

細胞を DNA-PK 阻害剤 (DNA-PK inhibitor II/NU7026; Calbiochem) で処理すると、濃度依存的にルシフェラーゼ活性、すなわち HCV 複製能が顕著に抑制された。DNA-PK 阻害剤の抗 HCV 効果は、HCV-0 株の方が JFH1 株に比べて、感受性が高いことが判明した。

ユビキチン E3 リガーゼ Rad18 の HCV 生活環における役割：shRNA を発現するレンチウイルスベクターを用いて、内在性 Rad18 をノックダウンさせた RSc 細胞に HCV-JFH1 を感染させると、HCV 感染 72 時間後の細胞内 HCV RNA レベル、細胞内及び培養上清中に放出される HCV Core 発現レベルの顕著な減少がみられた。同様に全長 HCV-0 RNA 株複製 0 細胞の内在性 Rad18 をノックダウンさせても、HCV 複製レベルは顕著に減少した。

293T 細胞において、Myc-Rad18 と HA-NS3-4A あるいは HA-NS5B を共発現させ、免疫沈降実験を行った結果、Myc-Rad18 は HA-NS5B と共沈したが、HA-NS3-4A とは共沈しなかった。さらに両者の細胞内局在を観察するため、293T 細胞に Myc-Rad18 と HA-NS5B を共発現させると、Rad18 は核小体とは異なるリング状の核内構造体を形成するが、NS5B もこの Rad18 の核内構造体の外縁部に共局在することが観察された。以上の結果より、Rad18 は HCV NS5B と相互作用することが判明した。一方、DNA 損傷を誘発するアドリアマイシンで 293T 細胞を処理すると、アドリアマイシン処理 3 時間後に DNA 損傷に応答して、核内に無数の Rad18 foci の形成が観察された。しかしながら、NS5B と Rad18 の両者が共発現している細胞でも、同等に Rad18 foci の形成が確認されたので、少なくとも HCV NS5B は DNA 損傷に応答した Rad18 foci 形成には影響を及ぼさないことが判明した。

D. 考察

Direct Acting Antivirals の実用化が期待されるものの、耐性ウイルス出現、副作用等の危惧もあり、現行薬とは作用機序の異なる新規 C 型肝炎

治療薬の開発は依然として重要である。本研究グループでは、HCV 生活環制御、病態発現の分子機構の解明を進めるとともに、阻害剤開発に有用な新たな感染増殖細胞系の作製、また阻害剤スクリーニング、評価を行った。

1. HCV ゲノムパッケージング機構の解析：

HCV コアタンパク質と HCV RNA の結合様式に関しては論文報告されているものの、HCV 粒子には、HCV 遺伝子が選択的にパッケージングされるのかは全くと言ってよいほど明らかにされていない。一方、患者の血液、肝臓検体の HCV 遺伝子解析研究から、同一検体について 5' 及び 3' 末端側 RT-PCR で解析すると 5'UTR 側の検出レベルが 3'UTR に比べ明らかに高いことが報告されている (Negro et al. (2001), Shimizu et al. (2006))。合成されたゲノム RNA の一部または多くが RNA 分解酵素などによって分解されるものと考えられる。本研究では、まず次世代シーケンサーを利用して HCV 粒子に取り込まれる HCV RNA を解析し、HCV 粒子には全長または全長に近い HCV RNA がドミナントであることを見出した。さらに、HCV 粒子に含まれる非 HCV 配列の HCV との相同性を解析し、NS5B または 3'UTR に相同性のあるヒト由来配列が高頻度に検出されることを明らかにした。この結果、また上記の患者検体の HCV RNA 解析の報告を踏ま、HCV の粒子形成過程において、3'末端側の配列が認識されて HCV ゲノムがパッケージングされると、HCV RNA の 3'末端側 copy 数 / 5'末端側 copy 数は、HCV 複製細胞内全体に比べ、粒子内の方が高くなるのではと考えた。これを検証するため、新たに NS5B RNA 定量系を確立し、複製細胞内と細胞外の HCV RNA を測定し比較した結果、NS5B RNA / 5'UTR RNA 比は細胞外の方が顕著に高値であった。

得られた知見から、HCV ゲノムのパッケージングに必要な配列は 3'末端領域 (3'UTR and/or NS5B) に存在する可能性が考えられた。

そこで、HCVtcp を産生させるトランスパッケー

ジングシステムを利用してシグナル同定を行った。これまでの解析から3' UTRの3' X領域に存在する三ヶ所の stem-loop 領域のうち3' 末端側二ヶ所が HCV ゲノムパッケージングに重要であることが示された。

さらに解析を進め、非 HCV 遺伝子でも、3' 末端側に HCV 3' UTR 配列を付加することに HCV 粒子へのパッケージングが可能になること、その粒子形成には HCV NS3~NS5B タンパク質の共存も必要であることを示すことができた。HCV ゲノムパッケージングの基本システムが明らかになったと言える。予備的ながら、HCV 3' UTR と Core の結合アッセイ系も構築しており、この系を応用することで、HCV ゲノムパッケージング阻害剤を探索することが可能となった。

2. HCV 感染増殖細胞系の開発：

本研究において、JFH-1 株 HCV (2a 型 HCV) に高い感受性を示す RSc 細胞などが 0 株 HCV (1b 型 HCV) にはまったく感受性を示さないということが分かった。RSc 細胞では、0 株 HCV の RNA 複製も十分起こることから、これまでに報告されている感染受容体が 2a 型 HCV と 1b 型 HCV で異なっている可能性がある。CLDN1 は JFH-1 株 HCV の感染受容体として得られたものである。今回、これを過剰発現させても感染複製効率に差がないというよりむしろ低下してしまうという現象が認められた。そのため、CLDN1 は 1b 型 HCV には必要ない因子である可能性や、他の未知の宿主因子を必要とする可能性がある。また、感染受容体ばかりでなく、ウイルスの産生に必要な宿主因子が 2a 型と 1b 型では異なる可能性もあり、この点についても、今後解析が必要である。

本研究により、我々の HCV 感染増殖系においても AEM 培地が感染性 HCV 粒子 (2a 遺伝子型の JFH-1 株 HCV) の産生レベルを大幅に亢進させることを明らかにした。しかしながら、この亢進効果は、報告された HuH-7 由来の Huh7.5 に近い HuH-7 由来

の RSc 細胞では起こらず、我々が独自に見出した HCV-RNA 増殖許容細胞である Li23 由来の ORL8c や D7 細胞で AEM 培地の効果が認められたことは興味深い。AEM 培地がどのようなメカニズムで感染性 HCV 粒子の産生亢進を引き起こすかは不明ではあるが、おそらく、ウイルスの集合や放出の過程で促進的に働くものと思われる。これは、HuH-7 や Li23 のような親細胞の性質ではなく、おそらくサブクローン化された細胞の性質に依存して AEM 培地の効果の有無が規定されている可能性がある。その原因が分かれば、ウイルスの産生量をさらに上げることができる可能性がある。

一方、1b 型 HCV については、AEM 培地を使用しても、ウイルス産生量の明確な亢進を確認することが出来なかった。従って、HCV の遺伝子型に依る可能性もあることから、この点を明らかにする必要がある。そのためには、1b 型 HCV 株の複製に適した培養細胞株の探索が必要であるが、HCV の複製に必要なと思われる宿主因子がほぼそろっているとされる PH5CH8 細胞においても、HCV の複製増殖が困難であった。従って、さらにどんな宿主因子を必要としているかを丹念に検討していく研究が必要である。その過程において、AEM 培地が HCV の遺伝子型に依存して有効であるかの結論も得られるのではないかとと思われる。

3. HCV 阻害剤の探索、開発：

本研究において、我々が開発した抗 HCV 活性の細胞アッセイ系 OR6 や ORL8 などを用いて、抗マラリア経口薬として岡山大学で開発中で化合物 N-89 とその誘導体 N-251 に強い抗 HCV 活性を見出した。これらの化合物は、現在臨床レベルでの使用が開始された各種 DAA 製剤と比較しても、合成が非常に簡単である (N-89 はわずか 4 工程で合成できる) ことから、安価で提供できる点が特徴である。さらに、本研究では、N-89 や N-251 は抗 HCV 薬として使用されている RBV と併用すると相乗的抗 HCV 効果を示すことを明らかにした。また、こ

これらの化合物は、細胞への添加により、速やかに ROS を産生することが分かり、VE の添加により抗 HCV 活性がキャンセルされることから、これら化合物の酸化ストレス作用が抗 HCV 活性の作用機序に関与していることが示唆された。

