

厚生労働科学研究費補助金
肝炎等克服緊急対策研究事業

輸血後肝炎に関する研究

平成14年度 総括・分担 研究報告書

主任研究者 菊地 秀

平成15(2003)年 3月

厚生労働科学研究費補助金

肝炎等克服緊急対策研究事業

輸血後肝炎に関する研究

平成14年度 総括・分担 研究報告書

主任研究者 菊地 秀

平成15(2003)年 3月

輸血後肝炎に関する研究

班員名簿

| | | | |
|----|-------|--|----------|
| 班長 | 菊地 秀 | 国立郡山病院 | 院 長 |
| 班員 | 稲葉 頌一 | 九州大学医学部 輸血部 | 講 師 |
| | 上司 裕史 | 国立療養所東京病院 消化器科 | 医 師 |
| | 清澤 研道 | 信州大学医学部 第2内科 | 教授 兼 病院長 |
| | 小西 奎子 | 国立金沢病院 臨床検査科 | 科 長 |
| | 佐藤 裕二 | 北海道大学医学部 第1外科 | 助教授 |
| | 鈴木 哲朗 | 国立感染症研究所 ウイルス第二部第4室 | 室 長 |
| | 瀧本 真 | 兵庫県立総合リハビリテーションセンター リハビリテーション中央病院 麻酔科 | 部 長 |
| | 田中 英夫 | 大阪府立成人病センター 調査部 | 課長補佐 |
| | 中島 一格 | 日本赤十字社 中央血液センター | 副所長 |
| | 藤井 壽一 | 東京女子医科大学 輸血・細胞プロセッシング部 | 教 授 |
| | 枝元 良広 | 国立国際医療センター 外科 | 医 師 |

目 次

I. 総括研究報告書

| | | |
|------|-------------|---|
| 菊地 秀 | 輸血後肝炎に関する研究 | 1 |
|------|-------------|---|

II. 分担研究報告書

| | | |
|-----------|---|----|
| 1. 稲葉 頌一 | 九州大学附属病院での輸血後肝炎発生状況 | 9 |
| 2. 上司 裕史 | 国立療養所東京病院における輸血後肝炎の実態調査 | 17 |
| 3. 清澤 研道 | 本邦における HEV 抗体測定による HEV 感染についての疫学的検討 — 輸血による E 型肝炎感染を踏まえて — | 20 |
| 4. 小西 奎子 | 輸血後肝炎の発生状況および E 型肝炎ウイルスと輸血との関わり | 23 |
| 5. 佐藤 裕二 | 輸血後感染症報告と輸血後肝機能障害に関する研究 | 26 |
| 6. 鈴木 哲朗 | 輸血後肝炎における TT ウイルス抗体及び E 型肝炎ウイルス抗体の臨床的意義 | 30 |
| 7. 瀧本 眞 | 輸血後肝炎の発症状況と TTV の関与 および輸血用血液製剤における NAT 陽性例の検討 | 35 |
| 8. 田中 英夫 | NAT 導入後のウインドウ期献血による HCV 偽陰性判定確率の推計、大阪 — 他先進国との比較 — | 44 |
| 9. 中島 一格 | 医療機関からの副作用・感染症報告の解析 | 48 |
| 10. 藤井 壽一 | 心臓外科手術症例における輸血後肝炎の発生調査 | 55 |
| 11. 枝元 良広 | 当科における輸血後肝炎発生に関する研究 | 70 |
| 12. 菊地 秀 | 国立仙台病院における輸血後肝炎の発生状況と供血者血漿中の E 型肝炎ウイルス抗体検出に関する研究 | 72 |

I. 総括研究報告書

輸血後肝炎に関する研究

総括研究報告書

主任研究者: 菊地 秀（国立郡山病院院長）

研究要旨：本研究は過去 20 数年にわたる輸血後肝炎の発生調査に連なるものであり、その目的は輸血による肝炎を可能な限り減少更には撲滅させ、輸血医療を向上させることにある。このような目的に沿い、1) 輸血後肝炎の発生調査と非 B 非 C 型肝炎の解析、2) 献血血液スクリーニングにおける NAT の評価、3) 輸血後 TTV 感染の臨床的検討及び TTV の抗体・抗原の免疫学的検査法の開発とその臨床的応用、4) ウインドウ期肝炎ウイルス感染者の献血行動を制限するための推計学的検討、5) 健常人及び非健常人における E 型肝炎ウイルス(HEV)抗体の検出などを目標として研究を行った。このうち HEV 抗体の測定は、昨年本邦で初めて輸血による E 型肝炎の発生が見られたことから急遽本年度の研究目標に追加したものである。

輸血後肝炎発生調査、いわゆる定点観測に加わっている 8 施設における平成 12 年（2000 年）、平成 13 年（2001 年）、平成 14 年（2002 年）の輸血後肝炎発生率はそれぞれ 0.57%（検索症例 1046 例中 6 例）、0.46%（同 648 例中 3 例）、0.7%（同 532 例中 4 例）で、この 3 年間では 0.6%（検索症例 2226 例中 13 例）ですべて非 B 非 C 型であり、このうち 3 例からは TTV が検出された。NAT 導入前に比較して 0.3%減少しており NAT スクリーニングが輸血後肝炎防止に大いに有効であると考えられる。

班員施設の一つである日赤からの報告でも、50 プール NAT 採用後は C 型肝炎の発生は認められず、平成 14 年に輸血による肝炎と断定されたのは B 型肝炎の 8 例と E 型肝炎の 1 例、計 9 例で、原因が判明した中ではウインドウ期献血者の採血によるものが多かった。兵庫県の日赤血液センターにおける 50 プール NAT での HBV 陽性頻度は 628,036 人中 13 例（1/4.8 万人）、HCV のそれは 1 例のみだった。

当班の輸血後肝炎例で TTV が検出された 3 例中 2 例は PCR 法による TTV-DNA の検討の結果明らかに輸血血液による TTV 感染例と認められた。しかし、TTV と肝病態の関係については未知な点も多く、今後症例を重ねて検討する必要がある。そのためにも当研究班での TTV の抗体・抗原の免疫学的検査法（ELISA 法）の確立は朗報ではあるが、実際の症例ではなお PCR 法での測定結果と若干の乖離が認められ、その原因の解析が続行中である。

