

Takamatsu S, Onoguchi K, Onomoto K, Narita R, Takahasi K, Ishidate F, Fujiwara TK, Yoneyama M, Kato H, Fujita T.: Functional Characterization of Domains of IPS-1 Using an Inducible Oligomerization System. PLoS One. 2013;8(1):e53578. doi: 10.1371/journal.pone.0053578. Epub 2013 Jan 7.

Onomoto K, Jogi M, Yoo JS, Narita R, Morimoto S, Takemura A, Sambhara S, Kawaguchi A, Osari S, Nagata K, Matsumiya T, Namiki H, Yoneyama M, Fujita T.: Critical Role of an Antiviral Stress Granule Containing RIG-I and PKR in Viral Detection and Innate Immunity. PLoS One. 2012;7(8):e43031. Epub 2012 Aug 13.

Kageyama M, Takahasi K, Narita R, Hirai R, Yoneyama M, Kato H, Fujita T.: 55 Amino acid linker between helicase and carboxyl terminal domains of RIG-I functions as a critical repression domain and determines inter-domain conformation. BBRC. 415, 75-81 (2011)

Ouda, R., Onomoto, K., Takahasi, K., Edwards, M.R., Kato, H., Yoneyama, M. and Fujita, T.: Retinoic Acid-inducible Gene I-inducible miR-23b Inhibits Infections by Minor Group Rhinoviruses through Downregulation of the Very Low Density Lipoprotein Receptor. J. Biol. Chem. 286, 26210-219 (2011)

Onomoto K., Morimoto S., Kawaguchi T., Toyoda H., Tanaka M., Kuroda M., Uno K., Kumada K., 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 2011 Volume 6 | Issue 5 | e19799

Onoguchi K, Onomoto K, Takamatsu S, Jogi M, Takemura A, Morimoto S, Julkunen I, Namiki H, Yoneyama M and Fujita T.: Virus-Infection or 5'ppp-RNA Activates Antiviral Signal through Redistribution of IPS-1 Mediated by MFN1. PLoS Pathog. 2010 Jul 22;6(7):e1001012.

Satoh T, Kato H, Kumagai Y, Yoneyama M, Sato S, Matsushita K, Tsujimura T, Fujita T., Akira S, Takeuchi O. :LGP2 is a positive regulator of RIG-I- and MDA5-mediated antiviral responses. Proc Natl Acad Sci U S A. 107, 1512-7 (2010)

Sato, S., Hoshino, K., Satoh, T., Fujita, T., Kawakami, Y., Fujita, T. and Kuwana, M.: RNA helicase encoded by melanoma differentiation-associated gene 5 is a major autoantigen in patients with clinically amyopathic dermatomyositis: association with rapidly progressive interstitial lung disease. Arthritis & Rheumatism. 60, 2193-2200 (2009)

Takahasi, K., Kumeta, H., Tsuduki, N., Narita, R., Shigemoto, T., Hirai, R., Yoneyama, M., Horiuchi, M., Ogura, K., Fujita, T., Inagaki, F.: Solution Structures of MDA5 and LGP2 C-terminal Domains: Identification of the RNA Recognition Loop in RIG-I Like Receptors. J. Biol. Chem. 284, 17465-17474 (2009)

- Shigemoto, T., Kageyama, M., Hirai, R., Zheng, J-P., Yoneyama, M., Fujita, T.: Identification of loss of function mutations in human genes encoding RIG-I and mda5: Implications for resistance to type I diabetes. *J. Biol. Chem.* 284, 13348-13354 (2009)
- Kato, H., Takeuchi, O., Mikamo-Satoh, E., Hirai, R., Kawai, T., Matsushita, K., Hiiragi, A., Dermody, TS., Fujita, T., Akira, S.: Length-dependent recognition of double-stranded ribonucleic acids by retinoic acid-inducible gene-I and melanoma differentiation-associated gene 5. *J Exp Med.* 7, 1523-1527 (2008)
- Takahasi K, Yoneyama M, Nishihori T, Hirai R, Kumeta H, Narita, R, Gale Jr. M, Inagaki F and Fujita T.: Non-self RNA-Sensing Mechanism of RIG-I Helicase and Activation of Antiviral Immune Responses. *Molecular Cell.* 29, 428-440 (2008)
- Arimoto K., Takahashi H., Hishiki T., Konishi H., Fujita T., Shimotohno K.: Negative regulation of the RIG-I signaling by the ubiquitin ligase RNF125. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 104, 7500-5 (2007)
- Onoguchi, K., Yoneyama, M., Takemura, A., Akira, S., Taniguchi, T., Namiki, H., and Fujita, T.: Viral Infections Activate Types I and III Interferon Genes through a Common Mechanism. *J. Biol. Chem.* 282, 7576-7581 (2007)
- Saito, T., Hirai, R., Loo, Yueh-Ming, D, Owen, C, L. Johnson., S., C. Shinha., Akira, S., Fujita T. and Gale Jr., M. : Regulation of innate antiviral defenses through a shared repressor domain in RIG-I and LGP2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104, 582-7 (2007)
- Kato, H., Takeuchi, O., Sato, S., Yoneyama, M., Yamamoto, M., Matsui, K., Uematsu, S., Jung, A., Kawai, T., Ishii, K. J., Yamaguchi, O., Otsu, K., Tsujimura, T., Koh, C-S., Reis e Sousa, C., Matsuura, Y., Fujita, T. and Akira, S.: Differential role of MDA5 and RIG-I in the recognition of RNA viruses. *Nature* 441, 101-105 (2006)
- Yoshikawa T., Iwasaki T., Ida-Hosonuma M., Yoneyama M., Fujita T., Horie H., Miyazawa M., Abe S., Simizu B., and Koike S.: Role of alpha/beta interferon response in the acquisition of poliovirus susceptibility of kidney cells in culture. *J. Virology* 80, 4313-25 (2006)
- Loo, Y-M., Owen, D.M., Li, K., Erickson, A.K., Johnson, C.L., Fish, P.M., Carney, D.S., Wang, T., Ishida, H., Yoneyama, M., Fujita T., Saito, T., Lee, W.M., Hagedorn, C.H., Lau, D.T., Weinman, S.A., Lemon, S.M., Gale Jr. M.: Viral and therapeutic control of IFN- $\beta$  promoter stimulator 1 during hepatitis C virus infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 6001-6 (2006)

Yoneyama, M., Kikuchi, M., Matsumoto, K., Imaizumi, T., Miyagishi, M., Taira, K., Foy, E., Loo, Y-M., Gale Jr., M., Akira, S., Kato A. and Fujita, T.: Shared and Unique Functions of the DExD/H-Box Helicase RIG-I, MDA5 and LGP2 in Antiviral Innate Immunity. *J. Immunology* 175, 2851-2858, (2005)

Kato, H., Sato, S., Yoneyama, M., Yamamoto, M., Uematsu, S., Matsui, K., Tsujimura, T., Takeda, K., Fujita, T., Takeuchi, O., and Akira, S.: Cell Type-Specific Involvement of RIG-I in Antiviral Response. *Immunity* 23, 19-28, (2005)

Ida-Hosonuma, M., Iwasaki, T., Yoshikawa, T., Nagata, N., Sato, Y., Sata, T., Yoneyama, M., Fujita, T., Taya, C., Yonekawa H. and Koike, S.: The alpha/beta interferon response controls tissue tropism and pathogenicity of poliovirus. *J. Virology* 79, 4460-4469, (2005)

Foy, E., Li, K., Sumpter Jr., R., Loo, Y-M., Johnson, C. L., Wang, C., Fish, P., Yoneyama, M., Fujita, T., and Gale Jr., M.: Control of antiviral defenses through hepatitis C virus disruption of RIG-I signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 2986-2991, (2005)

Sumpter Jr., R., Loo, Y-M., Foy, E., Li, K., Yoneyama, M., Fujita, T., Lemon, S. and Gale Jr., M.: Regulating intracellular antiviral defense and permissiveness to hepatitis C virus RNA replication through a cellular RNA helicase, RIG-I. *J. Virology* 79, 2689-2699, (2005)

Yoneyama, M., Kikuchi, M., Natsukawa, T., Shinobu, N., Imaizumi, T., Miyagishi, M., Taira, K., Akira, S. and Fujita, T.: The RNA helicase, RIG-I, plays an essential role for double-stranded RNA-induced innate antiviral responses. *Nature Immunology* 7: 730-737, (2004)

Mori, M., Yoneyama, M., Ito, T., Takahashi, K., Inagaki, F. and Fujita, T.: Identification of Ser 386 of Interferon Regulatory Factor 3 as Critical Targets for Inducible Phosphorylation that Determines Activation. *J. Biol. Chem.* 279: 9698-9702, (2004)

Takahashi, K., Suzuki, N., Horiuchi, M., Mori, M., Suhara, W., Okabe, Y., Fukuhara, Y., Terasawa, H., Akira, S., Fujita, T., and Inagaki, F: X-ray crystal structure of IRF-3 and its functional implications. *Nature Structural Biology.* 10: 922-927, 2003

Watanabe, N., Wachi, S, and Fujita, T.: Identification and characterization of BCL-3-binding protein: implications for transcription and DNA repair or recombination. *J. Biol. Chem.* 278: 26102-26110, 2003

Yamamoto, M., Shintaro Sato, S., Hemmi, H., Sanjo, H., Uematsu, S., Kaisho, T., Hoshino, K., Takeuchi, O., Kobayashi, M., Fujita, T., Takeda, K. and Akira, S.: Essential role of TIRAP/Mal for activation of the signaling cascade shared by TLR2 and TLR4: *Nature*, 420, 324-329, (2002)

Sato, S., Takeuchi, O., Fujita, T., Tomizawa, H., Takeda, K. and Akira, S.: A variety of microbial components induce tolerance to lipopolysaccharide by differentially affecting Myd88-dependent and -independent pathways: *International Immunology*, 14, 783-791, (2002)

