

水痘・帯状疱疹ウイルス (VZV) の糖蛋白の塩基配列における Oka 株および Oka 親株の比較検討

新妻 隆広

水痘・帯状疱疹ウイルス (VZV) Oka 株 (ワクチン株) は野生株である Oka 親 (P-Oka) 株を経代培養し作成した弱毒株であり、ヒトで水痘の臨床症状を呈することなく VZV に対する免疫原性を有する。このウイルスの弱毒化機序を分子生物学的に調べるため、我々は VZV 糖蛋白である gE, gB, gH, gI, gC, gL の Oka 株と P-Oka 株の塩基配列をそれぞれ比較した。Oka 株と P-Oka 株の gE, gB, gH, gI, gL の塩基配列は両者で完全に一致し、gC 内に存在する繰り返し配列の数は Oka 株で 1.76 回 (74 bp)、P-Oka 株で 0.76 回 (32 bp) であった。Oka 株の gC の停止コドンに相当する部分で点変異が認められたが、Oka 株、P-Oka 株共に停止コドンのままで変化なかった。Oka 株は gE, gB, gH, gI, gL に対して P-Oka 株と同様の免疫を誘導されると考えられた。Oka 株は P-Oka 株と VZV の gC 内にある繰り返し配列でアミノ酸配列上違いがあるため、皮膚病原性との関連が疑われた。

(平成12年8月5日受理)

Investigation of DNA Sequences on Glycoproteins in VZV Oka Vaccine and Parental Oka Strains

Takahiro NIIZUMA

The Oka vaccine strain, derived from a Japanese clinical isolate (the parental Oka strain) of varicella-zoster virus (VZV) through tissue cultures, induces immunity against VZV without clinical manifestations. VZV glycoproteins, which are expressed on the surface of the infected cells and the virus itself, induce cellular and humoral immunity against VZV after infection. To investigate the molecular basis of viral attenuation, we compared the DNA sequences in the gE, gB, gH, gI, gC and gL glycoproteins of the Oka vaccine and parental Oka strains. The DNA sequences in gE, gB, gH, gI and gL of the Oka vaccine strain were completely consistent with those of the parental strain. On the other hand, the Oka vaccine strain contained 1.76 copies (74 bp) of the tandem repeat sequences within gC, while the parental Oka strain contained 0.76 copies (32 bp). In addition, one silent mutation in the Oka vaccine strain was detected at the stop codon of ORF14 (gC). The difference in DNA sequences of gC between the two strains may related to the attenuated virulence of the Oka vaccine strain with the skin lesion. (Accepted on August 5, 2000)

Kawasaki Igakkaishi 26(3):139-146, 2000

Key Words ① Varicella zoster virus ② Glycoprotein ③ DNA sequence
④ Oka vaccine strain

はじめに

水痘・帯状疱疹ウイルス (VZV) は α ヘルペスウイルスの1種であり、ヒトに感染性を持つヘルペス属の中で最小である。そのゲノムは約125 kbpであり、約70個の Open Reading Frame (ORF) を含有している¹⁾。英国野生株である Dumas 株のゲノムの塩基配列が報告され、現在のところ少なくとも6つのウイルス糖蛋白 gE, gB, gH, gI, gC, gL が存在し、ORF 68, 31, 37, 67, 14, 60にそれぞれ相当することが判っている¹⁾⁻³⁾。VZV ゲノムは unique short region (U_s) と unique long region 領域 (U_l) の2つの部位に別れている。U_s には3箇所の ORF が存在するが、そのうち2つが gE と gI であり¹⁾、残りの4つの糖蛋白は U_l 上に含まれる。VZV gE と gI はウイルス感染性において重要な役割を担っていると考えられている。gE と gI の両方を欠失した VZV の cosmid vector は感染したメラノマ細胞で感染性ウイルスを産生しなかった⁴⁾。VZV gB は細胞表面物質であるヘパラン硫酸プロテオグリカンに特異的に結合するリガンドであることが示されている⁵⁾。VZV gH に対するモノクローナル抗体は VZV の感染細胞への侵入と感染細胞からの放出を阻害するため、gH はウイルスが細胞から細胞へ拡大していくのに重要であると思われる⁷⁾。VZV gC は皮膚の病原性において重要であると考えられている。gC 欠失変異株は SCID マウスのヒト皮膚移植片における感染実験において表皮貫通性が悪いことが報告されている⁸⁾。VZV gL は gH と複合体を形成し gH を感染細胞表面に移送すると考えられている⁹⁾。

