

Title	Hepatitis C virus infection suppresses hepatitis B virus replication via the RIG-I-like helicase pathway.
Author(s)	村井, 一裕
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/76238
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

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 村井 一裕			
論文審査担当者		(職)	氏 名
	主 査	大阪大学教授	竹原 敬中
	副 査	大阪大学教授	上田 隆次
	副 査	大阪大学教授	熊 御 子
論文審査の結果の要旨 B型肝炎ウイルス (HBV) ・ C型肝炎ウイルス (HCV) 共感染患者に対するdirect antiviral agent (DAA) 治療ではHBVが再活性化することがある。HCV感染のHBV複製への影響を解明することを目的とした。 初代培養ヒト肝細胞やヒト化肝細胞キメラマウスにHBV, HCVを接種した。共感染群ではHBV単独感染群に比べHBV産生は低下し、Rig-I like helicase (RLH) 経路 (RIG-I, ISG15, ISG56) の発現量は高かった。共感染マウスに対しDAAでHCVを排除すると、HBV産生は上昇し、RLH経路の発現量は低下した。 慢性肝疾患患者の肝生検試料ではC型慢性肝炎患者ではB型慢性肝炎患者、非B非C肝疾患患者に比べRLH経路の発現量は高かった。DAA治療前後の肝生検検体では治療前に比べ治療後ではRLH経路の発現は低下していた。 本論文はHCVによるRLH経路の活性化が共感染時にHBV増殖を抑制する可能性を示しており、学位の授与に値すると考えられる。			

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	村井 一裕
論文題名 Title	Hepatitis C virus infection suppresses hepatitis B virus replication via the RIG-I-like helicase pathway. (C型肝炎ウイルス感染はRIG-I-like helicase経路を介してB型肝炎ウイルス複製を抑制する)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕 B型肝炎ウイルス (HBV)・C型肝炎ウイルス (HCV) 共感染患者に対する直接作用型抗ウイルス薬 (DAA) 治療では、HCV排除後にHBVが再活性化する症例を認める。肝不全をきたす症例もあり、死亡例も報告されている。しかしながらHCV排除後のHBV再活性化の機序は明らかでない。そこでHBV・HCV共感染患者でHCV排除によりHBV再活性化が誘導される機序を解明することを目的とした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 <i>in vitro</i>ではヒト化肝細胞キメラTK-NOGマウスから単離した初代培養ヒト肝細胞 (PHH) にHBV組み込み細胞 (HepG2. 2. 15) 由来HBV及び劇症肝炎患者由来HCV株 (JFH-1株) を接種した。PHHにHBV (500 genome equivalent (GEq)/cell) を接種し24時間培養すると、4日後には培養上清中にHBV DNAおよびHBs抗原を検出し、蛍光免疫染色で84.6 ± 0.9%の割合でHBV core蛋白 (HBc) 陽性となりHBV感染を確認した。9日後にはHBc陽性細胞を同様に77.2 ± 11.7%の割合で検出した。PHHにHCVを接種し72時間培養すると、5日後に培養上清中にHCV RNAを検出した。また蛍光免疫染色ではHCV非構造蛋白5A (NS5A) 陽性細胞を46.4 ± 4.9%の割合で認めたが、10日後にはNS5A陽性細胞は検出できなかった。HCV接種5日後にはRIG-I-like helicase (RLH) 経路であるRIG-I、ISG15、ISG56の発現は上昇した。PHHにHCVを接種し72時間培養した後に、HBVを接種し24時間培養すると、4日後に全細胞の43.9 ± 5.1%でHBc陽性かつNS5A陽性となり、共感染が成立することを確認した。9日後の培養上清中のHBV DNA、HBs抗原は、HBV単独感染群に比して有意に低かった。また4日後のRIG-I、ISG15、ISG56の発現は有意に高く、細胞内pregenomic RNA (pgRNA) 量は有意に低かった。ISG15、ISG56をsiRNAで抑制し、3日後に同様に再度ISG15、ISG56をsiRNAで抑制した上でHCVを接種して3日後にHBVを共感染させたところ、コントロールsiRNA投与群に比して、それぞれ単独の抑制ではpgRNAは変化しなかった。一方でISG15、ISG56を共に抑制するとコントロールsiRNA投与群に比してpgRNAの発現量は上昇した。<i>in vivo</i>ではヒト化肝細胞キメラマウスに患者血清由来HBV及びHCVを接種した。キメラマウス (n=3) にHCVを接種し、その4週間後にHBVを接種するとHBV接種2週間後より血清中にHBV DNA、HCV RNAを共に検出し、共感染が成立した。HBV・HCV共感染キメラマウスはHBV単独感染キメラマウス (n=3) に比し、HBV感染4週間後、8週後の血清HBV DNAは有意に低く、HBV感染8週後の肝組織中のpgRNA、cccDNA発現量も低かった。また肝組織中のRLH経路の発現量は高値であった。共感染マウスに対してHCV感染12週間後 (HBV感染8週間後) にDAA (asunaprevir: 40 mg/kg +daclatasvir: 30 mg/kg +becclabuvir: 20 mg/kg) を4週間経口投与するとDAAを投与した全てのマウスでDAA開始2週間後には血清中HCV RNAは陰性化した。DAA投与群のマウスでは、治療開始前に比して血清中HBV DNAは有意に上昇し、肝組織中のpgRNA、cccDNA発現量も上昇し、RLH 経路の発現量は低下した。次に慢性肝疾患患者の肝生検試料 (n=65) を用いて肝組織中のRLH 経路の発現量を解析した。C型慢性肝炎患者の肝組織中のRLH 経路の発現量は非B非C肝疾患患者、B型慢性肝炎患者に比して高値であった。またDAA治療前後で肝生検検体が得られた7例でHCV排除前後のRLH経路の発現量を解析したところDAA治療前に比して治療後ではRLH経路の発現量は有意に低下した。 〔総括(Conclusion)〕 HBV・HCV共感染時にはHCVによるRLH経路の活性化がHBV増殖を抑制し、DAA治療によりHCVを排除するとRLH経路活性化の減弱によりHBVが再活性化することが示唆された。	