

### 3. C型肝炎ウイルス感染動物モデル

小原 恭子<sup>1)</sup>, 小原 道法<sup>2)</sup>

1) 鹿児島大学, 2) 東京都医学総合研究所

C型肝炎ウイルス (HCV) 感染者は全世界で1億7千万人以上に上り, 慢性肝炎から肝硬変, 肝癌へと進展する脅威にさらされている. 近年ウイルスのプロテアーゼやRNAポリメラーゼを標的とした direct acting antivirals (DAA) が開発され, 治癒が可能となってきた. しかしながら, 変異株出現の問題や, HCVをDAAで排除しても肝癌が発生する事, さらにはDAAが非常に高価である事等から, 依然として新薬の開発やワクチン開発は急務である. そのためには, 有効なHCV感染動物モデルが必須である. そこで本稿では, これまで行われてきたHCV感染動物モデルを用いた研究と今後の展開について紹介する.

#### はじめに

C型肝炎ウイルス (hepatitis C virus, HCV) はフラビウイルス科ヘパチウイルス属に分類され, ヒトを感染宿主とするプラス1本鎖RNAウイルスである<sup>1,2)</sup>. HCVのin vivoにおける病原性に関する基礎的研究や, 抗ウイルス薬やワクチンの開発には感染動物モデルが必須である. しかしながら, HCVが自然感染できる動物はチンパンジーのみであり, これまでのワクチン開発等の研究はチンパンジーを用いて行われてきた. さらに, 倫理的な観点等から, 2013年以降はチンパンジーを用いた研究が不可能となり, 新たな感染動物モデルが必要とされている. 本稿では, 1) チンパンジーを用いた従来の研究と, 2) HCV遺伝子を発現するトランスジェニックマウスを用いた病原性解析並びにHCVレセプター遺伝子を持つHCV感染トランスジェニックマウスの開発, 3) 免疫不全マウスを用いたヒト肝臓組織を持つキメラマウスHCV感染系, 4) ツパイ, 5) その他 (非霊長類ヘパチウイルス感染系等) に関し, これまで行われた研究を紹介する.

#### 1. チンパンジー

C型肝炎の研究は, 非A非B型肝炎 (NANB)<sup>3)</sup>の提唱から始まったが, Alterらは, NANB肝炎の患者血清をチンパンジーに接種すると肝炎が起こる事を初めて報告した<sup>4)</sup>. そしてChooらにより, 感染チンパンジーの血清からHCVの遺伝子がクローニングされ, その配列が明らかにされた<sup>1)</sup>. その後, HCVの外被蛋白質である, E1, E2糖タンパク質を免疫抗原として (精製蛋白質, 組換えワクチニアウイルス) 感染防御実験がチンパンジーで行われた<sup>5,6)</sup>. HCV感染を防ぐワクチンや治療薬の開発には有効な実験動物モデルが必要であるが, これまでに自然感染の成立が報告された動物モデルはチンパンジーのみである. しかしチンパンジーは, 現在動物愛護等の倫理的な観点から, 実験動物としての使用が制限されており, 安楽殺が禁止されているため実験終了後も飼育が必要である. 以上の点から, チンパンジーに代わる実験動物モデルの確立が急務となっている.

#### 2. HCVトランスジェニックマウス

マウスは近交系も確立しており, 容易に遺伝子型を揃えられる. 遺伝子改変技術も進み, 解析が容易である. 寿命も2年以内で短時間での解析が可能である. 等の種々の利点があり, 研究に活用されて来た. HCV研究に関連するトランスジェニック (Tg) マウスには, HCVの遺伝子を発現するものと (図1), HCV感染が成立するようにレセプター遺伝子を導入したものの2種類に大別される. HCVのウイルス粒子を形成するコア蛋白質が細胞の増殖制御を

#### 連絡先

〒890-0065

鹿児島県鹿児島市郡元1-21-24

鹿児島大学

TEL: 099-285-3589

FAX: 099-285-3589

E-mail: kkohara@vet.kagoshima-u.ac.jp

	A. HCV遺伝子が導入されたTgマウス	B. Creアデノウイルスによるスイッチング発現	C. Mx-Creによるスイッチング発現
免疫応答	出生時から免疫寛容状態	アデノウイルスに対する炎症も惹起	正常な免疫応答の成立が可能
発現期間	長い	短い	長い
炎症反応	なし	急性肝炎	慢性肝炎

