

れらの中には輸血時のウイルス感染に起因するものが含まれている可能性がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

Tokita H, Fukui H, Tanaka A, Kamitsukasa H,

Yagura M, Harada H, Hebisawa A, Kurashima A, Okamoto H. Circulating KL-6 level at baseline is a predictive indicator for the occurrence of interstitial pneumonia during interferon treatment for chronic hepatitis C. *Hepatology Research* 2003; 26: 91-97.

表 献血制度と肝炎ウイルス検査法の開発に伴う輸血後肝炎発症率の変遷

年次	追跡完了例数	輸血後肝炎			平均輸血量 (bags)	供給血対策	
		全症例数	B型	非A非B型 C型 非B非C型		献血制度	献血時検査 HBsAg HCVAb
① 1963-1964	385	195 (50.6%)			11	売血	
② 1965-1967	386	120 (31.1%)			13	売血+献血	
③ 1968-1970	308	46 (14.9%)			11		
③ 1971-1972 ^{a)}	229	41 (17.9%)	19 (8.3%)	22 (9.6%)	14	献血 (200ml)	
④ 1973-1976	290	28 (9.7%)	6 (2.1%)	22 (7.6%)	12		SR, IES
⑤ 1977-1983	430	75 (17.4%)	4 (0.9%)	71 (16.6%)	15		
⑤ 1984-1986 ^{b)}	120	19 (15.9%)	0	17 (14.2%)	14		
⑥ 1987-1989 ^{b)}	106	9 (8.5%)	0	6 (5.7%)	10		RPHA
⑦ 1990-1991	63	3 (4.8%)	0	2 (3.2%)	14		
⑧ 1992-2003	513	1 (0.2%)	0	1 (0.2%)	14	献血 (200, 400ml) 成分献血	第1世代 第2世代

① 売血時代 ② 売血から献血への移行期 ③ 献血時代 ④ HbsAg (SR, IES)によるスクリーニング開始

⑤ HbsAg (RPHA)によるスクリーニング開始 ⑥ 400ml 献血、成分献血開始

⑦ 第1世代 HCVAbによるスクリーニング開始 ⑧ 第2世代 HCVAbによるスクリーニング開始

a) 厚生科学研究：追跡調査 b) 厚生科学研究：保存血漿、血清による検査

分担研究報告書

慢性化した輸血後非 A 非 B 型肝炎（C 型肝炎）の急性肝炎からの線維化の推移

分担研究者： 清澤 研道 信州大学医学部内科教授
研究協力者： 田中 栄司 信州大学医学部内科助教授
松本 晶博 信州大学医学部内科助手
梅村 武司 信州大学医学部内科医員

研究要旨：

C 型急性肝炎ウイルス(hepatitis C virus: HCV)発見以前の 1970 年～1988 年以前に輸血後肝炎を発症し、以後慢性化した症例の長期にわたる組織学的推移を検討し、線維化の進展度を解析した。対象は 43 症例（男 24 例、女 19 例）である。急性肝炎発症時の平均年齢は 40.4 ± 11.2 歳、総肝生検回数は 126 回、一人当たり肝生検数は 2.9 回である。平均 fibrosis stage (FS) は 1 年目で 0.9 ± 0.6 、10 年目で FS は 1.3 ± 1.1 、20 年目は 2.1 ± 1.2 、30 年目は 3.5 ± 0.7 であった。1 年毎の FS 進展度は平均 0.11 であった。以上の結果より肝硬変(F4)には平均約 36.4 年要することがわかった。

A. 目的

C 型急性肝炎ウイルス(hepatitis C virus: HCV) は 1988 年に同定され、ウイルス測定が医療現場で可能になったのは 1989 年終わり頃である。それ以前には多くの輸血後肝炎が発症し治癒に至らないことを経験していた。これら症例のほとんどは保存血清を用いた HCV 抗体検査（当初は C100-3HCV 抗体＝第 1 世代抗体、その後代 2 世代 HCV 抗体）や HCV RNA を測定することにより C 型肝炎と判明した。それまでこれら症例の肝生検が行なわれており、その組織学的経過は十分に評価されていなかった。

最近になり、C 型肝炎はウイルスが持続する限り肝炎所見は不可逆であり線維化は徐々に進行することが明らかになった。線維化の結末は肝硬変であり、この推移を把握することは長期予後を推定する上で重要である。線維化の評価として staging 分類が確立した。本研究では 1989 年以前に発症した輸血後非 A 非 B 型肝炎の肝生検組織の staging を retrospective に評価し、経年的推移を検討した。

B. 対象と方法

対象は 1970 年から 1988 年の間に輸血後肝炎を発症し肝生検を 2 回以上施行されている 43 例である。対象は 43 症例（男 24 例、女 19 例）である。これら症例は経過中に血清が保存されていた。急性肝炎発症時の平均年齢は 40.4 ± 11.2 歳、総肝生検回数は 126 回、一人当たり肝生検数は 2.9 回である。最長観察期間は 33 年である。発症からの期間別肝生検標本数は 0～1 年が 33、1～2 年が 14、2～5 年が 22、5～10 年が 19、10～15 年が 10、15

～20 年が 6、25～30 年が 4、30 年以上が 2 である。

Fibrosis stage は、なし F0、mild を F1、中等度を F2、重症を F3、肝硬変を F4 とした。

HCV 抗体は第 2 世代抗体系で測定し、HCV RNA は RT-PCR 法で検出した。

C. 結果

1) 第 2 世代 HCV 抗体と HCV RNA 第 2 世代 HCV 抗体と HCV RNA は全症例で陽性を示した。

2) 発症から各年毎の fibrosis stage (FS) の推移 図 1 に全症例の結果をまとめた。

1 年目の平均 Fibrosis stage (FS) は 0.9 ± 0.6 、10 年目の FS は 1.3 ± 1.1 、20 年目は 2.1 ± 1.2 、30 年目は 3.5 ± 0.7 であった。1 年毎の FS 進展度は平均 0.11 であった。以上の結果より、約 10 年毎に FS は 1.0 づつ上昇し、肝硬変(F4)には平均約 36.4 年要することがわかった。

3) 男性、女性別に見た fibrosis stage (FS) の推移

図 2 に男女別の fibrosis stage (FS) の推移を比較した結果を示す。1 年毎の fibrosis stage (FS) の進行度は男女とも 0.11 unit/year で差を認めなかった。

4) 年齢別にみた fibrosis stage (FS) の推移

図 3 に肝炎発症が 40 歳以上と以下に分けた fibrosis stage (FS) の推移を示した。40 歳以上で発症した症例は FS が 0.14 unit/year であるのに対して、40 歳未満者では 0.09 unit/year であった。すなわち高齢者ほど線維化の進行が早いことが言える。

D. 考察

1989年以前の輸血後非A非B型肝炎はC型肝炎であり、C型肝炎は慢性化することが改めて示された。

C型肝炎が予後不良な疾患であることの大きな理由として、線維化がある。線維化の最終結末は肝硬変であり食道静脈瘤、肝不全の原因となり、さらには肝細胞癌発生の母地となる。今回の結果からHCV持続感染が続くかぎり肝内の線維化はゆっくりゆっくり進展し、そのFS進行速度は平均0.11 unit/yearであった。この進行速度は急性肝炎発症初期からみて10年、20年、30年経った時点でも変わりなくほぼ直線的であることは興味を持たれる。男女差には相違がみられなかった。もう一点興味を持たれたのは年齢差である。すなわち40歳以上者ではFS進行度は0.14 unit/yearであるのに対して、40歳未満者では0.09 unit/yearであった。すなわち高齢者ほど線維化の進行が早く、若年者ほど遅いことが言える。

ヨーロッパの報告によると、スタート時点が慢性肝炎であるが、FSは0.133 unit/yearである。わが国での報告では白鳥らが10年毎にFSが1.0 unit上昇することを報告している。また、八橋らは高齢者の急性C型肝炎は早期に肝硬変、肝細胞癌が発生することを報告している。今回得られたわれわれの成績はほぼこれらの結果を追認したといえる。

