

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：革新的な動物モデルや培養技術の開発を通じた HBV 排除への創薬研究
2. 研究開発代表者：茶山一彰（広島大学大学院医歯薬保健学研究院）
3. 研究開発の成果
  - (1) 班員立野知世との共同研究で、50GEQ のウイルスを使用して 10e8/ml の HBV DNA を上清に算出する初代培養肝細胞/HBV の系を確立した(Am J of Pathology 2015)。
  - (2) B 型肝炎をヒト肝細胞キメラマウスに感染させ、ヒトの血球を投与することにより CTL による肝細胞障害、HBs 抗原から HBs 抗体へのセロコンバージョンを誘導する系を確立、CTLA4IG がこの肝炎を顕著に抑制することを発見、臨床応用のための試験を開始した(J Virol 2015)。
  - (3) 立野研究員らとの共同研究で siRNA による HBV の増殖抑制が投与法の改善により in vitro, in vivo で可能であることを示した(J Hepatol 2015)。
  - (4) 感染性 HBV 粒子を血中に産生する transgenic mouse を作製した(阿部班員との共同研究)。
  - (5) ISG20 の HBV 排除が RNA の nuclease 活性に依存すること、in vivo で実際に ISG20 の HBV 分解が起きることを検証した（瀬谷班員との共同研究、投稿中）。
  - (6) CTL, NK 活性を上げるワクチンアジュバント（核酸アナログ）が HBV の排除に寄与することを検証した（瀬谷班員との共同研究）。
  - (7) NTCP を発現する HepG2 細胞において RIG-I 受容体からのシグナルを欠損させると、HBV 感染が長期に持続する事が明らかとなってきた。現在 manuscript を作成中である（加藤班員との共同研究）。
  - (8) ゲノム編集によって HBV を不活性化する目的で、HBV ゲノムの複数箇所を同時に切断する CRISPR-Cas 発現ベクターを構築し、HepG2 細胞での破壊効果を検討した。HBV ゲノム中で保存性の高い 3 カ所を切断する sgRNA と野性型 CRISPR（あるいは CRISPR nickase）を発現する all-in-one ベクターを構築し、HepG2 細胞での HBV 量を解析したところ、2 つのヌクレアーゼにおいてコントロールに対して有意な HBV の減少が観察された（山本班員との共同研究）。
  - (9) HBV のライフサイクルに必須なヘリカーゼを同定し cccDNA との関連を検討中である。また HBV-RNA の 3' 末端のアンチセンス鎖の分解に関与する新規の分子を同定し抗 HBV 作用を確認した（Aly 班員との共同研究）。
  - (10) HBV に対して、柿渋および無添加石けんに不活化効果があることを示した。一方、高マンノース特異レクチンには HBV 不活化効果がなかった（坂口班員との共同研究）。