

課題番号 : 27指1302  
研究課題名 : B型慢性肝炎完治に向けた核酸アナログ製剤の新規効能効果の発見とその基礎的・臨床的検討  
主任研究者名 : 青木孝彦  
分担研究者名 : 村田一素  
キーワード : B型慢性肝炎、IFN-λ3、免疫賦活

研究成果 :

**(1) B型肝炎治療薬の核酸アナログ製剤のうち、アデフォビル (ADV)、テノフォビル (TDF)には、腸管細胞において IFN-λ3 を誘導することを世界で初めて証明した。**

我々は C 型慢性肝炎治療におけるペグインターフェロン+リバビリン療法において、Genome-wide association study (GWAS)によって、interleukin (IL)-28B が治療効果予測として重要であることを報告した (Nat Genet 2009)。そこで、B型肝炎患者血清を用いて、その蛋白である IFN-λ3 を測定したところ、nucleotide analogue 製剤である ADV および TDF 服用中の患者のみで血清 IFN-λ3 値が高値を示すことを発見した。経時血清を用いても同薬剤の服用後に血清 IFN-λ3 値上昇は上昇したため、薬剤そのものが IFN-λ3 を誘導しているものと考えた。次に各種細胞株を用いて ADV, TDF の IFN-λ3 誘導能を検討すると、唯一大腸癌細胞株において、血清で得られたように ADV, TDF で IFN-λ3 が誘導され、容量依存性を示した。一方、同効果は nucleoside analogue 製剤であるラミブジン (LAM)やエンテカビル (ETV)では認めなかった。また、mRNA レベル、免疫化学組織染色でも同様所見が得られたことから、ADV・TDF は腸管細胞にて IFN-λ3 を誘導すると結論付けた。

**(2) ADV・TDF で誘導された IFN-λ3 は直接あるいは ISG を介して間接的に HBs 抗原低下作用を示す**

ADV・TDF は核酸アナログ製剤であり、B 型肝炎ウイルス (HBV)の逆転写酵素を阻害し、抗 HBV 効果を示すが、HBs 抗原産生には理論的に関与しない。しかし、最近の臨床研究で TDF 内服中の B 型肝炎患者で HBs 抗原が低下することが報告されている。そこで、recombinant IFN-λ3 を HBs 抗原産生肝癌細胞に投与したところ、その容量依存性に HBs 抗原低下が確認された。大腸癌細胞を ADV で処理した際の上清を肝癌細胞に投与したところ、肝癌細胞内の interferon stimulated genes (ISG)が誘導され、さらに同上清を HBs 抗原産生肝癌細胞に投与すると HBs 抗原が低下した。これらのことから、経口投与された ADV・TDF が腸管細胞で IFN-λ3 を誘導し、誘導された IFN-λ3 は門脈を介して肝に至るため、TDF 投与患者で HBs 抗原が低下したのと考えられた。以上をまとめて Gut に報告した。本発見は新たな HBV 治療戦略として重要である。

**(3) ADV・TDF による IFN-λ3 誘導機序の解明**

上記のように ADV・TDF が IFN-λ3 誘導という新たな追加効果があったとしても、それらの単独療法では HBV の排除は難しいことは今までの臨床研究で証明されている。そこで、さらに強力な IFN-λ3 誘導剤を開発できれば治療に貢献できるかもしれないと考えた。そこで、まず、ADV・TDF の IFN-λ3 誘導機序について検討した。我々は ADV・TDF の構造より XX 蛋白 (論文投稿前であるため仮称) に注目した。5 種類の大腸癌細胞株を用いて検討すると、その ADV による IFN-λ3 誘導能と XX 蛋白の発現量はきれいに相関した。さらに、XX 蛋白発現大腸癌細胞から XX を knock-out した細胞を樹立し、その細胞を用いて核酸アナログ製剤を投与すると見事に IFN-λ3 誘導能は消失した。IFN-αによって、それらの細胞で IFN-λ3 は誘導されるが、その誘導能は XX knock-out にて変化なかった。一方、XX 非発現細胞に XX を knock-in した細胞も樹立した。それらの細胞では XX の knock-in そのもので非常に強力に IFN-λ3 が誘導され、ADV・TDF による IFN-λ3 誘導

能は確認できなかった。以上より、ADV・TDFはXX蛋白を介してIFN- $\lambda$ 3を誘導することが証明された。本内容についての論文は現在、投稿中である。

**(4) ADV・TDFとIFN- $\alpha$ の併用はIFN- $\lambda$ 3に関して相加効果を示す**

核酸アナログ製剤の効果を増強させる治療法としてIFN- $\alpha$ を併用することが臨床的に提唱されている。そこで、大腸癌細胞株をADV・TDFとともにIFN- $\alpha$ を併用して刺激し、その上清中のIFN- $\lambda$ 3を測定した。IFN- $\alpha$ の単独投与は容量依存性にIFN- $\lambda$ 3を誘導し、ADV・TDFの追加投与はIFN- $\lambda$ 3誘導を相加的に増加させた。この効果はLAM, ETVでも同様に認められた。

**(5) B型肝炎治療におけるSequential療法（核酸アナログ製剤を中止し、PEG-IFN- $\alpha$ を投与する治療法）において核酸アナログ製剤中止時のHBs抗原、HBVコア抗原およびIFN- $\lambda$ 3値が治療効果に関連する**

核酸アナログ製剤投与中のB型肝炎患者95名に対して、前向きに血液採取し、PEG-IFN- $\alpha$ に変更した際の治療効果につき検討した（信州大学倫理委員会承認、当施設ではIFN- $\lambda$ 3測定を担当）。95名中、26名が効果良好であり、多変量解析より、PEG-IFN- $\alpha$ 投与前のHBs抗原およびHBVコア関連抗原が低値、IFN- $\lambda$ 3が高値であることが効果良好因子として抽出された。今まで、Sequential療法において、効果良好群の選別が困難であり、かつPEG-IFN- $\alpha$ は副作用が多く問題であったが、上記3項目を満たした症例に限れば、効果良好が期待されるため、効率的な治療および副作用の軽減という意味において重要な知見と考えられる。結果はJ Gastroenterolに報告した。

