

血液製剤中の HBe 抗体保有率と輸血後のドナー由来の HBe 抗体の 血中動態について

中桐 逸博¹⁾ 岡井 美樹¹⁾ 仲井富久江¹⁾ 文屋 涼子¹⁾ 永井 智美¹⁾
松橋 佳子²⁾ 徳永 博俊²⁾ 田坂 大象²⁾ 通山 薫³⁾ 和田 秀穂¹⁾²⁾

当院において輸血により肝炎既往歴のない患者にドナー由来の HBe 抗体がもたらされた事例を経験したのを契機に、血液製剤中の HBe 抗体の保有率や投与された後の HBe 抗体の血中動態について検討した。新鮮凍結血漿 (FFP) 240 と濃厚血小板 (PC) 10 単位を合わせた血漿製剤 1,064 バックからの残余血漿をもとに HBe 抗体を求めたところ 24 バックの血漿中から HBe 抗体が検出され、HBe 抗体保有率は約 2.3% であった。輸血前に HBe 抗体が陰性であった 18 例について、ドナー由来の HBe 抗体陽性血漿製剤が輸血された後の血中 HBe 抗体の動態について検討したところ、血漿製剤中の HBe 抗体価が高い ($\times 10$ 希釈測定で HBe 抗体価が 50% Inhibition% 以上を示す) 製剤ほど、輸血後一過性に HBe 抗体が陽転化することが判明した。このような場合、特に患者が肝炎既往歴のないケースでは混迷を来すことになる。高力価の HBe 抗体陽性の血漿製剤が輸血された患者において、血液中の HBV DNA は全例陰性であり、HBc 抗体も低力価のため輸血後 HBV 感染は否定されるが、数カ月間 HBe 抗体が陽性となる場合があるため、検査結果の解釈に留意する必要がある。

キーワード：ドナー由来 HBe 抗体、輸血後、血漿製剤

はじめに

HBe 抗体は、B 型肝炎ウイルス (HBV) のコア蛋白の capsid 蛋白の 1 つである HBe 抗原に対する液性抗体である¹⁾。HBV 無症候性キャリアあるいは慢性 B 型肝炎患者の過半数以上は経過中に HBe 抗体陽性へと変わり (seroconversion)、感染性が低下し肝炎は鎮静安定化することが多いとされている^{1)~3)}。

日本赤十字社が製造する血液製剤に関しては既に B 型肝炎ウイルス関連マーカーの検査が施行されており、安全性が高められている。しかし、感染性はないものの日赤血液センターでは HBe 抗体は測定されておらず、ドナーが HBe 抗体を保有している場合には輸血により HBe 抗体が輸血患者に移行する。その結果、何らかの原因で輸血患者の HBe 抗体が測定される場合にはドナー由来の HBe 抗体の存在により B 型肝炎既往として見なされてしまうことが想定され、診療において輸血患者が不利益を被ることも予想される。今回、肝炎既往歴のない患者に、輸血によってドナー由来の HBe 抗体が検出された事例を経験したのを契機に、血液製剤中の HBe 抗体の保有率や投与された後の HBe 抗体の血中動

態について検討したので報告する。なお、本研究は川崎医科大学倫理委員会の承認を得て実施された (承認番号：2288)。

対象と方法

2016 年 1 月から 10 月までの 10 カ月間に当院で輸血が行われた後の回収バック中の残余血漿を対象に HBe 抗体価を測定した。内訳は FFP240 が 633 バック、PC10 が 431 バックであった。また、HBe 抗体価が陽性の血液製剤が輸血された患者の輸血前後の検体で HBe 抗体価を測定し、その後の抗体価の推移をみた。なお、入院時の患者検体は診療のための採血時に併せて 2~10 日毎に採取し、退院後は再来時に併せて 10~60 日毎に採取した。

HBe 抗体価はルミパルスプレスト (富士レボ社) による CLEIA 法により求めた。なお、HBe 抗体測定上のカットオフ値は 60 Inhibition% である。他の B 型肝炎ウイルス関連マーカーである HBs 抗原、HBs 抗体、HBc 抗体についても CLEIA 法で求めた。また、一部の症例については検出感度が 2.1 Log コピー/ml である RT-

