

Title	高度弱毒麻疹生ワクチンウイルスの表面抗原蛋白をコードする遺伝子塩基配列の解析
Author(s)	渡辺, 倫子
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38127">https://hdl.handle.net/11094/38127</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	渡 辺 倫 子
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 10643 号
学位授与年月日	平成5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	高度弱毒麻疹生ワクチンウイルスの表面抗原蛋白をコードする遺伝子 塩基配列の解析
論文審査委員	(主査) 教授 上田 重晴 (副査) 教授 羽倉 明 教授 山西 弘一

### 論文内容の要旨

#### (目的)

乳幼児の重要感染症の1つである麻疹の予防には現在高度弱毒生ウイルスワクチンが使用されているが、その弱毒化の機構に関しては現在まだほとんど解明されていない。我が国で使用されている3種類の高度弱毒麻疹生ワクチンの中で、CAM70 ワクチンは我が国で分離された麻疹ウイルスを親株に持つ唯一のワクチンである。その継代歴は明確に記録されているので、CAM70 株とその親株との比較解析は弱毒化の機構解明の一助になる。本研究では、CAM70 株とその親株である田辺株 (LM1 MK2 株, 1959年分離) について、麻疹ウイルス感染の初期段階を規定するウイルス表面抗原であるH蛋白 (赤血球凝集素) とF蛋白 (膜融合蛋白) の遺伝子塩基配列を決定し、弱毒化機構の比較解析を行った。

#### (方法ならびに成績)

##### 1. 麻疹ウイルスによる巨細胞形成能と細胞障害性の検討

ヒト末梢血リンパ球と樹立細胞株 B95a 細胞に3種類の野性株 (山口株, 兵庫株, LM1 MK2 株) と3種類のワクチン株 (CAM70 株 (日本製), AIK-C 株 (Edmonston 株 (1954年分離) 由来, 日本製), ROUVAX 株 (Edmonston 株由来, フランス製)) を等しい MOI (multiplicity of infection) で感染させ、顕微鏡下で観察することによりウイルスによる融合巨細胞の形成能を、また経時的に生細胞数を計数することにより細胞障害性を検討した。その結果、野性株に比較してワクチン株のウイルスは、細胞培養上清中に同程度の感染性ウイルスが存在するにもかかわらず、巨細胞形成能も細胞障害性も弱かった。その中でも特に CAM70 株は巨細胞形成能において、その程度が顕著に弱いことが認められた。

##### 2. 麻疹ウイルス H 遺伝子と F 遺伝子の塩基配列決定とその比較

3種類の野性株 (山口株, 兵庫株, LM1 MK2 株) と3種類のワクチン株 (CAM70 株, AIK-C 株, ROUVAX 株) をそれぞれ感染させた B95a 細胞から GTC 法によって RNA を抽出した後、6 mer のランダムプライマーを用いて cDNA を作成し、麻疹ウイルス Edmonston 株の塩基配列を参考にして合成された特異的プライマーを使用した PCR 法によってそれぞれのウイルス株の H 遺伝子と F 遺伝子とを増幅させた。塩基配列の決定は Isegawa ら (Mol. Cell. Probe. 1992, 6 : 467-475) の方法にしたがって PCR 法で増幅した cDNA からのダイレクトシーケンス法で行った。

その結果、H 遺伝子においては、LM1MK2 株と CAM70 株の間では 8 ケ所の塩基置換があり、8 ケ所全てがアミノ酸の変異になっていた。一方、AIK-C 株と ROUVAX 株をその親株である Edmonston 株と比較すると、AIK-C 株では 4 ケ所の塩基置換があり、そのうち 3 ケ所がアミノ酸の変異になっており、ROUVAX 株では 3 ケ所の塩基置換があり、その全てがアミノ酸の変異になっていた。同様にして、F 遺伝子においては、LM1MK2 株と CAM70 株の間では 2 ケ所の塩基置換があり、その両方がアミノ酸の変異になっていた。また、その親株と比較した場合、AIK-C 株では 7 ケ所の塩基置換があり、そのうち 3 ケ所がアミノ酸の変異になっており、ROUVAX 株では 8 ケ所の塩基置換があり、そのうち 3 ケ所がアミノ酸の変異になっていた。

本解析では、H 遺伝子と F 遺伝子の両方においてワクチン株に共通するような野性株との間での塩基置換およびアミノ酸の変異は認められなかった。なお、CAM70 株と数年前に分離された最近の流行株である山口株と兵庫株の H 蛋白および F 蛋白の遺伝子塩基配列ならびにアミノ酸配列の LM1MK2 株に対する相同性は CAM70 株が最も高かった。

(総括)

1. CAM70 株は他のワクチン株と比較しても巨細胞形成能が弱かったことから、この性質が CAM70 株の弱毒化の原因の 1 つになっていることが示唆された。
2. H 蛋白と F 蛋白の遺伝子塩基配列を決定し比較解析した結果、CAM70 株と親株の LM1MK2 株の間では、H 蛋白のアミノ酸レベルで他のワクチン株とその親株との間の変異の数に比べ、より多数の変異がおこっていることが明らかとなった。パラミキソウイルスによる細胞融合には F 蛋白のみならず H 蛋白の関与も重要であるという研究報告が近年多くなされてきたので、F 蛋白の変異のみならず H 蛋白における多数の変異も CAM70 株の巨細胞形成能の減弱に関与している可能性が示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

麻疹の予防には弱毒生麻疹ウイルスワクチンが使用されているが、その弱毒化の機構はほとんど解明されていない。本研究は、麻疹ワクチンウイルス CAM 株をその親株の田辺株と比較して、培養したリンパ球での巨細胞形成能と細胞障害性が顕著に減弱していることを明らかにし、次いで巨細胞形成に重要なウイルス表面抗原である F 蛋白（膜融合蛋白）と H 蛋白（赤血球凝集素）の遺伝子塩基配列を比較解析し、CAM 株と親株の間には、F 蛋白で 2 ケ所、さらに H 蛋白で 8 ケ所のアミノ酸置換が起こっていることを明らかにした。これは今回同時に比較解析した他のワクチン株とその親株との間に起こっていた変異の数よりも多く、CAM 株のより一層の弱毒化を支持するものと考えられる。今まで解明されていなかった麻疹ウイルス弱毒化の機構を解明する糸口を開いたもので、学位に値すると思う。