

血液製剤等に係る遡及調査ガイドライン Q&A (案)

「基礎知識」編

- I B型肝炎ウイルス (HBV) と HBs 抗原、HBs 抗体、HBc 抗体との関係及び核酸増幅検査 (NAT) により検出される HBV DNA との関係
- II C型肝炎ウイルス (HCV) と HCV 抗体、HCV 抗原との関係及び核酸増幅検査 (NAT) により検出される HCV RNA との関係

「実施関連の解説」編

- III 輸血前後の検査と保管検体について
- IV 輸血前後に実施する検査項目とその意義及び血清検体を医療機関が保存しておくべき期間など (B型肝炎ウイルス: HBV)
- V 輸血前後に実施する検査項目とその意義及び血清検体を医療機関が保存しておくべき期間など (C型肝炎ウイルス: HCV)
- VI 輸血前後に実施する検査項目とその意義及び血清検体を医療機関が保存しておくべき期間など (ヒト免疫不全ウイルス: HIV)
- VII 輸血前に実施するそれぞれの検査結果の意義と受血者への対応
- VIII 感染の因果関係を解析する手順、結果の判定 (診断) など
- IX HBV、HCV、HIV 関連検査の標準化のためのコントロールサーベイ、その必要性和実施方法など

<予備知識>

1 抗原・抗体

生体には、もともと身体の中にはなかったもの（「異物」）が侵入すると、「異物」と反応する特殊なタンパク質を作り出す機能が備わっていて、この特殊なタンパク質を「免疫グロブリン」と言います。この免疫グロブリンを一般には「抗体」と呼び、生体に「抗体」を作らせる能力を備えた「異物」を「抗原」と称します。

通常、1つの「抗原」に対応して1つの「抗体」が作られます。言い換えれば、1つの「抗体」は対応する1つの「抗原」とのみ反応するので、これを「抗原と抗体の特異的反応」と言います。

なお、抗原となる異物は、通常は分子量が大きいことから、抗体を作らせる抗原となる部位がいくつもあります。このような各部位を抗原決定基といい、それぞれの抗原決定基を認識する抗体が作られます。

一般に、病原体である細菌やウイルスは生体にとっては「異物」であり、大きさもあることから、感染が起こると生体は細菌やウイルスを構成するいくつかのタンパク質に対応するそれぞれの「抗体」を作り出します。これらの抗体の中には、異物である病原体と結合して、病原体を無害化してしまうものがあり、これを「中和抗体」と呼んでいます。

2 急性感染・持続感染

病原体が生体の中に侵入することを「暴露」といいますが、生体の中で増殖を始めると、これを「感染」と呼んでいます。生体はこの病原体の侵入や増殖に対して種々の反応を起こして、病原体を無毒化しようとはしますが、一方、病原体もこのような生体の反応に対して、様々の抵抗をします。このような感染の状態を「急性感染」といい、何らかの症状を認める場合を発病（急性感染）と称しますが、全く気の付かないうちに病原体を駆逐して治ってしまう場合を「不顕性感染」といいます。多くの感染は、この不顕性感染ですが、一部の感染は急性感染症となるものの、これもほとんどは完全に治ります。

しかし、なかには急性感染時の症状の有無に関係なく、病原体が生体の中で長期間生き続ける場合があります、この状態を「慢性感染又は持続感染」といい、このような感染者を「持続感染者（キャリア）」と称しています。この持続感染の多くは、年余にわたって症状が認められないことから「無症候性持続感染」といいます。

HBV、HCV、HIVの感染には、いずれも急性感染と持続感染とが認められており、この持続感染の状態が年余にわたって持続しますと、急性感染時とは異なった病態を示すようになります。つまり、HBVとHCVとは慢性肝炎を発症後、肝硬変や肝がんへ進展し、HIVでは後天性免疫不全症候群（エイズ）を発症する場合があります。

3 急性B型肝炎の「臨床的治癒」と「ウイルス学的持続感染」

一般に成人が初めてB型肝炎ウイルス（HBV）に感染すると、急性感染の経過をたどり、肝炎は慢性化することなく完全に治癒し、生体は免疫を獲得して再びHBVに感染することはありません。この状態をこのQ&Aでは（急性B型肝炎の）「臨床的治癒」と表現しています。

一般に、HBVの急性感染を経過した人では血中のHBs抗原は消失し、代わってHBs抗体（感染防御抗体）とHBc抗体（感染既往の指標となる抗体）とがほぼ生涯にわたって検出されます。

以上のように、HBVの急性感染を「肝炎という病気の側面」から見た場合、これまでの概念を変更する必要は全くないことは明らかとなっています。

しかし、近年、HBc抗体陽性のドナー（HBs抗原陰性、これまでの概念ではHBVの感染既往と考えられる人）の肝臓を移植された患者（レシピエント）では、HBVの感染が起こることが明らかとなりました。

