

報 告

血清学検査陰性の HBV DNA 陽性血液を輸血された患者の遡及調査結果

佐藤進一郎 伊原 弘美 酒谷 真一 長谷川秀弥
山本 定光 加藤 俊明 池田 久實
北海道赤十字血液センター

(平成 12 年 12 月 8 日受付)

(平成 13 年 4 月 21 日受理)

A RETROSPECTIVE STUDY ON PATIENTS WHO WERE TRANSFUSED WITH SEROLOGICAL SCREENING-NEGATIVE AND HBV DNA-POSITIVE DONOR BLOOD

Shinichiro Sato, Hiromi Ihara, Shinichi Sakaya, Hideya Hasegawa, Sadamitsu Yamamoto,
Toshiaki Kato and Hisami Ikeda
Hokkaido Red Cross Blood Center

During the period of November 1997 and October 1999 in Hokkaido, 8 donors were found to be serological screening-negative by agglutination tests yet HBV DNA-positive. Of the 8 samples, 6 were detected as positive by nucleic acid amplification testing (NAT) using 500-pool samples for plasma sources, and 2 were found to be positive by nested PCR using stored samples in the look back study. The HBV DNA concentration in the samples of the 8 donors were widely distributed (range : < 100 ~ 230,000 copies/ml). Of the 9 patients who were transfused with HBV DNA-positive donor blood, 2 cases were confirmed to be transfusion-transmitted HBV infection. The HBV DNA concentrations of the 2 donors whose blood caused the infection were 230,000 and 2,500 copies/ml, respectively. In both cases, HBV nucleotide sequences of the patients and donors were identical. Four patients died of primary diseases soon after the transfusion, and no investigation was conducted. Of those patients who were alive and uninfected, 2 were positive for anti-HBs antibodies before the transfusion, and 1 was transfused from the donor with very low concentration of HBV DNA (< 100 copies/ml), although the patient was anti-HBs antibody negative before the transfusion. These results suggest that the risk of HBV infection in transfusion in Japan may be higher than that has been anticipated.

Key words : HBV, window period, transfusion-transmitted hepatitis, Blood transfusion, NAT

はじめに

1997 年の 11 月より日本赤十字社血漿分画センターにおいて、原料血漿の製造工程前試験として 500 プール検体を用いた HBV, HCV, HIV の核酸増幅検査(nucleic acid amplification test, NAT)が行われるようになり(以下分画 NAT), 血清学検査陰性の献血血液 2,429,063 例(HCV は 2,521,498 例)の中から NAT 陽性例が、HBV は 37 例、HCV

は 5 例検出された¹⁾。このような NAT 陽性血液が患者に輸血された場合に、感染が成立するか否かを詳細に解析することは、輸血学のみならず感染学の観点からみても重要と考える。今回、北海道内で過去 3 年間に確認された血清学検査陰性の HBV DNA 陽性血液が輸血された患者の遡及調査を行ったので報告する。

Table 1 Characterization of HBV DNA-positive donor samples

	Donor #1	Donor #2	Donor #3	Donor #4	Donor #5	Donor #6	Donor #7	Donor #8
Age	18	23	32	32	19	43	18	24
Sex	F	F	M	M	M	F	F	M
Donation date	11. 21. 97	1. 23. 98	6. 9. 98	4. 8. 98	8. 14. 98	3. 9. 99	7. 23. 99	6. 23. 99
No. of donation	1	2	7	6	6	1	1	2
HBV screening								
HBsAg (RPHA)	- *1	-	-	-	-	-	-	-
anti-HBc (HI)	- *2	-	-	-	-	-	-	-
anti-HBc (PHA)	- *3	-	-	-	-	-	-	-
HBsAg (CLIA)	+	+	+	-	+	-	+	-
anti-HBc (CLIA)	-	-	-	-	-	-	-	-
anti-HBc (CLIA)	-	-	-	-	-	-	-	-
HBeAg (MEIA)	-	-	+	-	-	-	-	-
anti-HBe (MEIA)	-	-	-	-	-	-	-	-
HBV DNA (nested PCR)	+	+	+	+	+	+	+	+
HBV subtype (RFLP)	adr	adr	adr	adr	adr	indeterminant	adr	adr
Pre-core (83 X RFLP)	X (wild)	X (wild)	X (wild)	X (wild)	X (wild)	X (wild)	X (wild)	X (wild)
HBV DNA (copies/mL)	23,000	230,000	2,400	< 100	7,200	900	200,000	2,500
500 samples pool-NAT	+	+	+	-	+	+	+	-
Follow-up data	Unknown	1. 21. 99 HBsAg (-) anti-HBc (+) anti-HBs (+)	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	8. 99 acute hepatitis B

