

# 論 文 内 容 要 旨

## A novel TK-NOG based humanized mouse model for the study of HBV and HCV infections.

(HBV 及び HCV 感染症研究のための新たな TK-NOG ベースヒト化マウスモデルの検討)

Biochemical and Biophysical Research Communications,  
441:230–235, 2013.

主指導教員：茶山 一彰教授

(応用生命科学部門 消化器・代謝内科学)

副指導教員：田妻 進教授

(病院 総合診療医学)

副指導教員：北台 靖彦准教授

(応用生命科学部門 消化器・代謝内科学)

小酒 慶一

(医歯薬学総合研究科 創生医科学専攻)

## HBV 及び HCV 感染症研究のための新たな TK-NOG ベースヒト化マウスモデルの検討

### 【背景】

B 型肝炎ウイルス (HBV) および C 型肝炎ウイルス(HCV)の研究のための動物実験モデルは有用なものがチンパンジーしかなく、それも費用や倫理的な問題から使用が難しい状況であった。

2001 年に、mouse albumin のプロモータ下に urokinase-type plasminogen activator (uPA)を発現するため自己の肝細胞が傷害されるトランスジェニックマウスと免疫不全の severe combined immune deficient (SCID) マウスを交配させた uPA-SCID マウスの脾臓内にヒト肝細胞を注入することでヒト肝細胞キメラマウスが報告された。このマウスは HBV 及び HCV 感染が可能であるため、肝炎ウイルスの研究が多く行われ、抗ウイルス薬の開発などに大きく貢献した。その一方で、死亡率が高いことやヒト肝細胞移植の生着率向上のために拒絶反応を抑制する処置が必要であるなど、実験を行うのに多くの制約がある。

2011 年に Herpes simplex virus type 1 thymidine kinase (HSVtk) を超免疫不全マウス NOG の受精卵にマイクロインジェクションすることで作製される TK-NOG マウスは、ガンシクロビル GCV の投与によってヒト肝細胞を移植することが発表された。HSVtk を発現したマウス肝細胞は GCV の投与により排斥され、移植されたヒト肝細胞がマウス肝臓内に生着する。

我々はヒト肝細胞が移植された TK-NOG マウスに HBV と HCV を感染させ、このマウスモデルが従来の肝炎ウイルスの研究に用いられてきた uPA-SCID マウスと比較検討した。

### 【方法】

8 週齢の TK-NOG マウスに GCV 6 mg/kg を隔日で 2 回投与した。初回の GCV 注射後 7 日目に、マウスにヒト肝細胞  $1 \times 10^6$  個を脾臓内投与によって移植した。初回 GCV の投与後 7 日後に血清アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) 値を測定した。また移植 8 週間後にヒト肝細胞置換率 (RI) と相関する血清ヒトアルブミン値 (HSA) を測定した。uPA/SCID マウスへのヒト肝細胞の移植は今まで発表された論文に従って行った。

ヒト肝細胞移植 8 週間後、マウスに対して HBV または HCV 陽性ヒト血清のいずれかを  $50 \mu\text{L}$  を静脈内注射した。

マウスは HBV または HCV 感染 8 週間後、ウイルス量が安定した状態において抗ウイルス剤の投与を 3 週間受けた。HBV 感染マウスに、エンテカビル (ETV) 0.3mg/kg/日もしくは 1 日 1 回 7,000 IU/kg の インターフェロン (IFN) - $\alpha$  を投与した。HCV 感染マウスは、1 日に 1 回 1,000 IU/kg の IFN- $\alpha$  または 1 週間に 2 回  $10 \mu\text{g/kg}$  の PegIFN- $\alpha$  2A を投与した。

### 【結果】

## 1. TK-NOG マウスにおける GCV 投与後の血清 ALT 値とヒト肝細胞置換率(RI)の関連

194 頭の TK-NOG マウスを用いて、GCV 初回投与 1 週間後の血清 ALT 値と移植 8 週間後の血清 HSA 値の関係を調べたところ、正の相関を認めた。また移植 8 週間後の TK-NOG マウスにおける HSA 値は同じ条件で移植を行った uPA-SCID マウスと比べると有意に低い値であった。

## 2. TK-NOG マウス及び uPA-SCID マウスにおける肝炎ウイルス感染

肝炎ウイルス血清投与 8 週間後に、ウイルス感染の成立の有無を RI が高値 (  $\geq 70\%$  ) のマウスと低値 (  $< 70\%$  ) のマウス間で比較した。HBV 血清を接種された全ての TK-NOG マウスと uPA-SCID マウスにおいてウイルス感染が成立した。HCV 血清投与後の感染率は TK-NOG マウスでは RI の値に関わらず高率であったのに対して、uPA-SCID マウスでは RI 値が低いマウスでは低率であった。

### 3. 肝炎ウイルスに感染したヒト化マウスに対する抗ウイルス剤の効果の分析

HBV 及び HCV 感染 TK-NOG マウスに投与した抗ウイルス剤の薬効は、uPA-SCID マウスと同等であった。

## 4. 突然死の発生率

ウイルス接種 8 週間以内での突然死の発生率は、TK-NOG マウスと uPA-SCID マウスとの間に差は見られなかった。

### 【考察】

TK-NOG マウスは GCV 投与後の肝傷害が高度なものほど RI が高い特徴があることが示された。また TK-NOG マウスの RI は、uPA-SCID マウスより低値であり、今後の課題であると考えられた。

HCV 血清を投与した場合は、置換率が低値であったマウスにおいても、TK-NOG マウスは uPA-SCID マウスよりも高い割合で感染が成立した。

抗ウイルス剤を投与した HBV 及び HCV 感染 TK-NOG マウスの抗ウイルス効果は uPA-SCID マウスと同程度であった。

### 【結語】

TK-NOG マウスは肝炎ウイルスの研究、抗ウイルス剤の評価のために有用である。