

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

**B型及びC型肝炎の疫学及び
検診を含む肝炎対策に関する研究**

(課題番号 H16-肝炎-3)
(3年計画の2年目)

平成17年度 総括研究報告書
分担研究報告書

主任研究者 吉澤 浩司

平成18(2006)年 3月

B型及びC型肝炎の疫学及び検診を含む肝炎対策に関する研究
平成17年度 班構成

主任研究者

吉澤	浩司	広島大学大学院 疫学・疾病制御学	教授
----	----	------------------	----

分担研究者

柚木	久雄	日赤中央血液研究所 核酸増幅検査部	部長
阿部	弘一	岩手医科大学 第一内科	講師
池田	健次	虎の門病院 消化器科	部長
西口	修平	兵庫医科大学 消化器科	教授
金子	周一	金沢大学大学院 がん制御学	教授
茶山	一彰	広島大学大学院 分子病態制御内科学	教授
溝上	雅史	名古屋市立大学大学院 臨床分子情報医学	教授
秋葉	隆	東京女子医科大学 腎臓病総合医療センター	教授
田中	純子	広島大学大学院 疫学・疾病制御学	助教授
三浦	宜彦	埼玉県立大学 保健医療福祉学部情報科学	教授

班長研究協力者

友栗	徹士	(株)三和科学研究所熊本霊長類パーク実験研究部	研究員
菅野	雅元	広島大学大学院 免疫学	教授
佐田	通夫	久留米大学 第二内科	教授
佐藤	千史	東京医科歯科大学大学院 健康情報分析学	教授
小山	富子	岩手県予防医学協会 県南センター	次長
松崎	靖司	筑波大学医学部 消化器内科	助教授
頼岡	徳在	広島大学大学院 腎臓病制御学	教授
山崎	一美	奈良尾病院	院長
高橋	和明	東芝病院臨床研究部	研究員
大野	尚文	おおの消化器内科	院長
高畠	譲二	日本肝臓病患者団体協議会	事務局長

目 次

I. 総括研究報告

- B型及びC型肝炎の疫学及び検診を含む肝炎対策に関する研究 ……1~18
吉澤 浩司

II. 分担研究報告

1. HBV、HCV感染の疫学的研究

- 核酸増幅検査 (NAT)により見出されたHBV DNA陽性献血者の特性
—625例のHBV DNA陽性の献血者血清を対象とした分子ウイルス学的解析— …… 1
柚木 久雄
- 慢性血液透析中のC型慢性肝炎患者に対するペグインターフェロン- α -2a製剤の
有効性および投与法に関する研究 …………… 5
秋葉 隆
- 透析医療施設におけるHBV、HCV感染の血清疫学的調査…………… 13
田中 純子
- 出生年別にみた小学生のHBVマーカー陽性率の推移
—静岡県、岩手県における追跡調査成績の解析— …………… 17
小山 富子
- 輸血に伴う肝炎ウイルス感染の実態調査
—モデル地区 (岩手県、大阪市、松山市) を設定した受血者の全数調査— …… 23
西口 修平

2. B型肝炎、C型肝炎の病態、自然経過の解明

- B型急性肝炎における劇症肝炎でのPrecore/Core-promoter変異あるいは
慢性化に対するHBV genotypeの影響 …………… 27
溝上 雅史
- HBV genotype Cにおける Core promoter領域の変異と肝病態との関係 …… 31
溝上 雅史
- HBV感染およびoccult HBV感染の肝癌発癌に及ぼす影響 …………… 35
池田 健次
- 献血を契機に見出されたHCVキャリアの肝病態とその経年的推移 …………… 39
田中 純子

3. HBV、HCVキャリア対策

HCVキャリアを見出すための効率的な検査システムの検証と岩手県における HCV検診の現状と今後の課題	45
小山 富子	
検診で発見されたHBV、HCVキャリアの現状	51
阿部 弘一	
茨城県のHCV高度浸透地域における肝癌制圧事業 ー肝炎ウイルスキャリアーのフォローアップ体制の確立ー	57
松崎 靖司	
石川県におけるHBVおよびHCVキャリアの診療ネットワークの構築	65
金子 周一	
HCV抗体スクリーニングがもたらすもの	67
山崎 一美	
HCVキャリアへのインターフェロン療法に関する実態調査	71
佐田 通夫	
ウイルス肝炎啓発活動と患者会の取り組み	75
高畠 譲二	

4. 感受性動物を用いた感染実験

チンパンジーを用いたHBV(ジェノタイプC) の感染実験 ー感染成立に必要な最少ウイルス量の決定ー	79
吉澤 浩司	
実験的にHBV(ジェノタイプC) を感染させたチンパンジーの末梢血中における HBV DNAの初期動態.....	83
田中 純子	
ヒト肝細胞置換キメラマウスを用いた肝炎ウイルス(HBV、HCV) の感染実験 ーチンパンジーの代替実験動物としての有用性の検証ー	87
吉澤 浩司	
ヒト肝細胞キメラマウスを用いた肝炎ウイルスの感染実験	91
茶山 一彰	
HCV感染における宿主初期免疫応答、免疫担当細胞活性化の解析	93
菅野 雅元	

以下は【別冊】平成17年度研究成果 に集録

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表 【書籍】【雑誌】

Ⅳ. 研究成果の刊行物 【書籍】【雑誌】

1. 総括研究報告

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）
平成17年度 総括研究報告書

B型及びC型肝炎の疫学及び検診を含む肝炎対策に関する研究

主任研究者 吉澤 浩司 広島大学大学院 疫学・疾病制御学 教授

研究要旨

1. B型肝炎ウイルス（HBV）、C型肝炎ウイルス（HCV）感染の疫学的研究、2. B型肝炎、C型肝炎の病態、自然経過の解明、3. HBV、HCVキャリア対策、4. 感受性動物（チンパンジー、キメラマウス）を用いた感染実験の4つの項目を柱とする調査・研究を実施し、以下の事項を明らかにした。

