

肝炎ウイルス研究の新しい展開

東京女子医科大学 消化器内科

ヤマウチ	カツミ	セキヤ	ヒトミ	カトウ	ジュンコ
山内	克巳・関谷	仁美・加藤	純子		
ミツハシ	ヨウコ	ヨネミツ	ハルミ	オオモリ	トモコ
三橋	容子・米満	春美・大守	智子		

(受付 平成4年7月16日)

新しい肝炎ウイルスの発見

最近発見された2種類の肝炎ウイルス(C型肝炎ウイルスとE型肝炎ウイルス)を加え、従来の肝炎ウイルスの分類は新しく塗り換えられた(表1)。とりわけ、C型肝炎ウイルス(Hepatitis C virus: HCV)の発見は、E型肝炎ウイルス(Hepatitis E virus: HEV)とは異なり、わが国に数多くの患者が存在し、その多くは慢性肝炎を発症するということもあり重要な発見であった。

一方、既知の肝炎ウイルスに関しても、最近の分子生物学の新しい手技の開発から、とりわけB型肝炎ウイルス(Hepatitis B virus: HBV)に関して、その変異株の発見等、臨床的にも重要な意味を持ついくつかの新しい事実の発見が相次いでいる。ここでは、HCVとHBVに焦点をあて、この数年のあいだに報告された知見を紹介し、現在までに明らかにされた事実や、今後解明されるべき問題点等について述べてみたい。

肝臓に炎症を起こす bloodborne(血液を介して

感染する)ウイルスが存在することは、かなり以前から知られていた。1969年、オーストラリアの原住民から発見されたオーストラリア抗原が、HBV発見の引金となった。しかしながら、bloodborne肝炎ウイルスは、これで解決がついたわけではなく、相変わらず、多くの患者が輸血によって肝炎を発症し、A型肝炎ウイルス(Hepatitis A virus: HAV)でもなくHBVでもない肝炎ウイルス(非A非B型肝炎ウイルス: non-A non-B Hepatitis virus: NANBHV)の発見は残された重要な課題であった。一方、HAVとよく似た特徴(感染経路や臨床症状)を持つ他の肝炎ウイルス(流行性非A非B型肝炎ウイルス)の存在も推測され、その発見も急がれていた。

bloodborne型非A非B型肝炎ウイルスは、分子生物学の新しい手法を応用したUSAのChiron社のグループにより発見された。彼らは、ウイルスが存在するであろうと考えられるチンパンジー血清中からウイルス核酸のクローニングを行い、この新しいウイルスの検出法を一気に確立してしまった¹⁾²⁾。これが、HCVの発見であり、HCVは遺伝子クローニングにより発見された最初のウイルスである。その何年か前に流行性非A非B型も発見され、このウイルスはE型肝炎ウイルス(HEV)と命名された。

表1 肝炎ウイルスの分類

旧分類	新分類
A型肝炎ウイルス	A型肝炎ウイルス (HAV)
B型 "	B型 " (HBV)
非A非B型肝炎ウイルス	
{ 流行性	E型 " (HEV)
{ 輸血後	C型 " (HCV)
♂型肝炎ウイルス	D型 " (HDV)

Katsumi YAMAUCHI, Hitomi SEKIYA, Junko KATO, Yoko MITSUHASHI, Harumi YONEMITSU and Tomoko OMORI [Department of Gastroenterology, Tokyo Women's Medical College] : Recent advance in hepatitis viruses

C型肝炎ウイルス

1. C型肝炎ウイルスの特徴—遺伝子構造—

HCV 遺伝子は一本鎖のプラス極性（タンパク合成の直接鋳型となるメッセンジャーRNAと同じ塩配列を持つ）、10～11kb（岡山らの報告によると9,416 kb）のRNAウイルスである³⁾。全長約9000塩基のコード領域は、ウイルスの構成蛋白をコードする領域（構造領域：structural region）と、ウイルスをつくるために必要な蛋白（？）をコードする領域（非構造領域：non-structural region）に分けられ、また、HCVと類似性を有する他のウイルス（フラビウイルス属やペスタウイルス属）のウイルス蛋白のアミノ酸配列との比較から、コア、エンベロープ、NS-1（またはエンベロープ2）、NS-2, 3, 4, 5の各領域に区分できると考えられている⁴⁾（図1）。

2. HCV 遺伝子構造の多様性とその意義

HCVの核酸配列に関して興味深い事実は、human immunodeficiency virus (HIV)と同じように、HCVにも数多くの変異型が認められるということである。しかもこれらの多様な遺伝子配列はその存在する場所がある程度限られている。例えば、5'側非翻訳領域はすべてのHCV間で変化が乏しく最も良く保持された遺伝子配列を持っている領域であり、異なった遺伝子型のHCV株間でも最高8%の塩基配列の相違が認められるのみである。この事実から、後述するpolymerase chain reaction (PCR)法によるHCV遺伝子の証明にはこの領域遺伝子プライマーとして用いることが多い。次いでよく保持された遺伝子配列を持つ領域はcore領域である。その遺伝子配列の相同性は約95%と言われている。一方、異なったHCV間で最も遺伝子配列が異なっている領域が2カ所あり、それぞれ超可変領域 (hyper-variable region: HVR) 1, 2と呼ばれ、前者はNS-1(E2)領域のN末端25個のアミノ酸、アミノ酸384—410番の領域で、後者はアミノ酸474—480番の領域に存在している。これらのHVR核酸配列は、同一個体内でも、かなりの割合で変異を起し、感染したHCVが宿主の免疫反応から逃れるために、この領域が変化するのではないかと考えられてい

