

総 説

## わが国の血液事業における核酸増幅検査 ( NAT ) の 現状と血液事業への影響

横山 繁樹

京都府赤十字血液センター ( 兼 )  
日本赤十字社血液管理センター

( 平成13年10月26日受付 )

( 平成14年2月28日受理 )

### THE PRESENT STATUS OF NUCLEIC ACID AMPLIFICATION TESTING ( NAT ) IN JAPANESE BLOOD PROGRAM

Shigeki Yokoyama

Kyoto Red Cross Blood Center, Japanese Red Cross Center for NAT and Quarantine

**Key words** : NAT, Blood Safety, Screening test, Blood donation, PC supply

#### はじめに

1980年に入り,わが国でも国外の有償採血で製造された非加熱血液凝固第VIII因子の投与を受けた血友病患者にHIVの感染症例が報告されるようになり,その後「薬害エイズ」として顕在化した.日本赤十字社(日赤)血液センターでは,輸血用血液の安全性向上と,国内における自給自足体制を確立するべく,厚生省の指示のもと,1986年には400mL献血,成分献血を導入・推進し,また同年11月からはHIV-1,HTLV-Iの抗体検査をスクリーニング検査として導入した.1995年にはすでに導入していた自己申告制に加え全国統一した新規の献血者用の問診票を実施し<sup>1)</sup>,1996年9月から献血血液の遡及調査のための献血血液検体の10年間保存,さらに血漿分画製剤用の原料血漿の6カ月間貯留保管を施行している.また1999年10月には,さらなる安全性を確保するため,世界に先駆けHBV,HCV,HIVの3種類のウイルスを対象に核酸増幅検査(NAT)を行い,NATの結

果が陰性である血液製剤のみを医療機関に供給することを実現してきた<sup>2)</sup>.そしてNATを導入して2年経過した現在,NATは輸血用血液製剤を含めた全血液製剤の安全性向上に極めて有効な手段となっているものの,一方においては血液事業のあり方に大きな変革を求める引き金になりつつある<sup>3)</sup>.そこで今回わが国におけるNATの現状と,血液事業に及ぼしている影響について,NATセンター(血液管理センター)の立場および日赤血液センター(京都府赤十字血液センター)の立場から検討を加えてみた.

#### NATの導入

1995年以前から日赤ではHBVやHCV,HIVの感染が疑われた献血者や,輸血を受けた患者を対象にNATを個別症例別実施していた.その頃から輸血用血液のスクリーニング検査としてNATの必要性が主に医療機関側から要望されていたものの,手作業によるNATの実施はまず不可能と見なされていた.その頃,献血血液から血