NT : not tested

*1 : RPHA < x4, *2 : HI < x32, *3 : PHA < x16

方法及び材料

1. HBV DNA 陽性献血者

1997年11月～1999年10月の3年間に北海道内で検出された血清学検査陰性のHBV DNA陽性献血者8例の内訳をTable 1に示した。これら8例中6例(Donor #1, #2, #3, #5, #6, #7)は分画NATにより検出された。残りの2例中1例(Donor #4)は, Donor #3のlook back study(当該献血の2カ月前に献血していた保管検体を用いた精査)により検出された(採血時期が異なるため便宜的に別のドナー番号を付番した)。他の1例(Donor #8)は, 輸血後急性B型肝炎を発症した患者(輸血副作用報告例)に使用された血液のHBV DNA検査によって検出された。Donor #8由来の血漿は医薬品メーカーに原料血漿として送付され

ていたが, その施設における500プールNAT結果は陰性とされていた。以上8例のHBV DNA陽性献血者について, -20℃以下で凍結保存してあった当該献血時の保管検体についてHBV DNA検査及び血清学的HBV検査を行った。

2. HBV DNA 陽性血液輸血患者の遡及調査

8例のHBV DNA陽性献血者由来の血液製剤は計9名の患者に輸血されていた(Table 2)。Donor #6由来の血液製剤はFFP-2とRC-MAP 400の2種類が, それぞれ別の患者2名に輸血されていた。それ以外のHBV DNA陽性血液は, 各1名の患者に輸血されていた。

HBV DNA陽性血液の輸血患者(Patient #1～#8)について, 遡及調査を実施した血液センターの医薬情報担当者を通じて各医療機関の主治医に

Table 2 Follow-up study of the patients who were transfused with HBV DNA-positive donor blood

No.	Age	Sex	Disease	Progress	Donor No.	Transfusion of HBV(+)blood
1	84	M	abdominal tumor	died within a month after transfusion	1	RC-MAP 400
2	72	M	spino-cerebellar degeneration	acute hepatitis E(3 months after transfusion)	2	RC-MAP 200
3	88	F	hepatic chirrhosis(HCV)	uninfected(symptom free)	3	PC-10
4	56	F	acute myelogenous leukemia	uninfected(not seroconverted)	4	PC-10
5	70	M	chronic renal failure	uninfected(symptom free)	5	RC-MAP 400
6	88	M	duodenal ulcer	died next day after transfusion	6	FFP-2
7	64	M	chronic myelogenous leukemia	died within a month after transfusion	6	RC-MAP 400
8	77	M	gastric carcinoma	died within 1.5 month after transfusion	7	RC-MAP 200
9	41	M	facial rhabdomyosarcoma	acute hepatitis E(4.5 months after transfusion)	8	RC-MAP 400

HT : not tested

NAT 陽性血が輸血された経緯を説明して、輸血患者情報を収集した。その時点で患者が生存していた場合は検査用検体の採血を依頼してHBVの血清学検査及びDNA検査を実施した。一方、輸血後B型肝炎副作用報告例のPatient #9の検体については、HBVの血清学検査及びDNA検査を実施すると共に、臨床経過を観察した。

3. 血清学的HBV検査

HBVスクリーニング検査は日本赤十字社業務標準に従い、HBs抗原検査を逆受身赤血球凝集試験(RPHA法)、Hbc抗体検査を赤血球凝集抑制試験(HI法)、HBs抗体検査を受身赤血球凝集試験(PHA法)で実施した²⁾。また、HBV DNA陽性の献血者検体と患者検体については、レトロスペクティブに化学発光免疫測定法(CLIA, PRISM, Abbott)、マイクロパーティクル酵素免疫測定法(MEIA, AxSYM, Abbott)により²⁾⁻⁶⁾、HBs抗原、Hbc抗体、HBs抗体、HBe抗原、HBe抗体検査を実施した。なお、試薬及び機器の取り扱い、判定基準はメーカーの添付文書に従った。

