

## 輸血前血清を凍結保管していたことで B 型肝炎ウイルス再活性化の経過を調査しえた 1 例

紀野 修一<sup>1)</sup> 友田 豊<sup>1)</sup> 伊藤 玲美<sup>1)</sup> 洪佐 琴恵<sup>1)</sup> 葛西 眞一<sup>2)</sup>  
 生田 克哉<sup>3)</sup> 細木 卓明<sup>3)</sup> 佐藤 一也<sup>3)</sup> 鳥本 悦宏<sup>3)</sup> 高後 裕<sup>3)</sup>  
 森下 勝哉<sup>4)</sup> 佐藤進一郎<sup>4)</sup> 加藤 俊明<sup>4)</sup> 池田 久實<sup>4)</sup>

大量化学療法施行後に、B型肝炎ウイルス (HBV) が再活性化したと考えられる輸血患者を経験した。多発性骨髄腫と診断された 50 歳代の女性に対し自己末梢血幹細胞移植を含む大量化学療法を施行した際、赤血球濃厚液を 20 単位、血小板濃厚液を 305 単位使用した。治療 1 年後 (2005 年 9 月) に輸血後感染症検査を行ったところ、HBV-DNA が陽性であった。治療前 (2002 年 8 月) と輸血継続中 (2004 年 2 月) の HBs 抗原が陰性であったため、輸血による HBV 感染を疑い、2003 年 9 月から 2005 年 4 月までの患者保管検体 (合計 12 本) で検査を行った。輸血前 (2003 年 9 月) の検体では、HBsAg (-), HBsAb (+), HBV-DNA (-) であったが HBcAb (+) で、潜在性 HBV 感染と推定された。以降、2004 年 9 月までは同様の検査結果であったが、2005 年 4 月には HBs 抗原の陽性化とともに血清中に HBV-DNA が確認され、HBV の再活性化と診断。HBs 抗体の力価は、2003 年 9 月から行われた大量化学療法に一致し徐々に低下、2005 年 4 月には陰性化した。HBV 陽性の期間、ウイルス再活性化による肝炎は発症していない。輸血血液保管検体の個別核酸増幅検査はすべて陰性で、輸血による HBV 感染は否定された。本症例では輸血後感染症検査によって HBV 感染が初めて認識され、輸血前を含む保管検体の遡及調査で、HBV 再活性化にいたる変化を追跡し得た。輸血後にはじめてウイルス感染が確認された場合には、その原因をつきとめるために輸血前検体の保存が必須である。

キーワード：輸血前検体保管、輸血後感染症検査、HBV 再活性化、潜在性 HBV 感染

### はじめに

2004 年 9 月 17 日、厚生労働省通知により、「輸血療法の実施に関する指針」が一部改正され、B型肝炎ウイルス (HBV)、C型肝炎ウイルス (HCV)、ヒト後天性免疫不全症候群ウイルス (HIV) については、輸血による感染の有無を検査することが推奨された<sup>1)</sup>。

今回、輸血前の HBs 抗原が陰性であったが、輸血後の HBs 抗原と HBV-核酸増幅検査 (NAT) がともに陽性化し、潜在的 HBV 感染 (occult HBV infection) 症例の HBV 再活性化と推定される症例を経験した。本症例の HBV マーカーの変動を、輸血前、輸血継続中、輸血後の凍結保管血清を用いて、詳細に調査・検討できたので報告する。

### 症 例

症例は 50 歳代の女性。2003 年 8 月、感冒様症状で近医を受診した際に左胸部の腫脹を指摘された。当院での開放腫瘍生検、血液検査および骨髓穿刺により多発性骨髄腫と診断され、同年 9 月より血液内科で治療開始した。MP 療法を施行したが十分な効果を得られず、VAD 療法を 4 コース施行した (Fig.)。一度縮小した左前胸壁の腫瘍が再増大したため、MCNU-VMP 療法を 1 コース施行。2004 年 4 月に胸壁腫瘍に 30 グレイの放射線治療を施行した。5 月と 7 月にサイクロフォスファミド大量療法に顆粒球コロニー刺激因子を併用して自己末梢血造血幹細胞を採取し、9 月にメルファラン大量療法後に自己末梢血造血幹細胞移植を施行した。10 月の骨髓穿刺では形質細胞を認めず完全寛解と診断された。治療経過中 (2003 年 9 月から 2004 年 10 月) に