**(6) B型慢性肝炎患者に対するADV、TDF投与はHBs抗原低下作用があり、その効果は血清IFN- $\lambda$ 3値と相関する**

核酸アナログ製剤投与中のB型肝炎患者176名（ETV投与121名、ADVまたはTDF投与55名）の経過観察を行ったところ、ADVまたはTDF投与群で有意にHBs抗原値が低下した。同じHBV遺伝子型C（遺伝子型により治療効果が異なるため）で、3年以上の経過観察できた症例に限るとADV・TDFによるIFN- $\lambda$ 3誘導量とHBs抗原低下量は負の相関を示した。先述したrecombinant IFN- $\lambda$ 3の容量依存性にHBs抗原産生肝癌細胞株からのHBs抗原産生が低下するという*in vitro*実験を臨床で証明できたことになる（投稿中）。なお、本研究は北海道大学倫理委員会にて承認された臨床研究で、当施設ではIFN- $\lambda$ 3測定を担当した。

**(7) B型肝炎治療薬の核酸アナログ製剤のうちADV、TDFは、免疫賦活効果がある**

ADV・TDFが経口投与された場合、それらは腸管にて吸収され、門脈に至る。また、門脈内にはlipopolysaccharide (LPS)が存在するため、ADV・TDFはLPS誘導サイトカインに何らかの影響がある可能性を仮定した。健常者より得られた末梢血リンパ球(PBMC)と核酸アナログ製剤を培養し、LPSを投与した際のサイトカイン産生能の変化について、BioPlex cytokine assayを用いて、誘導サイトカインを網羅的に検討したところ、ADV・TDFはIL-10産生を抑制し、IL-12p70, tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ 産生を誘導した。その他のサイトカインに有意な変動を認めなかった。それらの反応はADV・TDF容量依存性であり、サイトカイン産生量は個人差があるものの、そのパターンは実験を行ったすべての健常者と同様であった。また、B型肝炎、肝硬変患者からの得られたPBMCで実験を行っても、IL-10抑制、IL-12p70・TNF- $\alpha$ 誘導のパターンは同様であった。唯一、肝硬変患者から得られたPBMCを用いた場合は、そのサイトカイン産生能は、他のステージの肝炎患者のものに比し低値であった。IL-10は過剰な免疫反応を押さえ、B型肝炎患者において更新していることから、慢性化の一つの原因と考えられている。一方、IL-12p70は、CD8<sup>+</sup>T細胞を活性化し

ウイルス感染細胞の破壊 (cytopathic killing) に、Natural killer 細胞を活性化し、サイトカインなどを誘導し、non-cytopathic killing に貢献する。以上より、ADV・TDF 投与により、これらのサイトカイン変動による免疫賦活が起こるので HBV 排除を期待できる。

#### (8) ADV・TDF と IFN- $\alpha$ の併用は IFN- $\lambda$ 3 に関して相乗効果を示す

健常者より採取した PBMC と核酸アナログ製剤 (LAM, ADV, ETV, TDF) と同時に IFN- $\alpha$  を投与し、その後 LPS を投与すると ADV・TDF を使用した場合に限り、その IL-12p70 誘導量は 4-5 倍になった。LAM, ETV では、その効果は全く認められなかった。一方、IL-10 産生能における IFN- $\alpha$  の追加効果はなかった。最近、TDF と PEG-IFN- $\alpha$  の併用療法にて、B 型慢性肝炎の治療が良好であったと報告されたが、我々の結果は、その機序として重要である。

#### (9) ADV、TDF は IL-10 産生を抑制する (免疫賦活機序の解明)

ADV・TDF により IL-10 産生が抑制され、IL-12p70, TNF- $\alpha$  が誘導された。IL-10 と IL-12p70 はお互いに作用しあうため、どちらの反応が ADV・TDF による作用なのかが不明である。そこで、PBMC、核酸アナログ製剤に IL-10 あるいは IL-12p70・TNF- $\alpha$  の抗体や recombinant 蛋白を同時投与し、その後に LPS で刺激し、上清中のサイトカインの変動を検討した。すると IL-12p70・TNF- $\alpha$  の抗体や recombinant 蛋白を用いた場合のサイトカイン変動は全く認めなかったが、IL-10 の抗体や recombinant 蛋白を用いた場合、IL-12p70 は、IL-10 抗体・recombinant 蛋白の容量依存性に上昇あるいは低下した。すなわち、ADV・TDF は本反応において IL-10 産生を抑制し、その変化に対応して IL-12p70・TNF- $\alpha$  が誘導されることが判明した。

#### (10) ADV、TDF は単球からの IL-10 産生を抑制する (免疫賦活機序の解明)

PBMC から、T 細胞、NK 細胞、B 細胞、単球分画をそれぞれの抗体を用いて除去し、同様の実験を行ったところ、単球の除去により LPS 刺激による IL-10 産生能は消失した。さらに単球のみに核酸アナログ製剤を投与し、その後に LPS で刺激したところ、ADV・TDF で有意に単球からの IL-10 産生は低下した。すなわち、ADV・TDF は単球に作用し、LPS 誘導 IL-10 産生を抑制することが判明した。

#### (11) ADV、TDF は YY のリン酸化を抑制する

ADV・TDF による腸管細胞における IFN- $\lambda$ 3 の誘導、LPS による単球からの IL-10 産生抑制の他の効果を検討した。我々は、過去の様々な文献検索より、ADV・TDF が YY (特許のため仮称とする) のリン酸化を抑制するとの仮説を立てた。様々な細胞株に核酸アナログ製剤を投与し、YY のリン酸化を検討したところ、すべての細胞株で YY のリン酸化は抑制されていた。さらに、その機序を解析し、解明も終了しており、現在、その内容を投稿中である。なお、YY は腫瘍増殖シグナルとして重要と考えられているため、ADV・TDF による抗腫瘍効果が期待される。

このように我々は、ADV・TDF の新規追加効果を発見し、その機序がある程度解明できた。これらの研究は、平成 30 年度より、国立研究開発法人 日本医療研究開発機構による研究資金を得て、継続される (Nucleotide analogue 製剤のサイトカイン誘導を利用して B 型肝炎のドラッグフリーを目指す治療法の開発及び創薬に関する研究)。今後、基礎研究とともに臨床応用に向けて発展させていきたい。3 年間の研究開発資金を提供いただき感謝いたします。

Subject No. : 27 指 1302  
Title : Basic and clinical study for complete elimination of HBV based on additional effects of nucleotide analogues  
Researchers : Yoshihiko Aoki  
Key word : chronic hepatitis B, IFN- $\lambda$ 3, immune-modulatory effects  
Abstract :

