

令和 3 年 6 月 26 日現在

機関番号：32682

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K15708

研究課題名(和文) B型肝炎ウイルスのcell-to-cell感染機構と意義の解明

研究課題名(英文) Evaluation of cell-to-cell transmission in Hepatitis B Virus

研究代表者

竹内 潤子(柴田潤子)(TAKEUCHI, Junko S.)

明治大学・研究・知財戦略機構(生田)・特任講師

研究者番号：80647488

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：B型肝炎ウイルス(HBV)に関して、これまで簡便で効率的な感染許容細胞株が存在しなかったことからcell-to-cell感染様式に関する研究は進んでいない。本研究では、HBV産生細胞とHBV感染許容細胞の共培養システムに中和抗体を添加し続けることで、HBV cell-to-cell感染のみが生じる実験系を構築した。その解析の結果、HBVがcell-free感染だけでなく、cell-to-cell感染で拡がる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

HIV-1の研究においては、cell-free感染では低コピー数のウイルスが細胞に感染するのに対し、cell-to-cell感染では大量のウイルスが細胞に受け渡されるため、薬剤感受性が低いと報告されている。HBVにおいても、現行の治療法では持続感染者からウイルスを完全に排除できないが、HBV cell-to-cell感染と薬剤感受性についての関連は不明である。本研究は、「抗HBV剤がcell-free感染だけでなくcell-to-cell感染も標的としているか？」を評価できるスクリーニング系開発の一助となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Viruses such as human immunodeficiency virus (HIV) can spread via two types of replication strategies: cell-free infection and cell-to-cell infection. Viral cell-to-cell infection, in which viral particles transmit to adjacent uninfected cells, has shown to be more efficient than infection by cell-free virus particles. However, it is still controversial whether Hepatitis B virus (HBV) can propagate via cell-to-cell infection. To address this question, HBV producer cells were co-cultured with HBV susceptible cells in the presence or absence of neutralizing antibodies (nAbs). In the absence of nAbs, HBV propagates by both cell-free and cell-to-cell infections. While, in the presence of nAbs, cell-free transmission is inhibited, thereby allowing HBV to replicate only by the cell-to-cell infection. Our co-culture experiments demonstrated that HBV may spread by the cell-to-cell infection mode.

研究分野：B型肝炎ウイルス

キーワード：B型肝炎ウイルス Cell-to-cell感染

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

HBV の持続感染は肝硬変や肝がんを発症させる主な原因だが、世界には約 2.6 億人もの持続感染者がいると推定されている (WHO fact sheets 2019)。2012 年に HBV の受容体として human sodium taurocholate cotransporting polypeptide (hNTCP) が同定されたことを機に (Yang et al. *eLife* 2012)、研究代表者の所属研究室 (国立感染症研究所) では世界に先駆けて簡便で感染効率の高い HBV 感染許容細胞 HepG2-hNTCP-C4 (Iwamoto et al. *BBRC* 2014) および HBV 産生細胞 Hep38.7-tet (Ogura et al. *BBRC* 2014) の樹立に成功した。

ところで、エイズの原因ウイルスである HIV-1 には 2 つの感染様式が存在することが知られている。細胞外に放出されたウイルス粒子が新たな標的細胞に感染する“cell-free 感染”と、感染細胞が標的細胞に接触することでウイルス粒子を直接受け渡す“cell-to-cell 感染”である。研究代表者らは数学と実験を融合したアプローチにより、HIV-1 感染における cell-to-cell 感染の寄与率を明らかにした (Iwami# and Takeuchi# et al. *eLife* 2015, # Equal contribution)。一方、HBV に関しては、最近 HBV 感染許容細胞株が樹立されたばかりであることから、cell-to-cell 感染様式に関する研究は進んでいない。

2. 研究の目的

本研究では、研究代表者の所属研究室で世界に先駆けて樹立された HBV 感染許容細胞および HBV 粒子放出細胞を用いて、HBV の cell-to-cell 感染機構をとその意義について明らかにする。

