

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 17 日現在

機関番号：82609

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24390117

研究課題名(和文) 肝炎ウイルスによる免疫の攪乱、持続感染化、生体防御応答因子の再活性化による制御

研究課題名(英文) Tissue macrophages are responsible for inflammatory liver disease in the hepatitis C virus transgenic mice

研究代表者

小原 道法 (KOHARA, Michinori)

公益財団法人東京都医学総合研究所・ゲノム医科学研究分野・プロジェクトリーダー

研究者番号：10250218

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,400,000円

研究成果の概要(和文)：HCV遺伝子スイッチング発現Tgマウス肝細胞にHCV蛋白を発現させ経時的に、病態の解析を行った。約2年にわたりリンパ球の浸潤像、steatosisなどの慢性肝炎の所見をみとめ、肝細胞癌が発症していた。次にHCVの非構造蛋白発現rVV-N25接種群では肝臓の索状構造やsteatosisなどの正常化が認められた。HCV蛋白質の排除にはCD4、CD8細胞が重要であった。HCV Tg miceの肝臓内のmacrophageはM2優位であり、TNF $\alpha$ やIL-6が産生されていた。さらにrVV-N25は肝臓内炎症性M2 macrophage数を減少させる事で肝臓の正常化に寄与することが示された。

研究成果の概要(英文)：We have reported that hepatitis C virus transgenic mice (HCV Tg) caused continuous liver injury and developed hepatocellular carcinoma through the Cre/loxP switching system. In addition, we showed recombinant vaccinia viruses expressing HCV nonstructural protein (rVV-N25) could protect against the progression of chronic hepatitis by way of suppression of macrophages activation. We focused on the role of tissue macrophages for liver disease of the HCV Tg mice and examined characteristic features of macrophages following rVV-N25 treatment. rVV-N25 treatment suppressed cell number and cytokine production on macrophages in the liver. M2 macrophages contribute to the induction of chronic liver inflammation in HCV mouse models. In addition, rVV-N25 induced therapeutic effect on liver tissue due to suppressed macrophage recruitment and activation.

研究分野：感染免疫

キーワード：C型肝炎ウイルス 持続感染化 宿主免疫応答 ウイルス排除

### 1. 研究開始当初の背景

難治性のウイルス疾患の中でも 200 万人と感染者が多く、予後も悪い C 型肝炎ウイルス (HCV) 疾患の征圧を研究の基軸とする。HCV は感染後 80~90% の高率で持続感染化し、慢性肝炎、さらに肝細胞癌を発症する。持続感染が成立するためには細胞内自然免疫と宿主の獲得免疫監視機構の両方から逃避する必要がある。HCV は感染肝細胞内で持続的に複製し、インターフェロン (IFN) 系による複製阻害を受けない。我々は、培養細胞やマウス肝臓組織細胞と異なり、HCV 感染ヒト肝臓キメラマウス肝細胞では Type I インターフェロンは誘導されず Type III インターフェロンのみが誘導されることを見いだしている。(投稿中)。また、HCV 感染ヒト肝臓組織では HCV が持続的に複製し、細胞障害性 T 細胞 (CTL) が誘導されているにもかかわらず活性は非常に弱く、ウイルス感染細胞が排除されないことが知られている (Chisari FV J Clin Invest. 1997)。このことから持続感染が成立する理由の一つとして HCV に対して宿主側が免疫寛容状態になっていると考えられている。また、本研究者の解析から、HCV はヒト及びマウス肝臓蛋白質と非常に相同性の高いアミノ酸配列 (分子相同性エピトープ) を多く有していることが明らかになり、慢性肝炎は自己免疫疾患様の病態と考えることもでき、さらに臨床的にも自己抗体の産生が認められ自己免疫疾患様の合併症が認められている。

