HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	New insight into the host and virus interaction of HBV [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	LEONG, CHEAN RING
Description	配架番号：2176
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11694号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/58719
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	LEONG_CHEAN_RING_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　Leong Chean Ring（リョン　チェン　リン）

審査担当者
主査　教授　志田　壽利
副査　教授　坂本　直哉
副査　教授　有川　二郎
副査　准教授　松本　美佐子

学 位 論 文 題 名

New insight into the host and virus interaction of HBV
（HBV に対する宿主応答の解析に関する研究）

Ｂ型肝炎ウイルス（HBV）は肝硬変や肝細胞癌（HCC）を引き起こす病原体であり、HBV 感染は重大な公衆衛生上の問題となっている。ウィルス発見以来、基礎から臨床にわたり様々な研究がなされてきたが，in vivo での有用な HBV 感染モデルが存在しなかったことから、HBV の示す病原性について研究を進めることが困難であった。そのため、現在でもその病態発症機構は不明のままである。本申請者は hydrodynamic injection 法を用いて様々なノックアウトマウスの肝臓に HBV の全ゲノムを含むプラスミドを導入することにより、宿主病原体の相互作用を検討した。この感染系において、WT マウスでは一過性に血中の HB s 抗原や HBV DNA が検出されるようになり、時間経過とともに消失した。病原体由来の RNA 認識経路における必須なアダプタータンパク質である MAVS 及び TICAM-１欠損マウスにおいては、血中の HB s 抗原や HBV DNA 量は WT マウスと同様であった。一方、*Ifnar*$^{-/-}$及び *Irf-3/7*$^{-/-}$マウスにおいては HB s 抗原および HBV DNA 量の上昇が認められた。さらに、DNA 認識経路に重要な膜貫通型の MyD88 欠損マウスにおいては、HB s 抗原が持続的に検出された。これらのことから、自然免疫応答が獲得免疫系の活性化と連携して特異的な免疫応答発動へと導く経路が HBV の排除に関与することが考えられた。

発表後、副査の有川二郎教授により、hydrodynamic injection 法の詳細とプラスミドの導入効率について質問があり、申請者は hydrodynamic injection 法はプラスミドベクター等をマウスの尾静脈から体重の 10%相当という多量の緩衝液と共に 5 から 7 秒間で一気に注入することで、肝臓特異的に効率よく遺伝子を導入できる方法であると回答した。次に本実験系では、どこまで自然感染における HBV のライフサイクルを模しているかについて質問があり、Hydrodynamic injection 法により HBV RNA の転写、翻訳および同時に起こるゲノム複製，ウイルス粒子形成について自然感染時の HBV のライフサイクルを模していると回答した。最後に、免疫応答は使用されたウィルス株によって異なるかについての質問があり、本研究では B 型の HBV に対してのみ実験を行ったが、宿主病原体相互作用がウィルス株によって異なることは十分考えられると回答し

た。

そして、副査の松本美佐子准教授より、MyD88 経路が HBV に対する抗体産生に関与する機序について質問があり、Ｂ細胞に比べて CD4 や CD8 T 細胞おける TLR9 の発現量が非常に低いことから、MyD88 経路はＢ細胞の活性を制御していると考えられると回答した。

続いて、副査の坂本直哉教授により、肝組織内 HBV に対する自然免疫系が活性化し獲得免疫応答を導く経路およびその応答を引き起こす細胞について質問があり、HepG2 や Huh7 などの肝細胞株においては HBV の全ゲノムを含めたプラスミドを導入してもⅠ型 IFN 免疫応答が認められず、その原因として肝細胞質内での DNA の認識機構が不十分であることが考えられ、樹状細胞やマクロファージなどの Non-parenchymal 細胞が cGAS-STING の認識機構を介して HBV DNA に応答すると考えられると回答した。

最後に、主査の志田壽利教授により、本研究の in vivo 実験系とヒト肝細胞を持つキメラマウスとの比較に関する質問があり、キメラマウスは T 細胞、B 細胞を持たない SCID マウスであるため、HBV の自然感染が可能であるものの、宿主病原体相互作用を検討することが出来ないのに対して、本研究で用いた hydrodynamic injection 法は人工的な手法であるが、多様な遺伝子組み換えマウスを用いることができるため、ウィルスが体内に侵入してきた際に引き起こされる免疫応答の分子制御機構の解明ができると回答した。

上記のように申請者はいずれの質問の対しても、*Journal of Innate Immunity* にも公表した自らの研究や既報論文等を引用し、適切に回答した。

本研究は HBV の宿主病原体相互作用に関する基盤的研究として高く評価され、現在 in vivo モデルの存在しない HBV に対する宿主応答を検討する実験系の確立に重要な知見がもたらされると期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士〈医学〉の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。