

一方 10 μM の処理では 一つのペプチドで活性が見られ、1 μM 処理ではいずれも効果がほとんど見られなかった。

また初代ヒト肝臓細胞への HBV 感染では、100 μM においてはいずれのペプチドでも阻害が認められ、10 μM 処理では特に 2 つのペプチドで高い効果が観察された。

NTCP による胆汁酸取り込みをトランスポーターアッセイで評価したところ、上記の 2 つのペプチドのうち 1 つは NTCP トランスポーター活性を顕著に阻害し、1 つは大きな阻害効果を認めなかった。

(3) 化合物アレイによる NTCP 結合化合物の同定

29707 の固相化化合物からなる化合物アレイを用いて、リコンビナント His タグ付加 NTCP タンパク質に結合するものとして得られた 74 化合物の preS1 binding assay に対する影響を評価した。その結果 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ において 8 化合物が preS1 ペプチドの HepG2-hNTCP-C4 細胞への吸着を阻害した。

また HepG2-hNTCP-C4 細胞への HBV 感染では、100 μM 処理において 5 化合物で HBV 感染阻害が認められた。

D. 考察

以上のように、本研究では 3 つの *in vitro* 系を用いて HBV 感染を阻害する化合物を得た。これらのうち NTCP を標的とする化合物に関しては、NTCP の本来の機能である胆汁酸取り込み活性を阻害することなく HBV 感染を阻害することが望ましい。今後は誘導体展開等によってそのような化合物の探索、加えてさらに抗 HBV 活性の高い化

合物を取得し、新規抗 HBV 剤の開発を目指したい。

E. 結論

HBV 吸着・侵入を阻害する化合物は HBV 感染予防、肝移植後あるいは垂直感染の際のウイルス感染の広がりを抑止するのに有効であると考えられる。LHBs タンパク質内 preS1 領域からなるリポペプチド Myrcludex-B は HBV 吸着・侵入阻害剤として現在臨床試験中であるが、ペプチドであるため経口投与が難しいこと、また NTCP のトランスポーター活性を強力に阻害することなどの懸念点が挙げられる。今後本研究で有用な低分子化合物を同定することにより、新規抗 HBV 剤開発に貢献したい。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sato S, Li K, Kameyama T, Hayashi T, Ishida Y, Murakami S, Watanabe T, Iijima S, Sakurai Y, Watashi K, Tsutsumi S, Sato Y, Akita H, Wakita T, Rice CM, Harashima H, Kohara M, Tanaka Y, Takaoka A.: The RNA Sensor RIG-I Dually Functions as an Innate Sensor and Direct Antiviral Factor for Hepatitis B Virus. **Immunity** (in press)
- 2) Watashi K*, Wakita T.: HBV/HDV entry, species specificity and tissue tropism. **Hepatitis B and Delta Virus (Cold Spring Harbor Laboratory Press)** (in press) (* corresponding author)
- 3) Ishida Y, Yamasaki C, Yanagi A, Yoshizane Y, Fujikawa K, Watashi K, Abe H, Wakita T, Hayes CN, Chayama K,