1) 川崎医科大学附属病院輸血部

2) 川崎医科大学血液内科学

3) 川崎医科大学検査診断学

〔受付日：2017 年 9 月 5 日，受理日：2017 年 11 月 5 日〕

Table 1 Titers of anti-HBc and anti-HBs from 24 anti-HBe-positive blood products

Blood product	Lot No. *	Blood type	Anti-HBe (inh%)	Anti-HBc (C.O.I.)	Anti-HBs (mIU/ml)
FFP-LR240	-7729	A (+)	93.5	3.5	545.6
	-7452	A (+)	94.3	77.0	186.4
	-8013	A (+)	99.8	34.9	755.3
	-1468	A (+)	99.4	19.3	1,000.0
	-0254	O (+)	74.7	12.5	381.4
	-7636	O (+)	99.7	53.2	1,000.0
	-1709	B (+)	89.0	4.4	—
	-5151	B (+)	77.2	26.0	1,000.0
	-4787	B (+)	95.0	19.4	1,000.0
	-7824	B (+)	74.6	82.2	1,000.0
	# -4810	AB (+)	98.5	18.9	654.3
	# -1403	AB (+)	100.0	87.4	1,000.0
	-0861	AB (+)	99.0	43.0	775.4
	-1003	AB (+)	97.3	19.2	739.1
	# -1491	AB (+)	99.6	14.5	328.3
	PC-LR-10	# -6056	A (+)	100.0	80.7
-4478		O (+)	90.2	10.3	493.2
-7701		O (+)	84.4	11.7	1,000.0
-4059		O (+)	81.4	20.4	379.0
-7986		B (+)	70.8	53.1	155.3
# -6870		B (+)	92.1	41.2	846.3
# -2225		B (+)	100.0	144.0	783.0
-2198		AB (+)	99.0	77.2	303.8
-1208		AB (+)	60.6	44.5	1,000.0

#The plasma products, showed a transient increase in anti-HBe titer after transfusion.

*The last 4-digits of the product ID

PCRのTaqMan法(ロシユ・ダイアグノスティックス社)による高感度HBV DNAの検出を行なった。

結 果

1) 血漿製剤中のHBe抗体陽性率

血漿製剤であるFFP240では633バック中15バック、PC10は431バック中9バックがそれぞれHBe抗体が陽性(Inhibition%が60%以上)であり、HBe抗体検出率はFFP240バック中からは2.4%、PC10バック中からは2.1%で、血漿を含む製剤におけるHBe抗体陽性率は約2.3%であった。

2) HBe抗体陽性の血漿製剤のHBV関連マーカーの内訳と輸血された症例数

HBe抗体が検出された血漿製剤24バックの血漿中のHBV関連マーカーの内訳をTable 1に示す。HBe抗体陽性の製剤はFFP240が15バック、PC10は9バックで、輸血された症例は21例であった。24バックのHBe抗体陽性製剤についてはHBe抗体価の他にHBc抗体価およびHBs抗体価を求め、併記した。表中の“#”が付記した製剤は製剤は輸血患者に一過性にHBe抗体陽性をもたらしたものである。なお、HBe抗体陽性のFFP240が1バック投与された2例とHBe抗体陽性のFFP240とPC10の各1バックが輸血された1例の計3例は輸血前から患者自身のHBe抗体が陽性であったため、今回の検討対象から除いた。したがってHBe抗体陽性製剤が輸血され、輸血前のHBe抗体陰性であった18例を対象とし、輸血後の血中HBe抗体の動態について検討を行った。これら18例に輸血されたHBe抗体陽性

製剤の内訳は、FFP240では1バック輸血が10例、2バック輸血が1例、PC10では1バック輸血が6例、2バック輸血が1例であった。

3) HBe抗体陽性の血漿を含む製剤が輸血されたが、HBe抗体が陽性を示さなかった症例のHBe抗体価の推移

HBe抗体陽性のFFP240またはPC10が輸血された18例中、患者検体のHBe抗体が一度も陽性を示さなかった症例は13例であった。これら13例のHBe抗体価の推移をFig. 1に示した。13例共、輸血後に一過性にHBe抗体価の僅かな上昇を示すものの陰性域での推移であった。13例中1例は初回投与から16日目に再度HBe抗体陽性PC10が投与されたが、抗体価は陰性域での推移であった。

4) HBe抗体陽性の血漿製剤が輸血され、一過性にHBe抗体が陽性を示した症例のHBe抗体価の推移

HBe抗体陽性の製剤が輸血された18例のなかで、ドナー由来のHBe抗体により輸血後陽転化した症例はFFP240が1バック輸血された1例と2バック輸血された1例、PC10が1バック輸血された3例の計5例であった。

5例中3例[Case1:55歳女性、大動脈弁狭窄症兼閉鎖不全症(Fig. 2), Case2:48歳女性、再生不良性貧血(Fig. 3), Case3:55歳女性、多発性骨髄腫(Fig. 4)]はHBe抗体陽性のPC10が輸血され、その後数日間で一過性にHBe抗体が陽性となり、それ以降HBe抗体価は陰性となった。陰性域内で抗体価は減少傾向を示した。これら3例では、ドナー由来のHBc抗体やHBs抗体も

