

201423009A

厚生労働科学研究費補助金

肝炎等克服緊急対策研究事業

肝炎ウイルスの複製増殖および 病原性発現機構と薬剤感受性の解析

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 脇田 隆字

平成27（2015）年 3月

厚生労働科学研究費補助金

肝炎等克服緊急対策研究事業

肝炎ウイルスの複製増殖および 病原性発現機構と薬剤感受性の解析

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 脇田 隆字

平成27（2015）年 3月

目 次

I. 総括研究報告

- 肝炎ウイルスの複製増殖および病原性発現機構と薬剤感受性の解析 3
脇田 隆宇

II. 分担研究報告

1. 肝炎ウイルスの複製増殖および病原性発現機構と薬剤感受性の解析の総括 23
脇田 隆宇
2. HCV 感染性感染モデル動物の作製 33
青戸 一司
3. HBV キメラウイルスを用いたウイルス複製機構解析 36
飯島 沙幸
4. HCV ライフサイクルにおける脂質代謝の役割の解明 41
池田 正徳
5. E 型肝炎ウイルスレプリコンの構築と阻害剤スクリーニングへの応用 . . . 45
石井 孝司
6. HCV 増殖・培養系を用いたウイルス側因子の複製増殖への影響の解析 . . 48
大西 俊介
7. 酸化ストレスを低下させて肝炎ウイルス増殖を抑制する新規治療薬候補物質の探索 51
萩原 正敏
8. ヒト肝幹細胞を用いた HCV の高効率感染増殖実験系の開発とこれを用いた HCV による発癌機構の解明 53
土方 誠
9. IL28B 遺伝子領域に一塩基多型を持つヒト iPS 細胞由来分化肝細胞を用いた抗 HCV 薬評価系の開発 55
水口 裕之

10. ウイルス及び宿主因子を標的にした抗 HCV 剤の探索と開発	59
森石 恆司	
11. 肝炎ウイルスによりハイジャックされる宿主因子とウイルス発癌の解析	62
森川 賢一	
12. ヒト iPS 細胞を利用した HCV 侵入・複製に関わる宿主側因子の探索と治療薬候補物質の評価	66
八木 清仁	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	75

I . 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
総括研究報告書（平成 26 年度）

肝炎ウイルスの複製増殖および病原性発現機構と薬剤感受性の解析

主任研究者 国立感染症研究所・ウイルス第二部 部長 脇田 隆宇

研究要旨 ウイルス複製増殖機構や病原性発現機構を理解するために、HBV, HCV, HEV の新規ウイルス培養系の開発と、ウイルス培養系を利用して、ウイルス複製増殖過程と病原性発現機構を解析する。さらに、抗ウイルス薬に対する感受性を解析する。HCV では増殖複製過程を詳細に解析し、関与する宿主因子を同定して、新たな治療標的を同定する。さらに、HCV 感染過程に必要な宿主因子を明らかにし、新規感染動物モデルを開発し、新規治療および予防法開発に役立てる。

研究分担者 青戸一司 浜松医科大学医学部 助教	研究分担者 水口裕之 大阪大学大学院 教授
研究分担者 飯島沙幸 名古屋市立大学大学院 研究員	研究分担者 森石恒司 山梨大学大学院 教授
研究分担者 池田正徳 鹿児島大学大学院 教授	研究分担者 森川賢一 北海道大学大学院 助教
研究分担者 石井孝司 国立感染症研究所 室長	研究分担者 八木清仁 大阪大学大学院 教授
研究分担者 大西俊介 北海道大学大学院 講師	
研究分担者 萩原正敏 京都大学大学院 教授	
研究分担者 土方 誠 京都大学ウイルス研究所 准教授	

A. 研究目的

肝炎ウイルス感染症は我が国における最も重要な疾患のひとつであり、その対策を迅速に進める必要がある。HCVに対するDAA感受性や耐性変異のプロファイリングなどウイルス学的研究が必要である。HBVキャリアでは、核酸アナログ剤の長期投与により肝癌発生率は低下するが、一旦抗ウイルス薬治療を開始すると、長期間にわたる治療が必要である。薬剤耐性ウイルスの出現およびそのコントロールが問題である。HEV感染症は、近年我が国土着の人獣共通感染症として問題となってきた。老人におけるHEV感染では重症化・劇症化する場合がある。これらの肝炎ウイルスに関する問題点を解決するために、本研究ではウイルス複製増殖機構や病原性発現機構を理解する。HBV, HCV, HEVの新規ウイルス培養系の開発と、ウイルス培養系を利用して、ウイルス複製増殖過程と病原性発現機構を解析する。さらに、抗ウイルス薬に対する感受性を解析する。HCVでは増殖複製過程を詳細に解析し、関与する宿主因子を同定して、新たな治療標的を同定する。さらに、HCV感染過程に必要な宿主因子を明らかにし、新規感染動物モデルを開発し、新規治療法および予防法開発に役立てる。HBVはウイルス感染が可能な培養細胞系が存在しないため、新たな感染実験系を開発する。HEVも最近確立されたウイルス培養系を用いた抗ウイルス薬の開発を進める。また、最近著しい進歩をとげている細胞リプログラミング技術を利用して、肝炎ウイルス感染感受性を有する新たな培養細胞モデルの開発を進める。

分担研究としてはHBV, HCV, HEVのウイルス増殖機構の解析、抗ウイルス活性を有する化合物の同定などを進めるとともに、研究班に参加する研究分担者の研究をまとめ、研究者間の共同研究を推進する。

B. 研究方法

1. 新規ウイルス培養系の開発と感染中和抗体の解析(脇田)

遺伝子型 1b の NC-1 株の全長レプリコンを構築した。レプリコン細胞の培養上清を濃縮して Huh7.5.1 細胞に接種し、G418 による薬剤選択培養をおこなった。感染して樹立したレプリコン細胞の上清を濃縮して新たな細胞に感染を繰り返した。遺伝子型 3a の感染性ウイルスを回収して薬剤感受性を検討した。また、ウイルス感染細胞内のコア蛋白質と脂肪滴の局在を免疫染色で確認した。全長の遺伝子型 2b LSG にそれぞれの適応変異を導入して全長構築を作製した。全長

RNA を Huh 7.5.1 細胞に導入し、長期経代培養した。また、HCV のリコンビナント E2 蛋白質を用いてファージディスプレイ法により単鎖抗体を樹立してその感染中和活性を検討した。

2. HCV 感染モデル動物の開発 (青戸)

遺伝子発現系として RNA polymerase (Pol) I の promoter/terminator を用いてトランスジェニックマウスを作成した。

3. HBV キメラウイルスを用いたウイルス複製機構解析(飯島)

複製効率の低い遺伝子型 A の Ae_US clone に複製効率の高い遺伝子型 C の C_AT clone ゲノム配列と組換えを行った。(i)CP 領域を前後に分け (a)CP 全域 : CP mutant (b)前側 nt1413-1630: EnhII-BCP mutant (c)後ろ側 :nt1605-1814 BCP mutant の各領域を入れ替えた三つのキメラウイルスを作製した。また(ii)プレコア領域のゲノム配列を入れ替えたキメラウイルスを作製した。

4. HCV ライフサイクルにおける脂質代謝の役割の解明(池田)

Rab の修飾に関わる GGTaseII には REP が必要である。REP には REP-1 および REP-2 が存在することが知られている。REP-2 は HCV のライフサイクルに重要な役割を果たしている。REP-1 および REP-2 と Rab の相互作用を検討するために Renilla luciferase (RL)を用いたスプリットルシフェラーゼアッセイ系の開発を行った。

5. E 型肝炎ウイルスレプリコンの構築と阻害剤スクリーニングへの応用(石井)

感染性の HEV クローン 83-2 の構造蛋白領域をレポーター遺伝子 (SecNanoLuc) で置換した cDNA を作成し、合成した RNA をヒト肝癌由来細胞 PLC/PRF/5 細胞に導入するとレプリコンが複製しレポーター遺伝子 (ルシフェラーゼ) が分泌されることを確認した。レポーターの分泌を指標にレプリコン複製を阻害する物質のスクリーニングを行った。

6. L カルニチンによる HCV 増殖抑制、脂肪化抑制、酸化ストレス抑制効果の検討(大西)

HCV レプリコン細胞にカルニチン投与を行い、ウイルス増殖抑制効果について検討した。次に、HCV 感染培養細胞にカルニチン投与を行い、ウイルス増殖抑制効果と肝脂肪化抑制効果について検討した。また、カルニチンの HCV 感染細胞に対する抗酸化ストレス効果について検討した。

7. 酸化ストレスを低下させて肝炎ウイルス増殖を抑制する新規治療薬候補物質の探索(萩原)

増殖ルシフェラーゼ発現 HCV レプリコン細胞を用いて、合成レチノイドについて昨年度に引き続きその作用機序の解析を行った。共同研究先キノファーマとの共同研究において独自合成した新規抗

DNA ウイルス薬 FIT-039 がの B 型肝炎ウイルスへの適用拡大の可能性について再度検討を行った

8. ヒト肝幹細胞を用いた HCV の高効率感染増殖実験系の開発とこれを用いた HCV による発癌機構の解明(土方)

インターネット上に存在するマイクロアレイのデータを解析して、初代培養肝細胞で IFN lambda 処理によってのみ、顕著に発現が変化する遺伝子群を明らかにした。ヒト肝細胞キメラマウスを IFN lambda で処理し、その肝臓から RNA を抽出して、未処理マウスとの間で遺伝子発様式を比較した。得られた候補遺伝子について cDNA を作成し、Huh7.5 細胞に発現させ、組換え体 HCVJFH1 株を感染させて、その感染増殖に対する効果を検討した。