これまで HCV の病原性発現機序を解析するために HCV の cDNA を組み込んだトランスジェニックマウスの開発が行われてきた。しかし、HCV 遺伝子が導入されたマウスは出生時からすでに HCV 蛋白質の発現があるために免疫寛容状態となり、宿主の免疫反応すなわち慢性肝炎状態の解析が困難であった。そこでそれらの問題を解決するために、Cre/loxP システムで任意の時期に HCV 遺伝子をスイッチング発現するトランスジェニック (Cre/loxP/HCV-MxCre Tg) マウスを樹立した。HCV 蛋白質を発現させた Cre/loxP/HCV-MxCre Tg マウスは、急性肝炎から慢性肝炎状態に移行し、受動的に免疫寛容が成立することが確認できた。よって Cre/loxP/HCV-MxCre Tg マウスは正常な免疫応答下で持続的に HCV 蛋白質を発現させ、慢性肝炎を発症させることができる HCV 持続感染モデルとして非常に有用であり、これまで困難とされていた HCV の持続感染化と宿主の免疫応答の関係を解析することを可能にした。

さらに、HCV 遺伝子組換えワクチンウイルス (HCV-rVV) を構築し、この HCV-rVV を慢性 C 型肝炎のモデルマウスである HCV/Cre-Tg マウスに接種した。接種後 1 週で慢性肝炎の病態が改善し、肝細胞の膨化、索状配列の乱れ、脂肪変性、グリコーゲン変性といった組織異常の正常化がみられた。さらに、肝臓内 HCV 蛋白質を肝障害を起こすことなく著しく減少させることができ、これは HCV に対する治療ワクチンの有効性を示唆していた。

本研究では、世界に先駆けて我々が確立した

肝炎発症 HCV-Tg マウス及び HCV 感染ヒト肝細胞キメラマウスなどの動物モデルを用いて、これまで困難であった HCV の感染複製時に修飾される肝臓細胞側因子および獲得免疫系の攪乱機序などを明らかにする。さらに、免疫活性化に伴う蛋白質分解系の亢進が宿主細胞を殺傷せずにウイルス蛋白質を選択的に認識し排除する機構について、細胞内及び個体レベルの両方から解析を行う事とした。

### 2. 研究の目的

C 型肝炎ウイルス (HCV) は感染後高率に持続感染化し、慢性肝炎、さらに肝細胞癌を発症し予後も悪い。HCV 遺伝子をスイッチング発現できるトランスジェニックマウス (HCV Tg マウス) を樹立し、このマウスが持続的な HCV 蛋白質発現と免疫応答・慢性肝炎発症を起こし、肝硬変・肝がんを発症することを明らかにした。このマウスモデルを使用し、1) HCV の感染により修飾される肝臓細胞側因子および獲得免疫系の攪乱機序を明らかにする。2) さらにこれまでの定説と異なり、免疫活性化に伴う蛋白質分解系の亢進が宿主細胞を殺傷せずにウイルス蛋白質を選択的に認識し排除する事を見いだしており、この機構について、細胞内及び個体レベルの両方から解析を行い、そのメカニズムを明らかにすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

(1) 個体レベルでの免疫系による排除回避機構として、特異的 CTL が誘導されているにもかかわらずウイルス感染細胞が完全には排除されないことが知られている。これまでに本研究では、HCV がヒト肝臓蛋白質と非常に相同性の高いアミノ酸配列 (分子相同性エピトープ) を多く有していることを見出している。HCV は molecular mimicry を有するように進化し、ヒトに適合し免疫を回避する戦略を取るものと考えられる。このような免疫逃避機構に加えて、宿主免疫応答によって惹起される慢性炎症が発がん・炎症性疾患発症を促進している。そこで、この免疫寛容獲得から破綻に至る機序を解析するために、スイッチング発現後に獲得した免疫寛容状態にある Cre/loxP/HCV-MxCre Tg マウスに、正常マウス由来の脾細胞を移入したところ、HCV 蛋白質量が減少することを見出し、これは免疫寛容が破綻したことを示唆する興味深い結果である。さらに、HCV-rVV を慢性 C 型肝炎マウスに接種したところ HCV 蛋白質の排除と組織異常の正常化がみられた。そこで本研究では HCV がいかにして免疫監視機構を回避し、持続感染化を成立させているか、さらにこれが免疫活性化により破綻し、HCV が排除される機序を明らかにすることを目的とする。

