

## ●研究代表者の研究歴等

### ・過去に所属した研究機関の履歴

1991年5月～2001年7月	名古屋市立大学医学部第二内科 研究員
1997年4月～2001年3月	名古屋市立大学大学院医学研究科 医学博士
1999年11月～2001年7月	米国立保健研究所 (NIH) 留学 (Harvey J Alter)
2001年8月～2009年9月	名古屋市立大学大学院医学研究科 臨床分子情報医学
2009年10月～現在	名古屋市立大学大学院医学研究科 ウイルス学
2006年6月～現在	国立感染症研究所ウイルス第二部 客員研究員

### ・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

1991年5月～1997年3月	名古屋市立大学医学部第二内科 山本正彦、溝上雅史
1997年4月～2001年3月	名古屋市立大学大学院医学研究科 上田龍三、溝上雅史
1997年4月～現在	国立遺伝学研究所 五條堀孝
1999年～2001年	米国立保健研究所 (NIH) Visiting fellow, Harvey J Alter
2006年6月～現在	国立感染症研究所ウイルス第二部 脇田隆宇
2008年10月～現在	国立国際医療研究センター 肝炎・免疫研究センター 溝上雅史

### ・主な研究課題

- 1) HBVの基礎的・臨床的研究 (HBV複製モデルを用いた検討)
- 2) 世界各国における肝炎ウイルスの分子疫学 (感染ルートの解明及び拡散時期の推定)
- 3) ウイルス性肝炎におけるSNPs解析

### ・これまでの研究実績

#### 政策提言

新規先進医療：「IL28Bの遺伝子診断によるインターフェロン治療効果の予測評価」

厚生労働省第50回先進医療専門家会議、平成22年7月12日認可

#### 発表論文

1. Sato S, Li K, Kameyama T, Hayashi T, Ishida Y, Murakami S, Watanabe T, Iijima S, Sakurai Y, Watashi K, Tsutsumi S, Sato Y, Akita H, Wakita T, Rice CM, Harashima H, Kohara M, Tanaka Y, Takaoka A. The RNA sensor RIG-I dually functions as an innate sensor and direct antiviral factor for hepatitis B virus. *Immunity*. in press.
2. 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]
3. Nakano N, Kusumoto S, Tanaka Y, Ishida T, Takeuchi S, Takatsuka Y, Akinaga S, Mizokami M, Ueda R, Utsunomiya A. Reactivation of hepatitis B virus in a patient with adult T-cell leukemia-lymphoma receiving the anti-CC chemokine receptor 4 antibody mogamulizumab. *Hepatol Res*. 2014;44(3):354-7.

4. Shimada N, Tsubota A, Atsukawa M, Abe H, Ika M, Kato K, Sato Y, Kondo C, Sakamoto C, **Tanaka Y**, Aizawa Y.  $\alpha$ -Fetoprotein is a surrogate marker for predicting treatment failure in telaprevir-based triple combination therapy for genotype 1b chronic hepatitis C Japanese patients with the IL28B minor genotype. *J Med Virol.* 2014;86(3):461-72.
5. Ocho M, Togayachi A, Iio E, Kaji H, Kuno A, Sogabe M, Korenaga M, Gotoh M, **Tanaka Y**, Ikehara Y, Mizokami M, Narimatsu H. Application of a glycoproteomics-based biomarker development method: alteration in glycan structure on colony stimulating factor 1 receptor as a possible glyco-biomarker candidate for evaluation of liver cirrhosis. *J Proteome Res.* 2014;13(3):1428-37.
6. *Watahi K, Sluder A, Daito T, Matsunaga S, Ryo A, Nagamori S, Iwamoto M, Nakajima S, Tsukuda S, Borroto-Esoda K, Sugiyama M, Tanaka Y, Kanai Y, Kusuhara H, Mizokami M, Wakita T. Cyclosporin A and its analogs inhibit hepatitis B virus entry into cultured hepatocytes through targeting a membrane transporter, sodium taurocholate cotransporting polypeptide (NTCP). Hepatology. 2014;59(5):1726-37.*
7. Ragheb MM, Nemr NA, Kishk RM, Mandour MF, Abdou MM, Matsuura K, Watanabe T, **Tanaka Y**. Strong prediction of virological response to combination therapy by IL28B gene variants rs12979860 and rs8099917 in chronic hepatitis C genotype 4. *Liver Int.* 2014;34(6):890-5.
8. Matsuura K, **Tanaka Y**, Watanabe T, Fujiwara K, Orito E, Kurosaki M, Izumi N, Sakamoto N, Enomoto N, Yatsuhashi H, Kusakabe A, Shinkai N, Nojiri S, Joh T, Mizokami M. ITPA genetic variants influence efficacy of PEG-IFN/RBV therapy in older patients infected with HCV genotype 1 and favourable IL28B type. *J Viral Hepat.* 2014;21(7):466-74.
9. Zheng LS, Hitoshi S, Kaneko N, Takao K, Miyakawa T, **Tanaka Y**, Xia H, Kalinke U, Kudo K, Kanba S, Ikenaka K, Sawamoto K. Mechanisms for interferon- $\alpha$ -induced depression and neural stem cell dysfunction. *Stem Cell Reports.* 2014;3(1):73-84.
10. Kusumoto S, **Tanaka Y**, Mizokami M, Ueda R. Strategy for preventing hepatitis B reactivation in patients with resolved hepatitis B virus infection after rituximab-containing chemotherapy. *Hepatology.* 2014 ;60(2):765-6.
11. *Wong DK, Kopaniszen M, Omagari K, Tanaka Y, Fong DY, Seto WK, Fung J, Huang FY, Zhang AY, Hung IF, Lai CL, Yuen MF. Effect of hepatitis B virus reverse transcriptase variations on entecavir treatment response. J Infect Dis. 2014;210(5):701-7.*
12. Tajiri H, **Tanaka Y**, Takano T, Suzuki M, Abukawa D, Miyoshi Y, Shimizu T, Brooks S. Association of IL28B polymorphisms with virological response to peginterferon and ribavirin therapy in children and adolescents with chronic hepatitis C. *Hepatol Res.* 2014;44(10):E38-E44.
13. Matsuura K, Watanabe T, Iijima S, Murakami S, Fujiwara K, Orito E, Iio E, Endo M, Kusakabe A, Shinkai N, Miyaki T, Nojiri S, Joh T, **Tanaka Y**. Serum interferon-gamma-inducible protein-10 concentrations and IL28B genotype associated

- with responses to pegylated interferon plus ribavirin with and without telaprevir for chronic hepatitis C. *Hepatol Res*. 2014;44(12):1208-1216.
14. Oda K, Uto H, Kumagai K, Ido A, Kusumoto K, Shimoda K, Hayashi K, Stuver SO, **Tanaka Y**, Nishida N, Tokunaga K, Tsubouchi H. Impact of a single nucleotide polymorphism upstream of the IL28B gene in patients positive for anti-HCV antibody in an HCV hyperendemic area in Japan. *J Med Virol*. 2014;86(11):1877-85.
  15. Masaki N, Sugiyama M, Shimada N, **Tanaka Y**, Nakamuta M, Izumi N, Watanabe S, Tsubota A, Komatsu M, Masaki T, Enomoto N, Yoneda M, Murata K, Ito K, Koike K, Mizokami M. Pretreatment prediction of the outcome of response-guided peginterferon- $\alpha$  and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol*. 2014;29(12):1996-2005.
  16. Ito K, Yotsuyanagi H, Yatsushashi H, Karino Y, Takikawa Y, Saito T, Arase Y, Imazeki F, Kurosaki M, Umemura T, Ichida T, Toyoda H, Yoneda M, Mita E, Yamamoto K, Michitaka K, Maeshiro T, Tanuma J, **Tanaka Y**, Sugiyama M, Murata K, Masaki N, Mizokami M; the Japanese AHB Study Group. Risk factors for long-term persistence of serum hepatitis B surface antigen following acute hepatitis B virus infection in Japanese adults. *Hepatology*. 2014;59(1):89-97.
  17. *Okamoto Y, Shinjo K, Shimizu Y, Sano T, Yamao K, Gao W, Fujii M, Osada H, Sekido Y, Murakami S, Tanaka Y, Joh T, Sato S, Takahashi S, Wakita T, Zhu J, Issa JP, Kondo Y. Hepatitis Virus Infection Affects DNA Methylation in Mice with Humanized Livers. Gastroenterology. 2013 ;146(2):562-72.*
  18. *Kusumoto S, Tanaka Y, Mizokami M, Ueda R. Is Antiviral Prophylaxis Necessary to Prevent Hepatitis B Virus (HBV) Reactivation in Patients With HBV-Resolved Infection Receiving Rituximab-Containing Chemotherapy?. J Clin Oncol. 2013;31(35):4480.*
  19. *Shinkai N, Matsuura K, Sugauchi F, Watanabe T, Murakami S, Iio E, Ogawa S, Nojiri S, Joh T, Tanaka Y. Application of a newly developed high-sensitivity HBsAg chemiluminescent enzyme immunoassay for hepatitis B patients with HBsAg seroclearance. J Clin Microbiol. 2013;51(11):3484-3491.*
  20. *Watashi K, Liang G, Iwamoto M, Marusawa H, Uchida N, Daito T, Kitamura K, Muramatsu M, Ohashi H, Kiyohara T, Suzuki R, Li J, Tong S, Tanaka Y, Murata K, Aizaki H, Wakita T. Interleukin-1 and Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Trigger Restriction of Hepatitis B Virus Infection via a Cytidine Deaminase Activation-induced Cytidine Deaminase (AID). J Biol Chem. 2013 ;288(44):31715-31727.*
  21. Elkady A, Aboufotuh S, Ali EM, Sayed D, Abdel-Aziz NM, Ali AM, Murakami S, Iijima S, **Tanaka Y**. Incidence and characteristics of HBV reactivation in hematological malignant patients in south Egypt. *World J Gastroenterol*. 2013;19(37):6214-6220.
  22. Matsui T, Kang JH, Nojima M, Tomonari A, Aoki H, Yamazaki H, Yane K, Tsuji K, Andoh S, Andoh S, Sakai H, Maemori M, Maguchi H, **Tanaka Y**. Reactivation of hepatitis B virus in