9. IL28B 遺伝子領域に一塩基多型を持つヒト iPS 細胞由来分化肝細胞を用いた抗 HCV 薬評価系の開発(水口)

各種ヒト ES/iPS 細胞の IL28B 遺伝子近傍の SNP である rs12979860 について解析した。ヒト iPS 細胞株 (Dotcom 株) から肝細胞への分化誘導は、FOXA2、HNF1a 遺伝子導入法 (Takayama K., Mizuguchi H., et al. J Hepatol. 2012) を改良した方法で行った。IL28B メジャーアリル (rs8099917 T/T, rs12979860 C/C) をもつヒト iPS 細胞株 (Tic 株) から分化誘導した肝細胞に対し、1 型 IFN である IFN- α 2A を 100pg/mL の濃度で作用させ、経時的に Total RNA を回収し、定量的 RT-PCR により Interferon-stimulated gene (ISG) の mRNA 量を定量した。HCV サブゲノムレプリコン発現細胞の Total RNA を、IL28B メジャーアリル (rs8099917 T/T, rs12979860 C/C) をもつヒト iPS 細胞株 (Dotcom 株) から分化誘導した肝細胞に対し、1 μ g/mL の濃度で transfection した。その後、経時的に Total RNA を回収し、定量的 RT-PCR により HCV ゲノム量及び各種 IFN、ISG の mRNA 量を定量した。コントロールとして、HCV レプリコン非発現細胞である Huh7.5.1 細胞より回収した Total RNA を 1 μ g/mL で transfection した群を用いた。

10. ウイルス及び宿主因子を標的にした抗 HCV 剤の探索と開発(森石)

遺伝子型 1b の N 株、遺伝子型 2a の JFH1 株、3a の S52 株、4a の ED43 株のサブゲノムレプリコン細胞を用いて、各化合物の抗 HCV 活性を検討した。

11. 肝炎ウイルスによりハイジャックされる宿主因子とウイルス発癌の解析(森川)

DDB1 および TC-PTP を中心とした細胞性因子のウイルス肝癌発生への関与を解析する。培養細胞で選択的に HBV および HCV 蛋白発現調節可能

細胞株を作成する。SILAC法またはiTRAQ法にて標識を行い、DDB1およびTC-PTPのみでなく蛋白発現量変化を網羅的・半定量的にプロテオーム解析することによりウイルス蛋白により調整される新規宿主蛋白を同定し解析する。

12. ヒト iPS 細胞を利用した HCV 侵入・複製に関わる宿主側因子の探索と治療薬候補物質の評価(八木)

iPS 細胞、ヒト iPS 細胞由来内胚葉細胞、ヒト iPS 細胞由来肝幹前駆細胞、ヒト iPS-hep 細胞における遺伝子発現のマイクロアレイ解析データを用いた発現解析データマイニングを、北海道システムサイエンス社に委託し、行った。コンカナバリン A (ConA) 誘導性肝障害モデルマウスを用いて肝保護効果を評価した。HCV 感染阻害実験には、ルシフェラーゼ遺伝子を有する HCV シュードウイルス (HCVpv) および細胞培養系により作製した HCV 粒子 (HCVcc) を用いた。

また hNTCP 抗体産生ハイブリドーマを樹立した。hNTCP 発現プラスミドをマウス (BXSb) 皮下に投与した。

(倫理面への配慮)

各種研究材料の取り扱い及び組換え DNA 実験は、適切な申請を行い承認を受ける。また、本研究で使用するヒト由来試料はすでに樹立された細胞株であり倫理面での問題はないと考えられるが、新たにヒト組織などを使用する必然性が生じた場合には、文部科学省等でまとめられた「ヒトゲノム、遺伝子解析に関する倫理指針」及び、平成 13 年 3 月 29 日付 12 文科振第 266 号文部科学省研究振興局長通知に則り、当該研究機関の医学研究倫理審査委員会に申請し、インフォームドコンセントに係る手続きを実施し、提供試料、個人情報等を厳格に管理保存する。

C. 研究結果

1. 新規ウイルス培養系の開発と感染中和抗体の解析(脇田)(脇田)

遺伝子 1b の NC-1 および NC-1_EGSY 株を用いて全長レプリコン構築を作成した。レプリコン細胞の培養上清を濃縮して Huh7.5.1 細胞に接種し、G418 で選択培養した。さらにその培養上清を新たな Huh7.5.1 細胞に接種して 5 回感染を繰り返した。11 クローンの培養上清が感染経代が可能となった。現在レプリコンゲノムの変異を確認中である。

昨年度までに遺伝子型 3a の S310 株による HCV 感染系を樹立した。S310 の薬剤感受性を JFH-1 と比較検討したところ、プロテアーゼ阻害剤、VX-950 では 14 倍から 315 倍に EC50 が低下した。しかし、IFN, CsA, NS5A および NS5B 阻害

剤では JFH-1 とほぼ同等の感受性であった。また、S310 感染細胞における脂肪滴の面積は非感染細胞、JFH-1 感染細胞と比較して有意に増大していた。

遺伝子型 2b LSG 株の全長 RNA を Huh7.5.1 細胞にトランスフェクションし、長期間培養した結果、67 日目には LSG を含めた全 9 クローンで HCV コア蛋白質が放出された。培養上清中の感染力価を測った結果 HCV コアのレベルと相関した。培養上清の再感染実験を行った結果、感染細胞の培養を継続するとウイルス粒子の分泌効率が向上することが明らかとなった。

HCV のリコンビナント E2 蛋白質を用いてファージディスプレイ法により 3 種類の単鎖抗体を樹立した。これらの単鎖抗体は HCV 感染の阻害活性を有した。これらの単鎖抗体に対しては耐性ウイルスを獲得することは困難であった。他の構造エピトープを認識する抗 E2 抗体との比較から単鎖抗体も構造エピトープを認識していると考えられた。

2. HCV 感染モデル動物の開発 (青戸)

Pol I promoter/terminator の制御のもと完全長 HCV ゲノムを発現するトランスジェニックマウスの作出に成功した。このうちで維持中の 5 系統で HCV ウイルスゲノム RNA を最も高発現した A 系統のマウスを解析した。HCV タンパク質は肝臓で最も高発現した。これにより、HCV 産生において肝臓選択的な調節因子が関与することが示唆された。血中の HCV レベルは慢性 C 型肝炎患者と同等であり、血中ウイルスの感染性は Huh7.5.1 培養細胞での感染実験で示された。

NS5A 阻害薬、BMS-790052 をこの HCV 増殖マウスに投与して 24 時間で血中 HCV レベルの顕著な低下が観察された。この HCV 増殖マウスでは、ALT/AST 値は正常で肝炎は認められないものの、生後 6 ヶ月から肝臓での脂肪の蓄積が観察され、加齢とともにその脂肪変性は進行した。

3. HBV キメラウイルスを用いたウイルス複製機構解析(飯島)

作製した A/C クローンで培養上清中・細胞内 HBV-DNA 量は CP, BCP mutant で著しく増加した。配列置換部位からウイルス複製に重要な部位が CP 領域の後半部位:nt1605-1814 に存在することが示唆された。次にプレコア領域 (PreC:nt1814-1901) のキメラウイルスを作製しウイルス複製解析を行った。この領域の A/C キメラウイルスでは複製への影響は認められなかった。

4. HCV ライフサイクルにおける脂質代謝の役割の解明(池田)

RL の N 末端側ドメイン (aa1-229) と Rab の融

合蛋白質を発現させるベクターと REP-1 あるいは REP-2 と RL の C 末端側ドメイン (aa233-311) を発現させるベクターを HEK293 細胞に導入した。48 時間後のルシフェラーゼ活性を測定するといずれの遺伝子導入細胞においてもルシフェラーゼ活性が認められた。しかしながら、REP-1 を導入した方が REP-2 を導入した場合に比べて高いルシフェラーゼ活性を認めた。なかでも、REP-1 と Rab8a の組み合わせでは REP-2 と Rab8a の組み合わせに比べて 100 倍以上の活性が認められた。これらの結果より、開発したスプリットルシフェラーゼアッセイ系は Rab と REP の相互作用の検討に有用であると思われる。

5. E 型肝炎ウイルスレプリコンの構築と阻害剤スクリーニングへの応用 (石井)

ORF2 領域をルシフェラーゼ遺伝子と置き換えることにより HEV レプリコンを構築した。レプリコン RNA をトランスフェクションした細胞で LOPAC 化合物ライブラリー (約 1,200) のスクリーニングを行った。100mM でルシフェラーゼの分泌が 50%以下に低下し、MTT アッセイで強い毒性が見られない化合物の中で、20mM でも阻害活性が認められた化合物が 17 存在した。その中に、細胞培養系で HEV 増殖阻害効果が報告され、慢性 E 型肝炎の治療にも実際に使われているリバビリンが含まれていた。

また、東京大学創薬オープンイノベーションセンターの化合物ライブラリーについてもスクリーニングを開始した。2058 化合物のスクリーニングを行い、20mM で 50%以下に低下させる薬剤が 157、20%以下に低下させる薬剤が 33 見出された。

6. L カルニチンによる HCV 増殖抑制、脂肪化抑制、酸化ストレス抑制効果の検討(大西)

HCV レプリコン細胞ではカルニチンの HCV 増殖抑制効果は認めなかった。JFH-1 感染細胞ではカルニチンは濃度依存性にウイルス量を減少させた。HCV 感染細胞では細胞内脂肪量が増加するが、カルニチン投与にて有意に細胞内脂肪滴が減少した。また HCV 感染細胞では HCV コアタンパクと細胞内脂肪滴が共局在したのに対し、カルニチンを投与により細胞内脂肪滴が小さくなり減少した。 β 酸化の律速酵素である CPT-1 は HCV 感染により発現が低下したが、カルニチン投与により発現が回復した。さらに、GSH/GSSG アッセイならびに MitoSOX 染色により、培養細胞は HCV 感染により細胞内酸化ストレスが上昇したが、カルニチン投与により酸化ストレスが抑制された。

