

図1.白血球除去フィルターによる異常プリオン除去(5%アルブミン)

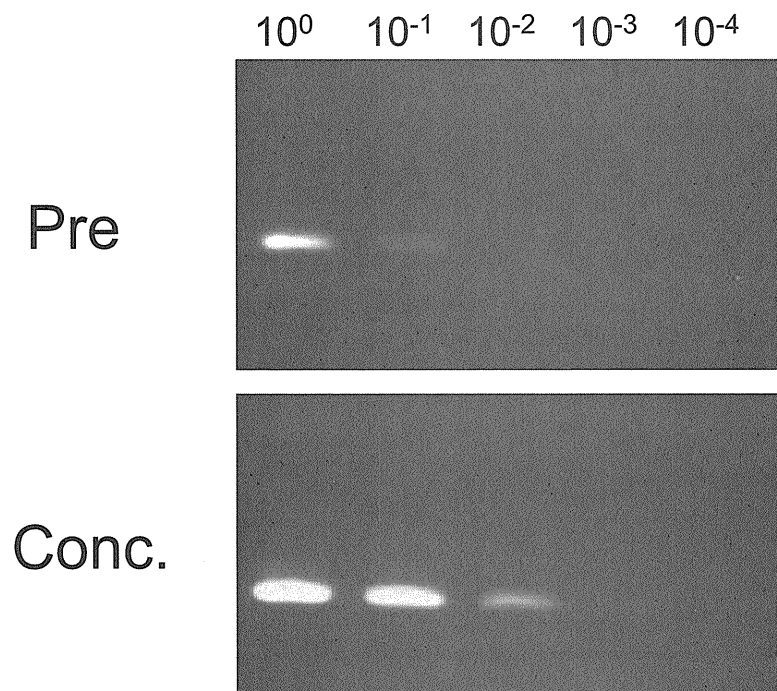


図2. エキソソーム精製試薬を用いた
C型肝炎ウイルスの濃縮

厚生労働科学研究費補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)

「血液製剤の安全性確保と安定供給のための新興・再興感染症の研究」

(H23-医薬-一般-003)

分担研究報告書

貯留前白血球除去と初流血除去の効果の解析

研究分担者 岡田義昭 国立感染症研究所 血液・安全性研究部 室長

研究要旨

1. 貯留前白血球除去は、欧米において導入されており非溶血性発熱反応を抑制するとの報告が多い。一方、術後の感染症の減少や入院期間の短縮に関しては一致した結論は得られていない。我が国は2007年から赤血球製剤に貯留前白血球除去を導入したが、日本赤十字社に報告される副作用報告件数で見ると、非溶血性発熱反応の減少は認められなかったが、アナフィラキシー反応(ショックを含む)は減少した。
2. 初流血除去は、採血時に混入してくる皮膚断片等に存在する皮膚常在菌による血液製剤の細菌汚染を予防するために考案・導入された。オランダ Sanquin からの報告では血小板製剤の細菌陽性率が0.85%から0.37%に減少した。日本赤十字社の報告では、血小板での細菌陽性率も同様に導入前の0.17%から導入後に0.05%となった。皮膚常在菌の混入予防法として有用な方法である事が判明した。

A. 研究目的

貯留前白血球除去は、輸血用血液に含まれる白血球に起因する有害事象として知られている。1) 非溶血性発熱反応、2) 抗HLA抗体の産生、3) 輸血関連急性肺障害、4) 輸血関連移植片対宿主病、5) 免疫修飾、6) 感染症(サイトメガロウイルス、HTLV-I、II、エルシニア)等の予防のために欧米を中心に広く導入されている。我が国においても血小板では2004年から、新鮮凍結血漿では2006年から、赤血球では2007年からそれぞれ導入されている。そ

れまでは、全血製剤や赤血球製剤においてベッドサイドで白血球除去フィルターを用いて実施されていた。しかし、貯留前白血球除去による多くのメリットがあるとの報告がある一方で、有意な差が認められないとの報告もある。そこで、日本赤十字社に報告されている輸血に伴う副作用の種類と発生件数の変化を貯留前白血球除去が導入される前後で検討した。さらに2012年の時点での貯留前白血球除去に関する報告を集め、その効果を評価することにした。また、血小板製剤は室温保存であるため、他の

血液製剤に比較して細菌の混入によるショック等の致死的な副作用が生じる。それを予防するための手段として採血の際に血液に混入してくる皮膚断片や皮脂腺に存在する常在菌の混入を少なくする方法として初流血除去が考案され、日本においても導入されている。その効果についても文献等の報告から評価する事を目的に本研究を実施した。

B. 研究方法

(1) 貯留前白血球除去の効果の評価（日本赤十字社の輸血情報を用いた解析）

日本赤十字社では、医療機関から輸血による副作用が疑われて血液センターに報告された症例を毎年公開している。副作用の種類として蕁麻疹、アナフィラキシー（様）反応、アナフィラキシー（様）ショック、血圧低下、呼吸困難、発熱反応、その他の症状が、血小板製剤、赤血球製剤、新鮮凍結血漿の3製剤毎の発生件数として公開されている。2004年から2011年までの8年間の副作用発生件数を解析した。

(2) 貯留前白血球除去の効果の評価（論文を用いた解析）

海外の輸血の専門雑誌と日本輸血細胞治療学会誌から貯留前白血球除去に関する文献検索を行ないその有効性を解析した。

(3) 初流血除去の効果の解析

海外の輸血の専門雑誌と日本輸血細胞治療学会誌から初流血除去に関する文献検索を行ないその有効性を解析した。

C. 研究結果

(1) 貯留前白血球除去の効果の評価（日本赤十字社の輸血情報を用いた解析）

2007年から赤血球製剤の貯留前白血球除去が導入された。各副作用の報告件数をみると最も変化が認められたのは、アナフィラキシー（アナフィラキシー反応とアナフィラキシーショックを併せて集計）の発生件数が半減したことである（図1）。また、発熱の報告件数も減少傾向が認められた（図1）。新鮮凍結血漿では2006年に貯留前白血球除去が導入されたが、アナフィラキシーや蕁麻疹の発生件数は、導入前後で変化が認められなかった。また、発熱の報告件数は導入前からも少なかった（図2）。血小板製剤においては、2004年に貯留前白血球除去が導入されたが、血小板採血装置によっては導入前から白血球が除去されていたことや発生件数が公開されるようになったのが2003年（それ以前は1万製剤当り発生率）からのため効果の評価はできなかった。