る。もしそうであれば、この領域に対する抗体が、HCVに対する中和抗体であるという可能性があり、現在その検索が進められている。

これらの核酸配列の多様性は、同一患者から得られたHCV核酸の間でも認められるが、異なった患者から得られたHCV株では著明であり、また異なった人種間ではかなり明らかなものとして認められることが多い。例えば、下野らは、Chiron社から報告されたHCVをHCV-US、わが国で多く見られるHCVをHCV-Jと呼び、その分布を検討した結果を報告している⁵⁾。その結果、HCV-Jの存在は、北海道から九州まで広く分布しているが、HCV-USは、ごく一部の血液製剤を投与された血友病患者だけに認められる。この報告を含め、これまでに報告されているHCVの核酸配列を基にして、現在はすべてのHCVを4つの異なった亜型に分類するのが一般的である。

これらの核酸配列の多様性がどのような意味を持っているのかという点に関してはまだ明らかではない。しかし、異なったHCV感染が異なった病態を惹起するという可能性に関して、先に述べたHCV-USとHCV-Jについて報告があり、HCV-J感染者のほうがHCV-USの感染者に比べより進行性の肝病変を惹起するといわれている。しかしながら、この研究は、感染したHCV遺伝子の量等の検討がなされておらず、これらの病態の差が本当にHCVの型の違いによるものか否か断定はできない。

現在、このHCV亜型の検討が最も注目されているものは、インターフェロン(IFN)の効果との関連についてであるが、この点に関してもまだはっきりとした結論はでていない。

3. 感染様式

基本的には血液を介した非経口感染である。従ってHCVの感染経路には次のような可能性が考えられている。輸血、血液製剤の輸注、汚染された針等による医療事故、透析、薬物常用者の自己注射に伴う汚染、刺青。また、母児間の垂直感染に関しては、15歳以下にHCV陽性者がきわめて低い⁶⁾ことより可能性は低いと考えられている。しかしながら、その可能性は完全に否定され

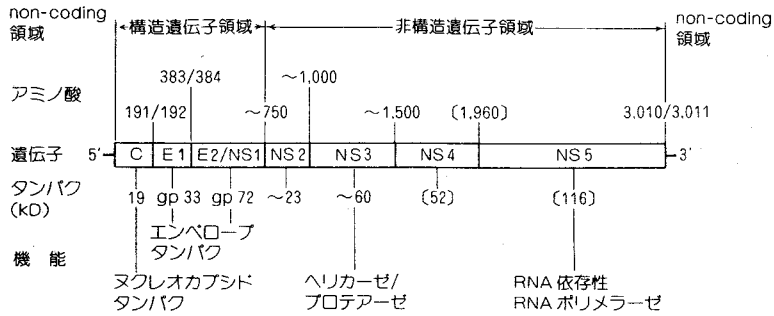


図1 HCV の遺伝子構造, ウイルス蛋白, 機能

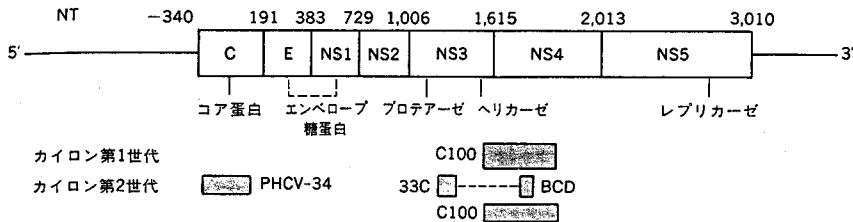


図2 HCV のゲノム構造と HCV 抗体測定に利用されているエピトープの局在

ているわけではなく、垂直感染により感染したと思われる報告がいくつかある。

また、夫婦間のような性的接触による感染に関しては、C型肝炎患者の配偶者の抗 HCV 抗体陽性率は約10%と報告されている。この頻度は、健康供血者の抗 HCV 抗体陽性者の頻度(1~2%)に比べ有意に高く、性行為により感染する可能性を示唆していると思われる。

4. HCV 感染の血清学的診断

HCV 関連抗原の測定は、現状では不可能である。従って、HCV 感染の有無は、主として HCV に対する抗体の有無によるか、または、PCR 法によって HCV の遺伝子を確認するかの2つの方法による。

抗 HCV 抗体測定法

1) 抗 C100-3抗体 (第一世代測定法)

Chiron 社のグループにより、最初に測定可能となった HCV に対する抗体であり、HCV ゲノム中の非構造領域(NS3と NS4にかかる部分) 遺伝子により作製された363個のアミノ酸よりなる C100-3ペプチドに対する抗体である(図1)。その陽性率は、健康者では0%(6~15歳)から0.9%

