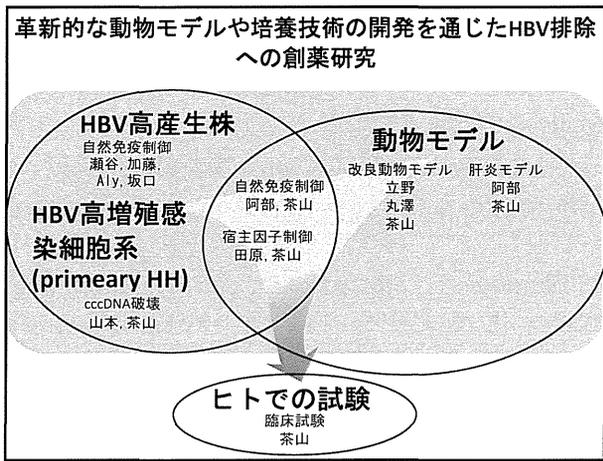


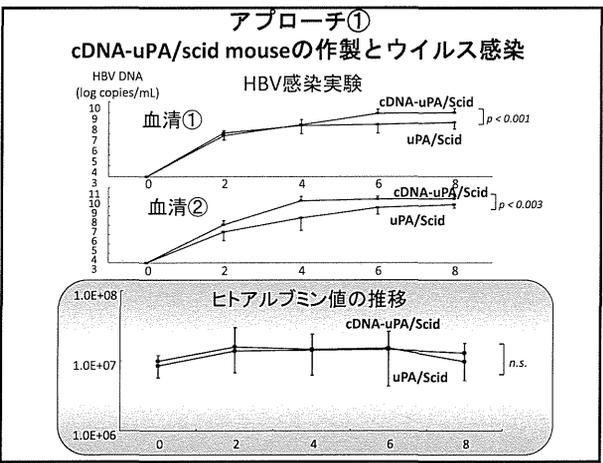
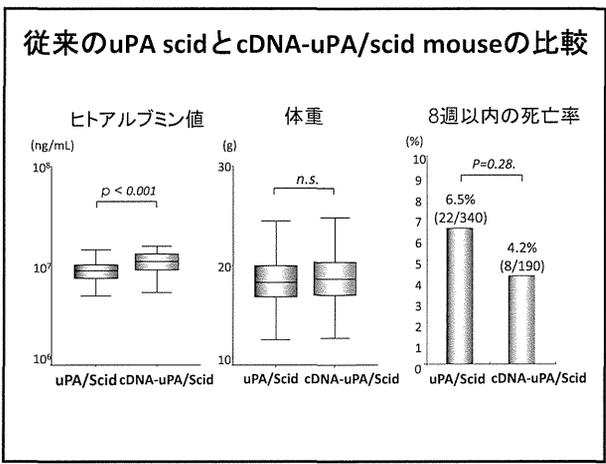
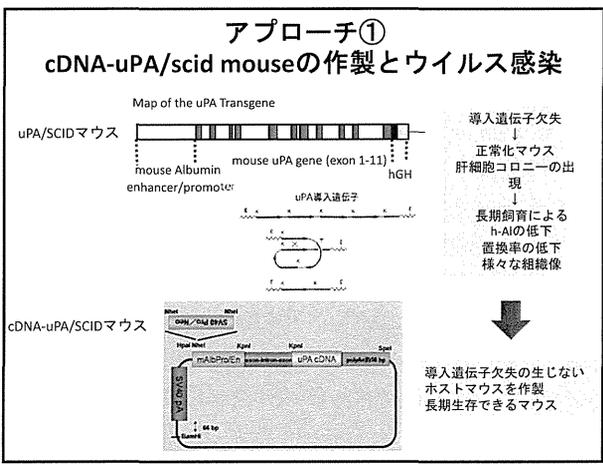
- the interferon therapy in hepatitis C patients. *J Hepatol.* 2011; 54: 629-639.
193. Fujii Y, Fujimura N, Mikami S, Maruhashi T, Kihara Y, Chayama K, Noma K and Higashi Y. Flow-mediated vasodilation is augmented in a corkscrew collateral artery compared with that in a native artery in patients with thromboangiitis obliterans (Buerger disease). *Journal of Vascular Surgery.* 2011; 54: 1689-1697.
194. Doskali M, Tanaka Y, Ohira M, Ishiyama K, Tashiro H, Chayama K and Ohdan H. Possibility of adoptive immunotherapy with peripheral blood-derived CD3CD56+ and CD3+CD56+ cells for inducing antihepatocellular carcinoma and antihepatitis C virus activity. *J Immunother.* 2011; 34: 129-138.
195. Chayama K, Hayes CN, Yoshioka K, Moriwaki H, Okanoue T, Sakisaka S, Takehara T, Oketani M, Toyota J, Izumi N, Hiasa Y, Matsumoto A, Nomura H, Seike M, Ueno Y, Yotsuyanagi H and Kumada H. Factors predictive of sustained virological response following 72 weeks of combination therapy for genotype 1b hepatitis C. *J Gastroenterol.* 2011; 46: 545-555.
196. Chayama K, Hayes CN, Hiraga N, Abe H, Tsuge M and Imamura M. Animal model for study of human hepatitis viruses. *J Gastroenterol Hepatol.* 2011; 26: 13-18.
197. Chayama K, Hayes CN, Abe H, Miki D, Ochi H, Karino Y, Toyota J, Nakamura Y, Kamatani N, Sezaki H, Kobayashi M, Akuta N, Suzuki F and Kumada H. IL28B but not ITPA polymorphism is predictive of response to pegylated interferon, ribavirin, and telaprevir triple therapy in patients with genotype 1 hepatitis C. *J Infect Dis.* 2011; 204: 84-93.
198. Chayama K and Hayes CN. Hepatitis C virus: How genetic variability affects pathobiology of disease. *J Gastroenterol Hepatol.* 2011; 26 Suppl 1: 83-95.
199. Azakami T, Hayes CN, Sezaki H, Kobayashi M, Akuta N, Suzuki F, Kumada H, Abe H, Miki D, Tsuge M, Imamura M, Kawakami Y, Takahashi S, Ochi H, Nakamura Y, Kamatani N and Chayama K. Common genetic polymorphism of ITPA gene affects ribavirin-induced anemia and effect of peg-interferon plus ribavirin therapy. *J Med Virol.* 2011; 83: 1048-1057.
200. Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Chayama K, Nakamura Y and Kumada H. Amino Acid Substitution in HCV Core Region and Genetic Variation near the IL28B Gene Affect Viral Dynamics during Telaprevir, Peginterferon and Ribavirin Treatment. *Intervirology.* 2011; 55: 417-425.
201. Abe H, Imamura M, Hiraga N, Tsuge M, Mitsui F, Kawaoka T, Takahashi S, Ochi H, Maekawa T, Hayes CN, Tateno C, Yoshizato K, Murakami S, Yamashita N, Matsuhira T, Asai K and Chayama K. ME3738 enhances the effect of interferon and inhibits hepatitis C virus replication both in vitro and in vivo. *J Hepatol.* 2011; 55: 415-96.
202. Abe H, Hayes CN, Ochi H, Tsuge M, Miki D, Hiraga N, Imamura M, Takahashi S, Kubo M, Nakamura Y, Kamatani N and Chayama K. Inverse association of IL28B genotype and liver mRNA expression of genes promoting or suppressing antiviral state. *J Med Virol.* 2011; 83: 1597-1607.
203. Abe H, Hayes CN, Ochi H, Maekawa T, Tsuge M, Miki D, Mitsui F, Hiraga N, Imamura M, Takahashi S, Kubo M, Nakamura Y and Chayama K. IL28 variation affects expression of interferon stimulated genes and peg-interferon and ribavirin therapy. *J Hepatol.* 2011; 54: 1094-1101.



