

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) 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の解析に関する研究  
(英語) Study on Host Innate Immunity Against Hepatitis B Virus Infection

研究開発担当者 (日本語) 藤田 尚志  
所属 役職 氏名： (英語) FUJITA TAKASHI

実施期間： 平成24年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究 (日本語)  
開発課題名： (英語)

研究開発分担者 (日本語) 土方 誠  
所属 役職 氏名： (英語) HIJIKATA MAKOTO

II. 成果の概要 (総括研究報告)

和文

(藤田・土方) NTCP を強制発現し、IPS-1 をノックダウンした HepG2 細胞は HBV に4週間以上に渡って持続感染することを発見した。不死化ヒト肝細胞に NTCP を強制発現することにより HBV 感受性細胞を樹立した。これらの系は抗 HBV 薬剤スクリーニングに有用である。試験管内での HBV pol 蛋白質とウイルス RNA ε 配列の結合のアッセイ系を確立し、抗 HBV 薬剤候補を得た。HBV 粒子の感染性に宿主細胞の脂肪酸合成経路が重要であることを示した。

(加藤) 二本鎖 DNA センサーである cGMP が HBV を認識して免疫応答を誘導することを見出した。ヒト肝由来の細胞株 NKNT-3, Li23 細胞に NTCP を強制発現することにより HBV 感受性が高まることを確認した。

(松浦) 初代肝細胞で HBV 感染によって ISG やサイトカインが誘導されることを観察したので、誘導されるサイトカインの抗 HBV 効果を検討したところ I 型、III 型 IFN が増殖抑制を示したが、その他のものはこれらのものと同時に処理しても抑制活性は認められなかった。

(柘植) ヒト肝キメラマウスで HBV 感染によって誘導される遺伝子を網羅的に解析した結果、IL-8 が同定された。この誘導は HBx, Large HBs が関与する転写レベルで制御であった。

(渡邊、五十川) HBV トランスジェニックマウスにおいて poly I:C を脂質ナノ粒子として投与した

ところ HBV 特異的 T 細胞応答、HBV 転写抑制がみられ、自然免疫応答の活性化が HBV 排除に有効であると考えられた。

(水腰) HBV 感染者では myeloid DC の減少など変化があることが判明した。DC における遺伝子発現を網羅的に調べたところ、病態、治療によって変化する遺伝子を発見した。特に未治療群で発現低下、治療で回復する 6 つの遺伝子を同定した。

(竹原) B 型慢性肝炎患者で NKp46, NKG2A を強発現する NK 細胞 (亜分画) を見出し、これらが IFN- $\alpha$  治療で増加し、HBs 抗体陽性化と相関することを明らかにした。以上は本亜型が治療標的・マーカーとして有用であることを示す。

(斎藤) HBV を遺伝子発現ノックダウンするアデノウイルスベクターを開発し、有用性の高い 3 種類の shRNA を同定した。さらにこれらの shRNA を同時に発現するために、3 種類に連結したアデノウイルスベクターの作成に成功した。

英文

[Fujita/Hijikata] Discovered that HepG2 cells overexpressing hNTCP with knocked down expression of IPS-1 were highly susceptible to HBV and maintained its replication for over 4 weeks in vitro culture. Immortalized human hepatocyte was sensitized to HBV by over expressing hNTCP. These engineered cell lines are useful for screening of anti HBV chemicals. An assay system for physical interaction between viral polymerase and viral  $\epsilon$  RNA sequence was established. By using this, several candidates for anti HBV compounds were obtained. Discovered that host lipid synthetic pathway is critical for infectivity of HBV virion.

[Kato] Discovered that cGAMP acts as sensor for HBV and trigger antiviral IFN responses. Found that human hepatic cell lines, NKNT-3, Li23 were sensitized to HBV by overexpressing hNTCP.

[Matsuura] Observed that HBV infection induces ISG and several cytokines in primary hepatocyte. However these cytokines alone or in combination with type I and III IFN did not exhibit anti HBV activity.

[Tsuge] Identified IL-8 as one of the strongest inducible gene by HBV infection in humanized chimeric mouse. This induction was transcriptional activation induced by viral HBx and large HBs proteins.

(Watanabe/Isogawa) Found that administration of poly I:C/nano lipid particle results in HBV-specific T cell response as well as transcriptional inhibition of HBV in HBV transgenic mouse. This result suggested that activation of antiviral innate immunity facilitates HBV eradication.

[Mizukoshi] Discovered that HBV infection in human results in dendritic cell (DC) population changes. By examining gene expression profiles in DC, identified 6 genes whose expression is attenuated in untreated patients and enhanced after therapeutic treatment.

[Takehara] Identified a NK subset with high expression of NKp46, NKG2A in patients with HBV infection. This subset increased upon IFN- $\alpha$  therapy and positively correlated with production of anti HBs. This subset may be important as a therapeutic target and disease monitoring.

[Saito] Developed an Adenovirus vector capable of knocking down HBV gene by co-expressing 3 shRNA targeting multiple regions of HBV genome.

### 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 2 件)

1. Okamura H, Nio Y, Akahori Y, Kim S, Watashi K, Wakita T, Hjikata M. Fatty acid biosynthesis is involved in the production of hepatitis B virus particles. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2016, 475, 87-92
2. Yao W-L, Ikeda S, Tsukamoto Y, Shindo K, Otakaki Y, Qin M, Iwasawa Y, Takeuchi F, Kaname Y, Chou Y-C, 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 *International Immunology*. 2017, 29, 109-120

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Establishment of a human hepatocellular cell line capable of maintaining long-term replication of hepatitis B virus, 口頭, Yao W-L, Ikeda S, Tsukamoto Y, Shindo K, Otakaki Y, Qin M, Iwasawa Y, Takeuchi F, Kaname Y, Chou Y-C, Chang C, Watashi K, Wakita T, Noda T, Kato H, Fujita T. 4th JAPAN-TAIWAN Research Symposium on Hepatitis B Virus, Taipei, 2016/4/9-10, 国外
2. Screening for novel inhibitors against Hepatitis B virus replication targeting HBV polymerase-viral pregenomic RNA interaction, ポスター, Tsukamoto Y, Ikeda S, Yao W-L, Hirano E, Otakaki Y, Kato H, Fujita T. The 15<sup>th</sup> Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji, 2016/9/6-9, 国内
3. Development of an HBV culture system using 3D cultured immortalized human hepatocytes transduced with HBV entry receptor, ポスター, Akahori Y, Kato H, Fujita T, Moriishi K, Watashi K, Wakita T, Hjikata M. The 15<sup>th</sup> Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji, 2016/9/6-9, 国内
4. New screening system for hepatitis B virus cccDNA, ポスター, Takeuchi F, Ikeda S, Tsukamoto Y, Yao W-L, Iwasawa Y, Ootakaki Y, Qin M, Narita R, Kogure A, Kato H, Fujita T, The 15<sup>th</sup> Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji, 2016/9/6-9, 国内
5. Gene expression analysis for Hepatitis B Virus (HBV) infected cells via flow cytometry, ポスター, Ikeda S, Yao W-L, Tsukamoto Y, Takeuchi F, Qin M, Tien D-F, Iwasawa Y, Ootakaki Y, Kaname Y, Kato H, Fujita T. The 15<sup>th</sup> Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji, 2016/9/6-9, 国内
6. Development of novel hepatitis B virus culture system using immortalized human hepatocytes, ポスター, Akahori Y, Kato H, Fujita T, Moriishi K, Watashi K, Wakita T, Hjikata M. The 64<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Society for Virology, Sapporo, 2016/1-/23-25, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

