<短 報>

無症候性キャリアにおける C 型肝炎ウイルスのエンベロープ 蛋白質の経時的変異とその体液性免疫応答

中沢 貴秀* 加藤 宣之* 関谷 仁美*
藤岡 高弘** 渋谷 明隆** 下遠野邦忠*

HCV ゲノムはその顕著な多様性が特徴的であり、特にエンベロープ蛋白質 (gp35 と gp70) をコードする領域のアミノ酸レベルの多様性は、同一個体内でもしばしば認められ、その領域内 (gp70) には 2 カ所の超可変領域 (HVR1, 2) が存在する^{1,2)}。我々は肝炎患者やインターフェロン治療前後の患者について HVR1 のアミノ酸配列が経時的に変異する事を見出し^{3,4)}、加えて、慢性肝炎患者について HVR1 に対する特異抗体を検出し、さらに経時的変異を示した領域に対する抗体は検出されず、HCV の持続感染に HVR1 の遺伝的変異が関与している可能性を示してきた^{5,6)}。今回、一例の無症候性キャリア⁷⁾について同様の解析を行ったので報告する。

方法：症例は 41 歳、男性。過去に検診等で肝機能障害を指摘されたことはなく、輸血歴もないが、母親が C 型肝炎であり、観察期間を通じて各種肝機能正常 (GPT < 30, 1 回/月検査), HCV 抗体陽性, PCR により HCV RNA 陽性, 自己抗体陰性で、肝生検像では慢性肝炎像は認められなかった⁷⁾。この症例より得られた 4 時期の血清 (I: 1990 年 4 月 10 日, II: 1990 年 7 月 3 日, III: 1990 年 10 月 12 日, IV: 1991 年 7 月 29 日) より RNA を抽出し、RT-PCR 法で、HVR を含むエンベロープ蛋白質をコードする領域 (約 400bp) を増幅し、それぞれの時期について 7 個の cDNA クローンの塩基配列を決定し、その経時的変化を調べた⁸⁾。次に、各時期より得られた HVR1 はコードする DNA 断片

図 1

* 国立がんセンター研究所ウイルス部

** 北里大学医学部内科

<受付日 1994 年 1 月 31 日>

図2 各時期におけるHVR1に対する特異抗体の検出

と大腸菌由来の dihydroforate reductase (dhfr) とが融合した形で発現するようなベクターを構築し、試験管内転写翻訳系により融合蛋白質を合成し、各時期の血清を用いて免疫沈降を行い、沈降物を SDS-PAGE により解析し⁵⁾、HVR1に対する抗体の有無について調べた(図1A)。

結果: 各時期のHVR1の推定アミノ酸配列(27アミノ酸)を図1Bに示す。Iの時期では均一な分子種の集団が認められたが、II, III, IVと時期が経つにつれ様々な分子種が認められた⁸⁾。それぞれの時期に代表的な分子種(図1B中のa, b, c, d, e)について試験管内転写翻訳系により融合蛋白質を合成し、各時期の血清を用いて免疫沈降を行い、HVR1に対する抗体について調べた結果が図2である。a, b, c, dの分子種に対する抗体はいずれの時期の血清においても検出されたが分子種eに対する抗体は検出されなかった。

考察: HCV 無症候性キャリアにおいても肝炎患者でみられたようにHVR1は経時的に変異することが見出された。そして、この症例のHCVのHVR1に対する体液性免疫応答については、分子種eに対する抗体は検出されなかった。この事はこの分子種は既存のHVR1に対する抗体には認識されない事を示しており、それまで存在していた抗体からこの分子種は逃避できることを示唆している。このような機構を基にウ

イルスの持続感染を成立させている可能性がある。しかし、他の分子種はすべて既存の抗体に認識されている事からこのHVR1のすべての変異体が既存の抗体から逃避できるとは考えにくい。この点を明らかにするためには、個々のHVR1の変異体のウイルス量や、HVR1の詳細なエピトープの解析、HVR1の変異と細胞性免疫との関係などについて検討する必要がある。従って今後、培養細胞等を用いたHCVの感染増殖系の開発が急がれる。

索引用語: C型肝炎ウイルス, 超可変領域, 体液性免疫応答

文 献: 1) Hijikata M, Kato N, Ootsuyama Y, et al: Biochem Biophys Res Commun 175: 220-228, 1990 2) Kato N, Ootsuyama Y, Tanaka T, et al: Virus Res 22: 107-123, 1992 3) Kato N, Ootsuyama Y, Ohkoshi S, et al: Biochem Biophys Res Commun 189: 119-127, 1992 4) Nakazawa T, Kato N, Ohkoshi S, et al: J Hepatol 20: 623-629, 1994 5) Kato N, Sekiya H, Ootsuyama Y, et al: J Virol 67: 3923-3930, 1993 6) Sekiya H, Kato N, Ootsuyama Y, et al: Int J Cancer in press 7) 藤岡高弘, 中川勝也, 渋谷明隆, 他: 防衛衛生 38: 103-106, 1991 8) Nakazawa T, Kato N, Ootsuyama Y, et al: Int J Cancer 56: 204-207, 1994