① HCV-rVV によりその免疫寛容が破綻し慢性肝炎が沈静化した HCV Tg マウスから免疫担当細胞を様々な細胞集団に分画し、免疫寛容状態の Tg マウスに移入することで、HCV 排除に必須な免疫担当細胞を同定する。② ウイルスの持続感染で抗原刺激が持続すると、CD8 陽

性T細胞はPD1分子を表出するようになり、免疫不応答に陥ることが報告されている。PD1およびCTLA4のHCV Tgマウスにおける免疫寛容化への関与を明らかにする。③ HCV-rVVで賦活化したCTLがウイルスを排除するかどうかを明らかにするために、ヒトのHLA-A2.1を発現させたHHDマウスにワクチン接種し、同じくHCVを感染させたHLA-A2.1のヒト肝臓を持つキメラマウスに感作脾細胞を移入することにより解析を行う。④ 組換えワクチニアウイルス(HCV-rVV)免疫による肝臓内HCVコア蛋白質排除に寄与する細胞内蛋白質分解系の同定及び機序の解析を行う。

(2). 細胞内のウイルス排除機構として① Cre/loxP/HCV-MxCre Tg及びHCV感染ヒト肝臓キメラマウス肝細胞でのIFN関連遺伝子発現抑制の機序について、ヒトcDNAチップ及びsiRNAライブラリーにより網羅的に解析する。②免疫活性化に伴うウイルス蛋白質を選択的に認識し排除する蛋白質分解系の亢進に関わる因子をsiRNAライブラリー及び高感度プロテオミクスにより網羅的に解析し、相互作用している蛋白質を決定する。さらに、決定された宿主因子の機能について明らかにする。

#### 4. 研究成果

任意の時期にHCV遺伝子をスイッチング発現するTgマウスを樹立した。このマウスは慢性肝炎、肝線維化を経て肝細胞癌を生じた。更にHCV遺伝子組換えvaccinia virus(rVV)株を樹立し、非構造領域を挿入したrVV-N25が治療ワクチンとしての有効性を検証した。

HCVTgマウス肝細胞にHCV蛋白質を発現させ経時的に、病態の解析を行った。次にHCVの構造蛋白質発現組換えワクチニアウイルスrVV-CN2、非構造蛋白質発現rVV-N25、全蛋白質発現rVV-CN5を慢性肝炎発症Tgマウスに投与した。

肝細胞にHCV蛋白質が発現後、約2年にわたりリンパ球の浸潤像、steatosisなどの慢性肝炎の所見を肝組織でみとめ、600日後では有意に肝細胞癌が発症していた。rVV-N25接種群では接種後1週で肝臓の索状構造やsteatosisなどの正常化が認められた。HCV蛋白質の排除にはCD4,CD8細胞が重要であった。さらにN25接種群では、他群と比較し血清IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-12, IL-6などの炎症性サイトカインが抑制されていた。Lipo-clodronate投与後にHCV Tg miceの肝脂肪化、索状構造の異常構造など肝組織像が改善しておりmacrophageが肝障害に関与していることが示唆された。HCV Tg miceの肝臓内のmacrophageはM2優位であり、TNF $\alpha$ やIL-6が主にM2 macrophageから産生されていた。

これらの結果はM2 macrophageにより産生された炎症性サイトカインがHCV-TgマウスにおいてC型慢性肝炎の誘導に寄与することを示唆している。さらにrVV-N25は肝臓内炎症性M2 Mac数を減少させる事で肝臓の正常化に寄与すること

が示された。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 29件、すべて査読有り)

1. Chise Tateno, Yosuke Kawase, Yoshimi Tobita, Satoko Hamamura, Hiroki Ohshita, Hiroshi Yokomichi, Harumi Sanada, Masakazu Kakuni, Akira Shiota, Yuha Kojima, Yuji Ishida, Hiroshi Shitara, Naoko A. Wada, Hiromi Tateishi, Masayuki Sudoh, Shin-ichiro Nagatsuka, Kou-ichi Jishage, \*Michinori Kohara. Generation of Novel Chimeric Mice with 1 Humanized Livers Using Hemizygote cDNA-uPA/SCID mice: Tool for Developing New Drugs. *PLoS One*. 2015 Nov 4;10(11):e0142145.

