

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月21日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (特設分野研究)

研究期間：2016～2018

課題番号：16KT0111

研究課題名(和文) システムウイルス感染症学：感染ダイナミズムに基づいた病態機構の解明

研究課題名(英文) Systems Virology for understanding viral pathogenesis

研究代表者

野田 岳志 (Noda, Takeshi)

京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・教授

研究者番号：00422410

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,200,000円

研究成果の概要(和文)：本課題では、生体の恒常性を“複雑システムが持つ安定状態”として捉え、“ウイルス感染という摂動”に伴って創発する病態の発症機構を実験科学と数理科学の融合研究により定量的に解明していくことを目的とした。具体的には、感染経路や増殖形態および発現する病態が異なるウイルス(エボラウイルス、C型肝炎ウイルス、ヒト免疫不全ウイルス)を対象に、ウイルス量やサイトカイン量等を取得し、数理モデルを用いた定量的なデータ解析から、病態発現機構や効果的な抗ウイルス薬の組み合わせを解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の学術的意義は、数理科学的な解析を駆使する事で統合的視点からウイルス感染というシステム全体を眺め、病態の発症や薬剤の効果を体系的に理解できる点にある。これらの研究を通じて、実験科学で得られた成績(例：感染個体におけるウイルス増殖機構や重症度など)に新たな意味や価値を付加することができた。いくつかの実験データを基に開発した数理モデルを用いて、最適な組み合わせの抗ウイルス薬を予測し、実際に耐性ウイルスの出現頻度が少ない薬剤の組み合わせを見出すことにも成功した。

研究成果の概要(英文)：By combining experiments and mathematical modeling, we try to understand Ebola virus pathogenesis, human immunodeficient virus replication mechanism, and antiviral effects against Hepatitis B virus quantitatively. We obtained data set including virus titers, the amount of cytokines and chemokines, viral genome sequences, and so on, and analyzed them by mathematics. We found several important host factors involved in Ebola virus pathogenesis and Human immunodeficiency virus replication in vivo. In addition, we found proper combination of three antiviral drugs against Hepatitis B virus that decreases the emergence of the antiviral-resistant virus.

研究分野：ウイルス学

キーワード：数理解析 エボラウイルス C型肝炎ウイルス ヒト免疫不全ウイルス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ヒトには、常に体の環境を一定の良い状態(健康状態)に維持する機構が備わっている。これは生体の恒常性維持機構と呼ばれ、病気とはこの健康状態から疾病状態へ推移する事である。例えば、インフルエンザウイルスによる急性感染の場合、一過性の炎症応答・組織障害が生じるものの、通常、生体は健康状態に戻る。ウイルスに感染する事で、生体システムが変化し、病気になった場合であっても、免疫システムの修復機構によって再び健康状態へと回復し得る事に対応している。また、エボラウイルスに感染した多くの場合、出血性ショックを起こし、死に至る。生体システムが不可逆的破綻を起こした状態を意味する。一方、生体システムがこれらのウイルス感染に対して新たな安定状態を作りあげ、その状態を維持する事もある。例えば、C型肝炎ウイルス(HCV)による慢性感染の場合、ウイルスが自然に排除される事はまれで、多くは長期的に体内に保持される。この場合、ウイルス増殖というストレスとそれに対する免疫応答との拮抗の結果、生体は異なる安定状態(疾患状態)を維持する。しかし、HCVの疾患状態は、抗ウイルス薬の投与によって人為的に健康状態へと戻す事ができる。他方、宿主の遺伝子に組み込まれるヒト免疫不全ウイルス(HIV)による慢性感染では、もはや抗ウイルス薬を用いてもウイルスを排除できず、健康状態に戻す事は出来ない。

2. 研究の目的

本研究では、1)ウイルス感染下における生体の恒常性維持・変容を生体システムの変化や破綻の観点から定量的に理解する; 2)疾患を統合的に理解し、それを制御する方法を提案する、ことを目的とする。

3. 研究の方法

(1)ウイルス感染に伴う生体システムの変化や破綻を定量的に理解する

生体の恒常性を“複雑システムを持つ安定状態”として捉え“ウイルス感染という摂動”に伴って創発する病態の発症機構を、実験科学と数理科学の融合研究により定量的に解明していく。具体的には、感染経路や増殖形態および発現する病態が異なる4つのウイルス、(i)エボラウイルス、(ii)インフルエンザウイルス、(iii)C型肝炎ウイルス(HCV)、(iv)ヒト免疫不全ウイルス(HIV)を対象に、それぞれの感染動態を個別に理解していく。そして、数理モデルとコンピュータシミュレーションを駆使した定量的なデータ解析から、ウイルス産生に伴い誘導される免疫応答や炎症反応が相互作用する事で、生体システムにどのような影響を与えるのかを探索していく。

(2)複雑系の枠組で生体システムの変化や破綻を体系的に捉える

定量化された情報と数理モデルのシミュレーションを基に、恒常性を維持(または、変容、及び破綻)させる生体システムの振る舞いを上記ウイルスごとに予測する。そして、課題(1)で開発した測定技術を駆使して、予測に基づいた検証実験を行う。数理モデルを用いた統合的視点からシステム全体を眺め、各階層を超え創発される現象(例:臨床症状や治療効果など)の新しい意味や価値を提案する。