We recently found that interleukin (IL)-28B polymorphisms (non-TT) were strong predictive factors for non-responder of pegylated-interferon (IFN)/ribavirin (RBV) treatment by genome-wide association study (GWAS) (Nat Genet 2009). We hypothesized that IL-28B (IFN- $\lambda$ 3) could be responsible for HBV treatment as well. Therefore, we measured serum IFN- $\lambda$ 3 levels in patients with chronic hepatitis B. Unexpectedly, we found that high serum IFN- $\lambda$ 3 levels were observed in patients who were treated with nucleotide analogues (adefovir; ADV or tenofovir; TDF), not nucleoside analogues (lamivudine; LAM or entecavir; ETV). To confirm this, we measured serum IFN- $\lambda$ 3 levels using series of samples in patients who were treated with nucleos(t)ide analogues, which revealed the elevation of serum IFN- $\lambda$ 3 levels on treatment with nucleotide analogues. These findings suggest that nucleotide analogues themselves induced IFN- $\lambda$ 3. Next, we sought to demonstrate these findings *in vitro*. We used cell lines originated from lungs, skin, gastrointestinal tract, liver and lymphocytes, but only colon cancer cell lines induced IFN- $\lambda$ 3 by ADV or TDF. No induction of IFN- $\lambda$ 3 was observed by nucleoside analogues (LAM, ETV). ADV or TDF induced mRNA levels of IL-28B and IFN- $\lambda$ 3 protein was observed in colon cancer cell lines by immunohistochemistry.

Nucleos(t)ide analogues inhibit replication of hepatitis B virus (HBV) by inhibiting its reverse transcriptase, but theoretically do not affect production of HBV surface antigen (HBsAg). However, recent report showed decrease of serum HBsAg levels in patients who were treated with TDF, not ETV. Therefore, we sought to confirm it *in vitro*. Hepatoma cell lines that produce HBsAg were treated with recombinant IFN- $\lambda$ 3 and HBsAg levels in the supernatant were measured. Recombinant IFN- $\lambda$ 3 decreased HBsAg levels in a dose-dependent manner. Next, hepatoma cell lines were treated with the supernatant in the culture of colon cancer cell lines treated with ADV or ETV, and interferon (IFN)-stimulated genes (ISG) in the hepatoma cell lines were analyzed. ISG levels in the hepatoma cell lines were up-regulated when colon cancer cell lines were treated with ADV, not ETV. These findings would have great clinical implication because orally treated ADV or TDF reached gut where IFN- $\lambda$ 3 was induced, induced IFN- $\lambda$ 3 went into liver through portal vein. We reported these findings together on Gut.

Monotherapy of ADV or TDF is not sufficient to eliminate HBV or stop treatment even though it shows such an additional effect. Then, we tried to find out stronger inducers of IFN- $\lambda$ 3 as novel HBV therapies. To find those, we should understand its mechanism. First, we focused on XX because of its structure. We used 5 colon cancer cell lines and compared their expression levels of XX with ADV-induced IFN- $\lambda$ 3 levels. As we expected, they were well-correlated each other. Next, we established cell lines that were knocked-out of XX. In

the XX knock-out cells, ADV did not induce IFN- $\lambda$ 3 whereas IFN- $\alpha$  induced IFN- $\lambda$ 3 as seen in wild cells. Meanwhile, XX-knock-in cells were also established in cells that had no XX expression. XX-knock-in induced IFN- $\lambda$ 3 and IFN- $\lambda$ 3 induction by nucleotide analogues were not detected. Taken together, ADV or TDF induced IFN- $\lambda$ 3 through XX, which are now submitting to the journal.

Combination of nucleotide analogues with PEG-IFN- $\alpha$  showed favorable effects in clinical studies. Therefore, colon cancer cells were treated with nucleos(t)ide analogues together with IFN- $\alpha$  and IFN- $\lambda$ 3 in the supernatant were measured, which showed additional effect of IFN- $\alpha$  in induction of IFN- $\lambda$ 3 by nucleos(t)ide analogues.

We analyzed the factors associated with favorable responses in patients with sequential therapy (nucleos(t)ide analogues were switched to PEG-IFN- $\alpha$ ). Patients with chronic hepatitis B (n = 95) who were treated with nucleos(t)ide analogues were prospectively switched to PEG-IFN- $\alpha$ . Serum samples were taken before switching. This study was approved by University of Shinshu and our laboratory measured serum IFN- $\lambda$ 3 levels. Twenty-six out of 95 patients showed favorable responses. A multivariate analysis demonstrated that low levels of HBsAg and HBV core related antigen (HBcrAg), and high levels of serum IFN- $\lambda$ 3 before initiation of PEG-IFN- $\alpha$  were significant factors for favorable responses. There are no factors available to select patients with favorable responses in sequential therapy. In addition, PEG-IFN- $\alpha$  has significant side effects. Current findings would be important, especially regarding to selection of patients with favorable responses.

In another clinical study, we retrospectively observed serum HBsAg levels in patients who were treated with nucleoside analogues or nucleotide analogues. Serum HBsAg levels were significantly decreased by nucleotide analogues, compared with nucleoside analogues. Interestingly, serum IFN- $\lambda$ 3 levels were inversely correlated with decreased HBsAg levels, which were consistent results with our vitro experiments that recombinant IFN- $\lambda$ 3 decreased HBsAg levels in a dose-dependent manner. This study was approved in Hokkaido University and our laboratory measured serum IFN- $\lambda$ 3 levels.

Orally administered nucleo(s)ide analogues absorbed from gastrointestinal tract and go through portal vein. Since enteric lipopolysaccharide (LPS) can cross the intestine and spread into portal vein, we hypothesized that orally administered nucleos(t)ide analogues influenced LPS-induced cytokine production in peripheral blood mononuclear cells (PBMC). PBMC from healthy volunteers were treated with nucleos(t)ide analogues, following stimulation with LPS and several cytokine production were measured by BioPlex cytokine assay, which revealed that ADV or TDF inhibited IL-10 and enhanced IL-12p70 and tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , not LAM or ETV. These cytokines changes were dose-dependent on ADV or TDF. When using PBMC from HBV patients, these patterns were similarly observed although all cytokine production was impaired when PBMC from patients with liver cirrhosis were used. It is well-known that IL-10 partially contributes to chronicity of HBV because IL-10 inhibits sur-plus immune responses and IL-10 is up-regulated in patients with chronic hepatitis B. Meanwhile, IL-12p70 activates CD8<sup>+</sup> T cells to kill virus-infected cells (cytopathic killing)

and natural killer cells to eliminate virus from virus-infected cells without cytotoxicity (non-cytopathic killing). Taken together, these cytokine changes induced by ADV or TDF may contribute to HBV elimination.

PBMC from healthy volunteers were treated with nucleos(t)ide analogues together with IFN- $\alpha$ , following stimulation with LPS, and cytokine production was measured. ADV or TDF induced IL-12p70 and combination of IFN- $\alpha$  enhanced IL-12p70 production by 4 to 5 times. There were no changes in IL-10 levels. Recent clinical study showed favorable effect responses in patients treated with combination of TDF and PEG-IFN- $\alpha$ , which our *ex vivo* study may support.

