Hong HS, Lee YH, Nakashima K, Shoji I, Nagano-Fujii M, Hotta H, Hayashi Y. Autoimmune thrombocytopenic purpura during pegylated interferon alpha treatment for chronic hepatitis C. *Intern Med*, 49(12): 1119-1122. 2010.
 119. Kim SR, Imoto S, Kudo M, Mita K, Taniguchi M, Kim KI, Sasase N, Shoji I, Nagano-Fujii M, El-Shamy A, Hotta H, Nagai T, Nagata Y, Hayashi Y. Double-filtration plasmapheresis plus IFN for HCV-1b patients with non-sustained virological response to previous combination therapy: early viral dynamics. *Intervirol*, 53(1): 44-48, 2010.
 120. Mori K, Ikeda M, Ariumi Y, Kato N. Gene expression profile of Li23, a new human hepatoma cell line that enables robust hepatitis C virus replication: Comparison with HuH-7 and other hepatic cell lines. *Hepatology*, 40:1248-1253, 2010
 121. Ikeda F, Dansako H, Nishimura G, Mori K, Kawai Y, Ariumi Y, Miyake Y, Takaki A, Nouse K, Iwasaki Y, Ikeda M, Kato N, Yamamoto K. Amino acid substitutions of hepatitis C virus core protein are not associated with intracellular antiviral response to interferon- α in vitro. *Liver Int.* 30:1324-1331, 2010
 122. Nozaki A, Morimoto M, Kondo M, Oshima T, Numata K, Fujisawa, Kaneko T, Miyajima E, Morita S, Mori K, Ikeda M, Kato N, Tanaka K. Hydroxyurea as an inhibitor of hepatitis C virus RNA replication. *Arch. Virol.* 155:601-605, 2010
 123. Nozaki A, Numata K, Morimoto M, Kondo M, Sugimori K, Morita S, Miyajima E, Ikeda M, Kato N, Maeda S, Tanaka K. Hydroxyurea Suppresses Hepatitis C Virus Replication in Human: A Phase I Trial of Oral Hydroxyurea in Chronic Hepatitis C Patients. *Antiviral Therapy* 15:1179-1183, 2010
 124. Nakamura M, Saito H, Ikeda M, Hokari R, Kato N, Hibi T, Miura S. An antioxidant resveratrol significantly enhanced replication of hepatitis C virus. *World J. Gastroenterol.* 16:184-192, 2010
 125. Shigoka M, Tsuchida A, Matsudo T, Nagakawa Y, Saito H, Suzuki Y, Aoki T, Murakami Y, Toyoda H, Kumada T, Bartenschlager R, Kato N, Ikeda M, Takashina T, Tanaka M, Suzuki R, Oikawa K, Takanashi M, Kuroda M. Deregulation of miR-92a expression is implicated in hepatocellular carcinoma development. *Path. Int.* 60:351-357, 2010.
 126. Yu S, Chen J, Wu M, Chen H, Kato N, Yuan Z. Hepatitis B virus polymerase inhibits RIG-I- and Toll-like receptor 3-mediated beta interferon induction in human hepatocytes through interference with interferon regulatory factor 3 activation and dampening of the interaction between TBK1/IKKepsilon and DDX3. *J. Gen. Virol.* 91:2080-2090, 2010
 127. Tanaka T, Hasegawa Y, Saito M, Ikeda M, Kato N. Generation of single-chain Fvs against detergent-solubilized recombinant antigens with a simple coating procedure. *J. Biosci. Bioeng*, 110,

