

索、siRNAによる関与する宿主因子の探索から実施し、ウイルスライフサイクルの機構解析を進めて新たな抗ウイルス薬標的探索につなげる。「B型肝炎創薬実用化等研究事業」におけるウイルス培養細胞実験系や感染実験動物モデルの樹立を目指す研究班と連携することにより、新規化合物スクリーニングに資するアッセイ系を確立して、スクリーニングを実施する研究班に速やかに提供して、抗ウイルス薬候補の探索に供する。

Ⅲ. 1年間の研究成果

1. ウイルス生活環の制御因子同定 (脇田、森川、Akbar) : HBV感染により誘導される宿主因子の網羅的プロテオーム解析のため、テトラサイクリンによるHBV発現調整細胞株作成を試みている。
2. 初期感染過程の解析 (脇田、菅、榎本) : HBVゲノム複製細胞へのsiRNAライブラリー導入条件を検討した。また、患者血中HBVゲノムPreS/S領域変異・欠失と野生型の混在比率が、肝炎の病態進展と関連する可能性を示した。
3. 転写機構、インテグレーション機構の解析 (鈴木、相崎、飯島、加藤直也、加藤孝宣、竹原) : HBV mRNAの核外輸送機構解明ため、HBVゲノムの転写後調節エレメント (PRE) 結合因子をスクリーニングした。分子量45~150 kDaの約10種類の結合候補を得た。
4. ウイルス蛋白質発現、機能および構造の解析 (菅、梁、朴、馬場) : カプシド蛋白を標的とした抗HBV薬の同定と開発を目的として、薬剤ライブラリーの中から169,320個の薬剤について、in silicoスクリーニングアッセイを実施し、docking scoreの高かった50薬剤を選び出した。現在、その中から19薬剤を入手し、培養細胞を用いた抗HBV活性の検討を進めている。コムギ無細胞タンパク質合成系を用いてHBV逆転写酵素を合成し、活性を指標とした阻害剤アッセイ系を構築中である。
5. ウイルス粒子形成および分泌機構の解析 (千葉) : 任意の時期に肝細胞にHBV全タンパク質を発現し、肝炎としての免疫応答を惹起する新規モデルマウスの作成を進めている。肝細胞特異的にHBVを誘導発現するコンストラクトを作成し、マウス胚へinjectionした。
6. HBx抗原の発現、機能、構造の解析 (堀田、加藤直也、岡本) : HBx蛋白質の構造情報を得るため、大腸菌発現系を用いたが、可溶性の蛋白質を得られず、GST融合蛋白質として発現確認中である。また、昆虫細胞およびBrevibacillus発現系での発現確認を行う。HBxタンパク質と相互作用する宿主因子を質量分析法で解析し、脱メチル化酵素である Jumonji domain containing 5 (JMJD5) を同定した。JMJD5はHBxと直接結合し、HBVの粒子産生を抑制した。JMJD5はp53との相互作用が示唆されており、HBVの粒子産生にp53の関与を示す成績が得られた。

Ⅳ. 平成25~28年度の課題

1. ウイルス生活環の制御因子同定 : HBV生活環を評価できる培養細胞を用いて、これに影響を与える低分子化合物のスクリーニングを実施する。ヒット化合物が影響を与える標的生活環ステップを同定する。各研究分担者にヒット化合物と標的情報を提供して、各ステップの解析を進める
2. 初期感染過程の解析 : ウイルス吸着に関与する宿主因子を化合物探索、siRNAなどにより探索する。ウイルスゲノムの核への侵入を可視化するアッセイ系を樹立する。
3. 転写機構、インテグレーション機構の解析 : HBVゲノム複製細胞へのsiRNAライブラリー導入によってHBVゲノム複製、遺伝子発現を制御する新規宿主因子を探索。HBVの遺伝子型による複製効率の変改を検討する。HBx遺伝子の組み込み様式を解析する。HBV複製による細胞増殖と細胞周期、細胞死やオートファジーへの影響を解析する。cccDNAのエピジェネティックな変化を解析する。
4. ウイルス蛋白質発現、機能および構造の解析 : 昆虫細胞発現系や無細胞蛋白質発現系などにより逆転写酵素などのウイルス蛋白質を発現し、その活性を評価する実験系を構築する。発現したウ

ウイルス蛋白質に結合する環状ペプチドを RAPID システムによりスクリーニングする。

5. ウイルス粒子形成および分泌機構の解析：誘導発現系により肝細胞特異的に HBV ゲノムを発現するトランスジェニックマウスを構築する。発現誘導によりウイルス粒子産生可能かを確認する。

6. HB_x 抗原の発現、機能、構造の解析：様々な発現系により HBc 抗原、HB_x 抗原の発現系を構築する。さらに HBc 抗原、HB_x 抗原に結合する宿主蛋白質をツーハイブリッド法、アフィニティ精製法などにより探索する。

V. 行政施策への貢献の可能性

1. 本研究により、HBV 感染による肝硬変および肝臓癌という高度な医療が必要な疾患の患者数を減らすことができれば、結果的に医療費の低減に寄与し、社会の福祉に寄与することが可能となる。

2. ウイルス性肝炎患者を広く検診で拾い上げ、治療が必要な患者に対して適切な治療を行うことが社会的な要請である。このため、より効果の高い治療法を低コストで実施できるよう開発していく必要がある。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

千葉 勉 (研究分担者)

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.

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. *Hep Res* 2012 (in press).

加藤 直也 (研究分担者)

Kumar V, Lo PHY, Sawai H, Kato N, Takahashi A, Deng Z, Urabe Y, Mbarek H, Tokunaga K, Tanaka Y, Sugiyama M, Mizokami M, Muroyama R, Tateishi R, Omata M, Koike K, Tanikawa C, Kamatani N, Kubo M, Nakamura Y, Matsuda K. Soluble MICA and a MICA variation as possible prognostic biomarkers for HBV-induced hepatocellular carcinoma. *PLoS One* 2012; 7: e44743

Shiina S, Tateishi R, Imamura M, Teratani T, Koike Y, Sato S, Obi S, Kanai F, Kato N, Yoshida H, Omata M, Koike K. Percutaneous ethanol injection for hepatocellular carcinoma: 20-year outcome and prognostic factors. *Liver Int* 2012; 32: 1434-1442

Li Q, Yu CH, Yu JH, Liu L, Xie SS, Li WW, Yang X, Fan WB, Gai ZT, Chen SJ, Kato N. ABO blood group and the risk of hepatocellular carcinoma: a case-control study in patients with chronic hepatitis B. *PLoS One* 2012; 7: e29928.

飯島 沙幸 (研究分担者)

○Sakamoto T, Tanaka Y, Watanabe T, Iijima S, Kani S, Sugiyama M, Murakami S, Matsuura K, Kusakabe A, Shinkai N, Fuminaka S, Mizokami M. Mechanism of the dependence of hepatitis B virus genotype G on co-infection with other genotypes for viral replication. *J Viral Hepat.* 2012 in press

竹原 徹郎 (研究分担者)

Hikita H, Kodama T, Shimizu S, Li W, Shigekawa M, Tanaka S, Hosui A, Miyagi T, Tatsumi T, Kanto T, Hiramatsu N, Morii E, Hayashi N, Takehara T. Bak deficiency inhibits liver carcinogenesis: a causal link between apoptosis and carcinogenesis. *J Hepatol.* 57: 92-100, 2012.

Nawa T, Ishida H, Tatsumi T, Li W, Shimizu S, Kodama T, Hikita H, Hosui A, Miyagi T, Kanto T, Hiramatsu N, Hayashi N, Takehara T. Interferon- α suppresses hepatitis B virus enhancer II activity via the protein kinase C pathway. *Virology.* 432: 452-459, 2012.

榎本 信幸 (研究分担者)

Sueki R, Maekawa S, Miura M, Kadokura M, Komase K, Shindo H, Kanayama A, Ohmori T, Shindo K, Amemiya F, Nakayama Y, Uetake T, Inoue T, Sakamoto M, Enomoto N. Correlation between pretreatment viral sequences and the emergence of lamivudine resistance in hepatitis B virus infection. *J Med Virol.* 2012 84(9):1360-8.

Akbar Sheikh mohammadfazole (研究分担者)

