

Fig. 1. Age-specific prevalence of HBsAg in the first-time blood donors with their ages extrapolated to the year 2000.

Table 4. Age-specific total and sex-specific prevalence of antibody to HCV in the first-time blood donors in Japan during 1995–2000

Age groups (year of birth)	Total		Men		Women	
	n	HCV	n	HCV	n	HCV
16–19 (1981–1984)	582,415	737 (0.13) [0.12–0.14]	273,842	294 (0.11)	308,573	443 (0.14)
20–29 (1971–1980)	1,929,147	4,012 (0.21) [0.20–0.21]	1,004,986	1,976 (0.20)	924,161	2,036 (0.22)
30–39 (1961–1970)	472,447	3,633 (0.77) [0.74–0.79]	277,627	2,288 (0.82)	194,820	1,345 (0.69)
40–49 (1951–1960)	247,020	3,165 (1.28) [1.24–1.33]	120,576	1,704 (1.41)	126,444	1,461 (1.16)
50–59 (1941–1950)	198,477	3,565 (1.80) [1.74–1.85]	80,336	1,455 (1.81)	118,141	2,110 (1.79)
60–69 (1931–1940)	56,142	1,898 (3.38) [3.23–3.53]	22,782	787 (3.45)	33,360	1,111 (3.33)
Total	3,485,648	17,010 (0.49) [0.48–0.50]	1,780,149	8,504 (0.48)	1,705,499	8,506 (0.50)

Figures in parentheses represent percentage, those in square brackets the 95% CI.

Prevalence of Anti-HCV among Blood Donors Stratified by Sex and Age

Sex- and age-specific prevalence rates of anti-HCV among blood donors are shown in table 4. Overall, anti-HCV was detected in 0.49% of the blood donors. As for HBsAg, the prevalence of anti-HCV increased with age in both men and women. Unlike HBsAg, however, the prevalence of anti-HCV did not reach a plateau in the age group of 50–59 years. It was by far the highest in the oldest age group examined (60–69 years) at 3.45% in men and 3.33% in women.

When the prevalence of anti-HCV was plotted against the age notched by 1 year (fig. 2), the increase of anti-HCV with age became more prominent in comparison with the age profile of HBsAg (fig. 1). In particular, the increase of

anti-HCV was almost exponential in the blood donors aged older than 55 years in 2000.

Assuming 70% of the individuals with anti-HCV would have an ongoing infection with HCV RNA in the serum, the numbers of HCV carriers were estimated on the basis of anti-HCV prevalence and the population/sub-population in Japan at the Census 2000 (table 5). The total number of HCV carriers was estimated at 884,954. Due to the prevalence of anti-HCV markedly increasing with age, the estimated numbers of HCV carriers were highest in the age groups older than 50 years in both men and women. Amongst the HCV carriers aged from 15 to 69 years in Japan in the year 2000, therefore, carriers aged from 40 to 69 years accounted for 85.8%.

Fig. 2. Age-specific prevalence of anti-HCV in the first-time blood donors with their ages extrapolated to the year 2000.

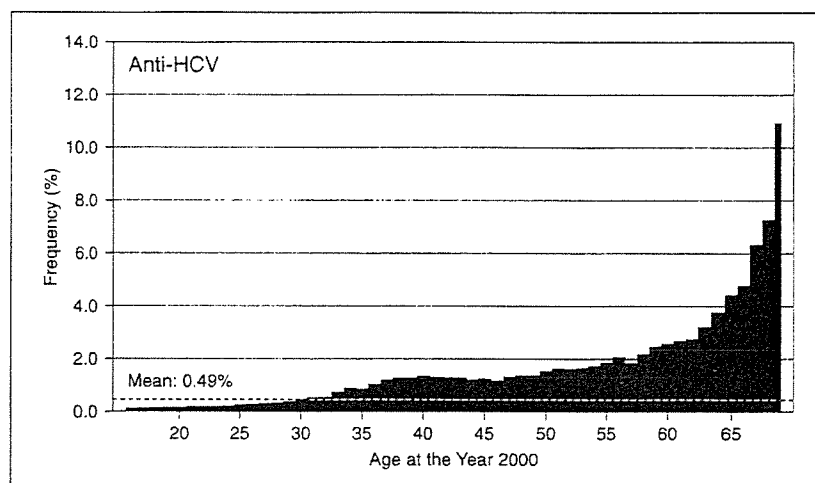


Table 5. Estimated numbers of individuals who carry HCV in Japan stratified by sex and age

Age at 2000	Total		Men		Women	
	n	HCV	n	HCV	n	HCV
≤ 14	18,472,499		9,459,102		9,013,397	
15-19	7,488,165	6,716 (4,568-8,864)	3,833,984	2,905 (1,864-3,946)	3,654,181	3,811 (2,704-4,917)
20-29	18,211,769	26,807 (23,203-30,410)	9,272,519	12,967 (11,226-14,708)	8,939,250	13,840 (11,977-15,703)
30-39	16,891,475	92,115 (78,268-105,962)	8,533,104	51,457 (44,693-58,220)	8,358,371	40,658 (33,575-47,742)
40-49	16,716,227	155,653 (130,907-180,399)	8,391,943	89,515 (75,894-103,136)	8,324,284	66,138 (55,013-77,263)
50-59	19,176,162	246,336 (208,241-284,430)	9,500,277	128,800 (107,083-150,516)	9,675,885	117,536 (101,159-133,914)
60-69	14,841,772	357,327 (279,894-434,760)	7,106,809	178,720 (137,166-220,273)	7,734,963	178,608 (142,728-214,488)
>70	14,899,213		5,864,835		9,034,378	
15-69	93,325,570	884,954 (725,082-1,044,826)		464,363 (377,927-550,799)		420,591 (347,156-494,027)

Figures in parentheses represent 95% CI.

Regional Differences in the Prevalence Rates and Carrier Numbers of Hepatitis Virus Infections in Japan

Blood donors were examined for serum markers of HBV and HCV infection in the eight jurisdictions in Japan (table 1). Sex- and age-specific prevalence rates of HBsAg, as well as numbers of HBV carriers in each of the eight jurisdictions are illustrated in figure 3a and b, and those of anti-HCV in figure 4a and b. Although the prevalence of both HBsAg increased with age and exhibited similar patterns in all the eight jurisdictions, it was highest in Hokkaido representing the northernmost island, and lowest in the Chubu/Tokai district, the geographical center of Japan (fig. 3a).

The prevalence of anti-HCV was very different from that of HBsAg (fig. 4a). It was higher in Chugoku, Shikoku and Kyushu, in the southwestern areas of Japan, than in the other districts.

Discussion

Transmission of HBV for establishing the persistent carrier state has been prevented effectively by the national program for passive and active immunoprophylaxis of perinatal transmission of HBV from carrier mothers to their babies implemented in 1986 in Japan [3, 4]. Unlike HBV infection that tends to perpetuate in the infancy but

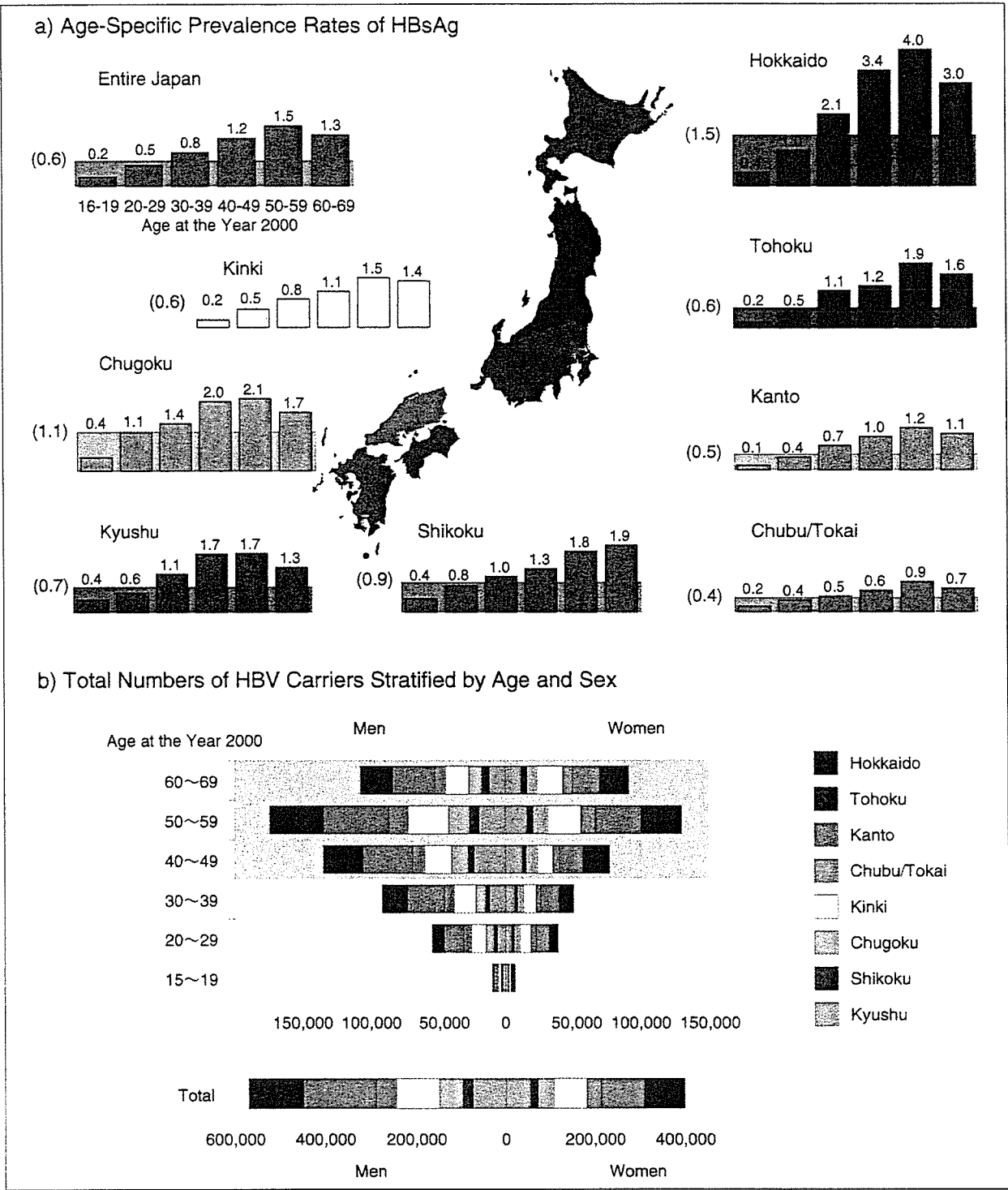


Fig. 3. Sex- and age-specific prevalence of HBsAg in the first-time blood donors from the eight jurisdictions in Japan during 1995–2000 (a) and estimated total numbers of HBV carriers stratified by sex and age (b).

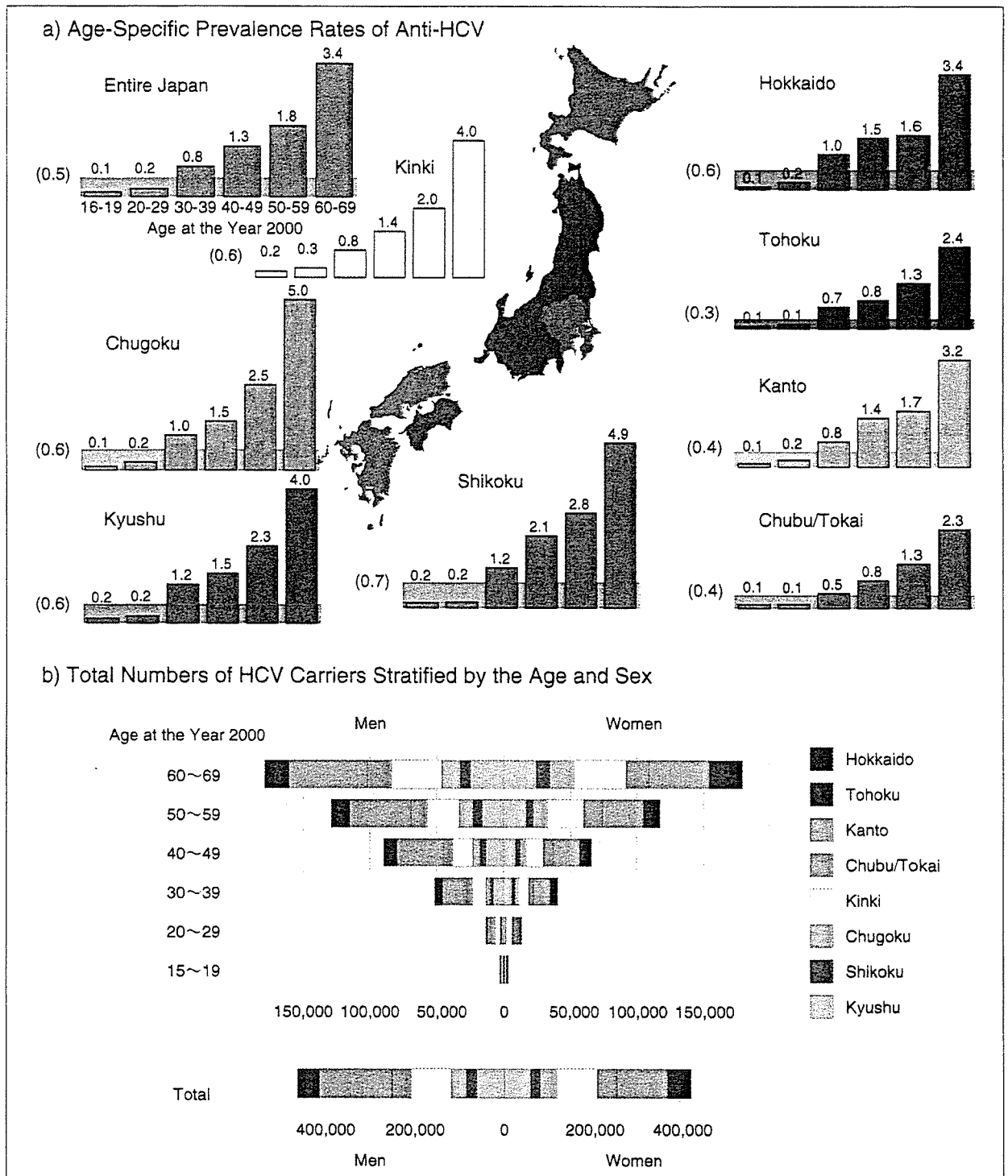


Fig. 4. Sex- and age-specific prevalence of anti-HCV in the first-time blood donors from the eight jurisdictions in Japan during 1995–2000 (a) and estimated total numbers of HCV carriers stratified by sex and age (b).

