

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：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

2. 研究開発代表者：田中 靖人（公立大学法人名古屋市立大学）

3. 研究開発の成果

(1) 最適なヒト肝細胞の選択及びHBV持続感染を再現する培養細胞評価系の開発

1) これまでに大量調製可能なHBV感染感受性キメラマウス由来初代肝細胞(Ishida Y et al. Am J Pathol 2015; Tsutsumi S et al. PLoS ONE 2015)やNTCP発現HepG2細胞を用いたHBV持続感染培養系を構築。

2) より効率的な培養系へ改良し、ハイスループット薬剤スクリーニング系を構築(HBV/*Gaussia luciferase* システム)。3) HBVヌクレオカプシドをエンベロープで被覆させた擬似ウイルス粒子(蛍光ラベル化)の作製によるHBV生活環の可視化に成功(石川)。

(2) 薬剤スクリーニング・抗HBV活性のメカニズム解明及び前臨床試験

1) 富山化学工業の化合物ライブラリー(約3万)を活用した薬剤スクリーニングを実施。HBV-DNA及びHBs抗原を抑制するヒット化合物を取得し(特許出願)、最適化合成を展開(富士フィルム)。 2) 作用点の異なる複数のエントリー阻害薬を同定し、論文化(Kaneko M et al. J Virol 2015; Matsunaga H et al. Bioorg Med Chem Lett 2015)。3) HBV/Gluc(*Gaussia luciferase*)を用いた低分子化合物(α -helix構造を特異的に阻害する13,000種類)のスクリーニングを実施。強い抗HBV活性を有する4つの候補化合物を同定(小原)。4) アミノアルコールリン酸エステル化酵素阻害薬、HBVエントリー阻害薬、DDB1-HBx結合阻害薬を新規メカニズムに基づくHBV創薬の有望な候補として絞り込んだ。長崎大学の先端創薬イノベーションセンター等の機能を駆使して、合成最適化〜アカデミア創薬を展開(濱田)。 5) HBV-siRNA投与によるHBV蛋白発現抑制(Yamamoto M et al. J Hepatol 2016)、さらには免疫再賦活化によるHBV排除の可能性を評価。HBV特異的CD8+T細胞応答の賦活化及び随伴する肝障害を軽減するためのアプローチを検討(五十川)。6) ヒト肝臓キメラマウスを用いた前臨床試験(田中)：a) 富山化学・富士フィルムとの共同研究：HBV-DNA及びHBs抗原を抑制するヒット化合物を取得し、最適化合成にて約10倍の抗HBV活性を確認(リード化合物候補)。キメラマウス試験を開始。b) 抗DNAウイルス阻害薬FIT039の抗HBV活性を評価する。c) **KGSM1の特徴【特願2016-048664】**(池田)：既存の抗癌剤として使用する1/100の濃度で抗HBV活性を示すため副作用の軽減が期待できる。ETV耐性HBVにも有効。抗HBV活性を有する抗癌剤は肝発癌予防に対する新たな治療戦略となり得る。d) プロアンソサイアニジン誘導体及びその類縁化合物の解析(渡士)。

(3) ヒト肝細胞の機能を保持する環境因子の解明：1) ヒトmiRNA 2,048種に対するmimicを搭載したmiRNAライブラリーによるスクリーニング系を構築(落谷、田中)。HBV複製を制御するmiR3xxを同定し、そのTarget遺伝子制御を解明。2) DHA添加によるHBV感染への影響(HBV産生と脂質解析・TAG取り込み機序解析)。3) RIG-Iシグナル経路を制御する新しい因子を調節することによるHBV感染制御(高岡)。

(4) HBV感染感受性環境の構築：1) 培養肝細胞によるHBVの高効率感染増殖実験系の開発と新規抗HBV薬剤の評価(土方)。2) 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)。

ウイルス及び宿主因子を標的とする抗HBV薬の探索及び候補化合物の作用機序を解明すると同時に、キメラマウスを用いた前臨床試験を継続して進め、B型肝炎創薬実用化を目指す。

4. その他

該当無し