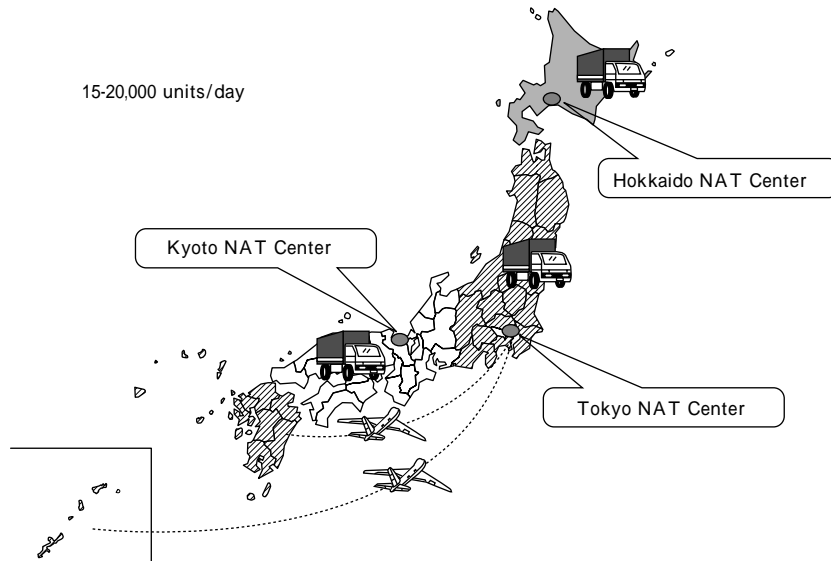


Fig. 1 JRC NAT Centers in Japan

漿分画製剤を製造していた日赤血漿分画センターでは、医療機関から赤血球製剤や血小板製剤を輸血した患者の肝炎等の発症報告が寄せられた場合、その患者に輸血された全ての献血血液由来の血漿（血漿分画製剤製造用にプールされた原料血漿）や中間製品、ウイルス不活化/除去を施した最終製品までが厚生省（当時）の事務連絡文書によって使用不能となっていた。その他にも、すでに供給した製剤を回収するという事例を経験したことから、その対応策として1997年11月から血漿分画センターに送付された原料血漿を対象に、手作業で500検体プールを作成し、このプール検体についてHBV, HCV, HIVを対象に用手法によるNATを実施してきた<sup>4)</sup>。そして1998年までこの手作業のNATでHBV40例, HCV7例のNAT陽性検体を検出して原料血漿から除外してきた。

しかるに、1997年window期に献血された血液の輸血によるHIV感染例が、マスコミに大々的に取り上げられたことから、日赤では検査のwindow期を可能な限り短くするため、全献血血液を対象にHBV, HCV, HIVのNATを導入すべく検討を開始している。3種類のウイルスを対象にしたNATをスクリーニング陰性の全献血血液を対象にして導入するためには、まず各地の血液セン

ターとNATセンター間でコンピューターによるネットワークシステムを確立することと、効率的なNAT検体の輸送システムを確立することが必要であった。同時に、NATセンターでは、完全自動化したプーリングシステムと完全自動化したNATシステムが必要とされ、これらの完全自動化装置についてはアロカ社及び日本ロッシュ社の協力<sup>5)</sup>により1999年に実現可能となっている。

#### NATの現状

現在、日赤では東京都大田区、北海道千歳市、京都府福知山市の3カ所にNATセンターを設置しており、Fig. 1に示したような地域分けで分担して全ての献血検体にNATを実施している。NAT検体は九州、沖縄は空路で、その他は車輦による陸上搬送で各々の血液センターから担当のNATセンターに搬送されている。このように3ヶ所のNATセンターを設置することにより、災害等による危機管理にも対応することが可能となっている。事実これまでも台風や豪雪等の搬送途絶時に搬送先を変更することにより、適切にNATが実施されてその地域の血小板の供給を可能にしてきた。

次にNATセンターと血液センターとの関係を京都血液センターを例にとって説明する。京都血

Table 1 JRC-NAT for blood products

1. Start	July, 1999
2. NAT	All serologically pre-screened blood for transfusion and source plasma
3. Number of NAT samples	Almost 20,000 donations/day ( 3 NAT centers )
4. Pool size	50 samples
5. Pooling	Fully automated Aloka Systems
6. Extraction-Amplification-Detection of virus	Roche's GT-12 or GTX ( fully automated ) Roche's Multiplex reagent ( HBV, HCV, HIV )
7. NAT-screening time	5 6 hours
8. NAT results reporting frequency	3 4 times/day ( 5 : 00AM-following day's donation )

( Sep. 2001. JRC Center for NAT )

液センターは、京都市を中心に毎日4稼働の移動採血車による献血の受け入れを行っており、この検査検体は遅くとも18時に検査室に運ばれてくる。また18時30分には主に成分献血を受け入れている四条・伏見の両献血ルームからの検体が搬入され、19時頃に京都府北部の福知山血液センターから検査用検体が搬入されてくる。搬入された検査用検体のうち、1本はNAT用検体として京都NATセンターに送付し、血清学的検査用の検体は血小板成分献血を優先して血清学的検査を施行し、その結果をできるだけ早くNATセンターに送信するようにしている。一方京都NATセンターは深夜に血清学的検査の結果が陰性の検体を対象にNATを行い、翌日の午前6時過ぎにはそのNATの結果をコンピューターネットワークにより京都血液センターに返信している。そこで京都血液センターは採血翌日の午前9時にはNAT陰性の血小板製剤(PC)を供給することが可能になっている。したがって、血液センターおよび医療機関では残されている有効期間の2日間でPCの有効利用をはかっているのが現状である。