しかしながら、これまでの HCV 研究においては、HCV 感染により ROS 産生が起こり、ROS 産生は HCV の増殖に必ずしも抑制的に作用しないと考えられている。さらに、ROS を産生する化合物がすべて抗 HCV 活性を示すかという点、そうでもない。例えば、ROS の産生を引き起こすことが良く知られているピオシアニンにはまったく抗 HCV 活性が認められない。従って、ROS 産生は抗 HCV 活性において少なくとも十分条件とは言えない。ROS 産生に伴って活性化される下流のシグナル伝達系のどれかが抗 HCV 効果と特異的にリンクしているかどうかを今後、追究していく予定である。

N-89 や N-251 が抗 HCV 活性を示す分子機序を明らかにすることが必要であるが、これまでの研究においては、これらの化合物が酸化ストレスを誘導することと、ビタミン E により抗 HCV 活性がキャンセルされることが分かった以外は、作用機序の解明に結びつく成果は得られていない。そこで、我々は、これらの化合物の抗 HCV 活性に抵抗性を示す HCV-RNA 複製細胞クローンの作出が出来れば、どのような理由により抵抗性になったかを解析した方が、分子機序解明の近道ではないかと考えた。

そこで、様々な方法により N-89 や N-251 に抵抗性を示す HCV-RNA や HCV レプリコン RNA 複製細胞の作出を試みたが、明らかな抵抗性細胞は得られず、宿主のバリアーは高いと思われた。つまり、薬剤耐性が生じにくいところを標的にしている可能性があると考えられた。平成 26 年度に、さらに化合物の投与方法や全長 HCV-RNA 複製細胞の種類を変更するなどして試みた結果、抗 HCV 活性のアッセイ系として使用して来た ORL8 細胞から N-89 や N-251 に約 20 倍程度耐性を示す細胞が初めて得られた。この耐性細胞と親細胞の ORL8 を丹念に比

較することにより、それがウイルス側の変異に依るものなのか、宿主側の因子の変化に依るものなのかを今後、明らかにす

ることができるのではないかと期待している。この点を明らかにすることができると、抗 HCV 標的も明らかになる可能性が高く、N-89 (N-251) の抗 HCV 活性の作用機序の解明につながることを期待される。ORL8 と同じく、抗 HCV 活性のアッセイ系である OR6 細胞では、今回耐性細胞が得られなかった。OR6 細胞についても、投与方法を変えるなどして耐性細胞を得る努力も引き続き行っている。

本研究において、現在開発中の N-89 や N-251 が DAA 耐性になった HCV にも有効に作用することを示すことができた。この結果から、N-89 や N-251 はこれらの DAA 製剤とは異なる作用機序であることが改めて示唆された。我々が得た DAA 耐性細胞内の HCV が耐性変異を獲得しているかどうかについて、現在、HCV-RNA の塩基配列の解析を行っている。これまでに得られた結果によると、耐性変異として報告されている変異も検出される一方、新規の変異と思われるものも検出されている。この点については、今後全体像を明らかにできるものと考えている。

本研究により抗 HCV 活性を見出したサナギタケ冬虫夏草のカプセル剤は、健康補助食品として市販されており、その安全性は確保されている。サナギタケの抗 HCV 活性は、IFN α や RBV の抗 HCV 活性と相加的に作用することも分かったことから、C 型慢性肝炎患者の治療中にも使用できる物質として興味深い。また、本研究によりサナギタケ冬虫夏草の活性の有効成分が Cordycepin であることが分かった。Cordycepin は、正常細胞には影響を与えずに癌細胞に対する増殖抑制効果が報告されている。従って、我々のヒト肝癌細胞をベースにしたアッセイ系もその影響を受けて、CC₅₀ 値が低くなっている可能性がある。ただ、今回、ドリンク剤では細胞毒性が強く抗 HCV 活性を見出すことができなかった。ドリンク剤の成分が公表

されていないため、どのような理由により活性が評価できなかったかは現時点では分からない。可能性としては、ドリンク剤の Cordycepin の含量が低いか或は不安定で分解していることも考えられる。

サナギタケ冬虫夏草のような抗 HCV 活性を有する食品は他にも存在する可能性があるため、今後にもさらに探索を進める予定である。

4. HCV 粒子形成に重要な NS5A リン酸化機構の解明：

HCV NS5A 蛋白はセリン、スレオニン残基のリン酸化状態により、低リン酸化型 (56 kDa) 及び高リン酸化型 (58 kDa) の 2 種類が存在する。NS5A 蛋白のリン酸化はウイルスゲノム複製だけでなく、感染性ウイルス粒子の形成にも重要な役割を担うことが知られているが、そのリン酸化部位や特に粒子形成に関与するリン酸化に関わるプロテインキナーゼについては十分明らかにされていない。そこで、全ヒトプロテインキナーゼを対象として網羅的スクリーニングを行った。その結果、NS5A リン酸化に働き感染性粒子産生に最も大きく影響するキナーゼとして CK1alpha を同定した。ノックダウンの影響がその次に大きかったのは CK2alpha2 であった。このうち後者についてはこれまでに HCV 粒子産生への関与が報告されている。今後、HCV 粒子産生における CK1alpha の作用機序の解析を進めるとともにキナーゼ阻害剤による HCV 産生阻害を評価する予定である。

5. HCV 生活環におけるユビキチン経路の役割：

脱ユビキチン化酵素はタンパク質のユビキチン化の逆反応を担う酵素であり、タンパク質の安定化や様々なシグナル伝達を介して、癌や免疫応答等の様々な生理現象に関与することが近年報告されている。しかしながら、HCV 感染における脱ユビキチン化酵素の役割は不明な点が多い。

USP15 はこれまでに TGF-beta のシグナル伝達に

関わりとされていたが、USP15 が肝臓で脂肪滴の形成や維持に関与することが示された。今後は、USP15 がどのような分子メカニズムで、脂肪滴形成に関わるのかを明らかにする。USP15 を標的とする化合物は、HCV 複製の抑制だけでなく、脂質代謝を制御することで、脂肪肝の抑制が期待される。

本研究において、HCV NS5A 蛋白質と結合する新規宿主因子としてユビキチンリガーゼ p138 と脱ユビキチン化酵素 p100 を同定した。In vitro において、精製したユビキチンリガーゼ p138 により NS5A 蛋白質のポリユビキチン化が促進されたこと、細胞への p138 の一過性発現により NS5A 蛋白質の量が減少したことから、p138 は NS5A 蛋白質を基質とするユビキチンリガーゼであり、NS5A をポリユビキチン化し、プロテアソーム依存性分解を誘導し、複製調節に関与することが示唆された。また、免疫抑制剤として脱ユビキチン化酵素 p100 が NS5A と相互作用することが確認された。NS5A のトランスフェクト量を増加させると HA-Ub のシグナルが減少し、NS5A により p100 の脱ユビキチン化酵素活性が促進される可能性が示された。

HCV NS5A 蛋白質は UBE1L, UbcH8, Herc5 により ISGylation されることを示した。Con1 株の NS5A は IFN- α , β 、または UBE1L, UbcH8, Herc5 の強発現のいずれでも ISGylation された。さらに、Con1, O, JFH1 株いずれの NS5A も ISGylation を受け、genotype によらず HCV に共通の現象と考えられた。NS5A 変異体を用いた解析では 14 カ所の Lys 残基のうち、5 カ所の Lys 残基に ISG15 が結合することが示された。Domain I に 3 カ所、LCS I に 1 カ所、Domain II に 1 カ所の ISGylation 部位が存在した。ISGylation による NS5A の泳動度の変化に 2 種類存在した。しかし、GFP-ISG15 を用いた解析から ISG15 同士の di-ISGylation は否定的であった。NS5A に ISG15 が付加する場所でさらに翻訳後修飾が起こる可能性があり、ウイルス増殖、病原性における意義を今後明らかにする必要がある。

6. HCV 複製を制御する新規宿主因子の同定と機能

解析：

本研究で、低分子化合物 DM-CHX が抗 HCV 活性をもち、FKBP6/8 の多量体形成を標的にしていることが示唆された。従って、ウイルス複製に FKBP6/8 の機能が必須であり、NS5A との結合でそれが機能していると考えられた。がん部で FKBP6 が高発現しており、肝細胞がんとの関連が考えられる。また、HCV 感染によって FKBP6 発現が誘導されることが示唆され、感染後、FKBP6 発現によって HCV 感染が安定化されることが示唆された。FKBP6 は感染およびがん化で誘導されることから、C型肝炎療法のない標的になることが期待された。高ウイルス量領域の肝臓で FKBP6 が高発現しており、*in vivo* における肝細胞感染と FKBP6 発現との関連が考えられる。また、培養細胞レベルでも HCV 感染によって FKBP6 発現が誘導されることが示唆され、感染後、FKBP6 発現によって HCV 感染サイクルが維持されることが示唆された。したがって、FKBP6 はウイルス排除を目的とした抗 HCV 剤の標的として適していると考えられた。

