

Title	Characterization of hypervariable region in hepatitis C virus envelope protein during acute and chronic infection
Author(s)	東, 一博
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/46291">https://hdl.handle.net/11094/46291</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	ひがし 東 一 博
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 19695 号
学位授与年月日	平成 17 年 4 月 28 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	Characterization of hypervariable region in hepatitis C virus envelope protein during acute and chronic infection (急性感染及び慢性感染経過中の C 型肝炎ウイルスのエンベロープ蛋白内遺伝子変化の特徴 — 持続感染ニューモデルの提唱 —)
論文審査委員	(主査) 教授 山西 弘一  (副査) 教授 松浦 善治 教授 林 紀夫

## 論文内容の要旨

## 〔 目 的 〕

C型肝炎ウイルス (HCV) は殆どの患者で、持続感染を引き起こす。この持続感染確立のメカニズムを明らかにする為、5人の HCV 感染患者 (2人は急性期症例、3人は慢性期症例) について、臨床経過中の血中ウイルスのエンベロープ (E1/E2) 内遺伝子変化を特徴付けた。また、これら2人の慢性患者の血中ウイルスの E2 内超可変領域 (HVR-1) に対する宿主免疫応答変化についても特徴付けた。これら結果より HCV 持続感染の新しいモデルを提唱する。

## 〔 方 法 〕

5人の HCV 感染患者は自然経過例であり、2人は輸血後肝炎患者で急性期のケースとして、残りの3人は慢性期の HCV 感染患者症例として無差別に選択した。また、これら慢性期の患者は初診から6ヶ月以上血清 ALT 値が高レベルを維持し、組織学的に慢性の HCV 活動性肝炎であることが確認されている。全ての -80°C 凍結保存血清サンプルは臨床経過中の血中の主要な HCV エンベロープ内の遺伝子配列を決定するのに用いた。

血清中の HCV 抗体の検出はオゾン社の第2世代 ELISA キットを用いた。また、血清中の HCV RNA は AGPC 法により抽出し、5'非翻訳領域のプライマーを用いた RT-PCR 法により検出した。その結果は競合 PCR 法により RNA 定量化した。

主要な血中ウイルスの E1/E2 領域の遺伝子配列 (620-1867) の分析は、 $\lambda$ エキソヌクレアーゼを用いた PCR 産物のダイレクト DNA シーケンス法により、全ての患者の臨床経過中の保存血清から決定された。

主要な血中ウイルスの推測されるアミノ酸配列とエンベロープ蛋白構造の解析は、MacVector 核酸配列分析ソフトウェア (International Biotechnologies) および GENETYX ver. 10 ソフトウェア (ソフトウェア開発株) を用いた。

主要な血中ウイルスのエンベロープ蛋白アミノ酸変化速度を、HVR-1 (27アミノ酸)、HVR-2 (7アミノ酸若しくは9アミノ酸)、そしてその他の E2 領域 (HVR-1 と HVR-2 の間; 63アミノ酸) において臨床経過の各ポイント間の1ヶ月当りの平均アミノ酸変化数/サイト (%) について分析を行った。

ウイルスの E2 内超可変領域 (HVR-1) に対する宿主免疫応答については、慢性 HCV 患者2人の血中抗体につい

て臨床経過の各ポイントでの主要な HVR-1 配列の合成ペプチドを用いた ELISA 法で解析した。

#### [ 成 績 ]

各患者の HCV 遺伝子は E2 の HVR-1 領域に高頻度の核酸配列の変異を示した。しかし、HVR を含むエンベロープでは、5 人全ての患者で、臨床経過中、株固有の特徴的な遺伝子配列が全体に渡り保存されており、また予測されるエンベロープ蛋白の 2 次構造も臨床経過中、全ての患者で保存されていた。

二人の急性期の患者症例では HCV 感染初期で、HVR-1, HVR-2 のアミノ酸変化速度が各々 10.2~11.1%, 4.8~14.3% で、他の領域 (0.5~1.6%), 他の時期 (0~1.8%) に比べ顕著に速かった。また、慢性期の患者症例ではこれらに比べ HVR のアミノ酸変化速度は遅かった (HVR-1 0~7.1%, HVR-2 0%, other 0~0.5%)。

慢性 HCV 患者 2 人の臨床経過における主要なウイルスの HVR-1 に対する抗体産生が認められる場合と認められない場合があった。1 人の患者では HVR-1 ペプチドに対し、臨床経過の全ての時期の血清が何れのペプチドにも反応しなかった。もう 1 人の患者では HVR-1 ペプチドに対し、臨床経過中の全ての時期の血清が全てのペプチドに反応した。これらの結果は、HVR-1 のエスケープ変異によって HCV が抗体による中和を逃れ、持続感染しているのではないことを示している。

#### [ 総 括 ]

今回、急性期 HCV 感染症例で観察された、感染初期の HCV アミノ酸配列の急速な変化は、宿主免疫応答に対する HCV の適応化や HCV の持続感染成立過程の一部を捉えているものと思われる。

### 論文審査の結果の要旨

C 型肝炎ウイルス (HCV) は殆どの患者で持続感染を引起すが、その持続感染成立の機序についてはまだ解明に至っていない。これまで 1 つの可能性として近縁のウイルスから推測し、エンベロープ蛋白の超可変領域 (HVR-1) の経時的アミノ酸配列変化との関連性が示唆されている。

本論文は、自然感染経過例 (輸血による初感染 2 例、慢性 HCV 活動性肝炎 3 例) に於ける臨床経過中の血中バリアント HCV のエンベロープ遺伝子を解析し、そこから推測されるアミノ酸変化と持続感染との関連性について検討したものである。HCV は感染初期に急速に HVR アミノ酸配列を変化させ、以降着を認め、また慢性期での HVR-1 アミノ酸配列変化と持続感染との関連性も認められなかった。これまでの報告では持続感染の成立には HVR-1 のアミノ酸変化が重要な役割を果たしていることを示唆しているが、本論文は、HCV が HVR のアミノ酸配列変化とは違った機序で持続感染を成立させていることを見出したものであり、学位に値するものと考えられる。