

●研究代表者の研究歴等

森屋恭爾

平成4年6月 東京大学医学部附属病院第一内科 医員（主な共同研究者 小池和彦）
B型肝炎に関する臨床研究、HBV トランスジェニックマウスを用いた研究に従事。

平成7年8月 東京大学医学部附属病院第一内科 文部教官助手（同上）

平成8年3月 東京大学医学部附属病院第一内科 医員（同上）

C型肝炎に関する研究、特に HCV と肝発癌に関する研究に従事。分子生物学、電子顕微鏡、薬理学等の技術を用いて解析を行った。

平成11年11月 東京大学消化器内科 助手（同上）

平成12年10月 東京大学医学部附属病院分院検査部 講師（同上）

平成13年10月 東京大学医学部附属病院臨床検査部 講師（同上）

平成14年4月 東京大学医学部附属病院感染制御部 講師（同上）

ウイルス肝炎に伴う酸化ストレス産生機序、肝臓における代謝異常に関する研究に従事。

平成21年11月 東京大医学部医学系大学院病因病理微生物 感染制御学講座 教授（同上）
肝炎ウイルスに対する抗ウイルス作用物質の探索を主に C型肝炎について行った。

・過去に所属した研究機関の履歴

研究歴

平成4年6月 東京大学医学部附属病院第一内科 医員（主な共同研究者 小池和彦）

平成7年8月 東京大学医学部附属病院第一内科 文部教官助手（同上）

平成8年3月 東京大学医学部附属病院第一内科 医員（同上）

平成11年11月 東京大学消化器内科 助手（同上）

平成12年10月 東京大学医学部附属病院分院検査部 講師（同上）

平成13年10月 東京大学医学部附属病院臨床検査部 講師（同上）

平成14年4月 東京大学医学部附属病院感染制御部 講師（同上）

平成21年11月 東京大医学部医学系大学院病因病理微生物 感染制御学講座 教授（同上）

受賞歴

平成11年 ウイルス肝炎財団肝炎研究奨励賞

平成18年 肝臓フォーラム（東部）奨励賞

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

小池和彦

受賞歴

平成11年 ウイルス肝炎財団肝炎研究奨励賞

平成18年 肝臓フォーラム（東部）奨励賞

・主な研究課題

集団生活の場における肝炎ウイルス感染予防ガイドラインの作成のための研究

厚生労働科学研究費補助金 健康長寿社会実現のためのライフ・イノベーションプロジェクト
難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究（肝炎関係研究分野）

1) 平成24年度

24年度厚労科研費（H24-肝炎-一般-006）C型肝炎を含む代謝関連肝がんの病態解明及び治療法の開発等に関する研究厚生労働省

2) 平成24年度基盤研究（B）C型肝炎におけるウイルスと炎症による肝発癌スパイラルのmiRNA解析による解明

文部科学省

3) 平成22年度基盤研究（C）肝臓からのコレステロール排泄機構の解明 文部科学省

4) 平成21年肝炎等克服緊急対策研究事業

肝炎ウイルスと代謝・免疫系の相互作用に関する包括的研究」厚生労働省

5) 平成20年度特定領域研究「発がん」C型肝炎ウイルスによる肝発癌機構の解明細胞内標的

の探索と治療法の開発 文部科学省

平成20年度肝炎等克服緊急対策研究事業

肝炎ウイルスの肝外病変の基礎的および臨床的包括研究 厚生労働省

平成20年度基盤研究C 代表 C型肝炎ウイルス感染におけるミトコンドリア機能異常の機序の解明 代表文部科学省

5) HBV持続感染におけるホスト側因子と病態との検討

基盤研究(C) 2001-2002

6) C型肝炎ウイルス関連肝発癌において炎症とウイルス蛋白のそれぞれが果たす役割の解明

基盤研究(B) 2001-2002

7) C型肝炎ウイルスによる肝発癌機構の解明

特定領域研究(C)→特定領域研究 2001-2004

8) プロテイン・トランスダクションによるC型肝炎治療法の開発

基盤研究(B) 2000-2001

9) 肝発癌におけるHBVとHCVの共同作用のトランスジェニックマウスを用いた検討

基盤研究(C) 2000-2001 代表

10) 肝発癌制御ワクチンの開発

萌芽的研究 1999-2000

11) 慢性肝炎における肝脂肪化発症の機序とその肝発癌における役割の解明・核内レセプター活性化による癌化機構

基盤研究(B) 1999-2000 分担

12) トランスジェニックマウスを用いたC型肝炎ウイルスによる肝発癌機構の解明

特定領域研究(A)1998

13) バキュロウイルスを用いたサイトカイン遺伝子導入によるウイルス肝炎治療法の開発

基盤研究(B)1998-1999

14) C型肝炎におけるシェーグレン症候群発症機序のトランスジェニックマウスを用いた解明

基盤研究(C) 1997-1998

15) トランスジェニックマウスを用いたC型肝炎ウイルスによる肝発癌機構の解明

重点領域研究 1997

16) 発癌におけるC型肝炎コア蛋白の遺伝子発現修飾作用とその細胞内結合蛋白の同定

基盤研究(C)1996

17) B型肝炎ウイルスX蛋白の癌化・アポトーシス作用とp53蛋白との関連の解明

基盤研究(C) 1996

18) C型肝炎ウイルス トランスジェニックマウスを用いた肝炎治療法・ワクチンの開発

基盤研究(A) 1996-1997

19) トランスジェニックマウスを用いたC型肝炎ウイルスによる肝発癌・肝炎発症機構の解明

一般研究(C)1994-1995

20) B型肝炎肝発癌モデルを用いたアンチセンスオリゴヌクレオテドによる遺伝子治療

重点領域研究 1995

21) C型肝炎ウイルスコア蛋白の細胞同期進行中の細胞内局在の変化とその肝発癌への関与

一般研究(C) 1994

22) B型肝炎ウイルスX遺伝子の肝発癌における細胞周期促進とアポトーシス誘発作用の解析

一般研究(C) 1993

23) トランスジェニックマウスを用いたB型肝炎ウイルスX遺伝子による肝発癌機構の解析

研究実績

研究原著論文数 英文 (Nature Medicine1998 1編 (first), PNAS 3編, Cancer Res 1編 (first) Gastroenterology 2編, Lancet 1編)

・これまでの研究実績

研究実績

研究原著論文数 英文 (Nature Medicine1998 1 編 (first), PNAS 3 編, Cancer Res 1 編 (first) Gastroenterology 2 編, Lancet 1 編)

1. Uni M, Shinohara A, Nukina A, Nakamura F, Nannya Y, Mizoguchi M, Okazaki M, Tatsuno K, Moriya K, Kurokawa Successful management of *Rothia aeria* pneumonia during the peritransplant period: first reported case in allogeneic hematopoietic stem cell transplant. *Leuk Lymphoma*. 2014 Jun 27;1-3. PMID:24766467
2. 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*. 2014 Mar 21;20(11):3044-9. PMID:24659896
3. Nguyen T, Xu J, Chikuma S, Hiai H, Kinoshita K, Moriya K, Koike K, Marcuzzi GP, Pfister H, Honjo T, Kobayashi M. Activation-induced cytidine deaminase is dispensable for virus-mediated liver and skin tumor development in mouse models. *Int Immunol*. 2014 Jul;26(7):397-406. PMID:24569264
4. Takahashi R, Sawabe E, Koyano S, Takahashi Y, Shima M, Ushizawa H, Fujie T, Tosaka N, Kato Y, Moriya K, Tohda S, Tojo N, Koike R, Kubota T. First report of KPC-2 Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Japan. Saito R, *Antimicrob Agents Chemother*. 2014 May;58(5):2961-3. PMID:24566171
5. Kishii K, Kikuchi K, Yoshida A, Okuzumi K, Uetera Y, Yasuhara H, Moriya K. Antimicrobial susceptibility profile of *Acinetobacter* species isolated from blood cultures in two Japanese university hospitals. *Microbiol Immunol*. 2014 Feb;58(2):142-6. PMID:24268024
6. Horiuchi Y, Takagi A, Kobayashi N, Moriya O, Nagai T, Moriya K, Tsutsumi T, Koike K, Akatsuka T. Effect of the infectious dose and the presence of hepatitis C virus core gene on mouse intrahepatic CD8 T cells. *Hepatol Res*. 2014. PMID:24224477
7. Uranbileg B, Enooku K, Soroida Y, Ohkawa R, Kudo Y, Nakagawa H, Tateishi R, Yoshida H, Shinzawa S, Moriya K, Ohtomo N, Nishikawa T, Inoue Y, Tomiya T, Kojima S, Matsuura T, Koike K, Yatomi Y, Ikeda H. High ubiquitous mitochondrial creatine kinase expression in hepatocellular carcinoma denotes a poor prognosis with highly malignant potential. *Int J Cancer*. 2014 May 1;134(9):2189-98. PMID:24174293
8. Yoshikawa T, Wada K, Lee JJ, Mitsuda T, Kidouchi K, Kurosu H, Morisawa Y, Aminaka M, Okubo T, Kimura S, Moriya K. Incidence rate of needlestick and sharps injuries in 67

