

本邦におけるヒトパルボウイルス B19 の輸血副作用発生状況と安全対策

松倉 晴道

キーワード：ヒトパルボウイルス B19, RHA, CLEIA, 輸血後感染, 安全対策

はじめに

ヒトパルボウイルス B19(B19V)は、1975年 Cossart らによってヒト血清中から発見され、この時の検体番号「B19」からウイルス名が命名された¹⁾。本邦では献血血液中に NAKATANI 抗原として見いだされていたものが B19V と同一であることが 1984 年大河内らによって報告された²⁾。

B19V は赤血球系前駆細胞～赤芽球に主に感染し、そのレセプターは赤血球型抗原の P 抗原(グロボシド)である³⁾。グロボシドは赤血球系のみならず巨核球、内皮細胞、胎盤、胎児肝、胎児心筋等にも存在する⁴⁾。P 抗原陰性者は B19V の感染に抵抗性を示し、P 抗原陰性血液は稀な血液型として頻度が極めて低い。また、B19V にはエンベロープが無いため有機溶剤や界面活性剤による不活化が困難であるが、5% または 25% ヒト血清アルブミンやリン酸緩衝液下での 60℃ 熱処理に対しては動物パルボウイルスと異なり *in vitro* での感染能失活が認められている⁵⁾。

主な感染経路は飛沫による経気道感染であり、まれに経胎盤による感染がある。B19 DNA は感染細胞の核内にエピゾームとして存在し、ウイルスの複製に伴って細胞障害が亢進し宿主細胞の破壊とともに増殖したウイルスが放出される。

B19V による代表的な疾患として幼児期では飛沫感染による伝染性紅斑(リンゴ病)がよく知られている。成人では、多発性関節炎、急性赤芽球癆、慢性骨髄不全、胎児水腫等がある。健常者の感染では軽度の感冒様症状のみで殆どが不顕性であるが、B19 抗体陰性の妊婦やその胎児、および臓器移植、白血病や悪性リンパ腫等への化学療法、AIDS に伴う免疫不全、溶血性貧血等で造血機能が亢進している患者は上記疾患が発症し易いと考えられる⁶⁾⁷⁾。

日本赤十字社血液センターでは、1997 年より献血血液の B19 抗原スクリーニング検査を開始し、輸血用血液および血漿分画製剤の原料血漿から B19 ウイルス血

症期と想定される血液を除外している。

本稿では、輸血後副作用調査による B19V 輸血感染疑い例の解析と血液センター研究グループによる献血者の B19V 関連マーカーの分布調査結果等をもとに、本邦における B19V 輸血感染による副作用の発生状況とその安全対策について述べる。

献血血液の B19V 検査

日本赤十字社血液センターでは 1997 年 9 月から RHA 法(Receptor mediated Hemagglutination Assay)により全献血血液の B19 抗原スクリーニング検査を開始した⁸⁾。これにより、輸血用血液および血漿分画製剤の原料血漿から、B19 ウイルス血症期と想定される血液を除外することが可能となった。2008 年より検査方法を CLEIA 法(Chemiluminescent Enzyme Immuno Assay)に変更し、検出感度はそれまでの約 10^{10} IU/ml から約 10^6 IU/ml に向上して現在に至っている⁹⁾。

なお、欧米ではミニプール NAT による B19 DNA のスクリーニング検査(検出感度： 10^{5-6} IU/ml)が実施されている¹⁰⁾¹¹⁾。

献血者における B19V 関連マーカーの分布は、血液センターの研究グループにより調査が行われ、それによる B19 抗原陽性率は、2001 年～2007 年の全国調査の結果、0.009% (RHA 法)と推定されている。年齢別陽性率は、18～19 歳：0.0055%、20 歳代：0.0061%、30 歳代：0.016%、40 歳代：0.012%、50 歳代：0.0035%、60 歳代：0.0028% で、30 歳代と 40 歳代が高値で男女差は認められていない¹²⁾。また、2008 年～2009 年に行われた調査では、献血者の年代、性別、献血時期を均等化して抽出し、B19 抗体と B19 DNA を測定した結果、B19 IgG 抗体陽性率は 50～60% で年代や男女差は認められていない。RHA 法で B19 抗原陰性群の B19 DNA 陽性率は 15% 前後で、この全例がウイルス量 10^3 IU/ml 以下かつ B19 IgG 抗体が陽性であった¹²⁾。一方、一般健常者の B19 DNA 陽性率は 0.2% という報告もある¹³⁾。

