<短 報>

Region S における重合人血清アルブミン結合活性の存在について

溝上 雅史 杉浦 莊一 折戸 悦郎
伊奈 幸子 亀島 信利 山本 正彦*

はじめに：B型肝炎ウイルス（以下 HBV）には、重合人血清アルブミン（以下 poly-HSA）と反応する部位があり、poly-HSA receptor 又は Albumin receptor と呼ばれ、この poly-HSA receptor は、HBV-DNA と HBV の polypeptide 分析より Region pre-S に code されている pre-S 抗原に存在すると考えられている。今回我々は、遺伝子工学の手法にて yeast より產生された HBs 抗原の poly-HSA との反応性を検討したところ、Region S に code されている HBs 抗原にも poly-HSA receptor 活性を認めた。更に、Region pre-S と Region S のアミノ酸配列の homology の検討から poly-HSA receptor が、Region S に code されている HBs 抗原にも存在すると思われるので報告する。

方法：各種濃度の subtype adr, adyw の 2 種の yeast derived HBs 抗原（以下 y-HBsAg）を使用した。測定は、poly-HSA を coat した bead と各々の y-HBsAg を 37 度 C 120 分反応し洗浄後、 I^{125} labelled HBs 抗体を 45 度 C 60 分反応させ同様に洗浄し γ -counter にて測定した。測定は、triplet で行いその平均値を使用した。一方、Region pre-S と Region S の homology の検討は、各々の subtype の HBV-DNA の Region Pre-S と Region S の Open Reading Frame からアミノ酸配列を推定し、そのアミノ酸配列 6 個を 1 単位とし、6 個中 4 個以上一致する部分を homology site とした。

結果：y-HBsAg の poly-HSA との反応性は、adr では、0.62 μ g 以上が陰性 control より高値となり、5 μ g 以上では、prozone 現象を示し、5～0.31 μ g の間は直線性を示した。一方、adyw でも 0.31 μ g 以上が陰性 control より高値となり、5～0.31 μ g の間は直線性を示した。更に、両者とも poly-HSA の前処理で陰性 control より低値となった（Fig.）。一方、Region pre-S と Region S の homology site は、adr では 2 箇所、adyw では 7 箇所に認めた。この homology site だけ

Fig. Poly HSA receptor activity for yeast derived HBsAg

○—○ subtype adr, ●—● preincubated by poly HSA, □—□ subtype adyw, ■—■ preincubated by poly HSA

を subtype 間で比較すると、Region pre-S では、Pro-Ala-Gly-Gly-Ser-Ser だけが一致した。この部位は、adr では N 末より 187～192 番、adyw では N 末より 131～136 番に存在した。一方、この部位に対応する Region S の homology site は、adr では Pro-Ala-Gln-Gly-Thr-Ser、adyw では Pro-Ala-Gln-Gly-Ile-Ser であり、adr、adyw とともに N 末より 127～132 番に一致して存在していた（Table）。

考案：1979 年 Imai¹⁾らは、Albumin receptor 仮説を提唱した。これは、HBV 上に poly-HSA と反応する部位があり、この部位を介して体内に進入した HBV が結合することで、HBV の向肝性を説明する仮説である。更に、この部位は、HBV-DNA 上 Region pre-S に code されている pre-S 抗原に存在することが、HBV キャリアーの血清から抽出された HBV の polypeptide 分析²⁾により明らかにされた。一方、従来、HBs 抗原の精製は、HBV キャリアーの血清から抽出していたために、pre-S 抗原を完全に排除し純粋な HBs 抗

* 名古屋市立大学医学部第 2 内科

<受付日 61 年 10 月 28 日>

Table Homology site and its amino acid sequence between pre-S and S region (sequence number).

Region \ subtype	homology site	
	adr	adyw
Pre-S	(187) Pro-Ala-Gly-Gly-Ser-Ser * * * *	(131) Pro-Ala-Gly-Gly-Ser-Ser * * * *
S	(127) Pro-Ala-Gln-Gly-Thr-Ser (132)	(127) Pro-Ala-Gln-Gly-Ile-Ser (132)

原だけを取り出すことは不可能であったが、遺伝子工学的手法の発達で、純粋な HBs 抗原が yeast で産生可能となった。今回純粋な HBs 抗原である y-HBsAg を poly-HSA と反応させたところ、活性は低い。y-HBsAg に poly-HSA receptor 活性が存在した。これは、HBsAg に poly-HSA receptor が存在することを意味し、今までの報告³⁾と一致しない。しかし、polypeptide 分析では、HBV を 2-ME 及び SDS で処理後、poly-HSA を反応させるために、poly-HSA receptor 活性が低い場合は検出出来ないためと考えられる。しかも 2 種の異なる subtype の両者とも存在することは、HBV に普遍的に存在していると思われる。一方、HBV-DNA から推測される各々の Open Reading Frame 中、poly-HSA を code している Region pre-S と HBs 抗原を code している Region S の間のアミノ酸配列の homology を検討したところ、Region pre-S と Region S の間で homology site があり、その部位は subtype 間でも一致していた。しかもその部位は既に poly-HSA receptor の機能を持つアミノ酸配列を code していると報告されている部位、即ち adr pre-S 領域 N 末より 178~196 番³⁾の間に存在していた。一般

にアミノ酸配列が一致しているときは、同じ機能を持つと考えられる。しかも、変位しているアミノ酸を比較すると、Gly が Gln, Ser が Thr, Ile となっているが、これらアミノ酸同士は同じ性質を持つとされているため、この両者間で機能に大きな差異があるとは思われない。従って、y-HBsAg が、poly-HSA receptor 活性を示しているのは、Region pre-S と homology を持つ、Region S の code している部分が、poly-HSA と反応しているためと考えられる。このことは、pre-S 含有ワクチン、chemical synthesized ワクチンを考慮する上で重要であり、今後十分な検討を要する。

yeast-HBsAg を分与戴きましたミドリ十字 化血研に深謝致します。

索引用語 : poly HSA binding, pre-S, y-HBsAg
文 献

- 1) Imai M, et al: Gastroenterology 76: 242-247, 1979
- 2) Machida A, et al: Gastroenterology 85: 268-274, 1983
- 3) Okamoto H, et al: J Immunol 134: 1212-1216, 1985

Existence of poly HSA binding activity in Region S

Masashi MIZOKAMI, Souichi SUGIURA, Etsuro ORITO, Sachiko INA,
Nobutoshi KAMESHIMA and Masahiko YAMAMOTO

* The 2nd Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Nagoya City University (Nagoya)