2. Takahiro Ohtsuki, Kiminori Kimura, Yuko Tokunaga, Kyoko Tsukiyama-Kohara, Chise Tateno, Yukiko Hayashi, Tsunekazu Hishima, and Michinori Kohara. M2 macrophages play critical roles in progression of inflammatory liver disease in hepatitis C virus transgenic mice. *J. Virology* 2015 Oct 14;90(1):300-7. doi: 10.1128/JVI.02293-15.

3. Yusuke Sato, Hideyoshi Harashima and \*Michinori Kohara. A Multifunctional Envelope-type Nano Device Containing A pH-sensitive Cationic Lipid for Efficient Delivery of Short Interfering RNA to Hepatocytes in Vivo. *Methods in Molecular Biology* 2015 1364, Chapter 7, 71-78.

4. Kenji Sugata, Jun-ichirou Yasunaga, Yuichi Mitobe, Michi Miura, Paola Miyazato, Michinori Kohara and \*Masao Matsuoka. Protective effect of cytotoxic T lymphocytes targeting HTLV-1 bZIP factor. *Blood* 2015 Aug 27;126(9):1095-105.

5. Sayeh Ezzikouri, Kiminori Kimura, Hajime Sunagozaka, Shuichi Kaneko, Kazuaki Inoue, Tomohiro Nishimura, Tsunekazu Hishima, \*Michinori Kohara, and \*Kyoko Tsukiyama-Kohara. Serum DHCR24 auto-antibody as a new biomarker for progression of hepatitis C. *EBioMedicine* 2015 Apr 13;2(6):604-12.

6. Makoto Saito, Takashi Takano, Tomohiro Nishimura, Michinori Kohara, \*Kyoko Tsukiyama-Kohara. 3 $\beta$ -Hydroxysterol  $\Delta$ 24-reductase on the Surface of Hepatitis C Virus-related Hepatocellular Carcinoma Cells can be a Target for Molecular Targeting Therapy. *PLoS ONE* 2015 Apr 13;10(4):e0124197.

7. Yutaka Amako, Tsubasa Munakata, Michinori Kohara, Aleem Siddiqui, Chris Peers and, \*Mark Harris. Hepatitis C virus attenuates mitochondrial lipid  $\beta$ -oxidation by down-regulating mitochondrial trifunctional protein expression. *J. Virology* 2015 Apr 15;89(8):4092-101.

8. Kyoko Tsukiyama-Kohara and Michinori Kohara. *Tupaia belangeri* as an experimental animal model for viral infection. *Experimental Animals* 2014 Oct 30;63(4):367-74. Epub 2014 Jul 22.