- patients with undetectable HBsAg undergoing chemotherapy for malignant lymphoma or multiple myeloma. *J Med Virol*. 2013;85(11):1900-1906.
23. Watanabe T, Tanaka Y. Reactivation of hepatitis viruses following immunomodulation systemic chemotherapy. *Hepato Res*. 2013 ;43(2):113-121.
  24. Sakamoto T, Tanaka Y, Watanabe T, Iijima S, Kani S, Sugiyama M, Murakami S, Matsuura K, Kusakabe A, Shinkai N, Fuminaka S, Mizokami M. Mechanism of the dependence of hepatitis B virus genotype G on co-infection with other genotypes for viral replication. *J Viral Hepat*. 2013;20(4):e27-36.
  25. Nishida N, Sawai H, Matsuura K, Sugiyama M, Ahn SH, Park JY, Hige S, Kang JH, Suzuki K, Kurosaki M, Asahina Y, Mochida S, Watanabe M, Tanaka E, Honda M, Kaneko S, Orito E, Itoh Y, Mita E, Tamori A, Murawaki Y, Hiasa Y, Sakaida I, Korenaga M, Hino K, Ide T, Kawashima M, Mawatari Y, Sageshima M, Ogasawara Y, Koike A, Izumi N, Han KH, Tanaka Y, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-wide association study confirming association of HLA-DP with protection against chronic hepatitis B and viral clearance in Japanese and Korean. *PLoS One*. 2012;7(6):e39175.
  26. Sawai H, Nishida N, Mbarek H, Matsuda K, Mawatari Y, Yamaoka M, Hige S, Kang JH, Abe K, Mochida S, Watanabe M, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N, Honda M, Kaneko S, Tanaka E, Matsuura K, Itoh Y, Mita E, Korenaga M, Hino K, Murawaki Y, Hiasa Y, Ide T, Ito K, Sugiyama M, Ahn SH, Han KH, Park JY, Yuen MF, Nakamura Y, Tanaka Y, Mizokami M, Tokunaga K. No association for Chinese HBV-related hepatocellular carcinoma susceptibility SNP in other East Asian populations. *BMC Med Genet*. 2012;13:47.
  27. Kondo Y, Ueno Y, Ninomiya M, Tamai K, Tanaka Y, Inoue J, Kakazu E, Kobayashi K, Kimura O, Miura M, Yamamoto T, Kobayashi T, Igarashi T, Shimosegawa T. Sequential immunological analysis of HBV/HCV co-infected patients during Peg-IFN/RBV therapy. *J Gastroenterol*. 2012;47(12):1323-1335.
  28. Watanabe T, Sugauchi F, Tanaka Y, Matsuura K, Yatsushashi H, Murakami S, Iijima S, Iio E, Sugiyama M, Shimada T, Kakuni M, Kohara M, Mizokami M. Hepatitis C virus kinetics by administration of pegylated interferon- $\alpha$  in human and chimeric mice carrying human hepatocytes with variants of the IL28B gene. *Gut*. 2012;62(9):1340-1346.
  29. Kani S, Tanaka Y, Matsuura K, Watanabe T, Yatsushashi H, Orito E, Inose K, Motojuku N, Wakimoto Y, Mizokami M. Development of new IL28B genotyping method using Invader Plus assay. *Microbiol Immunol*. 2012;56(5):318-323.
  30. Date T, Kato T, Kato J, Takahashi H, Morikawa K, Akazawa D, Murayama A, Tanaka-Kaneko K, Sata T, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T. Novel cell culture-adapted genotype 2a hepatitis C virus infectious clone. *J Virol*. 2012;86(19):10805-10820.
  31. Ito K, Kuno A, Ikehara Y, Sugiyama M, Saito H, Aoki Y, Matsui T, Imamura M, Korenaga M, Murata K, Masaki N, Tanaka Y, Hige S, Izumi N, Kurosaki M, Nishiguchi S, Sakamoto

- M, Kage M, Narimatsu H, Mizokami M. LecT<sup>h</sup>hepa, a glyco-marker derived from multiple lectins, as a predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. **Hepatology**. 2012;56(4):1448-1456.
32. **Tanaka Y**, Kurosaki M, Nishida N, Sugiyama M, Matsuura K, Sakamoto N, Enomoto N, Yatsuhashi H, Nishiguchi S, Hino K, Hige S, Itoh Y, Tanaka E, Mochida S, Honda M, Hiasa Y, Koike A, Sugauchi F, Kaneko S, Izumi N, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-wide association study identified ITPA/DDRGK1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. **Hum Mol Genet**. 2011;20(17):3507-3516.
33. Sugiyama M, **Tanaka Y**, Wakita T, Nakanishi M, Mizokami M. Genetic Variation of the IL-28B Promoter Affecting Gene Expression. **PLoS One**. 2011;6(10):e26620.
34. Seto WK, **Tanaka Y**, Liu K, Lai CL, Yuen MF. The Effects of IL-28B and ITPA Polymorphisms on Treatment of Hepatitis C Virus Genotype 6. **Am J Gastroenterol**. 2011;106(5):1007-1008.
35. Raghwani J, Thomas XV, Koekkoek SM, Schinkel J, Molenkamp R, van de Laar TJ, Takebe Y, **Tanaka Y**, Mizokami M, Rambaut A, Pybus OG. Origin and evolution of the unique hepatitis C virus circulating recombinant form 2k/1b. **J Virol**. 2011;86(4):2212-2220
36. Matsumoto A, Tanaka E, Suzuki Y, Kobayashi M, **Tanaka Y**, Shinkai N, Hige S, Yatsuhashi H, Nagaoka S, Chayama K, Tsuge M, Yokosuka O, Imazeki F, Nishiguchi S, Saito M, Fujiwara K, Torii N, Hiramatsu N, Karino Y, Kumada H. Combination of hepatitis B viral antigens and DNA for prediction of relapse after discontinuation of nucleos(t)ide analogs in patients with chronic hepatitis B. **Hepatol Res**. 2011;42(2):139-149.
37. Wang J, Singh US, Rawal RK, Sugiyama M, Yoo J, Jha AK, Scroggin M, Huang Z, Murray MG, Govindarajan R, **Tanaka Y**, Korba B, Chu CK. Antiviral activity of novel 2'-fluoro-6'-methylene-carbocyclic adenosine against wild-type and drug-resistant hepatitis B virus mutants. **Bioorg Med Chem Lett**. 2011;21(21):6328-6331.
38. Matsuura K, **Tanaka Y**, Kusakabe A, Hige S, Inoue J, Komatsu M, Kuramitsu T, Hirano K, Ohno T, Hasegawa I, Kobashi H, Hino K, Hiasa Y, Nomura H, Sugauchi F, Nojiri S, Joh T, Mizokami M. Recommendation of lamivudine-to-entecavir switching treatment in chronic hepatitis B responders: Randomized controlled trial. **Hepatol Res**. 2011;41(6):505-511.
39. Yokosuka O, Kurosaki M, Imazeki F, Arase Y, **Tanaka Y**, Chayama K, Tanaka E, Kumada H, Izumi N, Mizokami M, Kudo M. Management of hepatitis B: Consensus of the Japan Society of Hepatology 2009. **Hepatol Res**. 2011;41(1):1-21.
40. Kusakabe A, **Tanaka Y**, Inoue M, Kurbanov F, Tatematsu K, Nojiri S, Joh T, Tsugane S, Mizokami M. A population-based cohort study for the risk factors of HCC among hepatitis B virus mono-infected subjects in Japan. **J Gastroenterol**. 2011;46(1):117-124.

41. Wu S, Imazeki F, Kurbanov F, Fukai K, Arai M, Kanda T, Yonemitsu Y, Tanaka Y, Mizokami M, Yokosuka O. Evolution of hepatitis B genotype C viral quasi-species during hepatitis B e antigen seroconversion. *J Hepatol*. 2011;54(1):19-25.
42. Afdhal NH, McHutchison JG, Zeuzem S, Mangia A, Pawlotsky JM, Murray JS, Shianna KV, Tanaka Y, Thomas DL, Booth DR, Goldstein DB; Pharmacogenetics and Hepatitis C Meeting Participants. Hepatitis C pharmacogenetics: state of the art in 2010. *Hepatology*. 2011;53(1):336-345.
43. Yuen MF, Wong DK, Lee CK, Tanaka Y, Allain JP, Fung J, Leung J, Lin CK, Sugiyama M, Sugauchi F, Mizokami M, Lai CL. Transmissibility of hepatitis B virus (HBV) infection through blood transfusion from blood donors with occult HBV infection. *Clin Infect Dis*. 2011;52(5):624-632.
44. Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, et al. lambda-Interferons and the single nucleotide polymorphisms: A milestone to tailor-made therapy for chronic hepatitis C. *Hepatol Res*. 2010;40(5):449-460.
45. Kondo Y, Tanaka Y.et al. Hepatitis B virus replication could enhance regulatory T cell activity by producing soluble heat shock protein 60 from hepatocytes. *J Infect Dis*. 2010;202(2):202-213.
46. Mukaide M, Tanaka Y.et al. Mechanism of entecavir resistance of hepatitis B virus with viral breakthrough as determined by long-term clinical assessment and molecular docking simulation. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(2):882-889.
47. Honda M, Sakai A, Tanaka Y, et al. Hepatic ISG expression is associated with genetic variation in IL28B and the outcome of IFN therapy for chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2010;139(2):499-509.
48. Kurbanov F, Tanaka Y, Matsuura K, et al. Positive selection of core 70Q variant genotype 1b hepatitis C virus strains induced by pegylated interferon and ribavirin. *J Infect Dis*. 2010;201(11):1663-1671.
49. Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, et al. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon- $\alpha$  and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nature Genet*. 2009;41(10):1105-1109.
50. Sugiyama M, Tanaka Y, et al. Direct Cytopathic Effects of Particular Hepatitis B Virus Genotypes in uPA/SCID Mouse with Human Hepatocytes. *Gastroenterology*. 2009;136(2):652-662.
51. Tatematsu K, Tanaka Y. et al. A Genetic Variant of Hepatitis B Virus Divergent from Known Human and Ape Genotypes Isolated from a Japanese Patient and Provisionally Assigned to New Genotype J. *J Virol*. 2009;83(20):10538-10547.
52. Fung J, Lai CL, Tanaka Y.et al. The Duration of Lamivudine Therapy for Chronic Hepatitis B: Cessation vs. Continuation of Treatment After HBeAg Seroconversion. *Am J Gastroenterol*. 2009;104(8):1940-1946.

