

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

非A非B型肝炎の予防，疫学に関する研究

平成10年度報告書

総括研究報告書

分担研究報告書

主任研究者	吉澤	浩司
分担研究者	宮村	達男
	岡本	宏明
	日野	邦彦
	佐藤	俊一
	田中	英夫
協力研究者	溝上	雅史
	和田	清彦
	三浦	宣彦

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

非A非B型肝炎の予防，疫学に関する研究

平成10年度報告書

総括研究報告書

分担研究報告書

主任研究者	吉澤浩司
分担研究者	宮村達男
	岡本宏明
	日野邦彦
	佐藤俊一
	田中英夫
協力研究者	溝上雅史
	和田清彦
	三浦宣

主任研究者

吉澤 浩司	総括研究報告書	1
-------	---------	---

分担研究者

吉澤 浩司	○献血を契機に発見されたHCVキャリアの genotype別 にみたウイルス量	9
	○小児におけるTTvirus感染の実態調査成績に 関する研究	11
	○広島県域におけるHCV検診の試行 －高年齢層におけるHCVキャリア率－	13
宮村 達男	○バキュロウイルスを用いた中空粒子状のHEV蛋白の 発現とHEVワクチンのための基礎的検討	19
岡本 宏明	○TTウイルスの分子ウイルス学的解析	21
日野 邦彦	○献血を契機に発見されたHCVキャリアの病態と IFN治療に関する研究	26
佐藤 俊一	○報告 : 地域住民を対象としたHCVキャリア対策の 推進とその問題点 (続報)	31
	○報告 : 地域住民を対象としたTTVキャリアの頻度 およびその背景の検討	33
田中 英夫	○研究1 : 献血で発見されたHCVキャリアの肝細胞癌 累積罹患率と、リスク要因	42
	○研究2 : 職域におけるHCV抗体検査実施状況および HCVキャリア抗体陽性者のフォローアップ状況の 実態調査	45

協力研究者

溝上 雅史	○HCVの分子進化学的解析 －本邦における genotype 1b の分岐時間－	48
和田 清	○薬物依存者－特に覚醒剤依存者および注射による薬物 依存者－の血清疫学的調査 : HBV、HCV暴露率 に関する全国調査	50
三浦 宣彦	○肝がん死亡の地理的分布 －5年毎の年次推移－	57

総括研究報告書

非A非B型肝炎の予防、疫学に関する研究

主任研究者 吉澤 浩司 広島大学医学部衛生学 教授

研究要旨

1. HCVキャリア対策指針の作成、2. 新たに発見された非B非C型肝炎ウイルス（TTV）の分子ウイルス学的研究、3. 非A非B型肝炎ウイルス（HEV）のワクチン開発を旨とした基礎的研究を3本柱とした調査・研究を展開した。

献血を契機に発見されたHCVキャリア集団2,035例を追跡し、27例の肝発がん例を見出した。更に観察期間を延長して症例の蓄積を図るとともに、発見時に遡った病態の経年的変化の解析を行なうことにより、HCVキャリアの自然史の解明が可能になると考えられた。

地域住民を対象とするHCV検診を、検診機関、医療機関の背景が異なる2つのモデル地区（県域）を設けて開始し、問題点の所在を検討した。その結果、検診により発見されたHCVキャリアの医療機関への受診率の向上、1次医療機関と2次医療機関との連携の強化などを図る必要があることが明らかとなった。また、都市部における職域集団を対象とした検診のあり方についても検討を要することが明らかとなった。

覚醒剤依存・精神病患者を対象とした全国調査、70歳以上の高齢層を対象としたHCVキャリア率の把握、HCVの分子系統解析による汎流行時期の推定についての調査・研究を行なった。その結果、わが国におけるHCV感染の汎流行は、主として1940年代の後半から1950年代におこり、その累積結果が今日まで持ち越され、近年の肝がん死亡の増加に連なっていることを示唆する成績が得られた。

新たに発見された非B非C型肝炎ウイルス（TTV）の分子ウイルス学的研究を行ない、ある特定のgenotypeに属するTTVの感染と肝病態との関連を示唆する成績を得たことから、次年度以降この点に焦点を絞って調査・研究を展開することとした。

バキュロウイルスを用いて、HEVの感染粒子と同様の形態、抗原性を持つ中空の粒子状の蛋白発現に成功した。この蛋白を用いた特異度の高いHEV抗体検出系の開発・普及、ワクチンへの応用の可能性を示唆する成績が得られつつある。なお、輸血後肝炎に関連する未知の肝炎ウイルス探索のため、3年間を通して受血者の追跡調査を継続して行なう。

分担研究者

宮村 達男	国立感染症研究所 ウイルスⅡ部 部長
岡本 宏明	自治医科大学・ 予防生態学 助教授
日野 邦彦	聖マリアンナ医科大学 臨床検査医学 客員教授
佐藤 俊一	岩手医科大学 第一内科 教授
田中 英夫	大阪府立成人病センター 調査部 調査係長

A. 研究目的

本研究は

1. 自覚症状がないまま社会に潜在し続けているHCVキャリアの実態を把握し、その発見から健康管理、治療に至るまでの一連の対策指針を構築すること。
2. 新たに発見された非B非C型肝炎ウイルス（GBV-C/HGV, TTV）の分子ウイルス学的、臨床病理学的調査・研究を行ない、その臨床的意義を明らかにすること。

と。

3. 非A非B型肝炎ウイルス (HCV, HEV など) の基礎的研究を行い、治療、予防ワクチン開発の可能性を追求すること。

を目ざした調査・研究を基礎医学、臨床医学、社会医学を担当する専門家の協力のもとに行ない、得られた成果を迅速に社会に還元し、保健・医療の向上に役立てることを目的とする。

B. 研究方法

研究目的に掲げた3項目を調査・研究の柱とし、3年計画でこれを行なう。1年目は、上記目的を達成するための基本となる調査・研究および基礎的検討を中心にを行い、2年目は、1年目の調査・研究および基礎的検討により得られた成果をもとに、重点を定めた調査・研究を規模を拡大して展開し、3年目は、2年目に引き続いた調査・研究を展開すると共に、それまでに得られた成果を解析し、全体のまとめと、得られた成果を社会に還元するための提言を行なう。調査・研究は、ウイルス学的、分子疫学的、血清疫学的手法を用いて行なう。また、輸血後肝炎に関連する未知の肝炎ウイルス探索のため、3年間を通して受血者の追跡調査を継続して行なう。

C. 結果と考察

1. 「HCVキャリアの実態把握と、HCVキャリアの発見から健康管理、治療に至る一連の対策指針の構築」 関連

1年目にあたる本年度は、1) 献血を契機に発見されたHCVキャリアの肝発がん率と関連要因の解明、2) 地域住民検診にHCV検査を取り入れるためのパイロットスタディ、3) 地域住民検診の対象とはなり難い都市生活者(職域集団)についての検診実施状況の基礎的調査、4) C型慢性肝炎患者(IFN適用群、非適用群)を対象とした治療効果(IFN単独、IFNと他剤の併用による)に関する基礎的調査・研究、および、5) 1975年以降続いている、わが国における肝がん死亡増加の地理的、時

