

Ishizu Y (片野)	Clinical impact of HFE mutations in Japanese patients with chronic hepatitis C.	J Gastroenterol Hepatol			in press
Toyoda H (片野)	Predictive value of early viral dynamics during peginterferon and ribavirin combination therapy based on genetic polymorphisms near the IL28B gene in patients infected with HCV genotype 1b.	J Med virol			in press
Yokozaki S (片野)	Mutations in two PKR-binding domains in chronic hepatitis C of genotype 3a and correlation with viral loads and interferon responsiveness.	J Med Virol	83	1727-1732	2011
Hayashi K (片野)	Association of interleukin 28B and mutations in the core and NS5A region of hepatitis C virus with response to peg-interferon and ribavirin therapy	Liver Int	31	1359-1365	2011
Toyoda H (片野)	Antiviral combination therapy with peg-interferon and ribavirin dose not induce a therapeutically resistant mutation in the HCVcore region regardless of genetic polymorphism near the IL28B gene.	J Med Virol	83	1559-1564	2011
Hayashi K (片野)	Mutations in the core and NS5A region of hepatitis C virus genotype 1b and correlation with response to pegylated-interferon-alpha 2b and ribavirin combination therapy.	J Viral Hepat	18	280-286	2011

Nakamoto Y (中本)	Prolonged recurrence-free survival following OK432-stimulated dendritic cell transfer into hepatocellular carcinoma during transarterial embolization.	Clin. Exp. Immunol.	163(2)	165-177	2011
Mizukoshi E (中本)	Comparative analysis of various tumor-associated antigen-specific T-cell responses in patients with hepatocellular carcinoma.	Hepatology	53(4)	1206-1216	2011
Yamashita T (中本)	Randomized, Phase II Study Comparing Interferon Combined with Hepatic Arterial Infusion of Fluorouracil plus Cisplatin and Fluorouracil Alone in Patients with Advanced Hepatocellular Carcinoma.	Oncology	81 (5-6)	281-290	2011
Kajiwara A (江口)	IL-4 and CpG therapy suppresses the outgrowth of tumors by activating tumor-specific Th1-Ttype immune responses.	Oncology Reports			in press
Shimizu S (竹原)	Inhibition of autophagy potentiates the antitumor effect of the multikinase inhibitor sorafenib in hepatocellular carcinoma.	Int J Cancer.			in press
Kodama T (竹原)	Increases in p53 expression induce CTGF synthesis by mouse and human hepatocytes and result in liver fibrosis in mice.	J Clin Invest.	121	3343-3356	2011
Hikita H (竹原)	Delayed-onset caspase-dependent massive hepatocyte apoptosis upon Fas activation in Bak/Bax-deficient mice.	Hepatology	54	240-251	2011

Shimizu S (竹原)	The let-7 family of microRNAs Bcl-xL expression and potentiates sorafenib-induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma.	J Hepatol	52	698-704	2010
Hiramatsu N (平松)	Efficacy of pegylated interferon plus ribavirin combination therapy for hepatitis C patients with normal ALT levels; a matched case-control study.	J Gastroenterol	46 (11)	1335-43	2011
Shimizu S (平松)	Inhibition of autophagy potentiates the antitumor effect of the multikinase inhibitor sorafenib in hepatocellular carcinoma.	Int J Cancer.			in press
Sakakibara M (考藤)	Comprehensive immunological analyses of colorectal cancer patients in the phase I/II study of quickly matured dendritic cell vaccine pulsed with carcinoembryonic antigen peptide.	Cancer Immunol Immunother	60	1565-1575	2011
Wakita T (考藤)	Will there be an HCV meeting in 2020? Summary of the 17th international meeting on hepatitis C virus and related viruses.	Gastroenterology	141	e1-5	2011
Tomimaru Y (考藤)	Circulating microRNA-21 as a novel biomarker for hepatocellular carcinoma	J Hepatol	56	167-175	2012
Yamamoto M (考藤)	alpha-Fetoprotein impairs activation of natural killer cells by inhibiting the function of dendritic cells.	Clin Exp Immunol	165	211-219	2011
Tsunematsu H (考藤)	Fibroblast growth factor-2 enhances NK sensitivity of hepatocellular carcinoma cells.	Int J Cancer	130	356-364	2012

IV. 研究成果の刊行物・別刷

B 型肝炎のウイルス学

Virology of the hepatitis B virus

大阪大学大学院医学系研究科
感染免疫医学講座ウイルス学
上田啓次

Division of Virology,
Department of Microbiology and Immunology,
Osaka University Graduate School of Medicine,
Keiji Ueda

