

ウイルス肝炎の動向

B型肝炎, C型肝炎の疫学

田中純子・片山恵子

広島大学大学院 医歯薬学総合研究科 疫学・疾病制御学/たなか・じゅんこ かたやま・けいこ

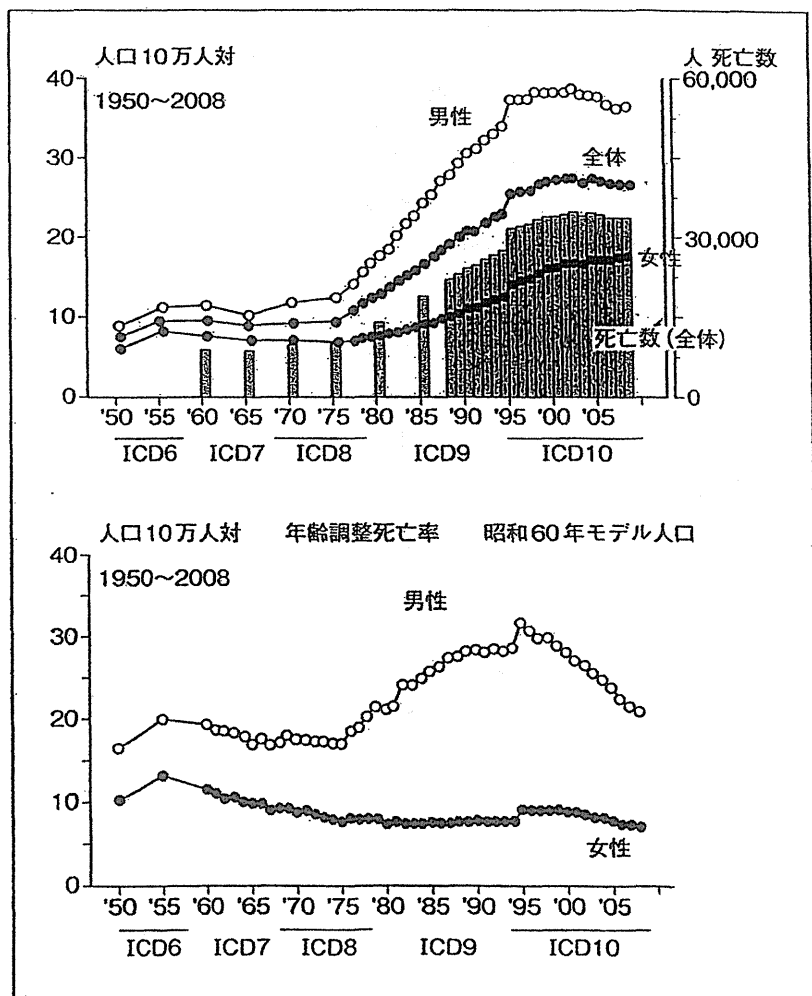
わが国における肝癌による死亡●

わが国における年間死亡数は114.3万人, うち「悪性新生物」による死亡は, 約30% (約34.3万人, 2008年人口動態統計) を占めており, 1981年以降死因の1位を保持している. その内訳を臓器部位別にみると, 「肝」(肝および肝内胆管)の悪性新生物による死亡は3.4万人(2008年)と, 肺, 胃, 大腸について4位である.

「肝」(肝および肝内胆管)の悪性新生物による

死亡の経年推移をみると(図1), 1975年以後に増加をはじめ, それまで人口10万人あたり10人前後であった肝癌死亡率は, 2002年に28人/10万人とピークを示した. 男性では女性の約2倍の肝癌死亡率を示しながら2002年以後, ややとどまり傾向にあるが, 女性は依然として微増を示している. いわゆる高齢化の影響を調整した, 昭和60年モデル人口を基準集団とした年齢調整死亡率をみると(図1), ICD10(国際疾病, 傷害および死

図1 わが国における肝癌による死亡の推移



- 2008年時点のわが国における「肝」(肝および肝内胆管)の悪性新生物による死亡は3.4万人である。
- 肝細胞癌死亡の約8割はHBVあるいはHCVの持続感染に起因すると考えられる(2005年)。
- 肝炎ウイルス感染予防とキャリア対策, 特にHCVキャリア対策が重要である。

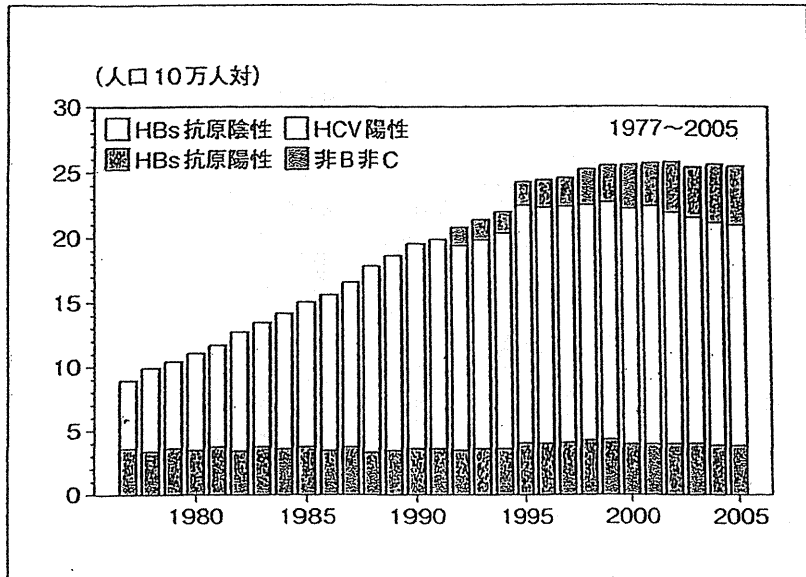


図2 成因別にみた肝細胞癌死亡の推移(推計値)
 (厚生労働省大臣官房統計情報部:人口動態統計 日本肝癌研究会:全国原発性肝癌追跡調査報告を用いて算出(2010))

因統計分類: International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems)の移行に伴う段差増が1995年にみられるが, 減少傾向を示している。この減少傾向については, 特に1990年代後半からの治療による延命効果, 肝癌リスク集団の減少などが考えられ, 全体として肝癌死亡のリスクは減少している傾向がみられる。しかしながら, 死亡実数は1995年以後毎年3万人を超えており, わが国の疾病対策上, 重要な疾患のひとつといえる。

肝細胞癌による死亡の推移について, 日本肝癌研究会による調査成績(1982~2009)と人口動態統計資料とを用いて病因別に推計したものを図2に示す。

B型肝炎ウイルス(HBV)の持続感染に起因する肝細胞癌死亡の割合は, 現在に至るまで10万人対3~4人と一定の値を示していることがわかる。これまでHBV感染の感染経路は主に乳幼児期における感染であり, 母子感染の比重が大き

かったことから, わが国では1986年以後に出生したすべての児を対象として公費負担によるHBV母子感染防止事業が実施された。その後, 1995年からは妊婦のHBs抗原検査以外の検査や処置が保険適応となり, 現在も継続されている。この事業による若年齢層におけるHBs抗原陽性率の低下(後述)を考えると, 図2に示したHBVの持続感染に起因する肝癌死亡の割合は, 1986年以後出生の世代が肝発癌年齢を迎えはじめる十数年後から徐々に減少するものと考えられる。一方, 肝細胞癌死亡の約7割がC型肝炎ウイルス(HCV)の持続感染に起因していること, 2000年以後は非B非C型に由来する肝癌の割合が全体の10~15%を占め, かつ増加傾向にあること, が特徴的である。

2005年現在, 肝細胞癌死亡の約8割はHBVあるいはHCVの持続感染によるものであり, そのうちHCVは8割を占めており, 肝癌死亡の成績からみると, 肝炎ウイルス感染予防とキャリア対策, 特にHCVキャリア対策が重要といえる。