4. HBV DNA 検査

献血者検体および患者検体のHBV DNA精査は、飯塚ら⁷⁾の報告したS領域のプライマーを用いてnested PCR法(日赤標準法)で実施した。また、HBV DNA定量は、ABI PRISM 7700(Applied Biosystems)を使用して、松倉ら⁸⁾の報告したS領域のプライマーを用いてTaqMan-PCR法により測定した。HBV DNA濃度(copies/ml)は日赤標準品(branched DNA assayで測定した表示値)

を用いて算出した。

5. HBV 遺伝子塩基配列解析

患者がHBVに感染していた場合は、原因が輸血によるものか否かを特定するために、患者と献血者のHBV遺伝子塩基配列を解析し、相同性を比較した⁹⁾。方法はABI PRISM 377(Applied Biosystems)を使用してPCR Product Direct SequencingによるForward & Reverse primerを用いた双方向解析を行った。HBV遺伝子の増幅領域はS領域(nt. 243~687)及びpreC~C領域(nt. 1768~2442)であり、各PCR産物のサイズはS領域が445 bp、preC~C領域は675 bpであった。また、解析塩基数はS領域(nt. 270~664)の395 bp及びpreC~C領域(nt. 1801~2347)の547 bpであった。全塩基数に対する解析塩基数の割合は、S領域が約12%、preC~C領域は約17%であった。対照としてジーンバンクに登録されていたHBV DNA塩基配列の中から無作為に10例を抽出して塩基配列を比較した。

結 果

1. HBV DNA 陽性献血者の精査成績

8例のHBV DNA陽性献血者(Donor #1~#8)の精査結果をTable 1にまとめて示した。日赤の血清学的HBVスクリーニング検査では8例全例が輸血使用可と判定された。一方、高感度検査法のCLIA-HBs抗原検査では8例中5例(Donor #1, #2, #3, #5, #7)が陽性を示した。また、HBs抗原以外の高感度検査法による血清学的HBVマーカーは、Donor #3がHBe抗原陽性で

Table 3 Laboratory findings of patients who were transfused with HBV DNA-positive donor blood

	Patient #1	Patient #2	Patient #3	Patient #4	Patient #5	Patient #6	Patient #7	Patient #8	Patient #9
Pre-transfusion testing (date)	Unknown	12. 24. 97	5. 1. 98	Unknown	6. 19. 97	2. 26. 99	Unknown	8. 6. 99	5. 14. 99
HBsAg	Unknown	-	-	-	-	-	Unknown	-	-
anti-HBc	Unknown	-	NT	NT	NT	NT	Unknown	-	NT
anti-HBs	Unknown	-	+	-	+	NT	Unknown	-	-
HBV DNA (nested PCR)	Unknown	NT	NT	NT	-	NT	Unknown	-	-
Transfusion of HBV DNA (+ date)	11. 21. 97	1. 26. 98	6. 10. 98	4. 10. 98	8. 26. 98	3. 15. 99	3. 20. 99	8. 10. 99	7. 19. 99
Post-transfusion testing (date)	NT	4. 14. 98	8. 7. 98	8. 11. 98	11. 13. 98	4. 12. 99	NT	NT	12. 9. 99
HBsAg (CLIA)	NT	+	-	-	-	-	NT	NT	+
anti-HBc (CLIA)	NT	-	+	-	NT	-	NT	NT	NT
anti-HBs (CLIA)	NT	-	+	-	NT	+	NT	NT	NT
HBeAg (MEIA)	NT	+	-	-	-	-	NT	NT	+
anti-HBe (MEIA)	NT	+	+	-	+	-	NT	NT	+
HBV DNA (nested PCR)	NT	+	-	-	-	-	NT	NT	+
HBV subtype (pre-Core 93)	NT	adr (wild)	NT	NT	NT	NT	NT	NT	adr (wild)

NT : not tested, PTHB : post-transfusion hepatitis B

あった他はいずれの検査(HBc抗体, HBs抗体, HBe抗原及びHBe抗体)でも陰性であった。8例は全例野生株で, 7例は subtype が adr, 1例は判定不能であった。分画 NAT 陽性6例(Donor #1, #2, #3, #5, #6, #7)のHBV DNA量は900~230,000 copies/mlと広範囲のウイルス量を示した。また, Donor #4のHBV DNA量は100 copies/ml未満と微量であった。Donor #8のHBV DNA量は2,500 copies/mlであった。