HCV 生活環に関与する宿主因子として、新たに DDX5、DDX21、INI1/hSNF5、Staufen 1、UPF1、そして DNA 損傷応答経路に関与する DNA-PKcs と Rad18 を同定した。これまで、我々は P-body 局在因子 DDX3 及び DDX6 RNA ヘリケースが HCV 複製に必要な宿主因子であることを報告してきた

(Ariumi, Kuroki *et al. J. Virol.* 2007; Ariumi, Kuroki *et al. J. Virol.* 2011)。核に局在する RNA ヘリケース DDX5 は HCV NS5B RNA ポリメラーゼ結合因子としてすでに同定されているが (Goh *et al. J. Virol.* 2004)、本研究により、HCV 感染・複製への関与が明らかとなった。また、DDX5 が肝硬変における肝の線維化との関与が示唆されており (Huang *et al. Gastroenterology* 2006)、HCV 複製や HCV 関連疾患の病態を解明する上で DDX5 が重要な宿主因子として位置づけられる。さらに、核小体に局在する DDX21 も HCV 複製に必要な宿主因子であることが判明した。興味深いこと

に核小体に局在する B23 が HCV Core と結合すること (Mai *et al. Oncogene* 2006)、そして Nucleolin も HCV NS5B と結合することが報告されており (Hirano *et al. JBC* 2003; Shimakami *et al. J. Virol.* 2006)、核小体がどのように HCV 複製に関与しているのかについては、今後の研究課題である。最近、我々は、HIV-1 の生活環においても DDX5 や DDX21 が HIV-1 Rev と結合し、Rev 依存的な HIV-1 mRNA の核外輸送促進に関与していることを見出している (Yasuda-Inoue, Kuroki, and Ariumi. *BBRC* 2013)。さらに、yeast two-hybrid法で HIV-1 インテグラーゼ結合因子として同定された INI1/hSNF5 は、クロマチンリモデリング因子として機能することも知られている。一方、ストレス顆粒因子 Staufen 1 及び UPF1 が HCV の生活環に関与することも見出した。これに関連して、我々は HCV 感染により、感染 36 時間頃、ストレス顆粒が形成されること、そして G3BP1、Ataxin2、PABP1 などのストレス顆粒因子が脂肪滴周辺にリクルートされ、HCV 複製に利用されることを報告してきた (Ariumi, Kuroki *et al. J. Virol.* 2011)。細胞内のストレス応答と HCV 複製や病態との関連性が示唆される。最近、Staufen 1 が HIV-1 Gag と結合し、HIV-1 の粒子産生に関与する (Chatel-Chaix *et al. MCB* 2004) という報告があるので、Staufen 1 の HCV 粒子産生への関与についても今後検討したい。さらに RNA 結合因子 UPF1 も HIV-1 粒子内に取り込まれ、HIV-1 の感染性に関与することが示唆されている (Serquiña *et al. J. Virol.* 2013)。これら RNA 結合因子 Staufen 1 や UPF1、RNA ヘリケースそして HCV RNA との 3 者における相互作用が HCV 複製制御に重要であると考えられる。

これまで、DNA ゲノムを保持するウイルスが、感染細胞内の DNA 損傷応答経路を活性化し、ウイルスの自己複製に利用していることが知られている。一方、RNA ゲノムしか保持しない HCV の場合も、HCV 感染により、宿主細胞に DNA 二重鎖切

断(Double Stranded DNA Breaks, DSBs)を誘導し、宿主ゲノムの不安定性を増加させることにより、肝発がんを誘発している可能性が示唆されてきた。実際、HCV 構造タンパク質である Core、エンベロープ E1、そして非構造タンパク質 NS3 が活性化酸素種(Reactive Oxygen Species, ROS)を誘導させ、DNA 損傷を誘発していることが明らかとなっている。また、HCV の RNA 依存的 RNA ポリメラーゼである NS5B を発現させたヒト不死化肝細胞株 PH5CH8 細胞において、DNA 二重鎖切断が誘導される DNA 損傷に感受性が高いことが報告されている。さらに我々も HCV NS3-4A 及び NS5B が ATM と相互作用すること、そして ATM が HCV 複製に必要な宿主因子であることを報告してきた。

本年度の研究成果として、新たに DNA 損傷応答経路に関与する DNA-PKcs と Rad18 を HCV 生活環に関与する宿主因子として同定した。DNA-PKcs も ATM も同じ PI3 キナーゼファミリーに属する DNA 損傷センサーである。実際、ATM 阻害剤 KU-55933 と DNA-PK 阻害剤 DNA-PK inhibitor II/NU7026 の両者ともに HCV 複製能を抑制したので、新規の抗 HCV 剤開発の候補として期待される。しかしながら、DNA-PK が HCV のどのタンパク質と相互作用し、HCV タンパク質をリン酸化するのか、逆に HCV が DNA-PK のキナーゼ活性を阻害するのか今後の検討課題である。

興味深いことに Rad18 は HCV NS5B と結合することが見いだされた。Rad18 は核小体とは異なるリング状の核内構造体を形成するが、NS5B もこの Rad18 の核内構造体の外縁部に共局在することが観察された。アドリアマイシン処理すると、DNA 損傷に応答して、核内に無数の Rad18 foci の形成が観察された。しかしながら、HCV NS5B と Rad18 の両者が共発現している細胞でも、同等に Rad18 foci の形成が確認されたので、少なくとも HCV NS5B は DNA 損傷に応答した Rad18 foci 形成には影響を及ぼさないことが判明した。

Rad18 はユビキチン E3 リガーゼとして機能し、

DNA 複製中に DNA 損傷が生じると Rad18 がリクルートされ、PCNA をモノユビキチン化することにより、DNA ポリメラーゼスイッチング、Pol δ からモノユビキチン化された PCNA により強い親和性のある DNA 修復酵素 Pol η に置換され、DNA 修復が開始される。また、Rad18 は ATM の下流において、相同性組換え修復にも関与していることが知られている。しかしながら、HCV NS5B が Rad18 依存的な DNA 複製時や相同性組換えによる DNA 修復経路を阻害するのか不明であるので、今後の検討課題である。さらに Rad18 が HCV タンパク質をユビキチン化し、HCV 複製関与に関与しているか、逆に HCV NS5B が Rad18 依存的なユビキチン化反応を阻害するのかについても今後、明らかにする必要がある。

E. 結論

C 型肝炎治療薬の新たな創薬標的を見出すべく基盤的研究を行った。得られた成果を更に発展させることにより、以下のような実用化への貢献が期待できる。1) 新規抗 HCV 経口治療薬の臨床試験、実用化、2) 新たなメカニズムによる DAA (パッケージング阻害) の開発、3) 宿主因子を標的とした C 型肝炎治療薬の探索

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

論文発表

(鈴木)

1. Masaki T, Matsunaga S, Takahashi H, Nakashima K, Kimura Y, Ito M, Matsuda M, Murayama A, Kato T, Hirano H, Endo Y, Lemon SM, Wakita T, Sawasaki T, Suzuki T. Involvement of Hepatitis C Virus NS5A

- Hyperphosphorylation Mediated by Casein Kinase I- α in Infectious Virus Production. *J Virol.* 88: 7541-7555, 2014.
2. Saito K, Shirasago Y, Suzuki T, Aizaki H, Hanada K, Wakita T, Nishijima M, Fukasawa M. Targeting Cellular Squalene Synthase, an Enzyme Essential for Cholesterol Biosynthesis, Is a Potential Antiviral Strategy against Hepatitis C Virus. *J Virol.* 89: 2220-2232, 2015,
 3. Matsuda M, Suzuki R, Kataoka C, Watashi K, Aizaki H, Kato N, Matsuura Y, Suzuki T, Wakita T. Alternative endocytosis pathway for productive entry of hepatitis C virus. *J Gen Virol.* 95: 2658-2667, 2014.
 4. Fang L, Wang Z, Song S, Kataoka M, Ke C, Suzuki T, Wakita T, Takeda N, Li TC. Characterization of human bocavirus-like particles generated by recombinant baculoviruses. *J Virol Methods* 207: 38-44, 2014.
 5. Lee J, Ahmed SR, Oh S, Kim J, Suzuki T, Parmar K, Park SS, Lee J, Park EY. A plasmon-assisted fluoro-immunoassay using gold nanoparticle-decorated carbon nanotubes for monitoring the influenza virus. *Biosens Bioelectron.* 64: 311-317, 2014.
 6. Ahmed SR, Hossain MA, Park JY, Kim SH, Lee D, Suzuki T, Lee J, Park EY. Metal enhanced fluorescence on nanoporous gold leaf-based assay platform for virus detection. *Biosens Bioelectron.* 58:33-39, 2014.
 7. Ahn S, Tamai M, Nakashima K, Ito M, Suzuki T, Tagawa Y. An in vitro liver model consisting of endothelial vascular networks surrounded by human hepatoma cell lines allows for improved hepatitis B virus replication. *J Biosci. Bioeng* (in press).
 8. Pei Z, Shi G, Kondo S, Ito M, Maekawa A, Saito I, Suzuki T, Kanegae Y. Adenovirus vectors lacking virus-associated RNA expression enhance shRNA activity to suppress hepatitis C virus replication. *Sci Rep* (in press).
 9. Mawatari S, Uto H, Ido A, Nakashima K, Suzuki T, Kanmura S, Kumagai K, Oda K, Tabu K, Tamai T, Moriuchi A, Oketani M, Shimada Y, Sudoh M, Shoji I, Tsubouchi H. Hepatitis C virus NS3/4A protease inhibits complement activation by cleaving complement component 4. *PLOS ONE* (in press).
 10. Murakami Y, Fukasawa M, Kaneko Y, Suzuki T, Wakita T, Fukazawa H. Retinoids and rexinoids inhibit hepatitis C virus independently of retinoid receptor signaling. *Microbes Infect* (in press).
 11. Suzuki R, Matsuda M, Watashi K, Aizaki H, Matsuura Y, Wakita T, Suzuki T. Signal Peptidase Complex Subunit 1 Participates in the Assembly of Hepatitis C Virus through an Interaction with E2 and NS2. *PLOS Pathog* 9; e1003589, 2013.
 12. Matsumoto Y, Matsuura T, Aoyagi H, Matsuda M, Hmwe SS, Date T, Watanabe N, Watashi K, Suzuki R, Ichinose S, Wake K, Suzuki T, Miyamura T, Wakita T, Aizaki H. Antiviral activity of glycyrrhizin against hepatitis C virus in vitro. *PLOS ONE* 8; e68992, 2013.
 13. Sakata K, Hara M, Terada T, Watanabe N, Takaya D, Yaguchi SI, Matsumoto T, Matsuura T, Shirouzu M, Yokoyama S, Yamaguchi T, Miyazawa K, Aizaki H, Suzuki T, Wakita T, Imoto M, Kojima S. HCV NS3 protease