VZV 糖蛋白はウイルス外表面上にあるいは感染細胞表面上に発現し、細胞性免疫と体液性免疫のターゲットになる。しかしワクチン株とその親株における分子生物学的な解析は行われていない。親株ウイルスとそれから継代培養で派生したウイルス株との塩基配列解析をするこ

とでどのような変化が生じていたのか明らかになる。ウイルスの弱毒化機序に加え、日本の野生株とワクチン株との鑑別方法を調べるため、6つの糖蛋白の塩基配列をワクチン株とその親株とで比較した。

方法と対象

VZV は弱毒生ワクチンである Oka 株 (Lot No.8406, 阪大微研) を用いた。Oka 親 (P-Oka) 株は高橋理明名誉教授 (阪大微研) から譲渡された。

Oka 株の PCR は DNA 抽出操作無しに直接遺伝子増幅した。一方、P-Oka 株は QIAamp[®] DNA Mini Kit (QIAGEN) を用いて DNA 抽出を行い、PCR を行った。P-Oka 株の gE, gB, gH, gI, gC, gL と Oka 株の gC の遺伝子増幅には Z-taq DNA polymerase (宝酒造) を用いた。Oka 株の gE, gB, gH, gI, gL の遺伝子増幅には Pfu DNA polymerase (Promega) を用いた。混入がないよう PCR はクリーンベンチで行った。PCR に用いる上流と下流のプライマーは Davison の解析結果¹⁾ より25塩基対 (bp) 前後の大きさになるようにそれぞれ設計した (Table 1)。そのプライマーは DNA シンセサイザー (PCR-MATE model 391, Applied Biosystems) によって作成した。PCR は Omn-thermal cycler (Hybaid) で行われた。PCR の反応条件および内容組成は Table 2 に示した。PCR 産物は 1% Seakem GTG アガロースゲル (FMC Bioproducts) を用いて電気泳動を行い、エチジウム・プロマイド染色の後、紫外線下で観察した。

電気泳動にて目的のバンドが確認した後、アガロースゲルより PCR 産物精製を切り出し、QIAEX II キット (QIAGEN) により DNA を抽出した。

サブクローニングには pZEr0-2 vector (Invitrogen) を用い、このベクターの切断には EcoR V を用いた。平滑末端処理による ligation を行い、直接にコンピテント細胞 (One Shot cell, Invitrogen) に transformation した。インサー

Table 1. The DNA sequences of the primers. The upper and lower primers were indicated above and below lines, respectively.

糖蛋白	プライマー (上流)	プライマー (下流)
gE (gp I)	5'-CACGTTACCCGAAAAGTCCCT-3'	5'-ATCCGCGCCGAATTATATGACCGC-3'
gB (gp II)	5'-CACGGACCCTTAGACGGCATTAT-3'	5'-TCCAGTGCCAGTGAAATATGACGG-3'
gH (gp III)	5'-TCACGAAGCATGTCTCCGTTG-3'	5'-ATATACTGTCTCGGTGGGAAGCGT-3'
gI (gp IV)	5'-CTTAATACAGAGTCACGCCCCATT-3'	5'-TCCGAACCCCATCAATACCCCC-3'
gC (gp V)	5'-CAAAAGAAGCTCGCCGCTAAAGATA-3'	5'-AGTTGCGGGCGGGTTTGACGTGT-3'
gL (gp VI)	5'-ACCGAATCCAGTTGCGAAAAGAACG-3'	5'-GACGTTTGACATATTAAGATCGCC-3'