- Tateno C.: Novel robust in vitro hepatitis B virus infection model using fresh human hepatocytes isolated from humanized mice. **Am J Pathol** (in press)
- 4) Tsukuda S, Watashi K*, Iwamoto M, Suzuki R, Aizaki H, Okada M, Sugiyama M, Kojima S, Tanaka Y, Mizokami M, Li J, Tong S, Wakita T.: Dysregulation of Retinoic Acid Receptor Diminishes Hepatocyte Permissiveness to Hepatitis B Virus Infection through Modulation of NTCP Expression. **J Biol Chem** (in press) (* corresponding author)
- 5) Ogura N, Watashi K, Noguchi T, Wakita T.: Formation of covalently closed circular DNA in Hep38.7-Tet cells, a tetracycline inducible hepatitis B virus expression cell line. **Biochem Biophys Res Commun** 452: 315-321 (2014)
- 6) 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 (Pt 12): 2658-2667 (2014)
- 7) 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** 147: 463-472 (2014) (* corresponding author)
- 8) 渡士幸一. 肝炎の基礎 HBV 感染生活環境と培養系. **肝疾患 review 2014-2015**, 20-26 (2014)
- 9) 渡士幸一. B 型肝炎ウイルス感染を抑制するサイトカインの同定とその分子メカニズムの解析. **Liver Forum in Kyoto** 第 16 回学術集会記録集、13-17 (2014)
- 10) 渡士幸一. 第 6 章 抗ウイルス薬. **生命科学のためのウイルス学**, 143-176 (2015)
2. 学会発表
- 1) K. Watashi. Anti-HBV Approach by Interfering the Interaction between HBV large surface protein and NTCP. **2nd Japan-Taiwan Research Symposium on Hepatitis B virus**, Taipei (Taiwan), April, 2014
- 2) Watashi K, Iwamoto M, Sluder A, Matsunaga S, Ryo A, Morishita R, Kwon ATJ, Suzuki H, Tsukuda S, Suzuki R, Aizaki H, Borroto-Esoda K, Sugiyama M, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T. Characterization of a culture system reproducing the NTCP-mediated HBV entry and its application to drug development. **2014 International Meeting on the Molecular Biology of Hepatitis B Viruses**, Los Angeles (USA), Sep, 2014
- 3) Iwamoto M, Watashi K, Sugiyama M, Suzuki R, Aizaki H, Tanaka Y, Mizokami M, Ohtani N, Koiwai O, Wakita T. Microtubule-dependent hepatitis B virus (HBV) replication revealed by chemical screening on an efficient HBV-replicating cell line. **2014 International Meeting on the Molecular Biology of Hepatitis B Viruses**, Los Angeles (USA), Sep, 2014
- 4) Tsukuda S, Watashi K, Iwamoto M, Suzuki R, Aizaki H, Kojima S, Sugiyama M, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T. Retinoid inhibitors abolish the host permissiveness to HBV infection by modulating NTCP expression. **2014**

- International Meeting on the Molecular Biology of Hepatitis B Viruses**, Los Angeles (USA), Sep, 2014
- 5) Matsunaga S, Miyakawa K, Watashi K, Wakita T, Ryo A. Wheat germ cell-free system-based production of hepatitis B virus X (HBx) protein for generation and characterization of monoclonal antibody. **2014 International Meeting on the Molecular Biology of Hepatitis B Viruses**, Los Angeles (USA), Sep, 2014
 - 6) Fukasawa M, Shimizu Y, Shirasago Y, Iwamoto M, Watashi K, Tanaka Y, Wakita T, Kondoh M, Yagi K, Hanada K. Efficient HBV infection system in cell cultured cells. **2014 International Meeting on the Molecular Biology of Hepatitis B Viruses**, Los Angeles (USA), Sep, 2014
 - 7) Akahori Y, Kato H, Fujita T, Watashi K, Wakita T, Hijikata M. Development of hepatitis B virus cell culture system using immortalized human hepatocytes producing exogenous Na⁺/taurocholate cotransporting polypeptide. **2014 International Meeting on the Molecular Biology of Hepatitis B Viruses**, Los Angeles (USA), Sep, 2014
 - 8) Nakajima S, Watashi K, Kamisuki S, Takemoto K, Izaguirre-Carbonell J, 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. **21th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses**, Banff (Canada), Sep, 2014
 - 9) 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. **21th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses**, Banff (Canada), Sep, 2014
 - 10) Saga R, Fujimoto A, Watanabe N, Matsuda M, Hasegawa M, Watashi K, Aizaki H, Nakamura N, Konishi E, Kato T, Takeyama H, Wakita T, Suzuki R. Japanese Encephalitis Virus-subviral particles harboring HCV neutralization epitopes induce neutralizing antibodies against HCV. **21th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses**, Banff (Canada), Sep, 2014
 - 11) 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. **21th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses**, Banff (Canada), Sep, 2014
 - 12) 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. **21th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses**, Banff (Canada), Sep, 2014
 - 13) Goto K, Fujimoto A, Watashi K, Suzuki R, Yamagoe S, Moriya K, Yotsuyanagi H, Koike K, Suzuki T, Miyamura T, Wakita T, Aizaki H. NS5A-associated membrane protein, embryonic lethal, abnormal vision, drosophila-like 1, regulates hepatitis C virus RNA synthesis and translation. **21th International Symposium on Hepatitis C**

- Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014**
- 14) Nakajima S, Watashi K. Identification of neoechinulin B that represses liver X receptor-mediated transcription and inhibits hepatitis C virus replication. **The 3rd International Symposium on Chemical Biology of Natural Products: Target ID and Regulation of Bioactivity, Osaka (Japan), Oct, 2014**
- 15) 渡士幸一、Ann Sluder、松永智子、梁明秀、森下了、岩本将士、九十田千子、鈴木亮介、相崎英樹、Katyna Borroto-Esoda、田中靖人、楠原洋之、杉山真也、溝上雅史、脇田隆字。B型肝炎ウイルス(HBV)Lタンパク質とNTCPの相互作用阻害による抗HBV戦略。**第24回抗ウイルス療法研究会総会、富士急、2014年5月**
- 16) 九十田千子、渡士幸一、岩本将士、鈴木亮介、相崎英樹、小嶋聡一、脇田隆字。HBV感染受容体NTCPの発現調節機構の解析およびこれを阻害する低分子化合物の抗HBV効果。**第24回抗ウイルス療法研究会総会、富士急、2014年5月**
- 17) 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、脇田隆字。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**
- 18) 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、市野瀬志津子、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**
- 19) 外山政明、濱崎隆之、岡本実佳、渡士幸一、脇田隆字、馬場昌範。HBVカプシドタンパク質を標的とした新規抗HBV薬の探索。**第24回抗ウイルス療法研究会総会、富士急、2014年5月**
- 20) 中嶋翔、渡士幸一。ウイルス感染培養系を基盤とした天然化合物の生理活性同定。天然物ケミカルバイオロジー分子標的と活性制御 **第6回公開シンポジウム、名古屋、2014年5月**
- 21) 渡士幸一、相崎英樹、脇田隆字。培養系を用いた抗B型肝炎ウイルス化合物の同定と作用機序解析。**第50回日本肝臓学会総会、東京、2014年5月**
- 22) 脇田隆字、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**
- 23) 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、脇田隆字。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**
- 24) 岩本将士、渡士幸一、九十田千子、Hussein Aly、藤本陽、鈴木亮介、相崎英樹、脇田隆字、深澤征義、小祝修、楠原洋之。ヒトNTCP安定発現によるB型肝炎ウイルス(HBV)感染許容性の獲得とそれを用いたHBV侵入機構の解析。**第22回肝病態生理研究会、東京、2014年5月**
- 25) 渡士幸一。肝炎ウイルス生活環を標的