- 374-376, 2010.
128. Oshiumi H, Ikeda M, Matsumoto M, Watanabe A, Takeuchi O, Akira S, Kato N, Shimotohno K, Seya T. Hepatitis C virus core protein abrogates the DDX3 function that enhances IPS-1-mediated IFN- β induction. *PLoS One* 5(12):e14258, 2010.
 129. Murakami Y, Tanaka M, Toyoda H, Hayashi K, Kuroda M, Tajima A, and Shimotohno K. Hepatic microRNA expression is associated with the response to interferon treatment of chronic hepatitis C. *BMC Medical Genomics*. 3: 48, 2010
 130. Arimoto K, Fumani K, Saeki Y, Tanaka K, Okawa K, Takeuchi O, Akira S, Murakami Y, Shimotohno K. Polyubiquitin conjugation to NEMO by TRIM23 is critical in antiviral defense. *PNAS* 107: 15856-15861, 2010
 131. Shigoka M, Tsuchida A, Matsudo T, Nagakawa Y, Saito S, Suzuki Y, Aoki T, Murakami Y, Toyoda H, Kumada T, Bartenschlager R, Kato N, Ikeda M, Takashina T, Tanaka M, Suzuki R, Oikawa K, Takanashi M, Kuroda M. Deregulation of miR-92a expression is implicated in hepatocellular carcinoma development. *Pathol Int*. 60: 351-357, 2010
 132. Shimizu Y, Hishiki T, Sugiyama K, Ogawa K, Funami K, Kato A, Ohsaki Y, Fujimoto T, Takaku H, Shimotohno K. Lipoprotein lipase and hepatic triglyceride lipase reduce the infectivity of hepatitis C virus (HCV) through their catalytic activities on HCV-associated lipoproteins. *Virology*, 407: 152-159, 2010
 133. Marusawa H, Chiba T. Helicobacter pylori-induced activation-induced cytidine deaminase expression and carcinogenesis. *Curr Opin Immunol* .2010; 22: 442-447.
 134. Ueda Y, Takada Y, Marusawa H, Egawa H, Uemoto S, Chiba T. Individualized extension of pegylated interferon plus ribavirin therapy for recurrent hepatitis C genotype 1b after living-donor liver transplantation. *Transplantation*. 90: 661-665.2010
 135. Ueda Y, Takada Y, Marusawa H, Haga H, Sato T, Tanaka Y, Egawa H, Uemoto S, Chiba T. Clinical features of biochemical cholestasis in patients with recurrent hepatitis C after living-donor liver transplantation. *J Viral Hepat*. 17: 481-487.2010
 136. Oshiumi, H., M. Miyashita, N. Inoue, M. Okabe, M. Matsumoto, and T. Seya. Essential role of Riplet in RIG-I-dependent antiviral innate immune responses. *Cell Host & Microbe*, 8: 496-509, 2010
 137. Oshiumi, H., H. Mori, M. Ikeda, N. Kato, M. Matsumoto, O. Takeuchi, S. Akira, K. Shimotohno, and T. Seya. Hepatitis C virus (HCV) core protein promotes viral replication by abrogating IFN- β -inducing function of DEAD/H BOX 3 (DDX3) helicase. *PLoS ONE*, 5: e14258, 2010;
 138. Takaki, H., Y. Watanabe, M. Shingai, H. Oshiumi, M. Matsumoto, and T. Seya. Strain-to-strain difference of V protein of measles virus affects MDA5-mediated IFN- β -inducing potential. *Mol Immunol*, 48: 497-504, 2011
 139. Ehira, N., H. Oshiumi, M. Matsumoto, T. Kondo, M. Asaka and T. Seya. An embryo-specific expressing TGF- β family protein, growth-differentiation factor 3 (GDF3), augments progression of B16 melanoma. *J. Exp. Clin. Cancer Res*, 29: 135, 2010
 140. Ebihara, T., M. Azuma, H. Oshiumi, J. Kasamatsu, K. Iwabuchi, K. Matsumoto, H. Saito, T. Taniguchi, M. Matsumoto, and T. Seya. Identification of a polyI:C-inducible membrane protein, that participates in dendritic cell-mediated natural

- killer cell activation. *J Exp Med*, 207: 2675-2687, 2010
141. Oshiumi, H., K. Sakai, M. Matsumoto, and T. Seya. DEAD/H BOX 3 (DDX3) helicase binds the RIG-I adaptor IPS-1 to up-regulate IFN-beta inducing potential. *Eur J Immunol*, 40: 940-948, 2010
 142. Sasai, M., H. Oshiumi, K. Funami, M. Matsumoto, and T. Seya. Direct binding of TRAF2 and TRAF6 to TICAM-1/TRIF adaptor of the Toll-like receptor 3/4 pathway. *Mol. Immunol*, 47: 1283-1291, 2010
 143. Murata T, Hotta N, Toyama S, Nakayama S, Chiba S, Isomura H, Ohshima T, Kanda T, Tsurumi T. Transcriptional repression by sumoylation of Epstein-Barr virus BZLF1 protein correlates with association of histone deacetylase. *J Biol. Chem.* 285:23925-23935, 2010;
 144. Ohshima T, Mukai R, Nakahara N, Matsumoto J, Isono O, Kobayashi Y, Takahashi S, Shimotohno K. HTLV-1 basic leucine-zipper factor, HBZ, interacts with MafB and suppresses transcription through a Maf recognition element. *J Cell. Biochem.* 111:187-194, 2010;
 145. Mori K, Ikeda M, Ariumi Y, Kato N. Gene expression profile of Li23, a new human hepatoma cell line that enables robust hepatitis C virus replication: Comparison with HuH-7 and other hepatitis C cell lines. *Hepato Res*, 40(12): 1248-1253, 2010.
 146. Ikeda F, Dansako H, Nishimura G, Mori K, Kawai Y, Ariumi Y, Miyake Y, Takaki A, Nouse K, Iwasaki Y, Ikeda M, Kato N, Yamamoto K. Amino acid substitutions of hepatitis C virus core protein are not associated with intracellular antiviral response to interferon- α in vitro. *Liver Int*, 30(9): 1324-1331, 2010.
 147. Kasama Y, Sekiguchi S, Saito M, Tanaka K, Satoh M, Kuwahara K, Sakaguchi N, Takeya M, Hiasa Y, Kohara M, and Tsukiyama-Kohara K. Persistent expression of the full genome of hepatitis C virus in B cells induces spontaneous development of B-cell lymphomas in vivo. *Blood*, 116(23): 4926-4933, 2010.
 148. Satoh M, Saito M, Tanaka K, Iwanaga S, Nagla SA, Seki T, Okada S, Kohara M, Harada S, Kai C, Tsukiyama-Kohara K. Evaluation of a recombinant measles virus expressing hepatitis C virus envelope proteins by infection of human PBL-NOD/Scid/Jak3null mouse. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 33:E81-88, 2010.
 149. Amako Y, Tsukiyama-Kohara K, Katsume A, Hirata Y, Sekiguchi S, Tobita Y, Hayashi Y, Hishima T, Funata N, Yonekawa H, and Kohara M. Pathogenesis of hepatitis C virus infection in *Tupaia belangeri*. *J Virol*, 84:303-311, 2010.