- 1) 旭川医科大学病院 臨床検査・輸血部 輸血・細胞療法部門
- 2) 旭川医科大学外科学講座 消化器病態外科学部門
- 3) 旭川医科大学内科学講座 消化器・血液腫瘍制御内科学分野
- 4) 北海道赤十字血液センター

〔受付日：2007 年 3 月 1 日，受理日：2007 年 4 月 17 日〕

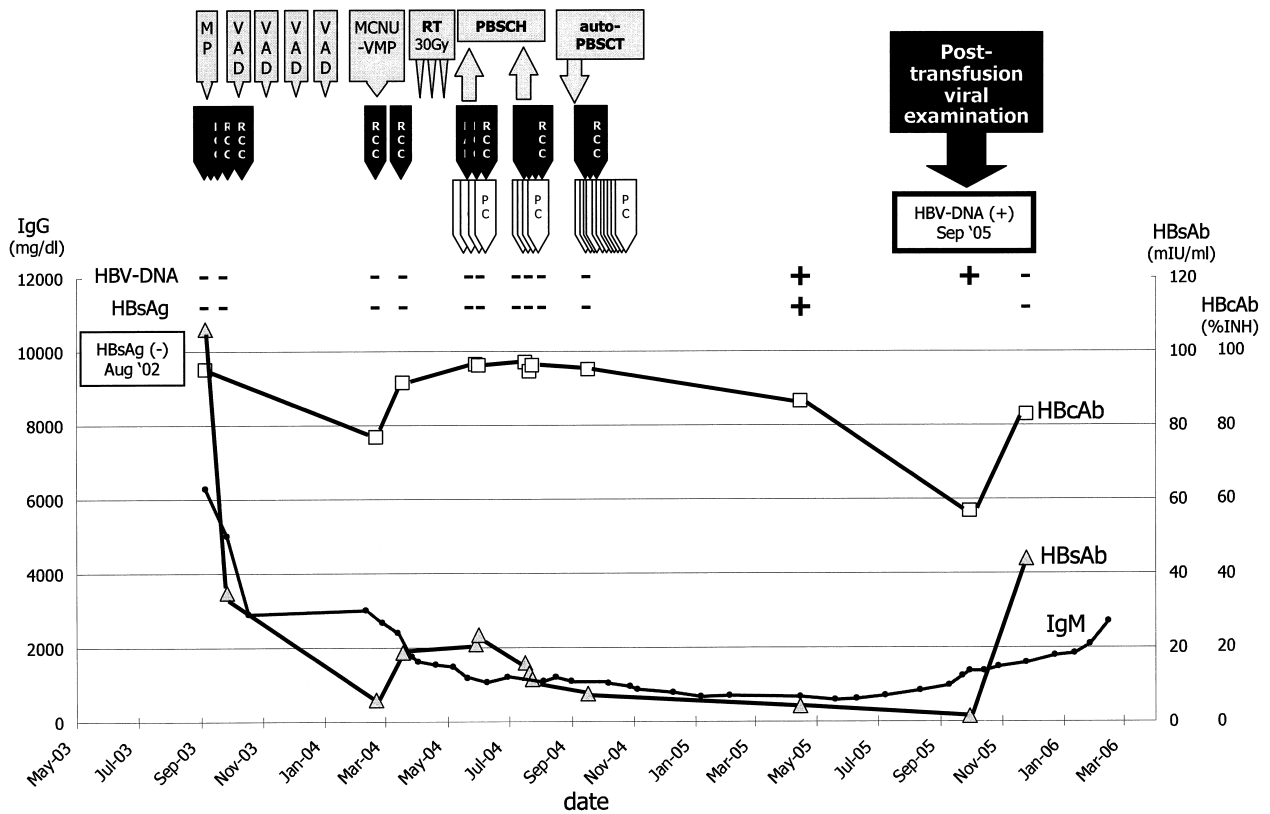


Fig. Clinical course and changes in HBV markers

From September 2003 to October 2004, she received platelet concentrates derived from 19 donors and red cell concentrates derived from 15 donors.

She underwent posttransfusion viral examination in September 2005. HBV was first detected in her blood sample.

According to records maintained at our hospital, she was HBsAg (-) in Aug 2002.

RCC; red cell concentrate

PC; platelet concentrate

MP; melphalan and prednisolone

VAD; vincristine-adriamycin-dexamethasone

MCNU-VMP; ranimustine, vindesine, melphalan, prednisolone

PBSCH; peripheral blood stem cell harvest

PBSCT; peripheral blood stem cell transplantation

RT; radiation therapy

(-); negative for HBV-DNA or HBsAg

(+); positive for HBV-DNA or HBsAg

赤血球濃厚液を 20 単位 (15 ドナー), 血小板濃厚液を 305 単位 (19 ドナー) 使用している (Fig.).