改良動物モデル

ヒト肝細胞キメラマウス
置換率90%以上の優れた動物実験モデル

欠点 ①脆弱性(突然死)
②uPA遺伝子欠失による置換率低下
③不完全な免疫不全

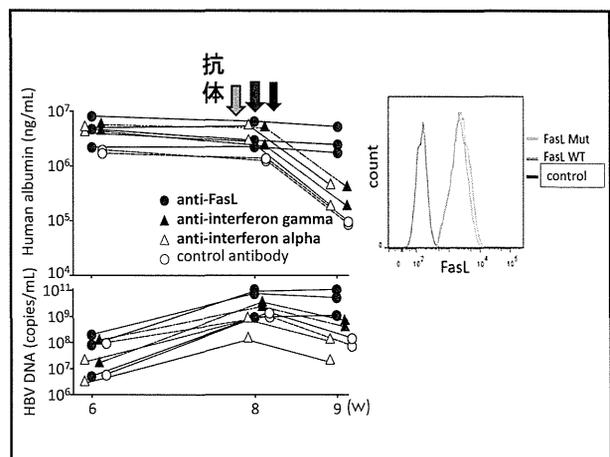
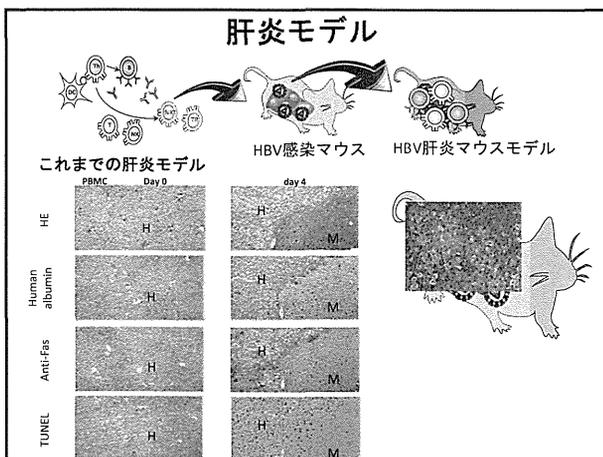
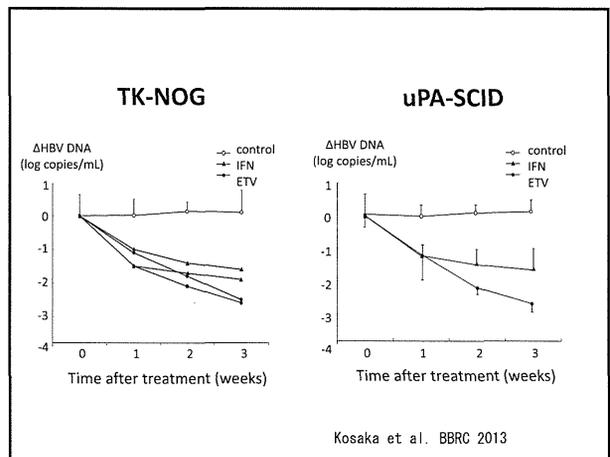
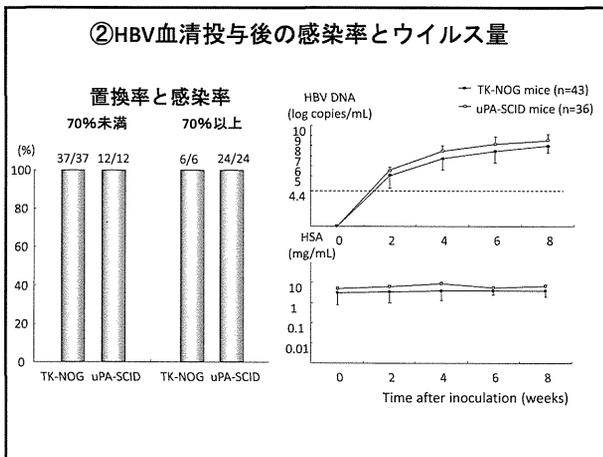
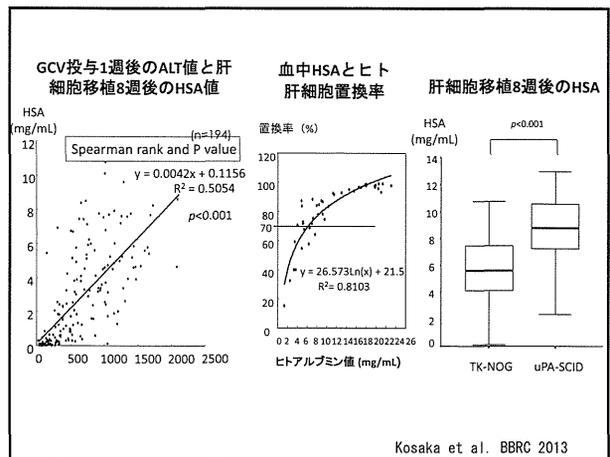
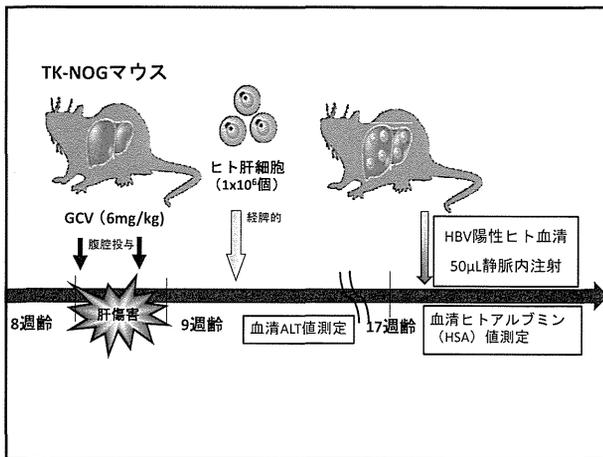


アプローチ②

さらに高度の免疫不全マウスの作製

免疫不全マウスの一覧

	T細胞	B細胞	NK細胞	DC/マクロファージ
Nude mice	欠損			
SCID mice	欠損	欠損		
NOD mice			機能低下	機能低下
NOD-scid mice	欠損	欠損	機能低下	機能低下
IL2Ry KO mice			欠損	機能低下
NOG mice (NOD/Shi-scid IL2Ry null)	欠損	欠損	機能低下	機能低下
RAG2 KO mice	欠損	欠損		機能低下
RAG2 ^{+/+} /IL2Ry ^{-/-} mice	欠損	欠損	機能低下	機能低下



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：ヒト/チンパンジー・マウスハイブリッド技術を利用したB型肝炎ウイルス感染モデルマウスの開発課題番号：H24-B創-肝炎-一般-017予定期間：H24年度からH28年度まで研究代表者：山村 研一所属研究機関：熊本大学所属部局：生命資源研究・支援センター職名：教授年次別研究費(交付決定額)：1年目 100,000,000 円 2年目 100,000,000 円**I. 研究の意義**

- (1) B型肝炎ウイルス(HBV)はヒトとチンパンジーにしか感染せず、慢性化のメカニズムや治療法の開発が困難であった。マウスの肝臓の代わりに、**チンパンジーあるいはヒトの肝臓**を持ち、かつ**ヒトの免疫系**を持つマウスを作製し、HBVが感染し、ヒトと同様の免疫応答により肝炎が発症するマウスモデルが確立できれば、これらの課題を解決できる可能性が高く、その意義は大きい。
- (2) 慢性B型肝炎患者および感染したにもかかわらず治癒した患者由来のiPSを用いて肝細胞を誘導し、ヒト化肝臓マウスを作製できれば、慢性化しやすいメカニズムの遺伝学的解析が可能になると予想され、研究の意義は極めて大きい。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) HBV感染・増殖が可能でヒトと同様の免疫応答によるB型肝炎発症マウスモデルの作製を目的とする。このため、マウスH-2クラスIは欠損し、ヒトHLAクラスI分子を発現しているマウスをレシピエントとして用い、1)チンパンジーiPSとのキメラ胚による**チンパンジー肝臓キメラマウス**、2)ヒトiPSより分化誘導した肝細胞を移植することによる**ヒト肝臓置換マウス**の開発を行う。
- (2) モデルマウスを用いて、1)HBVの**感染・増殖機構**の解明、2)ウイルスの生体内での**病原性解析**、3)慢性肝炎の**発症メカニズム**の解析、4)慢性肝炎から肝硬変・肝癌への**進行メカニズム**の解析、5)中和抗体や薬剤の**有効性の検証**に関する成果が期待される。
- (3) 中・長期的には、**ヒトあるいはチンパンジー由来の組織・臓器を持つマウス**作製が可能で、種々のヒト疾患の病因・病態解析、治療法開発が可能となる。たとえば、血液細胞を置換すればヒトHIV感染が可能となりエイズの生体モデルとなる。

III. 2年間の研究成果**・研究代表者(山村)**

(1)研究の統括

(2)会議及び打合せ

- 1)グループ内ミーティングの開催：27回(4/1, 4/3, 4/19, 4/22, 4/23, 5/28, 6/17, 6/19, 7/11, 7/30, 8/1, 8/5, 9/18, 9/24, 9/26, 10/7, 10/28, 10/29, 10/31, 11/11, 11/12, 11/15, 11/20, 11/26, 11/27, 12/2, 12/9)

2) 第1回4班班長会議出席：2013年12月13日

3) 北京大学生命科学研究員のDeng教授とのiPS分化誘導に関する打合せ：2013年5月9日

(3) 胎児卵黄血管および成体上腸間膜静脈よりの肝細胞移植の講習会開催：2013年11月20日

・研究分担者(江良)

