

図3. 添加試薬の量による感染性ウイルス回収量

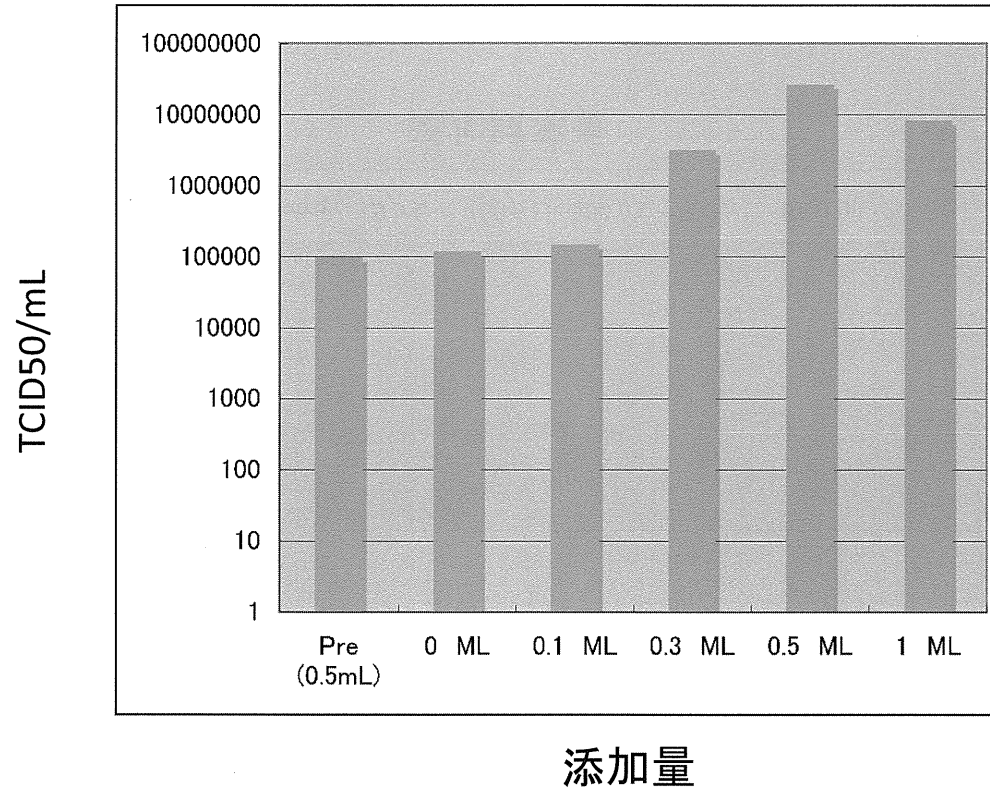


図4. 人血漿からの仮性狂犬病ウイルスの回収量

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: 日本赤十字社中央血液研究所感染症解析部・三浦左千夫

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増加傾向にある。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、第三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日赤中央血液研究所で極力実施した。一方献血の機会のないラテンアメリカ人についてはブラジル移動領事館及びラテンアメリカ人コミュニティーで開催される健康相談会に支援協力し、健康相談に合わせて *T. cruzi* 抗体の Rapid法による検査を実施した。本年度は研究調査により判明した *T. cruzi* 抗体陽性者に対してどのように医療体制を整えるかを検討、先天性感染例を含めて3例について、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。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について具体的に経験しChagas 病に対する我が国での治療指針作りのデータの集積が出来た。

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 献血者の *T. cruzi* キャリアーに対するキャリアーの在り方の検討。
- ③ 在日ラテンアメリカ人先天性感染 Chagas 病の有無について検討する。
- ④ *T. cruzi* 抗体陽性者に対する対処マニュアル作成

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
- 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 法で検討する。以上の血清検査診断は、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、治療行為に関しては防衛医科大大学校付属病院倫理委員会、那須日赤病院倫理委員会の承認の下に行った。