3. 研究の方法

所属研究室で開発された HBV 粒子産生細胞 Hep38.7-Tet 細胞 (ドナー細胞) と HBV 感受性 HepG2-hNTCP-GFP 細胞 (標的細胞) を共培養する。通常の HBV 感染実験では cell-free 感染と cell-to-cell 感染が混在した状態にある。そこで、培養液中に HBV 中和抗体を添加し続けることにより cell-free 感染を阻止し、cell-to-cell 感染のみが生じる実験系を構築した (図 1)。

4. 研究成果

HBV 中和抗体を添加し続けた培地、つまり cell-to-cell 感染のみが生じる条件下においてドナー細胞と標的細胞を 11 日間共培養後、細胞を抗 HBV 抗原抗体で染色し flow-cytometry で解析した結果、中和抗体添加培地においても HBV 抗原陽性の標的細胞が存在した。これは、HBV による cell-to-cell 感染が生じている可能性を示唆している (図 2 B, Q2 象限)

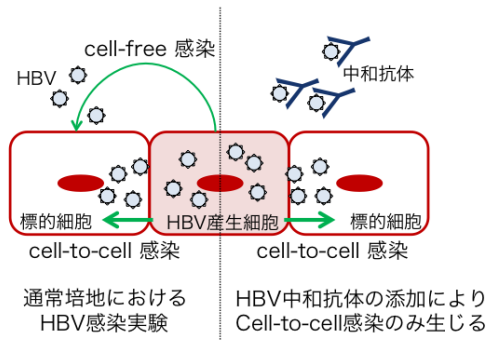


図 1
HBV 粒子産生細胞と標的細胞の
共培養

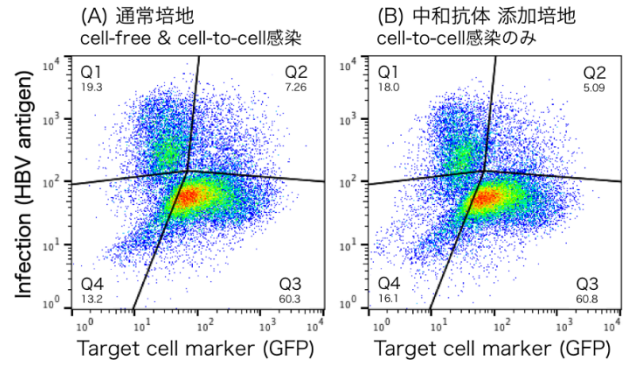


図 2
HBV 粒子産生細胞と標的細胞共培養
の flow cytometry 解析

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Ibrahim Marwa K., Abdelhafez Tawfeek H., Takeuchi Junko S., Wakae Kosho, Sugiyama Masaya, Tsuge Masataka, Ito Masahiko, Watashi Koichi, El Kassas Mohamed, Kato Takano, Murayama Asako, Suzuki Tetsuro, Chayama Kazuaki, Shimotohno Kunitada, Muramatsu Masamichi, Aly Hussein H., Wakita Takaji	4. 巻
2. 論文標題 MafF is an antiviral host factor that suppresses transcription from Hepatitis B Virus core promoter	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JVI.00767-21	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Ito Kiyooki, Okumura Akinori, Takeuchi Junko S., Watashi Koichi, Inoue Rieko, Yamauchi Taeko, Sakamoto Kazumasa, Yamashita Yukiko, Iguchi Yusuke, Une Mizuho, Wakita Takaji, Umezawa Kazuo, Yoneda Masashi	4. 巻
2. 論文標題 Dual Agonist of Farnesoid X Receptor and Takeda G Protein Coupled Receptor 5 Inhibits Hepatitis B Virus Infection In Vitro and In Vivo	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Hepatology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/hep.31712	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takeuchi Junko S., Fukano Kento, Iwamoto Masashi, Tsukuda Senko, Suzuki Ryosuke, Aizaki Hideki, Muramatsu Masamichi, Wakita Takaji, Sureau Camille, Watashi Koichi	4. 巻 93
2. 論文標題 A Single Adaptive Mutation in Sodium Taurocholate Cotransporting Polypeptide Induced by Hepadnaviruses Determines Virus Species Specificity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JVI.01432-18	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Watanabe Nobuo, Kryukov Kirill, Nakagawa So, Takeuchi Junko S., Takeshita Meiko, Kirimura Yukiko, Mitsuhashi Satomi, Ishihara Toru, Aoki Hiromichi, Inokuchi Sadaki, Imanishi Tadashi, Inoue Shigeaki	4. 巻 13
2. 論文標題 Detection of pathogenic bacteria in the blood from sepsis patients using 16S rRNA gene amplicon sequencing analysis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0202049
