

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 4月19日現在

機関番号：15401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2011

課題番号：22659147

研究課題名（和文） ヒトの肝臓を主座とする遺伝性疾患を有するマウスモデルの創生

研究課題名（英文） Generation of a mouse model that shows specific features of human diseases.

研究代表者

茶山 一彰 (CHAYAMA KAZUAKI)

広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：00211376

研究成果の概要（和文）：

ヒトの遺伝性疾患は、ノックアウトマウスなどを使用して研究されていることが多い。しかし、マウスとヒトの病態は必ずしも同一ではなく、また、マウスで胎生致死であるためにモデルができない場合も多い。ヒト肝臓を有するマウスにB型肝炎ウイルスを感染させ、さらにヒトリンパ球を投与することにより劇症肝炎に類似した肝細胞の広範な壊死をもたらすモデルを作製することができた。B型劇症肝炎も治療がきわめて困難な疾患であり、貴重なモデルを作製することができた。

研究成果の概要（英文）：Small animal model such as knockout mouse is a valuable tool to study human diseases. We infected human hepatocyte chimeric mice with hepatitis B virus and administered human peripheral white blood cells. The mice developed fulminant hepatitis like massive human liver cell necrosis. The mouse hepatocyte death has been found to be mediated with FAS-FASL system via NK cell response mediated by dendritic cells. This model will be useful to develop treatment against fulminant hepatitis B.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,200,000	0	2,200,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	240,000	3,240,000

研究分野：肝臓病学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：肝臓学

1. 研究開始当初の背景

ヒトの遺伝性疾患は、ノックアウトマウスなどを使用して研究されていることが多い。しかし、マウスとヒトの病態は必ずしも同一ではなく、また、マウスで耐性致死であるために良好なモデルが作製できない場合も多い。また、ノックアウトマウスは作製に多大な時間と人手を要するため、わずかの違いを有するマウスを作製するのにも再度全く同じ手

間を要する。

2. 研究の目的

本研究は遺伝病状態のヒト肝臓を有するマウスを作製することを目的として研究を行った。

3. 研究の方法

培養ヒト肝細胞に遺伝子導入することにより、ヒトの疾患と同様の状態の肝細胞を作製し、この細胞を uPA-scid mouse に移植する

ことにより、病的状態を有するマウスを作成することを試みた。

4. 研究成果

マウスに、遺伝病の遺伝子を導入することは技術的に困難であったが、ヒト肝細胞キメラマウスにB型肝炎ウイルスを感染させ、さらにヒトリンパ球を投与することにより、ヒト肝細胞キメラマウスに劇症肝炎に類似した肝細胞の広範な壊死をもたらすモデルを作製することができた。この肝炎モデルではこれまでに想定されていた cytotoxic T lymphocyte ではなく、FAS 抗原を提示している肝細胞に対する Natural killer cell と樹状細胞が重要な役割を果たしていることが明らかになった。さらに、アルファインターフェロン、ガンマイインターフェロンはこのモデルでは重要な役割を果たしておらず、他のサイトカインが肝炎の発症に必要なことが想定された。B 型劇症肝炎は遺伝病ではないが、劇症肝炎も治療がきわめて困難な疾患であり、貴重なモデルを作製することができた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 30 件)