7. 酸化ストレスを低下させて肝炎ウイルス増殖を抑制する新規治療薬候補物質の探索(萩原)

合成レチノイドTp80の抗HCV効果はGI-GPxの発現回復が作用機序の一端であることが示唆されていたが、他のグルタチオンペルオキシターゼ等発現変動は見られなかった。GI-GPxに特異的な酸化基質がHCV増殖に関わっている可能性が示唆される。DNAウイルス増殖阻害化合物はHBV初期感染を模倣する系においてHBV増殖抑制能が見られた。

8. ヒト肝幹細胞を用いたHCVの高効率感染増殖実験系の開発とこれを用いたHCVによる発癌機構の解明(土方)

IFN lambdaによって発現が変化する遺伝子群の中にHCVの感染増殖と関連することが知られている脂質代謝関連遺伝子群が見出された。その中の脂質輸送関連遺伝子群が有意に上昇していた。ヒト肝細胞キメラマウスをIFN lambdaで処理後24時間における肝臓内mRNA発現でも、同様の結果が得られた。分泌タンパク質であり、コレステロールエステル輸送タンパク質の阻害因子として知られるアポリポタンパク質F (ApoF)の遺伝子発現がIFN lambda処理により有意に誘導されていた。IFN lambda処理24時間後のヒト肝細胞キメラマウスの血清中のApoFタンパク質の産生誘導も確認された。ヒトApoF発現プラスミドをHuh7.5細胞に導入し、ApoF発現Huh7.5細胞を作成し、組換え体HCV (JFH株)を感染させたところ、その感染増殖を抑制された。この抑制効果は、リコンビナントmyc-tagged ApoFをHCVに混合して感染実験をおこなっても再現された。しかし、Huh7.5細胞をリコンビナントmyc-tagged ApoFで前処理しても、この効果は認められなかった。このことから、リコンビナントmyc-tagged ApoFはHCVの感染性を抑制する効果を持つことが示唆された。さらに培養上清からApoFを除いた場合、この抑制効果は認められなくなったことから、ApoFそのものが組換え体HCVの感染性抑制効果があることが考えられた。

9. IL28B遺伝子領域に一塩基多型を持つヒトiPS細胞由来分化肝細胞を用いた抗HCV薬評価系の開発(水口)

ヒトES細胞5株、ヒトiPS細胞12株におけるrs12979860のSNPについて検討したところ、ヒトES細胞1株がマイナーアレル(T/T)、ヒトiPS細胞5株がマイナーアレル(C/T)であった。その他の株についてはすべてメジャーアレル(C/C)であった。ヒトiPS細胞より分化誘導した肝細胞は1型IFNに対する応答能を有していることが示された。分化誘導肝細胞にHCVサブゲノムレプリコン発現細胞であるHuh7.5.1 1b Feo細胞のTotal RNAを導入し、導入後6時間、24時間において1型IFN(IFN α , IFN β)、3型IFN(IL29, IL28A, IL28B)、および各種ISG (ISG15, ISG56, MxA)

の発現を解析したところ、Huh7.5.1細胞のTotal RNAを導入した群と比較して、1型IFNは約5~30倍、3型IFNは約40~100倍、ISGは約10~30倍の発現上昇が認められた。また、未分化iPS細胞を用いて同様の検討を行ったところ同様の発現上昇が認められたが、発現量は分化誘導肝細胞の1/10~1/100程度であった。以上の結果より、ヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞は、HCV RNAに対する自然免疫応答能を有することが示された。

10. ウイルス及び宿主因子を標的にした抗HCV剤の探索と開発(森石)

Tyrphostin AG490およびその誘導体を用いて、1bおよび2aレプリコン細胞に対する抗HCV効果を検討した。その結果、カテコール基の水酸基の数と位置が重要で、シアノ基の有無は抗HCV活性に重要ではなかった。アミド結合残基は単純な直鎖で炭素数8のものが一番活性が強かった。結局、カテコール基をもつシアノ基がない炭素数8のアミド結合隣接側鎖をもつHD31が高い抗HCV活性を示していた。HD31は遺伝子型1b, 2a, 3a, 4aのレプリコン細胞に対して抗HCV効果が認められ、HCVccの複製も同様に抑制し、EC50が1.5-5.2 μ M、SI値が11.2-90.7を示した。Dactalavirおよびインターフェロン(IFN)に対して相加あるいは相乗作用を示し、Telaprevirに対してアンタゴニスト作用を示した。レプリコン細胞においてIL6刺激によるSTAT3のTyr705のリン酸化をHD31は抑制したことから、HD31は抗発癌作用も併せ持つことが期待された。

11. 肝炎ウイルスによりハイジャックされる宿主因子とウイルス発癌の解析(森川)

B型肝炎ウイルス(HBV)およびC型肝炎ウイルス(HCV)に共通するウイルス発癌因子の同定および解析を行った。同定タンパクのクローニングを行い、発現プラスミドを構築した。同定タンパクの各種細胞株内での発現量をmRNAおよび蛋白質を比較検討した。

12. ヒトiPS細胞を利用したHCV侵入・複製に関わる宿主側因子の探索と治療薬候補物質の評価(八木)

ヒトiPS細胞由来細胞の各分化段階であるヒトiPS細胞、ヒトiPS細胞由来内胚葉細胞、ヒトiPS細胞由来肝幹前駆細胞、ヒトiPS-hep細胞(分化直後、および分化より15日間培養後)における遺伝子発現のマイクロアレイ解析を行った。HCV侵入活性と同パターンで発現が上昇する遺伝子群を絞り込み検討を行った。Table 1に遺伝子名を示す。HBA1,2, IGFBP1, HBBについてはヒト初代肝細胞での発現が低いこと、CES1, AADAC, HRGは既にHCVとの関連が報告され

ていたことより候補から除外した。F5、F9 は血液凝固因子、CYP2C9、CYP3A4 は薬物代謝酵素、SLC2A2 はグルコーストランスポーターである。CYP2C9、CYP3A4 は HCV の侵入に関与する可能性は低い。HBV の受容体として同定された NTCP は solute carrier family のメンバー (SLC10A1) で胆汁酸の取り込み機能を有していることから SLC2A2 が HCV の侵入に関与していることも考えられる。またアデノウイルスの感染に血液凝固因子が必要であることが報告されている。F9 がアデノウイルスの fiber knob と結合し、肝細胞表面のヘパラン硫酸プロテオグリカンと bridge を形成して肝細胞への指向性をもたらしている。アデノウイルスは非エンベロープ型ウイルスで HCV とは表面性状が異なるが、血液凝固因子が HCV 侵入に関与する可能性はあると考えられる。

また、hNTCP に対するマウス血清中の抗体価を評価した。免疫した抗血清を用いて、プロテオリポソームへの結合性を評価した。その結果、いくつかの抗体で市販の NTCP 抗体と同等か、それ以上の反応性を示すものがあつた。免疫した抗血清を用いて、細胞表面への HBV の結合阻害活性を評価した結果、アッセイに用いた抗血清全てで、HBV の感染阻害活性が確認できた。

D. 考察

HCV 感染増殖機構や病原性発現機構を理解するために HCV の新規ウイルス培養系の開発が重要である。本研究では遺伝子型 1b, 2b の新規感染実験系の開発と遺伝子型 3 ウイルスの解析をおこなった。また、抗 E2 抗体をファージディスプレイ法で開発し、構造エピトープを認識する感染中和抗体を樹立した。構造エピトープを認識して、耐性ウイルスができにくいことからウイルス感染を阻害する抗ウイルス効果も期待できる。

HCV 増殖マウスはウイルスゲノム複製と、感染性ウイルス粒子産生能力を持ち合わせている。マウスの有用性の確認にはさらなる解析が必要である。CRISPR ゲノム編集法による RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ (NS5B RdRp) 遺伝子領域に変異を挿入したコントロールマウスの作成、コピー数と症状の関係、Alb-hCD81-hOCLN;Irf7-/-マウスへの感染実験などを次年度に行う予定である。

野生型 Ae_{US} クローンと作製した A/C クローン間で培養上清中・細胞内 HBV-DNA 量は CP, BCP mutant で著しく増加した。配列置換部位からウイルス複製に重要な部位が CP 領域の後半部位:nt1605-1814 に存在することが示唆された。プロコア領域のキメラウイルス解析では複製への

影響は認められなかった。

メバロン酸経路における GGPP の Rab の修飾が HCV のライフサイクルに重要であることを明らかにしてきた。本年度は Rab および REP の相互作用を阻害する薬剤のスクリーニング系の開発を目指して RL を利用したスプリットリフェラーゼアッセイ系の開発を行った。薬剤ライブラリーのスクリーニングを実施する予定である。

LOPAC 化合物ライブラリーから、HEV レプリコン複製阻害活性を持つ化合物 17 をピックアップした。ピックアップされた化合物の中には、HEV 増殖阻害活性が報告されたリバビリンが含まれており、本スクリーニング系の妥当性が示された。また、東京大学創薬オープンイノベーションセンターの化合物ライブラリーからは、さらに強い増殖阻害活性を持つ化合物 33 を同定できた。今後、これらの複製抑制および促進活性を有する化合物を利用し、HEV の感染、増殖機構や病原性発現メカニズムの解析を行う。

