

図1 集積型カートリッジの特徴

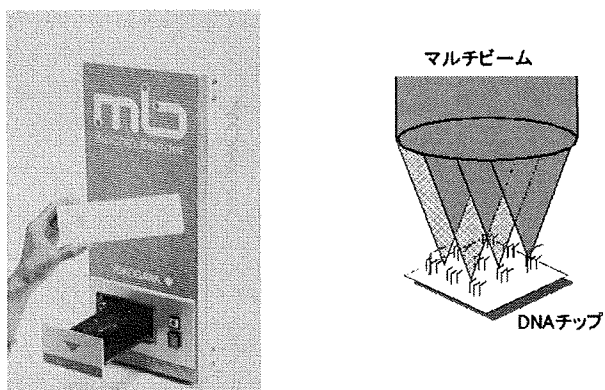


図2 バイオチップ読取装置

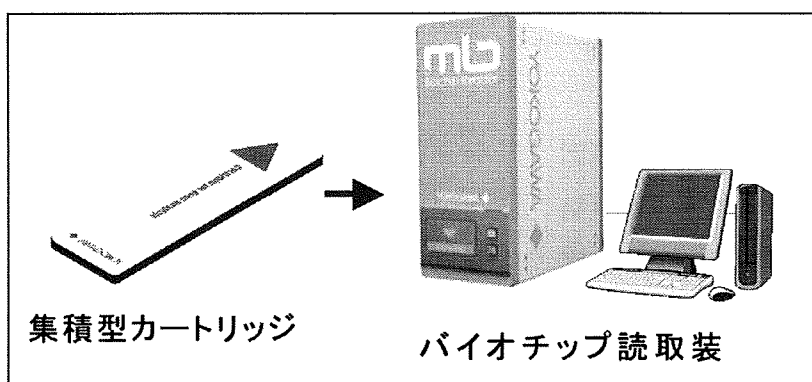


図3 集積型カートリッジシステムの使用イメージ

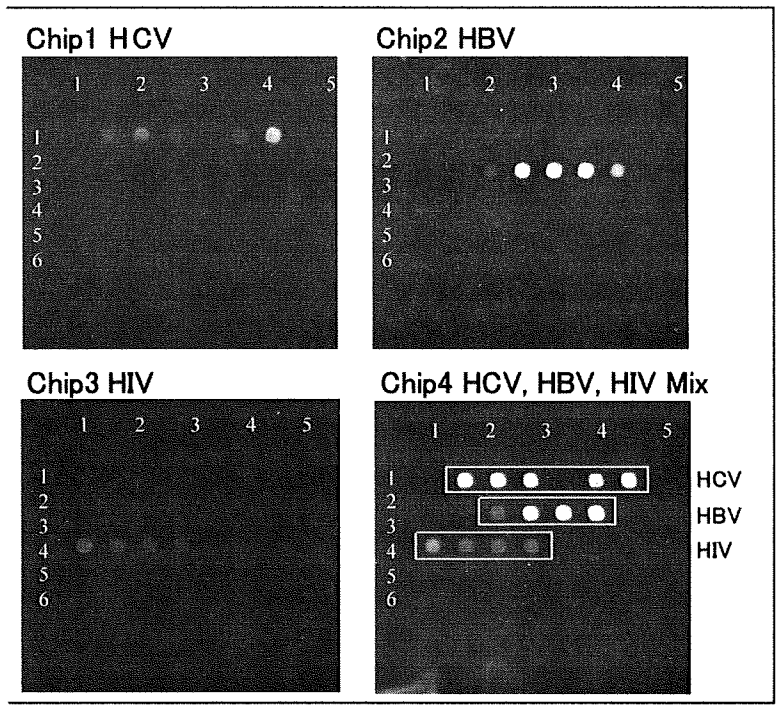


図 4 集積型カートリッジによる自動ハイブリの結果

厚生労働省科学研究費補助金（肝炎等克服緊急研究事業）  
ウイルス肝炎感染防止体制の確立に関する総合研究  
分担研究報告書

国内技術を基盤としたウイルス検出用新規核酸増幅法の開発

研究分担者 古田 里佳（大阪府赤十字血液センター、研究部）  
田所 憲治（日本赤十字血液中央研究所）

**研究要旨**

国産技術を基盤としたウイルス核酸増幅検査法（NAT）を確立するために、（株）タカラバイオ独自開発の核酸増幅システムである一定温度核酸増幅法（ICAN 法）を用いて、これまでに HIV-1 と HCV ICAN 法を樹立し、昨年度は樹立した HCV ICAN の特異性評価と B 型肝炎ウイルス（HBV）検出用 ICAN のプロトタイプ樹立を行った。最終年度である 21 年度は HBV 検出系の最適化ならびに HIV-1 の臨床分離株での評価を行った。

HBV の評価には、大阪府赤十字血液センターで HBsAg 検査陽性となった献血検体（血漿）中の HBV をゴールデンスタンダード（アンプリコア HBV モニタ、ロッシュ社）で定量したものを感染症検査陰性コントロール血漿で希釈して用いた。HIV-1 各分離株については入手困難であるため、増幅領域を含む 186 BP の二重鎖 DNA を合成し、pBluescriptSK(-)にクローニング後、T7 polymerase を用いて、当該 RNA を *in vitro* transcription にて作成した。転写されたウイルス遺伝子コピー数は吸光度から計算し、評価検体とした。

HBV ICAN プロトタイプの増幅効率は当初 1000 コピー／反応程度であったが、種々の反応条件を広範囲で検討した結果、100 コピーを安定して増幅できる系を樹立した。

1 反応あたり 10 コピーの検出は、ジェノタイプ Aa で 50%、ジェノタイプ Ae で 75%、ジェノタイプ B で 100%、ジェノタイプ C で 83%であった。また、感染症検査が全て陰性であったコントロール血漿 200 検体分について HBV ICAN を行ったところ、疑陽性は 1 例も認められなかった。HIV-1 分離株についてはこれまでサブタイプ A-D まで検討を行ったが、評価した全ての分離株について 100 コピーを再現性よく検出し、10 コピーもほぼ検出できた。

## A. 研究目的

国産技術を基盤としたウイルス核酸増幅検査法を確立するために、(株)タカラバイオ独自開発の核酸増幅システムである一定温度核酸増幅法 Isothermal and Chimeric primer-initiated Amplification of Nucleic acids (ICAN 法)を用いて HIV-1/HCV/HBV を検出する反応系を構築することを目的とし、血液事業における実用可能性を探る。

## B. 研究方法

これまでに HIV-1 と HCV ICAN 法を樹立し、昨年度は樹立した HCV ICAN の特異性評価と B 型肝炎ウイルス (HBV) 検出用 ICAN のプロトタイプ樹立を行った。最終年度である 21 年度は HBV 検出系の最適化ならびに HIV-1 の臨床分離株での評価を行い、ICAN 法の輸血感染ウイルス検査法としての総合評価を行った。

評価に用いた HBV は大阪府赤十字血液センターで HBsAg 検査陽性となった献血検体 (血漿) である。検体中のウイルスをゴールドスタンダード (アンプリコア HBV モニタ、ロッシュ社) で定量し、感染症検査陰性コントロール血漿で希釈して評価用規準検体とした。HIV-1 各分離株については入手困難であるため、増幅領域を含む 186 BP の二重鎖 DNA を合成し、pBluescriptSK(-) にクローニング後、T7 polymerase を用いて、当該 RNA を *in vitro* transcription にて作成した。転写されたウイルス遺伝子コピー数は吸光度から計算し、評価検体とした。