(1) チンパンジーiPS細胞の樹立

研究協力者の京都大霊長類研究所の明里教授の協力のもと、チンパンジーの健康診断時に採取した末梢血液から分離した単核球を用い以下の方法でiPS細胞誘導を行った。まずConAでT細胞を活性化し、初期化因子(Oct3/4, Sox2, KLF4, c-Myc)をタンデムに持つ新型の非組込型センダイ・ウイルスベクター(SeV)を感染(MOI:30)させた。その後bFGF(30ng/ml)を含む培地で培養し、多くのiPS細胞コロニーを単離できた。PCRにてこれらのiPS細胞がチンパンジー由来の細胞であることを確認し、SeVウイルスが除去されていることも確認した。さらに、未分化マーカーの発現を免疫染色、RT-PCRで確認した。染色体の解析を行ったが、5株中3株では正常核型であった。次に、正常核型のiPS細胞の分化能力を調べるために1)免疫不全マウスへ移植しテラトーマ形成、2)試験管内での分化誘導を行った。その結果、内胚葉系細胞、中胚葉系細胞、外胚葉系細胞へ分化することが確認された。

(2) ciPSへのhβ2m-HLA-A2.1(α1-α2)-H2-D^b(α3)(HHD)の導入

HHDについてもciPS細胞への導入を開始した。まだクローンは得られていないが、今年度中には達成見込みである。また、キメラマウス作成のためのナイーブ化についても最近いい方法が開発され、その方法を用いてナイーブ化を試みている。

・研究分担者(荒木)

(1) Tg(hβ2m-HLA-A2.1(α1-α2)-H2-D^b(α3));H2-D^{B*/I};B2m^{-/-}(HHB)マウスの入手と繁殖

マウスにおいてもヒトと同様の免疫応答を起こすため、マウスのClass Iとβ2-microglobulinを欠損し、代わりにヒトHLA Class I α鎖とβ2-microglobulinを発現しているHHBマウスをフランス Inserm 研究所のLemonnier博士より入手した。26-28日齢のメスを使って過剰排卵させ、体外受精を繰り返すことで、短期間で多数のマウスの増殖を行った。

(2) HHBマウスからのES細胞(ES:HHB)の樹立

体外受精で得られた胚盤胞33個を2i(2 μM PD0325901, 3 μM CHIR99021)存在下で培養し、21クローンの樹立に成功し、このうち100%雄キメラが得られた3クローン(HHB3, 9, 10)について、継代後にも100%雄キメラが得られたが、キメラ作製効率の良かったHHB9とHHB10を今後の実験に用いることとした。

(3) ES:HHB;SCCDの樹立

Tamoxifen投与でマウス肝細胞を死滅させることのできる、SAP-CreER^{T2}(SC)とCAG-loxP-EGFP-loxP-DT-A(CD)の2つのコンストラクトを薬剤選択マーカーであるPGK-PuroベクターとともにHHB9, HHB10 ES細胞にエレクトロポレーションにて導入し、100%雄キメラを得ることができた6クローンのES細胞(ES:HHB;SCCD)の樹立に成功した。

・研究分担者(佐々木)

(1) マウスへのHBV感染条件の文献的考察

試料から採取した 1×10^5 - 10^6 virus copy/mL程度を静注することで感染実験は可能である。

(2) マウスへの HBV 感染の判定

血清中の HBs 抗原、HBs 抗体、HBc 抗体、HBV-DNA の定量法を確立している。

IV. 平成 26～28 年度の課題

(1) チンパンジー肝臓キメラマウスの作製

- 1) ciPS 細胞のナイーブ化
- 2) ES:HLA-A2.1-h β 2m;H2-D^{B^{-/-}};B2m^{-/-};Hhex^{-/+} の樹立
- 3) Tg (HLA-A2.1-hb2m);H2-D^{B^{-/-}};B2m^{-/-};Hhex^{-/+} マウス樹立
- 4) チンパンジー肝臓キメラマウスの樹立

(2) ヒト肝臓置換マウスの作製

- 1) hiPS:HLA-A2.1(h α 1- α 2-m α 3)-h β 2m からの肝細胞分化誘導
- 2) Tg (HLA-A2.1-h β 2m;H2-D^{B^{-/-}});B2m^{-/-};SVCCD の樹立
- 3) ヒト肝臓置換マウスの作製

(3) HBV 感染・肝炎モデルの確立

- 1) HBV の感染・増殖の解析
- 2) B 型肝炎の発症と慢性化の解析

V. 行政施策への貢献の可能性

(1) 新たなモデルの樹立は、B 型肝炎の治療開発を促進し、肝炎対策行政へ貢献できる。

(2) 将来の臓器移植への貢献も考えられ、医学・薬学・医療産業域への幅広い効果を期待できる。

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 (山村)

- (1) Semba, K., Araki, K., Matsumoto, K., Suda, H., Ando, T., Sei, A., Mizuta, H., Takagi, K., Mai Nakahara, M., Muta, M., Yamada, G., Nakagata, N., Iida, A., Ikegawa, S., Nakamura, Y., Araki, M., Abe, K. and Yamamura, K. Ectopic expression of *Ptfla* induces spinal defects, urogenital defects, and anorectal malformations in *Danforth's short tail* mice. PLoS Genet. e1003204, 2013.

・研究分担者 (江良)

- (1) Tanaka A, Woltjen K, Miyake K, Hotta A, Ikeya M, Yamamoto T, Nishino T, Shoji E, Sehara-Fujisawa A, Manabe Y, Fujii N, Hanaoka K, Era T, Yamashita S, Isobe K, Kimura E, Sakurai H. Efficient and reproducible myogenic differentiation from human iPS cells: Prospects for modeling Miyoshi Myopathy in vitro. PLoS One, 8(4):e61540, 2013.

・研究分担者 (荒木)

- (1) 特許米国出願『マウス系統を樹立する方法』、出願番号/出願日:13/818,906/08/30/2011、公開番号/公開日 US-2013-0211187-A1/08/15/2013、発明者:荒木正健、荒木喜美、出願人:熊本大学。

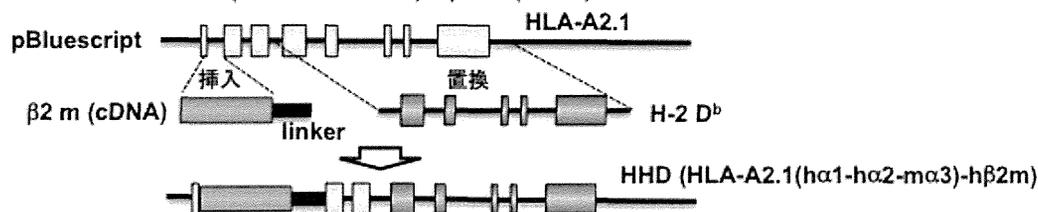
・研究分担者 (佐々木)

- (1) Watanabe T, Ishihara K, Hirosue A, Watanabe S, Hino S, Ojima H, Kanai Y, Sasaki Y and Nakao M. Higher-order chromatin regulation and differential gene expression in human Tumor necrosis factor /Lymphotoxin locus in hepatocellular carcinoma cells. Mol Cell Biol 32: 1529-1541, 2012.

VII. III (2年間の研究成果)の概要図等

基本となるヒトHLA class I 遺伝子およびマウス

1. ベクターHLA-A2.1($\alpha 1$ - $\alpha 2$ - $\alpha 3$)- $\beta 2m$ (HHD)を入手、配列確認

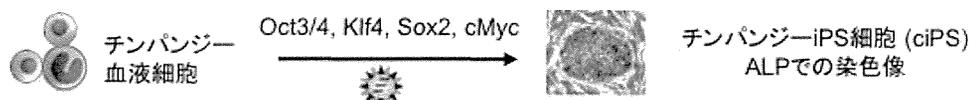


2. Tg(HLA-A2.1($\alpha 1$ - $\alpha 2$ - $\alpha 3$)- $\beta 2m$);H2-D^{B*/b};B2m^{+/+}の入手、繁殖、ES細胞の樹立

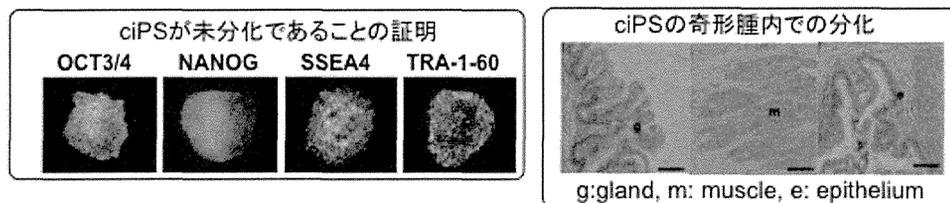


A. チンパンジー肝臓キメラマウスの作製

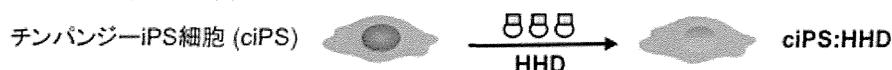
1. チンパンジーiPS (ciPS) 細胞の樹立



2. チンパンジーiPS (ciPS) 細胞の未分化性と分化誘導能

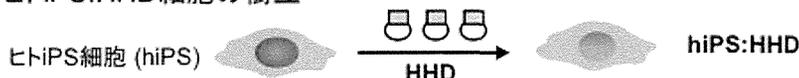


3. ciPS:HHD細胞の樹立

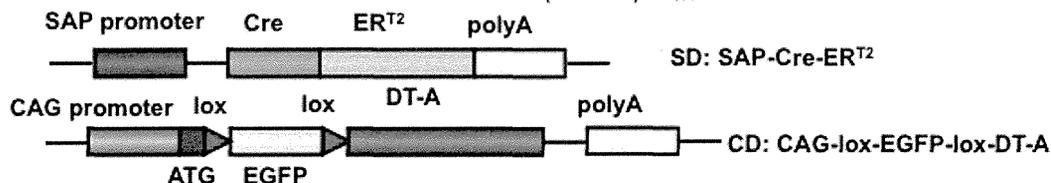


B. ヒト肝臓置換マウスの作製

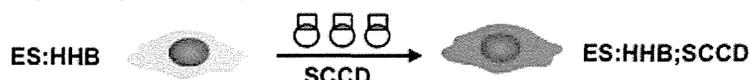
1. ヒトiPS:HHD細胞の樹立



2. SAP-CreERT2およびCAG-EGFP-DT-A (SCCD)の構築



3. ES:HHB;SCCDの樹立



● 研究代表者の研究歴等

※研究代表者に関するもののみを記載してください。(研究代表者には下線をつけて下さい)