また、抗体陽性者の健康上の精査に関しては紹介先医療機関の指針に従った。

C. 結果：

1 & 2) 愛知県、静岡県、神奈川県、群馬県、三重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12月末日現在272名の抗体検査を実施した。今年度は男女1名ずつの抗体陽性者を検出、即ち本年度の健常者検診者の内0.72%に抗体陽性者を検出した。検査を受けた男女比は男性105名、女性が167名であった。又、平均年齢分布は男性48才、女性45歳であった。今年度の抗体陽性者はいずれも50代の日系ブラジル人で、ブラジルの疫学的流行地Jales-SP, Assaí-PRの出身であった。また在日歴は両者とも20年以上を経過している。男性は自覚症状もなくPCRでも陰性で虫血症は認めなかった。一方女性は既に循環器合併障害を訴え、循環器科を受診中であった。彼らは日赤で実施している疫学調査対象地域外に居住していた。また日赤の疫学対象地域外でのラテンアメリカ人コミュニティで33/272名(12.13%)名が日本での献血を経験していた。本年度の*T. cruzi* 抗体陽性者の男性は定住地域の基幹病院での経過観察を行っている。一方、女性陽性者については本人の希望でBenznidazoleによる治療を実施し、現在通院経過観察中である。彼女には3名の息子が居るが全員抗体は陰性で母子感染は否定された。

本年度4月から12月までのラテンアメリカ人コミュニティでの*T. cruzi* 抗体検査

・抗体検査法(迅速診断STAT-Pack、Chagas-detect) いずれかの方法

結果
検査総数 272名
男女比: 男性 105名(1), 女性 167(1)
抗体陽性率: 0.74%
平均年齢: 男性 47才 女性 44才
日本での献血歴 33名(12.1%)

献血者の多かった地域は静岡、長野が複数人それ以外の地域では岐阜、埼玉、群馬、神奈川県、栃木が各一名ずつであった。同一地域での複数献血は企業献血の可能性がある。

昨年度からの東海4県のハイロフト地域以外の地域からの献血者が多かった。

今回献血者から *T. cruzi* キヤリアーが出たが、今回の血液センターでの献血以外の分は勤務先での企業献血であった事が判明。

今回のラテンアメリカ人の平均滞日年数は15.5年であり、治療対象となった先天性感染児もすでに初回検査時には12歳であった。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病を認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。特に2013年度に行ったラテンアメリカ人コミュニティでの*T. cruzi* 抗体検査では2名、更に献血者より2名(4/272=1.47%)と前年調査研究期間を下回るものであった。

2011~13年度*T. cruzi*抗体陽性者数

年度	検査数	<i>T. cruzi</i> 抗体陽性者数
2011	55	2
2012	195	5
2013	272	4
合計	522	11(2.1%)

前回調査期間中の抗体陽性者 20/1,108(1.8%)

更に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(1.9%)から潜在

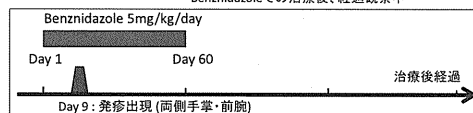
する抗体陽性者数は数十名と推定される。シャーガス病に関する世界的な見直しにより情報は国内外伴に関心が高まりつつあり在日ラテンアメリカ人の検診相談が増加した。母国での啓蒙教育のため病名だけは知っている程度であったが在日ラテンアメリカ人の集住地域東海4県以外でもシャーガス病に関する啓発活動は自治体の多文化共生課など行政(各県国際交流課など)がNPO、NGOと共同で実施するようになった。各地のコミュニティーで行われる*T. cruzi*抗体診断キット(試験研究用)は現在CHAGAS-STAT-PACK(CHEMBIO)、Detect-

Trypanosoma cruzi(In-Bios)の両者が特異性が高く中南米の流行地でスクリーニングにも採用をされている。しかし、実情は各地方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。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、我が国でも慢性Chagas病に対する具体的な治療対策が期待され更には慢性キャリアーの対策は先天性感染児に対する早期治療に繋がる。

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行っている。今年抗体陽性者即ちChagas病感染者に対する特異的治療を行った。予後の経過観察に関しては、日赤中央血液研究所感染症解析部で行っている。

本研究期間内のラテンアメリカ人コミュニティーでの検診で抗体陽性者に対しては、病院受診を奨め、治療に至った2例について以下に示す。

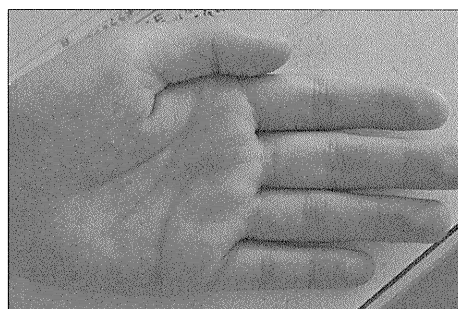
治療後の経過(1) 本邦発の先天性感染シャーガス病を示唆された例 Benznidazoleでの治療後、経過観察中