● 全国市町村別の肝癌標準化死亡比を地域別時期別にみると、地域ごとに特性があり、肝癌標準化死亡比の変遷が異なる。

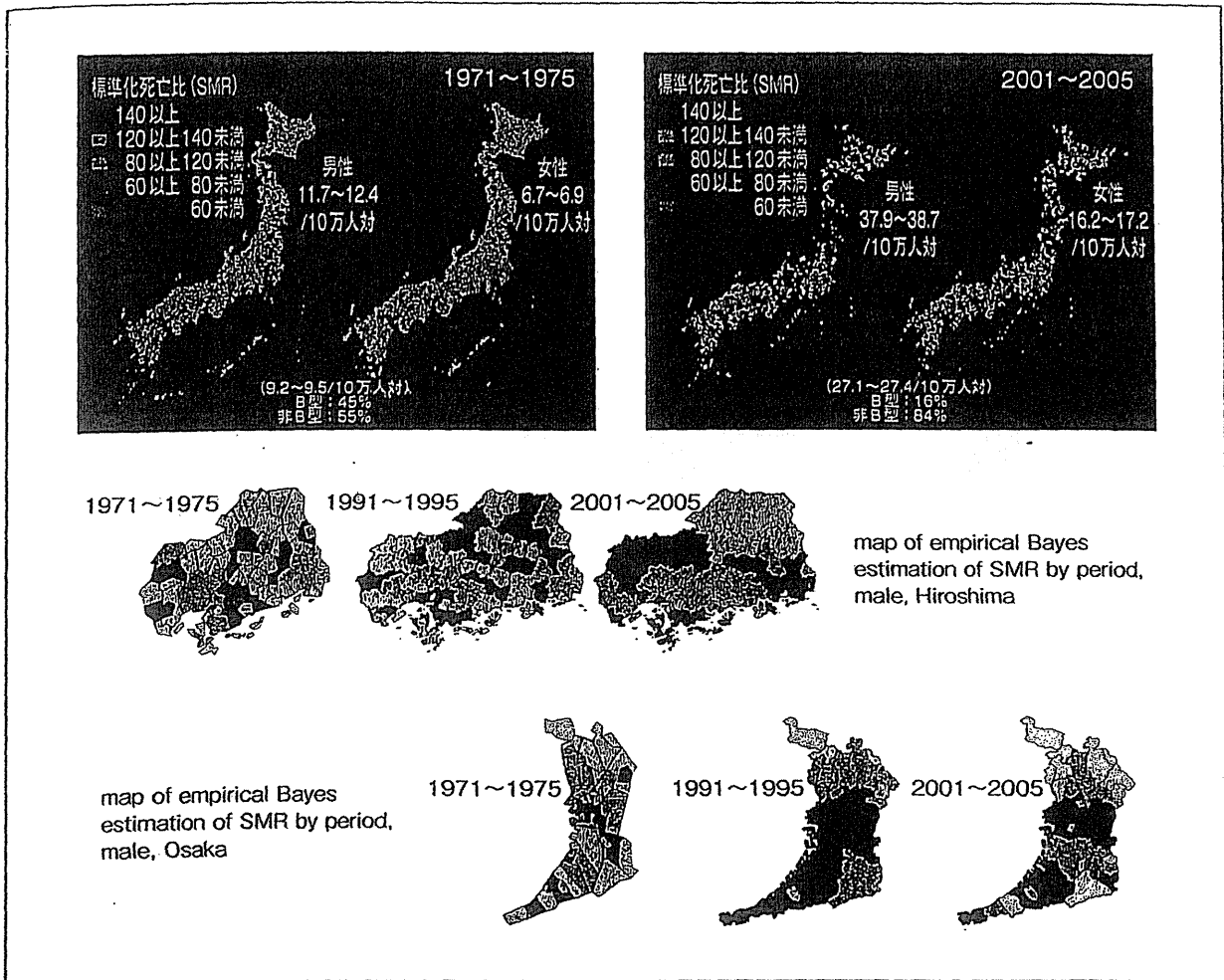


図3 市町村別にみた肝癌標準化死亡比 (Bayesian method) の経年推移, 1971~2005

(厚生省肝炎等克服緊急対策研究事業: 肝炎ウイルス感染状況・長期経過と予後調査及び治療導入対策に関する研究班, 三浦宜彦班員報告より引用)

肝癌死亡の地理的分布とキャリア率●

肝癌死亡の地域別分布について、全国市町村別の肝癌標準化死亡比 (SMR バイズ推定量分布図) を 1971 年から 5 年刻みに 2005 年まで 7 期別に算出し、二つの期について図 3 に示す (厚生労働省肝炎ウイルス感染状況・長期経過と予後調査及び治療導入対策に関する研究班 2010, 三浦宜彦班

員報告より)。肝癌標準化死亡比は全国平均を 100 としているが、1971~1975 年 (第 1 期) では顕著な地域差は認められない。2001~2005 年 (第 7 期) では、西日本地域を中心に標準化死亡比の高い地域が認められる。広島県と大阪府を例として抽出すると、前者は県東部沿岸を中心に 2000 年代に入り依然として標準化死亡比の経年的増加が認め

●死亡小票調査からみると、男性では50歳代以降、女性では60歳代以降から慢性肝疾患による死亡率が上昇しはじめる。

●肝炎ウイルス検査推進とともに検査後の継続的な医療機関受診の推進が重要な課題となっている。

られる一方、後者は1990年代にピークを迎え減少傾向にあると考えられる。このように地域と時期により肝癌標準化死亡比の変遷がわかる。

2000年以後に得られた二つの大規模集団(「初回供血者」、2002年度から5ヵ年計画で実施された「節目検診受診者」)の特性を考慮した上で算出した年齢階級別の肝炎ウイルスキャリア率を全国8地域に分けて図4に示す¹⁾。

日本赤十字血液センターの2001年から2006年の6年間の「初回供血者」3,748,422人の資料から、15～39歳までの5歳刻みの年齢階級別HBs抗原陽性率、HCV抗体陽性率およびHCVキャリア率を算出した。さらに厚生労働省から公表されている「肝炎ウイルス検診」の成績のうち、「節目検診受診者」の資料(HBV検診6,280,111人、HCV検診6,304,276人)から、40～70歳までの5歳刻みの年齢階級別HBs抗原陽性率、HCVキャリア率を算出した(年齢はいずれも、2005年時点の年齢換算)。

全国8地域別に全年齢平均でみたHBVキャリア率、HCVキャリア率の多寡はあるものの、全体として、HCVキャリア率は年齢が高い集団で高い値を示し、24歳以下の若年層ではいずれの地域も低い値を示す傾向が認められた。また、HBVキャリア率は団塊の世代と考えられる2005年時点の年齢換算で60歳前後の世代を中心に緩やかな一峰性を示すが、10歳代ではいずれの地域も0.1%以下の低い値を示している。

肝発癌の年齢については、原発性肝癌11,326例の診断時年齢を集計すると、男性では45歳を過ぎる年齢から、女性では男性より5～10年遅れた50～55歳過ぎから、患者数の急激な増加がみられている(肝癌白書1999)。広島県A市6年分の死亡小票調査(厚生指標1998)からは、慢性肝疾患(肝硬変、肝癌)による死亡率は男性では

50歳代以降から、女性では60歳代以降から高くなっていることが報告されている。一方、ウイルスの持続感染による肝発癌については、臨床診断の基準をそろえたHCVキャリア942例(抗ウイルス療法などの積極的治療が行われていなかった1990年代に通院)を対象とし、マルコフ過程モデルを用いて40歳を起点として推計した成績を図5に示す。治療介入のない場合、男性では55歳を過ぎるころから、女性では60歳を過ぎるころから肝発癌率が上昇しはじめ、70歳時点の累積肝発癌率は男性の約38%、女性の約20%に達する成績が得られたことから、肝炎ウイルス検査の推進と同時に、検査後の継続的な医療機関受診の必要性が強く示唆されている。

これまでに示した肝癌死亡率と年齢別肝炎ウイルスキャリア率、および肝癌好発年齢との関連を考えると、肝癌好発年齢にあたる世代のキャリア率、特にHCVキャリア率が高い値を示していることが、わが国の肝癌死亡が高い理由であること、また、地域ごとに肝癌死亡の経年推移が異なることを理解することができる。

一般集団におけるHCVの新規感染率、HBV母子感染防止事業実施前後の集団におけるHBs抗原陽性率、献血時のスクリーニングにより見出された

HBV-DNA陽性者のHBVgenotypeの分布●

新規感染の有無やその頻度を知るためには、ある集団(コホート)を長期間経年的に観察し、観察期間内の感染の有無を同一の測定法により確認する必要がある。HCVの新規感染率調査による1988～2000年代に得られた成績を表1に示す。供血者集団、職域の定期健康診断受診者集団などでは、信頼区間を加味しても10万人あたり5以下を示しており、現在のわが国における一般集団での新規のHCV感染はほとんどないことが示さ

