

症 例

50本プール nucleic acid amplification test 陰性であったが微量 HBV-DNA が検出された濃厚血小板を輸血された症例

武田 正¹⁾ 藤野 恵三²⁾ 北橋 繁²⁾
村井順一郎²⁾ 島 悦子³⁾ 日野 雅之³⁾

¹⁾大阪市立大学大学院医学研究科肝胆膵病態内科学

²⁾大阪市立大学医学部附属病院輸血部

³⁾大阪市立大学大学院医学研究科血液病態診断学

(平成14年7月23日受付)

(平成14年9月30日受理)

A PATIENT TRANSFUSED WITH HBV-DNA-POSITIVE PLATELET CONCENTRATE NEGATIVE ON 50-POOL NUCLEIC ACID AMPLIFICATION TESTING

Tadashi Takeda¹⁾, Keizo Fujino²⁾, Sigeru Kitahashi²⁾, Junichiro Murai²⁾,
Etsuko Shima³⁾ and Masayuki Hino³⁾

¹⁾Department of Hepatology, Osaka City University, Graduate School of Medicine

²⁾Division of Blood Transfusion, Osaka City University Hospital

³⁾Clinical Hematology and Clinical Diagnostics

Post-transfusion hepatitis is presently a rare side effect of blood transfusion. It is not possible to exclude all donor blood in the window period when blood is not yet positive for serological tests of Hepatitis B virus (HBV) after HBV infection. If a patient is transfused with blood obtained in the window period which includes a small HBV load, he or she may develop post-transfusion hepatitis B. On 20 September 2000, a patient in our institution with acute leukemia was transfused with 10 units of platelet concentrate negative for HBV-DNA on the 50-pool nucleic acid amplification test (NAT). Blood given by the same donor on 19 October 2000 was positive for HBV-DNA by 50-pool NAT. On retrospective study, the blood transfused into our patient was found to be positive for HBV-DNA by individual NAT. However, HBV-DNA load in the blood was less than 100 copies/ml. Our patient was followed for seven months after the blood transfusion containing HBV-DNA, but HBV infection did not occur. This finding indicates that post-transfusion hepatitis B will not necessarily develop following transfusion with 50-pool NAT HBV-DNA-negative blood from a hepatitis B-infected patient. HBV infection is thought to be more closely related to transferred HBV load and the recipient patient's physical condition.

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

はじめに

輸血後肝炎は長い間、輸血副作用の中で大きな位置を占めていた。しかし、HBV、HCVが発見され、その診断法の確立によって輸血後肝炎は極め

て稀な存在となった¹⁾。日本赤十字社血液センターにおいて1999年10月から全ての献血血液に対してHBV、HCVおよびHIV-1に対する50本プール核酸増幅検査(NAT: nucleic acid ampli-

Table 1 Laboratory findings at admission

Peripheral blood tests		Blood chemistry		K	4.3 mg/dl
WBC	1,800 / μ l	TP	6.6 g/dl	Cl	107 mg/dl
Bas	0 %	Alb	4.2 g/dl	Ca	4.5 mg/dl
Eos	0 %	T.bil	1.6 mg/dl	P	3.5 mg/dl
St.	3.0 %	D.bil	0.5 mg/dl	Serological tests	
Seg.	12.0 %	AST	65 IU/L	CRP	0.6 mg/dl
Ly.	57.0 %	ALT	124 IU/L	HBsAg	
Mono.	1.0 %	ALP	134 IU/L	HBsAb	
Other	25.0 %	LDH	410 IU/L	HCVAb	
RBC	186×10^4 / μ l	CHE	729 IU/L	Bone marrow	
Hb	6.4 g/dl	LAP	40 IU/L	TNC	94,500 / μ l
Ht.	18.8 %	γ -GTP	32 IU/L	blast	59.4 %
Plat.	0.4×10^4 / μ l	BUN	8 mg/dl	FISH analysis	
Coagulation tests		CRE	0.5 mg/dl	AML-1 translocation	
PT	112 %	UA	5.5 mg/dl	100 %	
APTT	25.8 sec	Na	145 mg/dl		

fication test) が導入され、血清学的検査陰性でウイルスが存在するウィンドウ期の血液の検出に役立っている²⁾。2000年2月からプール数を50本としてNATが行われ、同年8月からは血小板製剤を含む全血液製剤に対して出荷前までに検査が終了している。しかし、現在のNATの検出感度ではウイルス陽性血液が供給される危険性が極めて低率であるが存在する³⁾。50本プールのNATで陰性を示すほどの微量HBVが含まれる血液が患者に輸血された場合、感染が成立するか否かを検討することが輸血の安全性を考える上で重要と考える⁴⁾。

