

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) 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) モデル動物等を用いた HCV 感染病態と関連する宿主・ウイルス因子の解析
と新規治療法の開発に関する研究
(英語) Analysis of host and viral factors affecting HCV infection and
development of novel therapeutic strategies using model animals

研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人大阪大学 教授 竹原徹郎

所属 役職 氏名：(英語) Osaka University Professor Tetsuo Takehara

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) キメラマウスにおける HCV の感染と病態解析

開発課題名：(英語) Study of HCV infection using humanized liver mice

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人大阪大学 助教 阪森亮太郎

所属 役職 氏名：(英語) Osaka University Assistant Professor Ryotaro Sakamori

分担研究 (日本語) キメラマウスにおける HCV の感染と病態解析

開発課題名：(英語) Study of HCV infection using humanized liver mice

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人大阪大学 助教 疋田隼人

所属 役職 氏名：(英語) Osaka University Assistant Professor Hayato Hikita

分担研究 (日本語) 改良型 TK-NOG ヒト肝キメラマウスの作製

開発課題名：(英語) Development of advanced TK-NOG humanized liver mice

研究開発分担者 (日本語) 公益財団法人実験動物中央研究所実験動物研究部 副部門長 末水洋志

所属 役職 氏名：(英語) Central Institute for Experimental Animals Deputy Director of
Research Division Hiroshi Suemizu

分担研究 (日本語) マウス肝疾患モデルにおける糖鎖バイオマーカーの開発

開発課題名：(英語) Establishment of glyco-biomarkers for mouse liver disease models

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人大阪大学 教授 三善英知
所属 役職 氏名: (英語) Osaka University Professor Eiji Miyoshi

分担研究 (日本語) HCV NS3-4A Protease に制御される宿主因子の解析と新規治療法への応用
開発課題名: (英語) Analysis of novel cellular substrates of the HCV NS3-4A protease and
applying it to the development of new treatment against HCV

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人北海道大学 教授 坂本直哉
所属 役職 氏名: (英語) Hokkaido University Professor Naoya Sakamoto

分担研究 (日本語) ヒト iPS 細胞を用いた HCV 感染系の構築
開発課題名: (英語) Development of in vitro HCV infection model using human iPS cell-
derived hepatocyte-like cells

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人大阪大学 教授 水口裕之
所属 役職 氏名: (英語) Osaka University Professor Hiroyuki Mizuguchi

分担研究 (日本語) 手術検体を用いた HCV 感染マウスの作成
開発課題名: (英語) Development of HCV-infected mice using human resected livers

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人山口大学 教授 永野浩昭
所属 役職 氏名: (英語) Yamaguchi University Professor Hiroaki Nagano

分担研究 (日本語) 手術検体を用いた HCV 感染マウスの作成
開発課題名: (英語) Development of HCV-infected mice using human resected livers

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人大阪大学 准教授 江口英利
所属 役職 氏名: (英語) Osaka University Associate Professor Hidetoshi Eguchi