IL-10 and IL-12 are important cytokines for host immune controls and are reciprocally regulated by one another as anti-inflammatory and pro-inflammatory cytokines, respectively. To clarify whether inhibition of IL-10 or induction of IL-12 is a primary reaction of ADV or TDF, we treated PBMC with monoclonal antibodies or recombinant proteins of each cytokine with NUC and LPS *ex vivo* for 2 h after stimulation with LPS, then measured cytokine production in the supernatant. Recombinant proteins or antibodies of IL-12p70 and TNF- $\alpha$  did not change IL-10 production. In contrast, recombinant proteins or antibodies of IL-10 inhibited and enhanced IL-12p70 and TNF- $\alpha$  in a dose-dependent manner, which suggest that ADV or TDF inhibit IL-10 production that reciprocally induced IL-12p70 and TNF- $\alpha$ .

Next, we sought to identify cells responsible for IL-10 production. We depleted T cells, NK cells, B cells, and monocytes from PBMC by each antibody. These cells were stimulated with LPS and IL-10 in the supernatant was measured. IL-10 production was abrogated by depletion of monocytes from PBMC. Monocytes were treated with nucleos(t)ide analogues, following stimulation with LPS and IL-10 production was measured, which revealed that ADV or TDF significantly inhibited IL-10 production. Taken together, monocytes contributed to IL-10 production by LPS and ADV or TDF inhibited IL-10 production in monocytes.

Finally, we sought to determine other effects except for IFN- $\lambda$ 3 production in gastrointestinal tract or IL-10 inhibition in monocytes. From the intensive search for previous papers, we hypothesized that ADV or TDF could inhibit phosphorylation of YY protein. We treated many cells from different origin with nucleos(t)ide analogues and analyzed phosphorylation of YY, which revealed that YY phosphorylation was inhibited in all cells tested. Since YY is one of key players of tumor growth, ADV or TDF could contribute to regression of tumor growth. We are now submitting about this.

We found, for the first time, these additional effects of ADV or TDF and their mechanisms. These studies are now approved by AMED this year and we would like to further develop basic and clinical studies. We greatly appreciate your help.

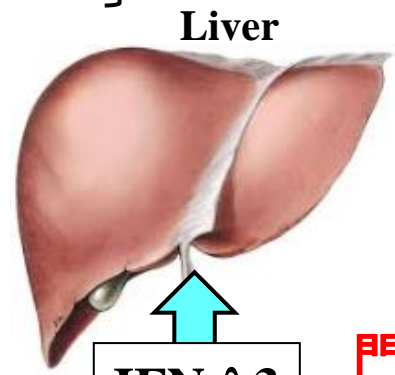
# 「B型慢性肝炎完治に向けた核酸アナログ製剤の新規効能効果の発見とその基礎的・臨床的検討」

国際医療研究開発費 (27指1302)  
 (研究代表者: 村田一素 → 青木孝彦)  
 H27-H29年度: 1,620万円

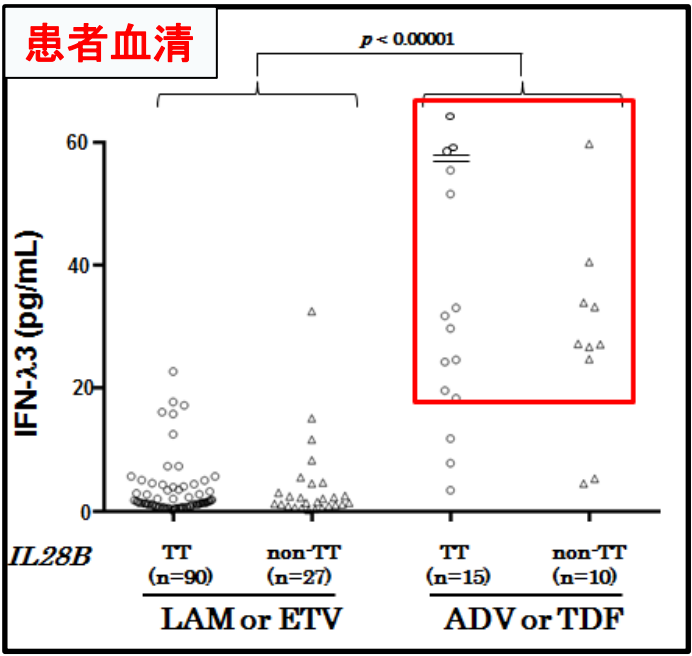
## 核酸アナログ製剤 (Nucleos(t)ide analogues; NUC)

- ・ラミブジン (LAM)
- ・アデフォビル (ADV)
- ・エンテカビル (ETV)
- ・テノフォビル (TDF)

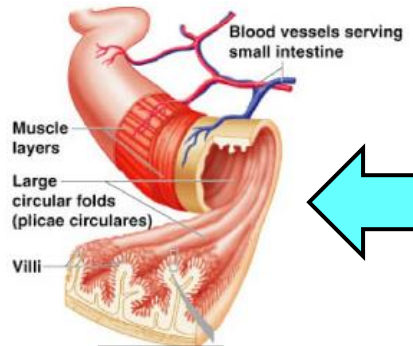
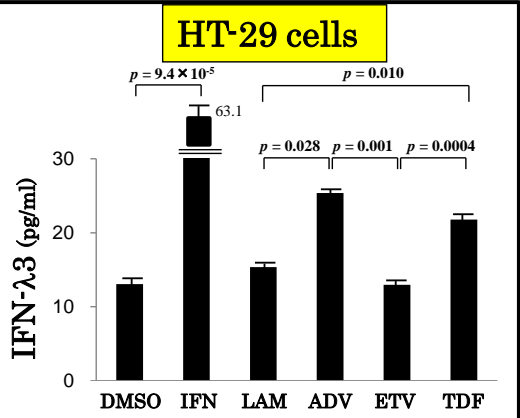
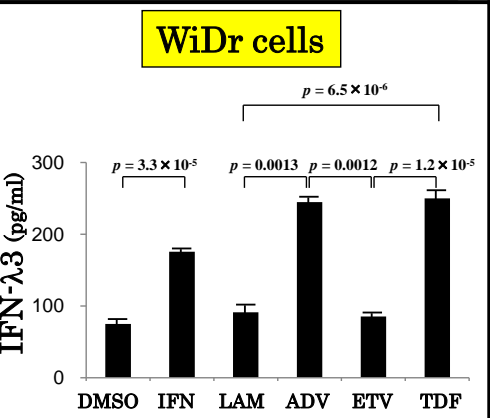
**ADV・TDFのみが、  
腸管細胞でIFN-λ3を誘導する**