Suhara, W., Yoneyama, M., Kitabayashi, I. and Fujita, T.: Direct involvement of CREB-binding protein/p300 in sequence-specific binding of virus-activated interferon regulatory factor-3 holocomplex: *J. Biol. Chem.*, 277, 22304-22313, (2002)

Iwamura, T., Yoneyama, M., Koizumi, N., Okabe, Y., Namiki, H., Samuel, C. E. and Fujita, T.: PACT, a double-stranded RNA binding protein acts as a positive regulator for type I interferon gene induced by Newcastle disease virus: *BBRC*, 282, 515-523, (2001)

Kawai, T., Takeuchi, O., Fujita, T., Inoue, J-i., Mühlradt, P. F., Sato, S., Hoshino, K. and Akira, S.: MyD88-independent activation of IRF-3 and induction of interferon-g-inducible genes in response to lipopolysaccharide: *The Journal of Immunology*, 167, 5887-5894, (2001)

Iwamura, T., Yoneyama, M., Yamaguchi, K., Suhara, W., Mori, W., Shiota, K., Okabe, Y., Namiki, H. and Fujita, T.: Induction of IRF-3/-7 Kinase and NF- $\kappa$ B in Response to Double-stranded RNA and Virus infection: Common and Unique Pathways : *Genes to Cells*, 6, 375-388, (2001)

Suhara, W., Yoneyama, M., Iwamura, T., Yoshimura, S., Tamura, K., Namiki, H., Aimoto, S. and Fujita, T.: Analyses of Virus-Induced Homomeric and Heteromeric Protein Associations between IRF-3 and Coactivator CBP/p300: *J. Biochem.*, 128, 301-307, (2000)

Sakamoto, H., Yasukawa, H., Masuhara, M., Tanimura, S., Sasaki, A., Yuge, K., Ohtsuka, A., Fujita, T., Ohta, T., Furukawa, Y., Iwase, S., Yamada, H., and Yoshimura, A.: A janus Kinase Inhibitor, JAB, Is an Interferon-g-Inducible Gene and Confers Resistance to Interferons: *Blood*, 92, 1668-1676, (1998)

Yoneyama, M., Suhara, W., Fukuhara, Y., Fukuda, M., Nishida, E. and Fujita, T.: Direct Triggering of the Type I Interferon System by Virus Infection: Activation of a Transcription Factor Complex Containing IRF-3 and CBP/p300: *The EMBO Journal*, 17, 1087-1095, (1998)

Endo, T. A., Masuhara, M., Yokouchi, M., Suzuki, R., Sakamoto, H., Mitsui, K., Matsumoto, A., Tanimura, S., Ohtsubo, M., Misawa, H., Miyazaki, T., Leonor, N., Taniguchi, T., Fujita, T., Kanekura, Y., Komiyama, S., Yoshimura, A.: A new protein containing an SH2 domain that inhibits JAK kinases: *Nature*, 387, 921-924, (1997)

Watanabe, N., Iwamura, T., Shinoda, T., and Fujita, T.: Regulation of NFkB1 Proteins by the Candidate Oncoprotein BCL-3: Generation of NF-kB Homodimers from Cytoplasmic Pool of p50/p105 and Nuclear Translocation: The EMBO Journal, *16*, 3609-3620, (1997)

Yoneyama, M., Suhara, W., Fukuhara, Y., Sato, M., Ozato, K. and Fujita, T.: Autocrine amplification of type I interferon gene expression mediated by interferon stimulated gene factor 3 (ISGF3): Journal of Biochemistry, *120*, 160-169 (1996)

Nelson, N., Kanno, Y., Hong, C., Contursi, C., Fujita, T., Fowlkes, B.J., O'Connell, E., Hu-Li, J., Paul, W.E., Jankovic, D., Sher, A.F., Coligan, J.E., Thornton, A., Appella, E., Yang, Y. and Ozato, K.: Expression of interferon regulatory factor (IRF) family proteins in lymphocytes. Induction of Stat 1 and ICSPB expression by T cell activation: Journal of Immunology, *156*, 3711-3720 (1996)

Hirai R. and Fujita, T.: A human transforming growth factor- $\beta$  type II receptor that contains an insertion in the extracellular domain: Experimental Cell Research, *223*, 135-141 (1996)

Suhara, W., Yoneyama, M., Yonekawa, H. and Fujita T.: Structure of mouse interferon stimulated gene factor 3g (ISGF3g/p48) cDNA and chromosomal localization of the gene: Journal of Biochemistry, *119*, 231-234 (1996)

Fujita T., Nolan G. P., Liou H-C., Scott M. and Baltimore D.: The candidate Proto-oncogene *bcl-3* encodes a transcriptional co-activator that activates NF-kB p50 homodimers: Genes and Development *7*, 1354-1363, (1993)

Scott M., Fujita T., Liou H-C., Nolan G. P. and Baltimore D.: The p50 subunit of NF-kB regulates I $\kappa$ B by two distinct mechanisms: Genes and Development *7*, 1266-1276, (1993)

Nolan G. P., Fujita T., Bhatia, K., Huppi C., Liou H-C., Scott M. and Baltimore D.: The *bcl-3* proto-oncogene encodes a nuclear I $\kappa$ B-like molecule that preferentially interacts with NF-kB p50 and p52 in a phosphorylation-dependent manner: Mol. Cell. Biol. *13*, 3557-3566, (1993)

Liou H-C., Nolan G.P., Ghosh S., Fujita T. and Baltimore D.: The NF-kB p50 precursor, p105, contains an internal I $\kappa$ B-like inhibitor that preferentially inhibits p50: EMBO J. *11*, 3003-3009, (1992)

Fujita T., Nolan G. P., Ghosh S. and Baltimore D.: Independent modes of transcriptional activation by the p50 and p65 subunits of NF-kB: Genes and Development *6*, 775-787, (1992)

Watanabe N., Sakakibara J., Hovanessian A.G., Taniguchi T. and Fujita T.: Activation of IFN- $\beta$  element by IRF-1 requires a posttranslational event in addition of IRF-1 synthesis: *Nucleic Acids Res.* *19*, 4421-4428, (1991)

Harada H., Willison, K., Sakakibara, J., Miyamoto M., Fujita T. and Taniguchi T.: Absence of the type I IFN system in EC cells: transcriptional activator (IRF-1) and repressor (IRF-2) genes are developmentally regulated: *Cell* *63*, 303-312, (1990)

Itoh S., Harada H., Fujita T., Miura T. and Taniguchi T.: Sequence of a cDNA coding for human IRF-2: *Nucl. Acids Res.* *17*, 8372, (1989)

Fujita T., Miyamoto M., Kimura Y., Hammer J. and Taniguchi T.: Involvement of a *cis*-element that binds an H2TF-1/NF-kB like factor(s) in the virus-induced interferon- $\beta$  gene expression: *Nucl. Acids Res.* *17*, 3335-3346, (1989)

Fujita T., Reis L.F.L., Watanabe N., Kimura Y., Taniguchi T. and Vilcek J.: Induction of transcription factor IRF-1 and interferon- $\beta$  mRNA by cytokines and activators of second messenger pathways: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* *86*, 9936-9940, (1989)

Harada H., Fujita T., Miyamoto M., Kimura Y., Maruyama M., Furia A., Miyamoto M. and Taniguchi T.: Structurally similar but functionally distinct factors, IRF-1 and IRF-2, bind to the same regulatory elements of IFN and IFN-inducible genes: *Cell* *58*, 729-739, (1989)

Fujita T., Kimura Y., Miyamoto, M., Sudo Y., Barsoumian E. and Taniguchi T.: Induction of endogenous IFN- $\alpha$  and IFN- $\beta$  genes by a regulatory transcription factor, IRF-1: *Nature* *337*, 270-272, (1989)

Miyamoto M., Fujita T., Kimura Y., Maruyama M., Harada H., Sudo Y., Miyata T. and Taniguchi T.: Regulated expression of a gene encoding a nuclear factor, IRF-1, that specifically binds to IFN- $\beta$  gene regulatory elements: *Cell* *54*, 903-913, (1988)

Fujita T., Sakakibara J., Sudo Y., Miyamoto M., Kimura Y. and Taniguchi T.: Evidence for a nuclear factor(s), IRF-1, mediating induction and silencing properties to human IFN- $\beta$  gene regulatory elements: *EMBO J.* *7*, 3397-3405, (1988)

Fujita T., Shibuya H., Hotta H., Yamanishi K. and Taniguchi T.: Interferon- $\beta$  gene regulation: tandemly repeated sequences of a synthetic 6 bp oligomer function as a virus-inducible enhancer: *Cell* *49*, 357-367, (1987)

Maruyama M., Shibuya H., Harada H., Hatakeyama M., Seiki M., Fujita T., Inoue J-I., Yoshida M. and Taniguchi T.: Evidence for aberrant activation of the interleukin-2 autocrine loop by HTLV-1-encoded p40<sup>x</sup> and T3/Ti complex triggering: *Cell* 48, 343-350, (1987)

Fujita T., Shibuya H., Ohashi T., Yamanishi K. and Taniguchi T.: Regulation of human interleukin-2 gene: functional DNA sequences in the 5' flanking region for the gene expression in activated T lymphocytes: *Cell* 46, 401-407, (1986)

Fujita T., Ohno S., Yasumitsu H. and Taniguchi T.: Delimitation and properties of DNA sequences required for the regulated expression of human interferon- $\beta$  gene: *Cell* 41, 489-496, (1985)

Kashima N., Nishi-Takaoka C., Fujita T., Taki S., Yamada G., Hamuro J. and Taniguchi T.: Unique structure of murine interleukin-2 as deduced from cloned cDNAs: *Nature* 313, 402-404, (1985)

Fuse A., Fujita T., Yasumitsu H., Kashima N., Hasegawa K. and Taniguchi T.: Organization and structure of the mouse interleukin-2 gene: *Nucl. Acids Res.* 12, 9323-9331, (1984)