・ 過去に所属した研究機関の履歴

富山医科薬科大学和漢薬研究所
大阪大学医学部

・ 主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

荻田善一 (当時、大阪大学、富山医科薬科大学)
熊原雄一 (当時、大阪大学)
岸本忠三 (当時、大阪大学)
本庶佑 (当時、大阪大学)
松原謙一 (当時、大阪大学)

・ 主な研究課題

免疫応答の遺伝学
HBV のモデルマウス作製
優性遺伝病の発生機構
マウス個体の胚・遺伝子操作
ほ乳類発生の分子機構

・ これまでの研究実績

※研究代表者の本研究の成果以外の実績も記載してください。

(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)

※発表論文名・学協会誌名・発表年(西暦)、知的財産権の取得及び申請状況、研究課題の実施を通じた政策提言(寄与した指針又はガイドライン等)のうち、主なものを選択し、直近年度から順に記載してください。

発表論文

1. Arai, A., Morita, K., Maehara, K., Iwamura, Y., Honda, S., Nakashima, K., Kurokawa, J., Mori, M., Motoi, Y., Miyake, K., Yamamura, K., Ohara, O., Shibuya, A., Wakeland, E. K., Li, Q.-Z. and Miyazaki, T. Obesity-associated autoantibody production requires AIM to retain IgM immune complex on follicular dendritic cells. *Cell Report* 3:1187-1198, 2013.
2. Nakahara, M., Tateyama, H., Araki, M., Nakagata, N., Yamamura, K. and Araki, K. Gene-trap mutagenesis using Mol/MSM-1 embryonic stem cells from MSM/Ms mice. *Mammal Genome* 24:228-239, 2013.
3. Semba, K., Kimi Araki, K., Matsumoto, K., Suda, H., Ando, T., Sei, A., Mizuta, H., Takagi, K., Mai Nakahara, M., Muta, M., Yamada, G., Nakagata, N., Iida, A., Ikegawa, S., Nakamura, Y., Araki, M., Abe, K. and Yamamura, K. Ectopic expression of *Ptf1a* induces spinal defects, urogenital defects, and anorectal malformations in *Danforth's short tail* mice. *Plos Genet.* e1003204, 2013.
4. Sakai, D., Nakamura, Y., Nakai, T., Mishina, T., Kato, S., Grad, S., Alini, M., Risbud, A.V., Chan, D., Cheath, K.S.E., Yamamura, K., Masuda, K., Okano, H., Anod, K. and Mochida, J. Exhaustion of nucleus pulposus progenitor cells with ageing and degeneration of the intervertebral disc. *Nature Comm.*3:1264.

DOI: 10.1038/ncomms2226.

5. Hoshii, T., Tadokoro, Y., Naka, K., Ooshio, T., Muraguchi, T., Sugiyama, N., Soga, T., Araki, K., Yamamura, K. and Hirao, A. Acute myeloid leukemia stem cells lacking mTORC1 self-renew but have defective leukemia-initiating capacity in mice. *J. Clin. Invest.* 122:21124-2129, 2012.
6. Asada, N., Takase, M., Nakamura, J., Oguchi, A., Asada, M., Suzuki, N., Yamamura, K., Nagoshi, N., Shibata, S., Rao, T. N., Fehling, H. J., Fukatsu, A., Minegishi, N., Kita, T., Kimura, T., Okano, H., Yamamoto, M. and Yanagita, M. Dysfunction of fibroblasts of extra-renal origin underlies renal fibrosis and renal anemia in mice. *J. Clin. Invest.* 121:3981-3990, 2011.
7. Li, Z., Zhao, G., Shen, J., Araki, K., Haruna, K., Inoue, S., Wang, J. and Yamamura, K. Enhanced expression of human cDNA by phosphoglycerate kinase promoter-puromycin cassette in the mouse transthyretin locus. *Transgenic Res.* 20:191-200, 2011.
8. Ando, T., Semba, K., Suda, H., Sei, A., Mizuta, H., Araki, M., Abe, K., Imai, K., Nakagata, N., Araki, K. and Yamamura, K. The floor plate is sufficient for development of the sclerotome and spine without the notochord. *Mechanism Dev.* 128: 129-140, 2011.
9. Araki, K., Okada, Y., Araki, M. and Yamamura, K. Comparative analysis of right-element mutant *lox* sites on recombination efficiency in ES cells. *BMC Biotech.* 10: 29, 2010.
10. Wang, J., Ohmuraya, M., Suyama, K., Hirota, M., Ozaki, N., Baba, H., Nakagata, N., Araki, K. and Yamamura, K. Relationship of strain dependent susceptibility to experimentally induced acute pancreatitis with regulation of *Prss1* and *Spink3* expression. *Lab. Invest.* 90: 654-664, 2010.
11. Miike, K., Aoki, M., Yamashita, R., Takegawa, Y., Saya, H., Miike, T. and Yamamura, K. Proteome profiling reveals gender differences in the comparison of human serum. *Proteomics* 10:2678-2691, 2010.
12. Araki, K., Takeda, T., Yoshiki, A., Obata, Y., Nakagata, N., Shiroishi, T., Moriwaki, K. and Yamamura, K. Establishment of germline-competent embryonic stem cell lines from the MSM/Ms strain. *Mammal. Genome* 20: 14-20, 2009.
13. Yamashita, R., Takegawa, Y., Sakumoto, M., Nakahara, M., Kawazu, H., Hoshii, T., Araki, K., Yokouchi, Y. and Yamamura, K. Defective development of the gall bladder and cystic duct in *Lgr4*-hypomorphic mice. *Mechanism Dev.* 238:993-1000, 2009.
14. Ozaki, N., Ohmuraya, M., Hirota, M., Ida, S., Wang, J., Takamori, H., Higashiyama, S., Baba, H. and Yamamura, K. Serine protease inhibitor, Kazal type 1, promotes proliferation of pancreatic cancer cells through the epidermal growth factor receptor. *Mol. Cancer Res.* 7:1572-1581, 2009
15. Yamamura, K. and Araki, K. Gene trap mutagenesis in mice; New perspectives and tools in cancer research. *Cancer Science* 99: 1-6, 2008.
16. Hashimoto, D., Ohmuraya, M., Hirota, M., Yamamoto, A., Suyama, K., Baba, H., Araki, K., Mizushima, N. and Yamamura, K. Involvement of autophagy in trypsinogen activation. *J. Cell Biol.* 181: 1065-1072, 2008.
17. Zhao, G., Li, Z., Araki, K., Haruna, K., Yamaguchi, K., Araki, M., Takeya, M., Ando, Y. and Yamamura, K. Inconsistency between hepatic expression and serum concentration of transthyretin in mice humanized at

the transthyretin locus. *Genes Cells* 13: 1257-1268, 2008.

18. Yamazaki, H., Tsuneto, M., Yoshino, M., Yamamura, K. and Hayashi, S.. Potential of dental mesenchymal cells in developing teeth. *Stem Cells* 25, 78-87, 2007.
19. Komatsu, K., Wakatsuki, S., Yamada, S., Yamamura, K., Miyazaki, J., Koni, P. A. and Sehara-Fujiwara, A. Meltrin β expression in cardiac neural crest cells is required for ventricular septum formation of the heart. *Dev. Biol.* 303:82-92, 2007.
20. Reifenberg, K., Lehr, H-A., Torzewski, M., Steige, G., Wiese, E., Küpper, I., Becker, C., Ott, S., Nusser, P., Yamamura, K., Rechtsteiner, G., Warger, T., Graf, N., Kleinert, K., Schmidt, A., Pieske, B., Wenzel, P., Münzel, T. and Löhler, J. Interferon-gamma induces chronic active myocarditis and cardiomyopathy in transgenic mice. *Amer. J. Pathol.* 171:463-472, 2007.