(16~65歳)であり、年齢と共に増加する傾向がある。また、各種肝疾患における抗 C100-3抗体は、非 A 非 B 型肝炎とこれまで呼ばれてきた肝炎患者の多く(70~80%)が陽性である。この測定系を使用することで、C型肝炎の臨床診断が可能となったわけであるが、現在この測定系にはいくつか問題があることが明らかになっている。例えば、かなりの数の偽陽性者が存在するらしいということや、この抗 C100-3抗体が出現するまで発症してから通常数カ月(通常3~6カ月)を要するため、急性肝炎の診断法としては限界がある点等である。

2) 第二世代測定法

抗 C100-3抗体(第一世代抗体)測定におけるいくつかの問題点を解決するためにいくつか新しい抗 HCV 抗体の測定法が開発されている。その中で、現在最も一般的に用いられている抗 HCV 抗体測定法は、第二世代測定法と呼ばれているもので、HCV 遺伝子内の異なったゲノムによりコードされている3種類のペプチド(図2; pHCV-34, pHCV-31, C100-3)をその測定系に含み、これらのペプチドに対する抗体を同時に測定する。

表2 非A非B型肝炎疾患における抗 HCV 抗体陽性率
(第一世代測定法と第二世代測定法の比較)

	No. of patient	Prevalence of anti-HCV	
		1st-generation assay	2nd-generation assay
AH { post-transfusion sporadic	13	9(69)	12(92)
	18	8(44)	13(72)
CH	273	197(72)	262(96)
LC	156	120(77)	149(96)
HCC	182	157(86)	177(97)

この第二世代測定法を用いると、抗 C100-3抗体単独の測定(第一世代)に比べ、非 A 非 B 型肝炎における抗 HCV 抗体陽性の頻度は、著しく上昇する。表2に、非 A 非 B 型肝炎患者における抗 HCV 抗体陽性者を、第一世代測定法と第二世代測定法で測定した結果を示した⁷⁾。いずれの疾患でも、第二世代測定法を利用すると抗 HCV 抗体陽性者の頻度は高くなっている。また、第一世代測定法の問題点の一つであった急性肝炎の早期診断についても、この第二世代測定法を利用することである程度の解決ができる。急性肝炎の早期(発病1~5週)での抗 HCV 抗体は、第一世代測定法では、殆どが陰性なのに対して、第二世代測定法では半数以上に抗 HCV 抗体が認められた。特に発病2週目以降は全例が陽性を示していた。

抗 HCV 抗体(もしくは、それと類似した抗体)の測定系は、有名な有馬抗体⁸⁾を始めとしていくつか報告されているが、それらの詳細については他の総説を参照されたい。

5. HCV-RNA の測定

HCV の遺伝子を直接捕らえるという方法は、PCR 法を用いて目的とする核酸量を試験管の中で増幅させ遺伝子を測定する。抗 HCV 抗体の第二世代測定法で述べたように、非 A 非 B 型慢性肝炎は抗 HCV 抗体を測定することで95%以上は診断可能である。PCR 法による HCV 遺伝子の確認が、臨床的価値を持つのは、抗 HCV 抗体が出現しない急性肝炎の診断とその予後判定に極めて有意義であるという点にある。発病初期(1~5週)の急性肝炎では、第二世代測定法を用いても、50%弱が抗 HCV 抗体は陰性である。とりわけ、発

病1週目では約80%が抗 HCV 抗体例が陰性であるが、PCR 法を用いて HCV 遺伝子を調べてみると発病1週目でも、逆に80%が陽性になる。

また、急性肝炎の予後判定に関しても、急性肝炎が治癒したと考えられる患者では、HCV 遺伝子が陰性を示すことが多く、一方、急性肝炎から慢性肝炎へと移行した患者では、HCV 遺伝子は陽性を示すことが多い。

6. C 型肝炎の臨床

1) 急性肝炎

日本における急性肝炎患者(散発性、輸血後、流行性)中、非 A 非 B 型は散発性の40%、輸血後の90~95%を占めている。C 型急性肝炎の自覚症状や理学的所見上での他の急性肝炎と異なる点は少ないが、臨床経過を見るといくつかの特徴が認められる。その最も大きいものは、C 型急性肝炎の多く(輸血後で50%以上から80%)は慢性肝炎へ移行するという点である。この点は、慢性肝炎は移行することの殆どない急性 B 型肝炎との大きな相違点でもある。

C 型急性肝炎の診断は、抗 C100-3抗体(第一世代)の検索だけでは不十分であり、コア抗体等3種類の抗体を測定する第二世代測定法や HCV 遺伝子の検出が必要である。しかしながら、これらの新しい測定法を用いても、B 型急性肝炎における IgM 型 HBc 抗体や A 型急性肝炎における IgM 型 HA 抗体のように、C 型急性肝炎の診断を確定できる HCV 関連マーカーは現在までまだ確立されていない。

2) C 型慢性肝炎と肝硬変

慢性肝炎とは、臨床的には6カ月以上肝臓の炎症が継続している状態で、組織学的には肝組織の線維化と細胞浸潤による門脈域の拡大が認められる。組織学の限界層(limiting plate)の破壊を伴う状態(piece meal necrosis)がある場合を活動型、ない場合を非活動型と呼ぶ。HCV 感染により引き起こされる慢性肝炎(C 型慢性肝炎)の特徴は、B 型慢性肝炎に比べ臨床症状は穏やかであり、肝硬変へ至るまで比較的緩徐な進行を示す。発病後10数年を経て肝硬変へ移行するといわれている。一般的に、慢性肝炎は臨床症状に乏しく、血