(4) 特許出願

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) 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  
(英語) Study on host innate immunity against Hepatitis B virus infection
- 研究開発担当者 (日本語) 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科腫瘍ウイルス学分野  
教授 加藤 宣之
- 所属 役職 氏名：(英語) Department of Tumor Virology Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry, and Pharmaceutical Sciences.  
Professor Nobuyuki 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 (日本語) HBV 感染増殖によるインターフェロンシステム攪乱機構の解析  
開発課題名：(英語) Research on the disturbance mechanism of interferon system by HCV infection and proliferation
- 研究開発分担者 (日本語)  
所属 役職 氏名：(英語)

II. 成果の概要(総括研究報告)

研究開発代表者：京都大学 ウイルス・再生医科学研究所 教授 藤田 尚志 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)
- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表
  1. B型肝炎ウイルスに対する感染受容性を有するヒト肝がん Li23 細胞のサブクローニングとその有用性, 口頭, 平本洗貴、團迫浩方、上田優輝、佐藤伸哉、下遠野邦忠、加藤宣之, 第 31 回中国四国ウイルス研究会, 2016/7/9-10, 国内
- (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み：なし
- (4) 特許出願：なし



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) in vitro、in vivo HBV 感染・複製系を用いたヒト肝細胞内免疫応答の解析  
(英語) Analysis of immune responses in human hepatocytes using in vitro and in vivo HBV infection and replication models

研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人広島大学 自然科学研究支援開発センター 助教 柘植雅貴  
所属 役職 氏名： (英語) Natural Science Center for Basic Research and Development, Hiroshima University, Assistant professor, Masataka Tsuge

実施期間： 平成24年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究 (日本語)  
開発課題名： (英語)

研究開発分担者 (日本語)  
所属 役職 氏名： (英語)

II. 成果の概要 (総括研究報告)

<和文>

背景および目的：B型慢性肝疾患に対する抗ウイルス療法は、ウイルスの増殖抑制や、肝炎鎮静化による肝疾患進行予防を目的としており、インターフェロン治療や核酸アナログ治療が広く行われている。しかしながら、インターフェロン治療における効果は個々により大きく異なり、また、核酸アナログ治療ではヒト肝細胞からのウイルスの完全排除が困難であることから長期的な治療が必須となっている。そのため、新規治療薬の開発は、B型慢性肝疾患の治療成績向上には重要と考えられる。一方、次世代シーケンズ解析技術の開発に伴い、これまでの cDNA マイクロアレイよりもより高感度で情報量の多い遺伝子発現プロファイルを得ることが可能になった。これらのことを踏まえ、本研究では、T細胞やB細胞の機能が欠失し、マウス肝組織が高度にヒト肝細胞に置換されたヒト肝細胞キメラマウスを用いて、免疫不全状態でB型肝炎ウイルス (HBV) 感染が直接ヒト肝細胞に及ぼす影響を解析することとした。

方法：12頭のヒト肝細胞キメラマウスを準備し、各群4頭ずつ非感染マウス群、10日間のHBV感

染マウス群、8週間のHBV感染マウス群の3群を作製した。各マウスを sacrifice 後、マウス肝組織よりヒト肝細胞を回収し、細胞より total RNA を抽出した。その後、次世代シーケンサ (Illumina 社 HiSeqTM 2000) を用いて遺伝子発現解析を行った。遺伝子発現解析にて HBV 感染により有意に発現が誘導された遺伝子を抽出後、抽出された遺伝子の発現と HBV 感染との関連性に関して機能解析を進めた。

結果: 遺伝子発現解析の結果、HBV 感染 8 週後のヒト肝細胞内では非感染マウスの肝細胞に比して、137 遺伝子の発現亢進と 17 遺伝子の発現低下が確認された。これらの遺伝子について KEGG によるパスウェイ解析を行ったところ、各種感染症に関与が報告されているパスウェイやサイトカイン・ケモカインなど免疫応答に関連するパスウェイが制御されていることが明らかとなった。そこで、HBV 感染により最も発現変化の大きかった gene 1 に着目し、機能解析を進めた。Gene 1 の HBV 感染による発現誘導メカニズムを解析したところ、HBV 関連蛋白である HBx 蛋白や Large HBs (L-HBs) 蛋白により転写が活性化されることが明らかとなった。特に、L-HBs 蛋白による制御には、ヒト肝細胞の小胞体内のカルシウム枯渇による小胞体ストレスによる Ca-NFAT シグナル活性化が重要であることが明らかとなった。また、gene 1 の発現亢進に伴い、HBV 感染ヒト肝細胞内ではインターフェロン反応性が低下しており、NFAT 阻害剤による gene 1 発現抑制により、そのインターフェロン反応性は改善することが明らかとなった。

結語: 本研究により、L-HBs 蛋白による細胞内小胞体ストレスの亢進が gene 1 の転写活性を制御するという新たな遺伝子発現制御機構を明らかにした。Gene 1 は、HBV 感染におけるインターフェロン抵抗性獲得に関する重要遺伝子の一つと考えられ、インターフェロン治療効果向上への新たな標的分子となりうる可能性が考えられる。

<英文>

- Background & Aims: Chronic hepatitis B patients are generally treated with interferon or nucleot(s)ide analogues to suppress viral replication and to prevent the progression of liver disease by relieving hepatic inflammation. However, the efficacy of interferon therapy depends on individuals and treatments of nucleot(s)ide analogues are necessary to continue for a long term because of the difficulty of complete eradication of hepatitis B virus (HBV) from hepatocytes. Therefore, discovering a new avenue for the treatment of chronic hepatitis B might be important. Since next-generation sequencing (NGS) has been developed, more sensitive and more informative gene expression profiles could be obtained. In this study, we used human hepatocyte chimeric mice, in which T cells and B cells were depleted and whose liver highly replaced human hepatocytes, and analyzed direct influences on human hepatocytes by HBV infection under immunodeficient conditions.
- Methods: Twelve chimeric mice were prepared and divided into three groups (Group A; without HBV infection, Group B; 10 days of HBV infection, Group C; 8 weeks of HBV infection). Human hepatocytes were corrected from these mouse livers and gene expression analysis was performed by Illumina HiSeqTM 2000 sequencing platform. After the selection of genes whose expressions were strongly up-regulated by HBV infection, further analyses were performed in vitro for clarifying the means of induction for HBV life cycle.
- Results: Eight weeks after HBV infection (Group A vs Group C), 137 genes were up-regulated and 17 genes were down-regulated. By KEGG pathway analysis, the regulated genes were significantly associated with immune system, infectious diseases and signaling molecules and

interaction. We focused on gene 1 which was most significantly induced gene by HBV infection and performed the further analyses. By the analyses of gene 1 transcriptional activation, we found that HBx and Large HBs (L-HBs) protein regulate gene 1 transcription via induction of endoplasmic reticulum stress by disorder of calcium concentration, and this stress could induce gene 1 transcription via NFAT activation. Higher expression of gene 1 could suppress interferon responsiveness in HBV-infected human hepatocytes and this suppression of interferon responsiveness could be restored by NFAT inhibitor.

- Conclusion: We found a novel regulation mechanism for gene 1 transcription via endoplasmic reticulum stress by L-HBs protein. Gene 1 might be one of the key molecule for obtaining the resistance to interferon treatment in HBV infection, and it may become a new target for improvement of interferon therapy.