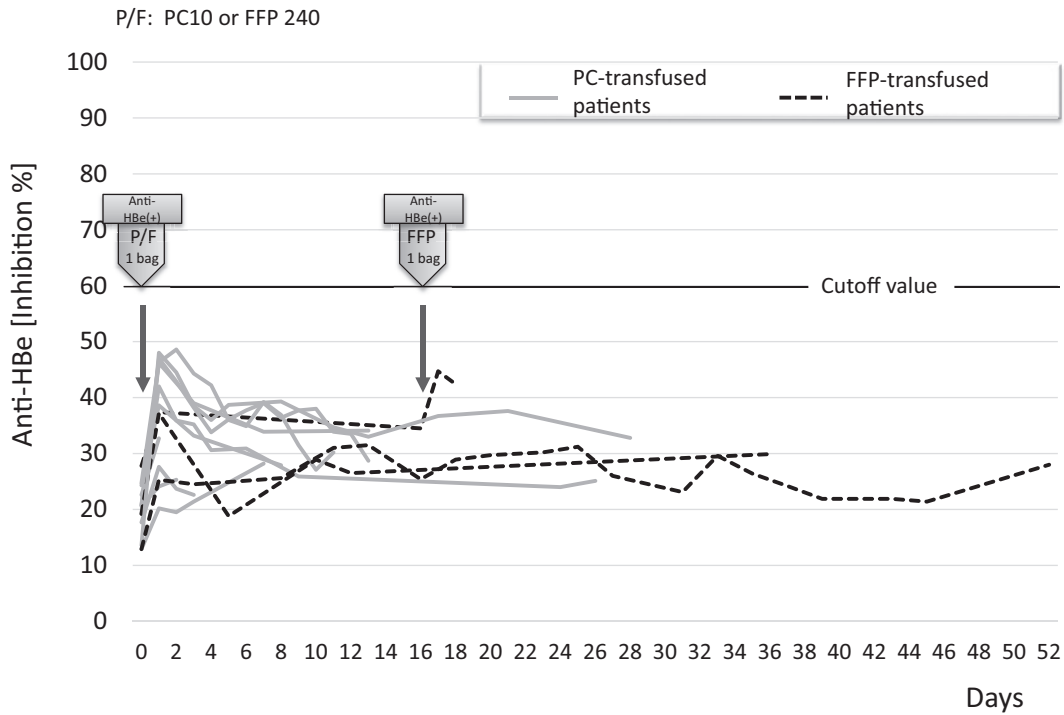


Fig. 1 Changes in anti-HBe titers in 13 cases after transfusion of anti-HBe-positive plasma products

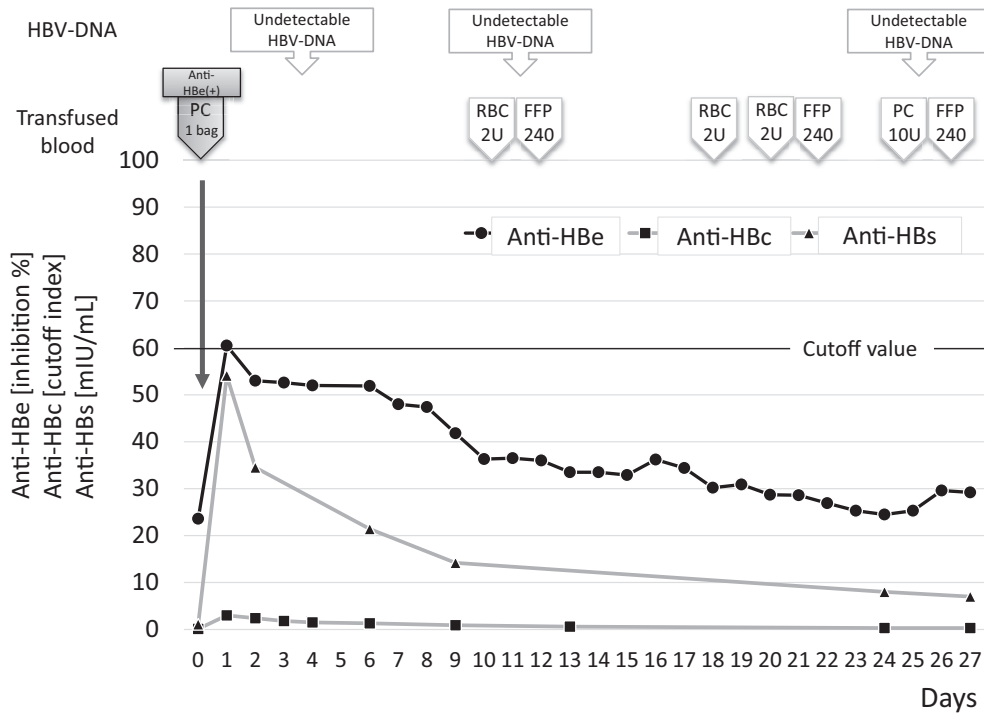


Fig. 2 Case1: 55-year-old female with aortic stenosis and closure deficiency

同時に移行しており、それらの抗体価も HBe 抗体と同様に経時的に減少した。なお、患者血液中からは一度も HBV DNA は検出されなかった。Case4〔68 歳男性、解離性大動脈瘤 (Fig.5)〕では、HBe 抗体陽性の FFP 240 を 1 バック輸血後、HBe 抗体は陽転化、数日後に陰