1. HBV、HCV感染の疫学的研究

- 1) 核酸増幅検査 (Nucleic acid Amplification test: NAT) により見出されたHBV DNA陽性の全ての献血者、計625例の血清を対象として解析した結果、(1) HBV DNA陽性者は30歳以下の若い世代に多く見出されていること (490/625 : 78.4%)、(2) 30歳以下の若い世代ではHBV DNAのみが検出される「HBV感染早期群」が、大半を占めていること (485/490 : 99.0%)、(3) 40歳以上の世代では、(低力価の) HBc抗体も同時に検出される「HBV感染晚期群」が多くを占めること (40歳代 11/60 : 18.3%、50歳代 26/50 : 52.0%、60歳以上 22/25 : 88.0%)。また、(4) 30歳以下の若い世代では、これまでわが国ではほとんどみられないとされてきたジェノタイプAのHBV感染が広がりつつあることが明らかとなった。
- 2) モデル地区の9つの透析医療施設において、HCV感染予防のための介入（透析室の環境改善、スタッフへの教育訓練による器具、機材などを介した汚染拡大の防止などの改善）を行なった結果、HCVの新たな感染を効率よく防止できることが明らかとなった。しかし、一方では、スタッフへの教育、訓練のあり方等について未だ解決すべき問題点が残されていることも明らかとなった。
- 3) 静岡、岩手の両県において、HBV母子感染予防開始前、治験実施期間、公費負担による全面実施期の3期に分けて、それぞれの期間に出生した小学生のHBV関連の血清学的マーカーを測定した。

その結果、両県とも公費負担による全面実施以降に出生した群では、HBs 抗原陽性率は 0.01%～0.04% にまで減少していた。また、両県とも、経年的な HBs 抗原陽性率の減少に伴って HBs 抗体陽性率も減少しており、特に岩手県において HBs 抗体陽性者全例を抽出して HBc 抗体を測定したところ、HBs 抗体陽性者の中に占める HBc 抗体陽性率の経年的な減少（HBV の自然感染例の減少）がみられる点が注目された。

- 4) モデル地区（岩手県、大阪市、松山市）において輸血を受けた患者（受血者）の全数調査を継続して行なっている。これまでに 1,020 例の受血者の血清検体を収集、解析し、1 例の輸血後 B 型肝炎を見出した（関係当局へは届け出済）。また、輸血に伴う HBV、HCV、(HIV) の感染がないことを確定した 247 例の受血者に対応する献血者の、献血時の保管血清、計 1,009 検体を確保し、これらの血清のウイルス、血清学的特性の解析をすすめている。

2. B型肝炎、C型肝炎の病態、自然経過の解明

- 1) ジェノタイプ A の HBV 感染に起因する急性 B 型肝炎例では、慢性化率が高い（2/23：8.7%）ことが明らかとなった。
- 2) C 型肝炎硬変にいわゆる Occult HBV 感染（HBs 抗原陰性、HBc 抗体陽性、HBV DNA 陽性）が合併しても、HBV 感染の合併がない C 型肝炎硬変からの肝発がんに比べて差はみられないのに対して、非 B 非 C 型肝炎硬変では有意に肝発がん率が高くなることが明らかとなった（相対危険度：8.25）。
- 3) 献血を契機に発見された HCV キャリア、計 1,020 例を解析した結果、以下のことが明らかとなった。
 - (1) 初診時に、男性の 63%、女性の 43% が慢性肝炎と診断されていた。
 - (2) 初診時に慢性肝炎と診断された症例のうち、男女ともその 46% が初診の時点で直ちに治療を開始する必要があると判断されていた。
 - (3) 5 年以上にわたって経過が観察できた 408 例のうち、肝がんへの進展が認められたのは、この間にインターフェロン (IFN) 治療を受けていない 211 例では 5 例（2.4%）、IFN 治療を受けた 197 例では 7 例（3.6%）であった。なお、この 7 例はいずれも IFN 治療無反応例（non-responder）であった。
 - (4) IFN 治療を受けた 197 例では、62 例（31.5%）で HCV RNA が消失していた。

3. HBV、HCV キャリア対策

- 1) HCV キャリアを見出すための検査手順の妥当性の検証を行なった結果、岩手県における 2003 年 4 月から 2005 年 12 月までの全受診者 143,144 人でみる限り、HCV コア抗原検査に引き続いて行なう核酸

増幅検査 (NAT) による HCV RNA 検査も含めて所期の目的通り合理的に機能していることが明らかとなった。

- 2) 過去数年間にわたって構築してきた岩手県、茨城県南部、石川県、広島県、久留米地区、そして新たに加わった上五島地区等において、それぞれの地域の特性を生かした形で、行政による HCV キャリアの健康指導、病・医院への受診促進および、医師会の協力によるかかりつけ医と専門医との機能分担による治療体系の構築が進行しつつある。また、患者の健康相談、メンタルヘルスケアおよび、肝炎ウイルス検診受診率向上のためのキャンペーン等については、日本肝臓患者団体協議会の参加を得て推進している。