これら8例のHBV DNA陽性献血者のうち, 経過が確認されたのは2例のみであった。1例は当該献血の約1年後に再献血し, その検査結果はHBs抗原陰性, HBc抗体陽性(HI価: 512倍), HBs抗体陽性(PHA価: 512倍)と seroconversion を起こしていた。また, もう1例は献血約1.5カ月後に, 急性B型肝炎を発症して入院し治療を受けていた。これらの成績から2例は, 当該献血時は血清学的なウィンドウ期感染であったことを示している。

2. HBV DNA 陽性血液の輸血患者の遡及調査

結果

HBV DNA 陽性血液輸血患者9名の年齢, 性別, 原疾患, 輸血後の転帰を Table 2 に示した。また, HBV DNA 陽性血液輸血患者の輸血前後の検査結果を Table 3 に示した。

輸血患者9例中4例(Patient #1, #6, #7, #8)は輸血翌日~1.5カ月以内に原疾患が原因で死亡していたため, 感染の有無については確認できなかった(Table 2)。患者2例(Patient #3, #5)は輸血前のHBs抗体検査が陽性であったのでHBV既往感染者と考えられ, 輸血後2~3カ月の精査でもHBV既往感染を示唆する検査所見であり, 現在のHBV感染状態を示す結果ではなかった(Table 3)。Patient #4は輸血前検査でHBs抗原及びHBs抗体が陰性で, Donor #4由来のPC-10(HBV DNA: <100 copies/ml)を輸血されたが, 輸血後約4カ月の精査で全てのHBVマーカーが陰性であり, 感染の兆候は認められなかった。Patient #3, #4, #5はいずれもその後の医療機関における経過観察でもHBV感染は認められていない。

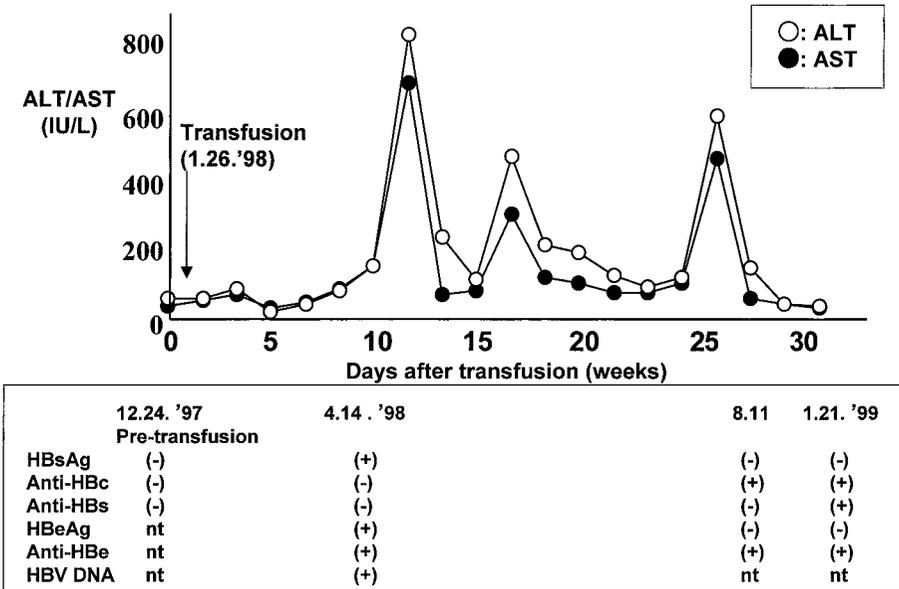


Fig.1 Sequence of the transfusion-transmitted acute HBV infection in the patient #2. Open circles (○) showed alanine aminotransferase (ALT) and closed circles (●) showed aspartate aminotransferase (AST)

一方、急性 B 型肝炎を発症した Patient #2, #9 は、輸血前の検査で共に HBs 抗原及び HBs 抗体が陰性であった (Table 3)。Patient #2 は Donor #2 由来の RC-MAP 200 (HBV DNA : 230,000 copies/ml) を輸血され、輸血後約 3 カ月に急性 B 型肝炎の発症が認められた (Table 3)。Patient #2 の原疾患は神経系の変性症であるが、感染症に伴う貧血の改善を目的として赤血球輸血を行った。輸血前後における免疫抑制剤の投与は行われていない。Fig. 1 に Patient #2 の検査成績の推移を示した。輸血後 12 週に HBs 抗原陽性、HBV DNA 陽性、ALT が 820 IU/l とピークを示し、その後一過性の ALT 上昇が 2 回認められたが漸次減少して 26 週後に正常化した (Fig. 1)。HBV マーカーも 25 週で HBs 抗原陰性、HBe 抗体陽性となり肝炎は沈静化した。その後 HBs 抗体の seroconversion が確認された。

