

図1 血液の安全性確保のための検査フロー

日間、HIVでは10～15日間、各々短縮できるようになった⁴⁾。

PCR法は血漿からのウイルス核酸の抽出、遺伝子の増幅、増幅した遺伝子の検出という3つのプロセスによって成り立っているため、多くの検体を短時間で処理することは、技術面だけでなく経済的な面からしても困難であったが、高感度であることを利用して数十から数百の検査用の血液をミックス (これをミニプールと呼んでいる) しウイルス遺伝子の検出を行っている。ミニプールが陽性になった場合はさらに小さい数のプールを作り、最終的には陽性検体を特定する。特定された血液は血液製剤に使用されないように排除される。

なお、PCR法はDNAを増幅するが、その後RNAを増やす方法など、核酸を増幅させる方法が幾つか開発されたので、最近ではNATと呼ばれるようになった (NATは、日本ではナット、欧米ではエヌエイテスティングと発音されている)。

NATは日本を含め欧米では数年前より実施されているが、ミニプールを構成する供血者の数や対象とするウイルスは国によって異なっている (国によっては地域によって異なることもある)。日本においては日本赤十字社がHBV、HCV、HIV-1の3つのウイルスを対象にして、1999年7月からは東京都内で採血された血液、同年10月からは全献血を対象にNATをスクリーニング検査として導入した。1999年7月から2000年1月までは500人のプー

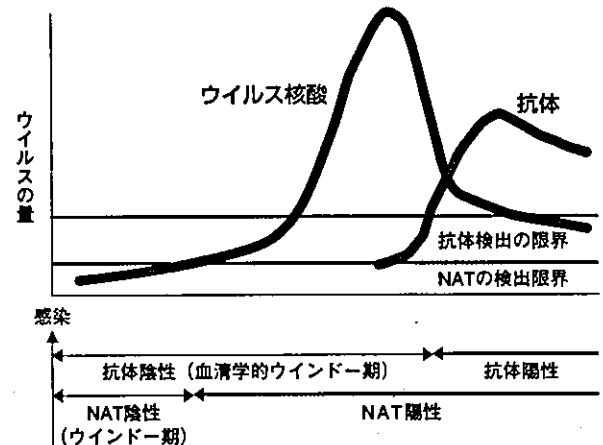


図2 HCVとHIV感染のウインドー期

表1 核酸増幅法によるウインドー期の短縮効果

	HIV	HCV	HBV
ウインドー期の期間 (日)	22 (6～38)	82 (54～192)	59 (37～87)
核酸増幅法によるウインドー期の短縮 (日)	10～15	41～60	6～15
ウインドー期のウイルス量 (gEq/mL)	$10^2 \sim 10^7$	$10^5 \sim 10^7$	$10^2 \sim 10^4$

(文献3、4)より引用改変)

ル、2000年2月から現在までは50人のプールでNATを実施している⁵⁾。2004年度中にはさらに安全性を向上させるために、50人プールから20人プールへの変更を予定している。2002年5月までに血清学的検査陰性・NAT陽性の検体数は、HBV247件、HCV39件、HIV-1 6件に達し、これらを除外することで感染を未然に防止している⁵⁾。

一方、50人のプールを作ることによってウイルスの濃度が50倍に希釈され、プールでは陰性だが個別のNATでは陽性を示す例も報告されている。また、受血者が輸血後にB型肝炎になった症例において、個別でのNATでは陰性を示したが、供血者がその後B型肝炎を発症したことから、この供血者から感染したことが判明した例などもある。これらはNATでもウイルス量が少なすぎて検出不可能な期間、NATのウインドー期 (最近では、単にウインドー期と呼ばれている) においても感染が成立する量のウイルスが存在することが明らかとなった。現状ではNATを用いても輸血後のウイルス感染を完全には防ぐことができないことを示している (図2)。

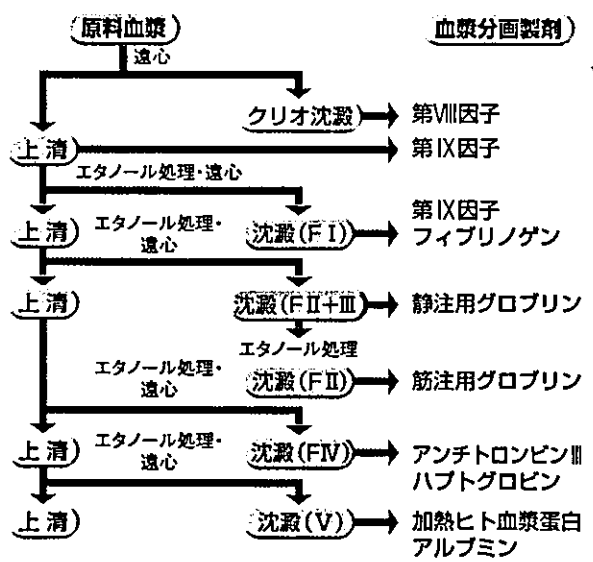


図3 Cohn*のエタノール分画法と血漿分画製剤
 *：Edwin J. Cohn. 低温エタノール分画法による血漿たんぱくの分画法を開発。

そこで、輸血による感染を早期に発見し、さらなる感染拡大を予防するために、これまで陰性であった献血者が今回の献血でウイルスに感染していること(HBV、HCV、HIV-1、梅毒)が判明した場合や、受血者に感染症が生じた場合、前回を含めて採血された血液で製造された新鮮凍結血漿や原料血漿など、使用されていない血液製剤の回収や、前回の血液製剤を投与された患者の感染の有無等を、過去にさかのぼって調べることも行われ(これを遡及調査という)、そのためのガイドラインが整備された。遡及調査のために、血液製剤に使用された全ての献血の各々の一部が、検査用として10年間保存されている。