血漿状態の評価検体は、PureLink Viral RNA/DNA Kit (Invitrogen) を用い

て核酸精製を行い、ICAN 反応に用いた。

## C. 結果

逆転写反応過程を含まない HBV ICAN プロトタイプ of 増幅効率は当初 1000 コピー/反応程度であった。HBV ゲノムが安定構造を取っているために増幅効率が悪いのではないかと想定し、種々の変性試薬濃度を検討し、また酵素濃度も逆転写を含む ICAN より広範囲で検討した結果、100 コピーを安定して増幅できる系を樹立した。1 反応あたり 10 コピーの検出は、ジェノタイプ Aa で 50%、ジェノタイプ Ae で 75%、ジェノタイプ B で 100%、ジェノタイプ C で 83% であった。

HIV-1 分離株についてはこれまでサブタイプ A-D まで検討を行ったが、評価した全ての分離株について 100 コピーを再現性よく検出し、10 コピーもほぼ検出できた。唯一、M19921 株において 10 コピー検出が 58.3% と低い値を示した。

感染症検査が全て陰性であったコントロール血漿 200 検体分について HBV ICAN を、疑陽性は 1 例も認められなかった。

## D. 考察

当初、増幅効率が芳しくなかった HBV ICAN であるが、反応条件を詳細に検討した結果、使用可能な感度を有する系を樹立することができた。HIV-1 各分離株については、M19921 がやや低い感度を示したが、このウイルスは pNL4-3 という分子クローンを用いて培養細胞で作成した組換えウイルスを用いて評価しているため、ウイルスの性状に何らかの違いがあった可能性がある。

## E. 結論

ICAN 反応を応用したウイルス核酸検出に関して、逆転写を伴うタイプのみならず、直接 ICAN 法増幅を行う HBV ICAN においてもその有用性を明らかにすることができた。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1) 論文発表

Sumiyoshi K, Kubota S, Furuta RA, Yasui K, Aoyama E, Kawaki H, Kawata K, Ohgawara T, Yamashiro T, Takigawa M. Thrombopoietic-mesenchymal interaction that may facilitate both endochondral ossification and platelet maturation via CCN2. *J Cell Commun Signal*. 2009 Oct 2. [Epub ahead of print]

Matsuyama N, Hirayama F, Wakamoto S, Yasui K, Furuta RA, Kimura T, Taniue A, Fukumori Y, Fujihara M, Azuma H, Ikeda H, Tani Y, Shibata H. Application of the basophil activation test in the analysis of allergic transfusion reactions. *Transfus Med*. 2009, **19**(5):274-7.

Jiang S, Inada T, Tanaka M, Furuta RA, Shingu K, Fujisawa J. Involvement of TORC2, a CREB co-activator, in the in vivo-specific transcriptional control of HTLV-1. *Retrovirology*. 2009, **11**:6:73.

Hayashi T, Yasui K, Matsuyama N, Furuta RA, Hori Y, Tanaka S, Hirayama F, Tani Y, Shibata H, Inoue M. Establishment of a novel method for detecting Nak antibodies by using a panel cell line. *Transfusion*. 2009, **49**(2):390-2.

Koh Y, Taniue A, Ishii H, Matsuyama N, Amakishi E, Hayashi T, Furuta RA,

Fukumori Y, Hirayama F, Yoshimura K, Nagamine T, Tamai S, Nakano S. Neonatal alloimmune thrombocytopenia caused by an antibody specific for a newly identified allele of human platelet antigen-7. *Transfusion*. 2010 Jan 8. [Epub ahead of print]

### 2) 学会発表

DEVELOPMENT OF A NOVEL NON-PCR NAT FOR THE DETECTION OF VIRAL NUCLEIC ACIDS IN DONOR SERA

Rika A. Furuta, Kazuta Yasui, Takafumi Kimura and Fumiya Hirayama

The XXth Regional Congress of the ISBT, Asia (2009、名古屋)

## H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急研究事業）

分担研究報告書 平成21年度

ウイルス肝炎感染防止体制の確立に関する総合研究（H19-肝炎-一般-003）

## 肝炎ウイルスと院内感染及び潜伏肝炎ウイルス再活性化の研究

### 分担研究者

紀野修一 旭川医科大学病院 臨床検査・輸血部 准教授

大戸 斉 福島県立医科大学医学部附属病院 輸血・移植免疫部 教授

高橋孝喜 東京大学医学部附属病院 輸血部 教授

高松純樹 名古屋大学医学部附属病院 輸血部 教授

### 研究協力者

安村 敏 富山大学附属病院 輸血・細胞治療部 講師

## 研究要旨

血液製剤が原因であると考えられていた輸血後の肝炎が、遡及調査の結果、必ずしも血液製剤が原因ではないことが明らかになってきている。本研究では、全国の医療機関の協力を受け、各施設の輸血前後の感染症検査の結果を基礎資料とし、院内感染、潜伏肝炎ウイルス再活性化の実態を明らかにすることを目的とした。そして、得られた成績から輸血前後の感染症検査を効率的に実施するための有効な方策についても検討した。

日本輸血・細胞治療学会が平成16年度から行っている輸血業務に関する総合的アンケート調査の結果から輸血前後の感染症検査実施状況を後方視的に解析し、①輸血前検体保存は90%以上の施設で行われ、その90%の施設では検体は24ヵ月以上保管されていること、②輸血前感染症検査は約90%の施設で実施されているが、厚生労働省通知に記載されている感染症マーカーのすべてが検査されていないこと、③輸血後感染症検査を実施している施設の割合は約1/3であること、そして輸血後患者に対する輸血後検査実施率が20%以下の施設が大半であることが明らかとなった。これらの成績から今後の輸血前後の感染症検査実施体制の課題を考察した。輸血前感染症検査と輸血前検体保存については、両方法の普及程度、費用対効果、新興・再興感染症への対応、周知徹底の効率などの得失面を考慮したきめ細やかな実施体制を作り上げていくことが必要と考えられた。また、輸血後感染症検査の実施率がかなり低い現況を把握できたので、実効性の高い輸血後感染症検査体制を提示する必要があると考えられた。3年間にわたり実施された本研究の成果から、効果的かつ効率的な輸血前後検査・輸血前検体保管のあり方について提言をまとめた。

次に、平成19年度アンケートの輸血後感染症検査陽性例についての個別調査を行った。その結果、輸血後感染症検査陽性例には、既感染例、再活性化例（HBV）、輸血による感染例（HBV、HCV）、輸血による感染が疑われるが原因不明例（HBV、HCV）が含まれることがわかった。原因不明例には正しく検査が行われているにもかかわらず、輸血による感染が証明できなかった症例が含まれ、院内感染や性交渉などによる原因を考慮する必要性が示唆された。

輸血前感染症検査結果から病院受診患者におけるHBV、HCVの浸淫率を知ることができた。これら輸血前検査結果を集積することで、肝炎の顕性・既往感染状況を、国から病院レベルまでの様々な集団で知ることができ、輸血感染や院内感染を含めた肝炎予防対策に必要な背景情報を提供できるであろう。

## A. 研究目的

これまで血液製剤が原因であると考えられていた輸血後の肝炎が、遡及調査の結果、必ずしもそうではないことが明らかになってきている。むしろ潜伏肝炎ウイルス再活性化あるいは院内感染などの他の原因が多いのではと考えられている。

