

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名： B型肝炎の新規治療薬を開発するための宿主の自然免疫系の解析に関する研究
2. 研究開発代表者： 藤田 尚志 (京都大学ウイルス研究所)
3. 研究開発の成果

### 試験管内および培養細胞を用いた解析

- (1) NTCP/GFP を発現し、IPS-1 の発現をノックダウンした HepG2 細胞株は HBV の持続感染を 4 週間以上に渡って維持することを見出した。この感染系で HBc あるいは HBs を指標とした薬剤スクリーニング系を確立した (藤田)。
- (2) 試験管内での HBV の pol とプレゲノム RNA 上の  $\epsilon$  配列との結合のアッセイ系を確立した (藤田)。
- (3) 培養細胞株 HepG2. 2. 15. 7 によるスクリーニングで HBV の培地への産生を抑制する薬剤として Nrf2 活性化薬の bardoxolon methyl を得た (土方)。
- (4) 昨年度樹立した、非がん細胞である不死化ヒト肝細胞 HuS-E/2 細胞に HBV 受容体である NTCP を恒常的に産生させた細胞クローンをメビオールゲル内で立体培養することで、組換え体 HBV に感染し、そのゲノム複製や粒子産生を再現することに成功した (土方)。
- (5) HepG2. 2. 15 細胞において、二本鎖 DNA を認識する宿主因子 cyclic GMP-AMP synthase (cGAS) の恒常的な発現が HBV の感染性粒子の形成や産生を抑制することを明らかにした (加藤)。
- (6) HBV 感染に伴い、初代肝細胞やマウス肝細胞において、種々のケモカインの産生が誘導された (松浦)。

### ヒト肝キメラマウスなどの動物を用いた解析

- (1) HBV 感染に伴い、ヒト肝細胞内で発現制御を受ける遺伝子として IL8 を同定し、その発現には HBx 蛋白が関与しており、制御に関するプロモーター制御領域を同定した (柘植)。
- (2) HBV 感染キメラマウスで認められた IFN- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) と IFN- $\lambda$  (IFN- $\lambda$ ) による抗 HBV 効果の違いは NK 細胞活性化能を反映することが示唆された (五十川)。
- (3) 肝細胞内の RIG-I Like Receptor (RLR) シグナル伝達経路の活性化は、Toll Like Receptor (TLR) シグナル経路の活性化に比して、HBV 特異的 T 細胞の細胞傷害能を選択的に誘導し、HBV の抗原発現を抑制した (五十川)。

### HBV 感染者由来の試料による解析

- (1) HBV 感染に伴って樹状細胞において発現が低下もしくは増加する遺伝子群を同定した (水越)。
- (2) NKp46<sup>high</sup>NKG2A<sup>high</sup> 分画を直接的に単離して解析を行い、この分画は強い細胞傷害活性を有する細胞集団であることを明らかにした (竹原)。

### 遺伝子治療

- (1) HBV 遺伝子治療用の高い small RNA 発現単位を多重連結するベクター作製法の開発に成功した (斎藤)。
- (2) ゲノム編集による HBV ゲノム破壊による遺伝子治療の基礎を確立した (斎藤)。