液検査で肝機能の異常を指摘されて発見されることが多い。普通の血清学的検査のみでは他の慢性肝炎とC型慢性肝炎を鑑別することは困難である。それ故に、これらのウイルス性肝炎は、主として血清学的に肝炎ウイルス関連マーカーを測定して鑑別する。B型慢性肝炎の場合には、HBs抗原の持続陽性と、高値のHBc抗体の存在によりHBVの持続感染状態を判定する。一方、C型慢性肝炎は、臨床的あるいは組織学的に慢性肝炎の診断が付き、なおかつHCVの存在を抗HCV抗体やHCV遺伝子を確認しC型慢性肝炎と診断する。

3) 肝細胞癌 Hepatocellular carcinoma (HCC)

わが国における肝細胞癌患者は、年々増加する傾向を示している。HBs抗原陽性のB型肝炎細胞癌患者の比率は、漸減の傾向を示しているのに対し、非A非B型(その大部分はC型)肝細胞癌患者の増加傾向が著しいということがはっきりとしている。肝癌研究会の統計によると、わが国の肝細胞癌患者中HBs抗原陽性者は、1968年から1977年では40.7%、1986年から1987年では22.4%である。患者の絶対数を見てみると、HBs抗原陽性者は、この間殆ど一定の数を示しているのに対し、非A非B型の患者数の増加が著しいこともはっきりしている。

HCV感染後HCC発生までの年数に関するの当センターにおける検討では、輸血後平均約30年で小HCCが認められた。同時に行ったB型小HCCの場合は23年であり、HBVに比べ約10年遅くHCV感染ではHCCの発生を見るということになる。さらに、小HCC診断時の非癌部の組織像の検討からも、肝硬変の存在が確認できたのは、B型の場合は63.4%、C型の場合は43.8%であり、この事実からHCV感染による慢性肝炎の病変の進行は比較的遅いことが推測される。しかしながら、血清学的検査による肝機能の判定では、血清アルブミン値、コリンエステラーゼ値、血液凝固能等では両者間に著明な差は認められなかった。

7. C型肝炎IFN療法

B型肝炎と同様、C型肝炎についても多くの薬剤の投与が試みられてきた。現在、最も注目されているのはIFNである。とりわけ、慢性化することの多い急性C型肝炎では、IFNを投与することで、その慢性肝炎への移行をかなりの確率(70~90%)で予防することができるといわれている⁹⁾。

一方、慢性C型肝炎に関しても、やはりIFN療法が最も有効であるといわれているが、全体として30~40%の有効性があるといわれている。これらの患者血清中にもHCV-RNAが存在することがあり、完全にウイルスそのものの排除に成功していない可能性がある。

いずれにせよ、IFNの効果については、その投与量や投与方法を含め、今後の詳細な研究とその結果の解析が必要と思われる。

E型肝炎ウイルス

E型肝炎ウイルス(HEV)感染による肝炎は、流行性非A非B型肝炎と呼ばれていた頃からA型肝炎ときわめて類似しているという事実はすでに明らかにされていた。このHEV粒子が患者の糞便中から発見され、次いで、ウイルス関連抗原を用いた抗体の測定系が確立された。このE型肝炎ウイルス粒子は28~40nmの直径で、他のHAVやHCVと同じRNAウイルスである。HEVは経口感染し、HAVと同様に慢性化することはないといわれている。HEV感染によるE型肝炎の大きな特徴の一つは、重症の肝細胞障害を惹起しやすいという点である。たとえば、妊娠中女性やHBVキャリアーに重複感染すると、高頻度に劇症肝炎が起こるといわれている。このメカニズムは不明であるが、HEVもHBVと同様にウイルスそれ自体では細胞障害性はないといわれており、感染宿主の免疫反応が何等かの役割を果たしている可能性が考えられている。

B型肝炎ウイルス

1. HBV粒子

HBV陽性患者血清中には、3種類のHBV粒子が存在する。中空の外皮だけからなる直径22nmの小型球形粒子と同じ直径の管状粒子。他の一つ

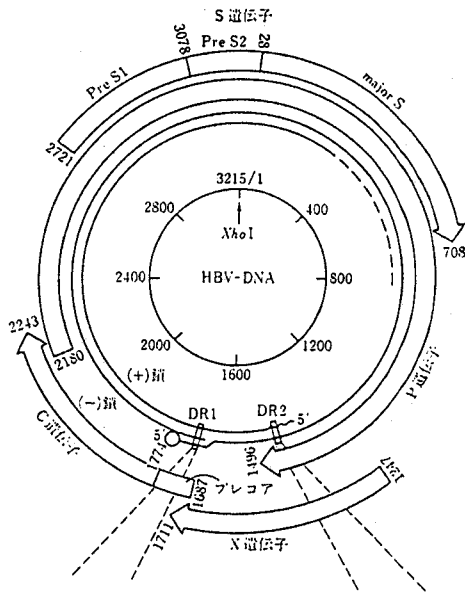


図3 HBVの遺伝子構造

は、完全なウイルス粒子である直径42nmの大型球形粒子（Dane粒子）である。この大型粒子は、二重構造を形成しており、HBc抗原蛋白からなるコア構造（ヌクレオカプシッド）を、脂質二重層の表面にHBs抗原蛋白が存在する外皮（エンベロープ）で覆っている。