項目	単位	Day 0	Day 5	Day 12	Day 19	Day 40	Day 76	Day 185
WBC	/ μ L	6,000	5,600	5,600	6,000	7,800	6,600	6,600
RBC	10^9 / μ L	5.11	5.18	5.25	5.22	5.10	5.18	5.40
Plat	/ μ L	27.0	23.4	23.3	26.1	29.5	25.1	24.8
AST	IU/L	19	20	21	21	21	24	19
ALT	IU/L	13	15	22	20	13	18	14
T-Bil	mg/dL	0.5	0.7	0.5	0.5	0.6	0.5	0.7
Cr	mg/dL	0.61	0.70	0.75	0.68	0.70	0.73	0.71

1) 先天性感染例(自覚症状なし) Benznidazole 国内未承認薬による治療ではあるが、流行国での15歳未満の*T. cruzi*感染者に対しての治療指針・病院倫理委員会の承認の基で入院治療を実施した。

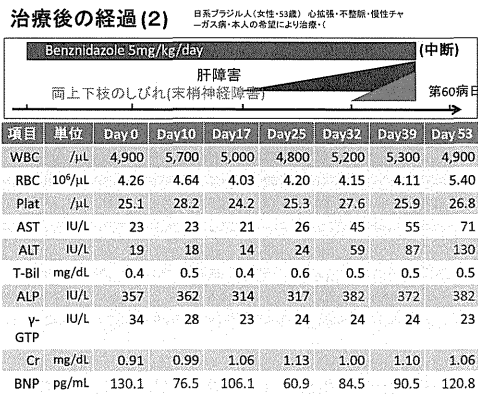
治療開始後に見られた皮疹(手掌)



NDMC

投薬開始後9日目より掻痒感を伴う小紅斑が出現したが3日目には自然消滅した。現在も*T. cruzi*抗体は陽性であるが、虫血症は(PCR,全血培養)消滅した。今後更に経過観察を日赤中央血液研究所感染症解析部にて継続検討を行う。症例2)は循環器の異常を訴え、地元循環器センターで心臓のケアを受けつつ、ブラジル領事館で行っている健康相談*T. cruzi*抗体検

査にてChagas病末期合併症の診断の下、Chagas病慢性期に対するBenznidazole治療の困難さは否定できないが、本人の希望で（1）同様に防衛医科大学病院にて入院治療を実施した。



この例は今後我が国で最も多く遭遇する症例と思われる。日系2世ブラジルパラナ州出身55歳女性（子供3名は抗体陰性）、治療経過中に肝障害、末梢神経障害などの副作用を発現したがその後対症療法にて軽減し、現在は通常の通院観察を継続している。PCR、全血培養では虫血症は認められないが抗体価の改善は未だ認めない。

日赤血液センターでの献血者に2名の抗体陽性者が出たが、そのうちの1名は日系ブラジル人2世（自覚症状なし）については日赤安全管理課より基幹病院を紹介、紹介先病院からの連絡の基に日赤中央血液研究所感染症解析部の協力を得、那須日赤病院にてBenznidazoleを用いての治療を行っている。軽度の循環器異常を理学所見として認めるものの、自覚症状は全くないために、合併症の抑制を目的とした、治療を行った。予後検査等に関しては日赤中央血液研究所にて行う。

D：考察

全国に散在するラテンアメリカ人集住地

域でのTrypanosoma cruziに対する抗体検査は、2013年は在日ラテンアメリカ系メディア・インターナショナルプレス（IPC）の新聞、TV放送を通じて在日ラテンアメリカ人の多くにChagas病について啓蒙的な呼びかけを行い、日系ブラジル人の患者の一人（症例2）は自らTV出演をして、日本でもChagas病に関しての相談、ケアが出来ることを呼びかけた。また、在日ブラジル領事館（東京・名古屋）の協力で地域国際交流課などとの共同作業で広い地域での抗体検査を呼びかけた結果272名の検査が実施出来、官民一体となつての作業が重要である事が認識された。今年の抗体陽性者4名の内1名はChagas病慢性期合併症発症を診る以外は2名は自覚症状なし、1名は医療機関への受診が無く不明である。いずれも感染慢性期であり2名についてはPCRでT.cruzi-DNAが検出され病原体キャリアであることが示唆され治療を推奨した。今後Brazil, Boliviaからの在日日系定住者のシャーガス病の慢性期合併症発症例が増加する事に対しての、日本の医療機関での対応マニュアルの作成が待たれる。同様に在日ラテンアメリカ人の献血者で抗体陽性を認めた場合の輸血制限に関しては日本赤十字社の輸血制限基準を順守すると同時に、当該者に対する的確な医療機関への紹介及びそのケアが懸案事項となる。特に一般のコミュニティーでの検査対象者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歳と隔たりが認められ、今回の献血者からの陽性者も自覚症状は認めない慢性期合併症発現初期の治療対象になり得るケースであった