今回、我々はHBVウィンドウ期の濃厚血小板製剤(PC)が輸血された症例を経験したので、その経過を報告する。

症 例

患者：47歳 女性

血液型：B型 Rh(D)+

主訴：月経過多

既往歴：特記すべきことなし

家族歴：特記すべきことなし

現病歴：1997年4月に月経過多、全身倦怠感とふらつきを自覚し近医にて白血病を疑われ、当院血液内科に紹介された。AML(M2)と診断され4月25日より寛解導入療法、地固め療法3クールを施行し、完全寛解状態にて1997年12月22日退

院した。Ara-C内服にて外来治療を行っていたが、母国の中国に一時帰国したため、治療を中断していた。再来日後に再燃がみられ2000年9月19日再入院となった。

現症：体温36.8。血圧110/62mmHg、脈拍84/min整。眼瞼結膜貧血なし。眼球結膜黄染なし。心音・呼吸音に異常なし。表在リンパ節触知せず。肝・脾を触知せず。皮下出血・紫斑を認めず。

入院時検査をTable 1に示している。白血球減少あり、異型細胞が25%みられた。血小板は $0.4 \times 10^4/\mu$ lと著明に低値であった。肝機能障害がみられたが、HBs抗原、HBs抗体、HCV抗体は陰性であった。骨髓検査において過形成、芽球は目視法で59.4%を占め、FISH法にてAML-1のtranslocationは100%の細胞に認められた。

入院後経過：入院翌日2000年9月20日より、急性白血病に対する寛解導入療法が開始された。PC825単位、MAP加赤血球44単位が入院中に輸血された(Fig. 1)。2000年9月20日輸血したPCと同一供血者が10月19日献血した際の血液でHBV NAT陽性と判定された。遡及調査の結果、我々の患者に9月20日輸血された血液においてもNATでHBV陽性であることが判明した。その結果が10月30日大阪府赤十字血液センター(以下、日赤)から当院に通知された。輸血された患者における10月31日の検査結果は以下の通りで

HBsAg :	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HBsAb :	-	-	-	-	-	-	-	-	6.5
HBeAg :	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HBeAb :	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HBV-DNA* :	-	-	-	-	-	-	-	-	-

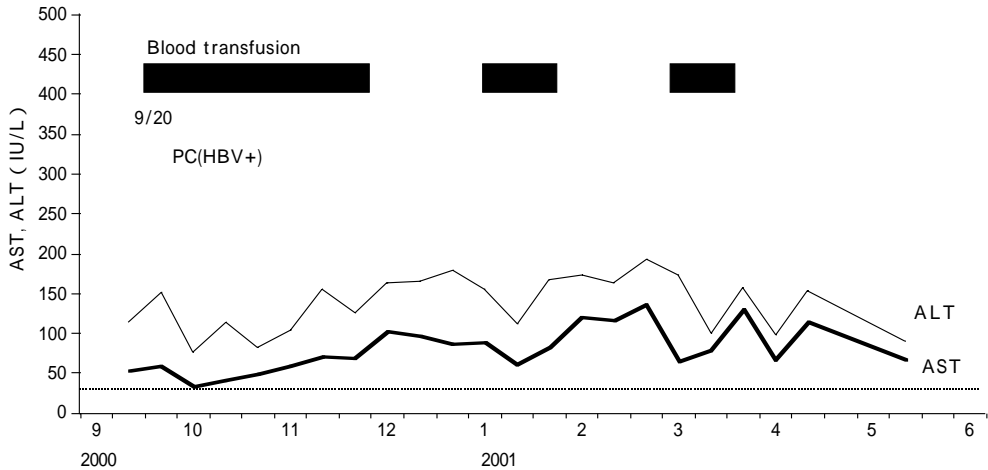


Fig. 1 Clinical course of the patient. HBV-DNA was measured by the standard PCR method of the Red Cross Blood Center. The thick line shows aspartate aminotransferase (AST) and the thin line alanine aminotransferase (ALT). HBV-DNA was measured by the standard PCR method of the Japanese Red Cross Blood Center.