9. Chao-Kuen Lai, Vikas Saxena, Chung-Hsin Tseng, King-Song Jeng, Michinori Kohara, and Michael M. C. Lai. Nonstructural Protein 5A Is Incorporated into Hepatitis C Virus Low-Density Particle through Interaction with Core Protein and Microtubules during Intracellular Transport. *PLoS One*. 2014; 9(6): e99022. doi: 10.1371/journal.pone.0099022
10. Tsubasa Munakata, Makoto Inada, Yuko Tokunaga, Takaji Wakita, Michinori Kohara, and Akio Nomoto. Suppression of hepatitis C virus replication by cyclin-dependent kinase inhibitors. *Antiviral Research* 2014 Aug;108:79-87. doi: 10.1016/j.antiviral.2014.05.011.
11. Masaaki Arai, Kyoko Tsukiyama-Kohara, Asako Takagi, Yoshimi Tobita, Kazuaki Inoue and Michinori Kohara. Resistance to cyclosporin A derives from mutations in Hepatitis C virus nonstructural proteins. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014 May 23;448(1):56-62. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.04.053.
12. Tsunamasa Watanabe, Hiroto Hatakeyama, Chiho Matsuda-Yasui, Yusuke Sato, Masayuki Sudoh, Asako Takagi, Yuichi Hirata, Takahiro Ohtsuki, Masaaki Arai, Kazuaki Inoue, Hideyoshi Harashima and Michinori Kohara. *In vivo* therapeutic potential of Dicer-hunting siRNAs targeting infectious hepatitis C virus. *Scientific Reports* 2014 Apr 23;4:4750. doi: 10.1038/srep04750.
13. Yuri Kasama, Takuo Mizukami, Hideki Kusunoki, Jan Peveling-Oberhag, Yasumasa Nishito, Makoto Ozawa, Michinori Kohara Toshiaki Mizuochi, and Kyoko Tsukiyama-Kohara. B-cell-intrinsic Hepatitis C virus expression leads to B-cell-lymphomagenesis and induction of NF- $\kappa$ B signaling. *PLoS ONE* 9(3):e91373. doi: 10.1371/journal.pone.0091373. eCollection 2014. (2014).
14. Masaaki Arai, Yuko Tokunaga, Asako Takagi, Yoshimi Tobita, Yuichi Hirata, Yuji Ishida, Chise Tateno, Michinori Kohara. Isolation and characterization of highly replicable hepatitis C virus genotype 1a strain HCV-RMT. *PLoS ONE* 8(12):e82527. (2013).
15. Takeshi Wada, Michinori Kohara and Yasuhiro Yasutomi. : DNA vaccine expressing the non-structural proteins of hepatitis C virus diminishes the expression of HCV proteins in a mouse model. *Vaccine* 31(50):5968-74 (2013)
16. Asao Katsume, Yuko Tokunaga, Yuichi Hirata, Tsubasa Munakata, Ahmed El-Gohary, Masayuki Sudo, Michinori Kohara : A Serine Palmitoyltransferase Inhibitor Inhibits Hepatitis C Virus Replication in Human Hepatocytes. *Gastroenterology* 145(4):865-73 (2013)
17. Kazuya Shioyama, Ken-ichi Inada, Michinori Kohara, Hidemi Teramoto, Yasuyoshi Mizutani, Takanori Onouchi and Yutaka Tsutsumi. : Demonstration of hepatitis C virus RNA with high sensitivity in situ hybridization employing a locked nucleic acid probe in humanized liver of infected chimeric mice and in needle-biopsied human liver. *Int. J. Hepatol.* ID249535, 7pages doi.org/10.1155/2013/249535 (2013)
18. Shinichiro Nakagawa, Yuichi Hirata, Takeshi Kameyama, Yuko Tokunaga, Akinori Takaoka and Michinori Kohara: Targeted induction of interferon- $\lambda$  in humanized chimeric mouse liver abrogates hepatotropic virus infection. *PLoS ONE* 8(3):e59611(2013)
19. Watanabe T., Sugauchi F, Tanaka Y., Matsuura M., Kohara M., Mizokami M. Hepatitis C virus kinetics by administration of pegylated interferon- $\alpha$  in human and chimeric mice carrying human hepatocytes with variants of the IL28B gene. *Gut* 62(9):1340-6 (2013)
20. Yasui F., Sudoh M., Arai M., Kohara M.: Synthetic lipophilic antioxidant BO-653 suppresses HCV replication. *J. Medical Virology* 85(2):241-9 (2013)
21. Sekiguchi S., Kimura K., Chiyo T., Ohtuki T., Tobita Y., Tokunaga Y., Yasui F., Miyasaka M., Mizuno K., Hayashi Y., Hishima T., Matsushima K., Kohara M.: Immunization with a recombinant vaccinia virus that encodes nonstructural proteins of the hepatitis C virus suppresses viral protein levels in mouse liver. *PLoS ONE* 7(12):e51656. doi:10.1371 (2012)
22. Inoue K., Tsukiyama-Kohara K., Matsuda C., Yoneyama M., Fujita T., Kuge S., Yoshida M., Kohara M.: Impairment of interferon regulatory factor-3 activation by hepatitis C virus core protein basic amino acid region 1. *B.B.R.C.* 428(4):494-1 (2012)
23. Hirata Y., Ikeda K., Sudoh M., Tokunaga Y., Suzuki A., , Taguchi R., Kohara M. : Self-enhancement of hepatitis C virus replication by promotion of specific sphingolipid biosynthesis. *PLOS Pathogens* 8(8):e1002860 Epub (2012)
24. Weng L., Tian X., Shimotohno K., Wakita T., Kohara M., Tsyypda T. : Different mechanisms of hepatitis C virus RNA polymerase Activation by cyclophilin A and B in vitro. *BBA-General Subjects* 28;1820(12) : 1886-1892 (2012)
25. Kubota N., Inayoshi Y., Satoh N., Fukuda T., Iwai K., Tomoda H., Kohara M., Kataoka K., Shimamoto A., Furuichi Y., Nomoto A., Naganuma A., Kuge S. : HSC90 is required for nascent hepatitis C virus core protein stability in yeast cells. *FEBS letter* 586:2318-2325 (2012)
26. Konishi H., Okamoto K., Ohmori Y., Yoshino H., Ohmori H., Kohara M., Morikawa K., Tsukuda T., Shimma N., Foster G R., Alazawi W., Aoki Y., Arisawa M., Sudoh M. : An orally available, small-molecule interferon inhibits hepatitis C virus replication. *Scientific Comm.* 2:259 1-9 ( 2012 )
27. Weng L., Kohara M., Wakita T., Shimotohno K., Toyoda T. : Detergent-induced activation of the hepatitis C virus genotype 1b RNA polymerase. *Gene* 496:79-87 (2012)

