

総括研究報告書

1. 研究開発課題名： ヒト肝細胞キメラマウスを用いた薬剤耐性、臓器不全等治療困難症例に対する病態解析と根治的治療法の開発に関する研究

2. 研究開発代表者： 氏名 茶山一彰

3. 研究開発の成果

(1) 薬剤耐性や種々の genotype の HCV に対する既存の薬剤による有効な治療法の開発

HCV 患者における薬剤耐性変異検査を高感度に行うことが可能な手法を開発し（茶山、三木）、NS5A 阻害薬耐性変異と宿主・ウイルス因子の関連を明らかにした（茶山、三木、前川）。また、耐性変異とダクラタスビル+アスナプレビル療法の効果の関係、および非 SVR 例における耐性変異の長期的な変化を明らかにした（茶山、平賀、前川）。またキメラマウスを用いて、protease 阻害薬+NS5A 阻害薬の併用により肝内 ISGs の発現に依存せずウイルス排除が得られるが、NS3-D168 変異が高度であれば protease 阻害薬+NS5A 阻害薬の治療効果が低下することを明らかにした（茶山、平賀）。cDNA-uPA/scid mouse を用いて、肝細胞の置換率がより安定したヒト肝細胞移キメラマウスを作製した（立野）。Genotype 3a、1a、1b にそれぞれ感染したキメラマウスから肝細胞を分離し、HCV の複製や上清への放出に最適化の培養条件を検討し、Jak 阻害剤（Tofacitinib）が用量依存的に上清中の HCV RNA 量を増加させることを明らかにした（立野）。

(2) 宿主因子をターゲットとした治療薬の開発

肝癌治療後の肝発癌抑制効果が報告されている Peretinoin が、in vitro において HCV 複製抑制効果を有すること、IFN 誘導遺伝子誘導能を有していないこと、HCV の蛋白翻訳課程には影響を与えないこと、HCV の RNA 合成課程を抑制していること、RNA 合成過程に加えて感染性粒子の細胞内から外への放出過程を抑制することを見いだした（島上）。HCV 培養系を用いて Ozagrel で発現変動する遺伝子のスクリーニングを CAGE 法によっておこない、幾つかの候補遺伝子を得た（土方）。また一価不飽和脂肪酸合成酵素 SCD1 の阻害剤が、DAA と相加的、IFN α と相乗的に HCV 抑制効果を示すことを見いだした。HCV 増殖系による化合物ライブラリースクリーニングによりウイルス粒子形成・分泌阻害活性を持つ化合物を同定し、その作用機序について解析した。HCV 粒子の形成を阻害する化合物と分泌を阻害する化合物をそれぞれ見だし、その標的宿主因子を解析した（脇田）。培養細胞系およびキメラマウスを用いて、抗ヒスタミン剤として安価に発売されている chlorcyclizine とその誘導体が抗 HCV 効果を有することを明らかにし、安価な治療開発への糸口を見出した（茶山、平賀）。HCV の miR-122 阻害剤に対する抵抗性獲得変異を同定し、その意義を明らかにした（松浦）。

(3) IFN、その他の抗ウイルス性サイトカインを利用したウイルス排除法の開発

1 月以上に渡って持続的に IFN- λ を発現可能なプラスミドベクターの構築に成功した（高倉）。さらに IFN- λ 発現ベクターの遺伝子導入により、培養細胞において抗 HCV 効果が得られることが確認された。

(4) 臓器不全合併症例に対する治療法の確立

『透析患者の C 型慢性肝疾患に対するダクラタスビル+アスナプレビル併用の薬物動態と有効性および安全性の検討－ Pilot Study －』の検討を行い、透析患者に対する有効性および安全性を確認した（正木、川上、鈴木）。肝移植後 DCV+ASV 療法を 8 例経験し、その免疫抑制薬を含めた薬物動態および CFSE 細胞質染色法を応用したリンパ球混合試験で抗ドナー免疫応答の解析を行い、安全性を証明した（大段）。