II. 成果の概要（総括研究報告）

- ・ ヒト肝細胞キメラ TK-NOG マウスに C 型肝炎患者血清を投与することにより、ウイルス血症が出現し、HCV 持続感染が成立した。DAA 治療歴のない C 型肝炎患者血清由来の野生型 HCV 感染マウスと、アスナプレビル/ダクラタスビル治療失敗後の患者血清由来の NS3/4A D168V NS5A L31V/Y93H 変異型 HCV 感染キメラ TK-NOG マウスに対してレジパスビル/ソホスブビル類似薬を投与したところ、前者に比し後者はマウス血中 HCV RNA 量の低下が少なく治療抵抗性であることが示唆された。
- ・ NS3/4A D168V NS5A L31V/Y93H 変異型 HCV 感染キメラマウスに対し、交差耐性のない DAA の組み合わせであるテラプレビル/ソホスブビル類似薬の投与によりウイルス陰性化を認め、交差耐性を十分考慮した治療が重要であることが示唆された。
- ・ アスナプレビル/ダクラタスビル治療非著効となった C 型肝炎患者において治療前後で NS5A L31 と Y93 を同一アンプリコン上で解析し得た 11 例のうち、10 例で治療後にメジャークローンとして L31M/V-Y93H の二重変異を認め、また野生型 HCV 感染キメラマウスに対し NS5A 阻害薬投与後再燃を認めたマウスにおいても L31V-Y93H 二重変異出現を認めた。系統樹解析により、治療後二重変異 HCV 出現機序として、治療前にもともと存在した二重変異 HCV が増殖する機序と、治療前の Y93H 単独変異や野生型 HCV に新たに変異が加わる機序の両方が存在することが示唆された。
- ・ 野生型フルゲノム HCV RNA をキメラマウス肝に接種してシングルクローン HCV 感染マウスを作成し、このマウスにレジパスビル単剤投与したところ、治療後に Y93H 変異が新規に出現し、DAA 治療により新たな変異が生み出されることが確認された。
- ・ Transthyretin (TTR) 遺伝子プロモーター作動性 HSVtk トランスジェニック免疫不全 NOG マウス (TtrTK-NOG マウス) を樹立した。本モデルでは 5 週齢でヒト肝細胞移植に十分な肝傷害が誘導でき、かつ、雌雄差がないことも明らかにした。肝傷害を誘導した TtrTK-NOG マウスには移植したヒト肝細胞が生着することを確認した。
- ・ マウス Mac-2bp (Mac-2 binding protein) に対するモノクローナル抗体を作製し、ELISA システムの構築に成功した。普通食投与マウス、複数の肝疾患モデルマウスの血中 Mac-2bp は、病態進展とともに上昇し、治療により有意に低下した。
- ・ NS3-4A プロテアーゼにより切断される宿主因子である Glutathione peroxidase 8 (GPx8) を同定し、HCV のエントリーや RNA 複製ではなくウイルス粒子産生に関与している事が示唆された。
- ・ NS3-4A プロテアーゼにより切断される宿主因子である Ovarian cancer immunoreactive antigen domain containing protein 1 (OCIAD1) を同定し、HCV の病原性への関与が示唆された。
- ・ ヒト iPS 細胞のシングルセル・クローニング法を確立した。ヒト iPS 細胞由来肝細胞における HCV 接種による自然免疫応答プロファイルを明らかにした。
- ・ ゲノム編集技術を用いて HCV による自然免疫活性化に重要な IPS-1 遺伝子をノックアウトしたヒト iPS 細胞を樹立した。IPS-1 遺伝子をノックアウトしたヒト iPS 細胞由来肝細胞では、HCV による自然免疫応答が抑制されるとともに、HCV ゲノムの複製能が上昇傾向を示した。
- ・ 肝切除検体の余剰サンプルから日本人由来初代培養肝細胞の単離に成功し、TK-NOG マウスに移植することで、日本人由来ヒト肝細胞キメラマウスの作成に成功した。
- ・ 強い耐性が報告されている Y93H 変異をもつ株が培養細胞において強い増殖力を持つこと、さらにこの耐性株が第二世代プロテアーゼ阻害剤に感受性を示すことを見出した。
- ・ Persistent HCV infection was established in human hepatocyte chimeric TK-NOG mice via intravenous injection with HCV-positive human serum samples. When inoculated with sera from a patient with treatment failure of asunaprevir/daclatasvir therapy, TK-NOG human hepatocyte

chimeric mice developed persistent HCV infection with triple variants of NS3/4A D168V, NS5A L31V/Y93H. Administration of ledipasvir/sofosbuvir-like NS5B inhibitor in these mice failed to achieve end-of-treatment response, which was a sharp contrast with the results in mice with wild-type virus infection.

