

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) B型肝炎創薬実用化等研究事業
(英語) Program on the Innovative Development and the Application of New Drugs for Hepatitis B

研究開発課題名： (日本語) 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
(英語) Development of new therapy for hepatitis B virus infection using novel cell culture and animal model system.

研究開発担当者 (日本語) 広島大学 大学院 医歯薬保健研究科 教授 茶山一彰
所属 役職 氏名： (英語) Graduate School of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University
Professor Chayama Kazuaki Ph. D.

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) 免疫学的手法を用いたマウスモデルの改良、B型肝炎が起きるマウスモデルの作製

開発課題名： (英語) Development of mouse model systems for evaluation of HBV infection using immunological methods

研究開発分担者 (日本語) 北海道大学大学院医学研究科 助教 志馬寛明
所属 役職 氏名： (英語) Hokkaido University Graduate School of Medicine,
Associate professor Hiroaki Shime

分担研究 (日本語) B型肝炎ウイルスの持続感染時における自然免疫応答回避メカニズムの解明

開発課題名： (英語) Investigation on the mechanism how HBV escapes from innate immune responses

研究開発分担者 (日本語) 京都大学 ウイルス・再生医科学研究所 准教授 加藤博己
所属 役職 氏名： (英語) Kyoto university, Institute for Frontier Life and Medical Sciences,
Associate Professor, Hiroki Kato

分担研究 (日本語) キメラマウスへのHBV長期感染による肝臓の病理学のおよび遺伝子・タンパク質発現解析・新規モデルの作製

開発課題名： (英 語) Investigation of pathologic changes and mRNA and protein expressions in the liver of HBV-long term infected chimeric mice with humanized livers

研究開発分担者 (日本語) (株) フェニックスバイオ 研究開発部 常務取締役研究開発部長・立野 (向谷) 知世

所属 役職 氏名： (英 語) Chise Tateno-Mukaidani, Executive director, Research and Development Department, PhoenixBio Co., Ltd

分 担 研 究 (日本語) B型肝炎モデルの作製や治療シーズの探索に資する人工制限酵素 TALEN や CRISPR-Cas の作製と班員への提供

開発課題名： (英 語) Construction and collaborative distribution of genome editing nucleases, TALEN and CRISPR-Cas, for the generation of hepatitis B model and the search for therapeutic seeds

研究開発分担者 (日本語) 広島大学大学院理学研究科・教授・山本 卓

所属 役職 氏名： (英 語) Graduate School of Science, Hiroshima University・Professor・Takashi Yamamoto

分 担 研 究 (日本語) 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

開発課題名： (英 語) Development of new therapy for hepatitis B virus infection using novel cell culture and animal model system.

研究開発分担者 (日本語) 広島大学大学院医歯薬保健学研究院 教授 田原栄俊

所属 役職 氏名： (英 語) Hiroshima University Institute of Biomedical & Health Sciences, Professor, Hidetoshi Tahara

分 担 研 究 (日本語) 抗 HBV 免疫応答を惹起する新規肝炎モデルマウスの開発、*In vitro* HBV 感染系の樹立、

開発課題名： (英 語) Establishment of novel mouse model recapitulating hepatitis B.

研究開発分担者 (日本語) 京都大学 医学研究科 消化器内科 准教授 丸澤宏之

所属 役職 氏名： (英 語) Hiroyuki Marusawa, Associate Professor, Dep. Gastroenterology and Hepatology, Kyoto University.

分 担 研 究 (日本語) 宿主因子解析と HBV 増殖阻止

開発課題名： (英 語) Analysis of host factors to inhibit HBV replication

研究開発分担者 (日本語) 広島大学大学院医歯薬保健研究科 教授 坂口剛正

所属 役職 氏名： (英 語) Graduate School of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University Professor Takemasa Sakaguchi, M. D., Ph. D.

分 担 研 究： (日本語) 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
(英 語) Development of new therapy for Hepatitis B virus infection using novel cell culture and animal model system.

開発課題名 (日本語) 国立感染症研究所 ウイルス第二部 主任研究官 Hussein Hassan Aly

所属 役職 氏名： (英 語) National Institute of Infectious Diseases Department of Virology II Senior Researcher Hussein Hassan Aly

分 担 研 究 (日本語) B型肝炎モデルを用いた炎症反応の制御に関する研究

開 発 課 題 名 : (英 語) A study of hepatitis control caused by hepatitis B virus using an animal model

研究開発分担者 (日本語) 広島大学大学院医歯薬保健学研究院

医療人大学院教育・研究センター 准教授 茶山 弘美

所属 役職 氏名 : (英 語) Center for Medical Specialist Graduate Education and Research,
Institute of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University
Associate professor Hiromi Chayama

分 担 研 究 (日本語) ヒト肝細胞内染色体へのHBV genome integration 発生メカニズムの解析

開 発 課 題 名 : (英 語) Analysis of mechanism of HBV genome integration

研究開発分担者 (日本語) 広島大学病院消化器・代謝内科 講師 相方 浩

所属 役職 氏名 : (英 語) Gastroenterology and metabolism, Hiroshima University Hospital,
lecturer, Hiroshi Aikata

II. 成果の概要（総括研究報告）

・ 研究開発代表者による報告の場合

- Hydrodynamic injection 法による HBV 感染モデルと KO マウスを用いて、HBV 感染防御に IRF-3/7, IFNAR が重要なことを証明した (Leong et al., J Innate Immun 2014)。感染防御は IFN- \cdot に依るが、IRF3/7 は MAVS, TICAM-1 どちらにも有為に依存せず、感染巣から遊離した RNA/exosome が関与した (Kouwaki et al., Front Immunol 2017)。IFN- \cdot の肝細胞に於ける抗ウイルスエフェクターは ISG20 であった (Leong et al., Oncotarget 2015)。HBV に対する獲得免疫の起動には IFN 経路以外に MyD88 が関与し、抗原特異的 CTL が誘導される (Leong et al., Med Sci. 2016) (志馬班員)。
- 自然免疫インターフェロン応答に重要な分子 IPS-1 を欠損した NTCP 発現 HepG2 を作製し、HBV 感染が長期間持続可能となり論文として報告した (Yao et al, Int Immunol 2017 Mar)。また、NTCP を発現するトランスジェニックマウスを作製し、肝細胞の膜上への発現を確認した (未発表)。現在トランスジェニックマウスを用いて、HBV 感染を精力的に行っている (加藤班員)。
- 新たなホストマウスである cDNA-uPA/SCID キメラマウスに HBV を長期間接種した。HBV 長期感染キメラマウスにおいて、ヒト肝細胞の ploidy と 2 核細胞の増加、in vivo における増殖能の低下が観察され、これらの変化はインターフェロン α 投与によって抑制された。これらの変化はドナーや Genotype 間で差がある可能性が示唆された (立野班員)。
- ゲノム編集による HBV の不活化や B 型肝炎に関与する遺伝子の機能解析のため、異なるゲノム領域を同時に切断可能な Multiplex CRISPR-Cas9 ベクターを開発し、論文発表した (Sakuma et al., Sci Rep, 2014)。更に本システムを用いた HBV の破壊と、HepG2 細胞での遺伝子破壊法の確立についての成果を発表した (Sakuma et al., Genes Cells, 2016; Sakuma et al., Methods Mol Biol, 2017) (山本班員)。
- 薬剤誘導性に肝細胞特異的に B 型肝炎ウイルス抗原タンパクを発現する遺伝子改変マウスを樹立した。このモデルマウスを活用し、ヒト B 型肝炎病態を模倣した免疫応答の詳細な解析を行うことにより、HBV 感染排除に関与する宿主分子として補助刺激受容体の関与を特定した (丸澤班員)。
- S 蛋白質、core 蛋白質によるウイルス様粒子および HBV を用いて、HBV の細胞からの放出に関わる宿主因子を探索した。Alix と core 蛋白質の相互作用を詳しく解析したが、現在のところ薬剤開発に有用な結果は得られていない (坂口班員)。
- B 型慢性肝炎に対する核酸アナログ製剤投与により HBs 抗原が低下した症例に対して、高力価 HBs 抗体含有免疫グロブリン (HBIG : ヘブスブリン)、HB ワクチン (ビームゲン) 反復投与療法について、第 II 相試験として検証し、有効性、安全性を確認した。今後、HBs 抗原低下例では、drug free を目指す上で、治療選択の一つとなる可能性が示唆された (相方班員)。
- The role of the innate immune system in eliminating HBV was investigated using hydrodynamic-based injection of HBV replicative plasmid and knockout mice deficient in specific pathways of the innate system. IRF-3/7 and IFNAR are essential but TLR3/TICAM-1 and RIG-I/MDA5/MAVS are dispensable for resistance to HBV replication. HBV RNA or exosomes liberated from infected hepatocytes participate in protection against HBV infection, which is largely explained by the production of IFN- \cdot and ISGs: the most effective one be ISG20. Antigen-specific CTLs against HBV occurred through MyD88 pathway in conjunction with IFN-inducing pathway (Hiroaki Shima).

