<短 報>

HCV NS1領域のエピトープ解析

野崎 周英* 林 仲信* 牧角 啓一** 西原 司**
 衛藤 辰男** 星子 和哉** 濱田福三郎** 水野 喬介**
 江角真理子* 志方 俊夫*

C型肝炎ウイルス (HCV) の遺伝子がクローニングされ¹⁾, コードされるタンパクの性質およびそれらの抗体の臨床的意義について明らかにされつつある。我々も日本人C型肝炎患者血清から HCV cDNA をクローニングし²⁾, さらに大腸菌で発現させた組換え NS1タンパクを利用してC型肝炎患者血清中に抗 NS1抗体の存在を証明した³⁾。今回, HCV の NS1領域内の親水性部分に対応する合成ペプチドを用いた ELISA により NS1領域のエピトープ解析を行ったので報告する。

対象と方法: 抗 NS1抗体陽性肝炎患者血清として組換え NS1タンパク³⁾と反応する慢性肝炎(CH) 2例, 肝硬変(LC) 1例の血清を使用した。ELISA は合成ペプチド (Applied Biosystems 社合成機で合成) を96ウエルマイクロプレートに固相化しスキムミルク溶液でブロッキング反応させた後, 検体血清と反応させ二次抗体としてペルオキシダーゼ標識抗ヒト IgG と反応させ発色後, 450nm の吸光度を測定した。親水性・疎水性プロファイルは Doolittle ら⁴⁾の方法に従って作製した。

結果: 我々が日本人血清から分離した HCV NS1 cDNA の塩基配列から推定されるアミノ酸配列で, 特に親水性の度合いが強い領域である460~493, 514~550, 578~603, 639~667番目 (HCV cDNA にコードされるタンパクの最初のメチオニンを1番目とした)に対応するペプチドを合成し, 各々P1, P2, P3, P4とした。Fig. 1にNS1領域の親水性・疎水性プロファイル (下側が親水性) と各ペプチドの位置を示した。組換え NS1タンパクと反応することが判っている抗 NS1抗体陽性肝炎患者血清3検体および正常人血清10検体について, 上記4種類の合成ペプチドを固相とした ELISA 法を用いてしらべた結果, Fig. 2に示されるように抗 NS1抗体陽性血清は4種類のペプチ

Fig. 1 Hydropathic profile of NS1 region

Fig. 2 Detection of anti-NS1 antibodies by ELISA. Serum NO 1: CH, 2: CH, 3: LC, 4~15: normal.

* 日本大学第1病理教室

** (財)化学及血清療法研究所

<受付日1991年7月17日>

ドのうち P2, P4 のペプチドのどちらかと反応することが明らかとなった。一方、正常人血清は 4 種類のペプチドのいずれとも反応しないことから、今回合成した P2, P4 のペプチドは NS1 のエピトープであることが示唆された。そこでこれら 2 種類 (P2, P4) のペプチドを混合して固相とした ELISA によって CH 31 例, LC 17 例の血清を測定した結果、それぞれ 10 例 (32%), 5 例 (29%) の陽性が認められた。

また P2, P4 を各々単独で固相化した ELISA によって上記血清をしらべた結果、P2 では CH 31 例中 5 例, LC 17 例中 2 例が陽性を示し、P4 では CH 31 例中 8 例, LC 17 例中 3 例が陽性を示した。

考察：今回合成した P2, P4 が NS 1 の領域のエピトープのすべてを現しているかどうかは不明であるが、少なくともこれらのペプチドを利用した ELISA によって C 型肝炎患者血清中の抗 NS1 抗体の一部を検出することが可能になったと考えられる。今回は、

特に親水性の度合いの強い領域についてエピトープ解析を行ったが、今後はそれ以外の領域についても同様の解析を試みる予定である。また、HCV の NS 1 領域のアミノ酸配列は、その他の領域と比較して変異に富んでいることから、これらエピトープの同一領域で種々の変異株由来の配列をもつ合成ペプチドを混合した ELISA により変異株の抗体にも対応できるであろう。そのような複数の変異株由来の合成ペプチドを混合することによって抗 NS1 抗体の正確な存在割合および存在意義が明らかにされると考えられる。

索引用語：HCV, NS1, 合成ペプチド

文 献：1) Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, et al: Science 244: 359-362, 1989 2) Hayashi N, (submitted) 3) 野崎周英, 他: 肝臓 32(5): 542, 1991 4) Doolittle RF, et al: J Mol Biol 157: 105-132, 1982

Epitope analysis of HCV NS1 region

Chikateru NOZAKI*, Nakanobu HAYASHI*, Keiichi MAKIZUMI**, Tsukasa NISHIHARA**,
Tatsuo ETO**, Kazuya HOSHIKO**, Fukusaburo HAMADA**,
Kyosuke MIZUNO**, Mariko ESUMI*
and Toshio SHIKATA*

* The First Department of Pathology, Nihon University School of Medicine (Tokyo)

** The Chemo-Sero-Therapeutic Research Institute (Kumamoto)