厚生労働省は輸血をうけた患者の安全性を確保するために、平成16年9月17日医薬食品局長名で、輸血前後にHBV、HCV、HIV感染症検査を行うことを通知した（厚生労働省医薬食品局長通知。薬食発第0917005号：血小板製剤の使用適正化の推進及び「輸血療法の実施に関する指針（輸血療法の指針）」の一部改正について。）。本通知以降、国内の医療機関では、輸血前後の感染症検査を行う体制が整備されつつある。

本研究ではこのような体制下に行われている輸血前後の感染症検査実施結果から、輸血による感染伝播、院内感染、潜伏肝炎ウイルス再活性化の実態についてエビデンスを提供し、輸血前後の感染症検査を効率的・効果的に実施するための方策についても検討する。そのため、以下のような内容について研究を進めた。

### 1. 輸血前後の感染症検査・輸血前検体保管の実施状況調査（平成19年度、20年度、21年度）

平成16年度から日本輸血・細胞治療学会が行っている「輸血業務に関する総合的アンケート調査」の中から、輸血前後の感染症検査

に関連する事項を抽出し、輸血前後の感染症検査の実施状況、厚労省通知に記載されている内容が遵守されているかなどを解析する。そして、輸血前後の感染症検査をより効率的、効果的に実施できる方法について現状を含め検討する。

### 2. 輸血後感染症検査陽性例に対する個別調査（平成20年度）

輸血後感染症検査陽性例には、輸血前からの感染例、輸血による感染例、再活性化例、輸血以外の原因による感染例（院内感染、性感染、麻薬の回し打ちなど）が含まれる。平成19年度の輸血業務に関する総合的アンケート調査に連動して行った輸血前後感染症検査の実施状況に関する詳細調査項目に回答頂いた施設に対し、輸血後感染症検査陽性症例の調査票を用いた個別調査を行い、輸血後検査が陽性となった原因を輸血前検査と輸血前保管検体の検査成績から明らかにする。

### 3. 輸血後感染症検査の実施状況全国調査（平成20年度、21年度）

輸血による感染被害を早期に発見し治療するためには、輸血後検査が確実に実施されるような方策が必要である。輸血後も患者が輸血を受けた施設に通院している場合は、院内の取り組みにより輸血後検査の受検率を上げることが可能であるが、輸血後の患者が輸血後検査実施時期には輸血を受けた施設に通院していないことも多い。輸血に際し輸血後検査を受けるように勧められた患者が、輸血を



受けた施設以外で検査を受けることもあり、輸血後検査の実施率を上げる方策を立案するためには、それら患者の輸血後検査受検状況を知る必要がある。

本研究では、「輸血業務に関する総合的アンケート調査」で、輸血後一定期間を経過した時に、患者宛に輸血後検査の実施時期であることを通知している施設の協力を仰ぎ、輸血後検査実施率全国調査をおこなう。

#### 4. 日本人における肝炎ウイルス浸隠状況調査（平成21年度）

輸血前検査の検査項目（HBs 抗原、HBs 抗体、HBc 抗体、HCV 抗体、HCV コア抗原）には、肝炎ウイルスの顕性感染、既往感染などの率をリアルタイムに把握できる内容が含まれており、現在の日本国内の肝炎ウイルス浸隠率を明らかにすることができる。また、複数回検査受検患者を抽出することでウイルス関連マーカーの消長を調査可能である。

今年度は、上記研究で得られた成果を元に、現在行われている輸血前後の感染症検査、輸血前検体保管について、指針の改定を含めた提言書をまとめる。

## B. 研究方法

### 1. 輸血前後の感染症検査・輸血前検体保管の実施状況調査（平成19、20年度。21年度継続予定）

日本輸血・細胞治療学会が平成16年度、17年度、18年度、19年度、20年度に行った「輸血業務に関する総合的アンケート調査」結果

から、輸血前後の感染症検査に関連する事項を抽出し、輸血前後の感染症検査の実施状況、厚労省通知に記載されている内容が遵守されているかなどについて解析した。

### 2. 輸血後感染症検査陽性例に対する個別調査（平成20年度）

本研究班の平成20年度総括研究報告書に記載したとおりである。

### 3. 輸血後感染症検査の実施状況全国調査（平成20年度、21年度）（別添1参照）

基幹病院では、輸血後検査実施時期には輸血を受けた病院に通院していない患者も多く、輸血後検査の実施率を上げるためにはそれら患者の受検状態を把握する必要がある。平成19年度、20年度の「輸血業務に関する総合的アンケート調査」で、輸血後一定期間を経過した時に、患者宛に輸血後検査の実施時期であることを通知している施設の協力を仰ぎ、輸血後検査実施率調査を行った。各施設で輸血後検査の実施時期を患者に通知する書面を入れた封筒内に、輸血後検査を受検した際に返送する目隠し付はがきを同封した。検査を実施した施設では、受検の有無、輸血後検査結果を記入した後、研究班に返送してもらうシステムを構築した。

### 4. 日本人における肝炎ウイルス浸隠状況調査（平成21年度）

旭川医科大学病院で2005年7月から2008年12月までに、初回の輸血前感染症検査を実施した3353例（男性1721例、女性1632例）

のHBsAg、HBsAb、HBcAb、HCVAb、HCVcAg の陽性率を性別、年齢階級別に分類し、集計した。測定方法は以下の通りである。HBsAg (CLIA, Abbott, Architect HBsAg QT, >0.5 IU/ml), HBsAb (CLIA, Abbott, Architect Anti-HBs, >10 mIU/ml), HBcAb (CLEIA, Fujirebio, Lumipulse II HBcAb, >70%INH), HCVAb (CLIA, Abbott, Architect HCV, >1.0 C. O. I.), HCVcAg (CLEIA, Fujirebio, Lumipulse Ortho HCVAg, >50 fmol/l)。

### C. 研究結果

#### 1. 輸血前後の感染症検査・輸血前検体保管実施状況調査 (平成16年度～20年度アンケート調査結果の解析)

アンケート調査の集計結果については、別添2 にまとめた。(平成21年度アンケートは報告書作成時点では集計中である)

##### 1) アンケート調査の回収率

平成20年度は全国の医療機関に対して実施された血液製剤年間使用量調査と同時に行ったため、基本設問は7857施設、詳細設問は2046施設を対象とした(図1)。基本調査のアンケート回収率は、40.8%であった。詳細調査を依頼した2046施設は平成19年度までの対象施設と異なるため、経年変化を見るために平成20年度の調査依頼施設から平成19年度調査依頼施設を抽出し、結果を集計した。平成20年度に詳細調査を依頼した2046施設中、回答のあった1032施設(50.4%)から平成19年度にも調査を依頼した666施設を抽出した。平成19年度の調査対象施設数(1341

施設)を母集団とすると、49.6%の回収率であった。抽出施設の病院規模の割合は、平成16年度～19年度の調査と同様であった。

図1:平成20年度調査の回答施設数と病床数

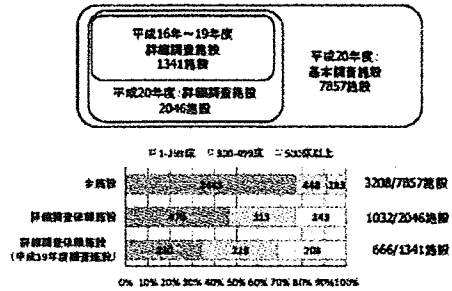
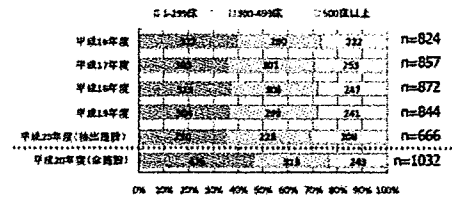