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0202049	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Sato Kei, Misawa Naoko, Takeuchi Junko S., Kobayashi Tomoko, Izumi Taisuke, Aso Hirofumi, Nagaoka Shumpei, Yamamoto Keisuke, Kimura Izumi, Konno Yoriyuki, Nakano Yusuke, Koyanagi Yoshio	4. 巻 92
2. 論文標題 Experimental Adaptive Evolution of Simian Immunodeficiency Virus SIVcpz to Pandemic Human Immunodeficiency Virus Type 1 by Using a Humanized Mouse Model	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JVI.01905-17	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mitsuhashi Satomi, Kryukov Kirill, Nakagawa So, Takeuchi Junko S., Shiraishi Yoshiki, Asano Koichiro, Imanishi Tadashi	4. 巻 7
2. 論文標題 A portable system for rapid bacterial composition analysis using a nanopore-based sequencer and laptop computer	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-05772-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshikawa Rokusuke, Takeuchi Junko S., Yamada Eri, Nakano Yusuke, Misawa Naoko, Kimura Yuichi, Ren Fengrong, Miyazawa Takayuki, Koyanagi Yoshio, Sato Kei	4. 巻 91
2. 論文標題 Feline Immunodeficiency Virus Evolutionarily Acquires Two Proteins, Vif and Protease, Capable of Antagonizing Feline APOBEC3	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JVI.00250-17	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shimura Satomi, Watashi Koichi, Fukano Kento, Peel Michael, Sluder Ann, Kawai Fumihiro, Iwamoto Masashi, Tsukuda Senko, Takeuchi Junko S., Miyake Takeshi, Sugiyama Masaya, Ogasawara Yuki, Park Sam-Yong, Tanaka Yasuhito, Kusahara Hiroyuki, Mizokami Masashi, Sureau Camille, Wakita Takaji	4. 巻 66
2. 論文標題 Cyclosporin derivatives inhibit hepatitis B virus entry without interfering with NTCP transporter activity	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Hepatology	6. 最初と最後の頁 685 ~ 692
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jhep.2016.11.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 竹内(柴田)潤子
2. 発表標題 B型肝炎ウイルス(HBV)受容体の適応進化解析
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Junko S TAKEUCHI
2. 発表標題 A Single Adaptive Mutation in Sodium Taurocholate Cotransporting Polypeptide (NTCP) Induced by Hepadnaviruses Determines Virus Species Specificity.
3. 学会等名 7th Japan-Taiwan-Korea HBV Research Symposium, Tokyo, JAPAN（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹内(柴田)潤子
2. 発表標題 ヘパドナウイルスは宿主進化の選択圧となったか
3. 学会等名 第21回 日本進化学会（札幌）（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Junko S TAKEUCHI
2. 発表標題 HBV-related hepadnaviruses drive an adaptive evolution in a host receptor
3. 学会等名 The 67th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology, Tokyo, JAPAN
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹内(柴田)潤子.
2. 発表標題 教育講演：ウイルスの進化とその解析法に関して
3. 学会等名 第7回肝炎ウイルス研修会(招待講演)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関