総説

C型肝炎ウイルスと慢性血液透析

坂本 直哉* 佐藤 千史**

東京医科歯科大学第2内科* 同保健衛生学科**

緒言

慢性血液透析患者は、輸血を受ける機会が多く、輸血後肝炎が高頻度に発生することが問題となっていた。腎移植後の長期生存者においても輸血後肝炎、肝硬変などの肝疾患死が主要な死亡原因の一つとなっている¹⁾。近年、B型肝炎ウイルスに対する検査法の確立、抗HBs免疫グロブリン、HBワクチンの開発、消毒技術の向上などにより、輸血後肝炎の発生は過去20年間で減少傾向にある²⁾。しかし、透析患者において肝機能障害を呈する症例は依然多く、B型肝炎の減少に伴い、非A非B型肝炎の占める割合が増加している。

1989年に米国のChiron社によりC型肝炎ウイルス(HCV)の遺伝子の一部が明らかにされ³⁾、患者血清中のウイルス抗体を検出する系も開発された。この測定系によると、輸血後非A非B型慢性肝炎患者血清の約70%に本抗体が検出され⁴⁾、大部分の症例はHCV感染によるものであることが明らかとなった。

C型肝炎ウイルスとは

HCVは約10,000の塩基からなるプラス鎖RNAウイルスであり、フラビウイルスやペステウイルスなどとの遺伝子配列レベルで類縁性があることが指摘されて

いる(図1)^{5,6)}。それらのウイルスの特徴の一つとして、個体に感染しているウイルスの数が非常に少ないことがあり、これがHCVの発見を困難にした主因と考えられる。HCVはその遺伝子配列の差からいくつかのサブタイプに分けられることが知られている。最初にChiron社により発表されたウイルスは米国型(HCV-PT)と呼ばれ、日本で主要なタイプ(HCV-K1)は、米国型に比べ塩基配列で約20%、アミノ酸配列で15%程度異なっている。また、割合は少ないがK1タイプ以外の型(K2a, K2b)も存在することが分かっている⁷⁾。さらに、同じ型のHCVの中でも塩基配列に若干の相違が見られ、変異の多いことが指摘されている。

HCV検査法

C100抗体(第1世代HCV抗体):Chiron社が、HCV遺伝子配列の発表と同時に開発した検査系であり、HCVの遺伝子配列をもとに合成された非構造タンパクを抗原としてELISA法により抗体を検出する。輸血後非A非B型慢性肝炎においては約70%に本抗体が陽性となる。問題点として、急性肝炎などの初感染においては、発症から抗体陽性化までの時間差があることが知られている⁸⁾。また、C100抗体は、自己免疫性肝炎、

図1 HCVゲノムの構造とHCV関連マーカーとの関係

マラリア、慢性関節リウマチなどの炎症性疾患で非特異的陽性反応を起こすことが知られている^{9,10}。C型肝炎の診断法は、従来C 100抗体のみであったが、近年、後述するような新しい抗体測定法、ウイルス検出法が開発され、C型肝炎の診断率が向上している。

第2世代 HCV 抗体：第2世代の HCV 抗体測定系は、C 100-3タンパクにウイルスのコアタンパクに相当するC 22、およびNS3領域由来の非構造タンパクであるC 33を加えた測定系であり、輸血後非A非B型肝炎が疑われる患者の90%以上に検出される^{11,12}。また、急性肝炎においても第1世代抗体に比べ早期に陽性となる。現在、外注検査での測定系はほとんどがこの系による。

RIBA (recombinant immuno-blot assay) 法：ELISA法による HCV 抗体検査の確認試験として開発された。C 100抗体の陽性、疑陽性の鑑別に有用である。輸血スクリーニングにおける報告ではHCV陽性50例中RIBAで陽性が確認された13例の全例にALT値上昇が認められ、陰性20例では全例がALT値正常であった¹³。