28. Saito M., Kohara M., Kasama Y., Tsukiyama-Kohara K.: Hepatitis C virus induces overexpression of 3 $\beta$ -hydroxysterol  $\Delta$ 24-reductase through Sp1. *J. Medical Virology* 84:733-746 (2012)

29. Kasama Y., Saito M., Takano T., Harada S., Kohara M., Tsukiyama-Kohara K.: Translocase of outer mitochondrial membrane 70 induces interferon response and is impaired by hepatitis C virus NS3. *Virus Research* 163:405-409 (2012)

[学会発表] (計 30件)

1. Ezzikouri Sayeh, Kiminori Kimura, Syuichi Kaneko, Michinori Kohara, Kyoko Tsukiyama-Kohara : Serum DHCR24 auto-antibody as a new biomarker for prognosis of hepatitis C . 第 63 回日本ウイルス学会学術集会 2015.11.22-24 福岡国際会議場 (福岡県福岡市)
2. Yutaka Amako, Michinori Kohara : Hepatitis C virus attenuates mitochondrial lipid -oxidation by suppressing transcription of mitochondrial trifunctional proteins. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会 2015.11.22-24 福岡国際会議場 (福岡県福岡市)
3. Takahiro Ohtsuki, Kiminori Kimura, Yuko Tokunaga, Kyoko Tsukiyama-Kohara, Michinori Kohara : M2 macrophages play critical roles in progression of inflammatory liver disease in hepatitis C virus. 22<sup>nd</sup> International Symposium on Hepatitis C virus and Related viruses 2015.10.9-13 Strasbourg (France)
4. Makoto Saito, Takashi Takano, Tomohiro Nishimura, Michinori Kohara, Kyoko Tsukiyama-Kohara : DHCR24 on the surface of HCV-related hepatocellular carcinoma cells can be a target for molecular targeting therapy. 第 74 回日本癌学会学術総会 2015.10.8-10 名古屋国際会議場 (愛知県名古屋市)
5. Kiminori Kimura, Yuko Tokunaga, Takahiro Ohtsuki, Yukiko Hayashi, Keisuke Munekata, Tsunekazu Hishima, Michinori Kohara : Selective inhibitor of Wnt/ $\beta$ -catenin/CBP signaling ameliorates hepatitis C virus-induced liver fibrosis in mice. 50<sup>th</sup> The International Liver Congress (EASL) 2015.4.22-26 Vienna (Austria)
6. Kiminori Kimura, Takahiro Otsuki, Yuko Tokunaga, Kyoko Tsukiyama-Kohara, Michinori Kohara : Immunization with a recombinant vaccinia virus encoding a nonstructural protein of the hepatitis C virus suppresses viral protein level in mouse liver. 第 5 回発がんスパイラル国際シンポジウム 2015.2.26-27 神戸ポートピアホテル (兵庫県神戸市)
7. Michinori Kohara, Yuko Tokunaga, Tsubasa Munakata, Kyoko Tsukiyama-Kohara, Masayuki Sudoh : A Serine palmitoyltransferase inhibitor inhibits hepatitis C virus replication in human hepatocytes. 第 37 回日本分子生物学会 2014.11.25-27 パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)
8. 棟方 翼、徳永優子、真田崇弘、脇田隆字、野本明男、小原道法 : C 型肝炎ウイルス感染時に TLR3 は IFN 非依存的に発現して抗ウイルス作用を示す 第 62 回日本ウイルス学会学術集会 2014.11.10-12. パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)