**門脈を介して肝臓へ  
(経口投与で効果)**



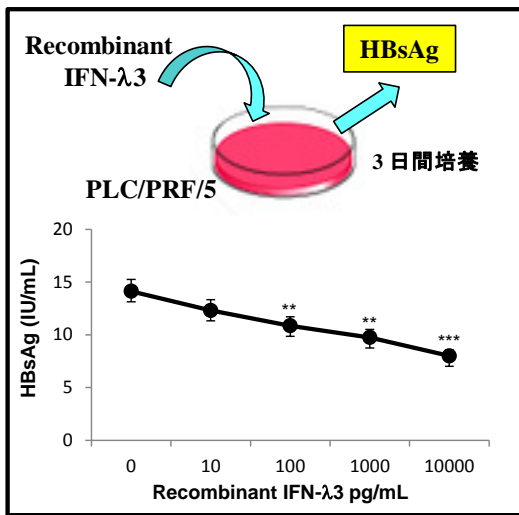
## 培養細胞 (大腸癌細胞)



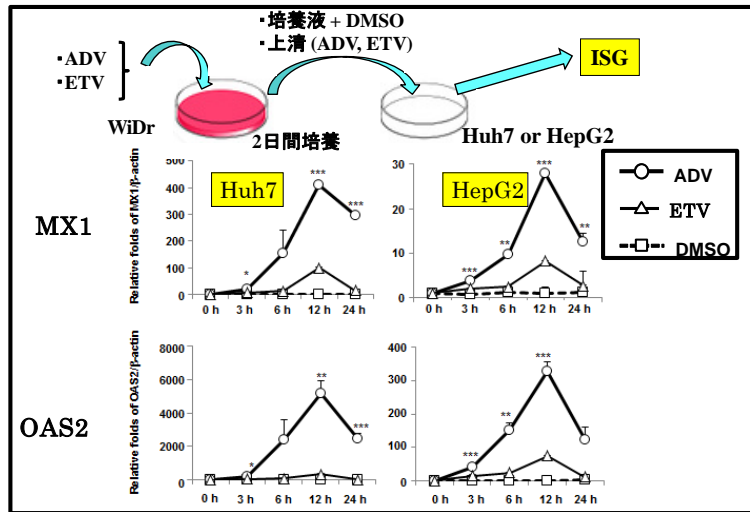
**経口  
ADV  
TDF**

**腸管**

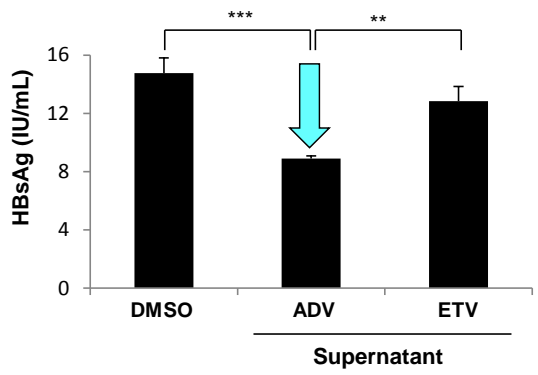
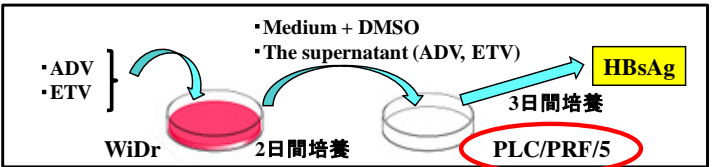
# ADV・TDFは、腸管でIFN-λ3を誘導し、抗HBV効果を示す



**IFN-λ3の直接的抗HBV効果**



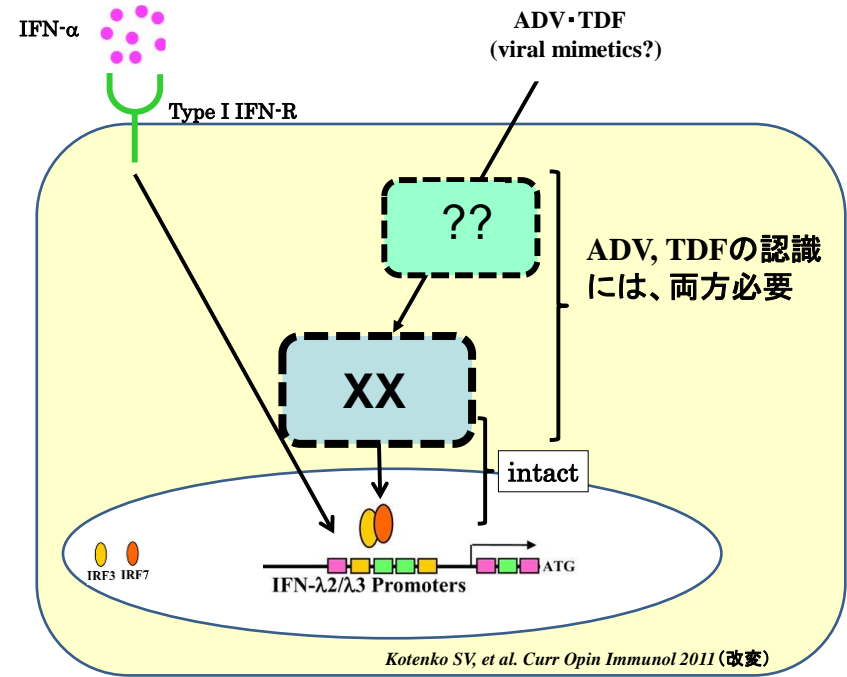
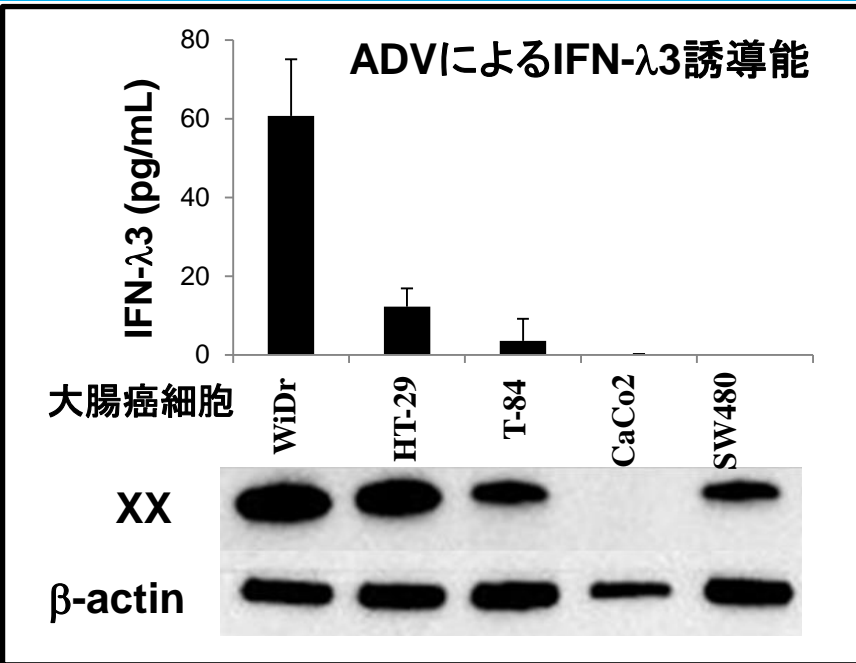
**IFN-λ3は肝細胞内でISGを誘導する**