Table 1 Japanese Red Cross (JRC) to analyzed and evaluated suspected transfusion-transmitted B19 viral infectious cases reported voluntarily by medical institutions to JRC blood centers. With the case between 1997 and 2012, ten cases of B19 infection were confirmed by a positive viral nucleic acid test on a repository sample of the donation involved.

Case	Year	Patient profile	Before transfusion	After transfusion	Transfused components (repository samples)
1	2000	10 s teens, male ALL	DNA(-)	DNA(+)	DNA(+), IgM(+), IgG(+)
2	2002	60 s teens, male AML, After chemotherapy	DNA(-)	DNA(+)	DNA(+), IgM(+), IgG(+)
3	2002	70 s teens, male Malignant lymphoma	?	DNA(+), IgM(+)	DNA(+), IgM(+), IgG(+)
4	2002	20 s teens, female Hemolytic anemia	DNA(-)	DNA(+)	DNA(+), IgM(+), IgG(+)
5	2003	50 s teens, Female Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria	?	DNA(+), IgM(+)	DNA(+) 6.8×10^3 cp/ml, IgM(+), IgG(+)
6	2005	40 s teens, male Hairy cell leukemia, After chemotherapy	?	DNA(+)	DNA(+) 1.8×10^5 cp/ml, IgM(+), IgG(+)
7	2005	50 s teens, male AML, After chemotherapy	DNA(-) IgM(-), IgG(-)	DNA(+)	DNA(+) 9.7×10^8 cp/ml, IgM(+), IgG(-)
8	2005	30 s teens, female Placenta previa	DNA(-) IgM(-), IgG(-)	DNA(+)	DNA(+) 3.2×10^5 cp/ml, IgM(+), IgG(+)
9	2006	50 s teens, male Rectal cancer	DNA(-)	DNA(+) IgM(-)	DNA(+) 5.1×10^3 cp/ml, IgM(+), IgG(+)
10	2011	30 s teens, female Cesarean section	DNA(-) IgM(-), IgG(-)	DNA(+)	DNA(+), IgM(+), IgG(+)

Case	Symptoms and laboratory findings ¹⁵⁾
2	High fever, Disseminated erythema, Pure RBC aplasia (7 weeks), Reticulocytopenia
6	RBC aplasia (3 months), Reticulocytopenia (1 months), Viremia level of B19DNA: 1×10^{12} cp/ml
7	Pure RBC aplasia (approx. 2 months)
8	Fever, Systemic eruption (3 weeks)
9	Sustained high fever (5 days)

この原因の一つとして、B19V のアポトーシス誘導による感染細胞 DNA の断片化とともに、B19 DNA にも何らかの変化が生じた結果、B19DNA 測定時の増幅長の違いにより検出感度が異なる結果となったものと想定して、現在日本赤十字社血液センターで検討を進めている。

B19V 感染による輸血副作用の発生状況

1997 年 9 月より献血血液の B19 抗原スクリーニング検査を開始して以来、輸血後副作用調査の結果、2012 年までの 15 年余の間に 10 例の輸血後 B19V 感染疑い例が医療機関より報告された¹⁴⁾。これら 10 例のうち 7 例の受血者が輸血前の B19 DNA が陰性、3 例の受血者が不明であった。受血者の原疾患は 7 例が血液疾患関連、2 例が妊娠出産関連、1 例が悪性腫瘍であった。佐竹らは 10 例中 5 例の受血者 (Table 1 : Case 2, 6~9) について輸血後の症状を調査した結果、いずれの例も輸血後に発熱、貧血、網赤血球減少等が認められたが、これらの症状はその後回復している¹⁵⁾。