9. Sayeh Ezzikouri, Michinori Kohara, Kyoko Tsukiyama-Kohara: Inhibitory effects of pycnogenol on Hepatitis C Virus replication. 第 73 回日本癌学会学術総会 2014.9.25-27 パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)
10. Tubasa Munakata, Makoto Inada, Yuko Tokunaga, Takaji Wakita, Michinori Kohara, Akio Nomoto : Suppression of hepatitis C virus replication by cyclin-dependent kinase inhibitors. 21<sup>th</sup> International Symposium on Hepatitis C and Related Virus 2014.9.7-11 Banff (Canada)
11. Yuko Tokunaga, Kiminori Kimura, Takahiro Ohtsuki, Yukiko Hayashi, Mitsuko Hara, Keisuke Munekata, Tsunekazu Hishima, Soichi Kojima, Michinori Kohara : Selective inhibitor of Wnt/ $\beta$ -catenin/CBP signaling ameliorates hepatitis C virus-induced liver fibrosis. 21<sup>th</sup> International Symposium on Hepatitis C and Related Virus 2014.9.7-11 Banff (Canada)
12. Masaaki Arai, Kyoko Tsukiyama-Kohara, Asako Takagi, Yoshimi Tobita, Kazuaki Inoue, Michinori Kohara : Resistance to cyclosporine S derives from mutations in Hepatitis C virus nonstructural proteins. 21<sup>th</sup> International Symposium on Hepatitis C and Related Virus 2014.9.7-11 Banff (Canada)
13. 徳永優子、小原道法、須藤正幸 : Non-DAA セリンパルミトイル基転移酵素阻害剤と DAA 併用による薬剤耐性株の出現を押しえた強力な HCV 複製阻害 第 50 回日本肝臓学会総会 2014.5.29 ホテルニューオオタニ (東京都千代田区)
14. 大槻貴博、木村公則、徳永優子、林幸子、小原道法 : C 型肝炎トランスジェニックマウスにおいて肝臓内組織炎症性 M2 マクロファージが慢性肝炎を引き起こす 第 61 回日本ウイルス学会 2013.11.12 神戸国際会議場 (兵庫県神戸市)
15. 棟方 翼、小原道法、原口 健、伊庭英夫 : マイクロ RNA による C 型肝炎ウイルス複製制御と宿主脂肪酸合成経路のクロストーク 第 61 回日本ウイルス学会 2013.11.10 神戸国際会議場 (兵庫県神戸市)
16. 棟方 翼、原口 健、伊庭英夫、小原道法 : マイクロ RNA による C 型肝炎ウイルス複製制御と宿主脂肪酸合成経路のクロストーク 第 61 回日本ウイルス学会 2013.11.10 神戸国際会議場 (兵庫県神戸市)
17. Takahiro Ohtsuki, Kiminori Kimura, Yuko Tokunaga, Kyoko Tsukiyama-Kohara, Michinori Kohara. Tissue macrophages are responsible for inflammatory liver disease in the hepatitis C virus transgenic mice. 20<sup>th</sup> International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses 2013.10.6-10. Melbourne (Australia)
18. Tsubasa Munakata, Takeshi Haraguchi, Hideo Iba, Michinori Kohara : A crosstalk between HCV replication and host lipogenesis is mediated by miRNAs. 20<sup>th</sup> International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses 2013.10.6-10. Melbourne (Australia)
19. Yuko Tokunaga, Asao Katsume, Yuichi Hirata, Tsubasa Munakata, Makoto Saito, Kyoko Tsukiyama-Kohara, Masayuki Sudoh, Michinori Kohara : Anti-HCV activity of host inhibitor NA808 with DAAs. 20<sup>th</sup> International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses 2013.10.6-10. Melbourne (Australia)
20. 徳永優子、平田雄一、棟方 翼、斉藤 誠、

