

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

1 C型肝炎ウイルス (HCV) 粒子と HCV 抗体、HCV 抗原との関係は？

C型肝炎ウイルス (HCV) は、直径 55~57nm の球形をした RNA 型のウイルスです。

HCV 粒子は二重構造をしており、内部に HCV の遺伝子 (HCV RNA) を持つ直径約 30~32nm の内部粒子 (コア粒子) と、これを被う外殻 (エンベロープ) から成り立っています。

HCV のコア粒子の表面を構成するタンパクが HCV コア抗原です。

HCV コア抗原は、外殻 (エンベロープ) に被われて HCV 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。

一般に、C型肝炎ウイルス (HCV) の感染を知るための検査としては以下のようなものが用いられています。

(1) 「HCV 抗体検査」

C型肝炎ウイルス (HCV) に感染した生体 (宿主) が作る抗体を検査する方法で、「HCV 抗体陽性」と判定された人の中には、「現在 HCV に感染している人」と「過去に HCV に感染し、治癒した人：既往感染者」とが混在しています。

(2) 「HCV コア抗原検査」

C型肝炎ウイルス (HCV) 粒子を構成するコア粒子のタンパクを直接検査する方法で、HCV コア抗原陽性と判定された検体 (血清) 中には HCV それ自体が存在する (HCV に感染している) ことを意味します。

(3) 「核酸増幅検査」 (Nucleic acid Amplification Test : NAT)

C型肝炎ウイルス (HCV) の遺伝子 (RNA) の一部を試験管内で約 1 億倍に増やして検査する方法で、検体 (血清) 中に存在するごく微量の HCV を感度よく検出する方法です。

2 「HCV 抗体」とは？ 「HCV 抗体」は感染防御に役立つか？

「HCV 抗体」には、HCV 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。

HCV 抗体は、C型肝炎ウイルス (HCV) のコアに対する抗体 (HCV コア抗体)、エンベロープに対する抗体 (E2NS1 抗体) 及び HCV が細胞の中で増殖する過程に必要な酵素などに対して作られるタンパク (非構造タンパク) に対する抗体 (NS 抗体：C100-3 抗体、C-33c 抗体、NS5 抗体など) のすべてを含めた総称です。

上記のそれぞれの抗体を組み合わせた総体としての HCV 抗体を検出することにより、HCV のどの遺伝子型（ジェノタイプ）に感染した場合でももれなく、検出できる検出系（第2世代、第3世代の HCV 抗体の検出系）が完成したことにより、正しく診断ができるようになりました。

一般に、ウイルスの外殻（エンベロープ）に対する抗体は感染防御抗体（中和抗体）としての働きがありますが、HCV の場合はエンベロープを構成するタンパクが変異しやすいことからエンベロープに対する抗体（E2NS1 抗体）には「一般的な意味での感染防御抗体」としての働きはありません。

また、HCV コア抗体、非構造タンパクに対する抗体（NS 抗体）も「感染防御抗体」としての働きはありません。

実際、HCV の既往感染者（HCV 抗体陽性、HCV RNA 陰性の人）に新たに HCV の再感染が起こった例が見出されています。

3 「HCV 抗体陽性」の意義は？

「HCV 抗体陽性」と判定された人は、「現在 C 型肝炎ウイルス（HCV）に感染しているキャリア」と、「過去に HCV に感染し、治癒した後の人：既往感染者」とに大別されます。

一般に、HCV キャリアでは、肝細胞で増殖し、血液中に放出され続ける HCV の免疫刺激に身体がさらされていることから HCV 抗体がたくさん作られます（HCV 抗体「高力価」陽性）。しかし、抗体を作る能力には個人差があることから、ごく稀に、HCV キャリアでも抗体があまりたくさん作られていない人（HCV 抗体「中力価」陽性）や、少ししか作られていない人（HCV 抗体「低力価」陽性）も存在します。

一方、HCV に感染して、自然に治った後の人や、HCV キャリアであった人が、インターフェロン治療などにより HCV が身体から完全に排除されて治った後の人（HCV の既往感染者）では、HCV 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 HCV 抗体は徐々に低下します。その結果 HCV 抗体は「中力価」～「低力価」陽性を示します。

しかし、HCV が身体から排除されて間もない人（インターフェロン治療後などで）では、まだ血液中に多量の HCV 抗体が存在する（HCV 抗体「高力価」陽性）場合があります。また、逆に、HCV に感染した直後であるために、HCV 抗体陰性、HCV RNA 陽性の時期（HCV 抗体のウインドウ期）にあたる場合もありますが、これは新規の HCV 感染の発生が少ないわが国では、ごく稀なこととされています。

