

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：B型肝炎ウイルスの完全排除、完治を目指した新規治療法の開発に関する包括的研究

2. 研究開発代表者： 森屋恭爾（東京大学大学院医学系研究科 病因病理学専攻 教授）

3. 研究開発の成果

metachromin A の類縁化合物をスクリーニングし、抗 HBV 化合物としてさらに新たな薬剤候補 A を同定するとともに新規スタチン複数を試験し HBe 抗原量の低下を実験系で確認可能な物質を同定し安全性の高い抗ウイルス物質を獲得した。

HBV mRNA の着目部位の塩基配列が genotype によって保存されていること、塩基配列を欠失する株であっても多くの場合この部位が intact であること、をデータベース情報から確認した。HBV 関連発癌の臨床検体で、let-7 の標的タンパクである LIN28B 蛋白の発現が増えていることが多いことを組織染色により確認し、HBV mRNA による let-7 の機能変化が発癌に密接に関わる可能性を示した。

長鎖 RNA の解析からは HBV 複製により発現上昇し、HBV の複製や肝臓がんの進展に関与しているものを同定。この lncRNA 発現誘導機構を解析した結果、HBx の過剰発現によるプロモータ活性化が判明した。この知見を基に新たな抗 HBV 薬探索のため HBx に応答する lncRNA のプロモーター領域を用いたレポーターシステムを構築した。

これまで樹立に成功した iPS-HPC、iPS-Hep に加え、Tet 誘導性 NTCP 強制発現 iPS-HPC 細胞 (iPS-HPC-NTCP) を樹立し、これらを用いて HBV の感染性を検討した。iPS-Hep では iPS-HPC に比しより高い HBV 感染性を示したが長期間の培養が困難であった。一方、iPS-HPC-NTCP は iPS-HPC に比し HBV 感染効率が向上した上、長期間の培養が可能であり、JAK 阻害剤の添加により長期間の cccDNA の保持が確認された。

HBV 持続複製細胞系で statin 類の抗 HBV 活性を解析した。特定の statin はそれぞれ単独で濃度依存的にプレゲノム産生阻害を示し、またインターフェロン、エンテカビル共存下で強い抗 HBV 活性を示した。

プレゲノム発現を負に制御する宿主因子の標的 HBV 遺伝子領域を同定した。

HBV ゲノム複製で RC 生成において必須である塩基を新たに見いだした。この塩基を他塩基に置換すると RC 生成が全く認められなくなることから、この領域を CRISPR/Cas9 で編集する抗 HBV 薬の可能性が示唆された。また、ハイスループット法により 33,457 の化合物をアッセイし 4 つのヒット化合物を見いだした。現在、機能解析を進めている。

HBV 増殖関連宿主因子のプロモーター領域をクローニングし、ルシフェラーゼによるレポーターシステムを樹立した。このシステムから複数の HBV 増殖抑制候補分子を同定した。ヒト iPS 細胞やヒト初代培養肝細胞による IVL の HBV 感染効率は高かったが、感染により細胞死が起きることがわかり、持続的な感染モデルのために、星細胞株を導入することにより構造の安定性の向上はみられた。

各班員が HBV 増殖メカニズム解明による創薬標的の確保、創薬候補物質の検討、ならびに薬物効果評価を迅速化する iPS 細胞増殖系獲得をほぼ予定に従っている。