カルニチンは HCV 感染培養系において HCV 増殖抑制効果を示した。ウイルス増殖抑制の機序は CPT-1 の発現亢進を介した細胞内脂肪滴の減少による粒子形成抑制が関与している事が予想された。カルニチンは HCV 感染細胞に対し酸化ストレスの抑制効果を示し、HCV 感染患者に対する新たな治療オプションとなりうる可能性がある。

合成レチノイド Tp80 は酸化ストレス応答に寄与する酵素・グルタチオンペルオキシターゼのうち、GI-GPx のみ発現量を HCV 感染による発現抑制状態から回復させる。構造活性相関解析からは、Tp80 のもつ Tropolone 環の抗 HCV 作用への関与及びレチノイド活性自身との非相関性が明らかとなった。このことは Tp80 特異的な酸化ストレス応答系を明らかにすることによって、新規宿主要素をターゲットとした抗ウイルス剤の創製が可能となることを示している。また、抗ヘルペス薬 FIT-039 は宿主細胞因子をターゲットとし、広範囲の DNA ウイルスに対する増殖阻害能をもっている。FIT-039 の HBV 増殖抑制能に関し、HBV の感染時期が薬効に影響を与える可能性が示唆された。

マイクロアレイ解析から IFN lambda はヒトの肝細胞において ApoF 遺伝子を発現誘導していた。この ApoF は組換え体 HCV の感染を抑制した。また、培養肝細胞における HCV 感染の低い効率の理由の一つはこの IFN-lambda による ApoF の産生誘導である可能性も考えられた。

HCV の感染や治療に関連するとされる IL28B 遺伝子近傍の SNP である rs12979860 について解析した結果、ヒト ES 細胞 1 株がマイナーアレル

(T/T)、ヒト iPS 細胞 5 株がマイナーアレル (C/T)であった。さらにこのうちの ES 細胞 1 株、iPS 細胞 2 株については、これまでに解析を行った rs8099917 のマイナーアレル (T/G) をもつ株であり、代表的な IL28B SNP である両 SNP がともにマイナーアレルである株を見出すことができたが、両 SNP がともにホモのマイナーアレルである株を見出すことはできなかった。

ヒト iPS 細胞由来分化誘導肝細胞に対し 1 型 IFN を作用させることにより ISG の発現上昇が認められ、ヒト iPS 細胞由来分化誘導肝細胞は 1 型 IFN に対する応答能を有することが示された。また、ヒト iPS 細胞由来分化誘導肝細胞ではウイルス RNA センサー分子である RIG-I を始めとする自然免疫関連分子についてヒト初代培養肝細胞とほぼ同程度の遺伝子発現を示すことを確認した。

Tyrphostin 誘導体 HD31 は抗 HCV 効果および STAT3 活性化抑制効果をもつことが示唆され、ウイルス排除および抗発癌剤として期待される。HD31 による STAT3 活性化とウイルス複製との関連性およびその抗 HCV 作用機構について検討していく。

現在ウイルス肝癌の全ゲノム関連解析が行われているが、肝細胞癌発生へのウイルス複製増殖の影響、病原性、薬剤感受性など分子機構の詳細は不明な点が多い。本研究によりウイルス肝癌への細胞性因子の関与を網羅的に解析する事により、ウイルスの増殖機構への影響や病原性の解析が進展することが期待される。

iPS細胞からiPS-hep細胞に至る分化段階の最終段階においてHCV侵入が観察され、同パターンで発現が著しく上昇する遺伝子を探索し、血液凝固因子F5,F9、グルコーストランスポーターSLC2A2が候補として抽出された。今後、ノックダウン実験等によりHCV侵入に必須な宿主因子であるか否かを検証していく必要がある。HCV複製能に関しては分化初期の段階から上昇が見られており、同パターンで発現上昇がみられる33遺伝子が抽出されてきている。この中にはHMGCS、ASGR2などHCVとの関連が示されている遺伝子が含まれている。

iPS細胞からiPS-hep細胞までの分化段階で発現パターンを見ると、肝幹前駆細胞まではNTCPの発現が見られず最終のiPS-hep細胞で初めて高発現していた。この結果よりHCVと同様にHBVに対しても肝細胞への分化の最終段階で侵入能を獲得することが予想される。本研究の目的はHBV侵入を阻害可能な抗NTCP抗体の作成である。DNA免疫法により抗体作製を開始し、得られたマウス抗血清で種々検討を行った。その結果、

抗HBV侵入活性を示した血清が得られ、引き続きモノクローナル抗体取得を開始した。

E. 結論

- 遺伝子型 1b, 2a, 3a の新規感染実験系を樹立した。この実験系は HCV ライフサイクルの研究や病原性発現の分子機構解析、抗ウイルス剤の開発に役立つと考えられる。また、抗 E2 抗体に感染中和活性を見いだした。

- 作出した HCV 増殖マウスは、HCV 感染症解析の有用なモデル動物として使用することが期待できる。HCV 産生肝細胞における代謝およびシグナル伝達の異常と、HCV に関連した異常を治療する薬剤の開発の研究に生かせると考えられる。

- 遺伝子型の塩基配列の入れ替えにより複製効率に著しい影響が生じた。その責任領域は CP 領域内の後半 nt1605-1773 内に存在することが示唆された。

- HCV のライフサイクルに関わる Rab と REP の相互作用を評価するためのスプリットルシフェラーゼアッセイ系の開発を行った。

- HEV レプリコンを構築し、化合物ライブラリーからレプリコン複製阻害物質のスクリーニングを開始した。東京大学の化合物ライブラリーから、比較的強い複製阻害活性を有すると考えられる化合物を得ることができた。

- L-カルニチンによる HCV 感染患者に対する新たな治療オプションの可能性が示めされた。

- 抗 HCV 薬に関しては Tp80 類縁体及び同一作用機序の化合物とその作用機序を明らかにするため、構造類似体の検索と HCV レプリコンを用いた抗 HCV 効果検討を行う。さらに薬物動態の解析・動物毒性試験、HCV 感染モデルによる薬理評価などの *in vivo* 評価系の検討をすすめる。同時に FIT-039 の抗 HBV 薬効評価及び抗 HBV 薬としての作用機序の同定を進める。

- IFN lambda は I 型 IFN とは異なる遺伝子を誘導し、異なる方法で HCV の感染増殖を抑制することがわかった。その中に一つは ApoF の産生誘導であると考えられた。ApoF は HCV に働きかけて、その感染性を低下させるものと思われた。

- ヒト ES 細胞 5 株、ヒト iPS 細胞 12 株における rs12979860 の SNP について検討したところ、ヒト ES 細胞 1 株がマイナーアレル (T/T)、ヒト iPS 細胞 5 株がマイナーアレル (C/T) であった。その他の株についてはすべてメジャーアレル (C/C) であった。

- ヒト iPS 細胞由来分化誘導肝細胞は、

1 型 IFN に対する応答能を有し、HCV RNA に対する自然免疫応答能を有していた。また、HCVcc の感染が可能であり、細胞内 HCV ゲノム量の増加に対し IFN および ISG の誘導による抗ウイルス応答が観察された。

- Tyrphostin 誘導体 HD31 は抗 HCV 剤化化合物候補および抗発がん剤候補として期待された。今後、HD31 の作用機序解明およびさらなる構造展開による抗 HCV 活性の検討は、新規 HCV 予防治療報開発の進展に寄与するものと考えられる。

- ウイルス肝癌への細胞性因子を抽出した。DDB1、TC-PTP の関与を分子レベルで詳細な検討を行う事により、ウイルスの増殖機構への影響や病原性の解析を進める。

- ヒト iPS 細胞由来肝細胞分化誘導系を用いて HCV 侵入および複製に関与する候補遺伝子の絞り込みをおこなった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tanida I, Shirasago Y, Suzuki R, Abe R, Wakita T, Hanada K, Fukasawa M. Caffeic acid, a coffee-related organic acid, inhibits the propagation of hepatitis C virus. *Jpn J Infect Dis*. 2015 Jan 20. [Epub ahead of print]
- 2) Masaki T, Arend KC, Li Y, Yamane D, McGivern DR, Kato T, Wakita T, Moorman NJ, Lemon SM. miR-122 Stimulates Hepatitis C Virus RNA Synthesis by Altering the Balance of Viral RNAs Engaged in Replication versus Translation. *Cell Host Microbe*. 2015 Feb 11;17(2):217-228.
- 3) 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*. 2015 Feb 15;89(4):2220-32.
- 4) Esumi M, Ishibashi M, Yamaguchi H, Nakajima S, Tai Y, Kikuta S, Sugitani M, Takayama T, Tahara M, Takeda M, Wakita T. Transmembrane serine protease TMPRSS2 activates hepatitis C virus infection. *Hepatology*. 2015 Feb;61(2):438-47.
- 5) 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, Matsuura Y. Amphipathic α -Helices in Apolipoproteins Are Crucial to the Formation of Infectious Hepatitis C Virus Particles. *PLoS Pathog*. 2014 Dec 11;10(12):e1004534.
- 6) Jiang X, Kanda T, Wu S, Nakamoto S, Wakita T, Shirasawa H, Yokosuka O. Hepatitis C Virus Nonstructural Protein 5A Inhibits Thapsigargin-Induced Apoptosis. *PLoS One*. 2014 Nov 19;9(11):e113499.
- 7) Shirasago Y, Sekizuka T, Saito K, Suzuki T, Wakita T, Hanada K, Kuroda M, Abe R, Fukasawa M. Isolation and Characterization of A Huh7.5.1-Derived Cell Clone Highly Permissive to Hepatitis C Virus. *Jpn J Infect Dis*. 2014 Nov 25. [Epub ahead of print]
- 8) 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*. 2014 Dec;95(Pt 12):2658-67.
- 9) Kim S, Date T, Yokokawa H, Kono T, Aizaki H, Maurel P, Gondeau C, Wakita T. Development of hepatitis C virus genotype 3a cell culture system. *Hepatology*. 2014 Dec;60(6):1838-50.
- 10) Munakata T, Inada M, Tokunaga Y, Wakita T, Kohara M, Nomoto A. Suppression of hepatitis C virus replication by cyclin-dependent kinase inhibitors. *Antiviral Res*. 2014 Aug;108:79-87.
- 11) Ishibashi M, Morita N, Nomura-Kawaguchi C, Shimizu Y, Wakita T, Esumi M. CLEC4M-positive and CD81-negative Huh7 cells are not susceptible to JFH-1 HCVcc infection but mediate transinfection. *Arch Virol*. 2014 Nov;159(11):2949-55.
- 12) 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*. 2014 Aug;462-463:166-74.
- 13) Ogura N, Watashi K, Noguchi T, Wakita T. Formation of covalently closed circular DNA in Hep3B-Tet cells, a tetracycline inducible hepatitis B virus expression cell line. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014 Sep 26;452(3):315-21.
- 14) Choi JE, Hur W, Kim JH, Li TZ, Lee EB, Lee SW, Kang W, Shin EC, Wakita T, Yoon SK. MicroRNA-27a Modulates HCV Infection in Differentiated Hepatocyte-Like Cells from Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells. *PLoS One*. 2014 May 13;9(5):e91958.
- 15) Daito T, Watashi K, Sluder A, Ohashi H, Nakajima S, Borroto-Esoda K, Fujita T, Wakita T. Cyclophilin Inhibitors Reduce Phosphorylation of RNA-dependent Protein Kinase to Restore Expression of IFN-stimulated Genes in HCV-infected Cells. *Gastroenterology*. 2014 Aug;147(2):463-72.
- 16) 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*. 2014 Jul;88(13):7541-55.
- 17) Sugiyama K, Ebinuma H, Nakamoto N, Sakasegawa N, Murakami Y, Chu PS, Usui S, Ishibashi Y, Wakayama Y, Taniki N, Murata H, Saito