間的広がり、その要因に関する調査・研究を行った。

- 1) 献血を契機に発見されたHCVキャリア集団計2,035例を、大阪府のがん登録資料をもとに、平均5.3年にわたって追跡し、27例の肝発がん例を把握した。年間肝発がん率を献血時のS-ALT値別に分類したところ、35KU/ml以下の群では0.06%、36~69KU/mlの群では0.57%、70KU/ml以上の群では1.70%と各群間で大きく異なり、また、27名中25名は男性であった。

届け出医療機関から回答が寄せられた22例についてみると、がん登録を行なった時点における平均年齢は56.0(43.0~64)歳であり、初診時に慢性肝炎(非活動性、活動性)と診断されていた例が計9例含まれていた。このHCVキャリア集団は、次年度以降も同様の手法により追跡し、今後も増加すると推定される肝発がん例の把握を行なうと共に、届出病院の協力のもとに背景因子の詳細をレトロスペクティブ解明する予定である。一方、HCVキャリア集団の健康管理・治療を含めた前向き調査は、広島県下の20の肝臓専門医の勤務する病院の協力のもとに行われており、920例の中からすでに4例の肝発がん例を見出している。これらの調査成績の蓄積をもとに、自覚症状がないまま社会に潜在し続けているHCVキャリアの病態の自然史の詳細を明らかにすることを目ざしている。

- 2) 地域住民を対象としたHCV検診については、岩手県と広島県において、両地区の検診機関、医療機関の特性を考慮に入れたパイロットスタディを開始している。

岩手県では、岩手県予防医学協会を検診実施機関として、県内の20の自治体の住民、7団体の職員、人間ドック受診者のうち、40歳以上の年齢層を対象としたHCV検診を行ない、受診者総数35,876

人を数えるに至っている。

一方、広島県では、複数の民間検査所を検診実施機関として、県内の27の自治体において、40歳以上の年齢層を対象としたHCV検診を行ない、今年度末までに受診者総数22,738人を数えるに至っている。検診により見出したHCVキャリアの健康管理、治療については、岩手県では岩手医科大学第一内科関連の17の指定病院において一括に行なう体制を整えている。一方、広島県では、一次的には各地域の医師会が、二次的には前述の20の医療機関が、相互に連携して診療する体制を整えつつある。なお、見出されたHCVキャリアの医療機関への受診率は、岩手県では40%に止まることが明らかになっている。広島県では次年度以降に把握する予定であるが、献血を契機に見出されたHCVキャリアの医療機関への受診率は30%に止まっており、両地域ともに如何に医療機関への受診率の向上を図るかが今後の課題として残されている。なお、岩手県では各地区単位で定期的に「肝臓教室」を開いて病・医院受診率の向上に努めている。

- 3) 職域集団については、大阪府下の企業内診療所および健康保険組合立の診療所に勤務する産業医を対象に調査を行い、HCV抗体検査受診率が52%にのぼっていることが明らかとなった。しかし、実施診療所の58%はS-A L T値の異常者を対象としていること、検査はHCV抗体の検査のみに止まり、HCVキャリアであるか否かの確定を行っていないことなど多くの問題点が残されていることが明らかとなった。次年度以降も引き続き、検査の実施方法、費用負担の問題なども含めて、調査を進めていく予定である。
- 4) C型慢性肝疾患患者を対象とした治療効果について、外国での治験成績に関する文献調査を含めた予備的な調査を行い、HCVのgenotype、血中ウイルス量から

従来IFN治療の適用外として分類される集団においても、IFNとリバビリンの併用療法により16.7~23.8%に、HCVの排除を見込める成績が得られていることが明らかとなった。今後は副作用、耐性出現の問題についても調査を進めていく予定である。

- 5) 1971年から1995年までの期間を5年ごとに区分し、全国の市町村別にみた肝がんの標準死亡比のマップを完成した。その結果、肝がんの原因の約40%がHBVの持続感染に起因し、残りの約60%が非A非B型であった1970年代における肝がん死亡の分布と、肝がんの約18%がHBVの持続感染に起因し、残りの82%が非A非B型（このうち90~95%はHCVの持続感染に起因し、残りの5~10%は不明の原因による）が占めるに至った1990年代における肝がん死亡の分布の対比を行うことが可能となった。その結果、1970年代に比して、1990年代には肝がん死亡の多発地域が北九州、瀬戸内沿岸、大阪湾岸に、集中の度合いを増していることが明らかとなった。なお、1990年代の中期に行った調査・研究により、これらの3つの地域は他の地域に比して60歳以上の年齢層におけるHCV感染率が高いことが明らかとなっている。また、広島県における地域住民検診の成績の解析から、献血年齢を超えた70歳代、80歳代の年齢層におけるHCVキャリア率は、これ以下の年齢層に比してさらに高い値を占めることが明らかとなっている。

覚醒剤依存・覚醒剤精神病患者（以下覚醒剤依存精神病患者）を対象とした全国調査を行った結果、注射筒共有の経験者が78.1%（142/155）、注射針共有の経験者が80.7%（117/145）にのぼること、覚醒剤依存・精神病患者集団におけるHCV抗体陽性率は53.0%（177/334）と高い値を示すことが明らかとなった。また、HCVの分子系統解析から、HCV

感染の汎流行時期は約50年前を中心におこっていたと推定された。これらの成績を総合すると、我が国におけるHCV感染の広がり、(1)まず、1940年代の後半から1950年代にかけて覚醒剤常用者集団内にHCV感染の高度侵淫状態が起こり、(2)これを感染源として、当時の社会全般に渡る劣悪な衛生状態、医療環境を経路とする二次的なHCV感染の広がりがおこったことを示唆していると考えられた。

次年度以降はモデル地区を選んで市町村別の肝がん死亡とHCV感染の侵淫状況の詳細を対比する調査を進める予定である。

2. 「新たに発見された非A非B型肝炎ウイルス(GBV-C/HGV、TTV)のウイルス学的、臨床病理学的調査・研究」関連

TTウイルス(TTV)の分子ウイルス学的研究を行い、以下のことを明らかにした。

(1)TTウイルスは外殻をもたない、比重 1.35 g/cm^3 (塩化セシウム溶液中)のウイルスであり、その遺伝子は3.9Kbの環状一本鎖(マイナス鎖)DNAである。(2)TTVには数多くのgenotypeが認められ、塩基配列が30%以上異なるウイルス株が少なくとも16種類以上存在する。(3)DNAウイルスでありながら、構造蛋白をコードすると推測されるORF1に超可変領域が認められ、慢性感染例ではquasispeciesの状態になっている。(4)ある特定のgenotypeに属するTTV(N22PCR法により検出されるgenotype)の感染と肝疾患との関連性を示唆するなどの成績が得られつつある。