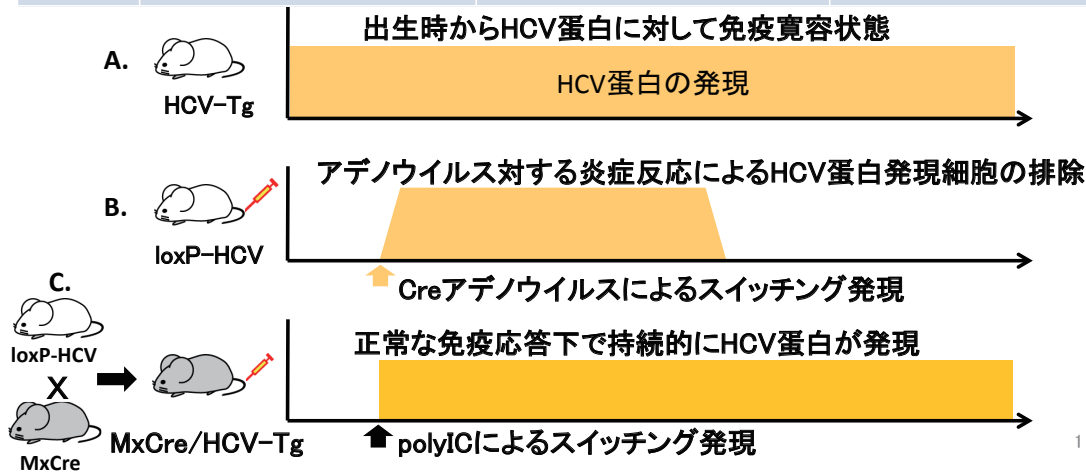


図1 各種HCVトランスジェニックマウスにおけるHCV蛋白の発現様式

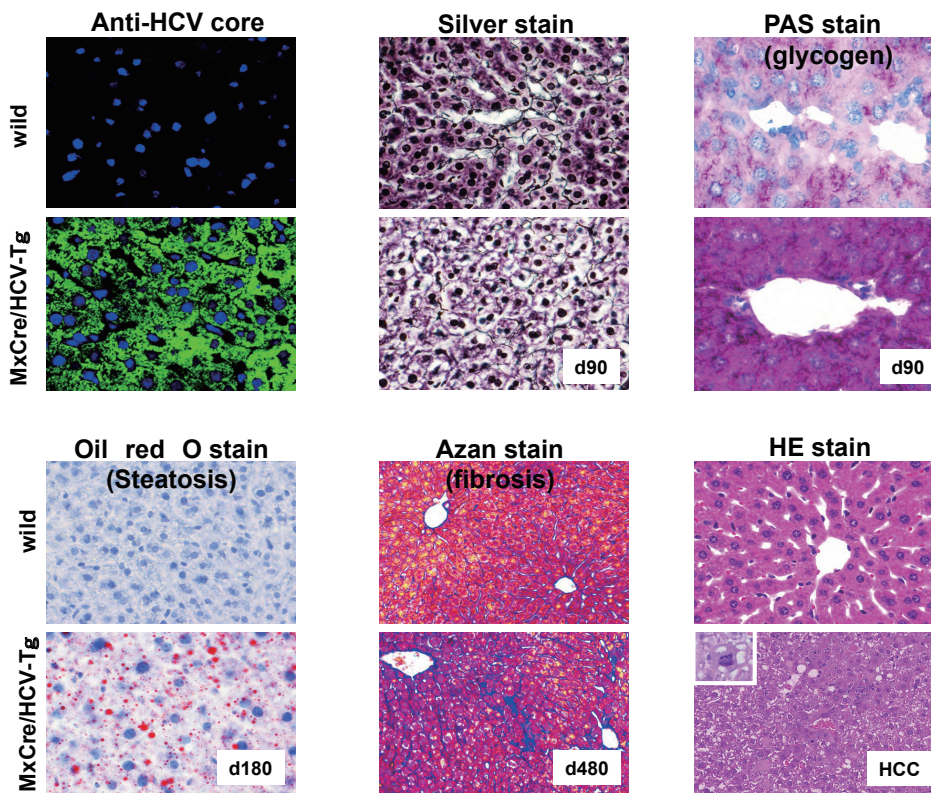


図2 MxCre/HCV-Tgマウス肝臓における病態

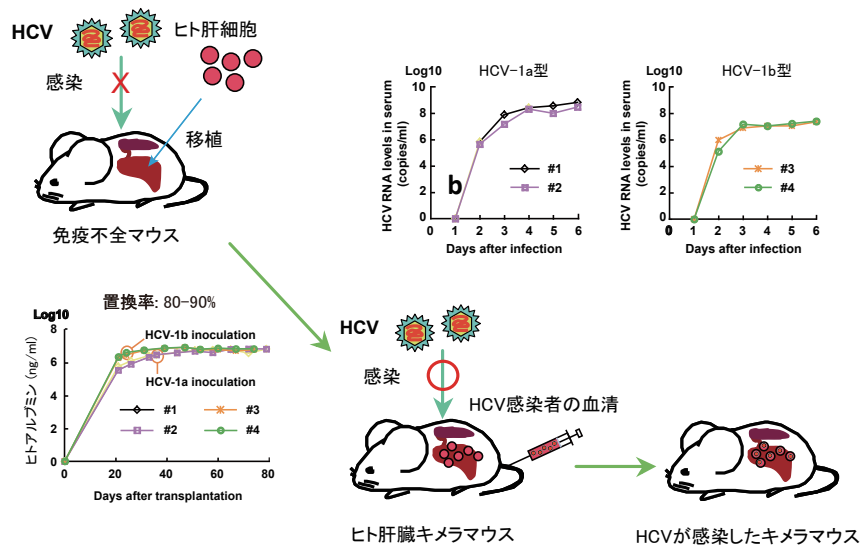


図3 ヒト肝臓キメラマウスの樹立

修飾し、腫瘍原性を付与するとの報告が細胞株を用いて行われてきたが、コア蛋白質をアルブミンプロモーターを用いて肝臓に発現させたところ脂肪肝となり、生後16ヶ月で肝癌を発症すると報告された(図1A)<sup>7)</sup>。また、全長のHCV遺伝子を発現させると、13ヶ月で肝癌を発症するとの報告もある<sup>8)</sup>。さらに、Cre/loxPを用いて生後任意の時期にHCV遺伝子を発現させ(図1B)<sup>9)</sup>炎症を起こさせたり、HCV遺伝子の持つ抗アポトーシス活性の解析<sup>10)</sup>や正常な免疫応答下で持続的にHCV蛋白質を発現させた場合には(図1C)、慢性肝炎、肝硬変、肝癌の発症が観察されている(図2)<sup>11)</sup>。このようなHCV-Tgマウスを用いてHCVの病原性発現機構や治療ワクチンの効果に関する研究が行われている。