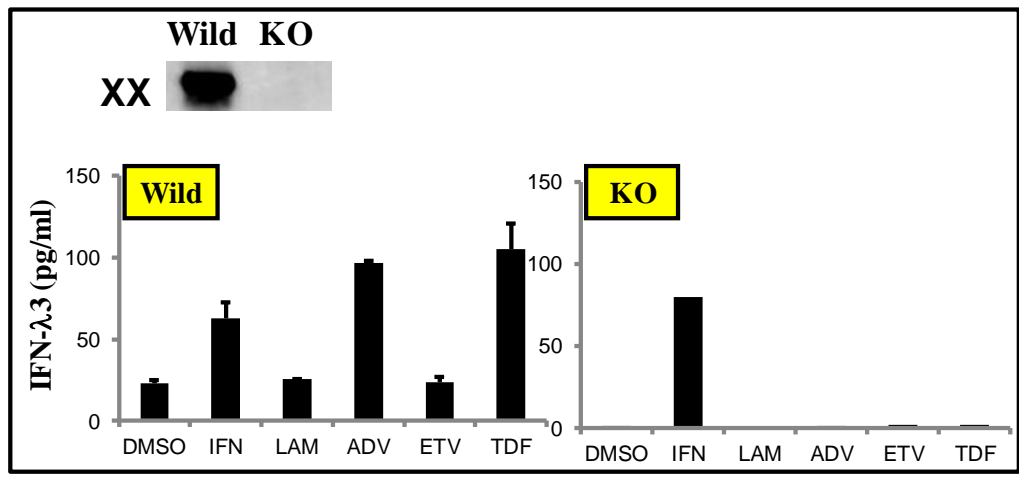
**ADV・TDFが腸管でIFN-λ3を誘導すると誘導されたIFN-λ3は門脈を介して肝に至り、直接あるいはISGを介して間接的に抗HBV効果を示す**



# IFN-λ3誘導機序の解明

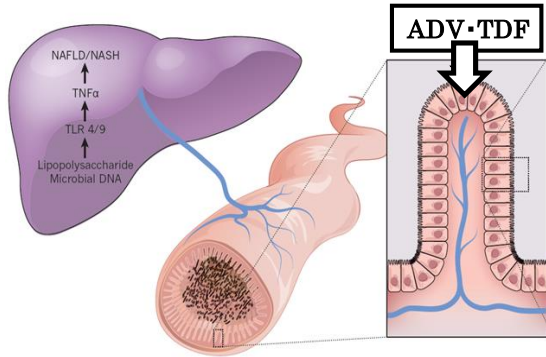


- ・ADV・TDFは、XXを介しIFN-λ3を誘導させる
  - ・XXの発現だけでは不十分 (SW480)
- ⇒ 上流に核酸認識機構が存在？ (検討中)



**強力なIFN-λ3誘導剤の創出には機序の解明が重要**

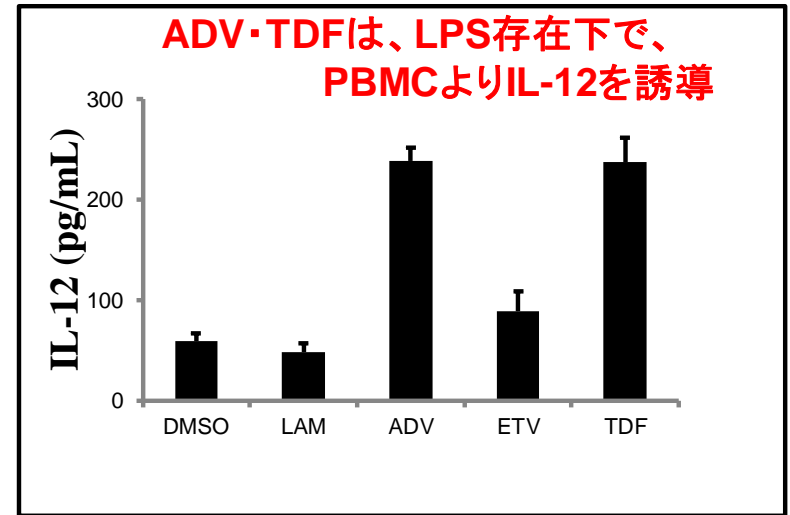
# ADV・TDFは、IL-12を誘導する



・LPS (Lipopolysaccharide)