NAT と言えどもウインドウ期の肝炎ウイルスキャリアをすべて排除することは不可能である。従って感染防止対策を立てる上でそのようなキャリアがどの位存在しているかを知っていることも必要である。実際の集計では若年者のリピートドナーに多かったが、Incidence Rate/window period model を用いてリスク推計をしたところ、大阪地域でのミニプール NAT 導入後のウインドウ期献血による HCV 偽陰性判定確立は 100 万検体当たり 1.0~1.8 本と推計され、他の先進諸国と大差は無かった。今後このようなリスク推計を継続して安全性の維持に努める一方、若年者のリピートドナーの献血を控えさせるような対策も必要になると考える。

また、健常人・非健常人の HEV 抗体を測定した。これまでのところ献血者や輸血後の患者からは IgM-HEV 抗体は検出されなかった。しかし、健常人の中に、約 5%の E 型肝炎感染の既往者が認められ、更に IgM 型抗体陽性者が 0.4%であったことから、わが国でも E 型肝炎の潜在が示唆され輸血後肝炎の原因になり得ると考えられた。今後も症例を増やして調査し、献血者における HEV スクリーニングの是非についても検討したい。

A. 研究目的

この研究の目的は輸血による肝炎を可能な限り減少させ、もって国民の輸血医療を向上させることにある。そのためには輸血後肝炎の発生を調査し、発生が見られた際にはその発生因子と防止手段を探り、その防止策を評

価する必要がある（輸血後肝炎の発生調査と非 B 非 C 型肝炎の解析）。幸いにも平成 11 年 10 月に供血者スクリーニングに NAT を導入してから輸血後肝炎は激減し、特に輸血による C 型肝炎は殆んど認められなくなった。しかし、

NATと言えどもウィンドウ期を零にすることは不可能である。平成13年には、日赤の調査で輸血による感染の可能性有りとされたものはHBVによる7例であった。50プール血清でもNATをすり抜ける低力価の感染性因子の有無を調査し、1因子でもあればその原因を徹底的に解明せずして輸血の安全はない（献血血液スクリーニングにおけるNATの評価）。

現在、献血者スクリーニングがなされていないG型肝炎ウイルス(HGV)やTTVは、最近では肝炎ウイルスとしては否定的であるが、非B非C型の輸血後肝炎例で、ALTの上昇とTTV DNAの出現とが並行する症例も存在することから、TTV感染と肝障害との関連が指摘されている。TTVが人体にとって本当に無害か否かは、臨床例でもう少しその病態を検討する必要がある。そのためにはPCR法に頼らない簡便なアッセイ法が是非必要で、当研究班の班員施設で開発されつつあるTTV検出用ELISA系が臨床に応用出来、これらの疑問点が明らかになれば安全な輸血に向けて一歩踏み出すことができる（輸血後TTV感染の臨床的検討及びTTVの抗体・抗原の免疫学的検査法の開発とその臨床的応用）。また、window期肝炎ウイルス感染者の献血行動を制限するための方策を検討することも輸血後肝炎を防止する上では重要である（ウィンドウ期肝炎ウイルス感染者の献血行動を制限するための推計学的検討）。更に、昨年には本邦で初めて輸血によるE型肝炎の発生が明らかになった。これまでは、E型肝炎ウイルス(HEV)は経口感染型のウイルスとされており、輸血後肝炎の原因ウイルスとは考えられてこなかった。しかしながら、今回のE型肝炎の発生を受け、輸血によるHEV感染の実態調査が急務となった（健常人及び非健常人におけるHEV抗体の検出）。

B. 研究方法

1) 輸血後肝炎の発生調査と非B非C型肝炎の解析

輸血された患者の肝機能を少なくとも輸血後3ヵ月間は追跡し得た症例を検索症例とした。ウイルスを特定できない肝炎の診断は肝炎連絡協議会の「輸血後肝炎の診断基準（1996年3月策定）」に従って下した。検索症例の検体

は将来の検討に備えできるだけ収集保存に努めた。

2) 献血血液スクリーニングにおける評価

日赤中央血液センターに寄せられた輸血後の感染情報を解析し、真の感染者を特定し現状のNATの意義について検討した。

3) TTV感染の臨床的検討及びTTVの抗体・抗原の免疫血清学的検査法の開発とその臨床的応用

PCR法にてTTVを同定し、TTVの感染と肝障害との関連などについて検討した。これとは別に、TTV遺伝子のうちのORF1蛋白を抗原として開発したTTV抗原・抗体検出用ELISA法を実際の臨床例に応用し、その臨床的意義について検討した。

4) ウィンドウ期肝炎ウイルス感染者の献血行動を制限するための推計学的検討

推計学的方法を用いて大阪地区のHCV偽陰性判定確率を算定し、他の先進国と比較した。

5) 健常人、一般入院患者、献血者、輸血患者におけるHEV抗体の検出

健常人、一般入院患者、献血者、輸血患者について血中のHEV抗体を測定した。

HEV抗体の検出には、国立感染症研究所で開発されたELISA法を用いて抗HEV IgG抗体とIgM抗体を測定した。即ち、HEV構造タンパク領域遺伝子を組み込んだバキュロウイルスを作成し、昆虫細胞で発現させ、培養上清中に分泌されたウイルス様粒子を精製して得られた粒子をマイクロプレートにコーティングして抗体を検出した。

C. 研究結果と考察

1) 輸血後肝炎の発生調査と非B非C型肝炎の解析

輸血後肝炎の発生調査に加わっている8班員施設における平成12年、平成13年、平成14年の検索症例数と輸血後肝炎発生数はそれぞれ、1046例中6例、648例中3例、532例中4例であり、この3年間では検索症例2226例中13例（発生率0.6%）であった。献血者スクリーニングに第2世代HCV抗体検査が導入された平成4年