事は、今後の慢性感染者対策に有意な多くのデータが得られるであろうことを期待する。

今回日赤血液センターを通じての献血対象者の中かから *T. cruzi* 抗体陽性者は2名であり、一名については既に本人希望により治療が行われ、通院観察中であるのに対して、先にも記述のように日赤を通じての医療機関への紹介にも関わらず、6ヵ月を過ぎた現在も医療機関への受診が確認されていない。ラテンアメリカ人献血平均年齢が30代と若年であるため、慢性期の合併症発現を見ない者が多いと思われるため、その抑制のためには早めの医療機関への受診相談が待たれる。今日でもなお南米に於いて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。今年にはNPO-日本ボリビア中央協会の協力でBolivia日系家族に対する *T. cruzi* 抗体スクリーニングおよび、検査啓発を三重県津市で行い国内での健康相談、抗体検査が可能とをアピールした。そうした中で日系ボリビア人の抗体陽性者が献血者から判明したのはChagas病検査目的で有ったとも推測される。

T. cruzi 抗体陽性者に対する今後の対策については、既に滋賀県守山成人病センター、滋賀県公立甲賀病院・愛知県岡崎市市立病院・三重医大付属病院・那須日赤病院・東海大学大磯病院・防衛医科大学病院など複数の医療機関が慢性期合併症に関して対処している。中でも防衛医科大学病院、那須日赤病院では我が国未承

認薬Benznidazoleを用いてのChagas病治に関して倫理委員会の承認を経て本疾患の治療を実施出来た事は今後の我が国での本疾患に対する治療指針作りに貢献するとその結果、及び予後経過観察について期待する。既にこうした治療結果の評価を待つ抗体陽性者も少なくないはずである。

なお、今回の治療例3例とも本研究班を通じて、ブラジル連邦共和国保健局シャーガス病対策部門へ患者情報を提供、政府管理下にある治療薬(LAFEPE-Benznidazole)の提供を各治療担当医療機関に行った。南米、中南米ではChagas病対策プロジェクトが国レベルで対応しており、年少者15歳未満の *T. cruzi* 抗体陽性者には積極的治療を行っている、然しながら慢性期の治療に関しては合併症との関連で、必ずしも実施されるものではない。然し其の検査から治療に至るまで全て対象者は国の支援で医療補助が受けられる。今後我が国においても慢性Chagas病・先天性Chagas病に関しても検査～治療全ての医療行為に対して保険対象になるようにChagas病の認知が必要となる。これらの未承認薬剤に関して熱帯病治療薬研究班の協力を得て、治療の必要がある場合には速やかに提供可能にすべく協力要請を行う。研究用検査試薬に関してもラテンアメリカ人集住地域の基幹病院には研究班を通じて提供するべく方策を検討する事がのぞましい。既に平均在日歴が15年以上となる今日、日本生まれの3世、4世の時代となり、先天性感染Chagas病児が更に見出されることは十分に予想され、日本生まれの潜在Chagas病感染者が新たな *T. cruzi* キャリアーとなりうる。

二次感染予防のためにも献血者以外のラテンアメリカ人に対しての疫学的抗体検査は可能な限り継続すべきである。また、今回献血者からの抗体陽性者が既に数年にわたり我が国で献血を行い、汚染血を材料とした輸血加工製剤が用いられていた事が判明し、日赤による遡及調査の結果受血者からは幸い感染者は検出されていないが、そのほかに同様のケースは十分に予想される。現に当該献血者は今回以前の献血行為は全て企業献血でリスクチェックをされないままに献血を経験してきている。また今回のコミュニティー検診時に33名の国内献血経験者がおり、彼らの多くも企業献血であった事を報告している。中には日赤献血センターでの献血も数例あるが全て抗体陰性であった。