次に、NATセンターにおける各作業プロセスを述べる。まず検体は、全国の各血液センターから専用の低温ボックスに入れられて送られてくる。これらの搬送されてくるNAT検体は、血液センターにおいて色別の識別票を添付することにより血清学的検査済検体と未検査検体に仕分けされており、次に、検査済検体のみを完全自動検体採取装置にかけ、NAT実施の対象となるスクリー

ニング陰性の検体のみを選別する。現在使用している選別機は1時間約1,700本の検体を処理することが可能となっている。そして次にNAT実施の対象となる検体を、完全自動化されたプーリング装置にかけることになる。プーリング装置は、検体のバーコードを自動的に読み取り、再度血液センターでの検査結果と照合を行った後、「遠心」、「開栓」、「プーリング検体作成」、「閉栓」の全工程が自動的に実施され、献血検体50本からNAT検体1本を作成して、NATコンピューターシステムに登録していく。現在、1時間で1,700検体を処理している。

作成されたNAT検体は、NATコンピューターシステムに登録されているデータとの照合を行い、検体0.2mLからウイルスの核酸を約1時間30分かけて抽出する。ついで核酸増幅検体を自動増幅装置にセットして、約2時間30分かけて3種のウイルスのいずれかの核酸が存在した場合にその核酸を100万倍以上に増幅させて検出している。このようなNATの結果はコンピューターシステムで各血液センターに報告されていく。ただしNAT結果が陽性となった場合には、直ちにそのプーリング検体に含まれている元の検査検体を個別に検査し、どの検体が陽性であるかを調べる。そして、その検体についてHBV、HCV、HIVのいずれのウイルスであるかの同定検査を手法で実施している。以上のNATセンターにおける業務をまとめてみるとTable 1に要約される。

Table 2 Results of HBV-DNA-positive donations

( July, 1999 Aug, 2001 )					
Wild		Mutant		Total	
162		18		180	
Genotype		Subtype		Wild	Mutant
A	13	adw	13	13	0
B	20	adw	18	15	3
		ayw	2	2	0
C	146	adr	133	121	12
		adw	8	6	2
		ayr	3	3	0
		ayw	1	0	1
		ay	1	1	0
D	1	ayw	1	1	0

### NAT の成績

日赤では、1999年7月から2001年11月末までに、全国3カ所のNATセンターで12,195,086の献血検体にNATを実施して、HBV 212検体、HCV 43検体、HIV 4検体、計259検体のNAT検査陽性例を検出してきた。当然のことながら、この259検体の献血血液はすべて医療機関に供給していないので、ウイルス感染を阻止している。

現時点におけるNATの精度であるが、日赤のNAT研究グループでは、HBV 12 copies/mL、HCV 17 IU/mL、HIV 33 copies/mL あれば50%検出が可能であり、HBVが65 copies/mL、HCV 74 IU/mL、HIVでは103 copies/mL あれば95%の検出が可能としている<sup>4)</sup>。さらに輸血後感染の確認例を調べると、50プールを導入してから現在までHBV 4例にwindow期間献血に起因した感染例を確認しているだけで、HCV、HIVについては感染確認例は皆無である。Schreiberらは従来の抗原・抗体検査とNATのウインドウ期間について比較検討を行い、その結果HBVは59日から34日に、HCVでは82日から23日に、HIVでは22日から11日に短縮されると報告しているが<sup>6)</sup>、われわれもその実態を検証している<sup>7)</sup>。

次にHBV-DNA陽性例の解析結果をTable 2に示した。Wildが162例と多く、また subtype/

genotypeでは、adr/C、adw/A、adw/B、adw/C、ayr/C、ayw/Dが検出されており、とくにadr/Cが殆どを占めていた<sup>7)</sup>。また、HIVに関しても、日本でみられるB型、E型を検出しており、またHCVでも日本で大半を占める1b型、2a型、2b型に関して問題なく検出している<sup>5)</sup>ことからみて、日赤のNATの有効性は十分示されていると判断している。

次に日赤NAT研究グループによるHBV-DNA、HCV-RNA陽性ドナーの追跡調査の結果をみると、2001年8月までHBVでは180例中117例を調査しており、そのうち106例がwindow期であった。またHCVでは追跡調査した14例中13例がwindow期であった。