- We have worked in the establishment of IPS-1 knockout HepG2 cells which lack RIG-I like receptors-dependent signaling. We found the established cell line is susceptible to HBV infection, retained HBV infection for a long period and reported the finding (Yao et al, Int Immunol 2017 Mar). In addition, we succeeded to generate NTCP transgenic mice and confirmed the expression of NTCP on hepatocyte plasma membrane. Intensive studies have been continued for HBV infection with the transgenic mice (Hiroki Kato).
- Novel chimeric mice using cDNA-uPA/SCID host mice were infected with HBV for more than 12-weeks. Ploidy and binucleation of the human hepatocytes increased and their growth ability *in vivo* decreased in the HBV-infected group. These changes were suppressed by interferon- α treatment to the HBV-infected group. These changes would be different among donors or genotypes (Chise Tateno-Mukaidani).
- To inactivate HBV DNA by genome editing and to analyze the function of genes involving in hepatitis B, we developed the Multiplex CRISPR-Cas9 vector, which enables simultaneous introduction of genomic cleavage at different loci (Sakuma et al., Sci Rep, 2014). By using this system, disruption of HBV DNA and establishment of gene disruption method in HepG2 cells were also reported (Sakuma et al., Genes Cells, 2016; Sakuma et al., Methods Mol Biol, 2017) (Takashi Yamamoto).
- We developed a novel mouse model in which HBV-derived viral protein could be induced in response to tamoxifen in hepatocytes and found that this mouse model well recapitulated the anti-HBV specific immune response in the liver tissue (Hiroyuki Marusawa).
- Host factors for HBV egress have been investigated by using virus-like particles of S and core proteins as well as HBV. The interaction of Alix and the core protein has been investigated extensively, although we do not have a promising result for drug development so far (Takemasa Sakaguchi).
- We evaluated the antiviral effects of antibody to HBsAg (anti-HBs) immunoglobulin (HBIG) and hepatitis B vaccine combination therapy by in an vivo study and a clinical trial. As conclusion, this combination therapy might benefit patients with chronic hepatitis B whose HBsAg titer becomes lower following long-term nucleotide/nucleoside analogue treatment (Hiroshi Aikata and Kazuaki Chayama).

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 (国際誌 82 件)

1. Abe, Y., K. Fujii, N. Nagata, O. Takeuchi, S. Akira, H. Oshiumi, M. Matsumoto, T. Seya, and S. Koike. The toll-like receptor 3-mediated antiviral response is important for protection against poliovirus infection in poliovirus receptor transgenic mice. *J. Virol.* 2012, 86: 185-194.
2. Shime H, M. Matsumoto, H. Oshiumi, S. Tanaka, A. Nakane, Y. Iwakura, H. Tahara, N. Inoue, and T. Seya. Toll-like receptor 3 signaling converts tumor-supporting myeloid cells to tumoricidal effectors. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012, 109: 2066-2071.
3. Azuma M., T. Ebihara, H. Oshiumi, M. Matsumoto, and T. Seya. Cross-priming for antitumor CTL induced by soluble Ag + polyI:C depends on the TICAM-1 pathway in mouse CD11c(+)/CD8 α (+)

- dendritic cells. *Oncoimmunol.* 2012, 1: 581-594.
4. Yamazaki, S., A. Maruyama, K. Okada, M. Matsumoto, A. Morita, and T. Seya. Dendritic cells from oral cavity induce Foxp3(+) regulatory T cells upon antigen stimulation. *PLoS ONE.* 2012, 7(12): e51665.
 5. Toscano, F., Y. Estornes, F. Virard, A. Garcia-Cattaneo, A. Pierrot, B. Vanbervliet, M. Bonnin, M. J. Ciancanelli, S. Y. Zhang, K. Funami, T. Seya, M. Matsumoto, J. J. Pin, J. L. Casanova, T. Renno, and S. Lebecque. Cleaved/associated TLR3 represents the primary form of the signaling receptor. *J Immunol.* 2013, 190: 764-773.
 6. Tatematsu, M., F. Nishikawa, T. Seya, and M. Matsumoto. Toll-like receptor 3 recognizes incomplete stem structures in single-stranded viral RNA. *Nat Commun.* 2013, 4: 1833.
 7. Enokizono, Y., H. Kumeta, K. Funami, M. Horiuchi, J. Sarmiento, K. Yamashita, D. Standley, M. Matsumoto, T. Seya, F. Inagaki. Structures and interface mapping of the TIR domain-containing adaptor molecules involved in interferon signaling. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013, 110: 19908-19913.
 8. Oshiumi, H., M. Miyashita, M. Matsumoto, and T. Seya. A distinct role of Riplet-mediated K63-Linked polyubiquitination of the RIG-I repressor domain in human antiviral innate immune responses. *PLoS Pathog.* 2013, 9 (8): e1003533.
 9. Nishitsuji, H., K. Funami, Y. Shimizu, S. Ujino, K. Sugiyama, T. Seya, H. Takaku, and K. Shimotohno. Hepatitis C virus infection induces inflammatory cytokines and chemokines mediated by the cross talk between hepatocytes and stellate cells. *J Virol.* 2013, 87: 8169-8178.
 10. Tanaka, Y., T. Suenaga, M. Matsumoto, T. Seya, and H. Arase. Herpesvirus 6 glycoproteins B (gB), gH, gL, and gQ are necessary and sufficient for cell-to-cell fusion. *J. Virol.* 2013, 87: 10900-10903.
 11. Takaki, H., M. Takeda M. Tahara, M. Shingai, H. Oshiumi, M. Matsumoto, and T. Seya. The MyD88 pathway in plasmacytoid and CD4+ dendritic cells primarily triggers type I IFN production against measles virus in a mouse infection model. *J. Immunol.* 2013, 191: 4740-4747.
 12. Suzuki, T., H. Oshiumi, M. Miyashita, H. H. Aly, M. Matsumoto, and T. Seya. Cell type-specific subcellular localization of phospho-TBK1 in response to cytoplasmic viral DNA. *PLoS ONE.* 2013, 8(12): e83639.
 13. Takaki, H., K. Honda, K. Atarashi, F. Kobayashi, T. Ebihara, H. Oshiumi, M. Matsumoto, M. Shingai, and T. Seya. MAVS-dependent IRF3/7 bypass of interferon β -induction restricts the response to measles infection in CD150Tg mouse bone marrow-derived dendritic cells. *Molec. Immunol.* 2014, 7: 100-110.
 14. Shime, H., A. Kojima, A. Maruyama, Y. Saito, H. Oshiumi, M. Matsumoto, and T. Seya. Myeloid-derived suppressor cells confer tumor-suppressive functions on natural killer cells via polyinosinic:polycytidylic acid treatment in mouse tumor models. *J. Innate Immun.* 2014, 6: 293-305.
 15. Okamoto, M., H. Oshiumi, M. Azuma, N. Kato, M. Matsumoto, and T. Seya. IPS-1 is essential for type III IFN production by hepatocytes and dendritic cells in response to hepatitis C virus infection. *J. Immunol.* 2014, 192: 2770-2777.
 16. Nakai, M., T. Seya, M. Matsumoto, K. Shimotohno, N. Sakamoto, and H. H Aly. The J6JFH1 strain of hepatitis C virus infects human B-cells with low replication efficacy. *Viral Immunol.* 2014,

27: 285–294.