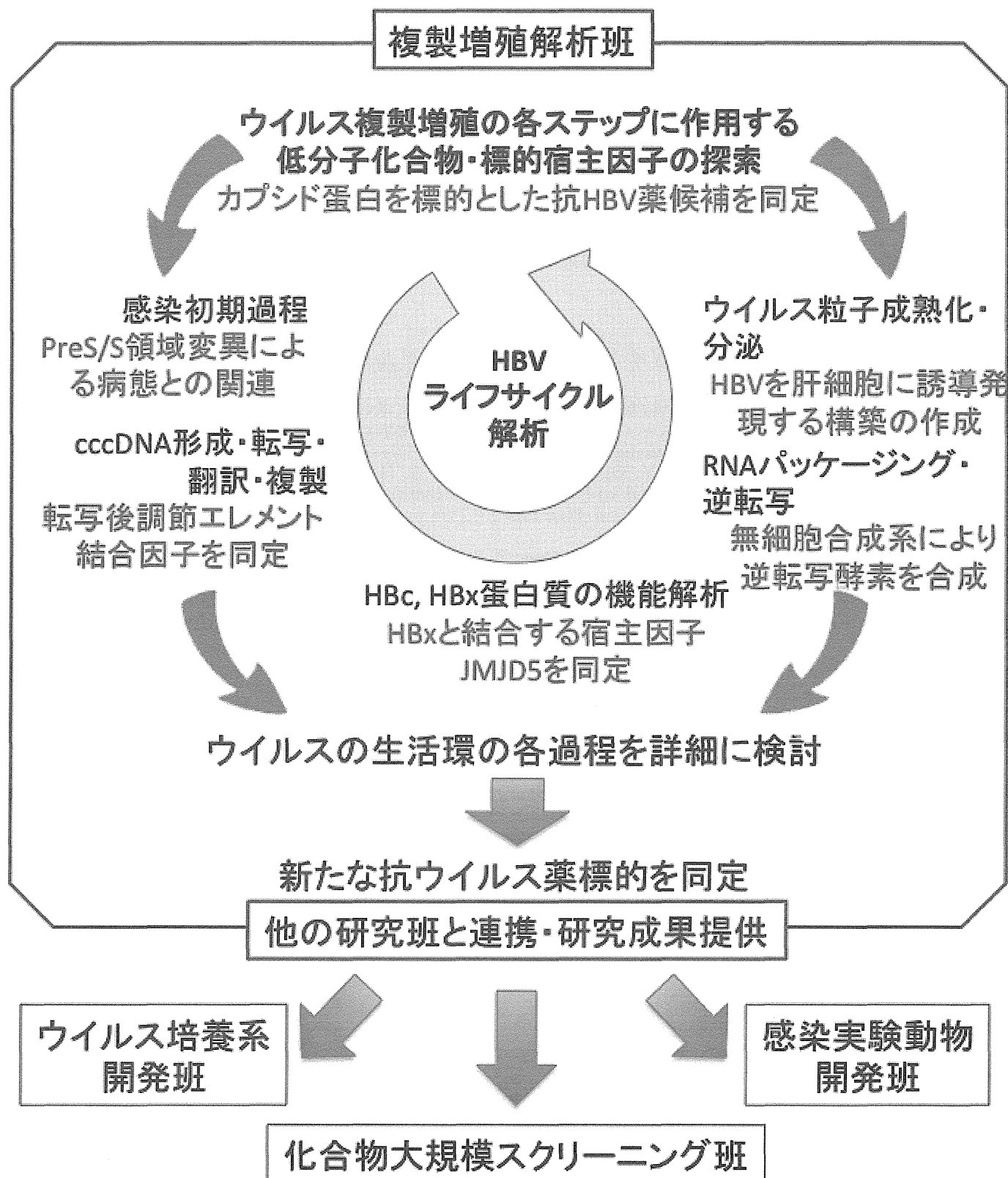
Akbar SM, Chen S, Al-Mahtab M, Abe M, Hiasa Y, Onji M.. Strong and multi-antigen specific immunity by hepatitis B core antigen (HBcAg)-based vaccines in a murine model of chronic hepatitis B: HBcAg is a candidate for a therapeutic vaccine against hepatitis B virus. *Antiviral Res.* 2012;96(1):59-64.

Akbar SM, Hiasa Y, Al-Mahtab M, Onji M. Dendritic cell-based immune therapy in liver diseases. *Current Immunology Review* 2012; 8(1): 28-36

Al-Mahtab M, Akbar SM, Rahman S, Kamal M, Khan MSI. Biochemical, virological, immunological and histopathological features of 702 incidentally detected chronic hepatitis B virus carriers in Bangladesh. *Digestion* 2012; 86 (1): 1-5

Ⅶ. Ⅲ (1年間の研究成果)の概要図等

今年度の研究成果を赤字で記載



●研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

昭和63年～平成4年	名古屋大学大学院医学研究科
平成4年～7年	米国ハーバード大学医学部・客員研究員
平成7年～10年	東京都臨床医学総合研究所・主任研究員
平成10年～18年	東京都神経科学総合研究所・副参事研究員
平成18年～現在	国立感染症研究所・ウイルス第二部・部長

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

名古屋大学大学院医学研究科 坂本信夫教授および各務伸一講師
 米国ハーバード大学医学部 Jack Wands 準教授
 東京都臨床医学総合研究所 小原道法室長
 東京都神経科学総合研究所 保井孝太郎副所長
 国際医療研究センター、肝炎・免疫研究センター 溝上雅史センター長

・主な研究課題

C型肝炎ウイルス感染複製機構の解析
 肝炎ウイルスの病原性発現機構の解析
 肝炎ウイルス感染症の新たな治療法の開発
 下痢症ウイルス、腸管感染ウイルスの研究

・これまでの研究実績

論文業績：英文原著 192 報、英文レビュー5 報、英文著書 4 報、邦文 21 報

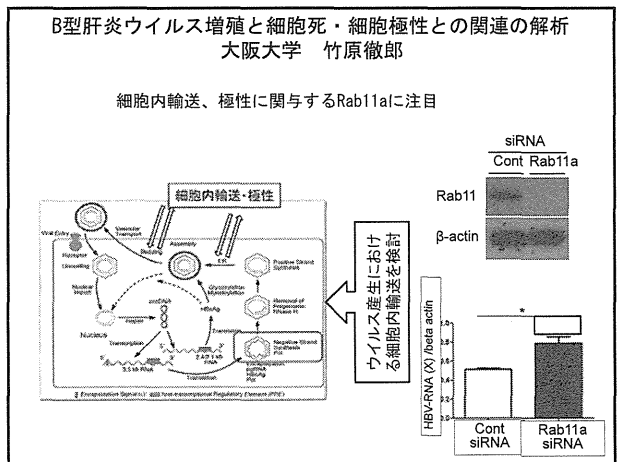
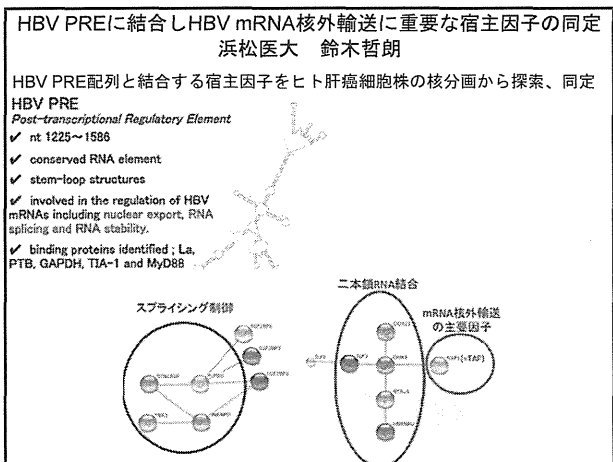
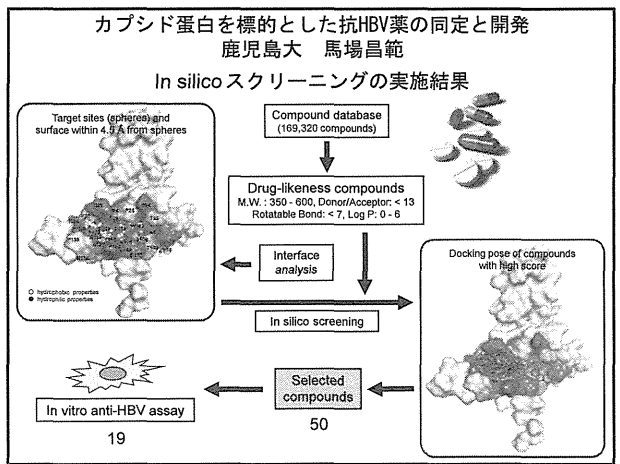
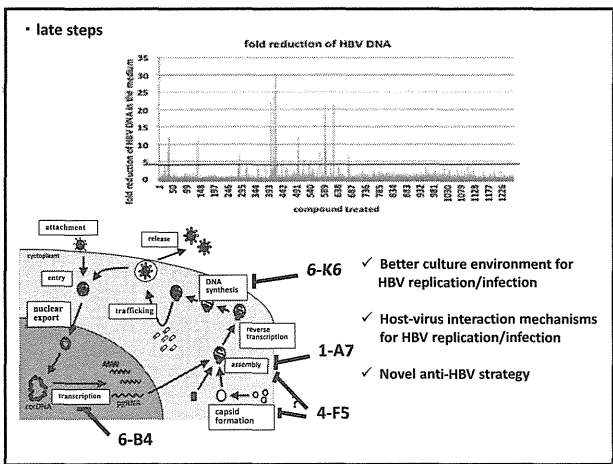
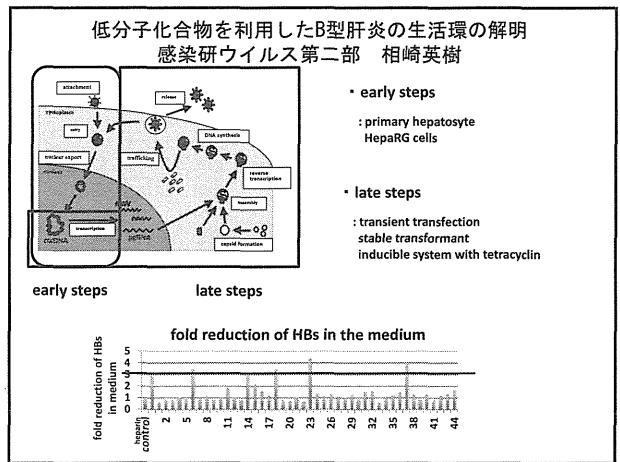
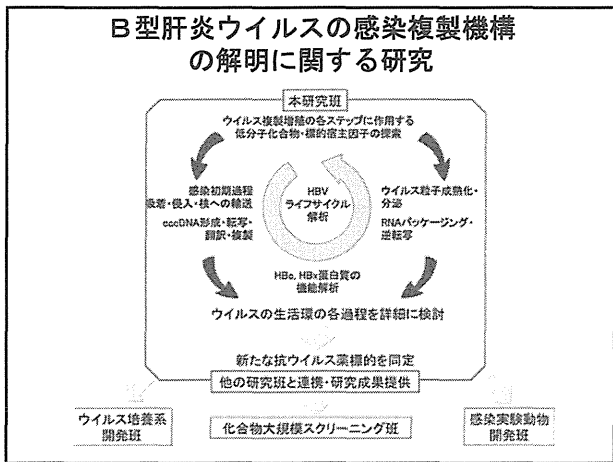
代表論文 20 報