これを契機に研究が進められた結果、ほとんどのHBc抗体陽性（HBs抗原陰性）の人の肝細胞内には微量のHBVが持続感染しており、これがレシピエントへの感染源となっていたことがわかりました。

また、このような人の血中にはごく微量のHBVが核酸増幅検査（NAT）により検出される場合があることもわかってきました。言い換えると、HBVN急性感染を経過した人のほとんどでは、肝炎は完全に治癒し、本人の健康上何ら問題はない（臨床上肝炎は治癒している）もののHBVは肝臓内に持続感染している（ウイルス学的には持続感染状態にある）ことがわかってきました。

4 核酸増幅検査（NAT）によるウイルス濃度の表示

核酸増幅検査（Nucleic acid Amplification Test : NAT、詳しくはIの4を御覧ください。）により測定した1 ml中のウイルスの（核酸）濃度を表示する単位として、このQ&Aではコピー/mlを用いています。

コピーという表示は、従来からNATにより増幅する検体中のウイルスの標的遺伝子の数を表す単位として用いられており、この他にIU/ml（国際ナショナル単位）という単位が用いられることもあります。

コピー/mlとIU/mlの両者の間及び検体中のウイルス濃度との間には一定の相関関係はあるものの、これらは必ずしも実際にはその実数を数えることはできなく、検体1 ml中のウイルス粒子数そのものを表すものではなくあくまでもNATによる定量値を表示する「単位」として用いられているものです。

5 感染価

検体の「感染力」を表す単位として用いられます。

チンパンジーを用いたHCVの感染実験を例に挙げると（詳しくはIの5、IIの8を御覧ください）、NATにより検出、表示されるHCV RNA量に換算した「絶対量」として、10コピーオーダーの接種材料を経静脈的に投与する

と HCV の感染は成立するものの、1 コピーオーダーの接種材料を同様に接種しても HCV の感染は成立しないことが明らかとなっています。

この場合、NAT により検出、表示される HCV RNA が含まれる検体を 1 チンパンジー感染価/ml、100 コピーオーダー/ml の HCV RNA が含まれる検体を 10 チンパンジー感染価/ml と表示します。

I B型肝炎ウイルス (HBV) と HBs 抗原、HBs 抗体、HBc 抗体との関係及び核酸増幅検査 (NAT) により検出される HBV DNA との関係

1 B型肝炎ウイルス (HBV) 粒子と HBs 抗原、HBc 抗原との関係は？

B型肝炎ウイルス (HBV) は、直径約 42nm の球形をした DNA 型ウイルスです。

HBV 粒子は、二重構造をしており、内部に HBV の遺伝子 (HBV DNA) を持つ直径約 27nm のコア粒子と、これを包む外殻 (エンベロープ) から成り立っています。

HBV の外殻を構成するタンパクが「HBs 抗原」 (Hepatitis B surface 抗原) であり、コア粒子の表面を構成するタンパクが「HBc 抗原」 (Hepatitis B core 抗原) です。

HBV が肝細胞に感染すると、HBV の増殖に伴って肝細胞内で HBV の外殻タンパク (HBs 抗原) が過剰に作られて、ウイルス粒子とは別個にタンパクとして多量に血液中に放出されます。これが HBs 抗原タンパク (直径約 22nm の小型球形粒子と桿状粒子) で、一般に HBV に感染している人の血液中には、HBV 粒子の他に多量の小型球形粒子及び桿状粒子が存在します。

日常の検査で「HBs 抗原」として検出しているタンパクは、HBV 粒子の外殻それ自体ではなく、小型球形粒子および桿状粒子 (ともに「HBs 抗原」) です。

なお、HBc 抗原は外殻に包まれて HBV 粒子の内部に存在することから、そのままでは検出できません (詳しくは 4 をご覧ください)。

2 「HBs 抗原陽性」の意義は？ また、「HBs 抗体陽性」の意義は？

(1) HBs 抗原陽性の意義は？

HBs 抗原陽性ということは、その人が B型肝炎ウイルス (HBV) に感染しているということを意味します。

HBV に感染している人の血液中には、HBV 粒子の他に多量の小型球形粒子及び桿状粒子 (いずれも「HBs 抗原」タンパク) が存在します。

日常検査で検出している「HBs 抗原」は、これらの小型球形粒子や桿状粒子 (いずれも HBs 抗原タンパク) であり、HBV 粒子それ自体を検出している訳ではありません。

言い換えれば、HBs 抗原タンパク (HBV の外殻タンパクと同じ抗原性を有する小型球形粒子や桿状粒子) を検出することにより、HBV それ自体が肝臓内や血液中に存在することを間接的に知る方法が HBs 抗原検査です。

