

症例報告

HBs抗原変異株が検出されたHBs抗原・抗体共存の B型肝炎ウイルスキャリアーの1例

仁科惣治¹⁾, 日野啓輔²⁾, 加藤吉晴²⁾, 沖田 極²⁾

1) 山口大学医学部医学科5年生

2) 山口大学医学部先端分子応用医科学講座 宇部市南小串1-1-1 (〒755-8505)
(内科学第一講座)

Key words : HBs抗原, HBs抗原変異株, B型肝炎

はじめに

HBs抗体で中和されない, いわゆるescape mutantと呼ばれるHBs抗原変異株の存在は, 1990年に初めて報告されて以来¹⁾, B型肝炎ワクチン(HBワクチン)やHBs抗体含有免疫グロブリン(HBIG)の投与を受けた新生児^{2,3)}や肝移植患者^{4,5)}において数多く報告されている. 一方で受動的, 能動的な, HBs抗体の投与を伴わない自然経過例においても同様なHBs抗原変異株の存在が報告されているが^{6,7)}, その出現機序は明らかではない. 今回われわれは, 自然経過においてHBs抗原・抗体の共存するB型肝炎ウイルス(HBV)キャリアーの1症例に特異的なHBs抗原変異株を検出したので報告する.

症 例

患者; 60歳 男性

現病歴; 1997年5月, 職場検診で軽度の肝機能障害(AST, ALTの上昇)を指摘されたため, 当院総合外来を受診した. 精査の結果, HBs抗原・抗体共に陽性であり, 以後山口大学医学部附属病院第一内科でfollow upすることになった. その後, transaminaseの上昇もなく, 無症候性のHBVキャリアーとして年3回程度の割合でfollow upされている.

血清採取時での患者の検査結果;

GOT 36(IU/l), GPT 43(IU/l)

HBsAg(+), HBsAb(+), HBeAg(+), HBeAb(-)

HBV-DNA 15(pg/ml)

HBs抗原変異株の検出

患者のインフォームドコンセントを得た後, 既報のごとく^{8,9)}, 得られた血清に対し以下の検討を行った. HBVのS遺伝子を増幅, subcloningし, その塩基配列を決定した. すなわち, 患者血清200 μ lよりHBV-DNAを抽出し, polymerase chain reaction (PCR)法によりS遺伝子を増幅した. PCR産物はTA cloning法により, DNA ligation kit (Takara Bio-medicals, Ohtsu, Japan)を用いてpGEM-T vector (Promega, Madison, WI)にsubcloningした. 9クローンについてABI 373Sシーケンサーを用い, HBs抗原の主要な抗原決定領域と考えられている major hydrophilic region (MHR)の塩基配列を決定し, それに基づいてアミノ酸配列を決定した.

結 果

9クローンのMHR (aa101-aa160)のアミノ酸配列を図1に示す. 86種類のreference sequence¹⁰⁾と比べて, MHRの中でも共通抗原決定基“a”(aa124-aa147)に存在する132番目のアミノ酸の変異{serine