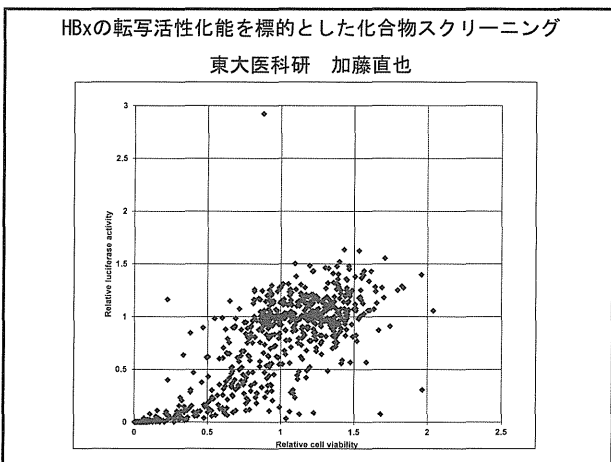
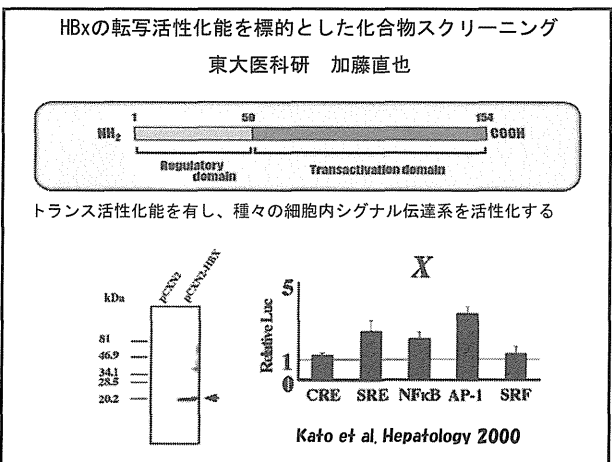
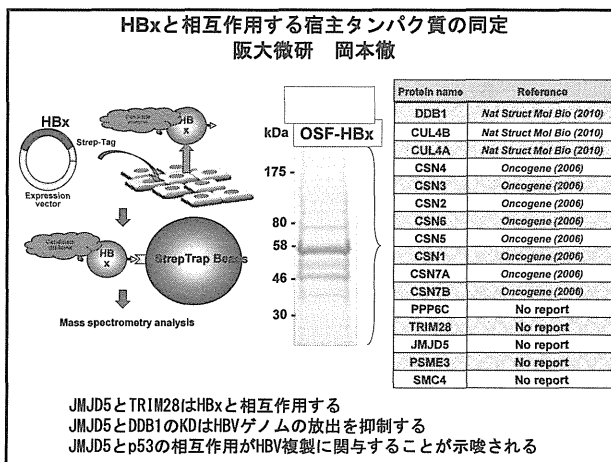
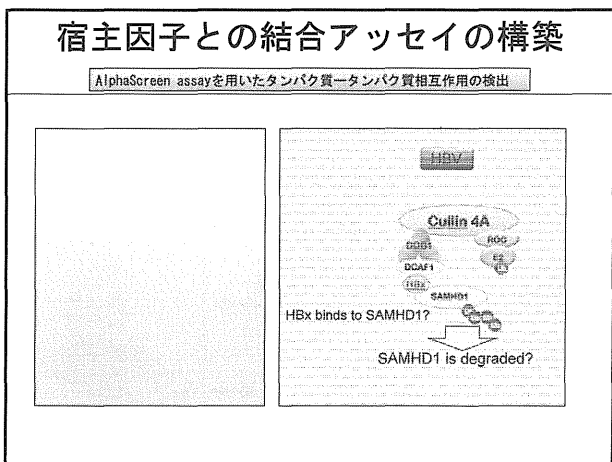
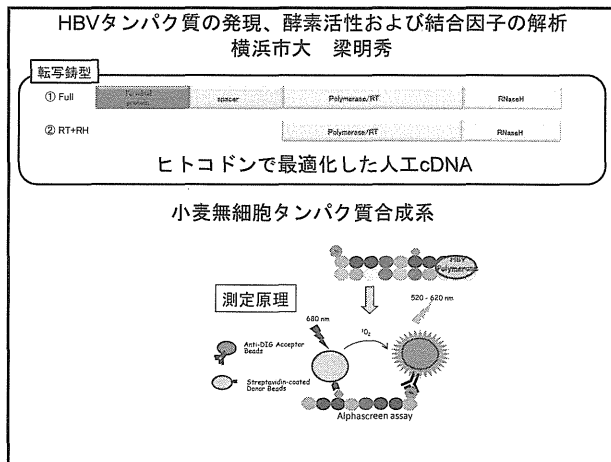
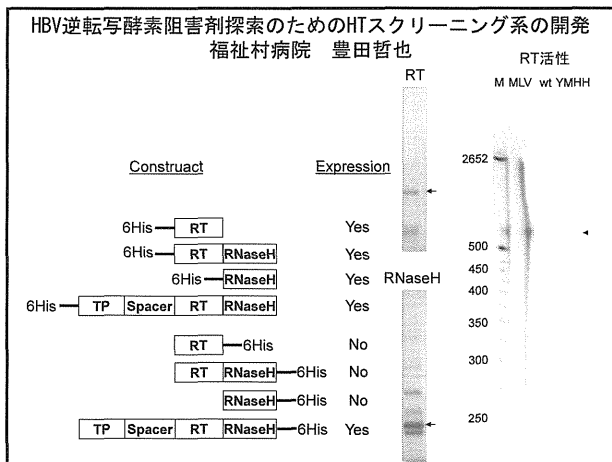
- 1) Saeed M, Gondeau C, Hmwe S, Yokokawa H, Date T, Suzuki T, Kato T, Maurel P, Wakita T. Replication of Hepatitis C Virus Genotype 3a in Cultured Cells. *Gastroenterology*. 2012 S0016-5085(12)01373-X.
- 2) Date T, Kato T, Kato J, Takahashi H, Morikawa K, Akazawa D, Murayama A, Tanaka-Kaneko K, Sata 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.
- 3) 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 May;56(5):308-17.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) Nishimura Y, Wakita T, Shimizu H. Tyrosine Sulfation of the Amino Terminus of PSGL-1 Is Critical for Enterovirus 71 Infection. *PLoS Pathog*. 2010 6(11):e1001174.
- 7) Nishimura Y, Shimojima M, Tano Y, Miyamura T, Wakita T, Shimizu H. Human P-selectin glycoprotein ligand-1 is a functional receptor for enterovirus 71. *Nat Med*. 2009 15(7):794-7.
- 8) Kato T, Choi Y, Elmowalid G, Sapp RK, Barth H, Furusaka A, Mishiro S, Wakita T, Krawczynski K, Liang TJ. Hepatitis C virus JFH-1 strain infection in chimpanzees is associated with low pathogenicity and emergence of an adaptive mutation. *Hepatology*. 2008 48(3):732-40.
- 9) Miyanari Y, Atsuzawa K, Usuda N, Watashi K, Hishiki T, Zayas M, Bartenschlager R, Wakita T, Hijikata M, Shimotohno K. The lipid droplet is an important organelle for hepatitis C virus production. *Nat Cell Biol*. 2007 9(9):1089-97.
- 10) Kato T, Date T, Murayama A, Morikawa K, Akazawa D, Wakita T. Cell culture and infection system for hepatitis C virus. *Nat Protoc*. 2006;1(5):2334-9.

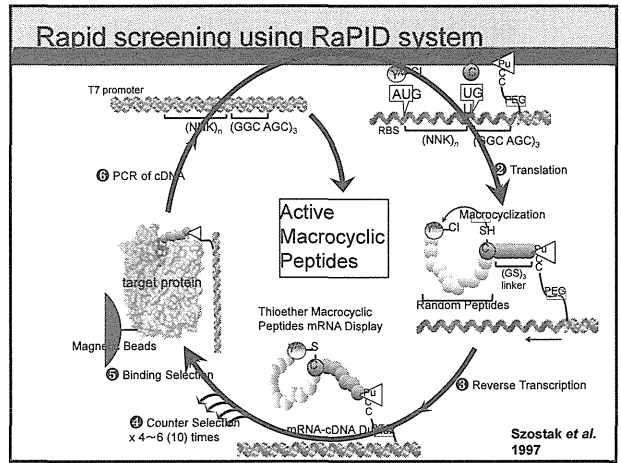
- 11) Akazawa D, Date T, Morikawa K, Murayama A, Miyamoto M, Kaga M, Barth H, Baumert TF, Dubuisson J, Wakita T. CD81 expression is important for the permissiveness of Huh7 cell clones for heterogeneous hepatitis C virus infection. *J Virol*. 2007 81(10):5036-45.
- 12) Wakita T, T Pietschmann, T Kato, T Date, M Miyamoto, Z Zhao, K Murthy, A Habermann, H-G Kräusslich, M Mizokami, R Bartenschlager, T J Liang. Production of Infectious Hepatitis C Virus in Tissue Culture from a Cloned Viral Genome. *Nat Med*. 2005 11:791-6.
- 13) Zhong J, P Gastaminza, G Cheng, S Kapadia, T Kato, DR Burton, SF Wieland, S Uprichard, T Wakita, FV Chisari. Robust Hepatitis C Virus Infection in Vitro. *PNAS* 2005, 102:9294-9.
- 14) Date T, Kato T, Miyamoto M, Zhao Z, Yasui K, Mizokami M, Wakita T. Genotype 2a Hepatitis C Virus Subgenomic Replicon Can Replicate in HepG2 and IMY-N9 cells. *J Biol Chem*. 2004, 279:22371-6.
- 15) Kato T, Date T, Miyamoto M, Furusaka A, Tokushige K, Mizokami M, Wakita T. Efficient Replication of the Genotype 2a Hepatitis C Virus Subgenomic Replicon. *Gastroenterol*. 2003, 125:1808-17.
- 16) Wakita T, Taya C, Katsume A, Kato J, Yonekawa H, Kanegae Y, Saito I, Hayashi Y, Koike M, and Kohara M. Efficient conditional transgene expression in hepatitis C virus transgenic mice mediated by the Cre/loxP system. *J Biol Chem*. 1998 273: 9001-6.
- 17) Wakita T and Wands JR. Specific inhibition of hepatitis C virus expression by antisense oligodeoxy-nucleotides: In vitro model for selection of target sequence. *J Biol Chem*. 1994 269:14205-10.
- 18) Wakita T, Kakumu S, Shibayama M, Yoshioka K, Ito Y, Shinagawa T, Ishikawa T, Takayanagi M, Morishima T. Detection of pre-C and core region mutants of hepatitis B virus in chronic hepatitis B virus carriers. *J Clin Invest*. 1991 88: 1793-801
- 19) Wakita T, Kakumu S, Yoshioka K, Ishikawa T, Ito Y, Shinagawa T. Cellular immune responses of peripheral blood mononuclear cells to HBV antigens during chronic and acute HBV infection. *Digestion* 1992 52 : 26-33
- 20) Yoshioka K, Kakumu S, Wakita T, Ishikawa T, Ito Y, Takayanagi M, Higashi Y, Shibata M, Morishima T. Detection of hepatitis C virus by polymerase chain reaction and response to interferon - alpha therapy : relationship to genotypes of hepatitis C virus. *Hepatology* 1992 16: 293-9

