

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 感染症実用化研究事業 肝炎等克服実用化研究事業

肝炎等克服緊急対策研究事業

(英語) Program for Basic and Clinical Research on Hepatitis

研究開発課題名：(日本語) C型肝炎ウイルス複製に関わる宿主因子の同定とその肝疾患への  
関与の検討

(英語) The roles of host proteins involved in HCV propagation on liver diseases.

研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人大阪大学 微生物病研究所・  
助教・岡本 徹

所属 役職 氏名：(英語) Research Institute of Microbial Diseases, Osaka University・  
Assistant Professor, Toru Okamoto

実施期間：平成28年4月1日～平成29年3月31日

分担研究 (日本語) HCV感染患者の免疫病態の解明

開発課題名：(英語) Analysis of immune pathogenesis of the HCV-infected patients

研究開発分担者 (日本語) 国立国際医療研究センター 肝炎免疫研究センター・  
上級研究員・由雄 祥代

所属 役職 氏名：(英語) National Center for Global Health and Medicine  
The Research Center for Hepatitis and Immunology・  
Senior Researcher・Sachiyo Yoshio

分担研究 (日本語) 肝疾患の病理学的検討

開発課題名：(英語) Pathologic analysis of hepatic diseases

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人山口大学 共同獣医学部・助教・坂井 祐介

所属 役職 氏名：(英語) Yamaguchi University, Joint Faculty of Veterinary Medicine・  
Assistant Professor・Yusuke Sakai

## II. 成果の概要（総括研究報告）

（和文）

C型肝炎ウイルス(HCV)の増殖に関わる宿主因子として同定済みの2因子に関して、それぞれの遺伝子欠損マウスを作製し、高脂肪食摂取により脂質代謝の影響を検討した。その結果、本研究で同定した2因子はいずれも高脂肪食摂取による脂肪肝発症に必須であることが分かった。また、CCL4投与によるマウス肝障害モデルにおいて、宿主因子の発現が低下することが分かった。さらには、それら宿主因子欠損細胞での腫瘍形成能を検討し、宿主因子欠損細胞では腫瘍形成能の低下が認められた。

DAA治療前のC型慢性肝炎患者では健常者と比較して樹状細胞の頻度が低下しているが、DAA治療終了時点で、樹状細胞の頻度が回復した。また、TLR9による plasmacytoid 樹状細胞の INF $\alpha$  産生能も回復を認めた。この結果から DAA 治療により、ウイルスが消失することにより、樹状細胞の頻度、機能回復が生じることが示唆される。

（英文）

We had been identified two host factors (gene A, gene B) involved in HCV propagation by using RNAi screening. In this study, we generated gene-deficient Huh7 cells or mice by CRISPR/Cas9 system and confirmed Gene A or Gene B knockout Huh7 cells severely impaired HCV propagation, suggesting that Gene A and Gene B are important for HCV life cycle. Furthermore, we showed that both of Gene A knockout mice and Gene B knockout mice are significantly resistant to high-fat diet-induced liver steatosis. Furthermore, We showed that liver injury by using CCL4 induced suppression of expression of Gene A and that knockout of Gene A in Huh7 cells impaired tumorigenesis in nude-mice. Our data indicated that Gene A and Gene B might be a good target for treatment not only of chronic Hepatitis C but also of non-viral liver diseases such as steatosis.

Next, we previously found that the number of dendritic cells (DCs) in Hepatitis C patients was significantly lower than that in healthy volunteers. In this study, we determined the number of DCs before or after DAAs treatment. We found that treatment with DAA significantly increased the number of DCs in Hepatitis C patients. We also confirmed that the DAA treatment restored the production of INF $\alpha$  produced by pDCs stimulated with TLR9-ligands. Our data indicated that DAA treatments could restore the number of DCs and also enhance the function of DCs in Hepatitis C patients.

## III. 成果の外部への発表

（1）学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 5 件）

1. Ono C, Fukuhara T, Motooka D, Nakamura S, Okuzaki D, Yamamoto S, Tamura T, Mori H, Sato S, Uemura K, Fauzyah Y, Kurihara T, Suda T, Nishio A, Hmwe SS, Okamoto T, Tatsumi T, Takehara T, Chayama K, Wakita T, Koike K, Matsuura Y. Characterization of miR-122-independent propagation of HCV, *PLoS Pathog.* published 11 May 2017

2. Fukuhara T, Yamamoto S, Ono C, Nakamura S, Motooka D, Mori H, Kurihara T, Sato A, Tamura T, Motomura T, Okamoto T, Imamura M, Ikegami T, Yoshizumi T, Soejima Y, Maehara Y, Chayama K, Matsuura Y. Quasispecies of Hepatitis C Virus Participate in Cell-Specific Infectivity. *Sci Rep*. 2017 Mar 22;7:45228
3. Puig-Basagoiti F, Fukuhara T, Tamura T, Ono C, Uemura K, Kawachi Y, Yamamoto S, Mori H, Kurihara T, Okamoto T, Aizaki H, Matsuura Y. Human Cathelicidin Compensates for the Role of Apolipoproteins in Hepatitis C Virus Infectious Particle Formation. *J Virol*. 2016 Sep 12;90(19):8464-77
4. Yamamoto S, Fukuhara T, Ono C, Uemura K, Kawachi Y, Shiokawa M, Mori H, Wada M, Shima R, Okamoto T, Hiraga N, Suzuki R, Chayama K, Wakita T, Matsuura Y. Lipoprotein Receptors Redundantly Participate in Entry of Hepatitis C Virus. *PLoS Pathog*. 2016 May 6;12(5):e1005610
5. Aizawa S, Okamoto T, Sugiyama Y, Kouwaki T, Ito A, Suzuki T, Ono C, Fukuhara T, Yamamoto M, Okochi M, Hiraga N, Imamura M, Chayama K, Suzuki R, Shoji I, Moriishi K, Moriya K, Koike K, Matsuura Y: TRC8-dependent degradation of hepatitis C virus immature core protein regulates viral propagation and pathogenesis. *Nat Commun*, 7: 11379, 2016

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Ono C, Fukuhara T, Motooka D, Nakamura S, Yamamoto S, Mori H, Uemura K, Okamoto T, Hmwe S, Chayama K, Wakita T, Koike K, and Matsuura Y G28A mutation is necessary for an efficient propagation of HCV in miR-122 deficient condition 23<sup>rd</sup> International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2016/10/11-15 国内 口頭
2. Tamura T, Puig-Basagoiti F, Fukuhara T, Ono C, Yamamoto S, Mori H, Kurihara T, Okamoto T, and Matsuura Y Human cathelicidin can compensate the role of apolipoproteins in the formation of infectious HCV particles 23<sup>rd</sup> International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses.2016/10/11-15 国内 口頭
3. Mori H, Fukuhara,T Ono C,Tamura T, Yamamoto S, Uemura K, Okamoto T, Wada M, Noda T, Yoshimori T, and Matsuura Y 23<sup>rd</sup> International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 016/10/11-15 国内 口頭
4. Yoshio S, Sugiyama M, Fukuhara T, Matsuura Y, Mizokami M, Kanto T Human BDCA3+DCs utilize IFN-λ for inducing intrahepatic anti-viral ISGs and stimulating bystander Immune cells in HCV Infection. 23<sup>rd</sup> International Symposium on Hepatitis C virus and Related Viruses.23<sup>rd</sup> International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 016/10/11-15 国内 口頭

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当なし

(4) 特許出願

該当なし