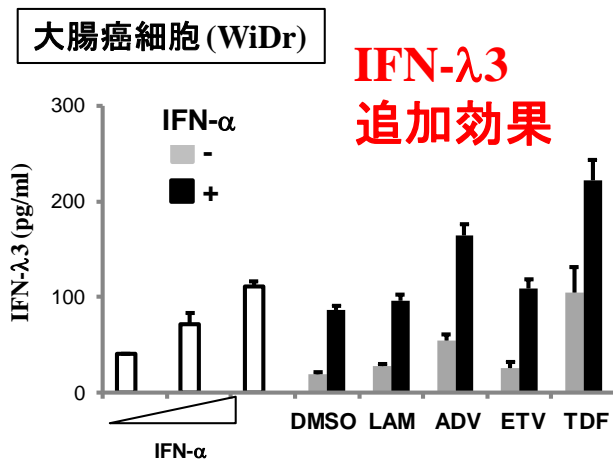
経口投与された核酸アナログ製剤は腸管より吸収され、リンパ球とLPSに曝される

➡ リンパ球 (PBMC)を核酸アナログと共培養し、LPSで刺激

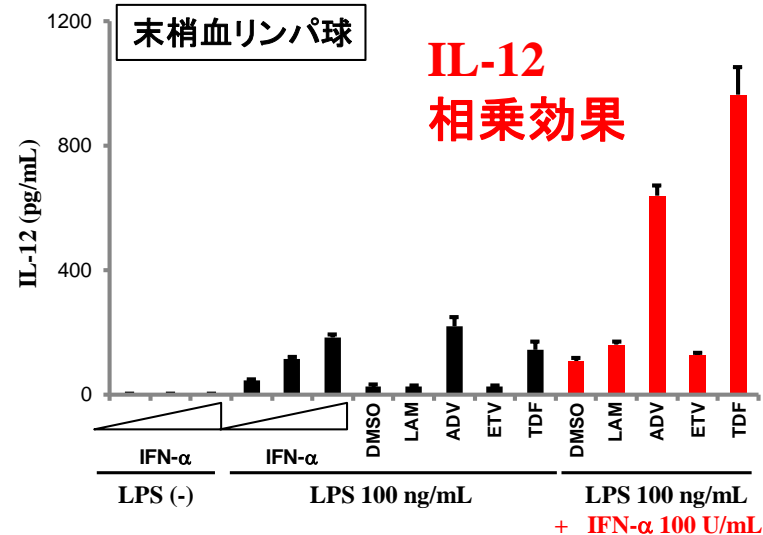


Murata K, et al. Submitting

# ADV・TDFとIFN-αとの併用効果



Murata K, et al. Gut 2018



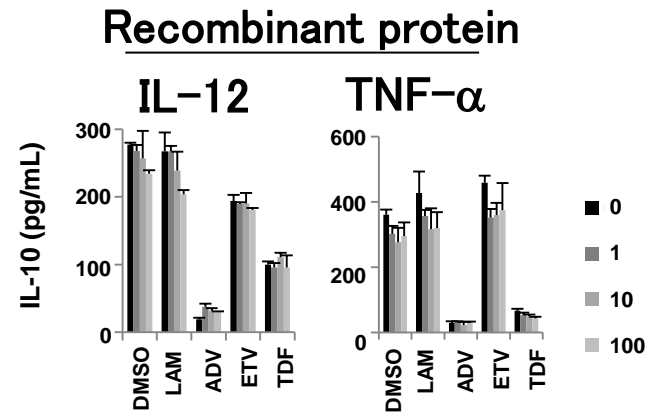
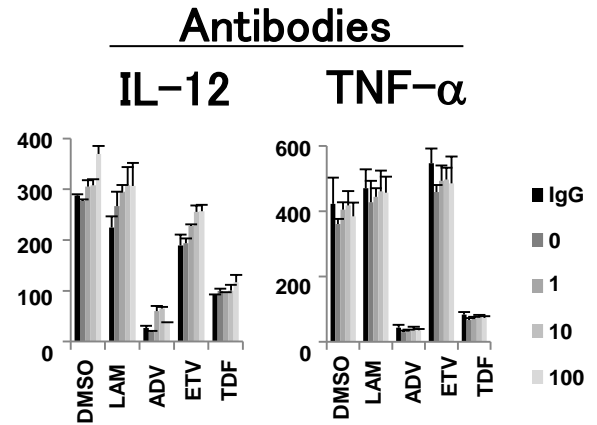
Murata K, et al. Submitting

**「B型慢性肝炎完治に向けた核酸アナログ製剤の新規効能効果の発見とその基礎的・臨床的検討」**

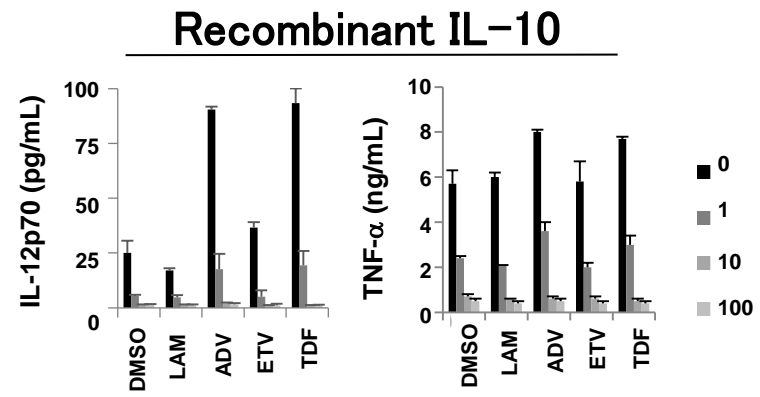
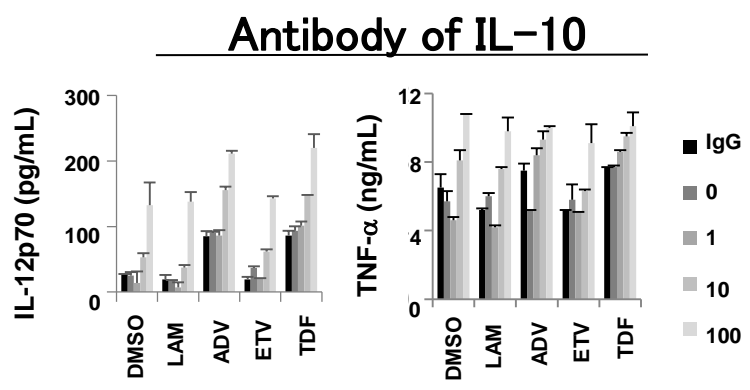
国際医療研究開発費（27指1302）  
（分担研究者：村田一素）