ウイルスの外皮には、以下の3種類のHBV由来の蛋白がある。

(1) Large S (LS; p39/gp42); preS1, preS2とHBs抗原から構成されている。

(2) Middle S (MS; p33/gp36); preS2抗原とHBs抗原から構成されている。

(3) Major S (またはsmall S; SS, p24/gp27); HBs抗原だけで構成されている。

完全なウイルス粒子では、その外皮中の多くはSSであり、一部MS、そして少量のLSを含んでいる。またLSは血清中には分泌されないが、肝細胞中には存在している。

2. HBVの遺伝子構造

HBVのDNAは約3.2kbの環状2本鎖構造であり、全周の約15～50%は1本鎖である（図3）。mRNAに対する塩基配列をもつDNA鎖を（+）鎖、mRNAと相補的配列を持つDNAを（-）鎖

と呼ぶ。（-）鎖はゲノム全長をカバーする長さを持つが、その両端は結合しておらず、その5'末端にはプライマー蛋白が共有結合しており、3'末端には5～10塩基5'末端と重複した配列（末端重複配列）がある。（+）鎖の5'末端は、（-）鎖の200～300塩基下流に位置し、DNA環状構造を形成するのに役だっている。（+）鎖の5'末端にはプライマーRNAが共有結合しており、その内の11ヌクレオチド（5'TTCACCTCTGC）は、（-）鎖DNAと相補的配列で、（-）鎖の近傍でもう一度繰り返され、これをdirect repeat (DR1, DR2)と呼ぶ。HBVの転写は、DR1(1697～1707)近傍から始まり、（-）鎖DNAを鋳型として時計回りに進行し、再びDR1に戻り、少し行き過ぎた所で止まり、ポリAを付加する。この～3.5kb RNAは、そのままあるいはそれがスプライシングを受け、あるいはいくつかのウイルス蛋白を合成するためのmRNAとして働き、あるいは（-）鎖DNAを合成するためのRTの鋳型として働く。

HBV-DNAはいずれのクローンでも以下の4種類のORD(open reading frame; 翻訳可能な読み取り枠)が存在する。

- (1) 表面抗原をコードしているs領域。
- (2) コア蛋白をコードしているC領域。
- (3) DNA pol/RTをコードしているP領域
- (4) 機能不明な蛋白(transactivator?)をコードしているX領域。

3. HBV内の各遺伝子とその産物

1) S遺伝子

HBVの外被蛋白をコードする遺伝子。翻訳開始部位の違いによりmajor-S領域を共有する3種類の翻訳蛋白(LS, MS, SS)がある。major-S(SS)のN末端側に存在する2つの領域は、それぞれpre-S1, pre-S2と呼ばれる。この3領域のすべてを含む最も大きな翻訳蛋白をlarge-S, pre-S2とSを含む翻訳蛋白をmiddle-S, pre-Sを含まずS領域のみからなるものをsmall-S(またはmajor-S)と呼ぶ。S遺伝子の転写産物には、～2.4kbと～2.1kbの2種類のmRNAがあり、前者はLSを、また後者は、その転写位置の違いにより、MSとSSを作製する。

2) C 遺伝子

HBV のヌクレオカプシッド蛋白をコードする遺伝子で、全長183~185AA と212~214AA の2種類の蛋白をコードする。前者は、プレコア領域の ATG を含まないプレゲノムから、後者はプレコア領域の ATG を含むやや長い mRNA から翻訳される。プレコア領域の開始コドンから翻訳される polypeptide の N 末端19個には疎水性に富むアミノ酸配列 (signal peptide) が存在し、この部分から小胞体の膜へ入り込み、細胞外へ分泌される。この過程で、シグナルペプチドは signal peptidase により切断され、同時に、このプレコア領域を含む翻訳産物 (p25) は、その C 末端の34アミノ酸がプロセッシングにより除去され、残った N 末端の蛋白が HBe 抗原となり分泌される。ヌクレオカプシッドは正20面体構造をとり、180~190個のコア蛋白からなる。コア蛋白 C 末端の30~36アミノ酸はアルギニンに富み、DNA と結合する可能性が示唆されている。

3) P 遺伝子

この領域は、HBV 中最長の832アミノ酸をコードし、HBV-DNA pol をコードしている。P 遺伝子はその他の遺伝子と重複しているが、ORF は異なっており、その翻訳の鋳型は、全長を含み、コア蛋白の鋳型ともなる-3.5kb mRNA である。P 遺伝子には、レトロウイルスの RT と同様のアミノ酸配列を示す領域が存在し、この領域がコードする HBV-DNA pol は RT として働いていると考えられている。

4) X 遺伝子

HBV 中最小の ORF がコードする X 遺伝子は、154個のアミノ酸からなる X 蛋白をコードする。HBV を発現しているヒト肝癌細胞で、X 遺伝子の発現が確認されたこと¹⁰⁾や、HBV-DNA の組み込みが認められた例では、X 遺伝子が最もよく保存されている¹¹⁾。さらに X 遺伝子を組み込んだトランスジェニックマウスで肝癌を誘導できた¹²⁾といったことから、X 遺伝子が発癌に何らかの機能を持つことが想像されている。