また、Patient #9 は Donor #8 由来の RC-MAP 40 (HBV DNA : 2,500 copies/ml) を輸血された。Patient #9 の原疾患は悪性腫瘍で、自己末梢血幹細胞の移植症例である。移植の前には免疫抑制

剤の投与と輸血が行われていた。輸血後約 4.5 カ月に HBs 抗原が陽転化し、5 カ月後に HBc 抗体及び HBe 抗原が陽性となり (Table 3)、ALT は 1210 IU/l と上昇を示した。医療機関による経過観察で肝機能は正常化した。その後原疾患が原因で死亡した。

3. 急性 B 型肝炎発症例と輸血血液の HBV 遺伝子塩基配列の解析

Patient #2 と Donor #2 の HBV 遺伝子塩基配列は、S 領域 (nt. 270 ~ 664) の 395 bp 及び preC C 領域 (nt. 1801 ~ 2347) の 547 bp の両者間で完全に一致した (Fig. 2 (a) (b))。対照とした 10 例の塩基配列は、患者および献血者の HBV と完全に一致するものは認めなかった (データ示さず)。この結果は HBV 遺伝子領域の全塩基配列を比較したものではないが、Patient #2 は Donor #2 が保有した HBV によって感染したことを強く示唆する。Patient #9 と Donor #8 の HBV 遺伝子塩基配列についても同様の結果で両者間で完全に一致した (Fig. 2 (a) (b))。

考 察

血清学検査陰性のHBV DNA 陽性血液が患者に輸血された場合に、感染が成立するか否かを詳細に解析した報告は少ない¹⁰⁻¹²⁾。そこで今回、過去3年間に、北海道内で確認された8例のHBV DNA 陽性献血者検体の精査を行うと共に、その血液が輸血された9例の患者について遡及調査を行った。

HBV DNA 陽性献血者8例の検査所見及び追跡結果 (Table 1) より、2例 (Donor #2, #8) は血清学的なウィンドウ期感染例であったことが確認された。他の6例については追跡ができずウィンドウ期の献血であったという確認は取れていないが、当該献血時の血清学検査の結果をみると、Donor #4 (2カ月後にはCLIA-HBsAg 陽性になった) と #6 以外はCLIA-HBsAg 陽性であり、またHBs 抗体、HBc 抗体、HBe 抗体がすべて陰性であることから、現行の日赤HBV スクリーニング検査によるウィンドウ期感染例と推察された。高感度検査法のCLIA-HBs 抗原検査では8例中5例 (Donor #1, #2, #3, #5, #7) が陽性を示していることから、高感度法を用いることによってもHBV DNA 陽性血液の検出効果は高まると考えられる。Busch ら¹³⁾ はHBV 感染初期のviral load は $10^2 \sim 10^4$ copies/ml とウイルス量が低く、HBs 抗原が出現する前のHBV DNA 量も平均1000 copies/ml (幅 1~2,400 copies/ml) であるため、ミニプール検体を用いたNAT はEIA 法によるHBs 抗原検査と比較してウィンドウ期の短縮効果は少ないと述べている。しかし、今回CLIA-HBsAg で検出できなかった検体2例 (900, 2400 copies/ml) が500 検体プールNAT で検出された。その真の理由は不明であるが、NAT は実際の検出感度 (95% hit rate) 以下のコピー数の検体でも、数十%以下の確率で陽性反応を示す可能性がある (NAT の検出限界)⁴⁾。従って、一部のウィンドウ期感染例の検出には、NAT の検出限界がプラスに作用すると考えられるが、真の検出感度で検出されたものではない可能性がある。

HBV DNA 陽性血液が輸血された患者では、9例中4例が輸血翌日~1.5カ月以内に原疾患が原

因で死亡していた。また、HBs 抗体陽性の患者2例 (Patient #3, #5) は、感染が認められなかった。これら2例のHBs 抗体価はそれぞれPHA 法で8倍、4倍と低力価であったが、感染の防止効果を示した可能性がある。HBV 既往感染歴のないPatient #4 (急性骨髄性白血病) はウイルス量の少ないDonor #4 (<100 copies/ml) 由来のPC-10を輸血されたが、感染は認められなかった。輸血された総ウイルス量をPC-10の血漿量を200mlとして計算すると、HBV が<20,000 copies/bag 投与されたと計算できる。この患者に感染が成立しなかった理由については、ウイルス量が少なかったためか、あるいは患者側の要因なのかは不明である。