1. Okazaki A, Hiraga N, Imamura M, Nelson Hayes C, 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 by Fas/FasL interaction and dendritic cells in human hepatocyte chimeric mouse. *Hepatology* 2012. 査読有, in press doi: 10.1002/hep.25651.
2. Ochi H, Hayes CN, Abe H, Hayashida Y, Uchiyama T, Kamatani N, Nakamura Y, Chayama K. Toward the establishment of a prediction system for the personalized treatment of chronic hepatitis C. *J Infect Dis* 2012;205:204-210. 査読有 doi: 10.1093/infdis/jir726.
3. Kumada H, Toyota J, Okanoue T, Chayama K, Tsubouchi H, Hayashi N. Telaprevir with peginterferon and ribavirin for treatment-naïve patients chronically infected with HCV of genotype 1 in Japan. *J Hepatol* 2012;56:78-84. 査読有 doi: 10.1016/j.jhep.2011.07.016.
4. Chayama K, Takahashi S, Toyota J, Karino Y, Ikeda K, Ishikawa H, Watanabe H, McPhee F, Hughes E, Kumada H. Dual therapy with the nonstructural protein 5A inhibitor, daclatasvir, and the nonstructural protein 3 protease inhibitor, asunaprevir, in hepatitis C virus genotype 1b-infected null responders. *Hepatology* 2012;55:742-748. 査読有 doi: 10.1002/hep.24724.
5. Wakita T, Suzuki T, Evans MJ, Shimotohno K, Chayama K, Matsuura Y, Hijikata M, Moriishi K, Seya T, Enomoto N, Koike K, Kato N, Kanto T, Hotta H. Will there be an HCV meeting in 2020? Summary of the 17th international meeting on hepatitis C virus and related viruses. *Gastroenterology* 2011;141:e1-5. 査読有 doi: 10.1053/j.gastro.2011.05.027.
6. Tsuge M, Takahashi S, Hiraga N, Fujimoto Y, Zhang Y, Mitsui F, Abe H, Kawaoka T, Imamura M, Ochi H, Hayes CN, Chayama K. Effects of hepatitis B virus infection on the interferon response in immunodeficient human hepatocyte chimeric mice. *J Infect Dis* 2011;204:224-228. 査読有 doi: 10.1093/infdis/jir247.
7. Tsuge M, Fujimoto Y, Hiraga N, Zhang Y, Ohnishi M, Kohno T, Abe H, Miki D, Imamura M, Takahashi S, Ochi H, Hayes CN, Miya F, Tsunoda T, Chayama K. Hepatitis C virus infection suppresses the interferon response in the liver of the human hepatocyte chimeric mouse. *PLoS One* 2011;6:e23856. 査読有 doi: 10.1371/journal.pone.0023856.
8. Suzuki F, Suzuki Y, Akuta N, Sezaki H, Hirakawa M, Kawamura Y, Hosaka T, Kobayashi M, Saito S, Arase Y, Ikeda K, Kobayashi M, Chayama K, Kamatani N, Nakamura Y, Miyakawa Y, Kumada H. Influence of ITPA polymorphisms on decreases of hemoglobin during treatment with pegylated interferon, ribavirin, and telaprevir. *Hepatology* 2011;53:415-421. 査読有 doi: 10.1002/hep.24058.
9. Saeed M, Shiina M, Date T, Akazawa D, Watanabe N, Murayama A, Suzuki T, Watanabe H, Hiraga N, Imamura M, Chayama K, Choi Y, Krawczynski K, Liang TJ, Wakita T, Kato T. In vivo adaptation of hepatitis C virus in chimpanzees for efficient virus production and evasion of apoptosis. *Hepatology* 2011;54:425-433. 査読有 doi: 10.1002/hep.24399.