2.特許関係

1. 「p53 癌抑制蛋白との結合に関与する C 型肝炎ウイルス非構造蛋白 NS3 のアミノ酸残基の同定と、医薬開発への利用」特許 4565180.平成 22 年 8 月 13 日 発明者 堀田博.
2. 「C 型肝炎ウイルス株の評価方法及びその利用」特願 2010-206800.平成 22 年 9 月 15 日 発明者 堀田博.
3. 「C 型肝炎ウイルス粒子形成促進剤及び株の評価方法及び C 型肝炎ウイルス粒子の産生方法」特願 2012-215474.平成 24 年 9 月 28 日 発明者 堀田博.
4. 「NS3 蛋白を発現するピフィズス菌、経口 C 型肝炎ワクチン」特願 2013-30477.平成 25 年 2 月 19 日 発明者 白川利朗, 堀田博, 片山高嶺
5. 「抗 HCV 薬」特願 2012-268884 出願日: H24 年 12 月 8 日 発明者: 田中晴雄、下遠野邦忠ほか 出願人: 学校法人明星学苑
6. 「C 型肝炎ウイルス阻害剤」出願番号 12/241868 出願国 アメリカ 発明者 小原恭子、小原道法

- 他 出願人（一般財団法人）化学及血清療法研究所、財団法人東京都医学研究機構、国立大学法人熊本大学
7. 「Hepatitis C virus inhibitors」 出願番号 CA2640954 出願国 カナダ 発明者 小原恭子、小原道法 他 出願人（一般財団法人）化学及血清療法研究所、財団法人東京都医学研究機構、国立大学法人熊本大学
 8. 「C 型肝炎の予防、治療又は改善用組成物」特願 2011-125440 出願日 平成 23 年 6 月 3 日 発明者 小原恭子、松森昭、西村知裕、小原道法 出願人 国立大学法人熊本大学、松森昭、（一般財団法人）化学及血清療法研究所、財団法人東京都医学研究機構
 9. 「RRM2 のアンタゴニストを有効成分として含有する C 型肝炎治療剤」特願 2010-180981 出願日 平成 22 年 8 月 12 日 発明者 小原道法、小原恭子、佐藤正明、須藤正幸 出願人 国立大学法人熊本大学、財団法人東京都医学研究機構、中外製薬株式会社「テスト体液サンプルの分離方法」村上善基 特願 2012-37586 (H24-2-23)
 10. 「慢性 C 型肝炎の治療効果予測方法」 村上善基 . PCT/JP2010/065306 (出願日 2010-9-7)
 11. 「遺伝子発現解析を用いた肝線維化の評価方法」 村上善基 . 特願 2010-86966 (H22-4-5)

II. 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

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
村上善基	マイクロRNAの発現異常と肝発癌の関与		細胞		東京	2010	244- 247
下遠野 邦忠	C型肝炎ウイルス研究の新知見		医学のあゆみ	医歯薬出版株式会社	東京	2010	1223- 1224
小原恭子、 棟方翼、 小原道法	HCVの病原性発現に関するウイルス因子とその機能II C型肝炎		69巻増刊4別刷「新時代のウイルス性肝炎学」	日本臨床	大阪	2011	p97- 102
小原道法、 小原恭子	C型肝炎ウイルスによる免疫攪乱と炎症発がん	千葉勉	BIO Clinica	北隆館	東京	2011	p42- 48
宇治野真之、 杉山和夫、 下遠野邦忠	腫瘍ウイルス(肝炎ウイルス)	渋谷正史、 湯浅保仁	がん生物学イラストレイテッド	羊土社	東京	2011	32- 42

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌	巻	ページ	出版年
Murakami Y, Toyoda H, Tanaka M, Kuroda M, Harada Y, Matsuda F, Tajima A, Kosaka N, Ochiya T, Shimotohno K.	The Progression of Liver Fibrosis Is Related with Overexpression of the miR-199 and 200 Families	PLoS One	6(1)	e16081	2011
Oshiumi H, Ikeda M, Matsumoto M, Watanabe A, Takeuchi O, Akira S, Kato N, Shimotohno K, Seya T.	Hepatitis C virus core protein abrogates the DDX3 function that enhances IPS-1-mediated IFN-beta induction.	PLoS One.	5(12)	e14258	2010
Murakami Y, Tanaka M, Toyoda H, Hayashi K, Kuroda M, Tajima A, Shimotohno K.	Hepatic microRNA expression is associated with the response to interferon treatment of chronic hepatitis C.	BMC Med Genomics.	3(1)	48	2010