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。Lamp 法に用いての *T. cruzi* 抗体検査キットに関して NPO-FIND (スイス) と栄研化学が提携をし、開発検討が始まった。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、必然的に治療対処となる今後我が国でも増加は十分に予想される。こうしたことから特異的な治療薬に関して備蓄が望まれる、現在 Chagas 病治療については Lampit(nifurtimox)がパイエル社から流行国の多くに、及び我が国の熱帯病治療薬研究班にも提供をされている。然し Chagas 病慢性期合併症抑制にも期待される Benznidazole に関しては備蓄が無い。ラテンアメリカ人集団を中心に調査を更に継続すれば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。Chagas 病慢性感染母か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も抗体検査が必要である。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。

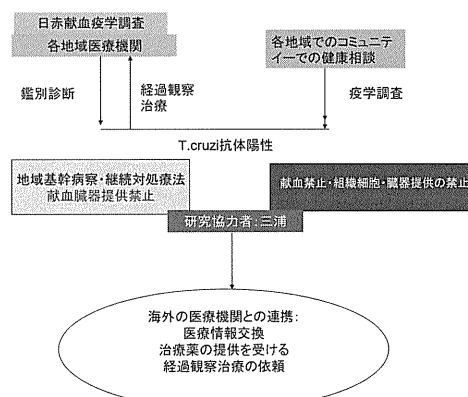
Bolivia では慢性シャーガス病妊婦の約5%に先天性感染児の出産が報告されている。今年度も多くの検診調査ができたのも各地の NPO、NGO、及びブラジル領事館の協力が得られた結果である。地域社会医療の面からも意義があったと思われ、今後のラテンアメリカ人集住地域での活動の推進につながりかつ、安全な献血協力への呼びかけにもなる。

今後も益々臨床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部移動領事館業務、NPO,NGO、コミュニティー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、ポリビア人コロンビア人、アルゼンチン人などのラテンアメリカ諸国の参加もあった。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。日本全国に散在する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陽性者に関しては血漿分画成分に限る製造制限を設け、病

原体による汚染を予防すべく措置を徹底した。

F) 健康危険情報

現在各地で内外問わずChagas病啓蒙活動に大変役に立っている医療コミック『ネメシスの杖』のダイジェスト版をポルトガル語版にして作成、掲示、検査の呼びかけを行っている。

総括報告参照

G) 2013年度業績

論分：邦文雑誌

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) Volume 20, Number 1—January 2014

Dispatch

Mother-to-Child Transmission of Congenital Chagas Disease, Japan

Kazuo Imai, Takuya Maeda, Yusuke Sayama, Kei Mikita, Yuji Fujikura, Kazuhisa Misawa, Morichika Nagumo, Osamu Iwata, Takeshi Ono, Ichiro Kurane, Yasushi Miyahira, Akihiko Kawana, and Sachio Miura

http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/20/1/13-1071_article.htm

3) ベンズニダゾールにより治療を行ったシャーガス病の2症例：

前田卓哉、南雲盛親、佐山祐輔、三沢和央、今井一男、藤倉雄二、河野修一、原悠、叶宗一郎、三木田馨、小野岳史、宮平靖、川名明彦、三浦左千夫

日本臨床寄生虫学会誌 V o 1 -24-1-33

2 0 1 3

講演：

1) 「在日日系ブラジル人家族の健康管理と
輸入感染症（シャーガス病）の現況につい
て」。

サンパウロ人文科学研究所：研究例会

三浦左千夫

<http://www.nikkeishimbun.com.br/2013/131106-74colonia.html>

TV放映：

1) 奇跡体験・アンビリバーボー 緊急報
告！恐怖の輸血感染★知られざる衝撃の真
実

http://www.fujitv.co.jp/unb/contents/131226_3.html

H) 該当なし

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（日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター製剤一部長）

