

●研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

昭和 57 年 7 月 (財) 癌研究会癌研究所生化学部嘱託研究員 (谷口維紹 部長)
昭和 59 年 4 月 大阪大学細胞工学センター 助手 (谷口維紹 教授)
平成 2 年 7 月 米国ホワイトヘッド研究所 ポストドクトラルフェロー (Prof. David Baltimore)
平成 3 年 7 月 ロックフェラー大学 ポストドクトラルフェロー (Prof. David Baltimore)
平成 5 年 4 月 東京都臨床医学総合研究所 腫瘍細胞研究部門 室長
平成 17 年 9 月 京都大学ウイルス研究所 教授

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

河野晴也 博士 (国立予防衛生研究所・故人)
谷口維紹 教授 (現・東京大学)
David Baltimore 教授 (現・カリフォルニア工科大学)
米山光俊 教授 (現・千葉大学)

・主な研究課題

インターフェロンプライミングの研究：インターフェロン β 遺伝子のプロモーター解析：インターフェロン遺伝子を制御する IRF 転写因子の発見：ウイルス感染が IRF-3 を活性化し、インターフェロン遺伝子活性化することを発見：ウイルス RNA センサーの発見とその機能解析。

・これまでの研究実績

Narita R, Takahasi K, Murakami E, Hirano E, Yamamoto SP, Yoneyama M, Kato H, Fujita T: A novel function of human Pumi1 proteins in cytoplasmic sensing of viral infection. PLoS Pathog. 2014 Oct 23;10(10):e1004417. doi: 10.1371/journal.ppat.1004417.

Oda, H., Nakagawa, K., Abe, J., Awaya, T., Funabiki, M., Hijikata, A., Nishikomori, R., Funatsuka, M., Ohshima, Y., Sugawara, Y., Yasumi, T., Kato, H., Shirai, T., Ohara, O., Fujita, T., Heike, T.: Aicardi-Goutières syndrome is caused by IFIH1 mutations. Am J Hum Genet. 2014 Jul 3;95(1):121-5. doi: 10.1016/j.ajhg.2014.06.007.

Yoo, J-S., Takahasi, K., Ng, CS., Ouda, R., Onomoto, K., Yoneyama, M., Lai, J-C., Lattmann, S., Nagamine, Y., Matsui, T., Iwabuchi, K., Kato, H. Fujita, T. (2014) DHX36 Enhances RIG-I Signaling by Facilitating PKR-Mediated Antiviral Stress Granule Formation. PLoS Pathog 10(3): e1004012. doi:10.1371/journal.ppat.1004012

Funabiki M, Kato H, Miyachi M, Toki H, Motegi H, Inoue M, Minowa O, Yoshida A, Deguchi K, Sato H, Ito S, Shiroishi T, Takeyasu K, Noda T and Fujita T: Autoimmune Disorders Associated with Gain of Function of the Intracellular Sensor MDA5. Immunity 40, 199-212 (2014) <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2013.12.014>

Fung G, Ng C-S, Zhang J, Shi J, Wong J, Piesik P, Han L, Chu F, Jagdeo J, Jan E, Fujita T, Luo H: Production of a Dominant-Negative Fragment Due to G3BP1 Cleavage Contributes to the Disruption of Mitochondria-Associated Protective Stress Granules during CVB3 Infection. *PLoS ONE* 8(11): e79546. doi:10.1371/journal.pone.0079546 (2013)

Ng C-S, Jogi M, Yoo J-S, Onomoto K, Koike S, Iwasaki T, Yoneyama M, Kato H, Fujita T: Encephalomyocarditis Virus Disrupts Stress Granules, the Critical Platform for Triggering Antiviral Innate Immune Responses. *Journal of Virology* 87, 9511-9522 (2013)

Hayashi Y, Onomoto K, Narita R, Yoneyama M, Kato H, Nakagawa T, Ito J, Taura A, Fujita T: Virus-induced expression of retinoic acid inducible gene-I and melanoma differentiation-associated gene 5 in the cochlear sensory epithelium. *Microbes and Infection*. 15, 592-598 (2013)

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

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

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

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

Onomoto K., Morimoto S., Kawaguchi T., Toyoda H., Tanaka M., Kuroda M., Uno K., Kumada K., Matsuda F., Shimotohno K., Fujita T. and Murakami Y.: Dysregulation of IFN System Can Lead to Poor Response to Pegylated Interferon and Ribavirin Therapy in Chronic Hepatitis C. *PLoS One* 2011 Volume 6 | Issue 5 | e19799

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

- Satoh T, Kato H, Kumagai Y, Yoneyama M, Sato S, Matsushita K, Tsujimura T, Fujita T, Akira S, Takeuchi O. :LGP2 is a positive regulator of RIG-I- and MDA5-mediated antiviral responses. Proc Natl Acad Sci U S A. 107, 1512-7 (2010)
- Sato, S., Hoshino, K., Satoh, T., Fujita, T., Kawakami, Y., Fujita, T. and Kuwana, M.: RNA helicase encoded by melanoma differentiation-associated gene 5 is a major autoantigen in patients with clinically amyopathic dermatomyositis: association with rapidly progressive interstitial lung disease. Arthritis & Rheumatism. 60, 2193-2200 (2009)
- Takahasi, K., Kumeta, H., Tsuduki, N., Narita, R., Shigemoto, T., Hirai, R., Yoneyama, M., Horiuchi, M., Ogura, K., Fujita, T., Inagaki, F.: Solution Structures of MDA5 and LGP2 C-terminal Domains: Identification of the RNA Recognition Loop in RIG-I Like Receptors. J. Biol. Chem. 284, 17465-17474 (2009)
- Shigemoto, T., Kageyama, M., Hirai, R., Zheng, J-P., Yoneyama, M., Fujita, T.: Identification of loss of function mutations in human genes encoding RIG-I and mda5: Implications for resistance to type I diabetes. J. Biol. Chem. 284, 13348-13354 (2009)
- Kato, H., Takeuchi, O., Mikamo-Satoh, E., Hirai, R., Kawai, T., Matsushita, K., Hiiragi, A., Dermody, TS., Fujita, T., Akira, S.: Length-dependent recognition of double-stranded ribonucleic acids by retinoic acid-inducible gene-1 and melanoma differentiation-associated gene 5. J Exp Med. 7, 1523-1527 (2008)
- Takahasi K, Yoneyama M, Nishihori T, Hirai R, Kumeta H, Narita R, Gale Jr. M., Inagaki F. and Fujita T.: Non-self RNA-Sensing Mechanism of RIG-I Helicase and Activation of Antiviral Immune Responses. Molecular Cell. 29, 428-440 (2008)
- Arimoto K., Takahashi H., Hishiki T., Konishi H., Fujita T., Shimotohno K.: Negative regulation of the RIG-I signaling by the ubiquitin ligase RNF125. Proc Natl Acad Sci U S A. 104, 7500-5 (2007)
- Onoguchi, K., Yoneyama, M., Takemura, A., Akira, S., Taniguchi, T., Namiki, H., and Fujita, T.: Viral Infections Activate Types I and III Interferon Genes through a Common Mechanism. J. Biol. Chem, 282, 7576-7581 (2007)
- Saito, T., Hirai, R., Loo., Yueh-Ming., D, Owen., C, L. Johnson., S., C. Shinha., Akira, S., Fujita T. and Gale Jr., M. : Regulation of innate antiviral defenses through a shared repressor domain in RIG-I and LGP2. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 104, 582-7 (2007)
- Kato, H., Takeuchi, O., Sato, S., Yoneyama, M., Yamamoto, M., Matsui, K., Uematsu, S., Jung, A., Kawai, T., Ishii, K. J., Yamaguchi, O., Otsu, K., Tsujimura, T., Koh, C-S., Reis e Sousa, C., Matsuura, Y., Fujita, T. and

