

Title	ヒトヘルペスウイルス-6 (HHV-6) の糖タンパクの解析
Author(s)	邵, 輝
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37937
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	邵 輝
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第 10166 号
学位授与年月日	平成 4 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科 病理系専攻
学位論文名	ヒトヘルペスウイルス-6（HHV-6）の糖タンパクの解析
論文審査委員	(主査) 教授 山西 弘一 (副査) 教授 栗村 敬 教授 上田 重晴

論文内容の要旨

(目 的)

近年、第 6 番目のヒトヘルペスウイルスであるヒトヘルペスウイルス-6（HHV-6: human herpesvirus-6）が発見され、突発性発疹の原因ウイルスであることが判明した。更に HHV-6 は初感染の後、体内に潜伏感染をする事が知られていて、宿主の免疫能の低下する臓器移植やエイズの際に再活性化されることも判明している。本研究は HHV-6 感染の免疫学的研究の一つとして感染防御に関連するウイルス抗原であるウイルス粒子の糖蛋白 (gp) の解析を行うことを目的とした。

(方 法)

1. ウイルス抗原の調製及び単クローン抗体の作製：HHV-6 感染細胞を超音波処理し Freund のアジュバントと共に BALB/C マウスに免疫し、更に免疫マウス脾細胞とミエローマ細胞とを融合させてハイブリドーマを得た。
2. 免疫学的検索法：間接蛍光抗体法、感染細胞膜蛍光抗体法、中和法を用いた。
3. ウイルス抗原の解析：感染細胞を³⁵S-メチオニン又は³H-グルコサミンでラベルし細胞を溶解した後、単クローン抗体と反応させ、免疫沈降の後ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE) でウイルス抗原を解析した。

(成 績)

1. 感染細胞をマウスに免疫することによって、ウイルス特異単クローン抗体を産生する 3 種のハイブリドーマ (OHV 3, OHV 1, SHV 1) を得た。間接及び膜蛍光抗体法により OHV 1, OHV 3 は細胞質及び細胞膜に存在する抗原と反応した。SHV 1 は細胞質、核に存在する抗原と反応したが、細胞質及び細胞膜に存在する抗原と反応した。

胞膜とは反応しなかった。ウイルス中和活性は OHV 3 にのみ認められた。

2. いずれの抗体もグルコサミンでラベルしたウイルス抗原と反応した。OHV 1 の認識する蛋白を PAGE にて解析した結果この抗体は 106K, 102K, 65K 並びに 63K の gp と反応した。しかし同様の実験を 2-メルカプトエタノール非存在下で行うと 65K と 63K の gp は消失した。このことは 106K/102K の分子内にはジスルフィド結合が存在することを意味し、パルスーチェイス (PC) 法の結果もこれを支持した。ツニカマイシン、エンドグリコシダーゼ (Endo) H 及び F 処理の結果により 102K/106K の gp には高マンノース型、65K/63K の gp には複合型の N-型糖鎖が結合していることが判明した。次に OHV 3 は 98K と 92K の gp と反応した。PC 法の結果はペプチド合成と同時に糖鎖が結合し 98Kgp となり、これが 92K gp に変化することを示した。さらに Endo F Endo H の処理によりこれらは高マンノース型の糖鎖が 75K のタンパクに結合していることが判明した。又 SHV 1 は 52K の gp とのみ反応した。PC 法によりこの gp もペプチド合成と同時に糖鎖が結合することが示唆された。この gp はツニカマイシン、Endo F、N-グリカナーゼ処理に非感受性で O-グリカナーゼに感受性であった。更にモネンシン、プレフェルジン A に非感受性であったことから、O-型糖鎖が小胞体内でポリペプチドに結合することが示唆された。

(総括)

1. 抗 HHV-6 単クローン抗体、OHV 1, OHV 3, SHV 1 産生ハイブリドーマを確立した。OHV 3 抗体のみウイルス中和活性が認められた。
2. OHV 1, OHV 3 によって認識された抗原は細胞質及び細胞膜に存在した。SHV 1 認識抗原は細胞質及び核内に存在したが、細胞膜表面には認められなかった。
3. OHV 1 の認識する蛋白は分子量 106K/102K, 65K/63K の糖蛋白であり、OHV 3 は 98K と 92K の糖蛋白、SHV 1 は 52K の糖蛋白を認識した。
4. OHV 1 で認識された 106K/102K の糖蛋白には高マンノース型及び複合型の N-型糖鎖が、OHV 3 の認識する 98K と 92K の糖蛋白は高マンノース型の N-型糖鎖が結合し、SHV 1 の認識する糖蛋白には O-型糖鎖が付加していることが判明した。

以上の様に HHV-6 には少なくとも 3 種の糖蛋白が存在しその中の 1 つはウイルス中和に関する抗原であることが明らかになった。

論文審査の結果の要旨

本研究はヒトヘルペスウイルス 6 (HHV-6) に対する単クローン抗体を採取しウイルス特異糖タンパクの生物学的及び細胞内プロセッシングの解析を行うことを目的として行われた。その結果、3 種の抗 HHV-6 単クローン抗体産生ハイブリドーマ (OHV 3, OHV 1, SHV 1) が確立でき、そのうち OHV 3 抗体のみウイルス中和活性が認められた。又 OHV 3, OHV 1 によって認識された抗原は細胞質及び細胞膜に存在した。SHV 1 認識抗原は細胞質及び核内に存在したが、細胞膜表面には認められな

かった。OHV 3 の認識するタンパクは分子量98K と92K の糖タンパクであり、OHV 1 は106K, 102K, 65K 及び63K の糖タンパク, SHV 1 は52K の糖タンパクを認識した。OHV 3 の認識する98K と92K の糖タンパクには高マンノース型の N 糖鎖が, OHV 1 と反応する106K / 102K 及び65K / 63K の糖タンパクにはそれぞれ高マンノース型及び複合型の N 型糖鎖が結合し, SHV 1 の認識する糖タンパクには O 型糖鎖が付加していることが判明した。以上の結果より HHV-6 には少なくとも3種の糖タンパクが存在し, その中の一つはウイルス中和に関係する抗原であることが明らかになった。これらの3種の糖タンパクの細胞内プロセッシングも明らかにした。これらの結果は, 学位論文として十分価値あるものと思われる。