トしている可能性のあるプラスミドを Nsi I 制限酵素処理し電気泳動して目的のバンドの有無を確認した。サブクローニングの操作手順は Zero Background/Kan Cloning Kits (Invitrogen) のマニュアルおよび成書¹⁰⁾に従った。

DNA 塩基配列決定は, dideoxy chain termination 法¹¹⁾ により ABI PRISM Dye Termination Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Perkin-Elmer) と GeneAmp PCR system9600 (Perkin-Elmer) を用いて cycle sequencing を行った。塩基配列の解析は 373 A DNA sequencing system (Applied Biosystems) により行った。反応内容物の組成は Table 2 に示した。Cycle sequencing に用いたプライマーは DNA 鋳型鎖に対し約 300 bp 間隔になるよう設計した。こ

れら sequencing primer は template sequence と coding sequence の両方の塩基配列を解析するため, sense primer および antisense primer を設計した。解析されたデータは最低 2 回繰り返して結果が同じである事を確認した。

結 果

6 つの糖蛋白に対する Oka 株と P-Oka 株の塩基配列およびアミノ酸配列を比較検討した。さらにこれらと既に塩基配列の明かになっている英国野生株である Dumas 株のシークエンス¹⁾とも比較した。

Glycoprotein E (ORF 68) (Fig. 1)

gE において, Oka 株のエクソン領域の上流 316 bp から下流 22 bp まで, P-Oka 株のエクソンの上流 378 bp から下流 22 bp までを同定した。両者の塩基配列は完全に一致した。Dumas 株と比較するとゲノムの 115926 番目でシトシンからチミンへ変異しており, アミノ酸配列では 40 番目でイソロイシンからスレオニンへ変異していた。

Glycoprotein B (ORF 31) (Fig. 2)

gB において, Oka 株のエクソン領域の上流 230 bp から下流 172 bp まで, P-Oka 株のエクソンの上流 203 bp から下流 423 bp までを同定した。両者の塩基配列は完全に一致した。Dumas 株と比較するとゲノムの 57224, 57301, 57397 番

Table 2. The condition and mixture of reaction in PCR and cycle sequencing

Condition for PCR		PCR mixture	
first cycle	95°C, 1min	E-tac DNA polymerase	1.25U
denaturation	94°C, 1min	10x buffer	10μl
annealing	50~64°C, 1min	dNTP	200μM
extension	72°C, 1.5~4min	primer	200mol
additional cycle	72°C, 10min	template DNA	4μl
		H ₂ O	73μl
			100μl

Condition for cycle sequencing		Mixture for cycle sequencing	
First step	95°C, 3 min	terminator ready reaction mix	8μl
Second step	96°C, 10 sec	template DNA	100ng
	50°C, 5 sec	primer	3.2pmol
	60°C, 4 min	d-H ₂ O	q.s.
Third step	4°C and hold		20μl