17. Kumeta H, H. Sakakibara, Y. Enokizono, K. Ogura, M. Horiuchi, M. Matsumoto, T. Seya, and F. Inagaki. The N-terminal domain of TIR domain-containing adaptor molecule-1, TICAM-1. *J Biol Mol NMR*. 2014, 58: 227–230.
18. Kasamatsu, J., M. Azuma, H. Oshiumi, Y. Morioka, M. Okabe, T. Ebihara, M. Matsumoto, and T. Seya. INAM Plays a Critical Role in IFN- γ Production by NK Cells Interacting with Polyinosinic-Polycytidylic Acid-Stimulated Accessory Cells. *J. Immunol*. 2014, 193: 5199–5207.
19. Ishii, N., K. Funami, M. Tatematsu, T. Seya, and M. Matsumoto. Endosomal Localization of TLR8 Confers Distinctive Proteolytic Processing on Human Myeloid Cells. *J. Immunol*. 2014, 193: 5118–5128.
20. Leong, C. R., H. Oshiumi, M. Okamoto, M. Azuma, H. Takaki, M. Matsumoto, K. Chayama, and T. Seya. A MAVS/TICAM-1-Independent Interferon-Inducing Pathway Contributes to Regulation of Hepatitis B Virus Replication in the Mouse Hydrodynamic Injection Model. *J. Innate Immun*. 2015, 7: 47–58.
21. Kasamatsu, J., S. Takahashi, M. Azuma, M. Matsumoto, A. Morii-Sakai, M. Imamura, T. Teshima, A. Takahashi, Y. Hirohashi, T. Torigoe, N. Sato, and T. Seya. PolyI:C and mouse survivin artificially embedding human 2B peptide induce a CD4+ T cell response to autologous survivin in HLA-A*2402 transgenic mice. *Immunobiol*. 2015, 220: 74–82.
22. Matsumoto, M., M. Tatematsu, F. Nishikawa, M. Azuma, N. Ishii, A. Morii-Sakai, H. Shime, and T. Seya. 2015. Defined TLR3-specific adjuvant that induces NK and cytotoxic T cell activation without significant cytokine production *in vivo*. *Nat Commun*. 2015, 6: e6280.
23. Maruyama, A., H. Shime, Y. Takeda, M. Azuma, M. Matsumoto, and T. Seya. Pam2 lipopeptides systemically increase myeloid-derived suppressor cells through TLR2 signaling. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015, 457: 445–450.
24. Funami, K., M. Matsumoto, N. Ishii, M. Tatematsu, Y. Enokizono, F. Inagaki, H. Oshiumi, and T. Seya. A determinant for inner membrane localization in the TIR domain of TICAM-2: A regulator for TLR4-mediated TICAM-1 signaling. *J. Immunol*. 2015, 195: 4456–4465.
25. Takemura, R., H. Takaki, S. Okada, H. Shime, H. Oshiumi, T. Akazawa, M. Matsumoto, T. Teshima, and T. Seya. PolyI:C-induced, TLR3/RIP3-dependent necroptosis backs up immune effector-mediated tumor elimination *in vivo*. *Cancer Immunol Res*. 2015, 3: 902–914.
26. Takashima, K., H. Oshiumi, H. Takaki, M. Matsumoto, and T. Seya. R1OK-mediated phosphorylation of the MDA5 C-terminal region interferes with MDA5 assembly and attenuates MDA5-mediated antiviral innate immune response. *Cell Reports*. 2015, S2211–1247.
27. Oshiumi, H., M. Miyashita, M. Okamoto, Y. Morioka, M. Okabe, M. Matsumoto, and T. Seya. Dual roles of DDX60 in antiviral innate immunity and regulation of DDX60 functions by epidermal growth factor. *Cell Reports*. 2015, 11: 1193–1207.
28. Romanets, O., L. M. Kovalevska, T. Seya, S. P. Sidorenko, and B. Horvat. 2015. Interaction of Measles virus hemagglutinin with CD150-expressing dendritic cells is sufficient to induce immunosuppression. *Cell Molec Immunol*. 2015, 13(6): 828–838.
29. Tatematsu, M., K. Funami, N. Ishii, T. Seya, C. Obuse, M. Matsumoto. 2015. LRRC59 is involved in trafficking of nucleic acid-sensing TLRs from the ER. *J Immunol*. 2015, 195: 4933–4942.
30. Sato, H., H. Oshiumi, H. Takaki, M. Matsumoto, H. Hikono, and T. Seya. Evolution of the DEAD

- box helicase family in the chicken: chicken has no DHX9 orthologue. *Microbiol Immunol*. 2015, 59: 633-640.
31. Kasamatsu, J., M. G. Deng, T. Ebihara, M. Azuma, H. Shime, M. Matsumoto, and T. Seya. Genomic and expression analysis of murine paired triggering receptors expressed on myeloid cells in mouse. *BMC Immunol*. 2015. 17(1): 9.
 32. Azuma, M., Y. Takeda, H. Nakajima, H. Sugiyama, T. Ebihara, H. Oshiumi. M. Matsumoto, and T. Seya. Biphasic function of TLR3 adjuvant on tumor and spleen dendritic cells promotes tumor T cell infiltration and regression in a vaccine therapy. *Oncoimmunol*. 2016. 5: e1188244.
 33. Tatematsu, M., R. Yoshida, Y. Morioka, A. Watanabe, K. Saeki, T. Seya, and M. Matsumoto. Raftlin controls LPS-induced TLR4 internalization and TICAM-1-dependent signalling. *J Immunol*. 2016. 196(9): 3865-3876.
 34. Takaoka S., Y. Kamioka, K. Takakura, A. Baba, H. Shime, T. Seya, and M. Matsuda. In vivo imaging of TAK1 activation in PolyI:C-stimulated tumor cells. *Cancer Sci*. 2016. 107(5): 644-652.
 35. Funami, K., M. Matsumoto, M. Tatematsu, C. Obuse, and T. Seya. 14-3-3-zeta participates in TLR3-mediated TICAM-1 signal-platform formation. *Molec Immunol*. 2016. 73: 60-68.
 36. Yoshida, S. H. Shime, K. Funami, H. Takaki, M. Matsumoto, Tomiyama, Ishida, M. Kasahara, and T. Seya. Immunostimulatory function of ergothioneine in Tamogi mashroom. *PLoS ONE*. 2016. 12: e0169360.
 37. Kataoka, K., Y. Shiraishi, Y. Takeda, S. Sakata, M. Matsumoto, S. Nagano, Y. Nagata, A. Kitanaka, S. Mizuno, H. Tanaka, K. Chiba, Y. Watatani, H. Suzuki, T. Yoshizato, K. Yoshida, M. Sanada, H. Itonaga, Y. Imaizumi, Y. Totoki, W. Munakata, H. Nakamura, N. Hama, K. Shide, Y. Kubuki, T. Hidaka, T. Kameda, K. Masuda, N. Minato, K. Kashiwase, K. Izutsu, A. Takaori-Kondo, Y. Miyazaki, S. Takahashi, T. Shibata, H. Kawamoto, Y. Akatsuka, K. Shimoda, K. Takeuchi, T. Seya, S. Miyano, and S. Ogawa. Aberrant PD-L1 expression via 3' -UTR disruption in multiple cancers. *Nature*. 2016. 534(7607): 402-406.
 38. Takeda, Y., M. Azuma, M. Matsumoto, T. Seya. Tumor killing efficacy coincides with CD11c up-regulation in antigen-specific CD8⁺ T cells during Poly(I:C) vaccine immunotherapy. *J Exp Clin Cancer Res*. 2016. 35: 143.
 39. Kouwaki T, Fukushima Y, Daito T, Sanada T, Yamamoto N, Mifsud EJ, Leong CR, Tsukiyama-Kohara K, Kohara M, Matsumoto M, Seya T, and Oshiumi H. Extracellular vesicles including exosomes regulate innate immune responses to Hepatitis B Virus Infection. *Front Immunol*. 2016. 7: 335.
 40. Leong, C. R., H. Oshiumi, M. , M. G. Deng, M. Okamoto, H. Takaki, M. Matsumoto, and T. Seya. ISG20 inhibits HBV replication by degrading RNA of HBV origin. *Oncotarget*. 2016. 7: 68179-68193.
 41. Takaki, H., H. Sato, S. Kure, H. Oshiumi, M. Matsumoto, R. Kurata, H. Hikono, T. Saito, and T. Seya. Cytokine response to eye drop adjuvants in chicken. *Microbiol Immunol*. 2016. 60: 511-515.
 42. Takashima, K., Y. Takeda, H. Oshiumi, H. Shime, M. Okabe, M. Ikawa, M. Matsumoto, and T. Seya. STING in tumor and host cells cooperatively work for NK cell-mediated tumor growth retardation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2016. 478: 1764-1771.
 43. Funami, K., M. Matsumoto, C. Obuse, and T. Seya. Proteins specifically interacted with activated TICAM-1. *Data Brief*. 2016. 8: 697-699.