4. 感受性動物 (チンパンジー、キメラマウス) を用いた感染実験

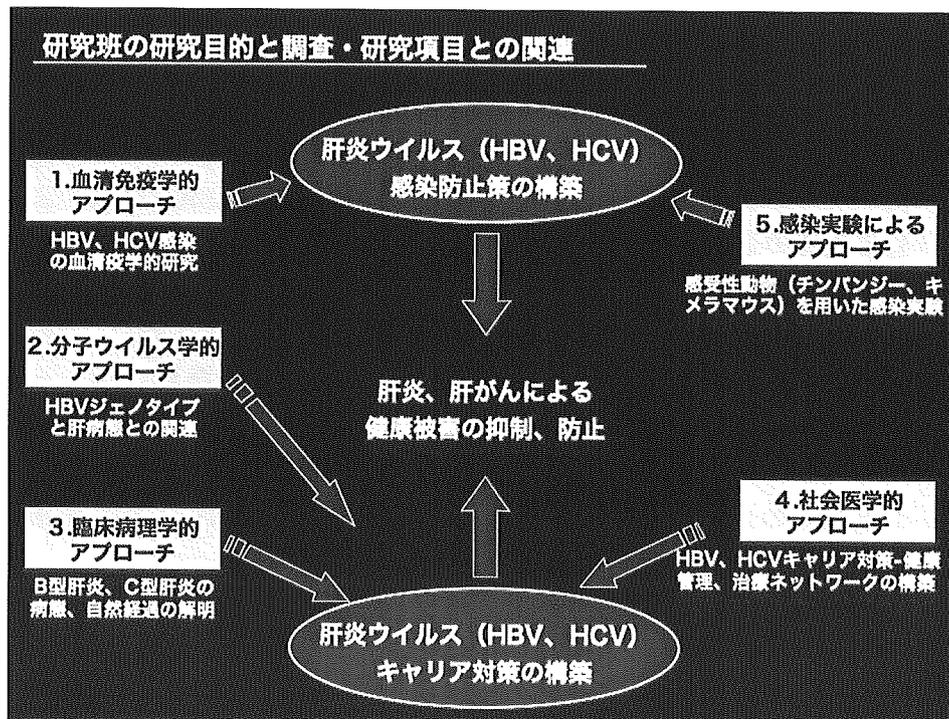
- 1) ジェノタイプ C の HBV を接種材料として、チンパンジーを用いた感染実験を行ない、以下の事項を明らかにした。(1) 感染成立に必要な HBV 量は、HBV DNA の定量値に換算すると 10 コピー相当 (絶対量) であること。(2) 感染成立後 4~6 週で末梢血中の HBV DNA 量は 10^2 コピー/ml に達すること (NAT のウィンドウ期は 4~6 週であること)。(3) 「感染成立早期」の末梢血中において、HBV DNA 量が 2 倍、10 倍に増えるために必要な時間 (doubling time, log time) はそれぞれ 1.7~2.5 日、5.6 日~8.3 日であること。
(4) ジェノタイプ C の HBV による実験結果とジェノタイプ A の HBV による実験結果 (1 年目に報告済み) とを比較すると、感染成立に必要な最少 HBV 量は同じであるものの、「感染成立早期」における複製の速度はジェノタイプ C の HBV の方が速いこと。
- 2) ヒト肝細胞置換キメラマウスを用いてジェノタイプ A の HBV を接種材料とした感染実験を行ない、以下の事項を明らかにした。(1) 感染成立に必要な最少 HBV 量は、HBV DNA 量に換算して 10 コピー相当 (絶対量) であること。(2) 安全を見込むと、接種後 6 週で感染成立の有無を確実に判定することができること。(3) ジェノタイプ C の HBV を接種するとジェノタイプ A の HBV よりも複製速度が速いこと。
以上の結果は、この小動物はチンパンジーの代替実験動物として十分に機能することを示していると言える。また、この小動物は HCV の感染実験についてもチンパンジーの代替実験動物として活用できることが明らかとなりつつある。
- 3) 肝炎ウイルスを感染させたヒト肝細胞置換キメラマウスは、既知の抗ウイルス剤の効果判定に有用であることから、今後新たに開発される肝炎ウイルスを標的とする抗ウイルス剤の有用性をテストするためのスクリーニングに活用できる可能性が示された。
- 4) 実験的に HCV を感染させたチンパンジーの「感染初期」の樹状細胞

(Dendritic Cell: DC)の動態を解析した結果、HCV感染の遷延化を阻止(早期にHCVを排除)するためには、Plasmacytoid DCの早期活性化とこれに伴うHCVの取り込みがおこることが重要であることを示唆する成績を得た。

A. 研究目的

1. B型肝炎ウイルス(HBV)、C型肝炎ウイルス(HCV)感染の疫学的研究
2. B型肝炎、C型肝炎の病態、自然経過の解明
3. HBV、HCVキャリア対策 - 健康管理、治療ネットワークの構築 -
4. 感受性動物(チンパンジー、キメラ

マウス)を用いた感染実験の4つの項目を柱とする調査・研究を実施し、HBV、HCV感染の予防およびHBVキャリア、HCVキャリア対策の構築に資する基礎的データ収集、解析、提示を通じて、わが国の国民保健上重要、かつ緊急の課題である肝炎、肝がんによる健康被害の抑制、防止に貢献することを究極の目標とする(図)。