E. 結論

輸血後C型急性肝炎の発症初期から経時的に検討した1年毎のFS進展度は平均0.11であった。肝硬変(F4)には平均約36.4年要する。

図1: Association between stage of fibrosis and duration of infection

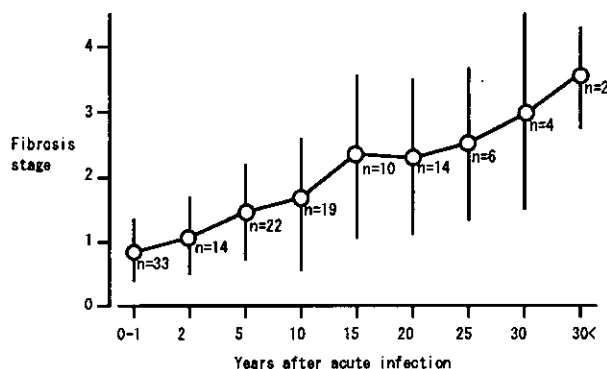


図2: Association between stage of fibrosis and duration of infection

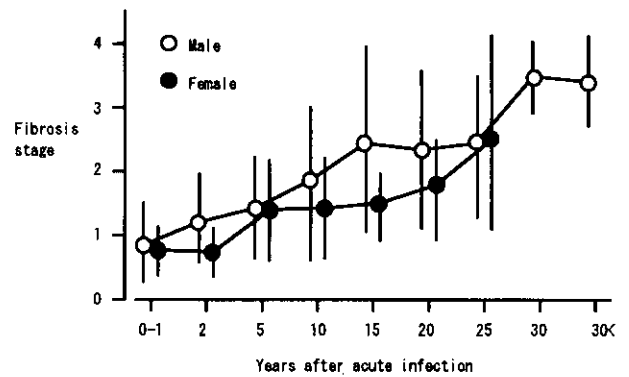
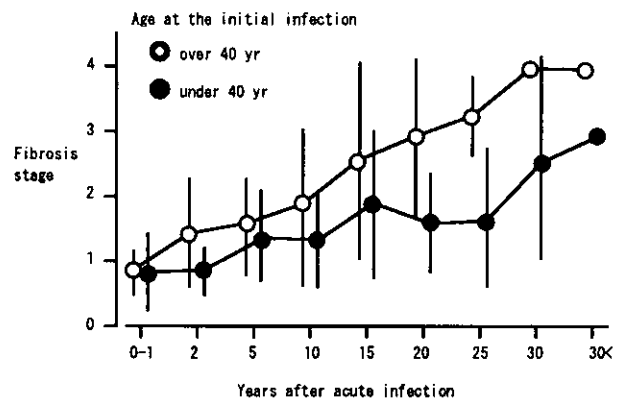


図3: Association between stage of fibrosis and duration of infection



F. 参考文献

1. Yoshizawa K, Kiyosawa K et al.: Long-term follow-up of hepatitis C virus infection. *Tissue Antigen* 61;159-165, 2003
2. 清澤研道. C型肝炎: ウイルス・病態・診断・治療. *Annual Review 消化器* 2003, 戸田剛太郎編, 中外医学社, 東京, pp254-257

G. 研究発表

- 1) Kasahara A, Tanaka H, Okanoue T, Imai Y, Tsubouchi H, Yoshioka K, Kawata S, Tanaka E, Hino K, Hayashi K, Tamura S, Itoh Y, Kiyosawa K, Kakumu S, Okita K, Hayashi N. Interferon treatment improves survival in chronic hepatitis C patients showing biochemical as well as virological responses by preventing liver-related death. *J Viral Hepat.* 2004 Mar; 11(2):148-156.
- 2) Umemura T, Tanaka E, Ostapowicz G, Brown KE, Heringlake S, Tassopoulos NC, Wang RY, Yeo AE, Shih JW, Orii K, Young NS, Hatzakis A, Manns MP, Lee WM, Kiyosawa K, Alter HJ. Investigation of SEN virus infection in patients with cryptogenic

- acute liver failure, hepatitis-associated aplastic anemia, or acute and chronic non-A-E hepatitis. *J Infect Dis.* 2003 Nov 15; 188 (10): 1545-52.
- 3) Rokuhara A, Tanaka E, Matsumoto A, Kimura T, Yamaura T, Orii K, Sun X, Yagi S, Maki N, Kiyosawa K. Clinical evaluation of a new enzyme immunoassay for hepatitis B virus core-related antigen; a marker distinct from viral DNA for monitoring lamivudine treatment. *J Viral Hepat.* (4): 324-30.
 - 4) Gad A, Tanaka E, Matsumoto A, el-Hamid Serwah A, Ali K, Makledy F, el-Gohary A, Orii K, Ijima A, Rokuhara A, Yoshizawa K, Nooman Z, Kiyosawa K. Factors predisposing to the occurrence of cryoglobulinemia in two cohorts of Egyptian and Japanese patients with chronic hepatitis C infection: ethnic and genotypic influence. *J Med Virol.* 2003 Aug; 70 (4): 594-9.
 - 5) Yamaura T, Tanaka E, Matsumoto A, Rokuhara A, Orii K, Yoshizawa K, Miyakawa Y, Kiyosawa K. A case-control study for early prediction of hepatitis B e antigen seroconversion by hepatitis B virus DNA levels and mutations in the precore region and core promoter. *J Med Virol.* 2003 Aug; 70(4): 545-52.
 - 6) Tanaka N, Kiyosawa K. Development of hepatocellular carcinoma after longterm sustained complete response to interferon therapy: what is the mechanism? *J Gastroenterol.* 2003; 38 (4): 417-9.6.
 - 7) Kobayashi N, Tanaka E, Umemura T, Matsumoto A, Iijima T, Higuchi M, Hora K, Kiyosawa K. Clinical significance of SEN virus infection in patients on maintenance haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant.* 2003 Feb; 18 (2): 348-52.
 - 8) Yoshizawa K, Ota M, Saito S, Maruyama A, Yamaura T, Rokuhara A, Orii K, Ichijo T, Matsumoto A, Tanaka E, Kiyosawa K. Long-term follow-up of hepatitis C virus infection: HLA class II loci influences the natural history of the disease. *Tissue Antigens.* 2003 Feb; 61 (2): 159-65.
 - 9) Kimura T, Rokuhara A, Matsumoto A, Yagi S, Tanaka E, Kiyosawa K, Maki N. New enzyme immunoassay for detection of hepatitis B virus core antigen (HBcAg) and relation between levels of HBcAg and HBV DNA. *J Clin Microbiol.* 2003 May; 41 (5): 1901-6.
 - 10) 清澤研道. C型肝炎：ウイルス・病態・診断・治療. *Annual Review 消化器* 2003, 戸田剛太郎編、中外医学社、東京、pp254-257
 - 11) 清澤研道、田中栄司. ウイルス性肝炎術後再発—予防と治療— *移植* 2003 ; 16 : 473-477.
 - 12) 清澤研道、田中栄司、松本晶博、熊田博光、小俣政男. Lamivudine 治療は B 型肝炎の自然経過を修飾するか. *犬山シンポジウム記録刊行会編 第 24 回犬山シンポジウム・B 型 C 型肝炎の病態と治療.* アークメディア、東京、pp3-9.
 - 13) 沖山 洋、清澤研道. C 型急性肝炎の抗ウイルス療法. *肝胆膵* 2003 ; 47 : 709-714

分担研究報告書

輸血後肝炎の発生状況と各種ウイルスの輸血を介する感染モニター

分担研究者： 小西 奎子

国立金沢病院第2臨床検査科長

研究協力者： 高岡 幸子, 伊藤 節子

国立金沢病院臨床検査科

研究要旨：

2003年には、輸血後3ヶ月間以上経過観察した127例に輸血後肝炎の発症はなかった。過去5年間の輸血後肝炎発症率は681例中の5例0.73%であり、HCV抗体スクリーニング開始の1992年以降では、1347例中の12例0.89%であった。いずれも非B非C型であり、肝炎は軽度で一過性であり、重症例や慢性化はみられなかった。