特許

- 1)US 08/474,700 Antisense inhibition of hepatitis C virus
- 2)US 08/467,859 Chimeric hepatitis B/hepatitis C virus vaccine
- 3)PCT/US95/13552 Hepatitis virus vaccine
- 4)平 8-195076 C型肝炎モデル動物
- 5)特願 2000-367365 劇症C型肝炎ウイルス株の遺伝子
- 6)特願 2002-096383 C型慢性肝炎、肝硬変、肝癌病態を呈するモデル動物およびその作製方法
特許番号： EP 1627917, JP 4694208, US 7935676, CN 200380110406.5
- 7)発明の名称： 遺伝子型 2a のC型肝炎ウイルス (HCV) ゲノム由来の核酸を含む核酸構築物、及び該核酸構築物を導入した細胞 登録国： EP, JP, US, CN
- 8)発明の名称： 新規HCV ウィルス株の遺伝子、核遺伝子を含む核酸構築物、及び該核酸構築物を導入した細胞 登録国： US, JP 特許番号： US 7659103, EP 1721985 1942191, CN 200580011515
- 9)発明の名称： ヒトC型肝炎ウイルスの全長ゲノムを含む核酸構築物及び該核酸構築物を導入した組換え全長ウイルスゲノム複製細胞、並びにヒトC型肝炎ウイルス粒子の作成方法 登録国： US, EP, CN 特許番号： AU 200527513, EP 1801209
- 10)発明の名称： 自律複製能を有する改変されたヒトC型肝炎ウイルスゲノム RNA 登録国： AU, EP 特許番号： EP 1930416
- 11)発明の名称： 新規組換え型ヒトC型肝炎ウイルス様粒子とその産生方法 登録国： E P 特許登録日： 2011年12月14日 特許番号： EP 1956087
- 12)発明の名称： 感染性C型肝炎ウイルス粒子高生産系 登録国： E P 特許登録日： 2010年5月26日
- 13)特願 2006-351809 C型肝炎ウイルス阻害剤を検出するためのアッセイ方法
- 14)特願 2007-167916 UV によるC型肝炎ウイルスの不活化方法
- 15)特願 2007-184587 感染性エピトープタグ化HCV粒子とその利用
- 16)特願 2007-193413 C型肝炎ウイルス (HCV) に対して感染阻害活性を有する抗体およびその用途
- 17)特願 2008 遺伝子型 1b のC型肝炎ウイルス粒子の高効率産生法
- 18)特願 2009- C型肝炎ウイルスワクチン組成物
- 19)特願 2009- C型肝炎ウイルス (HCV) に対して感染阻害活性を有する抗体およびその用途







その他の分担研究課題

京大 千葉 勉: 免疫系を保持した新規マウスモデル
 神戸大 堀田 博: HBx結合蛋白質
 名市大 飯島沙幸: HBsによるERストレス
 山梨大 榎本信幸: PreS変異解析
 感染研 加藤孝宣: 薬剤耐性機構解析
 東芝病院 Akbar: 病原免疫と防御免疫
 昭和大 森川賢一: 感染細胞の網羅的プロテオーム
 熊本大 有海康雄: HBVゲノム核内維持機構

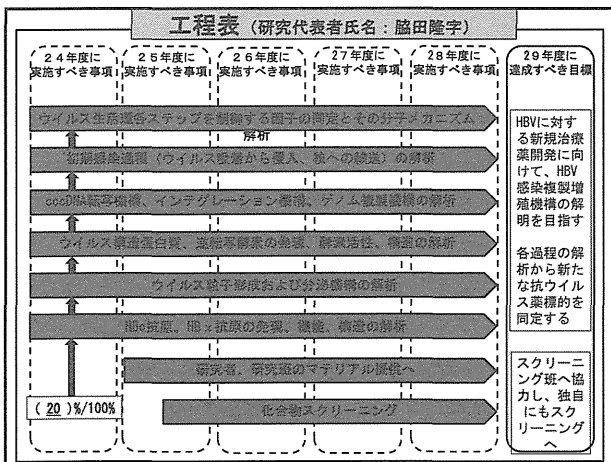
今後の予定

研究材料の共有

- ・HBV発現プラスミド
- ・抗体作製 (core, pol, X etc)
- ・環状ペプチド作成
- ・スクリーニング班へアッセイ系の提供

研究情報の共有

- ・HBV国際シンポジウム (H24 9/22~25、英国)
- ・肝炎ウイルス研修会 (H24 12/14~15、感染研)
- ・研究会会議 (H25 1/16、感染研)
- ・日本・台湾HBV研究会 (H25 4/13-14、感染研)
- ・HBV国際シンポジウム (H25 10/20~23、上海)



利益相反について

利益相反の有無等 (平成24年度)

ア 利益相反の有無 有・無 (いずれかを記載)
 イ 利益相反がある場合には具体的内容 (以下に記載)

なし

他の研究班への参加状況

研究代表者が、「肝炎等克服緊急対策研究事業」または「難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業（肝炎関係研究分野）」研究班の研究代表者として参加しているか（ア又はイに記載）

「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に関する研究班」の研究代表者である。

3年間の研究で当初からHBVの研究も一部含んでいたが代表者の研究に重複は無く、今年度で終了する

合同研究会議開催状況

他の研究班と合同での研究会議開催状況（平成24年度）

平成24年7月31日 合同班長会議、B型肝炎ウイルスの感染複製機構の解明に関する研究（脇田隆宇）、HBVの感染初期過程を評価する系の開発とそれをを用いた感染阻害低分子化合物およびレセプター探索研究（下遠野邦忠）、上田班、成松班

平成24年8月30日 合同班会議、B型肝炎ウイルスの感染複製機構の解明に関する研究（脇田隆宇）、培養細胞研究（田中靖人）

平成25年1月31日 合同班会議、B型肝炎ウイルスの感染複製機構の解明に関する研究（脇田隆宇）、HBVの感染初期過程を評価する系の開発とそれをを用いた感染阻害低分子化合物およびレセプター探索研究（下遠野邦忠）、上田班

平成 24 年度 B型肝炎創薬実用化等研究事業『成果概要』

研究課題：B型肝炎ウイルス感染受容体の分離・同定と感染系の樹立及び感染系による病態機構の解析と新規抗HBV剤の開発 (H24-B創-肝炎-一般-005)

課題番号：H24-B創-肝炎-一般-005

予定期間：H24年度からH28年度まで

研究代表者：上田啓次

所属研究機関：国立大学法人大阪大学

所属部局：大学院医学系研究科

職名：教授

年次別研究費(交付決定額)：1年目 195,000,000 円

I. 研究の意義

- (1) HBV 感染受容体は未知であり、また HBV には簡便かつ有効な感染系が存在しない。
- (2) 上記に付随して、HBV 感染機構を含めた HBV の生活環、HBV 関連病態発症機構は不明な点が多い。
- (3) HBV の特性や病態に基づいた治療法は開発されていない。
- (4) 糖鎖修飾はウイルス感染動態や病態発症と深く関わるが、HBV 感染機構や関連病態との関わりは不明である。
- (5) HBV 持続感染には免疫抑制機構が関わっていると考えられるが、その機構の詳細は不明である。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) HBV 感染受容体の分離・同定は、有用な HBV 感染系の構築、立体構造に基づいた新規治療薬の開発に発展する。
- (2) HBV 感染系の構築は、HBV の感染機構/生活環、HBV 関連病態機構の解明、新規治療薬・治療法の探索・開発に発展する。
- (3) HBV の感染機構/生活環、HBV 関連病態機構の解明は治療標的を具体化する。
- (4) HBV ポリメラーゼの全長或は領域別発現・精製は活性測定系を可能にし、high-throughput 薬剤探索系構築や立体構造に基づいた新規治療薬の開発に発展する。
- (5) 糖鎖修飾と HBV 感染・病態発症機構との関連性の解明は、HBV 感染機構や病態発症に関わるバイオマーカーの同定に繋がり、検査法の開発に繋がる。
- (6) HBV 持続感染をもたらす免疫抑制機構の解明は、病態発症機構の解明、新たな治療戦略の標的を具体化する。

III. 1年間の研究成果

- ・研究代表者 (上田啓次)
 - (1) B型肝炎ウイルス (HBV) 膜蛋白の PreS1 領域と相互作用する因子を分離した (成果概要図 1A)。
 - (2) 感染誘導処理+/-、分化誘導処理+/-で変動する蛋白分子を 2次元電気泳動法で同定した。
 - (3) NTCP はある種の現存肝癌培養細胞株では発現が認められないことが解った (成果概要図 2B)。
- ・研究分担者 (森石恆司)
 - (1) HepG2 細胞に対して FACS を行い、PreS1S2-Fc 蛋白質が特異的に結合する細胞集団を確認した (成果概要図 1B)。
 - (2) HBV を産生している HepG2. 2. 15 細胞の細胞内微小器官の特異的变化を透過電子顕微鏡で観察し、報告されている様な Fillopodia の消失はないことを確認した。
- ・研究分担者 (黒木和之)
 - (1) ヒト肝癌由来細胞株 HuH7 は DMSO 存在下で培養することで HBV 感染を許容することが解った。

