

## 透析医療における高感度 HCV 抗原検査の有用性の評価に関する研究

研究協力者 三井 健宏 増子記念病院肝炎研究室長  
主任研究者 山崎 親雄 日本透析医会会長

**研究要旨** 透析室での C 型肝炎ウイルス (HCV) 感染防止対策の一つとして、HCV コア抗原 (HCV 抗原, HCV Ag) 検査の有用性について検討した。透析患者での HCV 抗原検査による HCV ウイルス血症の診断感度は 93%、診断特異度は 100% と良好な結果が得られた。HCV 抗体 (HCV Ab) 陽性の患者に対しては HCV 抗原検査を行い、HCV 抗原陰性の場合さらに、HCV-RNA の定性検査を行うことにより、HCV キャリアの確定診断が可能であった。

透析患者の HCV 初感染例では、HCV 感染後 HCV 抗体出現までのウィンドウ期間が非常に長い場合が多い。早期に HCV 感染の診断をするためには、これまでは RT-PCR 法にて HCV-RNA を検出するしかなかった。しかし近年開発された HCV 抗原検査試薬を用いて、透析患者の HCV 初感染 5 例について経時的に HCV 抗原を測定したところ、感染の早期より HCV のウイルス血症を検出し得た。典型的な肝炎の発症でなくても、血清 AST や ALT 値が異常値を呈したときに、直ちに HCV 抗原を検査することにより HCV の初感染を早期に診断できると考えられた。HCV 感染のウィンドウ期には、HCV 量が非常に高い場合があることも明らかになった。また HCV 抗体だけでなく、HCV 抗原も定期的に検査することにより、HCV 初感染の早期診断が可能になると考えられた。早期診断ができれば、HCV 陽性者の透析は専用ベッドで実施するなど、透析医療での HCV 感染防止対策に生かすことができる。

### A. 研究目的

1992 年 2 月より献血者の HCV 感染のスクリーニングに第 2 世代 HCV 抗体検査試薬が使用されるようになり、輸血を介する透析患者の新規 HCV 感染は激減している。また 99 年 10 月からは HCV 抗体陰性献血者のウイルス核酸増幅検査も実施されるようになり、透析患者はより安全な輸血が受けられるようになった。

にもかかわらず、国内において透析患者の新規 HCV 集団感染や散発的感染が発生している。近年における透析患者の新規 HCV 感染率は一般健康人に比して極めて高いと推定されており、主たる感染経路は透析治療を介する院内感染と考えられている。

透析医療を介する HCV 院内感染防止対策の一つとして感染源対策が重要であり、新たな感染者を早

期に見つける必要がある。従来の HCV 抗体検査は HCV キャリアのスクリーニングには有用であったが、HCV 感染後のウィンドウ期間が長いことため新規感染者を早期に発見する目的には不向きであった。そこで最近開発された高感度 HCV コア抗原 (HCV 抗原) 検査試薬を用いることにより、透析患者での HCV 感染を特異的に感度よく検出し、しかも感染初期の早期診断が可能であるかどうかを明らかにすることが本研究の目的である。

### B. 研究方法

#### 1. 対象と方法

2001 年 1 月、当院透析患者 510 例の血清について HCV 抗体が測定された。このうち HCV 抗体陽性例については、HCV-RNA が RT-PCR 法にて

測定された。この510例の凍結保存血清についてHCV抗原の測定を行い、その成績を基にHCV抗原検査の診断感度と特異度について検討した。

当院では1994年1月から2000年12月の間に、6例の透析患者にHCV抗体のseroconversionが観察された。この期間に、全透析患者は2週ごとに血清ALTやASTなどの肝機能検査が施行されており、その時の血清検体は2週ごとに凍結保存されている。この6例のうち5例の透析患者を対象とし、ASTまたはALTが正常値上限40 IU/Lを越えた時点をC型肝炎の発症と定義し、この点を基準(0週)にしその前後で4週ごとにHCVマーカー(HCV抗体、HCV-RNAおよびHCV抗原)を測定した。

## 2. HCVマーカーの測定

HCV抗体は第2世代酵素免疫測定法(HCV・EIAIIアボット)、HCV抗原は化学発光酵素免疫測定法(ルミスポット‘栄研’HCV抗原)により測定し、20 fmol/L以上を陽性とした。透析患者510例のうち、HCV抗体陽性であった83例についてはRT-PCR法(アンプリコアHCVモニターv2.0またはHCV定性v2.0 ロッシュ・ダイアグノスティックス)にてHCV-RNAを測定した。

