

分布する遺伝子である。日本人のその他の APRT 欠損症の病因遺伝子の突然変異も判明しており、完全欠損をコードする対立遺伝子 (null allele, *APRT\*QO*) でいちばん多いのはコドン98の TGG(Trp)から TGA (Stop)への nonsense 突然変異、さらに4塩基の重複、大きな遺伝子異常と続く。日本人全部の APRT 欠損症病因遺伝子の約96%はわずか3つの突然変異により説明される。限られた数の突然変異がほとんどの患者の突然変異を説明する理由として、①ホットスポット説、②共通祖先遺伝子説、③病因変異限定説があるが、病因対立遺伝子のハプロタイプの分析により同じ突然変異をもつ病因対立遺伝子はすべて同祖的であることがわかっている。日本人以外の APRT 欠損症の数は少ないが、分析された遺伝子の突然変異はすべて日本人のものとは異なることがわかっている。従って、3つの仮説のうち②が正しいことはこの結果からも明らかである。しかも多くの *APRT\*J* 対立遺伝子の分析により、もしそれらがすべて同祖的とする、遺伝子内に交叉の証拠が見られ、それらのデータからの計算により *APRT\*J* の年齢は6万年～9万年と計算される。遺伝子の遺伝子がこのように長い間集団内に保存されることは驚くべきである。分かっているほとんどの APRT 突然変異を有した患者や、ヘテロ接合体では病因突然変異をターゲットにした遺伝子診断が可能である。しかし、未だ変異が確定していない場合は、ホモ接合体については T 細胞診断法、ヘテロ接合体については体細胞突然変異法が確実である。

### HBV 突然変異の臨床的意義

(消化器内科)長谷川 潔

B 型劇症肝炎 (BFH) の成因として、過剰な免疫反応を中心とする宿主側の要因<sup>1)</sup>と、HBs 抗原や、HBs 抗原の抗原性の変化、あるいは、ウイルスの複製能の高進などのウイルス側の要因が挙げられているが、いまだにその本態は不明である。

我々は、イスラエルにおける BFH の院内感染を調べたところ、感染した5例全例が劇症化したところから、ウイルス側の要因がより重要と考え、このウイルスの分子生物学的な解析を行った。まず、5例の BFH 患者と、感染源の患者の HBV の全塩基配列を解析した結果、すべてのウイルスは同一の株に由来することが解った。また、この塩基配列を野性株 (WT) と比較した結果、いくつかの変異が見出されたが、このうち、HBV の PreC 領域に stop codon を生じさせるような

変異が注目された<sup>2)</sup>。この変異により、HBe 抗原は産生されなくなるところから、HBe 抗原自体は肝炎の劇症化にはかかわっていないものと考えられた。また、この HBe 抗原の非産生化は、BFH 患者に起こる早期の seroconversion を説明でき、また HBe 抗体陽性慢性活動性肝炎に多く見られることから、この現象が肝炎劇症化に強く関連していると考えられた。

しかし、その後の我々の研究では、アメリカにおける劇症肝炎患者では、必ずしもこの変異を伴わないことから<sup>3)</sup>、PreC 変異の重要性が、疑問視された。そこで、我々は WT HBVDNA に PreC の変異を導入し、それを肝癌細胞に transfect して、HBV 関連抗原の産生とウイルスの複製能を調べることにより、PreC 変異の意義について検討した。その結果、PreC 変異は、これらの性質については WT と差がなかった。そこで次に、BFH 患者より得た PreC 変異を持つ HBV を transfect 可能な形に再構築して、同様の実験を行ったところ、WT と比べ、cAg と replicative intermediate の過剰な産生を認めた。この結果から、*in vitro* における cAg 産生と複製能についてみる限り、PreC 以外の変異が重要であると考えられた。塩基配列解析の結果、WT と比較してアミノ酸の変化を伴う変異は、PreC/Core に12カ所、Pol に15カ所、PreS/S に4カ所、X に6カ所認められた。そこで、これらのうち、cAg 産生とウイルス複製の高進に寄与する変異を明らかにするために、WT HBVDNA と変異ウイルスとの cassette exchange を行い、得られた construct を用い transfection 実験を行ったところ、過剰なウイルス複製には、PreC, Core, さらに Pol の5'側の少なくとも3カ所の変異の、いずれが必要であることが解った。このことから、我々は、mutant construct の複製の高進には、pregenome RNA の packaging に原因があると推測し、現在この点につき検討を加えている。

- 1) Hasegawa K, Yamauchi K, Furukawa T et al: Dual color fluorescence analysis of peripheral T cell subsets in hepatitis B virus-induced liver disease. *Hepatology* 8: 1134-1137, 1988
- 2) Liang TJ, Hasegawa K, Rimon N et al: A hepatitis B virus mutant associated with an epidemic of fulminant hepatitis. *N Eng J Med* 324: 1705-1709, 1991
- 3) Hasegawa K, Huang J, Wands JR et al: Association of hepatitis B viral recore mutations with fulminant hepatitis B in Japan. *Virology* 185: 460-463, 1991