- enhances liver fibrosis via binding to and activating TGF- β type I receptor. *Sci Rep* 3; 3243, 2013.
14. Murakami Y, Fukasawa M, Kaneko Y, Suzuki T, Wakita T, Fukazawa H. Selective estrogen receptor modulators inhibit hepatitis C virus infection at multiple steps of the virus life cycle. *Microbes Infect* 15; 45-55, 2013.
 15. Suzuki T. Morphogenesis of infectious hepatitis C virus particles. *Front. Microbiol.* 3: 38 (2012).
 16. Ando T., Imamura H., Suzuki R., Aizaki H., Watanabe T., Wakita T, and Suzuki T. Visualization and measurement of ATP levels in living cells replicating hepatitis C virus genome RNA. *PLoS Pathog.* 8: e1002561 (2012).
 17. Suzuki R., Saito K., Kato T., Shirakura M., Akazawa D., Ishii K., Aizaki H., Kanegae Y., Matsuura Y., Saito I., Wakita T., and Suzuki T. Trans-complemented hepatitis C virus particles as a versatile tool for study of virus assembly and infection. *Virology*, 432: 29-38 (2012).
 18. Fukazawa H, Suzuki T, Wakita T, Murakami Y. A cell-based, microplate colorimetric screen identifies 7,8-benzoflavone and green tea gallate catechins as inhibitors of the hepatitis C virus. *Biol Pharm Bull.* 35: 1320-1327 (2012).
 19. 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* 144: 56-58 (2013).
 20. Murakami Y, Fukasawa M, Kaneko Y, Suzuki T, Wakita T, Fukazawa H. Selective estrogen receptor modulators inhibit hepatitis C virus infection at multiple steps of the virus life cycle. *Microbes Infect.* 15: 45-55 (2013).
- (加藤)
1. Mori K, Ueda Y, Ariumi Y, Dansako H, Ikeda M, Kato N. Development of a drug assay system with hepatitis C virus genome derived from a patient with acute hepatitis C. *Virus Genes*, 44(3):374-381 (2012).
 2. Sejima H, Mori K, Ariumi Y, Ikeda M, Kato N. Identification of host genes showing differential expression profiles with cell-based long-term replication of hepatitis C virus RNA. *Virus Res*, 167(1):74-85 (2012).
 3. Takeda M, Ikeda M, Ariumi Y, Wakita T, and Kato N. Development of hepatitis C virus production reporter assay systems using two different hepatoma cell lines. *J Gen Virol*, 93(7):1422-1431 (2012).
 4. Takeda M, Ikeda M, Mori K, Yano M, Ariumi Y, Dansako H, Wakita T, Kato N. Raloxifene inhibits hepatitis C virus infection and replication. *FEBS Open Bio*, 2:279-283 (2012).
 5. Marozin S, Altomonte J, Apfel S, Dinh P, Toni ED, Rizzani A, Nüssler A, Kato N, Schmid R, Pattnaik A, Ebert, O. Post-translational modification of VSV glycoprotein, but not JNK inhibition, is the antiviral mechanism of SP600125. *J Virol*, 86(9):4844-4855 (2012).
 6. Iikura M, Furihata T, Mizuguchi M, Nagai M, Ikeda M, Kato N, Tsubota A, Chiba K. ENT1, a ribavirin transporter, plays a pivotal role in antiviral efficacy of ribavirin in a hepatitis C virus replication cell system. *Antimicrob Agents Chemother*, 56(3):1407-1413 (2012).
 7. Yamashita A, Salam KA, Furuta A, Matsuda Y,

- Fujita O, Tani H, Fujita Y, Fujimoto Y, Ikeda M, Kato N, Sakamoto N, Maekawa S, Enomoto N, Nakakoshi M, Tsubuki M, Sekiguchi Y, Tsuneda S, Akimitsu N, Noda N, Tanaka J, Moriishi K. Inhibition of hepatitis C virus replication and viral helicase by ethyl acetate extract of the marine feather star *Alloeocomatella polycladia*. *Mar Drugs*, 10:744-761(2012).
8. Takeshita S, Ichikawa T, Taura N, Miyaaki H, Matsuzaki T, Otani M, Muraoka T, Akiyama M, Miuma S, Ozawa E, Ikeda M, Kato N, Isomoto H, Takeshima F, Nakao K. Geranylgeranylacetone has anti-hepatitis C virus activity via activation of mTOR in human hepatoma cells. *J Gastroenterol*, 47(2):195-202 (2012).
 9. Fujimoto Y, Salam KA, Furuta A, Matsuda Y, Fujita O, Tani H, Ikeda M, Kato N, Sakamoto N, Maekawa S, Enomoto N, de Voogd NJ, Nakakoshi M, Tsubuki M, Sekiguchi Y, Tsuneda S, Akimitsu N, Noda N, Yamashita A, Tanaka J, Moriishi K. Inhibition of both protease and helicase activities of hepatitis C virus NS3 by an ethyl acetate extract of marine sponge *Amphimedon* sp. *PLoS ONE*, 7:e48685 (2012).
 10. Koike K, Takaki A, Kato N, Ouchida M, Kanzaki H, Yasunak T, Shiraha H, Miyake Y, Yamamoto K. Eradication of hepatitis C virus subgenomic replicon by interferon results in aberrant retinol related protein expression. *Acta Med Okayama*, 66(6):461-468 (2012).
 11. Kuroki M, Ariumi Y, Hijikata M, Ikeda M, Dansako H, Wakita T, Shimotohno K, Kato N. PML tumor suppressor protein is required for HCV production. *Biochem Biophys Res Commun*, 430:592-597 (2013).
 12. Dansako H, Yamane D, Welsch C, McGivern DR, Hu F, Kato N, Lemon SM. Class A scavenger receptor 1 (MSR1) restricts hepatitis C virus replication by mediating toll-like receptor 3 recognition of viral RNAs produced in neighboring cells. *PLoS Pathogens*, 9:e1003345 (2013).
 13. Mori K, Hiraoka O, Ikeda M, Ariumi Y, Hiramoto A, Wataya Y, Kato N. Adenosine kinase is a key determinant for the anti-HCV activity of ribavirin. *Hepatology*, 58(4):1236-1244 (2013).
 14. Ueda Y, Takeda M, Mori K, Dansako H, Wakita T, Kim HS, Sato A, Wataya Y, Ikeda M, Kato N. New preclinical antimalarial drugs potentially inhibit hepatitis C virus genotype 1b RNA replication. *PLoS ONE*, 8:e72519 (2013).
 15. Shinohara Y, Imajo K, Yoneda M, Tomeno W, Ogawa Y, Kirikoshi H, Funakoshi K, Ikeda M, Kato N, Nakajima A, Saito S. Unfolded protein response pathways regulate Hepatitis C virus replication via modulation of autophagy. *Biochem Biophys Res Commun*, 432:326-332 (2013).
 16. Tanaka T, Kuroda K, Ikeda M, Wakita T, Kato N, Makishima M. Hepatitis C virus NS4B targets lipid droplets through hydrophobic residues in the amphipathic helices. *J Lipid Res*, 54:881-892 (2013).
 17. Sato A, Saito Y, Sugiyama K, Sakasegawa N, Muramatsu T, Fukuda S, Yoneya M, Kimura M, Ebinuma H, Hibi T, Ikeda M, Kato N, Saito H. Suppressive effect of the histone deacetylase inhibitor, suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA), on hepatitis C virus replication via