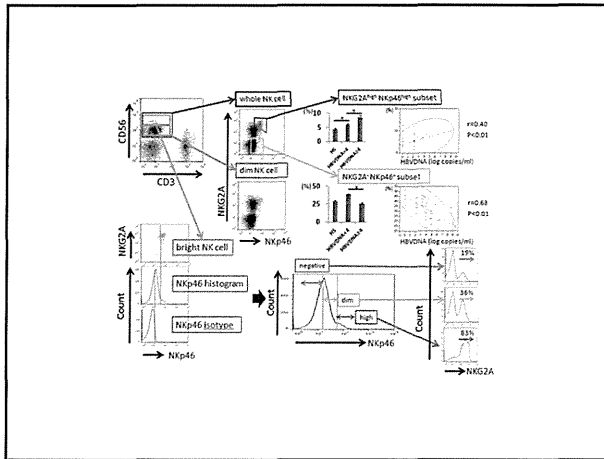
Fujita T., Takaoka C., Matsui H. and Taniguchi T.: Structure of the human interleukin 2 gene: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80, 7437-7441, (1983)

Taniguchi T., Matsui H., Fujita T., Takaoka C., Kashima N., Yoshimoto R. and Hamuro J.: Structure and expression of a cloned cDNA for human interleukin-2: *Nature* 302, 305-310, (1983)

Fujita T. and Kohno S.: Studies on interferon priming: cellular response to viral and nonviral inducers and requirement of protein synthesis: *Virology* 112, 62-69, (1981)





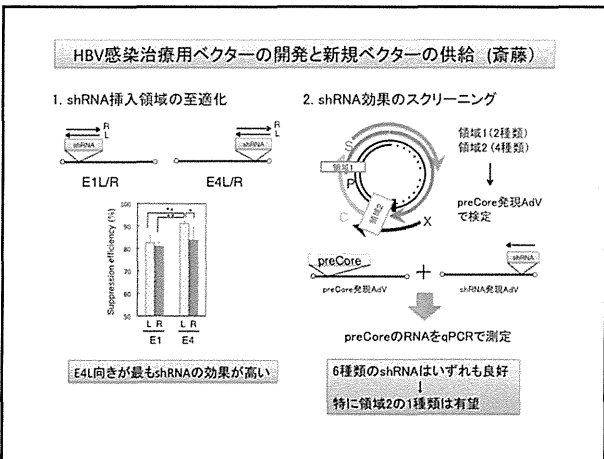
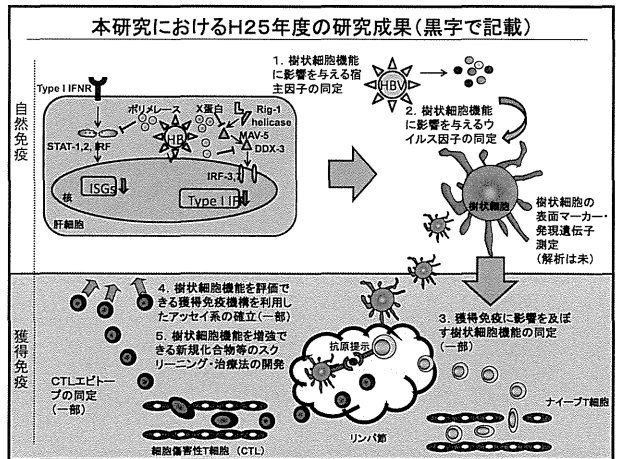
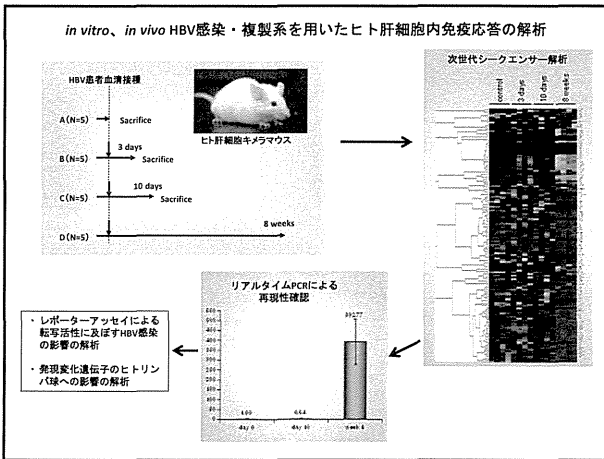


### HBV 感染肝細胞における初期自然免疫応答

- HBV生活環を再現する大量調整可能なヒト初代肝細胞 *in vitro* 培養系の導入
- HBV感染によって誘導される自然免疫応答誘導メカニズム解明

#### H25年度の研究成果

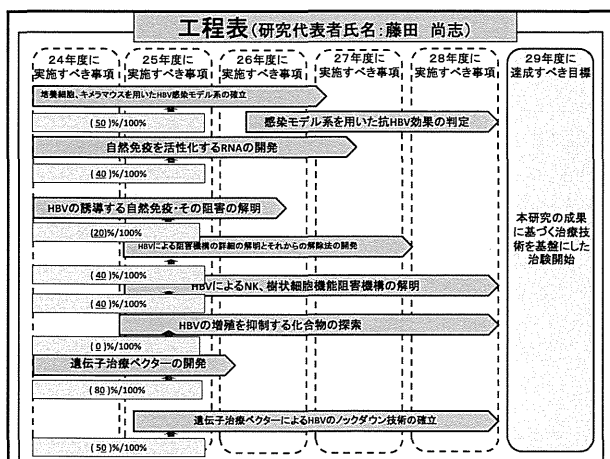
- (1) HepG2細胞へ1.24倍長 HBV ゲノム保有プラスミドを導入するとIFN-λが誘導され、さらにGenotype により誘導能に差を認めた。
- (2) ヒト初代肝細胞にHBVを感染させると、自然免疫が応答する可能性が示唆された。



平成25年度の3つの主要な成果

HBV受容体 (NTCP) 発現によってHBV感受性細胞を作る事が可能である  
 → NTCPTランスジェニックマウスの作製

HBV感染細胞はNK細胞阻害物質を産生する  
 肝臓でのIII型(λ)インターフェロンの重要性



## 利益相反について

利益相反の有無等(平成25年度)

ア 利益相反の有無 無  
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)

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。

## 合同研究班会議開催状況

他の研究班と合同での研究班会議開催状況(平成25年度)

イ 他の研究班と合同で研究班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25年12月3日  
革新的な動物モデルや培養技術の開発を通じたHBV排除への創薬研究(茶山 一彰) ①①①  
免疫系を保持した次世代型B型肝炎ウイルス感染小動物モデルの開発とその応用(竹原 徹郎)

## 平成 25 年度 B型肝炎創薬実用化等研究事業『成果概要』

研究課題：HBV cccDNA の制御と排除を目指す新規免疫治療薬の開発  
 課題番号：H24-B創-肝炎-一般-010  
 予定期間：H24年度からH28年度まで  
 研究代表者：金子 周一  
 所属研究機関：金沢大学  
 所属部局：医薬保健研究域医学系  
 職 名：教授  
 年次別研究費(交付決定額)：1年目 100,960,000 円 2年目 100,000,000 円

**I. 研究の意義**

- (1) B型肝炎ウイルス (HBV) は現在の抗ウイルス薬を用いて治癒させることがむずかしい。
- (2) 治療抵抗性と密接に関連する HBV の cccDNA は存在様式すら十分にわかっていない。
- (3) HBV を排除する免疫治療薬は開発されていない。

**II. 研究の目的、期待される成果**

- (1) HBV の cccDNA の存在様式を明らかにする。
- (2) HBV を排除する免疫機構を明らかにする。
- (3) HBV に対する新しい治療薬の研究開発をすすめる。

**III. 2年間の研究成果**

・研究代表者(金子周一) ①核酸アナログが投与されている B 型慢性肝炎症例 130 例の血中 HBV-DNA、コア関連抗原及び肝発がんとの関連を解析した。核酸アナログ服用に伴い、血中 HBV-DNA の陰性化は 87%にみられたが、コア関連抗原は 32%で陰性化、68%の症例で陽性であった。コア関連抗原陽性例は陰性例と比較し有意に肝細胞がんの発生を認めた。本年度はコア関連抗原陽性例と陰性例の肝生検組織を用いて Affymetrix gene chip による遺伝子発現解析を開始した。②HBV 複製のライフサイクルを解析するため、HepG2 細胞に HBV レセプター・NTCP を導入した細胞を樹立し、HBV の感染実験を行い、cccDNA を検出した。また、HBV 関連肝がん手術検体から CD90 陽性幹細胞分画を分離し、新たな肝がん培養細胞を樹立した。

・研究分担者(今村道雄) ヒト肝細胞キメラマウスを用いて real-time PCR により肝内 HBV cccDNA の定量系を構築した。また B 型慢性肝炎モデルを作製するため HBV 感染マウスにヒトリンパ球を投与し免疫再構築を行い、重症肝炎モデルマウスを作製した。uPA-SCID マウスよりもさらに強力な免疫不全マウスである TK-NOG マウスを用いて HBV 感染マウスを作製した。

・研究分担者(中本安成) HBV 表面抗原のエピトープ (CTL-Ld 拘束性 HBs28-39 を含む) が誘導する慢性肝炎において、ウイルス産生の持続的な低下と逆相関して発現亢進している遺伝子群 (クラスター 5 : 274 個の遺伝子群) を同定した。この遺伝子群が誘導する細胞内シグナルに関する検討において、ケモカイン CCL5/CCR5 分子が関連する STAT3 および NFκB 経路は亢進していた。

・研究分担者(橋本真一) HBV 産生細胞株 Hep AD38 をヒストン脱アセチル化阻害剤、TSA、SAHA、脱メチル化剤、5-aza-2'-deoxycytidine、ヒストンメチル基転移酵素阻害剤、Chaetocin、BIX01294 で処理した後、cccDNA 特異的プライマーにて real-time PCR を行い、cccDNA 量を測定した。HBV 感染における宿主の DNA メチル化変化についても検討したところ、宿主のゲノム全体で非感染細胞と比べて約 1,000 箇所の変化が観察された。