53. Matsuura K, **Tanaka Y**. (corresponding author) et al. Distribution of Hepatitis B Virus Genotypes among Patients with Chronic Infection in Japan Shifting toward an Increase of Genotype A. *J Clin Microbiol*. 2009;47(5):1476-1483.
54. Kusakabe A, **Tanaka Y**. (corresponding author) et al. A Case-Control Study for the Identification of Virological Factors associated with Fulminant Hepatitis B. *Hepatol Res*. 2009;39(7):648-656.
55. Kurbanov F, **Tanaka Y**, et al. When should "I" consider a new hepatitis B virus genotype?. *J Virol*. 2008;82(16):8241-8242.
56. Yuen MF, **Tanaka Y**, et al. Risk for hepatocellular carcinoma with respect to hepatitis B virus genotypes B/ C, specific mutations of enhancer II/ core promoter/ precore regions and HBV DNA levels. *Gut*. 2008;57(1):98-102.
57. Sugiyama M, **Tanaka Y** (equal first author), et al. Early Dynamics of Hepatitis B Virus in Chimeric Mice Carrying Human Hepatocytes Mono- or Coinfected with Genotype G. *Hepatology*. 2007;45(4):929-937.
58. **Tanaka Y**, Mizokami M. Genetic diversity of hepatitis B virus as an important factor associated with differences in clinical outcomes. *J Infect Dis*. 2007; 195(1):1-4.
59. Osiowy C, Giles E, **Tanaka Y**, Mizokami M, Minuk GY. Molecular evolution of hepatitis B virus over 25 years. *J Virol*. 2006;80(21):10307-10314.
60. Sugiyama M, **Tanaka Y**, et al. Influences of Hepatitis B Virus Genotypes on the Intra- and Extracellular Expression of Viral DNA and Antigens. *Hepatology*. 2006;44(4):915-24.
61. **Tanaka Y**, Mukaide M, et al. Specific Mutations in Enhancer II/Core Promoter of Hepatitis B Virus Subgenotypes C1/C2 Increase the Risk of Hepatocellular Carcinoma. *J Hepatol*. 2006;45(5):646-653.
62. Ozasa A, **Tanaka Y**, et al. Influence of Genotypes and Precore Mutations on Fulminant or Chronic Outcome of Acute Hepatitis B Virus Infection. *Hepatology*. 2006;44(2):326-334.
63. **Tanaka Y**, Kurbanov F, et al. Molecular Tracing of Global Hepatitis C Virus Epidemic Predicts Regional Patterns of Hepatocellular Carcinoma Mortality. *Gastroenterology*. 2006;130(3):703-714.
64. Fujiwara K, **Tanaka Y**, et al. Novel type of hepatitis B virus mutation - "replacement mutation" involving hepatocyte nuclear factor 1 binding site tandem repeat in chronic hepatitis B genotype E. *J Virol*. 2005;79(22):14404-14410.
65. **Tanaka Y**, Hanada K, et al. Molecular Evolutionary Analyses Implicate Injection Treatment for Schistosomiasis in the Initial Hepatitis C Endemic of Japan. *J Hepatol*. 2005;42(1):47-53.
66. **Tanaka Y**, Hasegawa I, et al. A case-control study for differences among hepatitis B virus infections of genotypes A (subtypes Aa and Ae) and D. *Hepatology*. 2004;40:747-755.

67. Hasegawa I, Tanaka Y, et al. A novel hepatitis B virus genotype A subtyping assay that distinguishes subtypes Aa from Ae and its application in epidemiological studies. *J Virol.* 2004;78(14):7575-7578.
68. Tanaka Y, Hanada K, et al. A comparison of molecular clock of hepatitis C virus in the United States and Japan predicts that hepatocellular carcinoma incidence in the US will increase over the next two decades. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(24):15584-15589.

## 特許

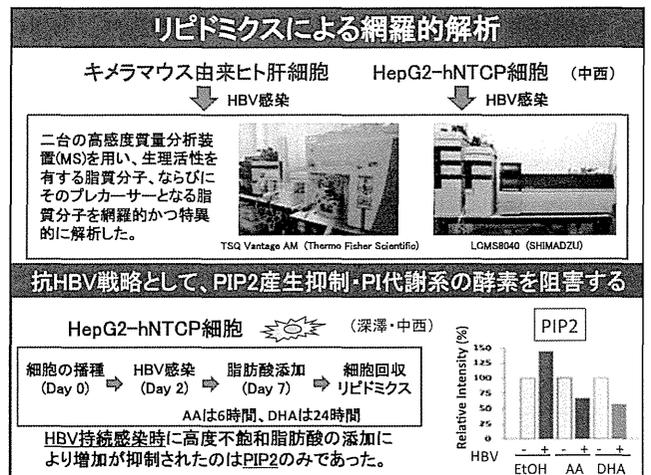
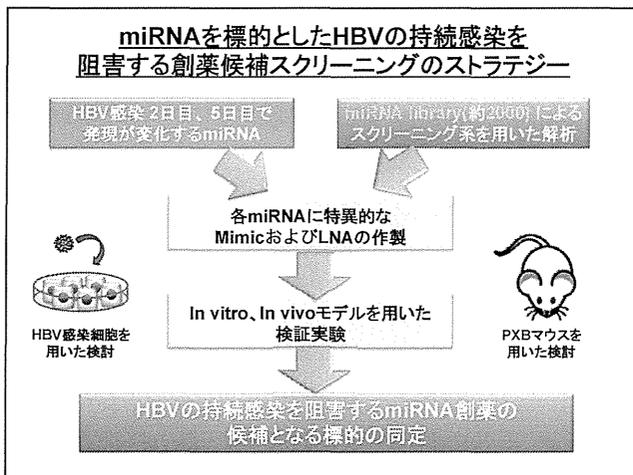
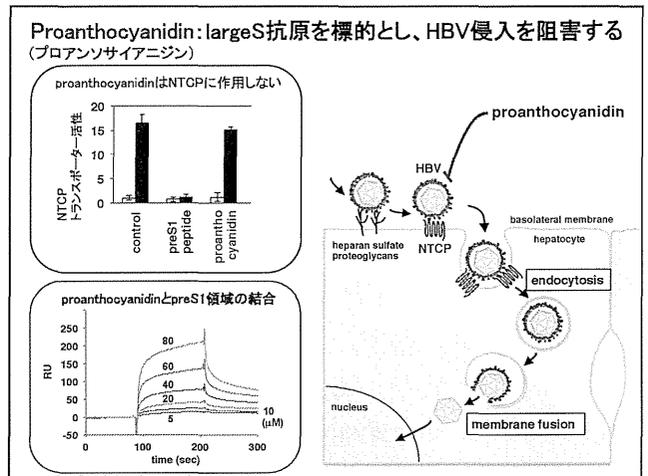
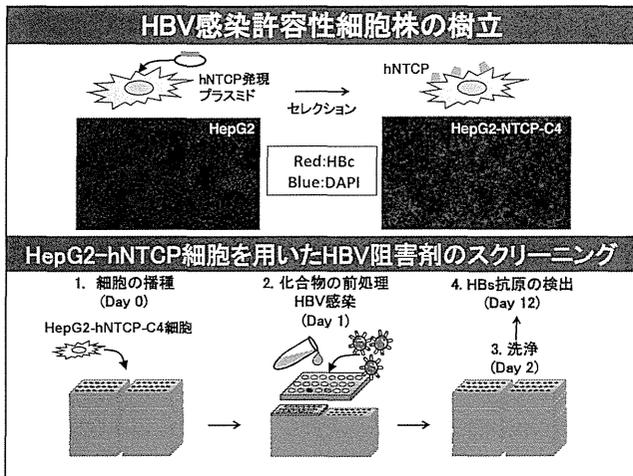
1. 糖タンパク質の測定方法、肝疾患の検査方法および糖タンパク質定量用試薬  
成松久、池原譲、久野敦、久野敦、田中靖人、溝上雅史、伊藤清顕、松原俊介、鶴野親是、高浜洋一、香川孝司、永井慎也。2011年10月6日。特許公開2012-185172。財団法人ヒューマンサイエンス振興財団、公立大学法人名古屋市立大学、独立行政法人国立国際医療研究センター、シスメックス株式会社。
2. C型肝炎の治療効果を予測するためのマーカー群、検査方法及び検査用キット。  
田中靖人、溝上雅史、徳永勝士。2011年3月3日。特許公開2011-193786。財団法人ヒューマンサイエンス振興財団、公立大学法人名古屋市立大学。
3. C型肝炎の治療効果を予測するためのマーカー及びC型肝炎の治療効果の予測を行う方法並びにC型肝炎の予防又は治療剤。  
田中靖人、溝上雅史、徳永勝士。2011年3月3日。特許公開2011-41526。財団法人ヒューマンサイエンス振興財団、公立大学法人名古屋市立大学。
4. HBV感染症を治療または予防するための医薬組成物。  
溝上雅史、田中靖人、杉山真也、須藤正幸。2009年12月23日。国際公開W02009/154248。公立大学法人名古屋市立大学、中外製薬株式会社。
5. 肝炎ウイルスの生体外増殖方法およびその用途  
山口達哉、瀬川昌也、溝上雅史、田中靖人。2008年4月3日。国際公開W02008/038641。東洋紡績株式会社。
6. B型肝炎ウイルスのジェノタイプCのサブタイプの識別方法及びそのためのキット。  
溝上雅史、田中靖人、向出雅一。2007年1月18日。特許公開2007-6734。名古屋市、株式会社エスアールエル。
7. B型肝炎ウイルスのジェノタイプAのサブタイプの判別方法。  
溝上雅史、田中靖人。2005年10月6日。特許公開2005-270031。株式会社エスアールエル。
8. B型肝炎ウイルスのジェノタイプBのサブタイプの判別方法。  
溝上雅史、田中靖人。2005年10月6日。特許公開2005-269994。株式会社エスアールエル。

## 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

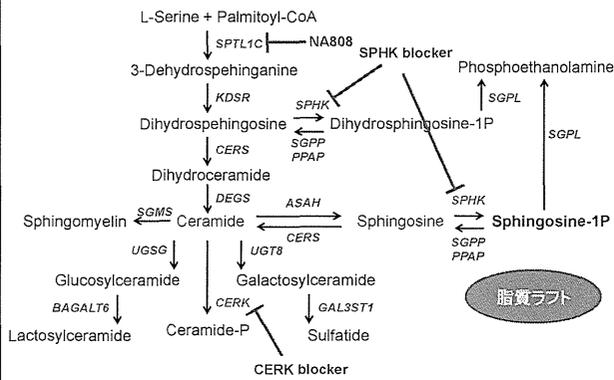
名古屋市立大学大学院 医学研究科  
田中靖人

## HBV感染(培養)評価系~薬剤スクリーニング

- HepG2-NTCP-C4細胞(DMSO処理)
  - HBV持続感染実験から薬剤スクリーニング系の構築
  - エントリー阻害剤の導出
  - miRNAライブラリースクリーニング系の構築
  - 脂質代謝とHBV感染
  - 製薬企業との連携・共同研究
- キメラマウス肝細胞を用いたHBV持続感染モデル
  - 核酸アナログの有効性(感染拡大防止)
  - siRNAによる阻害~MENDを用いたin vivo試験