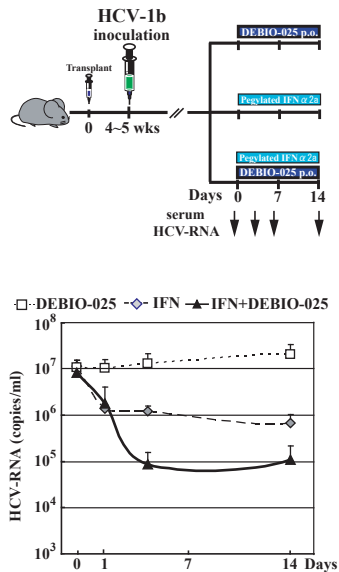
HCVはマウスに感染できないが、ヒトのHCVのレセプター遺伝子を導入して感染を成立させる試みも行われている。これまでにCD81<sup>12)</sup>、occludin-1<sup>13, 14)</sup>、SR-BI<sup>15)</sup>、claudin-1<sup>16)</sup>等がウイルスレセプター遺伝子として導入されている。マウス細胞に導入したところ、ヒト由来のCD81とoccludin-1があればHCVの感染が成立する事が分かり<sup>14)</sup>、CD81とoccludin-1遺伝子をマウスで発現するとHCVが感染すると報告された<sup>17)</sup>。しかし、このマウスで持続的にHCVを感染するためには、STATやIRF等の遺伝子を欠損させる必要がある。

### 3. ヒト肝臓キメラマウス

ヒトの肝臓組織ではHCVが良く感染増殖できるが、免疫不全のマウスを用いてヒト肝臓組織を持つキメラマウスが樹立され、抗ウイルス薬の開発に貢献してきた。母体となった免疫不全マウスは、albumin promoter/enhancer

