



Title	Tissue-Specific Expression and Replication of Hepatitis B Virus DNA in Transgenic Mice
Author(s)	荒木, 喜美
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/2194
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	荒木喜美
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 9039 号
学位授与の日付	平成 2 年 3 月 24 日
学位授与の要件	理学研究科生理学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	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)
論文審査委員	(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 (HBsAg) のみが作られるような構造であり、もう 1 つの 1.2 HB-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、1.2 HB-BS では 8 匹のマウスが得られた。血清中の HBsAg Titer を調べたところ、HB-G II 26 と 1.2 HB-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、1.2 HB-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 を作っているので、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 (HBcAg) 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、HBcAg 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 H B V D N A を解析したところ、一本鎖→D N A と部分的 2 本鎖であることがわかり、H B V の複製が起こっ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、H B V 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 k b プレゲノム R N A から逆転写により H B V genome D N A が合成され、mature な H B V 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 H B - B S 1 0 マウスに H B s Ag 又は H B c 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、H B s 抗体の出現により、血中の H B V 粒子は消失することがわかった。

以上のように、我々は H B s Ag のみ産生するマウスと H B V 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、H B V や、H B V 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。