から平成10年にかけては、輸血後肝炎の発生率は0.9%であったので、更に発生率が0.3%減少したことになる。しかも、B型肝炎もC型肝炎も皆無であったことから50プールNATが輸血後肝炎発生防止に大いに有効であったことは明らかである(表1)。

この肝炎13例の内訳を見ると、輸血後にTTVが検出されたものが3例、TTVとG型肝炎ウイルスが関係しているものが2例、未検査が8例であった。輸血後に肝炎を発症し、TTVが検出された3例中の2例は、輸血前のTTV DNAは陰性であり、肝炎の発症と共にTTV DNAが陽性化した。Genotypeは1例は2型であり他の1例は1a型であった。1a型TTVの感染があった症例には3本のMAP血が輸血されたが、そのうちの1本は1a型TTV DNAが 10^3 コピー/ml陽性血であり、輸血に伴うTTVの感染と肝炎発症が証明された。TTVの感染によると考えられた肝炎は、何れも肝機能異常は激しくはないが、中にはS-ALTの異常期間が13週も続く症例もあった。輸血によるTTV感染と肝病態との関係は更に検討を要する課題と考える。

また、輸血後の肝機能追跡例の中には肝炎とは断定できない軽度肝機能異常例も多く認められ、その中には輸血に伴うTTVクローンの感染が証明された例が存在した。従って、軽度肝機能異常例でのTTV検出なども今後試みるべき課題であると考えられる。

2) 献血血液スクリーニングにおけるNATの評価

全国の医療機関から日本赤十字に寄せられる感染症報告は毎年おおよそ140-150件である。平成14年の感染症疑い145件中、輸血後肝炎疑いの報告はHBV70件、HCV40件、HEV1件であった。これらの報告の中で明らかに輸血後肝炎と判定されたのはB型肝炎の8例とE型肝炎の1例のみであった。C型肝炎の発生は認められなかった。50プールNAT実施後、輸血による肝炎の発生は更に減少している。

NAT導入の成果を更に知るために、過去に遡って見てみると、NAT導入前の平成10年1月から21ヵ月間で、感染の可能性が考えられた症例はHBV35件、HCV11件であった。しかし、NAT導入後はHCVの感染は認められずNATは感染後短時間で増殖するHCVの感染防止によ

り効果的であった。HBVは、500プールNAT開始後の平成11年10月から平成12年1月までの4ヵ月間に3件、平成12年2月から平成14年12月までの50プールNAT導入後は35ヵ月間で15件であった。1年あたりに換算し直すとNAT実施前は20件、500プールNAT導入後は9件、50プールNAT導入後は5件となり明らかな減少が認められた。50プールNAT実施後でもHBV感染の可能性が考えられた症例は、ウイルス量が100コピー/ml前後の献血血液が輸血されていた。

3) TTV感染の臨床的検討及びTTVの抗体・抗原の免疫血清学的検査法の開発とその臨床的応用

TTV感染の臨床的検討については1)の中で言及したので省略するが、輸血後肝炎あるいは肝炎の疑いと判定された中には、明らかにTTVの関与が確認された症例が見られた。今後、TTV感染と肝疾患との関連について更に症例を増やして検討し明らかにしたい。

また、本研究でELISA法によるTTV抗体測定系を確立し、このELISA法を用いて健康成人血清中の抗TTV抗体を測定した。まずウイルス粒子を形成する構造蛋白をコードとすると考えられるTTV ORF1(clone TA278, genotype1)のC末端側547アミノ酸(aa224-770)を発現する組み換えバキュロウイルスAcTT135Sを作成した。これを昆虫細胞Sf9に感染させ、この細胞からTTV ORF1蛋白を部分精製し、抗TTV IgG抗体検出用ELISAを構築した。次に16-66歳の成人健常者371名について血中の抗TTV抗体を調べた。50倍に希釈した各血清を測定したところ、OD値:0.3以上が2検体、0.2-0.3が4検体で、それ以外の365検体は0.2以下であった。ウサギ血清の実験からcut off値を暫定的に0.2とすると、抗TTV抗体陽性例は1.6%とされる。これらの検体ではTTV DNAの測定を行っていないが、遺伝子型1-6のTTV遺伝子陽性率は一般健常人で10-20%とされているので、それに比べると抗体保有率はかなり低い。これはTTV感染者の血中抗原量が非常に少ないこと、あるいはTTV構造蛋白の抗原量が他のウイルスに比べて低いこと等によると考えられた。

次に非B非C型の輸血後肝炎疑診例3症例で

TTVの解析を行った。即ちTTV DNAをPCR法で、抗TTV IgG抗体をELISA法で測定した。その結果、ユニバーサルプライマーによるTTV PCRでは3例とも輸血に関わらずTTV DNA陽性であった。しかし、3例中1例において輸血に伴う新たなクローンの感染が観察された。一方、IgG抗体は3例ともに輸血前後で陰性と判定された。今後輸血によって新たにtransmitされたTTV遺伝子を同定するとともに、肝機能とTTV遺伝子量の変動、及びTTV抗体価との関連を明らかにしてゆく予定である。

4) ウインドウ期肝炎ウイルス感染者の献血行動を制限するための推計学的検討

平成4年2月～平成8年6月に大阪府赤十字血液センターで複数回献血を行った献血から実測した性、年齢階級別HCV新規感染率を平成13年度の同血液センターの献血者の性、年齢構成に当てはめHCVの新規感染率を推測した。その結果、大阪の平成13年度における献血者の性、年齢調整HCV新規感染率は男4.91/10万人年、女5.92/10万人年、合計5.35/10万人年（95%信頼区間：4.07～6.92）と推計された。また、割り出した新規感染率を用いて、NATによるHCVのinfectious window periodを諸外国同様7日～12日と設定した場合のHCV陰性率を推計したところ、平成13年度の大阪府のウインドウ期献血による偽陰性判定検体は100万検体当たり1.0～1.8本と推計された。

将来、このような基礎的データを献血時の問診チェックなどに活用し、新たなHCV感染者を出さないようにすることや、Incidence Rate/window period modelを用いたリスク推計を継続し、諸外国との成績と比較しながら安全性の維持に役立てる必要がある。