図2:アンケート回答施設の病院規模

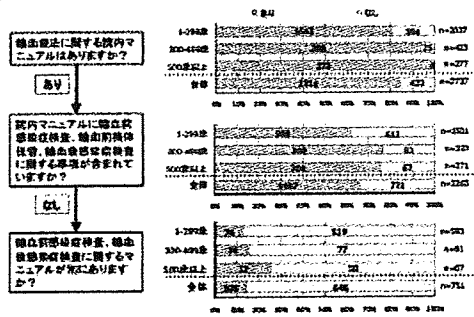


##### 2) 平成20年度調査基本設問と回答

###### ①輸血前後検査・輸血前検体保管に関する院内マニュアル

輸血療法に関する院内マニュアルが整備されている施設は全体で84.5%であり、病床数が多いほど整備されていた(図3)。マニュアル中に輸血前後検査と輸血前検体保管についての記載がある施設は66%、別途マニュアルを作成している施設は14.0%であった。全回答施設の58.3%(1597/2737)で、輸血前後検査と輸血前検体保管について文書化されていた。

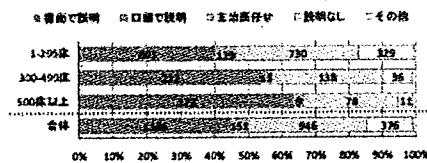
図3: 感染症検査に関する院内マニュアル(平成20年度)



②輸血前検査・輸血前検体保管に関する説明と同意

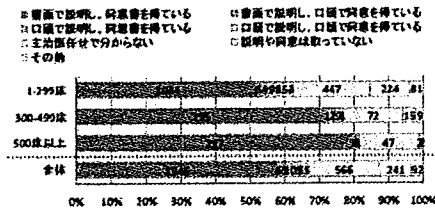
輸血前に、輸血（特定生物由来製品）による感染など被害救済制度について書面で説明している施設は44.4%、口頭で説明している施設は5.6%であった（図4）。

図4: 感染被害救済制度の説明(平成20年度)



輸血前後検査と輸血前検体保管について、書面で説明し同意書を得ている施設は57.7%、口頭で説明し同意を得ている施設は4.1%であった（図5）。

図5: 輸血前後検査・輸血前検体保管に関する説明と同意(平成20年度)

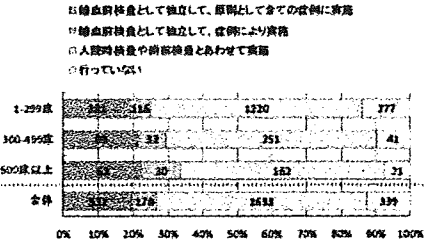


③輸血前検査、輸血後検査の実施状況

輸血前検査を輸血前検査として独立して行っている施設は19.8%、入院時検査や術前検査とあわせて行っている施設は60.8%であっ

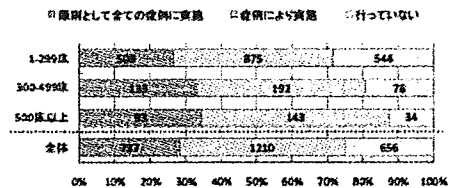
た（図6）。

図6: 輸血前検査の実施状況(平成20年度)



輸血後検査を原則全例に行うと回答したのは全体で28.3%であった（図7）。

図7: 輸血後検査の実施状況(平成20年度)

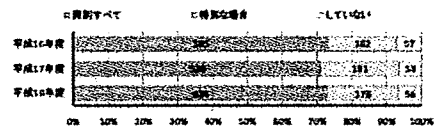


3) 輸血前感染症検査

①輸血前検査の実施状況

原則すべての患者に輸血前検査を実施している施設の割合は、平成16年度73.1%、17年度71.0%、18年度72.7%であった（図8）。

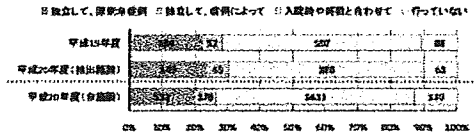
図8: 輸血前検査の実施状況(平成16年度、17年度、18年度)



平成19年度、20年度は質問を変更し、遡及調査ガイドラインに沿った検査を行っているかとした（図9）。平成20年度調査の結果では、輸血前検査として独立して原則として全ての症例で行っていると回答した施設は23.3%、症例によって行っていると回答した施設は7.0%、入院時検査や術前検査とあわせて行っていると回答した施設は59.6%であった。輸血前検査を行っていない施設は9.8%で

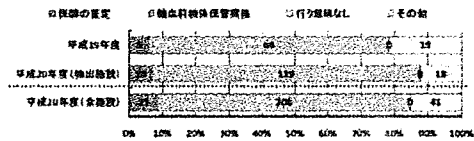
あった。

図9: 選及調査ガイドラインに沿った輸血前検査の実施状況



輸血前検査を行っていない理由として、輸血前検体保管を行っているからと回答した施設が80.9%を占めていた(図10)。

図10: 輸血前検査を行っていない理由



## ②輸血前検査の項目

各施設で採用している輸血前検査項目とその採用率を表1にまとめる。HBs抗原、HCV抗体検査はほぼ全ての施設で行われていた。HIV抗体検査は約80%の施設で行われていた。輸血療法の実施に関する指針に記載されている項目(HBs抗原、HBs抗体、HBc抗体、HCV抗体、HCVコア抗原、HIV抗体)すべてを採用している施設は、平成19年度は27.7%(206/743施設)、平成20年度は36.7%(142/397施設)であった。

表1: 輸血前検査に採用している検査項目

検査項目	(単位、%)					
	H15年度	H17年度	H18年度	H19年度	H20年度(総施設数)	H20年度(実施施設)
HBs抗原*	99.2	98.7	98.4	99.2	98.0	98.7
HBs抗体*	18.5	32.8	39.8	43.3	51.4	51
HBc抗体*	11.8	26.5	34.1	35.5	45.3	42.6
HBc抗原				0.3	1.3	1.5
HBc抗体				0.1	0.8	1.2
HBV-DNA			0.6	1.2	1.8	1.6
HCV抗体*	98.7	97.7	95.6	98.7	97.5	97.7
HCVコア抗原*		20.9	29.1	32.4	41.6	38.4
HCV-RNA		0.0	0.0	0.0	0.8	0.8
HIV抗体*	31.0	44.6	48.4	54.3	56.7	54
HIV抗原・抗体				7.0	12.3	11.6
HTLV-I抗体	6.2	4.5	4.5			
梅毒	88.4	76.0	68.4			
調査施設数	595	596	624	743	397	713

\*: 輸血療法の実施に関する指針の検査項目

平成20年度調査結果から輸血前検査とし

て実施している項目の組合せをまとめた(表2)。

HBs抗原とHCV抗体の2項目の検査、いわゆる入院時検査・術前検査と考えられる組合せが45%であった。輸血療法の実施に関する指針に記載されている項目(HBs抗原、HBs抗体、HBc抗体、HCV抗体、HCVコア抗原)の検査を実施している施設が38%であった。

