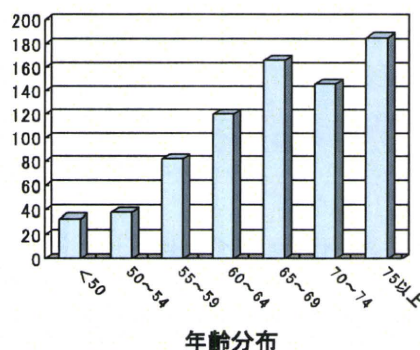
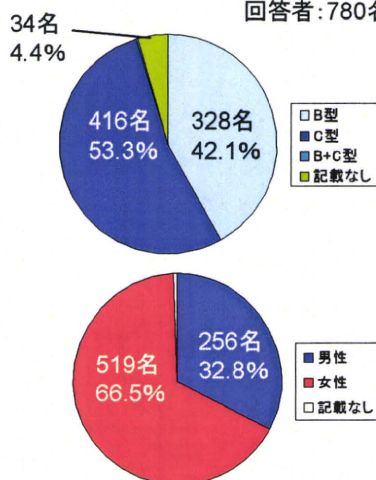


肝炎ウイルス検診受診者調査(図5)

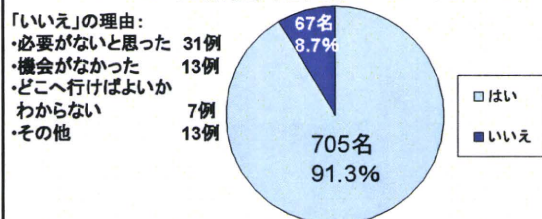
H14～20年の間に肝炎ウイルス検診を受診し、要精密検査となった者の内、今回の調査に協力できる12市町に在住の1910名に調査表を送付、無記名記載にて返答。

回答者:780名(2010/2/1現在)



肝炎ウイルス検診受診者調査(図6)

Q 医療機関を受診したか(n=772)



Q 肝臓専門医を受診したか

C型(n=391) B型(n=298)

	C型(n=391)	B型(n=298)
はい	303(78%)	175(59%)
いいえ	61(15%)	75(25%)
不明	27(7%)	48(16%)

Q 現在通院しているか(n=670)

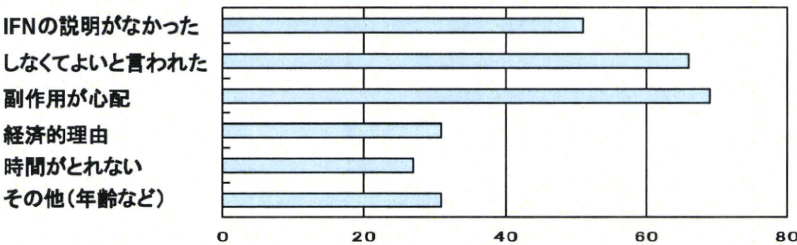
	「いいえ」	「いいえ」の理由	
		通院しなくてよいと言われた	自分から通院をやめた
C型(n=384)	66(17%)	41(62%)	17(26%)
B型(n=286)	100(35%)	72(72%)	20(20%)

肝炎ウイルス検診受診者調査(図7)

Q 治療内容(n=510)

	C型(n=321)		B型(n=189)
	全体	75歳以下(n=243)	
経過観察のみ	98(31%)	66(27%)	154(82%)
経口薬	78(24%)	49(20%)	10(5%)
IFN以外の注射	29(9%)	22(9%)	0(0%)
IFN	116(36%)	106(44%)	6(3%)
抗ウイルス薬(B型)			19(10%)

Q IFNを受けたことがない理由(C型:複数回答)



肝炎ウイルス検診受診者（2002.4-2007.3 受診群）を対象とした解析

分担研究者 田中 純子¹⁾

研究協力者 厚生労働省 老人保健課、片山 恵子¹⁾、田淵 文子¹⁾、
小宮裕¹⁾、水井 正明²⁾、山中 烈次³⁾、吉澤 浩司¹⁾

1) 広島大学大学院 疫学・疾病制御学

2) 広島県赤十字血液センター

3) 日本赤十字社 血液事業部（当時）

研究要旨

2002 年度から開始された肝炎ウイルス検診は当初の計画通り 5 年間実施され 2006 年度に終了した。5 年間の受診者数および見いだされたキャリア数は節目・節目外を合計すると、HCV については受診者数 8,634,509 人、キャリア数 99,950 人、HBV については受診者数 8,704,587 人、キャリア数 100,983 人であった。全国 47 都道府県で実施した肝炎ウイルス検診の成績をもとに、出生年別に再集計し、HCV キャリア率、HBV キャリア率を出生年別に算出し検討を行った。

節目検診受診者における HCV・HBV キャリア率は、別途出生年別に再集計した初回献血者集団における HCV・HBV キャリア率とほぼ同様の分布を示すことが明らかとなった。

全国を 8 つの地域に分け出生年別にキャリア率を算出した結果、HCV キャリア率は、関西より西の地域では約 1 % であり、東海より北の地域に比べてやや高い値を示した。しかし、関東以西の地域では年齢が高い集団に高いキャリア率を示すという傾向がみられ 1940 年以前に出生の集団では 1 % を超える値を示していた。

HBV キャリア率では、北海道地域で 2 % を超える高い値を示していた。また 1945 年～1955 年生まれの集団（いわゆる団塊の世代）における HBV キャリア率がいずれの地域においても高い値を示すという特徴が見られた。

A. 研究目的

2002 年 4 月から 5 年の計画で開始された肝炎ウイルス検診が終了した。節目・節目外検診による成績をまとめ、受診者における HCV・HBV キャリア率を出生年別地域別に算出し、検討を行った。

また、ほぼ同時期に初めて献血を行った集団（初回献血者集団）の集計資料を元に出生年別にみた HCV・HBV キャリア率を算出し（再集計）、対比した。

B. 対象と方法

2002 年度から 2006 年度末までの 5 年間に全国 47 都道府県で実施した肝炎ウイルス検診受診者（HCV：8,634,509 人、HBV：8,704,587 人）を対象とした。

このうち、節目検診受診者、HCV：6,280,111 人、HBV：6,304,276 人を対象として、出生年別・地域別に、HCV キャリア率、HBV キャリア率を算出した。

同様に、節目外検診受診者、HCV：2,354,398 人、HBV：2,400,311 人を対

象として、出生年別（5年毎）・地域別のHCVキャリア率、HBVキャリア率を算出した。

また、全国の血液センターにおける2001年1月から2006年12月までの6年間の初回献血者3,748,422人分のHCV抗体陽性率、HBs抗原陽性率を出生年別に再集計し、上記、肝炎ウイルス検診に伴って得られた成績と対比した。

C. 結果

1. 5年間の検診受診者数および見いだされたHBVキャリア数、HCVキャリア数

年度別の節目・節目外検診別の受診者数を図1、表1に示す。

肝炎ウイルス検診が開始された2002年度の受診者数が約190万人と最も多かったが（HBV:1,923,113人、HCV:1,923,480人）、年度が進むにつれ受診者数は減少した。特に、節目外検診受診者数は2002年度ではHBV624,734人、HCV631,918人であったが2005年度には半減した（HBV:341,400人、HCV:331,356人）。

また、最終年度2006年度では、フィブ

リノーゲン製剤による薬害肝炎などの報道も影響し、節目外検診受診者の増加が見られた。

肝炎ウイルス検診受診者は5年間合計で、HBVについては、8,704,587人、見つかったHBVキャリアは100,983人（HBVキャリア率：1.2%）、HCVについては8,634,509人、見つかったHCVキャリア数は99,950人（HCVキャリア率1.2%）であった。検診により見いだされたHBV・HCVキャリアそれぞれ約10万人のうち、HBVキャリアでは約30%が、HCVキャリアでは約45%が節目外検診により見いだされており、その割合が異なっていた。

それぞれの実施年度別・調査年齢別に図2に示す。

5歳刻みの節目の年齢に当たる者を対象として5年間実施したことにより、2006年時点の40歳以上74歳までの全年齢について検診の対象者として実施した事となった。

節目検診によるHCVキャリア率については、年齢が高い集団で高い値を示すという特徴が認められている。また、同様にHBVキャリア率については、55歳をピークに50歳から60歳の年齢集団におけるHBVキャリア率が高い値を示す傾向が認められている。