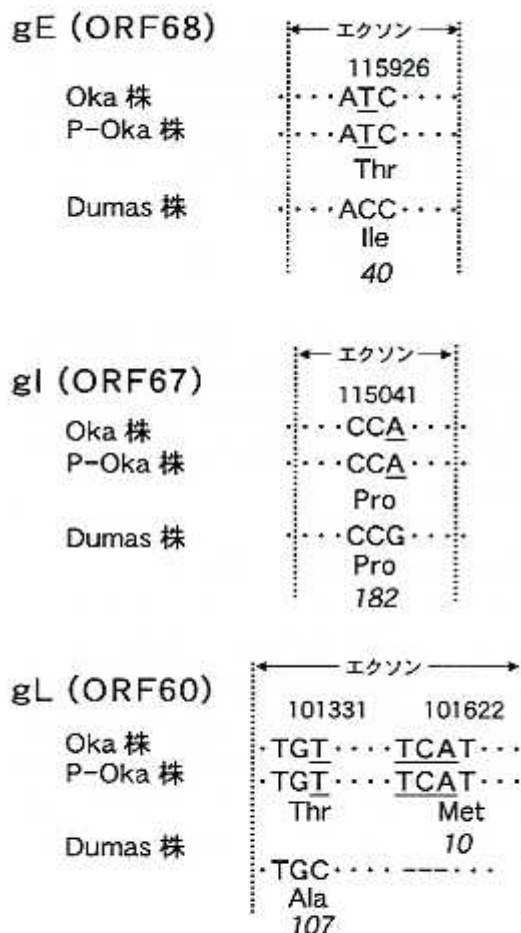


Fig. 1. The mutations of gE, gI and gL were indicated with a bold type and underlined in the Oka vaccine and parental Oka strains relative to Dumas strain. The numbers of genome were shown above the mutations. The amino acid sequences and the sequence numbers of amino acid were indicated under the mutations. The exons were between dotted lines.

目でそれぞれアデニンからシトシンへ、アデニンからシトシンへ、グアニンからチミンへ変異しているが、アミノ酸配列では73番目でスレオニンからプロリンへの変異のみであった。またイントロン領域であるゲノムの59757番目でグアニンの1塩基挿入が認められた。

Glycoprotein H (ORF 37) (Fig. 2)

gHにおいて、Oka株のエクソン領域の上流156 bpから下流130 bpまで、P-Oka株のエクソンの上流137 bpから下流162 bpまでを同定した。

両者の塩基配列は完全に一致した。Dumas株と比較するとゲノムの66646, 66879, 68172番目でグアニンからチミンへ、シトシンからチミンへ、グアニンからアラニンへ変異しており、アミノ酸配列では269番目と670番目でプロリンからロイシンへ、アルギニンからリシンへそれぞれ変異があった。

Glycoprotein I (ORF 67) (Fig. 1)

gIにおいて、Oka株のエクソン領域の上流113 bpから下流59 bpまで、P-Oka株のエクソンの上流5 bpから下流46 bpまでを同定した。両者の塩基配列は完全に一致した。Dumas株と比較するとゲノムの115041番目でグアニンからアデニンへ変異していたが、アミノ酸配列の変異はなかった。

Glycoprotein C (ORF 14) (Fig. 3)

gCにおいて、Oka株のエクソン領域の上流357 bpから下流34 bpまで、P-Oka株のエクソンの上流358 bpから下流175 bpまでを同定した。Oka株でチミンからシトシンへの点変異がゲノムの19431番目で検出された。これはORF 14の停止コドンに相当するところであるが、Oka株、P-Oka株とも停止コドンと変化なかった。Dumas株と比較して点変異が認められるのがゲノムの19719, 20656, 20684番目で、アデニンからグアニンへ、チミンからアデニンへ、チミンからシトシンへそれぞれ変異していた。アミノ酸配列では153, 144番目でそれぞれトリプシンからフェニルアラニンへ、スレオニンからアラニンへ変異を認めた。ORF 14内に存在する繰り返し回数はFigure 4に示すように42 bpを基準にすると、Oka株で1.76回(74 bp)、P-Oka株で0.76回(32 bp)、Dumas株で7.76回であった。これよりOka株とP-Oka株のコードするgCのアミノ酸残基数はDumas株が560であるのに対し、それぞれ462と476であった。Oka株はgCの繰り返し配列内にHaeIIIの制限酵素部位を2ヶ所持つが、P-Oka株ではたった1ヶ所だけだった。