B. 研究方法

表に示した10名の分担研究者、および申請者が別途協力を依頼した12名の

班長研究協力者の協力の下に、3年計画の2年目にあたる調査・研究を研究目的に掲げたの研究課題に従って実施した。

肝炎専攻緊急対策研究事業 B型及びC型肝炎の疫学及び検診を含む 肝炎対策に関する研究 班			
構 成			
主任研究者	吉澤 浩司	広島大学大学院 疫学・疾病制御学	教授
分担研究者	袖木 久雄	日赤中央血液研究所 核酸増幅検査部	部長
	阿部 弘一	岩手医科大学 第一内科	講師
	池田 健次	虎の門病院 消化器科	部長
	西口 修平	兵庫医科大学 消化器科	教授
	金子 周一	金沢大学大学院 がん制御学	教授
	金山 一彰	広島大学大学院 分子病態制御内科学	教授
	清上 雅史	名古屋市立大学大学院 臨床分子情報医学	教授
	秋葉 隆	東京女子医科大学 腎臓病総合医療センター	教授
	田中 純子	広島大学大学院 疫学・疾病制御学	助教授
	三浦 直彦	埼玉県立大学 保健医療福祉学部情報科学	教授
班長協力研究者	友栗 徹士	㈲三和科学研究所熊本豊長類パーク実験研究部	研究員
	菅野 雅元	広島大学大学院 免疫学	教授
	通夫	久留米大学 第二内科	教授
	佐藤 千史	東京医科歯科大学大学院 健康情報分析学	教授
	小山 富子	岩手県予防医学協会 県南センター	次長
	松崎 靖司	筑波大学医学部 消化器内科	助教授
	頼岡 徳在	広島大学大学院 腎臓病制御学	教授
	山崎 一美	奈良尾病院 (長崎県上五島町)	院長
	高橋 和明	東芝病院臨床研究部	研究員
	大野 尚文	おのおの消化器内科	院長
	高島 敏二	日本肝臓病患者団体協議会	事務局長

1. HBV、HCV感染の疫学的研究

- 1) 1999年7月から2005年12月までの間に、献血時の核酸増幅検査(NAT)により見出されたHBV DNA陽性者、計625例の血清検体を対象として、AxSYM®による(低力価の)HBc抗体の検出、およびHBVジェノタイプの決定を行ない、年齢、性別にみたHBV DNA陽性献血者の特性を解析した。また、これまでわが国にはほとんどみられないとされてきたジェノタイプAのHBV感染の広がりについて調査した(袖木班員)。
- 2) わが国の透析医療現場における肝炎ウイルス感染に関する全国集計を行った(秋葉班員)。

また、モデル地区の9つの幹事透析施設において、2003年7月のHCV感染予防のための介入(透析室の環境改善、スタッフへの教育訓練など)後1年間、HCV感染の新規発生が無

いことを確認した2004年8月の調査をもって、統一的な調査を終了し、その後は各施設における個別調査体制に切り換えた。この後も9つの全ての幹事透析施設では、自主的に従来通りのスケジュールで検査を行っていた。その後2005年3月と10月に同一施設内において2例の新たなHCV感染事例が相次いで見出されたことから、この事例をもとに今後に残された問題点の検討を行なった(田中班員、頼岡研究協力者)。

- 3) HBV母子感染予防の効果を検証するために、静岡、岩手の両県において、過去20余年にわたって調査を行ってきた成績をまとめて整理し、HBV母子感染予防開始前、治験による予防実施期間、公費負担による全面実施期の3期に分けて、それぞれの時期に出生した児童のHBs抗原陽性率、HBs抗体陽性率、およびHBs抗体陽

性群の中に占めるHBc抗体陽性率の経年的推移を解析した（小山、高橋各研究協力者）。

- 4) モデル地区（岩手県、大阪市、松山市）において輸血を受けた患者（受血者）の全数調査を継続して行なった。

上記の3地区の協力病院において、輸血前にあらかじめ了解を得て登録した全ての患者（受血者）の輸血前、後の血清中のHBV DNA、HCV RNA、HIV RNAを検出し、輸血に伴う陽転の有無を確定した。陽転が認められた場合は、該当する献血者の献血時の保管検体にまで遡って調査し、輸血血液が感染源となっていたか否かの因果関係を確定した。

一方、輸血に伴うHBV感染が完全に否定され、かつ輸血本数が12本以下、単発輸血例であるという条件を満たした献血者の献血時の保管血清を対象としたHBVのウイルス、血清学的特性の解析に着手した（阿部、西口、柚木各班員、大野研究協力者、日赤 NAT 研究グループ、吉澤）。

2. B型肝炎、C型肝炎の病態、自然経過の解明

- 1) HBVのジェノタイプと肝病態（急性肝炎、劇症肝炎）との関係に注目し、計301例を対象とした調査、解析を行った（溝上班員）。
- 2) ジェノタイプCのHBVのコアプロモータ領域の変異と肝発がんとの関係に注目した解析を行った（溝上班員）。
- 3) C型肝炎硬変142例、非B非C型肝炎硬変82例を対象として、Occult HBV感染の有無が肝発がんに及ぼすリスクに注目した解析を試みた（池田班

員）。

- 4) 献血を契機に見出されたHCVキャリア計1020例の肝病態の再調査を行った。また、5年以上の経過観察が可能であった408例を、この間にインターフェロン治療を受けていなかった211例と、受けていた197例とに分けて、肝病態の推移を対比、検討した（田中班員）。

3. HBV、HCVキャリア対策

- 1) 2003年から2005年までの岩手県予防医学協会における「肝炎ウイルス検診」、人間ドック、および職域健診受診者、計143,144人を対象として、2003年4月に改訂したHCVキャリアを見出すための検査手順の妥当性の検証を行なった（小山研究協力者）。
- 2) 岩手県、茨城県南部、石川県、広島県、久留米地、上五島地区等の各地域において、検診により見出されたHBV、HCVキャリアの健康管理、治療体系の構築を推進した（阿部、金子、茶山各班員、松崎、佐田、山崎各研究協力者）。
- 3) 研究協力者として、日本肝臓病患者団体協議会の参画を得て、電話による患者の健康相談、メンタルヘルスケアを行なった。また、平成16年度から、毎年5月の「肝臓週間」に合わせて、同協議会は都内の複数の場所で「肝炎ウイルス検査」受診勧奨のキャンペーンを開始した。
- 4) 全国各地、及び行政からの要請に応じて、印刷物、小冊子の作成や配布に協力し、ウイルス肝炎の知識、肝炎ウイルス検診の普及、啓発を図った。