Japanese hospitals: a national surveillance study. **PLoS One**. 2013 Oct 30;8(10):PMID: 24204856

9. Uetera Y, Kishii K, Yasuhara H, Kumada N, Moriya K, Saito R, Okazaki M, Misawa Y, Kawamura K. A 5 year longitudinal study of water quality for final rinsing in the single chamber washer-disinfector with a reverse osmosis plant. **PDA J Pharm Sci Technol**. 2013 Jul-Aug;67(4):399-411. PMID:23872448

10. *Yotsuyanagi H, Ito K, Yamada N, Takahashi H, Okuse C, Yasuda K, Suzuki M, Moriya K, Mizokami M, Miyakawa Y, Koike K. High levels of hepatitis B virus after the onset of disease lead to chronic infection in patients with acute hepatitis B. Clin Infect Dis. 2013 Oct;57(7):935-42. PMID:23704123*

11. Toya T, Shinohara A, Tatsuno K, Seo S, Nannya Y, Ichikawa M, Makimura K, Moriya K, Kurokawa M. A case of Schizophyllum commune sinusitis following unrelated cord blood transplantation for acute lymphoblastic leukemia. **Int J Hematol**. 2013 Aug;98(2):261-3. PMID:23686329

12. Hatakeyama S, Okamoto K, Yamamoto T, Hisaka A, Suzuki H, Yata N, Yotsuyanagi H, Moriya K. High plasma linezolid concentration and impaired renal function affect development of linezolid-induced thrombocytopenia. Nukui Y, **J Antimicrob Chemother**. 2013 Sep;68(9):2128-33. PMID:23625638

13. Higurashi Y, Tatsuno K, Fujimoto F, Kobayashi I, Ida K, Seto Y, Ohkusu K, Ezaki T, Okugawa S, Moriya K. Two cases of bacteremia caused by *Leptotrichia trevisanii* in patients with febrile neutropenia. **J Infect Chemother**. 2013 Dec;19(6):1181-4. PMID:23584842

14. Koya J, Nannya Y, Kobayashi H, Okugawa S, Moriya K, Kurokawa M. **J Infect**. 2013 Aug;67(2):164-6 PMID:23578595
2 Simultaneous increase in 1,3-β-D-glucan and procalcitonin levels in *Pseudomonas aeruginosa* infection.

15. Koyano S, Saito R, Nagai R, Tatsuno K, Okugawa S, Okamura N, Moriya K. Molecular characterization of carbapenemase-producing clinical isolates of Enterobacteriaceae in a teaching hospital, Japan. **J Med Microbiol**. 2013 Mar;62(Pt 3):446-50. PMID:23161765

16. *Yanagimoto S, Yotsuyanagi H, Kikuchi Y, Tsukada K, Kato M, Takamatsu J, Hige S, Chayama K, Moriya K, Koike K. Chronic hepatitis B in patients coinfecting with human immunodeficiency virus in Japan: J Infect Chemother. 2012 Dec;18(6):883-90. PMID:227603401.*

17. Nukui Y, Hatakeyama S, Kitazawa T, Mahira T, Shintani Y, Moriya Pandemic 2009 influenza A (H1N1) virus among Japanese healthcare workers: seroprevalence and risk factors. **Infect Control Hosp Epidemiol.** 2012 Jan;33(1):58-62.
18. Goto K, Hatakeyama S, Okamoto K, Kitazawa T, Abe K, Moriya K, Koike K, Dengue hemorrhagic fever in an adult traveler returning to Japan. **Intern Med.** 2012;51(13):1779-82. **Intern Med.** 2012;51(13):1779-82.
19. Araoka H, Baba M, Tateda K, Ishii Y, Oguri T, Okuzumi K, Oishi T, Mori S, Mitsuda T, Moriya K, Nakamori Y, Ohmagari N, Yamaguchi K, Yoneyama A; ABX Combination Therapy Study Group. In vitro combination effects of aztreonam and aminoglycoside against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Japan. **Jpn J Infect Dis.** 2012;65(1):84-7.
20. *Fujinaga H, Tsutsumi T, Yotsuyanagi H, Moriya K, Koike K. Hepatocarcinogenesis in hepatitis C: HCV shrewdly exacerbates oxidative stress by modulating both production and scavenging of reactive oxygen species. Oncology. 2011;81 Suppl 1:11-7.*
21. Nagai R, Saito R, Koyano S, Okamura N, Yokota H, Kitazawa T, Moriya K. Evaluation of multiplex PCR using dual-priming oligonucleotide for the detection of vanA and vanB in vancomycin-resistant enterococci. **Clin Chem Lab Med.** 2011 Apr;49(4):751-2.
22. *Kurano M, Iso-O N, Hara M, Ishizaka N, Moriya K, Koike K, Tsukamoto K. Kurano M, LXR agonist increases apoE secretion from HepG2 spheroid, together with an increased production of VLDL and apoE-rich large HDL. Lipids Health Dis. 2011 Aug 5;10:134.*
23. Koshiyama A, Ichibangase T, Moriya K, Koike K, Yazawa I, Imai K.. Liquid chromatographic separation of proteins derivatized with a fluorogenic reagent at cysteinyl residues on a non-porous column for differential proteomics analysis. **J Chromatogr A.** 2011 Jun 3;1218(22):3447-52. Epub 2011 Apr 4.
24. Miyoshi H, Moriya K, Tsutsumi T, Shinzawa S, Fujie H, Shintani Y, Fujinaga H, Goto K, Todoroki T, Suzuki T, Miyamura T, Matsuura Y, Yotsuyanagi H, Koike K. Pathogenesis of lipid metabolism disorder in hepatitis C: polyunsaturated fatty acids counteract lipid alterations induced by the core protein. **J Hepatol.** 2011 Mar;54(3):432-8
25. Saito R, Koyano S, Nagai R, Okamura N, Moriya K, Koike K Evaluation of a chromogenic agar medium for the detection of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae. **Lett Appl Microbiol.** 2010 Dec;51(6):704-6.
26. Pathogenesis of lipid metabolism disorder in hepatitis C: polyunsaturated fatty acids counteract lipid alterations induced by the core protein. Miyoshi H, Moriya K, Tsutsumi T, Shinzawa S, Fujie H, Shintani Y, Fujinaga H, Goto K, Todoroki T, Suzuki T, Miyamura T, Matsuura Y, Yotsuyanagi H, Koike K. **J Hepatol.** 2011 Mar;54(3):432-8.
27. Lipid metabolism and liver disease in hepatitis C viral infection. Koike K, Tsutsumi T, Yotsuyanagi H, Moriya K. **Oncology.** 2010 Jul;78 Suppl 1:24-30.

28. Moriya K, Miyoshi H, Shinzawa S, Tsutsumi T, Fujie H, Goto K, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Koike K. Hepatitis C virus core protein compromises iron-induced activation of antioxidants in mice and HepG2 cells. **J Med Virol**. 2010 May;82(5):776-92.
29. Koike K, Moriya K, Matsuura Y. Animal models for hepatitis C and related liver disease. **Hepatol Res**. 2010 Jan;40(1):69-82.
30. Moriya K, Miyoshi H, Tsutsumi T, Shinzawa S, Fujie H, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Moriishi K, Matsuura Y, Suzuki T, Miyamura T, Koike K. Tacrolimus ameliorates metabolic disturbance and oxidative stress caused by hepatitis C virus core protein: analysis using mouse model and cultured cells. **Am J Pathol**. 2009 Oct;175(4):1515-24.
31. Saito R, Uetera Y, Saito Y, Okamura N, Moriya K, Koike K. Evaluation of the efficacy of a low temperature steam and formaldehyde steriliser by using biological indicators. **J Hosp Infect**. 2009 Oct;73(2):179-80.
32. Tsutsumi T, Matsuda M, Aizaki H, Moriya K, Miyoshi H, Fujie H, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Miyamura T, Suzuki T, Koike K. Proteomics analysis of mitochondrial proteins reveals overexpression of a mitochondrial protein chaperon, prohibitin, in cells expressing hepatitis C virus core protein. **Hepatology**. 2009 Aug;50(2):378-86.
33. Ode T, Saito R, Kumita W, Sato K, Okugawa S, Moriya K, Koike K, Okamura N. Analysis of plasmid-mediated multidrug resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella oxytoca* isolates from clinical specimens in Japan. **Int J Antimicrob Agents**. 2009 Oct;34(4):347-50.
34. Yotsuyanagi H, Kikuchi Y, Tsukada K, Nishida K, Kato M, Sakai H, Takamatsu J, Hige S, Chayama K, Moriya K, Koike K. Chronic hepatitis C in patients co-infected with human immunodeficiency virus in Japan: a retrospective multicenter analysis. **Hepatol Res**. 2009 Jul;39(7):657-63.
35. Kumita W, Saito R, Sato K, Ode T, Moriya K, Koike K, Chida T, Okamura N. Molecular characterizations of carbapenem and ciprofloxacin resistance in clinical isolates of *Pseudomonas putida*. **J Infect Chemother**. 2009 Feb;15(1):6-12.
36. Ichibangase T, Moriya K, Koike K, Imai K. Limitation of immunoaffinity column for the removal of abundant proteins from plasma in quantitative plasma proteomics. **Biomed Chromatogr**. 2009 May;23(5):480-7.
37. Hashimoto M, Sugawara Y, Tamura S, Kaneko J, Matsui Y, Togashi J, Moriya K, Koike K, Makuuchi M. Acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* after living donor liver transplantation: a retrospective cohort study. **BMC Infect Dis**. 2008 Nov 11;8:155.
38. Koike K, Tsutsumi T, Miyoshi H, Shinzawa S, Shintani Y, Fujie H, Yotsuyanagi H, Moriya K. Molecular basis for the synergy between alcohol and hepatitis C virus in hepatocarcinogenesis. **J Gastroenterol Hepatol**. 2008 Mar;23 Suppl 1:S87-91.
39. Tanaka N, Moriya K, Kiyosawa K, Koike K, Gonzalez FJ, Aoyama T. PPARalpha