resolves spontaneously in most cases of adulthood infection, infection with HCV in adults has a high propensity to become persistent (70–80%) [5, 6]. Thrust by rare perinatal transmission of HCV [7, 8], the incidence of de novo HCV infection has become extremely rare in Japan [1]. There are, however, many individuals who have been infected with HBV and HCV persistently in Japan.

HCC is rare among malignancies because people at risk are easily identified. Unlike in the United States where one half of HCC cases develop in patients with cryptogenic liver cirrhosis [9], such cases occur in less than 10% in Japan. Approximately 75% of HCC cases are accounted for by HCV infection and 16% by HBV infection [1]. Hence there is a need to identify individuals infected with HBV or HCV who are at high risk of HCC, follow them closely and take measures to prevent and treat HCC immediately as required. Since HCC develops later in life, screening for HBV and HCV infection is reasonably indicated for Japanese individuals when they reach 40 years of age.

As a result, the national program to test for HBsAg and HCV RNA was started as of April 2002. All individuals are offered to undergo tests for HBsAg and HCV RNA at the regular health checkups they are given when they reach 40 years of age and every 5 years thereafter. Thus, the program will cover all individuals aged ≥ 40 years in March 2007; only those who reach the age of 40 years will receive tests annually thereafter. Additionally, tests for HBsAg and HCV RNA have been extended to include individuals who are also at risk of developing HCC for different reasons, such as those with elevated transaminase levels or having a history of transfusion with blood or blood products, or family members of patients with liver disease, even if they do not qualify for the 5-year health checkups.

In order to have an idea of how many HBV or HCV carriers are identified by the national screening, and to plan medical and financial measures to deal with them to prevent the development of HCC and treating it if necessary, it is of crucial importance to estimate their total numbers in Japan. The blood donation system conducted by the Japanese Red Cross Association offers a unique and rare opportunity to survey the extent of HBV and HCV infections on a national basis. Tests for serological markers have been performed with the same reagents (since 1970 for HBsAg with hemagglutination and since 1992 for anti-HCV with the second-generation immunoassay) on approximately 6 million units of donated blood annually for securing the safety of transfusions and infusion with blood products.

Worldwide, approximately 1.9 million people are estimated to be infected with HCV [10]. Of the 45 surveys conducted on blood donors from various countries, 22 tested more than 10,000 donors and only 7 examined more than 100,000 donors [11]. The prevalence of anti-HCV in sizable blood donor groups varies widely from 0.005 in Germany [12] to 1.85% in India [13]. Even in the same country, the reported prevalence rate of anti-HCV ranges from 0.17 to 0.5% in the United States [14–16] and from 0.19 to 2.2% in Japan [17–19]. In the present survey, anti-HCV was detected in 0.6% of some 3.5 million first-time blood donors in Japan with the use of the standardized method for detection. In order to estimate carriers of HCV as well as HBV carriers in a given country, caution is needed to avoid variations due to local differences and methods for detecting viral markers.

In view of the fact that HCC develops 4 times more frequently in men than in women, and preferentially in ages older than 55 years for HBV-associated and 65 years or older for HCV-associated HCC [1], the prevalence rates of HBsAg and anti-HCV were determined in blood donors stratified by sex and age. Since the Japanese Red Cross Association operates in the eight jurisdictions, sex- and age-specific prevalence rates of viral markers were compiled in each of them separately. Such an attempt may reveal local differences, if any, in the exposure to and persistence of HBV and HCV infections.

On the basis of prevalence rates of HBsAg and anti-HCV in the first-time blood donors, and the number of men and women in different age groups determined in the Census 2000, there were an estimated 967,753 HBV carriers and 884,954 HCV carriers aged from 15 to 69 years in Japan. Those of cancer-bearing age, who were 40–69 years old and targeted in the screening program, accounted for 73.8% of HBV carriers and 85.8% of HCV carriers among the respective carriers aged from 15 to 69 years in Japan. Hence, the screening program would be able to efficiently identify Japanese people at risk of developing HCC associated with HBV or HCV infection.

Although profiles of the sex- and age-specific distribution of both HBsAg and anti-HCV were comparable among blood donors in the eight jurisdictions, there was a wide variety of the mean prevalence of these viral markers between them. Thus, the mean prevalence rate of HBsAg varied from 0.4% in Chubu/Tokai in the center of Japan to 1.5% in Hokkaido in the north. Anti-HCV, in contrast, tended to be more prevalent in southwestern regions of Japan represented by Chugoku (0.6%), Shikoku (0.7%) and Kyushu (0.6%); they may be responsible, at least in part, for the fact that the incidence of

HCC increases from the northeast to southwest along the Japan Islands [20].

It has to be pointed out, however, that the estimation on the basis of the first-time blood donors is subject to cohort effects in that only persons who wish to donate blood can be examined. Although the first-time blood donors tested for viral markers covered approximately 4% of the Japanese aged from 15 to 69 years in toto, they had an uneven age distribution and were biased in favor of younger generations with a low representation of older ages. They covered 7.8% of individuals in the age group of 15–19 years, 10.5% of 20–29 years and 2.8% of 30–39 years; the representation was low at 1.5% of individuals in the age group of 40–49 years, 1.0% of 50–59 years and merely 0.4% of 60–69 years. Hence, the reliability becomes lower in the estimation of HBV and HCV carriers in older age groups who are at high risk of developing HCC. As data on the prevalence of HBsAg and anti-HCV are accumulating during 2002 through 2006 in the national survey, it will be evaluated how closely the prevalence rates of viral markers in the first-time blood donors in this study represent those that are established in larger populations. At present, however, there are no better cohorts for

estimating the prevalence rates of persistent hepatitis virus infections than the first-time blood donors, both in scale and quality.

Now that the number of HBV and HCV carriers has been reasonably estimated, measures to manage them need to be planned both in their magnitude and regarding costs. It would be the duty of the medical domain and the government to see to it that carriers of HBV or HCV are regularly screened for HCC and receive treatment to prevent the development of HCC as well as treatment for HCC if necessary. Knowing that HCV infection accounts for 75% of HCC cases at present [1] and that a large proportion of HCV infections in the past occurred after blood transfusion and inadequate medical practices in Japan, physicians and ministries in charge are obliged to do their best in working toward the goal of preventing and curing HCC associated with HCV infection.

Acknowledgments

This study was supported in part by grants for Health Science Research and Research on Emerging and Re-emerging Infectious Diseases from the Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare.

References

- 1 Yoshizawa H: Hepatocellular carcinoma associated with hepatitis C virus infection in Japan: Projection to other countries in the foreseeable future. *Oncology* 2002;62:S8–S17.
- 2 El-Serag HB: Hepatocellular carcinoma: An epidemiologic view. *J Clin Gastroenterol* 2002;35:S72–S78.
- 3 Noto H, Terao T, Ryou S, Hirose Y, Yoshida T, Ookubo H, Mito H, Yoshizawa H: Combined passive and active immunoprophylaxis for preventing perinatal transmission of the hepatitis B virus carrier state in Shizuoka, Japan during 1980–1994. *J Gastroenterol Hepatol* 2003;18:943–949.
- 4 Koyama T, Matsuda I, Sato S, Yoshizawa H: Prevention of perinatal hepatitis B virus transmission by combined passive-active immunoprophylaxis in Iwate, Japan (1981–1992) and epidemiological evidence for its efficacy. *Hepatol Res* 2003;26:287–292.
- 5 Alter HJ, Seeff LB: Recovery, persistence, and sequelae in hepatitis C virus infection: A perspective on long-term outcome. *Semin Liver Dis* 2000;20:17–35.
- 6 Seeff LB: Natural history of hepatitis C. *Am J Med* 1999;107:S10–S15.
- 7 Ohto H, Terazawa S, Sasaki N, Hino K, Ishiwata C, Kako M, Ujiiie N, Endo C, Matsui A, et al: Transmission of hepatitis C virus from mothers to infants. The Vertical Transmission of Hepatitis C Virus Collaborative Study Group. *N Engl J Med* 1994;330:744–750.
- 8 Moriya T, Sasaki F, Mizui M, Ohno N, Mohri H, Mishiuro S, Yoshizawa H: Transmission of hepatitis C virus from mothers to infants: Its frequency and risk factors revisited. *Biomed Pharmacother* 1995;49:59–64.
- 9 El-Serag HB, Mason AC: Risk factors for the rising rates of primary liver cancer in the United States. *Arch Intern Med* 2000;160:3227–3230.
- 10 Cohen J: The scientific challenge of hepatitis C. *Science* 1999;285:26–30.
- 11 Memon MI, Memon MA: Hepatitis C: An epidemiological review. *J Viral Hepat* 2002;9:84–100.
- 12 Schottstedt V, Tuma W, Bunger G, Lefevre H: PCR for HBV, HCV and HIV-1 experiences and first results from a routine screening programme in a large blood transfusion service. *Biologicals* 1998;26:101–104.
- 13 Panigrahi AK, Panda SK, Dixit RK, Rao KV, Acharya SK, Dasarathy S, Nanu A: Magnitude of hepatitis C virus infection in India: Prevalence in healthy blood donors, acute and chronic liver diseases. *J Med Virol* 1997;51:167–174.
- 14 Anderson SC, Hathaway T, Kuramoto IK, Holland PV, Gilcher R, Koch T, Hojvat S: Comparison of two second-generation anti-hepatitis C virus ELISA on 21,431 US blood donor samples. *J Viral Hepat* 1995;2:55–61.
- 15 Murphy EL, Bryzman S, Williams AE, Co-Chien H, Schreiber GB, Ownby HE, Gilcher RO, Kleinman SH, Matijas L, Thomson RA, Nemo GJ: Demographic determinants of hepatitis C virus seroprevalence among blood donors. *JAMA* 1996;275:995–1000.
- 16 Chuang TY, Brashear R, Lewis C: Porphyria cutanea tarda and hepatitis C virus: A case-control study and meta-analysis of the literature. *J Am Acad Dermatol* 1999;41:31–36.
- 17 Tanaka E, Kiyosawa K, Sodeyama T, Hayata T, Ohike Y, Nakano Y, Yoshizawa K, Furuta S, Watanabe Y, Watanabe J, et al: Prevalence of antibody to hepatitis C virus in Japanese schoolchildren: Comparison with adult blood donors. *Am J Trop Med Hyg* 1992;46:460–464.
- 18 Watanabe J, Matsumoto C, Fujimura K, Shimada T, Yoshizawa H, Okamoto H, Iizuka H, Tango T, Ikeda H, Endo N, et al: Predictive value of screening tests for persistent hepatitis C virus infection evidenced by viraemia. Japanese experience. *Vox Sang* 1993;65:199–203.
- 19 Sasaki F, Tanaka J, Moriya T, Katayama K, Hiraoka M, Ohishi K, Nagakami H, Mishiuro S, Yoshizawa H: Very low incidence rates of community-acquired hepatitis C virus infection in company employees, long-term inpatients, and blood donors in Japan. *J Epidemiol* 1996;6:198–203.
- 20 Kiyosawa K, Tanaka E: Characteristics of hepatocellular carcinoma in Japan. *Oncology* 2002;62:S5–S7.