- Y, Fukasawa M, Saito K, Yamagishi Y, Wakita T, Takaku H, Hibi T, Saito H, Kanai T. Prominent steatosis with hypermetabolism of the cell line permissive for years of infection with hepatitis C virus. *PLoS One*. 2014 Apr 9;9(4):e94460.
- 18) Shiokawa M, Fukuhara T, Ono C, Yamamoto S, Okamoto T, Watanabe N, Wakita T, Matsuura Y. Novel permissive cell lines for complete propagation of hepatitis C virus. *J Virol*. 2014 May;88(10):5578-94.
- 19) MJ Islam, K Hikosaka, H Noritake, MKM Uddin, MB Amin, K Aoto, Y-X Wu, E Sato, Y Kobayashi, T Wakita, N Miura. Pol I-transcribed hepatitis C virus genome RNA replicates, produces an infectious virus and leads to severe hepatic steatosis in transgenic mice. *Biomedical Research*, in press.
- 20) Iijima S, Matsuura K, Watanabe T, Onomoto K, Fujita T, Ito K, Iio E, Miyaki T, Fujiwara K, Shinkai N, Kusakabe A, Endo M, Nojiri S, Joh T, Tanaka Y. Influence of Genes Suppressing Interferon Effects in Peripheral Blood Mononuclear Cells during Triple Antiviral Therapy for Chronic Hepatitis C. *PLoS One*. 2015; 10 (2) :e0118000.
- 21) Hamada-Tsutsumi S, Iio E, Watanabe T, Murakami S, Isogawa M, Iijima S, Inoue T, Matsunami K, Tajiri K, Ozawa T, Kishi H, Muraguchi A, Joh T, Tanaka Y. Validation of cross-genotype neutralization by hepatitis B virus-specific monoclonal antibodies by in vitro and in vivo infection. *PLoS One*. 2015 ;10(2):e0118062.
- 22) 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)
- 23) 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):341-5 (2014)
- 24) 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*, 462-463:166-74 (2014)
- 25) 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*., 24(17):4276-80 (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):3026-39 (2014)
- 27) Li T.C., Yang T., Yoshizaki S., Ami Y., Suzuki Y., Ishii K., Haga K., Nakamura T., Ochiai S., Wakita T. and Johne R. Construction and characterization of an infectious cDNA clone of rat hepatitis E virus. *Journal of General Virology* in press.
- 28) Shiota T., Li T.C., Yoshizaki S., Kato T., Wakita T. and Ishii K. Establishment of Hepatitis E Virus Infection-Permissive and -Nonpermissive Human Hepatoma PLC/PRF/5 Subclones. *Microbiology and Immunology* in press.
- 29) Jiang X., Kanda T., Wu S., Nakamoto S., Saito K., Shirasawa H., Kiyohara T., Ishii K., Wakita T., Okamoto H. and Yokosuka O. Suppression of La Antigen Exerts Potential Antiviral Effects against Hepatitis A Virus. *PLOS One*, 9, e101993 (2014)
- 30) Li T.C., Yang T., Shiota T., Yoshizaki S., Yoshida H., Saito M., Imagawa T., Malbas F., Lupisan S., Oshitani H., Wakita T. and Ishii K. Molecular detection of hepatitis E virus in rivers in the Philippines. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 90: 764-766 (2014)
- 31) Ohnishi S, Takeda H. Herbal medicines for the treatment of cancer chemotherapy-induced side effects. **Frontiers in Pharmacology** (in press)
- 32) Onishi R, Ohnishi S, Higashi R, Watari M, Yamahara K, Okubo N, Nakagawa K, Katsurada T, Suda G, Natsuzaka M, Takeda H, Sakamoto N. Human amnion-derived mesenchymal stem cell transplantation ameliorates dextran sulfate sodium-induced severe colitis in rats. **Cell Transplantation** (in press)
- 33) Yoshimura A, Ohnishi S, Orito C, Kawahara Y, Takasaki H, Takeda H, Sakamoto N, Hashino S. Associations between peripheral lymphocyte and monocyte counts and obesity-related complications in young adults. **Obesity Facts** 2015;8:1-16
- 34) Shimizu Y, Takahashi M, Mizushima T, Ono S, Mabe K, Ohnishi S, Kato M, Asaka M, Sakamoto N. Chromoendoscopy with iodine staining, as well as narrow-band imaging, is still useful and reliable for screening of early esophageal squamous cell carcinoma. **American Journal of Gastroenterology** 2015;110(1):193-4.
- 35) Yamada C, Sadakane C, Nahata M, Saegusa Y, Nakagawa K, Okubo N, Ohnishi S, Hattori T, Takeda H. Serotonin 2C receptor contributes to gender differences in stress-induced hypophagia in aged mice. **Psychoneuroendocrinology** (in press)
- 36) Suda G, Yamamoto Y, Nagasaka A, Furuya K, Kudo M, Chuganji Y, Tsukuda Y, Tsunematsu S, Sato F, Terasita K, Nakai M, Horimoto H, Sho T, Natsuzaka M, Ogawa K, Ohnishi S, Chuma M, Fujita Y, Abe R, Taniguchi M,

- Nakagawa M, Asahina Y, Sakamoto N for the NORTE Study Group. Serum granulysin levels as a predictor of serious telaprevir-induced dermatological reactions. *Hepatology Research* (in press)
- 37) Hanamatsu H, Ohnishi S, Sakai S, Yuyama K, Mitsutake S, Takeda H, Hashino S, Igarashi Y. Altered levels of serum sphingomyelin and ceramide containing distinct acyl chains in young obese adults. *Nutrition & Diabetes* 2014;4:e141.
- 38) Nahata M, Saegusa Y, Sadakane C, Yamada C, Nakagawa K, Okubo N, Ohnishi S, Hattori T, Sakamoto N, Takeda H. Administration of exogenous acylated ghrelin or rikkunshito, an endogenous ghrelin enhancer, improves the decrease in postprandial gastric motility in an acute restraint stress mouse model. *Neurogastroenterology and Motility* 2014;26(6):821-31.
- 39) Yamamoto M, Onogi H, Kii I, Yoshida S, Iida K, Sakai H, Abe M, Tsubota T, Ito N, Hosoya T, and Hagiwara M. CDK9 inhibitor FIT-039 prevents replication of multiple DNA viruses. *J Clin Invest.* 124(8):3479–3488.
- 40) Tsugawa Y., Kato H., Fujita T., Shimotohno K., Hijikata M. Critical role of interferon- α constitutively produced in human hepatocytes in response to RNA virus infection, *PLoS ONE*, 9, e89869, 2014
- 41) Takayama K., Morisaki Y., Kuno S., Nagamoto Y., Harada K., Furukawa N., Ohtaka M., Nishimura K., Imagawa K., Sakurai F., Tachibana M., Sumazaki R., Noguchi E., Nakanishi M., Hirata K., Kawabata K., Mizuguchi H. Prediction of inter-individual differences in hepatic functions and drug sensitivity by using human iPS-derived hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 2014; 111:16772-16777.
- 42) Higuchi M, Mizuguchi H. Hepatic differentiation of human embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells by two- and three-dimensional culture systems in vitro. *Engineered Cell Manipulation for Biomedical Application*, the Springer publishing, 147-158, 2014, In: M. Akashi, T. Akagi, M. Matsusaki (eds.)
- 43) 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 hepatitis virus. *J. Virol.*, 88: 13352-13366, 2014
- 44) 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
- 45) 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
- 46) 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
- 47) 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
- 48) Hiraide A, Hiroishi K, Shimazaki T, Eguchi J, Ishii S, Morikawa K, Sakaki M, Doi H, Omori R, Kajiwarra A, Hayashi E, Shiina M, Hirayama Y, Imawari M. Increased expression of immuno-inhibitory molecules on peripheral blood lymphocytes may suppress disease progression in autoimmune hepatitis. *Hepatology Res.* 2015 in press.
- 49) Tsunematsu S, Chuma M, Kamiyama T, Miyamoto N, Yabusaki S, Hatanaka K, Mitsunashi T, Kamachi H, Yokoo H, Kakisaka T, Tsuruga Y, Orimo T, Wakayama K, Ito J, Sato F, Terashita K, Nakai M, Tsukuda Y, Sho T, Suda G, Morikawa K, Natsuizaka M, Nakanishi M, Ogawa K, Taketomi A, Matsuno Y, Sakamoto N. Intratumoral artery on contrast-enhanced computed tomography imaging: differentiating intrahepatic cholangiocarcinoma from poorly differentiated hepatocellular carcinoma. *Abdom Imaging.* 2015 in press.
- 50) Welsch C, Haselow K, Gouttenoire J, Schneider M, Morikawa K, Martinez Y, Susser S, Sarrazin C, Zeuzem S, Antes I, Moradpour D, Lange CM. Hepatitis C virus variants resistant to macrocyclic NS3-4A inhibitors subvert IFN- β -induction by efficient MAVS cleavage. *J Hepatol.* 2014 Nov 21. pii: S0168-8278(14)00853-8. doi: 10.1016/j.jhep.2014.11.009. [Epub ahead of print]
- 51) Lange CM, Gouttenoire J, Duong FH, Morikawa K, Heim MH, Moradpour D. Vitamin D Receptor and Jak-STAT Signaling Crosstalk Results in Calcitriol-Mediated Increase of Hepatocellular Response to IFN- α . *J Immunol.* 2014 Jun 15; 192(12):6037-44.
- 52) Morikawa K, Gouttenoire J, Hernandez C, Dao Thi VL, Tran HT, Lange CM, Dill MT, Heim MH, Donzé O, Penin F, Quadroni M, Moradpour D. Quantitative proteomics identifies the membrane-associated peroxidase GPx8 as a cellular substrate of the hepatitis C virus NS3-4A protease. *Hepatology.* 2014 Feb; 59(2):423-33.

