

## 論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 ( 医 学 )	氏名	小酒 慶一
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当		
論 文 題 目			
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)			
論文審査担当者			
主 査	教 授	坂 口 剛 正	印
審査委員	教 授	大 段 秀 樹	
審査委員	准教授	村 上 義 昭	
〔論文審査の要旨〕			
<p>B型肝炎ウイルス(HBV)およびC型肝炎ウイルス(HCV)の研究に有用な動物実験モデルはチンパンジーのみであり、費用や倫理的な問題から使用が難しい状況である。2001年にマウスアルブミンのプロモータ下に 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によりヒト肝細胞キメラマウスが作製され、その有用性が報告された。このマウスはHBV 及びHCVに感染するため肝炎ウイルスの研究に広く用いられ、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の移植が可能となることが報告された。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。著者は、ヒト肝細胞が移植された TK-NOG マウスと従来の肝炎ウイルスの研究に用いられてきた uPA-SCID マウスに HBV と HCV を感染させ、有用性について比較検討した。</p> <p>まず、8週齢の TK-NOG マウスに GCV 6mg/kg を隔日で2回投与した。初回の GCV 注射後7日目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、ヒト肝細胞 <math>1 \times 10^6</math> 個を脾臓内投与によって移植した。移植8週間後にヒト肝細胞置換率(RI)と相関するヒト血清アルブミン値(HSA)を測定した。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 <math>50 \mu\text{L}</math> を静脈内注射した。マウスはHBV またはHCV 感染</p>			

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  $\mu$ g/kgのPegIFN- $\alpha$ -2Aを投与した。

結果は以下のように要約される。

[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。

これらより、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。

以上の結果から、本論文はTK-NOGマウスが肝炎ウイルスの研究や抗ウイルス剤の評価に有用であることを明らかにした点で高く評価される。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士(医学)の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。