Titration of Hepatitis C Virus in Chimpanzees for Determining the Copy Number Required for Transmission

Keiko Katayama^a Junko Kumagai^a Yutaka Komiya^a Masaaki Mizui^b
Hisao Yugi^c Shinya Kishimoto^d Retsuji Yamanaka^e Shigeru Tamatsukuri^f
Tetsushi Tomoguri^g Yuzo Miyakawa^h Junko Tanaka^a Hiroshi Yoshizawa^a

^aDepartment of Infectious Disease and Control, Hiroshima University Graduate School of Biomedical Sciences, Hiroshima; ^bDepartment of Laboratory Medicine, Japanese Red Cross Hiroshima Blood Center, Hiroshima; ^cDepartment of NAT, Japanese Red Cross Tokyo Blood Center, Tokyo; ^dResearch Department, Japanese Red Cross Saitama Blood Center, Saitama; ^eJapanese Red Cross Association, Tokyo; ^fPCR Technical Center, Roche Diagnostics, KK, Tokyo; ^gKumamoto Primate Park, Sanwa Kagaku, Kenkyusho, Ltd., Kumamoto, and ^hMiyakawa Memorial Research Foundation, Tokyo, Japan

Key Words

Blood products · Chimpanzee · Hepatitis C virus · Polymerase chain reaction · Transfusion · Minimal infectious (virus) titer

Abstract

Objective: To determine the copy number of hepatitis C virus (HCV) RNA, determined by nucleic acid amplification test (NAT) for screening blood units in Japan, that can transmit infection to chimpanzees. **Methods:** Fresh-frozen plasma with markers of HCV infection, as well as inocula pedigreed from 1 of them, were evaluated for the infectious activity in chimpanzees. **Results:** One unit each (273–282 ml) of fresh-frozen plasma from 2 blood donors or a pool from 13 donors to make a unit, which contained high-titered antibody to HCV but without HCV RNA detectable by NAT, did not infect any of 3 chimpanzees. Two chimpanzees were infected, however, when they were inoculated with 1 ml of serum from a blood donor in the 'window period' of HCV infection and containing 7.0×10^6 copies/ml of HCV RNA. The preacute phase serum from 1 of them harvested 7 weeks after the

inoculation was titrated in 2 chimpanzees, and an inoculum containing approximately 2×10^1 copies of HCV RNA could transmit infection to both of them. **Conclusion:** Approximately 20 copies of HCV can transmit infection to recipients, which needs to be taken into consideration in planning the screening of blood units for HCV RNA by NAT. Although the sensitivity of present NAT could be improved further, there would be a limit of it in detecting a low-level HCV RNA in the window period of donors with the infectious capacity in recipients.

Copyright © 2004 S. Karger AG, Basel

Introduction

The discovery of hepatitis C virus (HCV) by cloning its genes in 1989 [1], and the development of an immunological method for detecting antibody to HCV (anti-HCV) that followed immediately [2], have enabled the diagnosis of ongoing HCV infection in various clinical and epidemiological settings [3] as well as in blood transfusion services [4]. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) of the first generation involving HCV C1003 protein was intro-

KARGER

Fax + 41 61 306 12 34
E-Mail karger@karger.ch
www.karger.com

© 2004 S. Karger AG, Basel
0300-5526/04/0471-0057\$21.00/0

Accessible online at:
www.karger.com/ini

Hiroshi Yoshizawa, MD
Department of Infectious Disease and Control
Hiroshima University Graduate School of Biomedical Sciences
1-2-3 Kasumi, Minami-ku, Hiroshima 734-8551 (Japan)
Tel: +81 82 2575160. Fax: +81 82 2575164. E-Mail: juntan@hiroshima-u.ac.jp

Table 1. Nine chimpanzees with inocula they received and their outcomes

Chimp	Age, sex, weight	Amount of inoculum	Outcome
<i>Inoculum No. 1: Fresh-frozen plasma (high-titered anti-HCV and HCV RNA negative)</i>			
1	C265 7 years, female, 37.9 kg	1 unit (282 ml)	Not infected
2	C267 7 years, female, 42.5 kg	1 unit (273 ml)	Not infected
3	C235 12 years, female, 44.8 kg	Pool (23 ml × 13)	Not infected
<i>Inoculum No. 2: Fresh-frozen plasma in the window (HCV RNA: 7×10^6 copies/ml)</i>			
4	C205 16 years, male, 61.3 kg	1:10 ⁵ , 1 ml (10 ¹ copies)	Not infected
5	C210 14 years, male, 62.8 kg	1:10 ⁴ , 1 ml (10 ³ copies)	Not infected
6	C268 7 years, male, 43.3 kg	1:10 ³ , 1 ml (10 ³ copies)	Not infected
	C205 Reinoculation	1 ml (7×10^6 copies)	Infected
	C210 Reinoculation	1 ml (7×10^6 copies)	Infected
<i>Inoculum No. 3: Preacute phase serum of C210 (7 week HCV RNA, 2.2×10^5 copies/ml)</i>			
7	C258 12 years, male, 43.3 kg	1:10 ⁴ , 1 ml (2×10^1 copies)	Infected
8	C248 10 years, male, 42.0 kg	1:10 ⁵ , 1 ml (2×10^0 copies)	Not infected
	C248 Reinoculation	1:10 ⁴ , 1 ml (2×10^1 copies)	Infected
9	C224 14 years, male, 57.5 kg	1:10 ⁵ , 1 ml (2×10^0 copies)	Not infected

duced to the screening of blood units in November 1989 in Japan, earlier than any other countries in the world [5]. Since the introduction of the second-generation hemagglutination assay with two other non-structural recombinant proteins of HCV in 1992, the incidence of posttransfusion hepatitis C has decreased infinitely to zero [6].

The detection of anti-HCV even by the most sensitive immunoassay, however, cannot rule out blood donors in a very early phase of HCV infection. Persons infected with HCV and in the preacute phase have not raised anti-HCV during the 'window period', although they harbor HCV RNA in the circulation. Hence, HCV RNA in their sera need to be detected by polymerase chain reaction (PCR) for screening them out from transfusions [7, 8]. Since June 1999 in Japan, nucleic acid amplification test (NAT) was introduced to screening blood donors [9], and identified 60 blood units testing positive for HCV RNA in the absence of anti-HCV detectable by immunoassays until April 2003. There have been no reports of posttransfusion hepatitis C in the recipients of blood units screened for HCV RNA by NAT.

Nevertheless, it is not clear how NAT is efficient for screening out blood units infectious for HCV. In order to evaluate the capacity of NAT for eliminating posttransfusion HCV infection, it is prerequisite to know: (1) whether or not plasma units with high-titered anti-HCV but testing negative for HCV RNA are infectious in recipients, and (2) how many copies of HCV RNA can transmit infection to recipients. The infectious capacity of anti-HCV-positive and NAT-negative plasma units was evalu-

ated in chimpanzees, and the preacute serum from a chimpanzee, who had been infected by the inoculation with the serum from a blood donor in the window period, was titrated in them. This experimental transmission study has allowed to determine how many copies of HCV RNA, detectable by NAT, are required to transmit HCV infection when they are introduced into the bloodstream of recipients.

Materials and Methods

Chimpanzees

Nine chimpanzees entered this study. Their age, sex and weight as well as inocula they received are listed in table 1 along with the outcome of HCV transmission. Every chimp was kept in an individual cage and received humane care in accordance with all relevant requirements for the use of primates in an approved facility. None of the 9 chimps had serological or molecular virological evidence for past or present HCV infection prior to the inoculation. For chimps who received a whole unit of fresh-frozen plasma, erythrocytes from them were cross-matched with the inoculum for preventing transfusion reactions. Chimps received inocula while they were under anesthesia with ketamine hydrochloride. After the inoculation, serum samples were obtained from them once a week until 12 weeks or longer and tested for HCV RNA, anti-HCV and alanine aminotransferase (ALT) as well as aspartate aminotransferase (AST).

Inocula

Three kinds of inocula were tested for the infectious activity in chimps (table 1). *Inoculum No. 1*: 15 units of fresh-frozen plasma that contained anti-HCV in hemagglutination titers ranging from 2⁶ to 2⁸ and were excluded from clinical use, but did not test positive for HCV RNA by NAT. Three chimps received a whole unit of fresh-

Table 2. Detection of HCV RNA in 10-fold serial dilutions of the inoculum

Chimp	Neat	Serial dilutions in self sera				
		1:10 ¹	1:10 ²	1:10 ³	1:10 ⁴	1:10 ⁵
C258	2.2 × 10 ⁵	2.0 × 10 ⁴	2.3 × 10 ³	2.4 × 10 ²	<100	<100
C248	2.2 × 10 ⁵	1.8 × 10 ⁴	2.6 × 10 ³	2.3 × 10 ²	<100	<100
C224	2.2 × 10 ⁵	2.0 × 10 ⁴	3.1 × 10 ³	2.3 × 10 ²	<100	<100

Note: Tenfold serial dilutions of the preacute phase serum from C205 (fig. 2) was prepared by mixing 0.3 ml of it with 2.7 ml of self sera from chimps to be inoculated. This procedure was repeated 4 times to the final dilution of 1:10⁵. HCV RNA in each dilution was determined by Taq Man PCR.

frozen plasma, or the mixture of 13 units to make a volume of 1 unit (282 ml). *Inoculum No. 2:* A unit of fresh-frozen plasma from a donor in the window period and testing positive by NAT for HCV RNA of genotype 1b at a concentration of 7.0×10^6 copies/ml; it had undergone one cycle of freeze and thaw. It was serially diluted with self serum from the chimp to be inoculated at 1:10⁵ (containing 10 copies/ml), 1:10⁴ (10² copies/ml), or 1:10³ (10³ copies/ml), and a 1-ml amount of the diluent was injected intravenously into the corresponding chimp. In another transmission study, a 1-ml amount of the undiluted plasma was injected intravenously into 2 chimps. *Inoculum No. 3:* A preacute phase serum was harvested 7 weeks after inoculation of the infectious plasma (inoculum No. 2) to a chimp (C205) and contained 2.2×10^5 copies/ml of HCV RNA. It was snap-frozen in liquid nitrogen and thawed in a 37° bath at the time of inoculation. The serum was diluted to 1:10⁵ (equivalent to 2 copies/ml in a dilution assay) (table 2) or 1:10⁴ (equivalent to 20 copies/ml) with serum of the recipient chimp, and a 1-ml amount of each was injected intravenously into 2 chimps.

All fresh-frozen plasma units were processed below -30° within 6 h after blood collection, and were within the shelf-life for clinical use.

Serum Markers for HCV Infection

Anti-HCV was determined by passive hemagglutination with commercial kits (the second-generation HCV PHA (Abbott Japan, KK, Tokyo, Japan). HCV RNA was detected in nucleic acids extracted from serum (100 µl) by PCR with nested primers deduced from the 5'-noncoding region of the genome [10], as well as by Ampli-nat MPX (Roche Diagnostics KK, Tokyo, Japan). It was quantitated by Taq Man PCR and Amplicor Monitor (Roche Diagnostics KK).

Results

Fresh-Frozen Plasma with High-Titered Anti-HCV in the Absence of HCV RNA Detectable by NAT (Inoculum No. 1)

Fresh-frozen plasma units containing anti-HCV at hemagglutination titers of 2⁶-2⁸ but testing negative for HCV RNA by NAT (inoculum No. 1) were tested for

infectious activity in chimps (fig. 1). A unit of fresh-frozen plasma (282 ml) was thawed and infused to a chimp (C265) and another unit (273 ml) to C267. A pool (299 ml) made of 23 ml each of 13 fresh-frozen plasma units was infused to C235. HCV RNA was not detected in any of the 3 chimps throughout the follow-up of 12 weeks. None of them developed anti-HCV during this period either.

Fresh-Frozen Plasma from a Donor in the Window Period of HCV Infection (Inoculum No. 2)

A unit of fresh-frozen plasma (inoculum No. 2) was obtained from a donor whose serum tested positive for HCV RNA of genotype 1b but negative for anti-HCV. Because the donor was considered to be in the window period of HCV infection, from the exposure to the development of anti-HCV, his fresh-frozen plasma was not used for treatment of patients. The fresh-frozen plasma was thawed in a 37° bath, aliquoted in 1-ml amounts and kept frozen at -80°.

It was thawed in a 37° bath and diluted to 1:10⁵ (equivalent to about 10 copies/ml), 1:10⁴ (10² copies/ml) or 1:10³ (10³ copies/ml) in self sera from 3 chimps and given intravenously into each of them (C205, C210 and C268), respectively. None of them developed HCV RNA in serum during 6 weeks after inoculation (fig. 2). ALT and AST levels in serum were elevated temporarily in C210 and 268; they remained in normal levels in C205, however.