性になった。当該 FFP 輸血 4 日後に再度 HBe 抗体陽性の FFP240 を 1 バック輸血したところ HBe 抗体は再度陽転化した。HBe 抗体価は 14 日目ころからカットオフ値付近を推移し、35 日目ころから約 3 カ月間 HBe 抗体陽性が続き、その後陰転化した。その間、血液中の HBV

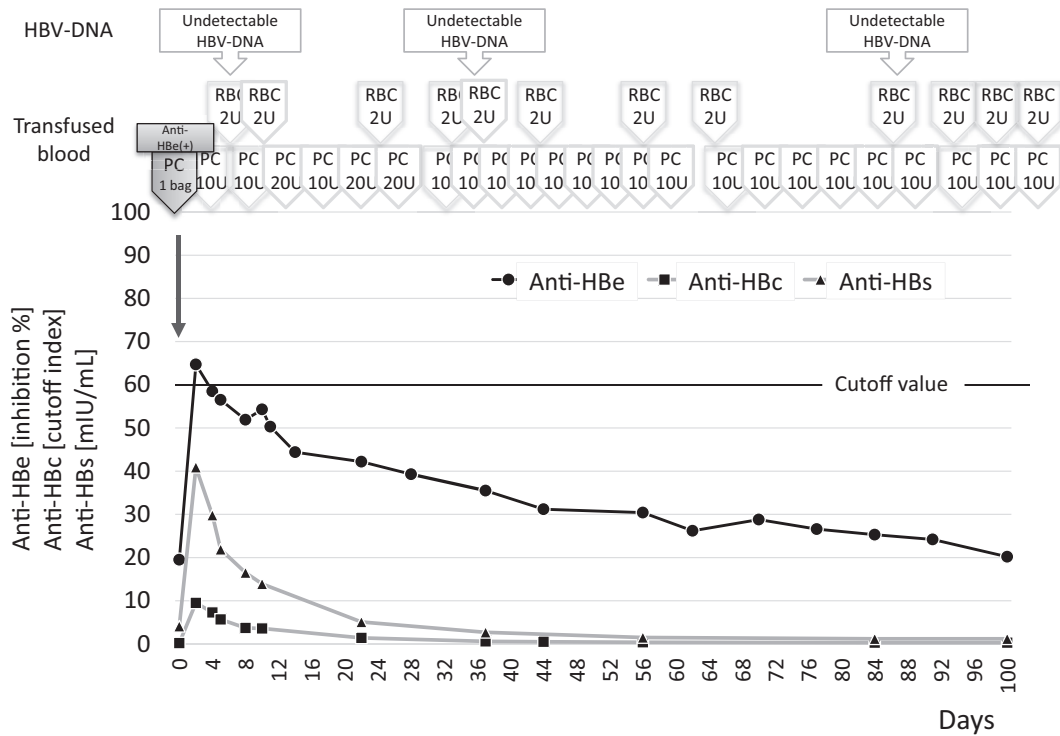


Fig. 3 Case2: 48-year-old female with aplastic anemia

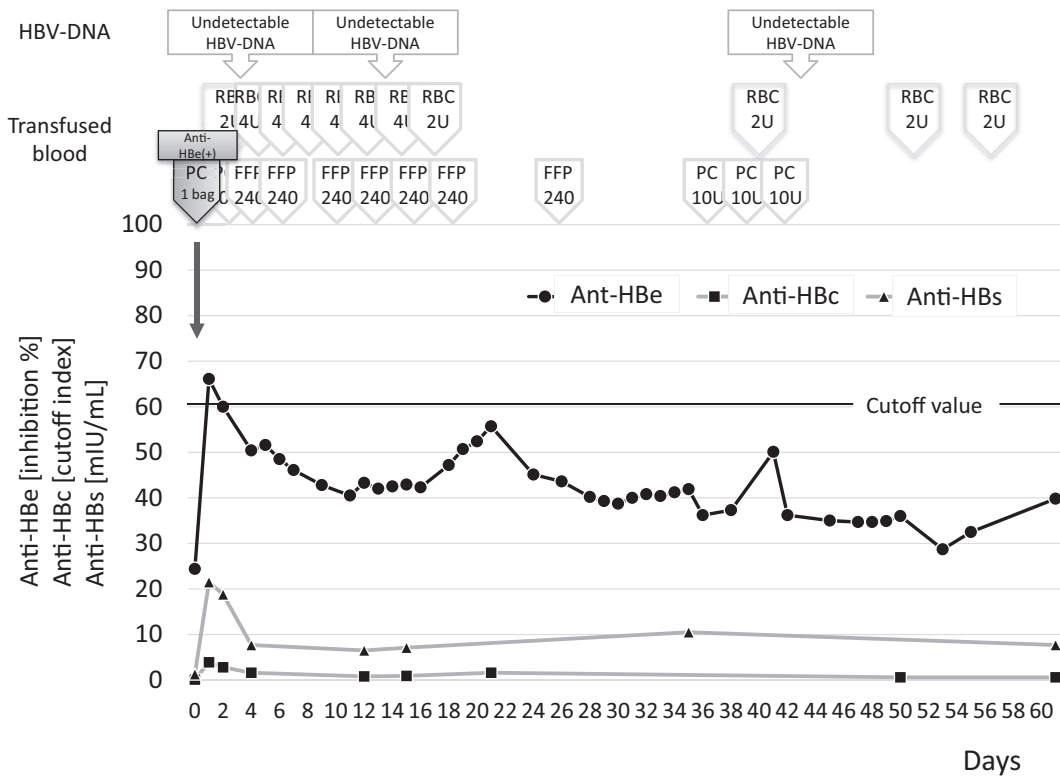


Fig. 4 Case3: 55-year-old female with multiple myelomas

DNA は常に陰性であった。 Case5〔61 歳男性， 食道癌 (Fig. 6)〕では HBe 抗体陽性 FFP240 を 1 バック投与後に HBe 抗体価は上昇を示したが， 陰性域で推移し， 32

日目ころから HBe 抗体が陽転化し， 約 2 カ月間陽性が続き， その後抗体価は低下していった。 この間， 血液中の HBV DNA は陰性であった。 検討期間中， Case4