### 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 12 件、国際誌 15 件)

1. 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 C.N., Akita T., Tanaka J. and Chayama K. Effect of tenofovir disoproxil fumarate on drug-resistant HBV clones. *Journal of Infection*. 2016, 72(1): 91-102.
2. Urabe A., Imamura M., Tsuge M., Kan H., Fujino H., Fukuhara T., Masaki K., Kobayashi T., Ono A., Nakahara T., Kawaoka T., Hiramatsu A., Kawakami Y., Aikata H., Hayes C.N., Maki N., Ohdan H. and Chayama K. The relationship between HBcrAg and HBV reinfection in HBV related post-liver transplantation patients. *Journal of Gastroenterology*. 2016, 51(11): 1073-1080.
3. Tsuge M., Hiraga N., Uchida T., Kan H., Miyaki E., Masaki K., Ono A., Nakahara T., Abe-Chayama H., Zhang Y., Naswa M.G., Kawaoka T., Miki D., Imamura M., Kawakami Y., Aikata H., Ochi H., Hayes C.N. and Chayama K. Antiviral effects of anti-HBs immunoglobulin and vaccine on HBs antigen seroclearance for chronic hepatitis B infection. *Journal of Gastroenterology*. 2016, 51(11): 1073-80.
4. Taida T., Arai M., Kanda T., Hige S., Ueno Y., Imazeki F., Izumi N., Tanaka E., Shinkai N., Yoshioka K., Nakamoto Y., Nishiguchi S., Tsuge M., Abe M., Sata M., Yatsuhashi H., Ido A., Kita K., Azemoto R., Kitsukawa Y., Goto N. and Yokosuka O. The prognosis of hepatitis B inactive carriers in Japan: a multicenter prospective study. *Journal of Gastroenterology*. 2017, 52(1): 113-22.
5. 柘植雅貴、茶山一彰. de novo B型肝炎のインパクト. 週刊 医学のあゆみ. 2016, 258(12), 1144-1146.
6. 柘植雅貴、茶山一彰. B型肝炎核酸アナログ長期治療と耐性ウイルス. 臨床消化器内科. 2016, 31(3), 321-327.
7. Matsumoto A, Yatsuhashi H, Nagaoka S, Suzuki Y, Hosaka T, Tsuge M, Chayama K, Kanda T, Yokosuka O, Nishiguchi S, Saito M, Miyase S, Kang JH, Shinkai N, Tanaka Y, Umemura T, Tanaka E. Factors associated with the effect of interferon- $\alpha$  sequential therapy in order to discontinue nucleoside/nucleotide analog treatment in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology Research*. 2015, 45(2): 1195-202.
8. 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. Human Cytotoxic T Lymphocyte-Mediated Acute Liver Failure and Rescue by Immunoglobulin in Human Hepatocyte Transplant TK-NOG Mice. *J Virol*, 2015. 89(19): 10087-96.

9. Huang YW, Takahashi S, Tsuge M, Chen CL, Wang TC, Abe H, Hu JT, Chen DS, Yang SS, Chayama K, Kao JH. On-treatment low serum HBV RNA level predicts initial virological response in chronic hepatitis B patients receiving nucleoside analogue therapy. *Antivir Ther*, 2015, 20(4): 369-75.
10. Akamatsu S, Hayes CN, Tsuge M, Miki D, Akiyama R, Ochi H, Hiraga N, Imamura M, Aikata H, Kawaoka T, Kawakami Y, Chayama K. Differences in serum microRNA profiles in hepatitis B and C virus infection. *J Infect*, 2015, 70(3): 273-87.
11. Kohno T, Tsuge M, Murakami E., Hiraga N., Abe H., Miki D., Imamura M., Ochi H., Hayes C.N. and Chayama K., Human microRNA hsa-miR-1231 suppresses hepatitis B virus replication by targeting core mRNA. *J Viral Hepat*, 2014, 21(9): e89-97.
12. Huang Y.W., Takahashi S., Tsuge M., Chen C.L., Wang T.C., Abe H., Hu J.T., Chen D.S., Yang S.S., Chayama K. and Kao J.H., On-treatment low serum HBV RNA level predicts initial virological response in chronic hepatitis B patients receiving nucleoside analogue therapy. *Antivir Ther*, 2015, 20(4): 369-375.
13. 柘植雅貴、茶山一彰「B型肝炎に対する抗ウイルス療法」Annual Review 消化器 2014、中外医学社、2014、104-111.
14. 柘植雅貴、平賀伸彦、茶山一彰「HBV感染に伴うヒト肝細胞内免疫応答の変化」消化器内科 58(2)、科学評論社、2014、231-238.
15. 柘植雅貴、茶山一彰「テノホビル治療 (naïve 例と核酸アナログ治療抵抗例に対する成績)」医学と薬学 vol.71、自然科学社、2014、1185-1190.
16. 柘植雅貴、茶山一彰「差分解説・B型慢性肝炎診療におけるHBs抗原測定」日本医事新報 No.4703、日本医事新報社、2014、58.
17. 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. and Chayama K, Serum HBV RNA and HBeAg are useful markers for the safe discontinuation of nucleotide analogue treatments in chronic hepatitis B patients. *J Gastroenterol*, 2013. 48(10): 1188-204.
18. Tsuge M. and Chayama K, Availability of monitoring serum HBV DNA plus RNA during nucleot(s)ide analogue therapy. *J Gastroenterol*, 2013. 48(6): 779-80.
19. Arataki K, Hayes C.N, 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. and Chayama K, Circulating microRNA-22 correlates with microRNA-122 and represents viral replication and liver injury in patients with chronic hepatitis B. *J Med Virol*, 2013. 85(5): 789-98.
20. Kosaka K, Hiraga N, Imamura M, Yoshimi S, Murakami E, Nakahara T, Honda Y, Ono A, Kawaoka T, Tsuge M, Abe H, Hayes C.N, Miki D, Aikata H, Ochi H, Ishida Y, Tateno C, Yoshizato K, Sasaki T. and Chayama K, A novel TK-NOG based humanized mouse model for the study of HBV and HCV infections. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 441(1): 230-235.
21. 柘植雅貴、茶山一彰「HBVの感染実験系」Hepatology Practice 第1巻 B型肝炎の診療を極める、文光堂、2013 185-192.
22. 柘植雅貴、茶山一彰「B型肝炎、D型肝炎」カラー版 消化器病学、西村書店、2013、1150-1155.
23. 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. Hepatitis B Virus-Specific miRNAs and Argonaute2 Play a Role in the Viral Life Cycle. *PLoS One*. 7(10): e47490, 2012.
24. 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. Severe necroinflammatory reaction caused by natural

killer cell-mediated Fas/Fas ligand interaction and dendritic cells in human hepatocyte chimeric mouse  
Hepatitis B Virus-Specific miRNAs and Argonaute2 Play a Role in the Viral Life Cycle. *Hepatology*  
56(2): 555-66, 2012.