(2) NTCP*遺伝子など肝細胞特異的遺伝子の発現上昇が見られることを確認した。(*NTCP2がHBVレセプターの少なくとも一端を担っていることが2011年11月中旬に報告されたため、班内で真偽を含め検討中である)

・研究分担者(黒田俊一)

(1) 出芽酵母で作製したHBV表面抗原L粒子がHuH7細胞に低親和性受容体から高親和性受容体に受け渡され、クラスリン依存性エンドサイトーシス及びマクロピノサイトーシスで取込まれることを確認した。

(2) 細胞内侵入速度は、L粒子とHBV(報告値)とで大差がなかった。

・研究分担者(岡本徹)

(1) B型肝炎ウイルス(HBV)のエンベロープタンパク質を搭載した水疱性口内炎ウイルスのシュードタイプ(VSVpv)は、コントロールウイルスに比べHepG2細胞に高い感染性を示すことを確認した(成果概要図2A)。

・研究分担者(三善英知)

(1) HB611細胞(HBV産生細胞)ではHuh6細胞に較べて、SSAおよびAALレクチンとの結合が増加し、逆にE4-PHAとの著明な結合性の低下を認めた。

(2) Hep3B, HepG2, Huh7にGnT-III, GnT-V, Fut8などの糖鎖遺伝子の発現ベクターを導入し、糖鎖改変細胞を樹立し、著名な糖鎖構造変化を確認した(成果概要図3)。

・研究分担者(三崎亮)

(1) HBV粒子膜粒子の糖鎖構造解析・改変のためのHBV pseudotype particle (HBVpp) (研究代表者より提供)の数10~数100 nmol程度の確保を目指しHBVppの大量生産を行っている。

・研究分担者(竹原徹郎)

(1) 免疫抑制に関わる抹消血単核球のMDSCの頻度を測定し、健常人に比し、B型慢性肝炎患者ではMDSCの頻度が高い傾向にあることを確認した(成果概要図4A)。

・研究分担者(考藤達哉)

(1) 免疫抑制作用を有すると考えられるindoleamine-2,3-dioxygenase (IDO)の活性はHBV慢性肝炎患者では亢進し、HBV産生細胞(Hep2.2.15, HB611)とその親株で差がないことを確認し、HBV感染による炎症がIDO活性亢進に重要であることが示唆された(成果概要図4B)。

・研究分担者(大崎恵理子)

(1) HBVポリメラーゼの大腸菌での発現により、ドメインを構成する末端蛋白、逆転写酵素領域の発現・精製に成功した。

IV. 平成25~28年度の課題

(1) HBV感染受容体を分離・同定し、培養細胞系及び個体レベルでの感染系を構築する。

(2) HBV感染受容体を分離・同定し、その立体構造に基づく創薬を実行する。

(3) 感染系樹立により、HBV関連病態発症モデルを構築し、病態発症機構を解明する。

(4) 感染系樹立により、新規抗HBV剤のアッセイ系を確立する。

(5) HBVポリメラーゼ全長或は領域別発現により、活性測定系の樹立、立体構造解析によるhigh-throughput薬剤探索/*in-silico*創薬デザインを実現する。

(6) 糖鎖修飾とHBV感染、関連病態発症機構を解明し、新たなバイオマーカーを創出する。

(7) HBV持続感染をもたらす免疫抑制機構を解明し、新規治療戦略を開発する。

V. 行政施策への貢献の可能性

(1) HBV感染を阻止、HBV感染患者の治療予後を改善する。

(2) HBV感染による病態(肝炎、肝硬変、肝癌)に対する治療法のプロトコール/ガイドライン作成に寄与する。

(3) HBVワクチン不応者・不効者、救急的HBV感染阻止が必要な場合の開発薬剤の利用ガイドラ

インの作成に寄与する。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

研究代表者 (上田啓次)

- (1) Ueda, K., Ohsaki, E., and Omori, H. “Successful Generation of Hepatitis B virus (HBV) Pseudotype; a versatile tool for Identification of the HBV Receptor and Investigation of HBV infectivity.” *Biochem. Biophys. Res. Comm.* (under revision)

研究分担者 (黒田俊一)

- (1) Yamada, M., Oeda A., Jung J.H., Iijima M., Yoshimoto, N., Niimi, T., Jeong, S.Y., Choi, E.K., Tanizawa, K., and Kuroda, S. Hepatitis B Virus Envelope L Protein-Derived Bio-Nanocapsules: Mechanisms of Cellular Attachment and Entry into Human Hepatic Cells. *J. Controlled Release* 160: 322-329, 2012.
- (2) Somiya, M., Yoshimoto, N., Iijima, M., Niimi, T., Dewa, T., Jung, J., and Kuroda, S. “Targeting of Polyplex to Human Hepatic Cells by Bio-nanocapsules,” *Hepatitis B Virus Surface Antigen L Protein Particles. Bioorg. Med. Chem.* 20: 3873-3879, 2012.
- (3) Matsuo, M., Yoshimoto, N., Iijima, M., Niimi, T., Jung, J., Jeong, S. Y., Choi, E. K., Sewaki, T., Arakawa, T., and Kuroda, S. “Engineered bio-nanocapsules, hepatitis B virus surface antigen L protein particles, for in vivo active targeting to splenic dendritic cells.” *Int. J. Nanomed.* 7: 3341-3350, 2012.

研究分担者 (三善英知)

- (1) Nakagawa T, Moriwaki K, Terao N, Nakagawa T, Miyamoto Y, Miyoshi E. “Analysis of polarized secretion of fucosylated alpha-fetoprotein in HepG2 cells.” *J. Proteome Res* 11(5): 2798-806, 2012.
- (2) Mehta AS, Norton P, Liang H, Comunale MA, Wang M, Rodemich-Betesh L, Koszycki A, Noda K, Miyoshi E, Block T. “Increased levels of tetra-antennary N-linked glycan but not core fucosylation are associated with hepatocellular carcinoma tissue.” *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 21(5): 925-933, 2012.

研究分担者 (竹原徹郎)

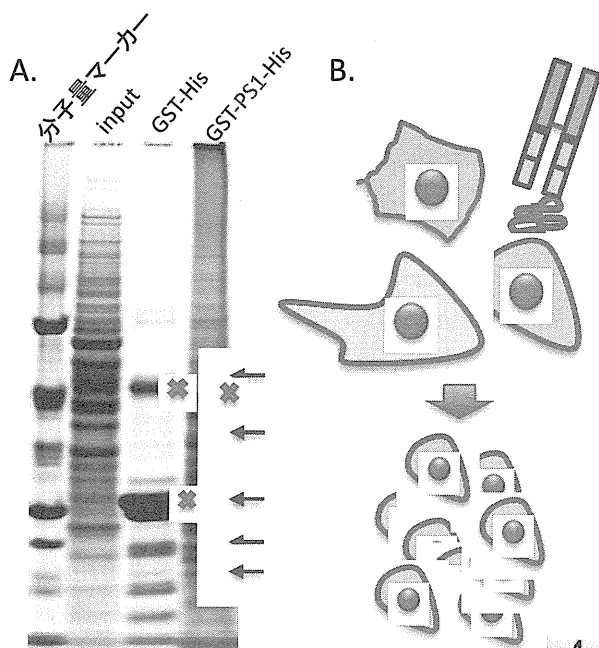
- (1) Nishida T, Hiramatsu N, Mizuki M, Nagatomo I, Kida H, Tazumi K, Shinzaki S, Miyazaki M, Yakushijin T, Tatsumi T, Iijima H, Kiso S, Kanto T, Tsujii M, Takehara T. “Managing hepatitis B virus carriers with systemic chemotherapy or biologic therapy in the outpatient clinic.” *Hepatol Res* (in press)
- (2) Nawa T, Ishida H, Tatsumi T, Li W, Shimizu S, Kodama T, Hikita H, Hosui A, Miyagi T, Kanto T, Hiramatsu N, Hayashi N, Takehara T. “Interferon- α suppresses hepatitis B virus enhancer II activity via the protein kinase C pathway.” *Virology* 432: 452-459, 2012.

研究分担者 (考藤達哉)

- (1) Matsubara, T., Kanto, T., Kuroda, S., Yoshio, S., Higashitani, K., Kakita, N., Miyazaki, M., Sakakibara, M., Hiramatsu, N., Kasahara, A., Tomimaru, Y., Tomokuni, A., Nagano, H., Hayashi, N. and Takehara, T. “TIE2-expressing monocytes as a diagnostic marker for hepatocellular carcinoma correlated with angiogenesis. *Hepatology* (in press)
- (2) Higashitani, K., Kanto, T., Kuroda, S., Yoshio, S., Matsubara, T., Kakita, N., Oze, T., Miyazaki, M., Sakakibara, M., Hiramatsu, N., Mita, E., Imai, Y., Kasahara, A., Okuno, A., Takikawa, O., Hayashi, N. and Takehara, T. “Association of enhanced activity of indoleamine 2,3-dioxygenase in dendritic cells with the induction of regulatory T cells in chronic hepatitis C infection.” *J Gastroenterol.* (in press)

Ⅶ. Ⅲ (1年間の研究成果)の概要図等

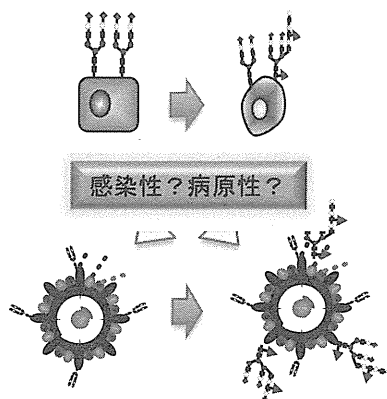
1. HBV preS1と相互作用する因子の分離、細胞の濃縮 (FACS)



