

D. 考察

対照とした血液透析患者は基幹病院透析室2施設、無床外来透析施設2施設の慢性血液透析患者である。HCV抗体 (Lumipulse) 陽性率13.7%と、本邦の慢性透析患者陽性率とほぼ同等と考えられた。

我々のプロトコルの4分類では、HCV抗体<1かつHCV抗原<20の非感染と考えられる群は700例(86.3%)、HCV抗体>1かつHCV抗原<20の既感染でウイルスが排除されたと考えられる群26例(3.2%)、HCV抗体<1かつHCV抗原>20の新規の感染が疑える群0例(0%)、HCV抗体>1かつHCV抗原>20の持続感染と考えられる群85例(10.5%)だった。

この結果を吉澤らの健腎者HCV感染のスクリーニング法に当てはめると図のように感染者を全例拾い上げ可能だった。さらに従来法では、持続感染の有無の判断と、感染性のチェックのためには、HCV抗体陽性者111例全員についてHCV-RNA検査を必要としたが、本法ではHCV-RNA検査が必要とされるのは40例と63.9%もHCV-RNA検査必要症例数を減少する事ができる。

HCV抗体 (Lumipulse) とHCV抗原 (IRMA) との関係は、全例では弱い

相関が認められたが、HCV抗体>0.5に限るとその関係が消失したことから、その臨床的な意義付けはないものとする。

またHCV-RNA定量 (RT-PCR) とHCV抗原 (IRMA) の関係は $R^2 = 0.7469$ と良好な相関が認められた。報告までの所用時間、経済効果などを考えると、HCV抗原 (IRMA) の可能性が期待される。今後、HCV抗原 (IRMA) がどこまでHCV-RNA定量 (RT-PCR) の情報を共有するものか、詳細な検討を要する。

以上の結果から、

吉澤らの開発した、C型ウイルス肝炎スクリーニング検査法は、慢性血液透析患者のC型肝炎感染サーベイに充分使用できると結論される。今後、症例数と観察期間を増加して、新規感染時の各検査項目の推移、肝機能障害マーカーとの関係などを明らかにする予定である。

E. 研究発表

- 1) 平成15年5月22-34日 第46回日本腎臓学会総会 一般口演予定 血液透析施設におけるHCV感染のサーベイランスに関する研究、秋葉隆 他
- 2) 平成14年12月5日 福岡県透析医会

学術講演会 透析室の感染対策 秋葉 隆
3) 平成13年5月27-29日 第44回
日本腎臓学会学術総会 P-188 欧州・米
国・日本の血液透析患者におけるC型ウイルス
肝炎感染の現況と解析-DOPPS研究より

秋葉隆、丸茂文昭、山崎親雄、関野宏、大平整
爾、岸本武利、藤見惺、大澤源吾、Held P
hilip 第44回日本腎臓学会学術総会
プログラム 75頁、2001

厚生科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野））
C型肝炎の自然経過および介入による影響等の評価を含む疫学的研究
分担研究報告書

血液透析施設におけるC型肝炎ウイルス感染に関する
血清疫学的調査

分担研究者 頼岡徳在¹⁾³⁾、田中純子²⁾³⁾

研究協力者 小宮 裕²⁾³⁾、熊谷純子²⁾³⁾、片山恵子²⁾³⁾、吉澤浩司²⁾³⁾、
辰川自光³⁾、梶川憲治³⁾、川合 淳³⁾、大上和行³⁾、高杉敬久³⁾、
土谷晋一郎³⁾、浜口直樹³⁾、原田 知³⁾、山下達博³⁾

1) 広島大学大学院 分子内科学

2) 広島大学大学院 疫学・疾病制御学

3) 広島透析患者肝炎 Study Group

研究要旨

背景：血液透析患者集団におけるC型肝炎ウイルス（HCV）新規感染の報告が相次ぐ中、血液透析施設におけるHCV感染の実態を把握し、これをもとにした感染予防対策の指針を構築することが急務である。

研究目的：感染予防対策の指針を構築するための基礎データとして、血液透析患者集団に対して、ウイルス・血清学的調査を実施し、HCV感染の実態を把握することを目的とする。

対象と方法：広島県内の9透析施設において血液透析中の全ての患者、総計2,524例を対象とし、1999年11月から2002年5月にかけて、3か月に1回の頻度で採血（合計11回調査）し、HCV抗体、HCV RNAの検出測定を行いつつ前方視的に追跡した。

結果：1999年11月（第1回目の調査時）と2002年5月（第11回目の調査時）におけるHCV抗体陽性率はそれぞれ20.9%、16.8%であった。また、HCVキャリア率は、それぞれ15.7%、13.4%であった。一方調査期間内におけるHCVキャリアの新規発生数は13例であり、100人年あたり0.372人であった。

A. 研究目的

血液透析施設における

1. HCV抗体陽性率、およびキャリア率（prevalence rate）、
 2. HCVキャリアの新規発生率（incidence rate）、
- を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

1) 対象と方法

広島県内の9透析施設において血液透析中の全ての患者、総計2,524例を対象とした。調査は1999年11月から2002年5月にかけて実施し、3か月に1回の頻度で採血（合計11回調査）し、HCV抗体、

表-1 HCV抗体陽性率、および
キャリア率調査の対象数

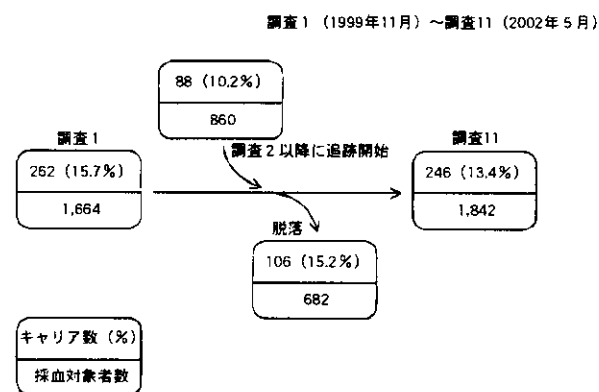
調査	調査時期	対象者数	男/女	年齢(歳)
1	1999年11月	1,664	988/676	60.3±12.9
2	2000年2月	1,677	992/685	60.4±12.9
3	5月	1,712	1,018/694	60.5±13.0
4	8月	1,736	1,027/709	60.7±13.0
5	11月	1,775	1,043/732	61.0±12.9
6	2001年2月	1,808	1,070/738	61.3±13.0
7	5月	1,820	1,079/741	61.4±12.9
8	8月	1,758	1,045/713	61.4±12.8
9	11月	1,774	1,051/723	61.7±12.8
10	2002年2月	1,805	1,059/746	61.9±12.9
11	5月	1,842	1,082/760	62.1±12.8
全調査期間を通じた 対象者数		2,524	1,490/1,034	

HCV RNA を測定しつつ、前方視的に追跡した。

2) 測定項目

HCV 抗体価の測定は、PHA 法（アボットジャパン社製）を用い、2⁵ PHA 価以上を陽性と判定した。HCV RNA は nested RT-PCR 法により検出した。

図-1 HCVキャリア数の動態



C. 結果および考察

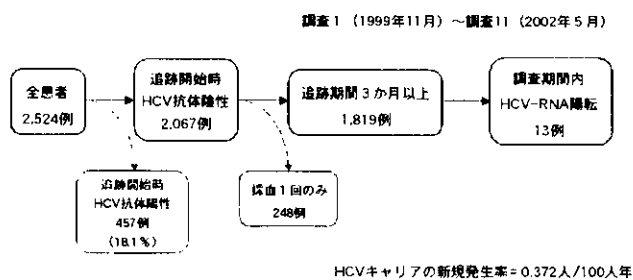
1) HCV 抗体陽性率、およびキャリア率 (prevalence rate)

調査期間内における 11 回の調査時、それぞれの断面における対象者数を表-1に、性別にみた HCV 抗体陽性率、キャリア率の詳細を表-2 に示す。第 1 回目の調査 (1999 年 11 月時点) と第 11 回目の調査 (2002 年 5 月時点) における、HCV 抗体陽性率、キャリア率を比較すると、HCV 抗体陽性率は 20.9% から 16.8% に、またキャリア率は 15.7% から 13.4% に減少し