25. 柘植雅貴、今村道雄、茶山一彰「ヒト肝細胞キメラマウスを用いた抗 HBV 薬剤感受性評価と臨床への応用」*肝胆膵*, 2012, 65(4): 591-600.
26. 柘植雅貴、平賀伸彦、茶山一彰「HBV RT 領域変異株におけるテノホビルの抗ウイルス効果の検討」*消化器内科*, 2012, 54(5): 575-581.
27. 柘植雅貴、茶山一彰「B 型肝炎の抗ウイルス療法 ③核酸アナログ (ラミブジン/アデホビル/エンテカビル/テノフォビル)」*インフォームドコンセントのための図説シリーズ 肝炎ウイルス - B 型・C 型*, 2012, 38-43.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. B型肝炎ウイルス感染および複製系を用いた薬効評価系の構築, 口頭およびポスター, 柘植雅貴, 茶山一彰, *BIO tech アカデミックフォーラム*, 2016/5/11, 国内
2. B型肝炎ウイルス感染に伴うヒト肝細胞内遺伝子の発現変化の解析, 口頭, 柘植雅貴, 平賀伸彦, 内田宅郎, 菅宏美, 茶山弘美, 今村道雄, 茶山一彰, 第3回みなとまちフォーラム, 2016/8/6, 国内
3. HBV 産生細胞株を用いたテノホビルの抗ウイルス効果の評価, 口頭, 柘植雅貴, 内田宅郎, 菅宏美, 阿部弘美, 三木大樹, 河岡友和, 平賀伸彦, 今村道雄, 相方浩, 越智秀典, 茶山一彰, 肝炎ウイルス細胞培養系研究会, 2016/9/16, 国内
4. Evaluation of antiviral effects of a novel site-specific pegylated interferon beta using humanized mouse model. ポスター, Tsuge M, Uchida T, Kan H, Abe H, Miki D, Imamura M, Ochi H, Hayes CN, Shimozono R, Iwamura T, Narumi H, Suzuki T, Kainoh M, Taniguchi T, Chayama K. *AASLD2016*, 2016/11/14, 国外
5. 核酸アナログ先行投与によるインターフェロン反応性の改善. ポスター, 柘植雅貴, 森奈美, 長沖祐子, 河岡友和, 平松憲, 今村道雄, 川上由育, 相方浩, 辻恵二, 川上広育, 茶山一彰, *JDDW2016*, 2016/11/3, 国内
6. B型肝炎ウイルス感染に伴うヒト肝細胞内遺伝子の発現変化の解析, 口頭, 柘植雅貴, 平賀伸彦, 茶山一彰, 第52回日本肝臓学会総会, 2016/5/19, 国内
7. 核酸アナログ投与 B 型慢性肝炎症例に対する HBIG 投与の有効性, 口頭, 柘植雅貴, 川上由育, 茶山一彰, 第52回日本肝臓学会総会, 2016/5/20, 国内
8. ヒト肝細胞キメラマウスを用いた B 型肝炎ウイルス遺伝子型による感染肝細胞内遺伝子発現変化の検討, 口頭, 柘植雅貴, 内田宅郎, 菅宏美, 阿部弘美, 三木大樹, 河岡友和, 平賀伸彦, 今村道雄, 相方浩, 越智秀典, 茶山一彰, 第12回広島肝臓プロジェクト研究センターシンポジウム, 2016/6/25, 国内
9. HBV genotype に伴う核酸アナログ感受性に関する検討, 口頭, 柘植雅貴, 村上英介, 茶山一彰, 第102回日本消化器病学会総会, 2016/4/22, 国内
10. ヒト肝細胞キメラマウスを用いた B 型肝炎ウイルス遺伝子型による感染肝細胞内遺伝子発現変化の検討, ポスター, 柘植雅貴, 平賀伸彦, 内田宅郎, 菅宏美, 阿部弘美, 三木大樹, 河岡友和, 今村道雄, 相方浩, 越智秀典, 茶山一彰, 日本臨床分子医学会学術集会, 2016/4/15, 国内
11. HBV RNA 量を用いた核酸アナログ中止後再燃予測, 口頭 (パネルディスカッション), 柘植雅貴, 川上広育, 茶山一彰, 第41回日本肝臓学会西部会, 2015/12/4, 国内

12. Difference of intracellular responses by HBV genotype A and C infection in humanized mouse model. ポスター, Masataka Tsuge, Nobuhiko Hiraga, Hiromi Abe, Daiki Miki, Michio Imamura, Hidenori Ochi, C Nelson Hayes, Kazuaki Chayama, AASLD2015, 2015/11/16, 国外
13. B型肝炎治療の現状, 口頭, 柘植雅貴, JDDW 2015, 2015/10/9, 国内
14. HBV genotype C 感染例における HBs 抗原消失に関する検討, 口頭, 柘植雅貴、村上英介、茶山一彰, JDDW 2015, 2015/10/8, 国内
15. HBV genotype と核酸アナログの抗ウイルス効果, 口頭, 柘植雅貴、村上英介、平賀伸彦、阿部弘美、今村道雄、秋田智之、田中純子、茶山一彰, 第11回広島肝臓プロジェクト研究センターシンポジウム, 2015/7/4, 国内
16. HBV 感染に伴う microRNA 発現変化と miRNA による HBV 複製制御, 口頭, 柘植雅貴、平賀伸彦、村上英介、阿部弘美、三木大樹、河岡友和、平松憲、今村道雄、川上由育、相方浩、越智秀典、茶山一彰, 第51回日本肝臓学会総会, 2015/5/22, 国内
17. 核酸アナログ中止例における HBV コア蛋白のアミノ酸変異に関する解析, 口頭, 村上英介、柘植雅貴、内田宅郎、菅宏美、柘木慶一、本田洋士、中原隆志、大野敦司、平賀伸彦、河岡友和、平松憲、今村道雄、相方浩、茶山一彰、川上由育, 第51回日本肝臓学会総会, 2015/5/22, 国内
18. 核酸アナログ先行投与によるインターフェロン反応性の変化, 口頭, 柘植雅貴、平賀伸彦、茶山一彰, 第101回日本消化病学会総会, 2015/4/23, 国内
19. 当院における HBV キャリアの HBs 抗原陰性化と肝発癌に関する検討, 口頭, 村上英介、柘植雅貴、茶山一彰, 第101回日本消化病学会総会, 2015/4/24, 国内
20. HBV 薬剤耐性変異株に対する核酸アナログの抗ウイルス効果, ポスター, 柘植雅貴、村上英介、平賀伸彦、三木大樹、今村道雄、越智秀典、茶山一彰, 第51回日本臨床分子医学会, 2014/4/11, 国内
21. 核酸アナログ投与症例における HBsAg 低下に寄与する因子の検討, 口頭, 森奈美、柘植雅貴、茶山一彰, 第100回日本消化器病学会総会, 2014/4/26, 国内
22. 核酸アナログ投与による HBV 感染ヒト肝細胞内の免疫応答の変化, 口頭, 柘植雅貴、平賀伸彦、茶山一彰, 第50回日本肝臓学会総会, 2014/5/30, 国内
23. 当院における HBs 抗原陰性化例の解析, 口頭, 村上英介、柘植雅貴、藤野初江、菅宏美、福原崇之、小林知樹、本田洋士、中原隆志、苗代典昭、大野敦司、宮木大輔、三木大樹、河岡友和、平賀伸彦、平松憲、今村道雄、兵庫秀幸、川上由育、相方浩、茶山一彰, 第50回日本肝臓学会総会, 2014/5/29, 国内
24. B 型慢性肝疾患に対する核酸アナログ治療成績と肝発癌に関する検討, 口頭, 村上英介、柘植雅貴、茶山一彰, 第18回日本肝臓学会大会, 2014/10/23, 国内
25. HBV genotype C における HBsAg 陰性化に関する検討, ポスター, 柘木慶一、柘植雅貴、菅宏美、藤野初江、小林知樹、福原崇之、苗代典昭、本田洋士、宮木大輔、村上英介、河岡友和、平松憲、今村道雄、川上由育、兵庫秀幸、相方浩、茶山一彰, 第18回日本肝臓学会大会, 2014/10/23, 国内
26. Nucleotide analogue improves interferon responsiveness in HBV-infected human hepatocytes, ポスター, Masataka Tsuge, Nobuhiko Hiraga, Eisuke Murakami, Michio Imamura, Hiromi Abe, Daiki Miki, Hidenori Ochi, C. Nelson Hayes, Kazuaki Chayama, AASLD 2014, 2014/11/11, 国外
27. A novel TK-NOG based humanized mouse model for the study of HBV and HCV infections,