PCR (polymerase chain reaction) 法：本法は非常に微量のDNAを耐熱性Taq polymeraseを使って反応させることにより増幅し検出する方法である。HCVの血液中の量が少ないことは前述の通りであるが、PCR法を用いてHCV-RNAを増幅することにより高感度にウイルスを検出することが可能となる。患者血漿中よりRNAを抽出し、逆転写酵素により相補的なDNA (cDNA) を合成する。次に目的とする領域をはさんだ1対の短い1本鎖DNA (primer) を加えPCR反応を行い、増幅されたDNAを電気泳動後紫外線透視下にてバンドとして検出する。Primerの位置としては、HCVの間で遺伝子配列の変異のほとんどない5'末端側非翻訳領域を使用することが多く、C型肝炎が疑われる患者の90から100%にHCV-RNAを検出することが可能である。

各種肝疾患における HCV

C 100抗体は、輸血歴のあるなしにかかわらず、非A非B型慢性肝炎においても60から80%に陽性となる(表)。また、肝硬変においても55.6%、肝癌合併例では75%と高率に陽性となる。一方、第2世代HCV抗体で見ると、慢性肝炎96.2%、肝硬変93%、肝癌では92%とさらに多くの例が陽性となる。また、5'末端側非翻訳領域を使ったPCR法によるHCV-RNA検出率では、自験例によれば非A非B型慢性肝炎の91%に陽性であった。これらのことから、非A非B型慢性肝炎、肝硬変の大部分はHCVによるものであることが明らかである。一部にHCV-RNAが検出されない症例もあり、F型肝炎ウ

表 種々の患者群における C100 抗体陽性率

Groups	Cases	Anti-HCV positive (%)
Post-transfusion NANBH* ¹	54	46 (85%)
Chronic NANBH* ¹	8	5 (62%)
Intravenous drug abusers* ¹	83	59 (70%)
Haemophiliacs* ¹	97	62 (64%)
Homosexual men* ¹	26	2 (8%)
Female contacts of drug abusers* ¹	18	1 (6%)
Hepatocellular carcinoma* ²	96	72 (75%)
Liver cirrhosis* ²	106	59 (55.6%)

*¹文献16) より *²文献31) より

イルスが提唱されているが、その存在は明らかではない。血中ウイルス量が少ないため検出感度以下である可能性もある。一方、急性非A非B型肝炎例においては、約70%にC 100抗体が検出されるが[Esteban, 1989]、その抗体出現時期は6か月で約60%、1年で90%と遅く⁸、C 100抗体のみでは肝炎急性期の診断は不十分といえる。一方HCV-RNAは肝炎発症時に検出されることから、C型急性肝炎早期の診断にはHCV-RNAの検出が有用である¹⁴。アルコール性肝障害においては、脂肪肝、肝線維症におけるC 100抗体の陽性率はそれぞれ0%、6%と低率であるのに対し、慢性肝炎では68%、肝硬変、肝癌合併例ではそれぞれ43%、83%と高率に検出され、常習飲酒者の肝障害の進展にはHCVが大きく関与していると考えられる。

健康人における HCV 感染

日赤血液センターではHCV抗体を用いて輸血血液のスクリーニングを行っており、それによると日本の献血者におけるC 100抗体陽性率は約1.1%と報告されている。頻度的には日本人におけるB型肝炎ウイルスキャリアーの割合にほぼ等しい¹⁵。C 100抗体の陽性率は欧米諸国においては日本とほぼ同頻度である¹⁶⁻¹⁸。一方、開発途上国においては、タイで2.6%、インドネシアで3.1%と高い傾向が認められる^{19,20}。

一般人において、輸血スクリーニング、あるいは健康診断で発見されるHCV抗体陽性者のうち、どのくらいの割合でどの程度の肝疾患が存在するかについては報告が少ない。輸血血液のスクリーニングにおける報告ではHCV陽性50例中14例(28%)にALT値上昇が認められ¹³、また、池田ら²¹の報告によれば検診受診者のうちHCV抗体が陽性であった38例中15例(39.5%)において血液生化学検査上肝機能障害が認められた。

HCV の感染経路

HCVは、輸血後非A非B型肝炎例のほとんどに認められることは前述の通りであるが、散发性非A非B型急

性肝炎の少なくとも約半数が HCV によるものであることから¹⁴⁾、輸血以外の感染経路も存在することは明らかである。血液以外の体液を介する感染に関しては、唾液による感染や夫婦感染の報告が見られる一方、血液以外の体液には HCV は存在しないという報告もあり定説はない。また、垂直感染も存在するが²²⁾、意義は不明である。