44. Shime, H., M. Matsumoto, and T. Seya. Double-stranded RNA promotes CTL-independent tumor cytotoxicity supported by CD11b⁺Ly6G⁺ intratumor myeloid cells through the TICAM-1 signaling pathway. *Cell Death Differ.* 2017. 24: 385-396.
45. Shibata Y, Tokunaga F, Komatsu G, Gohda J, Saeki Y, Tanaka K, Takahashi H, Sawasaki T, Inoue S, Oshiumi H, Seya T, Nakano H, Tanaka Y, Iwai K, and Inoue J. HTLV-1 Tax Induces Formation of the Active Macromolecular IKK Complex by Generating Lys63- and Met1-Linked Hybrid Polyubiquitin Chains. *PLoS Pathog.* 2017. 13: e1006162.
46. Takashima, K., H. Oshiumi, M. Matsumoto, T. Seya. DNAJB1/HSP40 inhibits the MDA5-MAVS signaling in conjunction with HSP70. *Sci Rep.* 2017. (in press)
47. Takaki, H., S. Kure, H. Oshiumi, H. Hasegawa, M. Matsumoto, and T. Seya. Enhanced antibody production against influenza vaccine by the TICAM1 pathway in nasal associated lymph tissue. *Mucosal Immunol.* 2017. (in press).
48. Takeda, Y., K. Kataoka, J. Yamagishi, S. Ogawa, T. Seya, and M. Matsumoto. The TLR3-specific adjuvant relieves innate resistance to PD-L1 blockade without cytokine toxicity in tumor vaccine immunotherapy. *Cell Rep.* 2017. (in press).
49. Yao WL, Ikeda S, Tsukamoto Y, Shindo K, Otakaki Y, Qin M, Iwasawa Y, Takeuchi F, Kaname Y, Chou YC, Chang C, Watashi K, Wakita T, Noda T, Kato H, Fujita T. Establishment of a human hepatocellular cell line capable of maintaining long-term replication of hepatitis B virus. *Int Immunol.* 2017, Mar 11
50. Sakuma T, Nishikawa A, Kume S, Chayama K, Yamamoto T. Multiplex genome engineering in human cells using all-in-one CRISPR/Cas9 vector system. *Scientific Reports.* 2014, 4, 5400.
51. Sakuma T, Masaki K, Abe-Chayama H, Mochida K, Yamamoto T, Chayama K. Highly multiplexed CRISPR-Cas9-nuclease and Cas9-nickase vectors for inactivation of hepatitis B virus. *Genes to Cells.* 2016, 21, 1253-1262.
52. Sakuma T, Sakamoto T, Yamamoto T. All-in-One CRISPR-Cas9/FokI-dCas9 Vector-Mediated Multiplex Genome Engineering in Cultured Cells. *Methods in Molecular Biology.* 2017, 1498, 41-56.
53. Mateescu B, Kowal EJ, van Balkom BW, Bartel S, Bhattacharyya SN, Buzás EI, Buck AH, de Candia P, Chow FW, Das S, Driedonks TA, Fernández-Messina L, Haderk F, Hill AF, Jones JC, Van Keuren-Jensen KR, Lai CP, Lässer C, Liegro ID, Lunavat TR, Lorenowicz MJ, Maas SL, Mäger I, Mittelbrunn M, Momma S, Mukherjee K, Nawaz M, Pegtel DM, Pfaffl MW, Schiffelers RM, Tahara H, Théry C, Tosar JP, Wauben MH, Witwer KW, Nolte-'t Hoen EN, Obstacles and opportunities in the functional analysis of extracellular vesicle RNA - an ISEV position paper, *J Extracell Vesicles.* 2017 Mar 7;6(1):1286095.
54. Tahara H, Telomere G-Overhang Length Measurement Method 2: G-Tail Telomere HPA, *Methods Mol Biol.* 2017;1587:63-69.
55. Hosoi T, Nakatsu K, Shimamoto A, Tahara H, Ozawa K, Inhibition of telomerase causes vulnerability to endoplasmic reticulum stress-induced neuronal cell death, *Neurosci Lett.* 2016 Aug 26;629:241-4.
56. Matsumoto T, Takahashi K, Inuzuka T, Kim SK, Kurosaki T, Kawakami S, Chiba T, Seno T, Marusawa H. Activation of TNF- α -A1D axis and co-inhibitory signals in coordination with Th1-type immunity in a mouse model recapitulating hepatitis B. *Antiviral Research.* 2017, 139, 138-145.
57. Yoshizawa A, Yamashiki N, Ueda Y, Kaido T, Okajima H, Marusawa H, Chiba T, Uemoto S. Long-term

- efficacy of hepatitis B vaccination as post-transplant prophylaxis in HBsAg positive recipients and HBsAg negative recipients of anti-HBc positive grafts. *Hepatology Research*. 2016, 46, 541–51.
58. Takenaka, K., Togashi, S., Miyake, R., Sakaguchi, T., and Hide, M. Airborne virus detection by sensing system using a disposable integrated impaction device. *Journal of Breath Research*. 2016, 10, 036009. Development of a novel site-specific pegylated interferon beta for antiviral therapy for chronic hepatitis B. Tsuge M, Uchida T, Hiraga N, Kan H, Makokha GN, Abe-Chayama H, Miki D, Imamura M, Ochi H, Hayes CN, Shimozono R, Iwamura T, Narumi H, Suzuki T, Kainoh M, Taniguchi T, Chayama K. **Antimicrob Agents Chemother**. 2017. In Press.
 59. Interferon alpha treatment stimulates interferon gamma expression in type I NKT cells and enhances their antiviral effect against hepatitis C virus. Miyaki E, Hiraga N, Imamura M, Uchida T, Kan H, Tsuge M, Abe-Chayama H, Hayes CN, Makokha GN, Serikawa M, Aikata H, Ochi H, Ishida Y, Tateno C, Ohdan H, Chayama K. **PLoS One**. 2017;12(3):e0172412.
 60. Usefulness of humanized cDNA-uPA/SCID mice for the study of hepatitis B virus and hepatitis C virus virology. Uchida T, Imamura M, Kan H, Hiraga N, Hayes CN, Tsuge M, Abe-Chayama H, Aikata H, Makokha GN, Miki D, Ochi H, Ishida Y, Tateno C, Chayama K. **J Gen Virol**. In Press. Antiviral effects of anti-HBs immunoglobulin and vaccine on HBs antigen seroclearance for chronic hepatitis B infection. Tsuge M, Hiraga N, Uchida T, Kan H, Miyaki E, Masaki K, Ono A, Nakahara T, Abe-Chayama H, Zhang Y, Naswa MG, Kawaoka T, Miki D, Imamura M, Kawakami Y, Aikata H, Ochi H, Hayes CN, Chayama K. **J Gastroenterol**. 2016 ;51:1073–1080.
 61. Highly multiplexed CRISPR-Cas9-nuclease and Cas9-nickase vectors for inactivation of hepatitis B virus. Sakuma T, Masaki K, Abe-Chayama H, Mochida K, Yamamoto T, Chayama K. **Genes Cells**. 2016 ;21:1253–1262.
 62. Pan-genotypic cell culture system for propagation of hepatitis C virus clinical isolates. Abe-Chayama H, Hayes CN, Chayama K. **Hepatology**. 2016 ;64:1356–1358.
 63. Effect of tenofovir disoproxil fumarate on drug-resistant HBV clones. Murakami E, Tsuge M, Hiraga N, Kan H, Uchida T, Masaki K, Nakahara T, Ono A, Miki D, Kawaoka T, Abe H, Imamura M, Aikata H, Ochi H, Hayes CN, Akita T, Tanaka J, Chayama K. **J Infect**. 2016;72:91–102.
 64. Human Cytotoxic T Lymphocyte-Mediated Acute Liver Failure and Rescue by Immunoglobulin in Human Hepatocyte Transplant TK-NOG Mice. Uchida T, Hiraga N, Imamura M, Tsuge M, Abe H, Hayes CN, Aikata H, Ishida Y, Tateno C, Yoshizato K, Ohdan H, Murakami K, Chayama K. **J Virol**. 2015;19:10087–10096.
 65. Novel Robust in Vitro Hepatitis B Virus Infection Model Using Fresh Human Hepatocytes Isolated from Humanized Mice. Ishida Y, Yamasaki C, Yanagi A, Yoshizane Y, Fujikawa K, Watashi K, Abe H, Wakita T, Hayes CN, Chayama K, Tateno C. **Am J Pathol**. 2015; 185:1275–85.
 66. Association between variants in the interferon lambda 4 locus and substitutions in the hepatitis C virus non-structural protein 5A. Akamatsu S, Hayes CN, Ochi H, Uchida T, Kan H, Murakami E, Abe H, Tsuge M, Miki D, Akiyama R, Hiraga N, Imamura M, Aikata H, Kawaoka T, Kawakami Y, Chayama K. *J Hepatol*. 2015 ;63:554–63. doi: 10.1016/j.jhep.2015.03.033. Epub 2015 Apr 4.
 67. Differences in serum microRNA profiles in hepatitis B and C virus infection. Akamatsu S, Hayes CN, Tsuge M, Miki D, Akiyama R, Abe H, Ochi H, Hiraga N, Imamura M, Takahashi S, Aikata H, Kawaoka T, Kawakami Y, Ohishi W, Chayama K. **J Infect**. 2015;70:273–287.