表2: 輸血前検査として実施している項目の組合せ(平成20年度)

HBsAg	HBsAb	HBcAb	HCVAb	HCVcAg	検査数(%)
●					176 (45.3%)
●	●	●	●	●	151 (38.0%)
●	●	●	●		25 (6.3%)
●	●	●			18 (4.5%)
●	●				5 (1.3%)
●		●			4 (1.0%)
●		●	●		4 (1.0%)
●			●		2 (0.5%)
●				●	1 (0.3%)
●			●	●	1 (0.3%)
●				●	1 (0.3%)
●			●	●	1 (0.3%)
●				●	1 (0.3%)
●			●	●	1 (0.3%)
●				●	1 (0.3%)
●			●	●	5 (1.3%)
309 (78.0%)	204 (51.4%)	180 (45.3%)	397 (100.0%)	155 (41.6%)	297

## ③輸血前検査実施のための取り組み

輸血前検査実施に対する各施設での取り組みを表3にまとめた。最も多かった取り組みは輸血前検査に必要な検査項目をセットとして組んでいるというものであった。輸血前検体保管を行っているので、特別な取り組みをしていないと回答した施設が18.8%であった。

表3: 輸血前検査実施に関する取り組み(平成20年度)

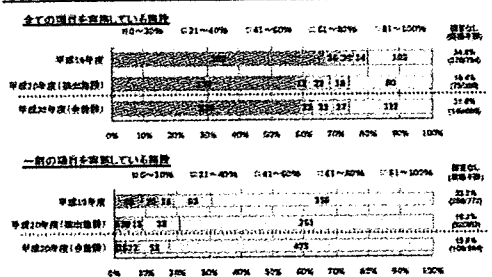
選択枝	施設数	割合(%)
輸血療法委員会、医長会など輸血前感染症検査の実施を周知徹底している	68	17.5%
輸血指示があった際に、輸血前感染症検査が行われていないときは検査の実施を促している	42	10.8%
必要な検査項目をセットで組んでいる(入院時検査、術前検査、輸血前検査など)	195	50.3%
特別な取り組みはしていない(輸血前検体保管をしている)	73	18.8%
特別な取り組みはしていない(輸血前検体保管をしていない)	1	0.3%
その他	9	2.3%

## ④全輸血患者に対する輸血前検査実施率

全輸血患者に対する輸血前検査の実施率を、0から20%、21から40%、41から60%、61

から80%、81 から99%の5段階に分け調査した。輸血療法の実施に関する指針に示されている全てのマーカーが受血者の81%以上で実施されている施設は、平成19年度は回答のあった施設の19.8%、平成20年度は25.7%であった(図11)。逆に指針に示されている全マーカーの検査実施率が20%を下回る施設は、平成19年度は66.6%、平成20年度は57.5%であった。一部のマーカー検査が81%以上の患者で実施されている施設は、平成19年度は68.9%、平成20年度は78.9%であった。入院時検査や術前検査としてHBs抗原、HCV抗体検査が多く施設で実施されている現状を反映しているものと考えられる。

図11:全輸血患者に対する輸血前検査の実施率



⑤輸血前検査の保険請求と査定

輸血前感染症検査の保険請求状況を表4に示す。平成19年度は回答のあった施設の47.4%、20年度は64.6%が保険請求を行っていた。査定を経験した施設は、平成19年度30.4%、20年度18.6%であった。

表4:輸血前感染症検査の保険請求について

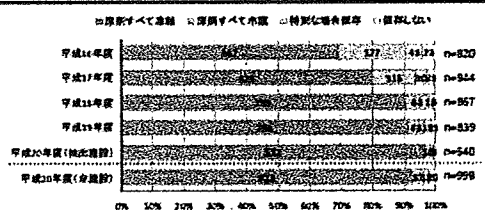
	施設数 (%)	
	平成19年度	平成20年度
1.保険請求している。今まで査定はない。	261 (33.0)	170 (45.9)
2.保険請求している。査定はあったが、査定に対して再審査を請求していない。	52 (6.6)	33 (8.9)
3.保険請求している。査定はあったが、査定に対して再審査を請求し復活した。	32 (4.1)	22 (5.9)
4.保険請求している。査定はあったが、査定に対して再審査を請求したが復活していない。	30 (3.8)	14 (3.8)
5.輸血前感染症検査としては、保険請求していない。	342 (43.2)	111 (30.0)
6.その他	74 (9.4)	20 (5.4)

4) 輸血前検体保存

①輸血前検体保存の実施状況

原則としてすべての検体を凍結保存している施設の割合は、平成16年度69.1%、17年度80.1%、18年度90.5%、19年度91.2%、20年度96.7%であった(図12)。輸血前検体を凍結保存する施設の割合は年々増加してきた。

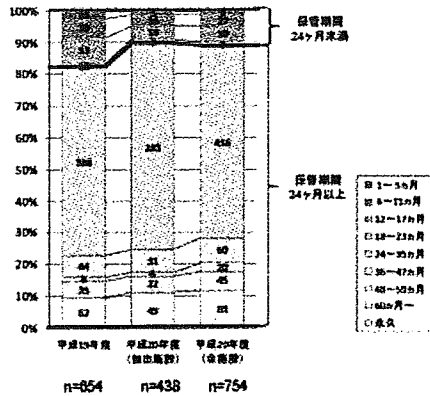
図12:輸血前検体保存の実施状況



②輸血前検体の凍結保存期間

原則全ての輸血前患者検体を凍結保存していると回答した施設に、その保存期間を尋ねた。24ヶ月以上凍結保管している施設の割合は、平成19年度82.1%、20年度の抽出施設89.2%、20年度のすべての施設で88.8%であった。

図13:輸血前検体の凍結保管期間



③輸血前検体の採取・保管法

輸血前検体の採取・保存法として、血液型検査や交差適合試験の残余検体をそのまま保存する、血液型検査や交差適合試験の残余検体を核酸増幅検査に適合する試験管などに入れ保存する、専用採血管に採血し未開封のまま保存する、等の方法がある(表5)。残余検体を保存している施設は平成19年度77.0%(480/809施設)、20年度72.4%(239/529施設)であった。核酸増幅検査に対応する試験管を用いている施設は平成19年度37.4%(303/809施設)、20年度41.7%(221/529施設)であった。

表5:輸血前検体の採取・保存法

	施設数 (%)	
	平成19年度	平成20年度
1.血液型検査や交差適合試験の残りをそのまま保存している	440 (54.4)	267 (50.5)
2.血液型検査や交差適合試験の残りを核酸検査に適合する試験管などに入れ保存している	183 (22.6)	116 (21.9)
3.専用の採血管に採血し未開封のまま保存している	120 (14.8)	105 (19.8)
4.その他	66 (8.2)	41 (7.8)

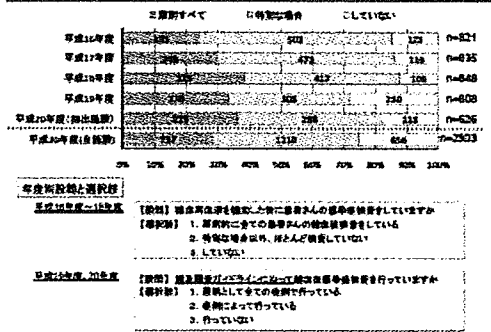
5) 輸血後感染症検査

①輸血後検査の実施状況

平成20年度調査で、輸血後検査を原則全ての患者に対し実施していると回答した施設

は35.9%、症例によって行っていると回答した施設は46.0%、実施していないと回答したのは18.0%であった(図14)。約1/3の施設では、原則的に全症例に輸血後検査を実施する体制が取られていた。