表1. 節目、節目外検診により見いだされたHBV・HCVキャリア数-

— 2002.4~2007.3 —

HCV

	節目・節目外検診合計		節目検診		節目外検診	
	受診者数	HCVキャリア数(%)	受診者数	HCVキャリア数(%)	受診者数	HCVキャリア数(%)
2002	1,923,480	31,393 (1.6)	1,298,746	14,672 (1.1)	624,734	16,721 (2.7)
2003	1,830,270	23,491 (1.3)	1,375,583	13,324 (1.0)	454,687	10,167 (2.2)
2004	1,618,751	16,831 (1.0)	1,271,320	10,385 (0.8)	347,431	6,446 (1.9)
2005	1,527,813	13,976 (0.9)	1,196,457	8,909 (0.7)	331,356	5,067 (1.5)
2006	1,734,195	14,259 (0.8)	1,138,005	7,453 (0.7)	596,190	6,806 (1.1)
合計	8,634,509	99,950 (1.2)	6,280,111	54,743 (0.9)	2,354,398	45,207 (1.9)

HBV

	受診者数		HBVキャリア数(%)		受診者数		HBVキャリア数(%)	
	受診者数	HBVキャリア数(%)	受診者数	HBVキャリア数(%)	受診者数	HBVキャリア数(%)	受診者数	HBVキャリア数(%)
2002	1,923,113	24,430 (1.3)	1,291,195	15,239 (1.2)	631,918	9,191 (1.5)		
2003	1,849,125	22,520 (1.2)	1,382,663	15,842 (1.1)	466,462	6,678 (1.4)		
2004	1,635,934	18,754 (1.1)	1,279,704	13,950 (1.1)	356,230	4,804 (1.3)		
2005	1,546,823	17,130 (1.1)	1,205,423	12,735 (1.1)	341,400	4,395 (1.3)		
2006	1,749,592	18,149 (1.0)	1,145,291	11,742 (1.0)	604,301	6,407 (1.1)		
合計	8,704,587	100,983 (1.2)	6,304,276	69,508 (1.1)	2,400,311	31,475 (1.3)		

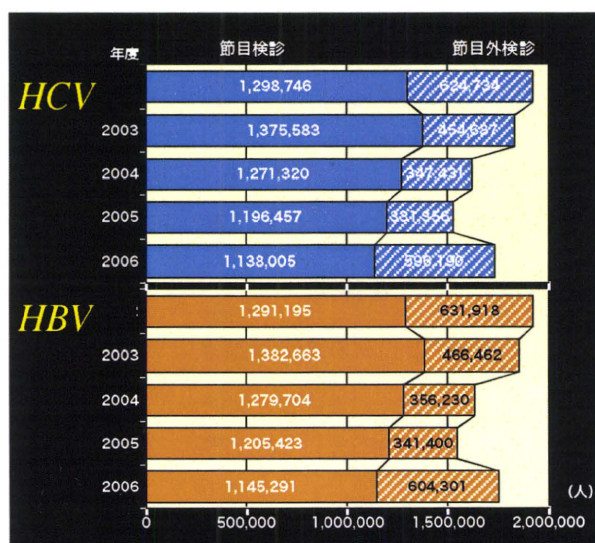


図1. 節目・節目外検診別の受診者数

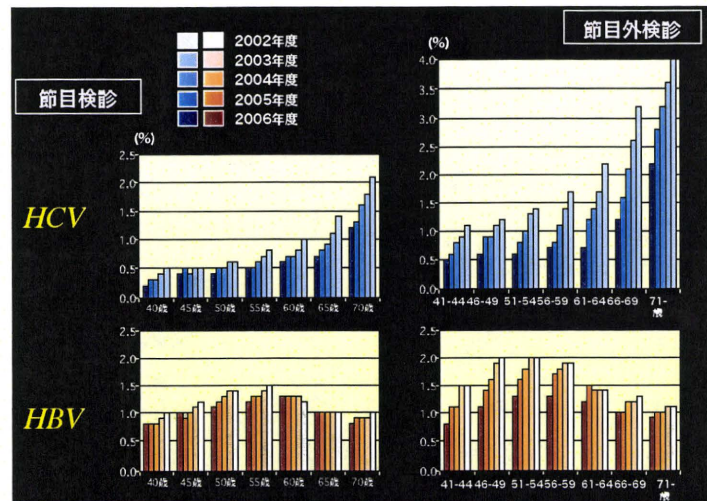


図2. 節目・節目外検診により見出されたHCV・HBVキャリア率

2. 出生年別にみたHCVキャリア率 およびHCV抗体陽性率

節目検診受診者および節目外検診受診者におけるHCVキャリア率、およびほぼ同時期に献血を行った献血者集団におけるHCV抗体陽性率を、出生年別に重ねて図3示す。

節目検診受診者におけるHCVキャリア率は、年齢が高い集団（特に、1945年以前に出生した集団）で高い値を示しているが、この特性は献血者集団におけるHCV抗体陽性率と同様であった。

一般に、HCV抗体陽性者の約70%にHCV RNAが検出されることが知られている。従って、献血者集団の出生年別にみたHCV抗体陽性率にそれぞれ0.7を乗じることにより、HCVキャリア率の近似値を得ることができる。このことをもとに考えると、出生年別にみた節目検診受診者のHCVキャリア率は初回献血者の値とほぼ同じ値を示していると見て良いことがわかる。

一方、節目外検診受診者は、5歳刻みの受診年齢の区間の5歳分であるため、得られた成績を5年間の幅で示している。節目外検診受診者におけるHCVキャリア率は、いずれの出生年においても、節目検診受診者の値より高いHCVキャリア率を示してい

る。これは節目外検診はHCV感染のリスクが高いと考えられる集団（過去に肝機能異常を指摘されたことのある者。外科的処置を受けたことのある者又は妊娠・分娩時に多量に出血したことのある者であって定期的に肝機能検査を受けていない者。基本健康診査においてALT（GPT）値により要指導とされた者）が適切に選別されていること、およびこの集団の中の一部に既に通院中のC型肝炎患者が紛れ込んできている可能性があるために起こった現象であると考えられる。

3. 出生年別にみたHBVキャリア率

節目検診受診者および節目外検診受診者におけるHBVキャリア率、およびほぼ同時期に献血を行った献血者集団におけるHBs抗原陽性率を、出生年別に重ねて図4示す。

節目検診受診者におけるHBVキャリア率は、1945～1955年出生の集団において高い値を示し、献血者集団と同じ傾向を示している。

節目外検診受診者における出生年別にみたHBVキャリア率は、初回献血者集団、節目検診受診者のそれに比べて、また、節目検診受診者におけるHBVキャリア率は、初回献血者集団のそれと比べて、それぞれやや高