4. 研究成果

エボラウイルスに関しては、2000-01年のウガンダにおけるアウトブレイクで得られた45名の患者血中ウイルス量データを用いた数理解析により、致死的な感染における血中ウイルス量は非致死的な感染時と比較して優位に高く、そのウイルス増殖は、マクロファージ等の感受性細胞が大量にウイルス増殖部位にリクルートされることによって維持されることを明らかにしました。また、作用機序の異なる抗エボラウイルス薬の効果を定量的に解析し、いずれの抗ウイルス薬でもウイルス感染初期に約80%のウイルス増殖を抑制できれば発症を防げることを示した。

C型肝炎ウイルスに関しては、臨床分離株 JFH1 と実験室株 Jc1n を用いて、そのウイルス生活史の各段階における活性と長期的増殖の関連をウイルス感染実験における実測値と数理モデルおよびコンピュータシミュレーションを用いて解析した。その結果、両者では細胞内ウイルス複製にはほとんど違いがない一方で、Jc1n 株では短期的ウイルス放出・産生量は JFH1 よりもはるかに多いこと、またそれにも関わらず長期的なウイルス増殖はむしろ JFH1 株の方が強いことが明らかとなった。このことからウイルスの長期的な繁殖には最適なウイルス放出量が存在することが示唆された。

ヒト免疫不全ウイルスに関しては、ウイルス感染による恒常性の破綻を網羅的に解析するために、HIV を感染させたヒト化マウスモデルの検体を用いたシングルセルトランスクリプトーム解析を実施した。その結果、トランスクリプトーム情報を基に、生体内におけるウイルス感染細胞を3つの集団に分類可能であることを明らかにした。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計81件)

1. Bedi S, [Noda T](#), Kawaoka Y, Ono A*. A Defect in Influenza A Virus Particle Assembly Specific to Primary Human Macrophages. *MBio*. 9(5). e01916-18. (2018) doi: 10.1128/mBio.01916-18.
2. Sugita Y, Matsunami H, Kawaoka Y, [Noda T](#), Wolf M*. Cryo-EM structure of the Ebola virus nucleoprotein-RNA complex at 3.6 Å resolution. *Nature*. 563:137-140. doi: 10.1038/s41586-018-0630-0. (2018) doi: 10.1038/s41586-018-0630-0.
3. Nanbo A, [Noda T](#), Ohba Y*. Epstein-Barr Virus Acquires Its Final Envelope on Intracellular Compartments With Golgi Markers. *Front Microbiol*. 9:454. doi: 10.3389/fmicb.2018.00454. (2018) doi: 10.3389/fmicb.2018.00454.
4. Hatakeyama D, Shoji M, Yamayoshi S, Yoh R, Ohmi N, Takenaka S, Saitoh A, Arakaki Y, Masuda A, Komatsu T, Nagano R, Nakano M, [Noda T](#), Kawaoka Y, Kuzuhara T*. Influenza A virus nucleoprotein is acetylated by histone acetyltransferases PCAF and GCN5. *J Biol Chem*. 293:7126-7138. (2018) doi: 10.1074/jbc.RA117.001683.
5. Maemura T, Fukuyama S, Sugita Y, Lopes TJS, Nakao T, [Noda T](#), Kawaoka Y*. Lung-Derived Exosomal miR-483-3p Regulates the Innate Immune Response to Influenza Virus Infection. *J Infect Dis*. 217:1372-1382. (2018) doi: 10.1093/infdis/jiy035.
6. Nakatsu S, Murakami S, Shindo K, Horimoto T, Sagara H, [Noda T](#)*, Kawaoka Y*. Influenza C and D Viruses Package Eight Organized Ribonucleoprotein Complexes. *J Virol*. 92(6), e02084-17. (2018) doi: 10.1128/JVI.02084-17.
7. [Noda T](#)*, Murakami S, Nakatsu S, Imai H, Muramoto Y, Shindo K, Sagara H, Kawaoka Y*. Importance of the 1+7 configuration of ribonucleoprotein complexes for influenza A virus genome packaging. *Nat Commun*. 9(1):54. (2018) doi: 10.1038/s41467-017-02517-w.
8. Iwatsuki-Horimoto K, Nakajima N, Ichiko Y, Sakai-Tagawa Y, [Noda T](#), Hasegawa H, Kawaoka Y*. Syrian Hamster as an Animal Model for the Study of Human Influenza Virus Infection. *J Virol*. 92(4), e01693-17. (2018) doi: 10.1128/JVI.01693-17.
9. Chen M, Aoki-Utsubo C, Kameoka M, Deng L, Terada Y, Kamitani W, Sato K, Koyanagi Y, Hijikata M, Shindo K, [Noda T](#), Kohara M, Hotta H*. Broad-spectrum antiviral agents: secreted phospholipase A₂ targets viral envelope lipid bilayers