- epigenetic changes in host cells. *J Cell Biochem*, 114(9):1987-1996 (2013).
18. Tani J, Shimamoto S, Mori K, Kato N, Moriishi K, Matsuura Y, Tokumitsu H, Tsuchiya M, Fujimoto T, Kato K, Miyoshi H, Masaki T, Kobayashi R. Ca²⁺/S100 proteins regulate HCV virus NS5A-FKBP8/FKBP38 interaction and HCV virus RNA replication. *Liver Int*, 33(7):1008-1018 (2013).
 19. Tanaka T, Kuroda K, Ikeda M, Kato N, Shimizu K, Makishima M. Direct targeting of proteins to lipid droplets demonstrated by time-lapse live cell imaging. *J Biosci and Bioeng*, 116(5):620-623 (2013).
 20. Ding Q, Cao X, Lu J, Huang B, Liu YJ, Kato N, Shu HB, Zhong J. Hepatitis C virus NS4B blocks the interaction of STING and TBK1 to evade host innate immunity. *J Hepatol*, 59(1):52-58 (2013).
 21. Shinohara Y, Imajo K, Yoneda M, Tomeno W, Ogawa Y, Fujita K, Kirikoshi H, Takahashi J, Funakoshi K, Ikeda M, Kato N, Nakajima A, Saito S. Hepatic triglyceride lipase plays an essential role in changing the lipid metabolism in genotype 1b hepatitis C virus replicon cells and hepatitis C patients. *Hepatol Res*, 43(11):1190-1198 (2013).
 22. Ban S, Ueda Y, Ohashi M, Matsuno K, Ikeda M, Kato N, Miyachi H. Peroxisome proliferator-activated receptor delta antagonists inhibit hepatitis C virus RNA replication. *Bioorg Med Chem Letters*, 23(7): 4774-4778 (2013).
 23. Shen H, Yamashita A, Nakakoshi M, Yokoe H, Sudo M, Kasai H, Tanaka T, Fujimoto Y, Ikeda M, Kato N, Sakamoto N, Shindo H, Maekawa S, Enomoto N, Tsubuki M, Moriishi K. Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester derivatives on replication of hepatitis C virus. *PLoS ONE*, 8:e82299 (2013).
 24. Matsuda M, Suzuki R, Kataoka C, Watashi K, Aizaki H, Kato N, Matsuura Y, Suzuki T, Wakita T. Alternative endocytosis pathway for productive 1 entry of hepatitis C virus. *J Gen Virol*, 95(12):2658-2667 (2014).
 25. Shimada H, Haraguchi K, Hotta K, Miyaie T, Kitagawa Y, Tanaka H, Kaneda R, Abe H, Shuto S, Mori K, Ueda Y, Kato N, Snoeck R, Andrei G, Balzarini J. Synthesis of 3',4'-difluoro-3'-deoxyribonucleosides and its evaluation of the biological activities: Discovery of a novel type of anti-HCV agent 3',4'-difluorocordycepin. *Bioorg Med Chem*, 22(21):6174-6182 (2014).
 26. Hara Y, Yanatori I, Ikeda M, Kiyokage E, Nishina S, Tomiyama Y, Toida K, Kishi F, Kato N, Imamura M, Chayama K, Hino K. Hepatitis C virus core protein suppresses mitophagy by interacting with Parkin in the context of mitochondrial depolarization. *Amer J Pathol*, 184(11):3026-3039 (2014).
 27. Matsuno K, Ueda Y, Fukuda M, Onoda K, Waki M, Ikeda M, Kato N, Miyachi H. Synthesis and inhibitory activity on hepatitis C virus RNA replication of 4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxy-2-propyl)aniline analogs. *Bioorg Med Chem Lett*, 27(17): 4276-4280 (2014).
 28. Dansako H, Hiramoto H, Ikeda M, Wakita T, Kato N. Rab18 is required for viral assembly of hepatitis C virus through trafficking of the core protein to lipid droplets. *Virology*,

462-463:166-174 (2014).

29. Ueda Y, Mori K, Satoh S, Dansako H, Ikeda M, Kato N. Anti-HCV activity of the Chinese medicinal fungus *Cordyceps militaris*. *Biochem Biophys Res Commun*, 447(2):341-345 (2014).
 30. Kato N, Sejima H, Ueda Y, Mori K, Satoh S, Dansako H, Ikeda M. Genetic characterization of hepatitis C virus in long-term RNA replication using Li23 cell culture systems. *PLoS ONE*, 9(3):e91156 (2014).
 31. Okamoto M, Oshiumi H, Azuma M, Kato N, Matsumoto M, Seya T. IPS-1 is essential for type III interferon production by hepatocytes and dendritic cells in response to hepatitis C virus infection. *J Immunol*, 192(6):2770-2777 (2014).
 32. Hiramoto H, Dansako H, Takeda M, Satoh S, Wakita T, Ikeda M, Kato N. Annexin A1 negatively regulates viral RNA replication of hepatitis C virus. *Acta Medica Okayama*, in press (2015).
 33. Satoh S, Mori K, Ueda Y, Sejima H, Dansako H, Ikeda M, Kato N. Establishment of hepatitis C virus RNA-replicating cell lines possessing ribavirin-resistant phenotypes. *PLoS ONE*, in press (2015).
 34. Murakami Y, Itami S, Eguchi Y, Mizutani T, Aoki E, Ohgi T, Kuroda M, Ochiya T, Kato N, Suzuki H, Kawada N. Control of HCV replication with iMIRs, a novel anti-RNAi agent. *Molecular Therapy-Nucleic Acids*, in press (2015).
- (松浦／岡本)
1. Fukuhara T, Wada M, Nakamura S, Ono C, Shiokawa M, Yamamoto S, Motomura T, Okamoto T, Okuzaki D, Yamamoto M, Saito I, Wakita T, Koike K, and Matsuura Y. Amphipathic α -Helices in apolipoproteins are crucial to the formation of infectious hepatitis C virus particles. *PLoS Pathogens* 2014; DOI: 10.1371/journal.ppat.1004534
 2. Shiokawa M, Fukuhara T, Ono C, Yamamoto S, Okamoto T, Watanabe N, Wakita T, and Matsuura Y. Novel permissive cell lines for a complete propagation of hepatitis C virus. *J. Virol.* 2014; 88: 5578-5594
 3. Katoh H, Okamoto T, Fukuhara T, Kambara H, Morita E, Mori Y, Kamitani W, and Matsuura Y. Japanese Encephalitis Virus Core Protein Inhibits Stress Granule Formation through an Interaction with Caprin-1 and Facilitates Viral Propagation. *J Virol* 2013;87:489-502
 4. Suzuki R, Matsuda M, Watashi K, Aizaki H, Matsuura Y, Wakita T, and Suzuki T. Signal peptidase complex subunit 1 participates in the assembly of hepatitis C virus through an interaction with E2 and NS2. *PLoS Pathog* 2013;(doi: 10.1371/journal.ppat.1003589)
 5. Lee H, Komano J, Saitoh Y, Yamaoka S, Kozaki T, Misawa T, Takahama M, Satoh T, Takeuchi O, Yamamoto N, Matsuura Y, Saitoh T, and Akira S. Zinc-finger antiviral protein mediates retinoic acid inducible gene I-like receptor-independent antiviral response to murine leukemia virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013;110:12379-12384
 6. Yoshio S, Kanto T, Kuroda S, Matsubara T, Higashitani K, Kakita N, Ishida H, Hiramatsu N, Nagano H, Sugiyama M, Murata K, Fukuhara T,

