

# C型肝炎ウイルス (HCV) の抗体と 遺伝子検出に関する研究

## II 山梨県における献血者のHCV抗体保有率 とHCV遺伝子RNA陽性率

町田 篤彦 小澤 茂 渡辺 由香里 鈴木 典子\*<sup>1</sup> 伊藤 直文\*<sup>1</sup> 赤羽 賢浩\*<sup>2</sup>

Studies on the Detection of Antibodies and Genome  
RNA of Hepatitis C Virus II. Prevalences of Hepa-  
titis C Virus Antibodies and Genome RNA of Blood  
Donors in Yamanashi Prefecture

Atsuhiko MACHIDA, Shigeru OZAWA,  
Yukari WATANABE, Noriko SUZUKI, Naohumi ITOH,  
and Yoshihiro AKAHANE

肝炎は肝臓に炎症が起きる病気で、アルコール性のもの、細菌性のもの、薬剤性のもの、およびウイルス性のものなどがある。日本の肝炎の90%以上はウイルスによる。現代まで、ウイルス肝炎にはA型、B型、C型、D型、E型の5種類あることが知られているが、これらの中でもC型肝炎ウイルスによるC型肝炎が最も多い。C型肝炎はB型肝炎と同じく血液中にウイルスが存在し、主に血液により感染することが分かっていた。特に輸血により感染する人が多いため、B型肝炎と同様に輸血後肝炎とも呼ばれてきた。C型肝炎の臨床症状はB型肝炎より軽いことが多いが、慢性化する割合はB型肝炎が2~3%であるのに対して、C型肝炎は急性肝炎の後、実に50~60%に達する。そして10~30年かけて肝硬変や肝細胞癌へと移行する恐ろしい病気である。我が国でC型肝炎ウイルスに感染している人は約140万人であり、肝癌発生の約60%がC型肝炎ウイルス関連と言われており、その死者は年間12,000人にもおよぶものと推定されている。このようなC型肝炎は長い間原因ウイルスが不明であったために診断できない状態であった。C型肝炎ウイルスは血中に極微量しか存在しないため、従来のウイルス粒子を分離同定しようとする試みは全て失敗した。しかし近年発達の日まじしい遺伝子工学により、ようやくC型肝炎ウイルスの遺伝子がクローニングさ

れ<sup>1)</sup>、この遺伝子の構造や機能の解析が進められつつある。遺伝子がクローニングされたことによりC型肝炎ウイルスの蛋白質の一部が遺伝子工学的に作られ、これら蛋白質に対する抗体の測定検査薬が開発された。HCV保有者はHCV抗体を保有しているため、抗体を測定することによりHCV保有者を間接的に検出できるようになった<sup>2)</sup>。一方HCVそのものを直接検出する方法として、HCVの遺伝子であるRNAを捕らえる遺伝子診断法が開発された<sup>3)4)</sup>。この技術によりHCVそのものを的確に検出できるようになった。今回我々は、これら2種のC型肝炎診断法を用いて、C型肝炎の早期発見、早期治療に資するために山梨県内のHCV感染状況を把握することを目的とした。そのために県内の献血者のHCV抗体保有率とウイルス保有率(ウイルス遺伝子RNA陽性率)を調べたので報告する。

### 材料と方法

#### 1. 被検血清および血漿

HCV抗体価の測定およびHCV遺伝子の検出に用いた血清あるいは血漿は山梨県赤十字血液センターにより集められた献血からのものを使用した。検体は-80℃に保存した。

\* 1 山梨県赤十字血液センター \* 2 山梨医科大学

## 2. HCV抗体価の測定

遺伝子工学的に発現させたウイルス成分を感作したゼラチン粒子を用いるPA法（ゼラチン粒子凝集法）により血中抗体価を測定し、間接的にウイルスを検出した。オーソ社の『HCV・PAⅡ』を用いて行った。

## 3. HCV-RNA遺伝子の検出<sup>3) 4)</sup>

被検血清あるいは血漿からRNAを抽出し、逆転写酵素によりHCV-cDNAを合成した。次いでHCV-cDNAを1次PCR法で増幅し、さらに2次PCR法により増幅した(RT-nested PCR)。増幅反応物はアガロースゲル電気泳動により分画し、エチジウムブロマイドで染色した後、紫外線をあてた時に発する蛍光により検出した。プライマーは5'-非翻訳領域のものを用いた。このようにHCV-RNA遺伝子を検出することにより直接的にウイルスを検出した。

表1 HCV抗体価とHCV-RNA陽性率との関係

	HCV抗体価					
	≥2 <sup>12</sup>	2 <sup>11</sup>	2 <sup>10</sup>	2 <sup>9</sup>	2 <sup>8</sup>	2 <sup>7</sup> ~2 <sup>4</sup>
HCV-RNA	86/86	4/6	5/7	4/6	1/7	0/136
陽性率%	100	67	71	67	14	0