### NATの問題点

わが国におけるNATの問題点をあげてみると、わが国のNATは検出感度の高さ、3種類のウイルスを対象にしていること、及び全ての献血由来血液製剤を対象に実施していることからみて、少なくとも現時点で世界でもトップレベルのものと評価されているが<sup>8)</sup>、Fig. 2で示したように日本における献血者の中で経年的にHIV陽性者が増加している現実がある<sup>9)</sup>。NATを含め日本のHIV検査は、magnet効果となってHIV検査目的の献血者を受け入れているとみられ、今後いかに

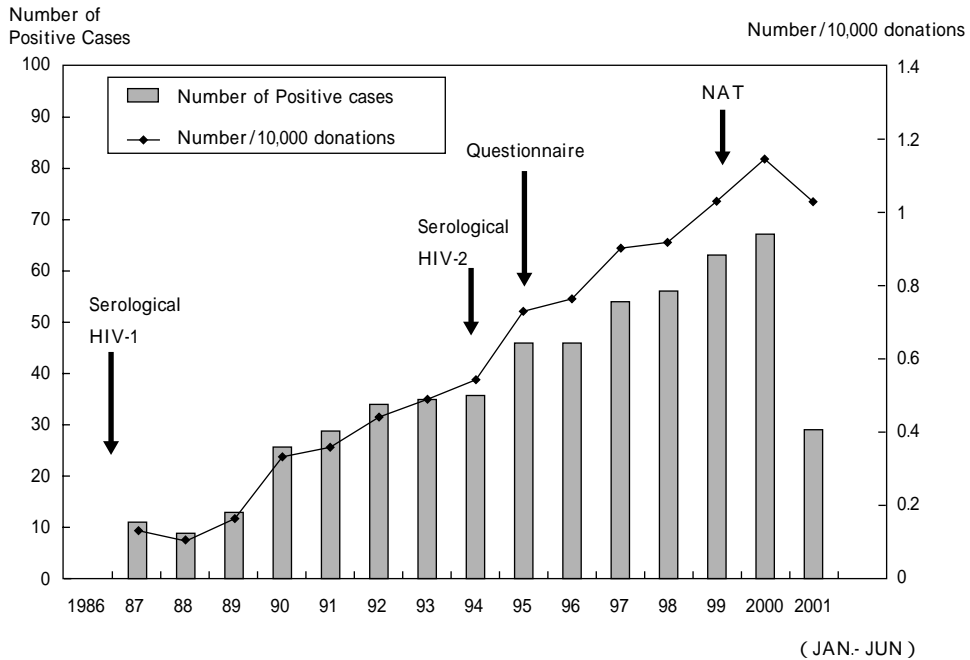


Fig. 2 HIV positive cases among all donations ( per year ) Report of the Ministry of Health, Labour and Welfare

HIV 検査目的の献血を阻止すべきかが大きな問題となっている。

次に NAT 施行により献血者の Re-entry の問題が出ている。日赤では、HCV については 2001 年 2 月から過去の検査履歴が陽性であっても、今回の血清学的検査が陰性で、NAT も陰性の場合には、Re-entry 可としており、現在 HbC 抗体のみ陽性でかつ NAT 陰性ドナーの Re-entry について検討している。

**NAT が血液事業に及ぼす影響**

全国の NAT 検体を 3 カ所の NAT センターで受け入れ、深夜に大半の作業をすることは従来の日赤血液センターの勤務体制や条件ではまったく存在しなかったものである。したがって、深夜作業でかつ検査を集中して施行している NAT は現在も引き続き日赤の血液事業に大きな影響を及ぼしており、これまで各血液センター単位に設置されていた検査部門を各都道府県内は勿論、その枠を超えた集中化を実施させている。さらに検査だけではなく、製剤、供給面での集中化も検討されている。検査・製剤業務の集中化の必要性につい

ては全国均一レベルを目指した検査・製剤技術の向上や費用効果が挙げられているが、その他にも理由がある。現在、わが国では少子高齢化社会を迎え、献血可能人口層の減少が予測され、血液製剤の適正使用と有効使用が推進されているにもかかわらず、多量の輸血を必要としている症例が増加している。京都血液センターを例にとってみると、近年特に多量の輸血を必要とする医療は移植医療であり、具体的には血液内科における幹細胞移植と外科では生体肝部分移植を含めた肝移植術<sup>10</sup>が赤血球製剤と PC の供給量を押し上げている。しかもこれらの移植手術は緊急的に行われることが多く、血液センターがこのような緊急症例に対応していくためには、常時血液センター内にかなりの輸血用血液製剤を在庫しておく必要がある。言いかえれば、大規模の血液センターでないと緊急症例への対応が不可能となっている。