4. 感受性動物（チンパンジー、キメラマウス）を用いた感染実験

1) ジェノタイプCの「HBV感染早期」の血清を感染材料として、下記の事項を明らかにすることを目的とした実験を実施した。

(1) 感染成立に必要な（NATにより測定、提示されるHBV DNAの定量値に換算した場合の）最少HBV量、

(2) 感染成立早期の末梢血中におけるHBV DNA増加速度（doubling time、log time）、

(3) ジェノタイプAの「HBV感染早期」の血清を感染材料として行なった昨年度（16年度）の実験結果との対比

（柚木、田中各班員、友栗研究協力者、吉澤）。

2) チンパンジーの代替実験動物としての小動物（ヒト肝細胞置換キメラマウス）を用いた感染実験

(1) チンパンジーを用いた感染実験により、感染価（Chimpanzee Infectious Dosis：CID）が確立しているジェノタイプAの「HBV感染早期」の血清を感染材料として、ヒト肝細胞置換キメラマウスがチンパンジーの代替動物として有用であるか否かを確定することを目的とした感染実験を実施した（柚木、田中各班員、吉澤）。また、HCVについても同様の実験を行った（柚木、田中各班員、吉澤）。

(2) HBVの野生株、薬剤（抗ウイルス剤）耐性株をあらかじめ感染させた後に、HBVを標的とする既知の抗ウイルス剤（ラミブジン）を投与し、抗ウイルス剤の効力判定のための有用性を検証した（茶山班員）。

3) 実験的にHCVを感染させたチンパ

ンジーの「感染初期」の樹状細胞、免疫担当細胞（T細胞、B細胞）の動態を解析し、ヒトに最も近い霊長類での自然免疫系の解明を試みている（菅野研究協力者）。

C. 結果と考察

1. HBV、HCV感染の疫学的研究

1) 核酸増幅検査（NAT）により見出されたHBV DNA陽性献血者の特性

1999年7月から2005年12月までの間に、核酸増幅検査（Nucleic acid Amplification Test：NAT）により見出されたHBV DNA陽性の全ての献血者、計625例の血清を対象として、分子ウイルス学的、およびウイルス血清学的手法により解析した。その結果、

(1) HBV DNA陽性者数は30歳以下の若い世代に偏っていること（490/625：78.4%）。

(2) 30歳以下の若い世代では、HBV DNAのみが検出される「HBV感染早期群」がほとんどを占めていること（485/490：99.0%）。

(3) 30歳以下の若い世代を中心に、これまでわが国ではほとんどみられないとされてきたジェノタイプAのHBV感染が広がりつつあり、特に20歳～39歳のHBV DNA陽性の献血者423例についてみると、このうちの87例（20.6%）がジェノタイプAのHBVに感染していること。

(4) 一方、40歳以上の世代では、HBV DNAと共に（低力価の）HBc抗体も同時に献出される、いわゆる「HBV感染晚期群」が多くみられること（40歳代11/60：18.3%、50歳代26/50：52.0%、60歳以上

22/25 : 88.0%)。
が明らかとなった(柚木班員)。

これらの結果は、NATの導入はわが国の血液製剤の安全性の向上に大きく貢献するのみならず、現在のわが国におけるHBV感染の広がり方や、HBV感染の自然経過を理解するためにも役立つことを示しているといえる。

2) 血液透析医療施設における肝炎ウイルス感染の実態把握

(1) わが国の慢性透析患者数は年々増加しており、2003年末における患者総数は237,710人となっている。一方、全国調査の結果、透析患者におけるHCV感染の新規発生率は年率2.2%であり、HCV抗体陽性率(HCVキャリア+感染既往者の占める比率：全国アンケート調査による)は、12.1%と高率であり、そのほとんどが無治療のまま推移していることが明らかとなっている。このことから、HCVキャリアの透析患者を対象としたペグインターフェロン α -2a製剤による治療の試みを開始した(秋葉班員)。

(2) 広島県内の9つの幹事透析医療施設においてHBVとHCV感染の実態把握と感染予防のための介入による効果を検証することを目的とした血清疫学的調査、研究を実施した。

その結果、

i) 2003年7月に行なったHCV感染防止のための介入(透析室の環境改善、スタッフへの教育訓練による器具、機材などを介した汚染拡大の防止等の改善)後、1年間はHCVの新たな感染は発生しなかったこと。

ii) しかし、介入後1年余を経た後に、同一施設内において相次いで計2例のHCV感染事例の発生を経験し、スタッフへの教育訓練のあり方等について未だ解決すべき問題点が残されていること。

iii) 透析患者集団におけるHBs抗原陽性率は2.5~2.6%、HBs抗体陽性率者11.9~13.7%、HBc抗体陽性率は18.8~21.1%であること。

iv) しかし、調査期間内における明らかなHBVの新規感染の発生は起こっていないこと。
などが明らかとなった(田中班員、頼岡研究協力者、吉澤)。

3) 出生年別にみた児童におけるHBVキャリア率およびHBV自然感染率の推移

静岡、岩手の両県において、過去20余年にわたって調査を行ってきた成績をまとめて整理し、HBV母子感染予防開始前、治験実施期間、公費負担による全面実施期の3期に分けて、それぞれの期間に出生した小学生のHBV関連の血清学的マーカーを測定した。

その結果、両県とも公費負担による全面実施以降に出生した群(1986年以降に出生した群)では、HBs抗原陽性率は0.01%~0.04%にまで減少していた。また、両県とも、経年的なHBs抗原陽性率の減少に伴ってHBs抗体陽性率も減少しており、特に岩手県においてHBs抗体陽性者全例を抽出してHBc抗体を測定したところ、HBs抗体陽性者の中に占めるHBc抗体陽性率の経年的な減少(HBVの自然感染例の減少)がみら