10. Ohishi W, Fujiwara S, Cologne JB, Suzuki G, Akahoshi M, Nishi N, Tsuge M, Chayama K. Impact of radiation and hepatitis virus infection on risk of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2011;53:1237-1245. 査読有 doi: 10.1002/hep.24207.
11. Ohara E, Hiraga N, Imamura M, Iwao E, Kamiya N, Yamada I, Kono T, Onishi M, Hirata D, Mitsui F, Kawaoka T, Tsuge M, Takahashi S, Abe H, Hayes CN, Ochi H, Tateno C, Yoshizato K, Tanaka S, Chayama K. Elimination of hepatitis C virus by short term NS3-4A and NS5B inhibitor combination therapy in human hepatocyte chimeric mice. *J Hepatol* 2011;54:872-878. 査読有 doi: 10.1016/j.jhep.2010.08.033.
12. Ochi H, Maekawa T, Abe H, Hayashida Y, Nakano R, Imamura M, Hiraga N, Kawakami Y, Aimitsu S, Kao JH, Kubo M, Tsunoda T, Kumada H, Nakamura Y, Hayes CN, Chayama K. IL-28B predicts response to chronic hepatitis C therapy--fine-mapping and replication study in Asian populations. *J Gen Virol* 2011;92:1071-1081. 査読有 doi: 10.1099/vir.0.029124-0.
13. Miki D, Ochi H, Hayes CN, Abe H, Yoshima T, Aikata H, Ikeda K, Kumada H, Toyota J, Morizono T, Tsunoda T, Kubo M, Nakamura Y, Kamatani N, Chayama K. Variation in the DEPDC5 locus is associated with progression to hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C virus carriers. *Nat Genet* 2011;43:797-800. 査読有 doi: 10.1038/ng.876.
14. Mbarek H, Ochi H, Urabe Y, Kumar V, Kubo M, Hosono N, Takahashi A, Kamatani Y, Miki D, Abe H, Tsunoda T, Kamatani N, Chayama K, Nakamura Y, Matsuda K. A genome-wide association study of chronic hepatitis B identified novel risk locus in a Japanese population. *Hum Mol Genet* 2011;20:3884-3892. 査読有 doi: 10.1093/hmg/ddr301.
15. Kawaoka T, Hayes CN, Ohishi W, Ochi H, Maekawa T, Abe H, Tsuge M, Mitsui F, Hiraga N, Imamura M, Takahashi S, Kubo M, Tsunoda T, Nakamura Y, Kumada H, Chayama K. Predictive value of the IL28B polymorphism on the effect of interferon therapy in chronic hepatitis C patients with genotypes 2a and 2b. *J Hepatol* 2011;54:408-414. 査読有 doi: 10.1016/j.jhep.2010.07.032.
16. Hiraga N, Imamura M, Abe H, Hayes CN, Kono T, Onishi M, Tsuge M, Takahashi S, Ochi H, Iwao E, Kamiya N, Yamada I, Tateno C, Yoshizato K, Matsui H, Kanai A, Inaba T, Tanaka S, Chayama K. Rapid emergence of telaprevir resistant hepatitis C virus strain from wildtype clone in vivo. *Hepatology* 2011;54:781-788. 査読有 doi: 10.1002/hep.24460.
17. Hiraga N, Abe H, Imamura M, Tsuge M, Takahashi S, Hayes CN, Ochi H, Tateno C, Yoshizato K, Nakamura Y, Kamatani N, Chayama K. Impact of viral amino acid substitutions and host interleukin-28b polymorphism on replication and susceptibility to interferon of hepatitis C virus. *Hepatology* 2011;54:764-771. 査読有 doi: 10.1002/hep.24453.
18. Hayes CN, Kobayashi M, Akuta N, Suzuki F, Kumada H, Abe H, Miki D, Imamura M, Ochi H, Kamatani N, Nakamura Y, Chayama K. HCV substitutions and IL28B polymorphisms on outcome of peg-interferon plus ribavirin combination therapy. *Gut* 2011;60:261-267. 査読有 doi: 10.1136/gut.2010.223495.
19. Fujimoto Y, Ochi H, Maekawa T, Abe H, Hayes CN, Kumada H, Nakamura Y, Chayama K. A single nucleotide polymorphism in activated Cdc42 associated tyrosine kinase 1 influences the interferon therapy in hepatitis C patients. *J Hepatol* 2011;54:629-639. 査読有 doi: 10.1016/j.jhep.2010.07.021.
20. Chayama K, Hayes CN, Abe H, Miki D, Ochi H, Karino Y, Toyota J, Nakamura Y, Kamatani N, Sezaki H, Kobayashi M, Akuta N, Suzuki F, Kumada H. IL28B but not ITPA polymorphism is predictive of response to pegylated interferon, ribavirin, and telaprevir triple therapy in patients with genotype 1 hepatitis C. *J Infect Dis* 2011;204:84-93. 査読有 doi: 10.1093/infdis/jir210.
21. Abe H, Imamura M, Hiraga N, Tsuge M, Mitsui F, Kawaoka T, Takahashi S, Ochi H, Maekawa T, Hayes CN, Tateno C, Yoshizato K, Murakami S, Yamashita N, Matsuhira T, Asai K, Chayama K. ME3738