(2) 貯留前白血球除去の効果の評価（論文を用いた解析）

Uhlmannらは、31,542単位の白血球除去していない赤血球製剤と36,303単位の貯留前白血球除去されている赤血球製剤の輸血による副作用を検討し、非溶血性発熱反応の発生頻度に有意な差が認められなかったと報告した。一方、Yazerらは、それぞれ各約7万単位の赤血球製剤の副作用を検討し、白血球除去によって非溶血性発熱反応が有意に減少した事を報告した。同様に血小板製剤においても貯留前白血球除去によって有意に非溶血性発熱反応が減少したと報告した。Paglinoらも赤血球

製剤と血小板製剤において有意の減少が認められたと報告している。さらに King らは、赤血球製剤において貯留前白血球除去は、有意に非溶血性発熱反応を減少させたと報告している。Paglino と King は非溶血性発熱反応は減少したが、アレルギー反応の頻度には有意な差が認められなかった事も報告している。

また、Bilgin らは貯留前白血球除去によって心臓の弁の術後の感染症が減少したと報告しているが、Llewelyn らは貯留前白血球除去を実施しても整形外科や心臓の手術では感染症の頻度の低下や入院期間の短縮は認められなかったと報告している。同様に Englehart らも 495 名の外傷患者を用いた解析で差がなかった事を報告している。これまでに幾つかのランダムマイズされた治験が実施されているが、貯留前白血球除去が有効か、無効かの一致した結論は得られていない。白血球を含む輸血によって免疫が修飾される可能性があることから Transfusion-related immunomodulation (TRIM) と呼ばれているが、Gantt らの輸血によって癌の進行するリスクが増加するとの報告や Castillo らのリンパ腫のリスクが増加するとの報告がある。その一方で、Bush らは、大腸がんの再発には関係ないとの報告を行っている。

一方、貯留前白血球除去による感染症予防では、Wu らは、サイトメガロウイルス (CMV) 抗体陰性患者に貯留前白血球除去した血液を輸血し、CMV に感染するリスクを評価したところ、6.5%が 0.23%に減少すると報告した (完全に予防できるわけではないが)。また、HTLV-1 感染は一般的に cell to cell によっ

て生じると考えられているが、白血球除去を行なう事で Log4.9-5.8 減少し感染細胞が少なければ除去によって検出感度以下になることを Cesaire らは報告している。さらに、McCutcheon らはヒツジを用いた変異型 CJD (vCJD) 感染モデルにおいて白血球除去によって赤血球製剤による感染率が 18.9%から 6.9%に、血小板製剤による感染率が 24.3%から 3.4%に、血漿製剤による感染率が 13.2%から 3.4%にそれぞれ減少した。

(3) 初流血除去の効果の解析

2001 年に Bruneau らは、採血した最初の血液 15mL とその次の 15mL をそれぞれ細菌培養し、最初の血液からの方が細菌培養が陽性になる率が高い事を報告した。日本においても名雲らが、初流血除去しない群 2967 検体と除去した群 2890 検体の細菌培養を行ない、除去なし群では 0.24%が陽性になったのに対し除去群では 0.07%だったことを報告した。さらに Korte らは血小板採血時の最初の血液を 20-30mL 除去したところ、細菌の混入率が 0.5%から 0.37%に減少した事を報告した。同様に、Satake らは血小板採血時に初流血除去を行なったところ実施前の陽性率 0.17%が実施後 0.05%になったことを報告した。さらに Kort らは、オランダでの 10 年間の初流血除去の効果を検討したところ、血小板製剤の細菌培養で陽性となる率が実施前の 0.85%が実施後 0.37%に減少した事を報告した。

参考文献

- Uhlmann et al. Transfusion. vol. 41. 997-1000, 2001.
Yazer et al. transfusion. vol. 44. 10-15

2004.
Paglino et al. Transfusion. vol. 44. 44-24
2004.
King et al. Transfusion. vol. 44. 25-29
2004.
Bilgin et al. Circulation. vol. 109. 2755-
2760. 2004.
Llewelyn et al. Transfusion. vol. 44. 489
-500. 2003.
Englehart et al. World J Surg. vol. 33.
1626-1632. 2009.
Vamvakas et al. Vox Sang. vol. 93. 196-
207. 2007
Grant et al. Lance. vol. 15. 636. 1981.
Wu et al. Transfusion. vol. 50. 776-786
2010.
Cesaire et al. Transfusion. vol. 44. 42-48
2004.
McCutcheon et al. PLOS One vol. 6.
E23169. 2011.
名雲ら. 日本輸血細胞治療学会誌. vol. 53.
598-601. 2007.
Korte et al. Transfusion. vol. 46. 476-
485. 2006.
Satake et al. Transfusion. vol. 49. 2152-
2157. 2009.
Korte Transfus Med Hemother. vol. 38.
251-254. 2011.
Walther-Wenke et al. Transfus Med
Hemother vol. 38. 231-235. 2011.

D. 考察

貯留前白血球除去は、赤血球製剤や血小板製剤の輸血に伴う非溶血性発熱反応を減少さ

せる効果があることが複数の施設での治験から報告されている。一方、輸血による免疫修飾については、術後の感染症発症率の減少や入院期間の短縮などに有意の差があったとの報告がある一方、差がないとの報告もあり、現在でも結論に至っていない。腫瘍の再発率に関しても一定の見解は得られていない。

貯留前白血球除去による感染症予防効果では、白血球内に存在する病原体に有効であるが、血液バッグに残存する白血球は 0 ではないため除去されずに残存する白血球の中に感染細胞が存在していれば、感染する可能性は否定できない。そのため、感染するリスクを減少させる事には有効ではあるが、完全に予防する事は困難である。

日本における貯留前白血球除去の効果を見るために日本赤十字に報告されている輸血に伴う副作用情報を解析した。これらの情報は、引用した論文と異なり病院から薬事法に則って報告される主に中程度以上の副作用に限られるため軽微な副作用は含まれない。また、自主的な報告なので全数が報告されている訳ではない。そのため赤血球製剤の貯留前白血球除去導入前後で発熱の報告件数に著明な変化は認められなかった。一方、アナフィラキシーが明らかに減少していた。これは、他国からの報告と大きく異なる結果である。この理由として、好塩基球の除去効果が推定できる。諸外国からの報告がないのは、評価対象の製剤数が数万単位に対し、日本赤十字社は年間 300 万単位以上の赤血球を対象にした副作用を集めているため、発生頻度の少ない副作用の減少を捉えているためと推定している。

E. 結論

貯留前白血球除去は、非溶血性発熱反応を有意に減少させる効果や CMV 感染、及び vCJD 感染を完全ではないにしろ予防する効果があると考えられた。一方、初流血除去は、血小板に混入する細菌を 1/3 にする効果が報告されている。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 岡田 義昭、野島 清子、浜口 功:末梢血単核球から誘導した赤芽球のヒトパルボウイルス B19 に対する感受性の解析、第 60 回日本ウイルス学会、大阪、2012 年