- activation is essential for HCV core protein-induced hepatic steatosis and hepatocellular carcinoma in mice. **J Clin Invest.** 2008 Feb;118(2):683-94.
40. Hashimoto M, Sugawara Y, Tamura S, Kaneko J, Matsui Y, Moriya K, Koike K, Makuuchi M. Impact of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage postoperatively after living donor liver transplantation. **Transplant Proc.** 2007 Dec;39(10):3271-5.
41. Koike K, Kikuchi Y, Kato M, Takamatsu J, Shintani Y, Tsutsumi T, Fujie H, Miyoshi H, Moriya K, Yotsuyanagi H. Prevalence of hepatitis B virus infection in Japanese patients with HIV. **Hepatology Res.** 2008 Mar;38(3):310-4.
42. Saito R, Okugawa S, Kumita W, Sato K, Chida T, Okamura N, Moriya K, Koike K. Clinical epidemiology of ciprofloxacin-resistant *Proteus mirabilis* isolated from urine samples of hospitalised patients. **Clin Microbiol Infect.** 2007 Dec;13(12):1204-6.
43. Tanaka N, Moriya K, Kiyosawa K, Koike K, Aoyama T. Hepatitis C virus core protein induces spontaneous and persistent activation of peroxisome proliferator-activated receptor alpha in transgenic mice: implications for HCV-associated hepatocarcinogenesis. **Int J Cancer.** 2008 Jan 1;122(1):124-31.
44. Hashimoto M, Sugawara Y, Tamura S, Kaneko J, Matsui Y, Moriya K, Koike K, Makuuchi M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection after living-donor liver transplantation in adults. **Transpl Infect Dis.** 2008 Apr;10(2):110-6.
45. Misawa Y, Yoshida A, Saito R, Yoshida H, Okuzumi K, Ito N, Okada M, Moriya K, Koike K. Application of loop-mediated isothermal amplification technique to rapid and direct detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in blood cultures. **J Infect Chemother.** 2007 Jun;13(3):134-40.
46. Aono J, Yotsuyanagi H, Miyoshi H, Tsutsumi T, Fujie H, Shintani Y, Moriya K, Okuse C, Suzuki M, Yasuda K, Iino S, Koike K. Amino acid substitutions in the S region of hepatitis B virus in sera from patients with acute hepatitis. **Hepatology Res.** 2007 Sep;37(9):731-9.
47. Ichibangase T, Moriya K, Koike K, Imai K. A proteomics method revealing disease-related proteins in livers of hepatitis-infected mouse model. **J Proteome Res.** 2007 Jul;6(7):2841-9.
48. Suzuki Y, Yotsuyanagi H, Okuse C, Nagase Y, Takahashi H, Moriya K, Suzuki M, Koike K, Iino S, Itoh F. Fatal liver failure caused by reactivation of lamivudine-resistant hepatitis B virus: a case report. **World J Gastroenterol.** 2007 Feb 14;13(6):964-9.
49. Koike K, Tsukada K, Yotsuyanagi H, Moriya K, Kikuchi Y, Oka S, Kimura S. Prevalence of coinfection with human immunodeficiency virus and hepatitis C virus in Japan. **Hepatology Res.** 2007 Jan;37(1):2-5.
50. Saito R, Kumita W, Sato K, Chida T, Okamura N, Moriya K, Koike K. Detection of plasmid-mediated quinolone resistance associated with *qnrA* in an *Escherichia coli* clinical isolate producing CTX-M-9 beta-lactamase in Japan. **Int J Antimicrob Agents.**

2007 May;29(5):600-2.

51.Moriishi K, Mochizuki R, Moriya K, Miyamoto H, Mori Y, Abe T, Murata S, Tanaka K, Miyamura T, Suzuki T, Koike K, Matsuura Y.Critical role of PA28gamma in hepatitis C virus-associated steatogenesis and hepatocarcinogenesis.**Proc Natl Acad Sci U S A.** 2007 Jan 30;104(5):1661-6. Epub 2007 Jan 18.

52.Miyamoto H, Moriishi K, Moriya K, Murata S, Tanaka K, Suzuki T, Miyamura T, Koike K, Matsuura Y.Involvement of the PA28gamma-dependent pathway in insulin resistance induced by hepatitis C virus core protein.**J Virol.** 2007 Feb;81(4):1727-35.

53.*Saito R, Sato K, Kumita W, Inami N, Nishiyama H, Okamura N, Moriya K, Koike K.Role of type II topoisomerase mutations and AcrAB efflux pump in fluoroquinolone-resistant clinical isolates of Proteus mirabilis.***J Antimicrob Chemother.** 2006 Sep;58(3):673-7.

54.*Saito R, Misawa Y, Moriya K, Koike K, Ubukata K, Okamura N.Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of Mycoplasma pneumoniae.***J Med Microbiol.** 2005 Nov;54(Pt 11):1037-41.

55.Miyoshi H, Fujie H, Shintani Y, Tsutsumi T, Shinzawa S, Makuuchi M, Kokudo N, Matsuura Y, Suzuki T, Miyamura T, Moriya K, Koike K.Hepatitis C virus core protein exerts an inhibitory effect on suppressor of cytokine signaling (SOCS)-1 gene expression.**J Hepatol.** 2005 Nov;43(5):757-63. Epub 2005 May 31.

56.Koike K, Moriya K.Metabolic aspects of hepatitis C viral infection: steatohepatitis resembling but distinct from NASH.**J Gastroenterol.** 2005 Apr;40(4):329-36. Review.

57.*Hatakeyama S, Moriya K, Saijo M, Morisawa Y, Kurane I, Koike K, Kimura S, Morikawa S.Persisting humoral antiviral immunity within the Japanese population after the discontinuation in 1976 of routine smallpox vaccinations.***Clin Diagn Lab Immunol.** 2005 Apr;12(4):520-4.

58.Miyoshi H, Fujie H, Moriya K, Shintani Y, Tsutsumi T, Makuuchi M, Kimura S, Koike K.Methylation status of suppressor of cytokine signaling-1 gene in hepatocellular carcinoma.**J Gastroenterol.** 2004 Jun;39(6):563-9.

59.Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, Tsutsumi T, Tsukamoto K, Kimura S, Moriya K, Koike K.Hepatitis C virus infection and diabetes: direct involvement of the virus in the development of insulin resistance.**Gastroenterology.** 2004 Mar;126(3):840-8.

60.*Hatakeyama S, Moriya K, Itoyama S, Nukui Y, Uchida M, Shintani Y, Morisawa Y, Kimura S.Prevalence of measles, rubella, mumps, and varicella antibodies among healthcare workers in Japan.***Infect Control Hosp Epidemiol.** 2004 Jul;25(7):591-4.

61.Tsutsumi T, Suzuki T, Moriya K, Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, Matsuura Y, Koike K, Miyamura T.Hepatitis C virus core protein activates ERK and p38 MAPK in cooperation with ethanol in transgenic mice.**Hepatology.** 2003 Oct;38(4):820-8.

62.Moriishi K, Okabayashi T, Nakai K, Moriya K, Koike K, Murata S, Chiba T, Tanaka K,

Suzuki R, Suzuki T, Miyamura T, Matsuura Y. Proteasome activator PA28gamma-dependent nuclear retention and degradation of hepatitis C virus core protein. **J Virol**. 2003 Oct;77(19):10237-49.

63. Moriya K, Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, Tsutsumi T, Yotsuyanagi H, Iino S, Kimura S, Koike K. Serum lipid profile of patients with genotype 1b hepatitis C viral infection in Japan. **Hepatol Res**. 2003 Apr;25(4):371-376.

