

## 審査の結果の要旨

氏名 川名 敬

本研究は、子宮頸癌の原因ウイルスと考えられるヒトパピローマウイルス（HPV）の感染をワクチンによって予防することを目指し、HPV のなかで発癌との関連が深い多種の遺伝子型を同時に感染防御できる遺伝子型共通ワクチンの可能性を探っている。HPV の L2 蛋白質に対するモノクローナル抗体と培養細胞系での HPV 感染系を用いたワクチン候補の決定と、そこで決定されたペプチドワクチンのマウスへの経鼻免疫による性器粘膜への中和抗体の誘導を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. HPV は自然の培養系では粒子形成をしないため、ウイルス粒子としてバキュロウイルス発現系で作製したウイルス様粒子（L1/L2-VLP）を用いている。HPV16 型 L2 蛋白質に対するモノクローナル抗体が認識する部位を ELISA 法で検討した結果、遺伝子型間でアミノ酸配列が保存され、かつ粒子表面に露出している L2 領域 2 ヶ所（HPV16 型 L2 の 69 - 81 アミノ酸、108 - 120 アミノ酸）を遺伝子型共通ワクチンの候補として同定した。
2. 2 ヶ所の L2 領域を認識する抗体が HPV の感染を防御できるかを検討するために、HPV 感染をモニターできる系を樹立している。HPV6 型、16 型の L1/L2-VLP を還元剤で一旦壊し、レポーター遺伝子を持つプラスミド DNA をパッケージして再構成させた人工的なウイルス（pseudovirion）を培養細胞に感染させて、HPV の感染をモニターした。この感染を L2 モノクローナル抗体で阻害させたところ、HPV16 型 L2 の 108-120 アミノ酸領域(aa)に対する抗体が HPV6 型、16 型 pseudovirion 感染を阻害することを見出した。更に巨大な外陰コンジローマから HPV11 型のウイルス粒子を精製し、培養細胞に感染させ、その遺伝子発現を RT-PCR 法で検出する感染系を樹立し、HPV11 型感染も同様に阻害した。

HPV16 型 L2 の 108-120aa は遺伝子型共通の中和エピトープであることが示された。

3. この L2 の 108-120aa を多くの遺伝子型 HPV に有効なワクチンとして利用するために、この領域のアミノ酸配列を持つ合成ペプチドをワクチン抗原とした経鼻免疫を Balb/c マウスに行い、血清中に IgG 優位の、腔洗浄液中に IgA 優位の中和抗体が誘導されることを確認した。この腔洗浄液中の中和抗体の力価は、すでに HPV ワクチンとしてヒトへの投与が始まっている HPV16 型 L1-VLP ワクチンのマウス経鼻免疫の場合とほぼ同等であった。この L2 ペプチドワクチンを MHC クラス II の異なる系統である C57BL/10 マウスに同様の経鼻免疫しても抗体誘導されなかったが、C57BL/10 マウスの MHC クラス II 分子に結合できるように L2 ペプチドの 2 ヶ所のアミノ酸を改変した改変 L2 ペプチドでは同等の中和抗体が誘導された。MHC クラス II タイプによるワクチン応答の違いは、ペプチド改変により対応できることも示された。

以上、本論文は HPV の L2 蛋白質の遺伝子型間で保存されている領域に注目し、独自に開発した HPV 感染モニター系を用いて中和抗体測定を行い、HPV16 型 L2 領域の 108-120aa に対する抗体が多くの遺伝子型に共通の中和エピトープであることを見出し、かつこの領域のペプチド経鼻ワクチンが性器粘膜へ中和抗体を誘導することを明らかにした。本研究はこれまで未知に等しかった、遺伝子型に共通の中和エピトープを発見し、遺伝子型共通ワクチンの開発に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。