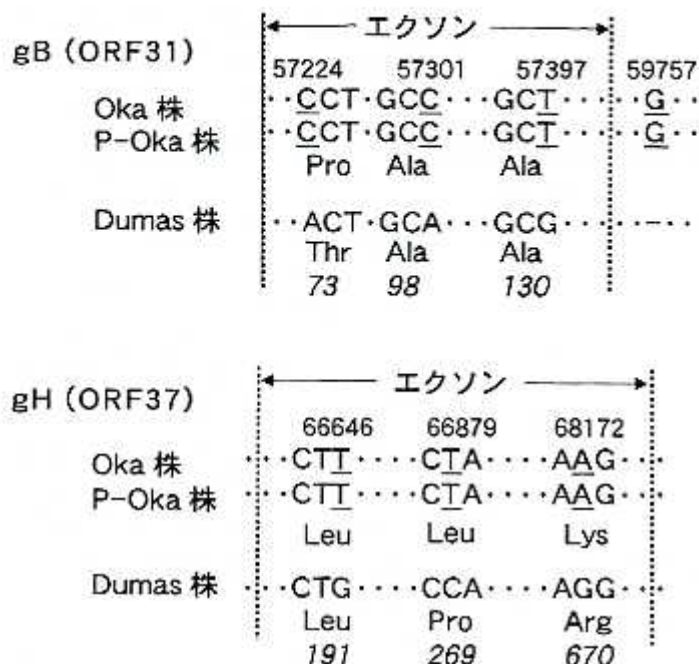


Fig. 2. The mutations of gB and gH were indicated with a bold type and underlined in the Oka vaccine and parental Oka strains relative to Dumas strain. The numbers of genome were shown above the mutations. The amino acid sequences and the sequence numbers of amino acid were indicated under the mutations. The exons were between dotted lines.

gC (ORF14)

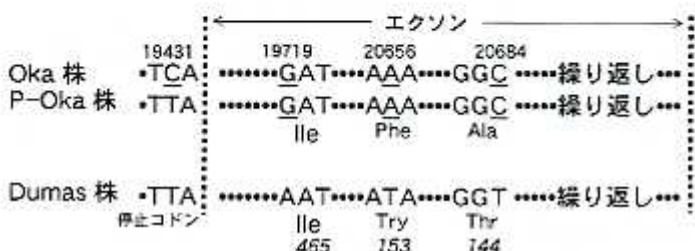


Fig. 3. The mutations of gC were indicated with a bold type and underlined in the Oka vaccine and parental Oka strains relative to Dumas strain. The numbers of genome were shown above the mutations. The amino acid sequences and the sequence numbers of amino acid were indicated under the mutations. The exons were between dotted lines.

Glycoprotein L (ORF 60) (Fig. 1)

gLにおいて、Oka株のエクソン領域の上流186 bpから下流168 bpまで、P-Oka株のエクソンの上流186 bpから下流196 bpまでを同定した。両者の塩基配列は完全に一致した。Dumas株と比較するとゲノムの101331番目でシトシンからチミンへの変異と101622番目で3塩基挿入が

見られた。アミノ酸配列では107番目でイソロイシンからスレオニンへ変異しており、10番目にメチオニンの挿入が見られた。

考 察

今回Oka株とP-Oka株の塩基配列の結果を比較するとgCでのみ違いが見られた。VZV gCの構造は主要組織適合抗原クラスIIの定常領域に相同性がある¹²⁾。VZV gCは他のVZV糖蛋白と異なり42 bpの繰り返し配列(R2)を持ち、異なった株間では繰り返し回数が様々である¹³⁾。VZV gCは機能的にも研究されており、SCIDマウスのヒト皮膚移植片における病理学的検討では、VZV gC欠失変異株はP-Oka株より表皮での変性した組織の大きさと壊死を伴う水疱が小さいこと、またin situ hybridizationによる検討では、P-Oka株が感染した表皮深層でVZV DNAを検出し得たが、gC欠失株感染では検出できなかったという事実⁸⁾より、gCが表皮繊維芽細胞から表皮層を貫通するのに重要な役割を担っていることが示唆されている。

gCが構造的に異なるため、水痘ワクチン接種者と自然水痘感染者の間には免疫応答が異なる事が予想される。VZVのScott株(米国野生株)gCに対して水痘ワクチン接種患者の血清抗体は自然水痘既感染者より反応性がかなり低いこと¹⁴⁾。またVZV Scott株のgCに対するウサギ血清抗体を用いてウエスタンブロットを行うと、野生株に比べワクチン株であるOka株のgCに対する反応が乏しい事が示されている¹⁵⁾。VZV gCの細胞性免疫における報告