透析患者における HCV 感染

1. HCV マーカー陽性率

血液透析患者における C 100 抗体陽性率は施設間で相当のばらつきが認められるが、約 9.8% から 29% と報告されており、一般人に比べ 10 から 20 倍と高頻度である²³⁻²⁶⁾。また、CAPD 患者においても高い陽性率を示すことも報告されている²⁷⁾。筆者らは茨城県の 1 施設を対象に透析患者の HCV 抗体測定を行った。C 100 抗体では 10.9% と他の報告と同様に高率であったが、さらに第 2 世代 HCV 抗体では 23.8% と陽性率が 2 倍近く増加することがわかった。HCV-RNA は C 100 抗体陽性 20 例中 8 例 (40%) に、また、C 100 陰性 164 例中からも 11 例 (6.7%) に HCV-RNA が検出された。このことから C 100 抗体陰性例の中にも HCV 感染者がいることが推定される。

2. 肝機能障害と HCV 感染

透析患者においては、HCV 抗体陽性であっても、肝機能障害例は少なく、血清 ALT 値でみると異常が認められる割合は 0 から 18% と報告されている^{23,28)}。施設によっては C 100 抗体陽性者 (9.8%) の全員が血清 ALT 値正常であるという報告もあり²⁶⁾、透析患者では HCV 感染がより潜在性であることが示唆されている。自験例においても C 100 抗体陽性 20 人中血清 AST, ALT 値に異常が見られたのは 3 例 (15%) のみであった。また一方では、臨床上明らかな肝機能障害を認める群と肝機能正常群との間には HCV 抗体陽性率において差がないとの報告もあり、従来の C 100 抗体測定は HCV 感染者の割合を低く見積っていると考えられる²⁹⁾。

以上のごとく、HCV 抗体陽性者の大多数が正常肝機能を有していることより、通常行われている血液生化学検査では HCV 感染者の多くは診断されず、これらの潜在感染者が透析施設における感染源となっていた可能性が考えられる。

透析患者では、B型肝炎ウイルス感染において高率にキャリア化することが知られており 1974 年の米国の報告では 16.8% と高率である³⁰⁾。その原因としては慢性腎不全に伴う種々の免疫能の低下、免疫抑制剤の使用などが考えられているが、HCV 感染においても同様にこれらの要因によりウイルスのキャリア化が生じ、臨床で明らかな肝障害として現われない可能性が推定され

図 2 透析期間と HCV マーカーとの関係³³⁾

る。

3. 輸血歴との関係

慢性腎不全患者の多くは長期間頻回の輸血を受けており、これが HCV の主要な感染経路となっていることは明らかであるが、輸血歴の有無と HCV 抗体陽性率との関係については、相関ありとする報告^{23,27)}と、なしとする報告^{24,28)}がある。ただし、輸血歴との相関ありとした報告においても、輸血の既往のない患者群の HCV 抗体陽性率は 17.6% と高率に認められている²³⁾。我々のデータにおいても輸血歴のある群とない群を比較すると HCV-RNA で 14% vs. 8.7% であり、両群間に有意な差はなかった。輸血歴のない HCV 抗体陽性者についての説明として、1) 腎性貧血以外の原因で過去に輸血を受けた、2) 経過中の全輸血歴が透析施設で把握されていない、などの可能性はあるが、輸血を介さない感染経路の存在も否定できず、今後の検討課題である。

4. 透析期間との関係

透析期間との関係についても、透析が長期になるに従い HCV 抗体の陽性率が増加する傾向が認められた²³⁾。透析期間 2 年以内の患者での HCV 抗体陽性率は 7.5% であるのに対し、透析歴 12 年以上では、58.5% と有意に高い²⁴⁾。Oguchi らの報告では 10 年以上の透析歴の患者では HCV 抗体陽性率は 42% と高率である。自験例においても図 2 に示すように、各 HCV マーカーとも透析年数の増加に従い、高値を示す傾向が明らかとなった。

5. 免疫抑制療法との関係

ループス腎炎や、ネフローゼ症候群を伴う慢性腎不全においては副腎皮質ステロイドを始め種々の免疫抑制療法が行われるが、それらの患者においては免疫抑制剤を使用していない患者に較べ有意に HCV 抗体の陽性率が高いとの報告がある³¹⁾。