またHCV抗体の陽転した5例については、リアルタイムRT-PCR法によりHCV-RNAを経時的に測定し定量した。なお本法の検出感度はアンプリコアv2.0 HCV-RNA定性検査とほぼ同等であり、200コピー/ml以上を陽性と判定した。本法はアンプリコアHCVモニターv2.0に比し、高ウイルス量領域での定量性に優れている。HCV初感染5例のHCV genotypeは岡本らの方法により測定した。

## 3. 臨床研究に関する倫理的配慮

この研究は保存血清を用いた研究で、血清保存および透析患者510例に関するHCV抗体測定は、平成15年7月に厚生労働省より提示された臨床研究に関する倫理指針以前に行われたものである。しかしながら今回実施されたその510例を対象とした

HCV抗原検査と、2000年12月までのHCV抗体陽転例を対象としたHCV抗原およびHCV-RNA検査に関しては、本院倫理委員会で慎重審議の上、検体提供者に関する個人情報が出漏しないうことと、この研究により透析患者におけるC型肝炎院内感染防止にとってきわめて重要な示唆が得られ、多くの透析患者の利益につながると判断され、研究の実施に関する許可を得た。特に抗体陽転例の研究では、本人への研究と報告に関する説明が行われ、同意を得た上で検査が実施された。

## C. 研究結果と考察

### 1. HCV抗原の診断感度と特異度

510例の透析患者のうち83例(16%)がHCV抗体陽性、このうち60例(72%)がHCV-RNA陽性であった。HCV-RNA陽性例のうちHCV抗原陽性は56例でHCV抗原によるHCV血症の診断感度は93%(56/60)であった。HCV抗体陽性、HCV-RNA陰性の23例ではHCV抗原は検出されなかった。またHCV抗体陰性の427例のHCV抗原は全例陰性であった。これらの結果からHCV抗原によるHCV血症の診断の特異度は100%(450/450)と結論された。非透析のC型肝炎疾患患者でのHCV抗原検査の診断感度は98%程度であることが報告されている。透析患者では若干診断感度が低かったものの、良好な成績であると考えられる。

透析患者のHCVキャリアの診断に際してはHCV抗体とHCV抗原検査の併用により、93%のHCVキャリアの確定診断が可能となる。なおHCV抗体陽性、HCV抗原陰性の患者については確定診断のためHCV-RNA定性検査が必要である。

### 2. HCV初感染例の臨床経過とHCV抗原

HCV初感染の5例の透析患者はいずれも感染後、慢性HCV感染が成立した。5症例の概略を表1に示す。典型的な急性肝炎は症例1と2のみであったが、症例2では発症後2週の短期間にALTとAST値が共に正常化した。症例3では発症後のASTとALTは100 IU/L未満の軽度の異常値を示した。

表 1 透析患者における HCV 初感染例のまとめ

症例	年齢/性別	HCV genotype	発症時*の血清パラメーター				発症後 HCVAb 出現までの期間 (wk)	ウィンドウ期間 (wk)
			AST/ALT (IU/L)	HCVAb (cut off index)	HCVAg (fmol/L)	HCV RNA (kcopies/ml)		
1	54/M	2 a	265/347	1.4 (+)	25,852	8,800	0	8
2	43/F	2 b	1,174/451	0.2 (-)	4,282	170	40	44
3	59/M	1 b	32/ 56	0.5 (-)	40,487	67,000	12	16
4	70/F	1 b	47/ 21	0.5 (-)	232	52	24	36
5	55/F	1 b	41/ 24	0.3 (-)	69,939	120,000	20	≥60