平均年齢69.9±14.8歳の年齢構成の294例では、HEV汚染率は17例5.8%であり、HEV未感染者277例には、輸血を介するHEVの感染は1例もみられなかった。HEVの感染既往は60歳代が15.0%と最も多く、70歳代3.5%と80歳代5.4%がそれに次いだ。

HAV感染既往は60歳以上に偏り(87.6%)、73.9%と高率であった。61例のHAV未感染者には、輸血を介する感染はみられなかった。CMVの感染既往は96.9%と非常に高率であり、CMV未感染者はわずか9例で、この9例には輸血を介するCMVの感染は認めなかった。B型とC型輸血後肝炎の発症はなかったが、輸血前後の抗体検査等からも輸血を介するHBVとHCVの感染およびHIVの感染は起こってはいないことが証明された。

A. 研究目的

NAT法の導入によって、C型肝炎の発症はみられず、B型肝炎の発症はNAT法をすり抜けた極僅かな例にみられるに過ぎない。しかし、非B非C型輸血後肝炎の発症は0ではなく、現在でも約1%残っている。継続して輸血後肝炎の発生状況をモニターし、肝炎の原因を明らかにし、予防に役立てる。また、経口感染と考えられる人畜共通肝炎ウイルスのHEVが輸血を介して感染した事実から、HEVの輸血を介する感染の可能性を検討する。同様に、HAV、CMV、HBV、HCV、HIVについても輸血を介する感染の有無をモニターする。

B. 研究方法

当院においては、血液疾患を除く輸血を受けた全ての患者を対象に長期輸血副作用調査の承諾を得て、ALP・AST・ALT・LDH・γ-GTPの5項目をマーカーにして経過観察し、輸血後肝炎などの副作用の早期発見に努めている。輸血後3ヶ月間以上経過観察可能であった症例を対象に、

輸血後肝炎およびHEV、HAV、CMV、HBV、HCV、HIVについて輸血を介する感染の有無をモニターする。輸血後肝炎の診断は1996年3月設定の診断基準(厚生省肝炎連絡協議会)に準じて行った。

測定方法は、HBs抗原はRPHA法・PA法とEIA法、HBs抗体はPHA法・PA法とEIA法、HBc抗体はPHA法とEIA法、HCV抗体はEIA法とFEIA法を用いた。TTVはPCR法によってTTV DNAを測定した。また、IgG-HEV抗体とIgM-HEV抗体はELISA法(デンカ生研)、IgG-HAV抗体とIgM-HAV抗体はEIA法(IMx;アボットジャパン)、IgG-CMV抗体とIgM-CMV抗体はELISA法(デンカ生研)、HIV抗体はPA法(富士レビオ)を用いて測定した。

C. 研究結果

1. 輸血後肝炎発症率

2003年1月から9月の9ヶ月間の輸血副作用調査登録患者は327例であり、そのうち輸血後3ヶ月間以上経過観察可能であった症例は127例で、追跡率は38.8%であった。この127例には

1例も肝炎は発症しなかった。

過去5年間(1999年1月から2003年9月)では、輸血副作用調査登録患者1849例中、輸血後3ヶ月間以上経過観察可能であった症例は681例あり(追跡率36.8%)、681例のうち5例が肝炎を発症した。輸血後肝炎発症率は0.73%であった(表1)。また、PHA法によるHCV抗体スクリーニングが開始された1992年以降では、平均輸血量5.1本で、輸血後肝炎発症率は経過観察例1347例中の12例、0.89%であった。いずれも非B非C型であり、63.6%(7例/11例、1例はTTV DNA未測定)にはTTV DNAが陽性化し、TTVの関与が考えられた。これまでの報告に見るようにいずれも肝炎は軽度で一過性であり、重症例や慢性化はみられない。

2. 輸血に伴うHEV感染の可能性

2001年8月以降の294例を対象に、輸血前と輸血後8週または6週の血清についてIgG-HEV抗体とIgM-HEV抗体を測定した。対象の年齢構成は、0歳から93歳までの平均年齢69.9±14.8歳であり、60歳以上の高齢者は79.3%を占めた(具体的な年齢構成:0歳1例0.3%、20歳代4例1.4%、30歳代7例2.4%、40歳代15例5.1%、50歳代34例11.6%、60歳代60例20.4%、70歳代86例29.3%、80歳代74例25.2%、90歳代13例4.4%)。

輸血前にIgG-HEV抗体が陽性であった症例は

17例5.8%あり、IgM-HEV抗体陽性例はなかった。17例は感染既往と考えられ、HEVの汚染率は5.8%と考えられた。

輸血前HEV抗体陰性の277例には、輸血後8週または6週目にIgG-HEV抗体とIgM-HEV抗体が新たに陽性化した症例は1例もなかった。277例には、輸血を介するHEVの感染はみられなかった(表2)。IgG-HEV抗体価が、輸血前+4.08、4週目+6.03、8週目+7.14 COIと経過に伴い1.7倍に増加した症例が1例あったが、IgM-HEV抗体は陰性のまま経過した。輸血前のそれ程遠くない過去にHEVの感染があったものと推測される。

感染既往の年齢分布は、60歳代が15.0%(9/60例)で最も多く、次いで80歳代の5.4%(4/74例)、70歳代の3.5%(3/86例)であり、30歳代の7例中の1例も(14.3%)陽性であった(図1)。

3. HAVとCMVの輸血に伴う感染の可能性

HEV抗体検査と同一対象群中の234例について、IgG-HAV抗体とIgM-HAV抗体を測定した。輸血前にIgG-HAV抗体が陽性であったHAV感染既往者は、173例73.9%であった(表2)。感染既往は、30歳代の40.0%(2/5例)、40歳代の0%(0/13例)、50歳代の33.3%(9/27例)、60歳代の86.3%(44/51例)、70歳代の81.8%(54/66例)、80歳代の93.0%(53/57例)、90歳代の100%(11/11例)であり(図1)、陽性者は60歳以上

表1. 過去5年間の輸血後肝炎発症状況
1996年の診断基準に準ずる

	1999年	2000年	2001年	2002年	2003年	計
登録例数	422例	382例	313例	405例	327例	1849例
追跡例数 (追跡率)	143例 (33.9%)	135例 (35.3%)	122例 (39.0%)	154例 (38.0%)	127例 (38.8%)	681例 (36.8%)
肝炎発症例 (発症率)	1例 (0.70%)	2例 (1.48%)	1例 (0.82%)	1例 (0.65%)	0例 (0%)	5例 (0.73%)

に偏っていた(87.6%, 162/185例)。未感染者61例において、輸血後8週または6週目にIgG-HAV抗体およびIgM-HAV抗体が新たに陽性化した症例は1例もなく、輸血を介するHAVの感染はみられなかった。

HEV抗体検査と同一対象群の294例について、IgG-CMV抗体とIgM-CMV抗体を測定した。輸血前IgG-CMV抗体陽性は285例で、感染既往は96.9%と非常に高率であった。CMVの感染既往者は、20歳代が25.0%(1/4例)で、30歳代では85.7%(6/7例)に増加し、50歳代では97.1%(33/34

例)、70歳以上では100%の陽性率であった(図1)。CMVの未感染者はわずか9例であり、この9例には、輸血後CMV抗体の陽性化は見られず、輸血を介するCMVの感染は認めなかった(表2)。

輸血前にIgG-CMV抗体とIgM-CMV抗体の両者が陽性の1例があった。症例は35歳の女性であり、経過中、両抗体価の増加が観察されたことから、輸血前のそれ程遠くない過去にCMVの感染があったものと推測される。また、IgG-CMV抗体陰性の超低体重児に2本の輸血が行われたが、感染は起こらなかった。

表2. 各種ウイルスの輸血を介する感染モニター

	対象例	陽性例(率)	陰性例 (経過観察対象例)	感染例
HEV抗体 ¹⁾	294	17(5.8%)	277	0
HAV抗体 ¹⁾	234	173(73.9%)	61	0
CMV ¹⁾	294	285(96.9%)	9	0
HBV ²⁾	231	4(1.7%)	227	0
HCV ³⁾	235	14(6.0%)	221	0
HIV ⁴⁾	398	nt	398	0