図14:輸血後検査の実施状況



②輸血後検査の項目

各施設が採用する輸血後検査実施項目と採用率を表6にまとめる。HBVに関してはHBs抗原の採用率は年々低下し、HBV-DNAの採用率が増加していた。HCVに関してはHCV抗体の採用率が低下しHCVコア抗原の採用率が増加していた。HIV抗原抗体同時測定を含むHIV抗体検査を行う施設は88%であった。輸血後感染症検査においては輸血療法の実施に関する指針に記載されている感染症マーカーが採用されるようになってきた。

表6:輸血後検査の採用検査項目

検査項目	(施設数%)					
	H16年度	H17年度	H18年度	H19年度	H20年度 (抽出施設)	H21年度 (全施設)
HBs抗原	87.9	41.5	33.6	35.0	28.3	31.9
HBs抗体	21.1	13.1	9.3	6.9	5.5	6.6
HBe抗体	10.8	9.2	8.5	5.4	3.7	3.1
HBe抗原				0.5	0.7	1.2
HBe抗体				0.0	0.2	0.6
HBV-DNA*		58.5	68.3	69.2	71.2	66.7
HCV抗体	86.1	41.5	30.3	31.6	25.6	29.2
HCVコア抗原*		62.3	69.9	71.0	72.0	70.9
HCV-RNA			4.1	1.4	2.7	2.8
HIV抗体*	74.4	86.5	87.2	78.0	69.2	69.6
HIV抗原・抗体				9.0	18.9	18.4
HTLV-I抗体	10.3	5.0	5.7			
梅毒	45.3	21.5	16.4			
回答施設数	195	246	325	578	403	630

\*:輸血療法の実施に関する指針の検査項目

平成20年度調査結果から輸血後検査とし

て実施している項目の組合せをまとめた。最多の組み合わせは輸血療法の実施に関する指針に記載されている項目（HBVDNA、HCV コア抗原）の組合せで、65%の施設で用いられていた。続いて、輸血前後の感染症マーカー検査についての日本輸血・細胞治療学会運用マニュアル（熊川みどり、長井一浩、豊嶋宗徳、他（日本輸血・細胞治療学会輸血感染症対策タスクフォース）、輸血前後の感染症マーカー検査についての日本輸血・細胞治療学会運用マニュアル、日本輸血細胞治療学会誌2007、53:602-606）で提示されている項目（HBsAg と HCVA b）の組合せが21%であった。

表7: 輸血後検査として実施している項目(平成20年度)

HBVDNA	HBsAg	HCVcAg	HCVA b	回答数
●		●		263 ( 65.3%)
	●		●	85 ( 21.1%)
●	●			11 ( 2.7%)
●	●	●	●	9 ( 2.2%)
	●	●	●	8 ( 2.0%)
	●	●		4 ( 1.0%)
	●	●		4 ( 1.0%)
●		●		3 ( 0.7%)
		●		2 ( 0.5%)
●	●		●	1 ( 0.2%)
●		●	●	1 ( 0.2%)
			●	12 ( 3.0%)
287	114	290	367	403 ( 100%)
(71.2%)	(28.3%)	(72.0%)	(91.1%)	

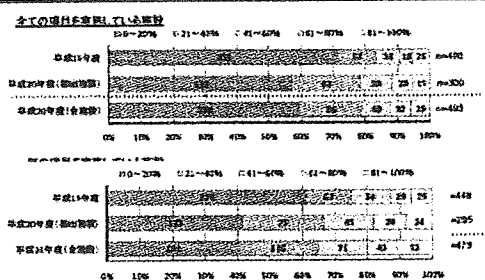
### ③全輸血患者に対する輸血後検査実施率

全輸血患者に対する輸血後検査の実施率を、0~20%、21~40%、41~60%、61~80%、81~99%の5段階に分け、各施設における実施率を調査した(図15)。

輸血後検査に輸血療法の実施に関する指針に記載されている全ての項目を採用していると回答した施設で、輸血後検査が81%以上の患者で実施されている率は5.0%にすぎず、逆に検査実施率が20%を下回る施設は57.3%であった。指針に記載されている項目の一部を採用していると回答した施設で、輸血後検査が81%以上の患者で実施されている率は

8.1%、逆に検査実施率が20%を下回る施設は41.3%であった。輸血後検査の実際の実施率はかなり低いことが明らかになった。

図15: 全輸血患者に対する輸血後検査実施率



### ④輸血後検査実施のための取り組み

輸血を受けた患者に輸血後検査を受けて貰うために各施設で取り組んでいる内容を表8にまとめた。

表8: 輸血後検査を受けようとするための取り組み(複数回答)

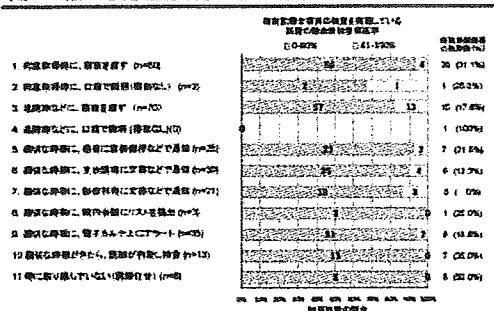
輸血後検査を受けようとするための取り組み(複数回答)	回答数
1 輸血の同意取得時に、輸血後検査を受けるように記載された書面を渡す	425
2 輸血の同意取得時に、輸血後検査を受けるように口頭で説明する(書面なし)	51
3 輸血後の退院時に、退院時などに、輸血後検査を受けるように退院前または退院時に説明する	199
4 輸血後の退院時に、退院時などに、輸血後検査を受けるように退院前または退院時に説明する(書面なし)	24
5 輸血後検査を行うのに適切な時期が来たか、患者の病状などで実施している	48
6 輸血後検査を行うのに適切な時期が来たか、病状などに合わせて実施している	120
7 輸血後検査を行うのに適切な時期が来たか、退院時に退院時に実施している	57
8 輸血後検査を行うのに適切な時期が来たか、輸血後検査を受ける患者の病状などに合わせて実施している	33
9 輸血後検査を行うのに適切な時期が来たか、退院時に退院時に実施している	48
10 輸血後検査を行うのに適切な時期が来たか、輸血後検査を受ける患者の病状などに合わせて実施している	100
11 他に特に詳しくは聞いていない(複数回答)	8
12 その他	52

輸血の同意取得時や退院時などに、輸血後感染症検査を受検するように記載された書面を渡す方式が多かった。また、輸血後感染症検査を行うのに適切な時期がきたら何らかの対応をとっているとする回答も多かった。

そこで、最も効果的とする取り組みと全輸血患者に対する輸血後検査実施率(図15)のクロス集計を行い、現時点での最も効果的な輸血後検査受検のための取り組みを考えた(図16)。輸血後検査実施率を60%で分け、それ以上を実施率が高いとしたとき、その群の共通項は、輸血後検査を行うことを記載した

書面を渡すことと、輸血後検査を行うのに適切な時期に輸血後検査を実施するように通知を行っていることであった。

図16:輸血後検査実施に最も効果的と考える取り組み



⑤輸血後検査の保険請求と査定

輸血前感染症検査の保険請求状況を表9に示す。回答のあった施設の88.1%が保険請求を行い、そのうち18.5%で査定を経験していた。輸血後前感染症検査として保険請求していない施設が4.2%存在した。