### スフィンゴ脂質合成酵素の阻害による抗HBV効果



### 創業に特化したスーパーコンピューターによるインシリコスクリーニング (長崎大学・創業基盤ネットワーク)

**スフィンゴ脂質合成経路**

Target: SphK1/Inhibitor

DEGIMA-2

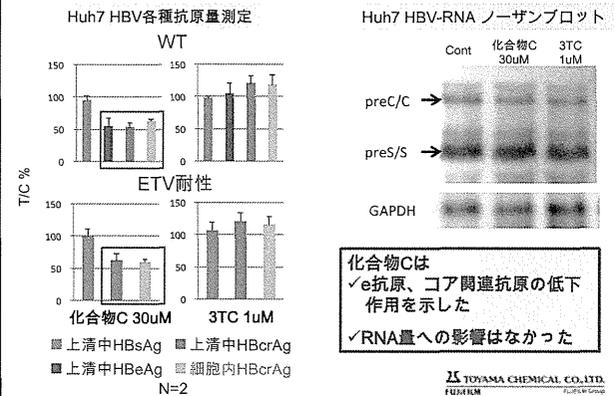
SphK1はS1P産生酵素

S1PはHBVの複製を亢進 (濱田)

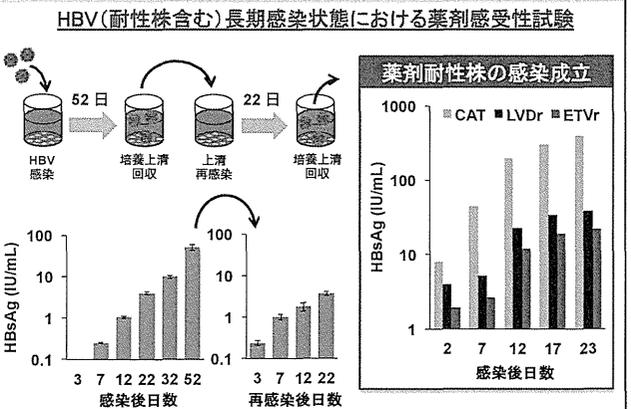
SphK1 inhibitor

IC<sub>50</sub>算出 → 最適化合成 (メディナルケミストリー) → 抗HBV活性  
・培養系  
・キメラマウス

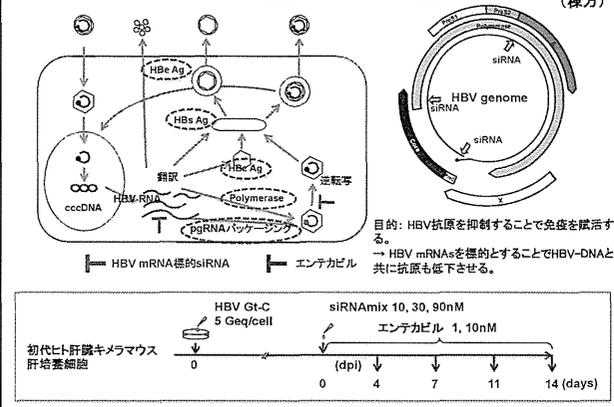
### 化合物Cの作用機序解析



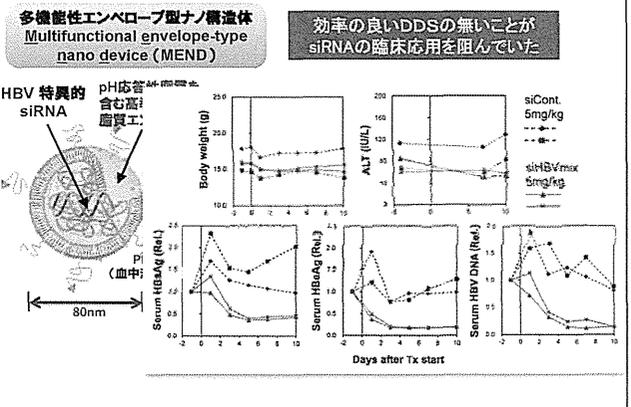
### HBV 感染 PHH 細胞が産生するウイルス粒子は感染能をもつ



### HBV持続感染培養系を用いたHBV-mRNA標的siRNAのウイルス抗原抑制効果の評価 (模方)



### MEND/siRNAmixはHBV持続感染キメラマウス血中ウイルス抗原量とDNA量を低下させる



### 創薬にむけた宿主免疫応答の理解と応用

- HBV感染に対する自然免疫応答誘導機序の解明
- PD-1シグナル阻害による免疫寛容の克服

抗PD-L1抗体 (田中)  
抗PD-1抗体 (Nivolumab: Phase 2)

HBV-Tgマウス  
抗PD-L1抗体 (MPDL3280A: Phase 2)  
抗PD-1抗体 (Nivolumab: Phase 2)

### Immunity Article

## Immunity 1月号に掲載 RIG-I Dual Function

### The RNA Sensor RIG-I Dually Functions as an Innate Sensor and Direct Antiviral Factor for Hepatitis B Virus

Seichi Sato,<sup>1,2,10</sup> Kai Li,<sup>1,2,10</sup> Takeshi Kameyama,<sup>1,2,10</sup> Takaya Hayashi,<sup>2,10</sup> Yuji Johno,<sup>2</sup> Etsuko Murakami,<sup>2</sup> Tsunemasa Watanabe,<sup>2</sup> Sayuki Iijima,<sup>2</sup> Yu Sakurai,<sup>2</sup> Koichi Wataha,<sup>2</sup> Susumu Tsutsumi,<sup>2</sup> Yusuke Sato,<sup>2</sup> Hidetaka Akita,<sup>2</sup> Takaji Wakita,<sup>2</sup> Charles M. Rice,<sup>3</sup> Hideyoshi Harashina,<sup>4</sup> Michihiro Kohara,<sup>5</sup> Yasuhito Tanaka,<sup>6</sup> and Akitsugu Takeda<sup>1,7,8,9</sup>

<sup>1</sup>Division of Epigenetics in Cancer and Immunology, Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University, Sapporo, Hokkaido 060-0815, Japan  
<sup>2</sup>Molecular Medical Biochemistry Unit, Biological Chemistry and Engineering Course, Graduate School of Chemical Science and Engineering, Hokkaido University, Sapporo, Hokkaido 060-0815, Japan  
<sup>3</sup>Research Center for Infectious Associated Cancers, Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University, Sapporo, Hokkaido 060-0815, Japan  
<sup>4</sup>PhoenixBio Co., Ltd., Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-0046, Japan  
<sup>5</sup>Department of Virology and Liver Unit, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, Nagoya, Aichi 467-8601, Japan  
<sup>6</sup>Laboratory of Innovative Nanomedicine, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University, Sapporo, Hokkaido 060-0812, Japan  
<sup>7</sup>Department of Virology & Hepatobiliary Infection, Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University, Sapporo, Hokkaido 060-0815, Japan  
<sup>8</sup>Laboratory of Virology and Infectious Disease, The Rockefeller University, New York, NY 10026, USA  
<sup>9</sup>Department of Microbiology and Cell Biology, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

Correspondence: tsakeda@igm.hokudai.ac.jp  
http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2014.12.016

(Sato et al., Immunity 2015)

補足図: B型肝炎ウイルス (HBV) に対する自然免疫感染防御でのRIG-Iの2つの役割  
①RIG-I がヒト肝細胞においてHBVのセンサー分子として、ウイルス複製途中に出現する特定のウイルスRNA (pgRNA) を認識しIII型インターフェロン発現誘導を通して抗ウイルス作用を発揮。②RIG-Iがウイルスの複製に関わるHBVポリメラーゼがpgRNAに結合するのを競合的に阻害する、直接的な抗ウイルス作用。

### The εRNA restricts HBV replication in human hepatocyte-chimeric mice

HBV(C) infection model of human hepatocyte-chimeric mice (Chimeric mice)  
Human liver  
4-week postinfection i.v.  
εRNA expression vector

εRNA expression vector loaded in a liposomal carrier, a multifunctional envelope-type nanodevice (MEND)

Collaboration with Dr. Y. Tanaka (Nagoya City Univ.), Dr. H. Harashina (Hokkaido Univ.) and Dr. Y. Ishida (PhoenixBio Co., Ltd.)

Q-PCR analysis  
— Control-MEND  
— εRNA-MEND

### これまでの創薬研究～候補薬剤

Attachment & Entry: HBV特異的モノクローナル抗体 (Watashi K et al. J Biol Chem (2013), Iwamoto M et al. BBRC (2014), Watanabe T et al. Hepatology (2014), Tsutsumi S et al. PLoS ONE (2014)), IL-1β+TNFα+CyA+ Oxysterol Proanthocyanidin, アシアロ糖蛋白 (Receptor?)