表-2 HCV抗体陽性率・キャリア率 (男女別)

調査	男女計			男			女		
	対象者数	HCV抗体陽性者数 (%)	HCVキャリア数 (%)	対象者数	HCV抗体陽性者数 (%)	HCVキャリア数 (%)	対象者数	HCV抗体陽性者数 (%)	HCVキャリア数 (%)
1	1,664	347 (20.9)	262 (15.7)	988	213 (21.6)	165 (16.7)	676	134(19.8)	97 (14.3)
2	1,677	354 (21.1)	263 (15.7)	992	219 (22.1)	168 (16.9)	685	135(19.7)	95 (13.9)
3	1,712	336 (19.6)	259 (15.1)	1,018	209 (20.5)	165 (16.2)	694	127(18.3)	94 (13.5)
4	1,736	330 (19.0)	267 (15.4)	1,027	208 (20.3)	169 (16.5)	709	122(17.2)	98 (13.8)
5	1,775	325 (18.3)	264 (14.9)	1,043	201 (19.3)	164 (15.7)	732	124(16.9)	100 (13.7)
6	1,808	323 (17.9)	262 (14.5)	1,070	206 (19.3)	169 (15.8)	738	117(15.9)	93 (12.6)
7	1,820	317 (17.4)	251 (13.8)	1,079	204 (18.9)	161 (14.9)	741	113(15.2)	90 (12.1)
8	1,758	301 (17.1)	244 (13.9)	1,045	196 (18.8)	157 (15.0)	713	105(14.7)	87 (12.2)
9	1,774	304 (17.1)	246 (13.9)	1,051	198 (18.8)	161 (15.3)	723	106(14.7)	85 (11.8)
10	1,805	304 (16.8)	247 (13.7)	1,059	196 (18.5)	160 (15.1)	746	108(14.5)	87 (11.7)
11	1,842	309 (16.8)	246 (13.4)	1,082	206 (19.0)	159 (14.7)	760	103(13.6)	87 (11.4)

図-2 HCVキャリアの新規発生率



ている。これは調査期間内に HCV 抗体陽性率、キャリア率の高い集団 (682 人) が調査対象から脱落し、これに比べて陽性率の低い集団 (860 人) が調査対象集団に新たに参入したことによるものである (図-1)。

2) HCV キャリアの新規発生率 (incidence rate)

調査開始時に HCV 抗体が陰性であり、

かつ調査期間内に 2 回以上の採血が可能であった者は 1,819 例であった。調査期間内にこの集団の中から 13 例の HCV キャリアの新規発生が認められた (HCV キャリアの新規発生率: 100 人年あたり 0.372 人) (図-2)。

表-3 は調査期間内に HCV に新たに感染したと判定した 13 例の経過をまとめたものである。症例(1)~(5)の 5 例は、調査開始時点で HCV 感染の早期 (ウインドウ期) にあったと想定された症例である。

13 例中 1 例を除いた全ての症例で、HCV 抗体価の上昇が認められた。残りの 1 例 (症例(13)) については、今後の follow により、その予後が判明すると考えられる。

表-3 HCVキャリアの新規発生病例 (13例)

HCV 抗体 : PHA 2^N

症例	年齢	性別	geno-type	調査1		調査2		調査3		調査4		調査5		調査6		調査7		調査8		調査9		調査10		調査11		
				HCV抗体	HCV RNA	HCV抗体	HCV RNA	HCV抗体	HCV RNA	HCV抗体	HCV RNA	HCV抗体	HCV RNA	HCV抗体	HCV RNA	HCV抗体	HCV RNA	HCV抗体	HCV RNA	HCV抗体	HCV RNA	HCV抗体	HCV RNA	HCV抗体	HCV RNA	HCV抗体
(1)	81	M	1b	1	+	10	+	13	+	13↑	+	採血なし	13↑	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+	採血なし	
(2)	72	F	1b	-	+	10	+	11	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+	12	+	採血なし	採血なし	採血なし	採血なし	採血なし	採血なし	採血なし		
(3)	65	M	1b	-	+	8	+	10	+	11	+	11	+	12	+	11	+	11	+	11	+	12	+	13	+	
(4)	94	F	1b	-	+	8	+	採血なし	採血なし	採血なし	採血なし	採血なし	採血なし	採血なし	採血なし	採血なし	採血なし	採血なし	採血なし	採血なし	採血なし	採血なし	採血なし			
(5)	37	M	1b	-	+	採血なし	13↑	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+		
(6)	60	F	1b	-	-	5	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+	
(7)	74	M	1b	-	-	-	-	-	+	11	+	11	+	11	+	11	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+	採血なし		
(8)	43	M	1b	-	-	-	-	-	-	+	11	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+
(9)	72	M	1b	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	2	+	3	+	6	+	9	+		
(10)	61	M	1b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+
(11)	56	M	1b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	採血なし	採血なし	採血なし	採血なし	採血なし	採血なし	採血なし	採血なし			
(12)	50	M	1b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	+	11	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+	
(13)	90	F	2b	3	-	3	-	3	-	2	-	2	-	2	-	3	-	採血なし	2	-	2	-	4	+		

表-4 HCV抗体低力価を示したHCVキャリア（2例）

HCV抗体：PHA 2^N

症例	年齢	性別	geno-type	調査1		調査2		調査3		調査4		調査5		調査6		調査7		調査8		調査9		調査10		調査11	
				HCV抗体	HCV RNA	HCV抗体	HCV RNA	HCV抗体	HCV RNA	HCV抗体	HCV RNA	HCV抗体	HCV RNA	HCV抗体	HCV RNA	HCV抗体	HCV RNA	HCV抗体	HCV RNA	HCV抗体	HCV RNA	HCV抗体	HCV RNA	HCV抗体	HCV RNA
(14)	71	M	2b	8	-	7	-	7	-	7	-	6	-	6	-	7	-	7	+	13↑	+	13↑	+	13↑	+
(15)	73	F	1b	5	+	5	+	5	+	4	+	4	+	4	+	3	+	3	+	2	+	3	+	2	+

3) 非定型的な経過を辿った2例

非定型的な経過を辿った2例の経過中のHCV抗体価とHCV RNAの検出結果をまとめて表-4に示す。

症例(14)は、HCV抗体価が「中力価」陽性の状態で経過していたが、HCV RNAの出現後にHCV抗体価の上昇が認められ、HCV感染既往例へのHCVの再感染がおこったと解釈された。

症例(15)は、HCV RNAは持続して検出されるもののHCV抗体価は「低力価」陽性のまま経過しており、何らかの原因によりHCV抗体の産生が不十分な非定型的なHCVキャリア状態にある症例であると解釈された。

5. HCV抗体低力価陽性を示す非定型的なHCVキャリアが存在すること、が明らかとなった。

HCV抗体が低力価陽性を示す非定型的なキャリア状態の存在が血液透析患者に特有なものであるのか否かの解明、またこのような症例の肝臓の病態解明等は今後の課題である。

なお、現在、今回の調査によりHCVキャリアであることが明らかとなった全症例のALT (GPT)、AST (GOT)、血清鉄等の推移、エリスロポエチン、鉄剤の投与状況の調査を開始した所である。

また、HCV感染予防対策確立を目指した透析現場の調査を開始したところであり、3年目の研究終了時には、これらの結果をまとめて報告する予定である。

D. 結論

今回の調査から

1. 血液透析患者集団におけるHCVキャリア率は依然として13%以上の高い値を維持していること、
2. 血液透析患者集団ではHCVキャリアの新規発生が依然としてみられること、
3. 新規にHCVが感染した血液透析患者はほとんどがキャリア化し、そのほとんどでは一般の患者と同様にHCV抗体価の十分な上昇がみられること、
4. 感染既往例についても、HCVの再感染がおこる可能性があること、

E. 研究発表、文献

1. 吉澤浩司：
C型肝炎の疫学-病因論に基づいた肝炎・肝がん対策- 神戸市医師会. 95. 21-33. 2002
2. 田中純子、片山恵子、熊谷純子、小宮裕、吉澤浩司：
効果的なC型肝炎ウイルス感染者検診体制. 化学療法の領域.18(6).19-29. 2002
3. 飯野四郎、吉澤浩司：
特集 ~国家プロジェクトとしての肝炎・肝癌対策~HCVキャリアを守るために. Medical

Tribune.53-55. 2002

4. 吉澤浩司:

特集 C 型肝炎ウイルス感染者を肝硬変・肝癌から守れ 膨大な潜在患者への対応 潜在キャリアの約 7 割は慢性肝炎 重要性増す開業医のフォローアップ. 日経メディカル 8.45.2002

5. 田中純子、吉澤浩司.