・研究分担者(村上清史) HepG2.2.15 細胞において HBx の発現を 40%抑制することによって HBV の複製は約 40-60%低下した。DNA microarray 解析の結果、HBx 発現細胞では CDKN2B、KDM5B、TNF の経路が活性化し IRF3、IRF7、STAT4、IFNA、IFNB、IL-1 の経路の抑制がみられた。HBx は細胞内の自然免疫を抑制し、また、細胞の増殖を活性化させる可能性が示唆された。

・研究分担者(石川哲也) HBc 抗原の 86~110 番目のアミノ酸からなる部位に対するリンパ球の反応性は高く、また特定の HLA allele への拘束性を認めなかった。HBs 及びケモカイン遺伝子 (RANTES) を含む DNA による免疫は、HBs 遺伝子単独の場合に比較し CTL の誘導効率が上昇することを確認し

た。また、アジュバントによって HBs 抗原特異的 CTL の誘導効率が顕著に上昇することを確認した。

・研究分担者(考藤達哉) 1.4 倍長の HBV ゲノムを Huh7 に遺伝子導入する系と DC、NK 細胞との共培養系を用いて、HBV 複製抑制における IFN/ISG 系、DC、NK の相互作用に関して検討した。NK 細胞は HBV-Huh7 との共培養で IFN- $\gamma$  を産生し、HBV 複製を抑制した。DC と HBV-Huh7 との共培養では、PDC は IFN- $\alpha$ 、IFN- $\lambda$  を産生し、NK の CD69 発現を亢進させ、HBV 複製抑制効果を増強した。

・研究分担者(高橋 健) 健康人末梢血単核球のインターフェロン刺激サンプルを用いて RNA-seq を行い、IFN 誘導性遺伝子の検出を確認し、RNA-seq の実験系を確立した。Cre-loxP システムを用いたコンディショナル S 抗原発現マウスを作成した。

・研究分担者(加藤孝宣) HBV 遺伝子型 A, B, C, D それぞれの 1.3 倍長のゲノムを HepG2 細胞へ導入し HBV の複製を確認した。HBV がアポトーシスに与える影響を検討したところ、HBV の複製細胞では、HBV 陰性細胞に比べ約 2 倍から 3 倍強くアポトーシスが誘導された。遺伝子型 B で最も誘導率が高く、遺伝子型 C では最も誘導率が低かった。

・研究分担者(村口 篤) IFN- $\gamma$  分泌を指標に抗原特異的 T 細胞の検出および TCR  $\alpha/\beta$  遺伝子のクローニングを試みた。その結果、IFN- $\gamma$  分泌を指標にクローニングした TCR  $\alpha/\beta$  遺伝子のうち、86%が四量体を用いてクローニングした TCR  $\alpha/\beta$  遺伝子と一致した。IFN- $\gamma$  分泌を指標にした検出でも本技術を HBV 特異的 TCR の解析・取得に応用することが可能であることを確認した。

・研究分担者(池田裕明) TCR 改変ヒト T 細胞輸注療法の効果、安全性を評価する評価系を確立した。siTCR 技術に、2A ペプチドの導入とジスルフィド結合を組合せ、導入 TCR 遺伝子の発現を高めると共に安全性の高い新規ベクターの開発を行った。エコトロピックレトロウイルスベクターによる TCR 遺伝子導入リンパ球輸注療法のモデルを確立し、ベクター構造や輸注プロトコール等の評価系を確立した。

・研究分担者(石井 健) B グルカンであるシゾフィラン(SPG)で CpG をくるんだ凝集塊のないナノサイズの新規 CpG ODN の作製に成功した。この CpG と SPG の複合体、CpG-SPG はヒト末梢血単核球に作用し、強力的に IFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  の産生を誘導した。CpG-SPG はマウスにおいて強力なワクチンアジュバントとして働き、タンパク抗原と混ぜるのみで、強い CTL 活性を誘導した。

・研究分担者(水腰英四郎) HBV genotype C の HLA-A24 拘束性細胞傷害性 T 細胞(CTL)エピトープを有すると考えられるペプチドの作製(計 93 個)を行った。有望なペプチドのスクリーニングを行い、19 個のペプチドがワクチンとしての候補として絞りこまれ、1 個は *in vitro* において患者末梢血リンパ球から CTL を誘導できることを確認した。

#### IV. 平成 26~28 年度の課題

- ・コア関連抗原陽性例と陰性例の肝生検組織を用いた Affymetrix gene chip による遺伝子発現解析から cccDNA に起因する遺伝子発現の異常を明らかにする。同定された分子をターゲットとして、HBV 感染培養細胞を用いて遺伝子のノックダウン、過剰発現系を行い、cccDNA に与える影響について解析する。
- ・HBV 感染ヒト肝細胞キメラマウスを用いて肝内 HBV cccDNA に対する治療法を開発する。
- ・B 型慢性肝炎の病態により類似したモデルを作製する。
- ・HBV 産生を制御する候補分子として、CCL5 シグナルに関して機能的検討を行う。
- ・ポリコム群やトライソックス群タンパク複合体を解析する。
- ・3C アッセイを用いて宿主ゲノムと近接する領域の転写活性について検討する。
- ・Chip-Seq 法を用いて、HBx の転写活性化能が宿主遺伝子の発現に及ぼす影響を検討する。
- ・HBx が cccDNA からのウイルス蛋白遺伝子の発現に及ぼす影響を検討する。
- ・HBx の作用で特に cccDNA からの転写に重要な宿主遺伝子の同定を行う。
- ・B 型慢性肝炎患者における T リンパ球エピトープ部位の同定を行う。
- ・抑制性 T リンパ球を除去、あるいは PD-L1 抗体などで処理した場合の反応性の変化を解析する。
- ・HBV 遺伝子と costimulatory molecule、ケモカイン遺伝子などを併用した DNA 免疫法による HBV 特異的免疫応答の誘導効率を評価する。
- ・HBV 抗原蛋白あるいはペプチドでの免疫法に、 $\alpha$ GalCer などのアジュバント、IDO 発現抑制を組み合わせ、HBV 特異的免疫応答の誘導効率を評価する。
- ・HBV 抗原 (large S) に抗 CD11c 抗体などを付加、抗原提示細胞へターゲティングを可能とし、こ

れによる HBV 特異的免疫応答の誘導効率を評価する。

- HBV トランスジェニックマウスにおいて免疫寛容の打破が可能かどうかの検証を行う。
- Exosome や Microvesicle を分離し、DC サブセットに投与することで、I 型、III 型 IFN 誘導能を解析する。
- DC サブセットを、TLR アゴニストで刺激し、NK 細胞活性化における I 型、III 型 IFN の関与を明らかにする。免疫修飾作用を DC-NK 相互作用の観点から明らかにする。
- コンディショナル S 抗原発現マウスと Alb-Cre-ERT2 マウスを交配し、任意の時期における肝臓特異的な S 抗原発現を確認し解析をすすめる。
- 未知の IFN 誘導性遺伝子に関して、Real-time PCR など他の実験手法で validation を行う。
- HBV によるアポトーシス回避機構の評価
- 標的とするcccDNA抗原に反応するTCRのクローニングを行う。クローニングしたTCRのレパートリー解析および機能解析を行い、強力なCTL活性を示すTCRの同定を進める。
- HBV 感染患者のリンパ球への TCR 遺伝子導入効率を検討し、TCR 遺伝子導入リンパ球のインビボ生存性や機能を我々が確立したインビボ評価系を用いて検討する。
- HBV 感染細胞を認識する TCR を用いて HBV 特異的 TCR 遺伝子導入 T 細胞を作製する。
- 上記新規免疫療法開発：前臨床試験、臨床研究の準備、効果判定のための評価法開発
- ワクチンの候補として有用なペプチドをさらに検討する。
- ペプチドワクチンとして投与する際のアジュバントの効果を検証する。

## V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 新たな B 型肝炎治療法を開発し、肝炎対策基本法に従った施策に貢献する。
- (2) 他の TCR を用いた細胞療法、ワクチン療法の開発に応用が期待される。

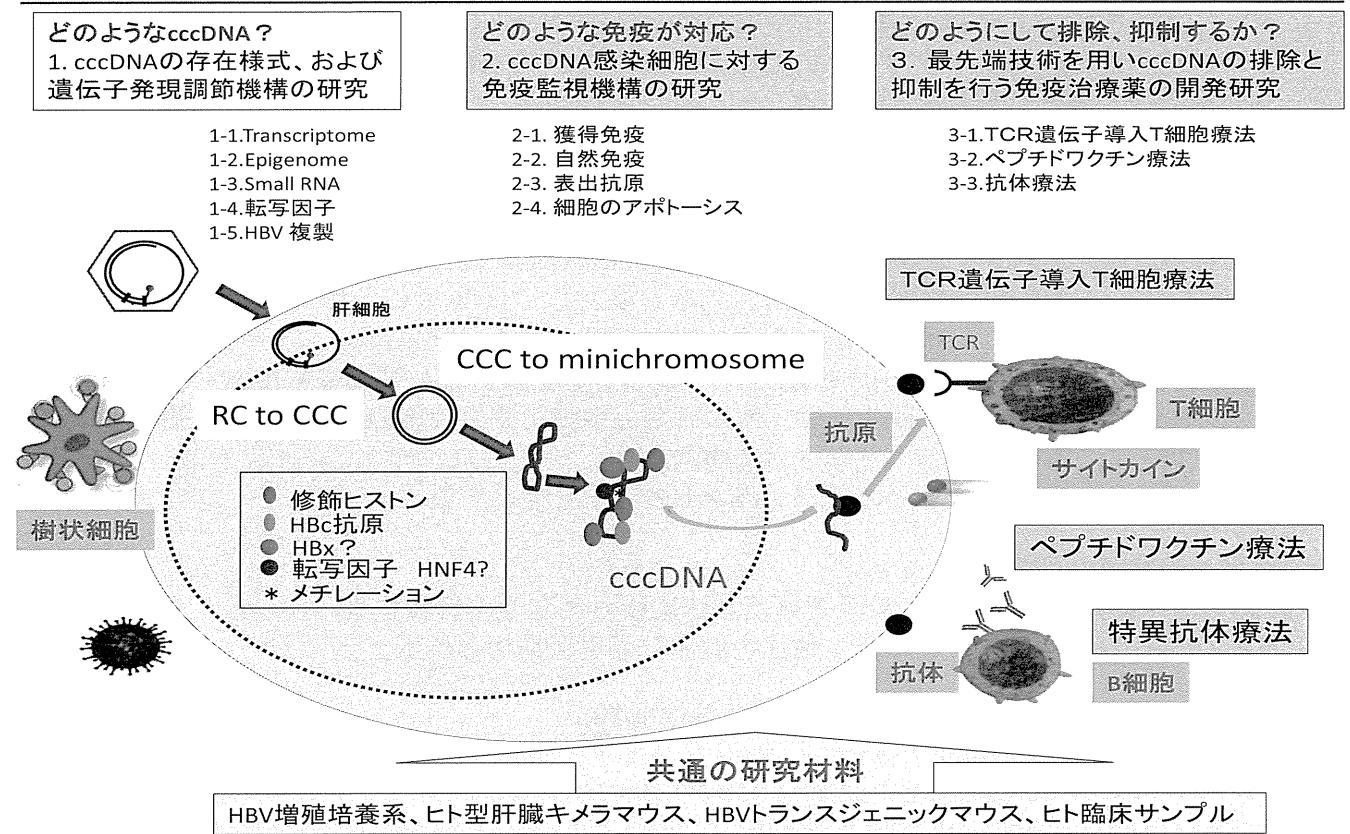
## VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