要旨

1960年代に Blumberg がオーストラリア抗原と肝炎との関連を示してから半世紀が迫ろうとしている。この抗原こそが B 型肝炎ウイルス (hepatitis B virus、HBV) の遺伝子産物であった。分子生物学の発展とともに HBV の塩基配列の決定、遺伝子同定、遺伝子機能の解析は進み、ワクチンの開発にも成功した。しかしながら、簡便な感染系が存在しないことから、HBV のウイルス学は全く進展しておらず、HBV の真のライフサイクルのみならず、急性或は慢性肝炎、肝硬変、肝癌といった深刻な病態の発症機構は不明な点が多い。問題解決には HBV 感染受容体を分離・同定し確固としたかつ簡便な感染系を樹立することが不可欠である。ウイルス学最大の難問を解決する糸口を模索する。

キーワード ; hepatitis B virus、HBV、逆転写、感染受容体、感染系

はじめに

Blumberg が白血病患者血清中に新規の抗原（オーストラリア抗原）を発見し報告したのは 1965 年¹⁾、その後数年で輸血後の血清肝炎との関連が確立された²⁾。この感染性因子が B 型肝炎ウイルス（hepatitis B virus、HBV）である。日本では大河内らが最初に日本人における本抗原の保有率を最初に報告している³⁾。疾患概念の確立は慢性 B 型肝炎から肝硬変、肝癌への病態進行や母体からの垂直感染の存在を明らかにした。

1970 年代後半から 80 年代前半にかけて、分子生物学的研究手法の確立と相まって次々とウイルスゲノムのクローニングと塩基配列が決定され、げっ歯類のウッドチャック（woodchuck hepatitis virus、WHV）や地リス（ground squirrel hepatitis virus、GSHV）、鳥類ではアヒル（duck hepatitis B virus、DHBV）や鷺（heron hepatitis B virus）にも同族のウイルスが存在することが明らかにされた。哺乳類では類人猿であるチンパンジー（chimpanzee hepatitis B virus）やオランウータン（orangutan hepatitis B virus）などにも同様のヘパドナウイルスが蔓延していることが知られている^{4,5)}。

また、HBV は従来、サブタイプとして adr、adw、ayw のように分類されていたが、最近ではゲノタイプ A~H として分類されている⁴⁾。

ヘパドナウイルスの特徴は、ゲノムサイズが極めて小さく、およそ 3.2kb 前後の部分的 2 本鎖の環状 DNA ウイルスであること、遺伝子は大まかに言って、コア遺伝子、pol 遺伝子、S 遺伝子と X 遺伝子のたった 4 つである（鳥類のヘパドナウイルスには X 遺伝子は存在しないとされている）ことや DNA ウイルスでありながら複製に逆転写過程が存在することである^{4,5)}。

分子生物学的手法により各遺伝子の機能や複製機構、組込み体の解析から b 肝癌発生との関連が研究されてきた。しかしながら、ヘパドナウイルス学を論じる上で解決されていない決定的な問題が 2 つあり、その問題が解決されない限りヘパドナウイルスの真のウイルス学、病態論やウイルスの本質に則した治療法の開発はないものと考えている。その問題点とは有用かつ簡便な感染系が存在しないこと、ヘパドナウイルス複製酵素 pol の *in vitro* アッセイ系が存在しないことである。

本総説では HBV を概説した後、前述の解決されない主要 2 問題について概説したい。

HBV 粒子構造、ゲノム、遺伝子、転写産物

HBV の感染性粒子は Dane 粒子と呼ばれる膜粒子とその内部のコア粒子 (キャプシッド) で構成され、キャプシッド内にウイルスゲノムを内在する (図 1A)。前述の如く、HBV のゲノムは極めてコンパクトに組織されている。また単純な 2 本鎖 DNA ゲノムではなく部分的に 2 本鎖の環状 DNA である。更に⊖鎖 DNA の 5'端に末端蛋白が付着し、⊕鎖 DNA の 5'にはプライマー-RNA が付いているという独特の構造をしている (図 1B)。またレトロウイルスゲノム末端の非翻訳領域 (untranslated region; UTR) に機能的に相同と考えられる direct repeat 1 及び 2 (DR1、DR2) 配列がある。DR1 はプレゲノム RNA の 5'に、3'には DR2 及び DR1 が存在している⁴⁾。