このことから、次年度の研究は、このgenotypeに属するTTVを特異的に検出する(PCR用の)プライマーと、標準血清を希望する班員に配付し、これを元に、TTV感染と肝疾患の病態との関係についての解析を進めることとした。

3. 「非A非B型肝炎ウイルス(HCV、HEVなど)の治療、予防ワクチン開発を目指した基礎的研究」関連

HEV遺伝子のORF2のN末端を欠失させて、バキュロウイルスを用いて、中空粒子の形態を示す蛋白を発現させた。この蛋白は、HEVの感染粒子と構造的にも、抗原的にも同一の性質を有し、大量に発現させることが可能であることから、特異度の高いHEV抗体検出系の確立・普及の他、モデル動物を用いた実験によりワクチン効果を評価するために適している。マウスの腹腔内にこの蛋白を接種することにより、IgG型HEV抗体の産生がみられ、また経口投与により便中へのIgA型HEV抗体の出現がみられた点が特に注目された。

この他、TTVのORF1を同様の手法により発現させることに成功している。次年度以降、これらの発現蛋白を用いた抗体測定系の確立・普及を目指す予定であり、特にHEVについては、臨床研究班と協力して非A非B型肝炎急性肝炎例を対象とした調査・研究を進める予定である。

D. 結 論

1. 献血を契機に発見されたHCVキャリア集団を追跡し、肝がん例を見いだした。更に観察期間を延長して、症例の蓄積を図るとともに、発見時に遡った肝病態の経年的変化の解析を行うことにより、自覚症状がないまま社会に潜在し続けているHCVキャリアの自然史を解明することを目指す。
2. 検診機関、医療機関などの背景が異なる2つのパイロット地区(県域)において40歳以上の年齢層の地域住民を対象としたHCV検診を開始した。検診により見いだされたHCVキャリアの医療機関受診率は約40%と低率に止まっていることから、今後、受診、受療促進のための検討が必要であることが明らかとなった。また、職域集団を対象としたHCV検診

の実施状況を調査した結果、主としてS-ALT値の異常を示した集団を対象としていること、検査はHCV抗体検査に止まり、HCVキャリアであるか否かの判定までには至っていないことなど改善を図るべき課題があることが明らかとなった。

3. 覚醒剤依存・精神病患者を対象とした全国調査を実施した。その結果、この集団では注射筒、注射針の共有経験が高頻度にみられ、HCV抗体の陽性率が53.0%と高い値を示し、社会におけるHCVの感染源は、この集団を中心に密度の高い状態で依然として残存していることが明らかとなった。
4. HCVの分子系統解析から、我が国のHCV汎流行は約50年前を中心におこっていたと推定された。70歳以上の高年齢層にみられる高いHCVキャリア率、約50年前の我が国では、広汎に及ぶ覚醒剤の乱用がみられたこと、およびこの時期における社会全般、医療現場の衛生環境が劣悪であったこと、などはこの「推定」を支持する傍証となるものと考えられた。
5. 新たに発見された非B非C型肝炎(TTV)の分子ウイルス学的な解明がすすみ、ある特定のgenotypeに属するTTVの感染と肝疾患の病態との関連を示唆する成績が得られた。次年度以降この点に注目した重点的な調査・研究を行うことが必要であると考えられた。
6. バキュロウイルスを用いて、HEVの感染粒子と同様の形態、抗原性を持つ中空の粒子状の蛋白を大量に発現させることに成功した。この蛋白を用いた特異度の高いHEV抗体検出系の開発・普及、ワクチンへの応用の可能性が期待される。
7. 未知の輸血後肝炎に関連する未知のウイルス探索のため、3年間を通して受血者の追跡調査を継続して行う予定である。

E. 研究発表

論文発表

- 1) 佐藤俊一、鈴木一幸、石川和克、滝川康裕、阿部弘一：劇症肝炎におけるGBV-C/HGVの関与。(分担執筆)。第20回犬山シンポジウム「G型肝炎、肝炎ウイルス重感染、B型およびC型肝炎」：p31-36：中外医学社：1998
- 2) 佐藤俊一、石川和克、阿部弘一、松井勝範：肝炎ウイルス重感染による病態の修飾。(分担執筆)。第20回犬山シンポジウム「G型肝炎、肝炎ウイルス重感染、B型およびC型肝炎」：p104-109：中外医学社：1998
- 3) 松井勝範、石川和克：HCV感染多発地域におけるHCV感染の疫学的分子生物学的研究。岩手医誌：50, p35-46：1998
- 4) 鈴木一幸、岡本宏明、小野寺誠、遠藤龍人、阿部弘一、滝川康裕、石川和克、佐藤俊一、猪俣正秋：TTV-DNA陽性および陰性劇症肝炎における発生地域差異。肝臓：39, p410-411：1998
- 5) Hiroaki Okamoto, Tsutomu Nishizawa, Naomi Kato, Masato Ukita, Hiroki Ikeda, Hisao Iizuka, Yuzo Miyakawa, and Makoto Mayumi：Molecular cloning and characterization of a novel DNA virus (TTV) associated with posttransfusion hepatitis of unknown etiology. Hepatology Research：10, p1-16：1998
- 6) Hiroaki Okamoto, Yoshihiro Akahane, Masato Ukita, Masako Fukuda, Fumio Tsuda, Yuzo Miyakawa, and Makoto Mayumi：Fecal Excretion of a Non enveloped DNA Virus (TTV) Associated With Posttransfusion Non-A-G Hepatitis. Journal of Medical Virology：56, p128-132：1998
- 7) Hiroto Tanaka, Hiroaki Okamoto, Pairoj Luengrojankul, Termchai Chainuvati, Fumio Tsuda, Takeshi Tanaka, Yuzo Miyakawa, and Makoto Mayumi：Infection With an Unenveloped DNA Virus (TTV) Associated With Posttransfusion Non-A to G Hepatitis