\*AST または ALT が 40 IU/L を越えた場合を発症と定義した。

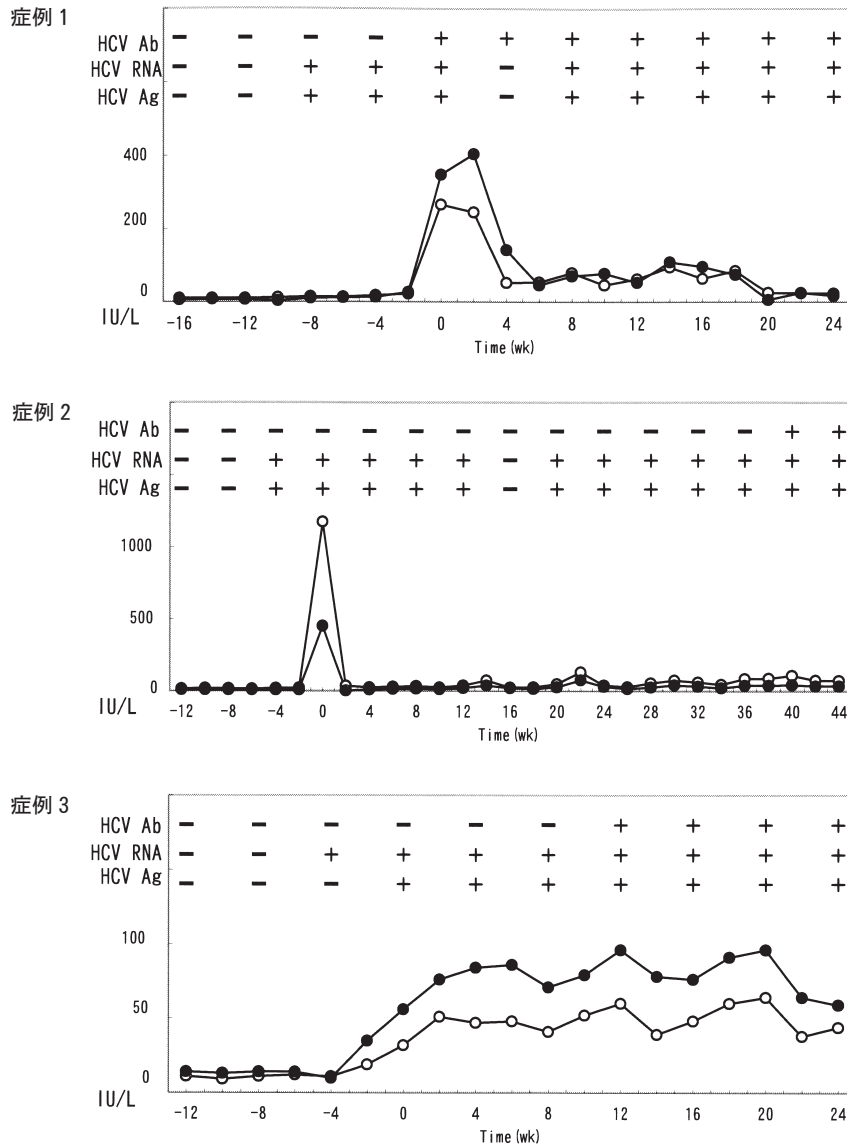


図 1 HCV 初感染例の臨床経過 (症例 1~3)