1. Honda M, Shirasaki T, Shimakami T, Sakai A, Horii R, Arai K, Yamashita T, Sakai Y, Yamashita T, Okada H, Murai K, Nakamura M, Mizukoshi E, Kaneko S. Hepatic interferon-stimulated genes are differentially regulated in the liver of chronic hepatitis C patients with different interleukin 28B genotypes. **Hepatology (in press)**
2. Okazaki A, Hiraga N, Imamura M, Nelson Hayes C, Tsuge M, Takahashi S, Aikata H, Abe H, Miki D, Ochi H, Tateno C, Yoshizato K, Ohdan H, Chayama K. Severe necroinflammatory reaction caused by natural killer by Fas/FasL interaction and dendritic cells in human hepatocyte chimeric mouse. **Hepatology**. 56(2):555-66, 2012.
3. Yamashita T, Honda M, Nakamoto Y, Baba M, Nio K, Hara Y, Zeng SS, Hayashi T, Kondo M, Takatori H, Yamashita T, Mizukoshi E, Ikeda H, Zen Y, Takamura H, Wang XW, Kaneko S. Discrete nature of EpCAM+ and CD90+ cancer stem cells in human hepatocellular carcinoma. **Hepatology** 57: 1484-1497, 2013.
4. Hashimoto S, K Ogoshi, A Sasaki, J Abe, W Qu, Y Nakatani, B Ahsan, K Oshima, F H Shand, A Ametani, Y Suzuki, S Kaneko, T Wada, M Hattori, S Sugano, S Morishita, K Matsushima. Coordinated changes in DNA methylation in antigen-specific memory CD4 T cells. **J. Immunol.**, 190, 4076-4091, 2013.
5. Shirasaki T, Honda M, Shimakami T, Horii R, Yamashita T, Sakai Y, Sakai A, Okada H, Watanabe R, Murakami S, Yi M, Lemon SM, Kaneko S. MicroRNA-27a regulates lipid metabolism and inhibits hepatitis C virus replication in human hepatoma cells. **J Virol**. 87(9):5270-86, 2013.
6. Ishikawa T. Immunoregulation of hepatitis B virus infection -rationale and clinical application-. Nagoya **J Med Sci** 74: 217-232, 2012.
7. 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, Takehara T. TIE2-expressing monocytes as a diagnostic marker for hepatocellular carcinoma correlates with angiogenesis. **Hepatology** 57: 1416-1425. 2013.
8. 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(4), e35052, 2012.
9. Kobayashi E, Mizukoshi E, Kishi H, Ozawa T, Hamana H, Nagai T, Nakagawa H, Jin A, Kaneko S, Muraguchi A. A novel cloning and expression system yields and validates TCRs from blood lymphocytes of cancer patients within 10 days. **Nature Medicine**, 19: 1542-1546, 2013.
10. Shirakura Y, Mizuno Y, Wang L, Imai N, Amaike C, Sato E, Ito M, Nukaya I, Mineno J, Takesako K, Ikeda H, Shiku H. T-cell receptor gene therapy targeting melanoma-associated antigen-A4 inhibits human tumor growth in non-obese diabetic/SCID/ $\gamma c^{null}$  mice. **Cancer Sci**. 103(1):17-25, 2012.
11. Kobiyama K, Jounai N, Aoshi T, Tozuka M, Takeshita F, Coban C and Ishii KJ. Innate Immune Signaling by, and Genetic Adjuvants for DNA Vaccination. **Vaccines** 1: 278-292, 2013.

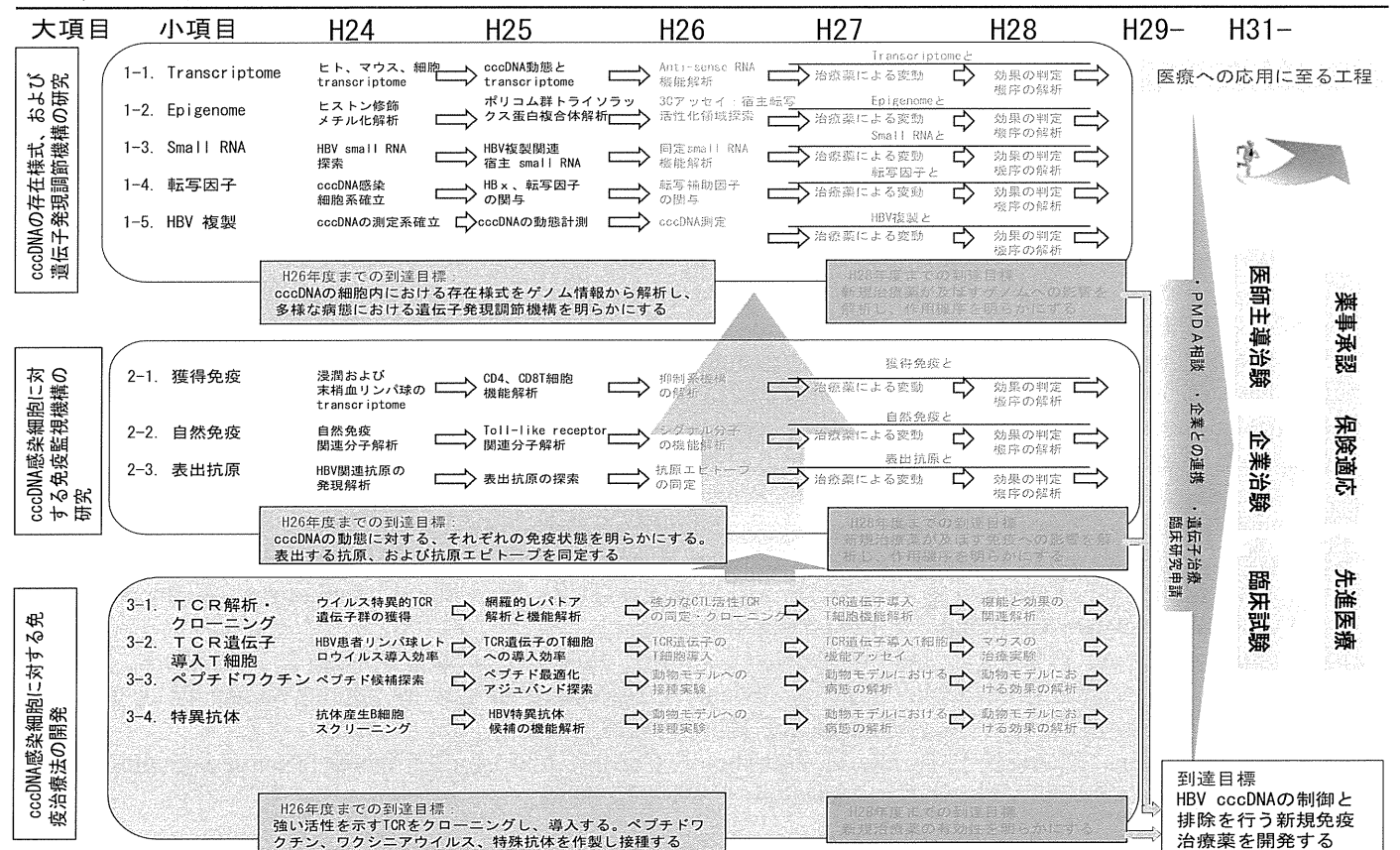
### Ⅶ. Ⅲ (2年間の研究成果)の概要図等

研究計画の研究大項目および研究小項目をポンチ絵に示し、その計画のロードマップに示す H24、25年度の研究成果を示した。研究者および研究成果は III の2年間の研究成果に記載した。

## 研究計画の全体



## H24, 25年度の研究成果と研究全体のロードマップ



## ●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 62 年～平成元年	米国国立衛生研究所(NIH)客員研究員
平成 5 年～平成 7 年	米国南カリフォルニア大学客員教授
平成 8 年～平成 16 年	金沢大学医学部第一内科 講師・助教授
平成 16 年～	金沢大学大学院医学系研究科恒常性制御学 (消化器内科) 教授
平成 18 年～平成 21 年	金沢大学医学部長 (併任)
平成 24 年～	金沢大学学長補佐 (研究担当) (併任)

### ・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

昭和 58 年～昭和 61 年	金沢大学 服部 信教授、吉川 寛教授、村上清史助教授
昭和 62 年～平成元年	米国国立衛生研究所(NIH) Robert H Purcell
平成 5 年～平成 7 年	米国南カリフォルニア大学 French Anderson
平成 8 年～平成 15 年	金沢大学 小林健一教授