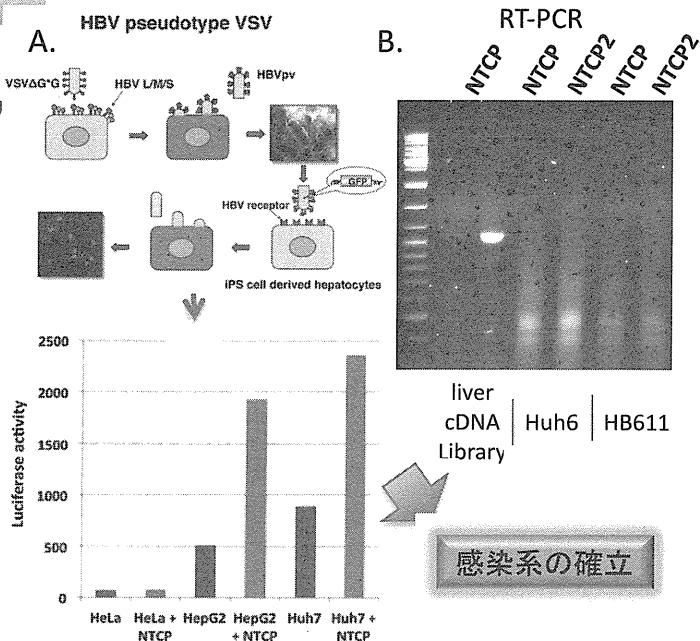
※:プローブ ←:特異的相互因子

結合因子の同定
全容解明・感染系の確立

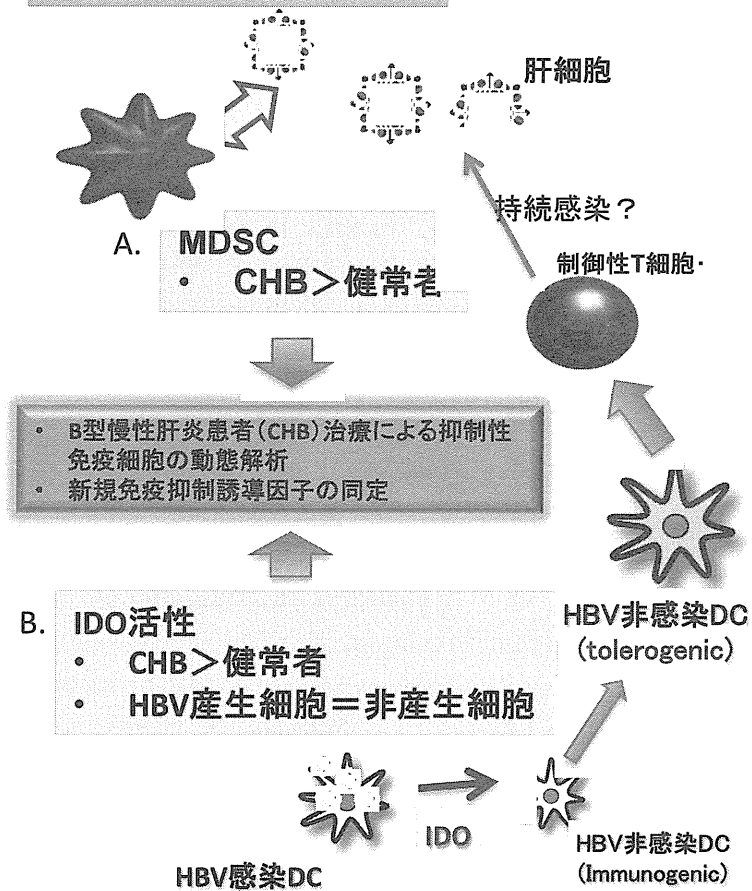
3. 糖鎖改変細胞の樹立
糖鎖改変HBVの作製



2. NTCPのHBV受容体としての検証



4. 抑制性免疫細胞の解析



●研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

- 1986～1992：大阪大学細胞工学センター（松原謙一研究室）
1992～1995：カリフォルニア大学サンフランシスコ校（Don Ganem 研究室）
1996～1999：大阪大学医学部第一内科消化器研究室（鎌田武信研究室）
1999～2006：大阪大学医学部微生物学教室（山西弘一研究室）
2006～2009：浜松医科大学感染症学感染機構解析分野
2009～現在：大阪大学大学院医学系研究科感染免疫医学講座ウイルス学

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

- 1986～1992：大阪大学細胞工学センター（松原謙一研究室）/松原謙一、釣本俊樹、千坂修
1992～1995：カリフォルニア大学サンフランシスコ校（Don Ganem 研究室）/Don Ganem
1996～1999：大阪大学医学部第一内科消化器研究室（鎌田武男研究室）/鎌田武信、林紀夫
1999～2006：大阪大学医学部微生物学教室（山西弘一研究室）/山西弘一

・主な研究課題

- 1) 抗 HBV 剤スクリーニングシステムの開発
- 2) 感染性粒子形成に関わる HBV 膜蛋白機能の解析
- 3) HBV プレゲノム RNA 転写制御機構の解明
- 4) ウッドチャック肝炎ウイルスによる発癌機構解明
- 5) カポジ肉腫関連ヘルペスウイルスの前初期遺伝子活性化機構の解明
- 6) カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス溶解複製機構の解明
- 7) カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス潜伏感染複製と遺伝子発現制御機構の解明
- 8) カポジ肉腫関連ヘルペスウイルスによる発癌機構の解明
- 9) HBV HBs 粒子形成能を利用した万能型ワクチン創製技術の開発
- 10) HBV pseudotype の作製による HBV レセプター同定戦略

・これまでの研究実績

欧文原著

1. *Ueda, K., Ohsaki, E., and Omori, H. "Successful Generation of Hepatitis B virus (HBV) Pseudotype; a versatile tool for Identification of the HBV Receptor and Investigation of HBV infectivity." Biochem. Biophys. Res. Comm. (under revision)*
2. *Ueda, K. "Kaposi's Sarcoma-associated Herpesvirus Induced Tumorigenesis; how viral oncogenic Insults are evaded." J.Blood and Lymph 2:3, 2012. doi.org/10.4172/2165-7831.1000e109.*

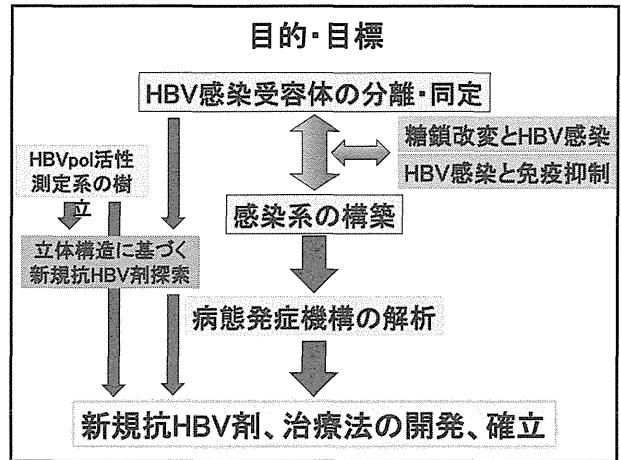
3. Ueda, K. “For the future studies of Kaposi’s sarcoma-associated herpesvirus”. An Editorial. *Frontiers in Virology* 3: 1-2, 2012. doi: 10.3389/fmicb.2012.00237.
4. Ohsaki, E. and Ueda, K. “Kaposi’s Sarcoma-Associated Herpesvirus Genome Replication, Partition and Maintenance in the Latency.” *Frontiers in Virology*. 3:7-19, 2012. doi: 10.3389/fmicb.2012.00007.
5. Ueda, K., Ohsaki, E., Nakano, K., and Zheng, X. “Characterization of Kaposi’s sarcoma-associated virus-associated lymphomas by DNA array analysis.” In "Leukemia Research and Diagnosis in the Era of High-throughput Genome Analysis (LRD). *Leukemia Research and Treatment*. doi:10.4061/2011/726964.
6. Ueda, K., Ito, E., Karayama, M., Ohsaki, E., Nakano, K., and Watanabe, S. “Kaposi’s sarcoma-associated Virus governs gene expression profiles toward B cell transformation.” In " *Herpesviruses*" Magel, D. G. and Tyring, S., ed., In-Tech ISBN 978-953-51-0186--4. pp93-104, 2012.
7. Suzuki, T., Isobe, T., Kitagawa, M., and Ueda, K. “Kaposi’s sarcoma-associated herpesvirus-encoded LANA positively affects on ubiquitylation of p53.” *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 403: 194-197, 2010.
8. Ueda, K., Ito, E., Karayama, M., Ohsaki, E., Nakano, K., Watanabe, S. “KSHV-infected PEL cell lines exhibit a distinct gene expression profile.” *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 394: 482-487, 2010.
9. Ohsaki, E., Suzuki, T., Karayama, M., Ueda, K. “Accumulation of LANA at Nuclear Matrix fraction is important for Kaposi’s Sarcoma-Associated Herpesvirus Replication in Latency.” *Virus Research* 134: 74-84, 2009.
10. Ueda, K., Sakakibara, S., Ohsaki, E., Yada, K. “Lack of a Mechanism of Faithful Partition and Maintenance for the KSHV Genome.” (2006) *Virus Research* 122: 85-94.
11. Ohsaki, E., Ueda, K., Sakakibara, S., Do, E., Yada, K., Yamanishi, K. (2004) “PARP1 (poly [ADP-ribose] polymerase 1) binds with Kaposi’s sarcoma-associated herpesvirus (KSHV) terminal repeat sequence and modulated KSHV replication in latency.” *J. Virol.* 78 (18): 9936-9946.
12. Nishimura, K., Ueda, K., Guwanan, E., Sakakibara, S., Do, E., Ohsaki, E., Yada, K., Okuno, T., Yamanishi, K. (2004) “Posttranscriptional regulator of Kaposi’s sarcoma-associated herpesvirus interacts with RNA-binding protein PCBP1 and controls gene expression through the IRES.” *Virology* 325: 364-378.
13. Sakakibara, S., Ueda, K., Nishimura, K., Ohsaki, E., Do, E., Yamanishi, K. (2004) “Accumulation of heterochromatin components on the terminal repeat sequence of Kaposi’s sarcoma-associated herpesvirus mediated by the latency-associated nuclear antigen.” *J. Virol.* 78 (14): 7299-7310.
14. Nishimura, K., Ueda, K., Sakakibara, S., Okuno, T., Yamanishi, K. (2003) “A viral transcriptional activator of Kaposi’s sarcoma-associated herpesvirus (KSHV) induces

