

ヒト肝細胞キメラマウスに由来する新鮮ヒト肝細胞(PXB-cells)を用いたB型肝炎ウイルス不活化検討
Investigation of hepatitis B virus inactivation using fresh human hepatocytes isolated from humanized mouse liver (PXB-cells).

山尾 美香留¹、小川 裕子¹、吉実 康美¹、山崎ちひろ¹、石田 雄二^{1,2}、立野 知世^{1,2}

¹株式会社フェニックスバイオ 研究開発部

²広島肝臓プロジェクト研究センター

Mikaru Yamao¹, Yuko Ogawa¹, Yasumi Yoshizane¹, Chihiro Yamasaki¹, Yuji Ishida^{1,2}, Chise Tateno^{1,2}

¹PhoenixBio Co., Ltd.

²Liver Research Project Center, Hiroshima University

【目的と意義】

B型肝炎ウイルス(HBV)はエンベロープを持つDNAウイルスであるが、一般的なエンベロープを持つウイルスに比べ消毒薬抵抗性が高いとされている。これまで、定量的で再現性の高いHBV感染モデルが無かったことから、HBVの不活化条件に関する詳細な報告は少ない。我々はこれまでに、cDNA-uPA/SCIDマウスを宿主として作製したヒト肝細胞キメラマウス(PXBマウス[®])から分離した新鮮ヒト肝細胞(PXB-cells)を用いて、HBV持続感染 *in vitro* モデルを確立している。今回、HBVを弱酸性次亜塩素酸水(Solution Water[®], SW)を用いて様々な条件で処理し、HBV持続感染 *in vitro* モデルを用いて、その不活化効果を定量的に評価出来るか検討を行った。

【材料と方法】

PXBマウス(置換率90%前後)から分離したPXB-cellsをプレートに播種し、播種1日後にHBV(5 genomes/cell)を感染させた。HBVにSW(塩素濃度0~180 ppm、作用時間30秒~2時間)、もしくは次亜塩素酸ナトリウム水溶液(陽性コントロール、塩素濃度1200 ppm)を加え処理した後、PXB-cellsに添加した。感染12日後に、培養上清中のHBV DNA量をqPCRで定量し、さらに免疫染色でHBsAg陽性細胞数を評価した。

【結果】

培養期間を通して、PXB-cellsは高いviabilityとアルブミン産生能を維持していた。SWおよび次亜塩素酸ナトリウムの明らかな細胞毒性は認められなかった。SWをHBVに2時間作用させたところ、SWの塩素濃度依存的に培養上清中のHBV DNA量が減少した。SWは塩素濃度150 ppm以上で塩素濃度1200 ppmの次亜塩素酸ナトリウム水溶液と同等の不活化効果を示した。またSWは、塩素濃度180 ppmで30秒間処理すれば、塩素濃度150 ppmで2時間処理したものと同等の効果を示す事が明らかとなった。さらに、免疫染色によりHBsAg抗体陽性細胞数を比較したところ、HBV DNA量の結果と同様に、塩素濃度150 ppm以上のSWで処理した群において陽性細胞は認められなかった。

【考察】

以上の結果から、本感染モデル系はHBVの不活化条件の検討やウイルス粒子の感染性を解析する上で、定量性を示す有用なモデルである事が示された。