● HCV キャリア率は、いずれの地域も、40歳以上の年齢が高い集団で高い値を示している。

● HBV キャリア率は、いずれの地域も、団塊の世代で緩やかな一峰性を示すが10歳代では0.1%以下の低い値を示している。

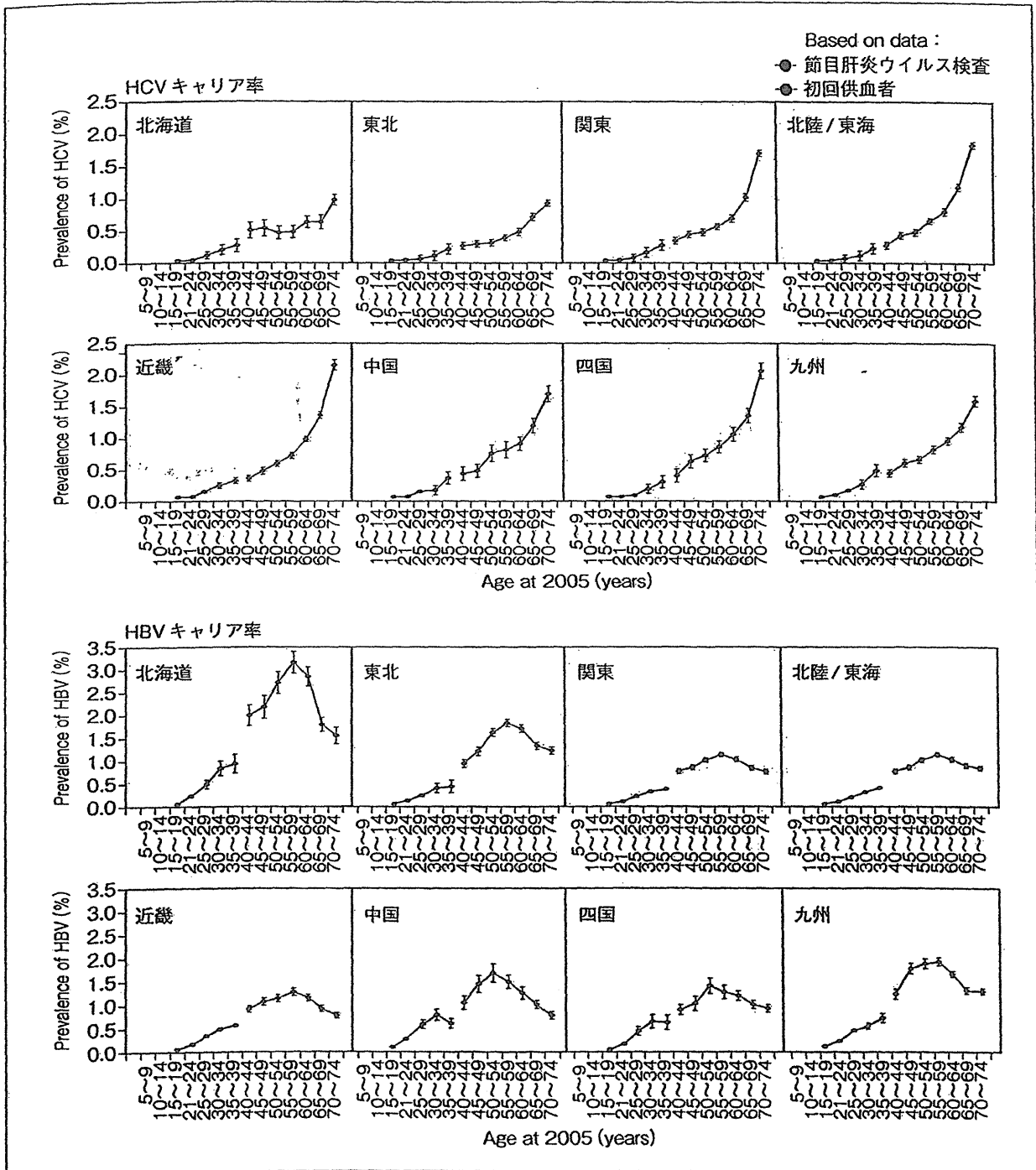


図4 地域別年齢階級別みた HCV・HBV キャリア率

- HCV キャリアの自然史を数理モデルを用いて推計すると、治療介入のない場合では、男性 55 歳、女性 60 歳以降に肝発癌率が上昇する。70 歳時点の累積肝発癌率は、男性では約 38%、女性では約 20% である。
- わが国における一般集団での HCV 感染はほとんどない。
- ハイリスク集団では、HBV、HCV の感染予防対策を行うことが必要である。

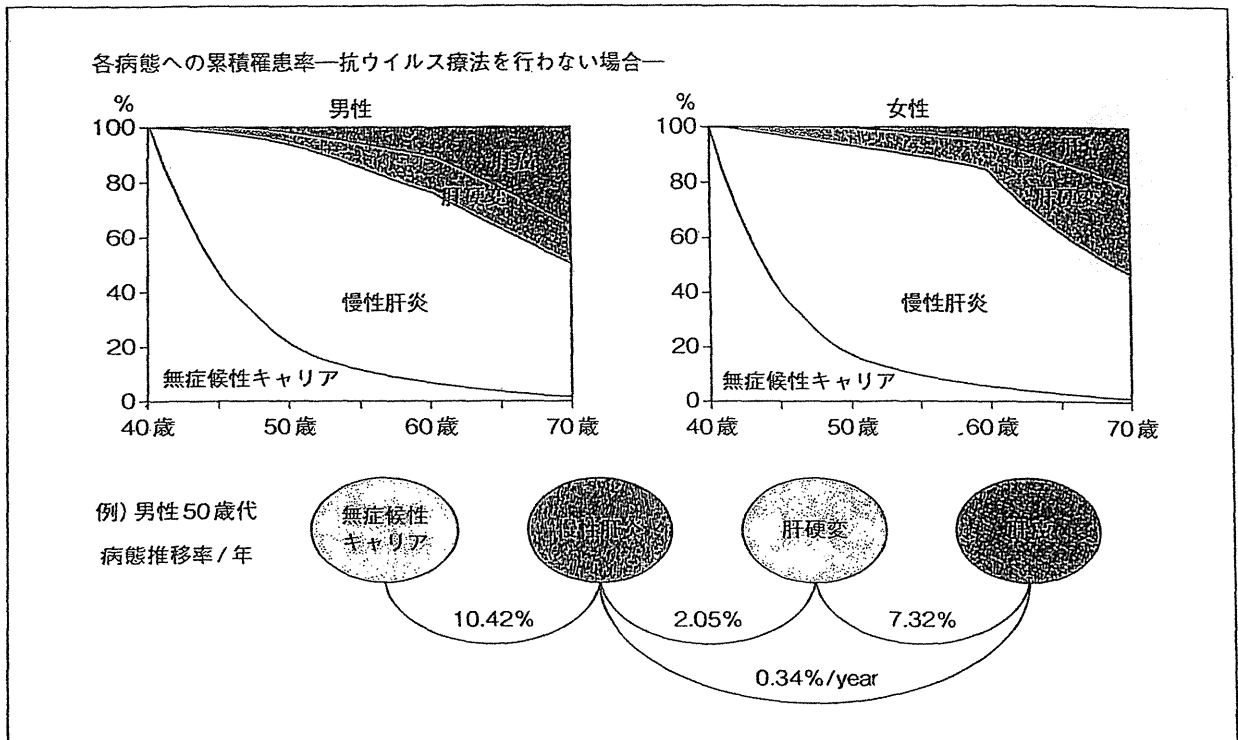


図 5 HCV キャリアの自然史(natural course) 生涯肝発癌率
(J Med Virol 70 : 378-386, 2003 より引用)

れている。しかし、観血的処置を繰り返す血液透析患者集団における同様の調査成績から換算した場合、HCV 感染のリスクは一般集団と比較して 100 倍程度高くなることが明らかとなっている。血液を介する感染が起こる可能性がある各種ハイリスク集団では、引き続き感染予防対策を行うことが必要といえる。

また、1986 年から全国で実施された HBV 母子感染防止対策事業の効果について、実施前後に出生したそれぞれの集団における HBs 抗原陽性率を比較した岩手県の成績を紹介する。事業実施前 1978～1980 年に出生した集団 10,437 例の HBs 抗原陽性率は 0.75% に対して、1986～1994 年に出生した集団 56,212 例では 0.04% と約 1/20 に

激減し母子感染防止対策が効果的に運用されたことが示された²⁾。この成績は、前項大規模集団の成績で示したごとく、全国いずれの地域も若年齢集団における HBV キャリア率が低いことと一致しており、母子感染由来の HBV 持続感染に起因する肝癌は数十年後には激減するものと考えられる。

一方、近年のわが国の HBV の新規感染について、日本赤十字血液センターの供血者血液を対象としたスクリーニング時の NAT (nucleic acid amplification test) により見出された新規 HBV 感染と考えられる HBV-DNA 陽性献血者の HBV genotype の検討³⁾を紹介する。1999 年 7 月から 2007 年 12 月の 8 年間余に見出された 795 例の性・年齢別分布をみると、わが国で多い HBV geno-

- HBV 母子感染防止対策事業開始以降に出生した集団の HBV キャリア率は 0.04% 以下と低い。
- HBV 新規感染者の genotype の分布は genotype C が約 67%, 欧米型の genotype A では 14% であり, genotype A の割合が近年増えている。
- 2005 年時点に感染を知らないまま潜在しているキャリアの推計値は, HBV キャリア数は約 90 万人, HCV キャリア数は約 81 万人となり, 2000 年時点に行った推計値より減少した。
- 肝炎ウイルス検査の推進や治療普及が, 感染を知らないまま潜在している無症候性キャリア数の推計数の減少と肝臓死亡リスクの減少効果をもたらしている。

表 1 各種集団における HCV 感染の新規発生率(1988～2004)

集団	検査人数	新規感染者数	検査人数	新規発生率 (95% CI)
血友(広島)	1992～1995	3	168,726	1.8/10 万人年 0.4～5.2
血友(広島)	1994～2004	16	861,842	1.9/10 万人年 1.1～3.0
期前産婦人科(広島)	1992～1995	3	5,786	0/10 万人年 0～0.6
産科(広島)	1988～1992	0	2,712	0/10 万人年 0～1.3
産科(広島)	1999～2003	16	4,893	3.3/1000 人年 1.7～4.9

(* Intervirology 6 : 198-203, 1996. ** Intervirology 51 : 33-41, 2008. *** J Med Virol 76 : 498-502, 2005 より引用)

typeC が依然として 67% と 2/3 以上を占めたが, いままで頻度が低いといわれてきた欧米型といわれる HBV genotypeA が 14% を占め, 特に, 20～30 歳代の男性でその占める割合が多いことが特徴的であった。異なる HBV genotype の感染により疾患の自然経過が異なるかどうかの検討も含め, 幼児期における HBV 感染予防に重きをおいた感染予防対策を拡大検討する必要性が示唆されている。

おわりに●

わが国では, 1989 年に HCV がクローニングされて以後, HCV 検査が可能となり, HBV 検査とともに, 特に 1990 年代後半から 2000 年にかけて, 献血, 住民検診, 医療機関などを中心に, 急速に検査の機会が拡大してきた。

感染を知らないまま社会に潜在しているキャリアの推計数(2005 年時点)¹⁾は, HBV キャリア数は約 90 万人, HCV キャリア数は約 81 万人と, 2000 年時点と比較して減少したことから, これまで行ってきた肝炎ウイルス検査の推進や治療の普及をはじめとする施策は潜在するキャリア数の減少や肝臓死亡リスクの減少という効果をもたらしたと推定できる。

ウイルス肝炎の疫学的視点から捉えて示した成績をもとに考えると, 今後はグローバル化を見据えた④ 肝炎ウイルスの新規感染の動向調査・従来の感染防止対策を推進・継続しつつ, ① 感染を知らないまま潜在しているキャリアに対するさらなる対策, ② 患者としてすでに通院・入院しているキャリアに対する情報提供を含めた丁寧な対策, ③ 受診しないままでのキャリアに対する新しい対策を, それぞれの課題を掲げて具体的に推進することが重要であるといえる。