- apoptosis, which is blocked in KSHV-infected cells.” *Virology* 316: 64-74.
15. Ueda, K., Ishikawa, K., Nishimura, K., Sakakibara, S., Do, E., Yamanishi, K. (2002) “Kaposi’s sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) replication and transcription factor activates the K9 (vIRF) through two distinct cis elements by a non-DNA binding mechanism.” *J. Virol.* 76 (23): 12044-12054.
 16. Sakakibara, S., Ueda, K., Chen, J., Okuno, T., Yamanishi, K. (2001) “The octamer-binding sequence is a key element for the autoregulation of Kaposi’s sarcoma-associated herpesvirus ORF50/Lyta gene expression.” *J. Virol.* 75 (15): 6894-6900.
 17. Chen, J., Ueda, K., Sakakibara, S., Okuno, T., Parravicinim, C., Corbellino, M., Yamanishi, K. (2001) “Activation of latent Kaposi’s sarcoma-associated herpesvirus by demethylation of the promoter of lytic transactivator.” *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 90: 4119-4124.
 18. Chen, J., Ueda, K., Sakakibara, S., Okuno, T., Yamanishi. (2000) “Transcriptional regulation of the Kaposi’s sarcoma-associated herpesvirus viral interferon regulatory factor gene.” *J. Virol.* 74 (18): 8623-8634.
 19. Haque, M., Chen, J., Ueda, K., Mori, Y., Nakano, K., Hirata, Y., Kanamori, S., Uchiyama, Y., Inagi, R., Okuno, T. Yamanishi, K. (2000) “Identification and analysis of the K5 gene of Kaposi’s sarcoma-associated herpesvirus.” *J. Virol.* 74 (6): 2867-2875.
 20. Ishida, H., Ueda, K., Ohkawa, K., Kanazawa, Y., Hosui, A., Nakanishi, F., Mita, E., Kasahara, A., Sasaki, Y., Hori, M., Hayashi, N. (2000) “Identification of multiple transcription factors, HLF, FTF, and E4BP4, controlling hepatitis B virus enhancer II.” *J. Virol.* 74 (3): 1241-1251.
 21. Yamamoto, M., Hayashi, N., Takehara, T., Ueda, K., Mita, E., Tatsumi, T., Sasaki, Y., Kasahara, A., Kamada, T. (1999) “Intracellular single-chain antibody against hepatitis B virus core protein inhibits the replication of hepatitis B virus in cultured cells.” *Hepatology* 30 (1): 300-307.
 22. Ueda, K., Wei, Y., and D. Ganem. (1996) “Cellular factors controlling the activity of woodchuck hepatitis virus enhancer II.” *J. Virol.* 70 (6): 4714-4723.
 23. Ueda, K., Wei, Y., and D. Ganem. (1996) “Activation of N-myc2 gene expression by cis-acting elements of oncogenic hepadnaviral genomes: a key role of enhancer II.” *Virology* 217: 413-417.
 24. Ueda, K., and D. Ganem. (1996) “Apoptosis is induced by N-myc expression in hepatocytes, a frequent event in hepadnaviral oncogenesis, and is blocked by IGF II.” *J. Virol.* 70 (3): 1375-1383.
 25. Kawamoto, S., Ueda, K., Mita, E., Matsubara, K. (1994) “The packaging signal in hepatitis B virus pregenome functions only at the 5’ end.” *J. Virol. Meth.* 49 (2): 113-127.

26. Takehara, T., Hayashi, N., Mita, E., Hagiwara, H., Ueda, K., Katayama, K., Kasahara, A., Fusamoto, H., Kamada. (1992) "Detection of the minus strand of hepatitis C virus RNA by reverse transcription and polymerase chain reaction." *Hepatology* 15 (3): 387-390.
27. Hagiwara, H., Hayashi, N., Mita, E., Ueda, K., Takehara, T., Kasahara, A., Kamada, T. (1992) "Detection of hepatitis C virus RNA in serum of patients with chronic hepatitis C treated with interferon- α ." *Hepatology* 15 (1): 37-41.
28. Ueda, K., Tsurimoto, T., Matsubara, K. (1991) "Three envelope proteins of hepatitis B virus: large S, middle S and major S proteins needed for the formation of Dane particles." *J. Virol.* 65 (7): 3521-3629.
29. Yuki, N., Hayashi, N., Kasahara, A., Katayama, K., Ueda, K., Fusamoto, H., Kamada, T. (1990) "Detection of antibodies against the polymerase gene product in hepatitis B virus infection." *Hepatology* 12 (2): 193-198.
30. Kawamoto, S., Yamamoto, S., Ueda, K., Nagahata, T., Chisaka, O., Matsubara, K. (1990) "Translation of hepatitis B virus DNA polymerase from the internal AUG codon, not from the upstram AUG codon for the core protein." *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 171 (3): 1130-1136.
31. Ueda, K., Tsurimoto, T., Nagahata, T., Chisaka, O., Matsubara, K. (1989) "An in vitro system for screening anti-hepatitis B virus drugs." *Virology* 169 (1): 213-216.
32. Ochiya, T., Tsurimoto, T., Ueda, K., Okubo, K., Shiozawa, M., Matsubara, K. (1989) "An in vitro system for infection with hepatitis B virus that uses primary human fetal hepatocytes." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 86: 1875-1879.
33. Katayama, K., Hayashi, N., Sasaki, Y., Kasahara, A., Ueda, K., Fusamoto, H., Sato, N., Chisaka, O., Matsubara, K., Kamada, T. (1989) "Detection of hepatitis B virus X gene protein and antibody in type B chronic liver disease." *Gastroenterology* 97(4): 990-998.
34. Nagahata, T., Ueda, K., Tsurimoto, T., Chisaka, O., Matsubara, K. (1989) "Anti-hepatitis B virus activities of purine derivatives of oxetanocin A." *J. Antibiotics* 42(4): 644-646.
35. Ochiya, T., Tsurimoto, T., Ueda, K., Okubo, K., Shiozawa, M., Matsubara, K. (1989) "An in vitro system for infection with hepatitis B virus that uses primary human fetal hepatocytes." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 86: 1875-1879.

B型肝炎ウイルス感染受容体の分離・同定と感染系の樹立、及び感染系による病態機構の解析と新規抗HBV剤の開発

上田 啓次
大阪大学大学院
医学系研究科



B型肝炎ウイルス感染受容体の分離・同定と感染系の樹立、及び感染系による病態機構の解析と新規抗HBV剤の開発

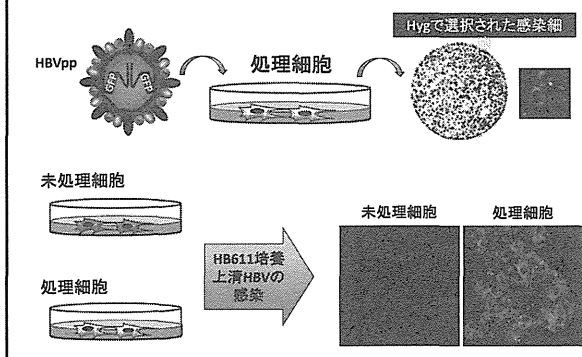
上田 啓次 大阪大学大学院医学系研究科

森石 恒司 山梨大学大学院医学工学総合研究院
黒田 俊一 名古屋大学大学院生命農学研究科
黒木 和之 金沢大学がん進展制御研究所
岡本 徹 大阪大学微生物病研究所
三善 英知 大阪大学大学院医学系研究科
三崎 亮 大阪大学生物工学国際交流センター
竹原 徹郎 大阪大学大学院医学系研究科
考藤 達哉 大阪大学大学院医学系研究科
大崎恵理子 大阪大学大学院医学系研究科