2) 岡田 義昭:血液製剤のウイルス感染症対策、第 60 回日本ウイルス学会、大阪、2012 年

3) 下池 貴志、野島 清子、脇田 隆宇、岡田 義昭:血液製剤における C 型肝炎ウイルスの不活化の検討、第 60 回日本ウイルス学会、大阪、2012 年

4) 水澤 左衛子、岡田 義昭:核酸増幅試験法のための E 型肝炎ウイルスの WHO 国際標準品の制定のための共同研究と日本の国内標準品の作成について、第 60 回日本輸血細胞治療学会、郡山、2012 年

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

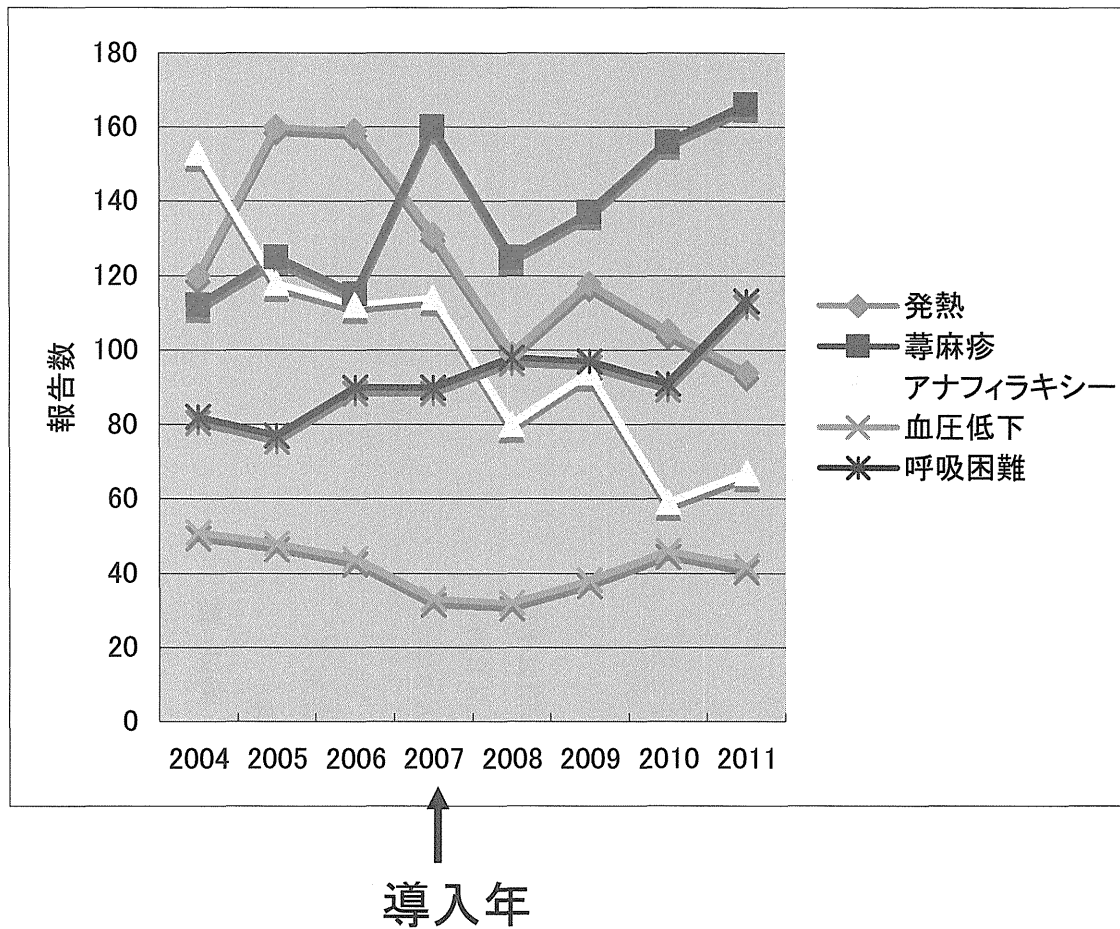


図1.赤血球輸血の貯留前白血球除去の効果

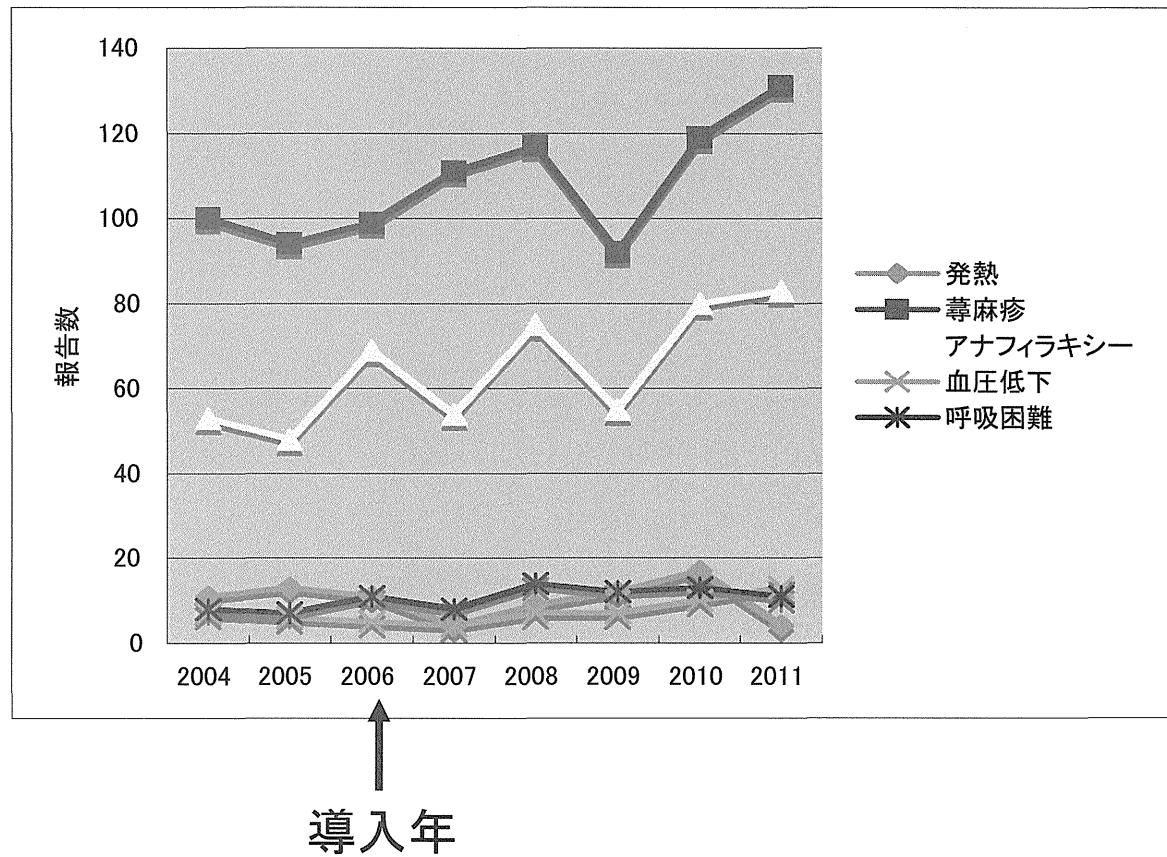


図2.新鮮凍結血漿の貯留前白血球除去の効果

厚生労働科学研究費補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)