- ポスター, Nobuhiko Hiraga, Michio Imamura, Takuro Uchida, Masataka Tsuge, Tomokazu Kawaoka, Hiromi Abe, C. Nelson Hayes, Kazuaki Chayama. AASLD 2014, 2014/11/11, 国外
28. A novel humanized cDNA-uPA/SCID mice for the study of HBV and HCV infections, ポスター, Takuro Uchida, Nobuhiko Hiraga, Michio Imamura, Satoshi Yoshimi, Eisuke Murakami, Takashi Nakahara, Atsushi Ono, Tomokazu Kawaoka, Masataka Tsuge, Hiromi Abe, C. Nelson Hayes, Hiroshi Aikata, Kazuaki Chayama. AASLD 2014, 2014/11/11, 国外
  29. Hepatitis B virus infection efficiency and immune response decreases with cell density in primary cultured hepatocytes, ポスター, C. Nelson Hayes, Hiromi Abe, Sakura Akamatsu, Nobuhiko Hiraga, Michio Imamura, Masataka Tsuge, Daiki Miki, Hiroshi Aikata, Hidenori Ochi, Yuji Ishida, Chise Tateno, Kazuaki Chayama. AASLD 2014, 2014/11/11, 国外
  30. Two microRNA polymorphisms are associated with hepatitis B virus-related but not hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma in the Japanese population, ポスター, Daiki Miki, Hidenori Ochi, C. Nelson Hayes, Hiromi Abe, Tomokazu Kawaoka, Atsushi Ono, Sakura Akamatsu, Takashi, Nakahara, Noriaki Seki, Eisuke Murakami, Yizhou Zhang, Takuro, Uchida, Yohji Honda, Keiichi Masaki, Hiromi Kan, Masataka Tsuge, Nobuhiko Hiraga, Michio Imamura, Yoshiiku Kawakami, Hiroshi Aikata, Michiaki Kubo, Kazuaki Chayama. AASLD 2014, 2014/11/9, 国外
  31. Establishment of a mouse model of acute hepatitis B by activation of human cytotoxic T lymphocytes, ポスター, Takuro Uchida, Nobuhiko Hiraga, Michio Imamura, Masataka Tsuge, Hiromi Abe, C. Nelson Hayes, Hiroshi Aikata, Yuji Ishida, Chise Tateno, Katsutoshi Yoshizato, Kazuaki Chayama. AASLD 2014, 2014/11/11, 国外
  32. Analysis of the effect on HBV life cycle by HBV genome editing using TALEN and CRISPR/Cas9 systems, ポスター, Hiromi Abe, Tetsushi Sakuma, Masataka Tsuge, Nobuhiko Hiraga, Michio Imamura, C. Nelson Hayes, Hiroshi Aikata, Takashi Yamamoto, Kazuaki Chayama. AASLD 2014, 2014/11/11, 国外
  33. Monitoring serum HBV RNA is useful for predicting rebound of hepatitis after the discontinuation of nucleotide analogue therapy in chronic hepatitis B patients. , ポスター, Masataka Tsuge, Eisuke Murakami, Michio Imamura, Hiromi Abe, Daiki Miki, Nobuhiko Hiraga, Hidenori Ochi, C. Nelson Hayes, Hiroiku Kawakami, Kazuaki Chayama. The 11th JSH Single Topic Conference, 2014/11/20, 国内
  34. Analysis of clinical factors relating to the seroclearance of hepatitis B surface antigen in patients with chronic hepatitis B virus infection, ポスター, Eisuke Murakami, Masataka Tsuge, Kei Morio, Masahiro Hatooka, Keiichi Masaki, Takayuki Fukuhara, Tomoki Kobayashi, Noriaki Naeshiro, Yoji Honda, Nobuhiko Hiraga, Tomokazu Kawaoka, Akira Hiramatsu, Michio Imamura, Hiroshi Aikata and Kazuaki Chayama. The 11th JSH Single Topic Conference, 2014/11/20, 国内
  35. Hepatitis B virus infection leads to activation of interferon-stimulated genes in primary cultured human hepatocytes, but infection efficiency decreases monotonically with decreasing cell density, ポスター, C. Nelson Hayes, Hiromi Abe, Sakura Akamatsu, Nobuhiko Hiraga, Michio Imamura, Masataka Tsuge, Daiki Miki, Hiroshi Aikata, Hidenori Ochi, Yuji Ishida, Chise Tateno, Kazuaki Chayama. The 11th JSH Single Topic Conference, 2014/11/20,

国内

36. 当院における B 型急性肝炎の解析, 口頭, 占部綾子、柘植雅貴、茶山一彰, 第 40 回日本肝臓学会西部会, 2013/12/7, 国内
37. Monitoring serum HBV RNA is useful for predicting rebound of hepatitis after the discontinuation of nucleotide analogue therapy in chronic hepatitis B patients, ポスター, Masataka Tsuge, Eisuke Murakami, Michio Imamura, Hiromi Abe, Daiki Miki, Nobuhiko Hiraga, Hidenori Ochi, C. Nelson Hayes, Hiroyuki Ginba, Kazuhiro Matsuyama, Hiroiku Kawakami, Kazuaki Chayama, AASLD 2013, 2013/11/3, 国外
38. Antiviral effect of tenofovir disoproxil fumarate on drug-resistant HBV clones and different susceptibility between HBV genotype A and C, ポスター, Eisuke Murakami, Masataka Tsuge, Nobuhiko Hiraga, Tomokazu Kawaoka, Atsushi Ohno, Takashi Nakahara, Daiki Miki, Hiromi Abe, Michio Imamura, Hiroshi Aikata, Hidenori Ochi, C Nelson Hayes, Chise Tateno, Katsutoshi Yoshizato, Kazuaki Chayama, AASLD 2013, 2013/11/3, 国外
39. Th1/2 ratio was associated with anti-viral effects of sequential therapy with lamivudine and interferon- $\alpha$  in HBe antigen-positive chronic hepatitis B patients, ポスター, Nami Mori, Masataka Tsuge, Yoshiiku Kawakami, Hiroiku Kawakami, Kazuaki Chayama, AASLD 2013, 2013/11/3, 国外
40. 薬剤耐性 HBV に対するテノホビルの抗ウイルス効果と genotype による相違, 口頭, 柘植 雅貴、村上英介、茶山一彰, 第 17 回日本肝臓学会大会, 2013/10/9, 国内
41. 当院における核酸アナログ製剤の治療効果の解析, ポスター, 村上英介、柘植雅貴、菅 宏美、藤野初江、小林知樹、福原崇之、柁木慶一、大野敦司、苗代典昭、中原隆志、本田洋士、宮木大輔、占部綾子、横山聡栄、河岡友和、三木大樹、平賀伸彦、平松 憲、今村道雄、兵庫秀幸、川上由育、相方 浩、高橋祥一、茶山一彰, 第 17 回日本肝臓学会大会, 2013/10/9, 国内
42. 薬剤耐性 HBV に対する核酸アナログ製剤の抗ウイルス効果の検討と genotype による相違, 口頭, 柘植 雅貴、村上英介、平賀 伸彦、阿部弘美、今村 道雄、茶山 一彰, 第 9 回広島肝臓プロジェクト研究センターシンポジウム, 2013/6/29, 国内
43. HBV 感染に伴うヒト肝細胞内免疫応答の変化, 口頭, 柘植雅貴、高橋祥一、茶山一彰, 第 49 回日本肝臓学会総会, 2013/6/7, 国内
44. 薬剤耐性 B 型肝炎ウイルスに対するテノホビルの抗ウイルス効果の検討, 口頭, 村上英介、柘植雅貴、平賀伸彦、阿部弘美、大野敦司、本田洋士、河岡友和、三木大樹、今村道雄、相方 浩、高橋祥一、越智秀典、茶山一彰, 第 49 回日本肝臓学会総会, 2013/6/7, 国内
45. ヒト肝細胞キメラマウスを用いた HBV・HCV 感染に伴うヒト肝細胞内遺伝子発現変化の解析, ポスター, 柘植雅貴、平賀伸彦、今村道雄、越智秀典、高橋祥一、茶山一彰, 第 50 回日本臨床分子医学会, 2013/4/12, 国内
46. 薬剤耐性 B 型肝炎ウイルスに対するテノホビルの抗ウイルス効果と Genotype による相違の検討, 口頭, 村上英介、柘植雅貴、大野敦司、本田洋士、河岡友和、三木大樹、平賀伸彦、今村道雄、相方 浩、高橋祥一、越智秀典、茶山一彰, 第 99 回日本消化器病学会総会, 2013/3/21, 国内
47. 悪性腫瘍に対する化学療法施行により HBV 再活性化を来した 33 症例の検討, 口頭, 柘植雅貴、森 奈美、村上英介、相坂康之、吉良臣介、河岡友和、高木慎太郎、平松 憲、今村道雄、兵庫秀幸、川上由育、相方 浩、高橋祥一、茶山一彰, 第 99 回日本消化器病学会総会, 2013/3/21, 国内