- Akira, S.: Differential role of MDA5 and RIG-I in the recognition of RNA viruses. *Nature* 441, 101-105 (2006)
- Yoshikawa T., Iwasaki T., Ida-Hosonuma M., Yoneyama M., Fujita T., Horie H., Miyazawa M., Abe S., Simizu B., and Koike S.: Role of alpha/beta interferon response in the acquisition of poliovirus susceptibility of kidney cells in culture. *J. Virology* 80, 4313-25 (2006)
- Loo, Y-M., Owen, D.M., Li, K., Erickson, A.K., Johnson, C.L., Fish, P.M., Carney, D.S., Wang, T., Ishida, H., Yoneyama, M., Fujita T., Saito, T., Lee, W.M., Hagedorn, C.H., Lau, D.T., Weinman, S.A., Lemon, S.M., Gale Jr. M.: Viral and therapeutic control of IFN- β promoter stimulator 1 during hepatitis C virus infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 6001-6 (2006)
- Yoneyama, M., Kikuchi, M., Matsumoto, K., Imaizumi, T., Miyagishi, M., Taira, K., Foy, E., Loo, Y-M., Gale Jr., M., Akira, S., Kato A. and Fujita, T.: Shared and Unique Functions of the DExD/H-Box Helicase RIG-I, MDA5 and LGP2 in Antiviral Innate Immunity. *J. Immunology* 175, 2851-2858, (2005)
- Kato, H., Sato, S., Yoneyama, M., Yamamoto, M., Uematsu, S., Matsui, K., Tsujimura, T., Takeda, K., Fujita, T., Takeuchi, O., and Akira, S.: Cell Type-Specific Involvement of RIG-I in Antiviral Response. *Immunity* 23, 19-28, (2005)
- Ida-Hosonuma, M., Iwasaki, T., Yoshikawa, T., Nagata, N., Sato, Y., Sata, T., Yoneyama, M., Fujita, T., Taya, C., Yonekawa H. and Koike, S.: The alpha/beta interferon response controls tissue tropism and pathogenicity of poliovirus. *J. Virology* 79, 4460-4469, (2005)
- Foy, E., Li, K., Sumpter Jr., R., Loo, Y-M., Johnson, C. L., Wang, C., Fish, P., Yoneyama, M., Fujita, T., and Gale Jr., M.: Control of antiviral defenses through hepatitis C virus disruption of RIG-I signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 2986-2991, (2005)
- Sumpter Jr., R., Loo, Y-M., Foy, E., Li, K., Yoneyama, M., Fujita, T., Lemon, S. and Gale Jr., M.: Regulating intracellular antiviral defense and permissiveness to hepatitis C virus RNA replication through a cellular RNA helicase, RIG-I. *J. Virology* 79, 2689-2699, (2005)
- Yoneyama, M., Kikuchi, M., Natsukawa, T., Shinobu, N., Imaizumi, T., Miyagishi, M., Taira, K., Akira, S. and Fujita, T.: The RNA helicase, RIG-I, plays an essential role for double-stranded RNA-induced innate antiviral responses. *Nature Immunology* 7: 730-737, (2004)
- Mori, M., Yoneyama, M., Ito, T., Takahashi, K., Inagaki, F. and Fujita, T.: Identification of Ser 386 of Interferon Regulatory Factor 3 as Critical Targets for Inducible Phosphorylation that Determines Activation. *J. Biol. Chem.* 279: 9698-9702, (2004)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Scott M., Fujita T., Liou H-C., Nolan G. P. and Baltimore D.: The p65 subunit of NF-kB regulates Ikb by two distinct mechanisms: *Genes and Development* *7*, 1266-1276, (1993)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

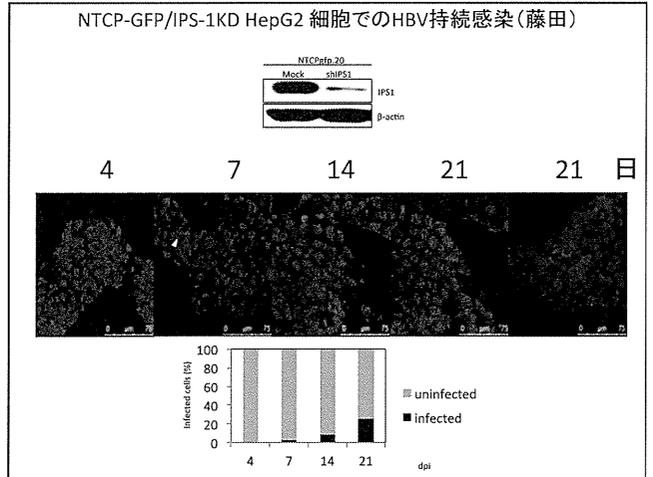
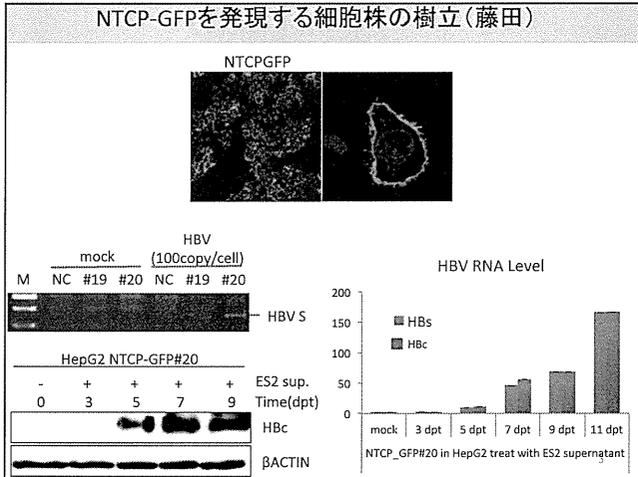
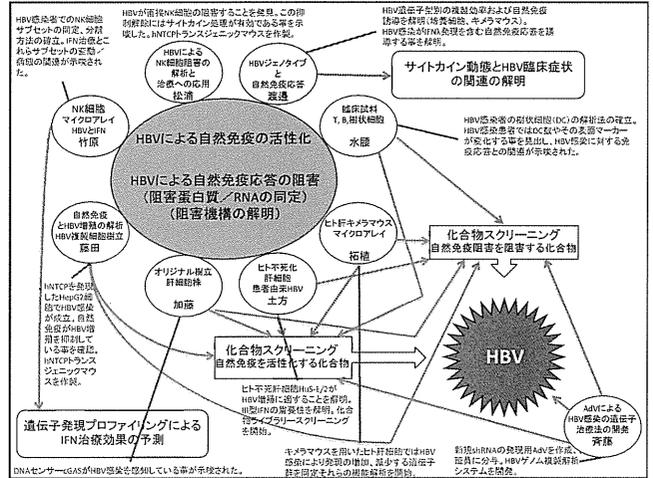
Fujita T., Takaoka C., Matsui H. and Taniguchi T.: Structure of the human interleukin 2 gene: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80, 7437-7441, (1983)

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

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

B型肝炎の新規治療薬を開発するための 宿主の自然免疫系の解析に関する研究

研究代表
京都大学ウイルス研究所
藤田尚志

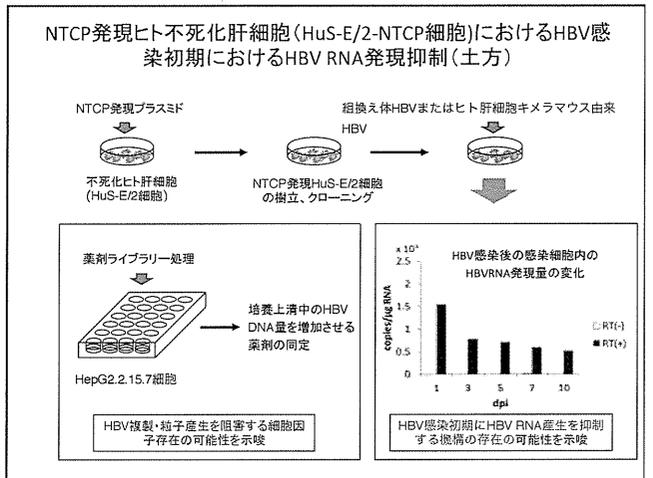


NTCP発現 Tg mouseの作製 (藤田)

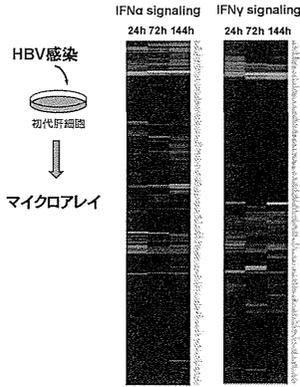
NTCP-myc Tg mouse (FVB background)
NTCP-GFP Tg mouse (B6 background)

↓

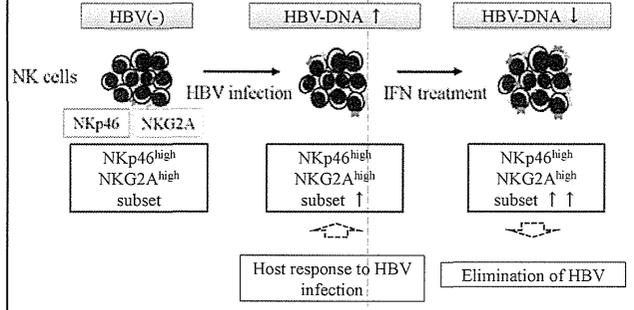
NTCP Tg mouse (自然免疫欠損 background)



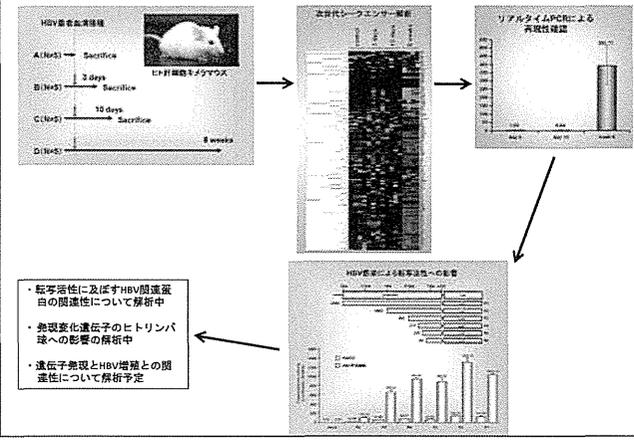
初代肝細胞培養ではHBV感染に対する強い自然免疫応答は認められない(松浦)