- Matsuura Y, Hayashi N, Mizokami M, and Takehara T. Human BDCA3 (+) dendritic cells are a potent producer of IFN- λ in response to hepatitis C virus. *Hepatology* 2013;57:1705-1715
7. Kimura T, Katoh H, Kayama H, Saiga H, Okuyama M, Okamoto T, Umemoto E, Matsuura Y, Yamamoto M, and Takeda K. Ifit1 inhibits Japanese encephalitis virus replication through binding to 5' capped 2'-O unmethylated RNA. *J Virol* 2013;87:9997-10003
 8. Tripathi LP, Kambara H, Chen YA, Nishimura Y, Moriishi K, Okamoto T, Morita E, Abe T, Mori Y, Matsuura Y, and Mizuguchi K. Understanding the biological context of NS5A-host interactions in HCV infection: a network-based approach. *J Proteome Res* 2013;12:2537-2551.
 9. Fukuhara T, Kambara H, Shiokawa M, Ono C, Katoh H, Morita E, Okuzaki D, Maehara Y, Koike K, and Matsuura Y. Expression of miR-122 facilitates an efficient replication in nonhepatic cells upon infection with HCV. *J. Virol.*, 2012, 86, 7918-7933.
 10. Abe T, Fukuhara T, Wen X, Ninomiya A, Moriishi K, Maehara Y, Takeuchi O, Kawai T, Akira S, and Matsuura Y. CD44 participates in the IP-10 induction in cells replicating HCV RNA through an interaction with TLR2 and hyaluronan. *J. Virol.*, 2012, 86, 6159-6170.
 11. Kambara H, Fukuhara T, Shiokawa M, Ono C, Ohara Y, Kamitani W, and Matsuura Y. Establishment of a novel permissive cell line for propagation of hepatitis C virus by the expression of microRNA122. *J. Virol.* 2012, 86, 1382-1393.
 12. Fukuhara T, and Matsuura Y. Role of miR-122 and lipid metabolism in HCV infection. *J. Gastroenterol.*, 2012, doi:10.1007/s00535-012-0661-5.
 13. Moriishi K, and Matsuura Y. Exploitation of lipid components by viral and host proteins for hepatitis C virus infection. *Front. Microbiol.*, 2012, 3, 54, doi:10.3389/fmicb.2012.00054.
 14. Suzuki R, Saito K, Kato T, Shirakura M, Akazawa D, Ishii K, Aizaki H, Kanegae Y, Matsuura Y, Saito I, Wakita T, and Suzuki T. Trans-complemented hepatitis C virus particles as a versatile tool for study of virus assembly and infection. *Virology*, 2012, 432, 29-38.
 15. Kobayashi F, Yamada S, Taguwa S, Kataoka C, Naito S, Hama Y, Tani H, Matsuura Y, and Sugahara K. Specific interaction of the envelope glycoproteins E1 and E2 with liver heparan sulfate involved in the tissue tropism infection by hepatitis C virus. *Glycoconj. J.*, 2012, 29, 211-220.
 16. Tripathi L.P, Kambara H, Moriishi K, Morita E, Abe T, Mori Y, Chen Y.A, Matsuura Y, and Mizuguchi K. Proteomic Analysis of Hepatitis C Virus (HCV) Core Protein Transfection and Host Regulator PA28 γ Knockout in HCV Pathogenesis: A Network-Based Study. *J. Proteome Res.*, 2012, 11, 3664-3679.
 17. Kondo M, Moriishi K, Wada H, Noda T, Marubashi S, Wakasa K, Matsuura Y, Doki Y, Mori M, and Nagano H. Upregulation of nuclear PA28 γ expression in cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Exp. Ther. Med.*, 2012, 3, 379-385.

(森石)

1. Tanaka T, Kasai H, Yamashita A, Okuyama-Dobashi K, Yasumoto J, Maekawa S, Enomoto N, Okamoto T, Matsuura Y, Morimatsu M, Manabe N, Ochiai K, Yamashita K, Moriishi K: Hallmarks of hepatitis C virus in equine hepacivirus. *J. Virol.*, 88: 13352-13366, 2014
2. Salam KA, Furuta A, Noda N, Tsuneda S, Sekiguchi Y, Yamashita A, Moriishi K, Nakakoshi M, Tani H, Roy SR, Tanaka J, Tsubuki M, Akimitsu N: PBDE: Structure-Activity Studies for the Inhibition of Hepatitis C Virus NS3 Helicase. *Molecules*, 19: 4006-4020, 2014
3. Matsuzawa T, Kawamura T, Ogawa Y, Maeda K, Nakata H, Moriishi K, Koyanagi Y, Gatanaga H, Shimada S, Mitsuya H: EFDa, a Reverse Transcriptase Inhibitor, Potently Blocks HIV-1 Ex Vivo Infection of Langerhans Cells within Epithelium. *J. Invest. Dermatol.*, 134: 1158-1161, 2014
4. Furuta A, Salam KA, Hermawan I, Akimitsu N, Tanaka J, Tani H, Yamashita A, Moriishi K, Nakakoshi M, Tsubuki M, Peng PW, Suzuki Y, Yamamoto N, Sekiguchi Y, Tsuneda S, Noda N: Identification and biochemical characterization of halisulfate 3 and suvanine as novel inhibitors of hepatitis C virus NS3 helicase from a marine sponge. *Mar. Drugs*, 12: 462-476, 2014
5. Allen SJ, Mott KR, Matsuura Y, Moriishi K, Kousoulas KG, Ghiasi H: Binding of HSV-1 Glycoprotein K (gK) to Signal Peptide Peptidase (SPP) Is Required for Virus Infectivity. *PLOS one*, 9: e85360, 2014
6. Tripathi LP, Kambara H, Chen YA, Nishimura Y, Moriishi K, Okamoto T, Morita E, Abe T, Mori Y, Matsuura Y, Mizuguchi K: Understanding the Biological Context of NS5A-Host Interactions in HCV Infection: A Network-Based Approach. *J. Proteome Res.*, 12: 2537-2551, 2013
7. Tani J, Shimamoto S, Mori K, Kato N, Moriishi K, Matsuura Y, Tokumitsu H, Tsuchiya M, Fujimoto T, Kato K, Miyoshi H, Masaki T, Kobayashi R: Ca(2+)/S100 proteins regulate HCV virus NS5A-FKBP8/FKBP38 interaction and HCV virus RNA replication. *Liver Int.*, 33: 1008-1018, 2013
8. Ogawa Y, Kawamura T, Matsuzawa T, Aoki R, Gee P, Yamashita A, Moriishi K, Yamasaki K, Koyanagi Y, Blauvelt A, Shimada S: Antimicrobial Peptide LL-37 Produced by HSV-2-Infected Keratinocytes Enhances HIV Infection of Langerhans Cells. *Cell Host Microbe*, 13: 77-86, 2013
9. Miura M, Maekawa S, Takano S, Komatsu N, Tatsumi A, Asakawa Y, Shindo K, Amemiya F, Nakayama Y, Inoue T, Sakamoto M, Yamashita A, Moriishi K, Enomoto N: Deep-Sequencing Analysis of the Association between the Quasispecies Nature of the Hepatitis C Virus Core Region and Disease Progression. *J. Virol.*, 87: 12541-12551, 2013
10. Matsuzawa T, Kawamura T, Ogawa Y, Takahashi M, Aoki R, Moriishi K, Koyanagi Y, Gatanaga H, Blauvelt A, Shimada S: Oral administration of the CCR5 inhibitor, maraviroc, blocks HIV ex vivo infection of Langerhans cells within epithelium. *J. Invest. Dermatol.*, 133: 2803-2805, 2013
11. Hashimoto K, Yamada S, Katano H, Fukuchi S, Sato Y, Kato M, Yamaguchi T, Moriishi K, Inoue N: Effects of immunization of pregnant guinea pigs

- with guinea pig cytomegalovirus glycoprotein B on viral spread in the placenta. *Vaccine*, 31: 3199-3205, 2013
12. Aoki R, Kawamura T, Goshima F, Ogawa Y, Nakae S, Nakao A, Moriishi K, Nishiyama Y, Shimada S: Mast Cells Play a Key Role in Host Defense against Herpes Simplex Virus Infection through TNF-alpha and IL-6 Production. *J. Invest. Dermatol.*, 133: 2170-2179, 2013
 13. Shen H, Yamashita A, Nakakoshi M, Yokoe H, Sudo M, Kasai H, Tanaka T, Fujimoto Y, Ikeda M, Kato N, Sakamoto N, Shindo H, Maekawa S, Enomoto N, Tsubuki M, Moriishi K: Inhibitory effects of caffeic Acid phenethyl ester derivatives on replication of hepatitis C virus. *PLOS one*, 8: e82299, 2013
 14. Fujimoto Y, Salam KA, Furuta A, Matsuda Y, Fujita O, Tani H, Ikeda M, Kato N, Sakamoto N, Maekawa S, Enomoto N, de Voogd NJ, Nakakoshi M, Tsubuki M, Sekiguchi Y, Tsuneda S, Akimitsu N, Noda N, Yamashita A, Tanaka J, Moriishi K: Inhibition of both protease and helicase activities of hepatitis C virus NS3 by an ethyl acetate extract of marine sponge *Amphimedon* sp. *PLoS One*, 7: e48635, 2012
 15. Tripathi LP, Kambara H, Moriishi K, Morita E, Abe T, Mori Y, Chen YA, Matsuura Y, Mizuguchi K: Proteomic Analysis of Hepatitis C Virus (HCV) Core Protein Transfection and Host Regulator PA28gamma Knockout in HCV Pathogenesis: A Network-Based Study. *J. Proteome Res.*, 11: 3664-3679, 2012
 16. Moriishi K, Matsuura Y: Exploitation of lipid components by viral and host proteins for hepatitis C virus infection. *Front. Microbiol.*, 3: 54, 2012
 17. Kondo M, Moriishi K, Wada H, Noda T, Marubashi S, Wakasa K, Matsuura Y, Doki Y, Mori M, Nagano H: Upregulation of nuclear PA28gamma expression in cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Exp. Ther. Med.*, 3: 379-385, 2012
 18. Fujimoto Y, Salam KA, Furuta A, Matsuda Y, Fujita O, Tani H, Ikeda M, Kato N, Sakamoto N, Maekawa S, Enomoto N, de Voogd NJ, Nakakoshi M, Tsubuki M, Sekiguchi Y, Tsuneda S, Akimitsu N, Noda N, Yamashita A, Tanaka J, Moriishi K: Inhibition of both protease and helicase activities of hepatitis C virus NS3 by an ethyl acetate extract of marine sponge *Amphimedon* sp. *PLoS One*, 7: e48635, 2012
 19. Tripathi LP, Kambara H, Moriishi K, Morita E, Abe T, Mori Y, Chen YA, Matsuura Y, Mizuguchi K: Proteomic Analysis of Hepatitis C Virus (HCV) Core Protein Transfection and Host Regulator PA28gamma Knockout in HCV Pathogenesis: A Network-Based Study. *J. Proteome Res.*, 11: 3664-3679, 2012
 20. Moriishi K, Matsuura Y: Exploitation of lipid components by viral and host proteins for hepatitis C virus infection. *Front. Microbiol.*, 3: 54, 2012
 21. Kondo M, Moriishi K, Wada H, Noda T, Marubashi S, Wakasa K, Matsuura Y, Doki Y, Mori M, Nagano H: Upregulation of nuclear PA28gamma expression in cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Exp. Ther. Med.*, 3: 379-385, 2012

