

第6回 広島肝臓プロジェクト研究センターシンポジウム ホテルグランビア

平成22年6月4日

(タイトル)

定量性 PCR による HBV 感染ヒト肝細胞キメラマウス血清中及び肝臓中 cccDNA 量の解析

(演者)

石田雄二 眞田春美 加国雅和 島田卓 茶山一彰 立野知世

(要旨)

(目的) Covalently closed circular DNA (cccDNA) は、HBV 複製の際にウイルス RNA 産生の鋳型となるため、cccDNA 量の解析は抗 HBV 薬の効果等を検討する上で非常に重要と考えられる。そこで今回我々は、HBV 感染キメラマウスが cccDNA 解析のモデル動物となるかを検証するため、定量性リアルタイム PCR を用いてキメラマウス血清中と肝臓中の cccDNA 量を測定し、HBV 感染患者の結果と比較した。(方法) ドナーの異なる 3 種類のヒト肝細胞を用いてキメラマウス (全 12 匹) を作製し、HBV (genotype C) を接種した。HBV の感染が成立した後に剖検を行い、血清と肝臓組織を採取した。採取したサンプルをもとに、HBV DNA の量を定量すると共に、Takkenberg らの方法 (2009, J. Medical Virology) を用いて、リアルタイム PCR による肝臓組織及び血清中の cccDNA の定量を行った。(成績) キメラマウスでは 12 匹全ての血清と肝臓組織から cccDNA が検出された。cccDNA と HBV DNA の量は、血清中でも肝臓中でも高い相関性がみられ、その量比 (cccDNA : HBV DNA) は、血清中では約 1 : 3000、肝臓中では約 1 : 100 であった。またドナー間でこれらの量比を比較したところ、大きな違いは無かった。(考案) キメラマウス血清中および肝臓中の cccDNA と HBV DNA の量比は、これまでに報告されているヒトでの cccDNA と HBV DNA の量比とほぼ同等であった。キメラマウスは、ヒトでは測定が困難な治療後の肝臓における cccDNA や HBV DNA の測定が可能であるため、新薬の薬効評価、メカニズムの解析に有用と考えられた。また、今回のキメラマウスを用いた実験結果から、PCR 法によって検出される多量の血清中 cccDNA の実体についても考察する予定である。(結語) HBV に感染したヒト肝細胞キメラマウスは、cccDNA の解析を行う上でも有用なモデル動物になりえると考えられた。