A 1-ml amount of inoculum No. 2 containing 7.0×10^6 copies of HCV RNA was thawed in a 37° bath, and injected intravenously into 2 chimps (C205 and C210) (fig. 3). They both developed HCV RNA in serum 1 week after the inoculation. HCV RNA increased and reached a plateau 3 weeks after the inoculation in both chimps.

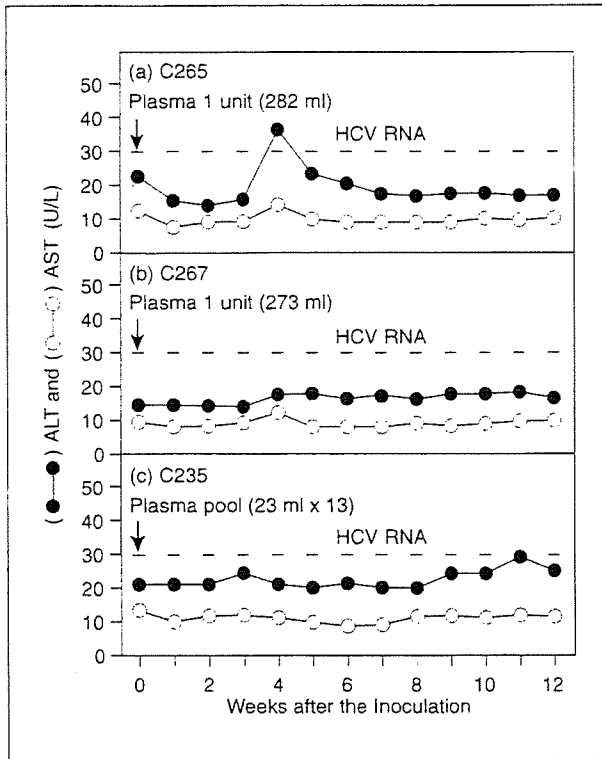


Fig. 1. Inoculation of chimpanzees with fresh-frozen plasma containing anti-HCV but without HCV RNA detectable by NAT (inoculum No. 1). Three chimps received fresh-frozen plasma in a whole unit (a and b) or a pool of 13 plasma in a volume corresponding to 1 unit (c).

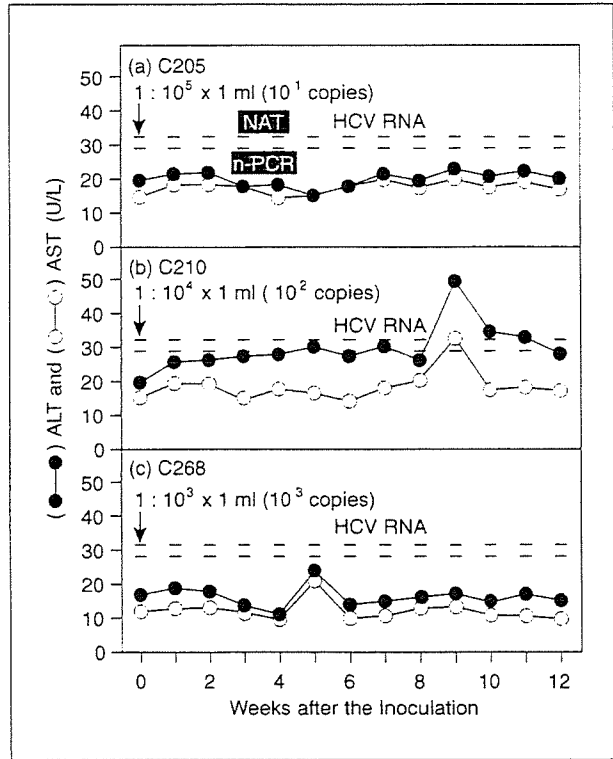


Fig. 2. Titration of fresh-frozen plasma in the window period that had undergone another cycle of freeze and thaw (inoculum No. 2) for infectious activity for HCV in chimpanzees. Three chimps had received different amounts of inocula containing 10, 10² and 10³ copies of HCV RNA (a, b and c, respectively), none of whom were infected.

Serum ALT increased and peaked at 12 weeks when anti-HCV in a low titer became detectable in C205. Likewise, the peak of serum ALT coincided with the detection of anti-HCV at 11 weeks in C210. In C205, HCV RNA disappeared and anti-HCV faded away since 18 weeks after the inoculation. In C210, however, HCV RNA disappeared during 16 and 17 weeks, and then reappeared and stayed positive thereafter. Anti-HCV in C210 remained positive in hemagglutination titers of 2²–2⁴ during 24 weeks after the inoculation, and therefore, persistent HCV infection was established in this chimp.

Titration of HCV in the Preacute Serum from an Infected Chimpanzee (Inoculum No. 3)

The serum (inoculum No. 3) harvested from a chimpanzee (C205) 7 weeks after the inoculation with 1 ml of

an infectious fresh-frozen plasma (inoculum No. 2), when HCV RNA was detected in a high titer (2.2×10^5 copies/ml by Taq Man PCR and 1.8×10^5 U/ml by Amplicor Monitor), was chosen for the titration of HCV in an attempt to determine the copy number of HCV RNA required for transmitting HCV infection. The preacute serum was recovered immediately after blood collection, aliquoted into 1-ml volumes, snap-frozen in liquid nitrogen and stored at -80° . It was thawed in a 37° bath, diluted to 1:10⁵ with self sera from 2 chimps and a 1-ml amount, containing about 2 copies of HCV RNA (table 2), was injected intravenously into each of them (C248 and C224). HCV RNA did not develop in either of them through the observation until 6 weeks or longer. Thereupon, a 1-ml amount of a 1:10⁴ dilution of the same fresh-frozen plasma in the self serum of the recipient chimp,

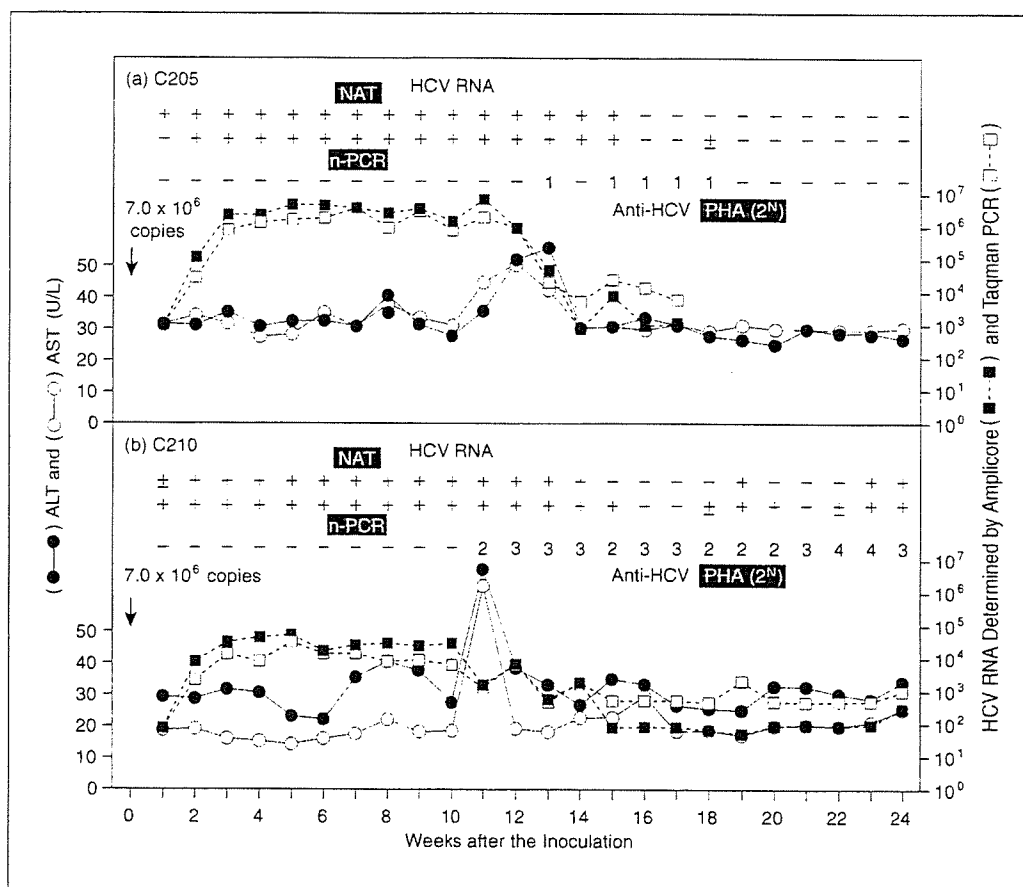


Fig. 3. Transmission of HCV infection to 2 chimpanzees by inoculation with fresh-frozen plasma from a donor in the window period (inoculum No. 2). Each of the 2 chimps received 1 ml of plasma containing 7.7×10^7 copies of HCV. The preacute serum from C205 harvested 7 weeks after the inoculation was used for determining HCV copies required for transmission (a). C210 developed persistent HCV infection accompanied by high-titered anti-HCV (b). NAT = Nucleic acid amplification test; n-PCR = PCR with nested primers; PHA = passive hemagglutination.

containing approximately 20 copies of HCV RNA, was injected intravenously into 2 chimps (C258 and C248).

HCV RNA developed in C258 as well as C248, which had not been infected with 1 ml of inoculum diluted 1:10⁵ and containing about 2 copies of HCV RNA, 1 and 2 weeks after the inoculation, respectively, and persisted at least during 6 and 12 weeks in them (fig. 4). Anti-HCV in high hemagglutination titers was detected at tests performed during 24–28 weeks in C258, while it stayed negative in C248 through the follow-up until 24 weeks. They both kept normal levels of ALT and AST throughout the observation.

Determination of HCV RNA Copies in Inocula Received by C258 and C248

Serial dilutions of the preacute phase serum from C205 in self sera from C258 and C248 were tested for HCV RNA by Taq Man PCR (table 2). Differences in HCV RNA titers between dilutions were very close to 10-fold from 1:10 to 1:10³. Extrapolating the accuracy in dilution to 1:10⁴, which gave negative results by PCR, the copy number of HCV RNA contained in 1 ml of this dilution was estimated at $1.8\text{--}2.4 \times 10$ or close to 20.

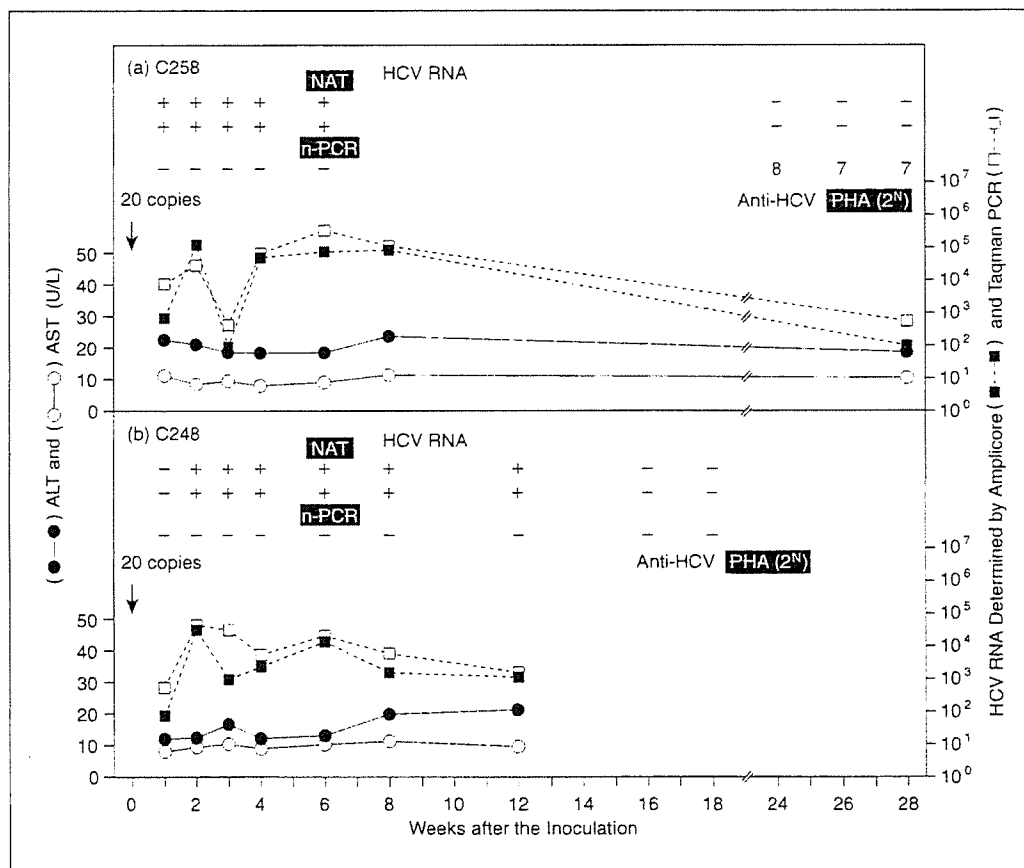


Fig. 4. Transmission of HCV infection to 2 chimpanzees with approximately 20 copies of HCV from preacute serum from a chimpanzee (C205 in fig. 3a) representing inoculum No. 3. Anti-HCV developed in C258 (a), but did not in C248 (b).