配列で発現制御されるマウスウロキナーゼ型プラスミノージェンアクチベーター(uPA)遺伝子を4つタンデムに持ち、uPAを過剰に発現して肝臓が壊死する<sup>18)</sup>。このマウスを免疫不全(SCID)マウスにバッククロスしてSCID/Alb-UPAマウスが確立された<sup>19)</sup>。このマウスにヒト肝臓の初代培養細胞を移植するとマウスの肝臓に生着し、マウス組織に置き換わってヒトの肝臓組織を持つようになる(図3)。このヒト肝臓組織にはHCVが良く感染し、効率良く増殖する。ヒト肝臓キメラマウス感染系を用いて、各種抗ウイルス薬の効果判定が行われた(図4A, 図4B)<sup>20, 21)</sup>。また、uPA遺伝子がタンデムに挿入されたマウスでは、これが抜けやすいという欠点があったが、uPA遺伝子をcDNAにする事によってゲノムから抜けにくくして改良したヒト肝臓キメラマウスも樹立されている<sup>22)</sup>。ヒト肝臓キメラマウスはB型肝炎ウイルスやマラリアの感染にも利用されている<sup>23)</sup>。ヒト肝臓キメラマウスに加え、ヒトの免疫系を移入して、炎症反応等のHCVが誘導する病原性を詳細に解析する試みも行われている。Balb/C Rag2<sup>-/-</sup>  $\gamma$  C-nullマウスにアルブミンプロモーターでFK506結合蛋白質(FKBP)/caspase8遺伝子を発現させてAP20187投与により肝臓を壊死させ、ヒトのCD34<sup>+</sup>血液幹細胞と肝臓細胞を移植してヒト化キメラマウス(AFC8-hu HSC/Hep)を樹立し、これにHCVを感染させ、反応を解析している<sup>24)</sup>。興味深い事に、AFC8-hu HSC/Hepマウスでは、HCVに対するT細胞の反応と、肝臓の繊維化が見られている。同じマウス系を用いて、HBVを感染させ、肝臓の繊維化やM2マクロファージの誘導を見いだしている<sup>25)</sup>。このようなマウス系をさらに改良する事により、HCV誘発性の肝繊維化や、免疫反応が詳細に解析できると期待さ

A. サイクロフィリン阻害剤の抗HCV効果



B. スフィンゴ脂質合成阻害剤の抗HCV効果

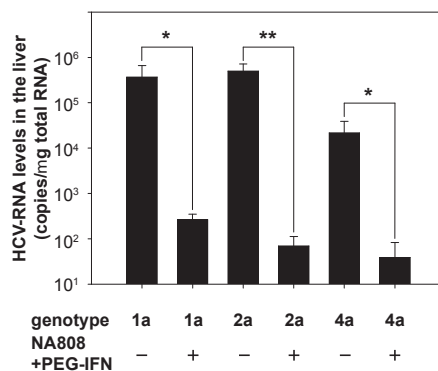
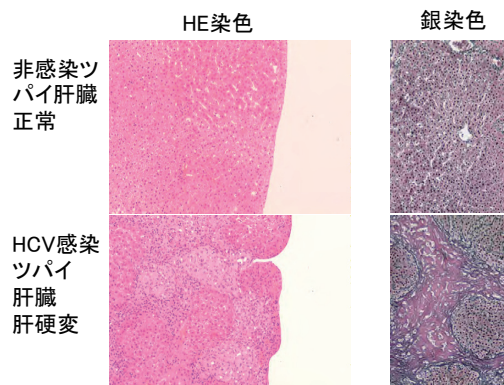


