

症 例

Nucleic Acid Amplification Test により発見された輸血後 B 型肝炎の 1 例

楠本 茂* 石田 高司* 竹内 元二*
菅内 文中# 上田 龍三# 溝上 雅史*

静岡済生会総合病院血液内科*, 名古屋市立大学医学部第 2 内科#, 名古屋市立大学病院輸血部*

(平成 12 年 4 月 6 日受付)

(平成 12 年 5 月 22 日受理)

A CASE OF HEPATITIS B VIRUS INFECTION THROUGH BLOOD TRANSFUSION DETECTED BY NUCLEIC ACID AMPLIFICATION TEST

Shigeru Kusumoto*, Takashi Ishida*, Genji Takeuchi*, Fuminaka Sugauchi#,
Ryuzo Ueda#, Masashi Mizokami*

Department of Hematology*, Shizuoka Saiseikai Hospital

Second Department of Internal Medicine#, Nagoya City University Medical School
and Department of Blood Transfusion*, Nagoya City University Hospital

We experienced a case of hepatitis B virus (HBV) infection caused by blood transfusion. A 40-year-old male with myelodysplastic syndrome and overt leukemia was transfused with about 500 units of whole blood during chemotherapy. The blood transfusion on Aug 17 1999 was positive for HBV DNA but negative for HBsAg and was found by nucleic acid amplification test (NAT). After notification, we recognized that the patient was positive for HBsAg and became a HB carrier at Oct 27 1999. To investigate the causal relationship, HBV DNA nucleotide sequences of the patient and donor were analyzed. Sequences belonged to genotype A, which is quite rare in Japan. These data indicate that HBV infection through blood transfusion of blood donated within the window period may occur in Japan. Proper use of blood is required and attention should be paid to increase insensitivity and faster detection time by NAT.

Key words : HBV, post-transfusion hepatitis, blood transfusion, NAT, window period

はじめに

全献血血液に対するスクリーニングとして HBs 抗原と Hbc 抗体検査の導入以来, 本邦における輸血での B 型肝炎ウイルス (HBV) 感染は激減した。しかし, 感染初期の window 期の供血による HBV 伝播の可能性は否定できない。このため, 平成 11 年 10 月 10 日より全献血血液に対して核酸増幅検査 (nucleic acid amplification test; NAT) が導入された。この NAT 導入以前に実施された分画製剤原料血漿に対するミニプール

NAT の結果から, HBV 感染が発見され, 供血者および感染患者の HBV の遺伝子配列を決定し, 輸血による HBV 感染を確認した症例を経験したので報告する。

症 例

患者: 40 歳, 男性。

主訴: 汎血球減少

既往歴・家族歴: B 型肝炎の感染歴なし, その他, 特記すべきことなし

現病歴: 数日來の 40 度の発熱のため近医受診。

Table 1 Laboratory findings on admission

Peripheral blood		Bone marrow		Biochemistry		Serology	
WBC	1,550 / μ l	NCC	3×10^4 / μ l	AST	27 IU/L	CRP	0.5 mg/dl
blast	3.0 %	MgK	0 / μ l	ALT	26 IU/L	HBs Ag (RIA)	(-)
stab	1.0 %	Erythroid	7.5 %	LDH	384 IU/L	HCV Ab (RIA)	(-)
seg	11.0 %	Myeroid	92.5 %	ALP	202 IU/L	TPHA	(-)
eos	0.0 %	blast	90 %	-GTP	50 IU/L	RPR	(-)
baso	0.0 %	promyelo	0 %	Cho-E	150 IU/L		
mono	2.0 %	myelo	0 %	T-Bil	0.5 mg/dl		
lym	83.0 %	meta	0 %	TP	6.6 g/dl		
RBC	3.61×10^6 / μ l	stab	1 %	Alb	4.7 g/dl		
Hb	12.7 g/dl	seg	0 %	Na	138 mEq/l		
Ht	33.8 %	Mono	0 %	K	4.2 mEq/l		
MCV	93.6 fl	Lymph	1.5 %	Cl	104 mEq/l		
MCH	35.2 pg	Plasma	0 %	BUN	17 mg/dl		
MCHC	37.6 %			Cre	0.7 mg/dl		
Plt	3.3×10^4 / μ l	Karyotype :	46, XY				
Ret	4.1 %						