68. New insight into the enhanced effect of pegylated interferon- α . **Abe H**, Hayes CN, Chayama K. *Hepatology*. 2014;60:1435-1437.
69. Human microRNA hsa-miR-1231 suppresses hepatitis B virus replication by targeting core mRNA. Kohno T, Tsuge M, Murakami E, Hiraga N, **Abe H**, Miki D, Imamura M, Ochi H, Hayes CN, Chayama K. *J Viral Hepat*. 2014 May 16. doi: 10.1111/jvh.12240.
70. On-treatment low serum HBV RNA level predicts initial virological response in chronic hepatitis B patients receiving nucleoside analogue therapy. Huang YW, Takahashi S, Tsuge M, Chen CL, Wang TC, **Abe H**, Hu JT, Chen DS, Yang SS, Chayama K, Kao JH. *Antivir Ther*. 2014 Apr 16. doi: 10.3851/IMP2777. [Epub ahead of print]
71. A novel TK-NOG based humanized mouse model for the study of HBV and HCV infections. Kosaka K, Hiraga N, Imamura M, Yoshimi S, Murakami E, Nakahara T, Honda Y, Ono A, Kawaoka T, Tsuge M, **Abe H**, Hayes CN, Miki D, Aikata H, Ochi H, Ishida Y, Tateno C, Yoshizato K, Sasaki T, Chayama K. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013;441:230-235
72. A translational study of resistance emergence using sequential direct-acting antiviral agents for hepatitis C using ultra-deep sequencing. **Abe H**, Hayes CN, Hiraga N, Imamura M, Tsuge M, Miki D, Takahashi S, Ochi H, Chayama K. *Am J Gastroenterol*. 2013;108: 1464-1472.
73. Aryl Hydrocarbon Receptor plays protective roles in Con-A induced hepatic injury by both suppressing IFN- γ expression and inducing IL-22 **Abe H**, Kimura A, Tsuruta S, Morita R, Sekiya T, Shichita T, Chayama K, Fujii-Kuriyama Y, Yoshimura A. *Int Immunol*. 2013. In press.
74. Circulating microRNA-22 correlates with microRNA-122 and represents viral replication and liver injury in patients with chronic hepatitis B. Arataki K, Hayes CN, Akamatsu S, Akiyama R, **Abe H**, Tsuge M, Miki D, Ochi H, Hiraga N, Imamura M, Takahashi S, Aikata H, Kawaoka T, Kawakami H, Ohishi W, Chayama K. *J Med Virol*. 2013;85:789-798.
75. Serum HBV RNA and HBeAg are useful markers for the safe discontinuation of nucleotide analogue treatments in chronic hepatitis B patients. Tsuge M, Murakami E, Imamura M, **Abe H**, Miki D, Hiraga N, Takahashi S, Ochi H, Nelson Hayes C, Ginba H, Matsuyama K, Kawakami H, Chayama K. *J Gastroenterol*. 2013 ;48:1188-1204.
76. Hepatitis B Virus-Specific miRNAs and Argonaute2 Play a Role in the Viral Life Cycle. Hayes CN, Akamatsu S, Tsuge M, Miki D, Akiyama R, **Abe H**, Ochi H, Hiraga N, Imamura M, Takahashi S, Aikata H, Kawaoka T, Kawakami Y, Ohishi W, Chayama K. *PLoS One*. 2012; 7: e47490
77. Single nucleotide polymorphisms in GALNT8 are associated with response to interferon therapy for chronic hepatitis C. Nakano R, Maekawa T, **Abe H**, Hayashida Y, Ochi H, Tsunoda T, Kumada H, Kamatani N, Nakamura Y, Chayama K. *J Gen Virol*. 2012; 94: 81-89.
78. Severe Necroinflammatory Reaction Caused by Natural Killer By Fas/FasL Interaction and Dendritic Cells in Human Hepatocyte Chimeric Mouse Okazaki A, Hiraga N, Imamura M, Hayes CN, Tsuge M, Takahashi S, Aikata H, **Abe H**, Miki D, Ochi H, Tateno C, Yoshizato K, Ohdan H, Chayama K. *Hepatology*. 2012; 56:555-566.
79. Miyaki E, Hiraga N, Imamura M, Uchida T, Kan H, Tsuge M, Abe-Chayama H, Hayes CN, Makokha GN, Serikawa M, Aikata H, Ochi H, Ishida Y, Tateno C, Ohdan H, Chayama K. Interferon alpha treatment stimulates interferon gamma expression in type I NKT cells and enhances their antiviral effect against hepatitis C virus. *PLoS One*. 2017, 12, e0172412.
80. Ohshita H, Tateno C. Propagation of Human Hepatocytes in uPA/SCID Mice: Producing Chimeric

Mice with Humanized Liver. *Methods Mol Biol.* 2017, 1506, 91-100.