特許取得：

1. 「新規発現ベクター (CAG promoter)」、国内特許 登録番号 2824434、発明者：宮崎純一、山村研一、荒木正健他、1998年9月11日
2. 「トラップベクターおよびこれを用いた遺伝子トラップ法」、オーストラリア「AU778719」(2005.4)、米国「US7,312,075」(2007.12)、欧州「EP1201759」(2010.3)、中国「ZL00812904.5」(2010.6)、香港「HK1048830B」(2010.12)、日本「JP4664554」(2011.2)、発明者：山村研一、荒木喜美。

平成24(25)年度厚生労働科学研究費補助金(B型肝炎創薬実用化等研究事業)
 ① B型肝炎ウイルスが感染可能な小動物モデルの開発に関する研究
 課題番号: H24-B創-肝炎-一般-017

**ヒト/チンパンジー・マウスハイブリッド技術
 を利用したB型肝炎ウイルス感染
 モデルマウスの開発**

平成26(2014)年1月30日(木)
 独立行政法人国立国際医療研究センター国府台病院肝炎・免疫
 研究センター1 階研修室

研究代表者 山村 研一 熊本大学生命資源研究・支援センター
 研究分担者 江良 沢実 熊本大学発生医学研究所
 佐々木 裕 熊本大学生命科学研究部
 荒木 喜美 熊本大学生命資源研究・支援センター
 協力者 明里 宏文 京都大学霊長類研究所

目的

HBVが感染し、ヒト免疫応答を持つモデルマウスの開発

従来モデルの欠点

チンパンジー	ヒト化肝臓マウス
実験動物として使用不可能 倫理的問題	免疫不全 免疫系はマウス

uPA-SCID (NOG)の欠点

1. 出血による死亡率が高い
2. 従って、移植時の外科処置に制限がある
3. 移植を、限られた日時に行う必要がある(生後5-12日)
4. 移植後のヒト肝細胞の生着率がばらばら
5. 体細胞復帰(マウス肝細胞の再生)が起こる
6. 繁殖が悪く、ヒト肝細胞移植後も健康状態が悪い

従来法の欠点への対応策

チンパンジーの欠点	ヒト化肝臓マウスの欠点
実験動物として使用不可能 倫理的問題 免疫系はチンパンジー	免疫不全 健康状態が悪い 免疫系はマウス

↓

<ul style="list-style-type: none"> チンパンジーのIPSを活用 マウス初期胚とのキメラ胚作製 チンパンジー肝臓キメラマウス作製 チンパンジー個体は使用しない 	<ul style="list-style-type: none"> 胎生期における肝細胞移植 免疫寛容の誘導 ヒト肝臓置換マウス作製 新しい系で、マウス肝細胞の破壊
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

細胞性免疫系はヒト化

1. 細胞性免疫系はヒト化
2. チンパンジー肝臓キメラマウス
3. ヒト肝臓置換マウス

基本となるレシピエントマウス

1. 細胞性免疫系のヒト化マウス(HHB)
 - 血球系のヒト化は不要
 - MHC class Iをヒト化⇒マウスリンパ球は、胸腺でヒトHLA class Iにより教育される

マウスMHC class I
H2-D^bの破壊

H2-D^{B*4};B2m^{-/-}

ヒトMHC class I
HLA-A2.1の発現

α3⇒マウス型

α3ドメインだけは、マウス細胞障害性T細胞上のCD8と結合させるためマウス型

Tg(hβ2m-HLA-A2.1(α1-α2)-H2-D^b(α3-C terminus))

Pascolo et al. JEM 185:2043-2051, 1997; Firat, H. et al. Eur. J. Immunol. 29:3112, 1999

HHBマウスからのES細胞樹立・キメラマウス作製

最初のES細胞のスクリーニング

Line No.	Transfer	Foster	Newborn	Black eyes	100% chimera
2	75	3	3	3	2 ♂(No sperm)
3	75	3	12	11	6 ♂, 1 ♀
4	75	3	8	7	4 ♂ (Small)
5	50	2	3	3	1 ♂
6	75	3	4	4	3 ♂
7	75	3	3	3	3 ♂ (Small)
8	50	2	0	0	0
9	75	3	14	13	8 ♂
10	75	3	16	16	11 ♂
11	75	3	11	11	8 ♀
12	75	3	2	2	0
13	75	3	0	0	0

継代後のES細胞のスクリーニング

Line No.	Transfer	Foster	Newborn	Black eyes	100% chimera
3	75	3	13	8	1 ♂
9	75	3	8	7	3 ♂
10	75	3	5	3	1 ♂

HLA-A2の検出系の確立

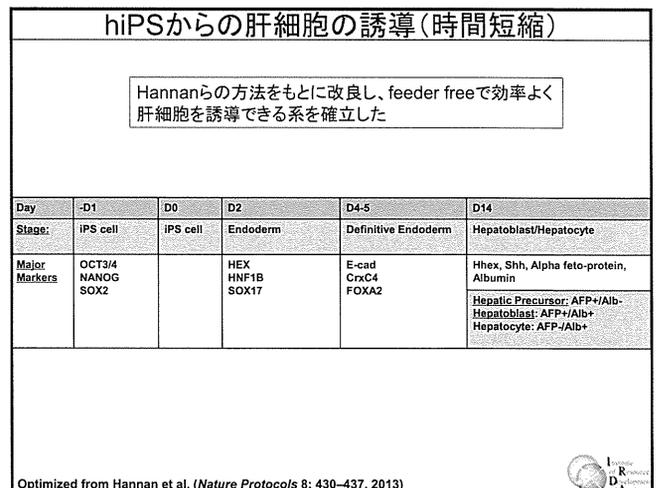
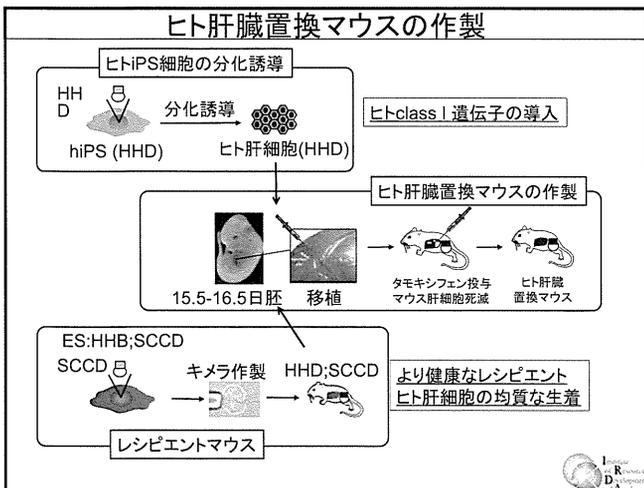
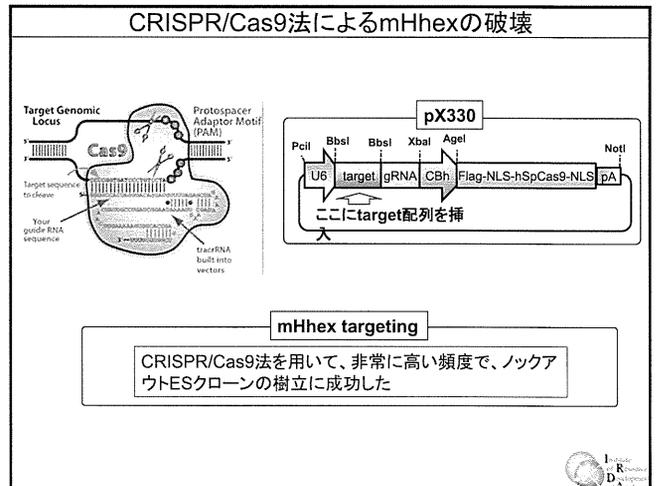
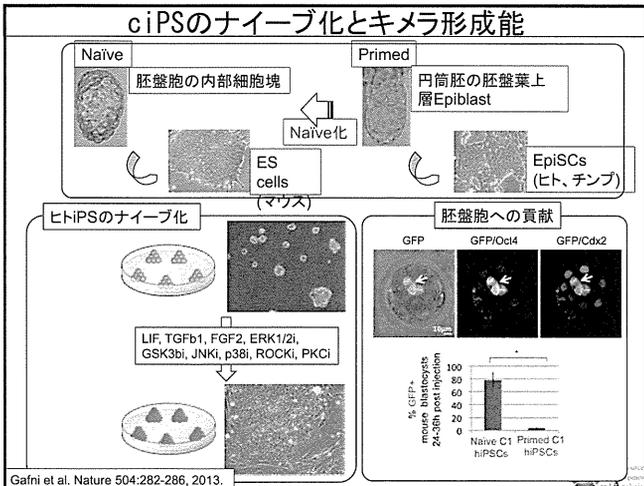
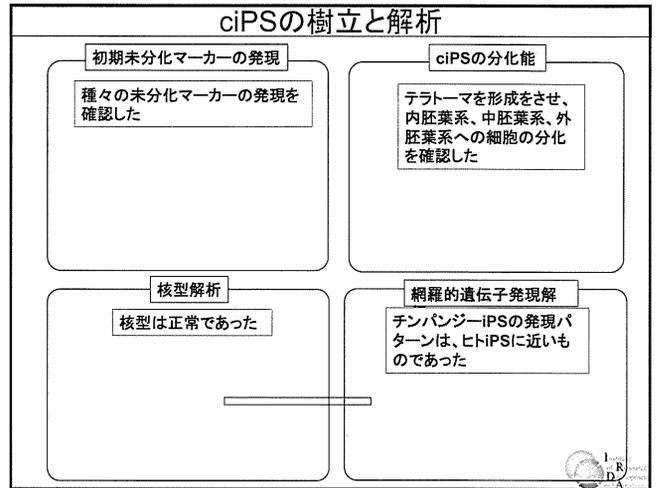
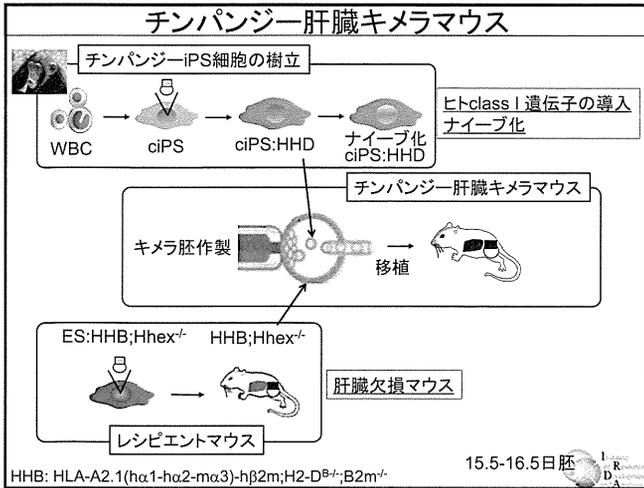
HHH コンストラクトとH2bRFP プラミド293 cellsにトランスフェクション