6. 透析施設のスタッフの陽性率

医療関係者は肝疾患患者に接する機会が多く、患者からの HCV 感染が問題となっており、口腔外科医におい

て有意に高頻度であったことが報告されている³²⁾。透析施設のスタッフの調査では現在のところ、有意に高いという報告はない²⁹⁾。

結語

HCV の発見, および HCV 抗体の開発により, 慢性血液透析患者の中に多くの潜在的 HCV 感染者が存在することが明らかとなった。今後, 輸血血液のスクリーニングとエリスロポエチンの使用, HCV 陽性患者の隔離透析などにより新たな感染が減少することが期待される。また, C 100 抗体以外の新しい HCV マーカーを使った透析患者の検討などの課題が残されている。

文献

- Boyce NW, Holdsworth SR, Hooke D, Thomson NM, Atkins RC : Nonhepatitis B-associated liver disease in a renal transplant population. *Am J Kidney Dis* 11 : 307-312, 1988
- Alter JM, Favero MS, Maynard JE : Impact of infection control strategies on the incidence of dialysis-associated hepatitis in the United States. *Infect Dis* 153 : 1149-1151, 1986
- 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 genom. *Science* 244 : 359-362, 1989
- Kuo G, Choo QL, Alter HJ, Gitnick GL, Redeker AG, Purcell RH, Miyamura T, Dienstag JL, Alter MJ, Stevens CE : An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 244 : 362-364, 1989
- Kato N, Hijikata M, Ootsuyama Y, Nakagawa M, Ohkoshi S, Sugimura T, Shimotohno K : Molecular cloning of the human hepatitis C virus genome from Japanese patients with non-A, non-B hepatitis. *Proc Natl Acad Sci USA* 87 : 9524-9528, 1990
- Choo QL, Richman KH, Han JH, Berger K, Lee C, Dong C, Gallegos C, Coit D, Medina SR, Barr PJ : Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 88 : 2451-2455, 1991
- Enomoto N, Takada A, Nakao T, Date T : There are two major types of hepatitis C virus in Japan. *Biochem Biophys Res Commun* 170 : 1021-1025, 1990
- 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* 321 : 1494-1500, 1989
- Aceti A, Taliani G, de BC, Sebastiani A : Anti-HCV false positivity in malaria. *Lancet* 336 : 1442-1443, 1990
- Theilmann L, Blazek M, Goeser T, Gmelin K, Kommerell B, Fiehn W : False-positive anti-HCV tests in rheumatoid arthritis. *Lancet* 335 : 973, 1990
- Van dPC, Cuypers HT, Reesink HW, Weiner AJ, Quan S, Di NR, Van BJ, Winkel I, Mulder FD, Exel OP : Confirmation of hepatitis C virus infection by new four-antigen recombinant immunoblot assay. *Lancet* 337 : 317-319, 1991
- Aach RD, Stevens CE, Hollinger FB, Mosley JW, Peterson DA, Taylor PE, Johnson RG, Barbosa LH, Nemo GJ : Hepatitis C virus infection in post-transfusion hepatitis. An analysis with first- and second-generation assays. *N Engl J Med* 325 : 1325-1329, 1991
- Alberti A, Chemello L, Cavalletto D, Tagger A, Dal CA, Bizzaro N, Tagariello G, Ruol A : Antibody to hepatitis C virus and liver disease in volunteer blood donors. *Ann Intern Med* 114 : 1010-1012, 1991
- Sakamoto N, Sato C, Haritani H, Maekawa S, Kurosaki M, Enomoto N, Hoshino Y, Tazawa J, Nishimura M, Marumo F : Detection of hepatitis C viral RNA in sporadic acute non-A, non-B hepatitis by polymerase chain reaction : its usefulness for the early diagnosis of seronegative infection. *J Hepatol* 1992 ; in press
- Watanabe J, Minegishi K, Mitsumori T, Ishifuji M, Oguchi T, Ueda M, Tokunaga E, Tanaka E, Kiyosawa K, Furuta S : Prevalence of anti-HCV antibody in blood donors in the Tokyo area. *Vox Sang* 59 : 86-88, 1990
- Esteban JI, Esteban R, Viladomiu L, Lopez TJ, Gonzalez A, Hernandez JM, Roget M, Vargas V, Genesca J, Buti M : Hepatitis C virus antibodies among risk groups in Spain. *Lancet* ii : 294-297, 1989
- Kuhnl P, Seidl S, Stangel W, Beyer J, Sibrowski