81. Sanada T, Hirata Y, Naito Y, Yamamoto N, Kikkawa Y, Ishida Y, Yamasaki C, Tateno C, Ochiya T and Kohara M. Transmission of HBV DNA Mediated by Ceramide-Triggered Extracellular Vesicles. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2016, 3, 272-83.
82. Tsuge M, Hiraga N, Uchida T, Kan H, Miyaki E, Masaki K, Ono A, Nakahara T, Abe-Chayama H, Zhang Y, Naswa MG, Kawaoka T, Miki D, Imamura M, Kawakami Y, Aikata H, Ochi H, Hayes CN, Chayama K. Antiviral effects of anti-HBs immunoglobulin and vaccine on HBs antigen seroclearance for chronic hepatitis B infection. *J Gastroenterol.* 2016. 51. 1073-1080.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Tsukamoto, Y., Ikeda, S., Yao, WL., Hirano, E., Otakaki, Y., Kato, H., Fujita, T., Screening for novel inhibitors of Hepatitis B virus replication targeting HBV polymerase-epsilon RNA interaction, The 2016 International HBV Meeting, The Molecular Biology of Hepatitis B viruses, P-115, Seoul, Korea, September 2016 (poster presentation) 国外
2. Ikeda, S., Kato, H., Iwasawa, Y., Tsukamoto, Y., Yao, WL., Takeuchi, F., Qin, M., Tien, CF., Fujita, T., Gene expression analysis specialized in HBV infected cells via flow cytometry, The 2016 International HBV Meeting, The Molecular Biology of Hepatitis B viruses, P-62, Seoul, Korea, September 2016 (poster presentation) 国外
3. Yao, WL., Ikeda, S., Tsukamoto, Y., Kato, H., Fujita, T., Depletion of IPS-1 allows long-term Hepatitis B Virus replication in human NTCP-reconstituted hepatocytes, The 2016 International HBV Meeting, The Molecular Biology of Hepatitis B viruses, P-137, Seoul, Korea, September 2016 (poster presentation) 国外
4. Reduced growth ability and increased nuclear abnormality in HBV-infected human hepatocytes of humanized chimeric mouse liver, Oral, Tateno C, Cold Spring Harbor Asia: Liver diseases and tumorigenesis from bench to bedside, 2016/4/28, 国外.
5. ヒト肝細胞キメラマウス” PXB マウス®” の現状と創薬への将来展望, 口頭, 立野知世, 第 23 回 HAB 研究機構学術年会, 2016/5/27, 国内.
6. ヒト肝細胞キメラマウス由来新鮮肝細胞” PXB-cells” の毒性評価への応用, ポスター, 山崎ちひろ, 吉実康美, 柳愛美, 石田雄二, 立野知世, 第 23 回 HAB 研究機構 学術年会, 2016/5/27, 国内.
7. ヒト肝細胞キメラマウスに由来する新鮮ヒト肝細胞 (PXB-cells®) を用いた B 型肝炎ウイルス粒子の安定性及び塩素処理に対する抵抗性の検討, 口頭, 石田雄二, 山尾美香留, 小川裕子, 吉実康美, 山崎ちひろ, 立野知世, 第 26 回 抗ウイルス療法学会, 2016/5/19, 国内.
8. Detection of aflatoxin B1 hepatotoxicity using PXB-cells®, Poster, Yamasaki C, Ogawa Y, Kageyama Y, Iwasaki Y, Sanoh S, Ishida Y, Tateno C, 11th International ISSX Meeting, 2016/6/13, 国外.
9. ヒト肝細胞キメラマウス由来新鮮肝細胞 PXB-cells を用いたアフラトキシン B1 肝毒性の検出, ポスター, 山崎ちひろ, 吉実康美, 柳愛美, 小川裕子, 景山豊, 石田雄二, 立野知世, 第 43 回日本毒性学会学術年会, 2016/7/1, 国内.
10. ヒト肝細胞キメラマウスを用いた B 型肝炎ウイルス感染が引き起こすヒト肝細胞の Ploidy 異常並びに細胞の肥大化に関する解析, 口頭, 石田雄二, 吉実康美, 山崎ちひろ, 柳愛美, 小川裕子, 茶山一彰, 立野知世, 第 23 回 肝細胞研究会, 2016/7/7, 国内.
11. ヒト肝細胞移植キメラマウスを用いたヒト・マウス肝臓領域での薬物代謝及び肝毒性の評価に

- むけて、ポスター、山近悠斗、佐能正剛、吉実康美、石田雄二、立野知世、太田茂、平成 28 年度内外環境応答・代謝酵素研究会、2016/9/17-18、国内。
12. Hepatitis B virus genotype C infection induce growth arrest and ploidy increase in human hepatocytes of humanized chimeric mouse liver, Oral, Ishida Y, Yoshizane Y, Yamasaki C, Yanagi A, Ogawa Y, Chayama K, Tateno C, 26th 2016 International HBV meeting, 2016/9/24, 国外。
 13. Hepatitis B virus genotype C infection promotes polyploidization and growth arrest in human hepatocytes of humanized chimeric mouse liver, Oral, Ishida Y, Yoshizane Y, Yamasaki C, Yanagi A, Ogawa Y, Chayama K, Tateno C, The Liver Meeting 2016 (AASLD), 2016/11/11, 国外。
 14. キメラマウス由来新鮮ヒト肝細胞 PXB-cells を用いた in vitro P 450 酵素誘導試験系の検討、ポスター、山崎ちひろ、柳愛美、吉実康美、景山豊、岩崎由美子、石田雄二、石田誠一、立野知世、第 31 回日本薬物動態学会、2016/10/14、国内。
 15. アルデヒドオキシダーゼ代謝阻害におけるヒトとマウスの分子種差および基質依存的差異、口頭、高岡尚輝、佐能正剛、奥田勝博、石田雄二、柳愛美、立野知世、田山剛崇、杉原数美、北村繁幸、寺尾美年子、コンリコ ギャラッティニーニ、太田茂、第 31 回日本薬物動態学会、2016/10/15、国内。
 16. Transmission of HBV-DNA mediated by extracellular vesicles, Oral, Sanada T, Hirata Y, Naito Y, Yamamoto N, Kikkawa Y, Ishida Y, Yamasaki C, Tateno C, Ochiya T and Michinori Kohara M, 第 64 回ウイルス学会、2016/10/24、国内。
 17. ヒト肝細胞キメラマウス (PXB マウス) 由来新鮮ヒト肝細胞 PXB-cells を用いた in vitro P450 酵素誘導試験系の検討、ポスター、山崎ちひろ、吉実康美、柳愛美、小川裕子、石田雄二、石田誠一、立野知世、シンポジウム：細胞アッセイ技術の現状と将来、2017/1/31、国内。
 18. キメラマウス由来肝細胞の三次元培養 ～PXB-able™の長期培養安定性とプレートフォーマットによる活性値の比較～、ポスター、城村友子、赤平有希、山崎ちひろ、石田雄二、立野知世、シンポジウム：細胞アッセイ技術の現状と将来、2017/1/31、国内。
 19. 肝細胞増殖過程におけるマウス肝臓および小腸の薬物代謝酵素の発現変動、ポスター、藤野智恵里、佐能正剛、石田雄二、立野知世、太田茂、第 137 回日本薬学学会年会、2017/3/27、国内。
 20. 肝細胞の三次元培養系およびヒト肝細胞移植キメラマウスを用いたカチノン誘導体の共通代謝物の探索、口頭、渡部祥子、佐能正剛、梅原祥太、山頭征岳、江尻洋子、石田雄二、加国雅和、立野知世、古武弥一郎、太田茂、第 137 回日本薬学学会年会、2017/3/27、国内。
 21. マイクロ RNA、細胞外小胞における癌研究最前線、口頭、田原栄俊、第 18 回外科分子細胞治療研究会、2016/4/15、国内
 22. 老化誘導 miRNA によるがん細胞の増殖抑制、ポスター、木根原匡希、山本佑樹、高木翔太、嶋本頭、田原栄俊、日本組織培養学会第 89 回大会、2016/5/25、国内
 23. 核酸医薬の開発の現状と将来展望、口頭、田原栄俊、第 20 回がん分子標的治療学会、2016/5/31、国内
 24. 抗腫瘍効果を示す細胞老化誘導マイクロ RNA の探索と同定、ポスター、山本佑樹、嶋本頭、田原栄俊、第 20 回がん分子標的治療学会、2016/5/31、国内
 25. DSE-FRET 法を用いて得られたテロメア結合タンパク質 TRF2 阻害剤、ポスター、城間喜智、新家一男、嶋本頭、田原栄俊、第 20 回がん分子標的治療学会、2016/5/31、国内
 26. 老化、がんにおけるエクソソーム新展開、口頭、田原栄俊、第 23 回肝細胞研究会、2016/7/7、国内
 27. The Significant Function Of EVs In Aging And Cancer, Oral, Hidetoshi Tahara, Extracellular Vesicles 2016, 2016/7/12, 国外