日本赤十字社では B19V のみならず輸血後感染症を含めた輸血副作用の原因究明のために、1996 年 9 月より全献血者の検体を 11 年間保管しており、これら 10 例

についても輸血血液に対応した保管検体の検査を実施した結果、全例に B19 DNA および B19 IgM 抗体が認められている (Table 1)。

B19V 輸血感染による副作用例の検証と今後の課題

過去 15 年余の間に輸血後 B19V 感染と疑われる副作用が 10 例発生し、それらの受血者の原疾患は 10 例中 7 例が血液疾患関連で他の 3 例も妊娠、悪性腫瘍であり、B19V 感染による副作用が発症し易い状態であったことが考えられる。

輸血された血液はすべて B19 DNA かつ B19 IgM 抗体陽性であり、献血時には B19V 感染の初期状態であったと考えられる。また、B19 DNA 陽性で B19 IgM, IgG 抗体が共に陰性の、感染の極初期状態と考えられる血液が輸血された事例は確認できなかった。

一方、B19 抗原陰性献血者群に存在する B19 DNA 陽性で IgM 抗体陰性かつ IgG 抗体陽性の血液による感染疑い例は認められていない。中和抗体については実際に免疫不全状態の B19V 感染患者に対して B19 抗体含有免疫グロブリン製剤による治療症例が報告されている¹⁶⁾。