(勝二)

1. Shoji, I. Roles of the two distinct proteasome pathways in hepatitis C virus infection. *World Journal of Virology*, 2012, 1, 44-50.
2. Matsui, C., Shoji, I., Kaneda, S., Sianipar, IR., Deng, L., and Hotta, H. Hepatitis C virus infection suppresses GLUT2 gene expression via down-regulation of hepatocyte nuclear factor 1 α . *Journal of Virology*, 2012, 86 (23): 12903-11.
3. El-Shamy, A., Shoji, I., El-Akel, W., Bilasy SE, Deng, L., El-Raziky, M., Jiang, D., Esmat, G., and Hotta, H. NS5A sequence heterogeneity of hepatitis C virus genotype 4a predicts clinical outcome of pegylated-interferon/ribavirin therapy in Egyptian patients. *J Clinical Microbiology*, 2012, 50 (12): 3886-92.
4. El-Shamy, A., Shoji, I., Kim S-R., Ide, Y-H., Imoto, S., Deng, L., Yoon, S., Fujisawa, T., Tani, S., Yano, Y., Seo, Y., Azuma, T., and Hotta, H. Sequence heterogeneity in NS5A of hepatitis C virus genotypes 2a and 2b and clinical outcome of pegylated-Interferon/Ribavirin therapy. *PLoS One*, 2012, 7, e30513, 1-10.
5. Kim, S-R., El-Shamy, A., Imoto, S., Kim, KI., Ide, Y-H., Deng, L., Shoji, I., Tanaka, Y., Hasegawa, Y., Ota, Mitsuhiro., and Hotta, H. Prediction of response to pegylated interferon/ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C genotype 1b and high viral load. *Journal of Gastroenterology*, 2012, 47 (10): 1143-51.
6. Tao RR, Huang JY, Lu YM, Hong LJ, Wang H, Masood MA, Ye WF, Zhu DY, Huang Q, Fukunaga K, Lou YJ, Shoji I, Wilcox CS, Lai EY, Han F. Nitrosative stress induces peroxiredoxin 1 ubiquitination during ischemic insult via E6AP activation in endothelial cells both in vitro and in vivo. *Antioxidants & Redox Signaling*, DOI: 10.1089/ars.2013.5381.
7. Mawatari S., Uto H., Ido A., Nakashima K., Suzuki T., Kanmura S., Kumagai K., Oda K., Tabu K., Tamai T., Moriuchi A., Oketani M., Shimada Y., Sudoh M., Shoji I., and Tsubouchi H. Hepatitis C virus NS3/4A protease inhibits complement activation by cleaving complement component 4., *PLoS One*, 2013; 8 (12): e82094.
8. Wahyuni TS., Tumewu L., Permanasari AA., Apriani E., Adianti M., Rahman A., Widyawaruyanti A., Lusida MI., Fuad A., Soetjipto, Nasronudin, Fuchino H., Kawahara N., Shoji I., Deng L., Aoki C., and Hotta H. Antiviral activities of Indonesian medicinal plants in the East Java region against hepatitis C virus. *Virology Journal*, 2013, 10 (1): 259, 1-9.
9. El-Shamy, A., Shindo, M., Shoji, I., Deng, L., Okuno, T., and Hotta, H. Polymorphisms of the Core, NS3 and NS5A proteins of hepatitis C virus genotype 1b associate with development of hepatocellular carcinoma, *Hepatology*, 2013, 58 (2): 555-63.
10. Ratnoglik SL, Jang DP, Aoki C, Sudarmono P, Shoji I, Deng L, and Hotta H. Induction of cell-mediated immune responses in mice by DNA vaccines that express hepatitis C virus NS3 mutants lacking serine protease and NTPase/RNA helicase activities., *PLoS One*, 2014, 9 (6): e98877.
11. Ratnoglik SL, Aoki C, Sudarmono P, Komoto M, Deng L, Shoji I, Fuchino H, Kawahara N, and Hotta H. Antiviral activity of extracts from *Morinda citrifolia* leaves and chlorophyll

catabolites pheophorbide a and
pyropheophorbide a, against hepatitis C virus.
Microbiology and Immunology, 2014, 58 (3):
188-94.

12. Adianti M, Aoki C, Komoto M, Deng L, Shoji I, Wahyuni T, Lusida M, Soetjipto S, Fuchino H, Kawahara N, and Hotta H. Anti-hepatitis C virus compounds obtained from Glycyrrhiza uralensis and other Glycyrrhiza species. Microbiology and Immunology, 2014, 58 (3): 180-7.
13. Tao RR, Huang JY, Lu YM, Hong LJ, Wang H, Masood MA, Ye WF, Zhu DY, Huang Q, Fukunaga K, Lou YJ, Shoji I, Wilcox CS, Lai EY, Han F. Nitrosative stress induces peroxiredoxin 1 ubiquitination during ischemic insult via E6AP activation in endothelial cells both in vitro and in vivo. Antioxidants & Redox Signaling, 2014, 21 (1): 1-16.

(有海)

1. Mori K, Hiraoka O, Ikeda M, Ariumi Y, Hiramoto A, Wataya Y, Kato N. Adenosine kinase is a key determinant for the anti-HCV activity of ribavirin. Hepatology 58:1236-1244, 2013
2. Kuroki M, Ariumi Y, Hijikata M, Ikeda M, Dansako H, Wakita T, Shimotohno K, Kato N. PML tumore suppressor protein is required for HCV production. Biochem. Biophys. Res. Commun. 430:592-597, 2013
3. Yasuda-Inoue M, Kuroki M, Ariumi Y. DDX3 RNA helicase is required for HIV-1 Tat function. Biochem. Biophys. Res. Commun. 441:607-611, 2013
4. Yasuda-Inoue M, Kuroki M, Ariumi Y. Distinct DDX DEAD-box RNA helicases cooperate to

modulate the HIV-1 Rev function. Biochem. Biophys. Res. Commun. 434:803-808, 2013

5. Yagita Y, Kuse N, Kuroki K, Gatanaga H, Carlson J, Chikata T, Brumme Z, Murakoshi H, Akahoshi T, Pfeifer N, Mallal S, John M, Ose T, Matsubara H, Kanda R, Fukunaga Y, Honda K, Kawashima Y, Ariumi Y, Oka S, Maenaka K, Takiguchi M. Distinct HIV-1 escape patterns selected by CTLs with identical epitope specificity. J. Virol. 87:2253-2263, 2013
6. Ariumi Y. Multiple functions of DDX3 RNA helicase in gene regulation, tumorigenesis, and viral infection. Frontiers Genet. 5:423, 2014

H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得

鈴木哲朗 他. 糖鎖固定化親水性樹脂化合物、ウイルス除去用高分子基材、及び生体適合性材料. 国際公開番号: W02014/014098. 国際公開日: 2014年1月23日

鈴木哲朗 他. 肝炎組織体、肝炎ウイルスの感染方法、肝炎組織体の製造方法、肝炎ウイルスの増殖方法、肝炎ワクチンの製造方法、スクリーニング方法、及びキット. 特願 2014-052754 公開日: 2014年3月14日

鈴木哲朗 他. HCV RNA複製抑制剤 特開 2012-171870 公開日: 2014年9月10日

加藤 宣之 他. 新規抗HCV剤. 特許登録 第 4931162号, 2012.