Discussion

It is not known how many copies of HCV are required for transmitting infection to susceptible recipients. Chimpanzee is the only species that is susceptible to HCV other than human beings and has contributed enormously to transmission studies since when it was identified as a blood-borne non-A, non-B hepatitis agent [11]. In titrating infectious activity of HCV in chimpanzees, in an attempt to estimate the copy number required for transmission, some issues need to be taken into consideration.

First and foremost, HCV can coexist with anti-HCV in persistent infection. Although the recipient of blood units containing both HCV RNA and anti-HCV develop infection after transfusion, there would exist some anti-HCV

with the activity to neutralize HCV in them. In actuality, neutralizing anti-HCV antibodies are demonstrated in transmission experiments in chimpanzees [12]. Hijikata et al. [13] have observed HCV RNA in sera from persistently infected individuals separate into two bands after ultracentrifugation in a density gradient. They deduced that one band with a lower density would be free HCV, while that with a higher density represents HCV complexed with antibodies. Secondly, defective interfering particles develop in persistent infection with RNA viruses [14]. They thrive at the cost of coinfecting replication-competent virus that lightens metabolic burdens for their propagation, and way outnumber the wild-type virus in hosts during persistent infection. Such defective viruses are demonstrated in persistent HCV infection. also [15,

16]. Thirdly, there would be free circulating HCV abundant in the preacute phase of infection while hosts have not developed immune responses to HCV.

Screening for HCV RNA in sera from blood donors by NAT, implemented since October 1999 in Japan [9], can identify HCV infection in the window period from the exposure to development of anti-HCV in them. Blood samples taken from the donors in the window period defined by NAT would be ideal materials in studies for determining the relationship between HCV RNA copies and the infectious capacity on a quantitative basis, since they are likely to contain free HCV uncomplexed with anti-HCV.

None of the 3 chimps were infected after they had been inoculated with a whole unit or a pool of fresh-frozen plasma containing anti-HCV in high hemagglutination titers (2^6 – 2^8) but without HCV RNA detectable by NAT, thereby attesting to the safety of fresh-frozen plasma screened by the present NAT. The lack of infectious activity in chimps of fresh-frozen plasma, which contained high-titered anti-HCV in the lack of HCV RNA detectable by NAT, may extend their use to the preparation of various blood products that is forbidden currently. The safety would be assured further, if they are sterilized with heat, β -propiolactone and detergents, all of which are shown to be capable of inactivating HCV in transmission studies in chimps [17–19].

A fresh-frozen plasma recovered from a blood donor in the window period, testing positive for HCV RNA but negative for anti-HCV, infected 2 chimps when a 1-ml amount corresponding to 7.0×10^6 copies of HCV genotype 1b was injected to them intravenously. When the plasma underwent another cycle of freeze and thaw, and an inoculum containing 1 ml of 10^3 -, 10^4 - or 10^5 -fold dilution corresponding to 10^3 , 10^2 or 10^1 copies of HCV was injected intravenously into each of 3 chimps, however, none of them were infected. Inasmuch as even 10^3 copies of HCV in fresh-frozen plasma that had undergone one additional freeze-thaw cycle (two cycles in toto) did not transmit infection, the infectious capacity for HCV would have decreased at least by 100-fold by going through two cycles of freeze and thaw. Hence, freeze and thaw would add to the safety of fresh-frozen plasma, in that the process considerably decreases the infectious capacity for HCV.

Preacute phase serum of an infected chimp, in which most HCV virions would be free and uncomplexed with anti-HCV, was titrated for infectious activity in 2 chimps (fig. 4). Special care was taken for this serum, lest the infectious activity should not decrease, by snap-freezing it

in liquid nitrogen before the storage at -80° . Two chimps inoculated with 1 ml of a $1:10^4$ dilution of the thawed serum were infected, and on that basis, approximately 20 copies of HCV RNA would be able to transmit infection (table 2). Two chimps inoculated with 1 ml of a $1:10^5$ dilution of this serum containing about 2 copies of HCV RNA were not infected. The inoculum they received, however, had gone through one cycle of quick freezing in liquid nitrogen and thawing at 37° before it was given to them due to inevitable constraints in experimental transmission studies. Hence a possibility remains for less than 20 copies of HCV to be infectious, if they had been injected to chimps without having gone through a single freeze-thaw cycle.

Since the determination of HCV RNA was performed weekly, the doubling time of HCV was not to be assessed in the present transmission experiments, which is reported at 0.1 day [8]. HCV RNA increased swiftly in inoculated chimps, so that the judgment of infection would be made reliably 3–4 weeks after the inoculation. The window periods between the exposure and the development of anti-HCV were 11 and 10 weeks, respectively, in closely followed chimps (fig. 3), which are on a par with 73 days in the literature [20]. Serum transaminase levels increased simultaneously with the development of anti-HCV, thereby indicating inflammatory processes in the liver that would be mediated by immune responses of hosts.

In conclusion, the present study has correlated the copy number of HCV RNA determined in vitro with one infectious dose in chimpanzees. The fact that approximately 20 copies of HCV can infect chimpanzees, if they are in the preacute phase of infection and uncomplexed with anti-HCV, would have to be taken into considerations in any epidemiological and clinical settings where the transmission of HCV is at issue, as well as in planning strategies for increasing the sensitivity of NAT in screening blood units.

References

- 1 Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M: Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989; 244:359-362.
- 2 Kuo G, Choo QL, Alter HJ, Gitnick GL, Redeker AG, Purcell RH, Miyamura T, Dienstag JL, Alter MJ, Stevens CE, Tegtmeier GE, Bonino F, Colombo M, Lee WS, Kuo C, Berger K, Shuster JR, Overby LR, Bradley D W, Houghton M: An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 1989;244:362-364.
- 3 Alter HJ, Purcell RH, Shih JW, Melpolder JC, Houghton M, Choo QL, Kuo G: Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med* 1989;321:1494-1500.
- 4 Schreiber GB, Busch MP, Kleinman SH, Korlitz JJ: The risk of transfusion-transmitted viral infections. The Retrovirus Epidemiology Donor Study. *N Engl J Med* 1996;334:1685-1690.
- 5 Japanese Red Cross Non-A, Non-B Hepatitis Research Group: Effect of screening for hepatitis C virus antibody and hepatitis B virus core antibody on incidence of post-transfusion hepatitis. *Lancet* 1991;338:1040-1041.
- 6 Yoshizawa H: Hepatocellular carcinoma associated with hepatitis C virus infection in Japan: Projection to other countries in the foreseeable future. *Oncology* 2002;62:S8-17.
- 7 Roth WK, Weber M, Seifried E: Feasibility and efficacy of routine PCR screening of blood donations for hepatitis C virus, hepatitis B virus, and HIV-1 in a blood-bank setting. *Lancet* 1999;353:359-363.
- 8 Busch MP, Kleinman SH, Jackson B, Stramer SL, Hewlett I, Preston S: Committee report. Nucleic acid amplification testing of blood donors for transfusion-transmitted infectious diseases: Report of the interorganizational task force on nucleic acid amplification testing of blood donors. *Transfusion* 2000;40:143-159.
- 9 Japanese Red Cross NAT Screening Research Group: Nationwide nucleic acid amplification testing of hepatitis B virus, hepatitis C virus and human immunodeficiency virus type 1 for blood transfusion and follow-up study of nucleic acid amplification positive donors. *Jpn J Infect Dis* 2000;53:116-123.
- 10 Okamoto H, Okada S, Sugiyama Y, Tanaka T, Sugai Y, Akahane Y, Machida A, Mishiro S, Yoshizawa H, Miyakawa Y, Mayumi M: Detection of hepatitis C virus RNA by a two-stage polymerase chain reaction with two pairs of primers deduced from the 5'-noncoding region. *Jpn J Exp Med* 1990;60:215-222.
- 11 Price AM, Brotman B: The biology of hepatitis C virus infection. Lessons learned from chimpanzees; in Resink HW (ed): *Current Studies on Hematology and Blood Transfusion*. Basel, Karger, 1994. pp 195-207.
- 12 Farci P, Shimoda A, Wong D, Cabezon T, De Gioannis D, Strazzera A, Shimizu Y, Shapiro M, Alter HJ, Purcell RH: Prevention of hepatitis C virus infection in chimpanzees by hyper-immune serum against the hypervariable region 1 of the envelope 2 protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:15394-15399.
- 13 Hijikata M, Shimizu YK, Kato H, Iwamoto A, Shih JW, Alter HJ, Purcell RH, Yoshikura H: Equilibrium centrifugation studies of hepatitis C virus: Evidence for circulating immune complexes. *J Virol* 1993;67:1953-1958.
- 14 Baltimore D, Huang A: Proceedings: Defective interfering particles. *Neurology* 1975;25:492.
- 15 Prince AM, Huima-Byron T, Parker TS, Levine DM: Visualization of hepatitis C virions and putative defective interfering particles isolated from low-density lipoproteins. *J Viral Hepat* 1996;3:11-17.
- 16 Yeh CT, Lu SC, Chu CM, Liaw YF: Molecular cloning of a defective hepatitis C virus genome from the ascitic fluid of a patient with hepatocellular carcinoma. *J Gen Virol* 1997;78:2761-2770.
- 17 Yoshizawa H, Itoh Y, Iwakiri S, Kitajima K, Tanaka A, Tachibana T, Nakamura T, Miyakawa Y, Mayumi M: Non-A, non-B (type 1) hepatitis agent capable of inducing tubular ultrastructures in the hepatocyte cytoplasm of chimpanzees: Inactivation by formalin and heat. *Gastroenterology* 1982;82:502-506.
- 18 Yoshizawa H, Itoh Y, Iwakiri S, Kitajima K, Noguchi Y, Tachibana K, Nakamura T, Miyakawa Y, Mayumi M: β -Propiolactone for the inactivation of non-A/non-B type 1 hepatitis virus capable of inducing cytoplasmic tubular ultrastructures in chimpanzees. *Vox Sang* 1984;46:86-91.
- 19 Feinstone SM, Mihalik KB, Kamimura T, Alter HJ, London WT, Purcell RH: Inactivation of hepatitis B virus and non-A, non-B hepatitis by chloroform. *Infect Immun* 1983;41:816-821.
- 20 Farci P, London WT, Wong DC, Dawson GJ, Vallari DS, Engle R, Purcell RH: The natural history of infection with hepatitis C virus (HCV) in chimpanzees: Comparison of serologic responses measured with first- and second-generation assays and relationship to HCV viremia. *J Infect Dis* 1992;165:1006-1011.

Medical Tribune

感染症版

infection control today

特集

わが国の輸血感染症の現状と対策

-NATによる阻止にも限界, 社会的認識の向上を

輸血による感染症で最も問題であるのは、C型肝炎ウイルス(HCV)とB型肝炎ウイルス(HBV)による輸血後肝炎とHIV感染である。抗原、あるいは抗体検査を中心とした血清学的検査に基づく陽性血液の排除によって、輸血によるこれらのウイルス感染は著明に減少し、さらに近年のウイルス核酸増幅検査(Nucleic acid Amplification Test: NAT)導入以降、

輸血によるHCV感染とHIV感染はほぼ消滅したとされる。しかし輸血後HBV感染は、ごくわずかながら報告が後を絶たない。きわめて精度の高いNAT導入によっても、なぜこれを阻止することができないのか。輸血感染症の現状と今後の対策を、広島大学大学院疫学・疾病制御学の吉澤浩司教授と日本赤十字社事業局の田所憲治技監に聞いた。



広島大学大学院疫学・疾病制御学 吉澤浩司教授



日本赤十字社事業局 田所憲治技監

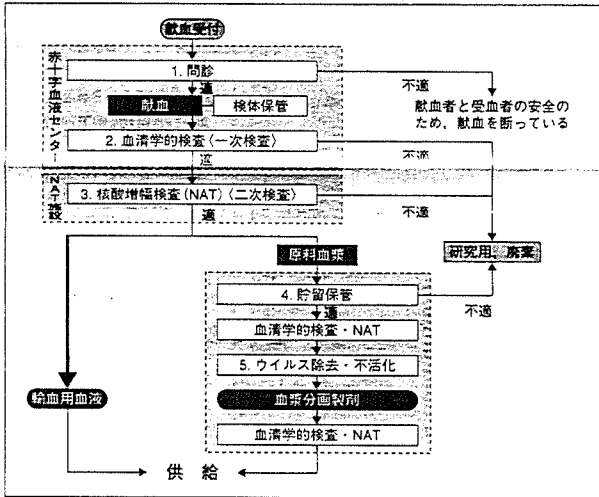
血清学的検査合格血液のみを NATでスクリーニング

1989年にC100-3抗体を用いたHCVの血清学的検査法が開発されたのを機に、わが国では同年世界に先駆けて献血血液のC100-3抗体スクリーニングが開始された。次いで、92年にはHCV抗体を測定する第2世代の抗体検査に切り替えられ、この措置によって輸血後HCV感染は0.48%にまで減少したと報告されている。HIVのスクリーニングでは86年にHIV-1抗体検査、94年にHIV-2抗体検査が導入され、HBVは、HCVのC100-3抗体検査導入と同じ年にHBc抗体検査が開始されて、今日に至っている。