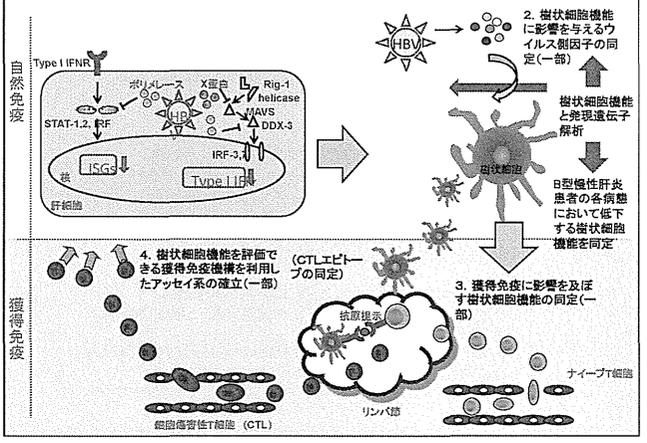
NK細胞サブセットとHBV感染、IFN治療 (竹原)



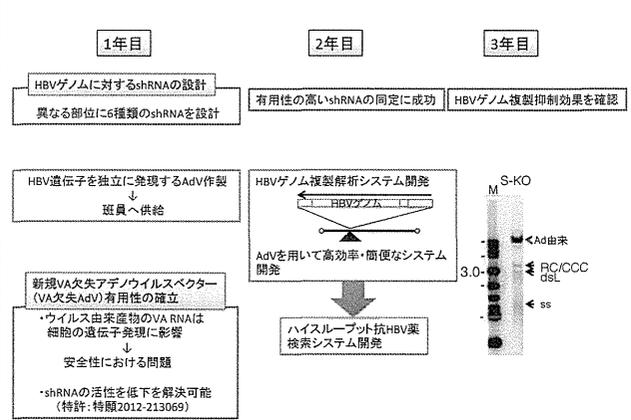
in vitro、in vivo HBV感染・複製系を用いたヒト肝細胞内免疫応答の解析 (拓殖)



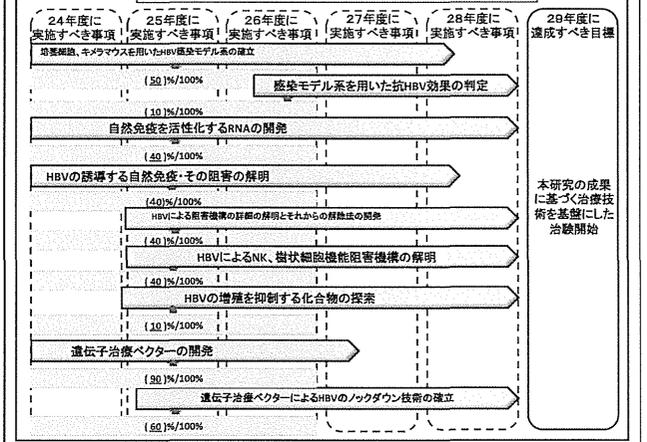
3年間の研究成果(黒字で記載)



HBV感染治療用ベクターの開発と新規ベクターの供給 (斎藤)



工程表(研究代表者氏名: 藤田 尚志)



【別添4】

利益相反について

利益相反の有無等(平成26年度)

- ア 利益相反の有無 無
- イ 利益相反がある場合には具体的内容(以下に記載)

他の研究班への参加状況

【別添5】

研究代表者が、「肝炎等克服政策研究事業」または「肝炎等克服実用化研究事業」研究班の研究代表者として参加しているか(ア又はイに記載)

- ア 上記研究事業の研究班の研究代表者として参加していない。

【別添6】

合同研究会議開催状況

他の研究班と合同での研究会議開催状況(平成26年度)

- イ 他の研究班と合同で研究会議を開催している。
(開催している場合は、①開催日、②他の研究班の名称、③他の研究班の研究代表者名を記載してください)

- ・平成26年10月29日、千葉、市川(NTCP合同班会議)
脇田班、田中班、上田班、成松班、小嶋班
- ・平成26年12月5日、大坂、吹田(B肝3班合同班会議)
革新的な動物モデルや培養技術の開発を通じたHBV排除への創薬研究(茶山 一彰)
免疫系を保持した次世代型B型肝炎ウイルス感染小動物モデルの開発とその応用(竹原 徹郎)

平成 26 年度 肝炎等克服実用化研究事業 B型肝炎創薬実用化等研究事業『成果概要』

研究課題： HBV cccDNA の制御と排除を目指す新規免疫治療薬の開発
課題番号： H24-B 創-肝炎-一般-010
予定期間： H24 年度から H28 年度まで
研究代表者： 金子 周一
所属研究機関、部局： 金沢大学 医薬保健研究域医学系
職 名： 教授
委託費(決定額)： 1 年目 100,960,000 円 2 年目 100,000,000 円 3 年目 118,000,000 円
計 318,960,000 円

I. 研究の意義

- (1) B 型肝炎ウイルス (HBV) 感染症は従来の抗ウイルス薬では治癒がむずかしい。
- (2) HBV の cccDNA を制御・排除には従来の抗ウイルス薬と異なる創薬が必要である。
- (3) HBV の cccDNA を制御・排除する免疫治療薬は開発されていない。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) HBV の cccDNA の存在様式と制御様式を明らかにする。
- (2) cccDNA の複製を制御する新たな治療法の開発研究を行う。
- (3) HBV の制御と排除に関連する免疫機構を明らかにする。
- (4) HBV に対する新しい免疫治療薬の研究開発をすすめる。

III. 3 年間の研究成果

・研究代表者(金子周一) 核酸アナログの投与によって変動する HBV および宿主の遺伝子、免疫系を解析した。核酸アナログによる肝臓内の免疫応答遺伝子の動態は HBcr 抗原の量と相関しており、治療中、myeloid dendritic cell の機能は回復するが plasmatoid dendritic cell の機能回復が見られないことが明らかとなった。核酸アナログの投与によってウイルス排除が成立しない背景に、自然免疫の障害が示された。HBcr 抗原陽性例においては HNF4、Sp1 など HBV の転移促進因子の発現亢進がみられ、これらの宿主の転写因子を標的とする薬剤のスクリーニングを行った。

・研究分担者(今村道雄) ヒト肝細胞キメラマウスを用いて real-time PCR により肝内 HBV cccDNA の定量系を構築した。また HBV を感染させたヒト肝細胞移植 TK-NOG マウスにヒトリンパ球の投与を行い、免疫再構築を行い、重症肝炎モデルマウスの系を作製した。これによってキメラマウスにおいても免疫系の関与を検討することができるマウスモデルを確立した。

・研究分担者(中本安成) HBs 抗原のエピトープ (CTL-L^d 拘束性 HBs28-39 を含む) が誘導する慢性肝炎マウスモデルにおいてウイルス産生を制御する分子免疫機序について検討した。肝組織において、ケモカイン CCL5/CCR5 分子が関連する STAT3 および NFκB 経路が亢進していた。また、HBV1.3 ゲノム長遺伝子を導入した肝細胞株では CCL5 が細胞内の STAT3 をリン酸化してウイルス産生を抑制している可能性が示され、ケモカインを標的とする治療法の可能性が示された。

・研究分担者(橋本真一) ヒストンメチル化阻害剤 (Chaetocin, BIX01294) 及びヒストン脱アセチル化阻害剤 (TSA, SAHA) を用いて HBV 感染細胞株 (Hep38.7, KM 細胞) を処理したところ BIX01294, SAHA によって cccDNA のコピー数の増加が観察された。PXB マウス由来新鮮ヒト肝細胞では、ヒストンメチル化阻害剤及び TSA 添加で細胞内の HBV DNA が増加する傾向が観察されたが、逆に SAHA は細胞内の HBV DNA の量を低下させていた。これによって、HBV のクロマチン構造を標的とする治療法の可能性が示された。

・研究分担者(村上清史) HBVの複製はHBxの抑制により著明に低下を認め、HBxがHBV複製に重要な役割を担っていることを示した。遺伝子発現の包括的解析では、HBxにより発現が誘導される834個の遺伝子群を同定し、その遺伝子群を用いた転写因子解析により6個の転写因子をHBx関連活性化転写因子と同定した。HBxを標的とする治療法の開発研究を行った。

・研究分担者(石川哲也) KタイプのCpG-oligodeoxynucleotideであるK3、あるいはK3にSchizophyllanを結合させたK3-SPGをアジュバントとして用い、インドールアミン酸素添加酵素IDO発現の抑制下で免疫実験を行ったところHBs-CTLの誘導が確認された。HBs抗原とアジュバントを用いて臨床研究を行うことが可能であると思われた。