「血液製剤の安全性確保と安定供給のための新興・再興感染症の研究」

(H23-医薬-一般-003)

分担研究報告書

国内外でのシャーガス病キャリアーの把握と献血対策に関する研究 (慢性期シャーガス病の調査研究)

研究代表者 倉根一郎(国立感染症研究所 副所長)

研究協力者 三浦左千夫(日本赤十字社中央血液研究所 客員研究員)

研究要旨:

在日ラテンアメリカ人の定住化が進み、企業献血を含め地域に密着した献血に協力する者も少なくない。また、定住化に伴ないわが国での出産、育児、教育など日本人として成長をする第二世代がすでに献血年齢に達成し、先天性シャーガス病キャリアーが献血をする危険性も出てきた。シャーガス病慢性感染者が潜んでいる可能性が極めて高いことはすでに明らかであり、本疾患を媒介する昆虫が生息しない我が国では輸血感染、臓器移植感染、母子感染以外に感染経路はない。二次感染防止対策上ラテンアメリカ人集住地域での献血血については抗体検査を極力実施した。またラテンアメリカ人のコミュニティで開催される健康相談会に支援協力し同じく *T. cruzi* 抗体の検査を実施した。本年度は先天性感染シャーガス病に関しての調査を強化した。その結果昨年に次いで12歳になる日系ボリビア人男児が *T. cruzi* 抗体陽性、母子共にシャーガス病キャリアーであることが示唆された。一昨年に判明した感染児については南米で本疾患治療に推奨されている LAFEPE-Benzimidazol を用いて治療を行った。この出産に関して関係した医療従事者複数についての二次感染は抗体検査の結果否定された。上記を踏えて、わが国での *T. cruzi* 抗体陽性者及び有症者に対する医療関係機関での対応及び帰国希望者に対しての母国での対応策について主に検討した。

A. 研究目的

- ① 在日ラテンアメリカ人集住地域での *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) 抗体保有者の検索。
- ② 献血現場で対応できる既存の迅速抗体測定キットの評価検討。
- ③ 在日ラテンアメリカ人先天性感染Chagas 病例の有無について検討する。

B. 研究方法

- 1) 在日ラテンアメリカ人集住地域において NPO、ブラジル領事館などの協力の基で調査研究参画への同意書が得られた人たちを対象に抗体検査を行う。
- 2) ラテンアメリカ人集住地域医療機関から検査依頼を受けた血清を用いて病原体 *T. cruzi* に対する IgG 抗体の有無をクロ

マト法、IFA、ELISA 法 PCR 法及び LAMP 法で調べる。

3) 既存の抗体検出キット(試験研究用)を用いて、それぞれの利便性、信頼性について検討した。

以上の疫学調査検診による血清診断は、各地の医療機関から依頼される血清検体と同様にブラジル領事館倫理委員会・日本赤十字社血液事業研究倫理審査委員会、防衛医科大大学校倫理委員会の承認の下に行った。また、抗体陽性者の精査に関しては紹介先医療機関の指針に従った。

C. 研究結果

1&2) 愛知県、静岡県、神奈川県、群馬県下のラテンアメリカ人定住者コミュニティのある地域で *T. cruzi* 抗体の有無について Chagas-Stat-Pack(Chembio)および, Trypanosoma-Detect (*In-Bios*) キットを用いて検討した。

今年度は195名の抗体検査を実施出来た。そのうち、在日17年を経過するBolivia日系家族に先天性Chagas病感染者が検出され昨年にひきつづき2例目であった。母親は近医に紹介経過観察中、子に関しては無症状であるが、Bolivia基準マニュアルでは15歳未満で *T. cruzi* 抗体陽性者は特異的治療の対象となっているため、近医小児科と検討中。

2012年度 *T. cruzi* 抗体陽性者 5/195=2.56%

- 検査総数: 195名
男性: 96 女性: 99
 - 在日ブラジル人: 145名(男性68:女性77)
*T. cruzi*抗体陽性1名(0.68%)
 - 在日ボリビア人: 27名(男性10:女性17)
*T. cruzi*抗体陽性4名(14.81%)
 - その他(アルゼンチン女性1;コロンビア女性1;日本男性3)
- * * ボリビア人家族に日本国内出産例の母子感染2例目を検出

本年度の *T. cruzi* 抗体陽性者の五名について下記に示す。

T. cruzi 陽性者について

国別	年齢	性別	滞在期間	母国での検査の有無	備考
ボリビア	43	女性	8年	なし	母国で輸血 兄弟にChagas病あり
ボリビア**	45	女性	15年	あり 抗体+	兄弟にChagas病あり
ボリビア	34	日本	4年	サンガメに刺された 抗体+	兄弟にChagas病あり
日本** [ボリビア]	12	男性	12年	日本生まれ	母子感染を示唆
ブラジル	55	女性	16年	あり 抗体+	有症 不整脈

ラテンアメリカ人の平均滞日年数は13.5年であり、今回の先天性感染児もすでに12歳であった。当該児は3人兄弟の末っ子であったが、他の2名は抗体陰性であった。感染に気付くことなく数年後には献血年齢に達し、善意の献血にボランティアとして参加することが可能となる。本人周囲もChagas病に感知することなく病原体を広めてしまう危険があることを熟知させ、二次感染予防に努めるべく医療機関へ紹介経過観察を推奨した。ちなみに現在まで医療機関を通じての検査依頼は43件17名が抗体陽性(8/17名はPCRで抗原 *T. cruzi*-DNA を検出)慢性キャリアーと確認した。一方、在日ブラジル人およびボリビア人の献血人数と現在までの在日ラ

テンアメリカ人の *T. cruzi* 抗体陽性率 (1.8%) から抗体陽性者数は数十名と推定される。シャーガス病に関する情報は国内外伴に日系人には関心が薄い。サシガメ及びシャーガス病について母国での啓蒙教育のため名前だけは知っている程度であることが判明した。在日ラテンアメリカ人の集住地域東海4県における住民に対するシャーガス病に関する啓発活動は自治体の多文化共生課など行政が NPO と共同で実施するようになった。