繰り返し配列

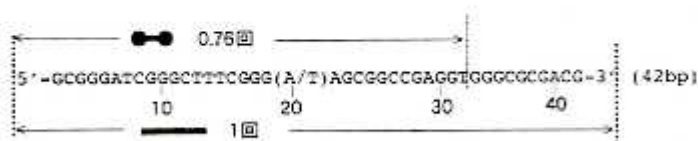


Fig. 4. The numbers of repeat sequence and the structure within gC. One repeat sequence of gC, of which 20th base was adenine or thymine, had 42 bp. The adenine or thymine were meant by A or T above bold lines, respectively.

では、細胞障害性Tリンパ球のgCに対する responder cell frequencyの平均は自然水痘既感染者よりワクチン接種患者の方が低かった¹⁶⁾。これらのことより、異なるgCの構造がワクチン接種者においてgCに対する体液性と細胞性免疫反応を低下させたことが考えられた。Dumas株、Scott株、Webster株(臨床分離株)といった野生株はgC内の繰り返し塩基配列内に7.76回(326 bp)の繰り返しを含んでおり¹⁷⁾、P-Oka株は0.76回(32 bp)であった。一方、我が国で使用されているワクチン株であるOka株は1.76回(74 bp)、American Type Culture Collectionより得られたOka株が3.76回(158 bp)だった。VZVの株間でこれら繰り返し配列数は様々であり、構造上の差異が認められた(Fig. 5)。我々はウイルス毒性と病原性に関して一定の法則を見出せなかった。

我々は今回VZVのOka株とP-Oka株のgC以外の糖蛋白は塩基配列が一致したという結果を得た。水痘に対する体液性免疫については、水痘に感染したヒトではgE、gB、gH、gI、gCそれぞれに対しウイルス中和抗体を産生することが報告されている^{13)、17)、18)}。VZV

gLに対する細胞性および体液性免疫反応は現在のところ調べられていない。リンパ球幼若化反応によって細胞性免疫を検討すると、自然水痘既感染者におけるgE、gB、gHに対するそれぞれの反応陽性率は50%、45%、45%であった¹⁹⁾。我々が以前にVZV糖蛋白に対するリンパ球幼若化反応を検討したが、VZV全抗原、VZV皮内テスト抗原液(主にgHとgLを含有)、VZV gEに対する細胞性免疫はそれぞれ100%、69.2%、7.7%という陽性率であった²⁰⁾。

これらの結果より、水痘抗原の種類が多くなる程、特異的細胞性免疫も強くなること示された。VZV gEに対するリンパ球幼若化反応の頻度の違いは恐らく異なった人種のHLAハプロタイプにより生じたと考えた。gCを除く糖蛋白がOka株およびP-Oka株で同一であった事より、gCを除くエピトープが同じでありワクチン接種者もgCを除く糖蛋白について自然水痘既感染者と同等の免疫が作られ、自然水痘を予防する効果があるものと考えられる。