28. マイクロ RNA を活用した近未来がん診療, 口頭, 田原栄俊, 山本佑樹, 高木翔太, 矢野公義, 木根原匡希, 第 14 回日本臨床腫瘍学会学術集会, 2016/7/30, 国内
29. テロメア G テールとマイクロ RNA を活用した未病検知システム, 口頭, 田原栄俊, 情報計算化学生物学会 (CBI), 2016/8/2, 国内
30. 老化細胞由来エクソソームの miRNA 機能解析, ポスター, 寺西茂之, 岡田恵, 木根原匡希, 嶋本頭, 田原栄俊, 第 8 回日本 RNAi 研究会, 2016/8/31, 国内
31. ヒト膵がん細胞における老化誘導 microRNA の p16 依存的な細胞死誘導, ポスター, 高木翔太, 福永早央里, 山本佑樹, 木根原匡希, 嶋本頭, 田原栄俊, 第 8 回日本 RNAi 研究会, 2016/8/31, 国内
32. がん治療を目的とした PRPF19siRNA の核酸医薬への応用, ポスター, 矢野公義, 塩谷文章, 福永早央里, 高木翔太, 木根原匡希, 嶋本頭, 田原栄俊, 第 8 回日本 RNAi 研究会, 2016/9/1, 国内
33. 老化誘導マイクロ RNA を用いたがん治療の可能性, 口頭, 田原栄俊, 日本癌学会, 2016/10/6, 国内
34. miRNA biomarker identification using microarray and NGS, 口頭, 田原栄俊, AMED マイクロ RNA プロジェクト・国際シンポジウム, 2016/11/10, 国内
35. Circulating microRNAs as novel promising biomarkers for early detection of Tongue Cancer, Poster, Yukie Nishiyama, Hidetoshi Tahara, ESMO ASIA, 2017/1/16, 国外
36. RNA-seq analysis of innate immune response in hepatitis B, 口頭, Takahashi K, Fujii K, Iida K, Marusawa H. Digestive Disease Week 2016 (DDW2016), 2016/5/22-24, San Diego, California, USA. 国外.
37. Reactivated virus from occult hepatitis B virus infection is characterized by amino acid changes in the major hydrophilic region of the S gene, 口頭, Inuzuka T, Ueda Y, Matsumoto T, Takeda H, Marusawa H, Digestive Disease Week 2016 (DDW2016), 2016/5/22-24, San Diego, California, USA. 国外.
38. B型肝炎ウイルスの粒子形成機構と宿主因子の解明, 口頭, 坂口剛正, 入江崇, 平成28年度中四国乳酸菌研究会総会および研究発表会, 2016/5/20, 国内
39. Core-VLPを用いたB型肝炎ウイルス出芽機構の解析, 口頭, 松原稔樹, 小田康祐, 入江崇, 福士雅也, 坂口剛正, 第31回中国四国ウイルス研究会, 2016/7/9, 国内
40. Core-VLPを用いたB型肝炎ウイルス出芽機構の解析, ポスター, 松原稔樹, 小田康祐, 入江崇, 福士雅也, 坂口剛正, 第64回日本ウイルス学会学術集会, 2016/10/23, 国内
41. ウイルス感染症, 口頭, 坂口剛正, 第40回広島感染症研究会 記念講演会, 2016/10/29, 国内
HBV core蛋白質の細胞からの放出, 口頭, 坂口剛正, 松原稔樹, AMED B型肝炎創薬実用化等研究事業平成28年度3班合同班会議, 2016/12/20, 国内
42. Masaki K, Abe H, Sakuma T, Tsuge M, Imamura M, Hayes CN, Aikata H, Yamamoto T, Chayama K. Analysis of the effect on HBV by genome editing using CRISPR/Cas9 system. The 67th AASLD Annual Meeting, Boston, USA. November 11- 15, 2016 (Poster)
43. Abe H, Masaki K, Sakuma T, Tsuge M, Hiraga N, Imamura M, Hayes CN, Aikata H, Yamamoto T, Chayama K. Analysis of the effect on HBV life cycle by HBV genome editing using two different CRISPR/Cas9 systems. The 66th AASLD Annual Meeting, San Francisco, USA. November 13- 17, 2015 (Poster)
44. Abe H, Sakuma T, Tsuge M, Hiraga N, Imamura M, Hayes CN, Aikata H, Yamamoto T, Chayama K. Analysis of the effect on HBV life cycle by HBV genome editing using TALEN and CRISPR/Cas9 systems. The 65th AASLD Annual Meeting, Boston, USA. November 7- 11, 2014 (Poster)

45. Abe H, Hayes CN, Hiraga N, Imamura M, Tsuge M, Aikata H, Ishida Y, Tateno C, Yoshizato K, Chayama K. Pretreatment induction of ISGs in the presence of IFNL4 in hepatocytes but not in white blood cells is related with poor induction of ISGs following IFN- α therapy. The 65th AASLD Annual Meeting, Boston, USA. November 7- 11, 2014 (Poster)
46. Abe H, Hayes CN, Miki D, Hiraga N, Imamura M, Tsuge M, Kobayashi T, Kawakami Y, Aikata H, Ochi H, Chayama K. IFNL4 Stimulates Expression of IFNLs and Differentially Controls Basal Expression Levels of Anti-viral ISGs and Signal Suppressors which Lead to Different Effects of IFN. 49th Annual Meeting of European Association for the Study of the Liver (EASL), London, UK. April 8-13, 2014 (Poster)
47. Abe H, Hayes CN, Hiraga N, Imamura M, Miki D, Tsuge M, Ochi H, Chayama K. Expression levels of IFNL4 and other IFN \cdot s are determined by dinucleotide polymorphism of IFNL4 and correlate with basal expression levels of interferon stimulated genes and effect of interferon. The 64th AASLD Annual Meeting, Washington DC, USA. November 1- 5, 2013 (Oral)
48. Abe H, Hiraga N, Imamura M, Hayes CN, Miki D, Tsuge M, Takahashi S, Ochi H, Chayama K. Analysis of HCV genomes against direct-acting antiviral agents using human hepatocyte chimeric mice and ultra-deep sequencing. The 63rd AASLD Annual Meeting, Boston, USA. November 9- 13, 2012 (Poster)
49. 阿部弘美, 三木大樹, 平賀伸彦, 今村道雄, 柘植雅貴, 小林知樹, 河岡友和, 川上由育, 相方浩, 越智秀典, 茶山一彰 HCV感染におけるIFNL4の多型の違いによるIFN- λ sの発現量とインターフェロン投与前後のインターフェロン誘導遺伝子の発現量の関係 2014年5月29~30日 第50回日本肝臓学会総会・東京 (口頭発表)
50. 阿部弘美, C. Nelson Hayes, 平賀伸彦, 今村道雄, 柘植雅貴, 三木大樹, 山田一磨呂, 高橋祥一, 越智秀典, 茶山一彰 ヒト肝細胞キメラマウスと次世代シーケンサーを用いた新規抗ウイルス薬に対するHCVゲノムの解析2013年6月6~7日 第49回日本肝臓学会総会・東京 (口頭発表)
51. 阿部弘美, 木村彰宏, 吉村昭彦 Aryl Hydrocarbon Receptor plays protective roles in Con-A induced hepatic injury by both suppressing IFN-g expression and inducing IL-22 2013年5月20~21日 第78回日本インターフェロン・サイトカイン学会・東京 (ポスター発表)
52. 阿部弘美, 木村彰宏, 吉村昭彦 Role of Aryl Hydrocarbon Receptor in Con A induced Hepatitis 2012年12月5~7日 第41回日本免疫学会総会・学術集会・神戸 (ポスター発表)
53. 阿部弘美, C. Nelson Hayes, 今村道雄, 茶山一彰 C型慢性肝炎患者におけるIL28Bの遺伝子多型と抗ウイルス遺伝子と抑制性遺伝子の間の反対方向の調節 2012年 6月20日~21日 第77回日本インターフェロン・サイトカイン学会・神戸 (ポスター発表)

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 細胞外小胞・マイクロ RNA 研究の新展開,田原栄俊,日本薬学会中国四国支部例会,2016/6/18,国内
2. テロメア・マイクロ RNA 検査で健康長寿をめざせ,田原栄俊,第 12 回アンチエイジング静岡カンファランス,2016/7/27,国内
3. マイクロ RNA を用いた核酸薬の開発,田原栄俊,Cancer Frontiers Seminar,2016/7/28,国内
4. 細胞老化エクソソームとがん,田原栄俊, 千里 LF セミナー, 2016/9/16,国内
5. がんの微小環境における細胞外小胞エクソソームの機能,田原栄俊, Cancer Meeting, 2016/12/13,国内

(4) 特許出願

無し

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) B型創薬実用化等研究事業

(英語) Program on the Innovative Development and the Application of
New Drugs for Hepatitis B

研究開発課題名：(日本語) 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

(英語) Development of new therapy for hepatitis B virus infection using
novel cell
culture and animal model system.