- 53) 石井孝司 A型肝炎、E型肝炎 臨床と微生物 41: 72-78 (2014)
- 54) 森川賢一、坂本直哉. 特集 今B型・C型肝炎をどう治療するか C型慢性肝炎の病態・自然経過と発癌. 消化器の臨床. 2015 Feb; 18(1):53-58.
- 55) 八木清仁、低分子化リグニンの新機能開発、生産と技術、66 (3) 106-109 (2014)

2. 学会発表

- 1) Wakita T. Cell culture models of hepatitis C virus. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
- 2) Saga R, Fujimoto A, Watanabe N, Matsuda M, Suzuki R, Hasegawa M, Watashi K, Aizaki H, Nakamura N, Konishi E, Kato T, Takeyama H, Wakita T. Japanese encephalitis virus-subviral particles harboring HCV neutralization epitopes induce neutralizing antibodies against HCV. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
- 3) Suzuki R, Saito K, Matsuda M, Sato M, Kanegae Y, Watashi K, Aizaki H, Chiba J, Saito I, Wakita T., Suzuki T. Single domain intrabodies against HCV core inhibit viral propagation and core-induced NF- κ B activation. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
- 4) Kato T, Sugiyama N, Murayama A, Matsumura T, Shiina M, Asabe S, Wakita T., Imawari M. Antimicrobial peptide LL-37 deteriorate infectivity of hepatitis C virus. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
- 5) Munakata T, Inada M, Tokunaga Y, Wakita T., Kohara M, Nomoto A. Suppression of hepatitis C virus replication by Cyclin-dependent kinase inhibitors. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
- 6) Takeda M, Ikeda M, Sato S, Dansako H, Wakita T., Kato N. Rab13 is an essential factor for HCV entry. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
- 7) Watanabe N, Date T, Kono T, Aizaki H, Wakita T. Identification of an important envelope region by competitive inhibition experiment with envelope peptides. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
- 8) Fujimoto A, Aizaki H, Matsuda M, Watanabe N, Watashi K, Suzuki R, Suzuki T, Wakita T. Maintenance of HCV infectivity by down-regulating hepatic lipase expression. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
- 9) Goto K, Fujimoto A, Watashi K, Suzuki R, Yamagoe S, Moriya K, Yotsuyanagi H, Koike K, Suzuki T, Wakita T., Aizaki H. NS5A-associated membrane protein, embryonic lethal, abnormal vision, drosophila-like 1, regulates hepatitis C virus RNA synthesis and translation. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
- 10) Sugiyama R, Sugiyama N, Murayama A, Tasaka-Fujita M, Masaki T, Wakita T., Kato T. Elucidation of effects on HCV propagation and ISG induction by amino acid substitution in interferon sensitivity-determining region. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
- 11) Shi G, Ando T, Suzuki R, Ito M, Nakashima K, Wakita T., Suzuki T. HCV 3'UTR as a cis-acting element required for the viral RNA encapsidation. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
- 12) Ohashi H, Watashi K, Nakajima S, Kim S, Suzuki R, Aizaki H, Kamisuki S, Sugawara F, Wakita T. Flutamide Inhibits Hepatitis C Virus Assembly through Disrupting Lipid Droplets. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
- 13) Dansako H, Hiramoto H, Ikeda M, Wakita T., Kato N. Human hepatoma HuH-7 cell line-derived RSc cells show higher viral productivity in response to infection with HCV-JFH-1 than Huh7.5 cells. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
- 14) Murayama A, Sugiyama N, Wakita T., Kato T. Hepatitis C virus replication in a monkey kidney-derived cell line. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
- 15) Hiramoto H, Dansako H, Takeda M, Satoh S, Wakita T., Ikeda M, Kato N. Annexin A1 negatively regulates HCV RNA replication. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
- 16) Yamaguchi H, Kuroda K, Wakita T., Esumi M. Role of golgi membrane protein 1 in hepatitis C virus replication. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
- 17) Ito M, Fukuhara T, Suzuki R, Matsuura Y, Wakita T., Suzuki T. Use of HuH7-derived, Bidirectional Oval-like cells to identify differentiation-dependent host factors that are involved in regulation of HCV lifecycle. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014

- 18) Nakajima S, Watashi K, Kamisuki S, Takemoto K, Suzuki R, Aizaki H, Sugawara F, Wakita T. Regulation of hepatitis C virus replication by liver X receptor is disrupted by a fungi-derived neoechinulin B. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
- 19) 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. 21th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
- 20) Ariumi Y, Kuroki M, Siddiqui R, Hijikata M, Ikeda M, Wakita T, Kato N. DDX21 RNA helicase restricts HCV infection. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
- 21) Yokokawa H, Nakamura N, Higashino A, Suzuki S, Akari H, Kato T, Ishii K, Wakita T. Inactivated hepatitis C virus particle vaccine induces anti-HCV antibodies in common marmosets. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
- 22) Shirasago Y, Sekizuka T, Saito K, Suzuki T, Wakita T, Hanada K, Kuroda M, Abe R, Fukasawa M. Isolation and Characterization of A Huh.7.5.1-Derived Cell Clone Highly Permissive to Hepatitis C Virus. 21th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
- 23) Hmwe SS, Suda G, Sakamoto N, Imamura M, Hiraga N, Chayama K, Aizaki H, Wakita T. Construction of novel infectious genotype 2b culture system. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014
- 24) Wakita T, Kong L, Aizaki H. Regulation of viral lifecycle in hepatitis C virus infection. Dynamic interplay between viruses and their hosts, Yokohama, Nov, 2014
- 25) Takaoka A, Sato S, Li K, Kameyama T, Hayashi T, Ishida Y, Murakami S, Watanabe T, Iijima S, Rice C, Harashima H, Kohara M, Tanaka Y. Host sensing mechanism for the activation of antiviral innate responses to HBV infection. 2014 International Meeting on the Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. Sep.3-6, 2014. Los Angeles.
- 26) Hayashi S, Khan A, Simons B, Jones C, Homan C, McMahon B, Murakami S, Iijima S, Isogawa M, Watanabe T, Tanaka Y. Carcinogenic potential of hepatitis B virus genotype F is associated with accumulation of novel core mutations. 2014 International Meeting on the Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. Sep.3-6, 2014. Los Angeles.
- 27) Tsutsumi S, Watanabe T, Murakami S, Iijima S, Hayashi S, Omagari K, Isogawa M, Tanaka Y. Evaluating hepatitis B virus lifecycle and screening anti-viral drugs using primary human hepatocytes isolated from chimeric mice. 2014 International Meeting on the Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. Sep.3-6, 2014. Los Angeles.
- 28) Inoue T, Ohne K, Ochi N, Shinkai N, Murakami S, Iijima S, Ogawa S, Watanabe T, Tanaka Y. A Newly Developed High-Sensitive HBsAg Chemiluminescent Enzyme Immunoassay is a Precise Application as a pre-Transfusion Screening Test to Detect Occult HBV. The 65th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Nov.7-11, 2014. Boston.
- 29) Watanabe T, Hamada-Tsutsumi S, Shinkai N, Iio E, Matsunami K, Iijima S, Murakami S, Omagari K, Isogawa M, Sugiura W, Tanaka Y. Pre- and Post-Exposure Prophylaxis against Hepatitis B Virus Infection by HBV-active Antiretroviral Therapy. The 65th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Nov.7-11, 2014. Boston.
- 30) Hamada-Tsutsumi S, Watanabe T, Murakami S, Iio E, Matsunami K, Iijima S, Omagari K, Shinkai N, Sugiura W, Tanaka Y. Post-exposure prophylactic effect of nucleot(s)ide analogues demonstrated using primary human hepatocytes isolated from chimeric mice. The 11th JSH Single Topic Conference. Nov.20-21, 2014. Hiroshima.
- 31) Hayashi S, Khan A, Simons BC, Jones CL, Homan C, McMahon BJ, Murakami S, Iijima S, Isogawa M, Watanabe T, Tanaka Y. Association between Hepatocellular Carcinoma and Accumulation of Novel Core Mutations in Hepatitis B Virus Genotype F. The 11th JSH Single Topic Conference. Nov.20-21, 2014. Hiroshima.
- 32) Hamada-Tsutsumi S, Watanabe T, Murakami S, Iio E, Matsunami K, Iijima S, Omagari K, Shinkai N, Sugiura W, Tanaka Y. Post-exposure prophylactic effect of nucleot(s)ide analogues demonstrated using primary human hepatocytes isolated from chimeric mice. The 11th JSH Single Topic Conference. Nov.20-21, 2014. Hiroshima.
- 33) Hayashi S, Khan A, Simons BC, Jones CL, Homan C, McMahon BJ, Murakami S, Iijima S, Isogawa M, Watanabe T, Tanaka Y. Association between Hepatocellular Carcinoma and Accumulation of Novel Core Mutations in Hepatitis B Virus Genotype F. The 11th JSH Single Topic Conference. Nov.20-21, 2014. Hiroshima.
- 34) Okumura N, Ikeda M, Satoh S, Dansako H, Mizokami M, Kato N. Negative regulation of hepatitis B virus replication by FOXA members in human hepatoma cells. 2014 International Meeting on Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, Las Angels, USA, 2014, Sep.
- 35) Ueda Y, Kim HS, Dansako H, Satoh S,