4. HBV の変異

HBV には良く知られているように、共通抗原

決定基“a”に加え、“d”と“y”、“w”と“r”といった、それぞれ対立的な型特異的抗原決定基の組合せにより、adr, adw, ayr, ayw の4つの亜型(subtype)に分けられる。この亜型は、S 遺伝子内の単一の塩基の変異により起こり、“d”と“y”は、N 末端から122番目のアミノ酸が Lysine であれば“d”、Arginine であれば“y”の亜型を示す。一方の、“w”と“r”についても同様で、160番目のアミノ酸が Lysine であれば“w”、Arginine であれば“r”となる。これらの亜型には、以下のように地理的な分布に特徴がある。

ayw ; 地中海沿岸、アフリカ中央部と西部、ベトナム

adw ; 北欧、東南アフリカ、インド、南米

adr ; 東南アジア (ベトナムを除く)、日本

日本では、西日本では adr が多く、東日本に向かうにしたがって adw の割合が増し、関東地方では adr : adw = 3 : 1 と報告されている。以上のような変化した HBV は、単に亜型と呼び変異型とは呼ばない。一般的に HCV の変異型と呼ばれるものは、上記の亜型以外に HBV-DNA が変化したもので (変異型 HBV)、これまでに次のような種類が報告されている。

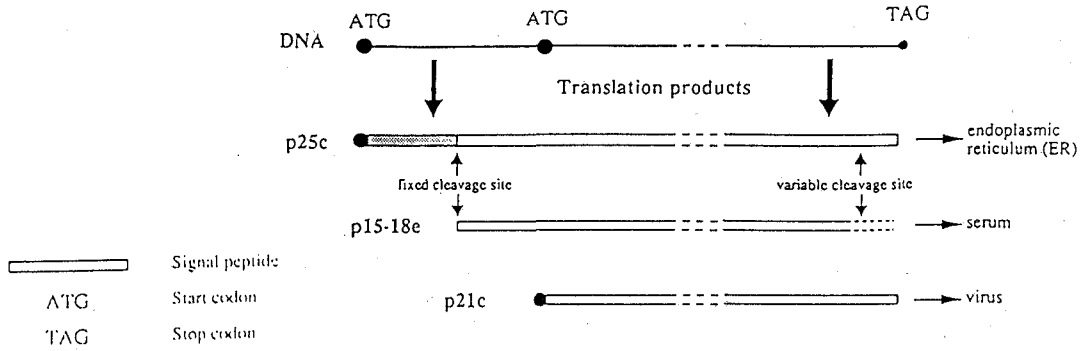
1) HBV2

この変異型 HBV の特徴は、HBV の感染が証明できるにもかかわらず、抗 HBc 抗体や抗 HBe 抗体が産生されないことで、最初は、Senegal の患者から報告され、HBV2 と名づけられた¹³⁾。HBV2 の感染は、pre-S2や“a”決定基に対する特殊な単クローン性抗体を用いて行う。HBV2感染患者の特徴は、血清中に HBV-DNA が存在しない。また、高頻度に慢性肝炎を発症することという点である (但し、チンパンジーを用いた感染実験では、HBV2の感染により典型的な肝炎を誘導できるという報告もある)。これらの患者の何人かは、既存の HB ワクチンに対する反応性は保たれており、その意味でも、きわめて特異的なウイルスである。

2) “a”決定基の変異

この型の HBV は、次のような2つのケースが報告されている。第一に、ワクチンを受けた後、HBs 抗原と抗 HBc 抗体が出現し、HBV の感染

HBeAg positive strain (wild type)



HBeAg negative strain (pre-core mutant)

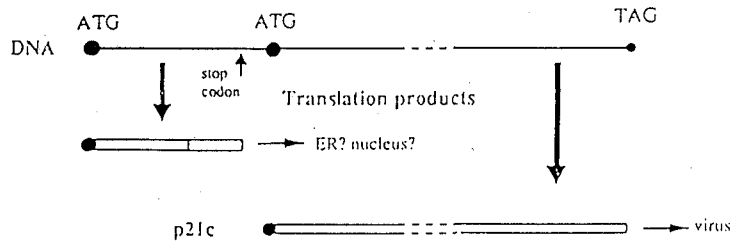


図4 pre-core 変異株と野性型 HBV

が証明されたイタリアの小児例である¹⁴⁾。その中の1例は、変異のないHBV陽性の母親由来のウイルスが小児へ感染した後、変異 (mutation) を起こしたと考えられており、HBV感染後11カ月で既に変異型HBVが出現していることから、HBVにおける変異の頻度がかかなり高いと考えられる。他の例は、肝臓移植の患者で、移植前に変異のないHBVを持っていた患者が、移植後“a”決定基中131~148アミノ酸の部位に変異があるHBVが出現したという報告である¹⁵⁾。

この変異型HBVの特徴は、S遺伝子だけでなくポリメラーゼ遺伝子にも変異が存在することで、このため、この変異型HBVの複製には限界があり、そのため、限られた地域でしか存在しないと考えられている。