特集 慢性肝炎と肝癌 肝細胞癌の発生と分子制御 日本の肝癌発生の将来予測と予防戦略. Molecular Medicine. 39(8). 888-894. 2002

6. 吉澤浩司:

C 型慢性肝炎-検査と治療の現状.新薬と治療 NEW REMEDIES & THERAPY 438. 52(5) .14-18.2002

7. H. Yoshizawa:

Trends of hepatitis virus carriers. Hepatology Research.24.28-39.2002

8. 吉澤浩司、飯野四郎

第 2 版 ウイルス肝炎 診断/予防/治療第 2 版 医師、コメディカルスタッフ、肝炎対策関係者のためのウイルス肝炎 診断/予防/治療-ウイルス肝炎対策の指針-. 2002

9. 吉澤浩司:

特別講演 . 病因論に基づいた肝炎・肝がん対策 -対策実施の基となった疫学的背景と対策の理念-. 日本公衆衛生雑誌 第 61 回日本公衆衛生学会総会抄録集 埼玉. 49(10). 58.2002

10. 片山恵子、中西敏夫、田中純子、熊谷純子、小宮裕、水井正明、吉澤浩司:

献血を契機に見出された HCV キャリアの病態の推移. 日本公衆衛生雑誌 第 61 回日本公衆衛生学会総会抄録集 埼玉.49(10). 869.2 002

11. 熊谷純子、田中純子、片山恵子、小宮裕、水井正明、吉澤浩司:

HCV キャリアを見出すための効率的な検査手順の検証 -定量域の広い2つの測定系の応用-.

日本公衆衛生雑誌 第 61 回日本公衆衛生学会総会抄録集 埼玉. 49(10). 869. 2002

12. 田中純子、片山恵子、長神英聖、熊谷純子、小宮裕、水井正明、吉澤浩司:

健常者集団に潜在する HBV、HCV キャリア数推計の試み. 日本公衆衛生雑誌 第 61 回日本公衆衛生学会総会抄録集 埼玉.49(10). 870. 2002

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野））
C型肝炎の自然経過および介入による影響等の評価を含む疫学的研究
分担研究報告書

血液透析患者集団における HCV キャリアおよび新規感染例の
HCV コア抗原量の変動

分担研究者 頼岡 徳在^{1) 3)}、田中 純子^{2) 3)}
研究協力者 熊谷 純子^{2) 3)}、小宮 裕^{2) 3)}、片山 恵子^{2) 3)}、
吉澤 浩司^{2) 3)}、辰川 自光³⁾、梶川 憲治³⁾、川合 淳³⁾、
大上 和行³⁾、高杉 敬久³⁾、土谷 晋一郎³⁾、浜口 直樹³⁾、
原田 知³⁾、山下 達博³⁾

- 1) 広島大学大学院 分子内科学
- 2) 広島大学大学院 疫学・疾病制御学
- 3) 広島透析患者肝炎 Study Group

研究要旨

血液透析患者集団における感染予防対策の指針の構築に資することを目的として、1999年11月から2002年2月に至る2年3カ月の間に3カ月に1度の頻度で合計10回の採血を行い、このうち3回以上の検査が可能であったHCV キャリア283例および、この期間内に新規感染が確認された12例についてHCV コア抗原量の測定を行い、解析した結果、以下のことが明らかとなった。

- (1) HCV キャリアを男女別年齢別にみると、60歳代の集団の、特に男性でコア抗原量の変動する例が目立ち、変動幅も大きくなる傾向が認められた。
- (2) HCV 抗体価が低い値で推移しながらもコア抗原量が高い値を持続する、非定型的なキャリアが存在した。
- (3) 新規感染例では、HCV RNA が出現する時期にほぼ一致して、コア抗原量の著明な増加が認められた。

A. 研究目的

血液透析患者集団におけるHCV キャリアおよび新規感染例のHCV コア抗原量の変動を把握し、感染予防対策の指針の構築に資することを目的とする。

広島県下の9つの透析医療機関の協力のもとに、1999年11月から2002年2月に至る2年3カ月の間に、合計2,441例（男性1,440例、女性1,001例 年齢 63.1 ± 13.1 歳）を対象として、3カ月に1回の頻度で合計10回の採血を行い調査した。このうち3回以上の検査が可能であったHCV キャリア283例（男性183例、女性100例 年齢 63.1 ± 10.5 歳）

B. 研究方法

(1) 対象

と、期間内に新規感染が確認された12例を対象とした。

(2) 方法

HCV抗体の測定はHCV PHA法を、またHCV RNAの検出およびGenotypeの決定はRT-nested PCR法を用いた。血中コア抗原量の定量は、オーソ社製のELISA法にて行い、得られた結果を解析した。

C. 結果と考察

(1) HCV キャリアの血中コア抗原量

対象とした283例全例のコア抗原量の変動を図-1に、男女別年齢別にみたコア抗原量の変動を図-2に示す。男女ともに40歳以上の集団、特に60歳代でコア抗原量の変動する例が多くみられ、変動幅も大きくなる傾向が認められた。女性では男性に比べてその頻度もコア抗原量も低い傾向にあった。

図-1 HCV コア抗原量の変動 (全対象者)