- in Hepatitis Patients and Healthy Blood Donors in Thailand. *Journal of Medical Virology* : 56, p234-238 : 1998
- 8) Toshifumi Fujiwara, Akiko Iwata, Hisao Iizuka, Takeshi Tanaka, Hiroaki Okamoto : Letter to Editor. *THE LANCET* : 352, p1310 : 1998
- 9) Hiroaki Okamoto, Naomi Kato, Hisao Iizuka, Fumio Tsuda, Yuzo Miyakawa, and Makoto Mayumi : Distinct Genotypes of a Nonenveloped DNA Virus Associated With Posttransfusion Non-A to G Hepatitis (TT Virus) in Plasma and Peripheral Blood Mononuclear Cells. *Journal of Medical Virology* : 57, p252-258 : 1999
- 10) Hiroki Ikeda, Masashi Takasu, Kyoichi Inoue, Hiroaki Okamoto, Yuzo Miyakawa and Makoto Mayumi : Infection with an unenveloped DNA virus (TTV) in patients with acute or chronic liver disease of unknown etiology and in those positive for hepatitis C virus RNA. *Journal of Hepatology* : 30, p205-212 : 1999
- 11) Fumio Tsuda, Hiroaki Okamoto, Masato Ukita, Takeshi Tanaka, Yoshihiro Akahane, Keiko Konishi, Hiroshi Yoshizawa, Yuzo Miyakawa, and Makoto Mayumi : Determination of antibodies to TT virus (TTV) and application to blood donors and patients with post-transfusion non-A to G hepatitis in Japan. . *Journal of Virological Methods* : 77, p199-206 : 1999
- 12) Hideo Tanaka, Hideaki Tsukuma, Hajime Yamano, Yasuto Okubo, Atsuo Inoue, Akinori Kasahara, and Norio Hayashi : Hepatitis C virus 1b(II) infection and development of chronic Hepatitis, Liver Cirrhosis and Hepatocellular Carcinoma: a case control study study in Japan. *Journal of Epidemiology* : 8, p244-249 : 1998
- 13) Hideo Tanaka, Hideaki Tsukuma, Yuji Hori, Toru Nakade, Hajime Yamano, Noriko Kinoshita, Akira Oshima, and Hirotoishi Shibata : The risk of Hepatitis C virus infection among Blood Donors in Osaka, Japan. *Journal of Epidemiology* : 8, p292-296 : 1998
- 14) Aizaki H, Aoki Y, Harada T, Ishii K, Suzuki T, Nagamori S, Toda G, Matsuura Y. and Miyamura T. Full length cDNA of hepatitis C virus genome from an infectious blood sample. . *Hepatology* : 27, p621-627 : 1998.
- 15) Yamada K, Mori A, Seki M, Kimura J, Yuasa S, Matsuura Y, and Miyamura T. : Critical point mutations for hepatitis C virus NS3 protease. . *Virology* : 246, p104-112 : 1998.
- 16) Yap C.C, Ishii K, Aoki Y, Aizaki H, Tani H, Ueno Y, Ueda Y, Matsuura Y and Miyamura T. : Expression of target genes by coinfection with replication-deficient viral vectors. . *J.Gen.Virol.* : 79, p1879-1888 : 1998.
- 17) Hiasa Y, Horiike N, Akbar S.M.F, Saito I, Miyamura T, Matsuura Y, and Onji M. : Low stimulatory capacity of lymphoid dendritic cells expressing hepatitis C virus genes. . *Biochem.Biophys.Res.Comm.* : 249, p90-95 : 1998
- 18) Moriya K, Fujie H, Yotsuyanagi H, Shintani Y, Tsutsumi T, Ishibashi K, Matsuura Y, Kimura S, Miyamura T, and Koike K. : The core protein of hepatitis C virus induces hepatocellular carcinoma in transgenic mice. . *Nature Med.* : 4, p1065-1067 : 1998
- 19) shii K, Rosa M, Watanabe Y, Katayama T, Harada H, Wyatt C, Kiyosawa K, Aizaki H, Matsuura Y, Houghton M,

- Abrignani S, and Miyamura T. : High titers of envelope neutralizing antibodies correlate with natural resolution of chronic hepatitis C. . *Hepatology* : 28, p1117-1120 : 1998
- 20) Aoki Y, Aizaki H, Shimoike T, Tani H, Ishii K, Saito I, Matsuura Y, and Miyamura T. : A human liver cell line exhibits efficient translation of HCV RNAs produced by a recombinant adenovirus expressing T7 RNA polymerase. *Virology* : 250, p140-150 : 1998
- 21) Shoji I, Suzuki T, Sato M, Aizaki H, Chiba T, Matsuura Y, and Miyamura T. : Internal processing of hepatitis C virus NS3 protein. . *Virology* : 254, p315-323 : 1999
- 22) Ishii K, Tanaka Y, Yap C.C, Aizaki H, Matsuura Y, and Miyamura T. : Expression of hepatitis C virus NS5B protein: characterization of its RNA polymerase activity and RNA binding. . *Hepatology* : 29, p1227-1235 : 1999
- 23) 守屋尚、吉澤浩司 : GBV-C/HGV感染の血清疫学的検討. *肝臓* : 39, p127-129 : 1998
- 24) Hiroshi Yoshizawa, and Junnosuke Watanabe : Impacts of Blood Screening on the Incidence of posttransfusion Hepatitis C in Japan. *Curr Stud Hematol Blood Transf* : 62, p237-249 : 1998
- 25) Hino K, Moriya T, Ohno N, Takahashi K, Hoshino H, Ishiyama N, Katayama K, Yoshizawa H, and Mishiro S : Mother-to-infant transmission occurs more frequently with GB virus C than hepatitis C virus. *Archives of Virology* : 143, p65-72 : 1998
- 26) 吉澤浩司 : 最近の輸血後肝炎. *日本医師会雑誌* : 119, p336 : 1998
- 27) 田中純子 : 肝炎ウイルス持続感染と慢性肝疾患死亡との関連. *厚生の指標* : 45, p8-12 : 1998
- 28) 田中純子、守屋尚、片山恵子、吉澤浩司 : ウイルスキャリアの発見と対策. *化学療法領域* : 15, p27-35 : 1999
- 29) 吉澤浩司、舩田一成、片山恵子、佐々木富美子、田中純子、水井正明 : 献血を契機に発見されたHCVキャリアの自然史. *広島医学* : 51, p1451-1453 : 1998
- 30) 吉澤浩司、田中純子、守屋尚、佐々木富美子、片山恵子、山根博文、松岡俊彦、野田雅博、徳本静代 : 献血を契機に発見されたHCVキャリアの自然史. *広島医学* : 51, p1446-1450 : 1998
- 31) 吉澤浩司 : B型肝炎ウイルス母子感染の予防. *肝胆膵* : 37, p829-836 : 1998
- 32) Y.Kondo, M.Mizokami, T.Nakano, T.Kato, et al : Analysis of conserved ambisense sequences within GB virus C. *the Journal of Infectious Disease* : 178, p1185-1188 : 1998
- 33) Hino, K., Moriya, T., Ohno, N., Takahashi, K., Hoshino, H., Ishiyama, N., Katayama, K., Yoshizawa, H. and Mishiro, S. : Mother-to-infant transmission occurs more frequently with GB virus C than hepatitis C virus. *Archives of Virology* 143, 65-72, 1998
- 34) 東納重隆、日野邦彦 : C型肝炎ウイルス無症候性キャリアの臨床的、病理学的検討. *肝臓* 39巻7号, 27-32, 1998
- 35) 安田清美、日野邦彦、清澤研道、赤羽賢浩、袖山 健、下田和美、飯野四郎 : HBV DNA 定量試薬の臨床的検討—DNAプローブ「中外」—HBVの臨床評価—. *医学と薬学* 40巻2号, 377-385, 1998
- 36) 高梨美穂、星野博美、大内由美、梁 茂寛、下田和美、安田清美、田中純子、吉澤浩司、日野邦彦、飯野四郎 : ECL-IA法によるHBcAb測定の基礎的・臨床的研究. *医学と薬学* 40巻3号, 483-494, 1998
- 37) Iino, S., Sato, S., Kumada, H., Toda, G., Ishii, H., Miyake, K., Hino, K.,