既存の迅速診断キット (試験研究用) は現在 CHAGAS-STAT-PACK (CHEMBIO)、Detect-Trypanosoma cruzi (In-Bios) は特異性が高く中南米の流行地でスクリーニングに採用をされているが高価なために汎用的ではない。

しかし、自治体やラテンアメリカ人集住地域の基幹病院検査科などでは、検査用キットを常備出来ないか? との要望も具体的にでてきた。同時に一般医家も含めて Chagas 病に関する情報をもっと知りたいとの要望もあった。世界的に Chagas 病のグローバル化が進み、我が国でも Chagas 病に対する具体的な対策が待たれている。スクリーニング検査法等に関して現在日赤中央血液研究所において検査用キットの国産化なども視野に検討中であり、当面は既存の研究用キットを併用し検討を行うが、今回分離出来た *T. cruzi* を有効利用し IFA 検査キットの標準化、LAMP 法、PCR 法にて潜在感染者の抗原キャリアー検出を可能にした。

検査法の検討

各遺伝子検出法の in vitro での検出感度

検出方法/標的遺伝子	検出感度 (parasites / tube)
Conventional PCR	
K-DNA	0.03
St-DNA	0.3
LAMP	
18S-rDNA (Pan-T)	3
18S-rDNA (Oriel)	30

- 1: 現状で臨床応用可能な原虫確認検査は、minicircle DNA (k-DNA) を標的とする PCR 法が最も検出感度が高く、既存の大規模調査による報告と一致した。
- 2: 原虫血症が非常に低い症例では、PCR 法および培養検査を合わせて実施し、評価する必要があるようになった。
- 3: 現時点での LAMP 法の感度は PCR 法に劣るが設備面での利便性から更に原虫血症の多い急性期や母子感染の簡易診断法への開発応用を進める。

D. 考察

全国に散在するラテンアメリカ人の心臓疾患患者で Chagas 病慢性期を示すケースは 17 名におよび、そのうち 8 名については PCR で *T. cruzi*-DNA が検出され病原体キャリアーであることが示唆されている。

Brazil, Bolivia の日系移住地でのシャーガス病感染状況は 10~15% と略一致している。また、同様に在日ラテンアメリカ人のシャーガス病有症者の鑑別診断検査依頼のデータと献血者と比較すると、検査対象の平均年齢がブラジル人集団 53 歳、ボリビア人集団 52 歳と、明らかに献血対象者の平均年齢 37 歳と明らかに隔たりが認められた。

今回献血対象になった者から *T. cruzi* 抗体陽性者は皆無であり、リスクの少ない世代であると考えられる。一方現在世界的に最もシャーガス病感染リスクの高いボリビアからの在日定住者は 6000 名前後であるが、ボリビア人集団を組織的に健診が出来ないのは、彼らのコミュニティーを把握するリーダーが

居ないことにある。今年度はNPO-日本ビリビア中央協会の協力でBilivai日系家族に対する *T. cruzi* 抗体スクリーニングおよび、検査啓発を行い、その家族から、在日家族の状況を得て、今後の国内での健康相談、抗体検査の呼びかけを行うことが可能となった。*T. cruzi* 抗体検査キットの評価対象として用いた Chagas-Stat-Pack (Chembio-USA) は特異性が高くRecombinant antigenを用いて、中南米で広く用いられているスクリーニングキットである。抗体をチェックするキットは多いが、一方で献血現場、医療現場で問題となる抗原のチェックシステム開発を急ぐことが急務である。そこでLAMP法による検討を今後さらに推進することがのぞましい。今後在日ラテンアメリカ人を対象とした疫学調査の実施では地域特性を把握し成人を対象に検査を行うことが望ましいが、先天性感染シャーガス病検討のためには母親が抗体陽性の場合はその限りではない。中南米の治療指針では抗体陽性者が15歳未満であれば、必然的に治療対象となる。ラテンアメリカ人集団を中心に調査を継続すれば、更に潜在感染者が検出されるはずであり、早期発見につながり彼らにとっても、自身の健康管理に有益である。また在日平均年から考え、すでに献血年齢に達する、わが国での出生、成人が増加することは十分に考えられる、彼らは日本人として献血する可能性が高い。また今回の先天性感染児のように、本人家族はまったくChagas病感染に気付いていないことがほとんどである。これらの出産に関係した医療機関従事者の抗体検査も行い、2次感染の有無について抗体検査を実施したが、幸いにも二次感染は否定された。しかしこのようなラテンアメリカ人の出産に関わった

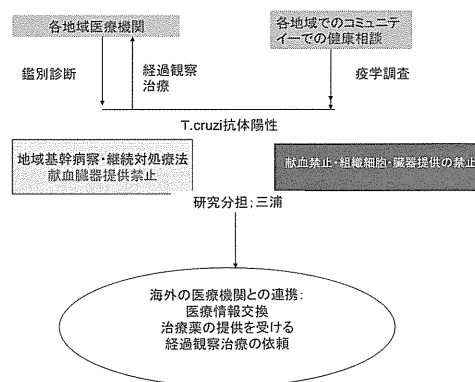
医療関係者はすでにかかなりの数になるはずである。

Boliviaでは慢性シャーガス病妊婦の約5%に先天性感染児の出産が報告されている。ラテンアメリカ人を対象にした検診調査ができたのも各地のNPO、NGO、及びブラジル領事館の協力が得られた結果である。地域社会医療の面からも意義があったと思われ、今後のラテンアメリカ人集住地域での活動の推進につながりかつ、安全な献血協力への呼びかけにもなる。

今後も益々臨時的にケアすべき症例も増加傾向になり下記のごとく内外ともに協力体制を整え、国内においても検査、治療がスムーズに実施される様に行政的にも法改正提案等を検討する。

E. 結論

抗体陽性者、有症者に対するケアの流れを示す。



今後もラテンアメリカ人のシャーガス病慢性感染者を見出すために、南米からの定住者に対するブラジル領事館移動領事館業務、NPO、NGO、コミュニティのイベント会場での健康相談会を利用することで、より多くの検討が出来る。

ブラジル人を対象にしたイベントでも、ペ

ルー人、ボリビア人コロンビア人、アルゼンチン人などの他国の参加もあった。ラテンアメリカ人支援 NPO,NGO が実施するネットワークを通じシャーガス病検診のみならず、ラテン諸国の知られざる感染症に対する啓蒙講演は彼らを受け入れる地域社会の医療機関関係者への呼びかけにもなりうる。東海4県のラテンアメリカ人集住地域での献血現場で実施する問診票の改訂も行い、感染のリスクのある者からの献血検体については日赤中央研究所に於いて、ELISA 法を用いてのスクリーニングを行い更には血漿分画成分製造制限を設ける提言を行った。

