The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Production of hepatitis E virus-like particles presenting multiple foreign epitopes by co-infection of recombinant baculoviruses
Author(s)	嶋, 亮一
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/67177
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）嶋　亮一

		（職）	氏　　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	松浦善治
	副　査	大阪大学教授	塩田達雄
	副　査	大阪大学教授	関田継人

論文審査の結果の要旨

バキュロウイルスによるタンパク質発現系を用いてE型肝炎ウイルス様粒子（感染性のないウイルスの形状をした粒子；HEV-LP）が多量に産生できる。また、HEV-LPは経口などの粘膜に対して高い免疫原性を持つことからワクチンのアジュバントとしての利用が考えられる。そこで、HEV-LPを多価粘膜ワクチンのキャリアとして利用することを目的に、粒子表面に外来のエピトープを提示したキメラHEV-LPの作製を試みた。

HEV-LPの構造情報から粒子表面に外来のエピトープを提示できる領域を決定し、外来のエピトープを提示したHEV-LPを作製できた。また、挿入するエピトープの種類によって粒子形成できない場合が認められたが、粒子形成できる他のキメラHEV-LP発現バキュロウイルスとの供感染によって粒子形成できないエピトープも提示することができた。以上の研究結果から、HEV-LPが多様な抗原を粒子表面に提示できるワクチンのキャリアとしての利用が示唆された。この研究業績より、学位の授与に値するものと認める。

論　文　内　容　の　要　旨

Synopsis of Thesis

氏　　名 Name	嶋　亮一
論文題名 Title	Production of hepatitis E virus-like particles presenting multiple foreign epitopes by co-infection of recombinant baculoviruses （バキュロウイルス共感染による多様な外来エピトープを表面提示したE型肝炎ウイルス様粒子の作製）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

E型肝炎ウイルス(HEV)がコードしているORF2蛋白質はウイルス粒子を形成する機能を持ち、バキュロウイルス発現系でORF2のみを発現させることにより、大量のウイルス様粒子（HEV-LP）が作られる。このHEV-LPは経口投与により、マウスだけでなく霊長類に対しても高い免疫原性を持つことからHEVに対する経口ワクチンとしての利用が期待されている。本研究では、HEVだけでなく外来エピトープに対する抗原性を獲得できる多価ワクチンの開発を目指し、三次元立体構造の情報を元にHEV-LPの表面に外来エピトープを挿入したHEV-LPの作製を検討した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

HEV-LPの三次元立体構造解析により、粒子表面の詳細な分子間結合が明らかとなっており、この情報を元にHEV-LP の表面に位置する領域(Pドメイン)における分子間結合の少ないループ構造に対応する３箇所（484T/485Y,488S/489T, 555A/556G）の間にペプチドタグ（myc、HA、FLAG）を挿入した組換えバキュロウイルスを作製した。その結果、488S/489T間に挿入したHEV-LPはmyc, HA, FLAGの３種類のエピトープタグを挿入してもORF2の発現が確認できた。その一方で、484T/485Y間においてはHAが、555A/556G間ではFLAGを挿入したORF2の発現が見られなかったことから、488S/489T間が最も外来エピトープの挿入に適した箇所であることが示唆された。次に488S/489T間で発現した３種類のエピトープタグを挿入したORF2がHEV-LPを形成するかをスクロース密度勾配遠心分離および電子顕微鏡を使って検討したところ、FLAGやmycを挿入したORF2はHEV-LPを形成したが、HAを挿入したORF2ではHEV-LPが形成されなかった。そこで、粒子形成が確認できたmycを挿入したORF2を発現する組換えバキュロウイルスと粒子形成ができないHAを挿入したORF2を発現する２種類の異なる組換えバキュロウイルスを用いて蛋白質を発現させたところ、mycとHAを共に含むHEV-LPが得られた。免疫沈降法並びに免疫電子顕微鏡による観察により、HAがHEV-LP表面に提示されていることが分かった。次に、日本脳炎ウイルス(JEV)の中和エピトープをHEV-LPに提示するため、JEVに２箇所ある中和エピトープ(JEV1, JEV2)を挿入したORF2を発現する組換えバキュロウイルスを作製した。JEV1エピトープを発現するORF2はHEV-LPを形成できず、JEV2エピトープを発現するORF2はHEV-LPを形成した。そこで、JEV1, JEV2が挿入されている2種類の組換えバキュロウイルスを共感染させることにより、JEV1, JEV2が共にHEV-LP表面に提示するHEV-LPが作製できた。以上の結果から、外来エピトープを含むHEV-LPが単独ではできなくても、HEV-LP形成が見られる組換えバキュロウイルスを共感染させることにより、多様な外来エピトープを粒子表面に提示したHEV-LPが作製できることが分かった。

〔総　括(Conclusion)〕

組換えバキュロウイルスを利用したHEV-LPに外来エピトープの挿入を検討し、外来エピトープの挿入により粒子形成が阻害されても、粒子形成できる組換えバキュロウイルスとの共感染により、HEV-LP表面に外来エピトープを挿入できることを明らかにした。これらの結果は、多様なエピトープを粒子表面に挿入したHEV-LPの作製を可能にする新しい技術であり、HEVに対する経口ワクチンとしての利用だけでなく、他のウイルスの中和エピトープを提示することによって多価ワクチンとして利用できる可能性が示唆できた。

以上