Ichida, T., Akahane, Y., Kiyosawa, K., Kobayashi, K., Hayashi, N., Kuroki, T., Tsuji, T., Sata, M., Sakai, T. and Yano, M. : Involvement of GBV-C/HGV in liver diseases in Japan. Hepatology Research 13, 153-159, 1999

F. 知的所有権の取得状況

なし

献血を契機に発見されたHCVキャリアのgenotype別にみたウイルス量

分担研究者 吉澤浩司 広島大学医学部衛生学教授
研究協力者 守屋尚¹⁾、片山恵子¹⁾、田中純子¹⁾、水井正明²⁾、
田中英夫³⁾、山野孟⁴⁾、日野邦彦⁵⁾
1) 広島大学医学部衛生学
2) 広島県赤十字血液センター
3) 大阪府成人病センター調査部
4) 大阪府血液センター
5) HRI

研究要旨

献血を契機に発見されたHCVキャリア1086例のHCV Genotypeと血中HCV量の分布についての検討を行った。HCVのgenotypeは1a/Iが3例、1b/IIが739例、2a/IIIが224例、2b/IVが95例、複数のgenotypeの重複感染を認めるものが25例であった。Genotype別に血中HCV量をみると、genotype2a/IIIはウイルス量が少ない症例が多く、genotype2b/IVがウイルス量が多い症例が多く、genotype1b/IIはその中間に位置していた。今回得られた成績と、genotype別、血中ウイルス量別のインターフェロン治療効果とを組み合わせることにより、健常者集団に潜在するHCVキャリアのうちインターフェロン治療的適応となる症例数を予測することが可能となるものと期待される。

A. 研究方法

広島県赤十字血液センターと大阪府赤十字血液センターおよび八王子血液センター（現東京西血液センター）において、献血を契機に発見されたHCVキャリア1086例を対象とした。

献血時あるいは受け入れ病院初診の保存検体を用いて、HCVのgenotype決定とHCVコア蛋白量の測定を行った。

B. 研究結果

HCV genotypeは1a/Iが3例、1b/IIが739例、2a/IIIが224例、2b/IVが95例、複数のGenotypeの重複感染を認めるものが25例で

あった。

Genotype 1a/I と複数のgenotypeの重複感染例とを除いた1058例のgenotype別にみたコア蛋白の分布を図に示す。Genotype別にコア蛋白量をみると、genotype 1b/IIでは、測定限界以下の症例が739例中108例（14.6%）、40 pg/ml未満の症例が241例（32.6%）、100 pg/ml未満の症例が356例（48.2%）となっており、100 pg/ml以上の症例が386例（52.2%）であった。Genotype 2a/IIIでは、測定限界以下の症例が224例中56例（25.0%）、40 pg/ml未満の症例が107例（47.8%）、100 pg/ml未満の症例が149例（66.5%）と

なっており、100 pg/ml以上の症例は75例 (33.5%)であった。Genotype 2b/IVでは、測定限界以下の症例が95例中11例 (11.6%)、40 pg/ml未満の症例が21例 (22.1%)、100 pg/ml未満の症例が38例 (40.0%)となっており、100 pg/ml以上の症例は57例 (60.0%)であった。

D. 考察

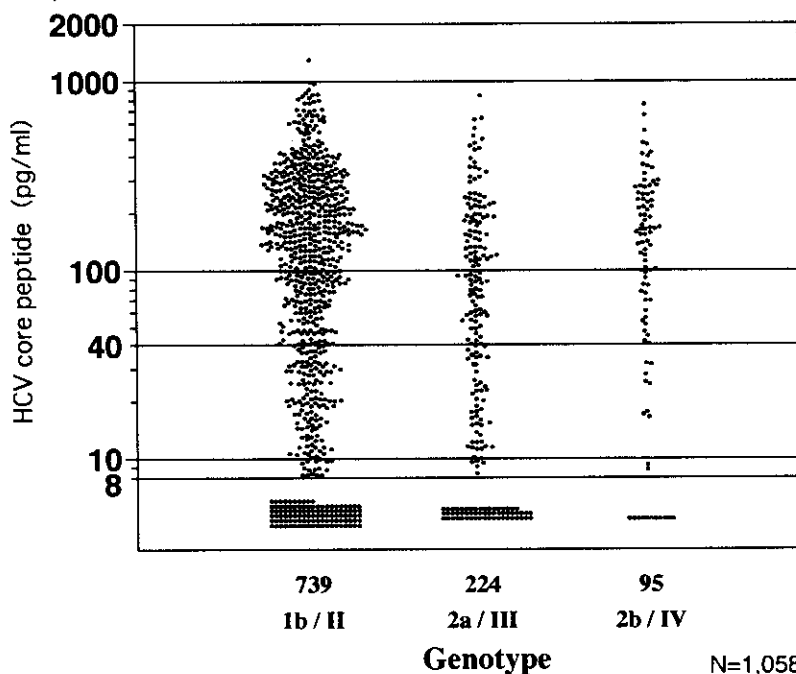
C型慢性肝炎に対するインターフェロン治療成績の解析から、HCVのgenotypeと血中HCV量の測定結果をもとにインターフェロンの治療効果を高い精度で予測することが可能となっている。

今回、血中HCVの定量法としてHCVコア蛋白測定を用いたが、これはこの測定系が branched DNA probe法あるいは Amplicor monitor法に比べ、保存血清においても正確

な測定結果が得られること、HCVのgenotypeによる影響を受けないという特長を有していることによる

献血を契機として発見されるHCVキャリアは、自覚症状がないまま一般健常者集団に潜在し続けているHCVキャリアの病像を捉えるための最適のモデルである。また、現在、一般住民検診にHCV検診を導入することによるHCVキャリアの早期拾い上げシステムの構築が検討されている。

今回得られた成績と、HCVのgenotypeおよびHCV コア蛋白量別のインターフェロン治療効果の成績とをすり合わせることにより、献血時、あるいはHCV検診により見出されるキャリア集団の中に存在する、インターフェロン治療対象者の数の把握が可能となるものと期待される。



Quantitative analysis of HCV core peptide in the sera from HCV carriers found at the occasion of blood donation