- W, Flik J : Antibody to hepatitis C virus in German blood donors. *Lancet* ii : 342-345, 1989
- 18) Ferroni P, Tagger A, Ribero ML, Grossi A, Pregliasco F, Pasquali ML, Salvaneschi S : Antibodies to hepatitis C virus in blood donors. *Eur J Epidemiol* 6 : 326-328, 1990
 - 19) Boonmar S, Pojanagaroon B, Watanabe Y, Tanaka Y, Saito I, Miyamura T : Prevalence of hepatitis C virus antibody among healthy blood donors and non-A, non-B hepatitis patients in Thailand. *Jpn J Med Sci Biol* 43 : 29-36, 1990
 - 20) Amirudin R, Akil H, Akahane Y, Suzuki H : Hepatitis B and C virus infection in Ujung Pandang, Indonesia. *Gastroenterol Jpn* 3 : 184-188, 1991
 - 21) Ikeda S, Uchida M, Fukumoto S, Shimada Y : Prevalence of HCV antibodies from mass survey in Shimane Prefecture. *Nippon Rinsho* 49 : 378-382, 1991
 - 22) Thaler MM, Park CK, Landers DV, Wara DW, Houghton M, Veereman WG, Sweet RL, Han JH : Vertical transmission of hepatitis C virus. *Lancet* 338 : 17-18, 1991
 - 23) Oguchi H, Terashima M, Tokunaga S, Kiyosawa K, Tanaka E, Furuta S, Kanno Y, Aizawa T, Nishioka K : Prevalence of anti-HCV in patients on long-term hemodialysis. *Nippon Jinzo Gakkai Shi* 32 : 313-317, 1990
 - 24) Fujiyama S, Kawano S, Sato S, Sato T, Shimada H, Matsushita K, Hara M, Ito J : The prevalence of anti-HCV antibodies in hemodialysis patients. *Gastroenterol Jpn* 3 : 206-208, 1991
 - 25) Gilli P, Moretti M, Soffritti S, Marchi N, Malacarne F, Bedani PL, De PVE, Fiocchi O, Menini C : Non-A, non-B hepatitis and anti-HCV antibodies in dialysis patients. *Int J Artif Organs* 13 : 737-741, 1990
 - 26) Ha SK, Park JH, Choi WC, Kim KH, Choi KH, Lee HY, Han DS, Song KS, Kim HO, Chung SH : Hepatitis C infection in hemodialysis units. *Korean J Intern Med* 5 : 83-86, 1990
 - 27) Perez FM, Moncalian J, Rodriguez CA, Arrojo F : Prevalence of antihepatitis C antibodies in patients treated with continuous ambulatory peritoneal dialysis and hemodialysis. *Nephron* 58 : 381-382, 1991
 - 28) Zeldis JB, Depner TA, Kuramoto IK, Gish RG, Holland PV : The prevalence of hepatitis C virus antibodies among hemodialysis patients. *Ann Intern Med* 112 : 958-960, 1990
 - 29) Jeffers LJ, Perez GO, de MM, Ortiz IC, Schiff ER, Reddy KR, Jimenez M, Bourgoignie JJ, Vaamonde CA, Duncan R : Hepatitis C infection in two urban hemodialysis units. *Kidney Int* 38 : 320-322, 1990
 - 30) Szmunn WA : Hepatitis B infection : a point prevalence study in 15 U. S. hemodialysis centers. *JAMA* 227 : 901, 1974
 - 31) Ponz E, Campistol JM, Barrera JM, Gil C, Pinto J, Andreu J, Bruguera M : Hepatitis C virus antibodies in patients on hemodialysis and after kidney transplantation. *Transplant Proc* 274-278, 1991
 - 32) Klein RS, Freeman K, Taylor PE, Stevens CE : Occupational risk for hepatitis C virus infection among New York City dentists. *Lancet* 338 : 1539-1542, 1991
 - 33) Sakamoto N, Enomoto N, Sato C, Marumo F : Prevalence of hepatitis C virus infection among long-term hemodialysis patients : detection of plasma hepatitis C virus RNA. *J Med Virol* : in press