- とした抗ウイルス剤探索と分子基盤解明。平成 26 年度 遺伝子病制御研究所研究集会 感染・免疫・炎症・発癌、札幌、2014 年 7 月
- 26) 渡士幸一。低分子化合物を通して理解する肝炎ウイルス生活環。ウイルス学キャンプ in 湯河原、湯河原、2014 年 9 月
- 27) 渡士幸一。宿主細胞における肝炎ウイルス感染増殖機構とこれを標的とした創薬。第 87 回日本生化学会大会、京都、2014 年 10 月
- 28) 渡士幸一、Ann Sluder、松永智子、梁明秀、森下了、岩本将士、九十田千子、鈴木亮介、相崎英樹、Katyna Borroto-Esoda、田中靖人、楠原洋之、杉山真也、溝上雅史、脇田隆字。B 型肝炎ウイルス (HBV) large S タンパク質と NTCP の相互作用阻害による抗 HBV 戦略。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月
- 29) 渡士幸一。ラパトアセッション - +鎖 RNA ウイルス -。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月
- 30) 九十田千子、渡士幸一、岩本将士、鈴木亮介、相崎英樹、小嶋聡一、杉山真也、田中靖人、溝上雅史、脇田隆字。レチノイド阻害剤は NTCP 発現修飾を介して宿主細胞の B 型肝炎ウイルス感染感受性を消失させる。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月
- 31) 岩本将士、渡士幸一、杉山真也、鈴木亮介、相崎英樹、田中靖人、溝上雅史、大谷直子、小祝修、脇田隆字。効率的な B 型肝炎ウイルス (HBV) 複製評価系を用いた微小管依存的な HBV 複製機構の解析。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月
- 32) 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、脇田隆字。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
- 33) 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、脇田隆字。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
- 34) Hussein Aly、渡士幸一、茶山一彰、脇田隆字。The identification of a new interferon-independent host mechanism suppressing hepatitis B virus replication. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月
- 35) 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、脇田隆字、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
- 36) 松田麻未、鈴木亮介、嵯峨涼平、藤本陽、渡士幸一、相崎英樹、森石恆司、岡本徹、松浦善治、黒田俊一、脇田隆字。遺伝子組換え酵母由来 B 型肝炎ウイルス様粒子の細胞表面への結合に関する宿主因子の解析。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月
- 37) 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、脇田隆字、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
- 38) 宮川敬、松永智子、渡士幸一、杉山真也、溝上雅史、脇田隆字、梁明秀。宿主防御因子 Tetherin-BST2 による B 型肝炎ウイルス感染抑制とその回避機構の解明。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月
- 39) 土橋香織、葛西宏威、田中智久、陳文家、渡士幸一、脇田隆字、山下篤哉、梁明秀、岡本徹、松浦善治、森石恆司。トリプシン・EDTA による NTCP 依存 HBV 感染の増強。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月
- 40) 山本達郎、櫻井文教、高山和雄、立花雅史、渡士幸一、脇田隆字、飯島沙幸、田中靖人、水口裕之。ヒト iPS 細胞由来分化誘導肝細胞を用いた B 型肝炎ウイルス感染評価系の開発。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月
- 41) 赤堀祐一、加藤博己、藤田尚志、渡士幸一、脇田隆字、土方誠。ヒト NTCP 恒常発現不死化ヒト肝細胞を用いた B 型肝炎ウイルス培養細胞感染系の構築。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月
- 42) 深澤征義、清水芳実、白砂圭崇、岩本将士、渡士幸一、田中靖人、脇田隆字、近藤昌夫、八木清仁、花田賢太郎。効率的な HBV 感染培養細胞系の構築に関する研究。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月
- 43) 安本順、葛西宏威、土橋香織、山下篤哉、渡士幸一、脇田隆字、田中智久、森石恆司。HBV 感染による細胞内脂肪滴形成への影響。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月
- 44) 山下篤哉、藤本雄介、田中智久、葛西宏威、児玉栄一、渡士幸一、脇田隆字、前川伸哉、榎本信幸、田中淳一、森石恆司。海洋生物抽出物ライブラリーソースからの B 型肝炎ウイルス転写活性抑制化合物の探索。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月
- 45) 外山政明、濱崎隆之、岡本実佳、渡士幸一、脇田隆字、馬場昌範。新規 7-deazaneplanocin A 及び 7-deaza-8-azaneplanocin A 誘導体の抗 HBV 効果。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月
- G. 知的所得権の所得状況
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
特になし

B型肝炎ウイルスの感染複製機構の解明に関する研究

分担研究者：Akbar Sheikhmohammadfazole 東芝病院 主任研究員
研究協力者：

分担研究課題：**Mechanism underlying containment of HBV replication in chronic HBV-infection**

研究要旨：

To elucidate a novel therapeutic regimen for treatment of patients with chronic hepatitis B (CHB), a phase III clinical trial was accomplished with a therapeutic vaccine containing HBsAg/HBcAg versus pegylated interferon (Peg IFN) in 151 patients with CHB. At the end of treatment (EOT), the HBV DNA negativity was comparable between both HBsAg/HBcAg-vaccinated patients and Peg IFN-treated patients. However, when HBV DNA levels were compared during follow up period, the levels of HBV DNA at 24 and 48 weeks after EOT were significantly lower in HBsAg/HBcAg-treated CHB patients compared to Peg-IFN treated CHB patients ($p<0.05$). To elucidate the mechanism underlying the dichotomy of antiviral effect, the kinetics of HBsAg and HBcAg-specific immunity were checked in selected patients of both groups in a preliminary study. In HBsAg/HBcAg-vaccinated CHB patients, HBsAg and HBcAg-specific immunity was significantly increased compared at EOT, 24 and 48 weeks after EOT compared to their levels before therapy commencement ($p<0.05$). On the contrary, patients receiving Peg-IFN showed upregulation of HBV non-specific immunity, but no significant alteration of HBsAg and HBcAg-based immune responses were detected at 24 and 48 weeks after EOT. Although preliminary, the study indicates a relation between restoration of HBsAg and HBcAg-specific immunity and sustainability of antiviral and liver protection capacity of HBsAg/HBcAg-based therapeutic vaccine. The clinical relevance of this immunological event with long-term therapeutic effect of HBsAg/HBcAg-based therapeutic vaccine for CHB would be analyzed in more details to optimize a novel immune therapy for CHB. i

A. 研究目的

The final target of this study is to develop new, novel and evidence-based therapeutic regimens for sustained control of HBV replication and containment of liver damages in subjects with chronic HBV infection. The intermediate aim of ongoing studies is to clarify the fundamental nature of HBV control mechanisms of antiviral drugs and other commercially-available antiviral agents. This will provide insights to develop proper regimen of therapeutic endeavor for CHB patients.