### ・主な研究課題

- ・肝炎ウイルスによる肝炎の解析と治療に関する研究
- ・肝発癌の解析と、肝癌診断および治療に関する研究

### ・これまでの研究実績

(成果概要VIと重複するものや本研究成果によるものは、太字・斜体文字で記載してください)

1. *E Kobayashi, E Mizukoshi, H Kishi, T Ozawa, H Hamana, T Nagai, H Nakagawa, A Jin, **S Kaneko**, A Muraguchi. A novel cloning and expression system yields and validates TCRs from blood lymphocytes of cancer patients within 10 days. Nature Medicine 19:1542-6, 2013.*
2. *M Honda, T Shirasaki, T Shimakami, A Sakai, R Horii, K Arai, T Yamashita, Y Sakai, T Yamashita, H Okada, K Murai, M Nakamura, E Mizukoshi, **S Kaneko**. Hepatic interferon-stimulated genes are differentially regulated in the liver of chronic hepatitis C patients with different interleukin 28B genotypes. Hepatology (in press)*
3. *H Takayama, H Misu, H Iwama, K Chikamoto, Y Saito, K Murao, A Teraguchi, F Lan, A Kikuchi, R Saito, N Tajima, T Shirasaki, S Matsugo, KI Miyamoto, **S Kaneko**, T Takamura. Metformin Suppresses Expression of the Selenoprotein P gene via an AMPK-FoxO3a Pathway in H4IIEC3 Hepatocytes. J Biol Chem (in press)*
4. *S Sha Zeng, T Yamashita, M Kondo, K Nio, T Hayashi, Y Hara, Y Nomura, M Yoshida, T Hayashi, N Oishi, H Ikeda, M Honda, **S Kaneko**. The Transcription Factor SALL4 Regulates Stemness of EpCAM-positive Hepatocellular Carcinoma. J Hepatol (in press)*
5. *M Higashimoto, Y Sakai, M Takamura, S Usui, A Nasti, K Yoshida, A Seki, T Komura, M Honda, T Wada, K Furuichi, T Ochiya, **S Kaneko**. Adipose tissue-derived stromal stem cell therapy in murine ConA-derived hepatitis is dependent on myeloid-lineage and CD4+ T-cell suppression. Eur J Immunol 43(11):2956-68, 2013.*
6. *A Seki, S Y akai, T Komura, A Nasti, K Yoshida, M Higashimoto, M Honda, S Usui, M Takamura, T Takamura, T Ochiya, K Furuichi, T Wada, **S Kaneko**. Adipose tissue-derived stem cells as a regenerative therapy for a mouse steatohepatitis-induced cirrhosis model. Hepatology 58(3):1133-42, 2013.*
7. *H Takamura, S Nakanuma, H Hayashi, H Tajima, K Kakinoki, S Sakai, I Makino, H Nakagawara, T Miyashita, K Okamoto, K Nakamura, K Oyama, M Inokuchi, I Ninomiya, H Kitagawa, S Fushida, T Fujimura, I Ohnishi, M Kayahara, T Tani, K Arai, T Yamashita, T Yamashita, H Kitamura, H Ikeda, **S Kaneko**, Y Nakanuma, O Matsui, T Ohta. Evaluation of eligibility criteria in living donor liver transplantation for hepatocellular carcinoma by  $\alpha$ -SMA-positive cancer-associated fibroblasts. Oncol Rep 30(4):1561-74, 2013.*



8. F Arihara, E Mizukoshi, M Kitahara, Y Takata, K Arai, T Yamashita, Y Nakamoto, S Kaneko. Increase in CD14(+)/HLA-DR (-/low) myeloid-derived suppressor cells in hepatocellular carcinoma patients and its impact on prognosis. Cancer Immunol Immunother 62(8):1421-30, 2013.
9. K Kimura, Y Nakamura, Y Inaba, M Matsumoto, Y Kido, SI Asahara, T Matsuda, H Watanabe, A Maeda, F Inagaki, C Mukai, K Takeda, S Akira, T Ota, H Nakabayashi, S Kaneko, M Kasuga, H Inoue. Histidine augments the suppression of hepatic glucose production by central insulin action. Diabetes 62(7):2266-77, 2013.
10. *T Shirasaki, M Honda, T Shimakami, R Horii, T Yamashita, Y Sakai, A Sakai, H Okada, R Watanabe, S Murakami, M Yi, SM Lemon, S Kaneko. MicroRNA-27a regulates lipid metabolism and inhibits hepatitis C virus replication in human hepatoma cells. J Virol 87(9):5270-86, 2013.*
11. M Honda, T Yamashita, T Yamashita, K Arai, Y Sakai, A Sakai, M Nakamura, E Mizukoshi, S Kaneko. Peretinoin, an acyclic retinoid, improves the hepatic gene signature of chronic hepatitis C following curative therapy of hepatocellular carcinoma. BMC Cancer 13:191, 2013.
12. T Ueda, M Honda, K Horimoto, S Aburatani, S Saito, T Yamashita, Y Sakai, M Nakamura, H Takatori, H Sunagozaka, S Kaneko. Gene expression profiling of hepatitis B- and hepatitis C-related hepatocellular carcinoma using graphical Gaussian modeling. Genomics 101(4):238-48, 2013.
13. *T Yamashita, M Honda, Y Nakamoto, M Baba, K Nio, Y Hara, SS Zeng, TH Kondo, H Takatori, T Yamashita, E Mizukoshi, H Ikeda, Y Zen, H Takamura, XW Wang, S Kaneko. Discrete nature of EpCAM(+) and CD90(+) cancer stem cells in human hepatocellular carcinoma. Hepatology 57(4):1484-97, 2013.*
14. E Mizukoshi, T Yamashita, K Arai, H Sunagozaka, T Ueda, F Arihara, T Kagaya, T Yamashita, K Fushimi, S Kaneko. Enhancement of tumor-associated antigen-specific T cell responses by radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma. Hepatology 57(4):1448-57, 2013.
15. Y Hodo, M Honda, A Tanaka, Y Nomura, K Arai, T Yamashita, Y Sakai, T Yamashita, E Mizukoshi, A Sakai, M Sasaki, Y Nakanuma, M Moriyama, S Kaneko. Association of Interleukin 28B genotype and hepatocellular carcinoma recurrence in patients with chronic hepatitis C. Clin Cancer Re 19(7):1827-37, 2013.
16. T Otda, T Takamura, H Misu, T Ota, S Murata, H Hayashi, H Takayama, A Kikuchi, T Kanamori, KR Shima, F Lan, T Takeda, S Kurita, K Ishikura, Y Kita, K Iwayama, KI Kato, M Uno, Y Takeshita, M Yamamoto, K Tokuyama, S Iseki, K Tanaka, S Kaneko. Proteasome dysfunction mediates obesity-induced endoplasmic reticulum stress and insulin resistance in the liver. Diabetes 62(3):811-24, 2013.
17. T Oze, N Hiramatsu, E Mita, N Akuta, N Sakamoto, H Nagano, Y Itoh, S Kaneko, N Izumi, H Nomura, N Hayashi, T Takehara. A multicenter survey of re-treatment with pegylated interferon plus ribavirin combination therapy for patients with chronic hepatitis C in Japan. Hepatol Res 43(1):35-43, 2013.
18. T Yamashita, S Kaneko. Treatment strategies for hepatocellular carcinoma in Japan. Hepatol Res 43(1):44-50, 2013.
19. S Miwa, H Nishida, Y Tanzawa, M Takata, A Takeuchi, N Yamamoto, T Shirai, K Hayashi, H Kimura, K Igarashi, E Mizukoshi, Y Nakamoto, S Kaneko, H Tsuchiya. TNF- $\alpha$  and Tumor Lysate Promote the Maturation of Dendritic Cells for Immunotherapy for Advanced Malignant Bone and Soft Tissue Tumors. PLoS One 7(12):e52926, 2012.
20. A Kitao, O Matsui, N Yoneda, K Kozaka, S Kobayashi, W Koda, T Gabata, T Yamashita, S Kaneko, Y Nakanuma, R Kita, S Arii. Hypervascular Hepatocellular Carcinoma: Correlation between Biologic Features and Signal Intensity on Gadoteric Acid-enhanced MR Images. Radiology 265(3):780-9, 2012.
21. Y Takeshita, T Takamura, Y Kita, H Ando, T Ueda, K Kato, H Misu, H Sunagozaka, Y Sakai, T Yamashita, E Mizukoshi, M Honda, S Kaneko. Beneficial effect of branched-chain amino acid supplementation on glycemic control in chronic hepatitis C patients with insulin resistance: implications for type 2 diabetes. Metabolism 61(10):1388-94, 2012.
22. M Nakamura, N Nishida, M Kawashima, Y Aiba, A Tanaka, M Yasunami, H Nakamura, A Komori, M Nakamuta, M Zeniya, E Hashimoto, H Ohira, K Yamamoto, M Onji, S Kaneko, M Honda, S Yamagiwa, K Nakao, T Ichida, H Takikawa, M Seike, T Umemura, Y Ueno, S Sakisaka, K Kikuchi, H Ebinuma, N Yamashiki, S Tamura, Y Sugawara, A Mori, S Yagi, K Shirabe, A Taketomi, K Arai, K Monoe, T Ichikawa, M Taniai, Y Miyake, T Kumagi, M Abe, K Yoshizawa, S Joshita, S Shimoda, K Honda, H Takahashi, K Hirano, Y Takeyama, K Harada, K Migita, M Ito, H Yatsushashi, N Fukushima, H Ota, T Komatsu, T Saoshiro, J Ishida, H Kouno, H Kouno, M Yagura, M Kobayashi, T Muro, N Masaki, K Hirata, Y Watanabe, Y Nakamura, M Shimada, N Hirashima, T Komeda, K Sugi, M Koga, K Ario, E Takesaki, Y Maehara, S Uemoto, N Kokudo, H Tsubouchi, M Mizokami, Y Nakanuma, K Tokunaga, H Ishibashi.