5) 健常人及び非健常人におけるHEV抗体の測定

C型肝炎多発地域（地域1、478名）とC型肝炎非多発地域（地域2、775名）の健常人（検診受診者）のIgG型およびIgM型HEV抗体を調べた。地域1（HCV抗体陽性率31.5%、HAV抗体陽性率65.3%）のIgG型HEV抗体は6.7%、IgM型は0.4%で、地域2（HCV抗体陽性率2.1%、HAV抗体陽性率71.8%）ではIgG型4.6%、IgM型0.0%であり有意差は全くなかった。C型肝炎

の感染とE型肝炎の感染は関係ないことを示し、E型肝炎は、A型肝炎ほど日本ではかつて流行していないが、約5%前後のE型肝炎感染の既往者がいることがわかった。しかしIgM型HEV抗体陽性者が0.4%いることは、低頻度ではあるが日本においても潜在的にE型肝炎が存在していることを示している。

献血者血漿（248検体）中のHEV抗体を調べた結果、その陽性率はIgM型は全例で陰性であったがIgG型は39検体（15.7%）で陽性であった。次に一般入院患者144名のIgG抗体を調べたところ抗体陽性率は14.6%と献血者の抗体陽性率に近似した値を示した。

続いて輸血を受けた168症例について、輸血前と輸血後4週目および6～8週目にIgGとIgM型のHEV抗体を測定した。その結果、輸血前に既にIgG-HEV抗体が陽性であったのは10例（5.95%）であり判定保留は2例（1.19%）であった。計12例のIgM-HEV抗体は陰性であった。また輸血前HEV抗体陰性の156例は全例が輸血後4週と8週目のIgG-HEV抗体とIgM-HEV抗体は陰性であり、輸血後の抗体陽性化は見られず、輸血に伴うHEVの感染は認められなかった。

D. 結論

日本赤十字社で献血者スクリーニングに50プールNATを採用してからは、輸血による肝炎は確実に減少し、現在では極めて稀となった。しかし、本年度の当研究班の調査では今でもなお0.5～0.6%の輸血後肝炎の発生が見られている。この中にはTTVによるものと思われるものも含まれる。TTVと肝病変との関係についてはまだ不明な点が多く今後も検討すべき課題の1つであると言える。

また昨年、わが国で初めて輸血によるE型肝炎感染例が報告されたことを受けて、準緊急的に健常人その他のHEV抗体を調査したが、輸血による感染例は認められなかった。しかし、低頻度ではあるがわが国においてもE型肝炎が潜在していることがわかった。今後も対象者を増やして調査を継続し、献血者におけるHEVのスクリーニングの是非を含めて検討する必要があると考える。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 菊地 秀：輸血後肝炎—肝炎ウイルス対策の変遷と肝炎発生の推移、別冊医学のあゆみ、2002：85-91.
- 2) Tokita H., Murai S., Kamitsukasa H., et al.: TT virus of certain genotypes may reduce the platelet count in patients who achieved a sustained virologic response to interferon treatment for chronic hepatitis C. *Hepatology Research* 2002; 23: 105-114.
- 3) Tokita H., Murai S., Kamitsukasa H., et al. : High TT virus load as an independent factor associated with the occurrence of hepatocellular carcinoma among patients with hepatitis C virus-related chronic liver disease. *J. Med. Virol.* 2002; 67: 501-509.
- 4) Yagura M., Fukui H., Murai S., Kamitsukasa H., et al.: Intrasexual transmission of hepatitis C virus occurring after 42 years of marriage: No relation to HCV RNA titers. *AJG.* 2002; 97: 2925-2927.
- 5) Kiyosawa K.: GB Virus C (Hepatitis G Virus) Antimicrobial Therapy and Vaccine Apple Trees Productions, LLC, New York, 2002; 1185-1188.
- 6) 清澤研道：ウイルス肝炎、肝胆膵、総合医学社、東京、2002；98-105.
- 7) Kiyosawa K., Tanaka E.: *Hepatocellular Carcinoma and Hepatitis C Sarin SK Hepatitis B and C.* Elsevier Science, New Dehli, 2002; 315-329.
- 8) Higuchi M, Tanaka E., Kiyosawa K.: Epidemiology and clinical aspects on hepatitis C. *Jpn J Infect Dis*, 2002; 55, 69-77.
- 9) Gad A., Kiyosawa K., et al.: Clinical significance of TT virus infection in maintenance hemodialysis patients of an endemic area for hepatitis C infection. *Hepato Res*, 2002; 22: 13-19.
- 10) Kimura T., Kiyosawa K., et al.: Sensitive enzyme immunoassay for hepatitis B virus core-related antigen and their correlation to virus load. *J Clinic Microbiol*, 2002; 40: 439-445.
- 11) Aoyagi K., Kiyosawa K., et al.: Performance of a conventional enzyme immunoassay for hepatitis C virus core antigen in the early phases of hepatitis C infection. *Clin Lab*, 2002; 47: 119-127.
- 12) Kiyosawa K., Tanaka E.: Characteristics of Hepatocellular carcinoma in Japan. *Oncology*, 2002; 52(Suppl): 5-7.
- 13) Kiyosawa K.: Characteristics of liver cancer in Japan comparison with liver cancer in foreign countries. *Hepato Res*, 2002; 24: S4-S10.
- 14) Kiyosawa K.: Trend of liver cirrhosis as percutaneous lesions. *Hepato Res*, 2002; 24: S40-S45.
- 15) Kiyosawa K.: Proposals for decreasing liver cancer. *Hepato Res*, 2002; 24: S68-S73.
- 16) 清澤研道：C型肝炎の診断法の進歩。 *Pharma Medica*, 2002; 20: 13-16.
- 17) Fujiwara K., Kiyosawa K. et al.: Association between severity of type A hepatitis and nucleotide variations in the 5' non-translated region of HAV RNA. *Gut*, 2002; 51: 82-88.
- 18) 小西奎子, 前越 大, 高岡幸子：肝炎ウイルスとしてのTT Virusの病因性について。 *臨床病理*, 2001；49 補冊：172.
- 19) 佐藤裕二ほか：よりよい術前自己血貯血のためのアフエレーシス採血と全血採血の比較。 *日本臨床外科学会雑誌*, 2002；63(4)：807-812.
- 20) 佐藤裕二ほか：自己血採血におけるVVR発症例の検討と対策。 *日本輸血学会雑誌*, 2002, 48(4)：329-334.
- 21) 佐藤裕二, 藤堂省：移植と輸血—肝移植—(日本輸血学会認定医制度審議会編:日本輸血学会 認定医制度指定カリキュラム,東京) (in press).
- 22) Tsutsumi T., Suzuki T., Miyamura

