

症 例

核酸増幅検査導入後のHBV ウィンドウ期の
血小板製剤による輸血後肝炎

岸本 裕司¹⁾ 有元美代子¹⁾ 細川 美香¹⁾ 阿部 操¹⁾
岡前 文子¹⁾ 山岡 学¹⁾ 大谷 哲司¹⁾ 松崎 龍典¹⁾
大西 修司¹⁾ 寺岡 敦子¹⁾ 福原 資郎¹⁾ 河崎 裕英²⁾
小林陽之助²⁾ 柴田 弘俊³⁾

¹⁾関西医科大学附属病院輸血部

²⁾同 小児科

³⁾北大阪赤十字血液センター

(平成 15 年 1 月 6 日受付)

(平成 15 年 2 月 17 日受理)

TRANSFUSION-TRANSMITTED HBV INFECTION THROUGH PLATELET CONCENTRATE
DONATED DURING THE WINDOW PERIOD AFTER INTRODUCTION OF THE NUCLEIC
ACID AMPLIFICATION TEST

Yuji Kishimoto¹⁾, Miyoko Arimoto¹⁾, Mika Hosokawa¹⁾, Misao Abe¹⁾,
Fumiko Okamae¹⁾, Manabu Yamaoka¹⁾, Tetsuji Otani¹⁾, Tatsunori Matsuzaki¹⁾,
Shuji Onishi¹⁾, Atsuko Teraoka¹⁾, Shirou Fukuhara¹⁾, Hirohide Kawasaki²⁾,
Yohnosuke Kobayashi²⁾ and Hirotohi Shibata³⁾

¹⁾Blood Transfusion Unit, Kansai Medical University Hospital

²⁾Department of Pediatrics, Kansai Medical University Hospital

³⁾North Osaka Red Cross Blood Center

We experienced a case of HBV infection transmitted through platelet concentrate donated during the window period. Nucleic acid amplification test (NAT) has been performed since February 2000 using 50-pooled samples. The donor was found to be positive by individual nested PCR using stored samples in a retrospective study. The HBV DNA concentration was 2,800 copies/*mI* in the blood. The patient was a 3-year-old boy with acute myeloid leukemia and was negative for HBsAg at notification. Although we injected him with anti-HBs IgG, he became positive for HBsAg 6 months after the infected blood transfusion. He subsequently developed acute hepatitis and progressed to protracted viral infection. HBV nucleotide sequences of the patient and donor were identical. He received allogeneic peripheral blood stem cell transplantation from his HLA-identical mother 11 months after the infected blood transfusion. As the mother was negative for anti-HBs antibody, immunization with HBV vaccination was performed before stem cell harvest. Although the incidence of transfusion-transmitted HBV infection has decreased through the introduction of NAT, this case indicates that NAT using 50-pooled samples may not be effective for the detection of very early-stage HBV infection.

Key words : post-transfusion hepatitis, HBV, NAT, window period, hematopoietic stem cell transplantation

はじめに

日本赤十字社では1999年10月より献血血液に対してHBV, HCV, HIV-1の核酸増幅検査(NAT)を導入し¹⁾, 2000年2月にはプール数を500検体から50検体に変更した²⁾. これにより輸血による感染症は著しく減少した. しかし, HBVに関しては50検体プールでは検出できないウイルス量であっても, 輸血にて肝炎を発症することが知られている³⁾. 今回, HBV感染初期のウインドウ期献血の血小板製剤により輸血後肝炎を発症した小児患者を経験し, 臨床経過を長期に観察し得たので報告する.

症 例

患 者: 3歳男児(1998年4月生)

診 断: 急性骨髄性白血病

家族歴・既往歴: 特記すべき事項なし.

感染血輸血までの経過: 2000年7月27日に発熱・紫斑にて近医を受診, 血液検査にて白血球増多と血小板減少を指摘され, 7月29日当院小児科に入院した. 末梢血は白血球数70,200/ μ l, 血小板1.9万/ μ l, 骨髄は過形成で光顕ペルオキシダーゼ陰性, CD13・15・33陽性の芽球を32.5%認め, 急性骨髄性白血病(FAB分類AML M0)と診断した. 8月2日よりJACLS AML99プロトコールにて寛解導入療法を実施し, 完全寛解を得た. 9月25日より地固め療法第1コースを実施し, 10月6日に濃厚血小板(PC)10単位を輸血した. 10月19日に同一供血者から再度献血された血液がHBV NAT陽性であり, 遡及調査(保管検体による個別NAT再検)の結果10月6日のPCがHBV NAT陽性と判明し, 10月30日に北大阪赤十字血液センターより連絡を受けた. 尚, 7月29日より10月14日の間にPC10単位9回, 15単位11回, 20単位3回, RC・MAP1単位12回の輸血を受けていた.