### 輸血前患者検体の保管

当院では, 輸血療法の実施に関する指針 (平成 11 年 6 月 10 日, 医薬発第 715 号)<sup>2)</sup>に基づき, 1999 年 8 月から交差適合試験の際に残った患者血清約 1ml を約 2 年間凍結保管している. 本症例においては, 12 本の患者血清が凍結保管されていた.

### 輸血後感染症検査実施体制

当院では 2005 年 7 月の輸血患者から, 日本赤十字社の全数調査の一環として, 輸血後感染症検査 (HBV-

NAT; nucleic acid amplification test, HCV-NAT, HIV-NAT)を開始した. また, 血液疾患などで継続的に輸血を受けている場合は, 3 カ月に 1 回をめぐり, 感染症検査を行う体制をスタートさせた. 本症例は多発性骨髄腫治療のため継続的に輸血を行っていた経過があるため, 2005 年 9 月輸血後感染症検査を行った (Fig.). HBV 関連マーカーの検査は北海道赤十字血液センターで実施した. HBs 抗原, HBs 抗体, HBe 抗体検査には, AxSYM<sup>®</sup> システム (Abbott) を用いた. HBs 抗原は 2.0 S/CO 以上, HBs 抗体は 5mIU/mL 以上, HBe 抗体は INH 50% 以上を陽性とした. HBV-NAT は日本赤十字社血漿分画センターにて行われ, 300 コピー/mL 以上を陽性とした.

また、輸血に用いられた製剤すべての個別 NAT を行った。

## 結 果

### 1. 患者血清 HBV 関連マーカーの変動

輸血前 (2002 年 8 月) に今回とは違う理由で本院を受診したときの検査では HBs 抗原が陰性であったが、2005 年 9 月の HBV-NAT は陽性であった。輸血による HBV 伝播を疑い、輸血前、輸血継続中、輸血後の患者保管検体 (全 12 検体) の遡及調査を行った。

1) 輸血前 (2003 年 9 月) の保管血清を調べたところ、HBs 抗原陰性、HBs 抗体陽性、HBV-NAT 陰性であったが、HBc 抗体陽性であり、患者は HBV の既往感染者であることが判明した (Fig.)。

2) 経過中の HBV マーカーの変動 (Fig.)

① HBc 抗体は全経過を通じ陽性であった。

② HBs 抗体価は輸血前 (2003 年 9 月) に 106mIU/mL であったが、2004 年 2 月の時点で陽性判定下限に近い 5.9mIU/mL まで低下した。その後、HBs 抗体価は一時的に 20mIU/mL 台まで上昇したが、2005 年 4 月には 4.3、2005 年 9 月には 1.4mIU/mL と低下し、その時期に一致して HBV-DNA は陽性となった。2005 年 11 月には、HBs 抗体価が再上昇し、HBs 抗原と HBV-DNA は陰性化した。

③ HBs 抗原は、HBs 抗体が陰性となった 2005 年 4 月に陽性 (7.08S/CO) となっていた。2005 年 9 月の HBs 抗原は検体量が足りないため測定されていない。

④ HBV-DNA が血中に出現していた期間の血清トランスアミナーゼや総ビリルビン値の上昇はなく、臨床的にも肝炎を疑う症状はなかった。

### 2. 供血者保管検体の個別 NAT

輸血に用いられた血液の個別 NAT はすべて陰性であった。

## 考 察

血清学的に HBs 抗原陰性、HBs 抗体陽性の患者が強力な化学療法、臓器移植、幹細胞移植などで免疫抑制状態になると、HBV が再活性化し血中に HBV が検出されるようになることがある<sup>3)</sup>。さらに、再活性化した HBV により肝炎を発症することがある<sup>4)~7)</sup>。

また、HBs 抗原が陰性化し HBs 抗体が出現しても、肝組織や末梢血単核細胞中に HBV-DNA の存在が証明され、HBV が複製している可能性が考えられている<sup>8)~11)</sup>。

本症例では、治療終了後約 1 年間経過した時点で行った輸血後感染症検査で、HBV-DNA 陽性の結果となり、この時点で初めて HBV 感染が確認された。輸血前の HBs 抗原が陰性であったため輸血による HBV 伝播を疑い、輸血前、輸血継続中、輸血後の患者保管血清を用いて