次いで、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)法を用いて血液中のウイルス核酸を増幅・検出するNATが、HCV、HBV、HIVの3種のウイルスを対象に、1999年に世界で初めて献血血液のスクリーニングに導入された。2000年には、これによって3種のウイルスの輸血後感染は受血者約124万人中HBV感染5例、HCV感染0例、HIV感染0例に減少した。

献血の受け付けから各医療機関への血液供給までの現在の安全管理体制は、献血者への詳細な問診からスタートする。問診で適格と判定されて献血された血液は、一

図1. 献血から供給までのおもな安全対策(日本赤十字社)



次スクリーニングとしてウイルス抗原・抗体検査を中心とした血清学的検査を受け、同時に検体の一部はのちにチェック(遡及調査)が必要になったときに備えて保管される。

次に、血清学的検査で問題がなかった血液のみがNATによるスクリーニングを受ける。NATは導入当初は500検体ごとにプールして(500本プール検体)、HCV、HBV、HIVを同時抽出・同時増幅してチェックが行われていたが、さらに

精度を高めるため、2000年2月から50検体ごと(50本プール検体)のチェックが採用されている。

献血検体は血清学的検査の段階で既にあるいにかげられているため、NATは言わばだめ押し検査である。この一連のプロセスのすべてをクリアした血液が初めて輸血用血液として供給される。一方、アルブミン製剤、凝固因子製剤などの血漿分画製剤の原料となる血漿はいったん貯留保管され、再度の血清学的検査とNATスクリー

ングを受けたのち、加熱、有機溶媒/界面活性剤処理(SD処理)などのウイルス不活化処理が施される。最終製品には、3度目の血清学的検査とNATスクリーニングを受けたのち、各種の血漿分画製剤として供給されている(図1)。

輸血による感染はなぜなくなるしないか

日本赤十字社血液事業部によると、1999年7月のNAT導入以降に血清学的検査に合格した後、3種のウイルスのいずれかの核酸が検出されて廃棄処分になった献血検体数は、500本プール検体NATを実施した99年7月~2000年1月の期間では、検査数214万検体中HBV 19検体、HCV 8検体で、HIVはゼロだった。また、50本プール検体NATに切り替えられた2000年2月~2003年12月の期間では、検査数2,136万検体中HBV 422検体、HCV 62検体、HIV 8検体だった(表1, 次ページ)。

このように血清学的検査をクリアしても、なおわずかながらNATスクリーニングの網にかかる感染性を持った献血検体が存在し、さらに現実にNATの網をすり抜けて輸血後感染症を起こす例が存在するのはなぜだろうか。その疑問に答えるには、各ウイルスの急性感

次ページへ続く

わが国の輸血感染症の現状と対策

●49~52

- 名古屋市立東市民病院における腸テフス、バラチフス症例の検討●52~53
- 入院患者とその病理解剖による院内結核集団発生事例●53~54
- 腸管凝集接着性大腸菌によると推定された集団下痢症●54~55



広範囲経口抗菌製剤
指定医薬品、厚生省承認品
クラビット錠・細粒
Cravit Cravit(シロプロフェン)製剤

※効能・効果、用法・用量、禁忌および使用上の注意等につきましては、製品添付文書をご確認ください。

第一製薬株式会社
〒100-8555 東京都千代田区千代田1-1-1
TEL:03-5561-1111
FAX:03-5561-1112
http://www.daiichi-pharm.co.jp

表1. 核酸増幅検査 (NAT) によるHBV DNA, HCV RNA, HIV RNAの検出数 (全例廃棄処分)

期間	検体のプールサイズ	検査数	HBV DNA 陽性数	HCV RNA 陽性数	HIV RNA 陽性数
1999.7~2000.1	500	2,140,207	19	8	0
2000.2~2003.12	50	21,357,806	422	62	8
合計		23,498,013	441	70	8

(日本赤十字社 血液事業部)

前ページから続く

感染後の経過を知る必要があると、吉澤教授は指摘する。

NATスクリーニングでウイルス核酸の存在が認められると、次に陽性反応が出た50本プール検体を1本ずつチェックして、50本のうちのどの検体が陽性か、ウイルスの種類は何かを特定する。これを個別NATと呼んでいる。現在のNATスクリーニングのウイルス核酸検出限界は、50本プール検体で10³copies/mL、個別検体で10²copies/mLのレベルであるとされている。

感染が生じてからウイルスが生体内で2倍に増えるのに要する時間をダブリングタイム、10倍に増えるのに要する時間をログタイム

と呼ぶ。厚生労働省の委託研究事業の一環として同教授らが実施したHCVのチンパンジーを用いた感染実験で、HCVのダブリングタイムは6~8時間、ログタイムは1.3~1.8日であることが明らかになった(論文投稿中)。

この実測値に基づき、献血者がHCVに感染していた場合、感染後NATで検出されるまでのタイムテーブルを算出すると、個別NATで6~8日、50本プール検体NATで検出可能なレベルまで増殖するのにさらに2日を要することがわかった。ウイルスがきわめて微量であるためにNATによる検出系では検出不能だが、感染が成立しうる期間はNATスクリーニングのウィンドウ期間と呼ばれている。した

がって、ルーチンのNATスクリーニングにおけるHCVのウィンドウ期間は10日間ということになる。

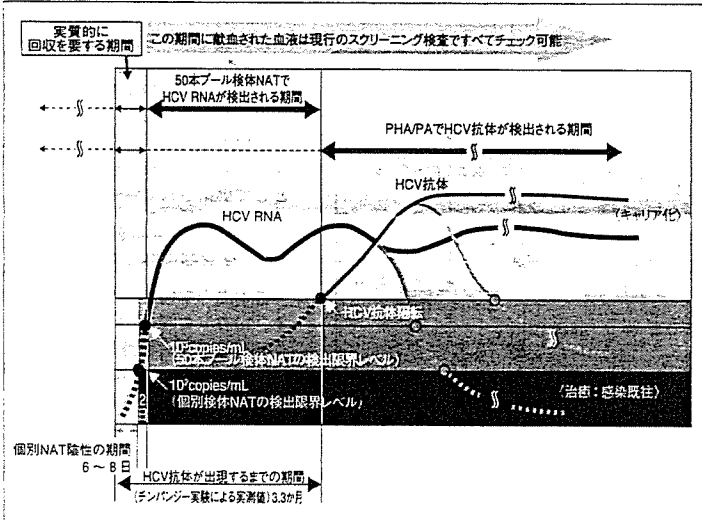
ちなみに、HCV感染後に生体側が抗体を産生し、受身が血球凝集反応(PHA)などの血清学的検査でHCV抗体陽性となるまでの期間、言い換えれば血清学的検査でのHCVのウィンドウ期間は約3.3か月という(図2)。

50本プール検体NATのウィンドウ期間

では、HBVの場合はどうだろうか。

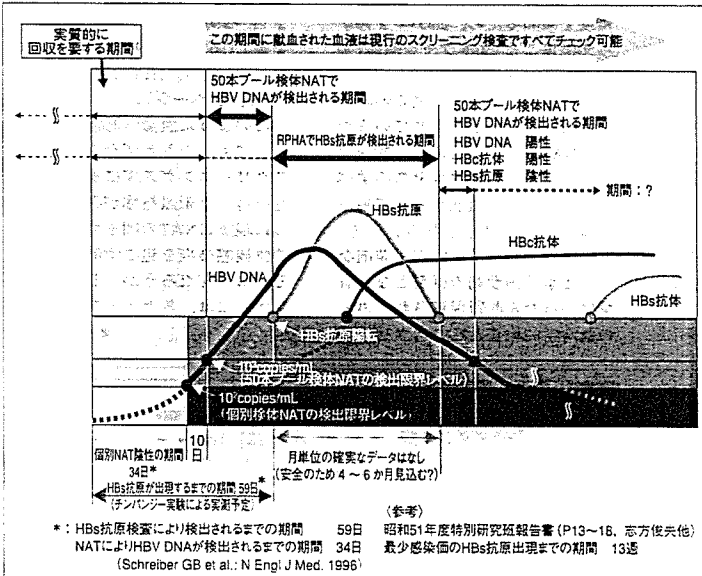
HBVの急性感染後の経過については、吉澤教授らがHCVで実施したような感染実験がまだ実施されていないため、主としてSchreiberらの論文(N Engl J Med, 1996)に基づく推定が行われている。それによると、HBV感染後個別NATで陽性反応が出るまでの期間は34日、50本プール検体NATで陽性反応が出るまでにはさらに10日を要すると考えられる。したがって、ルーチンのNATスクリーニングのウィンドウ期間は、44日ということになる。

図2. HCV急性感染の経過図



(広島大学大学院・吉澤浩司による)

図3. HBV急性感染の経過図



(広島大学大学院・吉澤浩司による)

の血液の混入は皆無とは言えないが、現実にはその確率はきわめて低い。しかし、増殖が比較的遅いと推定されるHBVの場合、NATのウィンドウ期間が約1.5か月と長いので、性行為などのHBV感染リスク行動後1か月以内に感染の有無を確認する目的で献血する可能性は否定できず、現実にはHBV感染が輸血後感染症の最大の問題になっている」と話す。

HIVの場合、感染後、ウイルスが血中に出現してからNATで検出可能になるまでの感染性ウィンドウ期間は11日と見積もられている。したがって、感染性血液の混入はこの間に起きる。また、感染後、血清学的検査で抗体が検出可能になるまでの期間は約22日とされている。ただし、感染後ウイルスが血中に認められるようになる前に、HIVは約1か月間は感染局所にとどまっていると考えられることから、感染後、最長1か月プラスNATでは11日、抗体検査では22日間を広い意味でのウィンドウ期間とする考え方も成立する(図4)。

輸血によるウイルス感染はウィンドウ期間の献血によって起きる

また、HBV急性感染後、ウイルス粒子の表面蛋白であるHBs抗原が酵素免疫測定法(EIA法)で検出されるまでには59日を要するとされる。この期間が、血清学的検査のウィンドウ期間ということになる(図3)。HBs抗原はその後低減し、その少し前からHBV粒子内部のコア蛋白に対するHBc抗体が上昇してくる。欧米ではHBc抗体の陽性率が低いことから、陽性を示した血液は、抗体価にかかわらずすべて輸血用血液から除外する対策を取っているが、わが国ではHBc抗体陽性率が10~15%と高いこと、HBc抗体価が2^HI価(HI; 赤血球凝集阻防止)以下の血液からはHBV DNAが検出されないというデータが得られていたことから、わが国では血清学的検査の段階では2^HI価以下の血液は除外しない対策を取ってきた。

同教授は輸血後肝炎の発生について、上記の検討結果に基づき、「輸血後肝炎のほとんどはNATを受けて実施した選及調査で、個別NATによる判定は7例中5例が陽性だった。そのうち1例は7回個別NATを行って2回陽性、1例は個別NATでも陰性だった。また定量的解析の結果、ウイルス核酸量が100copies/mL以下のケースも5例含まれていた(表2)。田所技監は「保管検体を個別

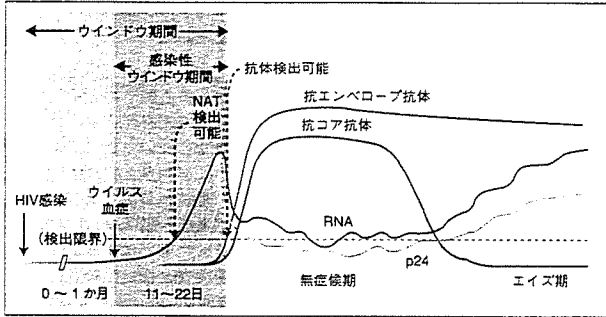
日本赤十字社は、献血時の検査が陽性だった場合、その献血者の過去の献血記録をさかのぼって血液を再調査(選及調査)する必要に備えて、1996年9月から全献血検体を10年以上保管する制度を導入している(図3)。選及調査は、医療機関から輸血後感染疑いの報告を受けた場合や、献血者から健康情報を受けた場合にも行われる。同社の集計によると、医療機関から輸血後感染疑いの報告があった症例数は、1994~2002年にHCVは累積361例、HBVは391例である。このうち選及調査で陽性が判明し、輸血後感染の可能性が高いか輸血後感染と判定された例は、HCVで96年と97年に各1例、98年7例、99年5例で、2000年以降は存在しない(図5)。HBVはHCVよりはるかに多く、94~96年各1例、97年12例、98年22例、99年21例、2000年以降も毎年5例以上存在する(図6)。