研究協力者 五十嵐滋（日本赤十字社血液事業本部 安全管理課長）

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 検査管理課長）

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）

高橋 勉（日本赤十字社血液事業本部 安全管理課）

古澤秀明（日本赤十字社血液管理センター 検査課）

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 ヲ所の NAT 施設が保有している 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、感度の比較検討を行った。TMA 法の WNV-NAT 試薬の方が、TaqMan PCR 法の同試薬と比べ高く安定した結果が得られたが、両者とも製造各社が示している感度とほぼ同等であり、十分な結果が得られた。また、WNV 国内感染発生時に WNV-NAT を組み入れた場合、現行の NAT スクリーニングの検査所要時間、完了時刻にどの程度影響するかについて、実検体を用いてシミュレートした。WNV 対象 NAT 検体が先行して検査できる場合は、通常検査の平均所要時間 9 時間 20 分に比べ 40 分程度の延長で対応できることが確認できた。

日本赤十字社では、平成 24 年 10 月 15 日から献血時のシャーガス病の安全対策として、本人又は母親が中南米出身である、あるいは通算 4 週間以上の中南米滞在歴のある献血者の血液は、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。これら中南米滞在歴等を有する献血者数は、全国で 1 年間 9,392 人であった。そのうち「本人が中南米諸国で生まれた、又は育った」者は 2,149 人（23%）であった。

中南米地域からの定住者が多い東海 4 県（愛知県、静岡県、岐阜県、三重県）の「本人が中南米諸国で生まれた、又は育った」献血者に対して、同意を得た上で、*Trypanosoma cruzi*

抗体検査とシャーガス病に関するアンケート調査を行うパイロットスタディを実施した。平成 25 年 1 月 8 日～11 月 30 日で、対象者は 457 人で、男性 335 人（73%）、女性 122 人（27%）、平均年齢 35.1 歳、67%が 40 歳未満の若い世代であり、献血回数については、初回献血者が 42%であった。対象者の 88%がブラジル出身、日本滞在年数は平均 15.3 年であった。また、幼少時の家の構造が土壁と回答した件数が 3%、家族にシャーガス病と診断された者が 1.5%と、シャーガス病の感染リスクのある環境にあった献血者がわずかではあるが存在することも明らかとなった。対象者 457 人のうち 1 人が *Trypanosoma cruzi* 抗体陽性であった。*Trypanosoma cruzi* 抗体陽性リスクを推計すると、全国で 1 年間に *Trypanosoma cruzi* 抗体陽性となる献血者は 5 人以下と考えられた。献血時のシャーガス病の安全対策を講じている日本では、輸血を介したシャーガス病の感染リスクはきわめて低いと考えられる。

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 eSAS 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。

日本赤十字社では、HBV、HCV、HIV の 3 ウイルスの NAT スクリーニングのために、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 システムを全国 4 ヲ所の NAT 施設に導入している。この cobas@s401 システムを用いた TaqMan PCR 法の同社製 WNV-NAT 試薬 (TaqScreen® WNV assay) の感度及び特異性について、WNV 国際標準品の候補となる非感染性の WNV 液 2 種の提供を受け、TMA 法の WNV-NAT 試薬と比較検討した。

両社の WNV-NAT を日常検査に組み入れた場合、現行の NAT スクリーニングの検査結果のタイムスケジュールにどの程度影響するかをシミュレートした。

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。日本赤十字社では、平成 24 年 10 月 15 日から献血時のシャーガス病の安全対策として、本人又は母親が中南米出身である、あるいは通算 4 週間以上の中南米滞在歴 (以下、中南米滞在歴等) の

ある献血者の血液は、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。

(図 1) これら中南米滞在歴等を有する献血者数を都道府県別カテゴリー別に明らかにし、リスク評価のための基礎資料にすることとした。

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 4 県において、「本人が中南米諸国で生まれた、又は育った」(カテゴリー1) 献血者に対して、同意を得た上で、*Trypanosoma cruzi* (以下、*T. cruzi*) 抗体検査とシャーガス病に関するアンケート調査を行うパイロットスタディを実施し、抗体陽性者への健康管理に繋げていくようにした。

B. 研究方法

1. WNV-NAT

1) 感度試験

日本赤十字社の製品検査で合格した献血血漿について、国立感染症研究所作成の「ウエストナイルウイルス病原体マニュアル(第 4 版)」に規定されている RT-PCR 法で WNV が陰性であることを確認し、陰性対象及びウイルス液希釈用血漿とした。

非感染性とした WNV 国際標準品の候補である WNV 液 2 種 (FDA WN02 lineage 1、以下 WNV-USA) と (the Roche secondary WNV standard, lot 72805: high titer sample、以下 WNV-ITA) を希釈用血漿で希釈し、100、50、