輸血後B型肝炎発症患者 (Patient #2, #9) 及び献血者 (Donor #2, #8) のHBV 塩基配列の相同性を比較した結果、2症例とも解析した約30%の塩基配列が全て一致し、輸血用血液中のHBV が患者に感染したと考えられた (Fig. 2a, 2b)。ウィンドウ期血液のHBV DNA 量はDonor #2 (RC-MAP 200) が230,000 copies/ml と比較的多く、Donor #8 (RC-MAP 400) は2,500 copies/ml と少なかった。輸血されてから肝炎を発症するまでの期間は、Patient #2 では約2.5カ月、Patient #9 では約4.5カ月であった。Shikata らはChimpanzee を用いたHBV 感染実験で、発症期間は投与したHBV 陽性血液量に関連することを報告している¹⁵⁾。したがって、本症例の発症期間も輸血されたウイルス濃度に依存した可能性がある。あるいは、patient #9 は悪性腫瘍治療のため、高度の化学療法を受けている時期に輸血されていたため、肝炎の発症に宿主側の要因も関連した可能性も考えられる。輸血後B型肝炎発症患者2例中1例は一過性の感染経過を示し、予後は比較的良好であった。もう1例は肝機能は正常化したが、原疾患により死亡されたとのことであった。

今回の調査で判明したことは、血清学検査陰性のHBV DNA 陽性血液が輸血された9例の患者のうち、急性B型肝炎の発症が認められたのはわずか2例のみであり、1例は未感染4例は死亡により感染が不明、他の2例はHBs 抗体保有者で感