Uncoating & Transfer: HBsAg, スフィンゴ脂質阻害剤 DHA (Watanabe T et al. AAC (2014)), 新規核酸アナログ (満屋班と連携)

Transcription: HBV特異的siRNA/shRNA, PEG-IFNα, PEG-IFNβ, ε-RNA-MENDを用いた抗HBV療法

Reverse transcription: Nucleocapsid (HBV RNA+)

免疫応答を誘導・制御する新しい創薬標的の創出

Sato et al. Immunity (2015)

### 目的: HBV持続感染を再現する効率的な培養細胞評価系の開発

評価モデル ① HBV持続感染培養系 ② HBV感染キメラマウス

HBV持続感染培養系開発 薬剤スクリーニング

24-25年度: 日本人ヒト肝細胞 (50%), iPS細胞由来肝細胞 (水口) 55%, キメラマウス肝細胞 (石田) 90%

26年度: 1) 候補化合物をHTS等で筛选、感染防御・抑制試験 2) 肝細胞における前HBVの発現動態及び毒性試験 3) GPR120を介したヒトインスリン/グルコースシグナル伝達100%、候補化合物の石炭・薬の検証 4) 細胞培養法 (スクリーニング法、動態モデル) 5) 製薬企業 (朝日化学など) との連携 6) 前臨床試験を継続する

27年度: 各種HBVクローン (HBV genotype, 変異株), 感染源, 細胞株の作成・提供 100/100%

28年度: 1) HBV持続感染を制御するmicroRNA 2) HBVを標的としたεRNA-MEND 3) HBV感染に必要な脂質分子の絞り込み 4) 核酸認識抗体を介する自然免疫シグナルを伝達に阻害する分子の特定 5) HBV感染防御や免疫応答を誘導点制御する新しい創薬標的の特定

抗HBV効果をもつ化合物や生理活性物質のスクリーニングを行い、単独での抗HBV効果、共存薬との併用効果を検討

ウイルスまたは宿主因子を標的とする抗HBV剤の探索・実用化(前臨床試験)を目指す

### 利益相反について

【別添4】

利益相反の有無等 (平成26年度)

ア 利益相反の有無 有・無(いずれかを記載)

イ 利益相反がある場合には具体的内容(以下に記載)

無

## 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。

① 上記研究事業の研究班の研究代表者として参加している。

（以下①、②を記載）

①（研究班名）「〇〇〇〇研究班」（研究代表者名：〇〇〇〇）

② 今回申請している研究との違い（研究内容に重複がないことを具体的に提示）など、その必要性・合理性の説明

- ① 「C型肝炎の新規診断法や新規治療法を開発するためのゲノムワイド関連解析の手法を用いた宿主因子の解析に関する研究」（田中晴人）  
② C型肝炎ウイルス感染に対する自然経過、新規薬剤に対する応答性、病態進展（特に発癌）に関わる宿主要因をSNP-based GWASに加えて、CNV-based GWAS、次世代シーケンズ(NGS)を用いたSequencing-based GWASにより同定することを目的とする研究班のため、B型肝炎創薬実用化研究とは研究対象、目的においても重複はありません。

## 合同研究班会議開催状況

【別添6】

他の研究班と合同での研究班会議開催状況（平成26年度）

ア 他の研究班と合同で研究班会議を開催していない。

① 他の研究班と合同で研究班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）

①平成26年5月15日 ②次世代生命基盤技術を用いたB型肝炎制圧のための創薬研究 ③(小嶋聡一)

①平成26年8月5 - 6日 ②HBV cccDNAの制御と排除を目指す新規免疫治療薬の開発 ③(金子周一)

①平成27年1月8日 ②HBV cccDNAの制御と排除を目指す新規免疫治療薬の開発 ③(金子周一)

## 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：ツパイ全ゲノム解析に基づく B 型肝炎ウイルス感染感受性小動物モデルの開発  
に関する研究

課題番号：H24-B創-肝炎-一般-014

予定期間：H24 年度から H28 年度まで

研究代表者：小原 道法

所属研究機関、部局：公益財団法人 東京都医学総合研究所 ゲノム医科学研究分野

職名：シニア研究員

委託費(決定額)：1 年目 100,000,000 円 2 年目 100,000,000 円 3 年目 100,000,000 円  
計 300,000,000 円

### I. 研究の意義

- (1) HBV 感染治療薬や治療ワクチンや病態の解析には正常な免疫系を有する実験動物モデルが必要である。
- (2) HBV はヒト、チンパンジー以外に適正な感染動物が存在せず、治療や病態解析に用いる実験動物モデルの確立が急務となっている。

### II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 原猿類に分類されていたツパイは、HBV 及び HCV に感染し 1～3 年で慢性肝炎、肝硬変、肝がんを発症する。正常な免疫機能を持つツパイを HBV 感染モデル動物として確立する。
- (2) HBV 高感受性ツパイ個体を選択し、治療や病態解析実験動物モデルとして使用可能な系統化する。
- (3) 治療薬の効果を評価するにはツパイの免疫応答機構を解析するツールの作製が必須である。そこで、ツパイの全ゲノム解析データ情報を基に免疫機構解析ツールを確立する。
- (4) 正常な免疫機能を持つ HBV 感染モデル動物として、抗ウイルス化合物や治療ワクチンなどの効果を検証する。
- (5) 病態解析や薬理効果、治療効果の実証を可能とし、HBV 病原性解析や HBV 感染に起因する肝炎・肝がん治療法の開発など新規 HBV 感染治療法の確立において大きく貢献すると期待される。

### III. 3 年間の研究成果

ツパイ繁殖法を確立し、新生児ツパイに HBV を接種することで効率良く持続感染化した。このツパイを用いて治療ワクチンの接種法、アジュバントの効果について検討を進めている。また、ツパイの全ゲノムを解析し、この配列情報を基に cDNA クローニング、抗体作製を進めることで、短期間にツパイ免疫系の解析ツールを樹立している。

#### 研究代表者(小原道法)

- (1) 2 頭のツパイ全ゲノム解析を終了し、ツパイのゲノム配列はヒトとは約 88%、チンパンジーとは約 83% の同一性を示した。その結果、HBV や HCV レセプター等ヒトの分子と同一性の高い遺伝子群が認められた。
- (2) 得られたゲノム情報からツパイの免疫反応を担うサイトカインや細胞表面マーカー、自然免疫、シグナル分子など 130 種類を選択し、ペプチド抗体作成を行った。この抗体を用いてツパイ免疫系の解析をすすめた。
- (3) ツパイ肝臓初代培養細胞及びツパイ肝臓細胞置換キメラマウスへの HBV 感染を行い、効率良く感染増殖することを見出した。
- (4) 成獣ツパイに遺伝子型 A,C,J の HBV を接種後経日的に採血し経過を観察したところ、全てのツパイに感染が成立し、肝臓組織の異常所見は感染 3 日後という早期から現れることが明らかとなった。
- (5) 感染 1, 3, 21 日後に剖検を行い、肝臓組織中の遺伝子発現の変化を次世代シーケンサーにより網羅的に解析し、感染 1 日後から炎症制サイトカインが誘導されていることをみいだした。
- (6) ヒト HBV ワクチンで使用されている遺伝子型 A あるいは C の酵母発現 HBs 抗原、HBc 抗原を皮下あるいは経鼻で接種し抗体産生、細胞性免疫誘導について解析した。2 回の接種で高い抗体価の誘導が認められ、遺伝子型 A 抗原接種群の方が初期応答が早かった。

#### 研究分担者(保富康宏)

- (1) ツパイの繁殖系を樹立し、繁殖率、離乳率、育成率のいずれも過去の報告を上回るものであった。30 頭の F0

- ツパイから約 80 頭の F1 ツパイを得た。平均の産児数は 3.3 頭で、離乳率は約 60%であった。
- (2)新生ツパイ 55 頭へ感染者血清を腹腔内投与または皮下接種した。全ての感染個体血清中から HBV 遺伝子が検出されている。これらの新生児を主とした感染系をさらに増加させ、長期持続感染の有無、並びに肝炎等の病態の観察を行っている。
- (3)ツパイ個体の中で HBV 感染感受性に違いが見られ、ウイルス感染に高感受性を示す産子を提供できるツパイのペアを選抜した。ツパイにおける HBV 高感受性系統の樹立は治療法の確立や病態解明に非常に重要である。
- (5)HBV 持続感染ツパイに HBs 抗原・HBc 抗原を K3-SPG アジュバントとともに接種し、ワクチン治療効果向上についての検討を行っている。

#### 研究分担者(小原恭子)

- (1) ツパイの飼育・繁殖法を確立した。全ての♀個体から子供を得る事ができ、40 頭の F0 ツパイから 141 頭の F1 ツパイを得た。平均の産児数は 3.9 頭で、離乳率は約 50%である。
- (2) ツパイの新生児に HBV を感染させる方法が確立した。接種法は腹腔内、静脈内や皮下を検討した結果、皮下接種が最も高値持続感染化個体が多かった。感染に使用した A2, C, D3, D7, E, J 株全てでツパイにおける感染は成立した。高値持続感染個体の成立は A2 と J 株が高率に見とめられた。
- (3) ツパイ個体の中で HBV 感染感受性に違いが見られ、ウイルス感染に高感受性を示す産子を提供できるツパイのペアを選抜し繁殖した。
- (4)新生児から母獣への感染が 50%で認められた。また、感染した母獣から、父獣への感染も 67%で見られた。これらの結果から、ツパイ感染系で HBV の水平感染や性的接触による感染が生じる事が明らかとなり、今後感染経路の解析研究モデルとしても有用と考えられた。
- (5)HBV 持続感染ツパイに HBV-siRNA を投与後に HBs 抗原・HBc 抗原を接種し、ワクチン治療効果向上についての検討を行っている。

#### 研究分担者(石井健)

- (1) TLR9 リガンドである CpG オリゴデオキシヌクレオチド (ODN)は、自然免疫応答を強力に活性化し、ワクチンのアジュバントとして期待されている。新たな TLR9 リガンド新規アジュバント K3-SPG の開発に成功した。
- (2)K3-SPG は単純に抗原と混ぜるのみでアジュバント効果、特に T 細胞応答を誘導する事ができる。
- (3)ヒト型 K3-SPG の自然免疫応答を検討し、ヒトと同様にツパイ末梢血単核球を活性化する事が確認された。

#### 研究分担者(押海裕之)

- (1) ヒトとマウスでは HBV に対する自然免疫応答の経路が異なることを発見し、マウスモデル実験系から示された HBV に対する自然免疫応答のモデルは、ヒトにはあてはまらないことを示した。
- (2)HBV の Pol 蛋白質が、ウイルス RNA の認識に関与する宿主の RIG-I 蛋白質を阻害することを発見した。
- (3)ツパイ個体への感染実験により cGAS 依存的な自然免疫応答が惹起されていないことを解明し、HBV に対する自然免疫応答ではウイルス RNA 認識に関与する経路が重要であることを示した。

#### 研究分担者(村上周子)

- (1)ツパイへ感染させるヒト HBV 感染源を準備した。
- (2)ヒト HBV の各遺伝子型において、各薬剤耐性株を人工的に再現し、感染源を作成した。
- (3)HBV 感染ツパイ血清の評価系として、AST、ALT、アルブミン等の生化学的評価、HBV-DNA、HBs 抗原など微量の血清で測定することが可能である高感度測定系を確立した。