B. 研究方法

The study was conducted in patients with CHB expressing HBsAg in sera for more than 6

months, elevated alanine aminotransferase (ALT), and evidences of increased hepatic fibrosis compatible with chronic liver damages (confirmed by fibroscan).

1. Patients with CHB were injected with therapeutic vaccines containing HBsAg/HBcAg (100 micrograms of each antigen) 5 times by nasal route at an interval of 2 weeks. Another group of CHB patients received pegylated interferon (Peg-IFN), once a week for 48 consecutive weeks.
2. Kinetics of HBV DNA and ALT were evaluated in the sera.
3. Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were isolated from CHB patients

of both groups before commencement of therapy and also at different points after start of treatment. Dendritic cells (DC) were isolated from PBMC. DC were also cultured with HBsAg and HBcAg for different duration to produce antigen-pulsed DC. Production of cytokines by PBMC, antigen-pulsed PBMC, DC and antigen-pulsed DC were assessed at different points.

(倫理面への配慮)

Informed written consent was obtained from all patients with CHB after explaining the nature and purpose of the study in details. Permission was also obtained from ethical committee of the hospital before human study. In case of collaborative studies, all sorts of permissions were obtained by the Principal Investigators of the concerned institutions (Bangabandhu Sheikh Mujib Medical University, Dhaka, Bangladesh).

C. 研究結果

1. HBsAg and HBcAg-specific immunity of PBMC and DC of CHB patients receiving HBsAg/HBcAg-based therapeutic vaccine and Peg IFN was almost comparable (as evidenced comparing production of pro-inflammatory cytokines due to culture with HBsAg and HBcAg versus culture with HBV-unrelated antigens) before commencement of therapy.
2. Upregulation of cytokine production was documented in HBsAg/HBcAg-vaccinated CHB patients after 2 vaccinations before the decline of HBV DNA.
3. Upregulation of HBsAg and HBcAg-specific immunity was detected in CHB patients receiving Peg IFN after 16 injections and following decrease of HBV DNA.
4. HBsAg and HBcAg-specific immunity retained in HBsAg/HBcAg-vaccinated subjects at EOT, 24 and 48 weeks after EOT.
5. HBsAg/HBcAg-specific immunity declined in Peg-IFN treated CHB patients 24 and 48 weeks after EOT.

D. 考察

The present study unfolded that HBV-specific

immunity was related to sustained HBV control and containment of liver damages. On the other hand, transient immune response was seen in Peg IFN treated patients after decline of HBV DNA. In most cases receiving Peg-IFN, non HBV-specific immunity showed a significant increase, but that was not reflected in HBsAg or HBcAg-specific immunity.

E. 結論

This study about kinetic analysis of HBsAg and HBcAg-specific immunity in CHB patients provide initial idea about the mechanism of viral control by therapeutic vaccine versus Peg-IFN. Manipulation of vaccines, duration of therapy, nature of vaccines and combination of therapeutic vaccine and their comparative immune modulatory capacities would assist to develop a more efficient regimen of immune therapy for CHB patients. Further studies have been planned to get more insights about these immunological events during therapy with therapeutic vaccine and Peg-IFN to develop an optimum regimen of therapy for CHB.

F. 研究発表

1. 論文発表

Akbar SM, Al-Mahtab M, Hiasa Y. Designing Immune therapy for chronic hepatitis B. *J Clin Exp Hepat* 2014;4(3): 241-246

Al-Mahtab, Akbar SM, Uddin H, Khan SI, Rahman S. Early termination of immune tolerance state of hepatitis B virus infection explains liver damage. *World J Hepatol* 2014; 6(8):621-625

Stefanska B, Cheishvili D, Suderman M, Arakelian A, Huang J, Hallett M, Han Z-G, Al-Mahtab M, Akbar SM, Khan WA, Raqib R, Tanvir I, Khan HA, Rabbani SA, Szyf M. Genome-wide study of hypomethylated and induced genes in liver cancer patients unravels novel anticancer targets. *Clin Cancer Res* 2014;20(12):3018-3032