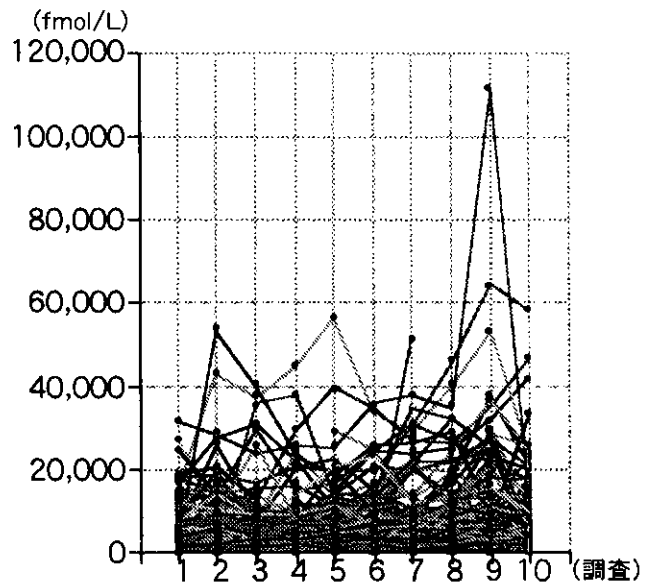
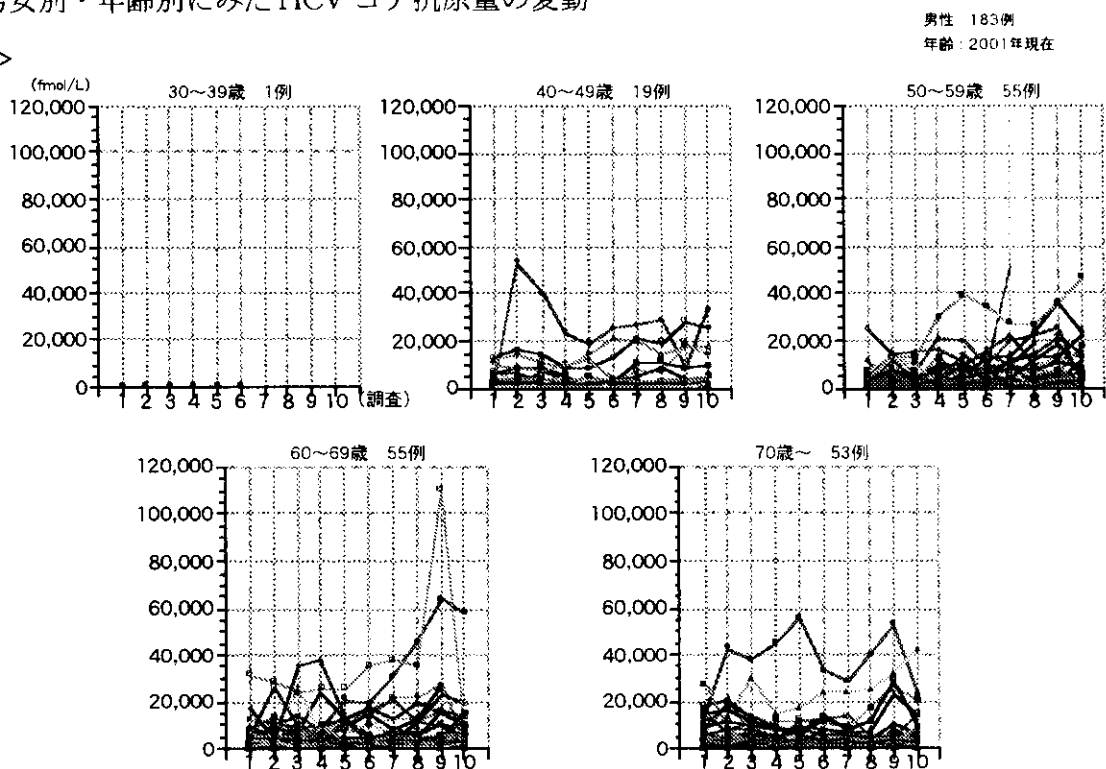