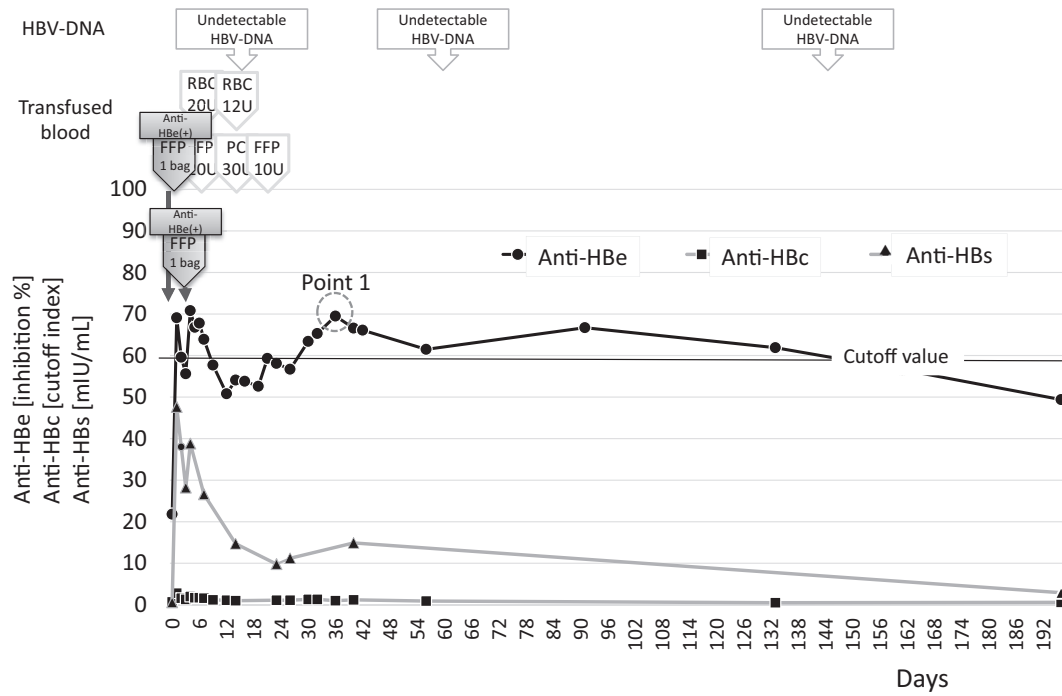


Fig. 5 Case4: 68-year-old male with dissecting aneurysm of the aorta

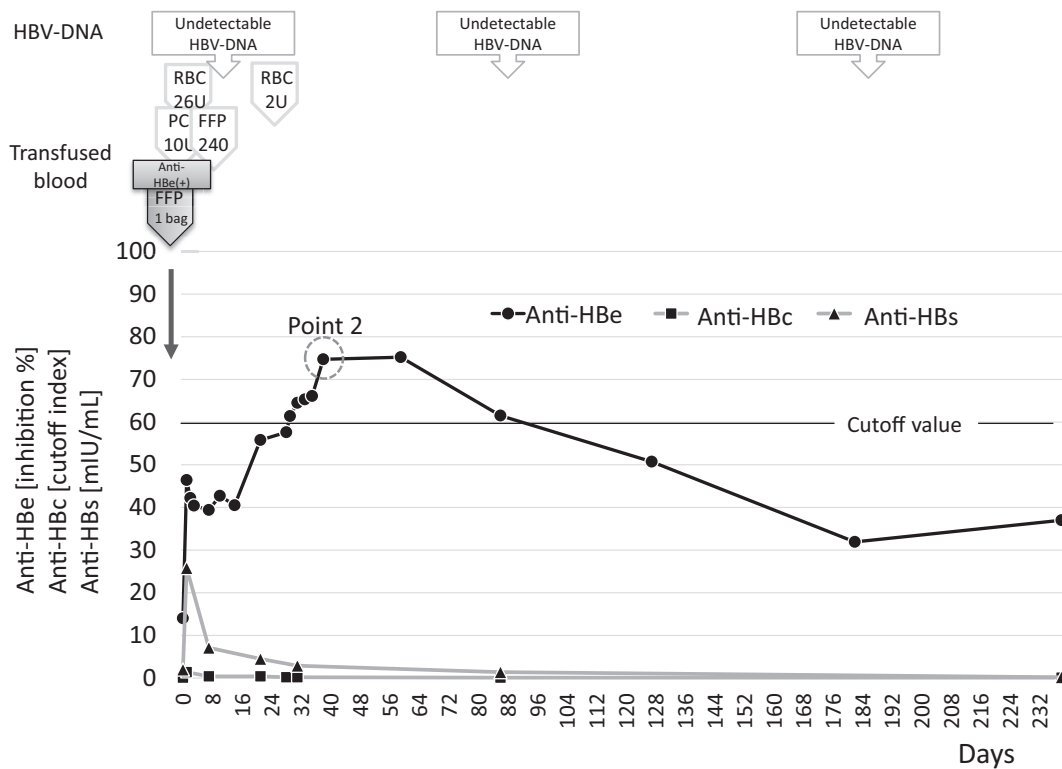


Fig. 6 Case5: 61-year-old male with esophageal cancer

および Case5 においてグロブリン製剤の投与はなかった。

5) 希釈測定による HBe 抗体価の精査

HBe 抗体が一過性に上昇し、陽性を示した Case1~

5 の 5 例の群と HBe 抗体が陽性を示さなかった 13 例の群とで、HBe 抗体をもたらした HBe 抗体価が陽性 (Inhibition% が 60% 以上) を示した血液製剤バック内の残余血漿について希釈 (×10) 測定をそれぞれ実施し、

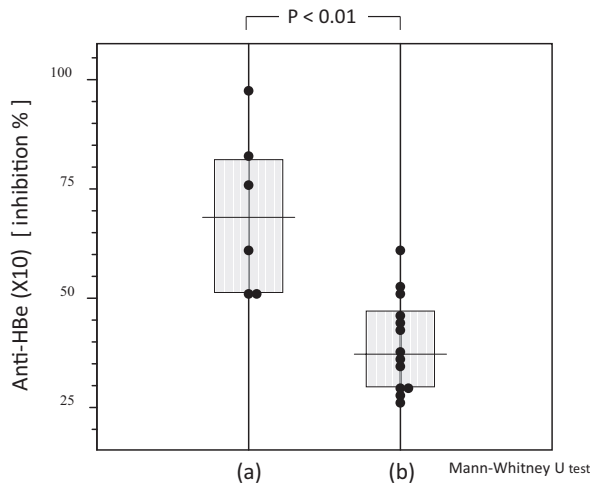


Fig. 7 Significant differences ($p < 0.01$) in anti-HBe titer were observed between patients whose anti-HBe titers remained in the positive range after transfusion of plasma products (a) and those whose anti-HBe titers were in the negative range (b)