文 献

- 1) Tanaka, J. et al. : Total numbers of undiagnosed carriers of hepatitis C and B viruses in Japan estimated by age- and area-specific prevalence on the national scale. Intervirology DOI : 10.1159/000324525, 2011 (in press)
- 2) Koyama, T. et al. : Perinatal hepatitis B virus infection in Japan. Congenital and other related infectious diseases of the newborn. p.141-151, 2007
- 3) Yoshikawa, A. et al. : Japanese Red Cross HBV Genotype Research Group : Age- and gender-specific distributions of hepatitis B virus (HBV) genotypes in Japanese HBV-positive blood donors. Transfusion 49 (7) : 1314-1320, 2009

Prevalence of Amino Acid Mutation in Hepatitis C Virus Core Region Among Japanese Volunteer Blood Donors

Yasumi Furui,¹ Yuji Hoshi,¹ Kazumoto Murata,² Kiyooki Ito,² Kou Suzuki,¹ Shigeharu Uchida,¹ Masahiro Satake,^{1*} Masashi Mizokami,² and Kenji Tadokoro¹

¹Central Blood Institute, Japanese Red Cross, Tokyo, Japan

²Research Center for Hepatitis and Immunology, Kohnodai Hospital, International Medical Center of Japan, Ichikawa, Japan

It is not known whether there is a trend of increasing or decreasing incidence of new hepatitis C virus (HCV) infections in Japan. From the treatment point of view, it is important to verify HCV genotypes and the prevalence of treatment-resistant clones of HCV. At the Japanese Red Cross blood centers, all blood samples obtained from blood donation have been screened using serological methods and the minipool nucleic acid amplification testing. One hundred and fourteen donors have been identified over the past 10 years to be HCV RNA-only positive without detectable anti-HCV and were considered to be in the acute phase of HCV infection. There was a trend of decreasing incidence of such new infections among the blood donors. HCV RNA-only-positive samples were examined further for genotyping and HCV RNA quantitation. Genotype 2 (2a plus 2b) was predominant (78.2%) among them followed by genotype 1b (21.2%). Direct sequencing was carried out to detect the possible treatment-resistant mutant clones 70Q and 91M, clones with amino acid substitutions at positions 70 and 91 of the HCV core protein, respectively. 70Q and 91M were found regularly in donors with genotype 1b, but not in those with other genotypes. No particular endemic areas for the mutant clones were identified. There was no significant difference in the mean viral titer between the 70Q mutant type and the non-70Q wild-type. Even in newly infected people, the mutant clone 70Q was detected frequently. *J. Med. Virol.* 83:1924–1929, 2011.

© 2011 Wiley-Liss, Inc.

KEY WORDS: HCV core mutation; HCV genotype; acute HCV infection; window period; blood donors

INTRODUCTION

The hepatitis C virus (HCV; *Flaviviridae*, *Hepacivirus*, *Hepatitis C virus*) infects approximately 170 million people worldwide and is a major causative agent of chronic liver diseases including liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma [Liang et al., 2000]. Although strategies focusing on education and increasing awareness to prevent HCV infection have been developed, it is reported that 3–4 million people are newly infected worldwide with HCV [Kim, 2002].

After entry into a human host, HCV is exposed to pressures exerted by innate/acquired immunity including endogenous interferon (IFN), which could lead to viral eradication. However, only about 30% of infected persons can clear the virus and the remainder progress to chronic infection. The inherent sequence diversity of HCV in conjunction with host immunological impairments contributes to viral persistence. In the presence of immune selection pressures exerted by cytotoxic T cells against the virus, a genomic diversity could facilitate the preferential expansion of mutant progeny [Bowen and Walker, 2005]. Recently, amino acid substitution at position 70 of the HCV core [arginine (R)-to-glutamine (Q)] (70Q) has been reported to be associated significantly with a poor response to current treatments in patients with HCV-1b [Akuta et al., 2005]. These clones may resist the current treatments, whereas, IFN-sensitive clones are eradicated by either spontaneous responses or the treatment.

There was no support for this study in the form of grants, equipment, or drugs.

The authors have no conflict of interest for this study.

*Correspondence to: Dr. Masahiro Satake, MD, Japanese Red Cross, Tokyo West Blood Center, Midori-cho 3256, Tachikawa, Tokyo 190-0014, Japan. E-mail: ma-satake@tokyo.bc.jrc.or.jp

Accepted 27 July 2011

DOI 10.1002/jmv.22216

Published online in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com).

In view of the development of treatment regimens for hepatitis C, it is important to determine both the distribution pattern of HCV genotypes and the prevalence of treatment-resistant HCV clones among recently infected patients who would require treatments in the near future. In this study, Japanese volunteer blood donors who were found to be positive for HCV RNA and negative for anti-HCV were examined. These donors were considered to have acquired infection within a few months of their blood donation. It is expected that the investigation of these people will verify the current trend of new HCV infection in the Japanese general population [Murokawa et al., 2005] and that such HCV RNA-only-positive blood donors have only naive viral clones without the influence of immunological pressures or endogenous IFN.

MATERIALS AND METHODS

Screening Algorithm and Blood Samples

The Japanese Red Cross (JRC) blood centers are the sole facilities that deal with blood collection, processing, testing, and delivery. In these centers, blood donations are screened for the hepatitis B surface antigen (HBsAg), anti-HCV, anti-human immunodeficiency virus types 1 and 2 (HIV-1, 2), anti-human T lymphotropic virus type 1 (HTLV-1), anti-*Treponema pallidum*, and human parvovirus B19 antigen. Blood donations with an elevated serum alanine aminotransferase level (>60 IU/ml) are also rejected. Anti-HCV is screened by passive hemagglutination (PHA; Abbott Japan, Tokyo, Japan) or particle agglutination (PA; Fujirebio, Tokyo, Japan). A PHA titer $\geq 2^5$ and a PA titer $\geq 2^4$ indicate positivity for anti-HCV. In the current study, HCV Dynapack II (Abbott Japan) was used to confirm the presence of anti-HCV.

Screening by the nucleic acid amplification testing (NAT) was implemented nationwide in 1999, in which only seronegative blood samples were screened further by the AmpliNAT multiplex test (Roche Diagnostics Japan, Tokyo, Japan), targeting HCV RNA, hepatitis B virus DNA, and HIV-1 RNA [Mine et al., 2003]. It started with a pool size of 500 that was soon reduced to 50 in 2000 and to 20 in 2004. In this study, HCV RNA-positive samples without detectable anti-HCV were subjected to further analysis.

As a comparative baseline, a group of asymptomatic HCV carrier donors was also included in this study.

Blood samples positive for both anti-HCV and HCV RNA were selected from the sample registry that had been prepared for the establishment of a standard HCV plasma archive. The archive consists of consecutive samples obtained from 400 ml whole blood donations in 2006 and 2007. Samples for this study were selected at random from those with sufficient plasma volume.

Genotyping of HCV and Determination of Core Amino Acid Sequence

HCV RNA was extracted from 265 μ l of a human plasma sample using a QIAamp Virus BioRobot MDx kit (Qiagen, Tokyo, Japan) and reverse-transcribed to complementary DNA using SuperScript II RNase H-Reverse Transcriptase (Invitrogen, Carlsbad, CA). The target sequence of the core region (nt. 500–695, 196 bp) was amplified by nested polymerase chain reaction (PCR) using primers (Table I) on the basis of the methods of Okamoto et al. [1993] and Lole et al. [2003]. The polynucleotides obtained were sequenced directly using a BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing kit and an ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (PE Applied Biosystems, Foster City, CA). To analyze sequences, SEQUENCHER WIN version 4.8 (Hitachi Software Engineering, Tokyo, Japan) was used. Amino acid sequences were deduced and aligned using GENETYX WIN version 9.0 (Software Development, Tokyo, Japan). The HCV genotype was determined by comparing the deduced amino acid sequences with those of strains available in the GenBank database (genotype 1a: D10749 and M62321; genotype 1b: D13558 and M58335; genotype 2a: AB047641 and D00944; genotype 2b: AB030907 and D10988; genotype 2c: D50409; genotype 3a: D17763 and D28917; genotype 3b: D49374). HCV RNA was determined quantitatively by TaqMan RT-PCR using a QuantiTect Probe RT-PCR kit (Qiagen) and specific primers and a probe (Table I).

RESULTS

Among 51,744,475 consecutive blood samples obtained from blood donations between January 2000 and December 2009, 114 were found positive for HCV RNA and negative for serological markers including anti-HCV. Of the 114 samples, 85 (52 from male and 33 from female) were available for further

TABLE I. Primers Used for Nested PCR and Quantitative PCR and a Probe Used for Quantitative PCR

	Name	Polarity	Sequence	Position
Nested PCR	186	Antisense	5'-ATGTACCCCATGAGGTCGGC-3'	nt. 742–723
	256	Sense	5'-CGCGCGACTAGGAAGACTTC-3'	nt. 471–490
	104	Sense	5'-AGGAAGACTTCCGAGCGGTC-3'	nt. 480–499
	CC4	Antisense	5'-CACGTTAGGGTATCGATGAC-3'	nt. 715–696
Quantitative PCR	TCF-2	Sense	5'-AGACTGCTAGCCGAGTAGTGTG-3'	nt. 235–257
	TCR-2	Antisense	5'-TGCACGGTCTACGAGACCTC-3'	nt. 330–311
	TP-03 (Probe)	Sense	FAM-AAGGCCTTGTGGTACTGCCTGATAGGG-TAMRA	nt. 266–292

The positions refer to the sequence of prototype HCV (GenBank accession no. M58335).