あった .HBs 抗原陰性 ,HBs 抗体陰性 ,HBV-DNA (日赤測定) 陰性 ,IgM-HBc 抗体陰性 ,HBe 抗体 (原液)90% (200倍希釈)0% ,DNA-polymerase 0cpm であった .これらの結果から過去の HBV 感染の既往が存在すると考えた .11月8日の検査で HBe 抗体陽性であったが ,中和抗体である HBs 抗体が陰性であり ,今回の輸血により HBV 感染が成立する可能性が危惧された .以後 ,定期的に患者の血液を日赤に提出し HBV-DNA (PCR法)測定を 2001年3月23日まで依頼したが ,全経過中陰性であった .2001年4月16日まで経過中の HBe 抗原 ,HBV-DNA および IgM-HBc の変化がないことから HBV 感染が成立しなかったと判断した .HBs 抗体は陽性を示していたが ,輸血による移入抗体と考えられた (Table 2) .

考 案

輸血後肝炎は現在では非常にまれとなった .日本赤十字社血液センターではウイルス抗原・抗体の血清学的検査に加え ,NAT が 1999年10月か

ら 500本プールで開始され 2000年2月からは 50本プールを用いて行われている .2000年8月から血小板製剤においても出荷するまでに NAT が終了している .しかし ,NAT においても検出限界があり ,HBV の検出感度と 95% 信頼領域は 30 (22~60) copies/ml で ,100% 陽性を示す最低ウイルス量は 50 copies/ml とされている⁵⁾ .HBV の増殖速度は約 7日間で 10倍に増殖すると考えられており ,初期より早期に増殖する HCV に比べ ,NAT で検出できない期間が長いことが知られている⁶⁾ .本症例に輸血された濃厚血小板製剤 (9月17日献血) の供血者から 10月19日に再度献血された血液を含む 50本プール血液が NAT にて HBV-DNA 陽性と判明した .そのため ,日赤にて遡及調査が行われた結果 ,9月17日献血の保管血液を用いた個別 NAT が 6回施行されたうち 2回陽性の結果が得られた .日赤標準法による HBV-DNA 量濃度は <100 copies/ml であった .同供血者が 10月6日におこなった献血の保管検

Table 2 Serological viral tests

y	m	d	HBsAg	HBsAb	HBeAg	HBeAb	HBV-DNA	IgM-HBc	HBcAb	HBcAb (×200)	DNA-P	HCVAb
1997	5	27	-	4.8								
2000	9	29	-	-								
	10	31	-	-			-	-	90%	0%	0 cpm	
	11	8			-	+						
		15			-	+						
		30			-	+						
2001	12	13			-	+						
		27			-	+						
	1	24			-	+						
	2	28			-	+						
	3	23			-	+						
	4	16	-	6.5	-	+	<0.7 Meq/ml*	-	93%	12%		-

HBV-DNA was measured by the standard PCR method of the Japanese Red Cross Blood Center.

*HBV-DNA was measured with a branched DNA probe on 16 April 2001.

体でも個別 NAT で HBV-DNA 陽性であった。その血液を輸血された別の症例は輸血後 B 型肝炎を発症したとの報告を受けている。両者の献血の間に 19 日間の日数があり、ウイルス量に 10^2 程度の差があったことが推測される。Chimpanzee に、いくつかのウイルス量の感染実験がおこなわれ、ウイルス量と HBsAg の出現までの期間に逆相関があることが報告されている^{7,8)}。血清学的検査陰性 HBV-DNA 陽性血液が輸血された後の感染について検討した報告は数少ない⁹⁾⁻¹¹⁾。佐藤らは HBV-DNA 陽性血液を輸血された 9 例のその後の経過を検討している¹¹⁾。彼らは原疾患のため死亡した患者を除く 5 例の輸血後の経過を調べ、2 例に急性 B 型肝炎の発症を確認している。発症例に輸血された血液の HBV-DNA 濃度は 2,500copies/ml (RC-MAP 2 単位)、230,000 copies/ml (RC-MAP1 単位) であった。非感染例のうち 2 例は輸血前より HBs 抗体陽性であった。輸血前 HBs 抗体陰性の非感染例 1 例は PC10 単位を輸血されたが、輸血血液中の HBV-DNA 濃度は <100copies/ml と微量であった。この結果から HBV-DNA 量は主な感染の規定因子として考えられる。しかし、日本赤十字社血液センターの報告では NAT 陰性のウインドウ期の血液が輸血後肝炎を発症させたとする報告がある¹²⁾。したがって、NAT 検出限界程度の HBV を含む血液が輸血された場合、全例