## 結 果

### 1. HCV抗体価とHCV-RNA遺伝子陽性率との関連性

結果を表1に示した。PA法により測定されたHCV抗体価が2<sup>12</sup>以上の検体では全て(100%)HCV-RNA遺伝子が検出され、ウイルスを保有していることが分かった。2<sup>11</sup>では67%、2<sup>10</sup>では71%、2<sup>9</sup>では67%、2<sup>8</sup>では14%にHCV遺伝子が検出された。2<sup>7</sup>以下ではHCV遺伝子は検出されなかった。この結果からHCV抗体価が特に高い場合(≥2<sup>9</sup>)には、HCV-RNA遺伝子が高率に検出されることが分かった。HCV抗体価が2<sup>7</sup>以下では、HCV遺伝子が検出されないことから、これらは一過性の肝炎の後治癒したものと考えられた。

### 2. 山梨県における献血者のHCV抗体保有率とHCV保有率(HCV-RNA遺伝子陽性率)

平成5年9月から平成6年8月までの1年間、山梨県赤十字血液センターに献血された48,622検体についてHCV抗体価とHCV-RNA遺伝子を測定し、山梨県におけるHCV抗体保有率とHCV-RNA遺伝子陽性率

(HCV保有率)を調べた。その結果を図1に示した。HCV抗体陽性者(抗体価2<sup>4</sup>以上)は248名で抗体保有率は0.51%であった。抗体陽性者のうちHCV遺伝子が検出されたHCV保有者は100名で全体の0.21%であり、HCV抗体保有者の40.3%に相当した。

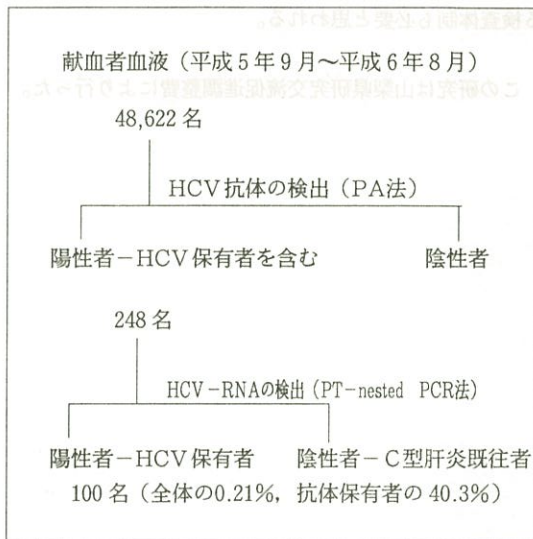


図1 HCV抗体保有者とHCV保有者

## 考 察

PA法による血中のHCV抗体価とHCV遺伝子陽性率との関連をみると、抗体価が高い場合にはHCV遺伝子陽性率も高いことが示された。HCV抗体価が2<sup>12</sup>以上では100%にHCV遺伝子が検出され、C型肝炎ウイルスが存在することが示された。このため日本赤十字血液センターでは、抗体価が2<sup>12</sup>以上の人には告知し、以後献血を行わないように指導している。これによりHCVによる輸血後肝炎は激減している。又これらの人には、医療機関での受診も勧め、病態によってはインターフェロンによる治療が行われている<sup>5)</sup>。

山梨県におけるHCV感染状況を知るために、献血者血液についてHCV抗体価およびHCV遺伝子陽性率を調べた。その結果、HCV抗体保有率は0.51%であった。HCV抗体価が2<sup>12</sup>以上の人に再献血しないよう告知する前にはHCV抗体保有率は約1%であったので、告知するようになってからは抗体保有率は減少している。HCV抗体保有率は、年齢が高くなるにつれて高くなると言われている。山梨県の場合、献血者層に高校生ら若い人が多いことも、HCV抗体保有率の低下に関与している可能性として考えられる。HCV抗体保有者のうち



約4割のみがHCV保有者（HCV遺伝子陽性者）であった。これはHCV遺伝子が検出されないHCV抗体低力価群が多いことを意味している。PCR法によりHCV保有者を検出することは研究室レベルでは可能だが、この方法は操作が複雑なため一般的な方法とはなり得ない事から、何か別の迅速な方法によりHCV保有者を検出する検査体制も必要と思われる。

この研究は山梨県研究交流促進調整費により行った。

## 文 献

- 1) Choo, Q. L., et al.: Science, **244**, 359~362 (1989)
- 2) Kuo, G., et al.: Science, **244**, 362~364 (1989)
- 3) Okamoto, H., et al.: Jap. J. Exp. Med., **60**, 167~177 (1990)
- 4) Okamoto, H., et al.: Jap. J. Exp. Med., **60**, 215~222 (1990)
- 5) Davis, G. L., et al.: N. Eng. J. Med., **321**, 1501~1506 (1989)