- derived from the endoplasmic reticulum membrane. *Sci Rep.* 7(1):15931. (2017) doi: 10.1038/s41598-017-16130-w.
10. Wan W, Kolesnikova L, Clarke M, Koehler A, Noda T, Becker S, Briggs JAG*. Structure and assembly of the Ebola virus nucleocapsid. *Nature.* 551:394-397. (2017) doi: 10.1038/nature24490.
 11. Saito H, Takeuchi H, Masuda T, Noda T, Yamaoka S*. N-terminally truncated POM121C inhibits HIV-1 replication. *PLoS One.* 12(9):e0182434. (2017) doi: 10.1371/journal.pone.0182434.
 12. Takeuchi H, Saito H, Noda T, Miyamoto T, Yoshinaga T, Terahara K, Ishii H, Tsunetsugu-Yokota Y, Yamaoka S*. Phosphorylation of the HIV-1 capsid by MELK triggers uncoating to promote viral cDNA synthesis. *PLoS Pathog.* 13(7):e1006441. (2017) doi: 10.1371/journal.ppat.1006441.
 13. 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.* 29:109-120. (2017) doi: 10.1093/intimm/dxx012.
 14. Martyushev A, Nakaoka S, Sato K, Noda T*, Iwami S*. Modelling Ebola virus dynamics: Implications for therapy. *Antiviral Res.* 135:62-73. (2016) doi: 10.1016/j.antiviral.2016.10.004.
 15. Nakatsu S, Sagara H, Sakai-Tagawa Y, Sugaya N, Noda T*, Kawaoka Y*. Complete and Incomplete Genome Packaging of Influenza A and B Viruses. *MBio.* 7(5). e01248-16. (2016) doi: 10.1128/mBio.01248-16.
 16. M. Iwamoto, W. Saso, R. Sugiyama, K. Ishii, M. Ohki, S. Nagamori, R. Suzuki, H. Aizaki, A. Ryo, J-H Yun, S-Y Park, N. Ohtani, M. Muramatsu, S. Iwami, Y. Tanaka, C. Sureau, T. Wakita and K. Watashi, Epidermal growth factor receptor is a host entry cofactor triggering hepatitis B virus internalization, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, in press. doi: 10.1073/pnas.1811064116
 17. K. Kitagawa, T. Kuniya, S. Nakaoka, Y. Asai, K. Watashi and S. Iwami. Mathematical analysis of a transformed ODE from a PDE multiscale model of hepatitis C virus infection, *Bulletin of Mathematical Biology*, in press. doi: 10.1007/s11538-018-00564-y
 18. SK. Behera, Y. Morioka, T. Ikeda, T. Doi, JV. Ratnam, M. Nonaka, A. Tsuzuki, C. Imai, Y. Kim, M. Hashizume, S. Iwami, P. Kruger, R. Maharaj, N. Sweijid and N. Minakawa. Malaria incidences in South Africa linked to a climate mode in southwestern Indian Ocean, *Environmental Development.* 27:47-57 (2018). doi: 10.1016/j.envdev.2018.07.002
 19. Y. Ito, A. Tauzin, A. Remion, K. Ejima, F. Mammano† and S. Iwami†. Dynamics of HIV-1 coinfection in different susceptible target cell populations during cell-free infection, *Journal of Theoretical Biology.* 455:39-46 (2018). (†Equal contribution) doi: 10.1016/j.jtbi.2018.06.025
 20. S. Iwanami and S. Iwami. Quantitative immunology by data analysis using mathematical models, *Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology.* 2:984-92 (2019). doi: 10.1016/B978-0-12-809633-8.20250-1
 21. K. Kitagawa, S. Nakaoka, Y. Asai, K. Watashi, and S. Iwami. A PDE multiscale model of hepatitis C virus infection can be transformed to a system of ODEs, *Journal of Theoretical Biology.* 448:80-85 (2018). doi: 10.1016/j.jtbi.2018.04.006
 22. Yoshikawa R, Nakano Y, Yamada E, Izumi T, Misawa N, Koyanagi Y, Sato K. Species-specific differences in the ability of feline lentiviral Vif to degrade feline APOBEC3 proteins. *Microbiology and Immunology* 60(4):272-279. (2016) doi: 10.1111/1348-0421.12371.
 23. Ikeda H, Nakaoka S, de Boer RJ, Morita S, Misawa N, Koyanagi Y, Kazuyuki Aihara Sato K, Shingo Iwami. Quantifying the effect of Vpu on the promotion of HIV-1 replication in the humanized mouse model. *Retrovirology* 13:23. (2016) doi: 10.1186/s12977-016-0252-2.
 24. Yoshikawa R, Izumi T, Nakano Y, Yamada E, Moriwaki M, Misawa N, Ren F, Kobayashi T, Koyanagi Y, Sato K. Small ruminant lentiviral Vif proteins commonly utilize cyclophilin A an evolutionary and structurally conserved protein to degrade ovine and caprine APOBEC3 proteins. *Microbiology and Immunology* 60(6):427-436. (2016) doi: 10.1111/1348-0421.12387.
 25. Zhang Z, Gu Q, Vasudevan AAJ, Hain A, Kloke B, Hasheminasab S, Mulnaes D, Sato K, Cichutek K, Häussinger D, Bravo IG, Smits SHJ, Gohlke H, Münk C. Determinants of FIV and HIV Vif Sensitivity of Feline APOBEC3 Restriction Factors. *Retrovirology* 13(1):46. (2016) doi: 10.1186/s12977-016-0274-9.
 26. Desimmie BA, Burdick RC, Izumi T, Doi H, Shao W, Alvord WG, Sato K, Koyanagi Y, Jones S, Wilson E, Hill S, Maldarell F, Hu WS, Pathak VK. APOBEC3 proteins can copackage and comutate HIV-1 genomes. *Nucleic Acids Research* 44(16):7848-7865. (2016) doi: 10.1093/nar/gkw653.
 27. Yamada E, Yoshikawa R, Nakano Y, Misawa N, Kobayashi T, Ren F, Izumi T, Miyazawa T, Koyanagi Y, Sato K. A naturally occurring bovine APOBEC3 confers resistance to bovine lentiviruses: implication for the co-evolution of bovines and their lentiviruses. *Scientific Reports* 6:33988. (2016) doi: 10.1038/srep33988.
 28. Soper A, Juarez-Fernandez G, Aso H, Moriwaki M, Yamada E, Nakano Y, Koyanagi Y, Sato K. Various plus unique: Viral protein U as a plurifunctional protein for HIV-1 replication. *Experimental Biology and Medicine* 242(8):850-858. (2017) doi: 10.1177/1535370217697384.
 29. Yoshikawa R, Takeuchi JS, Yamada E, Nakano Y, Misawa N, Kimura Y, Ren R, Miyazawa T, Koyanagi Y, Sato K. Feline immunodeficiency virus evolutionarily acquires two proteins, Vif and protease, capable of antagonizing feline APOBEC3. *Journal of Virology* 91(11):e00250-17. (2017) doi: 10.1128/JVI.00250-17.
 30. Nakano Y, Misawa N, Juarez-Fernandez G, Moriwaki M, Nakaoka S, Funo T, Yamada E, Soper A, Yoshikawa R, Ebrahimi D, Tachiki Y, Iwami S, Harris RS, Koyanagi Y, Sato K. HIV-1 competition experiments in humanized mice show that APOBEC3H imposes selective pressure and promotes virus adaptation. *PLOS Pathogens* 13(5):e1006348. (2017) doi: 10.1371/journal.ppat.1006606.
 31. Nakano Y, Aso H, Soper A, Yamada E, Moriwaki M, Juarez-Fernandez G, Koyanagi Y, Sato K. A conflict of interest: the evolutionary arms race between mammalian APOBEC3 and lentiviral Vif. *Retrovirology* 14(1):31. (2017) doi: 10.1186/s12977-017-0355-4.
 32. Satou Y, Katsuya H, Fukuda A, Misawa N, Ito J, Uchiyama Y, Miyazato P, Islam MS, Fassati A, Melamed A, Bangham CRM, Koyanagi Y, Sato K. Dynamics and mechanisms of clonal expansion of HIV-1-infected cells in a humanized mouse model. *Scientific Reports* 7:6913. (2017) doi: 10.1038/s41598-017-07307-4.
 33. Chen M, Aoki-Utsubo C, Kameoka M, Deng L, Terada Y, Kamitani W, Sato K, Koyanagi Y, Hijikata M, Shindo K, Noda T, Kohara M, Hotta H. Broad-spectrum antiviral agents: secreted phospholipase A2 targets viral envelope lipid bilayers derived from the endoplasmic reticulum membrane. *Scientific Reports* 7:15931. (2017) doi: 10.1038/s41598-017-16130-w.
 34. Sato K, Misawa N, Takeuchi JS, Kobayashi T, Izumi T, Aso H, Nagaoka S, Yamamoto K, Kimura I, Konno K, Nakano Y, Koyanagi Y. Experimental adaptive evolution of simian immunodeficiency virus SIVcpz to pandemic human