また、B19V は 5 年前後の間隔で感染流行期が存在し、

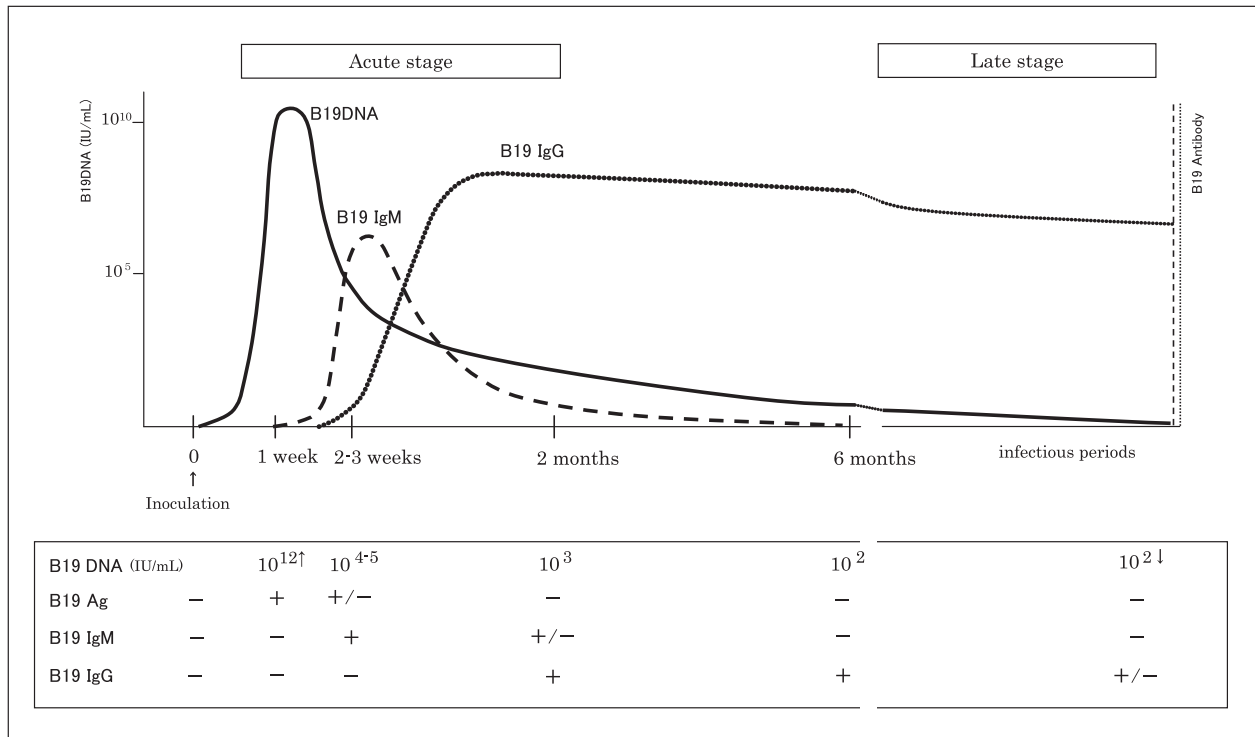


Fig. 1 A composite diagram of immune response to B19 DNA, B19 antigen, and B19 IgM, IgG during the acute and convalescence periods.

国立感染症研究所による伝染性紅斑発症の定点サーベイランス調査からも推測できる。B19V 感染流行期と 10 例の輸血後 B19V 感染疑い例の発生時期とを比較した結果、その関連性は認められなかった。

以上から、現在のスクリーニング体制における本邦の B19V 輸血感染による副作用の発生は、血液疾患等による免疫抑制下の状態にある患者に、B19 IgM 抗体陽性で B19 抗原が検出感度以下の感染初期の血液が輸血された場合が多いといえる。また、感染極初期の B19 IgM 抗体陰性期の輸血については、感染疑い事例の報告はないが念のため考慮する必要がある。

輸血後副作用調査による B19V 輸血感染と考えられる副作用の発生頻度は、RHA 法によるスクリーニング検査を実施した 1997 年～2007 年の約 10 年間で 9 例であったことから、当時は 1 年に 1 例程度の発生であったことがうかがえる。現在の頻度は、2008 年前半から B19 抗原検査の検出感度を向上して以来 2012 年までの間に、その疑い事例が 1 例確認された (Table 1, Case 10) ことから、概ね 4～5 年に 1 例であることが推測される。

一方、血漿分画製剤は、原料プール血漿中に含まれる B19 DNA 量が 10^4 IU/ml 以下であれば、最終製品による B19V 感染リスクが大幅に低減できることが 1999 年に米国 FDA から提言され¹⁷⁾、現在、本邦も含めた諸国でこの提言に沿った原料血漿のスクリーニング検査が実施されている。加えて、製造工程中でのウイルス

除去膜による処理やこれらの検証としてウイルスプロセスバリデーションが行われ、最終製剤中の B19 DNA が検出感度以下となっていることが確認されており¹⁸⁾、これらの製剤からの B19V 感染は認められていない。

B19V の輸血感染動態の概念を Fig.1 に示した。B19V は高ウイルス量を呈するウイルス血症の期間が短いため感染初期における検出感度以下のウィンドウ期間も他のウイルスに比べて短いと考えられる。血液センターではこの期間をできる限り短縮するため B19 抗原検査のさらなる検出感度向上にむけた検査試薬の改良を行っている。また、引き続き詳細な輸血副作用調査や B19V 感染動態の解析をふまえて B19 IgM 抗体検査の有用性についても検討の余地があると考えられる。

まとめ

日本赤十字社血液センターでは、1997 年 9 月より献血血液の B19 抗原スクリーニング検査を RHA 法により開始した。2008 年から検査方法を CLEIA 法に変更して検出感度の向上を図ったことにより、輸血後副作用調査による B19V 感染疑い例の副作用発生頻度は概ね 1 回/1 年から 1 回/4～5 年に改善した。

本来、B19V はその殆どが不顕性感染であり、これは輸血においても同様であると考えられるが、輸血後副作用調査の解析により B19V 感染と疑われる副作用報告が過去 15 年余の間に 10 例発生している。これらの受

血者のうち7例は血液疾患関連, 2例は妊娠出産関連で, その殆どがB19V感染後に副作用が発生し易い状況であった。また, 輸血された血液はすべてB19抗原検出感度以下, B19DNA陽性かつB19IgM抗体陽性の感染初期状態のものであった。