この極めてコンパクトなゲノムにウイルスとしての営みに必要な最小限の遺伝子がコードされている。それらの遺伝子はコア (C)、pol、S と X 遺伝子の 4 つである。コア遺伝子と S 遺伝子は読み取り枠の違いにより、コア遺伝子は preC-C と C の 2 つにまた S 遺伝子は large S (LS) middle S (MS) , small S (SS) の 3 つに分けられる (図 1B、C)。

preC-C (プレコア-コア) 遺伝子

ウイルスのキャプシッド形成に関わる構造遺伝子産物を供給する。2 つの in-frame 翻訳コドンにより preC (29 アミノ酸 [aa]) -C (185aa) の読み取り枠となるか C のみの読み取り枠となるかが決定される。preC-C 或は C 遺伝子に固有の転写産物はないが、preC-C の読み取り枠になるには preC-C 翻訳開始コドン ATG より上流から転写が開始される必要がある。また C の翻訳に関わる転写産物は所謂プレゲノム RNA と考えられる (図 2A)。

preC-C 産物は N 末に疎水性アミノ酸配列からなる分泌シグナルがあり、また C 末のアルギニンに富む領域の前で切断されて HBe 抗原として分泌される⁴⁾。HBe 抗原産生のウイルスにとっての生理的な意義はよくわからないが、C 遺伝子産物との殆どオーバーラップしていることから、キャリアー化や慢性肝炎化などの持続性 HBV 感染に起因している可能性はあると思われる。

血中 HBe 抗原の量は HBV 慢性肝炎の活動性ともよく関連し、HBV 増殖状況をよく反映している。HBe 抗原陰性化と HBe 抗体の陽性化という

seroconversion に preC 領域内の終始コドンへの変異を伴うことが知られており、これに伴い肝炎も鎮静化することが多い⁶⁾。

C 遺伝子産物は HBV のコア粒子形成に不可欠な蛋白因子である。2 量体が集合して最終的なコア粒子を形成すると考えられている。単一構成因子であるため、T=1 (T; triangulation Number) の最も単純な正 20 面体キャプシッドを形成すると予測されるが、cryoelectronmicroscopy による粒子結晶構造解析では T=3~4 で約 180~240 分子からなる正 20 面体構造をとっていることが解っている⁷⁾。

コア粒子の形成過程でパッケージングシグナル ϵ を介してプレゲノム RNA が粒子に取込まれ、或はコア蛋白の分子集合に付随しつつ、プレゲノム RNA から逆転写により \ominus 鎖 DNA 合成そして \oplus 鎖 DNA 合成が進行するものと考えられる⁸⁾。コア蛋白が核内に存在することは報告されているが、コア粒子そのものがどこで形成され、どのような過程で膜粒子に取込まれるかなど、ウイルス粒子形成のダイナミックな分子集合プロセスには不明な点が多い。

pol

HBV ゲノム複製の根幹的役割を果たす因子である。845aa 前後からなり、末端蛋白領域、tethering 領域 (若しくは spacer 領域)、逆転写酵素活性領域、RNaseH 領域という各ドメインから構成と考えられる (図 2B)。前述のコア蛋白にはレトロウイルスの gag-pol 融合タンパクの様にプロテアーゼの活性を担う領域は無く、HBV pol がプロセスを受けて、各ドメインに分解され機能を発揮する可能性はないと考えられる^{5,9)}。

HBV は逆転写過程をもつ DNA ウイルスであり、逆転写過程をもつ RNA ウイルスであるレトロウイルスの生活環と根本的な違いがある。すなわち、レトロウイルスは感染後細胞内侵入後に逆転写過程が始まり、最終的には 2 本鎖 DNA となり宿主染色体に組込まれ、遺伝子発現、複製過程が進行する。一方、HBV では感染後、転写産物として合成されたプレゲノム RNA を鋳型に粒子形成過程で逆転写が進行する。また HBV の生活環には宿主染色体に組込まれる過程は本質的にはない (感染肝細胞の増殖過程で非特異的に組込みが起ることは知られており、初期段階ではレトロウイルスゲノムの末端部位の LTR (long terminal region) に相当する DR (direct repeat) が 5'、3'の両端に位置するほぼ完全な形で頻繁に組込みが起ることが知られている)¹⁰⁾。

preS-S 遺伝子産物

HBV 粒子外殻を構成する膜蛋白である。small S (SS 若しくは HBs) を共通部分として、preS1 (108~120aa) 翻訳開始コドンから翻訳されると large S (LS、389~401aa)、preS2 (55aa) 翻訳開始コドンから翻訳されると middle S (MS)、SS (226aa) 翻訳開始コドンから SS が産生される (図 2C)。これらの違いは転写の開始がどこから始まるかで決定されると考えられているが、SS をコードする転写産物が圧倒的に多い。SS にはそれ自体で粒子形成・分泌能があり、感染能をもつ Dane 粒子に比し約 1000 倍の量で SS 粒子 (若しくは HBs 粒子) として大量に分泌される。

Dane 粒子の形成には SS に加え、LS が必要であり、コア粒子を内包する過程で粒子サイズや機能の点からも重要な役割を担っていると思われる。MS は Dane 粒子形成に必ずしも必要ではないと思われるが、分泌を促進する過程で機能していると考えられ、やはり LS、MS、SS の量比は Dane 粒子形成を促進するか、subviral 粒子としてのみ分泌されるかの点で鍵になっているものと考えられる^{11, 12)}。