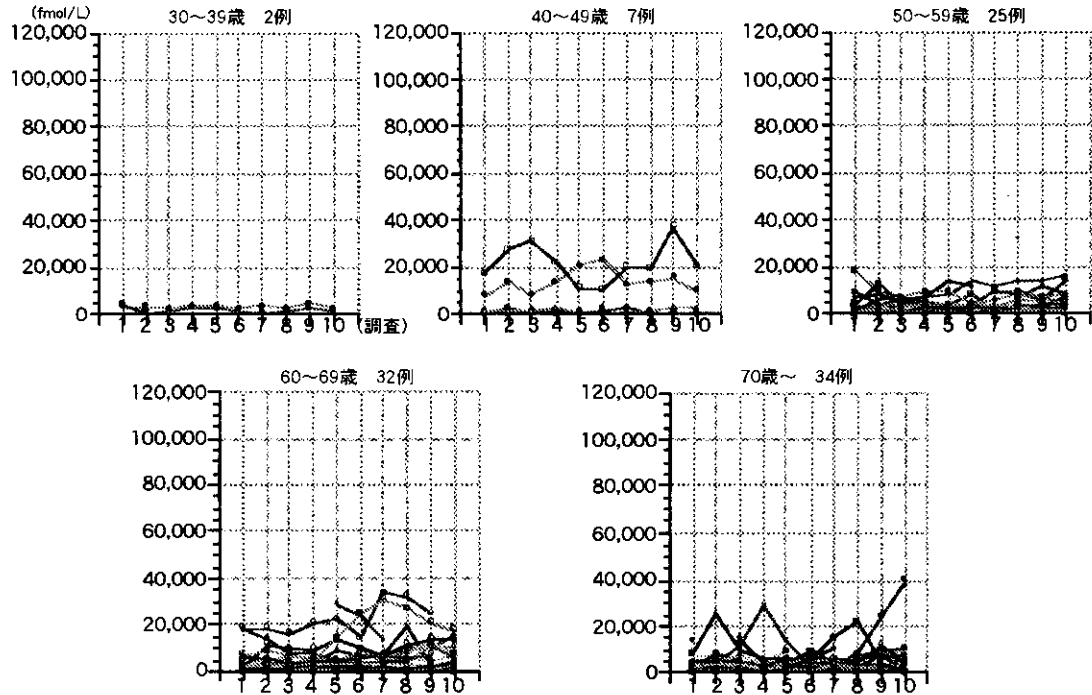
図-2 男女別・年齢別にみたHCV コア抗原量の変動

<男性>



<女性>

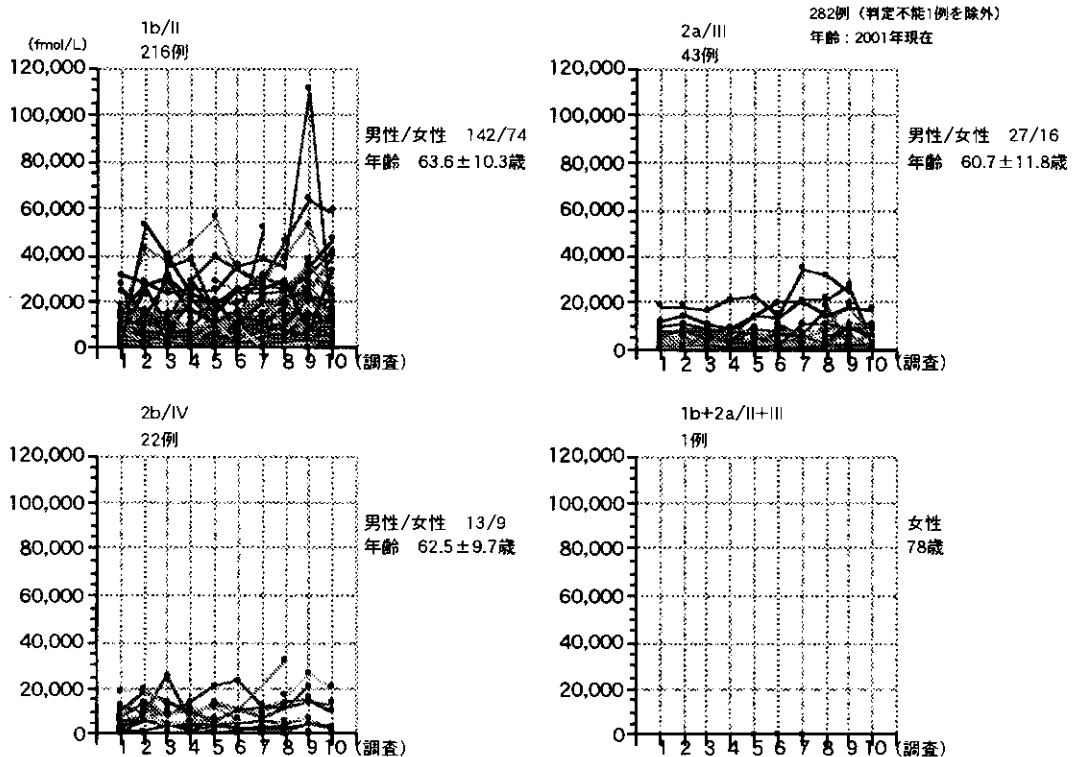
女性：100例
年齢：2001年現在



次に、Genotype 別にみたコア抗原量の変動を図-3に示す。Genotype 1b/IIの集団でコア抗原量が多く、また、変動幅も大きく見

えるが、Genotype 1b/II以外の集団での症例数が少ないため、明らかな傾向は認められなかった。

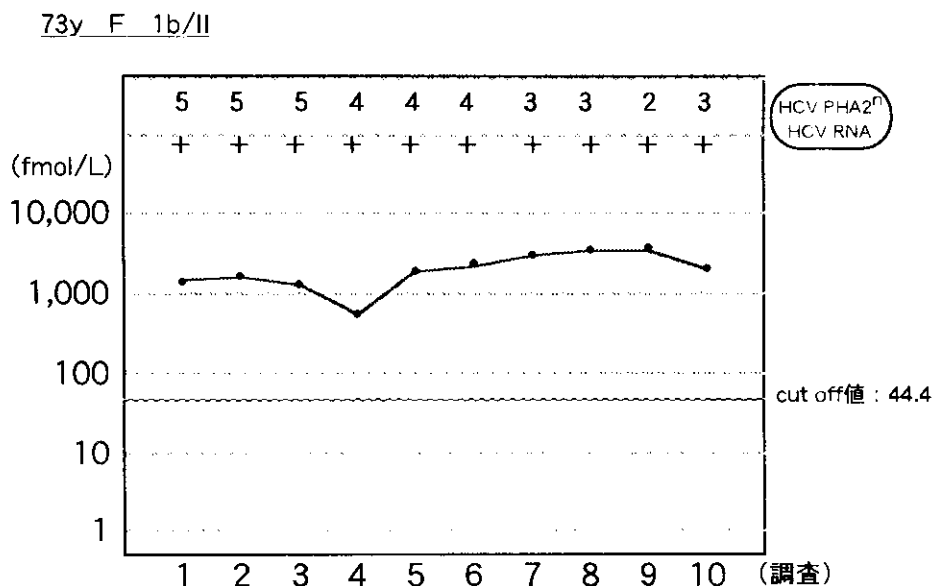
図-3 Genotype 別にみたHCV コア抗原量の変動



次に、非定型的なキャリアの経過を図-4に示す。この症例のHCV抗体価は低力価(2⁵HCV PHA 価以下)のまま推移したが、HCV RNA はいずれの時期にも陽性で、コア

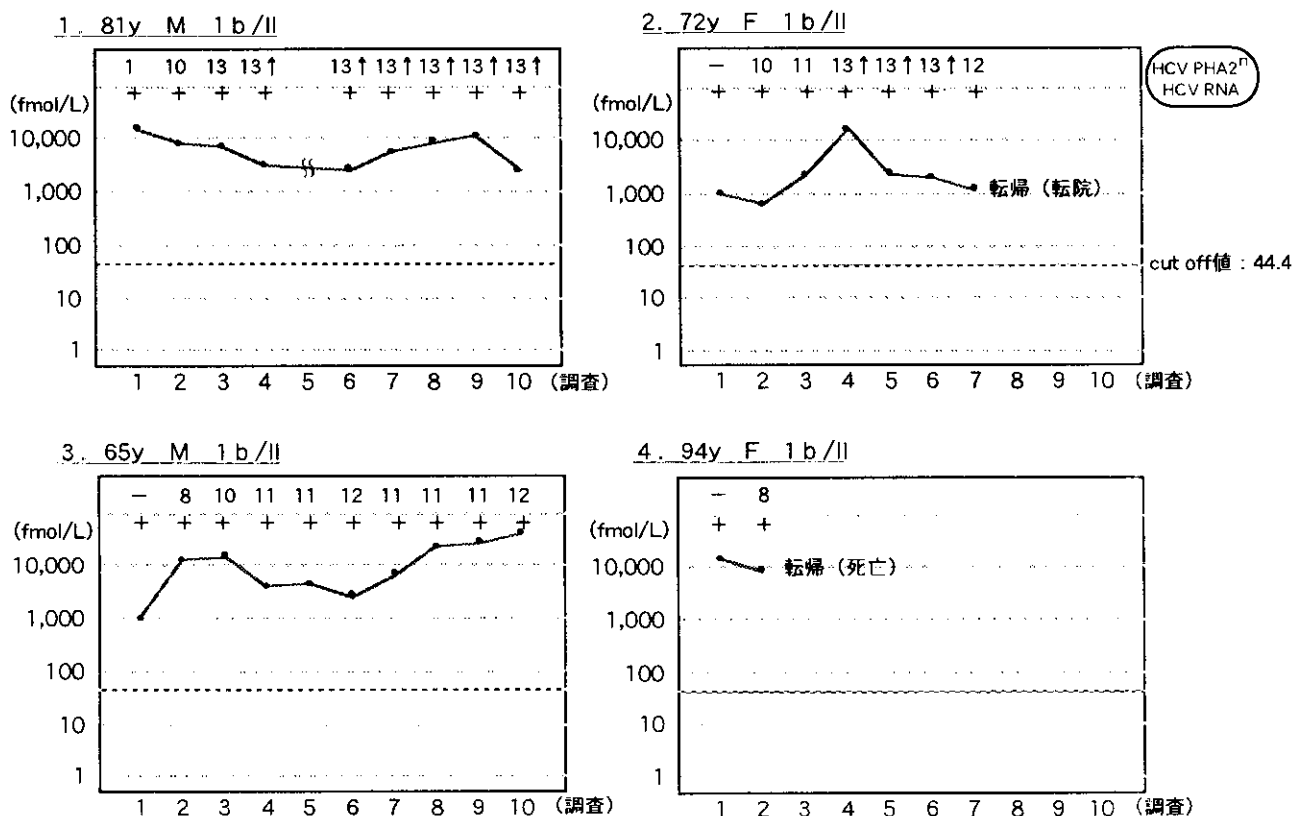
抗原量も高い値を持続していた。ごく稀ではあるが、このような非定型的なキャリアも存在することが明らかとなった。

図-4 HCV抗体低力価のまま推移したHCVキャリアの
コア抗原量の変動

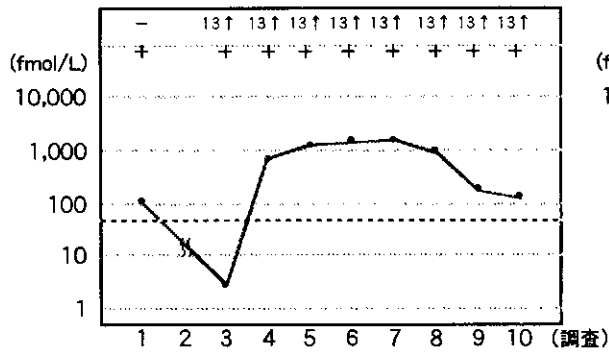


(2) 新規感染例のコア抗原量 HCV RNA が出現する時期にほぼ一致して、経過観察期間内に新規感染が確認された12例の経過を図-5に示す。このうち多くの例で、コア抗原量の著明な増加を認めた。