(2) HBs 抗体陽性の意義は？

HBs 抗体は HBV の感染を防御する働きをもつ抗体です。

HBs 抗体は HBs 抗原に対応する抗体で、B 型肝炎ウイルス (HBV) の外殻タンパク (HBs 抗原) のみならず、小型球形粒子及び桿状粒子 (いずれも HBs 抗原) とも反応します。

HBs 抗体が HBV 粒子の外殻タンパクと反応すると、その HBV 粒子は肝細胞内へ侵入することができなくなり、その結果感染が阻止されます。言い換えれば、HBs 抗体は HBV の感染を防御する働きを持つ (中和抗体としての働きをもつ) と言えます。

また、HBV に感染し、(臨床的に) 治癒した (HBV の一過性の感染を経過した) 後に血中に出現することから、HBs 抗体陽性ということは、過去に HBV に感染して (臨床的に) 治癒した後の状態 (既往感染) であることも意味します (ただし、感染既往以外にも HB ワクチンを接種し、HBs 抗体が陽性となっている例もあります。)

3 HBc 抗原とは? HBc 抗体陽性の意義は?

(1) HBc 抗原とは?

HBc 抗原は B 型肝炎ウイルス (HBV) の内部粒子 (コア粒子) の表面を構成するタンパクです。

HBc 抗原は、外殻 (エンベロープ) に包まれて HBV 粒子の内部に存在することから、そのままでは検出できません。検体 (血清) に特殊な処理を施して、HBV 粒子をタンパクの最小単位 (ペプチド) にまで分解して HBc 抗原を検出する試みが行われていますが、まだ日常検査の中に取り入れられるまでの状態には至っていません。

(2) HBc 抗体陽性の意義は?

HBc 抗体には HBV の感染を防御する働き (中和抗体としての働き) はありません。

HBc 抗体は B 型肝炎ウイルス (HBV) のコア抗原 (HBc 抗原) に対する抗体です。

HBV に一過性に感染し (臨床的に) 治癒する経過をたどる人では、HBc 抗体は HBs 抗原が血液中から消える前の早い段階から出現し、ほぼ生涯にわたって血中に持続して検出されます。

言い換えれば、HBs 抗原が陰性で HBc 抗体が陽性の人、過去に HBV に感染し、(臨床的には) 治癒したことを意味します (臨床的既往感染例) が、極微量の HBV が血液中に検出される持続感染者も存在します。

HBV の既往感染例では、HBc 抗原による免疫刺激が途絶えた時点から年単位の時間をかけて血液中の HBc 抗体の量は徐々に低下します。その結果、HBc 抗体は「中力価」～「低力価」陽性を示します。

一方、HBV の持続感染者 (HBV キャリア) では、血液中に HBs 抗原とともに高力価の HBc 抗体が常に検出されます (HBc 抗体「高力価」陽性)。

これは、HBV キャリアでは、①血液中に放出され続ける HBV 粒子の中の HBc 抗原による免疫刺激に身体がさらされ続けていることから HBc 抗体が沢

山作られ血液中に大量に存在すること、②HBc 抗原が HBV 粒子の外殻に包まれた形で存在するために、血液中の HBc 抗体が抗原・抗体反応によって消費されないこと、によるものと解釈されています。

なお、ほとんどの HBc 抗体陽性の人ではその人自身の健康に影響を及ぼすことはないものの、血液中に HBs 抗原が検出されない場合 (HBs 抗原陰性) でも、肝臓の中にごく微量の HBV が存在し (臨床的には症状がないが、ウイルス学的には持続感染 (キャリア) 状態を維持)、核酸増幅検査 (NAT) により HBV DNA が検出される程度の HBV が血液中に放出されている場合があります。

4 核酸増幅検査とは？

核酸増幅検査 (Nucleic acid Amplification Test : NAT) は、標的とする遺伝子の一部を試験管内で約 1 億倍に増やして検出する方法で、PCR と呼ばれている検査法はその代表的な方法の一つです。

この方法を B 型肝炎ウイルスの遺伝子 (HBV DNA) の検出に応用することにより、血液 (検体) 中のごく微量 (10^2 コピー/ml 程度まで) の HBV を検出することができます。このことから、20 人分の血清をプールして 1 検体とした NAT による HBV DNA 検出 (20 本プール NAT) を実施して HBV に感染して間もないために、HBs 抗原がまだ検出されない時期 (HBs 抗原のウインドウ期) にある HBV 陽性の献血者の血液を見つけ出したり、HBs 抗原が陰性で HBc 抗体だけが陽性である人の中から、ごく微量 ($10^2 \sim 10^3$ コピー/ml) の HBV を血液中に放出している献血者の血液を見つけ出すために NAT による HBV のスクリーニングが導入され、輸血用血液の安全性の向上のために役立てられています。