immunodeficiency virus type 1 using a humanized mouse model. *Journal of Virology* 92(4):e01905-17. (2018) doi: 10.1128/JVI.01905-17.

35. Yamada E, Nakaoka S, Klein L, Reith E, Langer S, Hopfensperger K, Iwami S, Schreiber G, Kirchhoff F, Koyanagi Y, Sauter D, Sato K. Human-specific adaptations in Vpu conferring anti-tetherin activity are critical for efficient early HIV-1 replication in vivo. *Cell Host & Microbe* 23(1):110-120. (2018) doi: 10.1016/j.chom.2017.12.009.

36. Soper A, Kimura I, Nagaoka S, Konno Y, Yamamoto K, Koyanagi Y, Sato K. Type I interferon responses by HIV-1 infection: association with disease progression and control. *Frontiers in Immunology* 8:1823. (2018) doi: 10.3389/fimmu.2017.01823.

37. Kurosaki Y, Ueda MT, Nakano Y, Yasuda J, Koyanagi Y, Sato K, Nakagawa S. Different effects of two mutations on the infectivity of Ebola virus glycoprotein in nine mammalian species. *Journal of General Virology* 99:181-186. (2018) doi: 10.1099/jgv.0.000999.

38. Konno Y, Nagaoka S, Kimura I, Yamamoto K, Kagawa Y, Kumata R, Aso A, Ueda MT, Nakagawa S, Kobayashi T, Koyanagi Y, Sato K. New World feline APOBEC3 potently controls inter-genus lentiviral transmission. *Retrovirology* 15(1):31. (2018) doi: 10.1186/s12977-018-0414-5.

39. Fukano K, Tsukuda S, Watashi K, Wakita T*. Concept of Viral Inhibitors via NTCP. *Semin Liver Dis* 39: 78-85 (2019) doi: 10.1055/s-0038-1676804

40. Takeuchi F, Ikeda S, Tsukamoto Y, Iwasawa Y, Qihao C, Otakaki Y, Ryota O, Yao WL, Narita R, Makoto H, Watashi K, Wakita T, Takeuchi K, Chayama K, Kogure A, Kato H, Fujita T*. Screening for inhibitor of episomal DNA identified dicumarol as a hepatitis B virus inhibitor. *PLoS One* 14: e0212233 (2019) doi: 10.1371/journal.pone.0212233

41. Suzuki R*, Matsuda M, Shimoike T, Watashi K, Aizaki H, Kato T, Suzuki T, Muramatsu M, Wakita T. Activation of protein kinase R by hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase. *Virology* 529: 226-233 (2019) doi: 10.1016/j.virol.2019.01.024

42. Fukano K, Tsukuda S, Oshima M, Suzuki R, Aizaki H, Ohki M, Park SY, Muramatsu M, Wakita T, Sureau C, Ogasawara Y, Watashi K*. Troglitazone Impedes the Oligomerization of Sodium Taurocholate Cotransporting Polypeptide and Entry of Hepatitis B Virus Into Hepatocytes. *Front Microbiol* 9: 3257 (2019) doi: 10.3389/fmicb.2018.03257

43. Kitagawa K, Kuniya T, Nakaoka S, Asai Y, Watashi K, Iwami S*. Mathematical Analysis of a Transformed ODE from a PDE Multiscale Model of Hepatitis C Virus Infection. *Bull Math Biol* 81: 1427-1441 (2019) doi: 10.1007/s11538-018-00564-y

44. Deng L*, Gan X, Ito M, Chen M, Aly HH, Matsui C, Abe T, Watashi K, Wakita T, Suzuki T, Okamoto T, Matsuura Y, Mizokami M, Shoji I, Hotta H. Peroxiredoxin 1, a Novel HBx-Interacting Protein, Interacts with Exosome Component 5 and Negatively Regulates Hepatitis B Virus (HBV) Propagation through Degradation of HBV RNA. *J Virol* 93: pii: e02203-18 (2019) doi: 10.1128/JVI.02203-18

45. Ueno M*, Nogawa M, Siddiqui R, Watashi K, Wakita T, Kato N, Ikeda M, Okimura T, Isaka S, Oda T, Ariumi Y. Acidic polysaccharides isolated from marine algae inhibit the early step of viral infection. *Int J Biol Macromol* 124: 282-290 (2019) doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.11.152

46. Takeuchi JS, Fukano K, Iwamoto M, Tsukuda S, Suzuki R, Aizaki H, Muramatsu M, Wakita T, Sureau C, Watashi K*. A Single Adaptive Mutation in Sodium Taurocholate Cotransporting Polypeptide Induced by Hepadnaviruses Determines Virus Species Specificity. *J Virol* 93: pii: e01432-18 (2019) doi: 10.1128/JVI.01432-18

47. Matsuda M, Yamanaka A, Yato K, Yoshii K, Watashi K, Aizaki H, Konishi E, Takasaki T, Kato T, Muramatsu M, Wakita T, Suzuki R*. High-throughput neutralization assay for multiple flaviviruses based on single-round infectious particles using dengue virus type 1 reporter replicon. *Sci Rep* 8: 16624 (2018) doi: 10.1038/s41598-018-34865-y

48. Ohashi H, Nishioka K, Nakajima S, Kim S, Suzuki R, Aizaki H, Fukasawa M, Kamisuki S, Sugawara F, Ohtani N, Muramatsu M, Wakita T, Watashi K*. The aryl hydrocarbon receptor-cytochrome P450 1A1 pathway controls lipid accumulation and enhances the permissiveness for hepatitis C virus assembly. *J Biol Chem* 293: 19559-19571 (2018) doi: 10.1074/jbc.RA118.005033

49. Hu J*, Lin YY, Chen PJ, Watashi K, Wakita T. Cell and Animal Models for Studying Hepatitis B Virus Infection and Drug Development. *Gastroenterology* 156: 338-354 (2018) doi: 10.1053/j.gastro.2018.06.093

50. Shiromoto F, Aly HH*, Kudo H, Watashi K, Murayama A, Watanabe N, Zheng X, Kato T, Chayama K, Muramatsu M, Wakita T. IL-1 β /ATF3-mediated induction of Ski2 expression enhances hepatitis B virus x mRNA degradation. *Biochem Biophys Res Commun* 503: 1854-1860 (2018) doi: 10.1016/j.bbrc.2018.07.126