X 遺伝子産物

HBV ゲノムの塩基配列が決定されたとき、機能未知の翻訳読み取り枠 (ORF) として同定された。約 0.8kb の固有の転写産物から翻訳されると考えられる (図 2D) 細胞内シグナル伝達やウイルス宿主遺伝子の転写活性を修飾する機能が数々報告されている。こういった機能面での重要ポイントは、DHBV には X 遺伝子が存在せず、DHBV 感染アヒルでは肝癌が発症しない点に着目した X 遺伝子機能と肝発癌との関連である。実際、HBV X トランスジェニックマウスで肝発癌が促進される¹³⁾。哺乳類へパドナウイルスでは感染能に影響を与えるとの報告もあるが、感染そのものに影響があるのか、転写活性化に原因があるのかなど不明な点も多い。

X 蛋白は様々な機能をもつが、培養細胞を用いた大量かつ一過性発現系から得られたものである¹⁴⁾。X 蛋白は哺乳類細胞系でも難溶性であり、実際の生活環境のなかでどの程度発現し、その発現程度に見合った機能は何なのか、また大量に発現される事態があるとする、それは一体どういう局面なのか、実際何がおこるのか、疑問は尽きない。

HBV の生活環 (図 3) と複製 (図 4)

HBV の生活環は主に DHBV の初代培養肝細胞感染系や個体レベルでの感染系を用いた解析で、一般的には次のように考えられている⁵⁾。

まず、細胞表面の特異的感染受容体を介して付着・侵入し、感染を成立させる。HBV のゲノムは前述の如く、 \ominus 鎖 DNA の 5' に末端蛋白 (pol) が共有結合しているが、これが取り除かれ、また末端蛋白付着部位近傍の重複配列部分もトリミングされる。 \oplus 鎖 DNA の RNA プライマーも取り除かれ、完全長が複製される。最終的にはギャップはすべて埋め尽くされ結合されて、プラスミド型の環状 2 本鎖 DNA (covalently closed circular DNA、cccDNA と呼ばれる) となる。この過程に HBVpol が必要かどうか未だ議論のあるところである。

cccDNA はエピゲノムとなり HBV 関連 mRNA (3.5kb mRNA ; プレゲノム RNA [C、pol]、preC-プレゲノム RNA [preC-C、pol?]、2.4kb mRNA [LS]、2.2kb mRNA [MS]、2.1kb mRNA [SS]、0.8kb mRNA [X]) が転写される (図 1B、図 3)。この他にも C 遺伝子の後半から preS にかけてスプライスされた 2.3kb 前後の mRNA (機能不明) も産生される¹⁵⁾。これらの mRNA はすべて \oplus 鎖極性をもつもので \ominus 鎖極性をもつ転写産物は基本的には知られていない。プレゲノム RNA はゲノムサイズより長く、5' と 3' が重複配列になっていることが特徴であり、また逆転写複製に不可欠である。

プレゲノム RNA から翻訳された pol はプレゲノム RNA のパッケージングシグナル ϵ に結合し蛋白プライミングによって \ominus 鎖 DNA の合成を開始する (HBV の場合は 63 番目のチロシンからチミンが合成開始の発端になる) (図 4A)。 ϵ から DR1、5' の配列はプレゲノム RNA の 3' にも存在するので、ここまで合成された \ominus 鎖 DNA はプレゲノム RNA 3' の同様の相補的な配列に転座して、さらに 5' までの両端の重複した完全長の \ominus 鎖 DNA を完成する。プレゲノム RNA 自体は \ominus 鎖 DNA 合成が進むに連れて pol 自身の RNaseH 活性により分解されるが、5' の DR1 を含む短い配列部分が最終的に \ominus 鎖 DNA の DR2 に相補的に結合することが \oplus 鎖 DNA のプライミングになる。 \ominus 鎖 DNA の 5' の DR1 辺りまで合成された \oplus 鎖 DNA は 3' の DR1 に転座してさらに \oplus 鎖 DNA 合成を進める。この \oplus 鎖 DNA 合成は S 遺伝子 ORF と X 遺伝子の ORF 辺りで停止している。粒子内での基質が枯渇してくることが理由の一つかもしれない⁹⁾ (図 4B)。

HBV の逆転写 (\ominus 鎖 DNA 合成) から \oplus 鎖 DNA 合成といった一連の HBV

ゲノム複製はコア粒子内で行われると考えられており、ゲノムを含むコア粒子はERに分子集合している膜蛋白に内包されてERを經由して細胞外に分泌されると考えられる。コア粒子のERでの内包から分泌の過程にどのような宿主因子が関わりウイルス因子がどう機能しているのか、受動的なものなのか、能動的な移送・分子集合なのか、未だ謎だらけである。