・研究分担者(考藤達哉) 肝癌細胞株(HepG2.2.15)を用いて、ヒト末梢血から分離したDCサブセットと共培養することで、PDCはIFN- α/β 、IFN- λ を産生することを明らかにした。HBV-Huh7、PDC、NK細胞との共培養系を用いて、HBV複製抑制においてはDCとNKの相互作用が重要であり、PDCはNK細胞のHBV複製抑制効果を増強することを明らかにした。NK-DCによるNon-Cytopathic機序を介したHBV複製抑制にAPOBEC3Gが関与することを示した。またNK細胞のCytopathic機序によるHBV抑制にはTRAIL、FAS-Lが関与していた。

・研究分担者(高橋 健) 治療前・中・後の末梢血単核球で、自然免疫関連遺伝子を含む多くの遺伝子で発現変動を解析した。ヒトキメラマウスを用いたHBV感染実験におけるRNA-seqでは、これまでの予想に反して感染細胞では自然免疫応答がむしろ抑制されており、自然免疫によるウイルス排除の重要性が示された。

・研究分担者(加藤孝宣) 異なるHBV遺伝子型のゲノムをHepG2細胞へ導入しHBVの複製を確認した。遺伝子型HのHBV株導入細胞ではアポトーシスの誘導が抑制されていた。詳細な検討の結果、この株の導入細胞ではTNF- α レセプター直下のCaspase 8の活性化が抑制されていることが明らかになった。この検出された事象はHBVが関わる感染細胞の排除に関与している可能性があった。

・研究分担者(村口 篤) 抗原特異的T細胞を同定し、抗原特異的TCRを取得できる技術を開発した。同定したHLA-A*2402に結合することが予測されるペプチドで、B型肝炎ウイルス感染患者のCD8⁺T細胞の刺激でサイトカイン産生が誘導される6種類のペプチドを用いて、ペプチド特異的TCRをクローニングすることを目的として研究を行い、活性化マーカーであるCD137の発現を指標に21種類のTCR cDNAを候補TCRとして取得した。TCRを利用した免疫療法の開発を進めている。

・研究分担者(池田裕明) TCR遺伝子導入リンパ球輸注療法の近交系マウスモデルを確立し、内因性TCRに対するsiRNAを搭載した新規レトロウイルスベクター(siTCRベクター)を用いて非自己T細胞を用いた抗原特異的T細胞療法を開発した。siTCRベクターに2Aペプチドの導入とジスルフィド結合を組合せ、導入TCR遺伝子の発現をさらに高め、より安全性の高い新規ベクターの開発を行った。ヒトへの応用を進めている。

・研究分担者(石井 健) TLR9リガンドとしてK3-SPGの開発に成功した。従来のCpG ODNに比べ強力なアジュバントとして働く事を明らかにした。細胞傷害性T細胞(CTL)反応を誘導する事ができた。ヒト末梢血単核球をK3-SPGで処理した結果、強くI型、II型インターフェロン産生を誘導した。新規ワクチン開発に大きく貢献出来る可能性を有していた。安全性および有効性の臨床試験を計画する段階に入っている。

・研究分担者(水腰英四郎) HBV genotype Cのアミノ酸配列を基に93種類のペプチドを合成し、免疫原性の強いペプチドのスクリーニングを行った。ELISPOT assayにより6種類が候補として選択された。6種類のペプチドのうち、2種類のペプチドにおいてin vitroにおいて細胞傷害性T細胞の誘導が可能であった。HLA-A24 transgenic mouseに候補ペプチドをアジュバントと共に投与したところ、強い免疫誘導効果が認められた。

IV. 今後考えられる新たな課題

- ・HBV感染症において発現の亢進が見られる転写因子、ケモカインを標的とした治療法を開発する。
- ・HBV感染ヒト肝細胞キメラマウスを用いて肝内HBV cccDNAに対する治療法を開発する。
- ・エピゲノム、HBxを標的とするHBV複製の薬物開発研究をすすめる。
- ・ペプチド、アジュバントを用いたHBVに対する免疫治療法の開発を行う。

- ・HBV 感染細胞に対する樹状細胞、および細胞障害性 T 細胞を用いる治療法の研究開発を進める。

V. 実用化(ワクチン、診断薬、治療薬の開発等)への貢献の可能性

- (1) ヒトキメラマウス、重症肝炎モデルマウスを用いて、新規治療法の開発が期待される。
- (2) ペプチド、転写制御因子、ケモカイン等のウイルス制御分子を用いた治療法の開発が期待される。
- (3) ヒストンメチル化阻害薬、ヒストン脱アセチル阻害剤を用いた治療法の開発が期待される。
- (4) HBx を標的とする新規薬剤の開発が期待される。
- (5) 樹状細胞、細胞障害性 T 細胞を用いた治療法の開発が期待される。

VI. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 新たな B 型肝炎治療法を開発し、肝炎対策基本法に従った施策に貢献する。
- (2) B 型肝炎を背景に発症する肝細胞がんの発生を低下させ、がん対策に貢献する。
- (3) B 型肝炎の治療ガイドラインの資料となることが期待される。

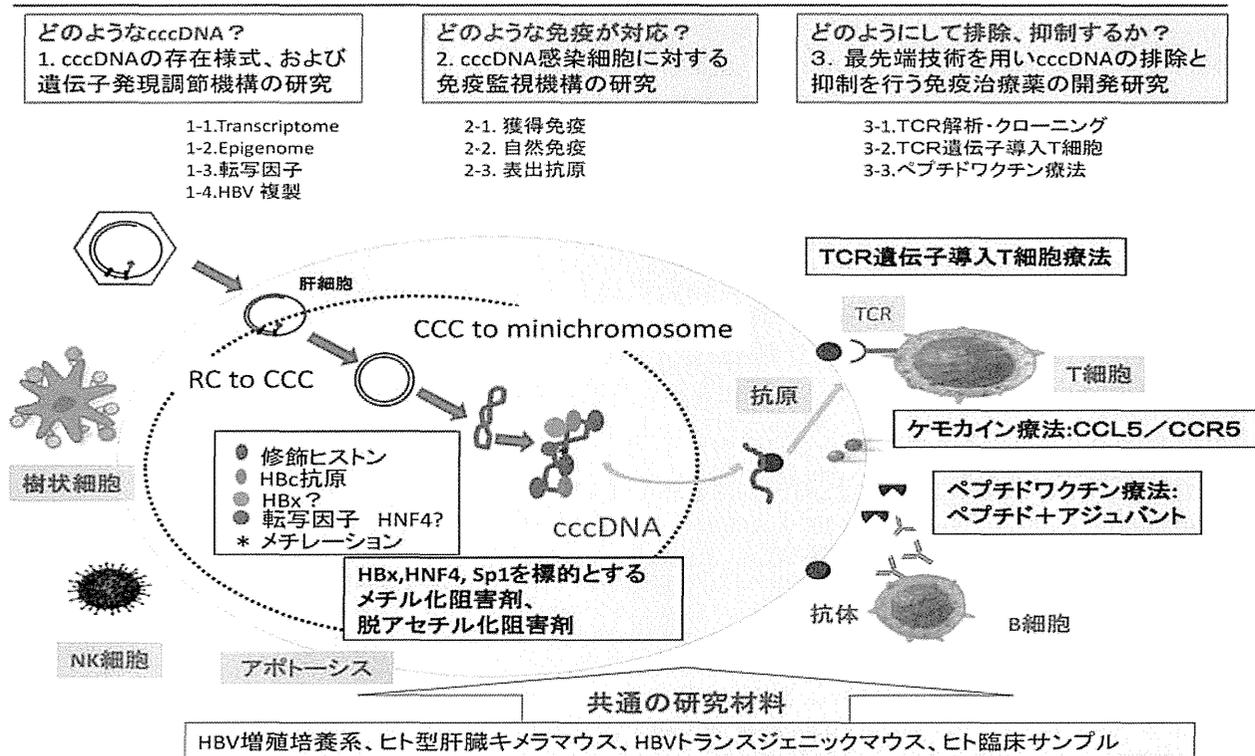
VII. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