- The administration of telaprevir/sofosbuvir-like NS5B inhibitor successfully achieved end-of-treatment response in mice infected with NS3/4A D168V, NS5A L31V/Y93H mutant HCV. The results suggest that it is better to use a combination of DAAs that do not share a resistance profile when treating patients with previous DAA failure.
- Among 11 HCV genotype 1b patients who experienced virologic failure with asunaprevir /daclatasvir treatment in facilities participating in the OLF, 10 had major NS5A L31M/V-Y93H variants after treatment. NS5A L31V-Y93H variants also emerged after repeated NS5A inhibitor treatment in human hepatocyte chimeric mice infected with wild-type HCV.
- We performed phylogenetic tree analysis to investigate the origin of a double substitution after virologic failure, and it is suggested that both the selection of pre-existing substituted variants in quasispecies and the generation of new mutations during DAA treatment are important mechanisms for emerging RASs of HCV in non-SVR patients.
- We intrahepatically injected full-genome HCV RNA (engineered based on the wild-type genotype 1b sequence) into chimeric mice. A new Y93H mutation actually occurred in this model after LDV monotherapy failure.
- We established transthyretin (TTR) gene promoter-driven HSVtk transgenic immunodeficient NOG (TtrTK-NOG) mice. In TK-NOG mice, liver injury was not induced by ganciclovir injection until 8 weeks of age or later, however, advanced TK-NOG mice, TtrTK-NOG mice showed liver injury sufficient for hepatocyte transplantation by ganciclovir injection at 5 weeks of age, and no gender difference in GCV sensitivity was observed. We confirmed the engraftment of human hepatocytes transplanted to liver injured TtrTK-NOG mice.
- We produced anti-mouse Mac-2bp monoclonal antibodies and established an ELISA kit, using these antibodies. We found that serum Mac-2bp levels were increased in various kinds of mouse NASH models and reported the results in Hepatology Research. Serum levels of Mac-2bp in mouse NASH models were decreased after diet therapy.
- Quantitative proteomics identified Glutathione peroxidase 8 (GPx8) as novel cellular substrate of the HCV NS3-4A protease. GPx8 cleavage validated in replicon and HCVcc systems as well as in liver biopsies from patients with chronic hepatitis C. GPx8 facilitates HCV particle production, but does not affect viral entry or RNA replication.
- Ovarian cancer immunoreactive antigen domain containing protein 1 (OCIAD1) as novel cellular substrate of the HCV NS3-4A protease. OCIAD1 was identified by quantitative proteomics involving stable isotopic labeling using amino acids in cell culture coupled with mass spectrometry. Overexpression as well as knock down and rescue experiments did not affect the HCV life cycle *in vitro*, raising the possibility that OCIAD1 may be involved in the pathogenesis of hepatitis C *in vivo*.
- We developed a method for single cell cloning of human iPS cells by optimizing cell culture medium and extracellular matrices. We evaluated HCV-induced innate immune responses in human iPS cell-derived hepatocytes following infection.
- IPS-1 gene-knockout human iPS cells were established by CRISPR/Cas9 system. HCV-induced

innate immune responses were suppressed, leading to enhancement of HCV genome replication, in IPS-1 gene-knockout human iPS cell-derived hepatocyte-like cells.

- We successfully isolated human primary hepatocytes derived from Japanese using surplus resected livers. We engrafted the isolated human primary hepatocytes to TK-NOG mice liver via spleen, and human albumin levels in mice sera gradually elevated and maintained for as long as 10 months. We confirmed histologically that the engrafted human hepatocytes successfully replaced mice livers. As mentioned above, we established human hepatocyte chimeric mice with human hepatocytes isolated from Japanese resected livers.
- We assessed the characteristics of resistance-associated variants and explored efficacious anti-HCV reagents using recombinant HCV with NS5A from a genotype 1b strain. We replaced the NS5A of JFH-1 with that of Con1 and introduced known NS5A inhibitor resistance mutations individually or in combination. Susceptibilities against anti-HCV reagents were also investigated. We found that the Y93H mutation enhanced infectious virus production but the strain with this mutation is susceptible to protease inhibitors.