表9:輸血後検査の保険請求

	施設数 (%)	
	平成19年度	平成20年度
1.保険請求している。今まで査定はない。	358 (47.4)	263 (69.6)
2.保険請求している。査定はあったが、査定に対して再審査を請求していない。	62 (8.2)	28 (7.4)
3.保険請求している。査定はあったが、査定に対して再審査を請求し復活した。	28 (3.7)	26 (6.9)
4.保険請求している。査定はあったが、査定に対して再審査を請求したが復活していない。	22 (2.9)	16 (4.2)
5.輸血前感染症検査としては、保険請求していない。	131 (17.4)	16 (4.2)
6.その他	154 (20.4)	29 (7.7)

6)輸血前検査・輸血前検体保管の今後のあり方について

平成19年度、20年度アンケートでは、輸血前感染症検査と輸血後感染症検査の今後のあり方について質問した(表6)。現状のままの方式を継続するとした施設は、平成20年度は51.4%で、19年度の55.3%に比べやや減少、輸血前検査は省略し輸血前検体保存と輸血後検査を行うとの回答は平成19年度の25.9%

に比べ、20年度には31.5%とやや増加した。

表10:輸血前検査と輸血後検査の将来

	施設数 (%)	
	平成19年度	平成20年度
1.輸血前感染症検査、輸血前検体保存、輸血後感染症検査を現状のまま行う	435 (55.3)	274 (51.4)
2.輸血前感染症検査は省略し、輸血前検体保存と輸血後感染症検査を行う	204 (25.9)	168 (31.5)
3.輸血後感染症検査のみ行う。	5 (0.6)	1 (0.2)
4.輸血前検体保存のみ行う	72 (9.2)	62 (11.6)
5.全て行わない	1 (0.1)	1 (0.2)
6.その他	70 (8.9)	27 (5.1)
	787	533

2.輸血後感染症検査陽性例に対する個別調査(平成20年度)

本研究班の平成20年度総括研究報告書に記載したとおりである。

3.輸血後感染症検査の実施状況全国調査(平成20年度、平成21年度実施中)

本調査研究の結果は、別添1にまとめた。

4.日本人における肝炎ウイルス浸透状況調査(平成21年度)

①対象

2005年7月から2008年12月までに、旭川医科大学病院で初回の輸血前感染症検査を実施した症例は3353例(男性1721例、女性1632例)であった。そのうち、1215例(36%)では輸血が施行されていたが、残り2138例(64%)では輸血は行われていなかった。

②肝炎ウイルスマーカー陽性率

年齢階級別の肝炎ウイルスマーカー陽性率を表11にまとめる。



HBV 関連ウイルスマーカーの陽性率を図17、図18 に示す。HBs 抗原陽性率は10 歳代から60歳代にかけて増加し、最高7.3%となり、70 歳代以降減少していた。HBs 抗体、HBc 抗体陽性率は、10 歳代から60 歳代まで増加し、その後80 歳代まで30~40%程度であった(図17)。HBs抗原陽性率は、男性が4.6%、女性が2.8%、全体で3.7%であった(図18)。年齢階級別に見ると20 歳代から50 歳代まで男性の陽性率は女性より高いが、60 歳代からはほぼ同じ割合であった。HBs 抗体陽性率は、男性が31.1%、女性が27.7%、全体で29.2%であった。年齢階級別には、20 歳代、30 歳代では女性の陽性率が高かった。年齢が高くなるにつれ陽性率は増加していた。HBc 抗体陽性率は、男性が34.6%、女性が25.6%、全体で30.2%であった。HBs 抗体陽性率の分布とほぼ同じであるが、10 歳代、20 歳代、30 歳代、40 歳代女性のHBs抗体陽性率はHBc 抗体陽性率より高かった。

HBs 抗原と関連抗体の関連を表12 に示す。HBs 抗原陰性でHBs 抗体とHBc 抗体が共に陰性の場合、HBV 感染なしと診断できる。この範疇には、2037 例(60.7%)が含まれていた。HBs抗原陰性でHBs 抗体かHBc 抗体のいずれかもしくは両方陽性の場合にはHBV 既感染と診断できる。この範疇には、1191 例(35.5%)が含まれていた。HBs 抗原陽性の症例は、HBV キャリアと診断される。この範疇には125 例(3.7%)が含まれていた。

HCV 関連ウイルスマーカーの陽性率を図19、図20 に示す。HCV 抗体陽性率は、30 歳代から増加し、70 歳代に9.1%とピークに達し、その後低下する。HCV コア抗原陽性率もHCV 抗体陽性率と同様に30 歳代から増加し、70 歳代に6.1%とピークに達し、その後低下する。どの年齢層をとっても、HCV 抗体陽性率の方がHCVコア抗原陽性率より高値であった。性別のHCV抗体陽性率は、男性が7.2%、女性が2.8%、全体で6.3%であった。HCV コア抗原陽性率は男性が4.2%、女性が2.9%、全体が3.6%であった。

## D. 考察

### ○輸血前後の感染症検査の歴史

平成元年公表の「輸血療法の適正化に関するガイドライン」には、輸血後副作用や合併症が生じた際の原因調査と治療に役立てるため、患者血液と輸血血液のパイロット血液は少なくとも1~2週間、4℃程度で保存しておくこと、また、輸血後肝炎のフォローアップのため、最低3ヶ月間、できれば6ヶ月間程度、肝機能をフォローアップすることが望ましいと記載されている。

平成11年公表の「輸血療法の実施に関する指針」では、患者血液と輸血血液のパイロット血液は2~3カ月間凍結保存しておくことが望ましいと変更され、輸血後肝炎に関しては、ウインドウ期供血者からの感染が問題となるため、輸血後最低3カ月間、できれば6カ月間程度、定期的に肝機能検査と肝炎ウイルス関連マーカーの検査を行う必要があると改

定された。ヒト免疫不全ウイルス (HIV) についても同様の理由で、輸血後2~3 ヶ月以降に抗体検査等を行う必要があるとされた。

平成16年9月に改正された「輸血療法の実施に関する指針」(改正指針)では、ウインドウ期供血者からの血液を用いた受血者の早期発見・治療のため、医師が感染リスクを考慮して輸血前・輸血後に肝炎ウイルスマーカーとHIV抗体検査を行うことが必要とされた。その半年後に公表された「血液製剤等に関する遡及調査ガイドライン」では、検査の疑陽性結果、潜在ウイルスの活性化等の有無を確認するため、輸血前検体を2ml程度(平成20年12月改正)、-20℃以下で3か月以上可能な限り(2年間を目安に)保管することが望ましいとされ、輸血によるウイルス感染対策は、指針の改定とともに着実に進歩してきた。

#### ○輸血前感染症検査

平成16年度~18年度の調査で、輸血前検査を原則的に全ての患者に実施すると回答した施設は約70%であった。その検査項目はHBs抗原とHCV抗体で、いわゆる入院時検査や術前検査に相当するものと考えられたため、平成19年度からは輸血前検査をどのように行っているのかをたずねた。輸血前検査として独立して行っている施設は約20%、入院時検査等とあわせて行っている施設は約60%であった。HBs抗原、HCV抗体の採用率はほぼ100%であったが、平成20年度調査においてもHBs抗体、HBc抗体、HCVコア抗原の採用率はいまだに低かった。ウインドウ期供血者からのウイルス感染が最も問題となるHBVに

