

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	Yao Wan-Ling
論文題目	Generation of hepatocellular cell line capable of supporting the full replication cycle of Hepatitis B Virus (B型肝炎ウイルスの完全複製を支持する肝細胞株の樹立)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>B型肝炎ウイルス (HBV) は従来細胞培養での増殖が極めて難しく、その複製サイクルを体外で再現することは困難であった。本論文では肝癌細胞由来の HepG2 株を人工的に改変することにより、新たな細胞株を樹立し、HBV 複製サイクルを再現することに成功した。まず、HBV の侵入受容体であるヒト NTCP を強制発現し、さらに抗ウイルス自然免疫を担う RIG-I 様受容体のノックダウンを行って NtG20.i7 株を得た。NtG20.i7 は HBV に高い感受性を示し、感染後 14 日からその複製が明らかに認められ、それ以後 35 日まで徐々に感染が拡大することが認められた。また培養上清中には感染性の HBV 粒子が放出されていることが確認された。NtG20.i7 の HBV 長期感染においてその維持機構を明らかにするために、ウイルス侵入を阻害する preS1 ペプチドを加えると感染維持が低下すること、またウイルスタンパク質発現には直接不必要であるが、新たな粒子形成に必須な逆転写酵素の阻害剤である Lamivudine を加えることによって感染維持が低下することから、長期感染は感染細胞が放出したウイルスの新たな感染が恒常的に起きている結果であることが強く示唆された。NtG20.i7 を用いた in vitro の HBV 感染系は HBV 複製の基礎的な研究とともに、治療薬としての、抗 HBV 化合物のスクリーニングなどにも有用であると考えられた。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本論文では先に報告された、HBVの侵入受容体であるNTCPを強制発現することによってHBV感受性の最初の関門を突破できるという知見を基に、さらに抗ウイルス自然免疫機構を働かなくすることによってHBVの増殖効率を高めることに成功した。それによって35日間という長期に渡ったHBV増殖維持が可能となっている。また、この細胞は培養上清中に感染性のHBVを放出し再感染することによってウイルス増殖を維持していることを示した。これらの事実は各種ウイルスタンパク質の定量、RNAの定量、感染性粒子の定量、感染細胞の免疫染色、フローサイトメーターによる定量的検討、電子顕微鏡による観察によって適切にサポートされている。

以上の研究結果は、HBVの複製機構を基礎に長期増殖維持可能な細胞株の樹立を行ったという技術的な改良とともに、さらなるHBV複製サイクルの理解・発展、治療法の確立されていないHBVの新規抗HBV薬の開発の道を開くものと評価する。よって本論文は博士(生命科学)の学位論文として評価基準を満たすものと判断した。さらに平成29年4月4日に執り行われた公聴会にて論文内容及びそれに関連した口頭試問を実施した結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： _____ 年 _____ 月 _____ 日