

Title	Capsid Allosteric Modulators Enhance the Innate Immune Response in Hepatitis B Virus-Infected Hepatocytes During Interferon Administration
Author(s)	福富, 啓祐
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/87707">https://hdl.handle.net/11094/87707</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

論 文 内 容 の 要 旨  
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	福 富 啓 祐
論文題名 Title	Capsid Allosteric Modulators Enhance the Innate Immune Response in Hepatitis B Virus-Infected Hepatocytes During Interferon Administration (カプシド形成阻害剤はインターフェロン投与下においてB型肝炎ウイルス感染肝細胞の自然免疫応答を増強する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕 カプシド形成阻害剤 (Capsid allosteric modulator: CAM) はB型肝炎ウイルス (HBV) の複製過程でHBV pregenomic RNA (pgRNA) がカプシドへ内包化されるのを阻害する。pgRNAはpathogen-associated molecular pattern (PAMP) モチーフを有し、宿主のパターン認識受容体であるRIG-Iを介して自然免疫応答を惹起することが報告されている一方で、慢性感染状態においてHBVは宿主自然免疫を回避しているとも言われている。本研究ではCAMがHBV感染肝細胞内におけるpgRNAの動態に及ぼす変化ならびに宿主自然免疫に与える影響を検討することを目的とした。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 初代培養ヒト肝細胞 (Primary human hepatocytes: PHHs) に HepAD-tet 細胞株由来の HBV を 100 または 1000 GEq/cell で接種し、細胞内のコア蛋白 (Hbc) ならびに pgRNA 量を測定すると、感染 12 時間後には 100 または 1000 GEq/cell の感染でそれぞれ 27.3%±2.5%、73.2±3%の細胞で Hbc が陽性となり、Hbc 陽性細胞割合は感染 20 日後まで変化しなかった。一方で、細胞内 Hbc 量ならびに pgRNA 量は感染 12 時間後から 20 日後にかけて有意に増加した。感染 12 時間後ならびに 20 日後における Interferon stimulated gene (ISG) である OAS1, MX1, ISG56 の発現量は HBV 感染の有無で有意な変化を示さず、HBV 感染により宿主のインターフェロン (IFN) 応答は惹起されないことが示唆された。HBV 感染および非感染 PHHs に RIG-I/TLR3 アゴニストである Poly(I:C) を投与すると、IFNs、ISGs の遺伝子発現が同程度に上昇することを確認した。  PHHs に 1000 GEq/cell の HBV を接種し、20 日後から CAM である BAY41-4109 (BAY41) を 2 日、6 日、12 日間投与して抗ウイルス効果を検討した。2 日後から 12 日後にかけて細胞内 Hbc は BAY41 投与で有意に減少し、12 日後の培養上清中の HBV DNA は BAY41 投与で有意に低下した。BAY41 投与 2 日後に細胞質の pgRNA ならびにカプシド内の pgRNA (Core-associated pgRNA) を抽出して検討したところ、BAY41 投与で細胞質の総 pgRNA 量は無治療に比して変化しないものの、Core-associated pgRNA は有意に減少したため、カプシドに内包されない pgRNA が増加することが示唆された。BAY41 の投与では RIG-I 関連遺伝子ならびに ISG の遺伝子発現に有意な変化を認めなかった。HBV 感染 PHHs に IFN $\alpha$ を投与すると抗 HBV 効果を有する ISG (OAS1, MX1, ISG56) に加えて RIG-I、IRF7 も誘導され、BAY41 を併用するとこれらの遺伝子発現は更に有意に上昇した。一方、BAY41 併用による ISG の発現増強は非感染 PHHs では認められなかった。IFN $\alpha$ 投与下に BAY41 を併用すると、IFN $\alpha$ 単剤および BAY41 単剤と比較し細胞内 cccDNA 量の減少は認めないものの、培養上清中の HBV DNA は有意に低下した。  HBV感染ヒト肝細胞キメラマウスにBAY41 40mg/kg 2回/日を2週間投与すると、単剤投与 (n=5) ではIFNs、ISGsの遺伝子発現上昇は認めなかったが、PegIFN $\alpha$ 2a (25 $\mu$ g/kg 2回/週)とBAY41とを併用 (n=5) すると、PegIFN $\alpha$ 2a単剤 (n=4) により上昇する肝内のISGs遺伝子発現が更に上昇した。血清HBV DNAはBAY41単剤ではVehicle投与群 (n=4) に比して有意な低下がみられなかったが、PegIFN $\alpha$ 2a単剤投与群では有意に低下し、BAY41・PegIFN $\alpha$ 2a併用群ではPegIFN $\alpha$ 2a単剤よりも更に有意な低下がみられた。	
〔総括(Conclusion)〕 CAMはHBV感染肝細胞において、IFNに誘導される抗ウイルス活性をもつISGの発現を更に増強する。	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 福富 啓祐	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 竹石 敏中
	副 査 大阪大学教授 江口 英利
	副 査 大阪大学教授 上田 啓次
論文審査の結果の要旨	
<p>B型慢性肝疾患の治療目標は血清HBs抗原の持続陰性化であるが、現行の治療薬である核酸アナログならびにインターフェロン（IFN）によるHBs抗原陰性化率は低く、異なる作用機序をもつ新規薬剤の開発と臨床応用が望まれる。本論文はB型肝炎ウイルス（HBV）に対する新規抗ウイルス薬であるカプシド形成阻害剤（CAM）の作用機序に着目し、CAMがpgRNAのカプシド内包化を阻害することで細胞質においてカプシドに内包されないpgRNAを増加させる可能性、ならびにIFN<math>\alpha</math>との併用下においてIFN誘導性の抗ウイルス効果をもつinterferon stimulated genes（ISG）の遺伝子発現を更に増強することを報告した。これらの成果は今後の新たな抗HBV治療開発に資する重要な知見である。よって本論文は博士（医学）の学位授与に値する。</p>	