α-HumanHLA-A2

H2BRFP

α-HLA-A2/H2BRFP/DAPI

抗HLA-A2 mAb BB7.2で検出可能



マウス肝細胞の破壊: SCCD

SCCD

タモキシフェンを投与した時にマウス肝細胞死を誘導できるマウス系統の開発

Line No.	Transfer	Foster	Newborn	Black eyes	100% chimera
HHB9-42	75	3	16	15	7♂
HHB9-43	75	3	3	2	0
HHB9-48	75	3	6	3	0
HHB9-49	75	3	17	16	10♂
HHB9-69	75	3	0	0	0
HHB10-73	100	4	30	30	9♂
HHB10-80	75	3	6	6	1♂
HHB10-103	75	3	3	3	0
HHB10-106	75	3	18	17	5♂
HHB10-112	75	3	6	6	0
HHB10-116	75	3	8	7	2♂, 1♀

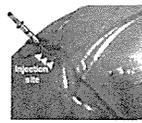
・タモキシフェン投与によって肝細胞障害を起こせることが分かった



胎児へのヒト肝細胞移植法: 卵黄静脈

B6F10 melanoma

Injection at E17.5



8 days of age



GFP hepatocyte

CAG-EGFPマウス

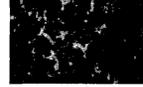


角膜を破り、肝実質をバイベッティングでほぐす
コラゲナーゼ選流 (Type IV collagenase)

肝細胞移植無し



肝細胞移植有



工程表

	平成24年度	平成25年度	平成26年度	平成27年度	平成28年度	平成29年度
基本	HLA-A2.1(hb1-hb2-mb) H2-D ^b の入手 100%(100%)	Tg(HLA-A2.1-hb2m) H2-D ^b -B2m ^b の入手 100%(100%)	Tg(HLA-A2.1-hb2m) H2-D ^b -B2m ^b からのES 細胞の選流 100%(100%)			
チンパンジーIPSの樹立	チンパンジーの皮膚細胞 からiPS細胞の樹立 100%(100%)	チンパンジーの皮膚細胞 からiPS細胞の樹立 100%(100%)	チンパンジー-iPS細胞の タイプ化			
目標1 レシビエントマウス		HLA-A2.1(hb1-hb2-mb) H2-D ^b を導入したiPS細胞 の樹立 80%(100%)	ES-HLA-A2.1(hb2m) H2-D ^b -B2m ^b -Hba ⁴ 樹立(100%)	Tg(HLA-A2.1-hb2m) マウス樹立		
チンパンジー肝臓キメラ				チンパンジー肝臓 キメラマウスの作製 とその解析		
目標2 レシビエントマウス	SAP-Vinc-EF7および CAG-Vinc-EF7-Vinc DT-Aコンストラクトの作成 100%(100%)	ES-HLA-A2.1(hb2m) H2-D ^b -B2m ^b -SCCD の樹立 100%(100%)	Tg(HLA-A2.1-hb2m) H2-D ^b -B2m ^b SCCDの樹立(80%)	チンパンジー肝臓 キメラマウスの作製 とその解析		
目標3 HBV感染肝臓モデルの確立				HBVの増殖-感染系 の樹立		モデルの供給開始



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 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)

役職・顧問職: 取締役 株式会社 トランスジェニック
 株式保有: 株式会社 トランスジェニック
 特許使用料: なし
 研究費受託: 共同研究経費 株式会社 トランスジェニック
 講演料: なし
 原稿料: 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)

- 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)



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25年度)

- ア 他の研究班と合同で研究会議を開催していない。
- イ 他の研究班と合同で研究会議を開催している。

平成25年12月13日 4班班長会議

1. 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研究(竹原徹郎 大阪大学)
2. 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 広島大学)
3. ツバイ全ゲノム解析に基づくB型肝炎ウイルス感染感受性小動物モデルの開発に関する研究(小原道法 (財)東京都医学総合研究所)
4. ヒト/チンパンジーマウスハイブリッド技術を利用したB型肝炎ウイルス感染モデルマウスの開発(山村研一 熊本大学)



平成 25 年度 肝炎等克服実用化研究事業（B型肝炎創薬実用化等研究事業）『成果概要』

研究課題：B型肝炎創薬実用化等研究事業の評価等に関する研究
課題番号：H24-B創-肝炎-指定-001
予定期間：H24年度からH28年度まで
研究代表者：正木尚彦
所属研究機関：国立国際医療研究センター
所属部局：肝炎・免疫研究センター
職名：肝炎情報センター長
年次別研究費(交付決定額)：1年目 25,000,000円 2年目 50,000,000円

I. 研究の意義

- (1) B型肝炎創薬実用化等研究事業全体が円滑に進捗するように、評価委員会事務局として各種機能を遂行する必要がある。
- (2) B型肝炎の抗ウイルス療法に焦点を絞った実態調査がこれまで成されていない。
- (3) B型肝炎疾患に関する信頼できる全国規模のデータベースが構築されていない。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 本研究事業全体の進捗を視野に入れつつ評価委員会事務局機能を担当することで、限られた期間内での新規薬剤の開発に貢献しうる。
- (2) B型肝炎患者の求めるニーズを正確に把握し、その情報を各研究代表者へ提供することで、創薬事業のあり得べき方向性を示すことが出来る。
- (3) 肝炎情報センターと都道府県肝炎対策部署あるいは肝疾患診療連携拠点病院とのネットワークを活用して全国規模のデータベースが構築出来れば、本研究事業の成果として将来実用化されることになる新規薬剤のマーケット規模予測や、その中～長期的効果を推定するための有用なツールとなる。

III. 2年間の研究成果

・研究代表者（正木尚彦）

- (1) 評価委員会事務局としての活動：研究協力者として、7名のプログラム・オフィサー（P0；内科系4名、薬学系2名、基礎系1名）を委嘱し、さらに、理化学研究所創薬部門のプログラム・ダイレクターに評価委員会事務局アドバイザーを委嘱し、事務局機能の充実を図っている。本研究事業は平成24年度（初年度）は16班で開始され、その後、平成25年度（2年目）二次公募で1班、平成25年度（2年目）三次公募で1班が追加され、現在計18班で進められている。研究者間で開催される班会議は平成24年度は計20回（単独15回、合同5回）開催され、P0の出席延べ人数は20名（うち9回班会議に研究代表者が出席）であった。平成25年度（平成25年4月～12月13日）は班会議が計16回（単独12回、合同4回）開催され、P0の出席延べ人数は15名（うち4回班会議に研究代表者が出席）であった。尚、事務局が把握している平成25年度