- Genome-wide Association Study Identifies TNFSF15 and POU2AF1 as Susceptibility Loci for Primary Biliary Cirrhosis in the Japanese Population. *Am J Hum Genet* 91(4):721-728, 2012.
23. Y Kita, T Takamura, H Misu, T Ota, S Kurita, Y Takeshita, M Uno, N Matsuzawa-Nagata, K Kato, H Ando, A Fujimura, K Hayashi, T Kimura, Y Ni, T Otoda, K Miyamoto, Y Zen, Y Nakanuma, S Kaneko. Metformin prevents and reverses inflammation in a non-diabetic mouse model of nonalcoholic steatohepatitis. *PLoS One* 7(9):e43056, 2012.
  24. Y Sakai, I Tatsumi, M Higashimoto, A Seki, A Nasti, K Yoshida, K Kawaguchi, T Wada, M Honda, T Komura, S Kaneko. Association of changes in the gene expression profile of blood cells with the local tumor inflammatory response in a murine tumor model. *Biochem Biophys Res Commun* 428(1):36-43, 2012.
  25. E Mizukoshi, K Fushimi, K Arai, T Yamashita, M Honda, S Kaneko. Expression of chondroitin-glucuronate C5-epimerase and cellular immune responses in patients with hepatocellular carcinoma. *Liver Int* 32(10):1516-26, 2012.
  26. H Shugo, T Ooshio, M Naito, K Naka, T Hoshii, Y Tadokoro, T Muraguchi, A Tamase, N Uema, T Yamashita, Y Nakamoto, T Suda, S Kaneko, A Hirao. Nucleostemin in Injury-Induced Liver Regeneration. *Stem Cells Dev* 21(16):3044-54, 2012.
  27. T Takamura, H Misu, T Ota, S Kaneko. Fatty liver as a consequence and cause of insulin resistance: Lessons from type 2 diabetic liver. *Endocr J* 59(9):745-63, 2012.
  28. H Okada, M Honda, JS Campbell, Y Sakai, T Yamashita, Y Takebuchi, K Hada, T Shirasaki, R Takabatake, M Nakamura, H Sunakozaka, T Tanaka, N Fausto, S Kaneko. Acyclic retinoid targets platelet-derived growth factor signaling in the prevention of hepatic fibrosis and hepatocellular carcinoma development. *Cancer Res* 72(17):4459-71, 2012.
  29. H Mizuno, M Honda, T Shirasaki, T Yamashita, T Yamashita, E Mizukoshi, S Kaneko. Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1 in association with hTERT is a potential biomarker for hepatocellular carcinoma. *Liver Int* 32(7):1146-55, 2012.
  30. S Kaneko, J Furuse, M Kudo, K Ikeda, M Honda, Y Nakamoto, M Onchi, G Shiota, O Yokosuka, I Sakaida, T Takehara, Y Ueno, K Hiroishi, S Nishiguchi, H Moriwaki, K Yamamoto, M Sata, S Obi, S Miyayama, Y Imai. Guideline on the use of new anticancer drugs for the treatment of Hepatocellular Carcinoma 2010 update. *Hepatol Res* 42(6):523-542, 2012.
  31. K Kimura, T Yamada, M Matsumoto, Y Kido, T Hosooka, S Asahara, T Matsuda, T Ota, H Watanabe, Y Sai, K Miyamoto, S Kaneko, M Kasuga, H Inoue. Endoplasmic reticulum stress inhibits STAT3-dependent suppression of hepatic gluconeogenesis via dephosphorylation and deacetylation. *Diabetes* 61(1):61-73, 2012.
  32. T Yamashita, K Arai, H Sunagozaka, T Ueda, T Terashima, T Yamashita, E Mizukoshi, A Sakai, Y Nakamoto, M Honda, S Kaneko. Randomized, Phase II Study Comparing Interferon Combined with Hepatic Arterial Infusion of Fluorouracil plus Cisplatin and Fluorouracil Alone in Patients with Advanced Hepatocellular Carcinoma. *Oncology* 81(5-6):281-90, 2011.
  33. A Kitao, O Matsui, N Yoneda, K Kozaka, R Shinmura, W Koda, S Kobayashi, T Gabata, Y Zen, T Yamashita, S Kaneko, Y Nakanuma. The uptake transporter OATP8 expression decreases during multistep hepatocarcinogenesis: correlation with gadoxetic acid enhanced MR imaging. *Eur Radiol* 21(10):2056-66, 2011.
  34. H Sunagozaka, M Honda, T Yamashita, R Nishino, H Takatori, K Arai, T Yamashita, Y Sakai, S Kaneko. Identification of a secretory protein c19orf10 activated in hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 129(7):1576-85, 2011.
  35. M Kudo, K Imanaka, N Chida, K Nakachi, WY Tak, T Takayama, JH Yoon, T Hori, H Kumada, N Hayashi, S Kaneko, H Tsubouchi, DJ Suh, J Furuse, T Okusaka, K Tanaka, O Matsui, M Wada, I Yamaguchi, T Ohya, G Meinhardt, K Okita. Phase III study of sorafenib after transarterial chemoembolisation in Japanese and Korean patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *Eur J Cancer* 47(14):2117-27, 2011.
  36. Y Tanaka, M Kurosaki, N Nishida, M Sugiyama, K Matsuura, N Sakamoto, N Enomoto, H Yatsushashi, S Nishiguchi, K Hino, S Hige, Y Itoh, E Tanaka, S Mochida, M Honda, Y Hiasa, A Koike, F Sugauchi, S Kaneko, N Izumi, K Tokunaga, M Mizokami. Genome-wide association study identified ITPA/DDR1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Hum Mol Genet* 20(17):3507-16, 2011.
  37. Y Takata, Y Nakamoto, A Nakada, T Terashima, F Arihara, M Kitahara, K Kakinoki, K Arai, T Yamashita, Y Sakai, T Yamashita, E Mizukoshi, S Kaneko. Frequency of CD45RO(+) subset in CD4(+)CD25(high)

- regulatory T cells associated with progression of hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett* 307(2):165-73, 2011.
38. M Honda, K Takehana, A Sakai, Y Tagata, T Shirasaki, S Nishitani, T Muramatsu, T Yamashita, Y Nakamoto, E Mizukoshi, Y Sakai, T Yamashita, M Nakamura, T Shimakami, M Yi, SM Lemon, T Suzuki, T Wakita, S Kaneko; Hokuriku Liver Study Group. Malnutrition Impairs Interferon Signaling through mTOR and FoxO pathways in Patients with Chronic Hepatitis C. *Gastroenterology* 141(1):128-140. e2, 2011.
  39. T Yamashita, M Honda, S Kaneko. Molecular mechanisms of hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis C virus infection. *J Gastroenterol Hepatol* 26(6):960-4, 2011.
  40. E Mizukoshi, Y Nakamoto, K Arai, T Yamashita, A Sakai, Y Sakai, T Kagaya, T Yamashita, M Honda, S Kaneko. Comparative analysis of various tumor-associated antigen-specific t-cell responses in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 53(4):1206-16, 2011.
  41. Y Nakamoto, E Mizukoshi, M Kitahara, F Arihara, Y Sakai, K Kakinoki, Y Fujita, Y Marukawa, K Arai, T Yamashita, N Mukaida, K Matsushima, O Matsui, S Kaneko. Prolonged recurrence-free survival following OK432-stimulated dendritic cell transfer into hepatocellular carcinoma during transarterial embolization. *Clin Exp Immunol* 163(2):165-77, 2011.
  42. K Kakinoki, Y Nakamoto, T Kagaya, T Tsuchiyama, Y Sakai, T Nakahama, N Mukaida, S Kaneko. Prevention of intrahepatic metastasis of liver cancer by suicide gene therapy and chemokine ligand 2/monocyte chemoattractant protein-1 delivery in mice. *J Gene Med* 12(12):1002-13, 2010.
  43. J Furuse, T Okusaka, S Kaneko, M Kudo, K Nakachi, H Ueno, T Yamashita, K Ueshima. Phase I/II study of the pharmacokinetics, safety and efficacy of S-1 in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 101(12):2606-11, 2010.
  44. H Misu, T Takamura, H Takayama, H Hayashi, N Matsuzawa-Nagata, S Kurita, K Ishikura, H Ando, Y Takeshita, T Ota, M Sakurai, T Yamashita, E Mizukoshi, T Yamashita, M Honda, K Miyamoto, T Kubota, N Kubota, T Kadowaki, HJ Kim, IK Lee, Y Minokoshi, Y Saito, K Takahashi, Y Yamada, N Takakura, S Kaneko. A liver-derived secretory protein, selenoprotein P, causes insulin resistance. *Cell Metab* 12(5):483-95, 2010.
  45. S Kaneko, M Sata, T Ide, T Yamashita, S Hige, E Tomita, S Mochida, Y Yamashita, Y Inui, SR Kim, N Komada, T Mikami, S Satoh, S Morita, K Takaguchi, N Hirashima, Y Nishio, D Watanabe, K Kioka, K Fujiwara. Efficacy and safety of double filtration plasmapheresis in combination with interferon therapy for chronic hepatitis C. *Hepatol Res* 40(11):1072-1081, 2010.
  46. H Nuriya, K Inoue, T Tanaka, Y Hayashi, T Hishima, N Funata, K Kaji, S Hayashi, S Kaneko, Kohara M. Detection of hepatitis B and C viruses in almost all hepatocytes by modified PCR-based in situ hybridization. *J Clin Microbiol* 48(11):3843-51, 2010.
  47. M Honda, M Nakamura, M Tateno, A Sakai, T Shimakami, T Shirasaki, T Yamashita, K Arai, T Yamashita, Y Sakai, S Kaneko. Differential interferon signaling in liver lobule and portal area cells under treatment for chronic hepatitis C. *J Hepatol* 53(5):817-26, 2010.
  48. M Honda, Y Sakai, T Yamashita, T Yamashita, A Sakai, E Mizukoshi, Y Nakamoto, I Tatsumi, Y Miyazaki, H Tanno, S Kaneko; Hokuriku Liver Study Group. Differential gene expression profiling in blood from patients with digestive system cancers. *Biochem Biophys Res Commun* 400(1):7-15, 2010.
  49. A Kitao, Y Zen, O Matsui, T Gabata, S Kobayashi, W Koda, K Kozaka, N Yoneda, T Yamashita, S Kaneko, Y Nakanuma. Hepatocellular Carcinoma: Signal Intensity at Gadoteric Acid-enhanced MR Imaging--Correlation with Molecular Transporters and Histopathologic Features. *Radiology* 256(3):817-26, 2010.
  50. N Iida, Y Nakamoto, T Baba, H Nakagawa, E Mizukoshi, M Naito, N Mukaida, S Kaneko. Antitumor Effect after Radiofrequency Ablation of Murine Hepatoma Is Augmented by an Active Variant of CC Chemokine Ligand 3/Macrophage Inflammatory Protein-1 $\alpha$ . *Cancer Res* 70(16):6556-65, 2010.
  51. M Honda, A Sakai, T Yamashita, Y Nakamoto, E Mizukoshi, Y Sakai, T Yamashita, M Nakamura, T Shirasaki, K Horimoto, Y Tanaka, K Tokunaga, M Mizokami, S Kaneko; Hokuriku Liver Study Group. Hepatic ISG expression is associated with genetic variation in IL28B and the outcome of IFN therapy for chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 139(2):499-509, 2010.
  52. T Shirasaki, M Honda, H Mizuno, T Shimakami, H Okada, Y Sakai, S Murakami, T Wakita, S Kaneko. La Protein Required for Internal Ribosome Entry Site-Directed Translation Is a Potential Therapeutic Target for Hepatitis C Virus Replication. *J Infect Dis* 202(1):75-85, 2010.
  53. T Yamashita, M Honda, K Nio, Y Nakamoto, T Yamashita, H Takamura, T Tani, Y Zen, S Kaneko. Oncostatin m renders epithelial cell adhesion molecule-positive liver cancer stem cells sensitive to 5-Fluorouracil by inducing hepatocytic differentiation. *Cancer Res* 70(11):4687-97, 2010.