研究開発担当者 (日本語) 薬学研究科・教授・水口 裕之

所属 役職 氏名：(英語) Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Professor,
Hiroyuki Mizuguchi

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) アデノウイルスベクターを用いたヒト肝臓キメラマウスへの遺伝子導入

開発課題名：(英語) Gene transfer into a chimeric mouse with a humanized liver by
adenovirus
vectors

研究開発分担者 (日本語) 水口裕之

所属 役職 氏名：(英語) Hiroyuki Mizuguchi

分担研究 (日本語) HBV コアプロモーター制御における脱ユビキチン化酵素の関与の検討
開発課題名: (英語) Involvement of de-ubiquitinating enzymes in activity of HBV core promoter.

研究開発分担者 (日本語) 岡本 徹 大阪大学微生物病研究所 分子ウイルス分野 助教
所属 役職 氏名: (英語) Toru Okamoto, Department of Molecular Virology, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University.

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者: 広島大学大学院 医歯薬保健学研究院・茶山一彰 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 件、国際誌 件)

該当なし

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. CRISPR/Cas9 システム搭載アデノウイルスベクターの開発と機能評価, 口頭, 中谷光佑, 町谷充洋, 高山和雄, 立花雅史, 櫻井文教, 水口裕之, 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会, 2016/10/15, 国内.

(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

(様式10)

【16fk0310515j0205】

平成29年5月31日

平成28年度医療研究開発推進事業費補助金

(感染症実用化研究事業 肝炎等克服実用化研究事業 B型肝炎創薬実用化等研究事業) 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 B型肝炎創薬実用化等研究事業

(英語) Program on the Innovative Development and the Application of New Drugs for Hepatitis B

補助事業課題名：(日本語) 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

(英語) Development of new therapy for Hepatitis B virus infection using novel cell culture and animal model system.

補助事業担当者 (日本語) 国立感染症研究所 ウイルス第二部 主任研究官 Hussein Hassan Aly

所属 役職 氏名：(英語) National Institute of Infectious Diseases Department of Virology II Senior Researcher Hussein Hassan Aly

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：広島大学 大学院 医歯薬保健研究科 教授 茶山一彰 総括研究報告を参照。

和文

B型肝炎ウイルス（HBV）はステルスウイルスであり、自然免疫応答、獲得免疫応答の効率的な誘導に必要なインターフェロン系は、ほとんど誘導されない。しかし、成人急性感染の90%からはウイルスが排除され、すなわち宿主にはインターフェロンに依存しないウイルス排除システムが備わっていると考えられる。機能的スクリーニング法により、HBV複製を制御する因子の同定を行ったところ、HBV-X mRNAと直接的、優先的に相互作用するRNAヘリカーゼ *superkiller viralicidic activity 2-like* (*S. cerevisiae*) (*SKIV2L*)を特定することができた。*SKIV2L*の発現は、RNAエキソソーム複合体におけるHBV-X mRNAを分解するため必要であり、その際、宿主RNA品質管理機構の構成要素であるHBS1Lタンパク質が仲介を行う。最終的にHBV-X mRNAは、翻訳依存的なNo-Stop decay (NSD) RNA品質管理機構により分解のタグ付けされ分解される。これらのNSD RNA品質管理機構が持つ抗ウイルス活性は初めて明らかとなったものである。*SKIV2L*の発現を標的としたアプローチは、HBV-RNAの抑制による抗ウイルス薬の開発に役立つだろう。*SKIV2L*の発現解析では、IL1bに発現が制御されていることが明らかとなっており、この制御のメカニズムを研究するためにさらなる解析を進めている。

英文

Hepatitis B virus (HBV) is a stealth virus, minimally inducing the Interferon system required for efficient induction of both innate and adaptive immune response. However, 90% of acute infected adults can clear the virus; suggesting the possible presence of other interferon-independent pathways leading to viral clearance. Because of the helicase ability to bind and identify viral nucleic acids, we performed a functional screening assay to identify those regulating HBV replication. We identified *superkiller viralicidic activity 2-like* (*S. cerevisiae*) (*SKIV2L*) RNA helicase that directly and preferentially interact with HBV-X mRNA. *SKIV2L* expression was essential for the degradation of HBV-X mRNA at the RNA exosome complex through a 3' antisense mechanism. The interaction between *SKIV2L* and HBV-X mRNA was mediated by HBS1L protein, a known component of the host RNA quality control system. The HBV-X mRNA was tagged for degradation by the translation dependent No-Stop decay (NSD) RNA quality control system. This is the first time to identify the anti-viral activity of NSD RNA quality control system. Targeting *SKIV2L* expression can be a good anti-viral approach suppressing HBV-RNA. We analyzed the regulation of *SKIV2L* expression, and identified that it is induced by IL1b. Further analysis is undergoing to study the mechanism of this regulation.

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 なし 件、国際誌 2 件）

1. Hussein H Aly, Junya Suzuki, Koichi Watashi, Kazuaki Chayama, Shin-ichi Hoshino, Makoto Hijikata, Takanobu Kato, Takaji Wakita. RNA Exosome Complex Regulates Stability of the Hepatitis B Virus X-mRNA Transcript in a Non-stop-mediated (NSD) RNA Quality Control Mechanism. *Journal of Biological Chemistry*. 2016 Jul 29;291(31):15958-74
2. Chean Ring Leong, Kenji Funami, Hiroyuki Oshiumi, Deng Mengao, Hiromi Takaki, Misako Matsumoto, Hussein H Aly, Koichi Watashi, Kazuaki Chayama, Tsukasa Seya.

Interferon-stimulated gene of 20 kDa protein (ISG20) degrades RNA of hepatitis B virus to impede the replication of HBV in vitro and in vivo. *Oncotarget*. 2016 Oct 18;7(42):68179-68193

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Aly HH, Suzuki J, Watashi K, Chayama K, Kato T, Wakita T. SKIV2L/RNA Exosome Mediated Regulation of Hepatitis B Virus. 25th Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL 2016). Poster Presentation. Shinagawa, Japan
2. Suzuki J, Aly HH, Watashi K, Chayama K, Kato T, Wakita T. Analyzing RNA exosome HBV degradation mechanism. 25th Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL 2016). Poster Presentation. Shinagawa, Japan
3. Aly HH, Suzuki J, Watashi K, Chayama K, Kato T, and Wakita T. Precore stop codon regulates the stability of HBV-X mRNA. 4th Japan-Taiwan research symposium on the study of hepatitis B virus. Oral Presentation, Taipei, Taiwan (April 2016)
4. Aly HH, Suzuki J, Watashi K, Chayama K, Kato T, Wakita T. Non-Stop mediated RNA quality control decay regulates HBV X-mRNA stability. 2015 International Meeting, molecular Biology of Hepatitis B virus, Poster presentation, September 2016, Seoul, Korea.
5. Aly HH, Suzuki J, Watashi K, Chayama K, Kato T, Wakita T. Non-Stop mediated RNA decay mechanism regulates Hepatitis B virus replication. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Poster presentation, October 2016, Kyoto, Japan
6. Aly HH, Suzuki J, Watashi K, Chayama K, Kato T, Wakita T. Non-Stop mediated RNA decay mechanism targets HBV-X mRNA for degradation at the RNA exosome. 64 回日本ウイルス学会学術集会, October 2016, Sapporo, Japan
7. Aly HH, Suzuki J, Watashi K, Chayama K, Kato T, Wakita T. NSD regulation of HBV replication. The 15th Awaji International Forum on Infection and Immunity Poster presentation, 2016, Awaji, Japan

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. Explanation about HBV infection, method of transmission, diagnosis, and treatment to the general population at the Open campus of 国立感染症研究所
- 2.
- 3.

(4) 特許出願

なし