51. Naito Y, Hamada-Tsutsumi S, Yamamoto Y, Kogure A, Yoshioka Y, Watashi K, Ochiya T, Tanaka Y*. Screening of microRNAs for a repressor of hepatitis B virus replication. *Oncotarget* 9: 29857-29868 (2018) doi: 10.18632/oncotarget.25557

52. Kitamura K, Que L, Shimadu M, Koura M, Ishihara Y, Wakae K, Nakamura T, Watashi K, Wakita T, Muramatsu M*. Flap endonuclease 1 is involved in cccDNA formation in the hepatitis B virus. *PLoS Pathog* 14: e1007124 (2018) doi: 10.1371/journal.ppat.1007124

53. Miyakawa K, Matsunaga S, Yamaoka Y, Dairaku M, Fukano K, Kimura H, Chimuro T, Nishitsuji H, Watashi K, Shimotohno K, Wakita T, Ryo A*. Development of a cell-based assay to identify hepatitis B virus entry inhibitors targeting the sodium taurocholate cotransporting polypeptide. *Oncotarget* 9: 23681-23694 (2018) doi: 10.18632/oncotarget.25348

54. Tsukamoto Y, Ikeda S, Uwai K, Taguchi R, Chayama K, Sakaguchi T, Narita R, Yao WL, Takeuchi F, Otakaki Y, Watashi K, Wakita T, Kato H, Fujita T*. Rosmarinic acid is a novel inhibitor for Hepatitis B virus replication targeting viral epsilon RNA-polymerase interaction. *PLoS One* 13: e0197664 (2018) doi: 10.1371/journal.pone.0197664

55. Passioura T#, Watashi K*, Fukano K, Shimura S, Saso W, Morishita R, Ogasawara Y, Tanaka Y, Mizokami M, Sureau C, Suga H*, Wakita T* (#Equally Contributed). De Novo Macrocyclic Peptide Inhibitors of Hepatitis B Virus Cellular Entry. *Cell Chem Biol* 25: 906-915.e5 (2018) doi: 10.1016/j.chembiol.2018.04.011

56. Saso W, Tsukuda S, Ohashi H, Fukano K, Morishita R, Matsunaga S, Ohki M, Ryo A, Park SY, Suzuki R, Aizaki H, Muramatsu M, Sureau C, Wakita T, Matano T, Watashi K*. A new strategy to identify hepatitis B virus entry inhibitors by AlphaScreen technology targeting the envelope-receptor interaction. *Biochem Biophys Res Commun* 501: 374-379 (2018) doi: 10.1016/j.bbrc.2018.04.187

57. Kitagawa K, Nakaoka S, Asai Y, Watashi K, Iwami S*. A PDE multiscale model of hepatitis C virus infection can be transformed to a system of ODEs. *J Theor Biol* 448: 80-85 (2018) doi: 10.1016/j.jtbi.2018.04.006

58. Nio Y, Akahori Y, Okamura H, Watashi K, Wakita T, Hijikata M*. Inhibitory effect of fasinilifam on hepatitis B virus infections through suppression of the sodium taurocholate cotransporting polypeptide. *Biochem Biophys Res*