3) プレコア (pre-C) 領域の変異

pre-C領域は、ウイルスの構成そのものには関係ないが、HBe抗原の産生には不可欠の領域である。従って、pre-C領域の機能を失わせるような変

異が起きるとHBe抗原の産生、分泌は起こらなくなる(図4)。

最近、この領域中の28番目で突然変異が起こりstop codon (TAG) ができたため、HBe抗原が産生されず、血清中にHBe抗体陽性が出現し、sero-conversionと呼ばれる状態になることが明らかにされた¹⁶⁾¹⁷⁾。即ち、HBe抗体陽性例のHBVは、pre-C領域が変化した変異型HBVである。

このpre-C領域の変異型HBVが注目されるもう一つの理由は、この変異型HBVの感染が重症型急性肝炎を発病させる可能性である。特に、B型劇症肝炎が、pre-C変異型HBVの感染によって起こるという報告がある¹⁸⁾¹⁹⁾。この事実は、B型劇症肝炎の多くで、発病初期からHBe抗体が存在するという、以前からよく知られていた事実を良く説明できる。但し、劇症肝炎と変異型HBVとの関連は、人種により異なっている。この違いが、どうして起こるのかはまだわかっていない。

以上のように、pre-C変異型HBVの出現は、慢

性感染における seroconversion と劇症肝炎発病とに関連している可能性がある。そのいずれにおいても、一時的に、かなりの肝細胞破壊が起こることは興味深い、この現象の詳細な機序はよく分かっていない。

4) pre-S 領域の欠損

pre-S 領域欠損型 HBV は、約10%の HBV 持続陽性例に認められる。pre-S 欠損 HBV は、pre-S1から pre-S2にかけていくつかの欠損のパターンがあり、その多くは変異のない HBV と共存している。pre-S 欠損 HBV の臨床的意義はよく分かっていない。しかし、変異のない HBV と pre-S 欠損型 HBV が共存していた慢性肝炎患者で、変異のない HBV の消失に伴い、肝炎の鎮静化したという慢性肝炎が報告された。この事実は、pre-S 領域が感染宿主の免疫反応の標的分子であることを示唆している。

5) C 領域の欠損

C 領域が欠損した変異型 HBV は比較的多く見られ、8人のキャリアー中4人に認められるという報告もある（但し、遺伝子全体では8人から獲られた100個のクローン中17個)²⁰⁾。欠損のパターンは一定せず、13bp の短いものから1,017bp の長いものまで様々である。ただこれらの C 領域欠損型 HBV は、無症候性キャリアーには存在せず、HBe 抗原陽性慢性肝炎患者や、HBe 抗体陽性へ seroconversion した患者でのみ認められ、慢性肝炎の発病と何らかの関係があると考えられている²⁰⁾²¹⁾。

6) pre-S 領域の多様性

pre-S 領域、とりわけ pre-S2領域の最初の39ヌクレオチドには多種の点突然変異 (point mutation) が存在し、HBV-DNA における hot spot の一つである。これらの変異は、そのコードするアミノ酸の構造から、大別すると3種類に分けることができ、それぞれ、変異のない HBV の亜型 (adr, adw, ayw) と類似の構造を示している (図5)。しかし、この pre-S2の核酸配列と血清学的な HBs 抗原の亜型とは一致しない。つまり、血清学的に adr 亜型と判定された変異型 HBV でも、pre-S2領域の核酸は変異のない adr 型以外の

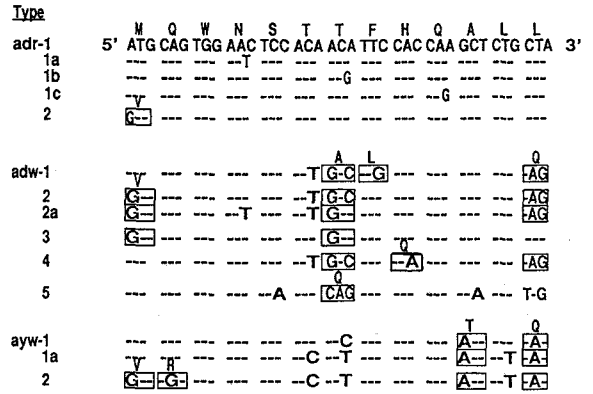


図5 pre-S2 領域遺伝子配列の多様性
adr-1 と比較し、アミノ酸の変化を生じるコドン
□で囲んである。

表3 pre S2タイプ, HLA A locus 表現型と肝炎活動性との相関

Transaminase 高値慢性肝炎例		
Type of pre S2	Phenotype of HLA A locus	
adr (n=14)	A2(n=4)	A24(n=12)
adw(n= 5)	A2(n=5)	A24(n=2)
ayw(n= 2)	A2(n=2)	A24(n=0)
Transaminase 正常慢性肝炎例		
Type of pre S2	Phenotype of HLA A locus	
adr (n=4)	A2(n=4)	A24(n=0)
adw(n=3) del.mut.n=1	A2(n=1)	A24(n=2)