関しては、既感染マーカーであるHBs抗体、HBc抗体が輸血前に検査されていない場合、輸血によるウイルス伝播か、ウイルス再活性化によるものか区別できない。また、しばしば輸血を必要とする化学療法や免疫抑制療法を要する疾患では、HBVの再活性化により劇症肝炎が発症することが報告されており、輸血前のHBs抗体、HBc抗体検査は必須である。

#### ○輸血前検体保存

原則としてすべての輸血前検体を凍結保存している施設の割合は、調査開始時の平成16年度で、すでに69.1%となっており、平成11年の指針が周知されていた結果と考えられる。17年度80.1%、18年度90.5%、19年度91.2%、20年度96.7%と実施施設の割合は増加しており、指針の改正や遡及調査ガイドラインの公表により輸血後感染症発生時の遡及調査に備えた輸血前検体保存の重要性が認識されてきたものと考えられる。

#### ○輸血前検査か、輸血前検体保存か

輸血前感染症検査と輸血後感染症検査の今後のあり方について質問した結果(表10)では、現状のままの体制を継続するとした施設は、平成19年度調査と比べると、55.3%から20年度51.4%とやや減少し、輸血前検査は省略し輸血前検体保存と輸血後検査を行うとの回答は、平成19年度25.9%から20年度31.5%とやや増加していた。また、輸血前感染症検査を行っていないと回答した施設の約70%が輸血前検体保存を行っていることを、輸血前検査を行っていない理由と回答してい

た(図10)。

輸血前のウイルス感染症マーカー検査が未実施であっても、NATに耐えうる輸血前検体が保存されていれば、輸血後感染症検査陽性患者の原因追及は可能である。また、HBV、HCV、HIVのみならず、輸血前検体保存では輸血による新興・再興感染症伝播にも対応可能である。さらに、輸血前検体保存は輸血部門で実施することができるため比較的容易に導入できるが、輸血前感染症検査はその意義を医師が理解したうえで検査施行を指示すること

(検査をオーダーすること)が必要となるため、実施率を向上

させるためには輸血を処方するすべての医師へのいっそうの啓発と周知徹底が必須となる。

輸血前検体の保管条件として、コンタミネーションがないこと、NATに耐えうるものがあげられる。これらの条件を満たす最も簡単な方法は、専用の採血管に採取した血液を未開封のまま凍結保存することであるが、実際にその様な方式を採用している施設は20%に満たない。この方法を周知していくことは必要であるが、様々な医療機関の規模や設備に応じた保管条件を開発・検証し、多くの医療機関に具体的に提示することが必要と考えられる。とくに、現

状の保管体制を検証し、保管に適さない条件を例示することで、適切な輸血前検体保管が行われる環境を整備することが重要である。

輸血前検体の保管に要するコストは、冷凍庫の購入費用、保存用の容器(NATに対応する凍結可能な採血管など)、電気代などの維持費用があげられる。「輸血療法の実施に関

する指針」の項目すべてを含む輸血前の感染症検査を行う際の診療報酬点数は、HIV抗体価(120点)、肝炎ウイルス検査(520点；肝炎ウイルス関連検査5項目以上：HBs抗原、HBs抗体、HBc抗体、HCV抗体、HCVコア抗原)合わせて640点となる。1年間の全国の輸血患者を100万人とし、その全員が輸血前感染症検査をうけたとすると64億円のコストがかかり、保険基金からの支払額は7割負担として約45億円となる。旭川医科大学病院では、平成17年7月から輸血前感染症検査をセット化し輸血を要すると判断される患者に用いている。平成17年7月から平成21年5月までに同セットを用いて検査を行った患者は3881名であった。このうち、実際に輸血を要した患者は1404名(36.1%)であった。すなわち、輸血前検査を行っても実際に輸血をしない患者は、輸血を行った患者の約2倍存在することになる。この事実を勘案すると、上述のように求めたコストは約3倍、一年あたり192億円となる。コストから考えると、調査対象施設の90%がすでに輸血前検体の凍結保存を実施しているという結果を踏まえた場合、輸血前の感染症マーカー検査を一律に実施する必要はないものと考えられる。

したがって、輸血前検体保存を適切に実施している施設に関しては、輸血前検査の実施を回避できるように指針を改定する必要がある。もちろん、輸血前検体保管ができない施設の輸血患者や、免疫抑制・化学療法を施行しようとする患者においては、輸血前検査の完全実施が求められる。

### ○輸血後感染症検査

輸血後検査は、輸血によるウイルス伝播の有無を明らかにするため、受血者全例に行われるべき検査である。原則としてすべての患者に輸血後検査を実施している施設の割合は16年度23.8%、17年度29.5%、18年度38.3%と増加しつつあったが、19年度、20年度はほぼ変化ない。その理由として19年度から設問を“遡及調査のガイドラインに沿って輸血後感染症検査を行なっていますか”と変更したことがあげられるが、輸血後検査実施の主旨からするときわめて低率であるといわざるを得ない。これら施設において実際に選択されている感染症マーカーは、HBV-DNA、HCVコア抗原が70%程度、HIV抗体が90%程度で、「輸血療法の実施に関する指針」に示されている検査項目が採用されており、輸血後感染を早期に発見することができるマーカーを用いる意義は理解されていると考えられる。

ウィンドウピリオドを考慮して輸血後検査は輸血2~3ヶ月後に実施されることになっているが、その時にはすでに受血者が輸血を受けた病院に継続通院していない、輸血後または退院時などに患者に対して2~3ヶ月後に感染症検査を行うように書いたリーフレットを渡してもどの程度実施してもらえるのか未知である、あるいは輸血後2~3ヶ月後に担当医師や診療科に輸血後検査を実施すべき患者リストを渡しても検査をオーダしてくれるかわからない等の理由により、輸血後検査の実施率が低くなっているものと考えられている。平成16年度から18

年度までのアンケート調査では、輸血後検査対象患者あたりの実施率は調査されていなかった。そのため、平成19年度から輸血後検査対象患者における検査実施率を0~20%、21~40%、41~60%、61~80%、81~99%の5段階に分け調査した(図15)。輸血後検査に「輸血療法の実施に関する指針」の全項目を採用していると回答した施設で、対象患者の81%以上に輸血後検査が実施されている施設の割合は5%程度にすぎず、逆に検査実施率が20%を下回る施設の割合は60%程度であった。指針に示された一部の項目を採用していると回答した施設でも、輸血後検査が対象患者の81%以上で実施されている施設の割合は6~8%、逆に検査実施率が20%を下回る施設の割合は40~60%であった。受血者に対する輸血後検査実施率は非常に低いことが明らかになった。

輸血後検査は輸血によるウイルス伝播の有無を明らかにするために受血者全例に行われるべき検査であるので、輸血後検査の実施率を高める方策を早急にとる必要がある。そのためには輸血後検査の実施法を類型化し検査受診率との関係を明らかにし、効果的・効率的な輸血後感染症検査体制を構築することが求められる。輸血後検査実施率を向上させるのに最も効果的と考える取り組みと、検査実施率の関係を見ると(図16)、輸血後検査実施率が高いグループの共通項は、輸血後検査を行う適切な時期に、患者、主治医、診療科などに通知していることであった。また、同意取得時に書面を渡す、退院時に書面を渡すという取り組みも効果があると考えられる。