水痘ワクチン接種後に水痘や帯状疱疹を引き起こす事があり、これがワクチン株で起こったものか、野生株が感染して起こったものかを鑑

P-Oka株	TSAASRKPDPA
Oka株	TSAATRKPDPAVAP TSAASRKPDPA
Oka株(ATCC)	TSAATRKPDPAVAP TSAASRKPDPAVAP TSAATRKPDPAVAP TSAASRKPDPA
Dumas株	TSAATRKPDPAVAP TSAASRKPDPAVAP TSAASRKPDPAVAP TSAASRKPDPAVAP
Scott株	TSAATRKPDPAVAP TSAASRKPDPAVAP TSAATRKPDPAVAP TSAASRKPDPAVAP
Webster株	TSAATRKPDPAVAP TSAASRKPDPAVAP TSAASRKPDPAVAP TSAASRKPDPAVAP
Dumas	TSAATRKPDPAVAP TSAASRKPDPAVAP TSAATRKPDPAVAP TSAASRKPDPA
Scott	TSAASRKPDPAVAP TSAATRKPDPAVAP TSAATRNPDPAVAP TSAATRKPDPA
Webster	TSAASRKPDPAVAP TSAATRKPDPAVAP TSAASRKPDPAVAP TSAASRKPDPA

P-Oka株 : 0.76回 Oka株 : 1.76回 Oka株(ATCC) : 3.76回
Dumas株 : 7.76回 Scott株 : 7.76回 Webster株 : 7.76回

Fig. 5. Comparison of the amino acid sequences of gC in the parental Oka, Oka vaccine (Biken), Oka (ATCC: American Type Culture Collection), Dumas, Scott and Webster strains. The amino acid sequences were indicated by one letter.

別すべき場合がある。英国や米国の VZV 野生株は Restriction Fragment Length Polymorphism でワクチン株と鑑別が可能である^{21), 22)}が、この方法では日本の野生株とワクチン株は鑑別できなかった。我々は Oka 株と P-Oka 株（日本野生株）との間で gC の塩基配列上、停止コドンと繰り返し配列数の違いを見出した。このことを基にこれらの株は DNA sequence analysis により鑑別をつける事が可能である。

ま と め

VZV gE, gB, gH, gI, gL の塩基配列は Oka 株と P-Oka 株の間で完全に一致した。この事はおそらく永痘ワクチン接種は VZV に対する免疫を保つことに関連していると考えられる。VZV gC の塩基配列は Oka 株と P-Oka 株

で異なり、VZV の皮膚病原性と関連あるかもしれない。今後、gC の変異 cosmid vector を作成し SCID mouse における皮膚移植片上で病原性の検討を行う予定である。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を頂きました川崎医科大学小児科学教室、片岡直樹教授、寺田喜平医学博士に謝意を捧げます。また研究を遂行するにあたり、種々の御指導を賜りました川崎医科大学分子生物学教室、濃野 勉理学博士、西松伸一部農学博士に深謝いたします。また本研究のため検体を提供して下さいました阪大微研、高橋理明名誉教授に深甚なる謝意を捧げます。

本研究の一部は川崎医科大学プロジェクト研究費(10-503, 11-507)の援助によって行われたものである。

文 献

- 1) Davison AJ, Scott JE: The complete DNA sequence of varicella zoster virus. *J Gene Virol* 67: 1759-1816, 1986
- 2) Davison AJ, Edson CM, Ellis RW, Forghani B, Gilden D, Grose C, Keller PM, Vafai A, Wroblewska Z, Yamanishi K: New common nomenclature for the glycoprotein genes of varicella zoster virus and their glycosylated products. *J Virol* 57: 1195-1197, 1986
- 3) Forghani B, Ni L, Grose C: Neutralization epitope of the varicella-zoster virus gH: gL glycoprotein complex. *Virology* 199: 458-462, 1994
- 4) Yao Z, Jackson W, Forghani B, Grose C: Varicella-zoster virus glycoprotein gpI/gpIV receptor: Expression, complex formation, and antigenicity within the vaccinia virus-T7 RNA polymerase transfection system. *J Virol* 67: 305-314, 1993
- 5) Mallory S, Sommer M, Arvin AM: Mutational analysis of the role glycoproteins I and E in varicella-zoster virus replication and its effects on glycoprotein E conformation and trafficking. *J Virol* 71: 8279-8288, 1997
- 6) Jacquet A, Haumont M, Chellun D, Massaer M, Tufaro F, Bollen A, Jacobs P: The varicella zoster virus glycoprotein B (gB) plays a role in virus binding to cell surface heparan sulfate proteoglycans. *Virus Res* 53: 197-207, 1998
- 7) Rodriguez JE, Moninger T, Grose C: Entry and egress of varicella virus blocked by same anti-gH monoclonal antibody. *Virology* 196: 840-844, 1993
- 8) Moffat JF, Zerboni L, Kincington PR, Grose C, Kaneshima H, Arvin AM: Attenuation of the vaccine Oka strain of varicella-zoster virus and role of glycoprotein C in alphaherpesvirus virulence demonstrated in the SCID-hu mouse. *J Virol* 72: 965-974, 1998
- 9) Duns KM, Grose C: Cell surface expression and fusion by the varicella-zoster virus gH: gL glycoprotein complex: Analysis by laser scanning confocal microscopy. *Virology* 210: 429-440, 1995
- 10) Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T: *Molecular Cloning a laboratory manual*, 2nd Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, pp1.3-1.91
- 11) Sanger F: Determination of nucleotide sequences in DNA. *Science* 24: 1205-1210, 1981

