The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Innate Immune Response Induced by Baculovirus Attenuates Transgene Expression in Mammalian Cells
Author(s)	二宮, 彰紀
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/69451
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）二宮　彰紀

		（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	岡田雅人
	副　査	大阪大学教授	塩田達雄

論文審査の結果の要旨

バキュロウイルスは組換え蛋白質の発現に用いられているが、ウイルス複製を伴わず哺乳動物細胞へ遺伝子導入できるベクターとしても有用である。論文では、組換えバキュロウイルス(rBV)が誘導する自然免疫応答が、哺乳動物細胞における外来遺伝子発現への影響を検討した。レポーター遺伝子を発現するrBVを種々の遺伝子欠損マウス線維芽細胞に感染させたところ、STING、TBK1、IRF3、IPS-1の欠損細胞では野生型細胞に比べ顕著に遺伝子導入効率の亢進が認められた。一方、IRF7、MyD88、ZBP1の欠損細胞では亢進は観察されなかった。また、C型肝炎ウイルス感染細胞において、顕著にrBVによる遺伝子導入効率の亢進が確認され、アポトーシスを誘導するBIM蛋白質を発現するrBVは、ウイルス感染細胞特異的に細胞死を誘導した。以上の成績から、rBVによる哺乳動物細胞への外来遺伝子の発現は、自然免疫応答の誘導によって制御されるが、病原体の感染や発がん等によって自然免疫応答が低下している細胞へは、効率良く誘導できることが示唆された。

以上の内容は学位に値すると考える。

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	二宮　彰紀
論文題名 Title	Innate Immune Response Induced by Baculovirus Attenuates Transgene Expression in Mammalian Cells (バキュロウイルスが誘導する自然免疫応答は哺乳動物細胞における遺伝子発現を減弱させる)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

バキュロウイルスはエンベロープを持つ二本鎖DNAウイルスで、昆虫に感染し感染細胞で大量の蛋白質を産生することから、組換え蛋白質の発現に広く用いられている。一方、バキュロウイルスは哺乳動物細胞にも自身のゲノムからの転写や翻訳は行われることなく感染することが知られている。そのため、哺乳動物細胞で働くプロモーターをゲノムに挿入した組換えバキュロウイルスは病原性を示さず、効率よく安全に目的の遺伝子を導入できるウイルスベクターとして有用である。これまでに我々の研究室ではバキュロウイルスの感染により、ウイルスDNAがマウス免疫担当細胞や非免疫細胞に自然免疫応答を誘導し、炎症性サイトカインやＩ型インターフェロン（IFN）の産生が惹起されることを報告した。本研究では、組換えバキュロウイルス(rBV)を哺乳動物細胞に感染させた際に誘導される自然免疫応答が、外来遺伝子発現に及ぼす影響を検討した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

哺乳動物細胞でGFPやルシフェラーゼを発現するrBVを、様々な自然免疫に関与する遺伝子の欠損マウス線維芽細胞(MEF)に感染させ、自然免疫応答や外来遺伝子の導入効率を検討した。その結果、STING、TBK1、IRF3、IPS-1の欠損細胞では野生型細胞に比べて、バキュロウイルスの感染によるＩ型IFNや抗ウイルス遺伝子の発現などの自然免疫応答が抑制されており、さらに、顕著に遺伝子導入効率の亢進が認められた。一方、IRF7、MyD88、ZBP1/DAIの欠損細胞ではそのような効果は認められなかった。また、ヒト肝臓細胞株のHuh7細胞でもマウスでの成績と同様に、IRF3, IPS-1, STINGの発現をRNAiにより定常的に抑制した細胞で、rBVによる外来遺伝子導入効率の亢進が観察された。C型肝炎ウイルス（HCV）は、肝細胞に感染し、ウイルスプロテアーゼであるNS3/4Aが宿主のIPS-1を切断し、自然免疫応答を不活化していることが知られている。HCV感染細胞では顕著にrBVによる遺伝子導入効率の亢進が確認された。そこで、HCV感染細胞特異的にアポトーシスを誘導するため、哺乳動物細胞にアポトーシスを誘導するBH3-only 蛋白質のBIMを発現するrBV(rBV-BIM)を作製した。rBV-BIMはHCV感染細胞に細胞死を誘導し、その効果はカスパーゼ阻害剤により抑制された。

〔総　括(Conclusion)〕

以上の成績から、rBVによる哺乳動物細胞への外来遺伝子の発現は、STING/IPS-1/TBK1/IRF3を介した自然免疫応答の誘導によって抑制されるが、それらの経路を抑制することで遺伝子発現を亢進できることが明らかとなった。また、ｒBVはHCV感染細胞特異的に標的遺伝子を発現できることが示された。本研究により、ｒBVは病原体感染や発がん等によって自然免疫応答が低下している細胞に、効率良く標的遺伝子を発現させて細胞を排除できる可能性が示唆された。