**分担研究課題名：ADV・TDFによるIL-10抑制機構の解明**

PBMC + NUC + recombinant or antibodies + LPS → 上清中のサイトカインを測定



**IL-12, TNF-αの抗体あるいは蛋白はIL-10誘導に影響しない**

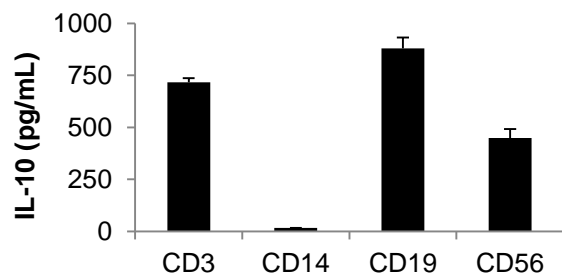


**IL-10の抗体あるいは蛋白の容量依存性にIL-12, TNF-αが変化**

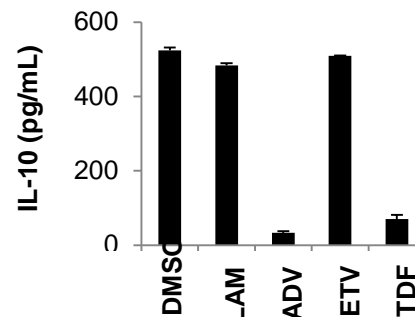
**➡ ADV・TDFは、IL-10の産生を阻害する**

リンパ球 + LPS (+ NUC) → 上清中のサイトカインを測定

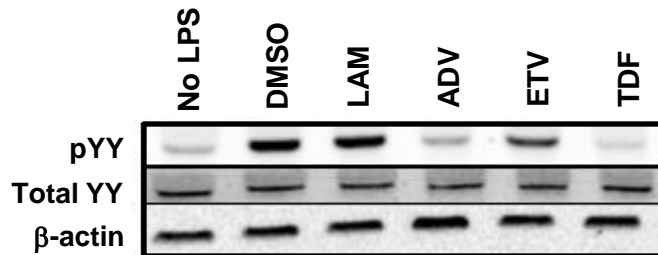
各種細胞除去



単球のみ



ADV・TDFは、CD14<sup>+</sup> monocytes (単球)を介してIL-10産生を抑制



ADV・TDFは、YYのリン酸化を阻害する

YYは腫瘍増殖に係るシグナルなのでADV・TDFは腫瘍抑制効果があるかもしれない  
最近の臨床研究でTDFがETVよりも発癌率が少ないと報告された

(Zhang M, et al. Infect Agents and Cancer 2018)

## 研究発表及び特許取得報告について

課題番号：27指1302

研究課題名：B型慢性肝炎完治に向けた核酸アナログ製剤の新規効能効果の発見とその基礎的・臨床的検討

主任研究者名：青木孝彦

### 論文発表

論文タイトル	著者	掲載誌	掲載号	年
Association of serum IFN-13 with inflammatory and fibrosis markers in patients with chronic hepatitis C virus infection	Aoki Y, Murata K, et al	J Gastroenterol	50	2015
Geographic distribution and characteristics of genotype A hepatitis B virus infection in acute and chronic hepatitis B patients in Japan	Ito K, Murata K, et al	J Gastroenterol Hepatol	31	2016
Hepatitis B virus vaccination-related seroprevalence among health-care personnel in a Japanese tertiary medical center	Yanase M, Murata K, et al	Hepatol Res	46	2016
Induction of IFN-13 as an additional effect of nucleotide, not nucleoside, analogues: a new potential target for hepatitis B virus infection	Murata K, et al	Gut	67	2018
Association of des-g-carboxy prothrombin production and Sonazoid-enhanced ultrasound findings in hepatocellular carcinoma of different histologic grades	Murata K, et al	J Med Ultrason	45	2018
Combinational use of hepatitis B viral antigens predicts responses to nucleos(t)ide analogue/peg-interferon sequential therapy	Matsumoto A, Murata K, et al	J Gastroenterol	53	2018
Key HLA-DRB1-DQB1 haplotypes and role of the BTNL2 gene for response to a hepatitis B vaccine	Nishida N, Murata K, et al	Hepatology	in press	

### 学会発表

タイトル	発表者	学会名	場所	年月
核酸アナログ (NA)/Peg-IFN シークエンシャル治療におけるHBs抗原量低下予測因子の検討	松本晶博、村田一素、田中榮司	第51回日本肝臓学会総会	熊本	2015. 5
核酸アナログ製剤投与による新規発見サイトカインFactor Xの誘導とそれに伴うHBs抗原低下作用	村田一素、松本晶博、溝上雅史	第19回日本肝臓学会大会	東京	2015. 10
IFN-13 induction by nucleotide, not nucleoside, analogs and its clinical significance in HBV patients	Murata K, Matsumoto A, Inoue T, Sakamoto M, Sugiyama M, Enomoto N, Tanaka E, Mizokami M	The 66th annual meeting of the American association for the study of liver diseases	San Francisco, USA	2015. 11

研究発表及び特許取得報告について

Induction of IFN-13 by ADV or TDF in HBV patients	Murata K, Matsumoto A, Sugiyama M, Inoue T, Sakamoto M, Enomoto N, Tanaka E, and Mizokami M	The 25th Asian Pacific Association for the Study of the Liver	Tokyo	2016. 2
Nucleotide analogsによるIFN-13およびISG誘導とその臨床的意義	村田一素、本多政夫、溝上雅史	第102回 日本消化器病学会	東京	2016. 4
アデフォビル、テノフォビルによるIFN-13誘導とそのHBs抗原低下効果	村田一素、本多政夫、溝上雅史	第52回 日本肝臓学会総会	幕張	2016. 5
アデフォビル、テノフォビルによるIFN-13誘導とそのIFN- $\alpha$ 併用効果	村田一素、本多政夫、溝上雅史	第20回 日本肝臓学会大会	神戸	2016. 11
IFN-13 induction by nucleotide, not nucleoside, analogs and its clinical significance in HBV patients	Murata K, Matsumoto A, Inoue T, Sakamoto M, Sugiyama M, Enomoto N, Tanaka E, Mizokami M	The 67h annual meeting of the American association for the study of liver diseases	Boston, USA	2016. 11
Induction of IFN-13 as an additional pharmacological effect of ADV or TDF: A new potential target for HBV infection	Murata K, Mizokami M	APASL single topic conference (6th HBV conference)	Beijing, China	2016. 12
Induction of IFN-13 as an additional pharmacological effect of nucleotide, not nucleoside, analogs: A new potential target for HBV infection	Murata K, Mizokami M	The 26th Asian Pacific Association for the Study of the Liver	Shanghai, China	2017. 2
IFN- $\lambda$ を標的とした新規B型肝炎治療薬の探索	村田一素、前仲勝実、溝上雅史	第53回 日本肝臓学会総会	広島	2017. 6
Induction of IFN-13 by ADV or TDF as a new potential target for HBV infection	Murata K, Sugiyama M, Otsuguro S, Maenaka K, Mizokami M	2017 International HBV Meeting	Washington DC, USA	2017. 9
TDF/Peg-IFN併用療法におけるHBsAg量低下の初期反応	松本晶博、村田一素、田中榮司	第21回 日本肝臓学会大会	福岡	2017. 10

その他発表(雑誌、テレビ、ラジオ等)

タイトル	発表者	発表先	場所	年月日
該当なし				

特許取得状況について ※出願申請中のものは( )記載のこと。

発明名称	登録番号	特許権者(申請者) (共願は全記載)	登録日(申請日)	出願国
核酸アナログ製剤による抗腫瘍効果	申請中	村田一素、溝上雅史	申請中	日本

※該当がない項目の欄には「該当なし」と記載のこと。  
 ※主任研究者が班全員分の内容を記載のこと。