図4 ヒト肝臓キメラマウスを用いた抗HCV阻害薬の評価試験

A. ツパイ



C. HCV感染ツパイ肝臓の組織像



B. ツパイの進化系統樹

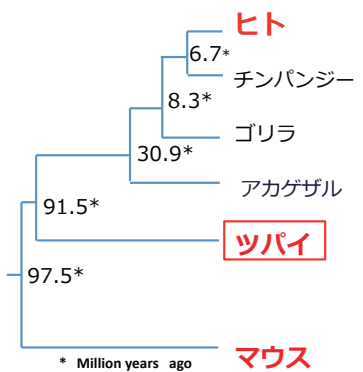


図5 自然感染モデル動物としてのツパイ



れる。

#### 4. ツパイ感染系

ツパイは以前原猿類に分類されていたが、現在は独立したツパイ科ツパイ目に属しており、ラット程度の大きさの動物である (図 5A)。ツパイは中国・雲南省原産とされ、寿命は4-7年である。全ゲノム解析の結果、マウスよりもヒトに近い情報を持っていることが明らかとなった (図 5B)<sup>26, 27)</sup>。また、著者らはツパイに HCV が感染する事を見いだして報告している<sup>28, 29)</sup>。HCV 持続感染ツパイは慢性肝炎、肝硬変、肝癌を発症することが示されている (図 5C)<sup>29)</sup>。飼育コストも低いことからチンパンジーに変わる感染実験動物モデルとして期待されている。また、HCV のレセプターである CD81, SR-B1, CLDN1, OCLD1 分子は、ツパイ由来のもので感染能を付与できることが示されている<sup>30-33)</sup>。その一方で、ツパイを実験動物とする医学的研究はほとんど行われていないため、ウイルス感染動態の解析ならびに治療効果の評価を行う上で不可欠な免疫系に関する知見は、ほとんど得られてない。このように、ツパイは肝炎ウイルス感染実験動物として高いポテンシャルを持つが、実際の応用には、ツパイの免疫系ならびに HCV 感染に対する免疫応答の解明と、効率の良い感染の成立と、安定的な発症を可能とするためのツパイ感染実験系の改良が必要である。

筆者らはツパイの繁殖体制を確立し、感染感受性の高い個体群の系統化を試みると同時に、ツパイのゲノム解析から抗体や cDNA クロウンを 120 種類以上作製して解析系の構築を行っている。

#### 5. その他

HCV の感染性遺伝子クローンは JFH1 株で初めて樹立されたが<sup>34)</sup>、ヒト肝癌由来 HuH-7 細胞でのみ良く増殖する。このウイルスをマウスの CD81 に馴化させる事によりマウス細胞での増殖が 100 倍良くなるとの報告がある<sup>35)</sup>。また、マウスの細胞に miR122 や ApoE 等を過剰発現させ、さらに MAVS 分子を欠損させておけばマウス CD81 馴化 HCV も増殖できる<sup>36)</sup>。この様なマウス馴化が進む事により、このウイルスをマウスに感染して研究する事が可能になると考えられる。

一方で、HCV に相同性のあるウイルスは GVB-B のみであったが、最近の次世代シーケンサーを用いた解析から、犬、馬、齧歯類、コウモリなどに HCV に相同性のある、非霊長類ヘパチウイルス (NPHV) が感染している事が発見された<sup>37)</sup>。NPHV は持続感染し、感染クローンはマイルドな肝炎を起こす事が報告されている<sup>38, 39)</sup>。我が国の馬の疫学調査から、比較的若齢の馬が高頻度に陽性となることも明らかとなっている<sup>40)</sup>。NPHV が今後サロゲートモデルとして活用できる可能性も考えられる。

動物モデルは、ウイルス研究に必須であり、ワクチンや抗ウイルス薬の開発にも威力を発揮する。今後、induced pluripotent cell から分化した肝臓細胞の利用等、様々な方向からのアプローチにより、より良いモデルが開発されると期待される。

#### 引用文献

- 1) Choo, Q.L., Kuo, G., Weiner, A.J., Overby, L.R., Bradley, D.W., and Houghton, M., 1989. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 244: 359-62.
- 2) Reed, K.E. and Rice, C.M., 1998. Molecular characterization of hepatitis C virus. *Curr Stud Hematol Blood Transfus*: 1-37.
- 3) Feinstone, S.M., Kapikian, A.Z., Purcell, R.H., Alter, H.J., and Holland, P.V., 1975. Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. *N Engl J Med* 292: 767-70.
- 4) Alter, H.J., Purcell, R.H., Holland, P.V., and Popper, H., 1978. Transmissible agent in non-A, non-B hepatitis. *Lancet* 1: 459-63.
- 5) Choo, Q.L., Kuo, G., Ralston, R., Weiner, A., Chien, D., Van Nest, G., Han, J., Berger, K., Thudium, K., Kuo, C., and et al., 1994. Vaccination of chimpanzees against infection by the hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91: 1294-8.
- 6) Bukh, J., Forns, X., Emerson, S.U., and Purcell, R.H., 2001. Studies of hepatitis C virus in chimpanzees and their importance for vaccine development. *Intervirology* 44: 132-42.
- 7) Moriya, K., Fujie, H., Shintani, Y., Yotsuyanagi, H., Tsutsumi, T., Ishibashi, K., Matsuura, Y., Kimura, S., Miyamura, T., and Koike, K., 1998. The core protein of hepatitis C virus induces hepatocellular carcinoma in transgenic mice. *Nat Med* 4: 1065-7.
- 8) Lerat, H., Honda, M., Beard, M.R., Loesch, K., Sun, J., Yang, Y., Okuda, M., Gosert, R., Xiao, S.Y., Weinman, S.A., and Lemon, S.M., 2002. Steatosis and liver cancer in transgenic mice expressing the structural and nonstructural proteins of hepatitis C virus. *Gastroenterology* 122: 352-65.
- 9) Wakita, T., Taya, C., Katsume, A., Kato, J., Yonekawa, H., Kanegae, Y., Saito, I., Hayashi, Y., Koike, M., and Kohara, M., 1998. Efficient conditional transgene expression in hepatitis C virus cDNA transgenic mice mediated by the Cre/loxP system. *J Biol Chem* 273: 9001-6.
- 10) Machida, K., Tsukiyama-Kohara, K., Seike, E., Tone, S., Shibasaki, F., Shimizu, M., Takahashi, H., Hayashi, Y., Funata, N., Taya, C., Yonekawa, H., and Kohara, M., 2001. Inhibition of cytochrome c release in Fas-mediated signaling pathway in transgenic mice induced to express hepatitis C viral proteins. *J Biol Chem* 276: 12140-6.
- 11) Sekiguchi, S., Kimura, K., Chiyo, T., Ohtsuki, T., Tobita, Y., Tokunaga, Y., Yasui, F., Tsukiyama-Kohara, K., Wakita, T., Tanaka, T., Miyasaka, M., Mizuno, K., Hayashi, Y., Hishima, T., Matsushima, K., and Kohara,