59. Kaneko M, Futamura Y, Tsukuda S, Kondoh Y, Sekine T, Hirano H, Fukano K, Ohashi H, Saso W, Morishita R, Matsunaga S, Kawai F, Ryo A, Park SY, Suzuki R, Aizaki H, Ohtani N, Sureau C, Wakita T, Osada H, [Watashi K*](#). Chemical array system, a platform to identify novel hepatitis B virus entry inhibitors targeting sodium taurocholate cotransporting polypeptide. *Sci Rep* 8: 2769 (2018) doi: 10.1038/s41598-018-20987-w
60. Ogura N, Ogawa K, [Watashi K](#), Ito T, Wakita T*. Novel stable HBV producing cell line systems for expression and screening antiviral inhibitor of hepatitis B virus in human hepatoma cell line. *Biochem Biophys Res Commun* 498: 64-71 (2018) doi: 10.1016/j.bbrc.2018.02.175
61. Yasumoto J, Kasai H, Yoshimura K, Otoguro T, [Watashi K](#), Wakita T, Yamashita A, Tanaka T, Takeda S, Moriishi K*. Hepatitis B virus prevents excessive viral production via reduction of cell death-inducing DFF45-like effectors. *J Gen Virol* 98: 1762-1773 (2017) doi: 10.1099/jgv.0.000813
62. Sun S, Nakashima K, Ito M, Li Y, Chida T, Takahashi H, [Watashi K](#), Sawasaki T, Wakita T, Suzuki T*. Involvement of PUF60 in Transcriptional and Post-transcriptional Regulation of Hepatitis B Virus Pregenomic RNA Expression. *Sci Rep* 7: 12874 (2017) doi: 10.1038/s41598-017-12497-y
63. Ohashi H, Koizumi Y, Fukano K, Wakita T, Perelson AS, [Iwami S*](#), [Watashi K*](#). Hepatitis C virus entry inhibitors for optimally boosting direct-acting antiviral-based treatments. *Proc Natl Acad Sci USA* 114: E4527-E4529 (2017) doi: 10.1073/pnas.1705234114
64. Scott T, Moyo B, Nicholson S, Maepa MB, [Watashi K](#), Ely A, Weinberg MS, Arbuthnot P*. ssAAVs containing cassettes encoding SaCas9 and guides targeting hepatitis B virus inactivate replication of the virus in cultured cells. *Sci Rep* 7: 7401 (2017) doi: 10.1038/s41598-017-07642-6
65. 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* 29: 109-120 (2017) doi: 10.1093/intimm/dxx012
66. Iwamoto M, Cai D, Sugiyama M, Suzuki R, Aizaki H, Ryo A, Ohtani N, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T, Guo H, [Watashi K*](#). Functional association of cellular microtubules with viral capsid assembly supports efficient hepatitis B virus replication. *Sci Rep* 7: 10620 (2017) doi: 10.1038/s41598-017-11015-4
67. Watanabe R, Mizoguchi H, Oikawa H, Ohashi H, [Watashi K](#), Oguri H*. Stereo-controlled synthesis of functionalized tetrahydropyridines based on the cyanomethylation of 1,6-dihydropyridines and generation of anti-hepatitis C virus agents. *Bioorg Med Chem* 25: 2851-2855 (2017) doi: 10.1016/j.bmc.2017.03.011
68. Sakurai F, Mitani S, Yamamoto T, Takayama K, Tachibana M, [Watashi K](#), Wakita T, Iijima S, Tanaka Y, Mizuguchi H*. Human induced pluripotent stem cell-derived hepatocyte-like cells as an in vitro model of human hepatitis B virus infection. *Sci Rep* 7: 45698 (2017) doi: 10.1038/srep45698
69. Loo TM, Kamachi F, Watanabe Y, Yoshimoto S, Kanda H, Arai Y, Nakajima-Takagi Y, Iwama A, Koga T, Sugimoto Y, Ozawa T, Nakamura M, Kumagai M, [Watashi K](#), Taketo MM, Aoki T, Narumiya S, Oshima M, Arita M, Hara E, Ohtani N*. Gut Microbiota Promotes Obesity-Associated Liver Cancer through PGE2-Mediated Suppression of Antitumor Immunity. *Cancer Discov* 7: 522-538 (2017) doi: 10.1158/2159-8290.CD-16-0932