- 1) 輸血前と輸血後6~8週時に抗体測定
- 2) 輸血前と輸血後3~6カ月時にHBsAg・HBsAb・HBcAb測定
- 3) 輸血前と輸血後3~6カ月時にHCV抗体測定
- 4) 輸血後3カ月時にHIV抗体測定

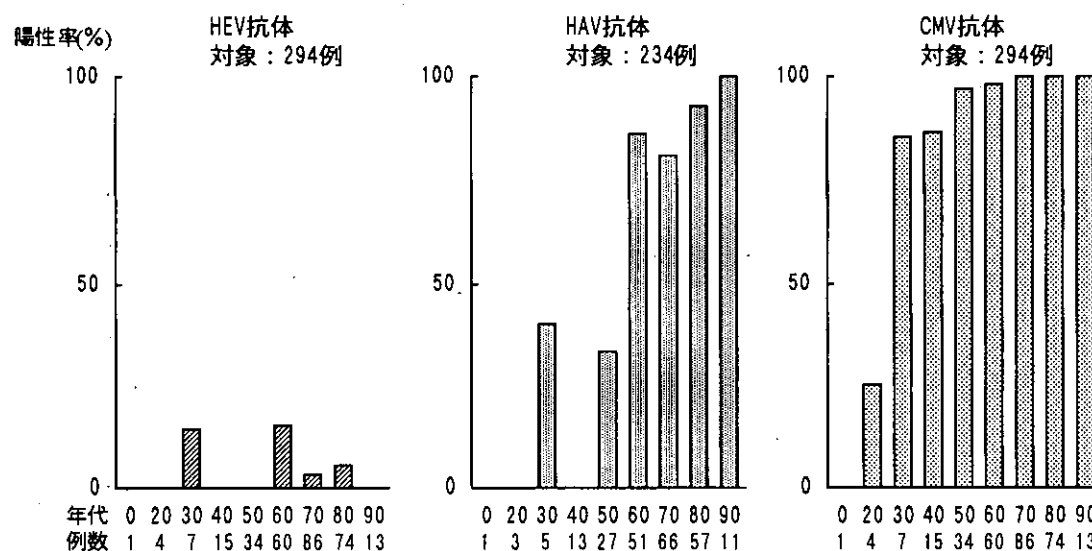


図1. 輸血対象者の年齢別HEV, HAV, CMV抗体保有率

4. HBV, HCV, HIV の輸血を介する感染のモニター

輸血前と輸血後 3~6 ヶ月目に HBs 抗原, HBs 抗体と HBc 抗体を測定した。対象 231 例の輸血前 HBs 抗原陽性は 4 例 1.7%であった。4 例を除く 227 例には, 経過中 HBs 抗原や HBc 抗体の陽性化は見られず, また, HBs 抗体と HBc 抗体の 2 管差以上の抗体価増加も観察されなかった。227 例には HBV の感染はなかった (表 2)。

235 例を対象に輸血前と輸血後 3~6 ヶ月目に HCV 抗体を測定した。輸血前 HCV 抗体陽性は 14 例 6.0%であり, この 14 例を除く 221 例の経過中に HCV 抗体が陽性化した症例はなく, 221 例には輸血を介する HCV の感染はなかった (表 2)。

398 例を対象に, 輸血後 3 ヶ月目に HIV 抗体を測定した。HIV 抗体はすべて陰性であり, 398 例には輸血を介する HIV の感染はなかった (表 2)。

D. 考察

2003 年には, 輸血後 3 ヶ月間以上経過観察可能であった 127 例に肝炎の発症はなかった。また, 過去 5 年間では, 経過観察 681 例中 5 例が肝炎を発症し, 輸血後肝炎発症率は 0.73%であった。それは, 血液疾患を除く輸血を受けた全患者の追跡率 36.8%の結果である。また, PHA 法による HCV 抗体スクリーニングが開始しされた 1992 年以降でみると, 輸血後肝炎発症率は 1347 例中の 12 例, 0.89%である。輸血後肝炎の発症率は最近減少傾向にあるといえる。また, HCV のスクリーニング以降に発症するわずか 0.9%未満の輸血後肝炎は, いずれも非 B 非 C 型であり, 軽微な肝機能障害を呈するものであり, 一過性に経過するものばかりである。その原因としては, 3 分の 2 に TTV DNA の陽性化が認められること, 汚染率の高い TTV の感染が輸血はもとより, 水平感染でも容易におこり得ると考えられることから, TTV を第 1 に考えたい。高頻度

におこる TTV の感染に対し肝障害発症の有無は, 患者の病態に依存すると考えられるが, いずれにしても肝障害は軽微で, 一過性であることから, HCV の発見によって輸血後肝炎は, NAT 法をすり抜ける B 型肝炎を除けば, ほぼ解決したと考えられる。

60 歳以上の高齢者が 79.3%を占め, 平均年齢 69.9±14.8 歳の 294 例の HEV 感染既往率は 17 例 5.8%であった。感染既往は 60 歳代 15.0%と最も多く, 80 歳代 5.4%や 70 歳代 3.5%など高齢者に多い結果であった。輸血後の経過観察中に抗体価の上昇を見た 1 例があったが, 当院でも E 型急性肝炎例 (genotype III 型) が証明されたことから, HEV の感染は稀な現象ではないことが窺われる。しかし, 輸血前 HEV 抗体陰性の 277 例には, 新たに HEV 抗体が陽性化した症例はなく, 輸血を介する HEV の感染は認めなかった。

HEV と同様に経口感染する HAV の輸血を介する感染は, HAV の感染既往が 73.9%と高率であることから, HEV 以上に可能性がないと考えられる。特に, HAV 抗体陽性率が 90%以上の 60 歳以上の高齢者においては感染の可能性はまずないと考える。事実, HAV 未感染者 61 例には, HAV 抗体の陽性化は見られず, 輸血を介する感染を疑うものは 1 例もなかった。今後, 60 歳未満の受血者を対象にモニターすることにする。

CMV の感染既往は, 96.6%とさらに高率であり, CMV の未感染者はわずか 9 例である。CMV の感染既往は, 20 歳代が 25.0%, 30 歳代が 85.7%, 40 歳代が 86.7%, 50 歳代が 97.1%, 70 歳以上では 100%の陽性率であり, 30 歳前後に感染機会をもつと考えられる。血液を介する感染性があり, かつ汚染率の高い CMV においては輸血を介する感染は起こり得ることであり, 特に未感染者の多い 30 歳未満においては可能性がある。

超低体重児や免疫能の低下を背景にもつ患者においては肝炎等の発症に繋がるものであり、注意を要すると考える。

NAT法が実施されている現状では、B型およびC型の輸血後肝炎は1例も発症していないが、抗体検査等からも輸血を介するHBVとHCVの感染およびHIVの感染は起こってはいないことが証明された。

HAVは60歳未満を、CMVは40歳未満を、HEV、HBV、HCV、HIVは全例を対象に、輸血を介する感染状況を継続モニターする予定である。

E. まとめ

2003年には、輸血後3ヶ月間以上経過観察可能であった127例に肝炎は発症しなかった。過去5年間の輸血後肝炎の発症率は681例中の5例0.73%であった。また、PHA法によるHCV抗体スクリーニングが開始された1992年以降は、平均輸血量5.1本で、1347例中の12例0.89%であった。いずれも非B非C型であり、肝炎は軽度で一過性であり、重症例や慢性化はみられなかった。

2001年8月以降の294例、0歳から93歳までの平均年齢69.9±14.8歳の年齢構成では、HEVの汚染率は17例5.8%であり、輸血前HEV抗体陰性の277例には、輸血を介するHEVの感染は1

例もみられなかった。感染既往例の年齢分布は、60歳代が15.0%と最も多く、70歳代3.5%と80歳代5.4%がそれに次いだ。

HAV未感染者61例においては、輸血を介するHAVの感染はみられなかった。HAV感染既往者は、60歳以上に偏っており、60歳未満を対象に今後モニターする必要がある。