F. 健康危険情報

すでに南米長期滞在者(日本人)から抗体陽性者が検出されたことなどから、献血現場では日本人に対しても中南米4週間以上の滞在経験者には経過時間の長短に関係なく *T. cruzi* 抗体スクリーニングを行うように献血呼びかけリーフレットの改訂を行った。また在日ボリビア人の抗体陽性者については本疾患の慢性感染者妊婦からの先天性感染児出産を想定すべきであることが明らかで、産科、小児科領域への注意喚起を更に強化する必要がある。今回の先天性感染児に関しても今後の献血輸血の禁止など健康管理面での注意を促す必要がある。また、本疾患流行地から移住してきたラテンアメリカ人で日本にて出産を経験した者たちに関して、疫学調査を拡大し、先天性感染者の検索の必要がある。在日定住者ラテンアメリカ人の多くにシャーガス病に関する啓蒙口演など情報の発信が不可欠。ラテンアメリカ人集住地域での献血パイロット地域をさらに広げての抗体スクリーニング検査の実施地域拡大を提

案すると同時に地域の医療機関従事者への呼びかけも重要である。

T. cruzi 抗体陽性者に対する対応について以下に示す。

T. cruzi 抗体陽性者に対する対処

- ・ 無症者：経過観察のため地域基幹病院を紹介
- ・ 有症者：症状に応じて地域基幹病院紹介(内科医循環器、消化器内科、産科、小児科)
 - ・ 現在Chagas病患者経過観察協力医療機関
- ・ 滋賀県：守山成人病センター、甲賀病院、滋賀県立医大
- ・ 三重県：菟野厚生病院・四日市市立病院
- ・ 愛知県：増子記念病院、豊田厚生病院、岡崎市民病院、名古屋記念病院、豊田ハートセンター
- ・ 静岡県：聖隷三方原病院、JA厚生連 遠州病院
- ・ 神奈川県：東海大学・大磯病院、鳥越クリニック、横浜市民総合医療センター
- ・ 群馬県：大田総合病院

支援協力NPO・NGO

NPO-MAIKEN(八王子)東京ブラジル総領事館
 NPO-SABJA(青山)東京ブラジル総領事館
 国際社会貢献センター
 Disque-Saude(名古屋)ブラジル領事館
 財団法人：静岡県産業労働福祉協会
 NPO-日簿中央協会

ラテンアメリカ人コミュニティーでの健康相談風景を示す。群馬・大泉にて、ブラジル人医師も含めての健康相談会。



抗体陽性+有症者に対する治療入院可能な感染症科を有する医療機関を以下に示す。

防衛医科大学付属病院感染症科
 独協医科大学付属越谷病院感染症科

国立医療センター感染症科
等が協力を申し出ているが、24年度は防衛
医科大学に於いて先天性シャーガス病の患
者について入院治療を行った。

シャーガス病治療における共同研究について
各医療機関+日赤中央血液研究所

- ✓ 目的: 国内におけるシャーガス病(疑い)の検体を受領し、検査を実施す
ると共に検査体制の整備を行う
- ✓ 抗体陽性7検体の内、2検体から*T.cruzi*を*in vitro*で培養・分離した
- ✓ 虫体が確認された患者の治療経過と抗体価、抗原量の測定

採血日	Antibody				Antigen				
	Inbios	Inbios +	Chembio	ELISA	Isolation	N-PCR	Quantitative	Ct	
治療前	2012/8/7	+++	+++	+++	>x100	+	+	5.57E+02	29.02
治療中	2012/10/10	+++	+++	+++	>x100	-	+(5/11)	0.01 (1/3)	40.97
治療後	2012/10/25	+++	+++	+++	>x100	-	+(10/11)	0.03 (2/3)	40.04
退院時	2012/10/29	+++	+++	+++	>x100	ongoing	+(1/1)	-(0/3)	negative

治療は LAFEPE-Benzimidazol をブラジル国
Recife 市オズワルドクルズ病院より供与を受
け行った。その結果は上記表に示す通り血
液中の *T.cruzi* は消滅したが、抗体価の推移
は変わらず今後さらに経過観察を防衛医科
大学病院にて継続する。2例目の先天性シャ
ーガス病児及びブラジル人慢性感染シャ
ーガス病患者が治療を検討中である。母国
での治療を望む場合は以下の機関が協力
可能である。1～3はブラジル国内、4～5は
ボリビア国内である。

海外での協力機関

- 1) Ambulatorio Chagas/ICC: PROCAPE-UPE
Hospital-Oswald Cruz-Pernambuco-Brazil
- 2) USP-Faculdade de Medicina Dept-Infect
Sao Paulo-Brazil
- 3) Serviço Publico Federal Conselh Regional
de Medicina do Sao Paulo-Brazil
- 4) CENETROP/Banco Nacional de Sangre/
SC-Bolivia
- 5) Programa Nacional de Chagas/SC.Bolivia

日系移住地での啓蒙口演は在日家族の状

況把握に有効である。



日簿医療国際交流協会講演

ボリビア人コミュニティーでの啓蒙口演では
在日家族への呼びかけがあったのか27名の
検査を行い4名に抗体陽性者を見出すという
結果に結び付き、しかも先天性シャーガス病
児をも見出した。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) シャーガス病における遺伝子学的診断
法の開発と検討. 今井一男、前田卓哉、三
木田馨、吉川幸尾、佐山勇輔、小野岳史、
岩田理、武田晋作、宮平靖、川名明彦、三
浦左千夫. 臨床寄生虫学会雑誌. 23 号
p41-45, 2013

2. 学会発表

1) 今井一男、前田卓哉、三木田馨、吉川
幸尾、小野岳史、佐山勇輔、小林正規、川
名明彦、宮平靖、三浦左千夫. シャーガス
病に対する遺伝子診断開発. 第 53 回日本
熱帯 医学会 (帯広) 2012.9.

2) 今井一男、吉川幸尾、三木田馨、前田卓
哉、小野岳史、川名明彦、宮平靖、三浦左

千夫. シャーガス病における遺伝子学的
診断法の開発と検討. 第 23 回日本臨床寄
生虫学会 (東京) 2012.6.