70. Shimura S, [Watashi K*](#), Fukano K, Peel M, Sluder A, Kawai F, Iwamoto M, Tsukuda S, Takeuchi JS, Miyake T, Sugiyama M, Ogasawara Y, Park SY, Tanaka Y, Kusuhara H, Mizokami M, Sureau C, Wakita T. Cyclosporin derivatives inhibit hepatitis B virus entry without interfering with NTCP transporter activity. *J Hepatol* 66: 685-692 (2017) doi: 10.1016/j.jhep.2016.11.009
71. Kinoshita W, Ogura N, [Watashi K](#), Wakita T*. Host factor PRPF31 is involved in cccDNA production in HBV-replicating cells. *Biochem Biophys Res Commun* 482: 638-644 (2017) doi: 10.1016/j.bbrc.2016.11.085
72. Koizumi Y, Ohashi H, Nakajima S, Tanaka Y, Wakita T, Perelson AS, [Iwami S*](#), [Watashi K*](#). Quantifying antiviral activity optimizes drug combinations against hepatitis C virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 114: 1922-1927 (2017) doi: 10.1073/pnas.1610197114
73. Tsunematsu S, Suda G, Yamasaki K, Kimura M, Izumi T, Umemura M, Ito J, Sato F, Nakai M, Sho T, Morikawa K, Ogawa K, Tanaka Y, [Watashi K](#), Wakita T, Sakamoto N*. Hepatitis B virus X protein impairs α -interferon signaling via up-regulation of suppressor of cytokine signaling 3 and protein phosphatase 2A. *J Med Virol* 89: 267-275 (2017) doi: 10.1002/jmv.24643
74. Tsukuda S, [Watashi K*](#), Hojima T, Isogawa M, Iwamoto M, Omagari K, Suzuki R, Aizaki H, Kojima S, Sugiyama M, Saito A, Tanaka Y, Mizokami M, Sureau C, Wakita T. A new class of hepatitis B and D virus entry inhibitors, proanthocyanidin and its analogs, that directly act on the viral large surface proteins. *Hepatology* 65: 1104-1116 (2017) doi: 10.1002/hep.28952
75. Leong CR, Funami K, Oshiumi H, Mengao D, Takaki H, Matsumoto M, Aly HH, [Watashi K](#), Chayama K, Seya T*. 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* 7: 68179-68193 (2016) doi: 10.18632/oncotarget.11907
76. Nakajima S, [Watashi K*](#), Ohashi H, Kamisuki S, Izaguirre-Carbonell J, Kwon AT, Suzuki H, Kataoka M, Tsukuda S, Okada M, Moi ML, Takeuchi T, Arita M, Suzuki R, Aizaki H, Kato T, Suzuki T, Hasegawa H, Takasaki T, Sugawara F, Wakita T. Fungus-Derived Neoechinulin B as a Novel Antagonist of Liver X Receptor, Identified by Chemical Genetics Using a Hepatitis C Virus Cell Culture System. *J Virol* 90: 9058-74 (2016) doi: 10.1128/JVI.00856-16
77. Kaneko S, Kakinuma S*, Asahina Y, Kamiya A, Miyoshi M, Tsunoda T, Nitta S, Asano Y, Nagata H, Otani S, Kawai-Kitahata F, Murakawa M, Itsui Y, Nakagawa M, Azuma S, Nakauchi H, Nishitsuji H, Ujino S, Shimotohno K, Iwamoto M, [Watashi K](#), Wakita T, Watanabe M. Human induced pluripotent stem cell-derived hepatic cell lines as a new model for host interaction with hepatitis B virus. *Sci Rep* 6: 29358 (2016) doi: 10.1038/srep29358
78. [Watashi K*](#). HBV Slow Maturation Process Leads to Infection. *Trends Microbiol* 24: 597-599 (2016) doi: 10.1016/j.tim.2016.06.007
79. Saga R, Fujimoto A, Watanabe N, Matsuda M, Hasegawa M, [Watashi K](#), Aizaki H, Nakamura N, Tajima S, Takasaki T, Konishi E, Kato T, Kohara M, Takeyama H, Wakita T, Suzuki R*. Bivalent vaccine platform based on Japanese encephalitis virus (JEV) elicits neutralizing antibodies against JEV and hepatitis C virus. *Sci Rep* 6: 28688 (2016) doi: 10.1038/srep28688
80. Aly HH*, Suzuki J, [Watashi K](#), Chayama K, Hoshino S, Hijikata M, Kato T, Wakita T. RNA Exosome Complex Regulates Stability of the Hepatitis B Virus X-mRNA Transcript in a Non-stop-mediated (NSD) RNA Quality Control Mechanism. *J Biol Chem* 291: 15958-15974 (2016) doi: 10.1074/jbc.M116.724641
81. Okamura H, Nio Y, Akahori Y, Kim S, [Watashi K](#), Wakita T, Hijikata M*. Fatty acid biosynthesis is involved in the