汎血球減少を指摘され、1998年12月15日当科紹介される。初診時、末梢血に5%の芽球を認め、同日緊急入院となった。骨髄穿刺により骨髄異形成症候群(FAB分類: refractory anemia with excess of blasts)と診断した。入院後、1998年12月26日~1999年2月1日 low-dose Ara-C療法(30mg/day)を施行し、1999年3月4日 complete remission(CR)となった。1999年3月24日、外来通院となった。

外来通院中の1999年6月26日、末梢血に芽球および汎血球減少を認め同日再入院となった。

入院時現症:身長165cm,体重55kg,体温38.0, 血圧122/70mmHg,脈拍86/min,意識清明,眼瞼結膜は貧血様,黄疸なし,心音・呼吸音に異常なし,腹部では肝脾を触知せず,表在リンパ節は触知せず,口腔内・四肢の出血斑を認めなかった。

入院時検査成績(Table 1):入院時,末梢血では汎血球減少および3%の芽球の出現を認めた。骨髄は過形成で90%以上の芽球を認め,染色体分析では20分析細胞中20細胞が46,XYであった。肝炎ウイルス検査については,前回入院時および今回の入院時ともにHBs抗原陰性,抗HCV抗体陰性であり,抗HBs抗体および抗HBc抗体は未検

査であった。生化学に特記すべき異常所見を認めなかった。

入院後経過(Fig. 1):直ちに急性白血病治療に準じた強力な化学療法を開始した。1999年8月18日より軽度の肝機能障害(AST 29 IU/l, ALT 52 IU/l)が出現していたが,投与した抗結核剤のrifampicin(7月30日より投与開始)およびethambutol hydrochloride(8月12日から投与開始)による薬剤性肝障害を疑っていたところ,1999年10月20日,静岡県赤十字血液センターより1999年8月17日に供給され使用した濃厚血小板の保管検体が,HBsAg陰性,抗HBc抗体陰性で,NATによるHBV-DNAのみ陽性であった旨の報告を受けた。そこで,1999年10月27日患者の血清について調べたところ,HBs抗原,HBc抗原ともに陽性で,抗HBs抗体,抗HBc抗体,抗HBe抗体は陰性であった。その後,2000年4月に至るまで,HBs抗原,HBc抗原は持続陽性で,かつ軽度の肝機能障害を繰り返し,HBV-DNA量についても増加しており,感染後HBVを排除できずにキャリアー化したと考えられた。また,血液学的には回復期にも末梢血に芽球が残存し,化学療法に抵抗性で以後CRは得られなかった。1999年6月30日~2000年4月30日まで投与した総血液製剤数