3)国際シンポジウム

第 1 1 回日本ボリビア国際内視鏡シンポ
ジウム (招待口演) : 日本 - ボリビア医療
友好協会・スクレ・ボリビア・スクレ
2 0 1 2 ・ 1 1

La situación de infección de la enfermedad de
Chagas residiendo en Japao de bolivianos y
profilaxis de infección secundaria

Sachio Miura

在日ボリビア人の C h a g a s 感染状況
と二次感染予防について。

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし。

厚生労働科学研究費補助金
医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業
平成 24 年度研究報告書

「血液製剤の安全性確保と安定供給のための新興・再興感染症の研究」
(H23-医薬-一般-003)

分担研究報告書

ウエストナイル熱等の新興感染症発生時の献血対応及び
国内献血におけるシャーガス病の感染リスクの把握

研究分担者 百瀬俊也 (日本赤十字社血液事業本部 安全管理課長)
研究協力者 沖 学 (日本赤十字社血液管理センター 検査課長)
高松純樹 (日本赤十字社東海北陸ブロック血液センター所長)
鬼束惇義 (岐阜県赤十字血液センター所長)
南澤孝夫 (静岡県赤十字血液センター所長)
濱口元洋 (愛知県赤十字血液センター所長)
岡田昌彦 (三重県赤十字血液センター所長)
内田茂治 (日本赤十字社血液事業本部
中央血液研究所 感染症解析部長)
三浦左千夫 (日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所客員研究員)
平 力造 (日本赤十字社血液事業本部 製造管理課参事)
古居保美 (日本赤十字社血液事業本部 安全管理課)
石野田正純 (日本赤十字社血液事業本部 安全管理課)

研究要旨：

ウエストナイルウイルス (以下、WNV という) の国内発生に備えて、現在備蓄している TMA 法の WNV-NAT 試薬 (Procleix® WNV Assay) と日本赤十字社 4 カ所の NAT 施設へ導入しているロシュ・ダイアグノスティクス株式会社 (以下、ロシュ社) 製 cobas®s401 システムを用いた TaqMan PCR 法の WNV-NAT 試薬 (TaqScreen® WNV assay) について、感度、特異性の比較検討を行った。

中南米諸国の居住歴を有する平成 22 年度の献血者 10,190 人を血液事業統一コンピュータシステムから抽出し、氏名から日本人と外国人に分類し集計した。日本人は 8,490 人 (83.3%)、外国人 1,700 人 (16.7%) であり、外国人の国別内訳では、ブラジルが 1,299 人と最も多く全体の 76.4%を占め、以下、ペルー 211 人 (12.4%)、アルゼンチン 64 人 (3.8%) などであった。

中南米地域からの定住者が多い東海四県 (愛知県、静岡県、岐阜県、三重県) における献血申込 (受付) 者のうち同意を得た者に対し、*Trypanosoma cruzi* 抗体検査を実施した。

平成 24 年 4 月～9 月で、29 人（男性 15 人、女性 14 人）全て陰性であった。年齢別では、20 代 10 人、30 代 11 人、40 代 7 人、50 代 1 人で、国籍別では、ブラジル 26 人、ペルー 2 人、日本 1 人であった。本調査の累計数は 120 人となり、全員 *Trypanosoma cruzi* 抗体検査陰性であった。このうち中南米国籍を有する者は 108 人であり、現時点での *Trypanosoma cruzi* 抗体陽性率は 0/108 なので、*Trypanosoma cruzi* 抗体陽性リスクは 1%未満と考えられる。平成 22 年度の全献血者数 5,329,676 人、中南米居住歴のある外国人献血者数 1,700 人から *Trypanosoma cruzi* 抗体陽性リスクを推計すると、17 人未満/年、1/31 万人未満と考えられる。

A. 研究目的

現在、WNV 国内発生に備えて TMA 法の WNV-NAT 試薬（Procleix® WNV Assay : ノバルティス株式会社）を 5000 テスト分血液管理センターに備蓄している。本試薬は TMA 法の試薬であり、測定機器を保有しているのは京都府福知山市の血液管理センター及び東京都江東区の関東甲信越ブロック血液センターである。

迅速かつ広域的な対応を可能とするため、日本赤十字社 4 ヶ所の NAT 施設へ導入されたロシュ社 cobas®s401 システムを用いて、TaqMan PCR 法の同社製 WNV-NAT 試薬（TaqScreen® WNV assay）の感度について、TMA 法の WNV-NAT 試薬と比較検討した。

なお、両者の感度は、各社の参考資料によると TMA 法 8.2copies /mL (95%検出感度)、TaqMan PCR 法で 30copies /mL (95%検出感度) である。

また、国内献血におけるシャーガス病の感染リスクを把握することは、日本において、献血血液の重要な安全対策上の課題と言える。中南米滞在歴を有する献血者が、日本人渡航者か中南米出身者かを明らかにし、リスク評価のための基礎資料にすることとした。

さらにブラジルからの定住者が数多く居住する愛知県、静岡県、岐阜県、三重県の東海四県において、中南米居住歴を有する献血申込者（日本人の長期滞在歴を有する者を含む）に対して、同意を得た上で、シャーガス病に関する質問と *Trypanosoma cruzi* (以

下、*T. cruzi*) 抗体検査を実施し、抗体陽性者への健康管理に繋げていく。

その実施状況は、平成 22 年度 (2011 年 2～3 月) 46 名 (男性 35 名、女性 11 名)、平成 23 年度 (2011 年 4 月～2012 年 3 月) 45 名 (男性 31 名、女性 14 名) であり、全員陰性であった。平成 24 年度も引き続き、東海四県におけるパイロットスタディを実施した。

B. 研究方法

1. WNV

1) 感度試験

非感染性とした WNV 液 (WNV NATtrol® : ZeptoMetrix 社 10,000 cps /mL Strain:NYS2001-6263) を希釈用血漿で希釈し、300、100、30、10、0 cps /mL 濃度のウイルス添加血漿を作製し、TaqScreen®WNV Assay 試薬及び Procleix® WNV Assay 試薬を用いて NAT を各々 27 重測定した。

2) 特異性試験

①実検体による試験

献血血液の NAT 用検体を用いて作製した 20 本プール NAT 検体で、HBV、HCV 及び HIV のスクリーニング NAT 陰性の 240 検体を 2 つの WNV 試薬を用いて 3 回に分けて測定した。

②WNV-RNA 検体を用いた特異性・交差反応性試験

国立感染症研究所から WNV (NY99 株) 3.33×10^7 cps/mL の 50 μ L から抽出し凍

結乾燥した RNA と、日本脳炎ウイルス (Beijing-1株) 1.0E+08 PFU/ mL の 200 μ L から抽出した RNA を 100 μ L の蒸留水で再浮遊し、その 50 μ L を凍結乾燥した RNA 検体の提供を受けた。この凍結乾燥した RNA を WNV の RNA については 300、100、30、10、1、0.1cps/mL 濃度に、日本脳炎ウイルスの RNA については 1000、500、100、50、10PFU/mL 濃度に注射用水で希釈したものを作製し、両試薬を用いて NAT を各々 6 重測定した。

