

Title	腎症候性出血熱（HFRS）ウィルス糖タンパクの抗原解析
Author(s)	Jose, Ribeiro Dantas Filho
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/35546
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名・(本籍)	ジョゼ リベイロ ダンタス フィーリオ JOSÉ RIBEIRO DANTAS FILHO
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 7484 号
学位授与の日付	昭和 61 年 12 月 4 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	腎症候性出血熱 (HFRS) ウィルス糖タンパクの抗原解析
論文審査委員	(主査) 教授 高橋 理明 (副査) 教授 加藤 四郎 教授 山之内孝尚

論文内容の要旨

[目的]

HFRSは我国において動物実験室で1970年代より流行したウイルス病で類似の疾患はアジア大陸、スカンジナビアと広く見いだされている。その原因ウイルスは1976年に韓国で最初に分離されて以来、成果各地で類似ウイルスが分離されている。これらのHFRSウイルスの表面には、G1、G2の2種の糖タンパクが存在することが判明した。

そこでその生物学的機能を明らかにするため、これらの糖タンパクに対するさまざまなモノクローン抗体を採取しその生物活性を測定した。また、これらのモノクローン抗体を用いて関連ウイルスとの抗原上の差異も検討した。

[方法]

1. Hybridomaの作製

BALB/CマウスにHFRSウイルスB-1株をアジュバントと共に腹腔内に注射し、1ヶ月後に抗原のみを注射した。その3日後、Spleen細胞を採取し、マウスミエローマ細胞のSP2を用い、細胞融合させHybridomaを作製した。以後Hybridomaのクローンは2回クローニングしマウスの腹腔内注射し腹水を作製した。

2. ウィルス及び細胞

用いたウイルスは微研でラットより分離したB-1株、韓国で分離されたHantanウイルス(HV)、米国で分離されたProspect Hill(PH)ウイルス、スウェーデンで分離されたHallnas(HS)ウイルスである。細胞はVero E6を用いた。

3. 感染細胞のラベリング及び免疫電気泳動法

Vero E 6 細胞にウイルスを感染させ 1 週後に [³⁵S]メチオニンまたは [³H]マンノースでラベルした。その後ラベルされた感染細胞を溶解し、モノクローン抗体と反応させた後に SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) にてウイルス特異タンパクを解析した。

4. 血清反応

蛍光抗体 (IF) 法による抗体価測定は HV, B-1, PH, HS 株感染細胞を用いて蛍光抗体間接法より行った。

中和テストは 50-100 focus forming unit のウイルス抗原と抗体を 37°C 1 時間反応させた後、96 穴マイクロプレートの Vero E 6 に接種し、4-5 日目に peroxidase-anti-peroxidase (PAP) 法にて focus の 90% 減少で測定した。赤血球凝集抑制 (HI) 法は奥野らの方法にて行った。

[成績]

1. B-1 株に対するモノクローン抗体を作製した結果、そのうち 11 種のものが糖タンパクに対するものであった。ウイルス感染細胞の蛍光抗体法による染色を行うと細胞質にパッチ状の蛍光がすべての抗体を用いて見いだされた。
2. これらの 11 種のモノクローン抗体をラベルされた感染細胞 lysate と免疫沈降させ SDS-PAGE 法にて分析を行うと、その中の 2 種のクローンは 74K の糖タンパクと 8 種は 57K の糖タンパクと反応したが残りの 1 種 (B-12) はどのタンパクとも反応しなかった。
3. これらのクローンの中和能、HI 能を測定した結果、74K タンパクと反応した 2 クローンは中和能を有していたが、その抗体価は低く、その中の 1 つは中程度の HI 能を有していた。57K と反応する 8 つのクローンの中 2 クローンは非常に高い HI 能がありその中の 1 つは中程度の中和能を有していた。又、3 つのクローンは中程度の HI 能を有していたが中和能は見いだされなかった。残りの 3 クローンは、HI、中和能共に低いか有していなかった。
4. これらのクローンの B-1 株抗原と共に他の 3 種の抗原との反応差異を IF 及び HI 法にて比較した。その結果、74K タンパクと反応する 2 クローンは IF、HI 法共に株特異性が強かった。次に 57K と反応するクローンのうち HI 能の非常に高いクローンはヘテロの株とも同程度に反応したが HI 能の中程度のものは株特異性が強かった。中和能を有する B-12 クローンは株特異的に反応した。

[総括]

一般に bunya ウイルスには G 1 及び G 2 の 2 種の糖タンパクが存在するが、HFRS ウイルスにも同様の糖タンパクが存在することがモノクローン抗体を用いて証明された。又、G 1、G 2 タンパク共に中和抗原となり G 2 タンパクは HA 能を有している。しかし非常に高い中和能を有する B-12 クローンが何れのタンパクと反応しているかが確認されないので主たる中和抗原は現在のところ不明である。又、世界各地で分離された代表的な 4 種のウイルスは共通抗原は存在するがかなりの相違する部位があることが証明された。

論文の審査結果の要旨

本論文ではモノクローナル抗体を作製してHFRSウイルスの糖蛋白を調べた結果を得ている。

1. HFRSウイルスには分子両74,000 (G1) と57,000 (G2) の2種類の糖蛋白が見出される。
2. G1, G2タンパクは共に中和活性を有しG2タンパクはHA活性も有している。
3. 中和活性部位とHA活性部位は異なるエピトープに存在する。
4. 世界各地で分離された数株の中和及びHA活性についてしらべた結果, 株共通部分と株特異部分が存在する。

以上の結果は本ウイルスの疫学及び予防研究に貢献するところが大きいと考えられる。