れる点が注目された（小山、高橋各研究協力者）。

4) 輸血に伴う肝炎ウイルス感染の実態調査

昨年度に引き続き、モデル地区（岩手県、大阪市、愛媛県）の協力病院における受血者の全数調査を行った。2006年3月末までに、計1,024例の受血者の輸血後3か月目および輸血前に採取、保存した血清の解析を終了し、9例のHBV DNA陽転例、2例のHCV RNA陽転例を見出した。なお、HBV DNAの陽転が認められた9例中1例は輸血に用いた血液が感染源となったHBV感染であるとの因果関係が立証された（関係当局へは届出済）が、他の症例については因果関係は立証されるには至らなかった。

一方、輸血前、後の検査で、HBV、（HCV）への感染が完全に否定され、輸血本数が12本以下であった単発輸血症例、247例の受血者に対応する献血者1,009例の献血時の保管検体を確保し、各種のHBVマーカーの検出を開始した（西口、柚木、阿部 各班員、大野研究協力者、吉澤）。

2. B型肝炎、C型肝炎の病態、自然経過の解明

1) HBVのジェノタイプと肝病態との関連

(1) HBVのジェノタイプと肝病態（急性肝炎、劇症肝炎）との関係に注目し、計301例を対象とした調査、解析を行った。その結果、ジェノタイプAのHBV感染に起因する急性B型肝炎では、慢性化率が高い（2/23：8.7%）

こと、劇症肝炎を発症した集団内におけるジェノタイプAのHBVの占める比率は、他のジェノタイプのHBVの占める比率に比べて低いこと（0% vs 33%）が明らかとなった（溝上班員）。

(2) ジェノタイプCのHBVのコアプロモーター領域の変異とHBe抗体陽性例における肝発がんとの関係に注目した解析を行った。その結果、これまで肝がんへの進展との関係が報告されてきた1762/1764のbasic core promoter変異に1653変異が加わることにより肝がんの発生が増加することを示唆する成績を得た（溝上班員）。

2) Occult HBV感染の肝発がんに及ぼす影響

C型肝炎硬変142例、非B非C型肝炎硬変82例を対象として、Occult HBV感染の有無が肝発がんに及ぼす影響について解析を試みた。その結果、C型肝炎硬変にいわゆるOccult HBV感染（HBs抗原陰性、HBc抗体陽性、HBV DNA陽性）が合併しても、HBV感染の合併がないC型肝炎硬変からの肝発がんに比べて差はみられないのに対して、非B非C型肝炎硬変では有意に肝発がん率が高くなること明らかとなった（相対危険度：8.25）（池田班員）。

3) 献血を契機に見出されたHCVキャリアの肝病態とその推移

献血を契機に見出されたHCVキャリア、計1020例の肝病態の再調査を行った。また、5年以上の経過観察が可能であった408例を、この間にインターフェロン治療を受けていなかった

た211例と、受けていた197例とに分けて、肝病態の推移を対比、検討した。その結果、以下のことが明らかとなった。すなわち、

- (1) 初診時に、男性の63%、女性の43%が慢性肝炎と診断されていた。
- (2) 初診時に慢性肝炎と診断された症例のうち、男女ともその46%が初診の時点で直ちに治療を開始する必要があると判断されていた。
- (3) 5年以上にわたって経過が観察できた408例のうち、肝がんへの進展が認められたのは、この間にインターフェロン(IFN)治療を受けていない211例では5例(2.4%)、IFN治療を受けた197例では7例(3.6%)であった。なお、この7例はいずれもIFN治療無反応例(non-responder)であった。
- (4) IFN治療を受けた197例では、62例(31.5%)でHCV RNAが消失していた(田中班員、吉澤)。

3. HBV、HCVキャリア対策

1) HCVキャリアを見出すための検査手順の妥当性の検証

岩手県予防医学協会における「肝炎ウイルス検診」、「人間ドック」および「職域検診」受診者を対象として、2003年4月に改訂した「HCVキャリアを見出すための検査手順」の妥当性の検証を行った。その結果、2003年4月から2005年12月までの全受診者143,144人でみる限り、HCVコア抗原検査に引き続いて行なう核酸増幅検査(NAT)によるHCV

RNA検査も含めて所期の目的通り合理的に機能していることが明らかとなった(小山研究協力者)。

2) 検診により見出された肝炎ウイルスキャリアの健康管理、治療ネットワークの構築

過去数年間にわたって構築してきた岩手県、茨城県南部、石川県、広島県、久留米地区、そして新たに加わった上五島地区等において、それぞれの地域の特性を生かした形で、行政によるHCVキャリアの健康指導、病・医院への受診促進および、医師会の協力によるかかりつけ医と専門医との機能分担による治療体系の構築をすすめている(阿部、金子、茶山 各班員、松崎、佐田、山崎 各研究協力者)。

3) 患者の健康相談および肝炎ウイルス検査受診率向上のための普及啓発

電話による患者の健康相談、メンタルヘルスケア、肝炎ウイルス検診受診率向上などは、日本肝臓患者団体協議会が担当し、推進している(高畠研究協力者)。

4. 感受性動物(チンパンジー、キメラマウス)を用いた感染実験

1) チンパンジーを用いたHBVの感染実験

ジェノタイプCのHBVを接種材料として、チンパンジーを用いた感染実験を行ない、以下の事項を明らかにした。

- (1) 感染成立に必要なHBV量は、HBV DNAの定量値に換算すると10コピー相当(絶対量)であること。

(2) 感染成立後4~6週で末梢血中のHBV DNA量は 10^2 コピー/mlに達すること(NATのウィンドウ期は4~6週であること)。

(3) 「感染成立早期」の末梢血中において、HBV DNA量が2倍、10倍に増えるために必要な時間(doubling time、log time)はそれぞれ1.7~2.5日、5.6日~8.3日であること。

(4) ジェノタイプCのHBVによる実験結果とジェノタイプAのHBVによる実験結果(1年目に報告済み)とを比較すると、感染成立に必要な最少HBV量は同じであるものの、「感染成立早期」における複製の速度はジェノタイプCのHBVの方が速いこと。