加藤宣之 他. 新規抗HCV剤. 国際出願番号 PCT/JP2012/75461. 出願日2012年10月2日.

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし

Ⅱ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
中島謙治、鈴木哲朗	進歩するC型肝炎治療		感染・炎症・免疫	医薬の門社		2015	81-82
鈴木哲朗	C型肝炎ウイルスのゲノム複製や粒子形成を制御するしくみ		化学の領域	医薬ジャーナル	大阪市	2013	97-103

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Masaki T, Matsunaga S, Takahashi H, Nakashima K, Kimura Y, Ito M, Matsuda M, Murayama A, Kato T, Hirano H, Endo Y, Lemon SM, Wakita T, Sawasaki T, <u>Suzuki T.</u>	Involvement of Hepatitis C Virus NS5A Hyperphosphorylation Mediated by Casein Kinase I- α in Infectious Virus Production.	J Virol	88	7541-7555	2014
Saito K, Shirasago Y, <u>Suzuki T.</u> , Aizaki H, Hanada K, Wakita T, Nishijima M, Fukasawa M.	Targeting Cellular Squalene Synthase, an Enzyme Essential for Cholesterol Biosynthesis, Is a Potential Antiviral Strategy against Hepatitis C Virus.	J Virol	89	2220-2232	2015
Matsuda M, Suzuki R, Kataoka C, Watashi K, Aizaki H, Kato N, Matsuura Y, <u>Suzuki T.</u> , Wakita T.	Alternative endocytosis pathway for productive entry of hepatitis C virus.	J Gen Virol	95	2658-2667	2014
Fang L, Wang Z, Song S, Kataoka M, Ke C, <u>Suzuki T.</u> , Wakita T, Takeda N, Li TC.	Characterization of human bocavirus-like particles generated by recombinant baculoviruses	J Virol Method	207	38-44	2014
Lee J, Ahmed SR, Oh S, Kim J, <u>Suzuki T.</u> , Parmar K, Park SS, Lee J, Park EY.	A plasmon-assisted fluoro-immunoassay using gold nanoparticle-decorated carbon nanotubes for monitoring the influenza virus.	Biosens Bioelectron.	64	311-317	2014
Fukasawa M, Nagase S, Shirasago Y, Iida M, Yamashita M, Endo K, Yagi K, <u>Suzuki T.</u> , Wakita T, Hanada K, Kuniyasu H, and Kondoh M.	Monoclonal Antibodies against Extracellular Domains of Claudin-1 Block Hepatitis C Virus Infection in A Mouse Model.	J Virol		in press	

Ahmed SR, Hossain MA, Park JY, Kim SH, Lee D, <u>Suzuki T</u> , Lee J, Park EY.	Metal enhanced fluorescence on nanoporous gold leaf-based assay platform for virus detection.	Biosens Bioelectron.	58	33-39	2014
Shimada H, Haraguchi K, Hotta K, Miyaake T, Kitagawa Y, Tanaka H, Kaneda R, Abe H, Shuto S, Mori K, Ueda Y, <u>Kato N</u> , <u>Snoeck R</u> , Andrei G, Balzarini J.	Synthesis of 3',4'-difluoro-3'-deoxyribonucleosides and its evaluation of the biological activities: Discovery of a novel type of anti-HCV agent 3',4'-difluorocordycepin.	Bioorg Med Chem,	22	6174-6176	2014
Hara Y, Yanatori I, Ikeda M, Kiyokage E, Nishina S, Tomiyama Y, Toida K, Kishi F, <u>Kato N</u> , Imamura M, Chayama K, Hino K.	Hepatitis C virus core protein suppresses mitophagy by interacting with Parkin in the context of mitochondrial depolarization.	Amer J Pathol.,	184	3026-3039	2014
Matsuno K, Ueda Y, Fukuda M, Onoda K, Waki M, Ikeda M, <u>Kato N</u> , Miyachi H.	Synthesis and inhibitory activity on hepatitis C virus RNA replication of 4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxy-2-propyl)aniline analogs.	Bioorg Med Chem Lett.	27	4276-4280	2014
Dansako H, Hiramoto H, Ikeda M, Wakita T, <u>Kato N</u> .	Rab18 is required for viral assembly of hepatitis C virus through trafficking of the core protein to lipid droplets.	Virology	162	166-174	2014
Ueda Y, Mori K, Satoh S, Dansako H, Ikeda M, <u>Kato N</u>	Anti-HCV activity of the Chinese medicinal fungus <i>Cordyceps militaris</i> .	Biochem Biophys Res Commun,	447	341-345	2014
<u>Kato N</u> , Sejima H, Ueda Y, Mori K, Satoh S, Dansako H, Ikeda M.	Genetic characterization of hepatitis C virus in long-term RNA replication using Li23 cell culture systems	PLOS ONE	9	e91156	2014
Okamoto M, Oshiumi H, Azuma M, <u>Kato N</u> , Matsumoto M, Seya T.	IPS-1 is essential for type III interferon production by hepatocytes and dendritic cells in response to hepatitis C virus infection.	J Immunol.	192	2770-2777	2014
Hiramoto H, Dansako H, Takeda M, Satoh S, Wakita T, Ikeda M, <u>Kato N</u> .	Annexin A1 negatively regulates viral RNA replication of hepatitis C virus.	Acta Medica Okayama	64	in press	
Murakami Y, Itami S, Eguchi Y, Mizutani T, Aoki E, Ohgi T, Kuroda M, Ochiya T, <u>Kato N</u> , Suzuki H, Kawada N.	Control of HCV replication with iMIRs, a novel anti-RNAi agent.	Molecular Therapy-Nucleic Acids		in press	

Tanaka T, Kasai H, Yamashita A, Okuyama-Dobashi K, Yasumoto J, Maekawa S, Enomoto N, Okamoto T, Matsuura Y, Morimatsu M, Manabe N, Ochiai K, Yamashita K, <u>Moriishi K</u>	Hallmarks of hepatitis C virus in equine hepacivirus.	J Virol	88	13352-13366	2014
Salam KA, Furuta A, Noda N, Tsuneda S, Sekiguchi Y, Yamashita A, <u>Moriishi K</u> , Nakakoshi M, Tani H, Roy SR, Tanaka J, Tsubuki M, Akimitsu N	PBDE: Structure-Activity Studies for the Inhibition of Hepatitis C Virus NS3 Helicase.	Molecules	19	4006-4020	2014
Matsuzawa T, Kawamura T, Ogawa Y, Maeda K, Nakata H, <u>Moriishi K</u> , Koyanagi Y, Gatanaga H, Shimada S, Mitsuya H	EFdA, a Reverse Transcriptase Inhibitor, Potently Blocks HIV-1 Ex Vivo Infection of Langerhans Cells within Epithelium.	J. Invest. Dermatol.	134	1158-1161	2014
Furuta A, Salam KA, Hermawan I, Akimitsu N, Tanaka J, Tani H, Yamashita A, <u>Moriishi K</u> , Nakakoshi M, Tsubuki M, Peng PW, Suzuki Y, Yamamoto N, Sekiguchi Y, Tsuneda S, Noda N	Identification and biochemical characterization of halisulfate 3 and suvanine as novel inhibitors of hepatitis C virus NS3 helicase from a marine sponge	Mar. Drugs.	12	462-476	2014
Allen SJ, Mott KR, Matsuura Y, <u>Moriishi K</u> , Kousoulas KG, Ghiasi H	Binding of HSV-1 Glycoprotein K (gK) to Signal Peptide Peptidase (SPP) Is Required for Virus Infectivity.	PLOS ONE	9	e85360	2014
Ratnoglik SL, Jang DP, Aoki C, Sudarmono P, <u>Shoji I</u> , Deng L, Hotta H.	Induction of cell-mediated immune responses in mice by DNA vaccines that express hepatitis C virus NS3 mutants lacking serine protease and NTPase/RNA helicase activities.	PLOS ONE	9	e98877	2014
Ratnoglik SL, Aoki C, Sudarmono P, Komoto M, Deng L, <u>Shoji I</u> , Fuchino H, Kawahara N, Hotta H.	Antiviral activity of extracts from Morinda citrifolia leaves and chlorophyll catabolites pheophorbide a and pyropheophorbide a, against hepatitis C virus.	Microbiol Immunol.	58	188-194	2014
Adianti M, Aoki C, Komoto M, Deng L, <u>Shoji I</u> , Wahyuni T, Lusida M,	Anti-hepatitis C virus compounds obtained from Glycyrrhiza uralensis and other	Microbiol Immunol.	58	180-187	2014