HBV マーカーを検査した。輸血前保管血清の検査結果では、HBs 抗体と HBc 抗体が陽性であったため、HBV の既感染であることが判明した。HBV マーカーの経時的变化を見ると、化学療法開始直後から HBs 抗体価は低下し、治療経過を通じ HBs 抗体価は輸血前に比べ低値であった。さらに治療終了後には HBs 抗体価は陰性化し、対照的に HBs 抗原が陽性化した。また、HBs 抗体価がカットオフ値未満に低下していた時期に HBV-DNA が陽性化していた。したがって、本症例では輸血前から潜在性 HBV 感染 (occult HBV infection) の状態にあったものが、大量化学療法と末梢血幹細胞移植を機として HBV の再活性化がおきたものと考えられる。

輸血前に陰性であった HBV が輸血後に陽転化した場合、検査結果が正しいことを確認できれば、その原因として輸血によるウイルス伝播、ウイルスの再活性化、院内または院外での接触感染などが考えられる。これらの可能性を鑑別し、輸血によるウイルス伝播か否かを証明するためには、輸血前の患者血清を凍結して保管しておくことが必須である。患者血清の保管ができない場合は、HBV 感染の既往を輸血前に確認するために HBs 抗体と HBc 抗体を検査する必要がある<sup>12)</sup>。潜在的 HBV 感染の場合は、HBs 抗体、HBc 抗体のいずれかが陽性のこともあるため、両者とも検査する必要があると思われる<sup>13)</sup>。したがって、入院時検査や手術前検査としてしばしば行われている HBs 抗原検査は医療従事者の針刺し事故対策や院内感染対策などには意味をもつであろうが、HBV 既往感染者が多く存在する我が国においては、輸血後患者において輸血を介した HBV 伝播があったか否かを調査するためには、HBs 抗原検査よりもむしろ輸血前に HBV 既往感染の有無をチェックするほうが重要であると思われる。輸血予定の患者に対しては、輸血前の血清を凍結保管するか、輸血前に HBs 抗体と HBc 抗体検査を実施し、その上で輸血後に HBV-DNA などの HBV 関連マーカーや肝機能を検査することが肝要である。

2004 年 4 月 1 日に生物由来製品感染等被害救済制度が創設され、生物由来製品を適正に使用したにもかかわらず、その製品が原因で感染症にかかり、入院治療が必要な程度の疾病や障害等の健康被害を受けた患者の救済が図られることになった。また、輸血療法の実施に関する指針では、輸血予定の患者に説明する項目として感染症救済制度と給付の条件、感染症検査の実施と検体保管について記述され、輸血前と輸血後に感染症検査を行うことが推奨されている<sup>11)2)</sup>。したがって、輸血後にウイルス感染が明らかになり、救済制度の対象となるためには、輸血による感染を証明できることが条件と考えられる。このように救済制度を意義あるものにするためにも、輸血患者の輸血前検体の保管は

必須と考えられる。

## 結 語

大量化学療法施行後に、HBV が再活性化したと考えられる輸血患者を経験した。本症例では輸血後感染症検査によってHBV 感染が初めて認識され、輸血前を含む保管検体の遡及調査で、HBV 再活性化にいたる変化を追跡し得た。大量化学療法による免疫抑制によってHBs 抗体産生が低下し、最終的にHBV の再活性化が生じたと推定される。輸血後にはじめてウイルス感染が確認された場合には、その原因をつきとめるために輸血前検体の保存が必須である。

