

Title	Tissue-Specific Expression and Replication of Hepatitis B Virus DNA in Transgenic Mice
Author(s)	荒木, 喜美
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	http://hdl.handle.net/11094/2194
DOI	
rights	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名・(本籍)	あら	き	き	み
学位の種類	荒	木	喜	美
学位記番号	理	学	博	士
学位授与の日付	第	9039	号	号
学位授与の要件	平成2年3月24日			
学位論文題目	理学研究科生理学専攻 学位規則第5条第1項該当			
論文審査委員	Tissue-Specific Expression and Replication of Hepatitis B Virus DNA in Transgenic Mice (B型肝炎ウイルス(HBV)を用いたトランスジェニック マウスにおけるHBVの組織特異的発現と複製)			
	(主査)	教授 松原 謙一		
	(副査)	教授 谷口 維紹	教授 小川 英行	

論文内容の要旨

B型肝炎ウイルス(HBV)は肝炎の原因となるウイルスであり、その持続感染において高率に肝硬変から肝癌に移行するが、ヒトとチンパンジーにしか感染しないため、その発症機構は未だ不明な点が多い。我々は、肝炎モデルマウスの作成を目的として、HBV DNAを用いたトランスジェニックマウスを作成した。

作成には2種類のDNAを用いた。HB-G IIはHBVの表面抗原(HBs Ag)のみが作られるような構造であり、もう1つの1.2HB-BSは、3.5 kb プレゲノムRNAを含め、HBVの全ての転写産物が合成可能な構造をとっている。これらのDNAをC57BL/6の受精卵に注入し、トランスジェニックマウスを作成した。その結果、HB-G IIでは10匹、1.2HB-BSでは8匹のマウスが得られた。血清中のHBs Ag Titer を調べたところ、HB-G II 26と1.2HB-BS 10が高発現マウスであり、他は低発現又は全く発現のないマウスであった。

発現の組織特異性をRNA blot analysisで調べたところ、高発現マウスでは正常なHBVの転写が肝、腎特異的におこっていた。又、これらのマウスでは、発現している組織とHBV-DNAが低メチル化状態である組織が一致しており、発現の組織特異性にはDNAのメチル化が深く関係していると予想された。

次に、1.2HB-BS 10について詳細に解析を行った。このマウスは3.5 Kb プレゲノムRNAを作っているため、HBVが複製していることが予想されたからである。まず肝細胞質に複製中間体であるcore抗原(HBc Ag)粒子が存在するかどうかを、ショ糖密度勾配遠心により調べた。その結果、HBc Ag Titer のピークはcore粒子の位置と一致し、その分画にはHBV DNAが存在した。さらに、

その core 粒子内のHBV DNAを解析したところ、一本鎖DNAと部分的2本鎖であることがわかり、HBVの複製が起きていることが証明された。又、このマウス血清を集め、電子顕微鏡で観察したところ、HBV粒子が検出された。以上の結果より、このマウスの肝及び腎で、3.5 kb プレゲノムRNAから逆転写によりHBV genome DNAが合成され、matureなHBV粒子として、血中に分泌されていることが明らかになった。

この1.2 HB-BS10マウスにHBs Ag又はHBc Agで免疫したところ、これらに対する抗体が産生された。特に、HBs抗体の出現により、血中のHBV粒子は消失することがわかった。

以上のように、我々はHBs Agのみ産生するマウスとHBVが複製しているマウスの作製に成功した。これらのマウスは、HBVや、HBVに関連した肝炎、肝癌、免疫機構などの研究に役立つと考えられる。

論文の審査結果の要旨

B型肝炎ウィルスは、ヒトとチンパンジーの肝臓でしか増殖しないために、そのウィルス学的、分子生物学的研究が不可能であった。ところが、本論文において、ウィルスゲノムを組み込んだトランスジェニックマウスが得られたことを示し、さらにそのマウスの肝臓と腎臓で本ウィルスが、出生前後から形質発現を行うことを著者は示した。これは、関連分野の研究者に一様に驚きであり、また、本マウスがこれからのウィルス研究・免疫学的ふるまいに関する研究に重大なブレークスルーを与えることを保証するものである。

染色体上の組込み部位が遺伝子の発現に影響を与えることも発見の中に含まれており、同様の目的で仕事を行っていた多くの競争者を圧倒して見事な成果を挙げたものと評価できる。学位論文として十分価値あるものと認められる。