

論文内容要旨

論文題目

Effect of the Addition of Oligosaccharides on the Biological Activities and Antigenicity of Influenza A/H3N2 Virus Hemagglutinin

インフルエンザ A/H3N2 ウイルスヘムアグルチニン蛋白の
生物活性と抗原性に及ぼす糖鎖付加の影響

責任講座： 耳鼻咽喉科学 講座
氏名： 阿部 靖弘

【内容要旨】

A 型インフルエンザウイルスのヘムアグルチニン (HA) 糖蛋白は球状部と茎状部から成り、三量体を形成している。香港型 A/H3N2 ウイルスは 1968 年の出現当時 (代表株 ; A/Aichi/2/68) には HA 球状部に 2 本の糖鎖をもつにすぎなかったが、1975 年の分離株 (代表株 ; A/Victoria/3/75) は 3 箇所、1986 年の分離株 (代表株 ; A/Memphis/6/86) は 4 箇所、そして 1997 年の分離株 (代表株 ; A/Sydney/5/97) は 6 箇所の糖鎖付加部位をもつに至っている。このように A/H3N2 ウイルスは順次 HA 球状部の糖鎖の本数を増加させることによって、効率よく抗体圧から免れてきた可能性が高いと考えられる。一方、アジア型 A/H2N2 ウイルスは、1957 年から 1968 年までの流行期間中、HA 球状部に終始 1 本の糖鎖をもつだけで、その数を増加させていない。これまでに我々は、A/H2N2 ウイルスの HA 球状部に人為的に新たな糖鎖を付加すると生物活性が低下することを明らかにした。また、同ウイルスが短期間でヒトの世界から姿を消したのは、自然界では糖鎖の数を増やせず抗体圧から逃れ得なかったためであると推測してきた。本研究では、現在も流行を繰り返している A/H3N2 ウイルスの HA 蛋白の生物活性と抗原性に及ぼす糖鎖付加の影響を検討した。初めに球状部に 2 箇所の糖鎖付加部位をもつ A/Aichi/2/68 ウイルス HA (野生型) の cDNA を鋳型にして部位特異的変異導入法により、代表的な A/H3N2 自然分離株である A/Victoria/3/75, A/Memphis/6/86, A/Sydney/5/97 の HA と同じ位置に、1 ~ 6 箇所の糖鎖付加部位をもつ 7 種類の変異 HA を作成した。これらの変異 HA を COS-1 細胞で発現させ、細胞内輸送、レセプター結合能、細胞融合能及びヒト血清との反応性を解析した。以下にその成績を要約する。

- 1) すべての変異 HA は野生型 HA と同程度に細胞表面に輸送された。
- 2) 3 ~ 6 箇所の糖鎖付加部位をもつ変異 HA は、レセプター結合能が低下していたが、細胞融合能は糖鎖付加の影響を受けず野生型 HA と同程度に維持されていた。
- 3) 4 ~ 6 箇所の糖鎖付加部位をもつ変異 HA は、1976 年に採取したヒト血清との反応性が、野生型 HA と比して著しく低下していた。

上記の成績から、球状部への糖鎖付加は、A/H3N2 ウイルスの HA 蛋白の生物活性に決定的な障害を与えることなく抗原性を変化させることによって、効率よく抗体圧から免れる能力を付与していると考えられた。

平成 16 年 12 月 27 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 阿部 靖弘

論文題目： Effect of the addition of oligosaccharides on the biological activities and antigenicity of influenza A/H3N2 virus hemagglutinin (インフルエンザ A/H3N2 ウィルスヘムアグルチニン蛋白の生物活性と抗原性に及ぼす糖鎖付加の影響)

審査委員：主審査委員 大澤 資樹 ①

副審査委員 八巻 通安 ②

副審査委員 藤井 順逸 ③

審査終了日：平成 16 年 12 月 20 日

【 論文審査結果要旨 】

A 型インフルエンザウィルスのヘムアグルチニン (HA) タンパクは球状部と茎状部から成り、N 型糖鎖修飾を受けている。香港型 A/H3N2 ウィルス (代表株 ; A/Aichi/2/68) は、1968 年の出現当初には球状部に 2ヶ所の糖鎖結合部位を含んでいたが、1975 年の分離株では 3ヶ所、1986 年では 4ヶ所、1997 年では 6ヶ所と結合部位数の増加が認められる。一方で、アジア型 A/H2N2 ウィルスにおいては、球状部に 1ヶ所の糖鎖結合部位を有するのみで、その数の増加はない。香港型ウィルスが 30 年以上にわたり流行しているのに対し、アジア型は短い流行期間に留まっていることから、A/H3N2 ウィルスが糖鎖数を増加させることにより宿主側の抗体圧から逃れてきたことが推定された。本研究では、HA タンパクにおける糖鎖修飾が、A/H3N2 の生物活性と抗原性に与える影響について検討を加えている。

A/Aichi/2/68 ウィルスの HA cDNA を鋳型にして部位特異的変異導入法により、糖鎖結合配列を他の自然分離株で検出されている部位に導入し 7 種類の変異 cDNA を作製した。これらを COS-1 培養細胞に発現させたところ、ほぼ期待された数の糖鎖修飾と細胞表面への輸送が確認された。赤血球の溶血反応からレセプターとの結合活性を測定すると、3～6ヶ所の糖鎖結合部位をもつ変異 HA においては、結合能の低下が認められた。しかし、形質転換された COS 細胞における細胞融合能においては、糖鎖数は影響を与えなかった。抗原性に与える影響に関しては、4～6ヶ所の糖鎖結合部位を有する変異 HA は、1976 年に採取されたヒト血清との反応性が、野生型 HA と比較して著しく低下しているのが認められた。これらのことから、球状部への糖鎖付加は、A/H3N2 ウィルスの HA タンパクの生物活性に決定的な影響を与えることなく、抗原性を低下させることによって、効率よく抗体圧から免れる能力を与えていると結論付けられた。

実験は精巧に組み立てられ、申請者の地道な努力がうかがえるものとなっている。審査の過程では、材料及び方法の記載を追加するように指導があった。しかしながら、研究はウィルス感染流行の機序解明に大きく貢献するものである。論文の完成度は高く、すでに国際的な学術雑誌に掲載されており、学位審査委員会は本研究が博士 (医学) の授与に値するものと判断する。

(1, 200 字以内)