- M., 2012. 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: e51656.
- 12) Pileri, P., Uematsu, Y., Campagnoli, S., Galli, G., Falugi, F., Petracca, R., Weiner, A.J., Houghton, M., Rosa, D., Grandi, G., and Abrignani, S., 1998. Binding of hepatitis C virus to CD81. *Science* 282: 938-41.
  - 13) Liu, S., Yang, W., Shen, L., Turner, J.R., Coyne, C.B., and Wang, T., 2009. Tight junction proteins claudin-1 and occludin control hepatitis C virus entry and are downregulated during infection to prevent superinfection. *J Virol* 83: 2011-4.
  - 14) Ploss, A., Evans, M.J., Gaysinskaya, V.A., Panis, M., You, H., de Jong, Y.P., and Rice, C.M., 2009. Human occludin is a hepatitis C virus entry factor required for infection of mouse cells. *Nature* 457: 882-6.
  - 15) Scarselli, E., Ansuini, H., Cerino, R., Roccasecca, R.M., Acali, S., Filocamo, G., Traboni, C., Nicosia, A., Cortese, R., and Vitelli, A., 2002. The human scavenger receptor class B type I is a novel candidate receptor for the hepatitis C virus. *EMBO J* 21: 5017-25.
  - 16) Evans, M.J., von Hahn, T., Tscherne, D.M., Syder, A.J., Panis, M., Wolk, B., Hatzioannou, T., McKeating, J.A., Bieniasz, P.D., and Rice, C.M., 2007. Claudin-1 is a hepatitis C virus co-receptor required for a late step in entry. *Nature* 446: 801-5.
  - 17) Dorner, M., Horwitz, J.A., Donovan, B.M., Labitt, R.N., Budell, W.C., Friling, T., Vogt, A., Catanese, M.T., Satoh, T., Kawai, T., Akira, S., Law, M., Rice, C.M., and Ploss, A., 2013. Completion of the entire hepatitis C virus life cycle in genetically humanized mice. *Nature* 501: 237-41.
  - 18) Sandgren, E.P., Palmiter, R.D., Heckel, J.L., Daugherty, C.C., Brinster, R.L., and Degen, J.L., 1991. Complete hepatic regeneration after somatic deletion of an albumin-plasminogen activator transgene. *Cell* 66: 245-56.
  - 19) Mercer, D.F., Schiller, D.E., Elliott, J.F., Douglas, D.N., Hao, C., Rinfret, A., Addison, W.R., Fischer, K.P., Churchill, T.A., Lakey, J.R., Tyrrell, D.L., and Kneteman, N.M., 2001. Hepatitis C virus replication in mice with chimeric human livers. *Nat Med* 7: 927-33.
  - 20) Inoue, K., Umehara, T., Ruegg, U.T., Yasui, F., Watanabe, T., Yasuda, H., Dumont, J.M., Scalfaro, P., Yoshida, M., and Kohara, M., 2007. Evaluation of a cyclophilin inhibitor in hepatitis C virus-infected chimeric mice in vivo. *Hepatology* 45: 921-8.
  - 21) Katsume, A., Tokunaga, Y., Hirata, Y., Munakata, T., Saito, M., Hayashi, H., Okamoto, K., Ohmori, Y., Kusanagi, I., Fujiwara, S., Tsukuda, T., Aoki, Y., Klumpp, K., Tsukiyama-Kohara, K., El-Gohary, A., Sudoh, M., and Kohara, M., 2013. A serine palmitoyl-transferase inhibitor blocks hepatitis C virus replication in human hepatocytes. *Gastroenterology* 145: 865-73.
  - 22) Tateno, C., Kawase, Y., Tobita, Y., Hamamura, S., Ohshita, H., Yokomichi, H., Sanada, H., Kakuni, M., Shiota, A., Kojima, Y., Ishida, Y., Shitara, H., Wada, N.A., Tateishi, H., Sudoh, M., Nagatsuka, S., Jishage, K., and Kohara, M., 2015. Generation of Novel Chimeric Mice with Humanized Livers by Using Hemizygous cDNA-uPA/SCID Mice. *PLoS One* 10: e0142145.