- T.: Interaction of hepatitis C virus core protein with retinoid X receptor - α modulates its transcriptional activity. *Hepatology*, 2002; 35, 937-946.
- 23) Aizaki H., Matsuura Y., Miyamura T., Suzuki T.: Expression profiling of liver cell lines expressing entire or parts of hepatitis C virus open reading frame. *Hepatology*, 2002; 36: 1431-1438.
- 24) Tsutsumi T., Suzuki T., Miyamura T., et al.: Intrahepatic cytokine expression and AP-1 activation in mice with transgene for hepatitis C virus core protein. *Virology*, 2002; 304: 415-424.
- 25) Otsuka M., Suzuki T., et al: Differential cellular gene expression induced by hepatitis B and C viruses. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2003; 300: 443-447.
- 26) Imai Y., Tanaka H., Ohsawa M.: Higher frequency of HCV in patients with Non-Hodgkin lymphoma: Is it enough to suggest an association with B-Cell NHL? (Reply) *Hepatology*, 2003; 37: 481-482.
- 27) 田中英夫. C型肝炎の疫学. *Medical Technology*, 2003; 31: 132-137.
- 28) Tanaka H., Tsukuma H. : Characteristics of Japanese patients with liver cancer - epidemiological study based on a comparison between male and female patients. *Hepatology Research*, 2002; 24: S11-20.
- 29) 今井康陽, 田中英夫, 津熊秀明ほか : 非ホジキンリンパ腫発症におけるC型肝炎ウイルスの関与. *消化器科*, 2002; 34: 364-370.
- 30) 田中英夫, 津熊秀明 : 集検的C型肝炎ウイルス検査の意義と問題点. *総合臨床*, 2002; 51: 1940-1945.
- 31) Imai Y., Ohsawa M., Tanaka H., et al.: High prevalence of HCV infection in patients with B-cell non-Hodgkin's lymphoma: Comparison with birth cohort-and sex-matched blood donors in a Japanese population. *Hepatology*, 2002; 35: 974-976.
- 32) Yasui Y., Yanai H., Sawanpanyalert P., Tanaka H.: A statistical method for the estimation of window-period risk of transfusion-transmitted HIV in donor screening under non-steady state. *Biostatistics*, 2002; 3: 133-143.
- 33) 田中英夫 : HCV新規感染者-推定感染率と原因. *臨床医*, 2002 ; 28 : 15-18.
- 34) 田中英夫: C型肝炎の疫学動向. *肝胆隣*, 2001; 43: 713-719.
- 35) 田中英夫, 津熊秀明, 大島明 : 日本の肝癌の特徴. *癌と化学療法*, 2001 ; 28 (2) : 151-154.
- 36) 田中英夫. C型肝炎患者におけるインターフェロン療法の長期予後. *メディカル朝日*, 2001; 4: 72-73.
- 37) Mitsunaga S., Nakajima K. : High-throughput HBV DNA and HCV RNA detection system using a nucleic acid purification robot and real-time detection PCR: its application to analysis of posttransfusion hepatitis. *Transfusion*, 2002; 42 (1): 100-106.
- 38) 塩沢理英子, 中島一格ほか : 輸血によるB型肝炎ウイルス(HBV)感染例でのウイルスゲノム解析: 供血者および患者におけるquasispeciesの解析について. *日本輸血学会雑誌*, 2002 ; 48 (6) : 473-479.
- 39) 中島一格 : 安全な血液の確保-献血者に対する問診と献血血液に対するスクリーニング検査. 別冊 医学のあゆみ 輸血の現状と課題, 2002; 7-12.
- 40) 中島一格 : 輸血副作用の現状と対策-特にウイルス感染症について-. *血液フロンティア*, 2002 ; 12 : 1411-1423.
- 41) 中島一格 : 輸血感染症の現状. *日本医事新報*, 2002 ; 4103 : 7-13.

2. 学会発表

- 1) 小西奎子 他：輸血後に発症した肝炎と輸血との関連．第20回日本輸血学会北陸支部総会、2002年10月12日、福井．
- 2) Aizaki H., Suzuki T., Matsuda M., Miyamura T., et al.: Production and release of infectious HCV particles from persistently infected human liver cell cultures transfected with full length-HCV RNA. 9th International Meeting on HCV and Related Viruses, San Diego, July 7-11, 2002, USA.
- 3) 堤武也、鈴木哲朗、松浦善治、宮村達男ほか：C型肝炎ウイルスコア遺伝子トランスジェニックマウスの肝臓内における mitogen-activated protein kinaseの活性化の検討．第

38回日本肝臓学会総会、2002年6月、大阪．

- 4) 鈴木亮介、鈴木哲朗ほか：C型肝炎ウイルスコア蛋白質の細胞内局在を規定するシグナルの解析．同上．
- 5) 中島一格、村岡正人、田山達也、十字猛夫：細菌感染症のリスクとその対策．第50回日本輸血学会総会 シンポジウム．日本輸血学会雑誌、2002; 48 (2) : 112.
- 6) 村岡正人、松田利夫、中島一格ほか：輸血後感染症の現状－2001年－．第26回日本血液事業学会総会．血液事業、2002 ; 25 (2) : 351.
- 7) 中島一格：輸血感染症の現状．日本麻酔科学会第49回大会 シンポジウム．Journal of Anesthesia, 2002 ; 16 (S) : 73.