(田中、柚木 各班員、友栗研究協力者、吉澤)

2) ヒト肝細胞置換キメラマウスを用いた感染実験 —チンパンジーの代替実験動物としての有用性の検証—

ヒト肝細胞置換キメラマウスを用いてジェノタイプAのHBVを接種材料とした感染実験を行ない、以下の事項を明らかにした。

(1) 感染成立に必要な最少HBV量は、HBV DNA量に換算して 10^2 コピー相当(絶対量)であること。

(2) 安全を見込むと、接種後6週で感染成立の有無を確実に判定することができること。

以上の結果は、この小動物はチンパンジーの代替実験動物として十分に機能することを示していると言える。また、この小動物はHCVの感染実験についてもチンパンジーの代替

実験動物として活用できることが明らかとなりつつある(田中、柚木各班員、吉澤)。

3) ヒト肝細胞置換キメラマウスを用いた感染実験 —肝炎ウイルスを標的とする抗ウイルス剤の効力試験への応用の可能性—

肝炎ウイルスを感染させたヒト肝細胞置換キメラマウスは、既知の抗ウイルス剤の効果判定に有用であることから、今後新たに開発される肝炎ウイルスを標的とする抗ウイルス剤の効力をテストするスクリーニングに活用できる可能性が示された(茶山班員)。

4) HCV感染初期における宿主初期免疫応答の解析

実験的にHCVを感染させたチンパンジーの「感染初期」の樹状細胞(Dendritic Cell: DC)の動態を解析した結果、HCV感染の遷延化を阻止(早期にHCVを排除)するためには、Plasmacytoid DCの早期活性化とこれに伴うHCVの取り込みがおこることが重要であることを示唆する成績を得た(菅野研究協力者)。

D. 結論

3年計画の2年目にあたる調査・研究を申請時の研究課題に従って実施し、以下の結論を得た。

1. HBV、HCV感染の疫学的研究

1) 核酸増幅検査(Nucleic acid Amplification Test: NAT)により見出されたHBV DNA陽性の血清を対象として解析した結果、

(1) HBV DNA陽性者数は30歳以

- 下の若い世代に偏っていること。
- (2) 30歳以下の若い世代では、HBV DNAのみが検出される「HBV感染早期群」がほとんどを占めていること。
 - (3) 20歳～39歳のHBV DNA陽性の献血者423例についてみると、このうちの87例(20.6%)がジェノタイプAのHBVに感染していること。
 - (4) 40歳以上の世代では、いわゆる「HBV感染晚期群」が多くみられること。
- が明らかとなった。
- 2) 全国調査の結果、わが国の透析患者におけるHCV感染の新規発生率は年率2.2%にのぼることが明らかとなった。
 - 3) 広島県内の9つの幹事透析医療施設においてHCV感染防止のための介入(透析室の環境改善、スタッフへの教育訓練による器具、機材などを介した汚染拡大の防止等の改善)を行った後、1年間はHCVの新たな感染は発生しなかったことが確認された。しかし、介入後1年余を経た後に、同一施設内において相次いで計2例のHCV感染事例の発生を経験し、スタッフへの教育訓練のあり方等について未だ解決すべき問題点が残されていることが明らかとなった。
 - 4) 透析患者集団におけるHBs抗原陽性率は2.5～2.6%、HBs抗体陽性率者11.9～13.7%、HBc抗体陽性率は18.8～21.1%であることなどが明らかとなった。
 - 5) 静岡、岩手の両県において、HBV母子感染予防開始前、治験実施期間、公費負担による全面実施期の3期に分けて、それぞれの期間に出生した小

- 学生のHBV関連の血清学的マーカーを測定した結果、両県とも公費負担による全面実施以降に出生した群(1986年以降に出生した群)では、HBs抗原陽性率は0.01%～0.04%にまで減少していた。また、経年的なHBs抗原陽性率の減少に伴ってHBs抗体陽性率も減少していた。
- 6) 2006年3月末までに、計1,024例の受血者の血清の解析を終了し、9例のHBV DNA陽転例、2例のHCV RNA陽転例を見出した。なお、HBV DNAの陽転が認められた9例中1例は輸血に用いた血液が感染源となったHBV感染であるとの因果関係が立証された(関係当局へは届出済)が、他の症例については因果関係は立証されるには至らなかった。
 - 7) ジェノタイプAのHBV感染に起因する急性B型肝炎では、慢性化率が高い(2/23:8.7%)こと、劇症肝炎を発症した集団内におけるジェノタイプAのHBVの占める比率は、他のジェノタイプのHBVの占める比率に比べて低いこと(0% vs 33%)が明らかとなった。
 - 8) これまで肝がんへの進展との関係が報告されてきた1762/1764のbasic core promoter変異に1653変異が加わることにより肝がんの発生が増加することを示唆する成績を得た。
 - 9) C型肝炎硬変にいわゆるOccult HBV感染(HBs抗原陰性、HBc抗体陽性、HBV DNA陽性)が合併しても、HBV感染の合併がないC型肝炎硬変からの肝発がんに対しては差はみられないのに対して、非B非C型肝炎硬変では有意に肝発がん率が高くなることが明らかとなった。
 - 10) 献血を契機に見出されたHCVキャリア1020例の肝病態の再調査を行っ