1998 Hiroshima Blood Center, Osaka Blood Center, West Tokyo Blood Center

小児におけるTTvirus感染の実態調査成績に関する研究

分担研究者 吉澤浩司 広島大学医学部衛生学

研究協力者 守屋尚¹⁾、片山恵子¹⁾、田中純子¹⁾、毛利久夫²⁾、
小谷信行³⁾

1) 広島大学医学部衛生学

2) 毛利小児科

3) 松山赤十字病院小児科

研究要旨

小児におけるTTvirusの感染実態を明らかにすることを目的として調査を行った。一般小児外来受診児を対象としてTTvirus DNAの検出を行った。対象児、231例中213例（92.2%）にTTvirus DNAが検出され、また生後1カ月の時点からTTvirus DNAが検出される児が存在した。年齢別に陽性率をみると生後6カ月未満の児では62%であるのに対して、生後6カ月以降の児では95%が陽性であった（ $P<0.01$ ）。

TTvirusは小児においても広く感染しているウイルスであることが明らかとなった。

A. 研究目的

輸血後非A～非G型肝炎患者の血液から分離同定されたTTvirusの一般小児集団における感染状況を明らかとするために調査を行った。

B. 研究方法

一般小児外来を受診し血清の保存が可能であった231例を対象とした。年齢は生後1カ月から14才（中央値3歳）、男児124例 女児107例である。なお、肝機能異常を主訴とした症例の選択が行っていない。TTvirus DNAの検出はTakahashiらの方法に従いnested PCR法で行った。

C. 研究結果

対象231例のうち213例（92%）にTTV DNAが検出された。男女に差は認められなかった（表-1）。

生後6カ月未満と生後6カ月以上とでTTvirus DNAの検出率を比較すると生後6カ月未満では21例中13例（62%）に、生後6ヶ月以上では210例200例（95.2%）に検出され、年齢階級による検出率の差が認められた（ $P<0.01$ ）（表-2）。

生後6カ月以下の症例について月齢別に比較すると、月齢が高くなるにしたがって、TTvirus DNAの検出率も高くなっていった。また、生後1カ月の時点から血中TTvirus DNAが検出される症例が存在していた。

D. 考察と結論
 輸血後肝炎例から発見・同定されたTT virusであるが、一般小児においてもこのウィルスの感染が高率に認められた。

TTvirusには多くのgenotypeが存在することが明らかになっており、今回用いたPCR用

のprimerは全てのgenotypeが検出するように設計されたものである。

最近、特定のGenotypeのみが肝病態の修飾に関与してる可能性を示唆する成績もあり、今後は、genotypeを特定したTTvirus感染の実態把握等の検討が必要であると考えられる。

表-1 小児におけるTTV DNAの検出結果

対象数		TTV DNA陽性例	
男児	124	116	(93.5%)
女児	107	97	(90.7%)
合計	231	213	(92.2%)

表-2 小児におけるTTV DNAの検出

	対象数	TTV DNA陽性例	
生後6ヶ月未満	21	13	(61.9%)
生後6ヶ月以上	210	200	(95.2%)

} P<0.001

表-3 6カ月以下の児におけるTTV DNAの検出結果

月齢	No. Tested	TTV DNA positives	(%)
1	2	1	(50)
2	4	2	(50)
3	6	4	(67)
4	4	3	(75)
5	5	4	(80)
6	6	6	(100)

分担研究報告書

広島県域におけるHCV検診の試行
- 高年齢層におけるHCVキャリア率 -

分担研究者 吉澤浩司
研究協力者 田中純子¹⁾、守屋尚¹⁾、片山恵子¹⁾、水井正明²⁾、
山根博文³⁾、松岡俊彦³⁾

- 1) 広島大学医学部衛生学、
- 2) 広島赤十字血液センター、
- 3) 広島県環境保健部結核感染症課

研究要旨：広島県では、広島県地域保健対策協議会（以下、県地对協と記す）事業の一環として、行政、県医師会、大学の3者の協力により平成4年度（1992年）から、地域住民健診にHCV検査を取り入れ、検査の手順、結果の判定方法、通知方法および発見後の健康管理のあり方などについての検討を行なっている。今回平成4年度（1992）から平成9年度（1997）までの成績を中間的にまとめた。その結果、献血年齢を超える70歳代、80歳代のHCV抗体陽性率は、それ以下の若年層に比してより高い値を示すこと、いずれの年齢層においても、HCV抗体陽性者の70～80%がHCVキャリアと判定されることが明らかとなった。また、提示したHCV抗体のスクリーニングからHCVキャリアの同定に至る検査システムは本事業に参加した複数の民間検診施設において業務上円滑に利用することが可能であった。

広島県域におけるHCV検診
- 高年齢層におけるHCVキャリア率 -

A. 研究目的

肝炎・肝がんの対策を目的としたC型肝炎ウイルスキャリア(HCVキャリア)発見のためのHCV検査を住民検診に取り入れるために、広島県では、県地对協に参加する行政、医師会、大学の3者の協力により平成4年度（1992年）から、検査の手順、結果の判定方法、通知方法および発見後の健康管理のあり方などについての検討を行なっている。今回、平成4年度（1992）から平成9年度（1997）までの成績を中間的にまとめ、残された問題点についての検討を行った。

B. 研究方法

(1)対象

平成4年度（1992年）から平成10年度

（1998年）にHCV検診を実施したことが確認されている県内26市町村における受診者延べ22,738人のうち、17市町村において受診した40歳以上の住民、10,754人を解析の対象とした。

(2)方法

各市町村の住民検診における各種のスクリーニング検査で、HCV抗体「陽性」と判定された例について、半定量が可能な第2世代のHCV抗体測定系（HCV PHA法：ダイナポット社製）によりHCV抗体力価を測定し、 2^{13} 以上を「高力価陽性」とし、「高力価陽性」者をHCVキャリアと判定した。

受診率を算出する際の市町村別人口は、1995年の人口動態統計資料¹⁾の中から、この時点における40歳以上の人口を用いた。

表-1 市町村別にみた HCV 検査実施数

広島県

町村名	4	5	6	7	8	9	10 (年度)	
SG	380	246	192	193	181	182	183	
FN	322	136	131	118	102	97	.	
OA	.	154	1,069	634	123	80	37	
DW	.	85	111	77	84	89	97	
KS	.	220	222	930	292	255	.	
TS	.	241	324	676	205	177	171	
FT	.	.	106	92	94	98	78	
Y	.	.	225	291	195	70	33	
OS	104	378	164	75	.	.	.	
YU	.	.	.	136	199	232	.	
TH	.	.	.	283	113	59	122	
TM	.	.	.	624	76	163	32	
HN	548	128	101	
KE	235	108	85	
KC	321	294	180	
TJ	169	2,273	
TH	419	183	
NK	546	511	.	
MS	621	
KT	470	
OG	.	641	
OM	.	162	
GH	913	
HG	456	
JG	210	
SR	306	
total	2,066	2,263	2,544	4,129	3,314	2,962	5,460	22,738

表-2 市町村別にみた HCV 検査実施率

'97年時点 40歳以上

'92~'97年 受診者数 10,110

(のべ受診者数 16,835)

