

Title	Variation of DNA Sequence in Immediate-Early Gene of Human Herpesvirus 6 and Variant Identification by PCR
Author(s)	山本, 健
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43148">https://hdl.handle.net/11094/43148</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">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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</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	山本 健 <small>やまもと たけし</small>
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 16671 号
学位授与年月日	平成14年3月8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	Variation of DNA Sequence in Immediate-Early Gene of Human Herpesvirus 6 and Variant Identification by PCR (ヒトヘルペスウイルス6の前初期遺伝子配列の差異及びPCR法による亜型の同定)
論文審査委員	(主査) 教授 山西 弘一  (副査) 教授 生田 和良 教授 松浦 善治

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

ヒトヘルペスウイルス6 (以下、HHV-6) は、1986年に Salahuddin らによってリンパ球系疾患患者よりはじめて分離され、1988年に山西らによって6~12カ月の乳幼児に見られる突発性発疹の原因であることが明らかにされたウイルスである。その後、モノクローナル抗体との反応性やゲノミック DNA の制限酵素断片長の解析などから、HHV-6 は variant A 及び variant B の2種の亜型に分類されることが提案された。

1995年には、AIDS患者より分離されたHHV-6 U1102株の全塩基配列が報告されたが、我々も突発性発疹患者より分離されたHHV-6 HST株の全塩基配列解析を行ってきた。本研究の目的は、HST株の前初期遺伝子領域の塩基配列を決定し、U1102株との遺伝子配列レベルの差異を明らかにすることである。

#### 【方法ならびに成績】

##### HHV-6 HST株のゲノミックDNAライブラリーの構築

HHV-6 HST株感染ヒト臍帯血単核球よりウイルス粒子を分離し、さらにウイルスのゲノムDNAを精製した。制限酵素 *Pst*I にて断片化したウイルス・ゲノムDNAをクローニング・ベクター pUC19を用いてクローニングし、DNAライブラリー pSTY シリーズを構築した。

##### DNA塩基配列の解析

これらのクローンのひとつ pSTY03の deletion mutants を作製し、4456bpの塩基配列を決定した。ホモロジー検索の接果、既に報告されているU1102株の前初期遺伝子と予想される配列と高い相同性のあることが示された。しかしながら、HST株のオープン・リーディング・フレーム中には、U1102株では見られない108塩基対及び228塩基対の配列の存在が確認された。両者の塩基配列の相同性は約85%であり、それより翻訳されたアミノ酸配列の相同性は約70%であった。

##### PCRによるHHV-6のvariantの同定

U1102株で欠損している228塩基対の配列部分を含む領域を増幅するようなPCRプライマーを設計し、各種のHHV-6の実験室株及び臨床分離株に対してPCRを実施した。既存の方法にてHHV-6Bであると同定されているZ29株及びHST株では553塩基対の増幅バンドが、一方、HHV-6Aであると同定されているU1102、GS及びDA株では325塩基対の増幅バンドが観察された。さらに、本邦において突発性発疹患者から分離されたHHV-6(7株)

について PCR を実施したところ、全ての株において HST 株と同じ553塩基対のバンドが観察された。

#### 【総括】

我々は、HST 株の前初期遺伝子と予想される遺伝子領域の塩基配列を決定し、U1102株のそれとの差異を解析した結果、U1102株の配列中に2箇所の欠損領域を見出した。また、両者間の塩基配列の相同性は約85%であったが、翻訳されたアミノ酸配列の相同性は約70%であり、この配列の差異のために HHV-6 の variant によって発現遺伝子が異なり、このことが variant 間の生物学的な性状の違いの一因となっていることが示唆された。

さらに我々は、この前初期遺伝子の欠損配列を含む領域を PCR 増幅することによって、その断片長の違いから、容易に variant の固定が可能なことを見出した。これは、モノクローナル抗体との反応性や PCR 増幅後の制限酵素断片長解析など既存の方法と比べて、はるかに容易な variant の同定法である。

今回の結果が示すところでは、突発性発疹患者より分離された HHV-6 はすべて HST 株と同じ variant B であったが、両 variant の病原性については、未だ不明な部分が多い。今回、HHV-6 の variant の同定が迅速に行えるようになったことで、各 variant の病原性が明らかにされていくものと考えられる。

#### 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 (human herpesvirus 6 ; HHV-6) の2つの亜型 (variant A、B) 間の前初期遺伝子の塩基配列の比較解析と、PCR 法による簡便な variant 同定法の開発に関する論文である。HHV-6 は突発性発疹の原因ウイルスであり、主にリンパ球で感染増殖することができる。本ウイルスは細胞株への感染性やモノクローナル抗体との反応性などの生物学的な解析結果から2つの variant に分類できることが提唱されていたが、variant 間での遺伝子の塩基配列レベルでの明確な差異は見出されていなかった。また、各 variant と突発性発疹、あるいは他の疾患との関連についても明らかではなかった。本研究では、HHV-6 の variant 間での遺伝子配列の顕著な差異を初めて示し、その遺伝子が前初期遺伝子であることから、この差異が HHV-6 の各 variant の生物学的性状や病原性の差異に関与している可能性の有ることを示したこと、及び、前初期遺伝子の塩基配列の差異に基づいた簡便な variant 同定法を開発し、本邦における突発性発疹の原因が主に HHV-6 variant B であるという variant と疾患との関係について重要な示唆を与えたという点より、本論文は学位の授与に値するものと考えられる。