- た結果、以下のことが明らかとなった。すなわち、
- (1) 初診時に、男性の63%、女性の43%が慢性肝炎と診断されていた。
 - (2) 初診時に慢性肝炎と診断された症例のうち、男女ともその46%が初診の時点で直ちに治療を開始する必要があると判断されていた。
 - (3) 5年以上にわたって経過が観察できた408例のうち、肝がんへの進展が認められたのは、この間にインターフェロン(IFN)治療を受けていない211例では5例(2.4%)、IFN治療を受けた197例では7例(3.6%)であった。なお、この7例はいずれもIFN治療無反応例(non-responder)であった。
 - (4) IFN治療を受けた197例では、62例(31.5%)でHCV RNAが消失していた。
- 11) 2003年4月に改訂した「HCVキャリアを見出すための検査手順」の妥当性の検証を行った結果、2003年4月から2005年12月までの岩手県予防医学協会におけるHCV検査受診者143,144人でみる限り、HCVコア抗原検査に引き続いて行なう核酸増幅検査(NAT)によるHCV RNA検査も含めて所期の目的通り合理的に機能していることが明らかとなった。
- 12) 岩手県、茨城県南部、石川県、広島県、久留米地区、そして新たに加わった上五島地区等において、HCVキャリアの健康指導、病・医院への受診促進および、医師会の協力によるかかりつけ医と専門医との機能分担による治療体系の構築をすすめている。
- 13) 電話による患者の健康相談、メンタルヘルスケア、肝炎ウイルス検診受診率向上などは、日本肝臓患者団体協議会が担当し、推進している。
- 14) ジェノタイプCのHBVを接種材料として、チンパンジーを用いた感染実験を行ない、以下の事項を明らかにした。
- (1) 感染成立に必要なHBV量は、HBV DNAの定量値に換算すると10コピー相当(絶対量)であること。
 - (2) 感染成立後4~6週で末梢血中のHBV DNA量は 10^2 コピー/mlに達すること(NATのウィンドウ期は4~6週であること)。
 - (3) 「感染成立早期」の末梢血中において、HBV DNA量が2倍、10倍に増えるために必要な時間(doubling time、log time)はそれぞれ1.7~2.5日、5.6日~8.3日であること。
 - (4) ジェノタイプCのHBVによる実験結果とジェノタイプAのHBVによる実験結果(1年目に報告済み)とを比較すると、感染成立に必要な最少HBV量は同じであるものの、「感染成立早期」における複製の速度はジェノタイプCのHBVの方が速いこと。
- 15) ヒト肝細胞置換キメラマウスを用いてジェノタイプAのHBVを接種材料とした感染実験を行ない、以下の事項を明らかにした。
- (1) 感染成立に必要な最少HBV量は、HBV DNA量に換算して10コピー相当(絶対量)であること。
 - (2) 安全を見込むと、接種後6週で感染成立の有無を確実に判定す

ることができること。

- 16) 肝炎ウイルスを感染させたヒト肝細胞置換キメラマウスは、今後新たに開発される肝炎ウイルスを標的とする抗ウイルス剤の効力をテストするスクリーニングに活用できる可能性が示された
- 17) 実験的に HCV を感染させたチンパンジーの「感染初期」の樹状細胞 (Dendritic Cell: DC) の動態を解析した結果、HCV 感染の遷延化を阻止するためには、Plasmacytoid DC の早期活性化とこれに伴う HCV の取り込みがおこることが重要であることを示唆する成績を得た。

E. 知的財産権の出願・登録

なし

F. 文献

〈書籍〉

- 1) 小宮裕、田中純子、吉澤浩司.
ウイルス肝炎の疫学.
ウイルス性肝炎. 最新医学社. 東京. 2005.
16-21
- 2) 吉澤浩司
肝炎ウイルス感染発症時のウイルス学的・疫学的調査 (秋葉隆)
透析治療における感染症予防・治療マニュアル. (株) 日本メディカルセンター. 東京. 2005. 93-99
- 3) 長尾由実子、佐田通夫.
肝炎ウイルスによる肝外病変.(石井裕正)
臨床消化器病学. 朝倉書店. 東京. 2005,
514-516

〈雑誌〉

- 1) Tanaka J, Katayama K, Kumagai J, Komiya Y, Yugi H, Kishimoto S, Mizui M, Tomoguri T, Miyakawa Y, Yoshizawa H
Early dynamics of hepatitis C virus in the circulation of chimpanzees with

experimental infection

Intervirology. 48. 120-123. 2005

- 2) Tanaka Y, Hanada K, Orito E, Akahane Y, Chayama K, Yoshizawa H, Sata M, Ohta N, Miyakawa Y, Gojobori T, Mizokami M
Molecular evolutionary analyses implicate injection treatment for schistosomiasis in the initial hepatitis C epidemics in Japan
Journal of Hepatology. 42. 47-53. 2005
- 3) Kumagai J, Komiya Y, Tanaka J, Katayama K, Tatsukawa Y, Yorioka N, Miyakawa Y, Yoshizawa H.
Hepatitis C virus infection in 2,744 hemodialysis patients followed regularly at nine centers in Hiroshima during November 1999 through February 2003
Journal of Medical Virology. 76. 498-502. 2005
- 4) Yoshizawa H, Tanaka J, Miyakawa Y
National prevention of hepatocellular carcinoma in Japan based on epidemiology of hepatitis C virus infection in the general population
Intervirology. 49 (1-2) . 7-17. 2006
- 5) 田中純子、吉澤浩司
本邦における地域別にみた肝炎ウイルス罹患状況と肝臓がん
総合臨床. 54(3). 452-462. 2005
- 6) 吉澤浩司
肝炎ウイルス (B型、C型)
Medical Technology. 33(6). 556. 2005
- 7) 吉澤浩司
肝炎ウイルス検診の現状と今後の展望
日本医師会雑誌. 134(4). 592. 2005
- 8) 吉澤浩司、田中純子
肝炎ウイルス検診の実施と今後に残された課題
日本消化器病学会雑誌. 102(9). 1123-1131. 2005
- 9) 田中純子、片山恵子、小宮裕、山口博幸、新田一博、日野尚子、笠松淳也、吉澤浩司
広島県における肝炎ウイルス検診の実施成績