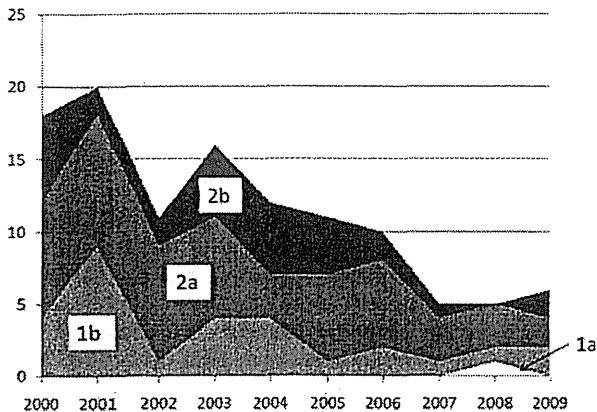


Fig. 1. Changes in number of donors in acute phase HCV infection over past decade. Y-axis shows the number of donors in the acute phase for each HCV genotype.

examination. It is considered that the donors of these blood samples were in the acute phase of infection or in the window period when they donated blood. Their mean ages were 34 ± 13 (18–69) years for male and 29 ± 11 (16–56) years for female. The number of acute phase donations peaked in 2001 and has been decreasing over the years (Fig. 1), despite the increased

sensitivity of NAT during that time along with the decrease in NAT pool size as well as the increase in sample volume for nucleic acid extraction. Table II shows the genotypes of HCV that infected the donors in the acute phase over the past 10 years. Genotype 2 (2a plus 2b) and genotype 1b accounted for 77.6% and 21.2% of HCV infections among blood donors, respectively. Genotype 1b has historically been considered to be the major genotype in Japan accounting for approximately 70% of all HCV infections among chronic hepatitis C patients. It has been extremely rare to identify genotype 1a in Japan.

Direct sequencing of HCV RNA extracted from the acute phase samples revealed that the amino acid substitution to glutamine at position 70 (70Q) of the HCV core protein was observed in 7 of the 18 samples with genotype 1b (Table II). There was no significant difference in the mean viral titer among the 70Q mutant type (3.8×10^7 copies/ml, $n = 7$), the non-70Q wild-type of genotype 1b (6.5×10^7 copies/ml, $n = 11$), and the non-70Q wild-type of all genotypes (4.9×10^7 copies/ml, $n = 78$, Table III). 70Q was first detected among acute phase donors in 2003 and has been identified frequently in the following 6 years (Table III). The identification of these clones was reported from various regions in Japan, suggesting that there is no particular specific endemic area for

TABLE II. HCV Genotypes and Amino Acid Substitution 70Q and 91M Found in HCV RNA-Positive and Anti-HCV-Negative Blood Donors

	Genotype				Total	
	1a	1b	2a	2b		
Number of donors	1 (1.2%)	18 (21.2%)	42 (49.4%)	24 (28.2%)	85	
Position ^a	Amino acid substitution	Genotype				Total
		1a	1b	2a	2b	
70	R	1	11	42	24	78
	Q/R		1			1
	Q		6			6
91	L or C	1	11	42	24	78
	M		7			7

^aAmino acid position of HCV core protein

TABLE III. Characteristics of Blood Donors With Amino Acid Substitution at Position 70 of HCV Core of Genotype 1b

Gender	Age	ALT	Viral titer	70 ^a	91 ^b	Year reported
F	25	35	5.3×10^6	Q	M	2003
F	22	40	1.1×10^8	Q	M	2003
M	37	56	2.0×10^7	Q	M	2004
F	43	40	9.3×10^7	Q	L	2005
M	59	18	5.7×10^6	Q	M	2006
F	25	21	1.5×10^7	Q/R	L	2006
M	48	52	1.9×10^7	Q	L	2008
Mean viral titer ($n = 7$)			3.8×10^7			

^aAmino acid at position 70 of HCV core protein.

^bAmino acid at position 91 of HCV core protein.

them, although the sample number was too small to draw a conclusion. Amino acid substitution to methionine at position 91 (91M) was also observed in 7 samples, which were all genotype 1b (Table II). Four samples had both 70Q and 91M. Neither 70Q nor 91M was detected in other genotypes.

Eighty-five blood samples positive for both HCV RNA and anti-HCV were collected from the blood archive of HCV RNA-positive standard plasma (Table IV). The donors of these samples were either asymptomatic chronic hepatitis C patients or otherwise healthy HCV carriers not knowing their infection status. It is considered that the time between HCV acquisition and blood donation was at least 3–4 months for these donors; they were in the post-acute phase. Male donors predominate in this group with 68 of 85 being males (Table IV), which could be partly explained by the fact that these samples were collected from 400 ml whole-blood donations, more than 70% of which were obtained from male donors in Japan. As these samples were selected from the blood archive without using strict randomizing measure, it may be inappropriate to conduct a statistical evaluation regarding the significance of the difference in the mean age of the donors or HCV genotype distribution between the donor groups. There is still a trend that the mean ages of the donors in the acute phase (34 ± 13 years for male and 29 ± 11 years for female) are younger than those of donors in the post-acute phase (42 ± 12 years for male and 46 ± 12 years for female; Table IV). The proportion of genotype 1b among acute phase donors is 21.2%, much lower than that among donors (44.7%) after the acute phase. Accordingly, the proportion of genotype 2 (2a plus 2b) is higher among the donors in the acute phase than among donors after the acute phase (77.6% vs. 54.1%; Table IV).

In this category of asymptomatic carrier donors, the 70Q mutant clone was found in 6 of 38 donors with genotype 1b (Table IV), three of which were over 50 years of age. It is possible that some of these

donors might have long-term infection. The 91M mutant clone was also detected in the genotype 1b group. Neither 70Q nor 91M substitutions were detected in other genotypes.

DISCUSSION

In the present study, the number of donors who were HCV RNA-only-positive was verified to have decreased over the past 10 years. Because RNA-only-positive donation implies that the donor acquired infection within approximately 3 months, it is considered that the mode of infection observed among such donors reflects the current mode of infection in the general population. It is thus speculated that there is indeed a tendency toward decreasing number of new HCV infections in the general population. It should, however, be noted that there are limitations in a blood donor-based study in terms of estimation of disease prevalence in the general population. The blood donor population could be a skewed one because, for example, people donate blood with diverse motivations or because donors are prescreened by questionnaire about at risk behavior, all of which would bias donor population in terms of previous opportunity of exposure to infectious risks. It may still be possible to speculate reasons for the trend of decreasing incidence of new HCV infections. One of them would be the decrease in the number of nosocomial infections owing to the strengthening of measures for the prevention of such infections among medical staff members. It is also possible that the educational program for the prevention of HCV infection for the general population has been effective, although it cannot be ruled out that blood donors with at risk behavior self-defer from donating. Indeed, JRC has implemented rigorous measures to prevent window period blood donations, for example, an advertising campaign against blood donation after at risk behavior.

The present study also showed that 77.6% of blood donors, who acquired HCV infection during the past few months, were infected by genotype 2. This contrasts with the genotype distribution among Japanese patients with chronic hepatitis C, among which genotype 1b is predominant (approx. 70%) followed by genotypes 2a (20%) and 2b (10%) [Tanaka et al., 1995; Ohno et al., 1997]. The age and genotype distribution in the blood donor population positive for anti-HCV as well as HCV RNA were between those for newly infected donors and those for chronic hepatitis C patients. This would indicate the gradual transition of HCV genotypes among infected people from those in elderly patients with chronic hepatitis C to those in asymptomatic carriers and those in newly infected young people. It is thus speculated that the predominant viral genotype currently causing HCV infection among the general Japanese population is genotype 2 (2a plus 2b). The shift of the prevailing genotype from 1b to 2 correlated with the decrease in the mean age

TABLE IV. Profile of Donors of Anti-HCV-Negative and -Positive Blood With HCV RNA and Genomic Profile of HCV Found Among Them

	Anti-HCV	
	Negative (acute phase)	Positive
N	85	85
Male: Female	52:33	68:17
Mean ages		
Male	34 ± 13	42 ± 12
Female	29 ± 11	46 ± 12
HCV-1a	1 (1.2%)	1 (1.2%)
HCV-1b total	18 (21.2%)	38 (44.7%)
70Q ^a	7	6
91M ^b	7	9
HCV-2a	42 (49.4%)	28 (32.9%)
HCV-2b	24 (28.2%)	18 (21.2%)

^aGlutamine at amino acid position 70 of HCV core protein.

^bMethionine at amino acid position 91 of HCV core protein.

of the groups studied. Although the reasons for the shift are not clear, one possible explanation is that there was a skewed distribution of genotypes in Japan with regard to the transmission mode; genotype 1b was maintained mainly through medical-related transmission, whereas, genotype 2 was maintained through nonmedical-related transmission. As a result of the development of preventive measures for HCV transmission through medical procedures, the incidence of iatrogenic HCV infection decreased, hence the decrease in the incidence of infection by genotype 1b HCV. It is speculated that there has been little progress in the strategies to decrease the incidence of HCV transmission by means of unhygienic practice, for example, tattooing or drug injection, and this may have led to the predominance of genotype 2.