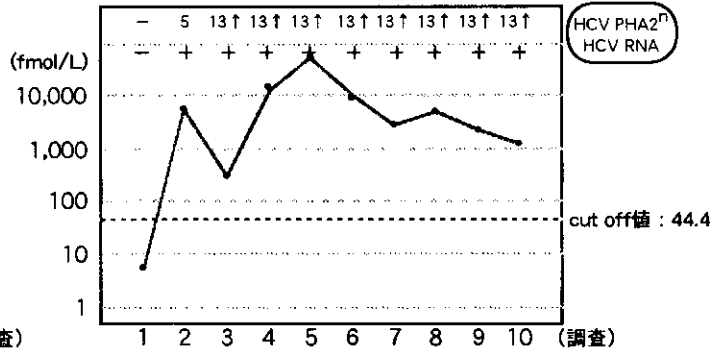
図-5 新規感染が確認された12例のHCVコア抗原量の変動



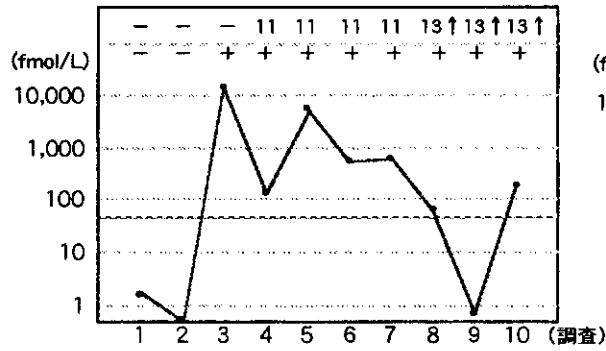
5. 37y M 1b/II



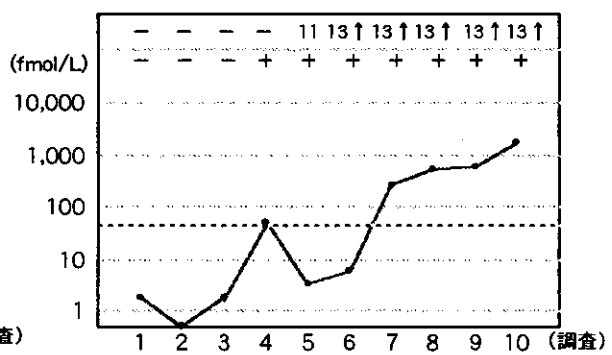
6. 60y F 1b/II



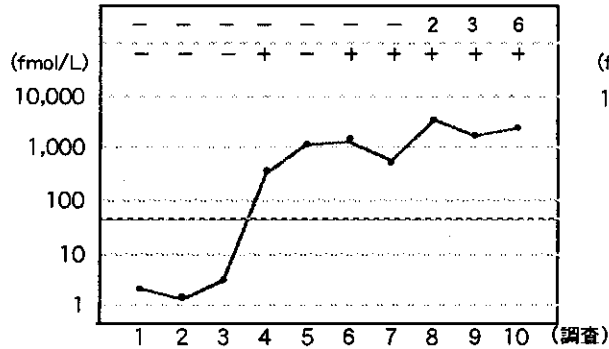
7. 71y M 1b/II



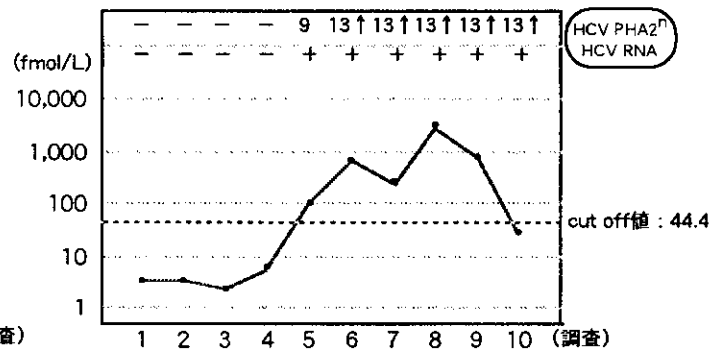
8. 43y M 1b/II



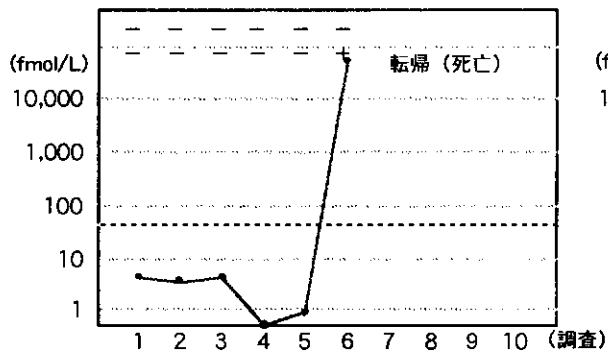
9. 72y M 1b/II



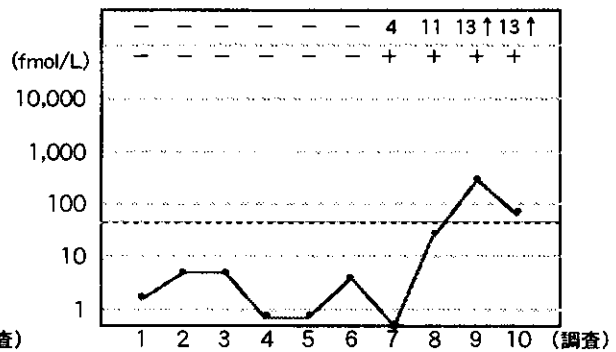
10. 61y M 1b/II



11. 56y M 1b/II



12. 50y M 1b/II



D. 結論

血液透析患者集団における HCV キャリアおよび新規感染例の血中コア抗原量について、以下のことが示された。

- (1) HCV キャリアを男女別年齢別にみると、60 歳代の集団の、特に男性でコア抗原量の変動する例が目立ち、また変動幅も大きくなる傾向がみられた。
- (2) HCV キャリアを Genotype 別にみると、今回は症例数が少ないため傾向は明らかではなかった。
- (3) HCV 抗体価が低い値で推移しながらもコア抗原量が高い値を持続する、非定型的なキャリアの 1 例を認めた。
- (4) 新規感染例では、HCV RNA が出現する時期にほぼ一致して、コア抗原量の著明な増加を認めた。

E. 研究発表、文献

1. 吉澤浩司:
C 型肝炎の疫学-病因論に基づいた肝炎・肝がん対策-神戸市医師会, 95. 21-33. 2002
2. 田中純子、片山恵子、熊谷純子、小宮裕、吉澤浩司:
効果的な C 型肝炎ウイルス感染者検診体制. 化学療法の領域. 18(6). 19-29. 2002
3. 飯野四郎、吉澤浩司:
特集 ~国家プロジェクトとしての肝炎・肝癌対策~HCV キャリアを守るために. Medical Tribune. 53-55. 2002
4. 吉澤浩司:
特集 C 型肝炎ウイルス感染者を肝硬変・肝癌から守れ 膨大な潜在患者への対応 潜在キャリアの約 7 割は慢性肝炎 重要性増す開業医のフォローアップ. 日経メディカル 8.45.2002
5. 田中純子、吉澤浩司.
特集 慢性肝炎と肝癌 肝細胞癌の発生と分子制御 日本の肝癌発生の将来予測と予防戦略. Molecular Medicine. 39(8). 888-894. 2002
6. 吉澤浩司:
C 型慢性肝炎-検査と治療の現状. 新薬と治療

NEW REMEDIES & THERAPY 438. 52(5) . 14-18.2002

7. H. Yoshizawa:
Trends of hepatitis virus carriers. Hepatology Research. 24. 28-39. 2002
8. 吉澤浩司、飯野四郎
第 2 版 ウイルス肝炎 診断/予防/治療第 2 版 医師、コメディカルスタッフ、肝炎対策関係者のためのウイルス肝炎 診断/予防/治療 -ウイルス肝炎対策の指針-. 2002
9. 吉澤浩司:
特別講演 病因論に基づいた肝炎・肝がん対策 -対策実施の基となった疫学的背景と対策の理念-. 日本公衆衛生雑誌 第 61 回日本公衆衛生学会総会抄録集 埼玉. 49(10). 58. 2002
10. 片山恵子、中西敏夫、田中純子、熊谷純子、小宮裕、水井正明、吉澤浩司:
献血を契機に見出された HCV キャリアの病態の推移. 日本公衆衛生雑誌 第 61 回日本公衆衛生学会総会抄録集 埼玉. 49(10). 869. 2002
11. 熊谷純子、田中純子、片山恵子、小宮裕、水井正明、吉澤浩司:
HCV キャリアを見出すための効率的な検査手順の検証 -定量域の広い 2 つの測定系の応用-. 日本公衆衛生雑誌 第 61 回日本公衆衛生学会総会抄録集 埼玉. 49(10). 869. 2002
12. 田中純子、片山恵子、長神英聖、熊谷純子、小宮裕、水井正明、吉澤浩司:
健常者集団に潜在する HBV、HCV キャリア数推計の試み. 日本公衆衛生雑誌 第 61 回日本公衆衛生学会総会抄録集 埼玉. 49(10). 870. 2002

F. 知的財産権の出願・登録 なし

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
C型肝炎の自然経過および介入による影響等の評価を含む疫学的研究
分担研究報告書