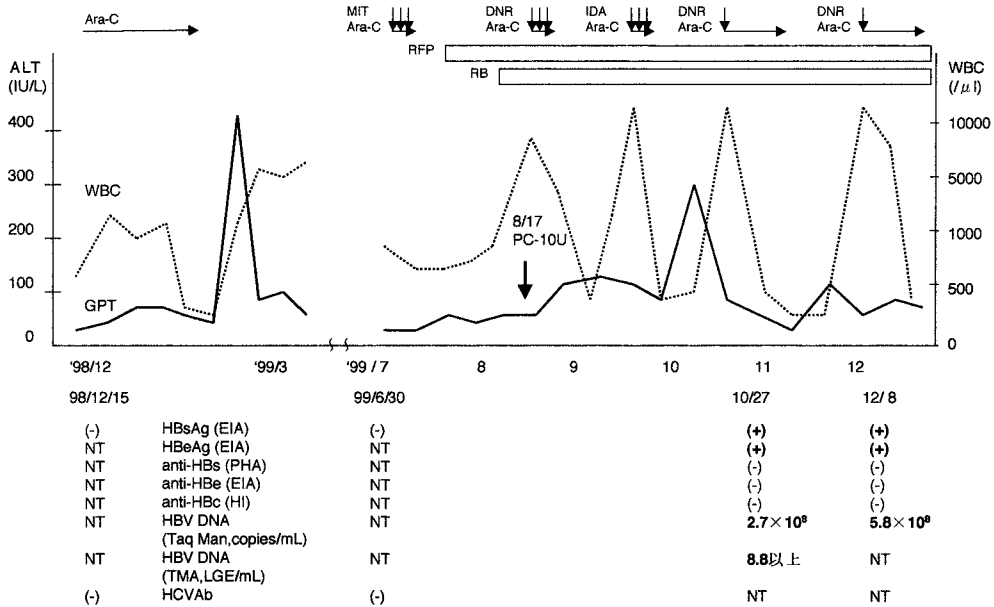


Fig. 1 Clinical course. Abbreviations : MIT, mitoxantrone ; Ara-C, cytarabine ; DNR, daunorubicin ; IDA, idarubicin ; PC, platelet concentrate ; RFP, rifampicin ; RB, ethambutol hydrochloride ; NT, not tested.

は，MAP 加赤血球 80 単位 (56 bags) ，血小板濃厚液 1195 単位 (113 bags) である。

さらに，患者および供血者の保管検体を用いて，日本赤十字社中央血液センターで，HBV-DNA の S 領域約 435 塩基について塩基配列を決定した。国際データベース (GenBank/EMBL/DBJ) より HBV の同部位の塩基配列 100 株を抽出し，alignment 後，6-paramater 法で塩基置換数を推定し¹⁾，Neighbour-Joining 法にて分子系統樹を作成した²⁾。両者の塩基配列は完全に一致し，genotype A に属していることが判明した (Fig. 2)。

考 案

輸血による HBV ，HCV 感染の確率は新しい世代の抗原，抗体検査の出現により当初はほとんど起こらないと考えられてきた³⁾。しかし，より精度の高い検査の導入が望まれ，日本赤十字社血液センターではそれまでの HBs 抗原，抗 HBc 抗体，抗 HBs 抗体のスクリーニング検査に加えて，1997 年 11 月から血漿分画製剤の原料血漿について HBV ，HCV ，human immunodeficiency virus (HIV) の NAT 導入を試みてきた。さらに，1999

年 10 月 10 日から輸血用血液についても NAT を開始することになった⁴⁾。HBV 感染における window 期は，抗原・抗体検査では平均 59 日 (37 ~ 87 日) に対して，NAT 検査 (個別測定) では検出感度に依存するであろうが，約 34 日と半分短縮できると報告されている⁶⁾。

今回，我々は血漿分画製剤の原料血漿の NAT による追跡調査の結果，HBV の輸血後肝炎の可能性があると報告を受け，患者および供血者のウイルス遺伝子の塩基配列の比較を行ったところ，ウイルスの塩基配列は完全に一致していた。供血者は日本人であるが，ウイルスの genotype は本邦には稀な genotype A であり，報告前に 2 回 HBs 抗原が陰性であることが確認された。以上より血小板輸血により HBV が感染したことが強く示唆された。

本邦においては，1998 年に輸血による HBV 感染例として 22 例が報告されている。その中で輸血血液の保存検体 12 例に HBV-DNA が検出されている⁷⁾。現時点では NAT の結果が判明するまでに約 4 日間であるが，MAP 加赤血球は 21 日間，