4 「HCV 抗体陽性」の血液はすべて感染源となるか？

「HCV 抗体陽性」の血液すべてが感染源となるわけではありません。

「HCV 抗体陽性」の人のうち、「現在 C 型肝炎ウイルス（HCV）に感染している」人の血液は HCV の感染源となりますが、過去に HCV に感染し、治癒した既往感染の人の血液は HCV の感染源とはならないことが明らかにされています。このことは、下記の実験によって立証されています。すなわち、供（献）

血時の HCV 抗体検査で「HCV 抗体陽性」(2⁶~2⁸ HCV PHA 価:「中力価陽性」)であったものの核酸増幅検査 (NAT) により HCV RNA が検出されなかった 2 人の供(献)血者由来の新鮮凍結血漿 (Fresh Frozen Plasma : FFP) それぞれ 280ml、270ml 及び同様の供(献)血者、13 人に由来する FFP からそれぞれ 20~25ml ずつをプールして合計 290ml としたものを、3 頭のチンパンジーに輸注したところ、3 頭ともに HCV の感染はみられないとの結果が得られています。

この結果は、「HCV 抗体陽性」であっても、NAT による HCV RNA 検査結果等との組み合わせにより「HCV の既往感染」と判定される人の血液は HCV の感染源となることはないことを示していると言えます。

5 「HCV 抗体」検査での偽陽性反応は？

現在認可を受けて市販されている各種の C 型肝炎ウイルス抗体検査 (HCV 抗体検査) の試薬を用いた場合、偽陽性 (交叉反応等により、HCV 抗体「陰性」の検体が「陽性」と判定される場合) はほとんどないと言ってよいでしょう。

しかし、3 に記述したように HCV 抗体陽性者の中には、「現在 HCV に感染している人」(HCV キャリア) と、「HCV に感染したが治ってしまった人」(HCV の既往感染者) とがいることから、HCV 抗体検査そのものの精度をあげるだけでは C 型肝炎ウイルス持続感染者 (HCV キャリア) であるかどうかの正しい診断はできないことがわかっています。特に、HCV 抗体が陽性であっても、HCV 抗体「低力価」と判定される群では、そのほとんどで HCV RNA は検出されない (HCV の既往感染例と判定してよい) ことから、必要以上に HCV 抗体の検出感度が高い (必要以上に低力価の HCV 抗体を検出する) 試薬を用いることは意味のないことであると言えます。

なお、現在では、HCV キャリアと HCV 既往感染者とを適切に区別するために、血清中の HCV 抗体の量 (HCV 抗体価) を測定することと、HCV コア抗原検査又は核酸増幅検査 (NAT) により HCV の存在を確かめることを組み合わせて判断する方法が一般に採用されています。

6 「HCV 抗体」検査での偽陰性反応は？

現在認可を受けて市販されている各種の HCV 抗体検査の試薬を用いた場合、感染している HCV の遺伝子型 (ジェノタイプ) にかかわらず、偽陰性 (HCV キャリアにもかかわらず HCV 抗体「陰性」と判定される場合) はほとんどないと言ってよいでしょう。

ただし、HCV 抗体のウインドウ期 (HCV に感染した直後であるために、身体の中に HCV がいても、HCV 抗体が作られる以前の時期) があるため、この期間の検査では感染していても HCV 抗体は陰性となりますので注意が必要です。

7 HCV コア抗原の検査法は？ その意義は？

HCV コア抗原は、外殻（エンベロープ）に被われて HCV 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。

また、感染ごく早期（HCV 抗体のウインドウ期：詳しくは 3、6 を御覧下さい。）の人を除いて、一般に HCV に感染している人の血中には HCV 粒子と共に HCV のコアに対する抗体も多量（高力価）に共存することから、単純に検体（血清）中のウイルスの外殻（エンベロープ）を壊してもすぐに HCV コア抗原と抗体の反応が起きてしまい、検出することができなくなってしまいます。

このため、HCV コア抗原を検出するためには、検査に先立って、HCV 粒子それ自体とともに、HCV に対する抗体（免疫グロブリン）をタンパクの最小単位（ペプチド）の大きさにまで分解する処理をします（前処理）。

この前処理により、HCV のコアペプチドの抗原活性は残りますが、ペプチドの大きさにまで分解された免疫グロブリンは抗体活性を失います。

この性質を利用して、検体（血清）を十分に前処理した後に HCV のコア抗原を酵素抗体法（EIA 法）、免疫化学発光法（CLIA 法）などの手段を用いて感度よく検出する方法が第 2 世代の HCV コア抗原の検査法です。

「HCV コア抗原陽性」ということは、その検体（血清）中に HCV が存在する（HCV に感染している）ことを意味します。

第 2 世代の HCV コア抗原検査は、コアペプチド上の異なる抗原決定期を認識する 2 種類のモノクローナル抗体を用いることにより、その感度及び特異度が核酸増幅検査（NAT）による HCV RNA 検査にほぼ匹敵するレベルまで向上したことから、HCV それ自体を検出する目的での日常検査に利用できるようになりました。