過去の日本住血吸虫蔓延地区における C 型肝炎ウイルスの拡散時期の推定

分担研究者 溝上雅史

名古屋市立大学大学院医学研究科臨床分子情報医学

研究要旨

我々は昨年の本班研究班において C 型肝炎ウイルス (HCV) の塩基置換速度が分子時計として応用可能であり、さらにその拡散時期の推定が可能であることを示した。そこで、今回これらの手法を使用して広島、久留米、山梨地域の HCV 感染者中で、日本住血吸虫（日住症）の既往感染者群と既往歴のないコントロール群における HCV の拡散時期の検討を行った。その結果、日住症群の HCV 拡散はコントロール群の HCV 単独感染群より約 20 年早期に拡散し始めたことと推定された。このことは、過去の日住症蔓延地域では日住症に対する治療が HCV 拡散の最初のリスクファクターの一つと考えられた。

共同研究者氏名

田中靖人

名古屋市立大学大学院医学研究科
臨床分子情報医学

大田伸生

名古屋市立大学大学院医学研究科
宿主・寄生体関係学

佐田通夫

久留米大学学第 2 内科

赤羽賢治

山梨大学医学部第一内科

茶山一彰

広島大学大学院医歯薬学総合研究科
先進医療開発科学

吉澤浩司

広島大学大学院医歯薬学総合研究科
病態情報医科学

A. 研究目的

我々は昨年この班会議で、本邦では HCV は 1920 年代に感染拡大が始まったと推定し、その社会的要因として 1922 年から開始された日本住血吸虫症(日住虫)に対する駆虫剤の経静脈投与の可能性を報告した。そこで、今回我々は先の仮説を検討するために、過去の本邦の日住虫の蔓延地帯であった広島・久留米・山梨の HCV 感染患者を対象として、日住虫感染の有無で、HCV の拡散時期に差があるか否かについて検討した。

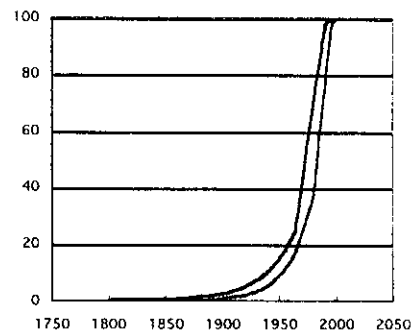
B. 研究方法

HCV 感染患者血清から HCV RNA

を抽出し、HCVNS5 領域の塩基配列を決定した。日住症の診断は、画像診断及び抗体測定を ELISA 法で行った。対象は、広島・久留米・山梨の3地区の HCV 感染者血清を使用し、最終的には日住症既往感染群 41 例と年齢・性をマッチさせたコントロール群 40 例とで比較・検討を行った。感染時期の推定は、HCV NS5B 領域の塩基配列を用いて分子進化学的に分子系統樹を作成し、これを基にして Effective population size 法で推定した。

C. 研究結果

推定された HCV effective population size を両群間で相対的に比較検討した(図)。これらの地区への HCV の侵入は 1900 年以前に起こったと推定された。また、現在の感染者数の 5% が感染拡大の始まりと仮定すると、日住症既往感染群では 1920 年代から、HCV 感染者だけのコントロール群では 1940 年代から起こったと推定された。またこの HCV 感染拡大をもし 10% とすると日住症既往感染群では 1930 年代から、HCV 感染者だけのコントロール群では 1950 年代から HCV 感染の拡散が始まっていると考えられた。このことは、同一地区に住みながら日住虫感染の有無で HCV の感染拡大の時期が異なり、HCV 感染だけのコントロール群は HCV と日住虫両者感染者より約 20 年後に拡散が始まっていると推定された(図)。しかも日住症既往感染者の割合が多い広島



や久留米においては、他の地域(名古屋、長野、東京)と比べると 20 年程度早い時期より HCV の拡散が始まっていることが示された。

D. 考察

今回の解析により、過去に日住虫感染が蔓延していた広島・久留米・山梨等の特定地域は日住症に対する治療が HCV 拡散の最初の大きな要因と考えられた。実際に日住症に対して 1923 年より Antimony sodium tartra の経静脈投与が開始されており、我々の推定した HCV の拡散時期はこうした医療行為にほぼ一致していることが示された。興味深い点は、日住症蔓延地域以外の他の地区は少なくとも 20 年程度遅れて HCV の拡散が始まっており、本邦の他の地区における HCV の拡散は従来から考えられてきた戦後の覚醒剤の濫用及びその後の輸血を含めた医療行為が HCV 拡散の大きな要因あることも推測された。こうした過去の HCV 拡散時期の違いによる地域差が現在の C 型肝炎の発生率の地域差を反映しているのではないかと考えてられた。

D. 研究発表

1. 論文発表

Tanaka Y. Hanada K. Mizokami M. Yeo AET.
Shih JWK. Gojobori T. Alter HJ. A Comparison
of Molecular Clock of Hepatitis C Virus in the
United States and Japan Predicts That
Hepatocellular Carcinoma Incidence in the US
will Increase Over the Next Two Decades.
Proc Natl Acad Sci U S A 99(24):15584-9, 2002.

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
C型肝炎の自然経過および介入による影響等の評価を含む疫学的研究
分担研究報告書

B型肝炎ウイルス（HBV） Pre-S deletion の臨床的意義

分担研究者 溝上雅史
名古屋市立大学大学院医学研究科臨床分子情報医学

研究要旨

近年、B型肝炎ウイルス（HBV）に対して Lamivudine 治療が行われているが、長期投与に伴い YMDD 変異株が出現し、Breakthrough hepatitis (BTH)の発症が問題となっている。しかし、この変異株の出現と BTH 発症とは必ずしも一致せず、ウイルスの他の因子の関与も考えられる。今回我々は経時的 HBV 全塩基配列を決定し耐性に関与する遺伝子変異を検討した。4 例中 3 例に治療前 S promoter を含む Pre-S 領域の deletion mutant を dominant に認め、経過中に wild type が dominant になり BTH を起こしていた。さらに、BTH(+)18 例と BTH(-)18 例とで臨床的、ウイルス学的に比較検討を行ったところ、BTH(+)群において投与前の HBV DNA が有意に高く、Pre-S deletion を認める症例が有意に多かった。多変量解析でも、この投与前 Pre-S deletion の存在は BTH 発症の有意な要因となり、Pre-S deletion を認める症例が多い Genotype C の肝硬変例の治療に際しては注意が必要である。

共同研究者氏名
田中靖人
名古屋市立大学大学院医学研究科
臨床分子情報医学

A. 研究目的

B型肝炎ウイルス（HBV） genotype C は genotype B に比して予後不良で、Lamivudine の治療にも抵抗することが報告されている。また、Lamivudine の長期投与に伴い、polymerase 領域の YMDD 変異が出現し、ALT の上昇、

Breakthrough hepatitis (BTH)を認める例が増加するとされている。しかし、この YMDD 変異株と BTH とは必ずしも一致せず、他のウイルス側の因子の関与も考えられる。今回我々は BTH 例を中心に経時的 HBV 全塩基配列を決定し、耐性に関与する遺伝子変異を検討した。

B. 研究方法

1年以上（平均 24 ヶ月）Lamivudine が投与された HBV genotype C の慢性

肝炎 19 例、肝硬変 17 例を対象とした。Breakthrough hepatitis 4 例 (BTH: 投与中に DNA 再上昇且つ ALT 再上昇 >80 IU/L) と BTH(-)1 例の経時的全塩基配列 (Lamivudine 投与前、YMDD 変異時、ALT 上昇時) を決定し、比較検討した。さらに、Pre-S~P 領域における経時的クローンの変異を解析した。

C. 研究結果

経過中に 18 例が BTH を起こした。経時的全塩基配列を検討した結果、4 例中 3 例に治療前 S promoter 領域を含む Pre-S 領域の deletion mutant を dominant に認め、Lamivudine 投与中にまず YMDD が変異し、遅れて S promoter を含む wild type が dominant になり BTH を起こしていた。この Pre-S 領域の deletion と BTH の関与を検討するために、BTH(+)18 例と BTH(-)18 例とで臨床的ウイルス学的に比較検討を行った。BTH(+)群において、投与前の血中 HBV DNA が有意に高く (TMA(LEG) 7.6 vs. 6.8)、Pre-S deletion を認める症例が有意に多い結果 (11/18 vs. 3/18) となった。S 抗原の発現に関与する Pre-S 領域の deletion により BTH(+)群で血清中の S 抗原発現量も有意に低下していた。多変量解析においては、投与前 Pre-S deletion のみが BTH 発症の有意なウイルス側のリスクファクターとなった。