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 10 件）

1. Kai Y, Hikita H, Morishita N, Murai K, Nakabori T, Iio S, Hagiwara H, Imai Y, Tamura S, Tsutsui S, Naito M, Nishiuchi M, Kondo Y, Kato T, Suemizu H, Yamada R, Oze T, Yakushijin T, Hiramatsu N, Sakamori R, Tatsumi T, Takehara T. Baseline quasispecies selection and novel mutations contribute to emerging resistance-associated substitutions in hepatitis C virus after direct-acting antiviral treatment. *Sci Rep*. 2017, 7, 41660.
2. Iwata A, Kamada Y, Ebisutani Y, Yamamoto A, Ueda Y, Arai H, Fujii H, Takamatsu S, Maruyama N, Maeda M, Takehara T, Miyoshi E. Establishment of mouse Mac-2 binding protein enzyme-linked immunosorbent assay and its application for mouse chronic liver disease models. *Hepatology Res*. in press.
3. Suda G, Ogawa K, Yamamoto Y, Katagiri M, Furuya K, Kumagai K, Konno J, Kimura M, Kawagishi N, Ohara M, Umemura M, Ito J, Izumi T, Nakai M, Sho T, Natsuizaka M, Morikawa K, Tsubota A, Shimada N, Iio E, Tanaka Y, Sakamoto N; NORTE Study Group. Retreatment with sofosbuvir, ledipasvir, and add-on ribavirin for patients who failed daclatasvir and asunaprevir combination therapy. *J Gastroenterol*. In press.
4. Suda G, Ogawa K, Kimura M, Nakai M, Sho T, Morikawa K, Sakamoto N. Novel Treatment of Hepatitis C Virus Infection for Patients with Renal Impairment. *J Clin Transl Hepatol*. 2016 Dec 28;4(4):320-327.
5. Suda G, Nagasaka A, Yamamoto Y, Furuya K, Kumagai K, Kudo M, Terashita K, Kobayashi T, Tsunematsu I, Yoshida J, Meguro T, Kimura M, Ito J, Umemura M, Izumi T, Tsunematsu S, Sato F, Tsukuda Y, Nakai M, Sho T, Natsuizaka M, Morikawa K, Ogawa K, Sakamoto N; NORTE Study Group. Safety and efficacy of daclatasvir and asunaprevir in hepatitis C virus infected patients with renal impairment. *Hepatology Res*. In press.
6. Tsukuda Y, Suda G, Tsunematsu S, Ito J, Sato F, Terashita K, Nakai M, Sho T, Maehara O, Shimazaki T, Kimura M, Morikawa K, Natsuizaka M, Ogawa K, Ohnishi S, Chuma M, Sakamoto N. Anti-adipogenic and antiviral effects of L-carnitine on hepatitis C virus infection. *J Med Virol*. In press.
7. Ito J, Suda G, Yamamoto Y, Nagasaka A, Furuya K, Kumagai K, Kikuchi H, Miyagishima T, Kobayashi T, Kimura M, Yamasaki K, Umemura M, Izumi T, Tsunematsu S, Sato F, Tsukuda Y, Terashita K, Nakai M, Sho T, Natsuizaka M, Morikawa K, Ogawa K, Sakamoto N; NORTE Study Group. Prevalence and characteristics of naturally occurring sofosbuvir resistance-associated variants in patients with hepatitis C virus genotype 1b infection. *Hepatology Res*. 2016 Dec; 46(13): 1294-1303.
8. Suda G, Kudo M, Nagasaka A, Furuya K, Yamamoto Y, Kobayashi T, Shinada K, Tateyama M, Konno J, Tsukuda Y, Ymasaki K, Kimura M, Umemura M, Izumi T, Tsunematsu S, Sato F, Terasita T, Nakai M, Horimoto H, Sho T, Natsuizaka M, Morikawa K, Ogawa K, Sakamoto N. Efficacy and safety of daclatasvir and asnaprevir combination therapy in chronic hemodialysis patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol*. 2016 Jul; 51(7):733-40.
9. Suda G, Ito J, Morikawa K, Ogawa K, Sakamoto N. Incidence and Characteristics of Naturally Occurring Drug-Resistant Hepatitis C Virus strains. *Hepatitis C Virus Treatment*.

75(45-50), Springer Singapore, 02 Nov 2016.