い値を示している。これは、特に節目外検診受診者の一部には既に通院中のB型肝炎患者が紛れ込んできているために起こった

現象であるとも考えられたが、詳細な検討が必要である。

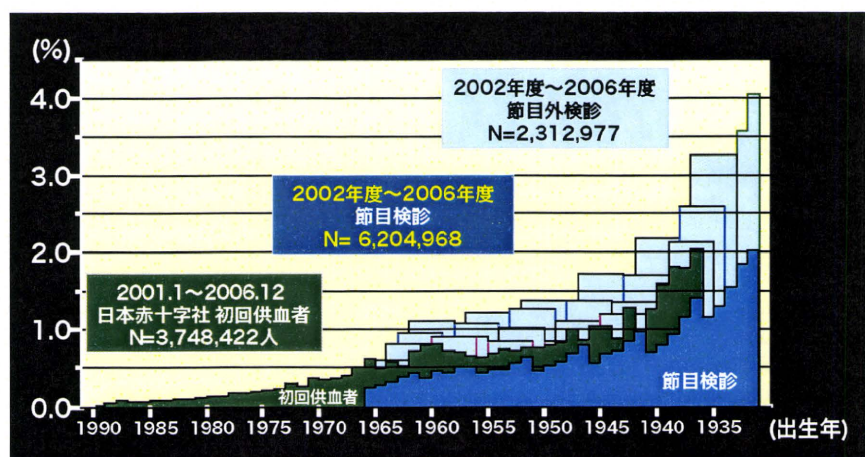


図3. 出生年別にみたHCVキャリア率およびHCV抗体陽性率

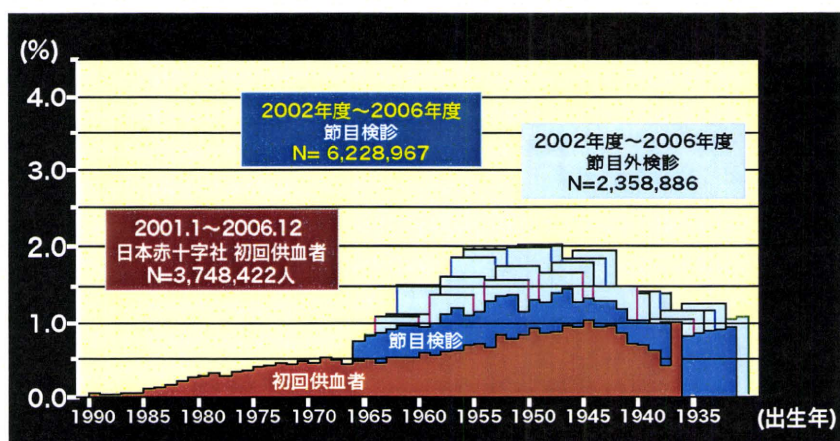


図4. 出生年別にみたHBVキャリア率およびHBs抗原陽性率

4. 地域別出生年別にみたHCV・HBVキャリア率

全国47都道府県で実施した肝炎ウイルス検診の成績をもとに再集計し、全国を8つの地域に分けて出生年別に節目検診受診者におけるHCVキャリア率、HBVキャリア率を算出し、示した(図5)。

HCVキャリア率は、関西より西の地域では約1%であり、東海より北の地域に比べてやや高い値を示した。しかし、関東以西の地域では年齢が高い集団に高いキャリア率を示すという傾向がみられ1940年以前

に出生の集団では1%を超える値を示していた。

HBVキャリア率は、北海道地域で2%を超える高い値を示していた。また1945年～1955年生まれの集団(いわゆる団塊の世代)におけるHBVキャリア率がいずれの地域においても高い値を示すという特徴が見られた。

HCV・HBVキャリア率の95%信頼区間から判断すると、北海道、中国、四国地域における解析対象者数が他の地域と比較してやや少ないことがわかる。

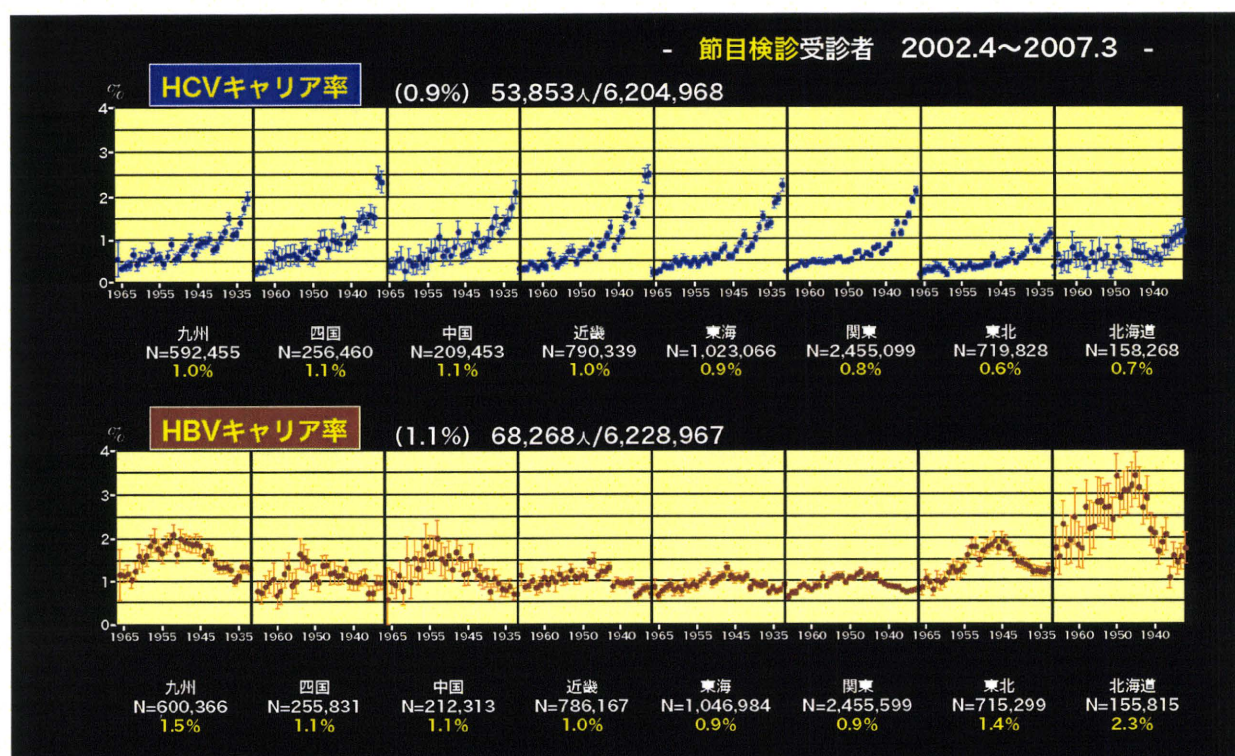


図5. 地域別・出生年別にみたHCV・HBVキャリア率

5. 肝炎ウイルス検診により見出されたHCV・HBVキャリア数

全国47都道府県で実施した肝炎ウイルス検診の成績をもとに、出生年別に再集計し、HCVキャリア率、HBVキャリア率を出生年別に算出し検討を行った。

節目検診・節目外検診により見出されたHCVキャリア数、HBVキャリア数を、8つの地域別に集計し、提示した(図4、図5)。

2002年度から5年の間に節目検診において見出されたHCVキャリア数は、53,853人(0.9%：受診者数6,204,968人)、節目外検診では、44,231人(1.9%：受診者数2,312,977人)、合計98,084人であった。

地域別にみると、大都市が集中している関東地域で見出されたHCVキャリア数が多く(合計35,180人、節目20,386人、節目外14,794人)、次いで東海地域(合計

16,203人、節目9,552人、節目外6,651人)、近畿地域(合計15,471人、節目8,151人、節目外7,320人)であった。

北海道地域は、HCVキャリア率が低いこともあり、節目検診では1,028人、節目外検診では729人、合計1,757人を見出されたにすぎないことが明らかとなった。

HBVキャリアについては、節目検診では68,268人(1.1%：受診者数6,228,967人)、節目外検診では、30,721人(1.3%：受診者数2,358,886人)、合計98,989人を見出されている。

地域別にみると、見出されたHBVキャリア数は、やはり大都市が集中している関東地域が多く(合計30,674人、節目22,518人、節目外8,156人)、次いで九州地域(合計14,853人、節目9,182人、節目外5,671人)、東北地域(合計14,529人、節目10,222人、節目外4,307人)、東海

地域（合計13,420人、節目9,700人、節目外3,720人）であった。

中国地域は、節目、節目外検診を併せてもHBVキャリアは4,270人が見出されたにすぎないことが明らかとなった。

D. 結論と考察

2002年度から2006年度までの5年間に全国の47都道府県で実施した肝炎ウイルス検診の成績をもとに、出生年別にみたHCVキャリア率、HBVキャリア率を集計した。

節目検診受診者におけるHCV・HBVキャリア率は、ほぼ同時期に献血を行った集団におけるHCV・HBVキャリア率の出生年別の年齢別分布とほぼ同じ分布を示すことが明らかとなった。

全国を8つの地域に分けてキャリア率を算出した結果、HCVキャリア率は、関東以西の地域では全体では約1%と、東北・北海道地域に比べてやや高い値を示し、また、関東以西の地域では、特に年齢が高い集団で高い値を示す傾向が顕著であった。