  - 23) Sacci, J.B., Jr., Alam, U., Douglas, D., Lewis, J., Tyrrell, D.L., Azad, A.F., and Kneteman, N.M., 2006. Plasmodium falciparum infection and exoerythrocytic development in mice with chimeric human livers. *Int J Parasitol* 36: 353-60.
  - 24) Washburn, M.L., Bility, M.T., Zhang, L., Kovalev, G.I., Buntzman, A., Frelinger, J.A., Barry, W., Ploss, A., Rice, C.M., and Su, L., 2011. A humanized mouse model to study hepatitis C virus infection, immune response, and liver disease. *Gastroenterology* 140: 1334-44.
  - 25) Bility, M.T., Zhang, L., Washburn, M.L., Curtis, T.A., Kovalev, G.I., and Su, L., 2012. Generation of a humanized mouse model with both human immune system and liver cells to model hepatitis C virus infection and liver immunopathogenesis. *Nat Protoc* 7: 1608-17.
  - 26) Tsukiyama-Kohara, K. and Kohara, M., 2014. Tupaia belangeri as an experimental animal model for viral infection. *Exp Anim* 63: 367-74.
  - 27) Fan, Y., Huang, Z.Y., Cao, C.C., Chen, C.S., Chen, Y.X., Fan, D.D., He, J., Hou, H.L., Hu, L., Hu, X.T., Jiang, X.T., Lai, R., Lang, Y.S., Liang, B., Liao, S.G., Mu, D., Ma, Y.Y., Niu, Y.Y., Sun, X.Q., Xia, J.Q., Xiao, J., Xiong, Z.Q., Xu, L., Yang, L., Zhang, Y., Zhao, W., Zhao, X.D., Zheng, Y.T., Zhou, J.M., Zhu, Y.B., Zhang, G.J., Wang, J., and Yao, Y.G., 2013. Genome of the Chinese tree shrew. *Nat Commun* 4: 1426.
  - 28) Xie, Z.C., Riezu-Boj, J.I., Lasarte, J.J., Guillen, J., Su, J.H., Civeira, M.P., and Prieto, J., 1998. Transmission of hepatitis C virus infection to tree shrews. *Virology* 244: 513-20.
  - 29) Amako, Y., Tsukiyama-Kohara, K., Katsume, A., Hirata, Y., Sekiguchi, S., Tobita, Y., Hayashi, Y., Hishima, T., Funata, N., Yonekawa, H., and Kohara, M., 2010. Pathogenesis of hepatitis C virus infection in Tupaia belangeri. *J Virol* 84: 303-11.
  - 30) Tong, Y., Zhu, Y., Xia, X., Liu, Y., Feng, Y., Hua, X., Chen, Z., Ding, H., Gao, L., Wang, Y., Fietelson, M.A., Zhao, P., and Qi, Z.T., 2011. Tupaia CD81, SR-BI, claudin-1, and occludin support hepatitis C virus infection. *J Virol* 85: 2793-802.
  - 31) Jia, Z.S., Du, D.W., Lei, Y.F., Wei, X., Yin, W., Ma, L., Lian, J.Q., Wang, P.Z., Li, D., and Zhou, Y.X., 2008. Scavenger receptor class B type I mediates cell entry of hepatitis C virus. *J Int Med Res* 36: 1319-25.
  - 32) Xu, X., Chen, H., Cao, X., and Ben, K., 2007. Efficient infection of tree shrew (Tupaia belangeri) with hepatitis C virus grown in cell culture or from patient plasma. *J Gen Virol* 88: 2504-12.
  - 33) Barth, H., Cerino, R., Arcuri, M., Hoffmann, M., Schurmann, P., Adah, M.I., Gissler, B., Zhao, X., Ghisetti, V., Lavezzo, B., Blum, H.E., von Weizsacker, F., Vitelli, A., Scarselli, E., and Baumert, T.F., 2005. Scavenger receptor class B type I and hepatitis C virus infection of primary tupaia hepatocytes. *J Virol* 79: 5774-85.
  - 34) Wakita, T., Pietschmann, T., Kato, T., Date, T., Miya-