- Ikeda M, Doi H, Wataya Y, Kato N. Characterization of anti-HCV activity of N-251, a preclinical antimalarial drug, and its combination effect with DAA. 21st international symposium on hepatitis C virus and related viruses, Banff, Canada, 2014 Sep.
- 36) Sejima H, Satoh S, Dansako H, Ikeda M, Kato N. Analysis on Transcriptional Regulatory Mechanisms of Genes whose Expressions were Reduced during Long-term Intracellular HCV-RNA Replication. 21st international symposium on hepatitis C virus and related viruses, Banff, Canada, 2014 Sep.
- 37) Hiramoto H, Dansako H, Takeda M, Satoh S, Wakita T, Ikeda M, Kato N. Annexin A1 Negatively Regulates HCV RNA Replication. 21st international symposium on hepatitis C virus and related viruses, Banff, Canada, 2014 Sep.
- 38) Dansako H, Hiramoto H, Ikeda M, Wakita T, Kato N. Human Hepatoma HuH-7 Cell Line-derived RSc cells Show Higher Viral Productivity in Response to Infection with HCV-JFH-1 than Huh7.5 Cells. 21st international symposium on hepatitis C virus and related viruses, Banff, Canada, 2014 Sep.
- 39) Ishii K. Epidemiological and genetic analysis of an outbreak of hepatitis A in Japan, 2014. The 11th Japan-Taiwan Symposium on New Technologies Applied to Public Health Including Foodborne Diseases and Drug Resistance. Taipei, Taiwan, September 11-12, 2014
- 40) Ishii K. Epidemiological and genetic analysis of a large outbreak of hepatitis A in Japan, 2014. The 10th China-Japan International Conference of Virology. Changchun, China, August 25-27, 2014
- 41) Li T.C., Ochiai K., Yang T., Yoshizaki S., Takeda N., Ishii K., Wakita T. Characterization of a case of hepatitis E that imported from Spain. 10th Asia Pacific Travel Health Conference, Ho Chi Minh City, Viet Nam, May 7-11, 2014
- 42) Ishii K. Kiyohara T., Yoshizaki S., Shimada T., Nakamura N., Nakashima K., Tada Y., Noda M., Wakita T. Molecular epidemiological analysis of recent hepatitis A in Japan and Asian countries. 10th Asia Pacific Travel Health Conference, Ho Chi Minh City, Viet Nam, May 7-11, 2014
- 43) Ishii K., Kiyohara T., Yoshizaki S., Tada T., Shimada T., Nakashima K., Noda M., Wakita T. Epidemiological and genetic analysis of hepatitis A in Japan. Blankenberge, Belgium, March 9-14, 2014
- 44) Ohnishi S, Mitsutake S, Hanamatsu H, Yuyama K, Sakai S, Takeda H, Igarashi Y, Hashino S, Sakamoto N. Involvement of sphingomyelin metabolism in the development of NAFLD and insulin resistance. United European Gastroenterology Week 2014. Vienna. October 2014.
- 45) Ohnishi S, Muto S, Nakagawa K, Yamada C, Saegusa Y, Nahata M, Sadakane C, Hattori T, Sakamoto N, Takeda H. Gender difference influences food intake under an emotional stress via 5-HT_{2c}R activation in aged mice. Digestive Disease Week 2014. Chicago. May 2014.
- 46) Tanaka T, Kasai H, Yamashita A, and Moriishi K, Infection of equine hepatitis virus in a closed colony of Japanese native horse, The 21st International meeting on Hepatitis C virus and related viruses. 2014.9.7-11, Banff, Canada.
- 47) Dobashi K, Kasai H, Tanaka T, and Moriishi K, Establishment of a novel cell line with high susceptibility to NTCP-dependent HBV infection. 2014 International Meeting on Molecular Biology of Hepatitis B viruses, 2014, 9. 3- 6. Los Angeles, USA.
- 48) Shimazaki T, Date T, Gouttenoire J, Quadroni M, Moradpour D and Morikawa K. THE HEPATITIS B VIRUS MODULATES CELLULAR FACTORS IN THE DIRECTION OF SLOWDOWN OR STOP CELL CYCLE AND PROLIFERATION. The 11th JSH Single Topic Conference. Hiroshima, Japan, 20-21 Nov 2014.
- 49) Tran HT, Morikawa K, Rose Z, Dao Thi VL, Penin F, Heim MH, Donzé O, Quadroni M, Gouttenoire J, Moradpour D. Identification of OCIAD1 as Cellular Substrate of HCV NS3-4A Protease. 21th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Boston, USA, 7-11 Nov 2014.
- 50) Tran HT, Morikawa K, Rose Z, Dao Thi VL, Penin F, Heim MH, Donzé O, Quadroni M, Gouttenoire J, Moradpour D. Identification of OCIAD1 as Cellular Substrate of HCV NS3-4A Protease. 21th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Banff, Canada, 7-11 Sep 2014.
- 51) M.Iida, S.Nagase, M.Yamashita, Y.Shirasago,M.Fukasawa, M.Tada, A.Ishii, A.Watari,K.Yagi, and M.Kondoh, In vivo inhibition of hepatitis C virus infection by anti-claudin-1 monoclonal antibodies. The 41st Annual Meeting & Exposition of the controlled Release Society 2014 年 7 月 13 日～16 日 (Chicago, U.S.A.)
- 52) M.Iida, M.Yamashita, S.Nagase, M.Tada, Y.Sahirasago, M.Fukasawa, A.Watari, A.Ishii-Watabe, K.Yagi, and M.Kondoh, Anti-human claudin-1 antibodies inhibit a Hepatitis C Virus infection in vivo. 21st International Symposium on Hepatitis C and Related Viruses (HCV2014)2014 年 9 月 7 日～11 日 (Banff, Canada)
- 53) 青柳東代, 相崎英樹, 藤本陽, 松本喜弘, 松田麻未, Su Su Hmwe, 渡邊則幸, 渡士幸一, 鈴木亮介, 市野瀨志津子, 松浦知和, 鈴木哲朗, 和氣健二郎, 脇田隆字。グリチルリチンによる抗 HCV 作用 - phospholipase A2 および Autophagy による C 型肝炎ウイルス(HCV)分泌過程に与える影響 -。第 24 回抗ウイルス療法研究

会総会、富士急、2014年5月

54) 杉山隆一、杉山奈央、村山麻子、藤田めぐみ、山田典栄、脇田隆宇、加藤孝宣。NS5A-ISDR アミノ酸変異がHCV増殖に与える影響の解析。第24回抗ウイルス療法研究会総会、富士急、2014年5月

55) 大橋啓史、渡士幸一、中嶋翔、金ソレイ、鈴木亮介、相崎英樹、紙透伸治、菅原二三男、脇田隆宇。C型肝炎ウイルス粒子の構築を阻害する flutamide の作用機序の解析。第24回抗ウイルス療法研究会総会、富士急、2014年5月

56) 青柳東代、相崎英樹、松本喜弘、鈴木亮介、渡士幸一、市野瀬志津子、松浦知和、鈴木哲朗、和氣健二郎、脇田隆宇。グリチルリチンによる抗C型肝炎ウイルス作用 - phospholipase A2 および Autophagy による HCV 分泌過程の制御 - 。第50回日本肝臓学会総会、東京、2014年5月

57) 村山麻子、藤原圭、脇田隆宇、加藤孝宣。C型肝炎ウイルスの細胞培養系を用いた第二世代 NS5A 阻害剤の抗ウイルス活性の評価。第50回日本肝臓学会総会、東京、2014年5月

58) 脇田隆宇、相崎英樹、渡士幸一。C型肝炎ウイルス生活環全体を標的とした新規作用を有する抗ウイルス剤の探索。第50回日本肝臓学会総会、東京、2014年5月

59) 渡邊則幸、伊達朋子、河野環、溝上雅史、相崎英樹、脇田隆宇。E1 ペプチドによるHCV感染阻害機構の解析。第62回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014年11月