表 1. 輸血後肝炎発生の推移

(輸血後肝炎に関する研究班)

| 年次 | 施設名 | 追跡症例数 | 肝炎の種類と発症数 | | | 輸血後肝炎発症数(発症率) |
|----------------|--------------------------------|-------|-------------|--------------|--------------|---------------|
| | | | B型 | C型 | 非B非C型 | |
| I 1963~1964 | 1 | 385 | 195 (50.6%) | | | 195 (50.6%) |
| II 1965~1967 | 1 | 386 | 120 (31.1%) | | | 120 (31.1%) |
| III 1968~1970 | 1 | 308 | 46 (14.9%) | | | 46 (14.9%) |
| IV 1971~1972 | 1, 2 | 649 | 23 (3.5%) | 56 (8.6%) | | 79 (12.2%) |
| V 1973~1989 | 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9* | 7692 | 22 (0.3%) | 1054 (14.8%) | | 1076 (14.0%) |
| VI 1990~1991 | 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10* | 1600 | 0 | 8 (0.5%) | 34 (2.1%)** | 42 (2.6%) |
| VII 1992~1999 | | 8346 | 0 | 6 (0.07%) | 65 (0.8%) | 71 (0.9%) |
| VIII 2000~2002 | 1, 2, 3, 4, 5, 8, 10, 11* | 2226 | 0 | 0 | 13 (0.6%) | 13 (0.6%) |

* 一部施設で期間不足あり ** 3施設にてC型不明を含む

- 施設名 1. 国立療養所東京病院外科, 消化器科 2. 国立仙台病院外科 3. 国立国際医療センター-外科
 4. 兵庫県立総合リハビリテーションセンター附属中央病院整形外科 5. 九州大学医学部附属病院全科
 6. 長崎大学医学部附属病院胸部外科 7. 国立長崎中央病院胸部外科 8. 国立金沢病院全科
 9. 大阪府立成人病センター-消化器外科 10. 東京女子医大循環器外科 11. 北海道大学医学部附属病院

備考1. 輸血後肝炎の診断基準(年代毎に下記の基準による) 備考2. 1972. 4 HBs-Ag 検査開始

- 1) 1965: 血清肝炎判定基準
(血清肝炎の診断並びに予防に関する研究班)
 - 2) 1985: 輸血後非A非B型肝炎の診断基準
(厚生省肝炎連絡協議会)
 - 3) 1996: 輸血後肝炎の診断基準
(厚生省肝炎連絡協議会)
- 備考3. 輸血後3ヵ月以上肝機能追跡し
 肝炎例はなるべく確診例を採用した

Ⅱ. 分担研究報告書

平成十四年度分担研究報告書

九州大学附属病院での輸血後肝炎発生状況

分担研究者：稲葉頌一（九州大学附属病院輸血部）

研究協力者：中田弘、二宗みのり（九州大学附属病院輸血部）

佐藤博行、前田義章（福岡県赤十字血液センター）

研究要旨

核酸増幅検査による HBV、HCV スクリーニングが導入された 2000 年以降 2001 年まで（2 年間）に 520 名の輸血を受けた患者を追跡した。これらの患者のうち HBV、HCV 抗体が陽転した患者は皆無であった。ALT 値追跡で、肝炎の確診は、4 名（0.77%）であった。このうち 1 名は輸血後 ALT 値のパターンから何らかのウイルス肝炎を疑ったが、血清学的に HBV、HCV とは関連がなかった。今後、TTV、HEV などの調査を行う予定である。残りの 3 名の肝機能異常は術後の感染やショックに由来する臓器血流障害の結果と考えられた。したがって、核酸増幅検査導入後の輸血後肝炎発生率は最大 1/520 で 0.19%であった。

九州大学医学部附属病院の肝炎追跡調査は、2000 年および 2001 年はほぼ従来通りであったが、2002 年は輸血部の組織替えが行われ従来通りの追跡が不可能であった。このため、2002 年以降はレトロスペクティブな追跡に変えて行かざるを得ない状況である。

研究対象

輸血後肝炎追跡調査の対象

1) 第一次追跡対象者：1992 年（平成 4 年）の HCV 第二世代抗体スクリーニング導入以後に九州大学医学部附属病院（以下九大病院）において同種血輸血（全血・赤血球濃厚液・新鮮凍結血漿・濃厚血小板）を受けた 11 才以上の患者（受血者）で輸血前 HBs 抗原陽性者、抗 HCV 抗体陽性者を除外した患者群。

対象者には輸血前 s-ALT（GPT）値が当院の正常上限値 35IU/L を超えるも

のも含まれたが除外しなかった。手術や化学療法の影響で s-ALT の上昇を認める患者が含まれたが除外しなかった。

2) 第二次追跡対象者：第一次追跡対象者のうち少なくとも月一回の s-ALT が測定されており、輸血前および輸血後 60 日以上経過した時点の 2 点で血清が入手できたもの。

研究方法

輸血後肝炎の追跡

1) 受血者の登録

九大病院の受血者について輸血部に交差適合試験の申し込みが出た時点で仮登録を行う。翌日使用された血液成分が確認された時点で正式患者登録を行い、年初からの通し番号を付与する。

2) 受血者輸血前血清の保存

交差試験の残り血清に、それぞれ通し番号を付与し、アジ化ナトリウム (0.2%) を防腐剤として添加した後、4°C で冷蔵保存する。

3) 受血者の s-ALT 値の経時的追跡

九大病院の受血者は全員が医療情報部ホストコンピューターに登録され、生化学検査データとリンクされる。このシステムによってすべての患者の s-ALT 値の追跡は端末で入手できる。

4) 受血者血清の経時的保存

受血者の血清は、生化学検査に提出された血清の残りを最初一ヶ月間は二週ごと、以後半年は一ヶ月ごとを目安に保存した。患者血清は 0.2% アジ化ナトリウムを加えて 4°C 冷蔵保存した。しかし、今後は輸血 60 日後を目安に保存努力をやって行くことが精一杯と思われる。

5) 抗 HCV 抗体の測定

抗 HCV 抗体の測定は Ortho 社 ELISA-II で、輸血後 60 日以後の患者血清について最低一度測定する事が目標である。陽転血清については ELISA-II と RT-PCR による確認を行う。