54. E Mizukoshi, Y Nakamoto, K Arai, T Yamashita, N Mukaida, K Matsushima, O Matsui, S Kaneko. Enhancement of tumor-specific T cell responses by transcatheter arterial embolization with dendritic cell infusion for hepatocellular carcinoma. Int J Cancer 126(9):2164-74, 2010.
55. Y Wu, Y Y Wang, Y Nakamoto, Y-Y Li, T Baba, S Kaneko, C Fujii, N Mukaida. Accelerated hepatocellular carcinoma development in mice expressing the Pim-3 transgene selectively in the liver. Oncogene 29(15):2228-37, 2010.
56. Y Hodo, SI Hashimoto, M Honda, T Yamashita, Y Suzuki, S Sugano, S Kaneko, K Matsushima. Comprehensive gene expression analysis of 5'-end of mRNA identified novel intronic transcripts associated with hepatocellular carcinoma. Genomics 95(4):217-23, 2010.
57. Y Iwasaki, Y Shiratori, S Hige, S Nishiguchi, H Takagi, M Onji, H Yoshida, N Izumi, Y Kohgo, K Yamamoto, N Sato, A Shibuya, H Saito, M Sata, K Suzuki, S Kaneko, M Moriyama, and M Omata. A randomized trial of 24 versus 48 weeks of peginterferon  $\alpha$ -2a in patients infected with chronic hepatitis C virus genotype 2 or low viral load genotype 1: a multicenter national study in Japan. Hepatology 49(3):468-79, 2009.
58. S Ura, M Honda, T Yamashita, T Ueda, H Takatori, R Nishino, H Sunakozaka, Y Sakai, K Horimoto, and S Kaneko. Differential microRNA expression between hepatitis B and hepatitis C leading disease progression to hepatocellular carcinoma. Hepatology 49(4):1098-1112, 2009.
59. H Ando, T Takamura, N Matsuzawa-Nagata, KR Shima, S Nakamura, M Kumazaki, S Kurita, H Misu, N Togawa, T Fukushima, A Fujimura, S Kaneko. The hepatic circadian clock is preserved in a lipid-induced mouse model of non-alcoholic steatohepatitis. Biochem Biophys Res Commun 380(3):684-688, 2009.
60. T Yamashita, J Ji, A Budhu, M Forgues, W Yang, HY Wang, H Jia, Q Ye, LX Qin, E Wauthier, LM Reid, H Minato, M Honda, S Kaneko, ZY Tang, XW Wang. EpCAM-Positive Hepatocellular Carcinoma Cells Are Tumor-Initiating Cells With Stem/Progenitor Cell Features. Gastroenterology 136(3):1012-1024, 2009.
61. T Yamashita, M Honda, H Takatori, R Nishino, H Minato, H Takamura, T Ohta, and S Kaneko. Activation of lipogenic pathway correlates with cell proliferation and poor prognosis in hepatocellular carcinoma. J Hepatology 50(1):100-110, 2009.
62. Y Sakai, M Honda, H Fujinaga, I Tatsumi, E Mizukoshi, Y Nakamoto, and S Kaneko. Common transcriptional signature of tumor-infiltrating mononuclear inflammatory cells and peripheral blood mononuclear cells in hepatocellular carcinoma patients. Cancer Res 68(24):10267-10279, 2008.
63. T Takamura, H Misu, N Matsuzawa-Nagata, M Sakurai, T Ota, A Shimizu, S Kurita, Y Takeshita, H Ando, M Honda, S Kaneko. Obesity upregulates genes involved in oxidative phosphorylation in livers of diabetic patients. Obesity (Silver Spring) 16(12):2601-2609, 2008.
64. H Minagawa, T Yamashita, M Honda, Y Tabuse, K Kamijo, A Tsugita, and S Kaneko. Comparative analysis of proteome and transcriptome in human hepatocellular carcinoma using 2D-DIGE and SAGE. Protein J 27(7-8):409-419, 2008.
65. E Mizukoshi, M Honda, K Arai, T Yamashita, Y Nakamoto, and S Kaneko. Expression of multidrug resistance-associated protein 3 and cytotoxic T cell responses in patients with hepatocellular carcinoma. J Hepatology 49(6):946-954, 2008.
66. T Yamashita, M Honda, and S Kaneko. Application of serial analysis of gene expression in cancer research. Curr Pharm Biotechnol 9(5):375-382, 2008.
67. T Tsuchiyama, Y Nakamoto, Y Sakai, N Mukaida, and S Kaneko. Optimal amount of monocyte chemoattractant protein-1 enhances antitumor effects of suicide gene therapy against hepatocellular carcinoma by M1 macrophage activation. Cancer Sci 99(10):2075-2082, 2008.
68. N Iida, Y Nakamoto, T Baba, K Kakinoki, YY Li, Y Wu, K Matsushima, S Kaneko, and N Mukaida. Tumor cell apoptosis induces tumor-specific immunity in a CC chemokine receptor 1- and 5-dependent manner in mice. J Leukoc Biol 84(4):1001-1010, 2008.
69. R Nishino, M Honda, H Takatori, H Minato, Y Zen, M Sasaki, H Takamura, K Horimoto, T Ohta, Y Nakanuma, and S Kaneko. Identification of novel candidate tumour marker genes for intrahepatic cholangiocarcinoma. J Hepatology 49(2):207-216, 2008.
70. M Uno, S Kurita, H Misu, H Ando, T Ota, N Matsuzawa-Nagata, Y Kita, S Nabemoto, H Akahori, Y Zen, Y Nakanuma, S Kaneko, and T Takamura. Tranilast, an antifibrogenic agent, ameliorates a dietary rat model of nonalcoholic steatohepatitis. Hepatology 48(1):109-118, 2008.
71. R Teramoto, H Minagawa, M Honda, K Miyazaki, Y Tabuse, K Kamijo, T Ueda, S Kaneko. Protein expression profile characteristic to hepatocellular carcinoma revealed by 2D-DIGE with supervised learning. Biochim Biophys Acta 1784(5):764-772, 2008.

72. T Kato, T Yamashita, A Sekiguchi, T Tsuneda, K Sagara, M Takamura, S Kaneko, T Aizawa, LT Fu. AGEs-RAGE system mediates atrial structural remodeling in the diabetic rat. J Cardiovasc Electrophysiol 19(4):415-420, 2008.
73. T Kunieda, T Minamino, K Miura, T Katsuno K Tatenno, H Miyauchi, S Kaneko, CA Bradfield, GA FitzGerald, and I Komuro. Reduced nitric oxide causes age-associated impairment of circadian rhythmicity. Circulation Research 102(5):607-614, 2008.
74. H Minagawa, M Honda, K Miyazaki, Y Tabuse, R Teramoto, T Yamashita, R Nishino, H Takatori, T Ueda, K Kamijo, and S Kaneko. Comparative proteomic and transcriptomic profiling of the human hepatocellular carcinoma. Biochem Biophys Res Commun 366(1):186-192, 2008.
75. BK Popivanova, K Kitamura, Y Wu, T Kondo, T Kagaya, S Kaneko, M Oshima, C Fujii, N Mukaida. Blocking TNF-alpha in mice reduces colorectal carcinogenesis associated with chronic colitis. J Clin Invest 118(2):560-570, 2008.
76. M Makuuchi, N Kokudo, S Arii, S Futagawa, S Kaneko, S Kawasaki, Y Matsuyama, M Okazaki, K Okita, M Omata, Y Saida, T Takayama, Y Yamaoka. Development of evidence-based clinical guidelines for the diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma in Japan. Hepato Res 38(1):37-51, 2008.

特許権利確定 5 件

審査中 6 件

出願済み 2 件

政策提言：肝炎研究7カ年戦略（平成20年、平成21年）

肝がん診療ガイドライン（2005年版、2009年度版、2013年度版）

肝がんに対する新規抗がん剤使用に関する指針（2010年度版、2011年度版）