10. Takayama K., Igai K., Hagihara Y., Hashimoto R., Hanawa M., Sakuma T., Tachibana M., Sakurai F., Yamamoto T., Mizuguchi H. Highly efficient biallelic genome editing of human ES/iPS cells Using a CRISPR/Cas9 or TALEN system. Nuc. Acid Res., in press.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. ヒト肝細胞キメラマウスを用いた治療誘導性 NS5A L31V/Y93H 変異 HCV に対する DAA 再治療の検討, 口頭, 疋田隼人, 竹原徹郎, 第 102 回日本消化器病学会総会, 2016/4/21 国内
2. 肝細胞キメラマウスを用いたウイルス肝炎の創薬研究, 口頭, 疋田隼人, 竹原徹郎, 第 63 回日本実験動物学会総会, 2016/5/18, 国内
3. ヒト肝細胞キメラマウスを用いた DAA 治療誘導性変異型 HCV に対する DAA 再治療に関する検討, 口頭, 甲斐優吾, 疋田隼人, 巽智秀, 坂根貞嗣, 塩出悠登, 村井一裕, 野崎泰俊, 牧野祐紀, 中堀輔, 斎藤義修, 田中聡司, 阪森亮太郎, 平松直樹, 竹原徹郎, 第 52 回日本肝臓学会総会 2016/5/20, 国内
4. ヒト肝細胞キメラマウスを用いた DAA 治療後耐性変異 HCV の特徴および再治療の検討, 口頭, 甲斐優吾, 疋田隼人, 巽智秀, 竹原徹郎, 日本消化器病学会近畿支部第 105 回例, 2016/9/17, 国内
5. Both selection from quasispecies and new mutation during treatment are involved in emerging resistance-associated substitution of HCV after DAA treatment, Poster, Hayato Hikita, Yugo Kai, Tomohide Tatsumi, Naoki Morishita, Ryoko Yamada, Takayuki Yakushijin, Yasuteru Kondo, Takanobu Kato, Hiroshi Suemizu, Ryotaro Sakamori, Tetsuo Takehara. The 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2016/10/13 海外
6. Hepatitis C virus with NS5A L31V-Y93H substitution is resistant to ledipasvir/GS-558093, a nucleotide polymerase inhibitor, Oral, Hayato Hikita, Yugo Kai, Tomohide Tatsumi, Hiroshi Suemizu, Ryotaro Sakamori, Tetsuo Takehara. The 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2016/10/14 海外
7. Quasispecies of HCV is not necessary for emerging resistance-associated substitution of HCV after DAA treatment, Oral, Yugo Kai, Hayato Hikita, Tomohide Tatsumi, Kazuhiro Murai, Sadatsugu Sakane, Yuto Shiode, Yasutoshi Nozaki, Yuki Makino, Tasuku Nakabori, Yoshinobu Saito, Satoshi Tanaka, Yasuteru Kondo, Takanobu Kato, Hiroshi Suemizu, Ryotaro Sakamori, Tetsuo Takehara. AASLD 2016, 2016/11/14 海外
8. Study of viral hepatitis using humanized liver chimeric mice. Oral, Hayato Hikita, 5th Osong Laboratory Animal Center Symposium, 2016/11/24, 海外
9. 臨床医学融合研究としての糖鎖生物学黎明期の始まり, 口頭, 三善英知, 第 104 回日本泌尿器科学会 フロンティア企画シンポジウム, 2016/4/24, 国内
10. 糖鎖バイオマーカーを使った Ballooning Hepatocyte の予測診断, 口頭, 鎌田佳宏, 竹原徹郎, 三善英知, 第 52 回日本肝臓学会総会 20170520, 国内
11. 膵がんハイリスク群の囲い込みを目指した慢性膵炎の新規糖鎖バイオマーカーの開発, 口頭, 前川友裕, 上田真樹子, 山本晃子, 藤井宏修, 傍嶋智明, 高松真二, 鎌田佳宏, 三善英知, 第 36 回日本分子腫瘍マーカー研究会, 2016/10/5, 国内。