感染血輸血後の経過 (Fig. 1)

血液センターより連絡を受けた翌日の10月31日にHBV関連抗原・抗体検査を実施したがすべて陰性であり, HBV DNAも検出されなかった. 感染血輸血から既に1カ月経過していたが, 感染予防として11月2日に抗HBsヒト免疫グロブリン

400単位を投与した. この受動免疫によりHBs抗体は陽性となったが, 抗体価は徐々に低下し, 2001年3月26日(感染約6カ月後)には検出限界以下となり, 陰性であったHBs抗原が弱陽性となった. この3週間にはHBs抗原に加えてHBe抗原も陽性となり, HBc抗体も陽性化した. 5月31日(感染約8カ月後)より肝機能異常がみられ, 急性肝炎を発症した. ALTの最高値は6月18日の1,370 IU/Lであり, 肝機能異常は8月末に軽快した. しかし, 急性肝炎治癒後もHBs抗原, HBe抗原, HBc抗体陽性であり, HBVは持続感染した. 肝炎発症後には血清中HBV DNAが陽性となり, 肝炎治癒後も検出された.

AMLは平成13年9月13日(感染約11カ月後)に再発したが, 化学療法にて再寛解導入し得た. 患者と母親のHLAが一致しており, 母親をドナーとした同種末梢血幹細胞移植を平成14年1月29日に実施した. 母親はHBV未感染であったため, 移植前にHBVワクチンを接種し, HBs抗体を獲得させた. 移植後は速やかにドナー完全キメラ状態となり, その後も順調に経過した. 移植11カ月を経過してAMLは完全寛解を維持しているが, HBVは移植後も持続感染しておりHBs抗体は検出されていない.

供血者の検査結果 (Table 1)

供血者は9月17日, 10月5日, 10月19日にPCの成分献血をした. 9月17日, 10月5日の50検体プールNATは陰性であったが, 10月19日に50検体プールNAT陽性と判明した. 保管検体による個別NAT(日赤標準法)では, 9月17日は検出限界以下であったが, 10月5日検体(今回輸血)ではHBV DNAは2,800コピー/mlと陽性であった. この時は, HBs抗原, HBc抗体は陰性であり, 個別NAT検査のみが陽性であった. 供血者は献血後にも血液検査が実施されたが, 肝炎を発症せずにHBs抗体を獲得した.

尚, 9月17日のPCは別の患者に輸血されているが, HBVは感染しなかったことが報告されている⁴⁾.

HBVの検討

患者および供血者のHBVを検査した. 両者と

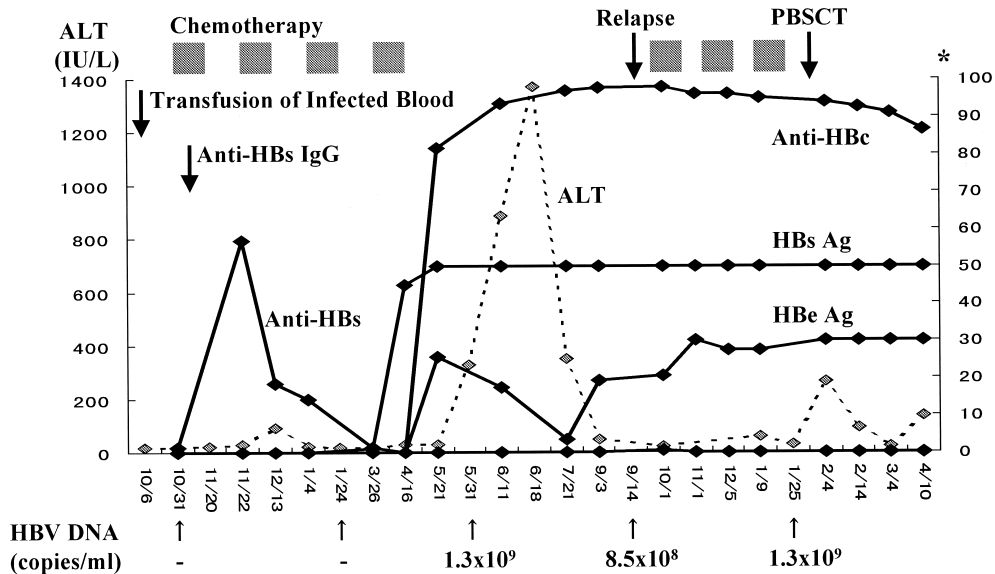


Fig. 1 Clinical Course of Patient

* Anti-HBs (1/2 mIU/ml) HBs-Ag (C.O.I) HBe-Ag (1/10 S/N) Anti-HBc (INH%)