HBVキャリア率は、北海道地域で2%を超える高い値を示していた。またいずれの地域においても（いわゆる団塊の世代）1945年～1955年生まれの集団におけるHBVキャリア率が高い値を示すという特徴が見られた。

また、大都市では対象人口が大きいことから、キャリア率は低い値であっても見出されるHCV・HBVキャリア数の実数は多いことから、この地域での検診を効果的にすすめる必要があることが明らかとなった。

今後、この検診により見いだされたそれぞれ約10万人のHBVキャリア、HCVキャリアが適切に病院を受診し、肝臓専門医による病期の診断に従った適切な治療を受けられるよう、肝炎治療ネットワークの整備・充実が望まれる。

E. 健康危険情報

特記すべきことなし

F. 知的財産の出願・登録状況

なし

初回供血者集団（1995～2000年献血群、2001～2006年献血群）を対象とした解析

分担研究者 田中 純子¹⁾

研究協力者 厚生労働省 血液対策課、田淵 文子¹⁾、片山 恵子¹⁾、
小宮 裕¹⁾、水井 正明²⁾、吉澤 浩司¹⁾

1) 広島大学大学院 疫学・疾病制御学

2) 広島県赤十字血液センター

研究要旨

全国の日赤血液センターにおける初回献血者集団（2001年1月～2006年12月分、計3,748,422人）を対象として、出生年別（2005年時点における年齢別）にみたHCV抗体陽性率、HBs抗原陽性率を算出し、前回の調査結果（1995年1月～2000年12月に献血した初回献血者、計3,485,648人分の解析結果）と対比した。その結果、HBs抗原、HCV抗体陽性率は全体を単純平均すると、それぞれ0.31%、0.26%と、前回調査時に得られた0.63%、0.49%に比べて両者とも半減していることが明らかとなった。

調査年が新しくなるに従ってHBs抗原、HCV抗体陽性率が低下する傾向は、「肝炎ウイルス検診」によるHBV、HCVキャリアの拾い上げとは関連しないと考えられた。

その原因については現時点では不明である。

A. 研究目的

全国の日赤血液センターにおける初回献血者集団（2001年1月～2006年12月分、計3,748,422人）を対象として、出生年別（2005年時点における年齢別）にみたHCV抗体陽性率、HBs抗原陽性率を算出し、調査年の異なる成績（1995年1月～2000年12月に献血した初回献血者、計3,485,648人分の解析結果）との比較検討を行なう。

B. 対象と方法

日本赤十字社血液事業本部の全面的な協力を得て、2001年1月から2006年12月までの6年間に全国の日赤血液センターにおいて初めて献血した人（初回献血者）、総計3,748,422人の初回献血時のデータの提供を受け、出生年別にみたHBs抗原陽性率、HCV抗体陽性率を算出した。

C. 結果

表 1 に調査年別の献血者数、HBs 抗原陽性率および HCV 抗体陽性率を示す。

今回調査時の HBs 抗原、HCV 抗体陽性率は全体を単純平均すると、それぞれ 0.31 %、0.26 %であり、前回調査時に得られた 0.63 %、0.49 %に比べて両者とも半減していることが明らかとなった。

その理由のひとつとして、前回調査時に比べて献血者集団の年齢が 5 歳若返っていることが考えられた (図-1)。

表 1. 初回献血者における出生年、年齢別にみた HBs 抗原陽性率および HCV 抗体陽性率

	初回献血者数	HBsAg 陽性者数(%)	HCV抗体 陽性者数(%)
1995～2000年 献血群 (1995.1～2000.12)	3,485,648人	22,018人 0.63%	17,010人 0.49%
2001～2006年 献血群 (2001.1～2006.12)	3,748,422人	11,473人 0.31%	9,812人 0.26%

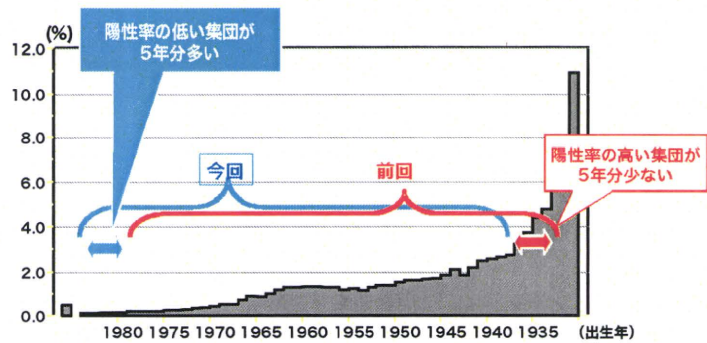


図 1. 出生年および年齢別にみた HCV 抗体陽性率

出生年別にみた HBs 抗原、HCV 抗体陽性率を図-2、図-3 に示す。

両者とも、いずれの出生年群においても陽性率が低下していることが明らかとなった。

また、2002 年 4 月から開始した「肝炎ウイルス検診」による影響を考慮して、前回と今回の調査結果から、1995 年 1 月から 1996

年 12 月の 2 年分、2000 年 1 月から 2001 年 12 月までの 2 年分と 2005 年 1 月から 2006 年 12 月までの 2 年分をそれぞれ抽出して出生年別の HBs 抗原、HCV 抗体陽性率を対比したところ、調査年が新しくなる (2006 年に近づく) に従って、各出生年群とも、陽性率は低下していることが明らかとなった (図-4、図-5)。