64. Tsutsumi T, Suzuki T, Moriya K, Yotsuyanagi H, Shintani Y, Fujie H, Matsuura Y, Kimura S, Koike K, Miyamura T. Alteration of intrahepatic cytokine expression and AP-1 activation in transgenic mice expressing hepatitis C virus core protein. **Virology**. 2002 Dec 20;304(2):415-24.

65. Yotsuyanagi H, Yasuda K, Iino S, Moriya K, Shintani Y, Fujimie H, Tsutsumi T, Kimura S, Koike K, Norjiri N, Juji T, Hoshino H, Hino K. HBV DNA in serum of HBsAg-negative, anti-HBc-positive blood donors. **Transfusion**. 2002 Dec;42(12):1616-7. No abstract available.

66. Koike K, Moriya K, Kimura S. Role of hepatitis C virus in the development of hepatocellular carcinoma: transgenic approach to viral hepatocarcinogenesis. **J Gastroenterol Hepatol**. 2002 Apr;17(4):394-400. Review.

67. Tsutsumi T, Suzuki T, Shimoike T, Suzuki R, Moriya K, Shintani Y, Fujie H, Matsuura Y, Koike K, Miyamura T. Interaction of hepatitis C virus core protein with retinoid X receptor alpha modulates its transcriptional activity. **Hepatology**. 2002 Apr;35(4):937-46.

68. Yotsuyanagi H, Yasuda K, Moriya K, Shintani Y, Fujie H, Tsutsumi T, Nojiri N, Juji T, Hoshino H, Shimoda K, Hino K, Kimura S, Iino S, Koike K. Frequent presence of HBV in the sera of HBsAg-negative, anti-HBc-positive blood donors. **Transfusion**. 2001 Sep;41(9):1093-9.

69. Moriya K, Nakagawa K, Santa T, Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, Tsutsumi T, Miyazawa T, Ishibashi K, Horie T, Imai K, Todoroki T, Kimura S, Koike K. Oxidative stress in the absence of inflammation in a mouse model for hepatitis C virus-associated hepatocarcinogenesis. **Cancer Res**. 2001 Jun 1;61(11):4365-70.

70. Fujie H, Moriya K, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Iino S, Koike K. Hepatitis B virus genotypes and hepatocellular carcinoma in Japan. **Gastroenterology**. 2001 May;120(6):1564-5.

71. Fujie H, Moriya K, Shintani Y, Tsutsumi T, Takayama T, Makuuchi M, Kimura S, Koike K. Frequent beta-catenin aberration in human hepatocellular carcinoma. **Hepatol Res**. 2001 May 1;20(1):39-51.

72. Moriya K, Todoroki T, Tsutsumi T, Fujie H, Shintani Y, Miyoshi H, Ishibashi K, Takayama T, Makuuchi M, Watanabe K, Miyamura T, Kimura S, Koike K. Increase in the concentration of carbon 18 monounsaturated fatty acids in the liver with hepatitis C: analysis in transgenic mice and humans. **Biochem Biophys Res Commun**. 2001

Mar;281(5):1207-12.

73.. Shintani Y, Yotsuyanagi H, Moriya K, Fujie H, Tsutsumi T, Takayama T, Makuuchi M, Kimura S, Koike K. The significance of hepatitis B virus DNA detected in hepatocellular carcinoma of patients with hepatitis C. **Cancer**. 2000 Jun 1;88(11):2478-86.

74. Yotsuyanagi H, Shintani Y, Moriya K, Fujie H, Tsutsumi T, Kato T, Nishioka K, Takayama T, Makuuchi M, Iino S, Kimura S, Koike K. Virologic analysis of non-B, non-C hepatocellular carcinoma in Japan: frequent involvement of hepatitis B virus. **J Infect Dis**. 2000 Jun;181(6):1920-8. Epub 2000 May 31.

75. Shintani Y, Yotsuyanagi H, Moriya K, Fujie H, Tsutsumi T, Kanegae Y, Kimura S, Saito I, Koike K. Induction of apoptosis after switch-on of the hepatitis B virus X gene mediated by the Cre/loxP recombination system. **J Gen Virol**. 1999 Dec;80 (Pt 12):3257-65.

76. Fujie H, Yotsuyanagi H, Moriya K, Shintani Y, Tsutsumi T, Takayama T, Makuuchi M, Matsuura Y, Miyamura T, Kimura S, Koike K. Steatosis and intrahepatic hepatitis C virus in chronic hepatitis. **J Med Virol**. 1999 Oct;59(2):141-5.

77. Koike K, Moriya K, Yotsuyanagi H, Shintani Y, Fujie H, Tsutsumi T, Kimura S. Compensatory apoptosis in preneoplastic liver of a transgenic mouse model for viral hepatocarcinogenesis. **Cancer Lett**. 1998 Dec 25;134(2):181-6.

78. Moriya K, Fujie H, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Tsutsumi T, Ishibashi K, Matsuura Y, Kimura S, Miyamura T, Koike K. The core protein of hepatitis C virus induces hepatocellular carcinoma in transgenic mice. **Nat Med**. 1998 Sep;4(9):1065-7.

79. Yotsuyanagi H, Yasuda K, Iino S, Moriya K, Shintani Y, Fujie H, Tsutsumi T, Kimura S, Koike K. Persistent viremia after recovery from self-limited acute hepatitis B. **Hepatology**. 1998 May;27(5):1377-82.

80. Yotsuyanagi H, Shintani Y, Moriya K, Fujie H, Tsutsumi T, Kimura S, Koike K. Regulation of Fas gene expression in HeLa cells as determined by modified RT-PCR. **Cell Mol Life Sci**. 1998 Feb;54(2):186-90.

81. Maruyama T, Kuwata S, Koike K, Iino S, Yasuda K, Yotsuyanagi H, Moriya K, Maekawa H, Yamada H, Shibata Y, Milich DR. Precore wild-type DNA and immune complexes persist in chronic hepatitis B after seroconversion: no association between genome conversion and seroconversion. **Hepatology**. 1998 Jan;27(1):245-53.

82. Moriya K, Fujie H, Yotsuyanagi H, Shintani Y, Tsutsumi T, Matsuura Y, Miyamura T, Kimura S, Koike K. Subcellular localization of hepatitis C virus structural proteins in the liver of transgenic mice. **Jpn J Med Sci Biol**. 1997 Aug-Oct;50(4-5):169-77.

83. Moriya K, Yotsuyanagi H, Shintani Y, Fujie H, Ishibashi K, Matsuura Y, Miyamura T, Koike K. Hepatitis C virus core protein induces hepatic steatosis in transgenic mice. **J Gen Virol**. 1997 Jul;78 (Pt 7):1527-31.

84. Koike K, Moriya K, Ishibashi K, Yotsuyanagi H, Shintani Y, Fujie H, Kurokawa K,

- Matsuura Y, Miyamura T. Sialadenitis histologically resembling Sjogren syndrome in mice transgenic for hepatitis C virus envelope genes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Jan 7;94(1):233-6.
85. Yotsuyanagi H, Koike K, Yasuda K, Moriya K, Shintani Y, Fujie H, Kurokawa K, Iino S. Prolonged fecal excretion of hepatitis A virus in adult patients with hepatitis A as determined by polymerase chain reaction. *Hepatology*. 1996 Jul;24(1):10-3.
86. Moriya K, Matsukura M, Kurokawa K, Koike K. In vivo inhibition of hepatitis B virus gene expression by antisense phosphorothioate oligonucleotides. *Biochem Biophys Res Commun*. 1996 Jan 5;218(1):217-23.
87. Koike K, Moriya K, Ishibashi K, Matsuura Y, Suzuki T, Saito I, Iino S, Kurokawa K, Miyamura T. Expression of hepatitis C virus envelope proteins in transgenic mice. *J Gen Virol*. 1995 Dec;76 (Pt 12):3031-8.
88. Yotsuyanagi H, Koike K, Yasuda K, Moriya K, Hino K, Kurokawa K, Iino S. Hepatitis C virus genotypes and development of hepatocellular carcinoma. *Cancer*. 1995 Oct 15;76(8):1352-5.
89. Koike K, Yasuda K, Yotsuyanagi H, Moriya K, Hino K, Kurokawa K, Iino S. Dominant replication of either virus in dual infection with hepatitis viruses B and C. *J Med Virol*. 1995 Feb;45(2):236-9.
90. Moriya K, Yasuda K, Koike K, Ichinose Y, Yotsuyanagi H, Kurokawa K, Iino S. Induction of interstitial pneumonitis during interferon treatment for chronic hepatitis C. *J Gastroenterol*. 1994 Aug;29(4):514-7.
91. Koike K, Moriya K, Yotsuyanagi H, Iino S, Kurokawa K. Induction of cell cycle progression by hepatitis B virus HBx gene expression in quiescent mouse fibroblasts. *J Clin Invest*. 1994 Jul;94(1):44-9.
92. Koike K, Moriya K, Iino S, Yotsuyanagi H, Endo Y, Miyamura T, Kurokawa K. High-level expression of hepatitis B virus HBx gene and hepatocarcinogenesis in transgenic mice. *Hepatology*. 1994 Apr;19(4):810-9.
93. *Matsuhashi N, Nakagama H, Moriya K, Ohnishi S, Gunji T, Saito T, Sugano K, Imawari M, Takaku F, Minami M, et al. Multiple diffuse hemangiomas of the large intestine. Gastroenterol Jpn. 1991 Oct;26(5):654-60.*
94. *Chiba S, Miyagawa K, Tanaka T, Moriya K, Takahashi K, Hirai H, Takaku F. Tryptophan-associated eosinophilia-myalgia syndrome and pancreatitis. Tryptophan-associated eosinophilia-myalgia syndrome and pancreatitis. Lancet. 1990 Jul 14;336(8707):121.*