残期間における班会議開催予定では、合同班会議へのシフトが加速されている。

- (2) 他の厚生労働科学研究事業では、初年度の研究発表会を開催せずに書類審査のみで2年目への継続の可否を決定されているが、本研究事業は国民の期待がきわめて高い研究事業であること、1研究課題あたりの交付金額が高額であることなどを踏まえ、平成25年1月31日に研究発表会、中間評価委員会を実施した。中間評価委員による厳正な審査が行われ、研究継続の可否ならびに交付研究費の妥当性について議論された。尚、平成25年度の研究発表会、中間評価委員会は現在の18研究班を対象とし、平成26年1月30日に開催予定である。
- (3) 本研究事業の研究者間で共有するホームページの作成・運用：本研究事業の効率的な遂行のためには、複数の研究班間での情報共有、共同研究の推進がきわめて重要であると考え、研究者間のみで閲覧可能なホームページを平成25年10月23日に開設した。特に、研究者間での意見交換の場（「掲示板」）として、「アナウンス・ディスカッションボード」を設けている。知的財産権に係る内容も含まれ得ることから、閲覧資格に制限を設ける、アクセスのためのパスワードを定期的に変更するなど、セキュリティーの担保には十分留意している。
- (4) 研究協力者として、肝炎情報センターに任期付き常勤研究員（医師職）を雇用し、「B型肝炎に対する新しい治療法開発のためのアンケート調査」を企画した。調査対象は全国の肝疾患診療連携拠点病院に通院するB型肝炎患者（約7,000人）である。平成24年12月13日に研究代表者の所属する国立国際医療研究センター倫理委員会での承認を取得し、厚生労働省肝炎対策推進室との調整を経て、平成25年5月から各拠点病院事業担当者あてに、研究協力を依頼した。各施設における倫理委員会審査終了を確認後、7月中旬から順次調査票の送付を行った。全国63施設（61拠点病院+国立国際医療研究センターセンター病院・国府台病院）の研究協力が得られており、平成25年12月3日までに計2,585部のアンケートが回収された。平成25年12月末までに3,500部以上の回収を見込んでいる。

現時点での解析結果の一部を記載すると、

- ①創薬による治療効果への期待について：1,865部の集計では、第1位は「ウイルスが体内から完全に排除されること（60%）」、以下、「肝がんの発症率が低くなること（20%）」、「肝硬変への進行が抑えられること（8%）」、「検査上、ウイルスに関する項目が陰性化すること（6%）」、「検査上、肝機能が改善すること（4%）」、「疲れ易さなどの症状が改善されること（2%）」の順であった。高年齢層（10歳刻み）ほど、あるいは、現時点における病態進行例ほど、ウイルス完全排除を期待する比率が漸減し、一方、肝発がんの抑制を期待する比率が漸増していた。
- ②バラクルード内服者（904例）における「治療満足度の構造」、「治療効果の構造」、「飲み忘れの構造」を規定する因子についての決定木分析：1）治療満足度は、「現在の治療効果」に最も影響され、「効果不明への不安・内服剤に対する不安の有無」が続き、特に、治療効果が良好で不安もない患者では、一番下のレベルでは「治療中断への誘惑」が抽出された。2）治療効果規定因子として、「内服期間の長いこと」が最も影響し、「年齢が62歳未満と若年であること」、「治療中・治療前の医師の説明が十分であること」が続き、一番下のレベルでは「病院の支援項目数が一つ以上あること」なども関与していた。3）飲み忘れの最強要因として、「飲み忘れへの不安があること」が抽出され、「不安がない場合」には、「飲み忘れは勤務者に多く、専業主婦・学生・退職者には少ない」が続き、一番下のレベルでは「専門医療機関への通院回数が年2回以下、

食事が不規則」が関与していた。

IV. 平成 26～28 年度の課題

- (1) 2年目に 18 課題に増えた研究班を対象として、班会議へのプログラムオフィサー派遣、共有ホームページ（掲示板機能）を活用して、複数の研究班による共同研究の推進を図り、本研究事業全体として創薬実用化の早期実現を目指す。研究評価委員会事務局としての機能を継続して遂行する。
- (2) アンケート調査票のデータマイニング解析から得られた患者ニーズを研究代表者へフィードバックし、本研究事業の軌道修正に役立てる。尚、アンケート調査票の自由記載に関するテキストマイニング解析は平成 26 年 9 月までに終了する予定。
- (3) 平成 27 年度に「B 型肝炎患者に関する全国規模のデータベース構築」が実現出来るように、対象医療機関の選定、調査項目の絞り込み、情報収集方法の確定などを平成 26 年度前半を目途に行う。

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 指定研究として評価委員会事務局機能を遂行することで、本研究事業の円滑な推進が可能となる。
- (2) アンケート調査の解析結果は本研究事業の進むべき道標となることが期待される。
- (3) 研究成果については、肝炎情報センターホームページ上へ随時公開することも検討しており、B 型肝炎に関する最新情報を医療者のみならず一般住民へ提供することが可能となる。これにより、B 型肝炎に対する関心が高まり、その結果適切な治療を受ける患者数が増加すれば、肝硬変・肝臓癌へのさらなる進展が抑制され、ウイルス肝炎罹患者の予後改善に繋がる。最終的には国民総医療費の節減効果も期待しうる。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

正木尚彦（研究代表者）

- (1) Tamada Y, Yatsunami H, Masaki N, Nakamuta M, Mita E, Komatsu T, Watanabe Y, Shimada M, Hijioka T, Satoh T, Mano Y, Komeda T, Takahashi M, Kohno H, Ota H, Hayashi S, Miyakawa Y, Abiru S, Ishibashi H. Hepatitis B virus strains of subgenotype A2 with an identical sequence spreading rapidly from the capital region to all over Japan in patients with acute hepatitis B. **Gut** 61(5):765-73, 2012.
- (2) Ito K, Yotsuyanagi H, Yatsunami H, Karino Y, Takikawa Y, Saito T, Arase Y, Imazeki F, Kurosaki M, Umemura T, Ichida T, Toyoda H, Yoneda M, Mita E, Yamamoto K, Michitaka K, Maeshiro T, Tanuma J, Tanaka Y, Sugiyama M, Murata K, Masaki N, Mizokami M; Japanese AHB Study Group. Risk factors for long-term persistence of serum hepatitis B surface antigen following acute hepatitis B virus infection in Japanese adults. **Hepatology** 2013 Jul 29. doi: 10.1002/hep.26635. [Epub ahead of print]
- (3) 正木尚彦. 肝炎をめぐる医療政策. **医学のあゆみ** 240(12):997-999, 2012.
- (4) 正木尚彦. 急性肝炎サーベイランスの現状. **わが国における急性肝炎の現状 全国調査 2008-2011** (山本和秀監修、考田雅彦・能祖一裕編集)、中外医学社、東京、pp20-25、2012.

(5) 正木尚彦. ウイルス肝炎に関する国の対策事業、公費助成や受診勧奨など.
 特集 ウイルス肝炎の新展開. 診断と治療 101(9):1375-1380, 2013.