ただし、HCV 抗体「高力価陽性」群の中に、稀に NAT により検出される HCV RNA 量に換算して $10^2 \sim 10^3$ コピー/ml 程度のウイルス量の少ない例が存在することが近年明らかになっています。この場合には HCV コア抗原検査で「陰性」となることがあります。

8 感染してから HCV 抗体検査で「陽性」と判定できるまでの期間は？

感染した C 型肝炎ウイルス（HCV）の量によって多少の差はありますが、チンパンジーを用いた感染実験の結果から、ごく微量（最小感染価：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）の HCV を感染させた場合でも、約 3.3 か月で HCV 抗体が検出されるようになることが明らかとなりました。

感染の時期、感染 HCV 量がはっきりしたヒトの例はありませんが、感染してから「HCV 抗体」陽性と判定できるまでの期間はヒトでも約 3 か月前後であると想定されます。

9 感染してから HCV コア抗原検査で「陽性」と判定できるまでの期間は？

ヒトへの感染例での詳しいデータはありませんが、チンパンジーを用いた感染実験の結果から、ごく微量（最小感染価：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）の C 型肝炎ウイルス（HCV）を感染させ

た場合でも、8日～9日目には核酸増幅検査（NAT）により検出されるHCV RNAが $10^3 \sim 10^4$ コピー/mlにまで増加することが明らかとなりました。

また、感染後のチンパンジーを経時的に追跡、観察することにより、感染成立直後のチンパンジーの血中でHCVの量が10倍に増えるための要する時間は1.3日～1.8日と増殖のスピードが極めて速いことも明らかとなりました。

チンパンジーによる感染実験の結果と、現在一般的に用いられている第2世代のHCVコア抗原の検出感度とを併せて考えると、HCVに感染した場合、少なくとも10日以上経てばHCVコア抗原検査により「陽性」（HCVに感染している）と判定することができることとなります。

Ⅲ 輸血前後の検査と保管検体について

1 輸血前後の検査は輸血予定患者および輸血を受けた患者全例に行わなければならないのでしょうか？

早期治療を目的として、医師が感染リスクを考慮し、感染が疑われる場合などに行います。この場合の判断は、医師が必要と認める場合となります。したがって、必ずしも全例に行う必要はありません。

なお、これまでの調査から 2004 年 10 月の時点で、日本赤十字社から供給される輸血用血液の HBV、HCV、HIV の伝播の確率は、次のように推定されます。すなわち、HBV は約 25 万分の 1、HCV は 1999 年からの感染例は報告されていません（HCV については陽性血が供給され、原疾患で死亡した受血者が 1 例ありました。）。また、HIV は 1999 年からは 1 例の感染例が報告されています。

日本赤十字社は 1999 年から HBV、HCV、HIV の献血者検査に関して核酸増幅法（NAT）を導入していますが、感度の点からすり抜けが起こる可能性があり、実際上記のように HBV で特に問題となっています。

一方、受血者（患者）側のリスクとしては、年余にわたって頻回に輸血を受ける者、移植、抗がん化学療法、免疫抑制剤を受け、繰り返し輸血を受ける者ではリスクが高いと考えられます。

2 輸血前後の患者血清（または血漿）の保管と輸血前後の感染症検査の関係はどのように考えればいいのでしょうか？

今回示された検査項目では、輸血前の検査は血清学的な検査のみですので、ウイルスの塩基配列などの同定には限界があります。したがって、血清あるいは血漿を凍結保存し、必要な場合にウイルスの核酸を検査することは意義があります。しかし、輸血前の患者検体を保管することが、全ての医療機関で行うことに限界がありますので、その場合は輸血前の検査を今回のガイドラインに従って行う必要があります。

一方、輸血前後の検査を全ての患者で徹底して行うことの限界もありますので、患者検体を保管し、必要な場合に検査することでも対応可能と考えます。

3 輸血前後の患者血清（または血漿）の保管の条件と期間はどのように考えればいいのでしょうか？

患者血清（または血漿）の量は約 1 mL、-20℃以下で、2 年間を目安に保管することが望まれます。この場合、輸血検査の残りの血清または血漿でよいので、他の患者や試薬の混入を避けるように検体ごとにピペットを変える必要があります。

なお、保管期間は次章以降ウイルスごとの検査結果ごとに記載してあるので参照されたい。

4 血漿分画製剤の使用時には感染症検査や患者検体保管は必要ないのでしょうか？

血漿分画製剤はHBV、HCV、HIVに関してはウイルス不活化処理が行われていますので、輸血用血液よりも安全性が高いと考えられます。したがって、血漿分画製剤に関しては、今回の感染症検査や患者検体の保管の対象となりませんが、リスクが「0」とは言えませんので、感染のおそれのある場合は速やかに副作用感染症報告を厚生労働省へ提出ください。