D. 考察

YMDD 変異と BTH 発症には時間的なずれがあり、従来より別のファクターの関与が疑われていた。今回我々は、BTH 例において Lamivudine 投与前、YMDD 変異時、ALT 上昇時の全塩基配列を決定し比較検討した結果、Pre-S deletion の変化と BTH 発症との関与が示唆された。さらに多変量解析でも、投与前 Pre-S deletion の存在は BTH 発症の有意なリスクファクターとなり、Lamivudine 治療に際し注意が必要と思われた。

すでに我々が報告しているように Genotype C の肝硬変例には、Pre-S deletion を認める症例が比較的多く存在するため、治療前にできるだけ Pre-S deletion を把握しておくことが、BTH の発祥の予知に繋がると思われた。

今後、Pre-S 領域の変化と Breakthrough のメカニズムに関しては HBV Replication System を用いて検討中である。

D. 研究発表

学会発表

HBV Genotype C における Lamivudine 耐性と遺伝子変異パターン Breakthrough 例における経時的全塩基配列の解析—

田中靖人、溝上雅史、平嶋昇

DDW Japan 2002 10 横浜

分担研究報告書

本邦に於ける E 型肝炎の感染実態に関する研究

分担研究者 三代俊治 東芝病院研究部長

研究要旨

一昨年及び昨年度の研究によってその存在が明らかになった本邦土着の E 型肝炎ウイルス (HEV) 株が、日本國內に如何程の頻度で且つどのような地域分布を以て侵淫しているかを知る目的で豫備的全國調査を實施した結果、一概に云えば「東高西低」のパターンであり特に北海道に於いて頻發していることが分かった。

A. 研究目的

我國に於ける HEV の侵淫度及び臨床的意義は如何程なのか？

B. 研究方法

日本各地から原因不明急性・劇症肝炎症例由来血清を集め、HEVRNA の存否を調べた。RNA 陽性例については塩基配列を決定し、比較系統解析を行った。

C. 研究結果

Prevalence

札幌の手稲仁會病院との共同研究によれば、過去 3 年間に同病院に入院した原因不明急性肝炎 33 例中の 13 例 (39%) が HEV RNA 陽性であった。

北海道血液センターとの共同研究では、ALT 値 > 500 のドナー 18 名中 6 名 (33%) に HEV RNA を検出した。

新潟大學及び埼玉醫大との共同研究では、その数字が夫々 21% と 18% であった。

岡山の川崎醫大及び愛媛醫大の 44 本の原因不明例に於いては、HEV RNA 陽性例は僅かに岡山の 1 例のみであった。2%。

厚労省難治性肝疾患研究班劇症肝炎分科會から入手した「西日本に偏っている検体群」(青森 1, 埼玉 1, 神奈川 5, 長野 1, 愛知 2, 京都 1, 大阪 1, 岡山 3, 愛媛 3, 福岡 6) 総計 24 本中には HEV RNA 陽性例がゼロだった。

以上、おしなべて、東に較べて西が低率であるという傾向 (『東高西低』) が何に由来するのか、今後の大きな研究課題の一つである。

輸血後 E 型肝炎

日赤北海道血液センターとの共同研究で、輸血後 E 型肝炎疑診例に於けるドナーとレシピエントの HEV RNA 塩基配列の解析を行った。その結果、当該例に於いては、ドナーとレシピエントの HEV RNA 塩基配列が、二つの異なる領域に於いて完全一致していた。

D. 結語

我國に於いて、輸入感染ではない E 型肝炎の發生が、地域によっては (例えば北海道)、看過出来ぬ頻度で存在することを知り得た。感染経路の解明が急務である。

E. 研究発表

1. 論文発表

Takahashi K, Kang J-H, Ohnishi S, Hino K, Mishiro S. Genetic heterogeneity of hepatitis E virus recovered from Japanese patients with acute sporadic hepatitis. *J Infect Dis* 185, 1342-1345 (2002).

Mishiro S, Takahashi K, Kang JH, Ohnishi S, and Hino K. Reply to Aikawa et al's "Identification of indigenous hepatitis E virus from a Japanese patient who contracted sporadic acute hepatitis in 1982". *J Infect Dis* 186, 1536-1537 (2002).

2. 学会発表

三代俊治他. 日本の E 型肝炎ウイルスの genetic heterogeneity. 第 38 回日本肝臓学会総会等.

F. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得：出願 (検出法 & 型分類法)
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
分担研究報告書

食べる E 型肝炎ウイルスワクチンの開発

分担研究者 武田 直和 国立感染症研究所室長

研究要旨 組換えバキュロウイルスで発現した E 型肝炎中空粒子をカクイザルに経口投与した。血中に誘導される IgM、IgG、IgA 抗体を指標にチャレンジのタイミングを決定した。5 回投与した後に感染性ウイルスによってチャレンジを行ったところ、感染防御あるいは発症阻止が観察された。食べるワクチンとしての中空粒子の有用性が明らかとなった。

協力研究者

李 天成

国立感染症研究所ウイルス第二部協力研究員

網 康至

須崎 百合子

国立感染症研究所動物管理室

A. 研究目的

E 型肝炎は E 型肝炎ウイルス (Hepatitis E virus, HEV) の感染によって引き起こされる急性肝炎である。E 型肝炎は発展途上国で常時散発的に発生している疾患であるが、ときとして飲料水などを介し大規模な流行を引き起こすことが知られている。先進国において、E 型肝炎は輸入感染症とされていたが、近年、まったく海外渡航歴のない急性 E 型肝炎患者が発見されており、日本にでもすでに土着している可能性が濃厚になってきた。また、養豚からもヒトの HEV と遺伝学的に近縁のウイルスが検出され、人獣共通感染症の可能性が指摘されている。我々は先に組換えバキュロウイルスで構造蛋白を発現すると E 型肝炎中空粒子が産生され、この中空粒子をマウスに経口投与すると、血中 IgM、IgG 抗体のみならず腸管 IgA 抗体の産生が誘導されることを明らかにした。本研究では、HEV に感受性を示すカクイザルに中空粒子を経口投与し、HEV 感染に対して発症阻止できるか、あるいは感染阻止ができるかを評価し、食べるワクチンとしての有効性を検討した。

B. 研究方法

1) 組換え HEV 中空粒子の作製

HEV 感染サル胆汁から RNA を抽出し、RT-PCR 法で構造蛋白領域を増幅して ORF2 全領域を増幅後、ORF2 の N 末端から 111 アミノ酸を欠失させたフラグメントをトランスファーベクター pVL1393 にクローニングし、組換えバキュロウイルスを作出した。昆虫細胞 Tn5 細胞を感染後、培養上清に遊離してきた浮上密度 1.285g/cm³、直径約 23-24nm のウイルス様中空粒子を塩化セシウム平衡密度勾配遠心で精製し、純度の高い粒子を得た。

2) 抗体 ELISA

精製した HEV 中空粒子 (HEV VLPs) を抗原としてマイクロプレートにコーティングした。サル血清をこのマイクロプレート上で 2 倍階段希釈した後、パーオキシダーゼをラベルした抗ヒト IgM、抗ヒト IgG を反応させた。基質 OPD の吸光度を測定し、カットオフ値を示す最高希釈倍数の逆数を血清抗体価とした。

3) RT-PCR

血清あるいは糞便 10% 乳剤から RNA を抽出し、定法どおり cDNA を合成した。構造蛋白領域に設定したプライマーを用いて遺伝子を増幅した。

3) 経口投与したカクイザルの免疫応答

カクイザルに精製した HEV VLPs を経口投与し、定期的に血清を採取し、血中 IgM、IgA および IgG の産生を ELISA 法で測定した。RT-PCR で抗原を検出した。

C. 研究結果