

総括研究報告書

課題番号： 29-14

課題名：小児難治性ウイルス疾患およびリンパ腫における感染およびガン細胞同定方法の開発

主任研究者名（所属施設） 国立成育医療研究センター

（所属・職名） 高度先進医療研究室 研究員

（研究成果の要約）難治性ウイルス疾患である慢性活動性 EBV 感染症 (CAEBV) や EBV-HLH など EBV 関連 T/NK リンパ腫は大半が小児で発症する。これらの疾患は抗ウイルス薬がないため、感染細胞の同定による速やかな治療方針の決定が患児の予後に影響する。本研究は小児難治性ウイルス疾患およびリンパ腫における感染およびガン細胞同定方法の開発を目指す。本年度は、細胞表面 EBV 膜タンパク質を認識する抗体の作製を目標とし、抗原として CAEBV で発現のみられる EBV 膜タンパク質である LMP2 の細胞からの大量精製を試みた。

1. 研究目的

本研究の目的 難治性ウイルス疾患である CAEBV や EBV-HLH など EBV 関連 T/NK リンパ腫は大半が小児で発症する。これらの疾患は抗ウイルス薬がないため、感染細胞の同定による速やかな治療方針の決定が患児の予後に影響する。本研究は小児難治性ウイルス疾患およびリンパ腫における感染およびガン細胞同定方法の開発を目指す。

に作製された為であると考えられ、LMP2 はわずかに回収されるだけで、効率よく LMP2 が回収できないことがわかった。

(2)次に His-tag を融合して LMP2 の精製を試みた。SDS-PAGE 後 CBB 染色レベルで分子量約 60kDa および 100kDa のバンドを確認した。Western blotting で抗 LMP2 抗体によって確認したが、約 60kDa のバンドが LMP2 である可能性が考えられた。しかし、100kDa のバンドと挙動が一致しており、強固に結合していることが示唆された。

今後は、精製純度および発現量の改善を行っていく必要がある。

2. 研究組織

研究者	所属施設
松田 剛	成育医療研究センター

3. 研究成果

本年度の研究は、細胞表面 EBV 膜タンパク質を認識する抗体の作製を目標とし、

(1)抗原として EBV 膜タンパク質である LMP2 の C 末に PA-tag を融合し、細胞からの精製を試みた。抗 PA-tag 抗体ビーズにより細胞内発現タンパク質を精製したところ、SDS-PAGE 後 CBB 染色レベルで分子量約 40kDa のポドプラニンタンパク質のバンドを確認した。これは PA-tag がポドプラニンを元

4. 研究内容の倫理面への配慮

本研究では、抗体作製後ヒト化マウスでの検出を行う。ヒト化マウス作製にヒト臍帯血を利用する。臍帯血は、市販されているものを購入し利用するため、連結不可能匿名化しており、提供者に不利益は生じない。動物実験においては、動物実験指針を遵守し、動物愛護の観点から十分な配慮をする。