○ = AST, ● = ALT

症例 4 と 5 では明らかな肝炎の発症は無く ALT 値は経過観察中どの時点でも正常値を呈していたが、AST 値のみ正常値の上限をやや越える時があった。

発症時より HCV 抗体が検出されたのは症例 1 のみで、他の 4 例では HCV 抗体出現までに 12~40 週を要した。またウイルス血症が存在するにもかか

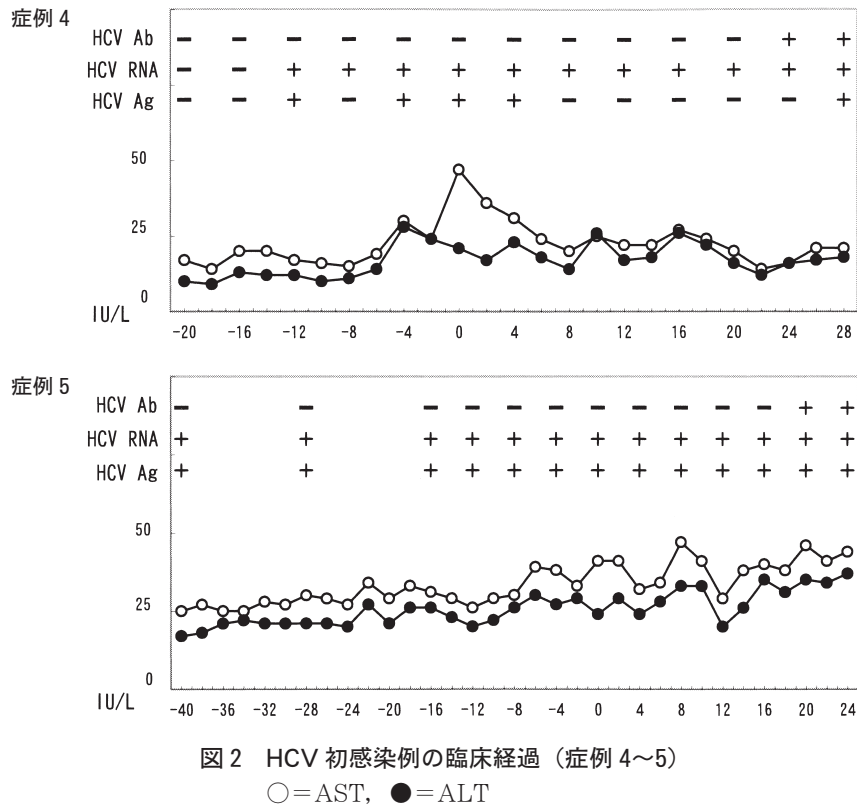


図2 HCV初感染例の臨床経過（症例4～5）

○=AST, ●=ALT

ならず，HCV抗体の検出されないウインドウ期間は最短例で8週，最長例では60週以上であった。5症例すべての患者で発症時にHCV-RNAとHCV抗原が検出された。症例3を除く4症例では発症前よりHCV-RNAとHCV抗原が共に検出された（図1，2）。症例3では発症4週前のHCV-RNAは陽性であったが，HCV抗原は陰性であった。これはHCV-RNAが0.39 kcopies/mlと低値であることから，HCV量が低いためHCV抗原を検出できなかったためである。

症例1では発症後4週の時点で，HCV抗原およびHCV-RNAが一過性に陰性化した，この前日まで6日間インターフェロン治療が行われていた。症例2においても発症後16週の時点で一過性にHCV抗原とHCV-RNAが陰性化した，インターフェロン治療は行われていなかった。

症例4を除く4症例ではHCV-RNAと一致してHCV抗原が検出された。しかし症例4ではHCVに感染後HCV-RNAは持続的に検出されたものの，HCV抗原は間欠的にしか検出し得なかった（図1）。この症例では他の症例に比しHCV-RNA量が低い

ことから，HCV量も低くHCV-RNAは陽性であってもHCV抗原が検出できない時期があったと考えられる。

510例の透析患者のうちHCV抗原陽性の56例でのHCV抗原量の最高値は66,278 fmol/Lであり，100,000 fmol/Lを越える症例は無かった。一方，HCV初感染例では5例中3例において，HCV抗体のウインドウ期に100,000 fmol/L以上のHCV抗原量を呈した（図3）。HCV抗原量が100,000 fmol/L以上の症例の血清HCV-RNA量は46,000～530,000 kcopies/mlであり，その血液の感染性は極めて高いと推定された。

症例5は死体腎移植後，30ヶ月後に移植腎を残したまま血液透析に再導入した患者である。血液透析再導入後は移植外科医よりプレドニンによる治療を受けていた。透析再導入の2ヶ月後に当院透析室に転入して維持透析を受けている。転入時のHCV抗体は陰性であったが，HCV-RNAおよびHCV抗原が共に陽性でありHCV抗原量は4099 fmol/Lであった。HCV抗体は転入後60週で陽性となった。HCV抗原およびHCV-RNAはHCV抗体の