Table 1 Laboratory data of donor

Date of Blood Collection	HBs-Ag		HBe-Ag (EIA)	Anti-HBs (PHA)	Anti-HBc (HI)	Anti-HBe (EIA)	HBV-DNA (copies/mL)		ALT (IU/L)
	RPHA	EIA					Blood from Pools of 50 Donations	Undiluted Blood	
2000/9/17 (Donated Blood)	-	-	NT	-	-	NT	-	< 100	17
2000/10/5 (Donated Blood)	-	-	NT	-	-	NT	-	2,800	16
2000/10/19 (Donated Blood)	-	+	-	-	-	-	+	140,000	18
2000/11/16 (After Donation)	-	-	-	+	+	+	NT	< 100	22
2000/12/19 (After Donation)	-	-	-	+	+	+	NT	< 100	12
2001/4/18 (After Donation)	-	-	-	+	+	+	NT	< 100	15

NT : not tested

も subtype adr ,genotype C であった .また ,遺伝子塩基配列では ,S 遺伝子内 193 塩基長 ,core promoter ~ Pre C 遺伝子内 223 塩基長は両者とも完全に一致しており ,患者は献血にて HBV に感染したと判断した .

考 案

血清学的検査が献血基準を満たした全献血者に対して NAT が導入され ,輸血による感染症は著しく減少した .HCV と HIV に関しては NAT 導入後の感染報告は 1 例もなく ,NAT の高い有用性が示されている .一方 HBV は ,NAT 導入後に

においても感染症例がみられ、50 検体プールとなつてからも 23 カ月間で 8 例の報告がある³⁾。本例は献血血液が 50 検体プール NAT 陽性であることが判明し、遡及調査が実施され、前回献血血液が個別 NAT では陽性と判明し、輸血による HBV 感染が証明された。50 検体プール NAT 導入後に HBV 感染がみられた 8 例の献血時の HBV DNA 量が一部報告されているが、検出限界 (100 コピー/ml) 以下から 2,800 コピー/ml である⁵⁾。本例は献血時の HBV DNA は 2,800 コピー/ml であったが、検体数が 50 プールであるため、希釈効果にて検出できなかったものと思われる。

今回の献血者は血清学的所見より感染初期のウィンドウ期と考えられるが、HBV はウィンドウ期のウイルス量が低く、ウイルス増殖速度の遅いことが特徴であり、この時期の HBV DNA を検出するためには NAT の検体プール数を減少させる必要がある⁶⁾。HBV は個別 NAT で検出限界以下のウイルス量でも輸血後肝炎を発症することが報告されているが^{5,7)}、個別 NAT の導入により、血清学的には 56 日のウィンドウ期が 6~15 日に短縮することが報告されている⁸⁾。また、HBs 抗原陰性、Hbc 抗体陽性の低濃度 HBV キャリアーでは、血中ウイルス量が非常に低いため、検体をプールした NAT では検出できず、個別 NAT 検査の必要性が指摘されている⁸⁾。このように、NAT の検体プール数を減少させることにより HBV 感染のリスクはさらに低下するが、NAT の検査費用は著しく増加することが予想され、感染リスクと経済効果を総合的に判断する必要があるものと思われる。

今回の輸血による HBV 感染は NAT 陽性献血者の遡及調査にて判明したが、感染情報を入手したのは感染血輸血から約 1 カ月後であった。感染直後であれば、抗 HBs ヒト免疫グロブリンや HB ワクチンの効果が期待されるが、この時期での感染対策について明確な指針はない。AML に対して化学療法中であり、抗癌剤により免疫不全状態であると考え、ワクチン効果は期待できないと判断した。このため、HB ワクチンは投与せず抗 HBs ヒト免疫グロブリンを投与した。抗 HBs ヒト