- 12) Fitzpatrick DR, Babiuk LA, Zamb TJ : Nucleotide sequence of bovine herpesvirus type 1 glycoprotein gIII, a structural model for gIII as a new member of the immunoglobulin superfamily, and implications for the homologous glycoproteins of other herpesviruses. *Virology* 173 : 46-57, 1989
- 13) Kinchington PR, Remenick J, Ostrove JM, Straus SE, Ruyechan WT, Hay J : Putative glycoprotein gene of varicella zoster virus with variable copy numbers of a 42-base-pair repeat sequence has homology to herpes simplex virus glycoprotein C. *J Virol* 59 : 660-668, 1986
- 14) Kinchington PR, Ling P, Pensiero M, Moss B, Ruyechan WT, Hay J : The glycoprotein products of varicella-zoster virus gene 14 and their defective accumulation in a vaccine strain (Oka). *J Virol* 64 : 4540-4548, 1990
- 15) Kinchington PR, Ling P, Pensiero M, Gershon A, Hay J, Ruyechan WT : A possible role for glycoprotein gpV in the pathogenesis of varicella-zoster virus. *Adv Exp Med Biol* 278 : 83-91, 1990
- 16) Sharp M, Terada K, Wilson A, Nader S, Kinchington PE, Ruyechan WT, Hay J, Arvin AM : Kinetics and viral protein specificity of the cytotoxic T lymphocyte response in healthy adults immunized with live attenuated varicella vaccine. *J Infect Dis* 165 : 852-858, 1992
- 17) Keller PM, Lonergan K, Neff BJ, Morton DA, Ellis RW : Purification of individual varicella-zoster virus (VZV) glycoproteins gpI, gpII and gpIII and their use in ELISA for detection of VZV glycoprotein-specific antibodies. *J Virol Methods* 14 : 177-188, 1986
- 18) Vafai A, Weining Y : Neutralizing antibodies induced by recombinant vaccinia virus expressing varicella-zoster virus gpIV. *J Virol* 65 : 5593-5596, 1991
- 19) Giller RH, Winistorfer S, Grose C : Cellular and humoral immunity to varicella zoster virus glycoproteins in immune and susceptible human subjects. *J Infect Dis* 160 : 919-928, 1989
- 20) Kawano S, Terada K, Hiraga Y, Morita T : Immunogenicity of the whole antigen and glycoprotein I of varicella-zoster virus (VZV) and the VZV skin test antigen. *Acta Paediatr Jpn* 38 : 121-123, 1996
- 21) Gershon AA, Steinberg SP, Gelb L, Gulasso G, Borkowsky W, LaRussa P, Ferrara A : Live attenuated varicella vaccine. *JAMA* 252 (3) : 355-62, 1984
- 22) Hawrami K, Breuer J : Analysis of United Kingdom wild-type strains of varicella-zoster virus : Differentiation from the Oka vaccine strain. *J Med Virol* 53 : 60-62, 1997