HBe 抗体価の比較検討を行なった (Fig. 7). 各群の HBe 抗体価 ($\times 10$) について Mann-Whitney 検定を用い比較し, $p < 0.05$ を有意とした. その結果, HBe 抗体が陽性を示さなかった群の平均 HBe 抗体価は 31.2 Inhibition% であるのに対し, HBe 抗体出現群の平均 HBe 抗体価は 68.9 Inhibition% で, HBe 抗体出現群の HBe 抗体価が有意に高値であった.

6) HBe 抗原を用いた中和試験による HBe 抗体存在の検証

Case4 および Case5 では HBe 抗体の再上昇がみられた. HBe 抗体陽性製剤輸血後, HBe 抗体が再上昇を示した Case4 の 36 日目 (point1) と Case5 の 38 日目 (point 2) の HBe 抗体の特異性を立証するため, HBe 抗原陽性 (12 C.O.I.) 血清で中和試験を実施した. その結果, point1 および point2 の検体では共に 99.8% の HBe 抗原による中和率を示した.

考 察

日本赤十字社では, ドナー血のスクリーニング検査に個別 NAT を導入し, その結果輸血後 HBV 感染症は激減した⁴⁾. また, 平成 24 年 8 月には CLEIA 法を用いた「HBe 抗体検査・HBs 抗体検査」の判断基準が強化され, 「HBe 抗体 1.0 C.O.I. 以上かつ HBs 抗体価 200mIU/ml 未満」の HBV 感染既往を示す献血血液についても「不適」とすることで, 更に安全性の向上につなげている⁵⁾.

今回, 当院において輸血により肝炎既往歴のない患者にドナー由来の HBe 抗体がもたらされた事例を経験したのを契機に, 血液製剤中の HBe 抗体の保有率や投

与された後の HBe 抗体の血中動態について検討した.