特に供給上、問題になるのは PC である。わが国における PC は、1, 2, 5, 10, 15, 20 単位の各製剤があり、さらに放射線照射した PC 製剤が主に使用されている。これら PC 製剤の有効期間は採血後

Table 3 Arrival time and average number of NAT samples

Blood center	Arrival time ( ± 30min )	Average number of NAT samples ( / day )		
		( JRC Center for NAT and Quarantine )		
		Weekdays	Saturdays	Sundays
① Kyoto-Shiga	20 : 20	600	230	300
② Osaka-Hyogo-Nara-Wakayama	22 : 30	2,340	1,940	1,710
③ Tottori-Shimane	23 : 50	250	280	0
④ Aichi-Mie-Gifu	0 : 00	1,340	880	1,680
⑤ Toyama-Ishikawa-Fukui	0 : 00	530	100	670
⑥ Ehime-Kochi	0 : 30	410	100	190
⑦ Okayama-Kagawa-Tokushima	1 : 20	640	260	350
⑧ Hiroshima-Yamaguchi	3 : 30	730	720	380

( June, 2001 July, 2001 )

\*Saturdays: 8 blood centers 0

\*Sundays: 2 blood centers 0

Table 4 Units of PC supplied ( 2000 )

Rank	Blood center	Units	%
1	Tokyo ( + Central )	886,796	12.3
2	Osaka	607,786	8.3
3	Aichi	461,505	6.5
4	Kanagawa	447,112	6.0
5	Fukuoka	327,536	4.0
6	Hokkaido	309,881	3.9
7	Saitama	290,800	3.7
8	Hyogo	261,497	3.3
9	Kyoto	222,471	2.8
10	Hiroshima	221,479	2.8
1 10	10 centers	4,036,863	50.6
11 51	Others ( 41 centers )	3,940,698	49.4
1 51	Total	7,977,561	100

( JRCBS 2000 Annual Report )

72時間以内と規定されている。従来から医療機関に対して予約注文を要請しているが、近年の移植医療ではPCも必要時に発注する割合が多くなっており、したがって血液センター、医療機関ともに残存有効使用日数が半日でも長いPC製剤を必要としている。そのために血液センターではNAT結果が可能な限り早く得られるよう努力がなされている。

最近における京都NATセンターにおける各血液センターからの到着時間と検体数をTable3示した。現在、8ルートの車輛による搬送が行われているが、大阪、名古屋、京都、広島各血液セン

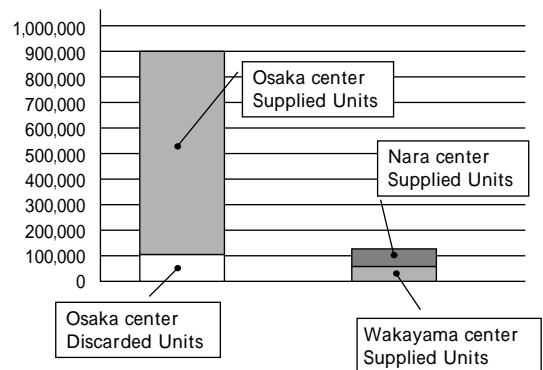


Fig. 3 PC Units Supplied and Discarded ( 2000 )

ターは毎日平均した検体を送付しており問題はないが、中小規模の血液センターでは土・日のいずれか一日には検体の送付が皆無の血液センターがあってPC供給面で問題となっている。そこで、2000年の1年間、各血液センターにおけるPC供給総単位数(日赤資料<sup>11)</sup>)を多い順に並べた成績をTable4に示した。上位10血液センターで、全国総PC供給量の50%強を占め、残る41血液センターで50%弱を占めている。すなわち、PCの供給量は血液センター別にかかなりの格差が見受けられている。例として2000年における大阪血液センターのPC総供給単位数と有効期限切れ単位数及び大阪府と隣接している奈良、和歌山の供給総単位数をFig.3に示した。一目でわかるように、奈良・和歌山両血液センターの供給量を併せて