HCV core mutant clones, particularly 70Q, were observed in blood donors who recently acquired infection. Interestingly, this amino acid substitution was only observed in HCV-1b with a frequency of 38.9% (7/18). It has recently been reported that a treatment regimen of pegylated IFN plus ribavirin (Peg-IFN + Rib) could induce amino acid mutation in the core region of HCV [Kurbanov et al., 2010]. A study of chimeric mouse carrying human hepatocytes indicated that HCV core mutations appeared after Peg-IFN + Rib treatment [Kurbanov et al., 2010]. In this regard, the frequent identification of 70Q among RNA-only-positive blood donors who acquired infection very recently was somewhat unexpected. This finding could indicate that treatment induced mutant clones are entering rapidly the Japanese general population. However, such a high incidence of transmission involving blood or body fluid between the healthy general population and hepatitis C patients who received treatment is improbable. Moreover, JRC blood centers do not accept any donations from donors with a history of treatment for hepatitis C. On evaluation, it is more likely that mutant clones found among RNA-only-positive blood donors were present long before the implementation of IFN treatment in the Japanese population. These clones may have developed as a result of immune pressures over a long period of HCV carriage. Although several studies have verified the association between HCV amino acid substitution and IFN response, it should be noted that in such studies the HCV sequences that had been present before treatment were dealt with [Enomoto et al., 1996; Akuta et al., 2005]. By estimating serial alterations of selective pressure against HCV throughout the phylogenetic tree, sequential reduction of both the extent of positive selection pressure such as innate/acquired immunity or endogenous IFN and the degree of liver injury during the long course of chronic HCV infection was found [Hanada et al., 2007]. These findings indicate that the viruses mutate to an immune-resistant sequence to escape from innate/acquired immune pressures during long-term HCV infection. Furthermore, virus sequence changes associated with transmission probably represent

selective transmission or the outgrowth of particular clones [Kuntzen et al., 2007] among a complex mixture of different but closely related genomes known as quasispecies [Martell et al., 1992]. It would thus not be surprising to identify mutant clones such as 70Q in newly infected blood donors.

Recently, it has been reported that the number of mutations in the pretreatment sequences of IFN + Rib-resistance-determining region (IRRDR) and IFN-sensitivity-determining region (ISDR) of HCV has substantial effects on the outcome of the Peg-IFN + Rib treatment of chronic HCV hepatitis patients with genotype 1b [El-Shamy et al., 2011]. It will be interesting to see the difference in the number of those mutations between HCV derived from RNA-only positive blood donors and that from chronic HCV hepatitis patients, which would provide another clue to the understanding of the relative role of innate/acquired immune pressure and the treatment effect on the development of mutation. It has also been verified that human IL28B polymorphism significantly influences the response to Peg-IFN + Rib treatment. If the treatment regimen is determined on the basis of the patient's IL28B allele, the distribution of HCV mutants among HCV hepatitis patients will be altered after treatment.

In this study, HCV RNA-only positive blood donors were examined. There is, however, another group of donors that should be included in this category of people; people newly infected with HCV do not show a HCV RNA or specific antibody in their peripheral blood for approximately 1 month after acquiring infection and were not included in this study. Another category of people that underwent self-limited HCV infection was also not considered in this study. If the number of donors and the distribution of genotypes or mutant clones in these categories show patterns quite different from those in the acute phase discussed above, the conclusion of this study on the current trend of new infection would have to be revised.

In conclusion, it is considered that the incidence of new HCV infection is decreasing among the Japanese population. The predominant genotype causing the new infection is genotype 2, which is more responsive to current treatment regimens than other genotypes. The treatment-resistant clone 70Q was identified at a high frequency even among people who acquired new HCV infection and was found exclusively in genotype 1b.

REFERENCES

- Akuta N, Suzuki F, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Someya T, Kobayashi M, Saitoh S, Watahiki S, Sato J, Matsuda M, Kobayashi M, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. 2005. Association of amino acid substitution pattern in core protein of hepatitis C virus genotype 1b high viral load and non-virological response to interferon-ribavirin combination therapy. *Intervirology* 48:372-380.
- Bowen DG, Walker CM. 2005. Mutational escape from CD8⁺T cell immunity: HCV evolution, from chimpanzees to man. *J Exp Med* 201:1709-1714.

- El-Shamy A, Kim SR, Ide YH, Sasase N, Imoto S, Deng L, Shoji I, Hotta H. 2011. Polymorphisms of hepatitis C virus non-structural protein 5a and core protein and clinical outcome of pegylated-interferon/ribavirin combination therapy. *Intervirology* [Epub ahead of print] DOI: 10.1159/000322219.
- Enomoto N, Sakuma I, Asahina Y, Kurosaki M, Murakami T, Yamamoto C, Ogura Y, Izumi N, Marumo F, Sato C. 1996. Mutations in the nonstructural protein 5A gene and response to interferon in patients with chronic hepatitis C virus 1b infection. *N Engl J Med* 334:77–81.
- Hanada K, Tanaka Y, Mizokami M, Gojobori T, Alter HJ. 2007. A reduction in selective immune pressure during the course of chronic hepatitis C correlates with diminished biochemical evidence of hepatic inflammation. *Virology* 361:27–33.
- Kim WR. 2002. Global epidemiology and burden of hepatitis C. *Microbes Infect* 4:1219–1225.
- Kuntzen T, Timm J, Berical A, Lewis-Ximenez LL, Jones A, Nolan B, Wiesch JS, Li B, Schneidewind A, Kim AY, Chung RT, Lauer GM, Allen TM. 2007. Viral sequence evolution in acute hepatitis C virus infection. *J Virol* 81:11658–11668.
- Kurbanov F, Tanaka Y, Matsuura K, Sugauchi F, Elkady A, Khan A, Hasegawa I, Ohno T, Tokuda H, Mizokami M. 2010. Positive selection of core 70Q variant genotype 1b hepatitis C virus strains induced by pegylated interferon and ribavirin. *J Infect Dis* 201:1663–1671.
- Liang TJ, Rehermann B, Seeff LB, Hoofnagle JH. 2000. Pathogenesis, natural history, treatment, and prevention of hepatitis C. *Ann Intern Med* 132:296–305.
- Lole KS, Jha JA, Shrotri SP, Tandon BN, Prasad VGM, Arankalle VA. 2003. Comparison of hepatitis C virus genotyping by 5' non-coding region- and core-based reverse transcriptase PCR assay with sequencing and use of the assay for determining subtype distribution in India. *J Clin Microbiol* 41:5240–5244.
- Martell M, Esteban JI, Quer J, Genesca J, Weiner A, Esteban R, Guardia J, Gomez J. 1992. Hepatitis C virus (HCV) circulates as a population of different but closely related genomes: Quasispecies nature of HCV genome distribution. *J Virol* 66:3225–3229.
- Mine H, Emura H, Miyamoto M, Tomono T, Minegishi K, Murokawa H, Yamanaka R, Yoshikawa A, Nishioka K, Japanese Red Cross NAT Research Group. 2003. High throughput screening of 16 million serologically negative blood donors for hepatitis B virus, hepatitis C virus and human immunodeficiency virus type-1 by nucleic acid amplification testing with specific and sensitive multiplex reagent in Japan. *J Virol Methods* 112:145–151.
- Murokawa H, Yoshikawa A, Ohnuma H, Iwata A, Katoh N, Miyamoto M, Mine H, Emura H, Tadokoro K, Japanese Red Cross NAT Screening Research Group. 2005. Epidemiology of blood donors in Japan, positive for hepatitis B virus and hepatitis C virus by nucleic acid amplification testing. *Vox Sang* 88:10–16.
- Ohno T, Mizokami M, Wu RR, Saleh MG, Ohba K, Orito E, Mukaide M, Williams R, Lau JYN. 1997. New hepatitis C virus (HCV) genotyping system that allows for identification of HCV genotypes 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3b, 4, 5a, and 6a. *J Clin Microbiol* 35:201–207.
- Okamoto H, Tokita H, Sakamoto M, Horikita M, Kojima M, Iizuka H, Mishiro S. 1993. Characterization of the genomic sequence of type V (or 3a) hepatitis C virus isolates and PCR primers for specific detection. *J Gen Virol* 74:2385–2390.
- Tanaka E, Kiyosawa K, Matsushima T, Ishikawa K, Hino K, Tanaka S, Nose H, Kumada H, Iino S, Kamimura T, Unoura M, Mizokami M, Okanoue T, Kuroki T, Yamada G, Miura T, Yano M, Tsubouchi H, Kohara M, Sato S, Hattori N, Genotyping Elisa Study Group. 1995. Epidemiology of genotypes of hepatitis C virus in Japanese patients with type C chronic liver disease: A multi-institution analysis. *J Gastroenterol Hepatol* 10:538–545.