#### 研究分担者(櫻井 遊)

- (1)核酸を肝実質細胞へ効率的に導入することが可能な送達システム(MEND)の開発に成功した。この導入活性は、静脈内投与型 siRNA 医薬として現在最も開発が進んでいる Alnylam 社のキャリアと同等であった。
- (2)HBV に対する siRNA を搭載した YSK13-MEND を静脈内投与することにより、HBV 持続感染ヒト肝臓キメラマウスの HBV DNA や抗原蛋白質を減少させることに成功した(特願 2014-217011)。
- (3) mRNA と低分子量ポリエチレンイミンと複合体化することで、mRNA を MEND に高効率(90%前後)に搭載させることに成功した。

#### 研究分担者(日浅陽一)

- (1) HBV トランスジェニックマウスへの HBs 抗原パルス DC 投与では HBs 抗原特異的免疫反応しか得られなかったが、HBc 抗原パルス DC 投与では、HBs 抗原の陰性化、HBs 抗体の陽転、HBc 抗原のみならず HBs 抗原特異的 CTL の産生がみられた。
- (2)B 型慢性肝炎患者における HBs 抗原および HBc 抗原ワクチンのペグインターフェロンを上回る治療効果が得られた。(第3相臨床試験)。第 3 相臨床試験におけるワクチン治療開始 12 週後の ALT 値上昇と HBV 排除の関連について解析を進めている。
- (3)B 型慢性肝炎患者における HBs 抗原および HBc 抗原ワクチン治療における新たなアジュバント(百日咳菌)による治療効果向上の検討を進めた。

(4)HBV 持続感染ツパイを用いた HBs 抗原および HBc 抗原ワクチンの治療プロトコールの作成を行った。

#### IV. 今後考えられる新たな課題

- (1)HBV に感受性の高い F1 個体間で交配を行い、HBV 高感受性ツパイ系統の樹立を進める。また同時に兄弟姉妹での交配も試み、純系化が可能かどうか検討する。
- (2)HBV 持続感染個体をさらに増やし、治療ワクチン、新規治療薬の評価を進め、肝炎等の病態の解析を行う。
- (3)HBV の各遺伝子型において、ツパイ高感染ウイルス株を選択する。
- (4)感染評価系について、さらに超高感度な測定法の確立にむけて改良を重ねる。
- (5)ツパイモデルにより最適な K3-SPG アジュバントのスクリーニングおよび開発を進め、HBV 治療ワクチンへの応用をめざす。
- (6)これらの解析を進めるために、作成した抗体群を用いて 1)マルチプレックス抗体検出系、2)ELISPOT 系等の確立を進める。
- (7)HBV-siRNA やその他阻害剤を用いて、HBV 感染ツパイ初代肝培養細胞、ツパイ肝臓キメラマウス及びツパイ個体を比較解析することで、HBV 持続感染による自然免疫抑制・獲得免疫抑制を解除する方法を確立する。
- (8)ツパイを用いた実験では必要な siRNA 量がマウスよりも多くなるので、流路を利用した連続式製造法等、安全性に優れた MEND の大量製造法の確立を進める。
- (9)ツパイ持続感染モデルを用いて、HBs 抗原および HBc 抗原治療ワクチン投与による肝臓内での HBV 排除に寄与する免疫反応 (CTL の誘導) を解析する。

#### 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)HBV 持続感染ツパイ個体は自然免疫・獲得免疫系が正常であることから、治療ワクチンやアジュバント活性、HBV 蛋白質を標的とした HBV-siRNA や阻害剤の評価などに使用でき、新たな治療法の開発に貢献できる可能性は高い。

#### VI. 行政施策への貢献の可能性

- (1)B 型肝炎に対する有効な免疫治療や治療薬開発の為の基礎研究の推進に貢献し、新たな治療ワクチンや治療薬、HBV 感染の検査薬の開発に繋がり、より良い肝炎治療法の開発に繋がると期待される。
- (2)水平感染する小動物モデルの樹立により、B 型肝炎の病態の解明、予防法や治療法を確立するために有用であり、診断や治療の新たなガイドライン策定に貢献する可能性が考えられる。

#### VII. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

##### 研究代表者

- (1)Kyoko Tsukiyama-Kohara and Michinori Kohara. *Tupaia belangeri* as an experimental animal model for viral infection. *Experimental Animals* 2014 Oct 30;63(4):367-74. Epub 2014 Jul 22.
- (2) Tsunamasa Watanabe, Hiroto Hatakeyama, Chiho Matsuda-Yasui, Yusuke Sato, Masayuki Sudoh, Asako Takagi, Yuichi Hirata, Takahiro Ohtsuki, Masaaki Arai, Kazuaki Inoue, Hideyoshi Harashima and \*Michinori Kohara. *In vivo* therapeutic potential of Dicer-hunting siRNAs targeting infectious hepatitis C virus. *Scientific Reports* 2014 Apr 23;4:4750. doi: 10.1038/srep04750.

##### 研究分担者

- (3). Kobiyama K., Aoshi T., Narita H., Kuroda E., Hayashi M., Tetsutani K., Koyama S., Mochizuki S., Sakurai K., Katakai Y., Yasutomi Y., Saijo S., Iwakura Y., Akira S., Coban C. and Ishii KJ. A non-agonistic Dectin-1 ligand transforms CpG into a multitask nano-particulate TLR9 agonist. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2014;111;3086-3091.
- (4)Tsujiyama Y, Inada H, Yoneda M, Fujita T, Matsuo K. and Yasutomi Y. Effects of Mycobacteria major secretion protein, Ag85B, on allergic inflammation in the lung. *PLoS One* 2014;9: E-pub
- (5)Zare-Bidaki M1, Tsukiyama-Kohara K, Kazemi Arababadi M\*. Toll-like receptor 4 and hepatitis B infection: molecular mechanisms and pathogenesis. *Viral Immunology* Sep;27(7):321-6, 2014.
- (6)Ezzikouri S, Ozawa M, Kohara M, Elmdaghri N, Benjelloun S, Tsukiyama-Kohara K\*. Recent insights into hepatitis B virus-host interactions. *J Medical Virology* Jun;86(6):925-32, 2014.
- (7)Imanishi T, Ishihara C, Badr Mel S, Hashimoto-Tane A, Kimura Y, Kawai T, Takeuchi O, Ishii KJ, Taniguchi S, Noda T, Hirano H, Brombacher F, Barber GN, Akira S, Saito T. Nucleic acid sensing by T cells initiates Th2 cell differentiation. *Nat Commun.* 2014 Apr 10;5:3566.
- (8)Leong CR, Oshiumi H, Okamoto M, Azuma M, Takaki H, Matsumoto M, Chayama K, Seya T. A MAVS/TICAM-1-Independent Interferon-Inducing Pathway Contributes to Regulation of Hepatitis B Virus Replication in the Mouse Hydrodynamic Injection Model. *J Innate Immun.* 2014 Aug 8. [Epub ahead of print]
- (9)Akhter A, Hayashi Y, Sakurai Y, Ohga N, Hida K, Harashima H. Ligand density at the surface of a nanoparticle and different uptake mechanism: Two important factors for successful siRNA delivery to liver endothelial cells. *Int J Pharm.* 26;475(1-2):227-237 (2014)
- (10) Miyake T, Kumagi T, Furukawa S, Hirooka M, Kawasaki K, Koizumi M, Todo Y, Yamamoto S, Abe M, Kitai K, Matsuura B, Hiasa Y. Hyperuricemia is a risk factor for the onset of impaired fasting glucose in men with a high plasma glucose level: a community-based study. *PLoS One.* 2014;9(9):e107882.

## Ⅷ. (3年間の研究成果の)概要図等

※ポンチ絵等でわかりやすく簡潔に説明してください。

別添①

### ●研究代表者の研究歴等

#### ・過去に所属した研究機関の履歴

1. 昭和48年4月 (財)日本ポリオ研究所 研究員 (ポリオウイルスの分子生物学的解析)
2. 昭和57年1月 北里大学薬学部公衆衛生学教室講座研究員 (ポリオウイルス遺伝子機能の解析)
3. 昭和59年5月 東京大学医学部細菌学教室受託研究員 (ポリオウイルス遺伝子機能の解析)
4. 平成元年4月 東燃、総合研究所、基礎研究所、免疫工学グループ・グループヘッド (肝炎ウイルスの分子生物学的解析及びその制御)
5. 平成4年4月 東京都臨床医学総合研究所、微生物研究部門・室長 (肝炎ウイルスの分子生物学的解析及びその制御)
6. 平成16年4月 東京都臨床医学総合研究所、部長、SARS、C型肝炎等感染症プロジェクト・プロジェクトリーダー (肝炎ウイルス複製機構、病原性発現機序の解析、治療法の開発に関する研究及びHBV、HCVワクチン、SARS、高病原性インフルエンザワクチン開発、動物モデルの開発)、組織改編に伴い名称変更
7. 平成23年4月 東京都医学総合研究所 感染制御プロジェクト・プロジェクトリーダー (肝炎ウイルス複製機構、病原性発現機序の解析、治療法の開発に関する研究及びHBV、HCVワクチン、高病原性インフルエンザワクチン開発、動物モデルの開発)、組織統合に伴い名称変更

#### ・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

1. 野本 明男：東京大学名誉教授、微生物科学研究所所長
2. 服部 信：東京都立駒込病院・元院長
3. 下遠野 邦忠：京都大学名誉教授、千葉工業大学客員教授
4. 溝上 雅史：国立国際医療研究センター、肝炎免疫研究センター長
5. 徳久剛史：千葉大学医学部教授
6. 宮村 達男：元国立感染症研究所所長
7. 脇田 隆字：国立感染症研究所ウイルス二部部長