現在輸血用血液についてB19抗原検査のさらなる検出感度の向上にむけた検討を行っているが, 併せてB19IgM抗体検査の有用性についても今後の検討課題である。

著者のCOI開示: 本論文発表内容に関連して特に申告なし

文 献

- 1) Cossart YE, Cant B, Field AM, et al: Parvovirus-like particles in human serum. *Lancet*, i: 72—73, 1975.
- 2) Okochi K, Mori R, Miyazaki MB, et al: Nakatani antigen and human parvovirus (B19). *Lancet*, i: 664—665, 1981.
- 3) Brown KE, Anderson SM, Young NS: Erythrocyte P antigen: cellular receptor for B19 parvovirus. *Science*, 262: 114—117, 1993.
- 4) Brown KE, Hibbs JR, Gallinella G, et al: Resistance to parvovirus B19 infection due to lack of virus receptor (erythrocyte P antigen). *N Engl J Med*, 330: 1192—1196, 1994.
- 5) Yunoki M, Tsujikawa M, Urayama T, et al: Heat sensitivity of human parvovirus B19. *Vox Sang*, 84: 164—169, 2003.
- 6) Kutzman G, Ozawa K, Cohen B, et al: Chronic bone marrow failure due to persistent B19 parvovirus infection. *N Engl J Med*, 317: 287—294, 1987.
- 7) Young NS: B19 parvovirus. In: Young NS, ed, *Viruses and Bone Marrow: Basic Research and Clinical Practice*, Marcel Dekker, New York, 1993, 75—117.
- 8) Sato H, Takakura F, Kojima E, et al: Screening of blood donors for parvovirus B19. *Lancet*, 346: 1237—1238, 1995.
- 9) Sakata H, Matsubayashi K, Ihara H, et al: Impact of chemiluminescent enzyme immunoassay screening for human parvovirus B19 antigen in Japanese blood donors. *Transfusion*, 53: 2556—2566, 2013.
- 10) Schmit M, Themann A, Drexler C, et al: Blood donor screening for parvovirus B19 in Germany and Austria. *Transfusion*, 47: 1775—1782, 2007.
- 11) Steven H, Kleinman, Simone A, et al: A linked donor-recipient study to evaluate parvovirus B19 transmission by blood component transfusion. *Blood*, 114: 3677—3683, 2009.
- 12) 日本赤十字社ヒトパルボウイルス陰性血液の確保に関する研究グループ: 献血者におけるヒトパルボウイルスB19の分布状況. *血液事業*, 35: 232—238, 2012.
- 13) Ihara T, Furusyo N, Hayashi T, et al: A Population-based epidemiological survey of human parvovirus B19 infection: a project of the Kyushu and Okinawa Population Study (KOPS). *Arch Virol*, 158: 1465—1472, 2013.
- 14) Japanese Red Cross Haemovigilance Information: Transfusion Transmitted Infectious cases. 1997-2012.
- 15) Satake M, Hoshi Y, Taira R, et al: Symptomatic parvovirus B19 infection caused by blood component transfusion. *Transfusion*, 51: 1887—1895, 2011.
- 16) Kurtzman G, Frickhofen N, Kimball J, et al: Pure red-cell aplasia of 10 years duration due to persistent parvovirus B19 infection and its cure with immunoglobulin therapy. *N Engl J Med*, 321: 519—523, 1989.
- 17) Kevin E, Neal S, Barbara M, et al: Parvovirus B19: implications for transfusion medicine. Summary of a workshop. *Transfusion*, 41: 130—135, 2001.
- 18) Japanese Red Cross Haemovigilance Information: Transfusion information No.51, 1999.

POSTTRANSFUSIONAL SIDE EFFECT CAUSED BY HUMAN PARVOVIRUS B19 AND SAFETY MEASURES IN JAPAN

Harumichi Matsukura

Japanese Red Cross Kinki Block Blood Center

Keywords:

Parvovirus B19, RHA, CLEIA, Post transfusion infection, Safety measures