HBV と類似の構造をもつことがある。

pre-S2領域変異型 HBV の興味深い点は、この構造と感染宿主の HLA-A 遺伝子座の組合せが、肝炎の重症度と関連している可能性があることである。つまり、pre-S2領域が adr 型の HBV に感染している患者は、HLA-A24の遺伝子を持っている場合にのみ、血清中 transaminase (TA) が上昇し、その他の HLA-A 遺伝子を持っていると血清中 TA は殆ど正常範囲に保たれている。逆に、adw 型の pre-S2構造を持つ HBV が感染すると、HLA-A2遺伝子を持つ患者だけが TA の上昇をみる (表3)²²⁾。この現象は、HBV 持続感染者はなぜ無症候性キャリアーと慢性肝炎患者に分かれるのかという疑問に対する解答となりうる可能性がある。

おわりに

本論文では、主として HCV の特徴と HBV の分子生物学的特徴について、最近の知見に基づいてまとめてみた。この方面の研究は PCR 等に代表される分子生物学領域の新しい手法を用いて飛躍的に発展した分野である。しかしながら、ウイルス性肝炎に関しては、重要な問題がまだ幾つも残されている。例えば、何故これらのウイルスは肝臓の炎症を起こすのみで他の臓器には殆ど障害をもたらさないのか、あるいは、これらのウイルス感染後に進行性の肝細胞障害を起こす場合とそうでない場合があるのはどうしてなのか、さらにはこれらのウイルス感染後の発癌の機構はどうなっているのか等である。残されたこれらの問題を解明するために、最近新しい実験手法を用いて研究が進められている。その結果次第で、ここで述べてきた事実も新しい意義を持ってくると思われる。

文 献

- 1) **Choo Q-L, Kuo G, Weiner AJ et al:** Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 244 : 359-362, 1989
- 2) **Kuo G, Choo Q-L, Alter HJ et al:** An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 244 : 362-364, 1989
- 3) **Takazawa A, Mori C et al:** Structure and organization of the HCV genome isolated from human carriers. *J Virol* 15 : 1105-1113, 1991
- 4) **Choo Q-L, Richman KH, Han JH et al:** Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 88 : 2451-2455, 1991
- 5) **Katoh N, Hajikata M, Ouyama Y et al:** Molecular cloning of the human HCV genome from Japanese patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 87 : 9524-9528, 1990
- 6) **西岡久壽弥:** 供血者における HCV 抗体. *Mebio* 17 : 47, 1990
- 7) **Ishiguro N et al:** Clinical evaluation of a newly developed assay for antibody to HCV. in press
- 8) **Arima T, Nagashima H, Murakami S et al:** Cloning of a cDNA associated with acute and chronic hepatitis C infection generated from patients serum RNA. *Gastroenterol Jpn* 24 : 1120-1124, 1989
- 9) **小俣政男ほか:** 急性非 A 非 B 型肝炎のインターフェロン療法—C 型肝炎から見た臨床像—. *肝臓* 31 : 500-501, 1990
- 10) **Chisaka O, Araki K, Ochiya T et al:** *Gene* 60 : 183-189, 1987 [EMBO J 4 : 1287-1292, 1985]
- 11) **高田等子, 後藤泰浩, 林 茂樹ほか:** 第 48 回日本癌学会総会 (名古屋, 1989)
- 12) **Kim C-M, Koike K, Saito I et al:** HBs gene of HBV index liver cancer in transgenic mice. *Nature* 351 : 315-317, 1991
- 13) **Coursaget P, Bourdil C, Adamowicz P et al:** HBs Ag positive reactivity in man not due to hepatitis B virus. *Lancet* ii : 1354-1358, 1987
- 14) **Carman W, Zanetti A, Karayiannis P et al:** A vaccine induced surface mutant of HBV that is replication competent. 1990 International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease : 63, 1990
- 15) **McMahon G, McCarthy L, Dottavio D et al:** Surface antigen and polymerase gene variation in hepatitis B virus isolates from a monoclonal antibody treated liver transplant patient. 1990 International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease, Abstract 62, 1990
- 16) **Brubnetto M, Stemler M, Will H et al:** Identification of HBV variants which cannot produce pre-core derived HBe antigen and may be responsible for severe hepatitis. *Ital J Gastroenterol* 21 : 151-154, 1989
- 17) **Carman W, Jacyna M, Hadziyannis S et al:** Mutation preventing formation of hepatitis e antigen in patients with chronic HBV infection. *Lancet* ii : 588-591, 1989
- 18) **Liang TJ, Hasegawa K, Rimon N et al:** A hepatitis B virus mutant associated with an epidemic of fulminant hepatitis B. *N Engl J Med* 324 : 1705-1709, 1991
- 19) **Omata M, Ehata T, Yokosuka O et al:** Mutations in the precore region of hepatitis B virus DNA in patients with fulminant and severe hepatitis. *N Engl J Med* 324 : 1699-1704, 1991
- 20) **Ehata T, Omata M, Yokosuka O et al:** Variations in codons 84-101 in the core nucleotide sequence correlate with hepatocellular injury in chronic hepatitis B virus infection. *J Clin Invest* 89 : 332-338, 1992
- 21) **Wakita T, Kakumu S, Shibata S et al:** Detection of pre-C and core region mutant of HBV in chronic HBV carrier. *J Clin Invest* 88 : 1793-1801, 1991
- 22) **Nakamura T, Yamauchi K, Obata H:** Variation of pre S2 region of HBV. in press