ガイドライン

1. 日常生活でウイルス肝炎の伝播を防止するためのガイドライン（一般の人向け）

集団の場における肝炎ウイルス感染予防ガイドライン作成のための研究班 厚生労働省 2014年

正木尚彦、森兼啓太、森屋恭爾、八橋弘、四柳宏

2. 「肝癌診療における Quality Indicator (QI) の策定」がん対策における管理評価指標群の策定とその計測システムの確立に関する研究班 2009年厚生労働省

国際学会 本年度

1) Integrated hepatitis B virus DNA is epigenomically affected by the methylation status of the human genome

Hiroshi Yotsuyanagi, Yoshiyuki Watanabe, Hiroyuki Yamamoto, Ritsuko Oikawa, Shinji Tanaka, Masakazu Yamamoto, Norihiro Kokudo, Kyoji Moriya, Shigeki Arii, Fumio Itoh and Kazuhiko Koike. 2014 Single Topic conference. 2014.11

2) Expression of Bnip3, a mitochondrial autophagy (mitophagy)-related gene, is decreased in cells expressing the core protein of hepatitis C virus.

Takeya Tsutsumi, Kazuya Okushin, Kenichiro Enooku, Hidetaka Fujinaga, Hiroshi Yotsuyanagi, Kyoji Moriya, Kazuhiko Koike. 21st International Symposium on Hepatitis C and Related Viruses

3) 2014 AASLD

Next-generation sequencing revealed the prevalence of multi-geno/subtypic multiple infection of hepatitis C virus in hemophiliac patients in Japan.

Masato Ogishi, Hiroshi Yotsuyanagi, Takeya Tsutsumi, Hiroyuki Gatanaga, Kyoji Moriya & Kazuhiko Koike.

B型肝炎ウイルスの完全排除等、完治を目指した新規治療法の開発に関する包括的研究

研究代表者: 森屋恭爾 (東京大学 医学部附属病院)

- 斎藤 泉 (東京大学 医科学研究所)
- 小池和彦 (東京大学 医学部附属病院)
- 國土典宏 (東京大学 医学研究科外科学)
- 鈴木哲朗 (浜松医科大学 医学部感染症学)
- 北川雅敏 (浜松医科大学 医学部分子生物学)
- 朝比奈靖浩 (東京医科歯科大学 分子肝炎制御学)
- 森石恒司 (山梨大学医学工学研究部微生物学)
- 田川陽一 (東京工業大学 生命理工学研究科)
- 福原崇介 (大阪大学 微生物病研究所)

創薬と捜薬

スタチン: 細胞保護作用、抗炎症活性、抗HBV活性

Induction of cytoprotective enzyme heme oxygenase-1 by statins

J Biol Chem. 284: 18882-92 (2009).

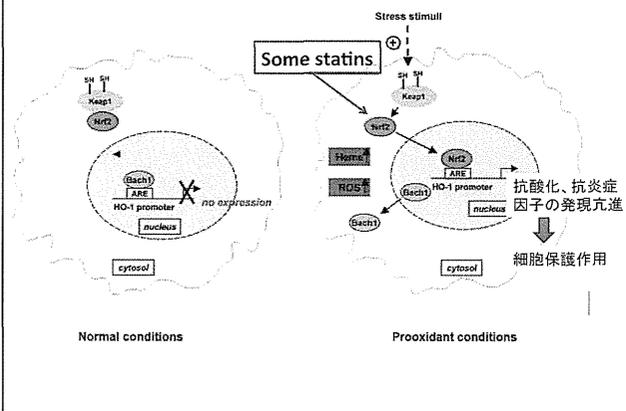
Antiviral activity and hepatoprotection by heme oxygenase-1 in HBV infection

Gastroenterology. 133: 1156-65 (2007).

Simvastatin potentiates anti-HBV activity of nucleoside analogue inhibitors

Antiviral Res. 86: 241-5 (2010).

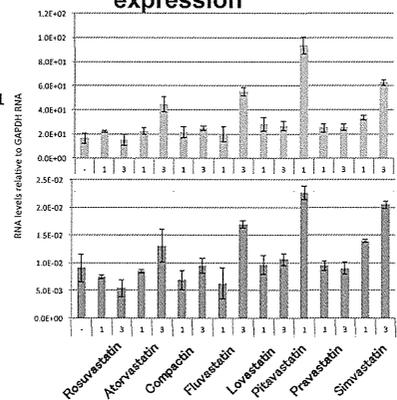
Nrf-ARE pathwayによる抗炎症性因子の発現



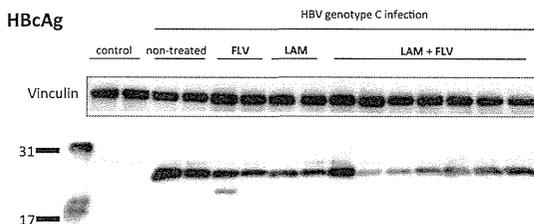
Effects of statins on NQO1 and Nrf1 RNA expression

NAD(P)H dehydrogenase, quinone (NQO) 1

Nrf2



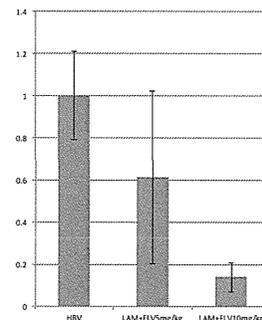
ヒト肝臓キメラマウスモデルにおける FLVの抗HBV活性 4週間投与



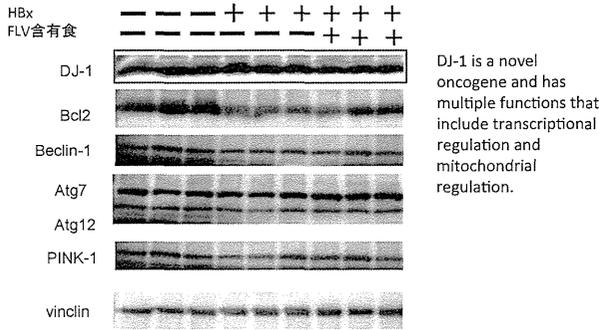
ヒト肝臓キメラマウスモデルにおける FLVの抗HBV活性



HBV mRNA



HBxトランスジェニックマウスへのFLV投与に伴う肝臓中オートファジー関連タンパク質の発現変化



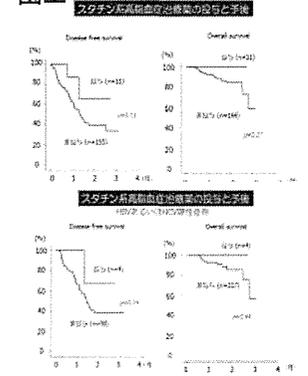
HBx遺伝子発現マウス(6ヶ月齢C57/BL6N male)
3ヶ月間 FLV含有食/常食

高脂血症治療薬投与が肝細胞癌術後患者の予後に及ぼす影響 国土

スタチンがメバロン酸の代謝を抑制し、アポB100を誘導したり、腫瘍の増殖を抑制する効果があることが基礎実験および様々な毒性種属において知られている。肝細胞癌についても慢性B型肝炎患者の肝細胞癌の発生を抑制していることが報告された。しかし、肝細胞癌の術後におけるスタチン投与の再発抑制効果については知られていない。そこで東京大学肝臓病センターにおける肝細胞癌切除術でスタチン投与の意義を検討した。

■対象
当科で2009年-2011年に肝切除を行った肝細胞癌患者 239 例のうち、予後の追跡されている166例について、スタチンの投与と予後の関連を検討した。

■結論
術後投与の後ろ向き検討結果ではスタチン投与が肝細胞癌再発の抑制に等しい可能性は示唆された。肝細胞癌患者に対するスタチン投与は6-8%と低率なため、術後投与の検討では不十分であり、多施設共同の後ろ向き研究を行うことが望ましい。



海洋抽出物・天然物などから同定した抗HBV化合物 (森石)

Products	IC50	CC50	Selectivity Index	評価系
Metachromin A	0.8±0.1	15.7±1.4	19.6	上清HBVDNA (HepG2.2.15)
3,5-Dibromo-2-(2,4-dibromophenoxy) phenol (PBDE類)	0.2±0.1	4.2±0.1	18.2	上清HBVDNA (HepG2.2.15)
3,4,5-Tribromo-2-(2,4-dibromophenoxy)-phenol (PBDE類)	0.8±0.3	10.3±3.7	12.8	上清HBVDNA (HepG2.2.15)
Berberine	9.0±0.2	102.9±0.8	11.4	上清HBVDNA (HepG2.2.15)
Simvastatin	5.2 ± 0.6	> 30	ND	HBV感染系