12. がん関連ハプトグロビンに対する特殊抗体の作成とその臨床応用の可能性, ポスター, 西野公博、片岡直也、高松真二、中堅三弥子、池田 瞬、幸田沙也加、山本英子、吉川史隆、富田裕彦、鎌田佳宏、三善英知, 第75回日本癌学会学術総会2016/10/7, 国内
11. Mac-2 binding proteinのNASHバイオマーカーとしての意義, 口頭, 鎌田佳宏、竹原徹郎、三善英知, 第20回日本肝臓学会大会, 2016/11/3, 国内
12. マウス肝障害モデルにおける Mac-2 binding protein のバイオマーカーとしての有用性, 口頭, 岩田愛弓、鎌田佳宏、戎谷友佑、山本晃子、藤井宏修、新居 瞳、上田優衣、西田真由、高松真二、丸山順裕、前田雅弘、竹原徹郎、三善英知, 第41回日本肝臓学会東部会, 2016/12/8, 国内
13. Efficacy and safety of IFN-free direct acting antivirals therapy for patients with renal impairment. Oral, Suda G, Tsunematsu S, Nakai M, Sho T, Morikawa K, Ogawa K, Sakamoto N, 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2016/10/13, 海外
14. Analysis of cellular factors involved in the particle formation and secretion of hepatitis C virus. poster, Morikawa K, Suda G, Gouttenoire J, Moradpour D, Sakamoto N. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2016/10/12, 海外
13. ジェノタイプ1b型C型肝炎・肝硬変に対する mbitasvir(OBV)+Paritaprevir(PTV)+Ritonavir(r)併用療法の治療効果・安全性の検討, 口頭, 川岸直樹, 大原正嗣, 出水孝章, 梅村真知子, 伊藤 淳, 中井正人, 荘 拓也, 須田剛生, 森川賢一, 小川浩司, 坂本直哉. 第120回日本消化器病学会北海道支部例会. 2017/3/4, 国内
14. 高齢者ジェノタイプ2型C型肝炎・肝硬変に対する Sofosbuvir(SOF)+Rivabirin(RBV)併用療法の治療効果・安全性の検討. 口頭, 荘 拓也, 須田剛生, 大原正嗣, 出水孝章, 梅村真知子, 川岸直樹, 伊藤 淳, 中井正人, 森川賢一, 小川浩司, 坂本直哉. 第41回日本肝臓学会東部会. 2016/12/8, 国内
15. 肝細胞癌治療後のHCV-SVR症例の検討～IFN based therapyとDAAを比較して～. 口頭, 中井正人, 川岸直樹, 大原正嗣, 梅村真知子, 出水孝章, 伊藤 淳, 荘 拓也, 須田剛生, 森川賢一, 小川浩司, 坂本直哉. 第119回日本消化器病学会北海道支部例会. 2016/9/3, 国内
16. IFN治療後のHCV-SVR後発癌予測因子とDAA治療例における発癌高危険群の予測. 口頭, 中井正人, 出水孝章, 梅村真知子, 伊藤 淳, 常松聖司, 佐藤史幸, 荘 拓也, 須田剛生, 森川賢一, 小川浩司, 坂本直哉. 第52回日本肝癌研究会. 2016/7/2, 国内
17. C型慢性肝炎に対するダクラタスビル/アスナプレビル併用療法による肝線維化指標の改善効果. 口頭, 小川浩司, 出水孝章, 梅村真知子, 伊藤 淳, 佐藤史幸, 常松聖司, 中井正人, 荘 拓也, 須田剛生, 森川賢一, 坂本直哉. 第102回日本消化器病学会総会. 2016/4/23, 国内
18. ジェノタイプ2型C型肝炎・肝硬変に対する Sofosbuvir(SOF)+Ribavirin(RBV)併用療法の治療効果. 口頭, 荘 拓也, 小川浩司, 出水孝章, 梅村真知子, 伊藤 淳, 常松聖司, 佐藤史幸, 中井正人, 須田剛生, 森川賢一, 坂本直哉. 第118回日本消化器病学会北海道支部例会. 2016/4/5, 国内
19. ジェノタイプ2型C型肝炎・肝硬変に対する Sofosbuvir(SOF)+Rivabirin(RBV)併用療法の治療効果の検討. ポスター, 荘 拓也, 山本義也, 永坂 敦, 古家 乾, 吉田純一, 常松 泉, 伊藤 淳, 中井正人, 須田剛生, 森川賢一, 坂本直哉. JDDW2016(第24回日本消化器関連学会週間(第58回日本消化器病学会大会)). 2016/11/4, 国内.
20. ゲノム編集による遺伝子改変ヒトiPS細胞由来肝細胞を用いたC型肝炎ウイルスによる自然免疫応答の解析. ポスター, 橋本里菜、櫻井文教、國戸偉丸、長基康人、岡本涼太、立花雅史、高山和雄、坂本直哉、脇田隆字、水口裕之、日本薬学会第137年会、2017/3/27, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 日本肝臓学会「肝がん撲滅運動」市民公開講座を開催し「C型肝炎」「アルコール/肥満と脂肪肝