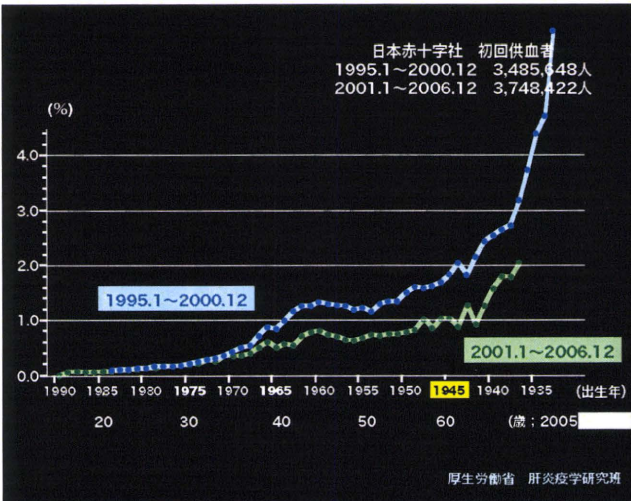


図 2. 出生年および年齢別にみた HCV 抗体陽性率

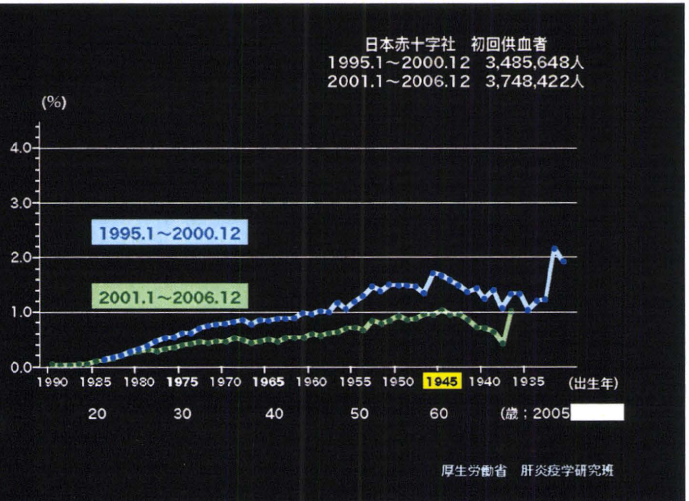


図 3. 出生年および年齢別にみた HBs 抗原陽性率

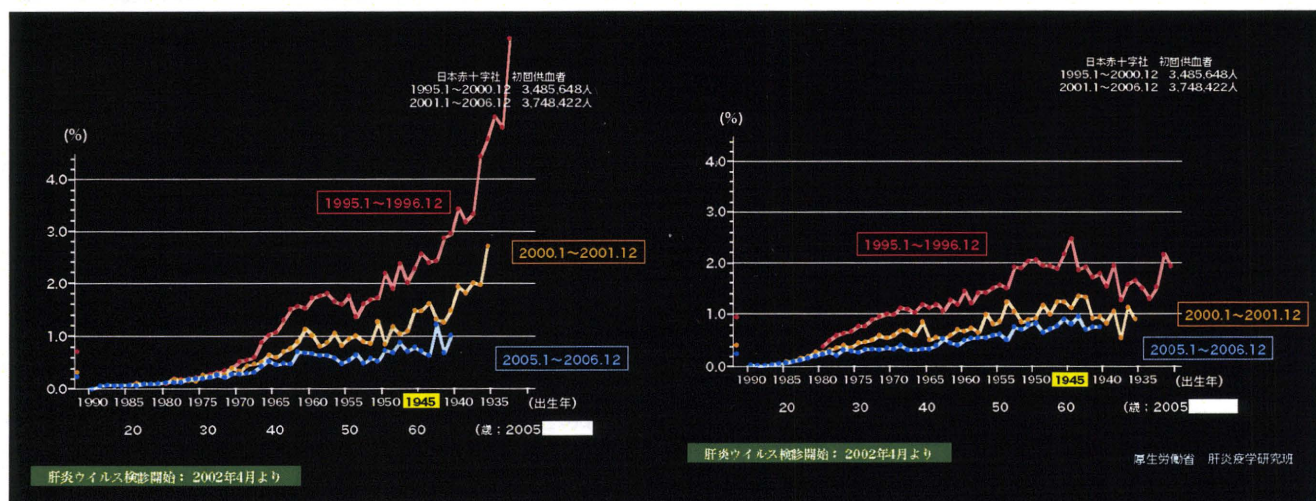


図4. 出生年および年齢別にみた HCV 抗体陽性率

図5. 出生年および年齢別にみた HBs 抗原陽性率

D. 結論と考察

全国の日赤血液センターにおける初回献血者集団（2001年1月～2006年12月分、計3,748,422人）を対象として、出生年別（2005年時点における年齢別）にみた HCV 抗体陽性率、HBs 抗原陽性率を算出し、前回の調査結果（1995年1月～2000年12月に献血した初回献血者、計3,485,648人分の解析結果）と対比した。

HBs 抗原、HCV 抗体陽性率は全体を単純平均すると、それぞれ0.31%、0.26%と、前回調査時に得られた0.63%、0.49%に比べて両者とも半減していることが明らかとなった。

調査年が新しくなるに従って HBs 抗原、HCV 抗体陽性率が低下する傾向は、「肝炎ウイルス検診」による HBV、HCV キャリアの拾い上げとは関連しないと考えられた。

その原因については現時点では不明である。

E. 健康危険情報

特記すべきことなし

F. 知的財産の出願・登録状況

なし

HBV 感染の経過に伴う HBV DNA、HBs 抗原の消長とその特性
ー新しく開発された HBs 抗原検出系の HBV 感染の特性解明への応用の可能性についてー

分担研究者	吉澤浩司 ¹⁾ 、柚木久雄 ²⁾ 、田中純子 ¹⁾
研究協力者	片山恵子 ¹⁾ 、田淵文子 ¹⁾ 、小宮裕 ¹⁾ 水井正明 ³⁾ 、友栗徹士 ⁴⁾ 、日野邦彦 ⁵⁾ 星野博美 ⁵⁾ 、松原直子 ⁶⁾ 、伊藤哲雄 ⁶⁾

- 1) 広島大学大学院 疫学・疾病制御学
- 2) 日赤中央血液研究所 核酸増幅検査部
- 3) 広島県赤十字血液センター
- 4) 三和化学熊本霊長類パーク
- 5) 大阪府赤十字血液センター
- 6) デルタクリニック
- 7) 先端生命科学研究所

研究要旨

宿主が産生する HBs 抗体の存在下でも影響を受けることなく HBs 抗原を検出できる高感度の HBs 抗原検出系 (ALSI-HBsAg) を用いて、様々なグループから成る保存検体を対象として HBs 抗原の検出を行い、既存の HBV DNA の検出結果、及び新たに追加して行った nested PCR による HBV DNA の検出結果とを対比することにより以下の結果を得た。

1. HBV 感染早期 (HBc 抗体出現以前) の検体を対象とした場合、この測定系は HBV DNA 量が 10^3 コピー/ml に達した検体については例外なく捕捉することができ、 10^2 コピー/ml に達している検体についても、その大半を捕捉することが可能であること。
2. 特に HBc 抗体が出現した後の、HBV 感染中期～後期の検体を対象とした場合には、nested PCR による HBV DNA の検出とほぼ同等か、時にはそれ以上 (HBV DNA 量が 10^2 コピー/ml 未満にまで低下している検体まで) の捕捉能を示す場合があること。

以上の結果は、今後更に対象 (群) を増やしてこの測定系を広く用いることにより、HBV 感染の特性をより詳細に解析できる可能性を示すものであると言える。

A. 研究目的

宿主が産生するHBs抗体の存在下でも影響を受けずにHBs抗原を検出できる高感度の検出系(ALSI-HBsAg)を用いて、様々な検体を対象としてHBs抗原の測定を行い、HBV DNAの測定結果と対比することにより、新たな視点からHBV感染の特性の解明を試みることを目的とした。

B. 対象と方法

1. 高感度のHBs抗原測定系(ALSI-HBsAg)のデザイン

HBs抗原のepitopeには表面に露出している「外側」epitopeと表面には露出していない「内側」epitopeとがあり、通常のHBs抗原測定法では「外側」epitopeに対する抗体が使用されている。HBs抗原の変異はs抗原タンパクの144aa付近(「外側」epitope)におこることが知られているが、表面に露出していない「内側」epitopeについては変異が入る可能性は極めて低いと考えられている。

一方、HBVに感染した宿主の体内で産生されるHBs抗体は、理論上、

「外側」epitopeに対するものであると考えられている。

本研究で用いたHBs抗原検出系(ALSI-HBsAg)は、通常の測定系が認識する「外側」epitopeに対するモノクローナル抗体と、「内側」epitopeに対するモノクローナル抗体を併用することにより、HBs抗原の検出能力を高め、さらに「外側」epitopeに対する変異体や、HBs抗体が共存する検体にも対応してHBs抗原の検出を可能にしたものである。

なお、この検出系はConjugateとしてアルカリフォスファターゼをラベルしたモノクローナル抗体を用いる一般的なサンドウィッチ法によるものであるが、効率のよい抗原抗体反応環境を整えること、2次抗体の標識法の改良による発光、発色強度の増幅によ

り、検出感度を向上させた測定系である。

2. 測定、解析の対象

下記の検体を対象として、HBs抗原、HBV DNAを検出、測定し、解析した。

- 1) 実験的にHBVを感染させたチンパンジーの感染経過中の一連の血清
 - (1) ジェノタイプAのHBVを感染させたチンパンジー(chimp246)の経過中の血清
 - (2) ジェノタイプCのHBVを感染させたチンパンジー(chimp272)の経過中の血清
- 2) 核酸増幅検査(NAT)により見出されたHBV DNA陽性の献血者由来の血漿
- 3) 経過観察中に抹消血中のHBV DNAが消失したB型慢性肝疾患患者由来の血清

3. HBs抗原、HBV DNAの検出、測定

HBs抗原は、microparticle EIA法(AxSYM®)、化学発光による測定法(CLIA法、アボットジャパンKK、東京)、ALSI-HBsAg(先端生命科学研究所、東京)により検出、測定した。HBV DNAはTaq Man PCR®(ロシュダイアグノスティクスKK、東京)、およびnested PCRにより検出、測定した。

C. 結果

1. チンパンジーの血清を対象とした測定、解析結果

- 1) 図-1に示したジェノタイプAのHBVを感染させたチンパンジー(chimp No.246)の一過性感染経過中のHBV DNAとHBs抗原の測定結果を示す。

HBV DNAは、HBV接種後17日目(HBV DNA量が 1.2×10^2 コピー/mlに達した時点)から検出可能となり、278日目(HBV DNA量が 2.7×10^2 コピー/mlに低下する)まで連続して検出され、これ以後334日目までは断続的に検出された(HBV