このうち2001年にHBVの輸血後感染が判明した7例は、献血時の50本プール検体によるNATスクリーニングは全例陰性であり、いずれもNATのウィンドウ期間の献血によるものだったことが明らかになっている。医療機関からの報告を受けて実施した選及調査で、個別NATによる判定は7例中5例が陽性だった。そのうち1例は7回個別NATを行って2回陽性、1例は個別NATでも陰性だった。また定量的解析の結果、ウイルス核酸量が100copies/mL以下のケースも5例含まれていた(表2)。

田所技監は「保管検体を個別

*: HBs抗原検査により検出されるまでの期間 59日 昭和51年度特別研究報告書(P13~16, 志方俊夫他)
NATによりHBV DNAが検出されるまでの期間 34日 最少感染量のHBs抗原出現までの期間 13週
(Schreiber GB et al.: N Engl J Med, 1996)

図4. HIV急性感染の経過



(神奈川県衛生研究所微生物部 今井光信による「改訂版日本輸血学会認定医制度指定カリキュラム 2003年10月10日発行」)

NATで調べた結果も陰性だった例は、同一人が再度献血した際に初めて判明したもので、輸血後に肝炎を発症した患者から検出されたウイルスと塩基配列が一致した。この例も含め、定量解析で確認されたウイルスDNA量はどれも非常に微量であり、特に100copies/mL以下は50本プール検体NATでは2 copies/mLしかウイルスが存在しないことになる。こういう例では残念ながら検出不可能であり、感染の可能性がある場合は献血を自棄するようお願いするしかない」と話す。

HIVは、NATスクリーニング実

施後、医療機関からの報告例はなかったが、昨年末に輸血による感染が疑われる事例が1例報告され、現在調査中である。

HBV低濃度キャリアの存在も明らかに

50本プール検体NATスクリーニング実施後、医療機関からの報告例を受けて遡及調査を実施した結果、輸血によってHBV感染を起こした可能性が考えられる症例のうち、保管検体による個別NATによってもHBV DNAが検出されなかった事例として、急性骨髄性白血病の70歳代男性の感染例がある。

調査の結果、この原因となったと考えられる血液は、2000年7月14日に献血された血液が使われていたことが判明した。し

かし、上述のように保管検体も陰性の結果だった。ただし、この献血者はその後1か月の間に続けて2回の献血を行っており、そのうちの2度目の献血時のNATスクリーニングで陽性が判明した。その際のHBV DNA量は5万copies/mLで、遺伝子型(ジェノタイプ)はA型サブタイプadw(野生型)であり、患者のHBVの遺伝子型およびサブタイプと一致した(図7)。

この献血者の協力を得て追跡調査した結果、約2か月後にHBs抗原とHbc抗体の陽転が確認され、感染の原因となったと考えられる7月14日献血時の血液はNATのウィンドウ期間のもだったと評価された。

一方、2003年に医療機関から輸血後HBV感染が報告された事例の遡及調査から、NATのウィンドウ期間の献血によるものではないケースも存在することが、明らかになってきた。

感染者は2003年2月に新鮮凍血漿(FFP)輸血を受けた80歳代の男性で、7か月後にB型肝炎を発症した。遡及調査の結果、この原因となった可能性が考えられた血液の保管検体は、個別NATでHBV DNAが陽性であることが判明した。この献血者は最初の献血の1年後にも献血しており、そのときの検査結果はHbc抗体価が血清学的検査(不合格閾値はHtU₂以下)をぎりぎりクリアする境界線上にあったが、50本プール検体NATスクリーニングも陰性と判定された。さらに、患者と献血者から検出されたHBV DNAの塩基配

列の一致が確認された。

その後の詳細な解析から、この献血者はHBVの無症候キャリアで、本人もHBV感染を知らなかったと考えられた。しかし、肝細胞内には少量ながらHBVが存在しており、ごく微量のHBVが血中に発現していたと考えられる。こうした事例は低濃度キャリアまたは非定型キャリアと呼ばれる、存在自体は以前から知られていたが、輸血後感染との関連はこれまで知られていなかった。

吉澤教授は「今回のケースから、輸血後HBV感染の原因となる献血血液には、感染極く早期と感染晩期のものがあることが明らかになった。感染極く早期のものは比較的若年の献血者に多く、従来のNATウィンドウ期間の献血事例がこれに該当する。感染晩期のものは40歳代以降に見られ、スクリーニングですり抜ける場合もある」と話している。

ウイルス混入をどう防ぐか

「現状では、輸血後のHBV、HCV、HIV感染は、NATのウィンドウ期間が低濃度キャリアかどのどちらかの事例による感染に限定される」(田所憲治)ことから、まずNATスクリーニングの精度をさらに高めることが求められている。

しかし、NATの方法論自体にはそれ以上の進歩は、進捗はないと考えられるため、1つの対策としてNATの検体プール数を現在の50本からさらに20本に下げて検査精度を向上させる方法を検討中という。

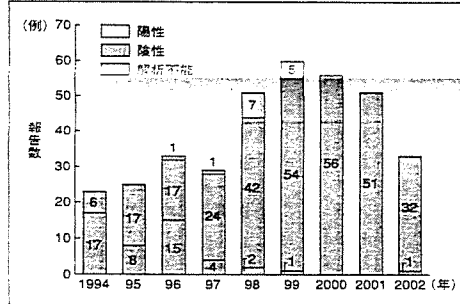
また、低濃度キャリアでは既述のようにHbc抗体価がスクリーニングの適・不適レベルのボーダーライン上だったことから、今後Hbc抗体価の判定閾値を下げて感度を上げることも検討していく必要があるという。

ちなみに、吉澤教授は現在の献血の安全チェック体制について、「公平かつ客観的に見て、現在の体制は決して不備なものではなく、世界的レベルで見ても最も安全な血液を供給できていると言ってよいだろう。今後NATの精度をさらに高めていく努力は当然必要だが、いくら精度を高めても、ウイルスの性質上、ウィンドウ期のすり抜けをなくし感染リスクをゼロにすることは不可能だ。したがって、今後はウイルス不活化対策も同時に進めるとともに、献血の重要性と、感染血液が混入した場合に引き起こされる事態の重大性に対する社会的な認識をもっと高め、検査目的の献血は絶対に行わないように啓発していくことが必要だ」と話している。

輸血用血液のウイルス不活化処理も検討

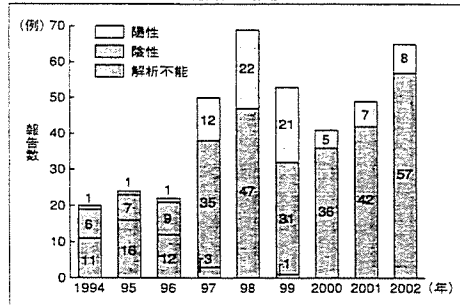
ウイルス不活化対策は血漿分画 次ページへ続く

図5. HCV感染を疑われた症例数の推移



(第44回日本臨床血液学会総会教育講演13「輸血の安全性とスクリーニング検査」田所憲治)

図6. HBV感染を疑われた症例数の推移



(血液フロンティア vol.13, no.5, 2003「日本赤十字社における感染症対策」田山達也ほか)

表2. HBV感染7例のNAT結果および遺伝子量(2001年)

症例	50本プール検体NATでの判定	個別NATでの判定	DNA量(copies/mL)
1	陰性	2/7陽性	100以下
2	陰性	陽性	120
3	陰性	陰性	100以下
4	陰性	陽性	100以下
5	陰性	陽性	250
6	陰性	陽性	2,800
7	陰性	陽性	400~600

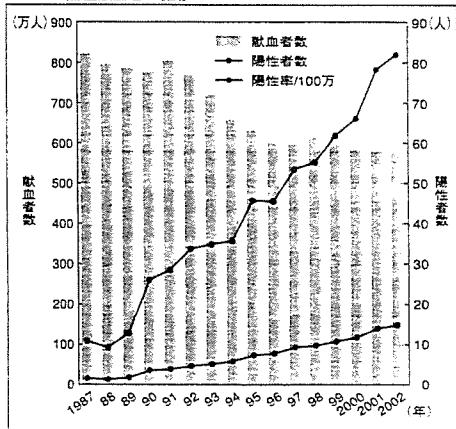
(血液フロンティア vol.13, no.5, 2003「日本赤十字社における感染症対策」田山達也ほか)

図7. 輸血後HBV感染が判明した血液の遡及調査による献血検体の解析例

原因と考えられる血液の採血: 2000/7/14	HBs抗原	Hbc抗体	ALT (IU/L)	HBV DNA (copies/mL)
7/14	-	-	7	-
7/30	-	-	9	140
8/19	-	-	10	50,000
HBV: A型adw(野生型)				
9/11	+	-	13	21,000,000
9/18	+	-	11	190,000,000
9/26	+	+	40	3,300,000,000

(日本赤十字社血液事業部 飯田俊二 2003年1月20日NAT定例報告会 200回記念シンポジウムより)

図8. HIV陽性献血者の推移



(血液フロンティア vol.13, no.5, 2003「総論 輸血と感染症」田所憲治より改変)

名古屋市立東市民病院における腸チフス、パラチフス症例の検討

1993年を最後に国内発生しないものの毎年確実に発生

腸チフス・パラチフスは、1999年4月に施行された「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」(感染症法)により2類感染症に指定されており、同院は、名古屋市およびその周辺の人口200万人以上の二次医療圏における2類感染症指定病院である。水野部長によると、同院では1985～2002年12月に、腸チフス発症者28例、保菌者3例の計31例、パラチフス発症者16例、保菌者2例の計18例が認められた。年齢は、腸チフスが2～68歳、平均28.9歳、パラチフスは20～50歳、平均28.5歳であり、性別では男性がそれぞれ20例、14例を占めた。

患者発生数の年度推移を見ると、近年、減少傾向を示すものの、毎年確実に腸チフスあるいはパラチフス患者が発生しており、腸チフスよりパラチフスのほうが発生数は相対的に多い傾向が認められた(図1)。1993年を最後に国内での発生はなく、潜伏期間から推定して、最近はすべて輸入感染例となっている。

図1. 名古屋市立東市民病院における腸チフス・パラチフスの年度別発生率

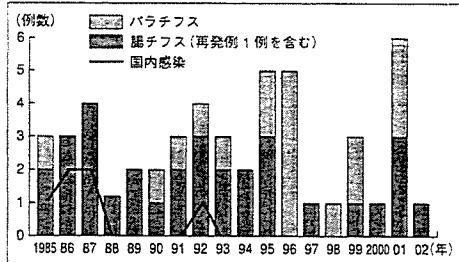
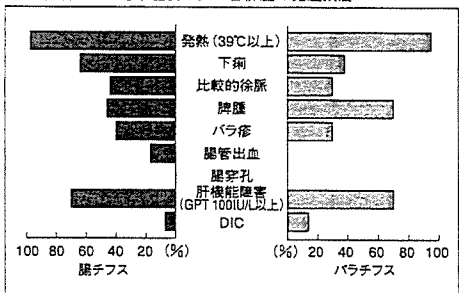


図2. 発症者のおもな症状および合併症の発症頻度



腸チフス・パラチフスは、東南アジアや中東、アフリカなどでは今なお蔓延する感染症であるが、わが国では年間100例程度にまで減少し、その多くが海外旅行者などからの輸入感染である。臨床ではほとんど遭遇しなくなったことから、診断・治療が遅れ、重症化や感染拡大を招く恐れがある。そのため、感染者を見逃すことな



名古屋市立東市民病院 感染症科 水野芳樹部長

く、適切な対応ができるよう最近の臨床的特徴を把握しておく必要がある。名古屋市立東市民病院感染症科の水野芳樹部長は、同院において1985年から18年間に経験した腸チフス・パラチフス患者49例を対象に、臨床症状や診断・治療法などについて検討を行った。同部長にその詳細を聞いた。

耐性菌に薬剤感受性を考慮した対応を

推定感染国は、腸チフスあるいはパラチフスの発症者44例のうち、インドが最も多く11例、次いでインドネシア9例、タイ、韓国が各2例、バングラデシュ、パキスタン、フィリピン、台湾、エジプト、ナイジェリアが各1例で、6例は国内、8例は不明であった。

感染推定国への渡航歴と不明熱があれば、培養検査で同定を

発症者のおもな症状および合併症について見ると、腸チフス、パラチフスともに39℃以上の発熱がそれぞれ96%、94%にのぼり、次いで肝機能障害が68%、69%であった(図2)。