CMVの感染既往は96.9%と非常に高率であり、CMVの未感染者はわずか9例であった。この9例には輸血を介するCMVの感染は認めなかった。30歳前後にCMVの感染が起こると考えられ、40歳未満を対象にモニターすべきであると考えられた。

B型およびC型輸血後肝炎の発症をみないが、輸血前後の抗体検査等からも輸血を介するHBVとHCVの感染、およびHIVの感染は起こってはいなかった。

文献

- 1)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49補冊p172,2001

分担研究報告書

肝細胞癌患者における E 型肝炎ウイルスの感染状況に関する研究

分担研究者： 佐藤 裕二 北海道大学医学部助教授

研究要旨：

HCC患者のHEV陽性率を検討した。HCC患者と血液、切除組織：2001年1月より2003年11月まで北大病院第1外科にて入院手術されたHCC患者のうちHBV、HCV、HEVを測定し、かつ切除標本（肝組織）が得られた90例を対象とした。切除標本より臨床病理学的に非癌部では新犬山分類に沿って肝炎、肝硬変の程度を繊維化をgrade 0-4、炎症をgrade 0-3に分類した。また、癌部については「肝癌取り扱い規約4版」に沿って分類した。90例のHBV陽性者は36名、HCV陽性者は32名で両者とも陽性1名、両者とも陰性21名であった。90例中HEV-IgG陽性5(5.5%)名、陰性85名であったが、陰性者のうち測定限界以下76名、測定可能9名(10%)であった。HEV-IgM陽性者はなかったが、陰性90名のうち測定限界以下76名、測定可能4名(4.4%)であった。HEV-IgG陽性者5名のうちでHBV陽性は2名(2.2%)、HEV-IgG測定可能 9名のうち6名(6.6%)がHBV陽性であった。また、HEV-IgG陽性者5名のうちでHCV陽性は2名(2.2%)、HEV-IgG測定可能9名のうち4名(4.4%)がHCV陽性であった。HEV-IgM測定可能4名中HBV陽性4名(4.4%)、HCV陽性 0名であった。

A. 研究目的

輸血によるウイルス感染症は NAT 検査導入により HBV、HCV、HIV などさらに減少したが、依然としてウィンドウ期の HBV、HCV、HGV、TTV (Transfusion transmitted virus)、CMV、EBV などによる肝機能障害があげられる。最近 E 型肝炎ウイルスと肝機能障害、急性肝炎 (nonA-nonB hepatitis) との関係が明らかになっている。さらに、E 型肝炎ウイルス (HEV) の感染原因としてペット、水系感染、輸血などが原因とされ、特に輸血との因果関係が注目されている。一方、原発性肝細胞癌 (HCC) は原因とされる HBV、HCV 感染が挙げられているが、その患者は輸血をされていることが多く、その他のウイルス感染症と HCC との因果関係は明らかではなく、また、HBV、HCV と他のウイルス感染症との相互作用も明らかではない。

今回、HCC と HEV との関係を明らかにすることを目的に、北海道大学医学部附属病院（北大病院）第 1 外科で入院治療された HCC 患者における HBV、HCV 感染症とともに HEV 感染の調査をした。

B. 研究方法

1. HCC 患者と血液、切除組織：2001 年 1 月より 2003 年 11 月まで北大病院第 1 外科にて入院手

術された HCC 患者のうち HBV、HCV を測定し、かつ切除標本（肝組織）が得られた 90 例を対象とした。血液採取は当科入院時に行い、直ちに血清分離し-80℃で保存した。肝臓組織は切除後に同様に保存した。また、切除標本より臨床病理学的に非癌部では新犬山分類に沿って肝炎、肝硬変の程度を繊維化を grade 0-4、炎症を grade 0-3 に分類した。また、癌部については「肝癌取り扱い規約 4 版」に沿って分類した。

2. HEV 感染検査：入院時の血液より HEV 抗体検査を行った。HEV-IgG、IgM は VIRAGENT HEV-Ab (ヒト IgG、IgM) キット (ティーアイテ社) を使用し、ELISA 法で測定した。IgG では 13 以上、IgM では 30 以上を陽性とし、測定限界を 5 未満とした。

(倫理面への配慮)

輸血は、書面で同意をえた後に施行された。また、患者個人情報やプライバシーに配慮し、匿名化した。

C. 研究結果

1. HCC 患者の HBV、HCV 感染症：90 例の HBV 陽性者は 36 名、HCV 陽性者は 32 名で両者とも陽性 1 名、両者とも陰性 21 名であった。

2. HCC 患者の HEV 感染症：90 例中 HEV-IgG

陽性 5(13 以上)、陰性 85 名であったが、陰性者のうち測定限界以下(5 未満) 76 名、測定可能(5-12) 9 名であった。陰性と判定され測定可能であった 9 名の測定値は 5、5、5、7、9、9、10、10、12 であった。HEV-IgM 陽性(30 以上)はなかったが、陰性 90 名のうち測定限界以下(5 未満) 76 名、測定可能(5-29) 4 名であった。陰性と判定され測定可能であった 4 名の測定値は 5、7、7、12 であった。

3. HEV と HBV、HCV の重複感染：HEV-IgG 陽性者 5 名のうちで HBV 陽性は 2 名、HEV-IgG 測定可能(5-12) 9 名のうち 6 名が HBV 陽性であった。また、HEV-IgG 陽性者 5 名のうちで HCV 陽性は 2 名、HEV-IgG 測定可能(5-12) 9 名のうち 4 名が HCV 陽性であった。

HEV-IgM 測定可能 (5-29) 4 名中 HBV 陽性 4 名、HCV 陽性 0 名であった。

4. HCC 患者 90 名の肝炎、肝硬変の程度：90 名の肝硬変合併率は約 40%、肝炎合併率は約 90%であったが、その HBV、HCV、HEV 感染との関係、輸血既往との因果関係は現在調査中である。

D. 考察

HEV は従来より HAV(A 型肝炎ウイルス)とならび経口型肝炎ウイルスの一つとして知られて、主に熱帯-亜熱帯地域における上下水道が整備されていない地域に比較的限定されるとされてきた。しかし近年、欧米諸国で海外渡航歴のない HEV による急性肝炎例が報告されている。その原因として、ペットとして飼っていたネコよりの感染、水系感染でその伝搬は fecal-oral であるとする報告がみられるが、輸血による場合が多いとされる。輸血による感染では小児 Thalassemia での頻回輸血、non A-non B hepatitis の 35.7%で急性ウイルス性肝炎の 2.4%を占めその原因が輸血が主であるとする報告、56 名の輸血患者のうち 19 名が HEV-IgG 陽性であったとする報告、輸血による胃 HEV 感染率が 2.8%とする報告などがみられる。

一方、HBV、HCV 感染者はしばしば慢性肝炎へと移行し、HCC を発生させるが、HAV、HEV 感染は単に急性肝炎を発生するのみであるとする報告も多い。HCC 患者で HEV 感染との因果関係、特に HBV、HCV との合併による肝炎、肝硬変の程度、手術適応における HEV の影響 (肝予備能)、HCC の予後との関係は不明である。また、HCC 患者は肝硬変、食道静脈瘤、消化管出血、凝固因子欠乏などにより輸血を受ける頻度が高い。今後、本研究により HCC 患者における HEV 感染の影響が明らかになる可能性があると思われる。

E. 結論

1. HCC 患者 90 例の HEV-IgG 測定による HEV 感染症は中 5 名(5.5%)であったが、陰性者のうち測定限界以上 9 名(10%)であった。

2. HCC 患者における HEV と HBV、HCV の重複感染例は HEV-IgG 陽性者 5 名のうちで HBV 陽性は 2 名 (2/90; 2.2%)、HCV 陽性は 2 名(2/90; 2.2%)であった。

今後、HCC 患者における HEV の病状への影響を明らかにしたい。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1-1. 論文発表

(英文査読誌掲載論文)

1. Sun B, Nishihira J, Suzuki M, Fukushima N, Ishibashi T, Kondo M, Sato Y, Todo S: Induction of macrophage migration inhibitory factor by lysophosphatidic acid: Relevance to tumor growth and angiogenesis. Int J of Molecular Medicine 12(4): 633-41,2003.

