

法を実施した。また、HBV DNA 定量は、ABI PRISM 7700 (Applied Biosystems)を使用して、松倉らの報告した S 領域のプライマーを用いて TaqMan-PCR 法により測定した。HBV DNA 濃度 (copies/ml)は日赤標準品 (branched-DNA assay で測定した表示値)を用いて算出した。

### C. 研究結果

献血者 540,161 例について現行の血清学的 HBV スクリーニング検査と高感度な化学発光免疫測定法 (CLIA 法)によるHBs抗原スクリーニングの並行試験を実施した結果を Table 1 に示した。CLIA 法陽性例は全部で 1,265 例 (0.23%)検出され、そのうち RPHA 法陽性は 837 例 (0.15%)、RPHA 法陰性は 428 例 (0.08%)であった。RPHA 法陰性 428 例中 251 例は現行の HI 法による HBc 抗体検査で輸血に使用不可と判定されていた。また、RPHA 法陰性 428 例中 177 例 (0.03%)は CLIA 法単独陽性例であったが、中和試験の結果、65 例 (0.01%)が陽性、112 例 (0.02%)は陰性であった。中和試験陽性 65 例について、S 領域 primer 及び C 領域 primer を用いた nested PCR を実施した結果、それぞれ 19 例及び 47 例の HBV DNA 陽性が検出された (Table 2)。中和試験陽性 65 例を血清学的 HBV マーカーによって 5 グル

ープに分類したところ、HBV 感染初期検体と考えられたのはグループ I の 8 例 (HBV DNA 陽性 8 例)、持続感染者と考えられたのはグループ II-IV の計 47 例 (HBV DNA 陽性 39 例)、ワクチン接種者と考えられたのはグループ V の 10 例 (HBV DNA 陰性)であった (Table 2)。グループ III はグループ I に近い検査成績であったが、献血者の追跡調査によっても HBV マーカー及びウイルス量には変化が認められず、初期感染とは考えにくいので持続感染者として分類した。持続感染者と考えられた 47 例 (0.008%)のうち HBV DNA が陽性を示した 39 例 (0.007%)のウイルス濃度は 100 copies/mL 未満と低かった。また、中和試験陰性の 112 例は全て HBV DNA 陰性であり、CLIA 法の偽陽性反応と考えられた。

一方、現行の HI 法による HBc 抗体検査で輸血使用不可と判定された CLIA 法陰性の献血者は 540,161 例中 14,963 例 (2.97%)存在した (Table 1)。そのうち 1,103 例に S 領域 primer を用いた nested PCR を実施した結果、12 例 (0.01%)に HBV DNA 陽性が検出された (グループ VI, VII)。この 12 例のウイルス濃度は 100 copies/mL 未満と低く、HBV 持続感染者と考えられた。

Table 1 Results of simultaneous screening by CLIA-HBsAg and Japanese Red Cross (JRC) HBV screening

	JRC HBV screening				Total
	RPHA (+)	RPHA (-)		Total	
		HI (+)	HI (-)		
CLIA-HBsAg (+)	837 (0.15%)	251 (0.05%)	177 (0.03%)	428 (0.08%)	1265 (0.23%)
neutralization (+)	837 (0.15%)	251 (0.05%)	65 (0.01%)	316 (0.06%)	1153 (0.21%)
neutralization (-)	0	0	112 (0.02%)	112 (0.02%)	112 (0.02%)
CLIA-HBsAg (-)	0	14,963 (2.97%)	523,933 (97.0%)	538,896 (99.8%)	538,896 (99.8%)

n = 540,161

Table 2 Grouping of the donor samples according to the HBV markers

group	n	HBsAg				HBV DNA by nested PCR					
		CLIA	anti-HBc		anti-HBe	S-region primer			C-region primer		
			HI titer	MEIA		MEIA	0.1mL	1.0mL	HBV DNA(+)	0.1mL	1.0mL
I	8	+	-	-	-	8/8	nt	8	8/8	nt	8
II	2	+	x16	+	+	2/2	nt	2	2/2	nt	2
III	42	+	≤x16	+	+/-	0/42	9/38	9	12/37	22/24	34
IV	3	+	-	-	-	0/3	0/3	0	0/3	3/3	3
V	10	+	-	-/+	-	0/10	0/8	0	0/9	0/8	0
Total	65					10/65*	9/49	19	22/59	25/35	47
VI	(1103)	-	≥x32	+	+	8/1103	nt	8	nt	nt	nt
VII		-	≥x32	+	+	0/1095	4/1095	4	nt	nt	nt
Total	1103					8/1103	4/1095	12	nt	nt	nt

\* No. of positive/No. of tested (no overlapping of positive number), nt: not tested