町名	対象地区人口 (40歳以上) 国勢調査人口('95)	住民検診 実施数(%)	町名	対象地区人口 (40歳以上) 国勢調査人口('95)	住民検診 実施数(%)
OA	2,340	1,284 (54.9)	OG	6,248	609 (9.7)
OS	3,078	626 (20.3)	OM	52,598	159 (0.3)
KE	2,413	308 (12.8)	TG	7,438	163 (2.2)
TS	3,056	942 (30.8)	TH	2,101	320 (15.2)
TM	1,350	631 (46.7)	HN	2,153	655 (30.4)
Y	2,712	748 (27.6)	YW	631	150 (23.8)
KS	3,600	1,366 (37.9)	KT	1,353	452 (33.4)
SG	1,511	576 (38.1)	FN	1,310	510 (38.9)
MS	21,837	611 (2.8)			
			計	115,729	10,110 (8.7)

C. 研究結果

(1) 市町村別にみたHCV検査実施数

平成4年度（1992年）から平成10年度（1998年）にHCV検診を実施したことが確認されている市町村別受診者数を表-1に示す。

平成4年度（1992年）では6市町村において、平成10年度（1998年）には17市町村（4市町村は新規開始）において実施した。今後も実施市町村を増やしていく予定である。

なお、受診者のデータベースの作成を急ぎ、重複を補正し、市町村単位での人口あたりの受診率、HCVキャリア率を正確に算出していく予定である。

以下、現時点において解析を終えている17市町村における受診者を対象とした結果を示す。

(2) 受診率

17市町村別のHCV検査受診率を表-2に示す。

対象地区全体における40歳以上の該当人口115,729人中10,110人が受診しており、受診率は全体で8.7%であった。

市を除き、町村のみに限ると、15町村の該

当人口41,294人中9,340人が受診しており、受診率は22.6%となる。特に、1993年から毎年実施しているOA町では、すでに40歳以上の住民の54%以上が受診している。

(3) 住民健診結果からみたHCV抗体陽性率

出生年から換算した1995年時点の年齢別にみたHCV抗体陽性率を表-3、図-1に示す。

受診者10,754人中、1995年時点での年齢が60歳台（出生年：1926～1935年）であるものが3,713人（34.5%）と最も多く、次いで70歳台（出生年：1916～1925年）、50歳台（出生年：1936～1945年）であり、60歳以上（6,458人：60.1%）が総受診者の6割を占めている。

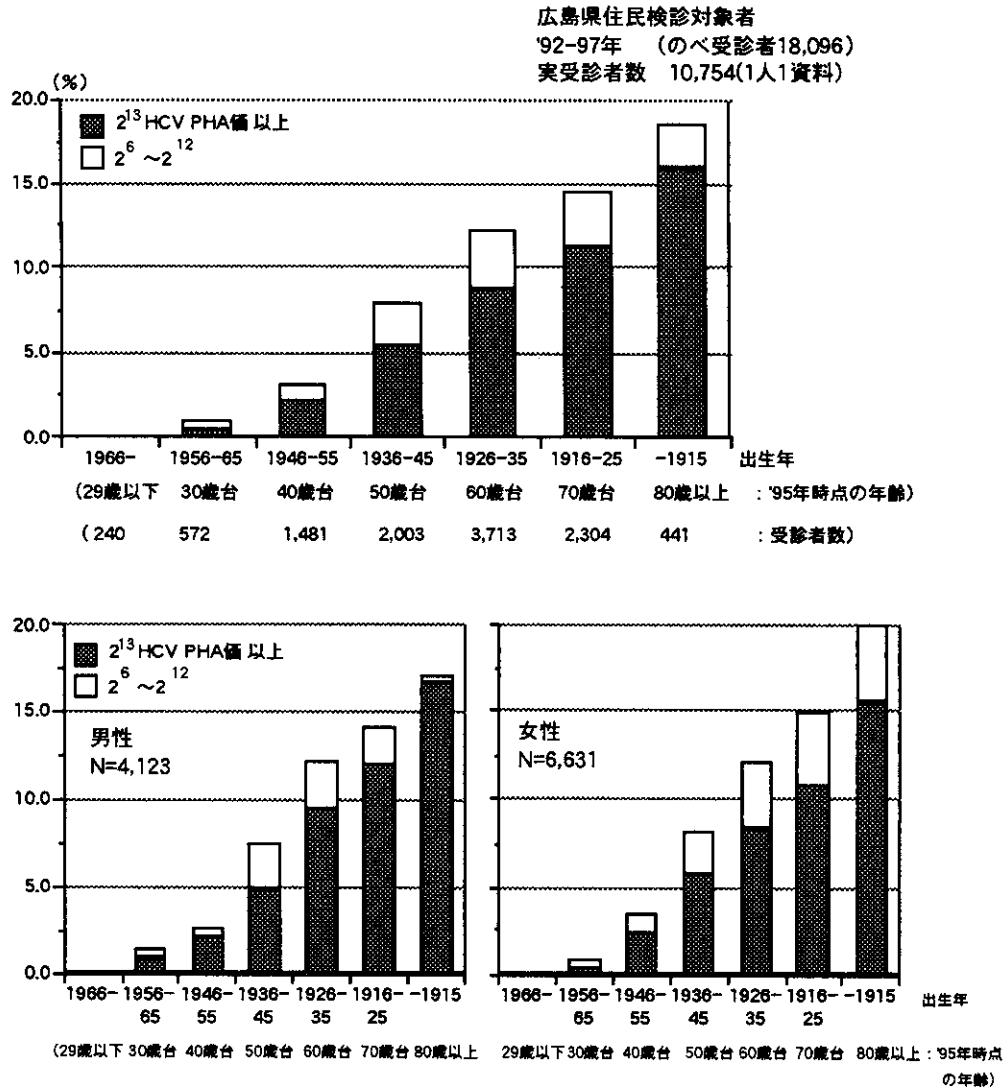
全体のHCV抗体陽性率は10.1%（95%信頼区間：9.5～10.7%）と高い値を示すが、これは献血者のHCV抗体陽性率をもとに、HCVの高度疫区から順にHCV検診を開始したことによる。なお、HCV抗体陽性者の約4分の3はHCV抗体力価 2^{13} PHA価以上の高力価を示す（高力価占有率：74.2%）HCVキャリアであった。

表-3 出生年別にみたHCV抗体陽性率および高力価占有率

'92～'97年 全受診者数 10,754
(のべ受診者数 18,096)