HBV 研究の将来

HBV 感染者は世界に 2~3 億人、日本でも未だ 150 万人存在すると考えられている。このような巨大感染症ではワクチン回避変異体を生み、慢性化率の高いゲノタイプが蔓延しつつある。HBV 慢性肝炎の治療はインターフェロンによる seroconversion を目指した治療は最良であるが効果は限定的である。従って HBV 増殖を抑えることに主眼が置かれるが、抗 HBV 剤は抗 HIV 剤のたらい回しの利用で変異株とのいたちごっこである。

HBV の研究は分子生物学的手法を主体になされ、各遺伝子の機能が明らかにされて来た。しかし、これまでの報告が HBV の本質的なウイルス学をどこまで正確に記述しているのかを検定する必要がある。すなわち、少なくとも培養細胞を利用した *in vitro* 感染系で、可能であれば、マウス等を利用した個体感染モデルでの実証が必要である。これらの感染系の樹立は HBV のウイルス学を発展させるに留まらず、病態発症機構の解明やその事実に基づく治療法の開発へと発展することを約束する。

そこで今後の HBV 研究を進める上で最も大きな問題点を 2 つ挙げておきたい。1) HBV 感染受容体を分離・同定し、その性質を明らかにしつつ、有用かつ簡便な *in vitro*、*in vivo* 感染系を樹立すること、2) HBV pol の簡便なアッセイ系による high-throughput 抗 HBV 剤スクリーニングシステムを確立することの 2 点である。これらの問題はウイルス学に託された最難問である。

HBV 感染受容体の分離・同定と感染系の確立

ウイルスの発見から既に半世紀足らず、HBV の感染受容体はそのかけらも解っていないに等しい。本来の感染宿主実質肝細胞に感染増殖するが、肝実質細胞由来の培養肝癌細胞には殆ど感染しない。もちろん培養肝癌細胞はもともと

の正常の肝実質細胞の性質を維持していないことは想定される。初代培養ヒト肝実質細胞の系では確かに HBV 感染が確認されるが、倫理的な側面、調達の煩雑さを考えると、研究室での使用には全く耐えない。C 型肝炎ウイルスに起因すると思われる肝癌から樹立された HepaRG という培養肝癌細胞が HBV にも感染感受性を示すことが示された¹⁶⁾。しかし、感受性を得るために 2~3 週間程度の分化誘導が必要なこと、感染効率は最大で 30%程度で、しかもディッシュ 1 枚当たり 10 万円以上する高価な細胞株であることなどから汎用性に耐えない（増殖維持は特許の関連で制限されている）。iPS から分化させた肝細胞の利用も一つのアイデアではあるかもしれないが、その誘導から維持の手間を考えると HBV 研究者が低コストで簡便・自由に使用できる状況にはない。

そこでやはり HBV 感染受容体の分離・同定とその応用としての感染系の樹立が必要不可欠と考えている。とは言っても、半世紀近い研究で全く成果がでなかった対象である。ウイルス感染機構の概念を根本から変える非常識的なアイデアが必要となると反ってかなり厄介であるが、斬新なスクリーニング方法を考案しつつ、ウイルス感染の基本に立って地道な同定作業を続けている。

HBV pol アッセイシステム

蛋白プライミング逆転写がパッケージングシグナル ϵ 、コア粒子のアセンブリーと共役して活性化するなどの特殊性や発現蛋白の可溶化が困難であるなど、試験管内反応系を拒む問題点が立ちはだかる。high-throughput/mass screening システムの構築、立体構造から *in silico* 解析を行うにしても純度の高い評品が大量に必要である。如何に活性を維持した状態でこういった評品を得るか種々のアイデアをもとに試行錯誤を続けている。

終わりに

抗 HBV ワクチンが開発されて、日本では特段 HBV 感染症に対する意識が下がったのか、日本における HBV の基礎研究者は殆ど影を潜めてしまった。日本の 150 万人強の患者、世界に数億人の感染者をもってして容易く減少していく感染症ではないと考える。HBV ウイルス学も HBV 肝炎、肝癌もよくわからないことだらけである。一見極めて単純なウイルスのようにみえるが、逆に抗ウ