DNA量は 1.1×10^2 コピー/mlから 1.7×10^2 コピー/mlの範囲内)。

これに対して、ALSI-HBsAgにより、HBs抗原はHBV接種後15日目(HBV DNA量が 2.7×10^2 コピー/mlに達し、検出可能となった日の2日前)に検出可能となり、HBV DNAが最後に検出された334日目から数えて48日後まで連続して検出された。また、図-1から明らかなように、末梢血中のHBV DNA量がピークを越えた118日目以降では、HBV DNAに比べてむしろHBs抗原はより感度よく捉えられている点が注目された。

- 2) 図-2にジェノタイプCのHBVを感染させたチンパンジー(chimp No.272)の経過中のHBV DNAとHBs抗原の測定結果を示す。

HBV DNAは、HBV接種後6日目(HBV DNA量が 3.0×10^2 コピー/mlに達した時点)から検出可能となり、189日目(HBV DNA量 1.0×10^2 コピー/mlに低下した時点)まで検出され、196日目の時点では検出不可となっている。

一方、ALSI-HBsAgにより、HBs抗原はHBV接種後10日目(HBV DNA量が 1.1×10^3 コピー/mlに達した時点)から検出可能となり、182日目(HBV DNA量が 1.7×10^2 コピー/mlに低下した時点)まで検出され、189日目(HBV DNA量 1.0×10^2 コピー/mlとなった時点)には検出できなくなっている。なお、chimp246と同様に、末梢血中のHBV DNA量がピークを越えたHBV感染の後期では、HBs抗原はHBV DNAに比べてむしろ感度よく捉えられていた。

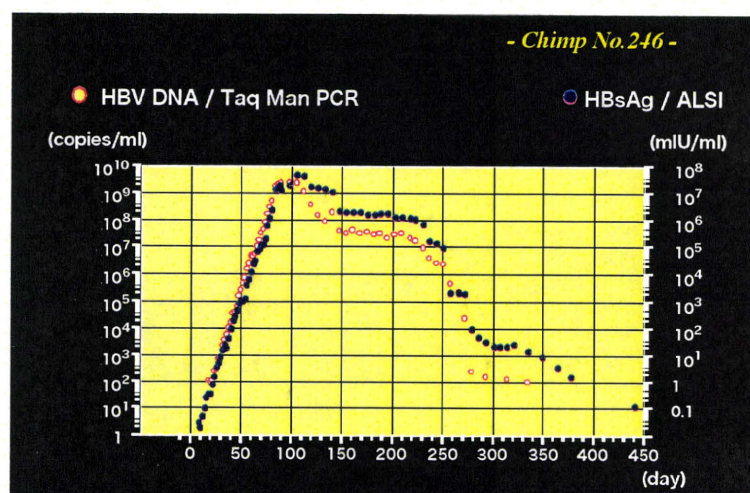


図1. HBV (ジェノタイプ A) を接種したチンパンジーの末梢血中におけるHBV DNAとHBs抗原の消長

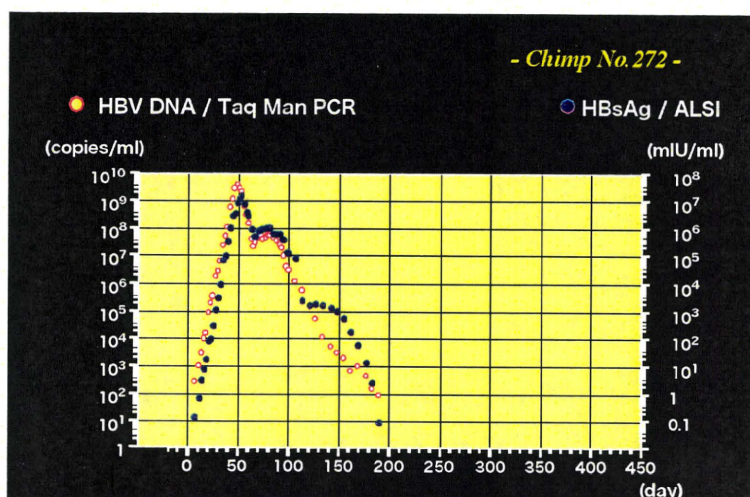


図2. HBV (ジェノタイプ C) を接種したチンパンジーの末梢血中におけるHBV DNAとHBs抗原の消長

2. 核酸増幅検査（NAT）により見出されたHBV DNA陽性の献血者由来の血漿を対象とした測定、解析結果

図-3 に NAT により見出された HBV 感染早期 (HBc 抗体陰性期) の献血者由来の血漿 234 検体を対象とした HBs 抗原と HBV DNA の検出結果を対比して示す。

HBs 抗原は microparticle EIA 法 (AxSYM®) による測定値 (S/N) を、また、HBV DNA 量は Taq Man PCR® による測定値 (コピー/ml) により、示した。

HBs 抗原は対象とした検体の半数以上が陰性と判定されており、また、HBV DNA

量と HBs 抗原の測定値 (S/N) とは必ずしも 1 対 1 の対応をなしてはいない。

図-4 は、保存検体を用いて ALSI-HBsAg により HBs 抗原を測定し、同様に整理してまとめたものである。HBV DNA 量が少量 ($10^2 \sim 10^3$ コピー/ml) であった例のごく一部 (4 検体のみ) が HBs 抗原陰性と判定されている。

これらの 4 検体の HBV DNA 量は $1.0 \sim 2.8 \times 10^2$ コピー/ml といずれもごく微量であり、HBV のジェノタイプについてはジェノタイプ A と B が各 1 検体、ジェノタイプ C が 2 検体と、特定のジェノタイプへの片寄りは認められなかった。

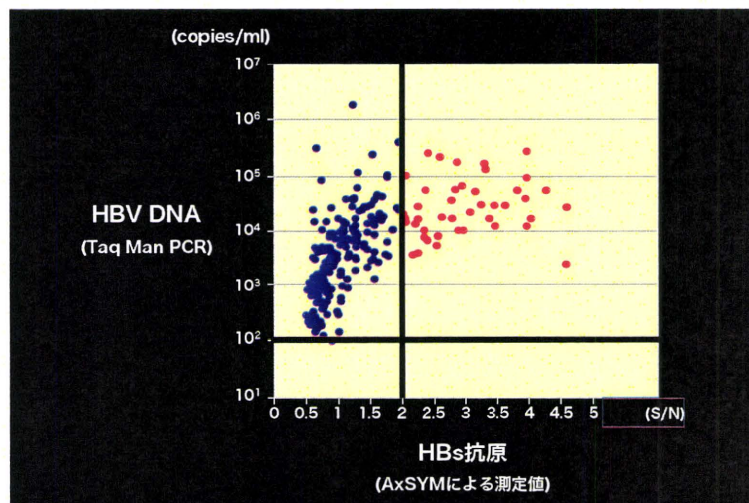


図3. HBV DNA量とHBs抗原測定値 (S/N 値) との関係
— NAT により見出された HBV 感染早期の 234 検体について —

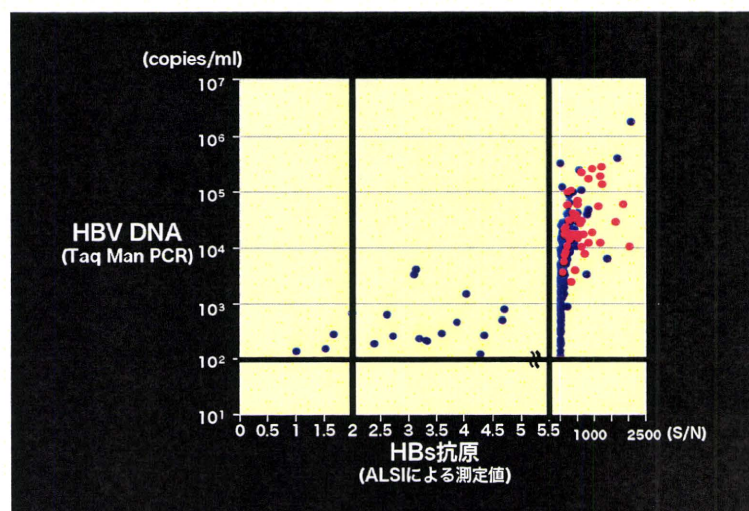


図4. HBV DNA量とHBs抗原測定 (S/N 値) との関係
— NAT により見出された HBV 感染早期の 234 検体について —

3. 末梢血中の HBV DNA が検出されなくなった B 型慢性肝疾患例の経過を追った血清を対象とした測定、解析結果

図-5 に、経過観察中に末梢血中の HBV DNA と HBs 抗原の両者が自然消失した症例の経過を示す。

この症例の保存血清を用いて、retrospective に nested PCR による HBV DNA、および ALSi-HBsAg による HBs 抗原の検出を試みたところ、HBV DNA 消失後、長期間にわたってごく微量の HBV DNA と共に、HBs 抗原が持続して検出されることが明らかとなった。