48. The effects on gene expression profiles in human hepatocytes by HBV and HCV infection, ポスター, Masataka Tsuge, Nobuhiko Hiraga, Michio Imamura, Shoichi Takahashi, Hidenori Ochi, C Nelson Hayes, Kazuaki Chayama, 22nd Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver, 2012/2/17, 国外
49. Evaluation of antiviral effects of nucleos(t)ide analogues for hepatitis B virus using in vitro and in vivo models, ポスター, Eisuke Murakami, Masataka Tsuge, Nobuhiko Hiraga, Michio Imamura, Shoichi Takahashi, Hidenori Ochi, C Nelson Hayes, Kazuaki Chayama, 22nd Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver, 2012/2/17, 国外
50. 血液悪性腫瘍に対する化学療法施行例における HBV 再活性化と核酸アナログ製剤による再活性化予防効果の解析, 口頭, 森奈美、柘植雅貴、茶山一彰, 第 16 回日本肝臓学会大会, 2012/10/9, 国内
51. 当院における B 型慢性肝炎に対するインターフェロン治療効果の検討, ポスター, 小林知樹、柘植雅貴、福原崇之、柘木慶一、苗代典昭、中原隆志、本田洋士、宮木大輔、長沖祐子、河岡友和、高木慎太郎、平松 憲、今村道雄、川上由育、兵庫秀幸、相方 浩、高橋祥一、茶山一彰, 第 54 回日本消化器病学会大会, 2012/10/10, 国内
52. HBV 薬剤耐性変異株に対するテノホビルの抗ウイルス効果, 口頭, 柘植雅貴、今村道雄、茶山一彰, 第 48 回日本肝臓学会総会, 2012/6/7, 国内
53. HBV 既往感染者に対する血液悪性疾患化学療法時の核酸アナログ製剤による HBV 再活性化予防についての検討, 口頭, 村上英介, 柘植雅貴、今村道雄, 小林知樹, 福原崇之, 柘木慶一, 苗代典昭, 中原隆志, 本田洋士, 宮木大輔, 長沖祐子, 河岡友和, 高木慎太郎, 平賀伸彦, 平松 憲, 相方 浩, 高橋祥一, 茶山一彰, 第 48 回日本肝臓学会総会, 2012/6/7, 国内
54. Human microRNA hsa-miR-1231 suppresses hepatitis B virus replication with targeting to HB core region, ポスター, Masataka Tsuge, Tomohiko Kohno, Nobuhiko Hiraga, Hiromi Abe, Daiki Miki, Michio Imamura, Shoichi Takahashi, Hidenori Ochi, C Nelson Hayes, Kazuaki Chayama, AASLD2012, 2012/11/9, 国外

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

(4) 特許出願

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 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) 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  
(英語) Study on host innate immunity against Hepatitis B virus infection

研究開発担当者 (日本語) 公立大学法人名古屋市立大学 大学院医学研究科 助教 五十川 正記  
所属 役職 氏名：(英語) Assistant Professor, Masanori Isogawa, Public University Corporation Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

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) HBV ジェノタイプ別 IFN シグナル阻害効果の検討

開発課題名：(英語) Examination of the Impact of HBV Genotypes on the Suppression of IFN Signaling.

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者：京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・藤田 尚志 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 2 件、国際誌 1 件)

1. 林佐奈衣, 村上周子, 尾曲克己, 松居剛志, 飯尾悦子, 五十川正記, 渡邊綱正, 狩野吉康, 田中靖人. B型肝炎治療不応例における新規 Entecavir 耐性変異 (rtA186T) の同定. NAGOYA MEDICAL JOURNAL. 2016, 55(1), 35-42.
2. 林佐奈衣, 高松悠樹, 前田賢次, 村上周子, 尾曲克己, 松居剛志, 五十川正記, 渡邊綱正, 狩野吉康, 向後悟, 満屋裕明, 田中靖人. 新規核酸アナログ 4'-C-cyano-2-amino-2'-deoxyadenosine、4'-C-cyano-2'-deoxyguanosine は薬剤耐性 B型肝炎ウイルス変異株に対して有効である. 肝臓. 2016, 57(6), 299-301.
3. Baudi I, Iijima S, Chin'ombe N, Mtapuri-Zinyowera S, Murakami S, Isogawa M, Hachiya A, Iwatani Y, Tanaka Y. (査読有) Molecular epidemiology of co-infection with hepatitis B

virus and human immunodeficiency virus (HIV) among adult patients in Harare, Zimbabwe. J Med Virol. 2017, 89(2), 257-266.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Differential core antigen expressions between hepatitis B virus genotypes determine the magnitude of virus specific CD8 T cell responses and the rate of viral clearance, Session 3 口頭, Kawashima K, Isogawa M, Tsutsumi S, Murakami S, Saito S, Nakajima A, Tanaka Y, 4th Taiwan-Korea-Japan Research Symposium on Hepatitis B Virus, 1st Conference Room, Humanities and Social Sciences Building (HSSB), Academia Sinica, Taiwan, Taipei, 2016/4/9, 国外, 会期 2016/4/9-2016/4/10.
2. Endogenous antigen presentation by hepatocytes plays an essential role in the induction of HBV-specific CD8+ T cell responses, Poster, Isogawa M, Murata Y, Kawashima K, Tanaka Y, 4th Taiwan-Korea-Japan Research Symposium on Hepatitis B Virus, 1st Conference Room, Humanities and Social Sciences Building (HSSB), Academia Sinica, Taiwan, Taipei, 2016/4/9, 国外, 会期 2016/4/9-2016/4/10.
3. In vivo and in vitro efficacies of IFN-alpha and IFN-lambda against hepatitis B virus infection, Poster, Hamada-Tsutsumi S, Watanabe T, Kawashima K, Murakami S, Isogawa M, Tanaka Y, 4th Taiwan-Korea-Japan Research Symposium on Hepatitis B Virus, 1st Conference Room, Humanities and Social Sciences Building (HSSB), Academia Sinica, Taiwan, Taipei, 2016/4/9, 国外, 会期 2016/4/9-2016/4/10.
4. 肝臓内HBV抗原抑制によるHBV特異的エフェクターCD8+T細胞応答の誘導, 口頭, 河島圭吾, 五十川正記, 田中靖人, 第102回日本消化器病学会総会, 京王プラザホテル, 東京, 新宿, 2016/4/21, 国内, 会期 2016/4/21-2016/4/23.
5. B型肝炎治療不応例における新規ETV耐性変異の同定と新規核酸アナログの有効性, 口頭, 田中靖人, 五十川正記, 狩野吉康, 第102回日本消化器病学会総会, 京王プラザホテル, 東京, 新宿, 2016/4/22, 国内, 会期 2016/4/21-2016/4/23.
6. 遺伝子型の異なるB型肝炎ウイルス株に対するワクチン免疫後中和抗体の感染防御能の検討, 口頭, 堤進, 飯尾悦子, 渡邊綱正, 村上周子, 五十川正記, 飯島沙幸, 井上貴子, 松波加代子, 田尻和人, 小澤龍彦, 田中靖人, 第26回抗ウイルス療法学会総会, 名古屋東急ホテル, 愛知, 名古屋, 2016/5/13, 国内, 会期 2016/5/13-2016/5/15.
7. B型肝炎ウイルス粒子を直接標的とする侵入阻害剤 proanthocyanidin, 口頭, 九十田千子, 渡士幸一, 濱田義知, 齊藤安貴子, 五十川正記, 田中義正, 鈴木亮介, 相崎英樹, 小嶋聡一, 杉山真也, 田中靖人, 溝上雅史, 脇田隆字, 第26回抗ウイルス療法学会総会, 名古屋市立大学大学院医学研究科 医学研究科・医学部研究棟, 愛知, 名古屋, 2016/5/14, 国内, 会期 2016/5/13-2016/5/15.
8. 肝臓内B型肝炎ウイルス(HBV)抗原抑制による機能的なHBV特異的CD8+T細胞応答の誘導, 口頭, 河島圭吾, 五十川正記, 田中靖人, 第26回抗ウイルス療法学会総会, 名古屋市立大学大学院医学研究科 医学研究科・医学部研究棟, 愛知, 名古屋, 2016/5/14, 国内, 会期 2016/5/13-2016/5/15.
9. 新規核酸アナログSK15-146は薬剤耐性HBV変異株に対して有効である, 口頭, 林佐奈衣, 前田賢次, 高松悠樹, 向後悟, 鋤田伸好, 村上周子, 尾曲克己, 五十川正記, 満屋裕明, 田中靖人, 第26回抗ウイルス療法学会総会, 名古屋市立大学大学院医学研究科 医学研究科・医学部研究

