



Title	水痘帯状疱疹ウイルスのウイルス特異糖タンパクの processing
Author(s)	鯉江, 淳子
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35982
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。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

氏名・(本籍)	なまづ 鯨	え 江	じゅん 淳	こ 子
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	8 1 0 4		号
学位授与の日付	昭和 63 年 3 月 25 日			
学位授与の要件	医学研究科病理系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当			
学位論文題目	水痘带状疱疹ウイルスのウイルス特異糖タンパクのprocessing			
論文審査委員	(主査) 教授 高橋 理明			
	(副査) 教授 加藤 四郎	教授 上田 重晴		

論文内容の要旨

〔目 的〕

水痘带状疱疹ウイルス (VZV) はヘルペスウイルスに属し、初感染で水痘を起こしその後、神経節に潜伏して免疫低下時あるいは加齢により潜伏ウイルスが再活性化し神経走行に一致した水疱形成、即ち带状疱疹を起こす。VZVを含む多くのウイルスは、その粒子の外殻に糖タンパクが存在し、感染時に細胞への吸着、侵入、成熟及び免疫に関与していることが知られており、VZVでは4種の主要糖タンパクが知られている。本研究は、3種の糖タンパクに対するモノクローナル抗体と糖鎖の付加を阻害するツニカマイシン、高マンノース糖鎖のみを切断するエンドグリコシダーゼ-H (endo-H) 及びタンパクのゴルジ体から膜表面への移送を阻止するモネンシン等の薬剤を用いてVZVの糖タンパクの細胞内でのprocessingの解析を行った。

〔方 法〕

1. 細胞とウイルス；細胞はヒト胎児繊維芽細胞 (HuEF) を用い、ウイルスはVZV河口株を用いた。
2. モノクローナル抗体；河口株を抗原とした免疫マウスより通常の方法で得られた3種の糖タンパク (gp I, gp II, gp IV) に対するモノクローナル抗体を用いた。
3. エンドグリコシダーゼの処理；gp I, gp II, gp IVに対するモノクローナル抗体と ^{35}S メチオニンをラベルしたVZV感染細胞の溶解液とを免疫沈降反応させた後、Protein Aを加え、洗浄後、0.8% SDSで糖タンパクを解離し、クエン酸緩衝液 (pH5.5) を加えた。この液にendo-H (0.01 I U) を加え、37°C, 16時間で反応させた。
4. モネンシン処理；VZV感染細胞を 10^{-6}M のモネンシン存在下で ^{35}S メチオニンでラベルした。

5. ツニカマイシン処理；VZV感染細胞をツニカマイシン（ $2\mu\text{g}/\text{ml}$ ）存在下で $[\text{}^3\text{H}]$ グルコサミン， $[\text{}^{35}\text{S}]$ メチオニンで8時間ラベルした。

6. 免疫沈降反応及びSDS-電気泳動（SDS-PAGE）；アイソトープラベルされた細胞はRIP A bufferにて溶解させた後，モノクロナール抗体と反応させ，Protein Aを加えて吸着させた。洗浄後，sample bufferに溶解した後，10%SDS-PAGEで100V，6時間泳動しオートラジオグラフィーによりタンパクを検出した。

〔成績〕

1. gp I，gp II，gp IVの $[\text{}^{35}\text{S}]$ メチオニンでラベルされたすべての糖タンパクはツニカマイシン処理で分子量が減少した。

2. 糖タンパクをツニカマイシン存在下で $[\text{}^3\text{H}]$ グルコサミンでラベルし，モノクロナール抗体で免疫沈降反応，SDS-PAGEを行うと，O型の糖鎖をもつgp Iのタンパクが検出できた。

3. Endo-HをVZVの糖タンパクに作用させると，gp Iの75K，gp IIの116K，gp IVの49Kは感受性であったが，gp Iの94K，gp IVの55Kは感受性でなかった。

4. モネンシン処理では，gp I，gp II，gp IVの未成熟型の糖タンパクはすべて作用をうけなかったが，gp Iとgp IVの成熟型はモネンシンの作用を受けた。gp IIは116Kのままで存在し64Kのタンパクは検出できなかった。

〔総括〕

ウイルスの糖タンパクはウイルスの細胞への感染，成熟及びウイルスに対する免疫に重要な役割をはたす。細胞内での水痘帯状疱疹ウイルスの糖タンパクの合成過程を調べ以下の事実が明らかになった。

VZVのgp I，gp II，gp IVはいずれもツニカマイシンの作用を受けることによりN型の糖鎖を持つと考えられる。gp Iは83Kの高マンノース型の糖鎖を含むタンパク質になり，94Kに伸長すると複合型の糖鎖に変わっていき，O型の糖鎖を持つと考えられる。gp IIは高マンノース型の糖鎖を持つ116Kのタンパクになりゴルジ体から膜表面に移送される間に切断されて64Kタンパクになるが，高マンノース型の糖鎖は保持していると考えられる。gp IVは49Kの高マンノース型の糖鎖を含む糖タンパクから55Kの複合型のみを含む糖鎖に変わっていくと考えられる。

論文の審査結果の要旨

ウイルスの糖タンパクは，ウイルス粒子の外殻に存在し，感染時における細胞への吸着，侵入，ウイルス粒子の成熟及び，免疫に関与していることが知られている。本論文は，水痘帯状疱疹ウイルス（VZV）の糖タンパクの細胞内での合成過程を種々の薬剤（ツニカマイシン，エンドグリコシダーゼH，モネンシン）を用いて研究したものである。

水痘ウイルスの糖タンパクにはgp I，II，III，IVの4つの主要糖タンパクがあるが，本研究の結果，gp IではタンパクのNグリコシド結合の高マンノース型の糖鎖が付加し，これがゴルジで複合型に変換

し、又、Oグリコシド結合の糖鎖も付加していることが判明した。gpIIでは、Nグリコシド結合の高マンノース型の糖鎖が付加しゴルジのトランス領域以後で糖タンパクは切断されて成熟型になるが高マンノース型糖鎖も保持しており、gpIVはgpIと同様に高マンノース型から複合型の糖鎖に変換するがOグリコシド結合の糖鎖は検出できないことが明らかになった。

これらの結果は水痘ウイルス粒子の成熟過程及びVZVに対する免疫の研究を進める上で有用であり学位論文に値すると思われる。