一方、3大徴候とされる比較的徐脈、脾腫およびバラ疹の発

症率は、脾腫がパラチフスで69%に認められた以外はいずれの症状も腸チフス、パラチフスともに4割前後にしか見られなかった。したがって、3大徴候は補助診断にはなるが、臨床診断には役立つたないことが示された。

また、腸チフスも赤痢やコレラと同じく腸管感染症に含まれるが、赤痢やコレラは必ず下痢などの症状を伴う一方、腸チフスでは実際には腹痛や下痢は発熱ほど多くはなく、発熱のために消化管の働きが鈍くなっている程度で、重症化することも少ない。

水野部長は「消化器症状と腸チフスを関連付けると、診断の遅れを招きかねない。また、腸チフス・パラチフスの場合、局所症状が非常に少なく、高熱だけが特徴的に認められるため、ウイルス感染症との鑑別が困難となる」と説明する。

こうしたことから、診断に際しては①39℃以上の不明熱が1週間

以上続く②過去1か月以内に感染の可能性がある国への渡航歴がある③肝機能障害を伴う④白血球があまり増加しない⑤がポイントとなり、特に不明熱と感染推定国への最近の渡航歴がある場合は、ウイルス感染症か腸チフス・パラチフスを疑い、早めに血液あるいは便の培養検査を行って確定診断を行う必要がある。

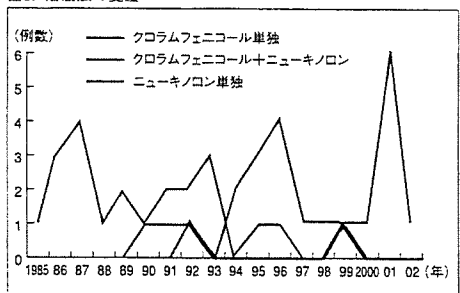
2000年以降、ニューキノロン低感受性菌が急増

治療法としては、従来はクロラムフェニコール(CP)が第一選択薬であった。しかし、アンジシリン(ABPC)、CP、テトラサイクリン、ストレプトマイシン、スルファメトキサゾール・トリメトプリム(ST)合剤の5剤に耐性を有する多剤耐性チフス菌がインド亜大陸、タイへの渡航歴のある患者から分離されるなど多剤耐性菌が増加してきたため、ニューキノロン薬が使用されるようになり、これが第一選択として取って代わった(図3)。しかし、1995年ころよりニューキノロン薬に対する耐性菌が海外で報告され、国内でもニューキノロン低感受性チフス菌・パラチフスA菌が分離されることがある。今年以降、輸入感染例でのナリジク酸(NA)およびエノキサシン(ENX)に対する低感受性菌が急増し、2000年から3年間にいずれも6例中5例(83%)に耐性菌が認められた(図4)。

第3世代セフェムも治療選択肢に

腸チフスとパラチフスでは臨床症状に大きな違いはないが、従来はパラチフスのほうが一般的に症状が軽く、改善しやすかった。しかし、今回の検討において、治療開始から解熱までの期間を見ると、近年では、パラチフスのほうが長期化する傾向が認められた(図5)。近年、耐性菌が急増していることを考え合わせると、こうした変化にも薬剤感受性が関与していることが示唆される。「実際、臨床においても最近ではパラチフスのほうがなおりにくい印象がある。一般に健康な人が感染してい

図3. 治療法の変遷



前ページから続く

製剤には既に導入されているが、輸血用血液についても導入する方向で検討が行われている。

最近、輸血によるE型肝炎ウイルス(HEV)の感染事例が1例報告された。しかしHEVはわが国ではどの程度存在するか、明確な疫学的研究は行われていないため、HBV、HCVマーカーが正常の肝機能異常献血者についてHEVの有無とその頻度を検討中という。ま

た、HIVも感染者は減っておらず、献血時に陽性が判明する例は年々増加の一途である(図8、前ページ)。HCVも同様に最近の輸血後感染事例はないが、手断を許さないことは言うまでもない。

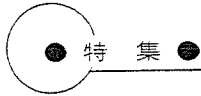
こうした状況に対して、リボフラビン、S-59などの薬剤を用いてウイルス核酸の合成を阻害するウイルス不活化法は、NATスクリーニングでは検出できないごく微量の種々のウイルスに対する強力な

決め手になると期待されている。しかし、これらの薬剤はヒトでも細胞毒性の可能性を完全には否定できないため、現在この問題の詳細な検討が進められている。

このほか、FFPの貯留期間を延長する対策や、ガイドライン作成による適及調査の明文化も進められている。FFPはの貯留期間は1年間だが、献血者からの献血後の健康情報の提供などにより有効に対応するため、貯留期間を2か月

ずつ延長して、最終的には貯留期間を6か月に延長し、この間に情報があった血液は排除して安全性を高めたたいとしている。また、これを有効なものとするためには、医療機関でも「輸血療法の実施に関するガイドライン」にも示されている輸血2～3か月後のウイルスマーカー検査と肝機能検査を実施することが望まれると同所技監は述べた。

次ページへ続く



肝炎・肝がん対策

田中 純子 吉澤 浩司*

[*Jpn J Cancer Chemother* 31(6): 864-870, June, 2004]

A National Project for the Management of Viral Hepatitis toward Prevention of Hepatocellular Carcinoma in Japan
Junko Tanaka and Hiroshi Yoshizawa (*Dept. of Epidemiology, Infectious Disease Control and Prevention, Graduate School of Biomedical Sciences, Hiroshima University*)

Summary

Annual incidence of hepatocellular carcinoma (HCC) keeps increasing during the past 30 years in Japan, most of which represents the end-stage disease of persistent infection with hepatitis C virus (HCV). To cope with this dire situation, a 5-year national project was launched since April 2002 for the management of viral hepatitis toward eventual prevention of HCC in Japan. This project is based on robust data on the epidemiology of chronic hepatitis and HCC induced by persistent HCV infection that have gained in the past 10 years by untiring efforts. It has been thrust by rapid advancement in diagnosis and treatment of HCC, and is targeted on the Japanese aged 40 years or older who are at increased risk of developing HCC.

Further efforts are required to arouse concerns and attract commitment in the public, for an increased compliance to screening. At the same time, the national system has to be worked out for following up HCV carriers for immediate treatment of those who are found with liver disease. Key words: HCV, Hepatocellular carcinoma, Screening. Address request for reprints to Dr. Junko Tanaka, Department of Epidemiology, Infectious Disease Control and Prevention, Graduate School of Biomedical Sciences, Hiroshima University, 1-2-3 Kasumi, Minami-ku, Hiroshima city, Hiroshima 734-8551, Japan

要旨 わが国における肝がん死亡はこの30年間増加の一途をたどってきており、現在ではそのほとんどがC型肝炎ウイルスの持続感染に起因することが明らかとなっている。過去10年以上にわたり蓄積してきたウイルス肝炎、肝がんの疫学的データを基に、「病因論にもとづいた肝炎、肝がん対策」を全国規模で具現化すべく2002年度から肝炎ウイルス検診が5年計画で実施に移された。この検診を実効あるものにするために、正しい検査の普及を図ること、検診受診率の向上を図ること、そして検診により発見されたHCVキャリアの医療機関受診率の向上とフォローアップ率の向上を図ること、さらに肝炎の活動度、病期に応じた治療を組織的に行うことができるネットワークを、それぞれの地域の実情に合わせた形で作りあげることが求められる。

はじめに

2002年4月から地域住民を対象としたC型肝炎ウイルス検診がスタートした。この検診は、肝発がんのリスク集団としての肝炎ウイルス持続感染者（キャリア）を組織的に見つけだし、地域単位で健康管理、適切な治療システムを構築することにより、わが国から肝がんによる死亡を減らすことを目的としている。

本稿では、対策実施の基となった疫学的背景およびC型肝炎ウイルス（HCV）の持続感染と肝がんとの関係、そして肝炎ウイルス検診実施の実際について述べてみた

い。

I. わが国の肝がん死亡の年次推移

わが国における肝がん死亡は、1975年を境に増加の一途をたどり、2002年における死亡数は年間34,637人と、肺がん（56,405人）、胃癌（49,213人）に次いで第3位の位置を示すに至っている¹⁾。原因ウイルス別では1978年以降現在に至るまで、B型肝炎ウイルス（HBV）の持続感染に起因する肝がん（B型の肝がん）は増減がないまま（人口10万人当たり3~4人程度）で推移していることから（図1）、わが国で増え続けている肝がんはHBV

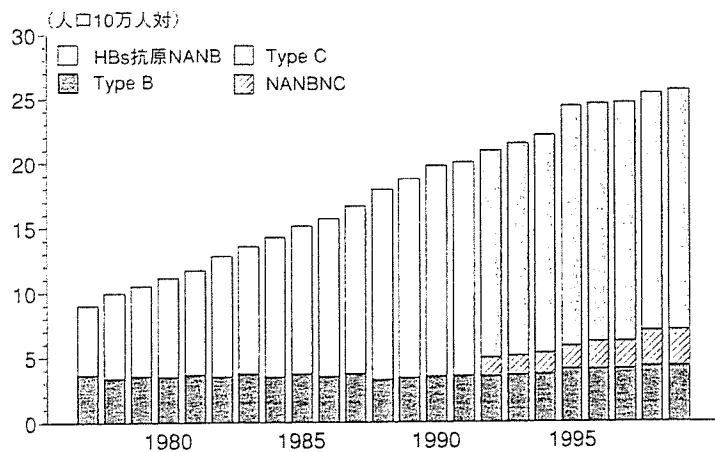


図1 わが国における成因別肝細胞癌死亡の推移
厚生省大臣官房統計情報部・編 人口動態統計 上・下巻
日本肝がん研究会、第13回原発性肝癌追跡調査報告(1994-1995) 1998年

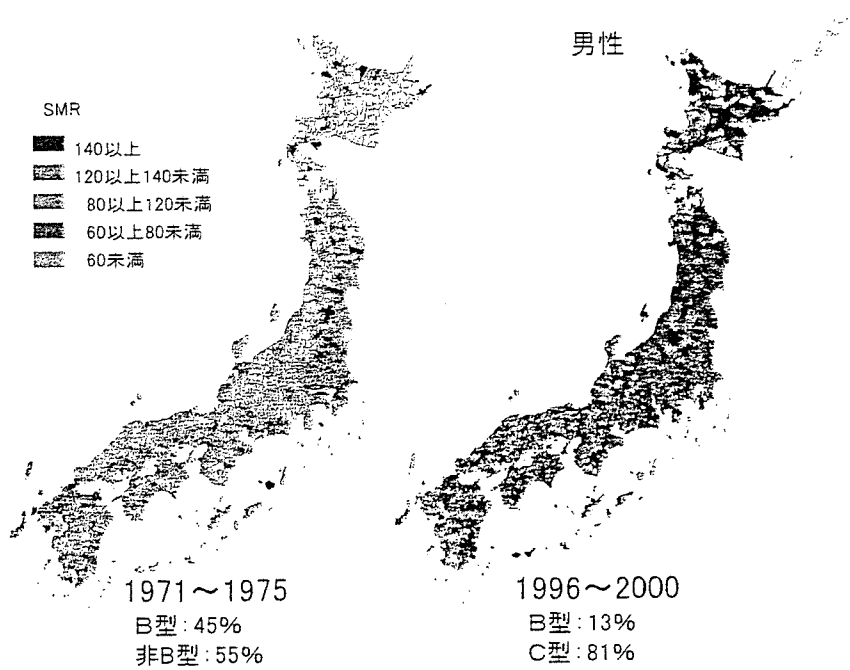


図2 市町村別にみた肝がん標準化死亡比 (hayes method) の推移

の持続感染によらない(非A非B型)の肝がんであるといえる。C型肝炎ウイルス(HCV)感染の特異的な診断が可能になった1992年以降についてみると、非A非B型肝がんの95%以上はHCVの持続感染による肝がん(C型の肝がん)であることが明らかになっている。

II. 市町村別にみた肝がん死亡の推移

図2に、埼玉県立大学の三浦先生らによる全国市町村別の肝がん標準化死亡比の推移(SMRハイズ推定量分布図)を示す。これは1971~2000年までの30年間を5年ごと、6期に分けて作製したものの中から、肝がん死亡数の増加が著しい男性について代表的な二つの時期の分

布図を並べたものである。人口10万人当たりの肝がん死亡数が8~9人程度にとどまり、B型の肝がんが全体の約半数を占めていた1971~1975年までの5年間の地図と、人口10万人当たりの肝がん死亡数が26人を超え、C型の肝がんが全体の81%を占めるに至った1996~2000年までの5年間の地図とを比較すると、肝がん死亡の多発地域は駿河湾沿岸、大阪湾沿岸、中国地方の瀬戸内沿岸、そして九州北部を中心とした市町村への偏りがみられ、明らかな「西高東低」の傾向を示すようになってきていることがわかる²⁾。実際、1993~2000年までの人口10万人当たりの肝がんによる年間死亡率の高い地域をみると、大阪以西の府県が常に上位5位以内を占め