## 文 献

- 1) 厚生労働省医薬食品局長：血小板製剤の使用適正化の推進及び「輸血療法の実施に関する指針」の一部改正について。薬食発第0917005号，2004。
- 2) 厚生省医薬安全局長：血液製剤の使用指針及び輸血療法の実施に関する指針について。医薬発第715号，2003。
- 3) 遠藤知之，澤田賢一，藤本勝也，他：HBs 抗体陽性患者における自家末梢血幹細胞移植後のB型肝炎ウイルス再活性化の検討。臨床血液，41：322—328，2000。
- 4) Goyama S, Kanda Y, Nannya Y, et al: Reverse seroconversion of hepatitis B virus after hematopoietic stem cell transplantation. *Leuk Lymphoma*, 43: 2159—2163, 2002.
- 5) Degos F, Lugassy C, Degott C, et al: Hepatitis B virus and hepatitis B-related viral infection in renal transplant recipients. *Gastroenterology*, 94: 151—156, 1988.
- 6) Webster A, Brenner MK, Prentice HG, et al: Fatal hepatitis B reactivation after autologous bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 4: 207—208, 1989.
- 7) Tsutsumi Y, Kawamura T, Saitoh S, et al: Hepatitis B virus reactivation in a case of non-Hodgkin's lymphoma treated with chemotherapy and rituximab: necessity of prophylaxis for hepatitis B virus reactivation in rituximab therapy. *Leuk Lymphoma*, 45: 627—629, 2004.
- 8) Kuhns M, McNamara A, Mason A, et al: Serum and liver hepatitis B virus DNA in chronic hepatitis B after sustained loss of surface antigen. *Gastroenterology*, 103: 1649—1656, 1992.
- 9) Fong T-L, Di Bisceglie AM, Gerber MA, et al: Persistence of hepatitis B virus DNA in the liver after loss of HBsAg in chronic hepatitis B. *Hepatology*, 18: 1313—1318, 1993.
- 10) Komori M, Yuki N, Nagaoka T, et al: Long-term clinical impact of occult hepatitis B virus infection in chronic hepatitis B patients. *J Hepatol*, 35: 798—804, 2001.
- 11) Mason A, Yoffe B, Noonan C, et al: Hepatitis B virus DNA in peripheral-blood mononuclear cells in chronic hepatitis B after HBsAg clearance. *Hepatology*, 16: 36—41, 1992.
- 12) 厚生労働省：血液製剤の使用にあたって，じほう，東京，2005。
- 13) Barasain C, Betes M, Panizo A, et al: Pathological and virological findings in patients with persistent hypertransaminasemia of unknown aetiology. *Gut*, 47: 429—435, 2000.

## REACTIVATION OF HEPATITIS B VIRUS (HBV) IN A MULTI-TRANSFUSED PATIENT —CONFIRMATION BY LOOK-BACK STUDY USING STORED SPECIMENS—

*Shuichi Kino*<sup>1)</sup>, *Yutaka Tomoda*<sup>1)</sup>, *Remi Ito*<sup>1)</sup>, *Kotoe Shibusa*<sup>1)</sup>, *Shinichi Kasai*<sup>2)</sup>, *Katsuya Ikuta*<sup>3)</sup>,  
*Takaaki Hosoki*<sup>3)</sup>, *Kazuya Sato*<sup>3)</sup>, *Yoshihiro Torimoto*<sup>3)</sup>, *Yutaka Kohgo*<sup>3)</sup>, *Katsuya Morishita*<sup>4)</sup>,  
*Shinichiro Sato*<sup>4)</sup>, *Toshiaki Kato*<sup>4)</sup> and *Hisami Ikeda*<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>Blood Transfusion and Cellular Therapy, Asahikawa Medical College Hospital

<sup>2)</sup>Gastroenterological Surgery, Asahikawa Medical College Hospital

<sup>3)</sup>Division of Gastroenterology and Hematology/Oncology, Department of Medicine, Asahikawa Medical College Hospital

<sup>4)</sup>Hokkaido Red Cross Blood Center

### **Abstract:**

Viral infection in the post-transfusion period is not always the result of the transfusion, especially if the patient has occult hepatitis B virus (HBV) infection. The look-back study using stored specimens of patients and blood donors is an effective way of confirming whether the infection occurred through transfusion or reactivation. We experienced a case of HBV reactivation in a multi-transfused patient after chemotherapy and peripheral blood stem cell transplantation (PBSCT), which could be confirmed by testing HBV markers with stored specimens both from the patient and blood donors.

A female patient with multiple myeloma in her 50s received intensive chemotherapy and autologous stem cell transplantation. Between Sep 2003 and Oct 2004, she received 305 units of platelet concentrates derived from 19 donors and 20 units of red cell concentrates derived from 15 donors.

One year after this intensive treatment, HBV was detected in her serum for the first time. Since she was HBsAg-negative at pretransfusion (August 2002), HBV transmission by transfusion was suspected. A pretransfusion specimen in September 2003 and 9 consecutive posttransfusion specimens were HBsAg (-), HBsAb (+), HBcAb (+) and HBV-DNA (-). All the stored specimens of the blood donors were negative for HBV-DNA. HBsAb reactivities of her specimens tended to decline and finally became undetectable in September 2005. Thus, it is highly likely that she had occult HBV infection in the pre-transfusion period and that her HBV was reactivated, probably by the chemotherapy and/or PBSCT.

### **Keywords:**

Look-back study, Stored specimens of patients in pretransfusion, Reactivation of HBV, Occult HBV infection