Al-Mahtab M, Akbar SM, Uddin H. Epidemiology and risk factors of hepatocellular carcinoma in Asia. *Journal of GHR* 2014; 3(4): 1019-1023

Rahman S, Ahmed MF, Alam MJ, Debnath CR, Hoque MI, Hussain MM, Kabir AKMS, Karim MF, Khondokar FA, Mahtab MA, Masud MG, Mollick MKU, Moben AL, Alam SMNA, Podder PK, Raha AK, Rahim MA, Rashid MHO, Zaki KMJ, Akbar SM. Distribution of liver disease in Bangladesh - a cross country study. *Euroasian Journal of Hepato-Gastroenterology* 2014. 4(1); 25-30.

2. 学会発表

23rd Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver, Brisbane, Australia, March 12-15, 2014

Akbar SM, Chen S, Mahtab MA, Hiasa Y. Comparative immune modulatory capacities of HBsAg, HBcAg, and HBsAg/HBcAg and their utility for development of therapeutic vaccines.

Mahtab MA, Akbar SM, Uddin H, Rahman S. 'Real life' Experience From Bangladesh On Safety And Efficacy of Telbivudine In Treatment Naïve and Tenofovir-Experienced Patients With Hepatitis B Related Chronic Liver Diseases With Compromised Renal Function.

Mahtab MA, Akbar SM, Rahman S. A Dietary Supplement Increasing Survival and Improving Quality of Life in Patients with End-Stage HCC.

Mahtab MA, Akbar SM, Aguilar JC, Serra V, Rahman S, Berthillon P, Trepo C, Nitcheu J, Vandepapeliere, Neito GEG. Phase III study of a therapeutic vaccine candidate (NASVAC) containing the hepatitis B virus core antigen (HBcAg) and the HBV surface antigen (HBsAg) for treatment of patients with chronic hepatitis B.

21st Annual Meeting of Indian National Association for the Study of Liver, Jaipur, India, 28-30 March, 2014

Akbar SM. HBV pathogenesis and evolving therapy

49th Annual Meeting of the European

Association for the Study of the Liver, London, April 9-13th 2014

Akbar SM, Chen S, Mahtab MA, Hiasa Y. Myeloid-derived suppressor cells and dendritic cells for impaired response to vaccine in mice with nonalcoholic fatty liver disease.

Mahtab MA, Akbar SM, Rahman S. Salient Features of acute on chronic liver failure in Bangladesh: Minly acute insult by HEV and comparatively low mortality.

24th Annual Meeting of the Japanese Association of Antiviral Therapy, Yamanishi, Japan, May 7-9, 2014

Akbar SM, Al-Mahtab M, Hiasa Y. A phase III clinical trial with HBsAg/HBcAg-based therapeutic vaccine in patients with chronic hepatitis B

第50回日本肝臓学会総会, Tokyo, Japan, May 29-30, 2014.

Akbar SM, Al-Mathab M, Hiasa Y. B型肝炎に対するHBs抗原およびHBc抗原ワクチン治療の第III相臨床試験ーペグインターフェロン治療との比較および免疫治療効果ー

21st Annual Convention & Scientific Seminar of Bangladesh Gastroenterology Society, Dhaka, Bangladesh 2014

Mahtab MA, Akbar SM, Rahman S. Therapeutic potential of a vaccine containing both HBsAg and HBcAg in patients with chronic hepatitis B - interim data from a recently concluded phase III trial in Bangladesh.

14th International Congress & Scientific Seminar of Bangladesh Society of Medicine, Dhaka, Bangladesh 2014

Mahtab MA, Akbar SM, Rahman S. Dietary supplement in management of end-stage hepatocellular carcinoma.

EASL HCC Summit 2014

Mahtab MA, Akbar SM, Rahman S. Role of dietary supplement and sorafineb in the management of end-stage HCC patients

25th Annual Conference & Scientific Seminar of Association of Physicians of

Bangladesh, Dhaka, Bangladesh 2014.

Mahtab MA, Akbar SM, Rahman S. Interim results of a recently concluded Phase-III clinical trial with a therapeutic vaccine for chronic hepatitis B in Bangladesh.