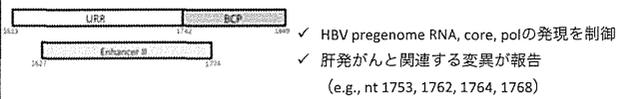
結果

- ウイルスプロモーター抑制
- HepG2.2.15.7細胞からのウイルス産生を抑制

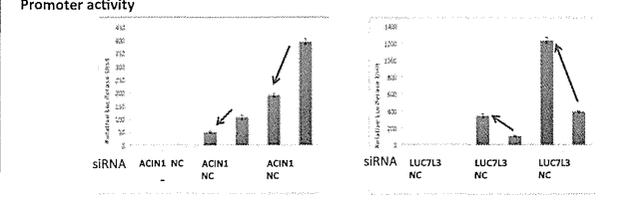
H27年度の計画

- 作用機序解析
- 他化合物との併用効果を解析
- cccDNAへの影響

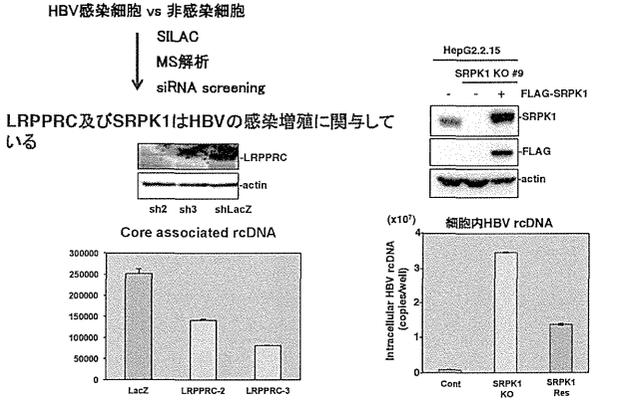
HBV Enhancer II/BCPに結合しHBV遺伝子発現を制御する宿主因子の探索と阻害剤スクリーニングへの応用



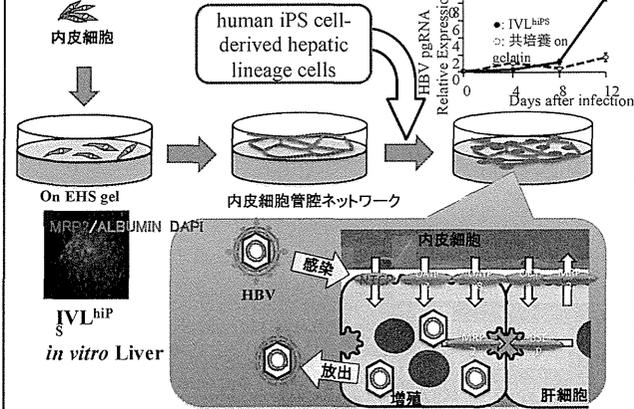
HBV pregenome/Core promoter調節候補因子: ACIN1 (正に制御)とLUC7L3 (負に制御)



HBV感染増殖を制御する宿主因子の探索、同定 福原



in vitro HBV感染・増殖モデルの開発 田川



HBVワクチンは移植後HBV再発を抑制する

Patient characteristics according to vaccine responsiveness (univariate analysis)

N	Good responder (≥100 IU/ml)		p-value
	n (%)	No responder (<100 IU/ml)	
Vaccine related factors			
Age at LT	50 (45-52)	52 (37-62)	0.56
Age at the start of vaccination	55 (54-60)	50 (52-57)	0.87
Gender (male)	407 (94)	270 (93)	0.12
Body weight	56.8 (54.8-58.9)	64.5 (61.8-67.2)	0.11
Time of vaccination (months after LT)	112 (105-119)	107 (101-113)	0.50*
Serum positive HBV DNA at LT	145 (112.6-175.6)	128 (56.9-199.0)	0.65
Serum positive HBsAg at LT	0 (0%)	30 (9%)	0.11
HBsAb titer	22 (9%)	3 (9%)	0.23
MELD score	18.3 (15.1-21.4)	15.8 (14.2-17.3)	0.81
HBV DNA age annual (IU/ml) monthly during trial	1070 (510/1000-2000)	1700 (1000/1000-3000)	0.9
HCC	11 (4%)	17 (5%)	0.99
Development hepatic failure	6 (2%)	4 (1%)	0.32
NA before LT	5 (1%)	2 (6%)	0.78
Cx level (log IU/ml) at the start of vaccination	8.8 (8.2-9.4)	10.9 (10.1-11.6)	0.07
FK trough level (log IU/ml) at the start of vaccination	5.9 (5.4-6.4)	6.4 (5.9-6.9)	0.27
Cx trough level (log IU/ml) at the start of vaccination	112 (108-116)	150 (145-155)	0.42
Factor related factors	71 (94%)	36 (94%)	0.49
Living Donor liver	40 (40%)	37 (40%)	0.68
Age at LT	40 (40-40)	37 (37-37)	0.21
Sex (male)	34 (84%)	28 (76%)	0.21
Blood relative titer	4 (9%)	2 (5%)	0.79
Donor HBsAb	4 (9%)	2 (5%)	0.49
Donor HBsAb	4 (9%)	2 (5%)	0.49
Positive HBsAb negative HBsAb	14 (14%)	11 (11%)	0.47
Positive HBsAb positive HBsAb	46 (46%)	25 (25%)	0.87

特許権等知的財産権の取得 (2012年度1件2014年度2件取得合計3件)

特許

1) 肝炎組織体、肝炎ウイルスの感染方法、肝炎組織体の製造方法、肝炎ウイルスの増殖方法、肝炎ワクチンの製造方法、スクリーニング方法、およびキット発明者: 田川 隼二、玉井 貴彦、アン ソンホ、鈴木 哲朗、伊藤 昌彦、中島 謙治 権利者: 東工大、浜松医科大学 種別: 特許 番号: 特願2014-52754

出願年月日: 2014年03月14日 国内: (田川 鈴木哲朗)

2) VA遺伝子破壊アデノウイルスベクターおよびそれを調製するための前駆体ベクター 査読 特願2012-213069

3) 「複数のユニットが多重に連結したDNAカセットおよび」該カセットを含むベクターの製造方法」査読 特願2014-242914

○ガイドライン 3件

1) 日常生活でウイルス肝炎の伝播を防止するためのガイドライン(一般の人向け)

集団の場合における肝炎ウイルス感染予防ガイドライン作成のための研究班

正木尚彦、森兼啓太、森屋恭平、八橋弘、四柳宏厚生労働省2014年

2) C型肝炎治療ガイドライン(第3版) 梶山 謙治、泉並木、熊田博光、黒崎雅之、小池和彦、鈴木文孝、滝川一、田中 篤、田中榮司、田中靖人、坪内博仁、林紀夫、平松直樹、四柳宏、日本肝臓学会肝炎治療ガイドライン作成委員会。(2014)肝臓35: 634-644, 2014.

3) B型肝炎治療ガイドライン(第1.1版) 梶山謙治、泉並木、榎谷真、熊田博光、黒崎雅之、小池和彦、鈴木文孝、滝川一、田中篤、田中榮司、田中靖人、坪内博仁、林紀夫、平松直樹、四柳宏、日本肝臓学会肝炎治療ガイドライン作成委員会 肝臓54:402-472, 2013.

○共同成果

平成25年8月2日 東京 共同研究会議

次世代生命基盤技術を用いたB型肝炎抑制のための創薬研究(研究代表者 小島聡一先生 参加

コアプロモーター細胞アッセイ系(森石先生 鈴木先生)を分与 小嶋班 コアプロモーター細胞アッセイ系を使用し約800化合物スクリーニング、80化合物がヒットし、抗HBV活性検討中

工程表 研究代表者 森屋恭平 平成26年度目標ほぼ達成



利益相反について

利益相反の有無等(平成26年度)

利益相反の有無 無

他の研究班への参加状況

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。

合同研究班会議開催状況

他の研究班と合同での研究班会議開催状況(平成26年度)

イ 他の研究班と合同で研究班会議を開催している。

平成27年1月8日 東京
HBV cccDNAの制御と排除を目指す新規免疫治療薬の開発に関する研究(金子周一先生)
B型肝炎ウイルスの持続感染を再現する効率的な培養細胞評価系の開発に関する研究(田中靖人先生)

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：B型肝炎ウイルスの持続感染を再現する効率的な培養細胞評価系の開発に関する研究