60) 白砂圭崇、関塚剛史、齊藤恭子、鈴木哲朗、脇田隆宇、花田賢太郎、黒田誠、安部良、深澤征義。HCV に対して高感染感受性を有する Huh7.5.1 細胞亜株の樹立と性状解析。第62回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014年11月

61) 今村芽依、黒河健太、室井敦、高橋宏隆、竹田浩之、鈴木哲朗、脇田隆宇、澤崎達也。C型肝炎ウイルス NS4B と相互作用する責任 E3 リガーゼの網羅的探索とその機能解析。第62回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014年11月

62) 杉山隆一、杉山奈央、村山麻子、藤田めぐみ、山田典栄、新田沙由梨、脇田隆宇、加藤孝宣。NS5A-ISDR アミノ酸変異による HCV 増殖および IFN 感受性への影響。第62回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014年11月

63) 横川寛、中村紀子、東濃篤徳、鈴木紗織、明里宏文、加藤孝宣、石井孝司、脇田隆宇。培養細胞由来 HCV 粒子のマーモセットにおける抗 HCV 抗体誘導能の検討。第62回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014年11月

64) 下池貴志、野島清子、脇田隆宇、岡田義昭。血液製剤における C 型肝炎ウイルスの不活化機構の解明。第62回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014年11月

65) 史国利、安東友美、鈴木亮介、松田麻未、伊藤昌彦、中島謙治、脇田隆宇、鈴木哲朗。3'UTR of HCV genome functioned as a cis-acting packaging signal. 第62回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014年11月

66) 大橋啓史、渡士幸一、中嶋翔、金ソレイ、鈴木亮介、相崎英樹、紙透伸治、菅原二三男、脇田隆宇。Aryl hydrocarbon receptor による脂肪滴形成及び C 型肝炎ウイルス粒子構築の制御。第62回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014年11月

67) Lingbao Kong、青柳春代、松田麻未、藤本陽、渡士幸一、鈴木亮介、山越智、堂前直、鈴木健裕、鈴木哲朗、脇田隆宇、相崎英樹。Prolactin regulatory element binding protein is involved in hepatitis C virus replication by interacting with NS4B. 第62回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014年11月

68) 武田緑、池田正徳、佐藤伸哉、團迫浩方、脇田隆宇、加藤宣之。HCV ライフサイクルにおける小胞輸送蛋白質 Rab13 の役割。第62回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014年11月

69) 山口裕美、黒田和道、脇田隆宇、江角眞理子。Golgi membrane protein 1 (GOLM1)はC型肝炎ウイルス感染に関与するか？第62回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014年11月

70) 瀬島寛恵、佐藤伸哉、團迫浩方、池田正徳、加藤宣之。長期にわたる HCV-RNA 複製による BASP1 と CPB2 遺伝子の発現低下の分子機構の解析。第62回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014年11月

71) 伊藤昌彦、福原崇介、鈴木亮介、田川陽一、松浦善治、脇田隆宇、鈴木哲朗。HuH-7 由来オーバル細胞様細胞株 Hdo による HCV 生活環の調節に関わる分化関連宿主因子の同定。第62回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014年11月

72) 棟方翼、徳永優子、真田崇弘、脇田隆宇、野本明男、小原道法。C型肝炎ウイルス感染時に TLR3 は IFN 非依存的に発現して抗ウイルス作用を示す。第62回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014年11月

73) 中嶋翔、渡士幸一、紙透伸治、竹本健二、Jesus Izaguirre-Carbonell、鈴木亮介、相崎英樹、菅原二三男、脇田隆宇。天然有機化合物 Neoechinulin B を利用した liver X receptor による C 型肝炎ウイルス産生制御機構の解析。第62

回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014年11月

74) 高橋宏隆、室井敦、竹田浩之、鈴木哲朗、脇田隆宇、澤崎達也。コムギ無細胞タンパク質アレイを用いた HCV プロテアーゼの網羅的基質探索。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014年11月

75) 池田恭介、室井敦、高濱正吉、根本圭一郎、高橋宏隆、竹田浩之、鈴木哲朗、脇田隆宇、澤崎達也。コムギ無細胞タンパク質合成系を用いた HCV プロテアーゼにより切断される新規基質タンパク質 SGK495 の機能解析と SGK495 を標的とした抗 HCV 薬剤の開発。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014年11月

76) 嵯峨涼平、藤本陽、渡邊則幸、松田麻未、長谷川慎、渡士幸一、相崎英樹、中村紀子、小西英二、加藤孝宣、田島茂、高崎智彦、竹山春子、脇田隆宇、鈴木亮介。日本脳炎ウイルスおよび C 型肝炎ウイルス 2 価ワクチン抗原の発現と中和抗体の誘導。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014年11月

77) 村山麻子、杉山奈央、脇田隆宇、加藤孝宣。C 型肝炎ウイルスが感染複製可能なペロ細胞株の樹立。第 37 回日本分子生物学会年会、横浜、2014年11月

78) 白砂圭崇、谷田以誠、清水芳実、鈴木哲朗、脇田隆宇、花田賢太郎、近藤昌夫、安部良、深澤征義。Occludin のノックアウト肝細胞の樹立と本細胞を用いた HCV 感染の解析。日本薬学会第 135 年会、神戸、2015年3月

79) 國戸偉丸、櫻井文教、高山和雄、脇田隆宇、立花雅史、水口裕之。ヒト iPS 細胞由来分化誘導肝細胞における C 型肝炎ウイルス作用後の宿主応答の解析。日本薬学会第 135 年会、神戸、2015年3月

80) 三浦直行、則武秀尚、小林良正、梶村春彦、TGF α 、c-MYC、変異型 CTNNB1 遺伝子は Hep3B 腫瘍の性状を異なった状態にする、第 21 回肝細胞研究会、2014年6月27日・28日、東京

81) 則武秀尚、Amin Mohammed、呉一心、佐藤英二、上里忠良、梶村春彦、三浦直行、TGF α 、c-MYC、変異 CTNNB1 遺伝子、およびその組み合わせは Hep3B 腫瘍の性状を異なって調節する、第 66 回日本細胞生物学会大会、2014年6月11日～13日、奈良

82) Mohammad Islam, Keisuke Hikosaka, Hidenao Noritake, Mohammed Amin, Mohammad Uddin, Eiji Sato, Takaji Wakita, Naoyuki Miura. The HCV genome transgenic mice produce an infectious virus particle and lead to severe steatosis in liver. 第 37 回日本分子生物学会、2014年11月25日～27日、横浜

83) 飯島沙幸、松浦健太郎、渡邊綱正、飯尾悦子、村上周子、林佐奈衣、五十川正記、田中靖人。C 型肝炎炎に対する 3 剤併用療法における薬剤投与直後の PBMC 内 ISG 発現動態。第 24 回抗ウイルス療法研究会総会。平成 26 年 5 月 7 日～9 日。山梨。

84) 堤進、渡邊綱正、村上周子、飯島沙幸、飯尾悦子、松波加代子、新海登、松浦健太郎、五十川正記、田中靖人。大量調整可能なヒト肝細胞を用いた HBV in vitro 感染培養系を利用した創薬探索の可能性。第 50 回日本肝臓学会総会。平成 26 年 5 月 29 日～30 日。東京。

85) 渡邊綱正、堤進、飯島沙幸、村上周子、尾曲克己、五十川正記、田中靖人。C 型肝炎ウイルスに対するインターフェロン応答を規定する IL28B 遺伝子多型の解析。第 79 回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会。平成 26 年 6 月 19 日～20 日。札幌

86) 松浦健太郎、飯島沙幸、田中靖人。3 剤併用療法における末梢血単核球中のインターフェロン誘導遺伝子群の応答性と IL28B 遺伝子多型・治療反応性との関連。第 18 回日本肝臓学会大会。平成 26 年 10 月 23 日～24 日。神戸。

87) 林佐奈衣、五十川正記、村上周子、飯島沙幸、堤進、尾曲克己、渡邊綱正、田中靖人。B 型肝炎ウイルス Genotype F における肝細胞癌関連因子の検討。第 62 回日本ウイルス学会学術集会。平成 26 年 11 月 10 日～12 日。横浜。

88) 堤進、渡邊綱正、村上周子、飯島沙幸、林佐奈衣、尾曲克己、五十川正記、田中靖人。初代ヒト肝細胞を用いた B 型肝炎ウイルス感染初期の宿主免疫応答とウイルス生活環の解析。第 62 回日本ウイルス学会学術集会。平成 26 年 11 月 10 日～12 日。横浜

89) 佐藤 伸哉、森 京子、上田 優輝、瀬島 寛恵、團迫 浩方、池田 正徳、加藤 宣之 リバビリン耐性全長 HCV-RNA 複製細胞株の樹立と特性解析 第 29 回中国四国ウイルス研究会、山口、2014年6月

90) 奥村 暢章、池田 正徳、佐藤 伸哉、團迫 浩方、溝上 雅史、加藤 宣之 FOXA メンバーによる HBV 複製の抑制 第 29 回中国四国ウイルス研究会、山口、2014年6月

91) 上田 優輝、團迫 浩方、佐藤 伸哉、池田 正徳、加藤 宣之抗マラリア薬候補 N-251 の抗 HCV 活性作用機序の解析と臨床応用に向けた研究 第 29 回中国四国ウイルス研究会、山口、2014年6月

92) 瀬島 寛恵、佐藤 伸哉、團迫 浩方、池田 正徳、加藤 宣之 HCV-RNA の長期複製によって発現低下した BASP1 と CPB2 遺伝子の発