出生年 年齢 (1995年時点)	HCV抗体陽性者数 (%)(95%信頼区間)			HCV PHA 価 2 ¹³ 以上数 (高力価占有率%)		
	対象者	HCV抗体陽性者数 (%)(95%信頼区間)	HCV PHA 価 2 ¹³ 以上数 (高力価占有率%)	対象者	HCV抗体陽性者数 (%)(95%信頼区間)	HCV PHA 価 2 ¹³ 以上数 (高力価占有率%)
全 体						
1966- 29歳以下	240	0(0.)	—			
1956-65 30歳台	572	6(1.0) (0.2~1.9)	3(50.0)			
1946-55 40歳台	1,481	47(3.2) (2.3~4.1)	34(72.3)			
1936-45 50歳台	2,003	159(7.9) (6.8~9.1)	110(69.2)			
1926-35 60歳台	3,713	455(12.3)(11.2~13.3)	327(71.9)			
1916-25 70歳台	2,304	337(14.6)(13.2~16.1)	261(77.4)			
-1915 80歳以上	441	82(18.6)(15.0~22.2)	71(86.6)			
total	10,754	1,086(10.1) (9.5~10.7)	806(74.2)			
男 性						
1966- 29歳以下	126	0(0.0) (0.0~0.0)	—	114	0(0.0) (0.0~0.0)	—
1956-65 30歳台	213	3(1.4) (0.0~3.0)	2(66.7)	359	3(0.8) (0.0~1.8)	1(33.3)
1946-55 40歳台	560	15(2.7) (1.3~4.0)	12(80.0)	921	32(3.5) (2.3~4.7)	22(68.8)
1936-45 50歳台	617	46(7.5) (5.4~9.5)	30(65.2)	1,386	113(8.2) (6.7~9.6)	80(70.8)
1926-35 60歳台	1,403	173(12.3)(10.6~14.1)	134(77.5)	2,310	282(12.2)(10.9~13.5)	193(68.4)
1916-25 70歳台	988	140(14.2)(12.0~16.3)	119(85.0)	1,316	197(15.0)(13.0~16.9)	142(72.1)
-1915 80歳以上	216	37(17.1)(12.1~22.2)	36(97.3)	225	45(20.0)(14.8~25.2)	35(77.8)
total	4,123	414(10.0) (9.1~11.0)	333(80.4)	6,631	672(10.1) (9.4~10.9)	473(70.4)
女 性						

図-1 受診者における出生年別にみた HCV 抗体陽性率



出生年別にHCV抗体陽性率をみると(以下、1995年の時点における年齢を示す)、39歳以下の年齢層では1.0%以下と低い値を示しているが、40歳以上の年齢層では、年齢階級が高い群ではHCV抗体陽性率は高い値を示し、これまで、献血者から得られる資料からは知ることができなかった70歳以上の年齢層におけるHCV抗体陽性率は、約15%と高い値を示している。また、HCV抗体陽性者中に占めるHCV抗体高力価占有率も、40歳以上の年齢層では7割を超える高い値を示している。

受診者全体を男女別に分けてHCV抗体陽性率をみると、男性10.0%(95%信頼区間:9.1~11.0%)女性10.1%(同:9.4~10.9%)と差は認めらず、これを年齢階級別に分けると、男女とも年齢階級が高い群ではHCV抗体陽性率は高い値を示している。

一方、抗体陽性者中に占めるHCV抗体高力価占有率は、男性が女性より高い値を示しており、特に60歳以上の年齢層では男性のHCV抗体陽性者の約8割以上が抗体力価 2^{13} 以上を示し、抗体陽性者中に占めるHCVキャリアが多いことを示している。

(4) HCV検査結果の判定と通知の方法

住民健診にHCV検査を取り入れる目的は、地域住民の中に潜在する「症状を伴わない」HCVキャリアを見出し、組織的な健康管理、治療の体系を作り上げることにある。

近年、PCR法によるHCV RNA検出の標準化と普及が進んだことにより、スクリーニング検査によりHCV抗体陽性と判定された群について、HCVキャリアであるか否かの判定を、簡便かつ確実にを行うことが、技術面からもコスト

の面からも可能となってきた。さらに、HCVに関する疫学調査から、一般健常者集団におけるHCVの新規感染は極めて稀である（10万人年あたり1.77人：95%信頼区間0.37～5.19人）という結果を得たことから、HCVキャリアを見出すための正しいHCV検査を行えば、毎年繰り返し検査を行う必要がないこともわかってきている。

これらのことを念頭において、これまでの試行錯誤の結果得られている、HCV検査の基礎的成績をもとに、地域住民を対象とした場合の簡便かつ確実なHCV検査のすすめ方と判定法、及び結果の表示方法をフローチャートにして図-2に示す。

第一次スクリーニング検査は、「偽陰性反応」（HCVキャリアの血清を陰性と判定してしまうこと）がない測定系であれば、いずれのHCV抗体検出系でもよく、必ずしも凝集法である必要はない。

第一次スクリーニング検査でHCV抗体「陽性」と判定された場合は、抗体価の半定量的測定が可能な凝集法による抗体力価の決定を行い、 2^6 HCV PHA価（HCV PA法では 2^5 価）あるいは、 2^{13} HCV PHA価（HCV PA法では 2^{12} 価）で凝集反応が有るかどうかの判定を行う。

2^{13} HCV PHA価（HCV PA法では 2^{12} 価）で強い凝集がみられた場合（図-2①）と、 2^{13} HCV PHA価（HCV PA法では 2^{12} 価）では凝集はみられない（強い凝集がみられないものも含

む）が、PCR法によりHCV RNAが検出された場合（図-2②）は、いずれもHCVキャリアと判定できることから、受診者に対して「現在C型肝炎ウイルスに感染しています」との通知を行うこととした。これらの判定法は、陽性者を抗体高力価群（ 2^{13} PHA価以上、 2^{12} PA価以上）と中～低力価群（ $2^{6\sim 12}$ PHA価、 $2^{5\sim 11}$ PA価）の2群にふり分けた場合、抗体高力価群（ 2^{13} PHA価以上、 2^{12} PA価以上）ではほぼ100%がキャリアであること、中～低力価群（ $2^{6\sim 12}$ PHA価、 $2^{5\sim 11}$ PA価）は、そのごく一部分（数%）がHCVキャリアであり、残りの大多数はHCVキャリアではない（その大多数が感染既往例と考えられる）との日赤の調査研究班²⁾による基礎的成績を根拠としたものである。

一方、第一次スクリーニング検査で抗体が陰性の場合（図-2⑤）、およびHCV抗体価が 2^6 HCV PHA価（HCV PA法では 2^5 価）未満の値を示す（図-2④）場合は、PCR法によりHCV RNAが検出される例がみられなかったとの日赤研究班での調査により得た基礎的な成績を根拠として、受診者に対して「現在C型肝炎ウイルスに感染していません」との通知を行う。また、 2^6 HCV PHA価～ 2^{13} HCV PHA価（HCV PA法では $2^5\sim 2^{12}$ 価）の間の抗体価を示し、かつHCV RNAの定性検査で陰性の場合（図-2③）にも同様に受診者に対して「現在C型肝炎ウイルスに感染していません」との通知を行う。

図-2 C型肝炎ウイルス検査の指針