図-6 は、核酸アナログ製剤による治療開始後、比較的早期に末梢血中の HBV DNA が消失した例の経過をまとめたものである。この症例は HBV DNA が消失してから約 1 年後に HB ワクチンの接種を開始しているが、

3 回目の接種直後に HBs 抗体価の急上昇（ブースター反応）がみられた。この症例の保存血清を用いて、nested PCR による HBV DNA、および ALSi-HBsAg による HBs 抗原の検出を試みたところ、ごく微量の HBV DNA の消失に続いて、HBs 抗原の消失がおり、その後数ヵ月を経て HB ワクチンの接種を開始していたことが明らかとなった。

図-7 も核酸アナログ製剤による治療例で、HBV DNA 消失後約 1 年目に HB ワクチンの接種を行ったものの十分な効果が得られなかった例の経過をまとめたものである。この症例は nested PCR による HBV DNA の消失、ALSi-HBsAg による HBs 抗原の消失後に HB ワクチンの接種を開始してはいるものの、図-6 に示した症例に比べて HBV マーカーが消失してから HB ワクチン接種開始までの期間（間隔）が短い点が異なっていた。

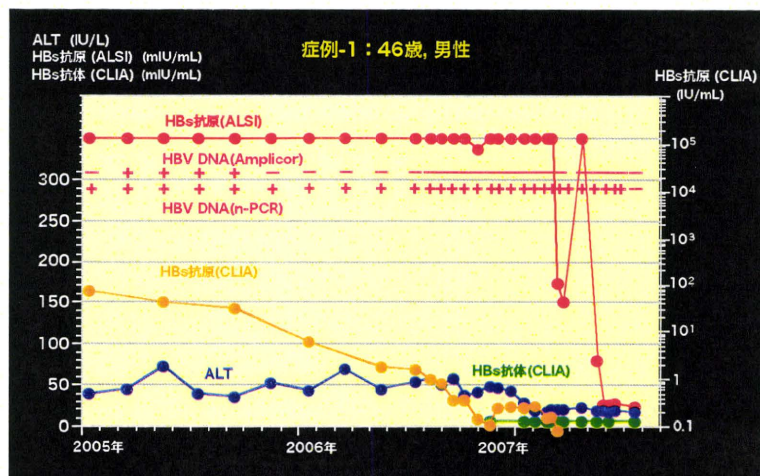


図5. HBV 感染の経過に伴う HBV DNA、HBs 抗原の消長＜自然経過例＞

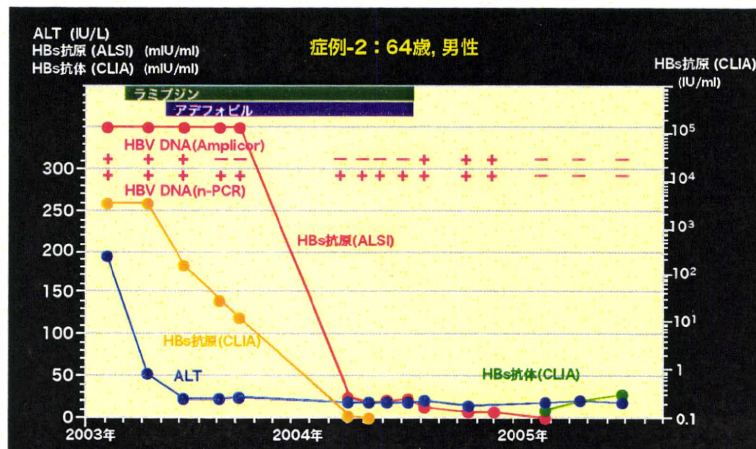


図6. HBV 感染の経過に伴う HBV DNA、HBs 抗原の消長＜治療+HB ワクチン接種例＞

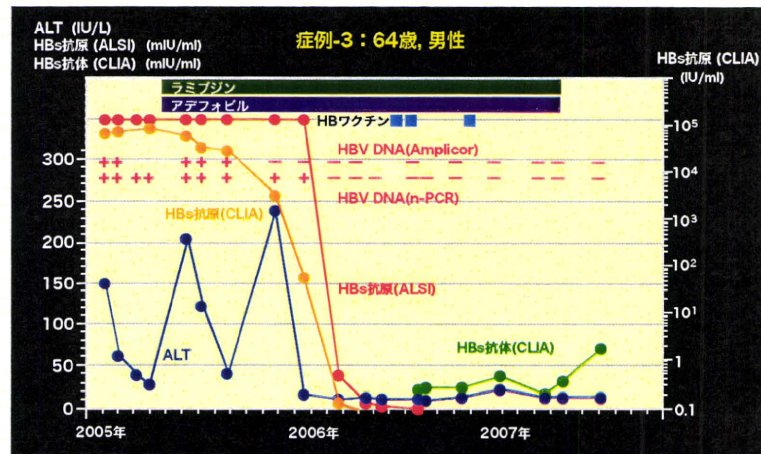


図7. HBV 感染の経過に伴う HBV DNA、HBs 抗原の消長
＜治療+HB ワクチン接種例＞

D. 結論と考察

新しく開発された高感度のHBs抗原測定系 (ALSI-HBsAg) を用いて、様々なグループから成る保存血清を対象としてHBs抗原の再測定を行い、既存のHBV DNAの検出結果、及び新たに追加して行った nested PCR によるHBV DNAの検出結果との対比を行い、以下の成績を得た。

1. HBV 感染早期 (HBc 抗体出現以前) の検体を対象とした場合、この測定系はHBV DNA 量が 10³ コピー/ml に達した検体については例外なく捕捉することができ、10² コピー/ml に達している検体についても、その大半を捕捉することが可能であること。
2. 特に HBc 抗体が出現した後の、HBV 感染中期～後期の検体を対象とした場合には、nested PCR によるHBV DNAの検出とほぼ同等か、時にはそれ以上の捕捉能を示す場合があること。

以上の結果は、今後、更に対象（群）を増やして、この測定系を広く用いることによりHBV感染の特性をより詳細に解明できる可能性を示すものであると考えられた。

抗 HCV ヒト免疫グロブリン (HCIG) 開発を目ざした基礎的研究
— 感受性動物小動物 (ヒト肝細胞置換キメラマウス) を用いた感染実験による中和活性の検証 —

分担研究者	吉澤浩司 ¹⁾ 、柚木久雄 ²⁾ 、田中純子 ¹⁾
研究協力者	片山恵子 ¹⁾ 、田淵文子 ¹⁾ 、小宮裕 ¹⁾ 水井正明 ³⁾ 、木次克彦 ⁴⁾ 、藤原稔也 ⁴⁾ 松倉晴道 ⁵⁾ 、伴野丞計 ⁶⁾ 、前野英毅 ⁶⁾ 丸山功 ⁷⁾ 、島田卓 ⁷⁾

- 1) 広島大学大学院 疫学・疾病制御学
- 2) 日赤中央血液研究所 核酸増幅検査部
- 3) 広島県赤十字血液センター
- 4) オーソクリニカルダイアグノスティクス
- 5) 大阪府赤十字血液センター
- 6) 日赤血漿分画センター
- 7) フェニックスバイオ

研究要旨

抗 HCV ヒト免疫グロブリン (HCIG) の開発を目ざした基礎的研究の第一歩として、(1) 既知の HCV 感染材料、(2) HCV のエンベロープに対する抗体 (HCVenv 抗体) 高力価陽性のヒトプール血漿を原料として調製したガンマグロブリン (HCIG 候補)、(3) ヒト肝細胞置換キメラマウスの 3 者を用いた感染実験を行い、以下の結果を得た。すなわち、