1. Honda M, Shirasaki T, Shimakami T, Sakai A, Horii R, Arai K, Yamashita T, Sakai Y, Yamashita T, Okada H, Murai K, Nakamura M, Mizukoshi E, Kaneko S. Hepatic interferon-stimulated genes are differentially regulated in the liver of chronic hepatitis C patients with different interleukin 28B genotypes. **Hepatology** 59(3):828-838, 2014.
2. Inuzuka T, Takahashi K, Chiba T, Marusawa H. Mouse Models of Hepatitis B Virus Infection Comprising Host-Virus Immunologic Interactions. **Pathogens** 3(2):377-389, 2014.
3. Hayashi M, Tetsutani K, Koyama S, Mochizuki S, Sakurai K, Katakai Y, Yasutomi Y, Saijo S, Iwakura Y, Akira S, Coban C, Ishii KJ. Nonagonistic Dectin-1 ligand transforms CpG into a multitask nanoparticulate TLR9 agonist. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**. 111(8):3386-3391, 2014.
4. 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, Wakita T, Kato T. Acute Hepatitis B of Genotype H Resulting in Persistent Infection. **World J Gastroenterol** 20:3044-3049, 2014.
5. Hosoi H, Ikeda H, Imai N, Amaike C, Wang L, Orito Y, Yamane M, Ueno H, Ideno M, Nukaya I, Enoki T, Mineno J, Takesako K, Hirano S, Shiku H. Stimulation through very late antigen-4 and -5 improves the multifunctionality and memory formation of CD8⁺ T cells. **Eur J Immunol**. 44:1727-1758, 2014.
6. Ohtaki H, Ito H, Ando K, Ishikawa T, Hoshi M, Ando T, Takamatsu M, Hara A, Moriwaki H, Saito K, Seishima M. Kynurenine production mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase aggravates liver injury in HBV-specific CTL-induced fulminant hepatitis. **Biochim Biophys Acta** 1842:1464-1471, 2014.
7. Ito H, Ando T, Ando K, Ishikawa T, Saito K, Moriwaki H, Seishima M. Induction of hepatitis B virus surface antigen-specific cytotoxic T lymphocytes can be up-regulated by the inhibition of indoleamine 2, 3-dioxygenase activity. **Immunology** 142:614-623, 2014.
8. Kosaka K, Hiraga N, Imamura M, Yoshimi S, Murakami E, Nakahara T, Honda Y, Ono A, Kawaoka T, Tsuge M, Abe H, Nelson Hayes C, Miki D, Aikata H, Ochi H, Ishida Y, Tateno C, Yoshizato K, Sasaki T, Chayama K. A novel TK-NOG based humanized mouse model for the study of HBV and HCV infections. **Biochem Biophys Res Commun**. 441(1):230-235, 2013.
9. Yamashita T, Honda M, Nakamoto Y, Baba M, Nio K, Hara Y, Zeng SS, Hayashi T, Kondo M, Takatori H, Yamashita T, Mizukoshi E, Ikeda H, Zen Y, Takamura H, Wang XW, Kaneko S. Discrete nature of EpCAM⁺ and CD90⁺ cancer stem cells in human hepatocellular carcinoma. **Hepatology** 57:1484-1497, 2013.
10. Hashimoto S, K Ogoshi, A Sasaki, J Abe, W Qu, Y Nakatani, B Ahsan, K Oshima, F H Shand, A Ametani, Y Suzuki, S Kaneko, T Wada, M Hattori, S Sugano, S Morishita, K Matsushima. Coordinated changes in DNA methylation in antigen-specific memory CD4 T cells. **J Immunol** 190:4076-4091, 2013.
11. Shirasaki T, Honda M, Shimakami T, Horii R, Yamashita T, Sakai Y, Sakai A, Okada H, Watanabe R, Murakami S, Yi M, Lemon SM, Kaneko S. MicroRNA-27a regulates lipid metabolism and inhibits hepatitis C virus replication in human hepatoma cells. **J Virol**. 87(9):5270-5286, 2013.
12. Nawa T, Ishida H, Tatsumi T, Li W, Shimizu S, Kodama T, Hikita H, Hosui A, Miyagi T, Kanto T, Hiramatsu N, Hayashi N and Takehara T. Interferon-alpha suppresses hepatitis B virus enhancer II activity via the protein kinase C pathway. **Virology** 432:452-459, 2013.
13. Kobayashi E, Mizukoshi E, Kishi H, Ozawa T, Hamana H, Nagai T, Nakagawa H, Jin A, Kaneko S, Muraguchi A. A novel cloning and expression system yields and validates TCRs from blood lymphocytes of cancer patients within 10 days. **Nature Medicine** 19:1542-1546, 2013.
14. Kobiyama K, Jounai N, Aoshi T, Tozuka M, Takeshita F, Coban C and Ishii KJ. Innate Immune Signaling by, and Genetic Adjuvants for DNA Vaccination. **Vaccines** 1:278-292, 2013.

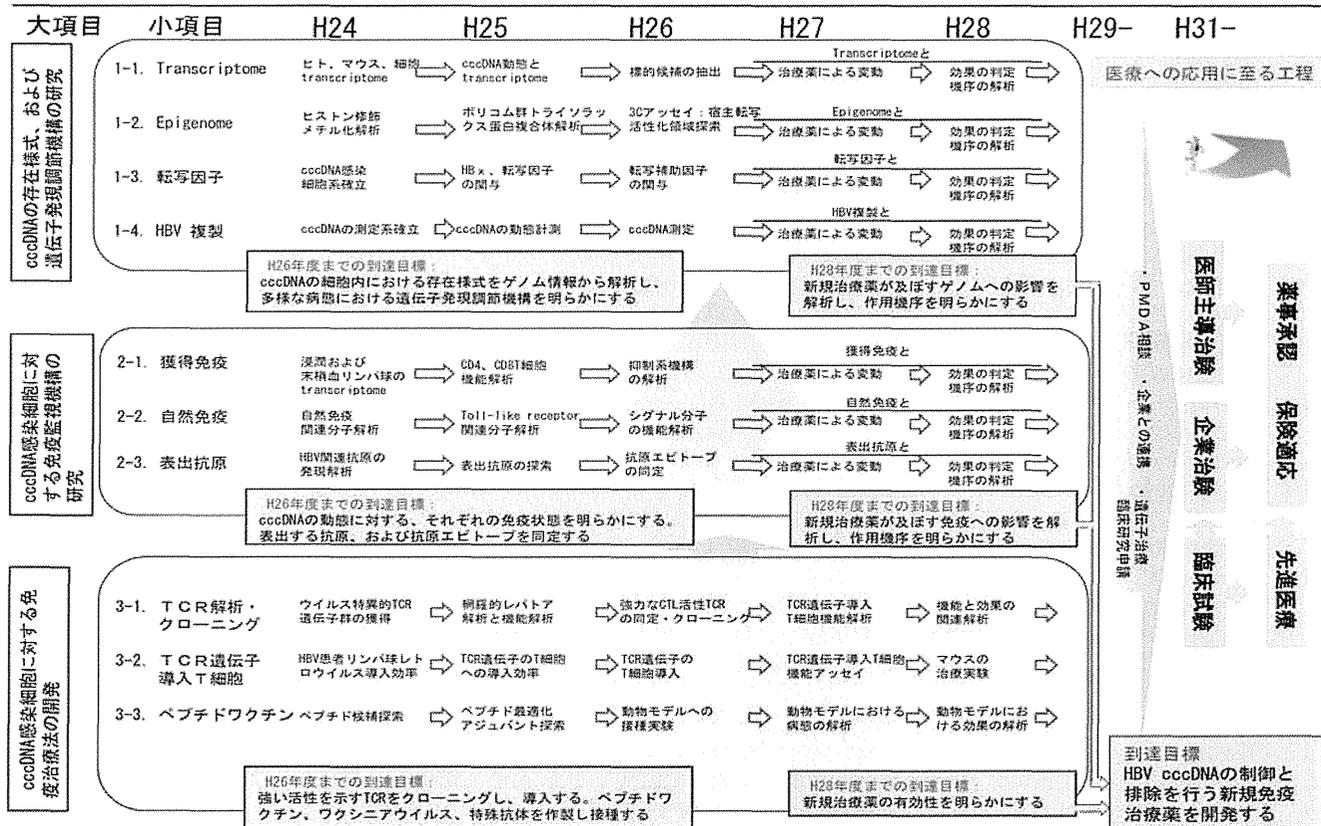
VII. (3年間の研究成果の)概要図等

研究計画の研究大項目および研究小項目をポンチ絵に示し、その計画のロードマップに示す H24、25、26年度の研究成果を示した。

研究計画



研究全体のロードマップ（研究の年次計画、到達目標と研究終了後の工程）



●研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

昭和 62 年～平成元年	米国国立衛生研究所(NIH)客員研究員
平成 5 年～平成 7 年	米国南カリフォルニア大学客員教授
平成 8 年～平成 16 年	金沢大学医学部第一内科 講師・助教授
平成 16 年～	金沢大学大学院医学系研究科恒常性制御学(消化器内科) 教授
平成 18 年～平成 21 年	金沢大学医学部長(併任)
平成 24 年～平成 26 年	金沢大学学長補佐(研究担当)(併任)
平成 26 年～	金沢大学医薬保健学総合研究科長・医学系長(併任)