(a)		(b)			
Consensus	TCAATTTTCT AGGGGGAGCA CCGACCTCTC CTGGCCAAAA TTCGCAGTCC	50	Consensus	GTTCACCAGC ACCATGCAAC TTTTTCAGCT CTGCCTAATC AUCTCATGTT	50
Patient #2-HBs	50	Patient #2-HBc	50
Donor #2-HBs	50	Donor #2-HBc	50
Patient #9-HBs	50	Patient #9-HBc	50
Donor #8-HBs	50	Donor #8-HBc	50
Consensus	CCAACCTCCA ATCACTCACC AACCTCTTFT COTCCAATTT GTCCYGGCTA	100	Consensus	CATGTCCCTAC TGTTCAGCC TCCAAGCTGT GCCTTGGGTG GCTTGGGGC	100
Patient #2-HBs	100	Patient #2-HBc	100
Donor #2-HBs	100	Donor #2-HBc	100
Patient #9-HBs	100	Patient #9-HBc	100
Donor #8-HBs	100	Donor #8-HBc	100
Consensus	TCGYTGGATG TGTCYGGGGC GTTTTATCAT ATTCCCTTTC ATCCCTGCTGC	150	Consensus	ATGGACATTG ACCCGTATAA AGAATTTGGA GCTTCTGTGG AGTTACTCTC	150
Patient #2-HBsC.....	150	Patient #2-HBc	150
Donor #2-HBsC.....	150	Donor #2-HBc	150
Patient #9-HBsT.....	150	Patient #9-HBc	150
Donor #8-HBsT.....	150	Donor #8-HBc	150
Consensus	TATGCCTCAT CTCTTGTGTG CTCTCTCTGG ACTTCCAAGG TATGTTGGCC	200	Consensus	TTTTTTCGCT TCTGACTTTC TCTCTTCTAT TCGAGATCTC CTCGATACCG	200
Patient #2-HBs	200	Patient #2-HBc	200
Donor #2-HBs	200	Donor #2-HBc	200
Patient #9-HBs	200	Patient #9-HBc	200
Donor #8-HBs	200	Donor #8-HBc	200
Consensus	GTTGTGCTCT TACTTCCAGG AAGATCAACT ACCAGCAGGG GACCATGCAA	250	Consensus	CCTCTGCTCT GTATGCGGAG GCCTTAGACT CTCGGGAACA TGTGTACCT	250
Patient #2-HBs	250	Patient #2-HBc	250
Donor #2-HBs	250	Donor #2-HBc	250
Patient #9-HBs	250	Patient #9-HBc	250
Donor #8-HBs	250	Donor #8-HBc	250
Consensus	GACCTGCACG ATTCTGCTC AAGGAACCTC TATGTTTCCC TCTGTGTGCT	300	Consensus	CACCATACAG CACTCAGGCA AGCTATTCTG TGTGGGGTGG AGTTGATGAA	300
Patient #2-HBs	300	Patient #2-HBc	300
Donor #2-HBs	300	Donor #2-HBc	300
Patient #9-HBs	300	Patient #9-HBc	300
Donor #8-HBs	300	Donor #8-HBc	300
Consensus	GTACAAAACC TTCGGACGGA AACTGCACCT GTATTCCCAT CCGATCATCC	350	Consensus	TCTGGCCACC TGGGTGGAAA GTAATTGGA AGRCCAGCA TCCAGGGAAT	350
Patient #2-HBs	350	Patient #2-HBc	350
Donor #2-HBs	350	Donor #2-HBc	350
Patient #9-HBs	350	Patient #9-HBc	350
Donor #8-HBs	350	Donor #8-HBc	350
Consensus	TGGCCTTTCG CAAGATTCCT ATGGGAGTGG GCCTCAGTCC GTTTC	395	Consensus	TAGTAGTCAG CTATGTCAAT GTTAATATGG GCCTAAAAMT CAGACACTA	400
Patient #2-HBs	395	Patient #2-HBcA.....	400
Donor #2-HBs	395	Donor #2-HBcA.....	400
Patient #9-HBs	395	Patient #9-HBcC.....	400
Donor #8-HBs	395	Donor #8-HBcC.....	400
Consensus	TTGGGGTTCG ACATTTCCCT CCTACTTTT GGAAGAGAAA CTTGCTTGA	450	Consensus	TTGGGGTTCG ACATTTCCCT CCTACTTTT GGAAGAGAAA CTTGCTTGA	450
Patient #2-HBs	450	Patient #2-HBc	450
Donor #2-HBs	450	Donor #2-HBc	450
Patient #9-HBs	450	Patient #9-HBc	450
Donor #8-HBs	450	Donor #8-HBc	450
Consensus	GTATTTGGTG TCTTTTGGAG TGTGGATTGG CACTCCTMCC GCTTACAGAC	500	Consensus	GTATTTGGTG TCTTTTGGAG TGTGGATTGG CACTCCTMCC GCTTACAGAC	500
Patient #2-HBs	500	Patient #2-HBcC.....	500
Donor #2-HBs	500	Donor #2-HBcC.....	500
Patient #9-HBs	500	Patient #9-HBcA.....	500
Donor #8-HBs	500	Donor #8-HBcA.....	500
Consensus	CACCAAATGC CCTATCTTA TCAACACTTC CGGAAACTAC TGTGTGT	547	Consensus	CACCAAATGC CCTATCTTA TCAACACTTC CGGAAACTAC TGTGTGT	547
Patient #2-HBs	547	Patient #2-HBc	547
Donor #2-HBs	547	Donor #2-HBc	547
Patient #9-HBs	547	Patient #9-HBc	547
Donor #8-HBs	547	Donor #8-HBc	547

Fig. 2 Analysis of the nucleic acid sequences between Patient #2 vs. Donor #2, and Patient #9 vs. Donor #8. (a) S-region : 395 base pairs (nt. 270 ~ 644) and (b) pre C C-region : 547 base pairs (nt. 1801 ~ 2347)

染が起きなかった症例であった。即ち、HBV DNA 陽性血液の輸血感染を厳密に評価できたのは、9 例のうち 3 例であったということになる。一方、実際に感染が成立するウイルス量がどの位なのか

という点については今回の成績から結論づけできないが、少なくとも HBV DNA が 2,500 copies/ml の RC-MAP 400 の輸血によって急性 B 型肝炎が発症したことが確認された。しかし、個別検体

NAT 陰性のウインドウ期血液による輸血後 HBV 感染例¹⁶⁾や HCV 感染例¹⁷⁾の報告もあることから、感染が成立するウイルス量は宿主側の要因(疾患や治療の種類, 素因, 抵抗性)とウイルス側の要因(変異, 量)によって変動し、一様ではないと考えられる。特に輸血による HBV 持続感染には、患者側の要因(血液疾患, 高齢者, 新生児, 化学療法等)が大きく影響すると考えられる¹⁰⁻¹²⁾。

輸血用血液のスクリーニングの考え方として最も重要なことは、リスクのある血液が輸血された時に感染または発症したかを論点とすべきではなく、リスクのある血液をいかに効率的に且つ確実に排除するかということにある。何故ならば、感染が成立するか否かは種々の要因によって影響されるからである。