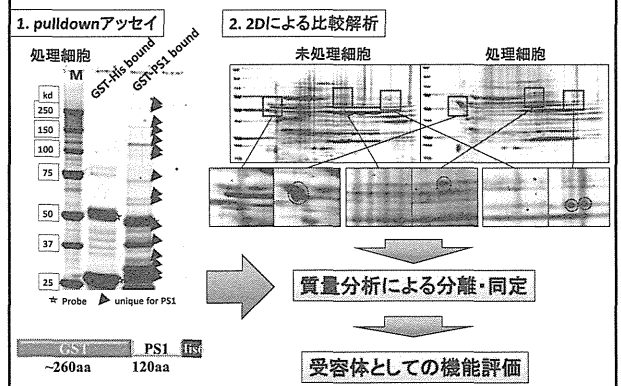
HBV感染受容体の分離・同定、感染系樹立による新規抗HBV剤の開発

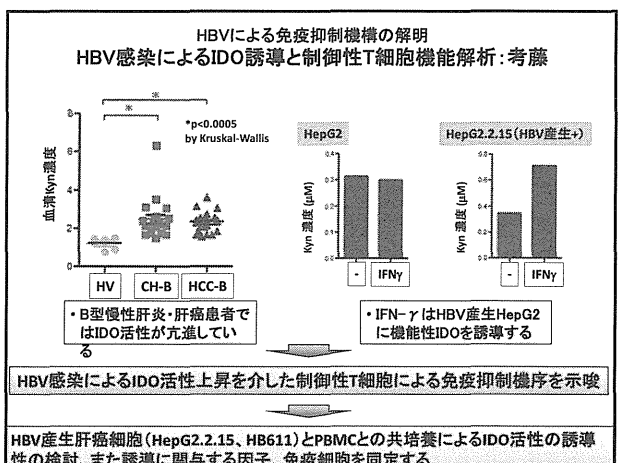
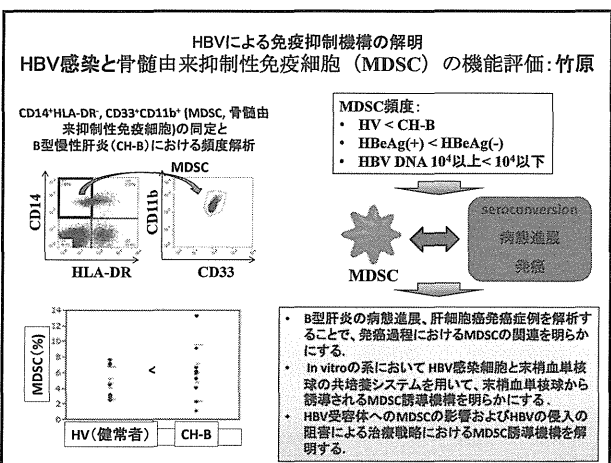
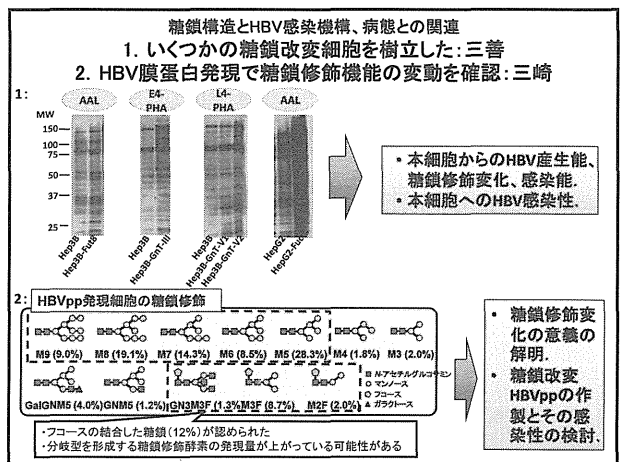
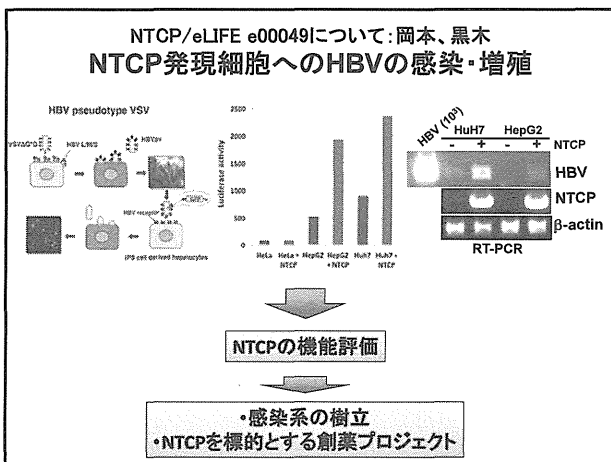
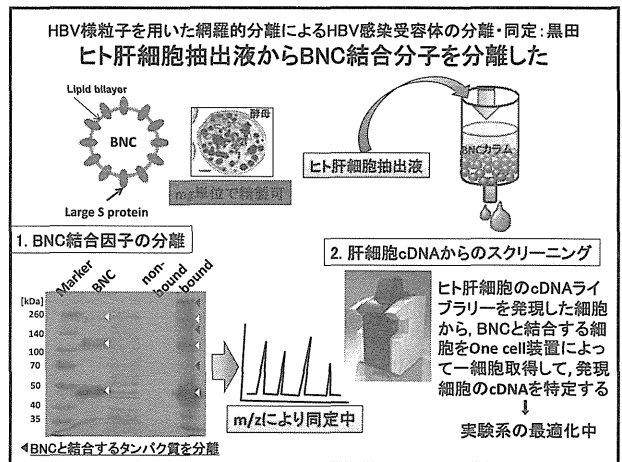
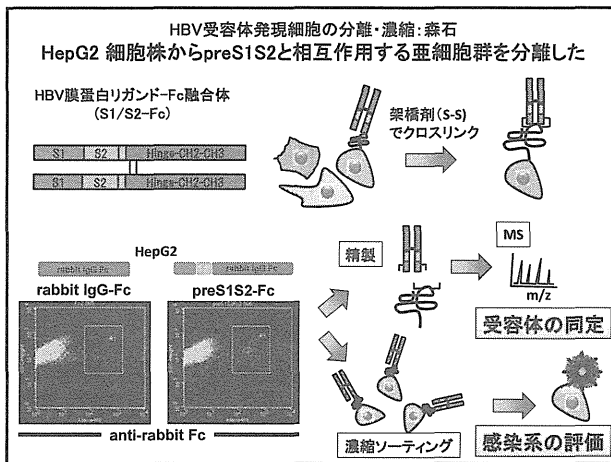
- 多角的アプローチ、視点
 - 受容体の分離・同定と感染系の樹立
 - 受容体活性化を指標にした差分解析: 上田
 - 効率的な *in vitro* 感染系の樹立: 森石、黒木
 - HBV様膜分子による受容体の分離・同定: 黒田
 - 感染阻害化合物による分離・同定: 黒木、森石
 - シグナル伝達経路からのアプローチ: 岡本
 - 糖鎖修飾とHBV感染機構、病態との関連
 - 糖鎖改変培養細胞におけるHBV産生・感染能: 三善
 - 糖鎖改変HBVの感染能: 三崎
 - HBVによる免疫抑制機構の解明
 - HBV感染と骨髄由来抑制性免疫細胞機能: 竹原
 - HBV感染によるIDO誘導と制御性T細胞機能: 考藤
 - HBVpolの特性に基づいた抗HBV剤の探索・開発
 - HBVpolの発現・精製、アッセイ系の確立、立体構造解明: 大崎

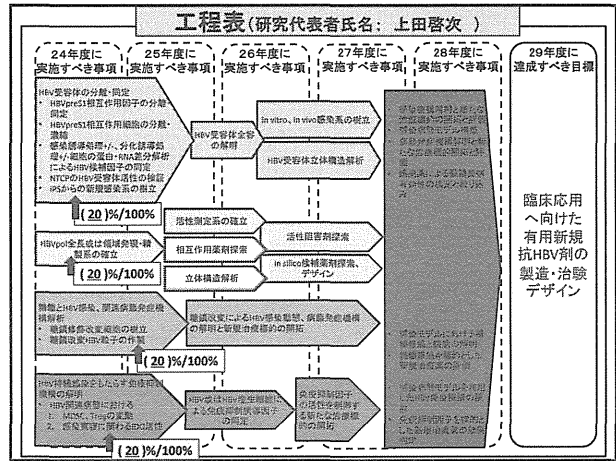
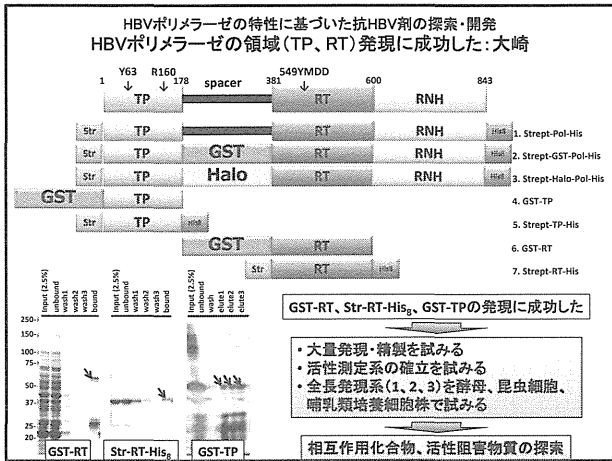
受容体活性化を指標にした差分解析: 上田
処理による感染性獲得の証明



受容体活性化を指標にした差分解析: 上田
感染性を獲得した細胞からのHBV受容体候補因子の分離







利益相反について

利益相反の有無等

ア 利益相反の有無 有・無(いずれかを記載)

イ 利益相反がある場合には具体的内容(以下に記載)

他の研究班への参加状況

研究代表者が「肝炎等克服緊急対策研究事業」または「難病・がん等の疾患分野の医療の有用化研究事業(肝炎関係研究分野)」研究班の研究代表者として参加しているか(ア又はイに記載)

ア 上記研究事業の研究班の研究代表者として参加していない。

イ 上記研究事業の研究班の研究代表者として参加している。(以下①、②を記載)

①(研究班名)「〇〇〇研究班」(研究代表者名: 〇〇〇〇)

② 他の研究班で担当している研究と、今回申請している研究の違い(研究内容が重複していないことを具体的に説明)

①「1」ウイルス性肝炎からの発がん及び肝がん再発の抑制に関する研究(研究代表者: 林 紀夫)
①「2」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に関する研究(研究代表者: 脇田隆字)
②上記研究では分担研究者として、それぞれHBVリガンドを用いた付着因子の探索、HBV pseudotypeの作製とその応用を中心に研究を実施した。

本申請では、HBV感染受容体分離・同定に向けて、代表者として受容体分離・同定と感染系の樹立を中心として、病態機構の解析、新規治療薬の開発研究を総括し、自身としては、これまで得た知見をもとにして、次なるステップ: 現存培養肝癌細胞で存在が予測される付着因子の差分解析による分離・同定を皮切りにプロジェクトを遂行する。糖鎖修飾からみたHBV感染機構や病態との関連、HBVによる免疫抑制機構、HBVポリメラーゼの活性測定系の確立と応用は新規の研究課題である。

合同研究会議開催状況

他の研究班と合同での研究会議開催状況(平成24年度)

ア 他の研究班と合同で研究会議を開催していない。

④ 他の研究班と合同で研究会議を開催している。
(開催している場合は、①開催日、②他の研究班の名称、③他の研究班の研究代表者名を記載してください)

平成24年7月31日(合同班長会議)

- B型肝炎ウイルスの感染複製機構の解明に関する研究(脇田隆字)
- HBVの感染初期過程を評価する系の開発とそれを用いた感染阻害低分子化合物およびレセプター探索(下遠野邦忠)
- B型肝炎ウイルスにおける糖鎖の機能解析も併用応用技術の実用化へ(成松 久)

平成25年1月16日

- B型肝炎ウイルスの感染複製機構の解明に関する研究(脇田隆字)
- HBVの感染初期過程を評価する系の開発とそれを用いた感染阻害低分子化合物およびレセプター探索(下遠野邦忠)