- 棟, 愛知, 名古屋, 2016/5/14, 国内, 会期 2016/5/13-2016/5/15.
10. B型肝炎ウイルス (HBV) 抗原抑制による機能的な HBV 特異的 CD8+T 細胞応答の誘導, 口頭, 五十川正記, 河島圭吾, 田中靖人, 第 52 回日本肝臓学会総会, ホテルニューオータニ幕張, 千葉, 千葉, 2016/5/19, 国内, 会期 2016/5/19-2016/5/20.
  11. 異なる HBV 遺伝子型による HBV 抗原遷延化率の違い~肝臓内 CD8+T 細胞応答およびコア抗原発現量の相関性, 口頭, 河島圭吾, 五十川正記, 堤進, 村上周子, 斉藤聡, 中島淳, 田中靖人, 第 52 回日本肝臓学会総会, 東京ベイ幕張ホール, 千葉, 千葉, 2016/5/19, 国内, 会期 2016/5/19-2016/5/20.
  12. Novel 4'-modified nucleoside analogs, CAdA and CdG, strongly suppress the replication of wild-type hepatitis B virus and drug-resistant mutants, Poster Presentation, Hayashi S, Takamatsu Y, Maeda K, Murakami S, Omagari K, Matsui T, Isogawa M, Watanabe T, Karino Y, Kohgo S, Mitsuya H, Tanaka Y, 2016 International HBV Meeting on the Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, Centennial Concert Hall, Yonsei University, Korea, Seoul, 2016/9/21, 国外, 会期 2016/9/21-2016/9/24.
  13. Proanthocyanidin and its analogs are new class of HBV and HDV entry inhibitors that target the viral preS1 region, Poster Presentation, Tsukuda S, Watashi K, Hojima T, Isogawa M, Iwamoto M, Suzuki R, Aizaki H, Kojima S, Sugiyama M, Saito A, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T, 2016 International HBV Meeting on the Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, Centennial Concert Hall, Yonsei University, Korea, Seoul, 2016/9/22, 国外, 会期 2016/9/21-2016/9/24.
  14. Retinoic acid inducible gene-I like receptors (RLRs) stimulation suppresses hepatitis B virus (HBV) replication and induces cytolytic ability of HBV-specific CD8 T cells more efficiently than Toll like receptor 3 stimulation, Oral Presentation, Kawashima K, Isogawa M, Tanaka Y, 2016 International HBV Meeting on the Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, Centennial Concert Hall, Yonsei University, Korea, Seoul, 2016/9/23, 国外, 会期 2016/9/21-2016/9/24.
  15. Suppression of the hepatitis B virus (HBV) antigen expression in the liver prevents HBV-specific CD8 T cell exhaustion, Poster Presentation, Kawashima K, Isogawa M, Saito S, Nakajima A, Tanaka Y, 2016 International HBV Meeting on the Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, Centennial Concert Hall, Yonsei University, Korea, Seoul, 2016/9/23, 国外, 会期 2016/9/21-2016/9/24.
  16. Characterization of oligomeric flavonoids as a novel class of anti-HBV entry inhibitors that directly target viral envelope protein (B型肝炎ウイルス粒子直接標的薬重合フラボノイドの作用機序解析), 口頭, Tsukuda S, Watashi K, Hojima T, Isogawa M, Suzuki R, Aizaki H, Kojima S, Sugiyama M, Saito A, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T, 第 64 回日本ウイルス学会学術集会 (The 64th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology), 札幌コンベンションセンター, 北海道, 札幌, 2016/10/24, 国内, 会期 2016/10/23-2016/10/25.
  17. Hepatitis B virus (HBV) antigen suppression prevents HBV-specific CD8 T cell exhaustion, Digital Poster, Kawashima K, Isogawa M, Saito S, Nakajima A, Tanaka Y, Asian Pacific Digestive Week 2016 (APDW 2016), Kobe Convention Center (International Exhibition Center, 1F Bld. 3), Hyogo, Kobe, 2016/11/3, 国内, 会期 2016/11/2-2016/11/5.
  18. HBV 抗原抑制は機能的な HBV 特異的 CD8+T 細胞応答誘導による肝障害を軽減する~HBV 排除を

目指して、口頭、河島圭吾、五十川正記、田中靖人、JDDW 2016(第20回日本肝臓学会大会)、神戸国際展示場、兵庫、神戸、2016/11/4、国内、会期2016/11/3-2016/11/6。

19. Hepatocellular carcinoma-associated core N51H mutation with BCP PC mutations in HBV genotype F1b enhances infectivity and up-regulates C-Myc and GAB2, Poster Sessions, Hayashi S, Khan AA, Ogawa K, Kawashima K, Simons-Petrusa B, Homan CE, McMahon BJ, Murakami S, Iijima S, Isogawa M, Watanabe T, Tanaka Y, The 67th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases(AASLD2016), John B. Hynes Veterans Memorial Convention Center, The United States of America, Boston, 2016/11/11, 国外, 会期2016/11/11-2016/11/15.
20. Silencing hepatitis B virus (HBV) gene expression in the liver by RNAi prevents HBV-specific CD8 T cell exhaustion, Poster Sessions, Kawashima K, Isogawa M, Saito S, Tanaka Y, The 67th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases(AASLD2016), John B. Hynes Veterans Memorial Convention Center, The United States of America, Boston, 2016/11/11, 国外, 会期2016/11/11-2016/11/15.
21. The hepatitis B virus (HBV) core antigen expression level determines the rate of CD8 T cell mediated viral clearance, Poster Sessions, Isogawa M, Kawashima K, Tsutsumi S, Tanaka Y, The 67th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases(AASLD2016), John B. Hynes Veterans Memorial Convention Center, The United States of America, Boston, 2016/11/11, 国外, 会期2016/11/11-2016/11/15.
22. HBV 特異的 CD8+T 細胞応答による HBV 排除への試み, 口頭, 河島圭吾, 五十川正記, 田中靖人, 第41回日本肝臓学会東部会, 京王プラザホテル, 東京, 新宿, 2016/12/8, 国内, 会期2016/12/8-2016/12/9.
23. Reduction of hepatitis B virus (HBV) gene expression in the liver induces functional HBV-specific CD8 T cell responses without liver disease, Poster, Kawashima K, Isogawa M, Saito S, Tanaka Y, The 26th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL Annual Meeting 2017), Shanghai International Convention Center(Yangtze River Hall,Level 5 Public Area at Level 3/5/7), China, Shanghai, 2017/2/16-2/18, 国外, 会期2017/2/15-2017/2/19.
24. Clearance rate of hepatitis B virus (HBV) is associated with the level of the core antigen expression that determines the magnitude of HBV-specific CD8 T cell responses, Poster, Isogawa M, Kawashima K, Tsutsumi-hamada S, Tanaka Y, The 26th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL Annual Meeting 2017), Shanghai International Convention Center(Yangtze River Hall,Level 5 Public Area at Level 3/5/7), China, Shanghai, 2017/2/17, 国外, 会期2017/2/15-2017/2/19.