FFP240 と PC10 を合わせた製剤 1,064 バックからの残余血漿をもとに HBe 抗体を求めたところ 24 バックの血漿中から HBe 抗体が検出され, 約 2.3% の HBe 抗体保有率であった. さらに HBe 抗体が陽性となったバック中の残余血漿について HBe 抗体, HBs 抗体を求めたところ日本赤十字社が示す判断基準内⁵⁾の測定結果であった.

HBe 抗体陽性製剤が輸血され, 輸血前 HBe 抗体が陰性であった 18 例について輸血後の血中 HBe 抗体の動態について検討を行なった. その内訳は HBe 抗体陽性 FFP 240 輸血例では 1 バック輸血が 10 例, 2 バック輸血が 1 例, HBe 抗体陽性 PC10 輸血例では 1 バック輸血が 6 例, 2 バック輸血が 1 例であった.

HBe 抗体は CLEIA 法では 60 Inhibition% 以上が陽性と判断される. なお, HBe 抗体価の上限は 100 Inhibition% であるが, 実際の高力価の HBe 抗体価は抗体過剰状態を呈していることが予想され, 実際原血漿 (原倍) 測定ではレンジオーバー等により正確な力価の判断が困難となる. したがって, 今回はバック中の原血漿を測定専用希釈液を用いて 10 倍希釈し検討した. その結果, HBe 抗体価が 60 Inhibition% 付近を呈する HBe 抗体陽性製剤が輸血された症例では, 一過性に HBe 抗体陽性となる可能性が示唆された. 本来患者自身の HBe 抗体価は低く陰性域だったところにドナー由来の HBe 抗体が同時に輸血されることで, HBe 抗体価は上昇を招くことになる. 低力価 HBe 抗体陽性 ($\times 10$ で HBe 抗体価が 60% Inhibition% 未満の陰性域値) の血漿製剤 (FFP240) 1 バックの輸血では HBe 抗体価の上昇は軽度であり, 陰性域を推移することが判明した. 高力価 HBe 抗体陽性 ($\times 10$ で HBe 抗体価が 60% Inhibition% 以上の陽性域値) の血漿製剤 (FFP240) 1 バックの輸血では Case1~3 のように輸血直後に一過性に HBe 抗体が陽性となり, その後数日で陰転化し, 輸血前の本来の患者自身の HBe 抗体価レベルに戻るのに 1~数カ月要することが判明した. Case1~3 では検討期間中経時的に輸血患者の血液中 HBV DNA を測定したが, いずれも陰性であった. また, Case4 のように HBe 抗体陽性血漿製剤を再度輸血され HBe 抗体価が陽性域を約 4 カ月推移する場合もみられた. 連続的に HBe 抗体陽性血漿製剤が輸血された場合には個体間の差はあるものの輸血前の患者自身の HBe 抗体レベルに復するには時間を要することが確認された. さらに Case5 では HBe 抗体陽性血漿製剤の輸血 1 カ月後から HBe 抗体が陽性となり約 2 カ月間陽性域を推移する場合があることも確認された. 輸血前の患者自身の HBe 抗体価レベルは低く, ドナー由来の高力価の HBe 抗体がもたらされた場合, HBe 抗体価は大きく上昇し, 個体によっては大

大きく変動する場合もあるが、その変動幅の起点がカットオフ値の 60 Inhibition%付近の場合も示唆される。B 型急性肝炎や慢性肝炎において、HBe 抗原から HBe 抗体へ seroconversion する症例では HBs 抗体価が上昇するまでにかかりの日数を要す⁶⁾。今回の HBe 抗体陽性血漿製剤中の HBs 抗体は高力価を示していた。そのため、残存する HBe 抗体は IgG クラスであることが想定される。ドナー由来の HBe 抗体が輸血患者の血液中に数カ月間残存するメカニズムの詳細については不明であるが、IgG 抗体の分解制御に働く neonatal Fc receptor (FcRn) の関与が示唆される⁷⁾。一般に IgG クラスの抗体の半減期は 20~23 日とされているが⁸⁾⁹⁾、FcRn が成体においても種々の組織に発現し⁷⁾、症例によっては HBe 抗体の Fc 領域に結合することで、リソソームでの分解が回避され、その結果数カ月間に及ぶ HBe 抗体残存に繋がっているのかも知れない。Case4 での二峰性にわたる HBe 抗体の出現や、Case5 における輸血 1 カ月後の HBe 抗体の出現については他に類似した報告例もなく、今回は動態の解明には至らなかった。なお、Case4 および Case5 の HBe 抗体の再上昇がみられた point1 と point2 での HBe 抗体の存在を立証するため、HBe 抗原による中和試験を行なったところ 99.8% の中和率を得たので、HBe 抗体であることが確認された。Case4 および Case5 においても検討期間中経時的に血液中の HBV DNA を測定したがいずれも陰性であった。

