

## 総括研究報告書

研究課題名：感染症実用化研究事業 肝炎等克服実用化研究事業 ii

「ツパイ全ゲノム解析に基づく B 型肝炎ウイルス感染症感受性小動物モデルの開発に関する研究」

2. 研究開発代表者：公益財団法人東京都医学総合研究所 ゲノム医科学研究分野 プロジェクトリーダー 小原 道法 シニア研究員

### 3. 研究開発の成果：

HBV に対して自然免疫を維持したまま感受性を持つツパイにおいて飼育管理・繁殖・育成方法を確立した。これまでの繁殖率、離乳率、育成率のいずれも過去の報告を上回るものであった。70 頭の F0 ツパイから約 350 頭の F1 ツパイを得た。平均の産児数は約 3 頭で、離乳率は約 60%であった。

新生ツパイへ HBV 感染血清を接種した。全ての感染個体血清中から HBV 遺伝子が検出されている。これらの新生児を主とした感染系をさらに増加させ、長期持続感染の有無、並びに肝炎等の病態の観察を行っている。ツパイに HBV を感染すると、肝炎を引き起こし、また持続的に感染することが明らかとなり、ツパイがヒトにおける HBV 感染モデル動物として有用であることが明らかとなった。持続感染を示したツパイに関してはウイルスの詳細な検討も必要と考えられる。加えて宿主側因子の解明の必要性もある。

また HBV 分子クローンも作製されたことから、HBV 高感受性ツパイ系統の樹立に向けて大きく期待できることとなった。さらに、ツパイ高感染性ウイルス株の選択とウイルス高感受性ツパイ系統の樹立などを通じて、HBV-ツパイ感染実験系の精度を高め、ウイルスの病原性や種々の治療法の効果を、より効率よく詳細に解析できる様にしていく。ツパイは、チンパンジーよりも小型で寿命が短く、マウスよりもヒトに近い遺伝情報を持っており、今後 HBV 研究並びに各種治療薬の効果判定に威力を発揮する可能性が期待できる。これらの解析を進めるために、これまで進めてきた全ゲノム解析に加えて次世代シーケンサーによる網羅的 mRNA 発現解析を行った。これにより正確なツパイ遺伝子配列が明らかとなり、cDNA 構築及び抗体の作成を進めている。

これらツパイにおける HBV 感染の評価系の確立について検討を進め、臨床検査で用いられる、自動免疫測定システムによる高感度 HBs 抗原測定系 (HBsAg-HQ) および超高感度 HBs 抗原測定系を応用して、HBV を感染させたツパイ血清中の HBs 抗原の測定に成功した。

HBs 抗原+HBc 抗原の治療ワクチン接種による免疫治療は安全で、かつ HBV-DNA および ALT を持続陰性化する治療法となりうることが証明された。また、HBV 持続感染ツパイモデルでも効率の良い HBs および HBc 抗体誘導が確認された。今後、同 HBV 持続感染ツパイモデルを用いて、HBs 抗原+HBc 抗原の治療ワクチンの免疫機序を解析していくとともに、ワクチンの投与量、投与方法を含めた、より治療効果の高い治療法の確立を目指す。

HBV 持続感染ツパイ個体は自然免疫・獲得免疫系が正常であることから、治療ワクチンやアジュバント活性、HBV 蛋白質を標的にした HBV-siRNA や阻害剤の評価などに使用でき、新たな治療法の開発に貢献できる可能性は高い。繁殖体制を確立し、利用者に提供できる環境の確立を目指す。