The 2nd Annual Meeting of South Asian Association for the Study of Liver, New Delhi, India, September 6-7, 2014

Akbar SM. Diagnosis and staging of HCC: Algorithm for SAASL region

The 2nd Japan-Italy Liver Workshop ‘Hepatitis, Steatosis and Hepatocellular Carcinoma: molecular basis and clinical links, Miyajima, Japan, November 18-19, 2014

Akbar SM, Al-Mahtab M, Aguilar J, Hiasa Y. Immune modulatory antiviral drug versus HBV antigen-specific immune therapy in chronic hepatitis B: Lessons from laboratory benches and phase III clinical trials in patient’s bedsides

The 11th JSH Single Topic Conference, Hiroshima, Japan, 20-21st November

Akbar SM, Abe M, Al-Mahtab M, Hiasa Y, Chen S

Myeloid-derived suppressor cells, a new entity, capable of regulating antigen-specific and T-cell based immunity in chronic HBV infection

Akbar SM, Hiasa Y, Al-Mahtab M, Aguilar JC, Mishiro S.

One year post treatment, drug-free follow up of a phase III clinical trial with a therapeutic vaccine containing both HBsAg and HBcAg in patients with chronic hepatitis B.

G. 知的所得権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他

Ⅲ. 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
朝比奈靖浩	HBs 抗原消失をめざした肝炎治療	小俣政男	肝疾患 Review 2014-2015	日本メディカルセンター	東京	2014	pp133-137
有海康雄	ウイルスの分類と進化	下遠野邦忠 瀬谷司	生命科学のためのウイルス学 感染と宿主応答のしくみ、医療への応用	南江堂	東京	2015	23-43
武部貴則、 関根圭輔、 谷口英樹	ヒト臓器の人為的構成に基づく肝細胞の分化誘導	中辻憲夫／ 監 末盛博文／ 編	ES・iPS 細胞実験スタンダード (再生・創薬・疾患研究のプロトコールと臨床応用の必須知識)	羊土社	東京	2014	235-245
渡士幸一	肝炎の基礎 HBV 感染生活環と培養系	小俣 政男 (監修), 椎名 秀一朗, 坂本 直哉, 丸澤 宏之 (編集)	肝疾患 Review 2014-2015	日本メディカルセンター		2014	20-26
渡士幸一	B 型肝炎ウイルス感染を抑制するサイトカインの同定とその分子メカニズムの解析		Liver Forum in Kyoto 第16回 学術集会記録集	メディカルトリビューン		2014	13-17
渡士幸一	第 6 章 抗ウイルス薬	下遠野邦忠、 瀬谷司 (監訳)	生命科学のためのウイルス学	南江堂		2015	143-176
Sheikh Mohammad Fazle Akbar, Mamun Al-Mahtab	Emerging and re-emerging factors about hepatitis virus control in developing countries	Textbook of Hepato-Gastroenterology	JAYPEE		New Delhi, London, Philadelphia, Panama	1914	199-203

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
Sato S, Li K, Kameyama T, Hayashi T, Ishida Y, Murakami S, Watanabe T, Iijima S, Sakurai Y, <u>Watashi K</u> , Tsutsumi S, Sato Y, Akita H, <u>Wakita T</u> , Rice CM, Harashima H, Kohara M, Tanaka Y, Takaoka A.	The RNA Sensor RIG-I Dually Functions as an Innate Sensor and Direct Antiviral Factor for Hepatitis B Virus.	Immunity.	42(1)	123-32.	2015