ではないが HBV 感染の成立は存在する。その感染成立は移入したウイルス量の他、輸血された患者側の要因が関わっていることが考えられる。50 本プール NAT 陰性で微量 HBV が存在する献血血液が輸血された場合の輸血後肝炎発症の危険率を把握することは重要と考える。これらの結果の集積された後にミニプール NAT によるスクリーニング方法が適性であるか判断されると考える。特に HBV は個別 NAT に比べ、ミニプール NAT は検出率が劣ると考えられている。しかし、NAT の感度のみを追求しても検出限界は必ず存在するため、輸血後肝炎の危険性を完全になくすことは困難である。我々の症例は遡及調査により HBV 陽性血が輸血されたことが判明したが、単回の献血者からの血液であった場合、ウインドウ期の血液を発見することができないことになる。したがって、輸血症例において輸血後に定期的な血液検査を必ず行うことで輸血後肝炎の発見に努めなければならない。不幸にも輸血後肝炎が発症した場合の適切な対処方法の確立も必要と考える。

謝辞：本症例の検討にご協力いただいた大阪府血液センターの諸氏ならびに大阪市立大学附属病院肝炎防止調査センターの松本恵氏に深謝致します。

(本論文の要旨は第 50 回日本輸血学会総会において発表した。)

文 献

- 1) 菊地 秀：輸血後肝炎，編者稲葉頌一，別冊医学のあゆみ 輸血の現状と課題，医歯薬出版，東京，2002，85-91.
- 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) 柚木久雄：核酸増幅検査 (NAT) の現状と今後。臨床病理，118 : 16-22, 2002.
- 4) Prince, M.A., Lee, D-H., Brotman, B. : Infectivity of blood from PCR-positive, HBsAg-negative, and anti-HBs-positive cases of resolved hepatitis B infection. *Transfusion*, 41 : 329-332, 2001.
- 5) Meng, Q., Wong, C., Ranganchari, A., Tamatsukuri, S., Sasaki, M., Fiss, E., Cheng, L., Ramankutty, T., Clarke, D., Yawata, H., Sakakura, Y., Hirose, T., Impraim, C. : Automated multiplex assay system for simultaneous detection of hepatitis B virus DNA, hepatitis C virus RNA, and human immunodeficiency virus type 1 RNA. *J Clin Microbiol*, 39 : 2937-2945, 2001.
- 6) Nishioka, K. : Viral dynamics in early stage of HBV infection. 21st U.S. Japan Hepatitis Joint Panel Meeting, San Antonio, Tex., USA, 2000, 16-17.
- 7) 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 : 571-576, 1977.
- 8) Barker, L. F.F., Maynard, J.E., Purcell, R.H., Hoof-nagle, J.H., Berquist, K.R., London, W.T., Gerety, R.J., Krushak, D.H. : Hepatitis B virus infection in chimpanzees : titration of subtypes. *J Infect Dis*, 132 : 451-458, 1975.
- 9) 千代田 辰，安居院 珠華，小田 秀隆，江崎 利信，井上 純子，光富 吉朗：低濃度 HBV キャリア 血液による感染。日輸会誌，47 : 845-848, 2002.
- 10) 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 型肝炎の一例。日輸会誌，46 : 449-453, 2000.
- 11) 佐藤 進一郎，伊原 弘美，酒谷 真一，長谷川 秀弥，山本 定光，加藤 利明，池田 久實：血清学的陰性 HBVDNA 陽性血液を輸血された患者の遡及調査結果。日輸会誌，47 : 395-402, 2001.
- 12) 百瀬 俊也，遠藤 正治，西田 一雄，有田 純一，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ィ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。日輸会誌，44 : 152, 1998.