## D. 考察

今回、調査対象とした献血者 540,161 例における HBs 抗原陽性率をみると、CLIA 法では 1,265 例 (0.23%) が陽性を示したが、中和試験及び HBV DNA 検査の結果により 112 例 (0.02%) は偽陽性反応と考えられた。したがって、これらの 112 例を除外して計算すると真の CLIA 法陽性例は 1,153 例 (0.21%) であった。そのうち RPHA 法陽性は 837 例 (0.15%)、RPHA 法陰性は 316 例 (0.06%) であった。この検出率の差は検出感度の違いによって生じたと考えられる。ただし、RPHA 法陰性の 316 例中 251 例は HI 法による HBc 抗体スクリーニングで輸血に使用不可と判定されていた。したがって、現行 HBV スクリーニングで検出できなかったが、CLIA 法により検出された HBs 抗原陽性例は 65 例 (0.01%) であった。この 65 例を血清学的 HBV マーカーによって分類したところ、HBV 感染初期検体と考えられたのはグループ I の 8 例 (HBV DNA 陽性 8 例)、持続感染者と考えられたのはグループ II ~ IV の 47 例 (HBV DNA 陽性 39 例)、ワクチン接種者と考えられたのはグループ V の 10 例 (HBV DNA 陰性) であった (Table 2)。高感度 HBs 抗原スクリーニングは HBV 感染初期の検出にも有効であった (Table 2, グループ I)。持続感染を疑われた 47 例 (0.008%) 中、44 例 (グループ II 及び III) は HBc 抗体が陽性であった。また、47 例のうち HBV DNA が陽性を示した 39 例 (グループ II は 2 例中 2 例、III は 42 例中 34 例、IV は 3 例中 3 例) のウイルス濃度は 100 copies/mL 未満と低かった。残りの 8 例は HBV DNA は検出されなかったが、HBs 抗原が陽性であることからウイルス量が極めて微量であるために PCR 法では陽性を示さなかったと推察される。この成績は CLIA 法で検出された HBs 抗原弱陽性献血者の大部分は未だ感染が完全に終息していない low viremic carrier であることを示唆している。

一方、現行の HI 法による HBc 抗体検査で輸血使用不可と判定された献血者 14963 例のうち、無作為に抽出した 1,103 例を PCR 法で検査したところ、12 例 (0.01%) に HBV DNA 陽性が検出され、そのウイルス濃度は 100 copies/mL 未満と低かった (Table 2)。この成績は HBs 抗原陰性/HBc 抗体陽性献血者の一部は未だ感染が完全に終息していない low viremic carrier であることを示唆している。

日赤では 1989 年に輸血後肝炎を減少させるため献血者血液の HBc 抗体スクリーニングを導入したが、それが有効であった事実は上述の成績からも裏付けられる。しかし、これらの low viremic HBV carrier はウイルス量が極めて微量 (100 copies/mL 未満) であるため、ミニプール検体を用いた核酸増幅検査では検出できないと考えられる。実際に検体を 2 倍連続希釈して PCR 法を実施したが、2 倍希釈

でもすべて陰性となった。これらの low viremic HBV carrier 血液が輸血によって感染するか否かについては明らかでないが、感染リスクとして残存しているため輸血用血液から排除しなければならないと考えられる。

## E. 結論

高感度 HBs 抗原スクリーニングを用いることではじめて検出可能な low viremic carrier の頻度は 0.008% 程度であり、それによる HBV 感染リスクは未だ残存していると考えられた。ただし、その頻度はわが国における HBV 感染の浸透度によって地域的な違いがあると考えられる。また、HBs 抗原陰性であるが HBc 抗体スクリーニングで排除している献血血液の中にも 0.01% 程度の low viremic carrier の存在が確認された。これらの low viremic HBV carrier はウイルス量が微量であるため、ミニプール検体を用いた核酸増幅検査では検出できないと考えられ、輸血用血液の安全性を高めるためには、高感度 HBs 抗原スクリーニングの導入と HBc 抗体スクリーニングの継続的実施が必要である。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Sekiguchi S, Sato S, Kato T, Ikeda H: Effectiveness of a highly sensitive chemiluminescent immunoassay in screening for hepatitis B surface antigen in Japanese blood donors. *Transfusion*, 39:660-661. 1999.

池田久實: 献血者ウイルススクリーニングにおける血清学検査と核酸増幅検査. *日輪会誌*, 45:923-925. 1999.

佐藤進一郎, 加藤俊明, 池田久實: 高感度 HBs 抗原スクリーニングの有効性①. *血液事業*. 23:141-143. 2000.

Sato S, Ohhashi W, Ihara H, Sakaya S, Kato T, Ikeda H: Sensitivity of nucleic acid amplification testing (NAT) using pooled donor samples for hepatitis B virus compared to a HBs antigen assay. *Transfusion*, (submitted), 2001.

### 2. 学会発表

52nd Annual Meeting of the American Association of Blood Banks

Ikeda H, Sato S, Ihara H, Sakaya S, Kato T: Sensitivity of nucleic acid amplification testing using pooled donor samples for hepatitis B virus compared to a serological hepatitis B surface antigen assay. *Transfusion*, (abstract), 39:P18-P 1999.

第 48 回日本輸血学会総会

加藤俊明, 佐藤進一郎, 伊原弘美, 酒谷真一, 池田久實: プール検体を用いた HBV 核酸増幅検査と高感度 HBs 抗原検査における検出感度の比較検討. *日輪会誌 (抄録)*, 46:209, 2000.

第 48 回日本輸血学会総会

佐藤進一郎, 伊原弘美, 酒谷真一, 加藤俊明, 池田久實: 献血者血液スクリーニングにおける高感度 HBs 抗原検査の意義. 日輸会誌 (抄録), 46:209, 2000.

26th Congress of the International Society of Blood Transfusion

Ikeda H, Sato S, Ihara H, Sakaya S, Kato: A serological HBV testing for the detection of low viremic carriers in donor screening. Vox Sang (Abstract)78(suppl 1), P364, 2000.

**G. 知的所有権の取得状況**

該当無し