ウイルス標的材料が少なく、種々の側面からの治療薬の開発も難しい。本ウイルスの基本的な問題を解決することが、いろいろな意味で新たな展開を生むかもしれない。

文献

- 1) Blumberg BS, et al: A "new" antigen in leukemia sera. *JAMA* 191: 541-546. 1965.
- 2) Blumberg BS, et al: A serum antigen (Australia antigen) in Down's syndrome, leukemia and hepatitis. *Ann Intern Med.* 66: 924-931. 1967.
- 3) Okochi K., Murakami S: Observation on Australia antigen in Japanese. *Vox Sang* 15: 374-385. 1968.
- 4) Schaefer S: Hepatitis B virus taxonomy and hepatitis B virus genotype. *World J Gastroenterol* 13: 14-21. 2007.
- 5) Seeger C, et al: Hepadnaviruses. "Fields Virology" Knipe DM and Howley PM ed. 5th ed. Lippincott Williams and Wilkins Philadelphia. p2977-3029, 2007.
- 6) Liang TK: Hepatitis B: The Virus and Disease. *Hepatology* 49: S13-S21. 2009.
- 7) Wynne SA, et al: The crystal structure of the human hepatitis B virus capsid. *Mol Cell* 3: 771-780. 1999.
- 8) Watts NR, et al: *EMBO J* 876-884. 2002.
- 9) Beck J., Nassal M: Hepatitis B virus replication. *World J Gastroenterol* 13: 48-64. 2007.
- 10) Yang W., Summers J: Integration of Hepadnavirus DNA in infected liver : evidence for a linear precursor. *J Virol* 73: 9710-9717, 1999.
- 11) Bruss V., Ganem D: The role of envelope proteins in hepatitis B virus assembly. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 1069-1063. 1991.
- 12) Ueda K, et al: Three envelope proteins of hepatitis B virus : large S, middle S, and major S proteins needed for the formation of Dane particles. *J Virol* 65: 3521-3529. 1991.
- 13) Kim CM, et al: HBx gene of hepatitis B virus induces liver cancer in transgenic mice. *Nature* 351: 317-320. 1991.
- 14) Wei Y, et al: Molecular biology of the hepatitis B virus and role of the X gene. *Pathologie Biologie* 58: 267-272. 2010.
- 15) Suzuki T, et al: Detection and mapping of spliced RNA from a huma

hepatoma cell line transfected with the hepatitis B virus genome. Proc Natl Acad Sci USA 86: 8422-8426. 1989.

- 16) Gripon P, et al: Infection of a human hepatoma cell line by hepatitis B virus. Proc Natl Acad Sci USA 99: 15655-15660. 2002.

図の説明.

図 1. HBV 粒子とゲノム構造. (A) HBV の感染性粒子構造. HBV は部分二重鎖 DNA 環状構造をもつゲノムを内在するコア粒子 (キャプシッド) とそれを被う外膜構造をもつ。外膜は LS、MS、SS で構成される。(B) HBV ゲノム (太い実線、部分二重鎖は破線) の構造、関連転写産物 (外枠、細い実線)、遺伝子 (蛋白読取り枠) (内側、ブロック矢印) を示す。ゲノムは 5' に末端蛋白 (P) (HBV pol) が付着している。複製に重要な DR (direct repeat) 1、DR2 の位置が示されている。転写産物の 5' は cap 構造を取り (●) ポリ A で終わる。3.5kb mRNA は正確には preC-C 産生に関わる preC ATG を含むものと含まないプレゲノム RNA (pgRNA) に分けられる。pgRNA についてのみ ε の位置、構造を示してある。preS-S 産生に関わる mRNA は 2.4kb (LS)、2.2kb (MS)、2.1kb (SS) である。また 0.8kb mRNA は X 遺伝子固有の mRNA である。