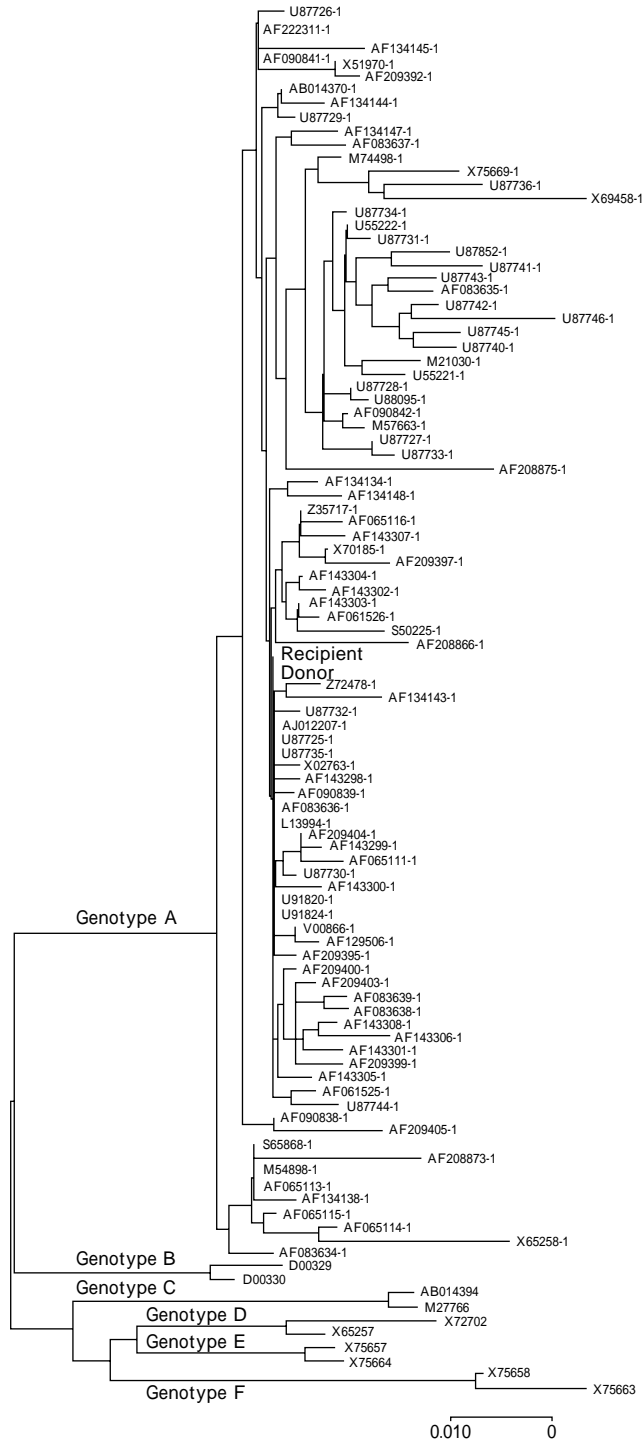


Fig. 2 Phylogenetic tree based on S gene sequences of the study case and 100 S gene sequences retrieved from the international database, DDBJ/EMBL/GenBank. The names on the tree indicate the accession number of each sequence from the DDBJ/EMBL/GenBank. The horizontal bar at the bottom indicates the number of nucleotide substitutions.

新鮮凍結血漿は1年間保存可能であるため、NAT検査が施行されることによって、その安全性がさらに向上することが期待される。しかし、血小板製剤においては採血後72時間以内という有効期限の制約もあって、検査結果を待たずに輸血を行うことがあり、NATが必ずしも安全性の向上に役立つとはいえない。今後、検査にかかる時間および費用をどこまで効率よくすることができるかが大きな課題である。

また、肝炎の検査所見としてALTの最高値が100 IU/l以上となった症例は22中14例であり、輸血後HBV関連マーカーが陽性と判明するまでの平均期間は12.5週(22例)であった。本症例のように軽度の肝機能障害を示す場合、薬剤性肝障害等として扱われ、輸血後肝炎が見落とされていることもありうる。輸血によるウイルス伝播を予防することや医療従事者の安全性を確保する上においても肝炎の感染を確実に把握することは必要不可欠であり、このような輸血後の肝機能障害に対して注意深い経過観察と長期間にわたる定期的な検査が望まれる。