1-2 (和文)

1. 孫白龍、小橋重親、近藤正男、佐藤裕二、藤堂省、鈴木正己、福嶋伸之、西平順、石橋輝雄：リゾフォスファチジン酸のシグナル伝達経路におけるマクロファージ遊走阻止因子の機能と役割、脂質生化学研究 45：180-183, 2003.

2. 学会発表

2-1 海外学会発表 (口頭・ポスター発表)

なし

2-2 国内学会発表

1. 小林寿美子、岩谷ユリ子、米岡麻紀、佐藤裕二、佐藤典宏、小池隆夫：より安全な自己血貯血の実施のための VVR 予防対策第二報.第 47 回日本輸血学会北海道支部会例会、2003,10,18,札幌

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

分担研究報告書

輸血後肝炎における E 型肝炎ウイルス及び TT ウイルスの役割

分担研究者： 鈴木 哲朗¹⁾

研究協力者： 稲葉 頌一²⁾、瀧本 真³⁾、上司裕史⁴⁾、李 天成¹⁾、
鈴木 亮介¹⁾、武田 直和¹⁾

- 1) 国立感染症研究所ウイルス第二部、2) 九州大学医学部、
- 3) 兵庫県リハビリテーションセンター附属中央病院、
- 4) 国立療養所東京病院

研究要旨：

本研究では、1) 輸血を介した E 型肝炎ウイルス (HEV) の感染実態、及び 2) 輸血後急性肝炎における HEV、TT ウイルス (TTV) の役割を明らかにすることを目的としている。国立療養所東京病院及び九州大学附属病院より分与された輸血 (前) 後血清について抗 HEV 抗体保有率の解析を行った。測定した全症例で抗 IgM 抗体は陰性であった。東京病院の輸血後検体 (138 名分) の中では輸血による HEV 感染の可能性が否定できないケースが 7 名あった。これらについては輸血前血清の検査が必要と思われる。また、九大病院の輸血前後検体 428 名分の中には輸血に伴って抗 IgG 抗体が陽転したケースが 17 名認められたものの、いずれも肝炎症状との相関は観察されていない。

一方、兵庫県立リハビリテーションセンター附属中央病院より分与された非 B 非 C 型輸血後肝炎の疑われる 5 症例について HEV、TTV 及び HGV の関与を検討した。TTV genogroup 1 遺伝子を検出した症例も認められたものの、肝炎の発症要因とするには至っていない。全例とも HEV、HGV は陰性であった。

A. 研究目的

E 型肝炎ウイルス(HEV)は、経口感染型であり、輸血後肝炎の原因ウイルスとは考えられていなかった。E 型肝炎は、感染者の糞便に汚染された水などが主な感染源で、東南アジアや中米、アフリカなど熱帯、亜熱帯地域で散発的に流行しており、日本では、海外で感染した人が持ち帰る輸入感染症と考えられてきた。しかしながら、一昨年初めて輸血後 E 型肝炎が報告された。また近年、E 型肝炎の流行地と接点を持たない複数の症例が確認されている。

一方、TT ウイルス (TTV) は輸血後肝炎症例から発見されたウイルスであるが、急性肝炎における役割などその病原性について未だ不明な点が多い。多数存在する遺伝子型と肝疾患の発症、予後との関連についても明確な答えは得られていない。

本研究では、1) 輸血を介した HEV の感染実態、及び 2) 輸血後急性肝炎における HEV、TTV の役割を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

1. 組換え HEV 様粒子の調製

HEV ORF2 遺伝子の 5'末端側 333 塩基を欠損させた断片をトランスファーベクター-pVL1393 に組

み込み、組換えバキュロウイルスを作製した。この組換えウイルスは HEV 構造蛋白の C 末端側 539 アミノ酸を発現する。昆虫細胞 Tn5 に感染させた後、培養上清に放出された浮上密度 1.285g/ml³ のウイルス様粒子を塩化セシウム平衡密度勾配遠心で精製した。

2. ELISA

HEV 様粒子を 96-well plate に分注し、4℃で一晩静置した。nonfat milk で 1 時間ブロッキングを行い洗浄後、段階希釈した血清と反応させた (37℃、1 時間)。洗浄後、二次抗体としてパーオキシダーゼ標識抗 IgG 抗体または同標識抗 IgM 抗体を加え、37℃、1 時間反応させた。発色は o-phenylenediamine を基質として行い 492 nm の吸光度を測定した。

3. TTV PCR

QIAampDNA Blood Mini Kit (QIAGEN)を用いて各血漿 (または血清) 0.2 ml から全 DNA を抽出した。TTV の全遺伝子型を検出するためにプライマー NG133 と NG147 (参考文献 Virology 259, 428-436 (1999)) を、遺伝子グループ

(genogroup) 1 を検出するためにプライマー NG061 と NG063 (参考文献 同上) をそれぞれ用いて PCR を行った。増幅反応は、95℃、30 秒；60℃、30 秒；72℃、45 秒のインキュベーションを 55 サイクル繰り返した。

C. 研究結果及び考察

これまでの血清学的な性状解析から、組換えバキュロウイルスから作られる HEV 様粒子は、ネイティブな HEV と同等の抗原性、免疫原性を示すことが明らかにされている (感染研 武田らの報告による)。急性 E 型肝炎症例では感染 HEV の遺伝子型に関わらず、この HEV 様粒子を用いた ELISA 法によって抗 IgM 抗体価の顕著な上昇が観察され、診断法としての有用性が確認されている。また、本法を用いて日本人の抗 HEV 抗体保有率を調査した結果、抗 IgG 抗体の平均保有率は約 4.5%であることが明らかとなっている。

我々は今回、国立療養所東京病院 (上司先生)、九州大学附属病院 (稲葉先生) より分与された輸血 (前) 後血清について抗 HEV 抗体保有率の解析を行った。東京病院検体では、138 名について輸血後早期 (2~5 週) とその数週間後のペア検体を測定した。その結果、抗 IgM 抗体は全例で陰性であった。抗 IgG 抗体は、1) 19 名 (14%) は輸血後早期に陽性でその後陰性化、2) 7 名 (5%) は輸血後 2 ヶ月以降に陽転化、3) 16 名 (12%) は両検体とも陽性、であった。1) については輸血に伴う抗 HEV 抗体の伝播、3) については輸血前における HEV 感染の可能性がそれぞれ考えられる。2) に関しては、輸血による HEV 感染の可能性が否定できない。これらについては輸血後肝炎の発症は報告されていないが、輸血前血清を調査した上で HEV の感染経路を特定すべきである。

また、九大病院検体では、428 名について輸血前後のペア血清を測定した。全例で抗 IgM 抗体は陰性であり、輸血後に抗 IgG 抗体が陽性化した 17 名についても ALT 価は肝炎診断基準を満たさず、輸血後 E 型肝炎症例は認められなかった。

一方、兵庫県立リハビリテーションセンター附属中央病院 (瀧本先生) より分与された非 B 非 C 型輸血後肝炎の疑われる 5 症例について HEV、TTV 及び HGV の関与を検討した (表 1)。TTV PCR は、全遺伝子型を検出するユニバーサルプライマーでは全例で輸血前後とも陽性であった。輸血との関連が考えられる genogroup 1 の PCR では、症例 2 と 4 が輸血前後とも陽性であり、また症例 1 では輸血後約 5 ヶ月で陽転化したものの、ALT 値の変動との相関は今のところ観察されていない。HEV マーカー (抗 IgG 抗体、抗 IgM 抗体)、HGV マーカー (RNA) はいずれも全例陰性であった。

次年度も HEV の輸血感染実態の調査を継続するとともに、非 B 非 C 型輸血後肝炎症例については TTV、HGV マーカーの解析も行っていく予定である。特に TTV については、輸血前後の経時的検体を用いて、輸血によって伝播した TTV クローンの同定、肝機能マーカーと TTV 遺伝子量の変動、などを解析することにより急性肝炎における役割を明らかにして行きたい。