Ⅶ. III (2年間の研究成果)の概要図等

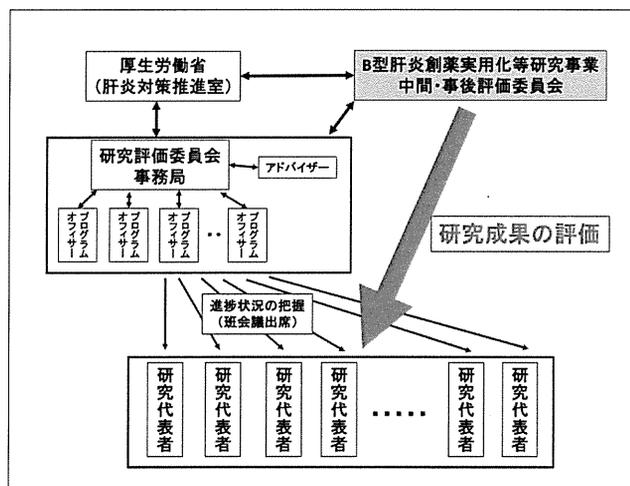


図1 B型肝炎創薬実用化等研究事業の全体構成

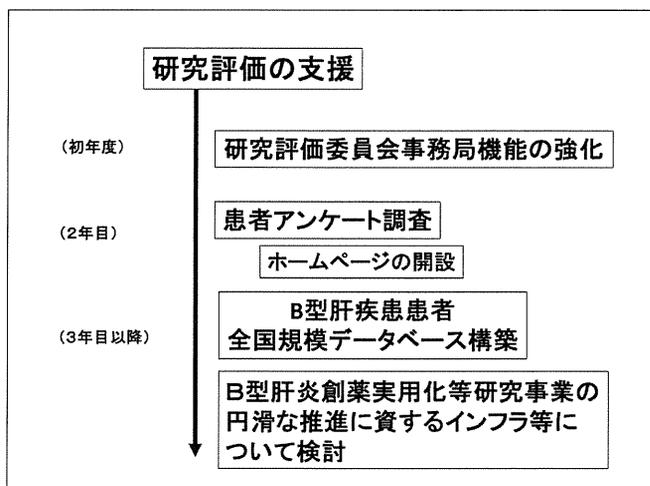


図2 研究評価委員会事務局の遂行する指定研究

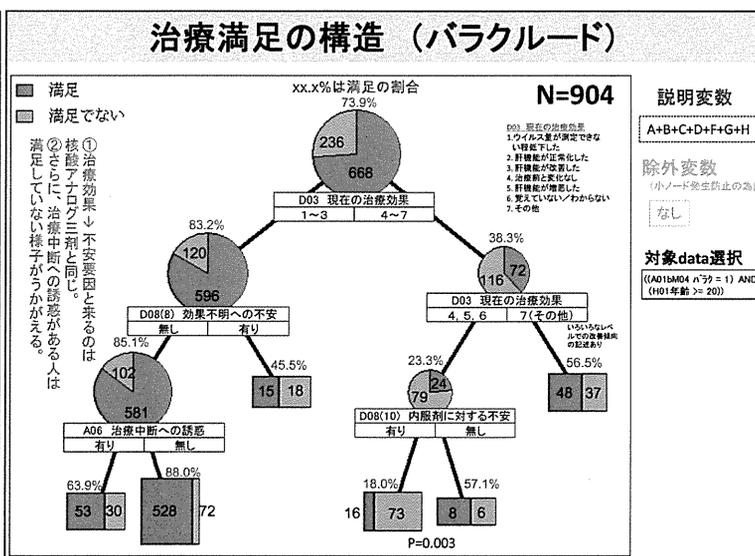
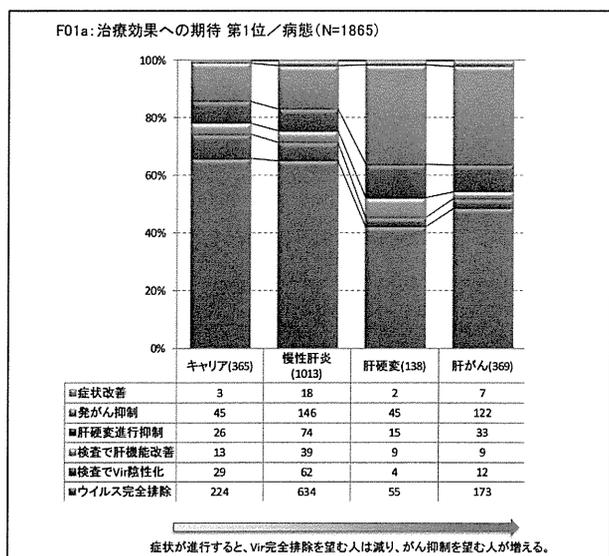


図3 新規薬剤に対する患者ニーズを明らかにし、研究事業全体へ反映させる (患者アンケート調査)

●研究代表者の研究歴等

※研究代表者に関するもののみを記載してください。(研究代表者には下線をつけて下さい)

・過去に所属した研究機関の履歴

- ・ 昭和 59 年 7 月～昭和 61 年 8 月：東京大学医学部附属病院第一内科（室長：藤原研司）
- ・ 昭和 61 年 9 月～昭和 63 年 9 月：米国フィラデルフィア市トマス・ジェファーソン大学病理
(John Farber 教授)
- ・ 昭和 63 年 10 月～平成 4 年 1 月、平成 5 年 10 月～平成 8 年 8 月：
東京大学医学部附属病院第一内科（室長：藤原研司）
- ・ 平成 8 年 9 月：国立国際医療センター（戸山病院）消化器科
- ・ 平成 20 年 10 月～：国立国際医療センター（現 独立行政法人国立国際医療研究センター）
肝炎・免疫研究センター（センター長：溝上雅史）

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

- ・ 藤原研司（前埼玉医科大学第三内科教授、元日本消化器病学会理事長、前横浜労災病院院長）
- ・ 溝上雅史（独立行政法人国立国際医療研究センター 肝炎・免疫研究センター長）
- ・ 八橋 弘（国立病院機構長崎医療センター臨床研究センター センター長）
- ・ 泉 並木（武蔵野赤十字病院副院長）
- ・ 小池和彦（国立大学法人東京大学医学部附属病院消化器内科教授、日本肝臓学会理事長）

・主な研究課題

- ・ 「脂質過酸化による肝細胞死のメカニズムに関する研究」
- ・ 「急性肝不全治療における各種プロスタグランジンの有効性とその作用機序に関する研究」
- ・ 「肝癌増殖活性化のメカニズムに関する研究」
- ・ 「C型慢性肝炎に対するインターフェロン療法における治療効果規定因子に関する研究」
- ・ 「HIV と肝炎ウイルスの重複感染患者の病態に関する研究」
- ・ 「開発途上国におけるウイルス肝炎キャリアの疫学および治療介入の実態に関する研究」
- ・ 「肝炎診療全国ネットワーク構築に関する研究」

・これまでの研究実績

※研究代表者の本研究の成果以外の実績も記載してください。

(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)

※発表論文名・学協会誌名・発表年(西暦)、知的財産権の取得及び申請状況、研究課題の実施を通じた政策提言(寄与した指針又はガイドライン等)のうち、主なものを選択し、直近年度から順に記載してください。

【政策提言】

- ・ 平成 21 年～23 年：厚生労働科学研究「肝炎に関する全国規模のデータベース構築に関する研究」の一環として遂行した「インターフェロン治療における診療アクセスの改善策に関する前向き・後ろ向き研究(研究代表者)」；ペグインターフェロン治療における外来導入の有用性、安全性を検証し、診療アク

セス改善策の一つであることを提言した（原著論文）。

- ・平成19年～21年：国際医療協力研究委託費「開発途上国における血液媒体疾患に対する総合的な対策のあり方に関する研究（研究代表者）」；アジア、アフリカ11ヵ国におけるウイルス肝炎治療薬導入後の実態、特に、耐性株出現状況を明らかにしウイルス肝炎・HIV対策のあり方について提言した。
- ・平成19年9月～平成20年3月：厚生労働科学研究費特別研究事業「肝炎診療全国ネットワーク構築とその支援のための情報センターのあり方に係る研究（研究代表者）」；肝炎・免疫研究センター 肝炎情報センター設立に貢献した。
- ・平成9年～平成14年：国際医療協力研究委託費「開発途上国におけるウイルス肝炎キャリアの実態及び防御に関する研究（研究分担者）」；ネパール国における肝炎患者対策のあり方についてカウンターパートを通してネパール国当局へ提言した。

【業績】（2002年以降分）

和 文：

- (1) 正木尚彦、西村 崇、忌部 航、山田晃弘、柳瀬幹雄、矢野公士、伊藤清顕、今村雅俊、伊東和樹、宜保行雄、垣内雅彦、川上由育、川上広育、畠山重秋、小松眞史、金 守良、八橋 弘、泉 並木、野村秀幸、西原利治、中尾春壽、米田政志、平松直樹、林 紀夫、溝上雅史. ペグインターフェロン治療における診療アクセスの改善策に関する多施設共同研究～前向き研究と後ろ向き研究からの考察～. 肝臓 2010;51(7):348-360.
- (2) 白井聖一、酒匂赤人、朝山直樹、尾上淑子、中島 亮、西村 崇、藤谷啓一、矢田智之、山田晃弘、赤澤直樹、櫻井俊之、大嶋隆夫、永田尚義、矢郷祐三、笹島圭太、小早川雅男、秋山純一、柳瀬幹雄、正木尚彦、上村直実. 新しい急性膵炎重症度判定基準の有用性と問題点—単一施設における後ろ向き検討. 日本消化器病学会雑誌 2010;107(1):48-60.
- (3) 山田晃弘、酒匂赤人、西村 崇、中島 亮、尾上淑子、藤谷啓一、津田尚法、朝山直樹、矢田智之、白井聖一、赤澤直樹、櫻井俊之、矢郷祐三、永田尚義、大嶋隆夫、横井千寿、笹島圭太、小早川雅男、秋山純一、今村雅俊、柳瀬幹雄、上村直実、正木尚彦. HIV感染者のB型急性肝炎重症化に対するエンテカビル投与により HIV-RNA 量の著明な低下を認めた1例. 日本消化器病学会雑誌 2009;106(12):1758-1763.
- (4) 阿部敏紀、相川達也、赤羽賢浩、新井雅浩、朝比奈靖浩、・・・・・・、正木尚彦、・・・・・・矢野公士、三代俊治. 本邦におけるE型肝炎ウイルス感染の統計学的・疫学的・ウイルス学的特徴：全国集計254例に基づく解析. 肝臓 2006;47(8):384-391.
- (5) 橋本直明、平野正憲、滝川 一、佐藤芳之、池田有成、正木尚彦、林 茂樹. C型慢性肝炎におけるcDNAマイクロアレイによる遺伝子発現とインターフェロン治療成績の検討. 肝臓 2005;46(10):633-634.

英 文：

- 1) Murata K, Sugiyama M, Kimuta T, Yoshio S, Kanto T, Kirikae I, Saito H, Aoki Y, Hiramane S, Matsui T, Ito K, Korenaga M, Imamura M, Masaki N, Mizokami M. Ex vivo induction of IFN- λ 3 by a TLR7 agonist determines response to Peg-IFN/Ribavirin therapy in chronic hepatitis C patients. **J**