しかし、特に HBV 感染のごく早期 (HBs 抗原のウインドウ期) に献血された血液の一部については、NAT による HBV DNA の検出によるだけでは輸血による HBV 感染をなくすことは困難であることがわかっています (詳しくは 8 を御覧下さい)。

5 感染してから HBs 抗原検査で「陽性」と判定できるまでの期間は？

HBs 抗原検査法の感度にもよりますが、ヒトでの解析結果をもとにした外国からの報告によれば、感染後約 59 日経てば HBs 抗原検査で HBV に感染したことがわかるとされています (Shreiber G B 他, N. Engl. J. Med. 1996)。

我が国で過去に行われたチンパンジーによる感染実験の結果をみると、 10^7 感染価の血清 (HBV 量の多い血清) を 1 ml 接種した場合、約 1 か月後に HBs 抗原が検出できたのに対して、同じ血清を最小感染価近くにまで希釈した血清 (HBV 量が極めて少ない血清 : 1 感染価相当) を 1 ml 接種した場合、HBs 抗原が検出できるようになるまでに接種後約 3 か月かかったと記録されています (志方、他 厚生省研究班 昭和 51 年度報告書)。

感染時に生体に侵入した HBV の量や、経過観察時に選択した HBs 抗原検査法の感度などにより HBs 抗原が陽性となるまでの期間に多少の差はみられますが、一般にはおおよそ 2 か月から 3 か月を目安に考えておけばよいと思われます。

6 感染してから核酸増幅検査で HBV DNA が検出できるまでの期間は？

ヒトでの解析結果をもとにした外国からの報告によれば、感染後、約 34 日経てば B 型肝炎ウイルス DNA 検査で HBV に感染したことがわかるとされています (Shreiber G B 他, N. Engl. J. Med. 1996)。

感染してから HBs 抗原が検出されるまでの期間に差がみられることと同様に、感染時に生体に浸入した HBV 量によって HBV DNA が検出されるまでの期間が異なることは容易に想定されます。ごく最近になって、チンパンジーにごく微量の HBV (感染に必要な最少 HBV 量:NAT により検出、表示される HBV DNA 量に換算した「絶対量」として 10 コピーの HBV) を感染させた場合、6 週～8 週目には血液中の HBV DNA が検出できる (10^2 コピー/ml～ 10^3 コピー/ml の HBV DNA 量に到達する) ことがわかってきました。

7 核酸増幅検査 (NAT) によるスクリーニング導入後も輸血後 B 型肝炎がごく稀に発生するのは何故？ その対処方法は？

現在、スクリーニングに用いられている核酸増幅検査 (NAT) による 1 検体あたりの HBV DNA の検出感度は 10^2 コピー/ml 程度とされています。2004 年 7 月までは、50 人分の血清をプールして 1 検体とした NAT による HBV DNA の検査 (50 本プール NAT) が行われていました。2004 年 8 月からは 20 人分の血清をプールして 1 検体とした NAT による HBV DNA の検査 (20 本プール NAT) に切り換えられています。このことは、50 人又は 20 人の供 (献) 血者の血液の中に少なくとも 10^3 コピー/ml の HBV DNA 量の血液が混在している場合にのみ、50 本または 20 本プール NAT により「HBV DNA 陽性」と判定されることを意味しています。

一方、ごく最近、チンパンジーを用いた感染実験により、HBs 抗原が出現する前の、感染早期の HBV DNA 陽性の血清を用いた場合、NAT で検出、表示される HBV DNA 量に換算した「絶対量」として 10 コピーの HBV を経静脈的に接種すると HBV の感染が成立することがわかりました (ただし、(臨床的に) 治癒した人 (既往感染) の一部の人の血液、すなわち HBs 抗原が陰性で、NAT により HBV DNA が検出され、同時に HBc 抗体も検出される血液では、NAT により検出、表示される HBV DNA 量と感染価との関係は現在までのところ確定していません。)

この結果と、現行の 1 人分の血清を 1 検体とした NAT (個別 NAT) を行ってもその検出感度が 10^2 コピー/ml であること、輸血には血漿量として少なくとも 20ml (200ml 全血由来 1 単位の MAP 赤血球濃厚液中の血漿量) 以上が投与されることからして、NAT を含めた現存する全ての検査を動員しても輸血に伴う HBV の感染を完全に防ぐことはできないことは自明のことと言えます。

つまり、輸血に伴う HBV 感染のリスクを少しでも軽減するためには、社会的対応、すなわち感染のリスク行為 (よく知らない人との性交渉など) があつた場合、供 (献) 血は絶対に「しない」、「させない」ことを徹底することが大切であることを示していると言えます。