須藤正幸、小原恭子、小原道法：宿主因子阻害剤 NA808 と直接的複製阻害剤の併用による抗 HCV 活性 第 72 回日本癌学会学術総会 2013.10.3-5. パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）

21. Kyoko Tsukiyama-Kohara., Yutaka Amako., Michinori Kohara.: Chronic hepatitis C Virus model in Tupaia belangeri. HCV Animal Models and Vaccine Development 2013.5.17 Tallinn (Estonia)
22. 和田 剛、小原道法、保富康宏：C 型肝炎モデルマウスを用いた治療用 DNA ワクチンの検討 第 16 回日本ワクチン学会学術集会 2012.11.17-18. パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）
23. Kimura K., Sekiguchi S., Otsuki T., Tokunaga Y., Tsukiyama-Kohara K., Kohara M.: Immunization with a recombinant vaccinia virus encoding a nonstructural protein of the Hepatitis C Virus suppresses viral protein level in mouse liver. 19<sup>th</sup> International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses 2012.10.4-11. Venice (Italy)
24. Munakata T., Nomoto A., Kohara M. : Hepatic toll-like receptor 3 induced by E2F1 controls hepatitis C viral replication. 19<sup>th</sup> International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses 2012.10.4-11. Venice (Italy)
25. Hirata Y., Ikeda K., Sudoh M., Tokunaga Y., Taguchi R., Kohara M.: Self-enhancement of Hepatitis C Virus replication by promotion of specific sphingolipid biosynthesis. 19<sup>th</sup> International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses 2012.10.4-11. Venice (Italy)
26. 小原恭子、佐藤正明、小原道法：C 型肝炎ウイルスの複製に関する新規宿主因子 BGT-1. 第 71 回日本癌学会学術総会 2012.9.19-21. ホテルロイトン札幌（北海道札幌市）
27. Tsukiyama-Kohara K., Kohara M. : Persistent expression of the full genome of hepatitis C virus in C cells induces spontaneous development of B-cell lymphomas in vivo. 第 11 回あわじしま感染症・免疫フォーラム 2012.9.11-14. 淡路島夢舞台国際会議場（兵庫県淡路市）
28. 大下浩樹、浜村理子、横道 博、加国雅和、川瀬洋介、寺社下浩一、須藤正幸、飛田良美、小原道法、立野知世：cDNA-uPA/SCID マウスを宿主とした長期試験に適するヒト肝細胞キメラマウスの開発 第 59 回日本実験動物学会総会 2012.5.24-26 別府国際コンベンションセンター（大分県別府市）
29. 小原道法：ウイルス性肝炎の免疫学的制御に向けて。第 5 回高輪ウイルス肝炎フォーラム 2012.4.28 せんぼ東京高輪病院（東京都港区）
30. Takano T., Tsukiyama-Kohara K., Kohara M. : Augmentation of DHCR24 expression by hepatitis C virus infection facilitates viral replication in hepatocytes. The International Liver Congress 2012.4.18-22 Barcelona (SPAIN)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕  
ホームページ  
<http://www.igakuken.or.jp/infectious/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

小原 道法 (KOHARA, Michinori)  
公益財団法人東京都医学総合研究所・ゲノム医科学研究分野・プロジェクトリーダー  
研究者番号：10250218

### (2) 研究分担者

平田 雄一 (HIRATA, Yuichi)  
公益財団法人東京都医学総合研究所・ゲノム医科学研究分野・研究員  
研究者番号：50439452

安井 文彦 (YASUI, Fumihiko)  
公益財団法人東京都医学総合研究所・ゲノム医科学研究分野・主席研究員  
研究者番号：40399473

棟方 翼 (MUNAKATA, Tsubasa)  
公益財団法人東京都医学総合研究所・ゲノム医科学研究分野・主席研究員  
研究者番号：50420237

### (3) 連携研究者

なし