### (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 該当無し

### (4) 特許出願

該当無し

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) 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

研究開発課題名：(日本語) 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

(英語) Study on host innate immunity against Hepatitis B virus infection

研究開発担当者 (日本語) 医薬保健研究域医学系 准教授 水腰 英四郎

所属 役職 氏名：(英語) Eishiro Mizukoshi, Associate Professor, Faculty of Medicine, Institute of  
Medical, Pharmaceutical and Health Sciences, Kanazawa University

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) 自然免疫を用いた HBV 感染細胞の排除に関する研究

開発課題名：(英語) Study of eradication of hepatocytes with HBV infection using innate  
immunity

研究開発分担者 (日本語)

所属 役職 氏名：(英語)

II. 成果の概要 (総括研究報告)

- ・ 研究開発分担者による報告の場合

研究開発代表者：京都大学 ウイルス・再生医科学研究所 藤田 尚志 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 0 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 Dendritic cell functions and characteristic gene expression profiles in hepatitis B

virus-infected patients. ポスター発表, Atsushi Yonejima, Eishiro Mizukoshi, Yuki Inada, Akihiko Kida, Kiichiro Kaji, Kazutoshi Yamada, Toshikatsu Tamai, Masashi Kumagai, Hidetoshi Nakagawa, Takeshi Terashima, Noriho Iida, Masaaki Kitahara, Masao Honda, Shuichi Kaneko. アメリカ肝臓学会 (ボストン) , 2016/11/11, 国外

(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

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 (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) 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応答系の解析に  
関する研究  
(英語) Study on host innate immunity against Hepatitis B virus infection

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

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者：京都大学ウイルス・再生医科学研究所教授藤田尚志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 1件)

1. Yoshioka T, Tatsumi T, Miyagi T, Mukai K, Nishio K, Nishio A, Yokoyama Y, Suda T, Kegasawa T, Shigekawa M, Hikita H, Sakamori R, Takehara T. Frequency and role of NKp46 and NKG2A in hepatitis B virus infection. PLoS One. 2017, doi: 10.1371/journal.pone.0174103.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. B型慢性肝炎の病態におけるNK細胞活性型レセプターNKp46及び抑制型レセプターNKG2Aの意義. 一般口演. 吉岡鉄平, 巽智秀, 竹原徹郎. 第52回日本肝臓学会総会, 2016/5/19, 幕張 (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

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 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) 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

(英語) Study on host innate immunity against Hepatitis B virus Infection

研究開発担当者 (日本語) 医科学研究所 教授 斎藤 泉

所属 役職 氏名：(英語) Institute of Medical Science , Professor Izumu Saito

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) HBV 感染治療用ベクターの開発と新規ベクターの供給

開発課題名：(英語) Development of vectors for treatment of HBV infection and supply of the novel vectors

研究開発分担者 (日本語) なし

所属 役職 氏名：(英語)

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者：京都大学 ウイルス・再生医科学研究所 教授 藤田尚志

HBV CCC ゲノムは細胞核内で安定であり、治療が難しい原因となっている。この CCC を、ゲノム編集 (CRISPR/Cas9) 技術を用いて 3ヶ所同時に切断するアデノウイルスベクターの開発に既に成功している (特許出願済：新聞報道参照)。平成 28 年度はこの技術をさらに発展させ、8カ所あるいは最多で 16カ所の同時切断を行えるベクターウイルス作製の前段階となる大型プラズミドの開発に成功した。世界的には 7個までの報告があるが、16個の安定作製は驚異的な技術である (論文投稿準備中)。これを用いたベクターウイルスの作製を現在行っている。また HBV ゲノムを従来の方法より 50 倍の量を産生するベクターを開発し、このゲノム DNA の複製を阻止する化合物をスクリーニングできる方法を開発・確立した (発表論文 1)。この方法により 3万の化合物から HBV ゲノム複製を阻害する薬剤候補を絞り込むスクリーニングが進行中である。

### 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 2 件)

1. Suzuki M, Kondo S, Yamasaki M, Matsuda N, Nomoto A, Suzuki T, Saito I (corresponding author), Kanegae Y. Efficient genome replication of hepatitis B virus using adenovirus vector: a compact pregenomic RNA-expression unit. Sci. Rep., 2017, 7:41851.
2. Suzuki R, Saito K, Matsuda M, Sato M, Kanegae Y, Shi G, Watashi K, Aizaki H, Chiba J, Saito I, Wakita T, Suzuki T. Single-domain intrabodies against hepatitis C virus core inhibit viral propagation and core-induced NFκB activation. J. Gen. Virol., 2016 97:887-892.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Improvement of the efficiency in CRISPR/Cas9 system against Hepatitis B virus using adenovirus vector, ポスター, 近藤小貴, 前川文, 鈴木まりこ, 鐘ヶ江裕美, 第 22 回日本遺伝子細胞治療学会, 2016/7/28, 国内.
2. ガイド RNA 多重同時発現法の開発とアデノウイルスベクターへの応用, 口頭, 斎藤泉, 日本ゲノム編集学会 第 1 回大会, 2016/9/6, 国内.
3. Cas9 及び多重 guide RNA 発現アデノウイルスベクターを用いた高効率 HBV DNA 除去システム, 前川文, 斎藤泉, 鐘ヶ江裕美, 日本ゲノム編集学会 第 1 回大会, 2016/9/6, 国内.
4. CRISPR/Cas9 システムを利用した MHC class II ノックアウト NSG マウスの作製, 中西友子, 権賢貞, 堀江亮, 内田翔太郎, 米田美佐子, 斎藤泉, 甲斐知恵子日本ゲノム編集学会 第 1 回大会, 2016/9/6, 国内.
5. The efficient elimination system of HBV DNA using adenovirus vector expressing Cas9 and multiplex guide RNAs, 口頭, 前川文, 鈴木まりこ, 斎藤泉, 鐘ヶ江裕美, 第 64 回日本ウイルス学会学術集会, 2016/10/24, 国内.
6. Efficient elimination system of HBV DNA using adenovirus vector expressing Cas9 and multiplex guide RNAs, ポスター, 前川文, 斎藤泉, 鐘ヶ江裕美, 第 39 回日本分子生物学会年会, 2016/11/30, 国内.

日経産業新聞 平成 28 年 9 月 14 日朝刊 「B 型肝炎やエイズ根治に挑む ゲノム編集で DNA 切断」 慈恵医大鐘ヶ江准教授・東京大学 (本研究) と共同

(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