#### ・主な研究課題

1. ポリオウイルスの神経病原性の研究 (ポリオウイルスの増殖機能と神経病原性が相関していることを示した)
2. ポリオウイルス生ワクチン株の全塩基配列の決定および病原性発現遺伝子領域の研究 (弱毒及び強毒ポリオウイルス株の各遺伝子領域のキメラクローンを用いて神経毒力を担う領域を明らかにした。)
3. ポリオウイルスの複製と病原性発現に関する研究 (5'非翻訳領域の塩基変異による翻訳効率の変化が病原性の強さに関与していることを明らかにした。)
4. C型肝炎ウイルス遺伝子のクローニング及び遺伝子機能研究 (C型肝炎ウイルスは内部認識機構により翻訳が開始されること、および遺伝子群の解析からグループに分類し、それぞれのインターフェロン治療応答性が異なることを明らかにした。此の知見を基に、治療前に有効な抗体診断薬を上市し臨床現場で使用されている。)
5. C型肝炎ウイルス粒子構造の解析と複製、病原性発現に関する研究 (免疫電顕法によりウイルス粒子を同定した。此の知見を基にウイルス量定量ELISAを構築し上市した臨床現場で使用されている。)
6. 超高感度B型肝炎ウイルス遺伝子定量系の樹立 (同定されている1コピーから検出できるRTD-PCRシステムを構築した。確定診断薬として上市し臨床現場で使用されている。)
7. B型肝炎ウイルス感染ヒト肝臓での感染動態の研究 (B型肝炎ウイルス遺伝子を高感度に検出するRT-PCR in situ法を樹立し、その動態を明らかにした。)
8. B型肝炎ウイルス粒子構造の解析と複製、病原性発現に関する研究 (免疫電顕法によりコブラ様ウイルス粒子を同定した。)
9. B型肝炎病態モデルマウスの樹立と病原性に関する研究 (B型肝炎ウイルス遺伝子を発現したトランスジェニックマウスが肝炎・肝硬変・肝がんを発症することを明らかにした。)

10. B型肝炎の免疫治療に関する研究（慢性肝炎を発症しているトランスジェニックマウスにHBV 遺伝子組換えワクチニアワクチンを接種する事で、肝炎症状が消失し、HBV 抗原も排除されることが示された。）
11. B型肝炎ウイルス排除機序の研究（ヒト肝細胞中で感染・増殖しているHBVの排除にはIFN- $\lambda$ が重要であることをヒト肝臓キメラマウスを用いて明らかにした。）

#### ・これまでの研究実績

1. Sayeh Ezzikouri, Tomohiro Nishimura, Michinori Kohara, Soumaya Benjelloun, Yoichiro Kino, Kazuaki Inoue, Akira Matsumori, \*Kyoko Tsukiyama-Kohara. Inhibitory Effects of Pycnogenol® on Hepatitis C Virus Replication. *Antiviral Research* (2014) in press.
2. \*Kyoko Tsukiyama-Kohara and Michinori Kohara. *Tupaia belangeri as an experimental animal model for viral infection. Experimental Animals* 2014 Oct 30;63(4):367-74. Epub 2014 Jul 22.
3. \*Tsubasa Munakata, Makoto Inada, Yuko Tokunaga, Takaji Wakita, Michinori Kohara, and Akio Nomoto. Suppression of hepatitis C virus replication by cyclin-dependent kinase inhibitors. *Antiviral Research* 2014 Aug;108:79-87.
4. Masaaki Arai, Kyoko Tsukiyama-Kohara, Asako Takagi, Yoshimi Tobita, Kazuaki Inoue and \*Michinori Kohara. Resistance to cyclosporin A derives from mutations in Hepatitis C virus nonstructural proteins. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014 May 23;448(1):56-62. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.04.053.
5. Tsunamasa Watanabe, Hiroto Hatakeyama, Chiho Matsuda-Yasui, Yusuke Sato, Masayuki Sudoh, Asako Takagi, Yuichi Hirata, Takahiro Ohtsuki, Masaaki Arai, Kazuaki Inoue, Hideyoshi Harashima and \*Michinori Kohara. *In vivo therapeutic potential of Dicer-hunting siRNAs targeting infectious hepatitis C virus. Scientific Reports* 2014 Apr 23;4:4750. doi: 10.1038/srep04750.
6. Yuri Kasama, Takuo Mizukami, Hideki Kusunoki, Jan Peveling-Oberhag, Yasumasa Nishito, Makoto Ozawa, Michinori Kohara Toshiaki Mizuochi, and \*Kyoko Tsukiyama-Kohara. B-cell-intrinsic Hepatitis C virus expression leads to B-cell-lymphomagenesis and induction of NF- $\kappa$ B signaling. *PLoS ONE* 9(3):e91373. doi: 10.1371/journal.pone.0091373. eCollection 2014.
7. Sayeh Ezzikouri, Makoto Ozawa, Michinori Kohara, Naima Elmdaghri, Soumaya Benjelloun, \*Kyoko Tsukiyama-Kohara. *Recent Insights into Hepatitis B Virus-Host Interactions. J. Med. Virology* 86(6):925-32. (2014).
8. Fumihiko Yasui, \*Michinori Kohara, Masahiro Kitabatake, Toru Nishiwaki, Hideki Fujii, Chise Tateno, Misako Yoneda, Kouichi Morita, Kouji Matsushima, Shigeo Koyasu, Chieko Kai. Phagocytic cells contribute to the antibody-mediated elimination of pulmonary-infected SARS coronavirus. *Virology* 454-455:157-68. doi: 10.1016/j.virol.2014.02.005. Epub 2014 Mar 4. (2014).
9. Haru Ogiwara, Fumihiko Yasui, Keisuke Munekata, Asako Takagi-Kamiya, Tsubasa Munakata, Namiko Nomura, Futoshi Shibasaki, Kazuhiko Kuwahara, Nobuo Sakaguchi, Yoshihiro Sakoda, Hiroshi Kida and \*Michinori Kohara. Histopathological evaluation of the diversity of cells susceptible to H5N1 virulent avian influenza virus. *The American Journal of Pathology* 184(1):171-83. doi: 10.1016/j.ajpath.2013.10.004 (2014).
10. Tomoko Fujiyuki, Misako Yoneda, Fumihiko Yasui, Takeshi Kuraishi, Shosaku Hattori, Hyun-jeong Kwon, Keisuke Munekata, Yuri Kiso, Hiroshi Kida, Michinori Kohara, \*Chieko Kai. Infection of a Japanese isolate of highly pathogenic avian influenza virus (H5N1) to macaques by aerosol exposure. *PLoS ONE* 2013; 8(12):e83551. doi: 10.1371/journal.pone.0083551 (2013).
11. Masaaki Arai, Yuko Tokunaga, Asako Takagia, Yoshimi Tobita, Yuichi Hirata, Yuji Ishida, Chise Tateno, \*Michinori Kohara. Isolation and characterization of highly replicable hepatitis C virus genotype 1a strain HCV-RMT. *PLoS ONE* 8(12):e82527. doi: 10.1371/journal.pone.0082527 (2013).

12. Takeshi Wada, Michinori Kohara and \*Yasuhiro Yasutomi. DNA vaccine expressing the non-structural proteins of hepatitis C virus diminishes the expression of HCV proteins in a mouse model. *Vaccine* 31(50):5968-74, doi: 10.1016/j.vaccine.2013.10.037 (2013).
13. Akira Sakurai, Katuyoshi Takayama, Namiko Nomura, Tsubasa Munakata, Naoki Yamamoto, Tsuruki Tamura, Jitsuho Yamada, Masako Hashimoto, Kazuhiko Kuwahara, Masatoshi Okamoto, Yoshihiro Sakoda, Yoshihiko Suda, Yukuharu Kobayashi, Nobuo Sakaguchi, Hiroshi Kida, Michinori Kohara and \*Futoshi Shibasaki. Broad-Spectrum Detection of H5 Subtype Influenza A Viruses with A New Fluorescent Immunochromatography System. *PLoS ONE* 8(11):e76753, doi: 10.1371/journal.pone.0076753 (2013).
14. Asao Katsume, Yuko Tokunaga, Yuichi Hirata, Tsubasa Munakata, Makoto Saito, Hitohisa Hayashi, Koichi Okamoto, Yusuke Ohmori, Isamu Kusanagi, Shinya Fujiwara, Takuo Tsukuda, Yuko Aoki, Klaus Klumpp, Kyoko Tsukiyama-Kohara, Ahmed El-Gohary, Masayuki Sudoh, \*Michinori Kohara. A Serine Palmitoyltransferase Inhibitor Inhibits Hepatitis C Virus Replication in Human Hepatocytes. *Gastroenterology* 145(4):865-73, doi: 10.1053/j.gastro.2013.06.012 (2013).
15. Tsunamasa Watanabe, Fuminaka Sugauchi, Yasuhito Tanaka, Kentaro Matsuura, Hiroshi Yatsuhashi, Shuko Murakami, Sayuki Iijima, Etsuko Iio, Masaya Sugiyama, Takashi Shimada, Masakazu Kakuni, Michinori Kohara, \*Masashi Mizokami. Hepatitis C virus kinetics by administration of pegylated interferon- $\alpha$  in human and chimeric mice carrying human hepatocytes with variants of the IL28B gene. *Gut* 62(9):1340-6, doi: 10.1136/gutjnl-2012-302553 (2013).
16. Jun Aoki, Yuka Kowazaki, Takahiro Ohtsuki, Rumiko Okamoto, Kazuteru Ohashi, Seishu Hayashi, Hisashi Sakamaki, Michinori Kohara and \*Kiminori Kimura. Kinetics of Peripheral Hepatitis B Virus-specific CD8<sup>+</sup> T Cells in Patients with Onset of Viral Reactivation. *J. Gastroenterology* 48(6):728-37, doi: 10.1007/s00535-012-0676-y (2013).
17. Kazuya Shiogama, Ken-ichi Inada, Michinori Kohara, Hidemi Teramoto, Yasuyoshi Mizutani, Takanori Onouchi, and \*Yutaka Tsutsumi. Demonstration of hepatitis C virus RNA with high sensitivity in situ hybridization employing a locked nucleic acid probe in humanized liver of infected chimeric mice and in needle biopsied human liver. *International Journal of Hepatology* 2013:249535. doi: 10.1155/2013/249535.
18. \*Kyoko Tsukiyama-Kohara, Asao Katsume, Kazuhiro Kimura, Masayuki Saito, and Michinori Kohara. 4E-BP1 plays a suppressive role in differentiation of brown adipocytes from white adipose tissue. *Genes to Cells* 18(7):602-607, doi: 10.1111/gtc.12059 (2013).
19. Shin-ichiro Nakagawa, Yuichi Hirata, Takeshi Kameyama, Yuko Tokunaga, Yasumasa Nishito, Kazuko Hirabayashi, Junichi Yano, Takahiro Ochiya, Chise Tateno, Yasuhito Tanaka, Masashi Mizokami, Kyoko Tsukiyama-Kohara, Kazuaki Inoue, Makoto Yoshida, Akinori Takaoka and \*Michinori Kohara. Targeted induction of interferon- $\lambda$  in humanized chimeric mouse liver abrogates hepatotropic virus infection. *PLoS ONE* 8(3):e59611 (2013)
20. Fumihiko Yasui, Masayuki Sudoh, Masaaki Arai, \*Michinori Kohara. Synthetic lipophilic antioxidant BO-653 suppresses HCV replication. *J. Med. Virol.* 85(2):241-9 (2013).
21. 発明の名称： HBV 特異的人工 DNA スクレアーゼ  
 ①発明者：小原道法、立野知世、島田卓  
 ②出願日：2013年6月21日  
 ③出願番号：特願 2013-130908  
 ④出願人：公益財団法人東京都医学総合研究所；株式会社フェニックスバイオ  
 ⑤発明の内容の概略：HBV 特異的人工 DNA スクレアーゼ及びそれを用いた HBV 感染の治療及び予防方法に関する
22. Sekiguchi S., Kimura K., Chiyo T., Ohtuki T., Tobita Y., Tokunaga Y., Yasui F., Tsukiyama-Kohara K., Wakita T., Tanaka T., Miyasaka M., Mizuno K., Hayashi Y., Hishima T., Matsushima K., Kohara M.;

Immunization with a recombinant vaccinia virus that encodes nonstructural proteins of the hepatitis C virus suppresses viral protein levels in mouse liver. PLoS ONE 7(12):e51656.doi:10.1371 (2012)

23. Kazuaki Inoue, Kyoko Tsukiyama-Kohara, Chiho Matsuda<sup>1</sup>, Mitsutoshi Yoneyama, Takashi Fujita, Shusuke Kuge, Makoto Yoshiba and Michinori Kohara. Impairment of interferon regulatory factor-1 3 activation by hepatitis C virus core protein basic region 1. BBRC 428(4):494-499 (2012).