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

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

・主な研究課題

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

・これまでの研究実績

1. T Terashima, T Yamashita, N Iida, T Yamashita, H Nakagawa, K Arai, K Kitamura, T Kagaya, Y Sakai, E Mizukoshi, M Honda, S Kaneko. Blood neutrophil to lymphocyte ratio as a predictor in patients with advanced hepatocellular carcinoma treated with hepatic arterial infusion chemotherapy. Hepatol Res (in press)
2. K Yamada, E Mizukoshi, H Sunagozaka, K Arai, T Yamashita, Y Takeshita, H Misu, T Takamura, S Kitamura, Y Zen, Y Nakanuma, M Honda, S Kaneko. Characteristics of hepatic fatty acid compositions in patients with nonalcoholic steatohepatitis. Liver Int (in press)
3. T Yamashita, A Kitao, O Matsui, T Hayashi, K Nio, M Kondo, N Ohno, T Miyati, H Okada, T Yamashita, E Mizukoshi, M Honda, Y Nakanuma, H Takamura, T Ohta, Y Nakamoto, M Yamamoto, T Takayama, S Arii, XW Wang, S Kaneko. Gd-EOB-DTPA-enhanced magnetic resonance imaging and alpha-fetoprotein predict prognosis of early-stage hepatocellular carcinoma. Hepatology 60(5):1674-85, 2014.
4. K Ishikura, H Misu, M Kumazaki, H Takayama, N Matsuzawa-Nagata, N Tajima, K Chikamoto, F Lan, H Ando, T Ota, M Sakurai, Y Takeshita, K Kato, A Fujimura, KI Miyamoto, Y Saito, S Kameo, Y Okamoto, Y Takuwa, K Takahashi, H Kidoya, N Takakura, S Kaneko, T Takamura. Selenoprotein P as a diabetes-associated hepatokine that impairs angiogenesis by inducing VEGF resistance in vascular endothelial cells. Diabetologia 57(9):1968-76, 2014.
5. T Yamashita, S Kaneko. Orchestration of hepatocellular carcinoma development by diverse liver cancer stem cells. J Gastroenterol 49(7):1105-10, 2014.
6. M Kitahara, E Mizukoshi, Y Nakamoto, N Mukaida, K Matsushima, S Kaneko. Efficient generation of highly immunocompetent dendritic cells from peripheral blood of patients with hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. Int Immunopharmacol 21(2):346-353, 2014.
7. N Oishi, T Yamashita, S Kaneko. Molecular biology of liver cancer stem cells. Liver Cancer 3(2):71-84, 2014.

8. F Lan, H Misu, K Chikamoto, H Takayama, A Kikuchi, K Mohri, N Takata, H Hayashi, N Matsuzawa-Nagata, Y Takeshita, H Noda, Y Matsumoto, T Ota, T Nagano, M Nakagen, KI Miyamoto, K Takatsuki, T Seo, K Iwayama, K Tokuyama, S Matsugo, H Tang, Y Saito, S Yamagoe, S Kaneko, T Takamura. LECT2 functions as a hepatokine that links obesity to skeletal muscle insulin resistance. *Diabetes* 63(5):1649-64, 2014.
9. Y Takeshita, T Takamura, M Honda, Y Kita, Y Zen, KI Kato, H Misu, T Ota, M Nakamura, K Yamada, H Sunagozaka, K Arai, T Yamashita, E Mizukoshi, S Kaneko. The effects of ezetimibe on non-alcoholic fatty liver disease and glucose metabolism: a randomised controlled trial. *Diabetologia* 57(5):878-90, 2014.
10. T Shimakami, M Honda, T Shirasaki, R Takabatake, F Liu, K Murai, T Shiomoto, M Funaki, D Yamane, S Murakami, SM Lemon, S Kaneko. The acyclic retinoid Peretinoin inhibits hepatitis C virus replication and infectious virus release in vitro. *Sci Rep* 4:4688, 2014 Apr.
11. H Nakagawa, E Mizukoshi, N Iida, T Terashima, M Kitahara, Y Marukawa, K Kitamura, Y Nakamoto, K Hiroishi, M Imawari, S Kaneko. In vivo immunological antitumor effect of OK-432-stimulated dendritic cell transfer after radiofrequency ablation. *Cancer Immunol Immunother* 63(4):347-56, 2014.
12. K Kato, T Takamura, Y Takeshita, Y Ryu, H Misu, T Ota, K Tokuyama, S Nagasaka, M Matsuhisa, O Matsui, S Kaneko. Ectopic fat accumulation and distant organ-specific insulin resistance in Japanese people with nonalcoholic Fatty liver disease. *PLoS One* 9(3): e92170, 2014.
13. ***M Honda, T Shirasaki, T Shimakami, A Sakai, R Horii, K Arai, T Yamashita, Y Sakai, T Yamashita, H Okada, K Murai, M Nakamura, E Mizukoshi, S Kaneko. Hepatic interferon-stimulated genes are differentially regulated in the liver of chronic hepatitis C patients with different interleukin 28B genotypes. Hepatology 59(3):828-38, 2014.***
14. H Takayama, H Misu, H Iwama, K Chikamoto, Y Saito, K Murao, A Teraguchi, F Lan, A Kikuchi, R Saito, N Tajima, T Shirasaki, S Matsugo, KI Miyamoto, S Kaneko, T Takamura. Metformin Suppresses Expression of the Selenoprotein P gene via an AMPK-FoxO3a Pathway in H4IIEC3 Hepatocytes. *J Biol Chem* 289(1):335-45, 2014.
15. S Sha Zeng, T Yamashita, M Kondo, K Nio, T Hayashi, Y Hara, Y Nomura, M Yoshida, T Hayashi, N Oishi, H Ikeda, M Honda, S Kaneko. The Transcription Factor SALL4 Regulates Stemness of EpCAM-positive Hepatocellular Carcinoma. *J Hepatol* 60(1):127-34, 2014.
16. M Higashimoto, Y Sakai, M Takamura, S Usui, A Nasti, K Yoshida, A Seki, T Komura, M Honda, T Wada, K Furuichi, T Ochiya, S Kaneko. Adipose tissue-derived stromal stem cell therapy in murine ConA-derived hepatitis is dependent on myeloid-lineage and CD4+ T-cell suppression. *Eur J Immunol* 43(11):2956-68, 2013.
17. ***E Kobayashi, E Mizukoshi, H Kishi, T Ozawa, H Hamana, T Nagai, H Nakagawa, A Jin, S Kaneko, A Muraguchi. A novel cloning and expression system yields and validates TCRs from blood lymphocytes of cancer patients within 10 days. Nature Medicine 19:1542-6, 2013.***
18. A Seki, S Y akai, T Komura, A Nasti, K Yoshida, M Higashimoto, M Honda, S Usui, M Takamura, T Takamura, T Ochiya, K Furuichi, T Wada, S Kaneko. Adipose tissue-derived stem cells as a regenerative therapy for a mouse steatohepatitis-induced cirrhosis model. *Hepatology* 58(3):1133-42, 2013.
19. H Takamura, S Nakanuma, H Hayashi, H Tajima, K Kakinoki, S Sakai, I Makino, H Nakagawara, T Miyashita, K Okamoto, K Nakamura, K Oyama, M Inokuchi, I Ninomiya, H Kitagawa, S Fushida, T Fujimura, I Ohnishi, M Kayahara, T Tani, K Arai, T Yamashita, T Yamashita, H Kitamura, H Ikeda, S Kaneko, Y Nakanuma, O Matsui, T Ohta. Evaluation of eligibility criteria in living donor liver transplantation for hepatocellular carcinoma by α -SMA-positive cancer-associated fibroblasts. *Oncol Rep* 30(4):1561-74, 2013.
20. F Arihara, E Mizukoshi, M Kitahara, Y Takata, K Arai, T Yamashita, Y Nakamoto, S Kaneko. Increase in CD14(+)/HLA-DR (-/low) myeloid-derived suppressor cells in hepatocellular carcinoma patients and its impact on prognosis. *Cancer Immunol Immunother* 62(8):1421-30, 2013.
21. K Kimura, Y Nakamura, Y Inaba, M Matsumoto, Y Kido, SI Asahara, T Matsuda, H Watanabe, A Maeda, F Inagaki, C Mukai, K Takeda, S Akira, T Ota, H Nakabayashi, S Kaneko, M Kasuga, H Inoue. Histidine augments the suppression of hepatic glucose production by central insulin action. *Diabetes* 62(7):2266-77, 2013.
22. ***T Shirasaki, M Honda, T Shimakami, R Horii, T Yamashita, Y Sakai, A Sakai, H Okada, R Watanabe, S Murakami, M Yi, SM Lemon, S Kaneko. MicroRNA-27a regulates lipid metabolism and inhibits hepatitis C virus replication in human hepatoma cells. J Virol 87(9):5270-86, 2013.***