平成12年9月4日受理

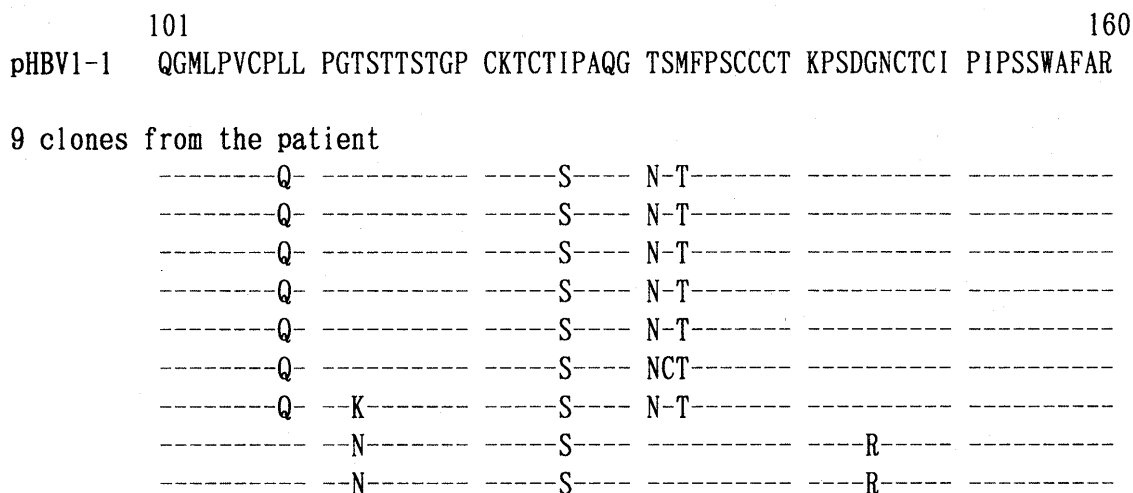


図1 HBs抗原・HBs抗体共存のHBVキャリアーより得られた9 clonesのアミノ酸配列を示す。S抗原領域の226個のアミノ酸配列のうち、101番目から160番目のアミノ酸配列を示す (major hydrophilic region)。最上段のアミノ酸配列はサブタイプadrの野生株より得られた配列である¹⁰⁾。野生株と同じアミノ酸を-で示し、異なったアミノ酸を各々のアミノ酸記号で示す (A:Ala,B:Asx,C:Cys,D:Asp,E:Glu,F:Phe,G:Gly,H:His,I:Ile,K:Lys,L:Leu,M:Met,N:Asn,P:Pro,Q:Gln,R:Arg,S:Ser,T:Thr,V:Val,W:Trp,X:~,Y:Tyr,Z:Glx)

からcysteineへの変異(S132C)}を1クローンに、133番目のアミノ酸の変異{methionineからthreonineへの変異(M133T)}を7クローンに、145番目のアミノ酸の変異{glycineからarginineへ変異(G145R)}を2クローンに認めた。さらに、109番目のアミノ酸の変異{leucineからglutamineへの変異(L109Q)}を7クローンに、113番目のアミノ酸の変異{threonineからlysineまたはasparagineへの変異(T113K, T113N)}を3クローンに認めた。

考 察

HBs抗原は226個のアミノ酸からなるが、特にMHRは、細胞外に突出した親水性基であり、したがって、HBs抗体のエピトープが集中していると考えられている。これまでに報告されてきたescape mutantと呼ばれるHBs抗原変異株¹⁷⁾のアミノ酸変異の大半はMHR内に集中している。とくにG145Rはescape mutantの中でも最もポピュラーに認められる変異であり、受動的、能動的なHBs抗体の投与により誘導される変異としてよく知られている¹⁵⁾。この変異がマイナーのクローンながら、自然経過のHBs抗原・抗体共存例に検出されたことは大変興味深い。M133Tも、既に本邦の慢性肝炎例⁶⁾や、イン

ドネシアでの自然経過例¹¹⁾で報告されたHBs抗原変異株に観察されたアミノ酸変異である。これに対し、L109Q, T113K, T113N, S132Cは、これまでに報告されたことのない変異のパターンであった。得られた9クローンは、これら4つの変異パターンを少なくとも一つは含んでいた。このように、得られた9クローンはいずれも、reference sequenceには認められないアミノ酸変異を伴っていた。HBs抗原陽性、HBs抗体陰性の通常のHBV感染症においても、循環血液中にHBs抗原・抗体の免疫複合体が検出されるように、微量ながらHBs抗体が存在する¹²⁾。しかし、本症例のように比較的高力価のHBs抗体の存在がひとつの免疫学的プレッシャーとなってHBs抗原変異株を誘導した可能性も考えられる。但し、今回は1ポイントでの解析であるため、今後経時的な解析も必要と考えられる。

一方で、本症例のトランスアミナーゼは持続正常であり、少なくともHBs抗原変異株と肝炎の活動性との間には明らかな関連は無いと考えられた。

これまで持続感染者におけるHBs抗原・抗体共存のメカニズムとして、以下のような可能性が考えられている^{13,14)}。すなわち、(1)初感染時にごく限られた特異性を持つHBs抗体反応しか惹起されなかった個体が、他の垂型のHBVに重複感染した。(2)

特定のHBs抗原亜型のHBVキャリアーがキャリアー状態の成立後、十分な免疫能を獲得した時期に、新たに異なる亜型のHBVに感染した場合などである。これらの亜型を規定しているのは122番目 (lysine またはarginine) と160番目 (lysine またはarginine) のアミノ酸であるが、本症例では9クローンとも adr で、異なる亜型の混在は認めなかった。したがって、HBVキャリアーにおけるHBs抗原・抗体の共存は必ずしも複数の異なる亜型の感染で説明できるものではないことが明らかとなった。

今回の検討で認められたHBs抗原変異株が真にHBs抗原の抗原性を減弱ないし消失させているか否かの決定には、変異株から得られた遺伝子配列より発現させた組み替え蛋白による抗原性の検討が必要であると考えられる。一方で、このような変異株が自然経過例にも存在し得るということは、HBs抗原陰性のHBV感染、いわゆる“latent HBV infection”の成立機序の一因を考察する上で興味深い。