Tsukuda S, <u>Watashi K</u> , Iwamoto M, Suzuki R, Aizaki H, Okada M, Sugiyama M, Kojima S, Tanaka Y, Mizokami M, Li J, Tong S, <u>Wakita T</u> .	Dysregulation of Retinoic Acid Receptor Diminishes Hepatocyte Permissiveness to Hepatitis B Virus Infection through Modulation of NTCP Expression.	J Biol Chem.		[Epub ahead of print]	2014
Ogura N, <u>Watashi K</u> , Noguchi T, <u>Wakita T</u> .	Formation of covalently closed circular DNA in Hep38.7-Tet cells, a tetracycline inducible hepatitis B virus expression cell line.	Biochem Biophys Res Commun.	452(3)	315-21.	2014
<u>Watashi K</u> , Sluder A, Daito T, Matsunaga S, <u>Ryo A</u> , Nagamori S, Iwamoto M, Nakajima S, Tsukuda S, Borroto-Esoda K, Sugiyama M, Tanaka Y, Kanai Y, Kusuhara H, Mizokami M, <u>Wakita T</u> .	Cyclosporin A and its analogs inhibit hepatitis B virus entry into cultured hepatocytes through targeting a membrane transporter NTCP.	Hepatology.	59(5)	1726-37.	2014
<u>Yasuo Ariumi</u>	Multiple functions of DDX3 RNA helicase in gene regulation, tumorigenesis, and viral infection.	Frontiers Genet	5	423	2014
<u>Isogawa M</u> , Tanaka Y.	The Immunobiology of Hepatitis B Virus Infection.	Hepato Res.	Jan;45(2):	179-89	2015
Hamada-Tsutsumi S, Iio E, Watanabe T, Murakami S, <u>Isogawa M</u> , 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	Feb 18;10(2)	e0118062	2015
Yamada N, Shigefuku R, Sugiyama R, Kobayashi M, Ikeda H, Takahashi H, Okuse C, Suzuki M, Itoh F, Yotsuyanagi H, Yasuda K, Moriya K, Koike K, <u>Wakita T</u> , <u>Kato T</u> .	Acute Hepatitis B of Genotype H Resulting in Persistent Infection.	World J Gastroenterol	20(11)	3044-9	2014
Ohno M, Otsuka M, Kishikawa T, Shibata C, Yoshikawa T, Takata A, Muroyama R, Kowatari N, Sato M, <u>Kato N</u> , Kuroda S, Koike K.	Specific delivery of microRNA93 into HBV-replicating hepatocytes downregulates protein expression of liver cancer susceptible gene MICA.	Oncotarget	5(14)	5581-5590	2014

Inuzuka T, Ueda Y, Morimura H, Fujii Y, Umeda M, Kou T, Osaki Y, Uemoto S, <u>Chiba T</u> , Marusawa H	Reactivation from occult HBV carrier status is characterized by low genetic heterogeneity with the wild-type or G1896A variant prevalence.	J Hepatology	61	492-501	2014
Inuzuka T, Takahashi K, <u>Chiba T</u> , Marusawa H	Mouse models of hepatitis B virus infection comprising host-virus immunologic interactions.	Pathogens	3	377-389	2014
Utsumi T, Wahyuni RM, Lusida MI, Yano Y, Priambada NP, Amin M, Purwono PB, Istimagfiroh A, Soetjipto, Brulé A, <u>Hotta H</u> , Hayashi Y.	Full genome characterization and phylogenetic analysis of hepatitis B virus in gibbons and a caretaker in Central Kalimantan, Indonesia.	Arch Virol	160(3)	685-92.	2015
Utsumi T, Yano Y, <u>Hotta H</u> .	Molecular epidemiology of hepatitis B virus in Asia.	World J Med Genet	4(2)	19-26.	2014
Utsumi T, Lusida MI, Yano Y, Purwono PB, Amin M, Soetjipto, <u>Hotta H</u> , Hayashi Y.	Progress in the control of hepatitis B virus infection among children in Indonesia.	J Vaccines Vaccin	5(5)	1000247.	2014
<u>Watashi K</u> , <u>Wakita T</u>	HBV/HDV entry, species specificity and tissue tropism	Hepatitis B and Delta Virus (Cold Spring Harbor Laboratory Press)			in press
Ishida Y, Yamasaki C, Yanagi A, Yoshizane Y, Fujikawa K, <u>Watashi K</u> , Abe H, <u>Wakita T</u> , Hayes CN, Chayama K, Tateno C	Novel robust in vitro hepatitis B virus infection model using fresh human hepatocytes isolated from humanized mice	Am J Pathol			in press
<u>Akbar SM</u> , Al-Mahtab M, Hiasa Y.	Designing Immune therapy for chronic hepatitis B.	J Clin Exp Hepat	4(3)	241-246	2014
Al-Mahtab, Akbar SM, Uddin H, Khan SI, Rahman S	Early termination of immune tolerance state of hepatitis B virus infection explains liver damage	World J Hepatol	6(8)	621-625	2014
Al-Mahtab M, <u>Akbar SM</u> , Uddin H.	Epidemiology and risk factors of hepatocellular carcinoma in Asia.	Journal of GHR	3(4)	1019-1023	2014