課題番号：H24-B創-肝炎-一般-013

予定期間：H24年度からH28年度まで

研究代表者：田中 靖人

所属研究機関、部局：公立大学法人名古屋市立大学、大学院医学研究科

職名：教授

委託費(決定額)：1年目 208,000,000円 2年目 200,000,000円 3年目 205,000,000円

計 613,000,000円

I. 研究の意義

B型肝炎ウイルス(HBV)根絶を目指したB型肝炎創薬実用化研究を効率良く推進するためには、HBV持続感染を再現する培養細胞評価系を開発し、HBV感染感受性・増殖機構から病態メカニズムの解明、レセプターの同定、薬剤スクリーニング等を効率的に実施できる簡便なシステムを構築することが重要である。

II. 研究の目的、期待される成果

本研究の目的は、すでに作成済の複製クローンや感染源を最大限活用し、1)最適なヒト肝細胞の選択(初代肝細胞、肝細胞株、iPS細胞由来肝細胞)、2)新規培養システムの構築(3次元培養)、3)ヒト肝細胞の機能を保持する環境因子の解明(microRNA、脂質代謝、トランスポーター、免疫反応)、4)HBV感染感受性環境の構築(HBVライフサイクル解明から創薬)であり、ウイルス学・肝臓学・臨床薬学・分子生物学の専門家に加えて、免疫学・リポミクス・脂質代謝・microRNA解析の各専門家が相互に連携して組織全体の研究を構成することで、B型肝炎創薬実用化研究を遂行する。本研究の成果により、B型肝炎治療薬に関する多くのシーズが創出できると予想され、患者の予後を改善するのみならず、治療の効率化をはかることで医療費の低減に繋がり、社会福祉に寄与することができる。

III. 3年間の研究成果

・研究代表者

(1)大量調製した HBV感染感受性キメラマウス由来の初代肝細胞や NTCP 発現 HepG2 細胞を用いた HBV 持続感染培養系を構築し、HBV感染防御試験や薬剤感受性試験を実施(文献6)。(2)これまでに構築したスクリーニング系を用いて 他班(満屋班、小嶋班)との共同研究を展開し、新規薬剤の探索、評価、前臨床試験を実施。複数の候補化合物の抗HBV活性を確認(投稿中)。(3) 富山化学の化合物ライブラリー約2,400化合物について、HepG2-NTCP細胞を用いて抗HBV活性の評価を実施し、ヒット化合物を複数取得した(検証中)。

・研究分担者

主要な成果：①HBVのmRNAを標的にした3種類のsiRNAにより、HBV関連蛋白及びウイルス産生の効果的抑制に成功(棟方)。②IL-1およびTNFαが宿主細胞のHBV感染許容性を低下させることを発見(文献20)。③ シチジンデアミナーゼ AID が HBV 感染を抑制することを発見。④22(S)-hydroxycholesterol(文献①)、proanthocyanidineをHBV感染阻害化合物として同定(渡士)。⑤HBVによる自然免疫活性化メカニズムの解明およびdecoy核酸による抗HBVウイルス効果を発見(文献①)。⑥GPGPU型スーパーコンピューターによるインシリコ理論計算創薬の基盤整備、SphK1を標的としたインシリコスクリーニングによる1,000化合物の抽出、

SphK1 酵素活性測定システムの構築(濱田)。候補化合物の合成展開、薬効評価を開始。⑦HBV 感染阻害が見られる多価不飽和脂肪酸(DHA)により増加が抑制される脂質分子(PIP2)を同定(中西、深澤)。

(1) 最適なヒト肝細胞の選択(調、水口、石田)

・研究分担者(調) ①生体肝移植ドナーより、肝細胞を採取し、uPA/SCID マウスへ移植し生着を確認。②日本人由来の肝細胞を用いた HBV 感染系を確立。・研究分担者(水口) ①ヒト iPS 細胞由来分化誘導肝細胞に HBV を作用させたところ、HBV の感染が見られ、抗 HBV 薬により抑制。②ヒト iPS 細胞由来分化誘導肝細胞を肝障害免疫不全マウス(uPA-SCID マウス)に移植し、キメラマウスの作製を試みたところ、マウス血中に最高 1.5 mg/ml のヒトアルブミン濃度を認めた。・研究分担者(石田) ①ヒト肝細胞キメラマウス由来の新鮮ヒト肝細胞を用いて、再現性・汎用性の高い HBV の *in vitro* 感染モデル実験系を構築。②ハイスループットスクリーニングに使用される、96、384 well プレートでも、薬効評価に十分なウイルス量が得られた。③他の研究班に対しても本感染モデルを提供。

(2) 新規培養システム(3次元培養)の構築(棟方、松永)

・研究分担者(棟方) 肝細胞の三次元培養法による微小肝臓モデルを構築、HBV 感染に三次元培養法が有用。・研究分担者(松永) HBV 産生に肝実質細胞と非実質細胞との共培養が有用であることを示した。

(3) ヒト肝細胞の機能を保持する環境因子の解明(落谷、中西、深澤、高岡、石井、近藤)

・研究分担者(落谷) ①マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行い、HBV 感染により発現が上昇する miRNA として miR-3649、miR-221/222、発現低下する miRNA として miR-30c、miR-101、210、miR-4498 を同定。②HBV 感染による miR-221/222 の発現変化に伴い、標的遺伝子である PTEN、p27、PPP2R2A の発現低下。・研究分担者(中西) ①質量分析計を用いた HBV の複製・分泌に関わる脂質分子の探索分析条件の最適化に成功。②キメラマウス由来ヒト肝細胞を用いて HBV 持続感染時に増加する脂質分子群を同定。・研究分担者(深澤) 高度不飽和脂肪酸(アラキドン酸、EPA、DHA)、特に DHA が HBV 産生阻害、hexadimethrine bromide が HBV 産生・放出を阻害。・研究分担者(高岡) ①ヒト肝細胞における HBV 感染に関与する自然免疫センサーとして RIG-I を同定した。②decoy 核酸により抗 HBV ウイルス効果を見出した。・研究分担者(石井) ①HBV *in vivo* イメージング系の確立。②HBV 粒子と免疫細胞の相互作用の可視化。・研究分担者(近藤) ①HBV ジェノタイプにより肝癌細胞株より放出されるケモカインに差があり、免疫病態の差異に影響。②HBV 関連肝がんにおいて EpCAM 発現が亢進、悪性度と関連。

(4) HBV 感染感受性環境の構築(渡士、石川、土方、池田、坂本)

・研究分担者(渡士) ①HBs 高産生細胞株 HepG2.2.15.7 細胞を樹立。②高効率 HBV 複製細胞株 Hep38.7-Tet 細胞を樹立。③HBV 感染許容性細胞株 HepG2-hNTCP-G4 細胞を樹立。・研究分担者(石川) ①ウイルス粒子のラベル化により HBV の細胞内侵入の可視化に成功。②HBV の細胞内侵入が主にエンドサイトーシス機構により介在。③NTCP 以外にも HBV レセプターが存在する可能性。・研究分担者(土方) ①HBV 受容体分子 NTCP を恒常発現する HuS-E/2 細胞を樹立し、HBV 感染感受性を証明。②HepG2.2.15.7 細胞を用いた薬剤のスクリーニングにより抗 HBV 効果を示す数種類の薬剤を同定。・研究分担者(池田) ①肝細胞特異的な転写因子群が HBV 増殖に及ぼす効果について検討。②肝細胞株に HBV 受容体である NTCP を発現して感染効率を比較検討。・研究分担者(坂本) ①網羅的変異 X 蛋白による転写活性化ドメインの特定。②X 蛋白 interferon signal 抑制機構の解明。

IV. 今後考えられる新たな課題 ①HBV 感染感受性キメラマウス由来肝細胞(石田)や HepG2-NTCP 細胞(渡士)を用いて抗 HBV 活性の薬剤スクリーニングを継続:富山化学の化合物ライブラリー(約 3 万)について引き

続きスクリーニングを継続し、ヒット化合物について再現性を確認後、作用機序を解明する。②他班(満屋班、小嶋班)との共同研究を展開し、新規薬剤の探索、評価、前臨床試験を進める。③感染ウイルス粒子作成の改良、ならびに感染方法の改良。④HBV 感染制御する宿主因子を標的として、インシリコスクリーニングにより上位 1,000 化合物を抽出したので、抗 HBV 活性を検討(濱田)、⑤候補化合物の合成展開、薬効評価を行う(田中)。⑥HBV-siRNA 投与により HBV 蛋白発現抑制・免疫再賦活化による HBV 排除の検討(棟方、田中)。

(1) 最適なヒト肝細胞の選択: キメラマウス由来のヒト肝細胞の機能解析(石田)、日本人由来の肝細胞株の樹立及び HBV 感染モデルにおける免疫防御機構の解析(調)、遺伝的バックグラウンドの異なる iPS 細胞を用いた肝細胞分化誘導及び HBV 感染評価(水口)。

(2) 新規培養システム(3次元培養)の構築: ①B型肝炎ウイルス持続感染培養系のハイスループット解析への適応と新規肝培養細胞の検討(棟方)。②培養容器によらない三次元培養の開発(松永)。③ヒト iPS 細胞由来肝細胞を有するモデル動物の作成(水口、松永)。