D. 健康危険情報

特になし。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sacco R., Tsutsumi T., Suzuki R., Otsuka M., Aizaki H., Sakamoto S., Matsuda M., Seki N., Matsuura Y., Miyamura T., and Suzuki T. Anti-apoptotic regulation by hepatitis C virus core protein through up-regulation of inhibitor of caspase-activated DNase. *Virology* 317: 24-35 (2003).
- 2) Tsutsumi T., Suzuki T., Moriya K., Shintani Y., Fujie H., Miyoshi H., Matsuura Y., Koike K., and Miyamura T. Hepatitis C virus core protein activates ERK and p38 MAPK in cooperation with ethanol in transgenic mice. *Hepatology* 38: 820-828 (2003).
- 3) Moriishi K., Okabayashi T., Nakai K., Moriya K., Koike K., Murata S., Chiba T., Tanaka K., Suzuki R., Suzuki T., Miyamura T., and Matsuura Y. Proteasome activator PA28 γ - dependent nuclear retention and degradation of hepatitis C virus core protein. *J. Virol.* 77: 10237-10249 (2003).
- 4) Aizaki H., Nagamori S., Matsuda M., Kawakami H., Hashimoto O., Ishiko H., Kawada M., Matsuura T., Hasumura S., Matsuura Y., Suzuki T., and Miyamura T. Production and release of infectious hepatitis C virus from human liver cell cultures in the three-dimensional radial-flow bioreactor. *Virology* 314: 16-25 (2003).
- 5) Iwahori T, Matsuura T, Maehashi H, Sugo K, Saito M, Hosokawa M, Chiba K, Masaki T, Aizaki H, Ohkawa K, Suzuki T. CYP3A4 inducible model for in vitro analysis of human drug metabolism using a bioartificial liver. *Hepatology* 37: 665-673 (2003).
- 6) Otsuka M., Aizaki H., Kato N., Suzuki T., Miyamura T., Omata M., and Seki N. Differential cellular gene expression induced

by hepatitis B and C viruses. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 300: 443-447 (2003).

2. 学会発表

- 1) Ishikawa, T., Fukushima, Y., Shiobara, Y., Shoji, I., Suzuki, T., Matsui, T., Shimada, Y., Ohyama, T., Nagai, R., Miyamura, T. An outbreak of hepatitis C in an outpatient clinic in Japan. 11th International Symposium on Viral Hepatitis & Liver Disease. Sidney, Australia, April, 2003.
- 2) 森石恒司、岡本貴世子、中村理加、鈴木亮介、鈴木哲朗、森屋恭爾、小池和彦、宮村達男、松浦善治. C型肝炎ウイルスコア蛋白質の成熟・分解の分子機構. 第 51 回日本ウイルス学会, 京都, 2003 年 10 月.
- 3) 坂本真一郎、根岸英雄、鈴木亮介、瀬戸裕之、鈴木哲朗、宮村達男. C型肝炎ウイルス NS5A 蛋白質のリン酸化が HCV 複製に及ぼす影響. 同上.
- 4) 町田早苗、石井孝司、鈴木亮介、赤塚俊隆、宮村達男、鈴木哲朗. C型肝炎ウイルス Core 蛋白質による B 細胞表面分子の発現変化. 同上.
- 5) 鈴木亮介、村上恭子、鈴木哲朗、宮村達男. C型肝炎ウイルスの新たな翻訳抑制機構. 同上.
- 6) 石井孝司、町田早苗、鈴木亮介、吉崎佐矢香、鈴木哲朗、赤塚俊隆、宮村達男. 高度弱毒化ワクチニアウイルス株 DIs のウイルスベクターとしての応用. 同上.
- 7) 村上恭子、石井孝司、吉崎佐矢香、井上 寧、小俣和彦、Su Su Hmwe、相崎英樹、鈴木哲朗、宮村達男. 三次元培養肝細胞を用いた感染 HCV クロンの経時的変化の解析. 同上.
- 8) 小俣和彦、佐藤田鶴子、鈴木哲朗、宮坂孝弘、松野智宣、北原和樹、宮井崇宏. 歯科における HCV 感染予防に関する研究—第 1 報 歯科用切削用器具および歯内療法器具の消毒—. 第 48 回日本口腔外科学会総会. 富山, 2003 年 11 月.
- 9) Suzuki, R., Murakami, K., Suzuki, T., and Miyamura, T. Potential mechanism of cap-independent translation conferred by E1 region of the HCV genome. 10th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Kyoto, December, 2003.
- 10) Sakamoto, S., Shiroki, K., Suzuki, R., Suzuki, T., and Miyamura, T. In vitro particle assembly of HCV core protein. *ibit.*
- 11) Murakami, K., Inoue, Y., Ishii, K., Yoshizaki, S., Aizaki, H., Suzuki, T., and Miyamura, T. Dynamics of HCV replication in the three-dimensional radial flow bioreactor system. *ibit.*
- 12) Moriishi, K., Moriya, K., Koike, K., Suzuki, R., Suzuki, T., Miyamura, T., and Matsuura, Y. PA28g-dependent nuclear retention and degradation of HCV core protein. *Ibit.*
- 13) Machida, S., Ishii, K., Suzuki, R., Suzuki, T., Akatsuka, T., and Miyamura, T. HCV core protein preferentially down-regulates CD48 expression on human B cells. *ibit.*
- 14) Tomobe, K., Tsutsumi, T., Mori, K., Suzuki, T., Mizumoto, K., and Miyamura, T. Expression of HCV core protein activates an ER stress responder, ATF6. *ibit.*
- 15) 小俣和彦、佐藤田鶴子、鈴木哲朗、宮坂孝弘、松野智宣、北原和樹、宮井崇宏. 歯科における HCV 感染予防に関する研究—第 2 報 歯科用器具に対する消毒薬の効果—. 第 23 回日本歯科薬物療法学会. 東京, 2004 年 2 月.

F. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし。
2. 実用新案登録
なし。
3. その他
なし。

表 1. 非 B 非 C 型輸血後肝炎が疑われる症例の TTV、HEV、HGV 検査

症例	輸血後日数	TTV DNA		HEV Ab		HGV RNA
		Universal	Genogroupe 1	IgG (OD)	IgM (OD)	
1	pre	+	-	-	-	-
	3	+	-	-	-	-
	10	+	-	-	-	-
	21	+	-	-	-	-
	143	+	+	-	-	-
2	pre	+	+	-	-	-
	5	+	+	-	-	-
	12	+	-	-	-	-
3	pre	+	-	-	-	-
	43	+	-	-	-	-
	57	+	-	-	-	-
	63	+	-	-	-	-
	69	+	-	-	-	-
4	pre	+	+	-	-	-
	21	+	+	-	-	-
	50	+	+	-	-	-
	60	+	+	-	-	-
5	pre	+	-	-	-	N.T.
	21	+	-	-	-	N.T.
	34	+	-	-	-	N.T.
	42	+	-	-	-	N.T.
	3	+	-	-	-	N.T.
	13	+	-	-	-	N.T.
	24	+	-	-	-	N.T.
	135	+	-	-	-	N.T.
	136	+	-	-	-	N.T.
142	+	-	-	-	N.T.	
153	+	-	-	-	N.T.	