- 1) HCV (ジェノタイプ 1a) の遺伝子 (E1+E2+P7 領域) 由来の計 624aa から成るペプチドを抗原として用いた測定系により検出される抗体 (HCVenv 抗体) は、HCV キャリアの血清中に比較的高い頻度で見出された。
- 2) HCVenv 抗体高力価陽性者由来のプール血漿を界面活性剤と還元剤処理 (SD 処理) した後に作製したガンマグロブリン分画では HCV の感染力は失われていることが明らかとなった。
- 3) HCVenv 抗体高力価を示す複数の HCV キャリアのプール血漿を原料として調製した HCIG 候補には、HCV の感染を阻止する中和活性があることが明らかとなった。

以上、本研究により得られた成果は、抗 HCV ヒト免疫グロブリン (HCIG) 開発の可能性にむけた第一歩であり、今後はより強い中和活性を有する原料血漿の選別法 (HCVenv 抗体測定系の改良)、感染防御の対象となるべき (それぞれの患者血中の) HCV と HCIG 候補の Lot ごとにみた中和能とのマッチングの検討などが必要になると考えられた。

A. 研究目的

C型肝炎ウイルスのエンベロープに対する抗体（以下HCVenv抗体と略記）陽性のプール血漿を原料として調製したガンマグロブリン分画（抗HCVヒト免疫グロブリン候補；以下HCIG候補と略記）がHCV感染防御機能を有するか否かをヒト肝細胞置換キメラマウス（以下キメラマウスと略記）を用いた感染実験により検証することを目的とした。

B. 対象と方法

1. HCVenv抗体の検出、測定系に用いた抗原

HCV（ジェノタイプ1a）の遺伝子（E1+E2+P7領域）由来の発現ペプチド（E1：192-383aa+E2+P7：384-815aa、合計624aaから成るペプチド）を抗原として用いた。

2. HCVenv抗体の測定と原料血漿選択のためのスクリーニング

以下の手順により、目的に適った原料血漿の選択を行った。

(1)HCV抗体陽性の血漿（HCV感染既往者とHCVキャリアの両者由来の血漿153検体から成るパネル血漿）を対象とし、HCVenv抗体測定値（O.D値）とHCV抗体価（2NHCV PHA価）とを対比した。その結果、HCVキャリア由来の血清を対象とすることにより、高力価HCVenv抗体陽性の検体を効率良く見出すことができることが明らかとなった。

(2)HCVキャリアの保存血清、計624検体を対象とし、原血清、 10^2 倍、 10^3 倍、 10^4 倍希釈サンプルを検査して得た測定結果（O.D値）から、 10^3 倍希釈サンプルによる測定値を用いることにより、効率良く高力価HCVenv抗体を選別できることを確認した。

(3)HCVキャリアの血漿（献血者由来の血

漿、計298バッグ分）の 10^3 倍希釈後の測定値（O.D値）を求めた。

3. HCIG候補用原料血漿のプール

上記(2)の集団から、 10^3 倍希釈後の測定値（O.D値）が1.0以上を示す10検体、計25ml、および(3)の集団から、 10^3 倍希釈後の測定値（O.D値）が0.8以上を示す35バッグ分合計2,225ml、合計45人分、計2,250mlの血漿をプールし、HCIG候補用原料とした。

4. ガンマグロブリン分画の調製

プールした原料血漿を界面活性剤と還元剤によりウイルスの不活化処理（SD処理）を行った後、定法（コーン冷エタノール分画法）によりガンマグロブリン分画を調製した（タンパク濃度5.76%、溶媒0.3Mグリシン）。

5. 接種材料

チンパンジーを用いた感染実験により、あらかじめ性質が明らかとなっている（既知の）接種材料を用いた^{1) 2)}。

その由来、性質は下記の通りである。すなわち、

- (1) ヒト（献血者）由来のHCV感染早期の新鮮凍結血漿（FFP）接種後7週目のチンパンジーの血清（Passage 7: P-7）、
- (2) HCVのジェノタイプ：1b+2a
- (3) HCV RNA量： 2.2×10^5 コピー/ml、
- (4) HCV抗体：陰性、
- (5) チンパンジーに接種した場合の感染価：Chimpanzee Infectious Dose：CID： $\sim 10^1$ （18～26）コピー。

6) 実験に用いたヒト肝細胞置換キメラマウス

同一Lotのヒト肝細胞（Lot.BD87）を用いて置換したキメラマウス（置換率66.7%～90.3%）、計22匹を用いた。実験開始

時の体重は、12.7 g～ 20.6 g。

C.結果

1. 抗体の測定値と HCV 抗体価

1) HCVenv 抗体測定値 (O.D 値) と HCV 抗体価 (2NHCV PHA 価) との対比

HCVenv 抗体測定値 (O.D 値) は、HCV 抗体価が中～低力価を示す HCV 感染既往例ではいずれも低値を示していた。一方、HCV 抗体価が 2¹²HCV PHA 価以上の高力価を示す (HCV キャリア) 群では、高値を示すという傾向がみられた (図-1)。

2) HCV キャリア集団における高力価 HCVenv 抗体陽性例の頻度

原血清 10³ 倍稀釈サンプルを検査して得た HCVenv 抗体測定値 (O.D 値) が 1.0 以上を示す例を「高力価 HCVenv 抗体陽性例」とした場合、その頻度は 624 検体中 10 検体 (1.6%) であり、これらは主として HCV 抗体高力価の (2¹⁴HCV PHA 価以上の) 群から見出された (表-1)。

同様に献血者由来の血漿 10³ 倍稀釈サンプルを検査して得た HCVenv 抗体測定値 (O.D 値) が 0.8 以上を「高力価 HCVenv 抗体陽性例」とした場合の頻度は 298 バッグ中 35 バッグ (11.7%) であり、これらは 2¹³HCV PHA 価以上を示す群から見出された (表-2) 。

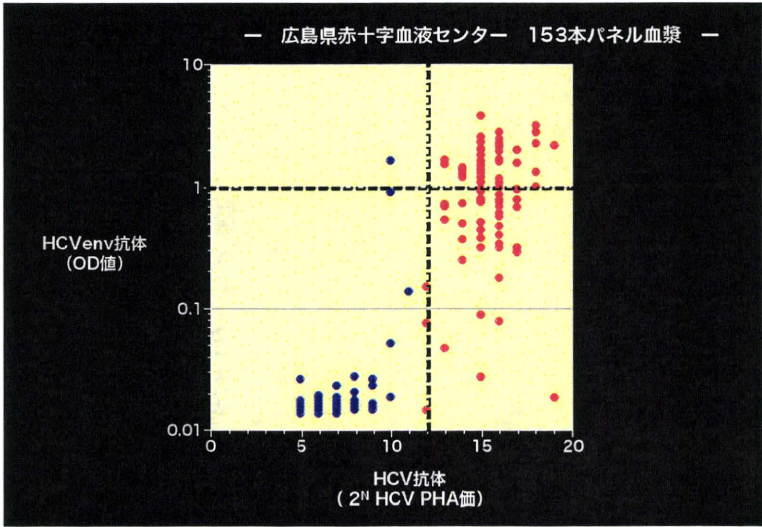


図1. HCV 抗体価 (2N PHA 価) と HCVenv 抗体測定値と HCV 抗体価との対比

表1 HCV 抗体価 (2^NHCV PHA 価) 別にみた高力価 HCVenv 抗体陽性例の分布

— HCIG (候補) の原料として選別した10例 —

HCV 抗体 (2 ^N HCV PHA 価)	検体数	高力価 HCVenv 抗体 陽性数 (%)	
2 ¹²	98	0	
2 ¹³	116	0	
2 ¹⁴	120	2	(1.7)
2 ¹⁵	153	4	(2.6)
2 ¹⁶	90	3	(3.3)
2 ¹⁷	41	1	(2.4)
2 ¹⁸	6	0	
合計	624	10	(1.6)

高力価 HCVenv 抗体：原血清 1,000 倍稀釈後の測定値 O.D 1.0 以上