



Title	マレック病ウイルス2型株感染細胞に新たに同定された糖蛋白
Author(s)	柴山, 岳史
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37139
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)	しば 柴	やま 山	たけ 岳	し 史
学 位 の 種 類	医	学	博	士
学 位 記 番 号	第	9 0 8 8	号	
学位授与の日付	平 成 2 年 3 月 2 4 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	マレック病ウイルス 2 型株感染細胞に新たに同定された糖蛋白			
論文審査委員	(主査) 教 授	上田 重晴		
	(副査) 教 授	高橋 理明	教 授	羽倉 明

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

マレック病ウイルス (MDV) は、ヘルペスウイルス科に属し、血清型によって、MDV 1 型 (MDV 1)、MDV 2 型 (MDV 2)、シチメンチョウヘルペスウイルス (HVT) に分類されている。MDV 1 は腫瘍原性株であり、ニワトリに悪性リンパ腫を起こす。MDV 2 及び HVT は、非腫瘍原性株であり、マレック病の予防ワクチンとして用いられている。また近年、極めて毒力の強い MDV に対して MDV 2 がワクチンとして有用であることが報告されているにもかかわらず、単クローン抗体 (MAb) を用いた MDV 2 の誘導抗原の解析はなされていない。そこで今回、マレック病の予防に關与する MDV 2 の抗原を検索する目的で、マウス MAb を作製し、MDV 特異抗原を同定し、更にワクチンによる免疫に關与すると考えられる感染細胞表面の糖蛋白の同定を行った。

〔 材料と方法 〕

1. ウイルスと細胞：MDV 1 として、BC 1 株、MDV 2 として、HPRS24 株、SB 1 株、HVT として、0 1 株を用いた。ウイルス感染系として、ニワトリ胎児胚線維芽細胞 (CEF) を用いた。
2. 抗体の作製：MAb は、MDV 2、HPRS24 株感染細胞を免疫したマウスの脾細胞とマウスミエローム細胞とのハイブリドーマから得た。
3. 免疫沈澱法及び SDS-PAGE：感染細胞を〔 ^{35}S 〕メチオニン、又は〔 ^3H 〕グルコサミン標識後可溶化し、その超遠心上清を免疫沈澱し、1 次元および 2 次元電気泳動法、SDS-PAGE、フルオログラフィーにより解析した。

4. mRNAの精製及び蛋白質合成系：ウイルス感染細胞よりRNAを抽出し、オリゴ(dT)セルロースクロマトグラフィーより、poly(A)⁺RNAを分離した。さらにウサギ網状赤血球ライゼートを用い、mRNAの翻訳を行った。
5. 薬剤処理：ツニカマイシン(2μg/ml)、モネンシン(10⁻⁶M)、エンドグリコシダーゼ(Endo H: 0.01U)、エンドグリコシダーゼF(Endo F: 0.25U)を使用した。

〔成績〕

1. MDV 2, HPRS24株感染細胞を免疫原とし41のハイブリドーマ株を得、これらが産生するMAbについて、MDVの3つの血清型のウイルス株が誘導する抗原に対する反応性を間接蛍光抗体法により調べた。その結果、MDV 2 特異的MAb産生クローンが24、他の血清型株と反応するMAb産生クローンは17得られた。
2. これらのクローンが産生するMAbについて、その認識抗原を〔³⁵S〕メチオニン、〔³H〕グルコサミン標識HPRS24株感染細胞を用いた免疫沈澱法及びSDS-PAGEにより解析した結果、7種類の蛋白が同定された。これらのうち9クローンが産生するMAbは、HPRS24株感染細胞の今まで知られていなかった28/32K糖蛋白(gp28/32)と反応した。
3. gp28/32に対するMAbを用い免疫沈澱を行った結果、MDV 1より、25/29K, MDV 2より28/32K蛋白が検出された。
4. gp28/32に対するMAbを用い、ツニカマイシン存在下で、免疫沈澱、SDS-PAGEを行うと、22K蛋白が検出された。同様にモネンシン処理を行うと成熟型にならず27/31K蛋白が検出された。
5. Endo Hをgp28/32に作用させると、非感受性であったが、Endo Fを作用させると22K, 24K蛋白が検出された。
6. MDV 2 感染細胞よりmRNAを分離し、ウサギ網状赤血球を用い蛋白質合成を行い、gp28/32に対するMAbで免疫沈澱すると22K蛋白が検出された。

〔総括〕

MDV 2 抗原を免疫原として新たにMAbを得、これが認識するマレック病ウイルス誘導抗原の解析を行い、7種類の蛋白を同定した。それらの中に、以前同定した分泌型糖蛋白gA、ウイルスの中和に関与する糖蛋白gBとは異なる新しいMDV誘導gp28/32K糖蛋白を見出した。この糖蛋白の糖は、ツニカマイシン感受性であることから、N-グリコシド型であると考えられる。さらに、この糖蛋白はモネンシン感受性であることから、22Kの前駆体がゴルジ体から細胞膜表面への成熟過程を経て、28/32Kとなることが明らかになった。

論文の審査結果の要旨

マレック病は、ヘルペスウイルス科に属するマレック病ウイルスによっておこるニワトリの流行性の悪性リンパ腫症である。3型ある血清型のうち、1型が強毒の腫瘍原性ウイルスで、このウイルスに対する予防ワクチンとして、2型あるいは3型のウイルスが用いられている。しかし、極めて毒力の強いウイルスが流行するようになり、従来多く使用されていた、3型ウイルスワクチンによる予防が問題となった。この問題に対して最近、2型ウイルスワクチンの有効性が報告されるようになったが、マレック病の予防に関与する2型ウイルスの抗原解析は行われていなかった。

本研究は、2型ウイルス HPRS 24 株に対する単クローン抗体を作成し、それをを用いた感染細胞表面上の抗原解析から、1型と2型ウイルス感染細胞だけに出現する新しい糖蛋白 (gC と命名、分子量 28/32 Kd) を発見し、その糖鎖構造および細胞内成熟過程を解明したものである。今後、マレック病の予防に関連した免疫機構解明に寄与するところは大きく、学位論文に値するものと考ええる。