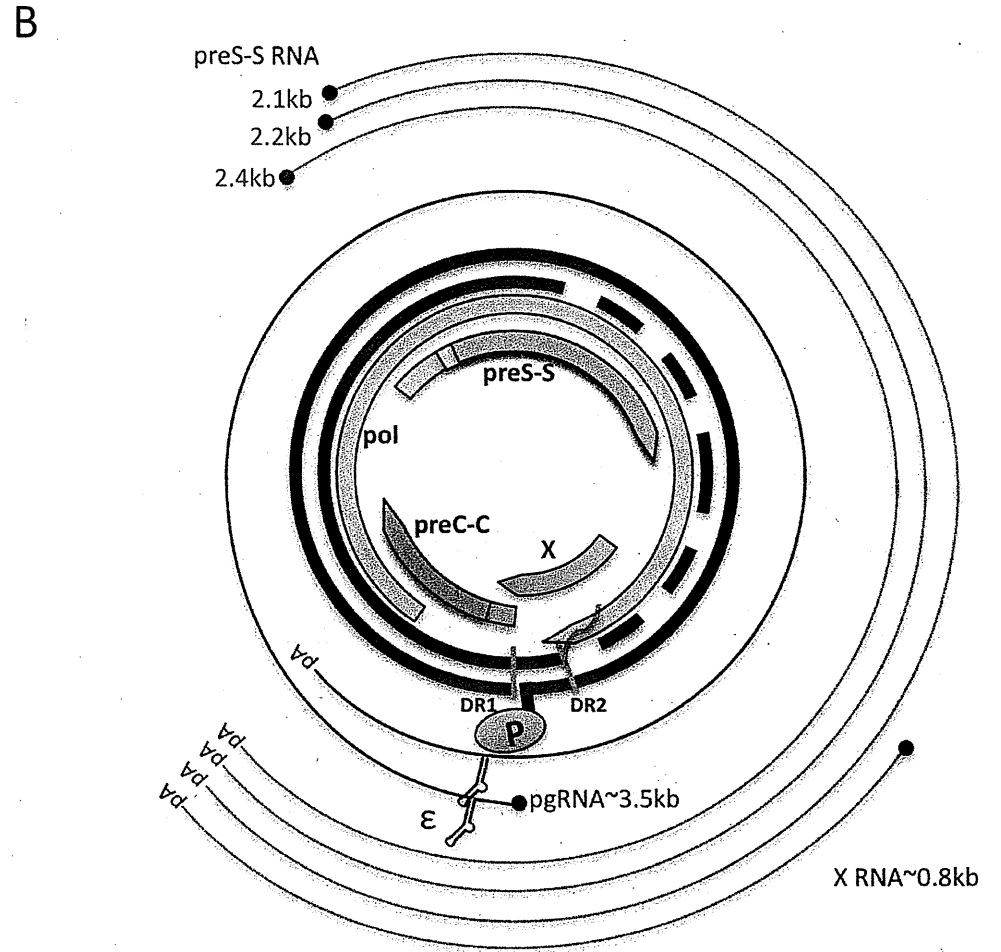
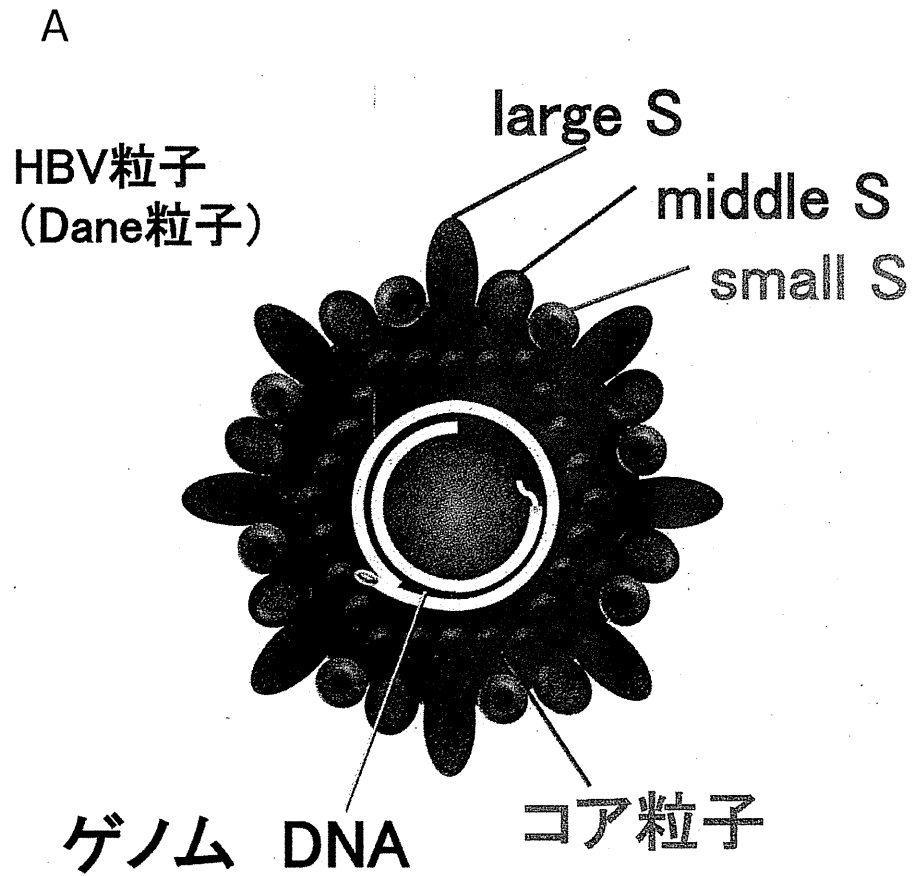
図 2. コア (C)、S、pol の産物と機能領域. (A) C 遺伝子産物. 読取り枠は preC-C と C の 2 つであるが、実際発現される蛋白は最低 4 種類あると考えられている。p25 は preC-C の前駆体として発現し N 端の分泌シグナル (-29~9aa) (p22) と 150aa 以降のアルギニンに富む領域がプロセスされて p17 として分泌される。コア粒子の産生には p21 が関わりとされる。(B) S 遺伝子産物. SS 部分を共通として preS2 が加わった MS、更に preS1 が加わった LS が産生される。preS2 と SS の C 端の◆は糖鎖付加部分を示す。(C) HBV pol 蛋白の機能構造. N 端から蛋白プライミング逆転写に関わる末端蛋白、機能領域を連結させるスペーサー、酵素活性を担う逆転写酵素領域、RNA 分解反応に関わる RNaseH 領域からなる。

