

Title	風疹ウイルス変種株の生物学的性状と抗原解析
Author(s)	美馬, 孝至
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38343
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"〉 大阪大学の博士論文について <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 美 馬 孝 至

博士の専攻分野の名称 博 士 (歯 学)

学 位 記 番 号 第 1 0 5 3 2 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 5 年 2 月 15 日

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

学 位 論 文 名 風 疹 ウ イ ル ス 変 種 株 の 生 物 学 的 性 状 と 抗 原 解 析

論 文 審 査 委 員 (主査)
教 授 松 矢 篤 三(副査)
教 授 岡 田 宏 助 教 授 菅 原 利 夫 講 師 平 地 慶 行

論 文 内 容 の 要 旨

風疹ウイルスが妊婦に感染した場合、胎児に先天性風疹症候群と呼ばれる先天異常が起こることはよく知られている。近年、風疹ウイルス生ワクチンの接種が、妊娠可能女性を対象として施行されるようになった。この生ワクチンによる風疹抗体は効率よく獲得され、抗体陽性者が増加し、風疹発症数が減少した。しかし弱毒化風疹生ワクチンについては、ワクチン接種者で、抗体陽性であるにもかかわらず風疹再感染が発生したり、少数例ではあるが、風疹再感染による同症候群の発生が報告されている。この風疹再感染に関する正確な機構は現在のところ不明である。

一方当教室では以前より、先天性風疹症候群の病理機序を解析するための *in vitro* モデルとして、仔ハムスター腎由来 BHK21 細胞での風疹ウイルス持続感染系を樹立し研究を進めてきた結果、風疹ウイルスが BHK21 細胞に潜在するレトロウイルスである R 型ウイルスとハイブリッド形成することを明らかにした。

ハイブリッド形成により出現した 2 種の変種株のうち、1 型である pi 変種株は、BHK21 細胞における持続感染系より分離され、また 2 型である HPV-RV は、BHK21 細胞における高継代ウイルスストックより分離された。いずれも、風疹ウイルス補体結合 (CF) 抗原を保有するものの、抗風疹ウイルス抗体では感染性が中和されず、抗 R 型ウイルス抗体で中和されるという生物学的特性を有している。この様な変種株の出現機序とその生物学的性状の解析は、風疹ウイルス再感染の機構を検索する上で極めて興味深いことと考えられる。

本研究では比較的取り扱いの容易な HPV-RV を対象に、その生物学的性状を検索し、あわせてウイルス構成タンパクの解析を行なうことにより、風疹ウイルス野生株 (RV) との抗原性の相違を比較検討した。

感染の第一段階である細胞への吸着能を調べると、HPV-RV は効率よく BHK21 細胞およびヒト子宮頸癌由来 HeLa 細胞に吸着したが、RV は BHK21 細胞に緩徐な吸着を示すものの HeLa 胞には全く吸着しなかった。また感染 36 時間後には、HPV-RV は RV より約 10 倍高い増殖を示した。つぎに 55°C 温浴中での熱不活化では、加熱 20 分後には RV の生残率が $-1.51 \log_{10}$ であるのに対し、HPV-RV では $-31 \log_{10}$ で、HPV-RV は RV より急速に熱不活化された。以上の結果は、HPV-RV が、外殻タンパクの変異により本来 RV が親和性を持たない HeLa 細胞の細胞膜レセプターに親和性を持つようになったこと、また異種ウイルスタンパクにより構成されているために構造的に不安定であるこ

とが示唆された。電子顕微鏡による観察でも HPV-RV は、RV（直径70nm）とR型ウイルス（110nm）の中間サイズの粒子（85～100nm）で、ヌクレオイドはR型ウイルスに類似していた。

HPV-RV とRV の共通抗原としては、CF 抗原のみが同定されていたが、抗 HPV-RV および抗 RV 血清を用いた間接蛍光抗体法により、両ウイルス間に交叉抗原の存在が確認され、またオクタロニー寒天ゲル内沈降反応において、HPV-RV がRV とR型ウイルス抗原を保有することが確認された。免疫沈降と SDS-PAGE によりウイルス構成タンパクを解析すると、HPV-RV 感染細胞において、抗風疹ウイルス家兎血清により沈降される E 1（65kDa）、E 2 a（47kDa）、E 2 b（43kDa）の外殻タンパクと C（33kDa）のコアタンパクが検出された。風疹感染ヒト血清でも、HPV-RV の E 1 と E 2 a のバンドが検出され、また、抗 HPV-RV 血清で RV 感染細胞において E 1 と E 2 b が検出された。この結果はポリクローナル抗体で調べるかぎり、全てのウイルス構成タンパクのレベルで交叉のあることを示している。そこで風疹ウイルスの構成タンパクに対するモノクローナル抗体（E 1-18、E 2-2、C-2）を用いてさらに検索を進めた。その結果、間接蛍光抗体法、免疫沈降と SDS-PAGE、ウェスタンブロット法のいずれにおいても、RV の構成タンパクのそれぞれと反応する抗体が、HPV-RV においては E 2-2、C-2 とは反応するが、E 1-18 とは反応しないことが明らかとなった。この事実は RV の感染性に対して中和活性を持つ E 1-18 抗体がまったく HPV-RV を中和しなかったという実験結果によっても支持された。

本研究により、HPV-RV は細胞吸着能、熱不活化、形態において、風疹ウイルス野生株とかなり異なった性格を有するにもかかわらず、風疹ウイルスの構成タンパクを保有する変種株で、赤血球凝集能、中和反応に関与する E 1 領域を欠如していることが確認され、この部位が R 型ウイルス抗原に置換されていると推察される。

論文審査の結果の要旨

本研究は、当教室で樹立した風疹ウイルス変種株の1つである HPV-RV について、その生物学的性状を検索し、あわせてウイルス構成タンパクの解析を行なうことにより、風疹ウイルス野生株との抗原性の相違を比較検討したものである。

その結果、HPV-RV は、細胞吸着能、熱不活化、形態において、風疹ウイルス野生株とかなり異なった性格を有する一方で、風疹ウイルスの構成タンパクを保有することがオクタロニー寒天ゲル内沈降反応、間接蛍光抗体法、免疫沈降および SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法により示された。またその構成タンパクは、風疹ウイルスの赤血球凝集能ならびに中和反応に関与する E 1 領域の一部を欠如していることが風疹ウイルス構成タンパクに対するモノクローナル抗体を用いて確認され、この部位が R 型ウイルス抗原に置換されていると推察された。以上の知見は、風疹再感染の機構を理解する上で価値のあるものであり、本研究者は博士（歯学）の学位を得る資格があるものと認める。