日本臨牀 69 卷 増刊号 4 (2011 年 5 月 20 日発行) 別刷

新時代のウイルス性肝炎学

—基礎・臨床研究の進歩—

II. C 型肝炎

C型肝炎ウイルス感染とその予防対策

輸血, 血液製剤による HCV 感染の
現状とその予防対策

高橋雅彦 内田茂治

II. C型肝炎

C型肝炎ウイルス感染とその予防対策

輸血，血液製剤によるHCV感染の現状とその予防対策

Present status of transfusion-associated hepatitis C virus infection and efficiency after implementation of nucleic acid amplification testing

高橋雅彦¹ 内田茂治²

Key words : 核酸増幅検査, 輸血, ウインドウ期, HCV感染

はじめに

1989年，C型肝炎ウイルス(HCV)はウイルス粒子の発見¹⁾に先駆けてウイルス遺伝子の断片として発見された²⁾。更に，HCV抗体の測定として遺伝子組換え技術により酵母で発現させたC100-3タンパクを抗原とした系が使用可能となった³⁾。これにより，輸血後肝炎の調査は堰を切ったように進み，その主因がHCVであることが明らかとなった⁴⁾。その後，輸血後肝炎の征圧を目指して，献血血液に対してHCV抗体スクリーニング検査(第一世代)が導入され，1992年には第二世代の試薬に変更された。同スクリーニング検査の導入により，輸血によるC型肝炎は激減し，主な残存リスクはウインドウ期(WP)の献血血液によるC型肝炎となった。現在，WPの献血血液を排除するために，B型肝炎ウイルス(HBV)，HCVおよびヒト免疫不全ウイルス(HIV)に対する核酸増幅検査(NAT)を導入し，血清学的検査を補っている。これにより，輸血の安全性は格段に向上した。一方，HCVの感染経路については，静注用薬物乱用者，針刺し事故，透析，性感染，出産時，医原性など，今なお議論されているが⁵⁾，過去には非加熱血液製剤や輸血での感染も問題となって

いた。

本稿では主に輸血によるHCV感染の現状とその予防策を中心に解説した。

1. 輸血によるHCV感染の予防対策の歩みと輸血後肝炎の変遷

日本赤十字社が行ってきた輸血の安全性確保対策と輸血後肝炎の変遷を示す(表1，図1)。1960年代前半までの売血時代には輸血を受けた患者の50%以上が肝炎を発症していたが，1960年代後半に献血制度への切り替えにより，輸血後肝炎は16%に減少した。1972年にHBs抗原検査を開始し，1986年の400mL採血，成分採血の導入により高単位製剤の供給が可能になり患者への献血者曝露数が減り，更に輸血後肝炎は8.7%になった。1989年にはHBV感染既往献血者の排除のためにHBc抗体検査(導入時期はHI法で²以上不適→現在は，輸血感染症の解析結果からCLEIA法でs/co値が12以上(HIで²相当)を不適としている)を導入した。今でもその出庫基準は変わっておらず，HBV感染既往献血者の血液(HBc抗体がCLEIAでs/co値が<12)による感染が問題となっている。HCV(当時は非A非B)に対する安全性確保対策は，献血制度および高単位製剤の供給を第一歩

¹Masahiko Takahashi: Tokyo Metropolitan Red Cross Blood Center 東京都赤十字血液センター ²Shigeharu Uchida: Japanese Red Cross Central Blood Institute 日本赤十字社中央研究所

表1 献血血液に対する感染症スクリーニング導入の変遷

導入年	月	HCV関連検査項目	その他検査項目
1952(昭和27)年	4		梅毒血清学的検査
1964(昭和39)年	8		献血の推進について閣議決定
1970(昭和45)年	10		肝機能検査(GPT, GOT)
1972(昭和47)年	1		HBs抗原検査(DRID法)
	4		HBs抗原検査変更(ES法)
1975(昭和50)年	10		肝機能検査変更(GOT)
1978(昭和53)年	4		HBs抗原検査変更(RPHA法)
1981(昭和56)年	1		肝機能検査変更(GPT)
1986(昭和61)年	11		HIV抗体検査(EIA法)
			HTLV-1抗体検査(PA法)
1987(昭和62)年	10		HIV抗体検査変更(PA法)
1989(平成1)年	12	HCV抗体検査(EIA法)	HBc抗体検査(HI法)
1992(平成4)年	2	HCV抗体検査変更(PHA法:第二世代試薬)	
1993(平成5)年	9	HCV抗体検査変更(PHA法またはPA法:第二世代試薬)	
1994(平成6)年	3		HIV-2抗体検査(PA法)
1996(平成8)年	9		検体保管開始
	10		HIV1/2抗体検査変更(PA法:コンビネーション試薬)
1997(平成9)年	9		ヒトパルボウイルスB19抗原検査(RHA法)
1998(平成10)年	2		梅毒血清学的検査変更(TPPA法)
1999(平成11)年	10	HBV, HCV, HIV核酸増幅検査(NAT)導入 検体プールサイズ500本	
2000(平成12)年	2	HBV, HCV, HIV核酸増幅検査(NAT)検体プールサイズを500から50本	
2004(平成16)年	8	HBV, HCV, HIV核酸増幅検査(NAT)検体プールサイズを50本から20本	
2008(平成20)年	8	・HBV, HCV, HIV-1/2核酸増幅検査(NAT)試薬・機器変更 検体プールサイズ20本 ・HCV抗体検査変更(CLEIA法)	HBs抗原, HBs抗体, HBc抗体, HIV-1/2抗体, HTLV-1抗体, 梅毒 トレポネーマ抗体, ヒトパルボ ウイルスB19抗原検査(CLEIA法)



に、1970年10月、献血血液のスクリーニング検査に肝機能検査を非A非B肝炎の代替え検査として導入したのが輸血によるHCV感染に対する征圧の第一歩であった。その後、1989年12月に、輸血後肝炎の主因を成すウイルスとして特定されたHCVを検出するための抗体検査(c100-3:第一世代)が導入され、1992年2月

には、コアタンパクを追加し感度と特異性を向上させた第二世代の試薬に変更した。更に、HCV抗体検査のWPを短縮するために、1999年10月より500人分の献血者検体をプールし、それを検体としたNATが開始された(血清学的検査に合格した血液のみに対して実施)。2000年2月にNATの検出感度を高めるためにプー

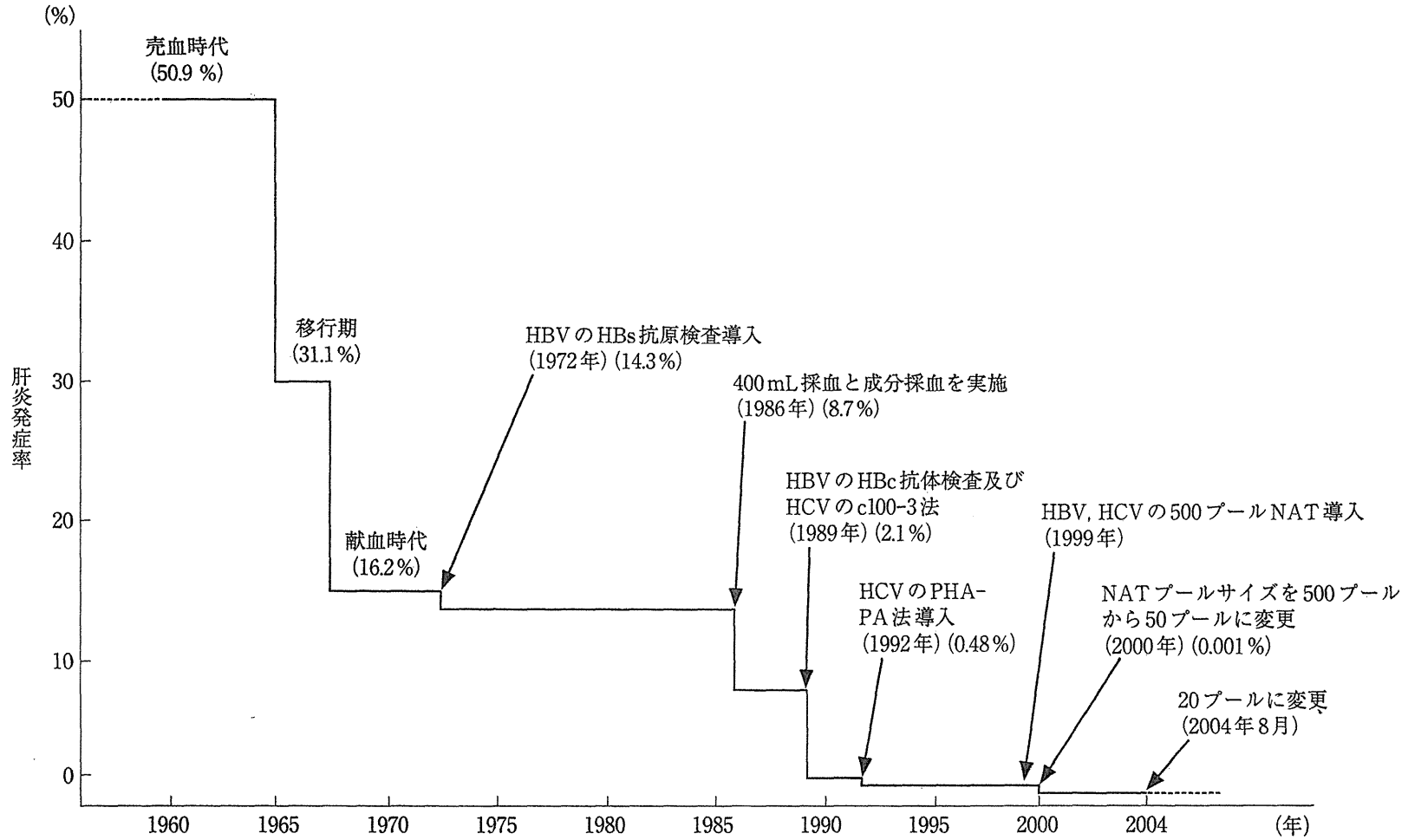


図1 輸血後肝炎の変遷

‘日本赤十字社輸血後肝炎の防止に関する特定研究班’研究報告書(1993.4-1996.3)一部改変を基に厚生労働省作成



ルサイズを50人分に縮小し、2004年8月にプールサイズを20とした。2008年には第二世代の試薬・機器へ変更となり、検査に使用する検体量を200 μ Lから850 μ Lへと4.25倍増量し検出感度の向上を図った。また、第二世代の試薬ではHIV-1だけでなくHIV-2も捕捉が可能となり、輸血用血液の安全性が強化され現在に至っている。HCVに対するNATの検出感度は33.5copies/mL(12.4IU/mL)である。また、輸血後感染症報告などの科学的解析を可能にするために、1996年9月から全国血液センターは献血血液の検体を保管するシステムを整備した。