〔学会発表〕(計 200 件以上)

〔図書〕(計 8 件)

1. Quantifying antiviral activity optimizes drug combinations against hepatitis C virus infection, Shingo Iwami, ECMTB2018, Lisbon, Jul 25, 2018 (国外)
2. PKPDVD modeling for multi-drug treatment on HCV infection, Shingo Iwami, KSIAM2018, KAIST, Jun 25, 2018 (国外)
3. Characterizing SHIV infection in vitro and in vivo, Shingo Iwami, SMB&JSMB2018, University of Sydney, July 10, 2018 (国外)
4. 渡士幸一: 目覚ましい C 型肝炎治療の進歩、感染・炎症・免疫、47(4): 71-72、2017
5. 大橋啓史、渡士幸一: 抗ウイルス薬の個性を知る ～ウイルス学と数学の融合研究による C 型肝炎治療薬併用の薬効評価と最適化～、ウイルス、67(2): 133-142、2017
6. 九十田千子、渡士幸一: 抗 B 型肝炎ウイルス薬の現状と新規薬剤開発のアプローチ、化学療法の領域、33(1): 73-78、2017
7. Tsukuda S, Iwamoto M, Watashi K. NTCP. Encyclopedia of Signaling Molecules, 2nd Edition (Springer Nature) Editor: Sangdun Choi, 3591-3599、2017
8. 渡士幸一、相崎英樹. B 型肝炎ウイルス研究のトピックス、小児科、57 巻、09 号、1107-1111、2016

〔産業財産権〕

出願状況 (計 2 件)

名称: HBV 感染阻害剤
発明者: 渡士幸一、脇田隆字、村松正道
権利者: 公益財団法人ヒューマンサイエンス振興財団
種類: 特許
番号: 特願 2019-033601
出願年: 2019 年
国内外の別: 国内

名称: NTCP を標的とした抗 B 型肝炎ウイルス剤
発明者: 菅裕明、トビー バシオウラ、脇田隆字、渡士幸一
権利者: 国立大学法人東京大学、国立感染症研究所
種類: 特許
番号: 特願 2018-002814
出願年: 2018 年
国内外の別: 国内

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 渡士幸一
ローマ字氏名: Koichi Watashi
所属研究機関名: 国立感染症研究所
部局名: ウイルス第二部
職名: 主任研究官
研究者番号 (8 桁): 40378948

研究分担者氏名: 岩見真吾
ローマ字氏名: Shingo Iwami
所属研究機関名: 九州大学
部局名: 理学研究院
職名: 准教授
研究者番号 (8 桁): 90518119

研究分担者氏名: 佐藤佳
ローマ字氏名: Kei Sato
所属研究機関名: 東京大学
部局名: 医科学研究所
職名: 准教授
研究者番号 (8 桁): 10593684

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。