2. シャーガス病の感染リスク

中南米諸国の居住歴 (平成 22 年 4 月～平成 23 年 3 月) を有する献血者数を血液事業統一コンピュータシステムより抽出し、氏名表記を基に日本人 (氏名漢字表記)、外国人 (ミドルネーム又はカタカナ表記) に分類し集計した。

中南米地域からの定住者が多い東海四県 (愛知県、静岡県、岐阜県、三重県) における献血申込者のうち中南米滞在歴を有する献血希望者に対し、予め献血会場に用意された本調査研究の説明書及び同意書を渡し、その内容を理解し同意書に署名した者を対象とした。併せて出身地、シャーガス病に関する認知度等の質問票に回答いただいた。別に検体を採血し、東海北陸ブロック血液センターにてイムクロマト法 (STAT-PAK®) 迅速検査を実施した。また、三浦班員の協力を得て、ELISA 法 (ORTHO® *T. cruzi* ELISA TEST System) 及びイムクロマト法 (*Trypanosoma Detect*®) 迅速検査による *T. cruzi* 抗体検査を実施した。

(倫理面への配慮)

中南米居住歴を有する者のシャーガス病の感染リスク調査については、予め献血会場に用意された本調査研究の説明書及び同意書を渡し、その内容を理解し同意書に署名した満 20 歳以上の者を対象とした。*T. cruzi* 抗体検査結果を通知し、抗体陽性者に相談医

療機関を紹介するなど健康管理に活かすこととしたので、調査対象者に不利益はない。本調査に関して、別途個人情報管理者を指名し個人情報を適切に管理することとした。本調査研究は、日本赤十字社血液事業研究倫理審査委員会において承認された。(研究倫理審査番号 2010-006)

C. 研究結果

1. WNV

1) 感度試験

WNV-NAT 試薬の感度試験は、TaqMan PCR 法及び TMA 法とも両社の標榜する検出感度を大きく下回る結果となった。

2) 特異性試験

①実検体による試験

20 プールした献血者検体それぞれ 240 本について、NAT を実施したが、TaqMan PCR 法及び TMA 法共に全て陰性で、陽性又は偽陽性は検出されなかった。

②WNV-RNA 検体を用いた特異性・交差反応性試験

TaqMan PCR 法試薬では、WNV NY99 株は 100cps/mL までが陽性率 100%で、30cps/mL で陽性率が 83.3%、10cps/mL で 33.3%であった。しかし、感度試験の結果と乖離が認められた。日本脳炎ウイルスは 10 PFU /mL まで全て陽性となり、交差反応性が認められた。

TMA 法試薬 WNV NY99 株は 1cps/mL までが陽性率 100%で、0.1cps/mL で陽性率が 16.7%となった。日本脳炎ウイルスでは 50 PFU /mL までが陽性となり、交差反応性が認められた。

2. シャーガス病の感染リスク

平成 22 年度の献血者 10,190 人を、日本人と外国人に分類したところ、日本人は 8,490 人 (83.3%)、外国人 1,700 人 (16.7%) であり、外国人の国別内訳では、ブラジルが 1,299 人と最も多く全体の 76.4%を占め、以下、ペルー 211 人 (12.4%)、アルゼンチン

64人(3.8%)と続いた。(表1、表2、図1)

東海四県における同意を得た中南米居住歴を有する献血申込者に対し *T. cruzi* 抗体検査を実施した。平成24年4月～9月で、29人(男性15人、女性14人)全員陰性であった。年齢別では、20代10人、30代11人、40代7人、50代1人で、国籍別では、ブラジル26人、ペルー2人、日本1人であった。平成23年2月から平成24年9月までの本調査の累計数は120人となり、全て *T. cruzi* 抗体検査陰性であった。このうち中南米国籍を有する者は108人(男性74人、女性34人)であり、年齢別では、20代33人、30代43人、40代27人、50代5人で、年齢の中央値は32.5歳(20～57歳)であった。国籍別では、ブラジルが97人と最も多く、以下、ペルー8人、メキシコ、コロンビア、パラグアイが各1人であった。彼らの在日期間は平均10.7年(2ヵ月～28年)であった。

(図2)

シャーガス病に関するアンケート調査は、家の構造に対する回答は様々であったが、サシガメの生息が類推されるような回答はなかった。サシガメやシャーガス病の認知度は、日本人を除いた中南米国籍者では各々70%、79%であったが、「知っている」と回答したのは、中南米国籍者では全員ブラジル人であった。また、サシガメに刺された者はいなかった。過去に *T. cruzi* 抗体検査を行っていた者は18名であり、全員ブラジル人で陰性であった。また、家族にシャーガス病の者がいたのは2名(祖母、親)だけであり、いずれもブラジル人であった。シャーガス病の症状である心疾患や消化器疾患を指摘された者はいなかった。(図3)

D. 考察

1. WNV

TaqMan PCR法、TMA法両法とも十分な感度試験の結果が得られなかったのは、非感染性WNV液の劣化によるものであると考える。試薬の比較においては、TMA法試薬

の方がTaqMan PCR法試薬に比べて感度が良く安定した結果が得られた。同じフラビウイルス属の日本脳炎ウイルスとの交差反応性は両試薬で認められたが、このことは大きな問題とはならないと考えられる。

今後、海外のWNVパネルを用いて感度試験等を再検討したい。

2. シャーガス病の感染リスク

20～30代の若い世代が7割を占めており、幼少時の住環境や家族の既往者の有無などから、日本の献血における *T. cruzi* 抗体陽性リスクは低いと考えられる。現時点では *T. cruzi* 抗体陽性率は0/108なので、*T. cruzi* 抗体陽性リスクは1%未満である。平成22年度の全献血者数5,329,676人、中南米居住歴のある外国人献血者数1,700人から推計すると、17人未満/年、1/31万人未満と考えられる。

E. 結論

日本では、現在のところ輸血を介して *T. cruzi* 感染事例は報告されておらず、シャーガス病感染リスクは低いと考えられるが、中南米滞在歴を有する献血者の中に、シャーガス病のキャリアが存在する可能性は否定できない。

本調査の状況を踏まえ、平成24年7月開催の薬事・食品衛生審議会血液事業部会安全技術調査会において、献血時のシャーガス病対策として、中南米出身、通算4週間以上の中南米滞在歴のある献血者等の血液は、輸血用血液として用いず、血漿分画製剤の原料として用いることとした。日本赤十字社では平成24年10月15日からこの対応を実施している。(図4)

また、当該対象者の検体を保存しておき、以後に研究的な *T. cruzi* 抗体検査を行うこととし、陽性の判断基準や遡及調査の対象、今後の献血者のリエントリーのあり方などについては、今後の動向、研究の進