23. M Honda, T Yamashita, T Yamashita, K Arai, Y Sakai, A Sakai, M Nakamura, E Mizukoshi, S Kaneko. Peretinoin, an acyclic retinoid, improves the hepatic gene signature of chronic hepatitis C following curative therapy of hepatocellular carcinoma. BMC Cancer 13:191, 2013.
24. T Ueda, M Honda, K Horimoto, S Aburatani, S Saito, T Yamashita, Y Sakai, M Nakamura, H Takatori, H Sunagozaka, S Kaneko. Gene expression profiling of hepatitis B- and hepatitis C-related hepatocellular carcinoma using graphical Gaussian modeling. Genomics 101(4):238-48, 2013.
25. *T Yamashita, M Honda, Y Nakamoto, M Baba, K Nio, Y Hara, SS Zeng, TH Kondo, H Takatori, T Yamashita, E Mizukoshi, H Ikeda, Y Zen, H Takamura, XW Wang, S Kaneko. Discrete nature of EpCAM(+) and CD90(+) cancer stem cells in human hepatocellular carcinoma. Hepatology 57(4):1484-97, 2013.*
26. E Mizukoshi, T Yamashita, K Arai, H Sunagozaka, T Ueda, F Arihara, T Kagaya, T Yamashita, K Fushimi, S Kaneko. Enhancement of tumor-associated antigen-specific T cell responses by radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma. Hepatology 57(4):1448-57, 2013.
27. Y Hodo, M Honda, A Tanaka, Y Nomura, K Arai, T Yamashita, Y Sakai, T Yamashita, E Mizukoshi, A Sakai, M Sasaki, Y Nakanuma, M Moriyama, S Kaneko. Association of Interleukin 28B genotype and hepatocellular carcinoma recurrence in patients with chronic hepatitis C. Clin Cancer Re 19(7):1827-37, 2013.
28. T Otda, T Takamura, H Misu, T Ota, S Murata, H Hayashi, H Takayama, A Kikuchi, T Kanamori, KR Shima, F Lan, T Takeda, S Kurita, K Ishikura, Y Kita, K Iwayama, KI Kato, M Uno, Y Takeshita, M Yamamoto, K Tokuyama, S Iseki, K Tanaka, S Kaneko. Proteasome dysfunction mediates obesity-induced endoplasmic reticulum stress and insulin resistance in the liver. Diabetes 62(3):811-24, 2013.
29. T Oze, N Hiramatsu, E Mita, N Akuta, N Sakamoto, H Nagano, Y Itoh, S Kaneko, N Izumi, H Nomura, N Hayashi, T Takehara. A multicenter survey of re-treatment with pegylated interferon plus ribavirin combination therapy for patients with chronic hepatitis C in Japan. Hepatol Res 43(1):35-43, 2013.
30. T Yamashita, S Kaneko. Treatment strategies for hepatocellular carcinoma in Japan. Hepatol Res 43(1):44-50, 2013.
31. S Miwa, H Nishida, Y Tanzawa, M Takata, A Takeuchi, N Yamamoto, T Shirai, K Hayashi, H Kimura, K Igarashi, E Mizukoshi, Y Nakamoto, S Kaneko, H Tsuchiya. TNF- α and Tumor Lysate Promote the Maturation of Dendritic Cells for Immunotherapy for Advanced Malignant Bone and Soft Tissue Tumors. PLoS One 7(12):e52926, 2012.
32. A Kitao, O Matsui, N Yoneda, K Kozaka, S Kobayashi, W Koda, T Gabata, T Yamashita, S Kaneko, Y Nakanuma, R Kita, S Arii. Hypervascular Hepatocellular Carcinoma: Correlation between Biologic Features and Signal Intensity on Gadoteric Acid-enhanced MR Images. Radiology 265(3):780-9, 2012.
33. Y Takeshita, T Takamura, Y Kita, H Ando, T Ueda, K Kato, H Misu, H Sunagozaka, Y Sakai, T Yamashita, E Mizukoshi, M Honda, S Kaneko. Beneficial effect of branched-chain amino acid supplementation on glycemic control in chronic hepatitis C patients with insulin resistance: implications for type 2 diabetes. Metabolism 61(10):1388-94, 2012.
34. M Nakamura, N Nishida, M Kawashima, Y Aiba, A Tanaka, M Yasunami, H Nakamura, A Komori, M Nakamura, M Zeniya, E Hashimoto, H Ohira, K Yamamoto, M Onji, S Kaneko, M Honda, S Yamagiwa, K Nakao, T Ichida, H Takikawa, M Seike, T Umemura, Y Ueno, S Sakisaka, K Kikuchi, H Ebinuma, N Yamashiki, S Tamura, Y Sugawara, A Mori, S Yagi, K Shirabe, A Taketomi, K Arai, K Monoe, T Ichikawa, M Taniai, Y Miyake, T Kumagi, M Abe, K Yoshizawa, S Joshita, S Shimoda, K Honda, H Takahashi, K Hirano, Y Takeyama, K Harada, K Migita, M Ito, H Yatsushashi, N Fukushima, H Ota, T Komatsu, T Saoshiro, J Ishida, H Kouno, H Kouno, M Yagura, M Kobayashi, T Muro, N Masaki, K Hirata, Y Watanabe, Y Nakamura, M Shimada, N Hirashima, T Komeda, K Sugi, M Koga, K Ario, E Takesaki, Y Maehara, S Uemoto, N Kokudo, H Tsubouchi, M Mizokami, Y Nakanuma, K Tokunaga, H Ishibashi. Genome-wide Association Study Identifies TNFSF15 and POU2AF1 as Susceptibility Loci for Primary Biliary Cirrhosis in the Japanese Population. Am J Hum Genet 91(4):721-728, 2012.
35. Y Kita, T Takamura, H Misu, T Ota, S Kurita, Y Takeshita, M Uno, N Matsuzawa-Nagata, K Kato, H Ando, A Fujimura, K Hayashi, T Kimura, Y Ni, T Otda, K Miyamoto, Y Zen, Y Nakanuma, S Kaneko. Metformin prevents and reverses inflammation in a non-diabetic mouse model of nonalcoholic steatohepatitis. PLoS One 7(9):e43056, 2012.
36. Y Sakai, I Tatsumi, M Higashimoto, A Seki, A Nasti, K Yoshida, K Kawaguchi, T Wada, M Honda, T Komura, S Kaneko. Association of changes in the gene expression profile of blood cells with the local

- tumor inflammatory response in a murine tumor model. *Biochem Biophys Res Commun* 428(1):36-43, 2012.
37. E Mizukoshi, K Fushimi, K Arai, T Yamashita, M Honda, S Kaneko. Expression of chondroitin-glucuronate C5-epimerase and cellular immune responses in patients with hepatocellular carcinoma. *Liver Int* 32(10):1516-26, 2012.
 38. H Shugo, T Ooshio, M Naito, K Naka, T Hoshii, Y Tadokoro, T Muraguchi, A Tamase, N Uema, T Yamashita, Y Nakamoto, T Suda, S Kaneko, A Hirao. Nucleostemin in Injury-Induced Liver Regeneration. *Stem Cells Dev* 21(16):3044-54, 2012.
 39. T Takamura, H Misu, T Ota, S Kaneko. Fatty liver as a consequence and cause of insulin resistance: Lessons from type 2 diabetic liver. *Endocr J* 59(9):745-63, 2012.
 40. H Okada, M Honda, JS Campbell, Y Sakai, T Yamashita, Y Takebuchi, K Hada, T Shirasaki, R Takabatake, M Nakamura, H Sunakozaka, T Tanaka, N Fausto, S Kaneko. Acyclic retinoid targets platelet-derived growth factor signaling in the prevention of hepatic fibrosis and hepatocellular carcinoma development. *Cancer Res* 72(17):4459-71, 2012.
 41. H Mizuno, M Honda, T Shirasaki, T Yamashita, T Yamashita, E Mizukoshi, S Kaneko. Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1 in association with hTERT is a potential biomarker for hepatocellular carcinoma. *Liver Int* 32(7):1146-55, 2012.
 42. S Kaneko, J Furuse, M Kudo, K Ikeda, M Honda, Y Nakamoto, M Onchi, G Shiota, O Yokosuka, I Sakaida, T Takehara, Y Ueno, K Hiroishi, S Nishiguchi, H Moriwaki, K Yamamoto, M Sata, S Obi, S Miyayama, Y Imai. Guideline on the use of new anticancer drugs for the treatment of Hepatocellular Carcinoma 2010 update. *Hepatol Res* 42(6):523-542, 2012.
 43. K Kimura, T Yamada, M Matsumoto, Y Kido, T Hosooka, S Asahara, T Matsuda, T Ota, H Watanabe, Y Sai, K Miyamoto, S Kaneko, M Kasuga, H Inoue. Endoplasmic reticulum stress inhibits STAT3-dependent suppression of hepatic gluconeogenesis via dephosphorylation and deacetylation. *Diabetes* 61(1):61-73, 2012.
 44. T Yamashita, K Arai, H Sunagozaka, T Ueda, T Terashima, T Yamashita, E Mizukoshi, A Sakai, Y Nakamoto, M Honda, S Kaneko. Randomized, Phase II Study Comparing Interferon Combined with Hepatic Arterial Infusion of Fluorouracil plus Cisplatin and Fluorouracil Alone in Patients with Advanced Hepatocellular Carcinoma. *Oncology* 81(5-6):281-90, 2011.
 45. A Kitao, O Matsui, N Yoneda, K Kozaka, R Shinmura, W Koda, S Kobayashi, T Gabata, Y Zen, T Yamashita, S Kaneko, Y Nakanuma. The uptake transporter OATP8 expression decreases during multistep hepatocarcinogenesis: correlation with gadoxetic acid enhanced MR imaging. *Eur Radiol* 21(10):2056-66, 2011.
 46. H Sunagozaka, M Honda, T Yamashita, R Nishino, H Takatori, K Arai, T Yamashita, Y Sakai, S Kaneko. Identification of a secretory protein c19orf10 activated in hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 129(7):1576-85, 2011.
 47. M Kudo, K Imanaka, N Chida, K Nakachi, WY Tak, T Takayama, JH Yoon, T Hori, H Kumada, N Hayashi, S Kaneko, H Tsubouchi, DJ Suh, J Furuse, T Okusaka, K Tanaka, O Matsui, M Wada, I Yamaguchi, T Ohya, G Meinhardt, K Okita. Phase III study of sorafenib after transarterial chemoembolisation in Japanese and Korean patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *Eur J Cancer* 47(14):2117-27, 2011.
 48. Y Tanaka, M Kurosaki, N Nishida, M Sugiyama, K Matsuura, N Sakamoto, N Enomoto, H Yatsushashi, S Nishiguchi, K Hino, S Hige, Y Itoh, E Tanaka, S Mochida, M Honda, Y Hiasa, A Koike, F Sugauchi, S Kaneko, N Izumi, K Tokunaga, M Mizokami. Genome-wide association study identified ITPA/DDRGK1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Hum Mol Genet* 20(17):3507-16, 2011.
 49. Y Takata, Y Nakamoto, A Nakada, T Terashima, F Arihara, M Kitahara, K Kakinoki, K Arai, T Yamashita, Y Sakai, T Yamashita, E Mizukoshi, S Kaneko. Frequency of CD45RO(+) subset in CD4(+)CD25(high) regulatory T cells associated with progression of hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett* 307(2):165-73, 2011.
 50. M Honda, K Takehana, A Sakai, Y Tagata, T Shirasaki, S Nishitani, T Muramatsu, T Yamashita, Y Nakamoto, E Mizukoshi, Y Sakai, T Yamashita, M Nakamura, T Shimakami, M Yi, SM Lemon, T Suzuki, T Wakita, S Kaneko; Hokuriku Liver Study Group. Malnutrition Impairs Interferon Signaling through mTOR and FoxO pathways in Patients with Chronic Hepatitis C. *Gastroenterology* 141(1):128-140. e2, 2011.
 51. T Yamashita, M Honda, S Kaneko. Molecular mechanisms of hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis C virus infection. *J Gastroenterol Hepatol* 26(6):960-4, 2011.