また、この症例では、通常の化学療法ではCRが得られず、骨髄移植以外には長期生存は困難であるが、B型肝炎活動期における骨髄移植については、移植後の劇症肝炎の合併が明らかに高いことが報告されている⁸⁾⁻¹⁰⁾。骨髄移植においては、ある一定期間、抗腫瘍効果のために大量の抗癌剤を使用し、移植片生着のために免疫抑制を必要とするため、その間肝炎ウイルスは増殖を続けることになり、生着後に免疫抑制剤を減量していく過程で、より肝炎が発症、劇症化しやすいといえる。以上より、本症例においては、現状では自発的にHBs抗原、HBe抗原の陰転化は望めず、骨髄移植後の劇症肝炎のリスクが高いことに加え、腫瘍の病勢から移植後の長期間の免疫抑制剤の使用は再発のリスクを増すこととなり、骨髄移植を含む今後の治療が難しく、苦慮しているところである。

造血器疾患においては、化学療法を施行し、頻回な輸血を必要とする場合が多く、輸血によるHBV感染はその予後を大きく左右する。とくに血

小板輸血における輸血後肝炎の対策として、より精度の高い迅速な検査が開発されることを期待するとともに、日々の診療において適正な輸血の施行が是非とも必要であることに改めて注意を喚起したい。

今回、我々は血漿分画製剤の原料血漿のNATによる追跡調査の結果、HBVの輸血後肝炎が指摘され、ウイルス遺伝子の塩基配列によって輸血による感染を証明し得たので報告する。

謝辞：NAT、および遺伝子塩基配列検査を施行していたいた静岡赤十字血液センター 池田稲穂所長、柴田二郎医薬情報部係長、日本赤十字社中央血液センター医薬情報部 田所憲治部長、松本千重子係長に深謝いたします。

文 献

- 1) Nei M., Gojobori T. : Simple methods for estimating the number of synonymous and nonsynonymous nucleotide substitutions. *Mol Biol Evol* 3 : 418-426, 1986.
- 2) Saito N., Nei M. : The neighbor joining method : a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol*, 4 : 406-425, 1987.
- 3) 中尾昌弘, 門奈丈之 : 我が国におけるB型肝炎の疫学動向. *分子肝炎ウイルス病学(下巻)*, 日本臨床社, 東京, 331-336, 1995.
- 4) 日本赤十字社中央血液センター医薬情報部 : 輸血情報, 9911-56, 1999.
- 5) Mizokami M., Nakano T., Orito E., Tanaka Y., Sakugawa H., Mukaide M., Robertson. : *FEBS Letters*, 450 : 66-71, 1999.
- 6) Schreiber G.B., Busch M.P., Kleinman S.H., Korelitz J.J. : The risk of transfusion-transmitted viral infections. *New England Journal of Medicine*, 334 : 1685-1690, 1996.
- 7) 日本赤十字社中央血液センター医薬情報部 : 輸血情報, 9909-52, 1999.
- 8) Liang R., Lau G.K.K., Kwong Y.L. : Chemotherapy and bone marrow transplantation for cancer patients who are also chronic hepatitis B carriers : a review of the problem. *Journal of Clinical Oncology*, 17 : 394-398, 1999.
- 9) Lau G.K.K., Liang R., Chiu E.K.W., Lee C.K., Lam S.K. : Hepatic events after bone marrow transplantation in patients with hepatitis B infection : a case controlled study. *Bone Marrow Transplantation*, 19 : 795-799, 1997.
- 10) 佐尾 浩, 森島泰雄 : 肝炎ウイルス感染者における骨髄移植. *血液・腫瘍科*, 36(3) : 280-286, 1998.