6) TTV および HGV の測定

肝炎確診の血清について TTV-DNA、HGV-RNA を外注検査で施行予定である。

肝炎の判定：

肝炎の判定は厚生省診断基準に準じて ALT 値の推移を見て行なった。肝炎疑診については輸血後一回でも ALT が 40 を越えたものを検討の対象とした。肝炎の確診は ALT 値の頂値が 175IU 以上、70IU 以上が 1 ヶ月以上持続したものとした。

C 型肝炎の判定は ELISA による抗 HCV 抗体陽転の有無によって行った。このうち PCR で最低一度陽性であったものを C 型肝炎確診とした。ELISA 法によって陽転を確認できたが、PCR で

陰性であったものは C 型肝炎疑診とした。

結果

00 年から 01 年までの受血者で新たに、520 名の追跡ができた。このうち、輸血後 ALT 値が一度でも 40IU を越えた疑診者は 122 名であった。これらの患者の詳細はまだ、解析ができていない。肝炎確診は 4 名であった。いずれも、HCV の陽転は認めなかった(表 1、表 2、図)。

症例 1.

74 才、女性、胸腹部大動脈瘤、術後腸管壊死 RC-MAP400 13 袋、PC-10 5 袋を術中・術後に輸血。

症例 2.

57 才、男性、クモ膜下出血、肝硬変症 RC-MAP400 3 袋、FFP-5U 2 袋、PC-10 1 袋を術中・術後に輸血。

症例 3.

70 才、男性、膵臓癌、根治手術時に輸血。RC-MAP400 5 袋、FFP-5U 1 袋を術中・術後に輸血。

症例 4. 4

40 才、男性、胃癌、根治手術時に輸血。RC-MAP400 4 袋を術中・術後に輸血。

今後の研究方針

班会議での検討により、症例 4 はウイルス感染の可能性が示唆され、TTV、HEV について精査することとなった。国立大学病院の 24 時間輸血検査体制導入により、輸血部技官が検査部に統合され従来の通りに血清を確保するマンパワーが不足している。代わりに、コンピュータシステムの充実によって、端末から肝機能の追跡が可能になっている。今後は、定点観測の追跡患者を限定した追跡調査を行う予定である。

92年 肝炎追跡 325名

| | | 1-5U | 6-10U | 11-20U | 21-50U | 計 |
|---------------------|------|------|-------|--------|--------|-------|
| 総人数 | | 218 | 44 | 36 | 27 | 325 |
| 総本数 | | 604 | 327 | 534 | 958 | 2423 |
| 平均本数 | | 2.77 | 7.43 | 14.83 | 35.48 | 7.46 |
| 確診者 | 人数 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| | 本数 | 0 | 8 | 0 | 0 | 8 |
| | 平均本数 | 0.00 | 8.00 | 0.00 | 0.00 | 8.00 |
| 疑診者 s-ALT 上昇者 | 人数 | 13 | 3 | 3 | 5 | 24 |
| | 本数 | 37 | 24 | 38 | 173 | 272 |
| | 平均本数 | 2.85 | 8.00 | 12.67 | 34.60 | 11.33 |
| 陰性者 | 人数 | 205 | 40 | 33 | 22 | 300 |
| | 本数 | 567 | 295 | 496 | 785 | 2143 |
| | 平均本数 | 2.77 | 7.38 | 15.03 | 35.68 | 7.14 |

93年 肝炎追跡 378名

| | | 1-5U | 6-10U | 11-20U | 21-50U | 計 |
|---------------------|------|------|-------|--------|--------|-------|
| 総人数 | | 259 | 54 | 29 | 36 | 378 |
| 総本数 | | 614 | 404 | 433 | 1655 | 3106 |
| 平均本数 | | 2.37 | 7.48 | 14.93 | 45.97 | 8.22 |
| 確診者 | 人数 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 本数 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 平均本数 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 疑診者 s-ALT 上昇者 | 人数 | 28 | 11 | 6 | 4 | 49 |
| | 本数 | 64 | 83 | 92 | 280 | 519 |
| | 平均本数 | 2.29 | 7.55 | 15.33 | 70.00 | 10.59 |
| 陰性者 | 人数 | 231 | 43 | 23 | 32 | 329 |
| | 本数 | 550 | 321 | 341 | 1375 | 2587 |
| | 平均本数 | 2.38 | 7.47 | 14.83 | 42.97 | 7.86 |

94年 肝炎追跡 401名

| | | 1-5U | 6-10U | 11-20U | 21-50U | 計 |
|---------------------|------|------|-------|--------|--------|------|
| 総人数 | | 300 | 44 | 30 | 27 | 401 |
| 総本数 | | 742 | 329 | 455 | 857 | 2383 |
| 平均本数 | | 2.47 | 7.48 | 15.17 | 31.74 | 5.94 |
| 確診者 | 人数 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 本数 | 3 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| | 平均本数 | 3.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 3.00 |
| 疑診者 s-ALT 上昇者 | 人数 | 25 | 2 | 2 | 3 | 32 |
| | 本数 | 39 | 14 | 31 | 101 | 185 |
| | 平均本数 | 1.56 | 7.00 | 15.50 | 33.67 | 5.78 |
| 陰性者 | 人数 | 274 | 42 | 28 | 24 | 368 |
| | 本数 | 700 | 315 | 424 | 756 | 2195 |
| | 平均本数 | 2.55 | 7.50 | 15.14 | 31.50 | 5.96 |

95年 肝炎追跡 361名

| | | 1-5U | 6-10U | 11-20U | 21-50U | 計 |
|---------------------|------|------|-------|--------|--------|-------|
| 総人数 | | 199 | 74 | 43 | 45 | 361 |
| 総本数 | | 557 | 544 | 616 | 1383 | 3100 |
| 平均本数 | | 2.80 | 7.35 | 14.33 | 30.73 | 8.59 |
| 確診者 | 人数 | 3 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| | 本数 | 8 | 0 | 0 | 0 | 8 |
| | 平均本数 | 2.67 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 2.67 |
| 疑診者 s-ALT 上昇者 | 人数 | 20 | 7 | 7 | 8 | 42 |
| | 本数 | 51 | 48 | 104 | 221 | 424 |
| | 平均本数 | 2.55 | 6.86 | 14.86 | 27.63 | 10.10 |
| 陰性者 | 人数 | 176 | 67 | 36 | 37 | 316 |
| | 本数 | 498 | 496 | 512 | 1162 | 2668 |
| | 平均本数 | 2.83 | 7.40 | 14.22 | 31.41 | 8.44 |