血漿分画製剤の安全性 —ウイルス除去・不活化法の導入

血漿分画製剤は、抗破傷風人免疫グロブリンや抗HBs人免疫グロブリンなどの特殊免疫グロブリン等を除くと、2,500L前後の原料血漿から図3に示すような工程において、アルコール濃度やpHの違いによって血漿タンパクの溶解度が異なることを利用して、血漿タンパクは分離・粗精製される⁶⁾。2,500Lの血漿は数万人分の血液に相当(全てが

200mL採血とすると約2万5千人分に相当)するので(成分製剤では10単位輸血しても最大10人の供血者からであるが)、種々のスクリーニング検査をすり抜けたウイルスや、スクリーニング検査を実施していないウイルス、さらには未知のウイルスが原料血漿に混入する可能性は否定できない。

そのため、血漿分画製剤の安全性を確保するために、種々のウイルス除去・不活化法が製造工程に導入されている。代表的な方法として、加熱処理(①乾燥加熱：最終製品としてバイアルに充填し、凍結乾燥後加熱する。65℃で96時間の加熱をしている製剤が多い。②液状加熱：製剤が液体の状態加熱処理する。パストリゼーションとも呼ばれている。60℃で10時間加熱することが多い)、有機溶媒/界面活性剤処理(solvent/detergent処理：S/D処理と呼ばれる。トリ-n-ブチルフォスフェートなどの有機溶媒とTween 80などの界面活性剤を添加してウイルスを不活化する)、ウイルス除去膜処理(国内で製造されるアルブミンを除いた分画製品の大部分)などがある。

ウイルスは、エンベロープと呼ばれる細胞膜に近い組成の脂質の膜を有するウイルス(HBV、HCV、HIVなど)と持たないウイルス(A型肝炎ウイルス、パルボウイルスB19など)に分けられる。アルコール(分画に用いるアルコール処理工程)やS/D処理はエンベロープを持つウイルスの不活化に極めて有効であるが、持たないウイルスに対しては無効である。熱に対してもエンベロープを持たないウイルスは抵抗性を示すことが多い。一般的に、製造所では原理が異なる2つ以上の除去・不活化工程が組み込まれ、工程によってどの程度のウイルスの除去・不活化能力があるのか評価されている(この試験をウイルス・プロセスバリデーション試験という)。工程によって除去・不活化されるウイルスの値をウイルスリダクションファクター(virus reduction factor)といい、エンベロープを持つウイルスではlog₉(10億分の1)減少させることが求められている。

将来への展望

赤血球濃厚液は6週間の保存が可能であるが、エルシニア菌によるエンドトキシンショックを予防するために

3週間の有効期間になっている。また、欧米では血小板製剤の有効期間は5日のため細菌感染が問題になっている。赤血球濃厚液は2~6℃で保存されるために、エルシニア菌などの特殊な菌が増殖するだけだが、血小板製剤は20~24℃で保存されることにより細菌が増殖しやすいためである。日本においては、現行の有効期間は72時間であるために欧米ほどの深刻さはない。しかし、将来的に献血人口の減少などで有効期間の延長が検討されると思われるが、その実現は細菌感染をどうクリアするかにかかっているだろう。これらのことに加えて、NATを用いても輸血後のウイルス感染を完全には防ぐことができないことから、成分製剤においても細菌・ウイルスの不活化法開発は重要な課題である。既にソラーレンやメチレンブルーなどの薬剤が開発され、一部では血小板製剤の細菌やウイルスの不活化に導入している国もある。

また、血漿分画製剤では、エンベロープを持つウイルスに対しては有効な除去・不活化法が開発されているが、エンベロープを持たないウイルスに対しては十分とはいえないので、異常プリオンを含めたさらなる除去・不活化法の開発が期待されている。

◆引用・参考文献

- 1) Ward JW, et al. : Transmission of human immunodeficiency virus (HIV) by blood transfusions screened as negative for HIV antibody. *N Eng J Med* 318 : 473-478, 1988.
- 2) Vrieling H, et al. : Transmission of hepatitis C virus by anti-HCV-negative blood transfusion. *Vox Sang* 68 : 55-56, 1995.
- 3) 岡田義昭他：血漿分画製剤の安全性。山本保博監修，アルプミン臨床マニュアル—適正使用の実例。メディカルレビュー社，大阪，2003，191-196.
- 4) Busch MP, et al. : Nucleic acid amplification testing of blood donors for transfusion-transmitted infectious disease. *Transfusion* 40 : 143-159, 2000.
- 5) 西岡他：B型肝炎・C型肝炎。病原微生物検出情報 23(7):163-164, 2002.
- 6) Cohn EJ, et al. : Preparation and properties of serum and plasma proteins. IV. A system for the separation into fractions of the protein and lipoprotein components of biological tissues and fluids. *J Am Chem Soc* 68 : 459-475, 1946.