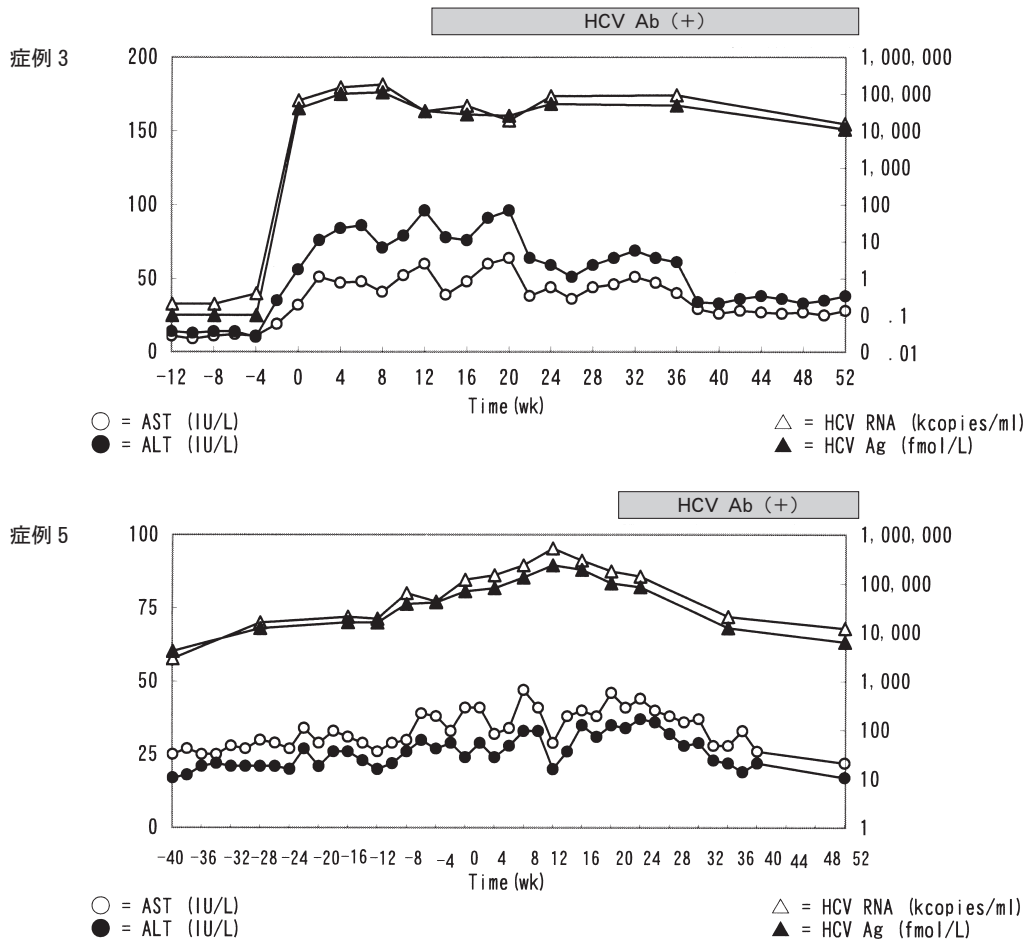


図3 初感染後、HCV 抗原量が 100,000 fmol/L 以上の高値を呈した症例

seroconversion の 8 週前に最高値 (238,727 fmol/L, 530,000 kcopies/ml) を呈した (図3). これほど高い血中ウイルス量は HBe 抗原陽性の B 型肝炎ウイルス陽性者のウイルス量に匹敵するものである.

5 症例のなかでは本症例が、研究期間中に最も高いウイルス量を呈していた. 本症例では HCV 抗体のウィンドウ期間が約 60 週 (14 ヶ月) と極めて長く、また HCV 量が極めて高かった. これは継続的に投与されていたステロイド剤の免疫抑制効果によるものと推定される. 従って HCV 抗体陰性で継続的に免疫抑制剤やステロイド剤の投与を受けている透析患者については、HCV 感染を早期に発見するため HCV 抗原検査による注意深い観察が必要と考えられた. また他の透析施設からの転入患者については、ウィンドウの期間中の HCV 血症を検出するため、転入時に HCV 抗体だけでなく HCV 抗原を調べておく必要があると考えられる.

#### D. 結論

- (1) 透析患者での HCV 抗原検査による HCV ウイルス血症の診断感度は 93%, 診断特異度は 100% と良好な結果が得られた.
- (2) HCV 抗原検査は透析患者の HCV 初感染時における早期診断にも有効で、ウィンドウ期間を短縮させる.
- (3) HCV 抗原検査は RT-PCR 法により HCV-RNA を検出するほどコストがかからないことから、その活用は透析室での HCV 院内感染防止対策の一つとして、有用性が高いと考えられた.

#### E. 参考文献

- 1) Aoyagi K, Ohue C, Iida K, et al. Development of a simple and highly sensitive enzyme immunoassay for hepatitis C virus core antigen. J Clin Microbiol 1999;

- 37:1802-1808.
- 2) Tanaka E, Ohue C, Aoyagi K, et al. Evaluation of a new enzyme immunoassay for hepatitis C virus (HCV) core antigen with clinical sensitivity approximating that of genomic amplification of HCV RNA. *Hepatology* 2000; 32:388-393.
  - 3) 田中栄司, 飯島俊代, 天木登代 他. HCV コア抗原定量試薬 (CLEIA 法) の臨床的有用性. *医学と薬学* 2001; 46:391-397.
  - 4) 片山恵子, 熊谷純子, 小宮裕 他. HCV コア抗原定量試薬の基礎的検討. *医学と薬学* 2001; 46:1023-1029.
  - 5) Takeuchi T, Katsume A, Tanaka T, et al. Real-time detection system for quantification of hepatitis C virus genome. *Gastroenterol* 1999; 116:636-642.