96年 肝炎追跡 462名

| | | 1-5U | 6-10U | 11-20U | 21-50U | 計 |
|---------------------|------|------|-------|--------|--------|-------|
| 総人数 | | 251 | 87 | 66 | 58 | 462 |
| 総本数 | | 644 | 662 | 954 | 1869 | 4129 |
| 平均本数 | | 2.57 | 7.61 | 14.45 | 32.22 | 8.94 |
| 確診者 | 人数 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 本数 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 平均本数 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 疑診者 s-ALT 上昇者 | 人数 | 19 | 8 | 8 | 8 | 43 |
| | 本数 | 49 | 57 | 124 | 247 | 477 |
| | 平均本数 | 2.58 | 7.13 | 15.50 | 30.88 | 11.09 |
| 陰性者 | 人数 | 232 | 79 | 58 | 50 | 419 |
| | 本数 | 595 | 605 | 830 | 1622 | 3652 |
| | 平均本数 | 2.56 | 7.66 | 14.31 | 32.44 | 8.72 |

97年 肝炎追跡 419名

| | | 1-5U | 6-10U | 11-20U | 21-50U | 計 |
|---------------------|------|------|-------|--------|--------|-------|
| 総人数 | | 248 | 88 | 47 | 36 | 419 |
| 総本数 | | 693 | 649 | 645 | 1169 | 3156 |
| 平均本数 | | 2.79 | 7.38 | 13.72 | 32.47 | 7.53 |
| 確診者 | 人数 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 本数 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 平均本数 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 疑診者 s-ALT 上昇者 | 人数 | 4 | 1 | 1 | 1 | 7 |
| | 本数 | 8 | 6 | 11 | 46 | 71 |
| | 平均本数 | 2.00 | 0.00 | 11.00 | 46.00 | 10.14 |
| 陰性者 | 人数 | 244 | 87 | 46 | 35 | 412 |
| | 本数 | 685 | 643 | 634 | 1123 | 3085 |
| | 平均本数 | 2.81 | 7.39 | 13.78 | 32.09 | 7.49 |

98年 肝炎追跡 373名

| | | 1-5U | 6-10U | 11-20U | 21-50U | 計 |
|---------------------|------|------|-------|--------|--------|-------|
| 総人数 | | 222 | 60 | 51 | 40 | 373 |
| 総本数 | | 257 | 448 | 729 | 1045 | 2479 |
| 平均本数 | | 1.16 | 7.47 | 14.29 | 26.13 | 6.65 |
| 確診者 | 人数 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| | 本数 | 0 | 0 | 0 | 46 | 46 |
| | 平均本数 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 23.00 | 23.00 |
| 疑診者 s-ALT 上昇者 | 人数 | 9 | 2 | 9 | 5 | 25 |
| | 本数 | 26 | 15 | 94 | 76 | 211 |
| | 平均本数 | 2.89 | 7.50 | 10.44 | 15.20 | 8.44 |
| 陰性者 | 人数 | 213 | 58 | 42 | 33 | 346 |
| | 本数 | 231 | 433 | 635 | 923 | 2222 |
| | 平均本数 | 1.08 | 7.47 | 15.12 | 27.97 | 6.42 |

99年 肝炎追跡 269名

| | | 1-5U | 6-10U | 11-20U | 21-50U | 計 |
|---------------------|------|------|-------|--------|--------|-------|
| 総人数 | | 143 | 42 | 44 | 40 | 269 |
| 総本数 | | 396 | 329 | 628 | 1166 | 2519 |
| 平均本数 | | 2.77 | 7.83 | 14.27 | 29.15 | 9.36 |
| 確診者 | 人数 | 2 | 2 | 0 | 3 | 7 |
| | 本数 | 6 | 12 | 0 | 83 | 101 |
| | 平均本数 | 3.00 | 6.00 | 0.00 | 27.67 | 14.43 |
| 疑診者 s-ALT 上昇者 | 人数 | 16 | 7 | 12 | 11 | 46 |
| | 本数 | 55 | 57 | 180 | 286 | 578 |
| | 平均本数 | 3.44 | 8.14 | 15.00 | 26.00 | 12.57 |
| 陰性者 | 人数 | 125 | 33 | 32 | 26 | 216 |
| | 本数 | 335 | 260 | 448 | 797 | 1840 |
| | 平均本数 | 2.68 | 7.88 | 14.00 | 30.65 | 8.52 |

00年 肝炎追跡 371名

| | | 1-5U | 6-10U | 11-20U | 21-50U | 計 |
|---------------------|------|------|-------|--------|--------|-------|
| 総人数 | | 198 | 64 | 87 | 22 | 371 |
| 総本数 | | 492 | 480 | 1232 | 560 | 2764 |
| 平均本数 | | 2.48 | 7.50 | 14.16 | 25.45 | 7.45 |
| 確診者 | 人数 | 0 | 2 | 1 | 0 | 3 |
| | 本数 | 0 | 12 | 18 | 0 | 30 |
| | 平均本数 | 0.00 | 6.00 | 18.00 | 0.00 | 10.00 |
| 疑診者 s-ALT 上昇者 | 人数 | 33 | 13 | 43 | 11 | 100 |
| | 本数 | 90 | 98 | 607 | 280 | 1075 |
| | 平均本数 | 2.73 | 7.54 | 14.12 | 25.45 | 10.75 |
| 陰性者 | 人数 | 165 | 49 | 43 | 11 | 268 |
| | 本数 | 402 | 370 | 607 | 280 | 1659 |
| | 平均本数 | 2.44 | 7.55 | 14.12 | 25.45 | 6.19 |