図 3. HBV の生活環. HBV の生活環の概略を示した。HBV 感染粒子は想定される受容体に結合後、細胞膜上若しくはエンドゾームで膜融合を起こし、コア粒子が細胞質へ取込まれる。コア粒子は核へ移送されると仮定されているが、このプロセスでゲノム DNA のギャップは埋められ、末端蛋白は取り外されて、核内ではプラスミド型の閉環状 cccDNA となる。このエピゾームは被転写競合型であり、HBV 関連転写物が発現される。ゲノム合成に供与される RNA は pgRNA であり、コア粒子のアセンブリーと共役してパッケージング、逆転写反

応が進行する。分泌された感染性 HBV 粒子のゲノムは完全な HBV ゲノム構造をとっており、⊕鎖 DNA 合成は膜粒子に取り込まれるまでに完了していると考えられている。

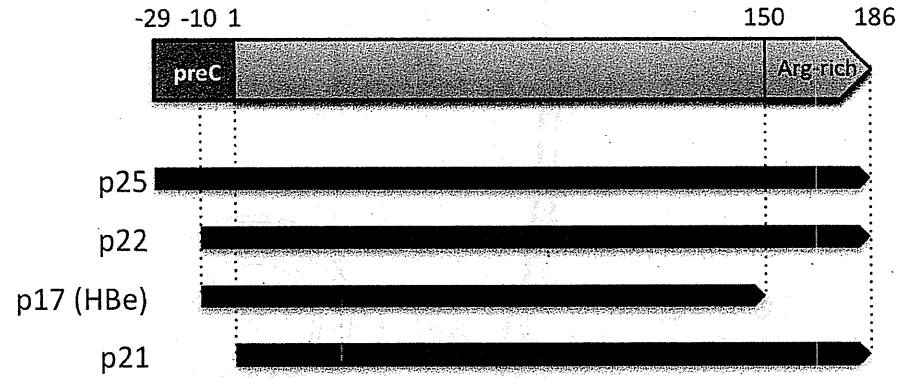
図 4. HBV パッケージングシグナル (ϵ) と逆転写複製メカニズム. (A) HBV HBV パッケージングシグナル (ϵ). RNA によくみられる pseudo-not 構造をとると考えられている。HBVpol 末端蛋白領域で認識されることが考えられていて、部分的に一本鎖となる膨らみ (bulge) の根元のアデニンと相補的に HBV pol の 63 番目のチロシンからプライミングされる。(B) HBV 複製メカニズム. 1. ϵ から開始した逆転写産物は 5'DR1 まで合成されると、2. 3'DR1 に転座することで全長⊖鎖 DNA 合成が可能となる。3. 5'DR1 まで⊖鎖 DNA 合成が進行するに伴い、4. 鋳型 pgRNA は HBV pol の RNaseH 活性により順次分解される。キャップ構造~DR1 をもつ 5'の短い pgRNA 部分は完全な DNA-RNA ハイブリッドにならないため分解を免れ、この部分の RNA が 3'に近い DR2 領域に相補的に転座することで⊕鎖 DNA 合成のプライマーとして機能する(レトロウイルスの⊕鎖 DNA 合成のプライマーとなる polypurine tract[ppt]に相当する)。5. ⊕鎖 DNA 合成は⊖鎖 DNA 5'まで進み、6. その後 3'DR1 に転座することで、7. さらに⊕鎖 DNA 合成がすすむ。この反応過程で、8. DR 領域の相補的な配列をもとに環状化構造をとる。⊕鎖 DNA 合成は確固とした理由は定かではないが、50~80%くらいのところで合成が停止している。本図では末端蛋白を独立した因子として描いているが、HBV pol は機能構造に分解されないため、末端蛋白~合成酵素活性は一つの蛋白として機能している。

図1



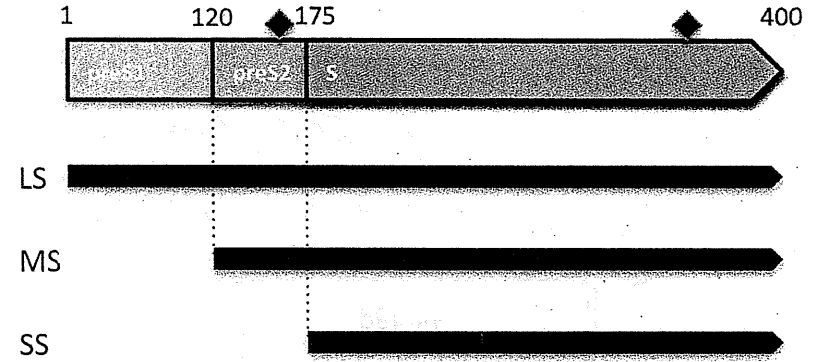
A

C遺伝子産物



B

S遺伝子産物



C

pol