52. E Mizukoshi, Y Nakamoto, K Arai, T Yamashita, A Sakai, Y Sakai, T Kagaya, T Yamashita, M Honda, S Kaneko. Comparative analysis of various tumor-associated antigen-specific t-cell responses in patients with hepatocellular carcinoma. Hepatology 53(4):1206-16, 2011.
53. Y Nakamoto, E Mizukoshi, M Kitahara, F Arihara, Y Sakai, K Kakinoki, Y Fujita, Y Marukawa, K Arai, T Yamashita, N Mukaida, K Matsushima, O Matsui, S Kaneko. Prolonged recurrence-free survival following OK432-stimulated dendritic cell transfer into hepatocellular carcinoma during transarterial embolization. Clin Exp Immunol 163(2):165-77, 2011.
54. K Kakinoki, Y Nakamoto, T Kagaya, T Tsuchiyama, Y Sakai, T Nakahama, N Mukaida, S Kaneko. Prevention of intrahepatic metastasis of liver cancer by suicide gene therapy and chemokine ligand 2/monocyte chemoattractant protein-1 delivery in mice. J Gene Med 12(12):1002-13, 2010.
55. J Furuse, T Okusaka, S Kaneko, M Kudo, K Nakachi, H Ueno, T Yamashita, K Ueshima. Phase I/II study of the pharmacokinetics, safety and efficacy of S-1 in patients with advanced hepatocellular carcinoma. Cancer Sci 101(12):2606-11, 2010.
56. H Misu, T Takamura, H Takayama, H Hayashi, N Matsuzawa-Nagata, S Kurita, K Ishikura, H Ando, Y Takeshita, T Ota, M Sakurai, T Yamashita, E Mizukoshi, T Yamashita, M Honda, K Miyamoto, T Kubota, N Kubota, T Kadowaki, HJ Kim, IK Lee, Y Minokoshi, Y Saito, K Takahashi, Y Yamada, N Takakura, S Kaneko. A liver-derived secretory protein, selenoprotein P, causes insulin resistance. Cell Metab 12(5):483-95, 2010.
57. S Kaneko, M Sata, T Ide, T Yamashita, S Hige, E Tomita, S Mochida, Y Yamashita, Y Inui, SR Kim, N Komada, T Mikami, S Satoh, S Morita, K Takaguchi, N Hirashima, Y Nishio, D Watanabe, K Kioka, K Fujiwara. Efficacy and safety of double filtration plasmapheresis in combination with interferon therapy for chronic hepatitis C. Hepatology Res 40(11):1072-1081, 2010.
58. H Nuriya, K Inoue, T Tanaka, Y Hayashi, T Hishima, N Funata, K Kaji, S Hayashi, S Kaneko, Kohara M. Detection of hepatitis B and C viruses in almost all hepatocytes by modified PCR-based in situ hybridization. J Clin Microbiol 48(11):3843-51, 2010.
59. M Honda, M Nakamura, M Tateno, A Sakai, T Shimakami, T Shirasaki, T Yamashita, K Arai, T Yamashita, Y Sakai, S Kaneko. Differential interferon signaling in liver lobule and portal area cells under treatment for chronic hepatitis C. J Hepatol 53(5):817-26, 2010.
60. M Honda, Y Sakai, T Yamashita, T Yamashita, A Sakai, E Mizukoshi, Y Nakamoto, I Tatsumi, Y Miyazaki, H Tanno, S Kaneko; Hokuriku Liver Study Group. Differential gene expression profiling in blood from patients with digestive system cancers. Biochem Biophys Res Commun 400(1):7-15, 2010.
61. A Kitao, Y Zen, O Matsui, T Gabata, S Kobayashi, W Koda, K Kozaka, N Yoneda, T Yamashita, S Kaneko, Y Nakanuma. Hepatocellular Carcinoma: Signal Intensity at Gadoteric Acid-enhanced MR Imaging--Correlation with Molecular Transporters and Histopathologic Features. Radiology 256(3):817-26, 2010.
62. N Iida, Y Nakamoto, T Baba, H Nakagawa, E Mizukoshi, M Naito, N Mukaida, S Kaneko. Antitumor Effect after Radiofrequency Ablation of Murine Hepatoma Is Augmented by an Active Variant of CC Chemokine Ligand 3/Macrophage Inflammatory Protein-1 α . Cancer Res 70(16):6556-65, 2010.
63. M Honda, A Sakai, T Yamashita, Y Nakamoto, E Mizukoshi, Y Sakai, T Yamashita, M Nakamura, T Shirasaki, K Horimoto, Y Tanaka, K Tokunaga, M Mizokami, S Kaneko; Hokuriku Liver Study Group. Hepatic ISG expression is associated with genetic variation in IL28B and the outcome of IFN therapy for chronic hepatitis C. Gastroenterology 139(2):499-509, 2010.
64. T Shirasaki, M Honda, H Mizuno, T Shimakami, H Okada, Y Sakai, S Murakami, T Wakita, S Kaneko. La Protein Required for Internal Ribosome Entry Site-Directed Translation Is a Potential Therapeutic Target for Hepatitis C Virus Replication. J Infect Dis 202(1):75-85, 2010.
65. T Yamashita, M Honda, K Nio, Y Nakamoto, T Yamashita, H Takamura, T Tani, Y Zen, S Kaneko. Oncostatin m renders epithelial cell adhesion molecule-positive liver cancer stem cells sensitive to 5-Fluorouracil by inducing hepatocytic differentiation. Cancer Res 70(11):4687-97, 2010.
66. E Mizukoshi, Y Nakamoto, K Arai, T Yamashita, N Mukaida, K Matsushima, O Matsui, S Kaneko. Enhancement of tumor-specific T cell responses by transcatheter arterial embolization with dendritic cell infusion for hepatocellular carcinoma. Int J Cancer 126(9):2164-74, 2010.
67. Y Wu, Y Y Wang, Y Nakamoto, Y-Y Li, T Baba, S Kaneko, C Fujii, N Mukaida. Accelerated hepatocellular carcinoma development in mice expressing the Pim-3 transgene selectively in the liver. Oncogene 29(15):2228-37, 2010.