結 語

HBs抗原・抗体共存のHBVキャリアーにおいて、HBs抗原決定基内にアミノ酸変異を有するHBs抗原変異株を検出した。

なお、今回の研究は山口大学4年次の自己開発コースにて行ったものである。

引用文献

- 1) Carman WF, Zanetti AR, Karayiannis P, Waters J, Manzillo G, Tanzi E, Zuckerman AJ, Thomas HC. Vaccine-induced escape mutant of hepatitis B virus. *Lancet* 1990;**336**:325-329.
- 2) Okamoto H, Yano K, Nozaki Y, Matsui A, Miyazaki H, Yamamoto K, Tsuda F, Machida A, Mishiro S. Mutations within the S gene of hepatitis-B virus transmitted from mothers to babies immunized with hepatitis-B immune globulin and vaccine. *Pediatr Res* 1992;**32**:264-268.
- 3) Fujii H, Moriyama K, Sakamoto N, Kondo T, Yasuda K, Hiraizumi Y, Yamazaki M, Sakaki Y, Okochi K, Nakajima E. Gly 145 to Arg substitution in HBs antigen of immune escape mutant of hepatitis B virus. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;**184**:1152-1157.
- 4) Samuel D, Bismuth A, Mathieu D, Arulnaden JL, Reynes M, Benhamou JP, Brechot C, Bismuth H. Passive immunoprophylaxis after liver transplantation in HbsAg positive patients. *Lancet* 1991;**337**:813-815.
- 5) Carman WF, Trautwein C, van Deursen FJ, Colman K, Dornan E, McIntyre G, Waters J, Kliem V, Muller R, Thomas HC, Mannis MP. Hepatitis B virus envelope variation after transplantation with and without hepatitis B immune globulin prophylaxis. *Hepatology* 1996;**24**:489-493.
- 6) Moriyama K, Nakajima E, Hohjoh H, Asayama R, Okochi K. Immunoselected hepatitis B virus mutant. *Lancet* 1991;**337**:125.
- 7) Yamamoto K, Horikita M, Tsuda F, Itoh K, Akahane Y, Yotsumoto S, Okamoto H, Miyakawa Y, Mayumi M. Naturally occurring escape mutants of hepatitis B virus with various mutations in the S gene in carriers seropositive for antibody to hepatitis B surface antigen. *J Virol* 1994;**68**:2671-2676.
- 8) Okuda M, Hino K, Korenaga M, Yamaguchi Y, Katoh Y, Okita K. Differences in hypervariable region 1 quasispecies of hepatitis C virus in human serum, peripheral blood mononuclear cells, and liver. *Hepatology* 1999;**29**:217-222.
- 9) Ireland J, Hino K, Lau GK, Cheng CC, Carman WF. Failed adoptive immunity transfer : reaction or reinfection? *J Viral Hepatol* 1999;**6**:73-78.
- 10) Norder H, Hammas B, Lee SD, Bile K, Courouce AM, Mushahwar IK, Magnius LO. Genetic relatedness of hepatitis B viral strains of diverse geographical origin and natural variations in the primary structure of the surface antigen. *J Gen Virol* 1993;**74**:1341-1348.
- 11) Sastroewignjo RI, Sandjaja B, Okamoto H. Molecular epidemiology of hepatitis B virus in Indonesia. *J Gastroenterol Hepatol* 1991;**6**:491-498.
- 12) Yotsuyanagi H, Yasuda K, Iino S, Moriya K, Shintani Y, Fujie H, Tsutsumi T, Kimura S, Koike K. Persistent viremia after recovery from self-limited acute hepatitis B. *Hepatology* 1998;**27**:1377-

1382.

- 13) Sasaki T, Ohkubo Y, Yamashita Y, Imai M, Miyakawa Y, Mayumi M. Co-occurrence of hepatitis B surface antigen of a particular subtype and antibody to a heterologous subtypic specificity in the same serum. *J Immunol* 1976;**117**:2258-2259.
- 14) Koziol DE, Alter HJ, Kirchner JP, Holland PV. The development of HBsAg-positive hepatitis despite the previous existence of antibody to HBsAg. *J Immunol* 1976;**117**:2260-2262.

Hepatitis B Surface Antigen Variants Detected in a Hepatitis B Virus Carrier with Concurrent HBsAg and Anti-HBs

Sohji NISHINA ¹⁾, Keisuke HINO ²⁾, Yoshiharu KATOH²⁾, Kiwamu OKITA²⁾

1) *the Fifth Academic year*

2) *First Department of Internal Medicine*

*Yamaguchi University School of Medicine, 1-1-1 MinamiKogushi,
Ube, Yamaguchi 755-8505, Japan*

SUMMARY

Hepatitis B surface antigen (HBsAg) is neutralized by anti-HBsAg antibody (anti-HBs). However, HBsAg variants can persist in the spite of the presence of anti-HBs. Hepatitis B vaccination or hepatitis B immunoglobulin therapy is one of the situations that can drive the selection of variants. Thus selection of most variants is likely to be immune-driven. On the other hand, there are also naturally occurring variants, but the mechanism of their emergence has not been clarified.

Here we describe a hepatitis B virus (HBV) carrier with concurrent HBsAg and anti-HBs in whom several amino acid substitution was found in the major hydrophilic region of HBsAg. This case provides a discussion that concurrence of HBsAg and anti-HBs may drive selection of HBsAg variants.