2. HCV抗体スクリーニング検査の導入効果

HCV抗体スクリーニング検査(第一世代)の導入効果について、導入前後の輸血後肝炎の発生頻度を2群(1-10単位輸血群と11-20単位輸血群)で解析した結果、それぞれ、導入前4.9%と16.3%の発生頻度であったのに対して、導入後は1.9%と3.3%に減少した⁹⁾。しかし、HCV抗体スクリーニング検査(第一世代)導入後も、輸血後肝炎の発生が認められ、かつ症例報告としても抗c100-3抗体陰性の輸血によるC型肝炎が報告された⁶⁾。このことから、c100-3タンパクを抗原とした第一世代のHCV抗体スクリーニング検査は感度と特異性が低く、HCV感染例を十分に検出できないことが示唆された。その後、コアタンパクを加えた第二世代の試薬に変更された。変更後の輸血後肝炎の発生頻度を6,458例の輸血患者を対象に追跡調査を行ったところ、輸血後肝炎は0.48%まで減少し、C型肝炎の確診例は1例も確認されなかった⁷⁾。HCVには数種の遺伝子型が存在することが知られているが、コアタンパクをコードする遺伝子領域の塩基配列は遺伝子型間でよく保存されている。つまり、コアタンパクを加えた第二世代の抗体測定系はHCV遺伝子型に関係なくHCV感染例を効率よく検出でき、スクリーニング検査としては極めて有用であることが確認された。しかし、1994年、HCV-RNA陽性、HCV抗体陰性のWPが疑われる献血血液によ

るC型肝炎が1992年2月(第二世代の試薬に変更)以降の輸血で初めて報告された⁸⁾。一方、1993年から日本赤十字社は輸血感染症の実態調査として医療機関から報告される輸血後感染症報告の解析を開始した。当初は献血血液の検体が保管されていなかったことから、報告症例に対しては、当該献血者の理解と協力を求め、原因究明用の検体を再採血し、その血液で精査する調査(追跡調査)であった。症例にもよるが1本の輸血症例から100本を超える輸血症例まで多彩で、全報告例の追跡調査は困難であり、報告症例のうち、約25%が解析可能例にすぎなかった。また、当該輸血用血液を直接検査できないことからWPの献血血液を特定できないという難点があった。このような要因から1994-95年の調査では、輸血によるC型肝炎を見いだすことはできなかった。医療機関から報告された症例の中で、輸血によるC型肝炎が初めて特定されたのは1996年であった。これは、都内の血液センターで先行的に開始(1994年4月より)した検体保管システムが功を奏したことによる。感染の原因となった輸血用血液はHCV抗体陰性、HCV-RNA陽性で遺伝子型が2a型(患者も2a型)で、当該献血者を追跡調査した結果、HCV抗体が陽転していた。WPの献血血液によるC型肝炎として国内で科学的に証明された初の症例である⁹⁾。1996年9月、献血血液の検体保管が全国の血液センターで開始され、1997年、1998年、1999年に輸血によるC型肝炎が、それぞれ1例、7例、5例と複数確認された(表2, 3)。NAT導入後の輸血によるHCV感染は、2000年から2004年まで確認されず、2005年、2006年に50プールNATのWPに採血された血液で各々1例が確認され、2007年に20プールに感度を上げてからの1例を確認したのが最後で、2008年以降、2010年10月までにNATシステムの改良に伴い輸血によるHCV感染は確認されていない。つまり、現在の輸血によるHCV感染の残存リスクは1<10,000,000で輸血リスクとして許容できるものである。仮にNATを導入していなければ、約10年間に120例以上の患者が不幸にも輸血に

表 2 輸血後 HCV 感染として医療機関から報告された数と輸血との関連性

年	報告数	関連性が高い	関連性が低い	不明例
1994	23	0	6	17
1995	25	0	17	8
1996	33	1	17	15
1997	29	1	24	4
1998	51	7	42	2
1999	60	5	54	1
2000	56	0	56	0
2001	51	0	51	0
2002	33	0	32	1
2003	58	0	57	1
2004	70	0	70	0
2005	64	1	62	1
2006	45	1	44	0
2007	33	1	32	0
2008	29	0	29	0
2009	18	0	18	0

より HCV が感染した可能性があったことになる。逆をいえば、NAT 導入前にも同様に 1 年間に 10 例以上の感染例を見逃していたことになる。

3. 感染原因となった血液の特徴

原因血液はすべて、当該献血時は HCV 抗体陰性で医療機関に供給されたものであった。しかし、医療機関から輸血後感染症として報告を受け、事後に保管検体を精査したところ 17 例(献血者は 16 例)すべてに HCV-RNA が検出された。再検査でも HCV 抗体は陰性であった。追跡できた献血者はすべて、HCV 抗体が陽転しており(データ省略)、WP の献血血液であることが確認された。ウイルスの遺伝子型は解析できた 15 例のうち 1b 型が 8 例、2a 型が 6 例、2b 型が 2 例であった。年齢は、平均 31 歳(19-49 歳)と若年齢層で、男女比は 6 : 9 であった(表 4)。献血者への感染経路は特定されていない。アメリカでも 25 歳以下の若年齢層の感

染リスク行為が問題となっているが¹⁰⁾、我が国でも軽視できない状況にある。一方、NAT が開始されてから 2010 年 7 月までに HCV 抗体陰性、HCV-RNA 陽性の献血血液が 122 例確認されている。検出頻度は、27-70 万回の献血に 1 回となる。当然ながらこれらの血液は輸血には使用されていないが、その血液中の HCV の特徴を次にまとめた。

4. NAT から検出された WP に献血された血液の特徴

NAT のみ陽性の 113 検体を測定した結果、遺伝子型別では 1a: 1 例、1b: 30 例、2a: 53 例、2b: 29 例と 2a 型が半数近くを占め、1b 型と 2b 型がほぼ同数を占めていた。HCV による慢性肝疾患患者では 1b 型が約 70%、2a 型が約 20% で 2b 型が約 10% を占めると報告されており、NAT で検出された遺伝型割合とは大きく乖離する。慢性肝疾患患者では少なくとも 10 年以上前(多くは第二次世界大戦後の混乱期と考えられている)の感染であり、現在の献血者のスクリーニング NAT で検出された 113 例はすべて HCV 抗体陰性の感染初期例で、感染経路の違いによる差であると考えられる。HCV-RNA 検出献血者の性別は男性 71 例(62.8%)、女性 42 例(37.2%)と男性の方が多かったが、平成 18 年度の全献血者の男女比とほぼ一致しており、性別による差は認められなかった。年代別では 10 歳代 13 人(11.5%)、20 歳代 48 人(42.5%)、30 歳代 29 人(25.7%)、40 歳代 13 人(11.5%)、50 歳代 5 人(4.4%)、60 歳代 5 人(4.4%)と、20 歳代、30 歳代で陽性者が多く認められた。しかし、これを平成 18 年度の献血者年代別構成比と比較すると、10 歳代、20 歳代で陽性比率が構成比を上回っており、30 歳代では構成比とほぼ一致した。40 歳代、50 歳代では逆に構成比を下回っており、10 歳代、20 歳代の若年齢層で新たな HCV 感染が多く発生しているのではないかと考えられた。遺伝子型と年代との間には明確な傾向は認められなかったが、遺伝子型 2b の比率が男性で有意に高いことがわかった。これらの例を採血地域別に遺伝子型を

表3 血液センターに報告された輸血感染症

	HBV	HCV	HIV	PVB19	HEV	バベシア	マラリア	細菌
1991							1	
1992								
1993	1							
1994	1							
1995	1							
1996	1	1						
1997	12	1	1					
1998	22	7						
1999	21	5	2(1)			1		
2000	5			1				2
2001	7							
2002	8			3	1			
2003	12		1	1				
2004	20				2			
2005	11	1		3	1			1&
2006	6	1		1	1			3
2007	13	1*						
2008	4				2			2
2009	7				1			2

*: 20 プール WP

(1): 献血者は1名

&: 医療機関と日赤とでの解析結果乖離例

比較すると、遺伝子型 1b は中部以西の西日本で多く認められ、関東・東北ではやや低く北海道では検出されていない。2a は中部で一番高く北海道ではやや低かったが、その他の地域では差が認められなかった。逆に 2b は東北・中部で検出されておらず、九州でやや低めであったがその他の地域ではあまり差が認められなかった。

5. NAT 導入後の輸血による C 型肝炎の発生状況と残存リスク

感染初期の HCV の ramp-up 期間での倍加速度は約 5.8-21 時間と HBV の 4 日に比して著しく早く^{11,12)}、特に、HCV に対する NAT は HCV 抗体検査の WP を大幅に短縮させ、その導入効果

は絶大なものであった。このような理由から、NAT 導入以来、輸血による C 型肝炎はわずか 3 例しか確認されておらず、20 プールサイズの WP が原因となったのは 1 例のみであるが、現行の NAT システムでは、感染例は特定されていない。しかし、海外では NAT ウィンドウの理論的リスクが報告されている(数百万回の献血に 1 回)¹³⁾し、個別 NAT 陰性の輸血用血液による C 型肝炎が報告されている¹⁴⁾。また、HCV の感染価はチンパンジー接種実験から 50% 感染率が 10 copies/mL¹⁵⁾と少なく、我が国においても決してゼロリスクとはいえない¹⁶⁾。しかし、このリスクは前述したようにリスクという概念からは許容できるものと著者は認識している。毎年、輸血による HCV 感染の疑い症例として

