The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Immunological responses against hepatitis B virus in human peripheral blood mononuclear cell-engrafted mice
Author(s)	青野, 悟志
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72508
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）青野　悟志

		(職)	氏　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	竹原徹郎
	副　査	大阪大学教授	上田隆次
	副　査	大阪大学教授	山口朗

論文審査の結果の要旨

B型肝炎ウイルス（HBV）などのヒト特異的感染症の研究のため、臓器や免疫をヒト化したマウスモデルの作成が求められている。そこでNOD/SCIDマウスを背景に作製された高度な免疫不全状態にあるNOGマウスと、NOGマウスのMHC classI/IIをダブルノックアウトしたマウス（DKO-NOGマウス）を作製し、ヒト末梢血リンパ球（PBMC）を移植した。PBMC移植NOGマウスは2か月以内にほぼ死亡したが、PBMC移植DKO-NOGマウスは全て2か月以上生存した。いずれのマウスもT細胞優位なヒトリンパ球生着を認めたが、生着するT細胞はDKO-NOGマウスで疲弊が少なく、B細胞、樹状細胞もDKO-NOGマウスで長期に残存する傾向が見られた。HBVを発現させたDKO-NOGマウスにPBMCを移植すると、HBV由来ペプチド特異的なCTLの誘導が確認された。PBMCを移植したDKO-NOGマウスにHBVワクチン接種するとHBs抗体産生を認めた。以上よりPBMCを移植したDKO-NOGマウスはB型肝炎ウイルスに対する免疫応答解析が可能であった。本研究は、免疫応答可能な免疫ヒト化マウスの構築に大きく寄与するものであり、学位に値すると考える。

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	青野　悟志
論文題名 Title	Immunological responses against hepatitis B virus in human peripheral blood mononuclear cell-engrafted mice (ヒト末梢血リンパ球移植マウスにおけるB型肝炎ウイルスに対する免疫応答)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

B型肝炎ウイルス（HBV）などのいくつかのヒト感染症では実験系に齧歯類を用いることが出来ないため、その際に臓器や免疫をヒト化したマウスモデルの作成が求められている。免疫不全マウスを用いた肝臓ヒト化マウスによる肝炎研究が進む一方、ウイルス性肝炎の病態解明に必要となる免疫ヒト化マウスの構築は未だに進んでいない。免疫ヒト化マウス作成にはヒト免疫細胞生着が可能な免疫不全マウスが必要であるが、NOGマウスはNOD/SCIDマウスを背景にIL-2レセプターを欠損しており、T、B細胞欠損だけでなく、NK細胞欠損、マクロファージ、樹状細胞の機能低下、補体活性低下を認め、より効率のいい免疫細胞生着が可能と報告されている。我々は、NOGマウス及びMHC classⅠ及びⅡを欠損させたNOGマウス（*NOG-IaB/B2m double KO*、以下DKO-NOGマウス）を構築し、さらにこれらのマウスに末梢血リンパ球（PBMC）を移植した免疫ヒト化マウスを作成し、HBVに対する免疫応答を解析した。

〔方法(Methods)〕

NOGマウス及びDKO-NOGマウスを構築し、これらのマウスにPBMCを移植した。各マウスにおいてヒトリンパ球の解析、肝臓の病理学的検索、血清ALT及び炎症性サイトカインの測定、T細胞の疲弊マーカーの測定を行った。次に免疫ヒト化DKO-NOGマウスにHBVコア由来ペプチドを添加した樹状細胞を投与し、HBVコア特異的障害性T細胞（CTL）の誘導を解析した。さらにhydrodynamic法にてHBVを発現したマウスにPBMCを移植し、同様にCTL誘導を解析した。またヒト肝がん細胞及びHBV感染肝がん細胞をマウスの脾臓より脾注肝転移させ、その後にPBMCを移植し、同様にCTL誘導を検討した。次に免疫ヒト化DKO-NOGマウスにB型肝炎ワクチンを投与し、血清HBs抗体価を測定した。

〔成績(Results)〕

PBMC移植後のマウス肝はNOGマウスで継時的に肝細胞障害を認めた。一方DKO-NOGマウスでは肝細胞障害を認めず、移植後15、29日目の血清ALT値もNOGマウスで有意に高値であった。また累積生存率はDKO-NOGマウスで有意に延長された。各マウス肝において継時的にT細胞優位なヒトリンパ球置換を認めるが、移植後15日目DKO-NOGマウスで肝由来T細胞は疲弊マーカー（PD-1、TIM-3）の発現が有意に低く、B細胞、樹状細胞の分画も有意に高値であった。また15日目の血清中のIFN-γ、IL-10の発現はNOGマウスにおいて有意に高値であった。免疫ヒト化DKO-NOGマウスにHBVコアペプチドを添加した樹状細胞を投与すると、HBVコアペプチド特異的CTLの誘導が確認された。またhydrodynamic法によってHBVを発現した免疫ヒト化DKO-NOGマウスにおいてもHBVコアペプチド特異的CTLの誘導が確認された。またHBV感染ヒト肝がん細胞を移植したDKO-NOGマウスにおいてもHBVコアペプチド特異手的CTLが誘導しえた。さらに免疫ヒト化DKO-NOGマウスにHBVワクチンを投与すると50％のマウスで血清中HBsの産生を認めた。

〔総　括(Conclusion)〕

DKO-NOGマウスはPBMC移植免疫ヒト化マウスモデルに有用であり、B型肝炎ウイルスに対する免疫応答解析も可能であった。