免疫グロブリン投与後は HBs 抗体が検出されたが、抗体価は徐々に低下し、約 5 カ月には検出できなくなり、その直後に HBs 抗原が陽性化した。その後急性肝炎を発生したが、HBV は持続感染状態となった。患者が小児で HBV 未感染であり、また、免疫不全状態であったために、HBV は持続感染したものと思われる。母児間の HBV 垂直感染予防では、抗 HBs ヒト免疫グロブリンを 1 回投与すると HBV キャリアー化率は半減し、追加投与にてキャリアー化率はさらに低下することが報告されている⁹⁾。本例は感染ウイルス量が比較的多く、感染直後に予防処置が実施できていないので、抗 HBs ヒト免疫グロブリンを追加投与しても感染は阻止し得なかったものと思われる。

HBs 抗原陽性患者の造血幹細胞移植では、ドナーが HBs 抗体陽性であれば、ドナー免疫能の移行により、患者に HBs 抗体が出現し HBV が排除されることが報告されている¹⁰⁾。本例は HLA 一致の母親をドナーとして同種末梢血幹細胞移植を実施したが、母親は HBV 未感染であったため、移植前に HBV ワクチンを接種し HBs 抗体を獲得させた。移植 11 カ月後を経過したが、未だに HBs 抗体は検出されず、HBV は持続感染している。ドナーの HB ワクチン接種にて、移植後に患者の HBs 抗原の消失をみた症例が報告されているが¹¹⁾、本例と同様に HBV を排除できなかった症例も報告されている¹²⁾。ドナー完全キメラにて HBs 抗体が検出されないのは、HBV ワクチン接種にて獲得させた免疫能では大量の HBV を排除するには不十分であり、HBs 抗体は産生されていても、微量で検出できないものと思われる。本例は AML が移植後も寛解を維持しており、HBV 感染はさらに長期に経過観察が可能であるので、今後の免疫能の推移では HBV の排除が期待される。

本例の概略は、日本赤十字社中央血液センター医薬情報部 輸血情報 0206-73 に報告されている。また、第 50 回日本輸血学会総会にて発表した。

文 献

- 1) 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.
- 2) 日本赤十字社中央血液センター医薬情報部：輸血情報，0010-62, 2000.
 - 3) 日本赤十字社中央血液センター医薬情報部：輸血情報，0206-73, 2002.
 - 4) 武田 正，藤野恵三，北橋 繁，村井順一郎，島悦子，日野雅之：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．日本輸血学会雑誌，48：485-489, 2002.
 - 5) 高橋雅彦：輸血後感染症のNAT導入後の発生状況と監視体制の重要性．血液事業，24：561-563, 2002.
 - 6) Report of the interorganizational task force on nucleic acid amplification testing of blood donors : Nucleic acid amplification testing of blood donors for transfusion-transmitted infectious diseases. *Transfusion*, 40 : 143-159, 2000.
 - 7) 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．日本輸血学会雑誌，44：152, 1998.
 - 8) Sato, S., Ohhashi, W., Ihara, H., Sakaya, S., Kato, T., Ikeda, H. : Comparison of the sensitivity of NAT using pooled donor samples for HBV and that of a serologic HBsAg assay. *Transfusion*, 41 : 1107-1113, 2001.
 - 9) 市田文弘，小島健一，吉川 明，竹内正七，徳永昭輝，鳥居裕一，吉沢浩志，松本脩三，富樫武弘，白木和夫，衛藤 隆，桜井迪朗，谷本 要，加納英行，溝上雅史，山本正彦，和田義郎，八神喜昭，折居忠夫，近藤直実，寺沢総介，山階 学，矢野右人，古賀満明，増本 義，久保田健二：B型肝炎ウイルスの母児間感染防止に対する抗HBs人免疫グロブリン製剤の効果について．肝胆膵，8：895-911, 1984.
 - 10) Reed, E.C., Myerson, D., Corey, L., Meyers, J.D. : Allogeneic marrow transplantation in patients positive for hepatitis B surface antigen. *Blood*, 77 : 195-200, 1991.
 - 11) Brugger, S.A., Oesterreicher, C., Hofmann, H., Kalhs, P., Greinix, H.T., Muller, C. : Hepatitis B virus clearance by transplantation of bone marrow from hepatitis B immunised donor. *Lancet*, 349 : 996-997, 1997.
 - 12) Lau, G.K.K., Lok, A.S.F., Liang, R.H.S., Lai, C.L., Chiu, E.K.W., Lau, Y.L., Lam, S.K. : Clearance of hepatitis B surface antigen after bone marrow transplantation : Role of adoptive immunity transfer. *Hepatology*, 25 : 1497-1501, 1997.
-