- moto, M., Zhao, Z., Murthy, K., Habermann, A., Krausslich, H.G., Mizokami, M., Bartenschlager, R., and Liang, T.J., 2005. Production of infectious hepatitis C virus in tissue culture from a cloned viral genome. *Nat Med* 11: 791-6.
- 35) Bitzegeio, J., Bankwitz, D., Hueging, K., Haid, S., Brohm, C., Zeisel, M.B., Herrmann, E., Iken, M., Ott, M., Baumert, T.F., and Pietschmann, T., 2010. Adaptation of hepatitis C virus to mouse CD81 permits infection of mouse cells in the absence of human entry factors. *PLoS Pathog* 6: e1000978.
- 36) Frentzen, A., Anggakusuma, Gurlevik, E., Hueging, K., Knocke, S., Ginkel, C., Brown, R.J., Heim, M., Dill, M.T., Kroger, A., Kalinke, U., Kaderali, L., Kuehnel, F., and Pietschmann, T., 2014. Cell entry, efficient RNA replication, and production of infectious hepatitis C virus progeny in mouse liver-derived cells. *Hepatology* 59: 78-88.
- 37) Scheel, T.K., Simmonds, P., and Kapoor, A., 2015. Surveying the global virome: identification and characterization of HCV-related animal hepaciviruses. *Antiviral Res* 115: 83-93.
- 38) Pfaender, S., Cavalleri, J.M., Walter, S., Doerrbecker, J., Campana, B., Brown, R.J., Burbelo, P.D., Postel, A., Hahn, K., Anggakusuma, Riebesehl, N., Baumgartner, W., Becher, P., Heim, M.H., Pietschmann, T., Feige, K., and Steinmann, E., 2015. Clinical course of infection and viral tissue tropism of hepatitis C virus-like nonprimate hepaciviruses in horses. *Hepatology* 61: 447-59.
- 39) Scheel, T.K., Kapoor, A., Nishiuchi, E., Brock, K.V., Yu, Y., Andrus, L., Gu, M., Renshaw, R.W., Dubovi, E.J., McDonough, S.P., Van de Walle, G.R., Lipkin, W.I., Diversers, T.J., Tennant, B.C., and Rice, C.M., 2015. Characterization of nonprimate hepacivirus and construction of a functional molecular clone. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112: 2192-7.
- 40) Matsuu, A., Hobo, S., Ando, K., Sanekata, T., Sato, F., Endo, Y., Amaya, T., Osaki, T., Horie, M., Masatani, T., Ozawa, M., and Tsukiyama-Kohara, K., 2015. Genetic and serological surveillance for non-primate hepacivirus in horses in Japan. *Vet Microbiol* 179: 219-27.

## Animal model for hepatitis C virus infection

**Kyoko TSUKIYAMA-KOHARA<sup>1)</sup>, Michinori KOHARA<sup>2)</sup>**

1) Kagoshima University

2) Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science

Hepatitis C virus (HCV) infects more than 170 million people in the world and chronic HCV infection develops into cirrhosis and hepatocellular carcinoma (HCC). Recently, the effective compounds have been approved for HCV treatment, the protease inhibitor and polymerase inhibitor (direct acting antivirals; DAA). DAA-based therapy enabled to cure from HCV infection. However, development of new drug and vaccine is still required because of the generation of HCV escape mutants from DAA, development of HCC after treatment of DAA, and the high cost of DAA. In order to develop new anti-HCV drug and vaccine, animal infection model of HCV is essential. In this manuscript, we would like to introduce the history and the current status of the development of HCV animal infection model. .