炎」「B型肝炎」について講演 巽智秀, 阪森亮太郎, 山田涼子, 竹原徹郎, 日本肝臓学会「肝がん撲滅運動」市民公開講座, 2017/01/21, 国内

(4) 特許出願

該当なし

平成28年度医療研究開発推進事業費補助金

(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) 成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 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

補助事業課題名： (日本語) モデル動物等を用いた HCV 感染病態と関連する宿主・ウイルス因子の解析と新規治療法の開発に関する研究
(英語) Analysis of host and viral factors affecting HCV infection and development of novel therapeutic strategies using model animals

補助事業担当者 (日本語) ウイルス第二部・室長・加藤孝宣
所属 役職 氏名： (英語) Virology II・Laboratory Chief・Takanobu Kato

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究課題名： (日本語)
(英語)

補助事業分担者 (日本語)
所属 役職 氏名： (英語)

II. 成果の概要 (総括研究報告)

- ・ 補助事業分担者による報告の場合

補助事業代表者： 大阪大学・大学院医学系研究科・竹原徹郎 総括研究報告を参照。

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 4件)

1. Murayama A, Sugiyama N, Suzuki R, Moriyama M, Nakamura N, Mochizuki H, Wakita T, Kato T. Amino acid mutations in the NS4A region of hepatitis C virus contribute to viral replication and infectious virus production. J Virol. 2017, 91(4): e02124-16.

2. Kai Y, Hikita H, Morishita N, Murai K, Nakabori T, Iio S, Hagiwara H, Imai Y, Tamura S, Tsutsui S, Naito M, Nishiuchi M, Kondo Y, Kato T, Suemizu H, Yamada R, Oze T, Yakushijin T, Hiramatsu N, Sakamori R, Tatsumi T, Takehara T. Baseline quasispecies selection and novel mutations contribute to emerging resistance-associated substitutions in hepatitis C virus after direct-acting antiviral treatment. *Sci Rep.* 2017, 7: 41660.
3. Nitta S, Asahina Y, Matsuda M, Yamada N, Sugiyama R, Masaki T, Suzuki R, Kato N, Watanabe M, Wakita T, Kato T. Effects of Resistance-Associated NS5A Mutations in Hepatitis C Virus on Viral Production and Susceptibility to Antiviral Reagents. *Sci Rep.* 2016, 6: 34652.
4. Murayama A, Sugiyama N, Wakita T, Kato T. Completion of the Entire Hepatitis C Virus Life Cycle in Vero Cells Derived from Monkey Kidney. *MBio.* 2016, 7(3): e00273-16.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. ビタミンD誘導体の抗HCV活性の評価. ポスター, 村山麻子, 脇田隆字, 加藤孝宣. 第64回日本ウイルス学会学術集会. 2016/10/23-25, 国内学会.
2. HCV RNA およびHCV コア抗原検出を目的とした体外診断用医薬品薬の性能評価. ポスター, 百瀬暖佳, 加藤孝宣, 松岡佐保子, 大隈和, 山田典栄, 村山麻子, 豊田九朗, 脇田隆字, 浜口功. 第64回日本ウイルス学会学術集会. 2016/10/23-25, 国内学会.
3. Evaluation of Antiviral Activities of Vitamin D Derivatives in Hepatitis C Virus Lifecycle. Poster, Murayama A, Sugiyama N, Wakita T, Kato T. 23rd International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2016/10/11-15, 国際学会.
4. Amino acid substitutions in IFN sensitivity-determining region of HCV-NS5A affect infectious virus production and ISG production. Poster, Sugiyama R, Sugiyama N, Murayama A, Tasaka-Fujita M, Yamada N, Nitta S, Masaki T, Ishii K, Ryo A, Wakita T, Kato T. 23rd International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2016/10/11-15, 国際学会.
5. Vero 細胞を用いたC型肝炎ウイルス感染複製系の構築. 口頭, 村山麻子, 杉山奈央, 脇田隆字, 加藤孝宣. 第23回肝細胞研究会. 2016/7/7-8, 国内学会.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 該当なし

(4) 特許出願