(3) ヒト肝細胞の機能を保持する環境因子の解明: ①HBV に感染する細胞株 HepG2-NTCP を用いた、miRNA ライブラリーによるスクリーニング系を確立し、抗HBV活性を有する miRNA を同定(落谷)。②PIP2 の代謝関連分子のゲノム・タンパク質解析ならびに阻害による HBV 感染への影響、他の肝疾患(NASH や肝癌など)での解析(中西)。③HBV 感染におけるホスホイノシチドの役割やコーヒー抽出物の阻害効果の解析(深澤)。④62-mer RNA を用いた抗 HBV 治療の可能性。⑤核酸認識受容体を介する自然免疫シグナルの新たな制御分子の同定とその応用(高岡)。⑥ケモカインと同様に液性因子であるエクソソームに含まれる miRNA や HBV が免疫細胞に与える影響を検討(近藤)。⑦HBV あるいは BNC の細胞内侵入後の局在、移動経路・速度の解析、⑧HBV nucleocapsid を env で被覆させた擬似ウイルス粒子(nucleocapsid、env をそれぞれラベル化)の作製による HBV の life cycle の可視化(石川)。⑨HBV 粒子に対する CD8 陽性 T 細胞の動態の可視化(石井)。

(4) HBV 感染感受性環境の構築: ①同定された抗 HBV 化合物の作用機序の解析及び *in vivo* マウスモデルにおける HBV 感染への効果検証(渡士、田中)。②NTCP 発現 HuS-E/2 細胞あるいは肝分化誘導 HYM1 細胞を用いた HBV 増殖抑制薬剤のスクリーニングおよび評価(土方)。③肝内転写因子の発現制御による高 HBV 感染・複製肝細胞株の作製(池田)。④HBX 蛋白の機能ドメインの探索と分子標的化合物の開発(坂本)。

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) 本研究の成果により、B型肝炎治療薬に関する多くのシーズが創出できると予想され、B型肝炎創薬実用化研究は推進される。(2) HBV 持続感染を再現する培養細胞評価系を用いた薬剤スクリーニングにより、すでに抗 HBV 活性を有する化合物を複数同定している。新規薬剤の探索、評価、前臨床試験を進めることで、日本初の治療薬を開発し、世界に発信できる。

VI. 行政施策への貢献の可能性

- (1) HBV 持続感染を再現する培養細胞系を用いた薬剤感受性及び毒性評価(低コスト化実現)
- (2) HBV 根絶を目指した個別化医療の実現: 核酸アナログ長期投与からの離脱(医療費削減)
- (3) HBV を根絶することで、予後の改善及び医療費削減が実現可能となる(社会福祉に寄与)

VII. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

- 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*. 2014 in press.

- ② 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** . 2014; 1842:1464–1471.
- ③ 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**. 2014;142: 614–623.
- ④ 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. USA**. 2014 Nov 10.[Epub ahead of print]
- ⑤ Nagamoto Y, Takayama K, Tashiro K, Tateno C, Sakurai F, Tachibana M, Kawabata K, Ikeda K, **Tanaka Y**, **Mizuguchi H**. Efficient engraftment of human iPS cell-derived hepatocyte-like cells in uPA/SCID mice by overexpression of FNK, a Bcl-xL mutant gene. **Cell Transplant**. 2014 May 6. [Epub ahead of print]
- ⑥ Maeda S, Wada H, Naito Y, Nagano H, Simmons S, Kagawa Y, Naito A, Kikuta J, Ishii T, Tomimaru Y, Hama N, Kawamoto K, Kobayashi S, Eguchi H, Umeshita K, Ishii H, Doki Y, Mori M, **Ishii M**. Interferon- α Acts on the S/G2/M Phases to Induce Apoptosis in the G1 Phase of an IFNAR2-Expressing Hepatocellular Carcinoma Cell Line. **J Biol Chem**. 2014;289(34):23786-95.
- ⑦ 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**. 2014;452(3):315-21.
- ⑧ Kondo Y, Iwao T, Yoshihashi S, Mimori K, Ogihara R, Nagata K, Kurose K, Saito M, Niwa T, Suzuki T, Miyata N, Ohmori S, Nakamura K, **Matsunaga T**. Histone deacetylase inhibitor valproic acid promotes the differentiation of human induced pluripotent stem cells into hepatocyte-like cells. **PLoS One**. 2014;9:e104010.
- ⑨ Kimura O, **Kondo Y**, Kogure T, Kakazu E, Ninomiya M, Iwata T, Morosawa T, Shimosegawa T. Expression of EpCAM increases in the hepatitis B related and the treatment-resistant hepatocellular carcinoma. **Biomed Res Int**. 2014;2014:172913.
- ⑩ Ninomiya M, **Kondo Y**, Niihori T, Nagashima T, Kogure T, Kakazu E, Kimura O, Aoki Y, Matsubara Y, Shimosegawa T. Sequential analysis of amino acid substitutions with hepatitis B virus in association with nucleoside/nucleotide analog treatment detected by deep sequencing. **Hepatol Res**. 2014;44(6):678-84.
- ⑪ Iwamoto M, **Watashi K**, Tsukuda S, Aly HH, **Fukasawa M**, Fujimoto A, Suzuki R, Aizaki H, Ito T, Koiwai O, Kusuhara H, Wakita T. Evaluation and identification of hepatitis B virus entry inhibitors using HepG2 cells overexpressing a membrane transporter NTCP. **Biochem Biophys Res Commun**. 2014;443(3):808-13.

VIII. (3年間の研究成果の)概要図等

目的：HBV持続感染を再現する効率的な培養細胞評価系を開発し、B型肝炎創薬実用化研究を推進する

3年間の研究成果

HBV持続培養系開発

HBVライフサイクル解明

薬剤スクリーニング

主要な成果：①富山化学の化合物ライブラリー約2,400化合物(最終的には3万)について、HepG2-NTCP細胞を用いて抗HBV活性評価を実施し、ヒット化合物を複数取得。②B型肝炎ウイルスのmRNAを標的とした3種類のsiRNAにより、HBV関連蛋白及びウイルス産生の効果的抑制に成功(棟方)。③IL-1およびTNF α が宿主細胞のHBV感染許容性を抑制。④22(S)-hydroxycholesterol, proanthocyanidineをHBV感染阻害化合物として同定(渡士)。⑤Decoy核酸による抗HBVウイルス効果を発見(高岡)。⑥GPGPU型スーパーコンピュータによるSphK1を標的としたインシリコスクリーニングによる1,000化合物の抽出、SphK1酵素活性測定システムの構築(濱田)。⑦HBV感染阻害が見られる多価不飽和脂肪酸(DHA)により増加が抑制される脂質分子(PIP2)を同定(中西、深澤)。

1) 最適なヒト肝細胞の選択

- ・ヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞へのHBV感染を確認(水口)。
- ・ヒト肝細胞キメラマウス由来の新鮮ヒト肝細胞を用いて、再現性・汎用性の高いHBV持続感染培養系を構築(石田)。
- ・HepG2-hNTCP-G4細胞樹立(渡士)。
- ・世界初の日本人由来のヒト肝細胞高置換マウス(置換率86%)作成に成功(調)。

2) 新規培養系開発

- ・肝細胞長期培養ためのスフェロイド形成を用いた3次元培養法の確立及び機能解析(田中、棟方、松永)。HBV産生に肝実質細胞と非実質細胞との共培養が有用。キメラマウス肝細胞による3次元培養系を用いたHBV genotype別の中和試験を実施、薬効評価も継続(田中)。HepG2-hNTCP細胞培養系の確立。

3) ヒト肝細胞の機能を保持する環境因子の解明

- ・HBV感染により変化する複数のmicroRNA同定(落谷)、キメラマウス由来ヒト肝細胞を用いてHBV持続感染時に増加する脂質分子群を同定(中西)。
- ・高度不飽和脂肪酸(アラキドン酸、EPA、DHA)、特にDHAがHBV産生阻害、hexadimethrine bromideがHBV産生・放出を阻害(深澤)。
- ・2光子励起顕微鏡により、HBVの肝細胞への粒子の取り込み及び初期免疫応答を可視化(石井)。RIG-Iは、 ϵ RNAを認識し、自然免疫応答を活性化するのみならず、Pタンパク質を阻害する(高岡)。

4) HBV感染感受性環境の構築

- ・HBsAg高産生細胞株HepG2.2.15.7細胞、高効率HBV複製細胞株Hep38.7-Tet細胞の樹立、HepG2-hNTCP細胞培養系の確立(渡士)。
- ・HBV粒子の可視化に成功。HBVの細胞内侵入が主にエンドサイトーシス機構により介在。NTCP以外にもHBVレセプターが存在する可能性(石川)。
- ・NTCPを恒常発現するHuS-E/2細胞を樹立(土方)。肝細胞特異的な転写因子群がHBV増殖に及ぼす効果について検討(池田)。
- ・HBX蛋白の機能ドメインの探索と分子標的化合物の開発(坂本)。