24. Yuichi Hirata, Kazutaka Ikeda, Masayuki Sudoh, Akemi Suzuki, Yuko Tokunaga, Leiyun Weng, Masatoshi Ohta, Yoshimi Tobita, Ken Okano, Kazuhisa Ozeki, Kenichi Kawasaki, Takuo Tsukuda, Asao Katsume, Yuko Aoki, Takuya Umehara, Satoshi Sekiguchi, Tetsuya Toyoda, Kunitada Shimotohno, Tomoyoshi Soga, Masahiro Nishijima, Ryo Taguchi, and Michinori Kohara. Self-enhancement of Hepatitis C Virus Replication by Promotion of Specific Sphingolipid Biosynthesis. PLoS Pathog. 2012 Aug;8(8):e1002860. Epub 2012 Aug 16. (2012).

25. Qiang Wang, Shijian Zhang, Hongbing Jiang, Jinalan Wang, Leiyun Weng, Yingying Mao, Satoshi Sekiguchi, Fumihiko Yasui, Michinori Kohara, Philippe Buchy, Vincent Deubel, Ke Xu, Bing Sun and Tetsuya Toyoda. PA from an H5N1 highly pathogenic avian influenza virus activates viral transcription and replication, and induces apoptosis and interferon expression. Virology Journal 8;9:106-118 (2012).

26. Naoko Kubota, Yasutaka Inayoshi, Naoko Satoh, Takashi Fukuda, Kenta Iwai, Hiroshi Tomoda, Michinori Kohara, Kazuhiro Kataoka, Akira Shimamoto, Yasuhiro Furuichi, Akio Nomoto, Akira Naganuma and Shusuke Kuge. HSC90 is required for nascent hepatitis C virus core protein stability in yeast cells. FEBS letter 586(16):2318-2325 (2012)

27. Hideyuki Konishi, Koichi Okamoto, Yusuke Ohmori, Hitoshi Yoshino, Hiroshi Ohmori, Motooki Ashiara, Yuichi Hirata, Atsunori Ohta, Hiroshi Sakamoto, Natsuko Hada, Asao Katsume, Michinori Kohara, Kazumi Morikawa, Takuo Tsukuda, Nobuo Shimma, Graham Foster, William Alazawi, Yuko Aoki, Mikio Arisawa, and Masayuki Sudoh. An orally available, small-molecule interferon inhibits hepatitis C virus replication. Sci. Comm 2: 259 : 1 – 9 (2012).

28. Leiyun Weng; Michinori Kohara; Takaji Wakita; Kunitada Shimotohno; Tetsuya Toyoda. Detergent-induced activation of the hepatitis C virus genotype 1b RNA polymerase. Gene 496:79-87 (2012).

29. Makoto Saito, Michinori Kohara, Yuri Kasama and Kyoko Tsukiyama-Kohara. Hepatitis C virus induces overexpression of 3 $\beta$ -hydroxysterol  $\Delta$ 24-reductase through Sp1. J. Med. Virol. 84:733-746 (2012).

30. Yuri Kasama, Makoto Saito, Takashi Takano, Tomohiro Nishimura, Masaaki Satoh, Zhongzhi Wang, Nagla Elwy, Shinji Harada, Michinori Kohara, Kyoko Tsukiyama-Kohara. Translocase of outer mitochondrial membrane 70 induces interferon response and is impaired by hepatitis C virus NS3. Virus Res. 163: 405-409 (2012).

31. 発明の名称： 肝炎ウイルスの感染・増殖方法

①発明者： 小原道法、林仁寿、池谷武志

②出願日：2012年7月4日

③出願番号：特願 2012-150818

④出願人：公益財団法人東京都医学総合研究所；株式会社トランスパレント

⑤発明の内容の概略：HBV, HCV in vitro 3D培養系と感染増殖に関する

32. 発明の名称： ウロキナーゼ型プラスミノージェンアクチベータートランスジェニックマウス

①発明者： 小原道法、寺社下 浩一、川瀬 洋介、向谷 知世、大下 浩樹、浜村 理子

②出願日：2012年4月27日

③出願番号：特願 2012-102814

④出願人：(財)東京都医学総合研究所；中外製薬(株)；(株)フェニックスバイオ

⑤発明の内容の概略：ヒト肝臓キメラマウス作成のための肝炎発症トランスジェニックマウスに関する

33. 発明の名称： 新型インフルエンザウイルス由来ヘマグルチニンタンパク質遺伝子が組み込まれた B5R 遺伝子欠損組換えワクシニアウイルス

①発明者： 小原道法、安井 文彦

②出願日：2012年4月18日

③出願番号：特願 2012-094872

④出願人：(財)化学及血清療法研究所；(財)東京都医学総合研究所

⑤発明の内容の概略：インフルエンザウイルス組換え B5R 遺伝子欠損ワクシニアウイルスに関する

34. Masaaki Satoh, Makoto Saito, Takashi Takano, Yuri Kasama, Tomohiro Nishimura, Yasumasa Nishito, Yuichi Hirata, Masaaki Arai, Masayuki Sudo, Chieko Kai, Michinori Kohara, and Kyoko Tsukiyama-Kohara. Monoclonal antibody 2-152a suppresses hepatitis C virus infection through betaine/GABA transporter-1. *J Infect Dis.* 204(8):1172-80 (2011).

35. Tomoko Chiyo, Satoshi Sekiguchi, Masahiro Hayashi, Yoshimi Tobita, Yumi Kanegae, Izumu Saito, and Michinori Kohara. Conditional hepatitis C virus gene expression without induction of severe inflammatory responses through the use of a Cre-expressing recombinant adenovirus in mice. *Virus Res.* 160(1-2):89-97 (2011).

36. Takashi Takano, Kyoko Tsukiyama-Kohara, Masahiro Hayashi, Yuichi Hirata, Masaaki Satoh, Chise Tateno, Yukiko Hayashi, Tsunekazu Hishima, Nobuaki Funata, Masayuki Sudo, and Michinori Kohara. Augmentation of DHCR24 expression by hepatitis C virus infection facilitates viral replication in hepatocytes. *J. Hepatology* 55(3):512-21 (2011)

37. Kiminori Kimura, Michinori Kohara. *Frontiers of Model Animals for Human Diseases. Experimental Animals* 60(2), 93-100 (2011).

38. Takashi Takano, Michinori Kohara, Yuri Kasama, Tomohiro Nishimura, Makoto Saito, Chieko Kai, and Kyoko Tsukiyama-Kohara. Translocation of outer mitochondrial membrane 70 is induced by hepatitis C virus and is related to the apoptotic response. *J. Med. Virol.* 83:801-809 (2011).

39. Kiminori kimura, Satoshi Sekiguchi, Seishu Hayashi, Yukiko Hayashi, Tsunekazu Hishima, Masahito Nagaki, and Michinori Kohara. Role of interleukin-18 in intrahepatic inflammatory cell recruitment in acute liver injury. *Journal of Leukocyte Biology* 89:433-442 (2011).

40. Masaaki Arai, Hidenori Suzuki, Yoshimi Tobita, Asako Takagi, Koichi Okamoto, Atsunori Ohta, Masayuki Sudoh, Kunitada Shimotohno, Michinori Kohara. Establishment of infectious HCV virion-producing cells with newly designed full-genome replicon RNA. *Arch. Virol.* 156:295-304 (2011).

41. Kayo Yoshikawa, Aya Ogata, Chiho Matsuda, Michinori Kohara, Hideo Iba, Yukio Kitade, Yoshihito Ueno. Incorporation of biaryl units into the 5' and 3' ends of sense and antisense strands of siRNA duplexes improves strand selectivity and nuclease resistance. *Bioconjugate Chemistry* 22:42-49 (2011).

42. 発明の名称： バイオアッセイ用プレート及びアッセイ方法

①発明者：高井 まどか、福島 達郎、小原道法

②出願日：2011年12月8日

③出願番号：特願 2011-268549

④出願人：東京大学；(財)東京都医学総合研究所

⑤発明の内容の概略：微量高感度測定系に関する

43. 発明の名称： 抗インフルエンザウイルス活性を有するペプチド

①発明者：小原道法、佐々木 亨、パトリック・リード

②出願日：2011年9月27日

③出願番号：特願 2011-211100

④出願人：財団法人東京都医学総合研究所、ペプチドリーム株式会社

⑤発明の内容の概略：抗インフルエンザウイルス活性を有する特殊環状ペプチド等に関する

44. 発明の名称： 新型インフルエンザウイルス由来ヘマグルチニンタンパク質遺伝子を有する DI<sub>s</sub> 株由来組換えワクシニアウイルス

①発明者：小原道法、安井 文彦、喜田 宏、迫田 義博、石井 孝司

②出願日：2011年8月31日

③出願番号：特願 2011-189251

④出願人：(財)東京都医学総合研究所；北海道大学；国立感染症研究所長；(財)化学及血清療法研究所

⑤発明の内容の概略：インフルエンザウイルスワクチンに関する