も、大阪センターの有効期限切れ量とほぼ同じであることが示されており、血液事業の効率化を考慮すれば、中小規模血液センターの検査と製剤業務及び供給管理は隣接の大規模血液センターに集中化の方が望ましいと言える。

現在、日赤の血液事業では、同一都道府県内における血液センターの検査・製剤の集中化と一元管理が行われ、また福岡と佐賀の両センターにおける検査・製剤の集中化や、大阪と和歌山の両センターにおける検査の集中化が都道府県の行政の枠を超えて行われている。

今後、日赤の血液事業では、少なくとも検査・製剤及び供給体制の管理は本社直轄の新設のセンターとして検討されるべきと考えられており、現行の「県」単位の血液事業は広範化した「圏」単位の血液センターにリフォームする必要がある。地方行政においても、現在市町村の合併や道州制が提言されており、日赤も十分考慮すべきであると考える。

### 結 語

日赤が導入した NAT はわが国における輸血用血液の安全性向上に極めて効果的であったと確信している。しかし、一方では従来のが国の血液センターの役割にリフォームを求めているとも言われている。今後も日赤の血液事業は輸血を受けた患者からは安全な輸血をありがとくと喜んでもらい、同時にドナーから献血してよかったと喜んでいただくことは勿論であるが、同時に輸血用血液の安全性確保には経済的立場からみておのずから限界があり、今後は国民に広く理解と協力が得られるような新しい血液事業を目指しての努力が必要である。また、同時に日赤がこれまで実施してきた NAT は、わが国だけの NAT ではなく、これからは全世界、特に発展途上国と言われている国々の「Blood Safety」に役立てていくことが望まれている。

謝辞：日本赤十字社事務局草刈隆技監の御高閲および日赤 NAT 研究グループの御協力に深謝いたします。

### 文 献

- 1) 厚生省薬務局：輸血用血液製剤の安全性に関する報告書。血液事業関係資料集平成7年度版，77-85。血液製剤調査機構，1996。
- 2) Japanese Red Cross NAT Screening Research Group：Nationwide Nucleic Acid Amplification Testing of Hepatitis B Virus, Hepatitis C Virus and Human Immunodeficiency Virus Type 1 for Blood. Transfusion and Follow-up Study of Nucleic Acid Amplification Positive Donors. Jpn. J. Infect. Dis., 53: 116-123, 2000.
- 3) 横山繁樹：NAT 実施体制と今後の課題。血液事業，23: 718-719, 2001。
- 4) Tomono, T. (2001): Nationwide NAT Screening of HBV, HCV and HIV-1 for blood Transfusions. Abstr. p16 21st U.S. Japan Hepatitis Joint Panel Meeting, San Antonio, Tex. USA. 16-17. January, 2000.
- 5) Meng, Q., et al.: Automated Multiplex Assay System for Simultaneous Detection of Hepatitis B Virus DNA, Hepatitis C Virus RNA and Human Immunodeficiency Virus Type 1 RNA. J. Clinical. Microbiology, 39: 2937-2945, 2001.
- 6) Schreiber, G.B., et al.: The Risk of Transfusion-Transmitted Viral Infections. N. Eng. J. Med., 334: 1685-1690, 1996.
- 7) Nishioka, K., et al.: The First Large-Scale Nucleic Acid Amplification Testing (NAT) of Donated Blood Using Multiplex Reagent for Simultaneous Detection of HBV, HCV, and HIV-1 and Significance of NAT for HBV. Microbiol. Immunol., 45(9): 667-672, 2001.
- 8) Tabor, E., et al.: Summary of a workshop on the implementation of NAT to screen donors of blood and plasma for viruses. Transfusion, 40: 1273-1275, 2000.
- 9) 厚生労働省エイズ動向委員会：平成12年エイズ発生動向年報，厚生労働省，2001。
- 10) 河村朋子，他：生体肝移植における輸血 血液センターの立場から。血液事業，23: 69-74, 2000。
- 11) 日本赤十字社事務局血液事業部：血液事業の現状。平成12年統計表，日本赤十字社，2001。