- enhances the effect of interferon and inhibits hepatitis C virus replication both in vitro and in vivo. *J Hepatol* 2011;55:11-18. 査読有 doi: 10.1016/j.jhep.2010.10.017.
22. Abe H, Hayes CN, Ochi H, Maekawa T, Tsuge M, Miki D, Mitsui F, Hiraga N, Imamura M, Takahashi S, Kubo M, Nakamura Y, Chayama K. IL28 variation affects expression of interferon stimulated genes and peg-interferon and ribavirin therapy. *J Hepatol* 2011;54:1094-1101. 査読有 doi: 10.1016/j.jhep.2010.09.019.
 23. Yokosuka O, Takaguchi K, Fujioka S, Shindo M, Chayama K, Kobashi H, Hayashi N, Sato C, Kiyosawa K, Tanikawa K, Ishikawa H, Masaki N, Seriu T, Omata M. Long-term use of entecavir in nucleoside-naive Japanese patients with chronic hepatitis B infection. *J Hepatol* 2010;52:791-799. 査読有 doi: 10.1016/j.jhep.2009.12.036.
 24. Tsuge M, Hiraga N, Akiyama R, Tanaka S, Matsushita M, Mitsui F, Abe H, Kitamura S, Hatakeyama T, Kimura T, Miki D, Mori N, Imamura M, Takahashi S, Hayes CN, Chayama K. HBx protein is indispensable for development of viraemia in human hepatocyte chimeric mice. *J Gen Virol* 2010;91:1854-1864. 査読有 doi: 10.1099/vir.0.019224-0.
 25. Suda G, Sakamoto N, Itsui Y, Nakagawa M, Tasaka-Fujita M, Funaoka Y, Watanabe T, Nitta S, Kiyohashi K, Azuma S, Kakinuma S, Tsuchiya K, Imamura M, Hiraga N, Chayama K, Watanabe M. IL-6-mediated intersubgenotypic variation of interferon sensitivity in hepatitis C virus genotype 2a/2b chimeric clones. *Virology* 2010;407:80-90. 査読有 doi: 10.1016/j.virol.2010.07.041.
 26. Ochi H, Maekawa T, Abe H, Hayashida Y, Nakano R, Kubo M, Tsunoda T, Hayes CN, Kumada H, Nakamura Y, Chayama K. ITPA polymorphism affects ribavirin-induced anemia and outcomes of therapy--a genome-wide study of Japanese HCV virus patients. *Gastroenterology* 2010;139:1190-1197. 査読有 doi: 10.1053/j.gastro.2010.06.071.
 27. Mishima K, Sakamoto N, Sekine-Osajima Y, Nakagawa M, Itsui Y, Azuma S, Kakinuma S, Kiyohashi K, Kitazume A, Tsuchiya K, Imamura M, Hiraga N, Chayama K, Wakita T, Watanabe M. Cell culture and in vivo analyses of cytopathic hepatitis C virus mutants. *Virology* 2010;405:361-369. 査読有 doi: 10.1016/j.virol.2010.06.020.
 28. Kamiya N, Iwao E, Hiraga N, Tsuge M, Imamura M, Takahashi S, Miyoshi S, Tateno C, Yoshizato K, Chayama K. Practical evaluation of a mouse with chimeric human liver model for hepatitis C virus infection using an NS3-4A protease inhibitor. *J Gen Virol* 2010;91:1668-1677. 査読有 doi: 10.1099/vir.0.019315-0.
 29. Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Chayama K, Nakamura Y, Kumada H. Amino acid substitution in hepatitis C virus core region and genetic variation near the interleukin 28B gene predict viral response to telaprevir with peginterferon and ribavirin. *Hepatology* 2010;52:421-429. 査読有 doi: 10.1002/hep.23690.
 30. Abe H, Ochi H, Maekawa T, Hayes CN, Tsuge M, Miki D, Mitsui F, Hiraga N, Imamura M, Takahashi S, Ohishi W, Arihiro K, Kubo M, Nakamura Y, Chayama K. Common variation of IL28 affects gamma-GTP levels and inflammation of the liver in chronically infected hepatitis C virus patients. *J Hepatol* 2010;53:439-443. 査読有 doi: 10.1016/j.jhep.2010.03.022.
- [学会発表] (計 4 件)
1. Chayama Kazuaki, Dual Oral Combination Therapy with the NS5A Inhibitor BMS-790052 and the NS3 Protease Inhibitor BMS-650032 Achieved 90% Sustained Virologic Response (SVR12) in HCV Genotype 1b-Infected Null Responders, The 62nd Annual Meeting of American Association for the Study of Liver Diseases(AASLD), 7 Nov.2011, San Francisco U. S. A.
- [その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

茶山 一彰 (CHAYAMA KAZUAKI)

広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：00211376

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：