HBe 抗原陽性の慢性肝炎が長期に続くと肝硬変へ進行するが、多くの患者では HBe 抗体へ seroconversion し非活動性キャリアとなる。HBe 抗原陰性になると総じて予後が良いと考えられていたが、最近、逆に予後が悪い病態が報告され、重要な病気のひとつとして分類されている。この HBe 抗原陰性慢性肝炎は、HBe 抗原が抗体へ seroconversion しても HBV DNA 量が十分低下せず慢性肝炎が持続する場合や、一旦非活動性キャリアとなった後に肝炎の再活性化が起こる場合がある¹⁰⁾。今回の検討を通して HBV DNA はどの時期においても陰性であり、他の B 型肝炎マーカーも輸血後に一過性上昇を呈したのみで、それ以降低下していったことより、HBe 抗体陽性の血漿製剤による HBV 感染

は否定された。輸血により一時的に HBe 抗体が陽性となっても、体内で希釈、分解され消失するため、フォローアップとして検査する必要はないと考えられる。ただしドナー由来の HBe 抗体が輸血によって患者にもたらされることにより、患者が肝炎既往歴のない場合は臨床判断に迷うことになる。特に高力価の HBe 抗体陽性の血漿製剤の輸血により、数カ月間 HBe 抗体が陽性となる場合があるため、この間の検査結果の解釈に留意する必要がある。

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) 石塚英夫：検査項辞典、大塚製薬 大塚アッセイ研究所、東京、1999、772.
- 2) 藤本貴子、高沢佳江、松井 陽、他：小児 HBV キャリアの HBe 抗原 seroconversion の検討。肝臓、27 (1)：6—14、1986.
- 3) 岡 博：新編 肝疾患診断のチェックポイント、第 1 版、日本メディカルセンター、東京、1994.
- 4) 鈴木 光：輸血用血液の感染症検査の進歩、平成 26 年度赤十字血液シンポジウム 東北、日本赤十字社東北ブロック血液センター、2014、1—3.
- 5) 日本赤十字社：輸血用血液製剤の更なる安全対策の実施について、平成 24 年 8 月.
- 6) 日本消化器病学会 肝機能研究班：肝疾患における肝炎ウイルスマーカーの選択基準 (4 版)。日消誌、103：1403—1412、2006.
- 7) 石井明子、鈴木琢雄、多田 稔、他：抗体医薬品の体内動態制御に関わる受容体：FcRn。日薬理誌、136：280—284、2010.
- 8) Roitt IM., Brostoff J, Male DK.: Immunology 5th edition, C.V.Mosby, U.K, 1998.
- 9) Lobo ED., Hansen RJ., Balthasar JP.: Antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics. Journal of Pharmaceutical Sciences, 93 (11): 2645—2668, 2004.
- 10) 田中榮司：HBV ウイルスマーカーとその臨床応用。編者 溝上雅史、B 型肝炎最新治療コンセンサス、別冊医学のあゆみ、医歯薬出版、東京、2013、27—32.

KINETICS OF DONOR-DERIVED ANTI-HBe ANTIBODIES AFTER TRANSFUSION

*Itsuhiro Nakagiri*¹⁾, *Miki Okai*¹⁾, *Fukue Nakai*¹⁾, *Ryoko Bunya*¹⁾, *Satomi Nagai*¹⁾, *Yoshiko Matsuhashi*²⁾,
*Hirotohi Tokunaga*²⁾, *Taizo Tasaka*²⁾, *Kaoru Tohyama*³⁾ and *Hideho Wada*¹⁾²⁾

¹⁾Division of Transfusion, Kawasaki Medical School Hospital

²⁾Department of Hematology, Kawasaki Medical School

³⁾Department of Laboratory Medicine, Kawasaki Medical School

Abstract:

A patient without a prior history of hepatitis B was found to be positive for antibodies to the hepatitis B e antigen (anti-HBe) after blood transfusion. Several subsequent studies revealed that the anti-HBe positivity was donor-derived. This experience prompted us to conduct a study on the anti-HBe positivity in blood products and the blood kinetics of donor-derived anti-HBe after transfusion. We studied the positivity rate of anti-HBe in 1,064 bags of residual plasma of either 240 ml of fresh frozen plasma (FFP) or 10 units of platelet concentrate (PC). Anti-HBe was detected in 24 bags (2.3%), which were transfused to 18 anti-HBe-negative patients. We studied the kinetics of donor-derived anti-HBe in these 18 patients after transfusion. Anti-HBe positivity in these patients lasted more than three months but was transient, and higher anti-HBe titer transfusions were associated with higher detection rates of anti-HBe. All 18 patients were negative for hepatitis B virus DNA (HBV DNA) using the TaqMan gene expression assay and antibodies against the hepatitis B core antigen, suggesting that there was no possibility of transfusion-transmitted HBV infection. Our results indicate that careful consideration is required when interpreting positive anti-HBe results after transfusion.

Keywords:

donor-derived anti-HBe, post-transfusion, blood plasma preparation