謝辞：患者情報や検査用検体を提出していただきました関連各医療機関の諸先生方に深謝するとともに、医療機関に対する説明や情報の収集を積極的に実施していただきました北海道ブロック赤十字血液センターの医薬情報担当者の皆様に感謝致します。

文 献

- 1) 脇坂明美, 古谷健志, 室塚剛志: 血漿分画製剤用原料の HCV, HIV, HBV に対する 500 検体ミニプール核酸増幅検査 (NAT) の実施状況とその効果に関する研究. 血液製剤の試験法・評価法に関する研究報告書. 平成 10 年度厚生科学研究費補助金 (医薬安全総合研究事業). 国立感染症研究所. 23-28. 1998.
- 2) 佐藤進一郎, 岸本信一, 伊原弘美, 酒谷真一, 加藤俊明, 池田久實, 関口定美: 全自動化学発光免疫測定法を用いた献血者 HBs 抗原スクリーニングの検討. 日輪会誌, 44: 20-26. 1998.
- 3) Sekiguchi, S., Sato, S., Kato, T., Ikeda, H.: Effectiveness of a highly sensitive chemiluminescent immunoassay in screening for hepatitis B surface antigen in Japanese blood donors. Transfusion, 39: 660-661. 1999.
- 4) 関口定美, 佐藤進一郎: 輸血後肝炎の現状とその予防. 臨床検査. 43: 255-263. 1999.
- 5) 池田久實: 献血者ウイルススクリーニングにおける血清学検査と核酸増幅検査. 日輪会誌, 45: 923-925. 1999.
- 6) 佐藤進一郎, 加藤俊明, 池田久實: 高感度 HBs 抗原スクリーニングの有効性①. 血液事業. 23: 141-143. 2000.
- 7) Iizuka, H., Ohmura, K., Ishijima, A., Satoh, K., Tanaka, T., Tsuda, F., Okamoto, H., Miyakawa, Y., Mayumi, M.: Correlation between anti-HBc titers and HBV DNA in blood units without detectable HBsAg. Vox Sang, 63: 107-111. 1992.
- 8) 松倉晴道, 大森久美子, 白石敏夫, 山野 猛: TaqMan ケミストリー PCR 法による HBV DNA の検出および定量. 血液事業. 21: 163. 1998.
- 9) Okamoto, H., Tsuda, F., Sakugawa, H., Sastrosoewignjo, R.I., Imai, M., Miyakawa, Y., Mayumi, M.: Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes. J. Gen. Virol., 69: 2575-2583. 1988.
- 10) 高橋雅彦, 田所憲治: 輸血感染症とその評価 副作用の解析から. 血液事業. 21: 17-27. 1998.
- 11) 高橋雅彦, 川手華与, 田所憲治, 十字猛夫: 輸血感染症の現状. 血液事業, 23: 122-127. 1998
- 12) 楠本 茂, 石田高司, 竹内元二, 菅内文中, 上田龍三, 溝上雅史: Nucleic Acid Amplification Test により発見された輸血後 B 型肝炎の 1 例. 日輪会誌, 46: 449-453. 2000.
- 13) Report of the international task force on nucleic acid amplification testing of blood donors. Nucleic acid amplification testing of blood donors for transfusion-transmitted infectious diseases. Transfusion, 40: 143-59. 2000.
- 14) 鈴木 淳: PCR の検出限界に関する理論的考察. 血液センター向け情報誌 Technical Information. 137: 1-5. 1997.
- 15) Shikata, T., Karasawa, T., Abe, K., Uzawa, T., Suzuki, H., Oda, T., Imai, M., Mayumi, M., Morit-sugu, Y.: Hepatitis Be antigen and infectivity of hepatitis B virus. J Infect Dis, 136: 571-6. 1977.
- 16) 百瀬俊也, 遠藤正治, 西田一雄, 有田準一, 吉松彰, 中平誠司, 高橋有二, 山岸尚仁, 藤村佳世子, 松本千恵子, 田所憲治, 長峰 守: PCR 法でも見出せないウインドウ期の血液が原因と考えられる輸血後 B 型肝炎症例. 日輪会誌, 44: 152. 1998.
- 17) Schuttler, CG., Caspari, G., Jursch, CA., Willems, WR., Gerlich, WH., Schaefer, S.: Hepatitis C virus transmission by a blood donation negative in nucleic acid amplification tests for viral RNA. Lancet, 355: 41-43. 2000.