分担研究報告書

輸血後肝炎の発症状況と遡及調査結果

分担研究者： 瀧本 眞¹⁾

研究協力者： 山下 万利子²⁾、鈴木 哲朗³⁾、藺崎 君子¹⁾

能勢 義介²⁾、井本 しおん²⁾、三戸 壽²⁾

1) 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

2) 兵庫県赤十字血液センター

3) 国立感染症研究所

研究要旨：

1. 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において輸血後肝炎の定点観測を継続した。2003年度の輸血後肝炎発症例における原因ウイルスの追跡調査結果を報告する。当院における輸血症例（肝機能障害、肝胆膵系疾患を除く）は、142例で、追跡できた症例は91例であった。そのうち男性17例女性74例平均年齢68.0才を対象とした。91例中2例（2.2%）にALT軽度上昇を確認した。また、HCVキャリアーで輸血後ALTが軽度上昇した症例についても報告する。3例ともTTV（ユニバーサルプライマー）を用いたPCRでは輸血前後とも陽性であった。Genotype1のPCRでは1例が輸血後陽性であった。
2. 1999年10月から日本赤十字社ではすべての輸血用血液に対して核酸増幅検査（NAT）を導入した。兵庫県赤十字血液センターにおける50本プールNAT陽性例の頻度を報告する。
3. 日本赤十字社で昨年より実施している遡及調査の結果について報告する。全国の遡及調査対象のうち個別NATを実施した本数は15,474本で陽性が判明した本数は192本(1.2%)で、兵庫県赤十字血液センターでは1,042本中6本(0.8%)が陽性であった。

A. はじめに

当院では1979年から輸血後感染症の定点観測の調査を行っている。B型肝炎C型肝炎の発症は1991年以降認められていない。この数年間における輸血後のALT上昇例は、HBV、HCV以外のウイルスによって引き起こされている可能性が高く、本年度も一過性にALTが上昇した症例が2例確認されたので報告する。

また、HCVキャリアーで輸血後ALTが上昇した1例についても報告する。

さらに、平成11年10月より全ての輸血用血液製剤にNATが導入されてから、兵庫県赤十字血液センターにおけるNAT陽性のウイルス血症の血液が輸血から除外できたことを報告する。

また、平成11年4月1日から平成16年1月31日採

血分までの調査結果について報告する。

B. 目的

- a) 輸血後肝炎発症例における原因ウイルスの究明
- b) スクリーニング NAT 陽性の頻度
- c) 遡及調査結果の報告

C. 対象及び方法

- a) 輸血後肝炎発症例における原因ウイルスの究明

定点観測の対象は、2003年度は輸血症例（肝機能障害、肝胆膵系疾患を除く）142例で追跡できた症例91例（男性17例、女性74例、平均年齢68.0歳）とした。輸血バック数別の輸血症例は、表2に示すとおりである。輸血後肝炎の診断は、厚生省肝炎連絡協議会の「輸血後肝炎診断基準」に従った。

3例のALT上昇例については、クロスマッチ時の保存血清でHGV RNA、TTV DNA、HEV IgGの検査を実施した。HGV RNA、TTV DNAの検出はPCR法を用いHEV IgGはEIA法を用いた。

b) スクリーニングNAT陽性の頻度

検査本数は、500本プールで75,839人、50本プールで856,652人を対象とした。

c) 遡及調査結果の報告

平成11年4月1日から平成16年1月31日までの献血で陽転が確認された場合は、過去の直近（前回）及び前回から過去35日以内の献血血液を対象に調査した。

D. 結果

a) 輸血後肝炎発症例における原因ウイルスの究明（表1）

定点観測から確診例、疑診例は認められず、2例の輸血後ALT上昇例を認めた。一過性にALTが上昇した2症例についてはTTV（universal primer）を用いたPCRでは輸血前後とも陽性であった。

症例1（図1）は、TTV（genotype1）が輸血から12週間後に陽転化した。症例2（図2）は、IgG HEV陽性血が輸血されたが陽転化はしなかった。症例3（図3）は、輸血前後ともTTV（genotype1）が陽性であった。

b) スクリーニングNAT陽性の頻度（表3）

兵庫県赤十字血液センターで1999年10月1日から開始された核酸増幅検査では500本プールにおいては検査総数75,839人中1例がHBVDNA陽性を示し、50本プールでは856,652人中19例がHBVDNA陽性で、1例がHCV RNA陽性であった。HBVの陽性頻度は、500本プールにおいては1/7.6万人で、50本プールでは1/4.5万人であった。HCVの陽性は、500本プールでは検出されず、50本プールで86万人中1人に検出された。

c) 遡及調査結果の報告（表4、表5、表6）

兵庫県赤十字血液センターで平成11年4月1日から平成16年1月31日までで感染症検査の陽転化が確認された症例は、HBV 769例、HCV 221例、HIV 52例であった。これらのうち前回献血分が個別NAT陽性になった事例は6例（0.80%）で、すべてHBVであった。6例中1例は前回がHBc抗体陽性のため不合格であった。5例から7本の輸血用血液製剤が製造されたが、実際に輸血に使用されたものは1本であった。HBVDNA陽性6例中今回採血日から

前回採血日までの間隔が6ヶ月以内の献血者は3例であった。

E. 考察

a) 輸血後肝炎発症例における原因ウイルスの究明

定点観測にて輸血後肝炎診断基準でのALT上昇例が2例確認された。TTV（universal primer）を用いたPCRでは輸血に関わらずTTV DNA陽性であった。症例1（図1）は、TTV（genotype1）が輸血から12週間後に陽転化した。ALTの上昇とは関連性が低いため輸血用血液によるものかどうかは検討が必要である。症例2（図2）は、IgG HEV陽性血が輸血されたが陽転化はしなかったことから感染については否定した。

例年どおり輸血後ALTが一過性に上昇する症例の解析と、必要に応じた献血者のフォローアップの体制が今後必要であろう。また、輸血前後における他のウイルスの検査体制も検討課題である。

b) スクリーニングNAT陽性例の頻度

兵庫県赤十字血液センターで1999年10月1日から開始された核酸増幅検査ではHBV DNAの陽性頻度は、500本プールにおいては1/7.6万人で、50本プールでは1/4.5万人であり、全国の50本プールNAT陽性頻度の1/5万人とほぼ同頻度であり、500本プールと比べて50本プールNATの方が検出率は高かった。

c) 遡及調査結果の報告

全国の血液センターでは感染症検査項目が陽転化した献血者の前回献血を個別NATで再検すると、15,474本中192本（1.2%）陽性、うち189本（1.2%）がHBVであることより、HBVについてはプールサイズを50本より下げる等の対応が必要と思われた。HCVでは個別NAT陽性は全国で2例であった。兵庫県のHBV個別NATの陽性率は0.8%で全国よりやや低率であった。

HBV個別NAT陽性6例中今回採血日から前回採血日までの間隔が6ヶ月以内の献血者は3例であった。これらはFFPを6ヶ月貯留することによりウイルス血症の血漿血液が輸血から除外できる。

F. 結論

本年度も輸血後ALTが一過性に上昇する症例が2.2%に認められた。HBV、HCV以外のTTV、HGV、HEVと輸血との関連性についても、症例数を増やし検討する必要があると考える。また、輸血後

症例の解析と必要に応じた献血者のフォローアップ体制の構築も必要と考える。

G. 健康危険情報

なし

H. 研究発表

なし

I. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1 新診断基準による輸血後肝炎発症率及びウイルスマーカーによる検索

年 度	検索数	疑肝炎	旧確診	新確診	HBV	非 A 非 B	術後 HCV+	術後 HCV-	n. t.
1979	37	3	1	3	0	3	1	0	2
1980	41	8	4	8	0	8	2	1	5
1981	39	4	3	3	0	3	0	1	3
1982	46	6	5	6	0	6	3	0	3
1983	46	5	2	5	1	4	0	1	4
1984	77	7	2	7	1	6	1	1	5
1985	48	4	2	4	0	4	1	0	3
1986	40	3	2	3	0	3	0	0	3
1987	56	5	4	4	0	4	0	1	4
1988	33	4	2	2	0	2	1	1	2
1989	57	9	5	7	0	7	4	3	2
1990	44	4	3	3	0	3	2	2	0
1991	33	0	0	0	0	0	0	0	0
1992	39	0	0	0	0	0	0	0	0
1993	59	0	0	0	0	0	0	0	0
1994	77	0	0	0	0	0	0	0	0
1995	90	0	0	0	0	0	0	0	0
1996	81	(1)*	0	0	0	0	0	0	0
1997	95	0	0	0	0	0	0	0	0
1998	39	0	0	0	0	0	0	0	0
1999	61	0	0	0	0	0	0	0	0
2000	87	1	1	1	0	0	0	0	0
2001	76	2	0	0	0	0	0	0	0
2002	79	1	0	0	0	0	0	0	0
2003	91	0	0	0	0	0	0	0	0
総 計	1471	65(1)	36	56	2	53	15	11	36

* : HGV 陽性