10、5、1、0.5copies (以下 cps) /mL 濃度のウイルス添加血漿を各々6 本作製し、同一検体で TaqScreen®WNV assay 試薬及び Procleix® WNV Assay 試薬を用いて NAT を各々4 回実施した。各々の濃度における 24 重測定の結果から試薬感度を評価した。

2) 特異性試験 (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 (以下、MPX 検査) 陰性の 80 検体について、TaqScreen®WNV assay 試薬を用いて NAT を 2 回実施した。

3) 実検体を用いた検査シミュレーション

1 日の献血件数が約 800 件である地域で WNV 国内感染が発生したと想定して、前日到着済み検体の 800 本を WNV-NAT 対象検体と仮定しプール検体を作製する。現行の MPX 検査に加え WNV-NAT を同じ検体で実施した。それ以外は通常通りプール検体を作製し、順次 MPX 検査を行った。

WNV-NAT 対象検体は前日に血液管理センターに到着済で選別済であり、WNV-NAT と MPX 検査が実施できる状況を想定し、プール検体の作製から WNV-NAT 及び MPX 検査の両方の検査結果の確定に要する時間を通常時と比較検討した。

2. シャーガス病の感染リスク

献血受付時に、図 1 のカテゴリ 1~3 の中南米滞在歴等に該当し、血液事業統一コンピュータシステムに当該情報が入力された受付者数・献血者数を、都道府県別カテゴリ別に抽出・集計した。

中南米地域からの定住者が多い東海 4 県 (愛知県、静岡県、岐阜県、三重県) の中南米滞在歴等のある献血者のうち、カテゴリ 1 に該当する献血者に対し、本調査研究のインフォームドコンセントが得られ同意書に署名した者を対象とし、献血時の検査用検体を 1 本追加して初流血から採取した。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。検体

は中央血液研究所に送付され、ELISA 法 (ORTHO® *T. cruzi* ELISA TEST System) 及びイムノクロマト法 (InBios 社 Trypanosoma Detect® and/or Chembio 社 CHAGAS STAT-PAK®) による *T. cruzi* 抗体検査を実施した。

(倫理面への配慮)

中南米滞在歴カテゴリ 1 の献血者に対するシャーガス病の感染リスク調査については、本調査研究の説明書及び同意書を渡し、インフォームドコンセントが得られ同意書に署名した成人を対象とした。*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-NAT

1) 感度試験

①TaqMan PCR 法 (表 1)

各測定濃度で 24 重測定を実施した結果、95% 検出感度 (PROBIT 分析) は WNV-USA で 11.0cps/mL、WNV-ITA で 33.4cps/mL であった。

また、検出感度のばらつきは、WNV-USA では低濃度域でばらつきがみられたが、WNV-ITA の方は濃度による差はみられなかった。(図 2)

②TMA 法 (表 2)

①と同様に、各測定濃度で 24 重測定を実施した結果、95%検出感度 (PROBIT 分析) は WNV-USA で 1.2cps/mL、WNV-ITA で 13.3cps/mL であった。また、検出感度のばらつきは、WNV-USA、WNV-ITA 共に 1cps/mL 以下の濃度でばらつきがみられた。(図 3)

WNV-USA に関しては 0.5cps/mL でも陽性率が 62.5%となったため、追加で両法の低濃度域の検討を行った。TaqMan PCR 法は 0.5cps/mL 以下の濃度では陽性率が極端に下が

るのに対し、TMA 法は 0.05cps/mL の濃度まで陽性率が 25%を上回り、95%検出感度で 10 倍の差が出た。(表 3)

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 23.0copies /mL (95%検出感度) である。

2) 特異性試験 (実検体による試験)

TaqMan PCR 法で、80 検体を用い 2 回 WNV-NAT を実施した結果、8 本が Invalid となったが、他の 152 本は全て陰性で、陽性及び偽陽性は検出されなかった。

Invalid となった 8 本のうち 4 本は機器エラーによるもので、残りの 4 本はそのエラーに付随して発生した消耗品のハンドリングエラーであり、検体由来のものではなかった。

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。

3) 実検体を用いた検査シミュレーション (図 4)

両法の検査結果確定までの時間を、現行の MPX 検査における検査対象検体数 5300 本～5600 本の平均所要時間 9 時間 20 分と比較した。

①TaqMan PCR 法

WNV 対象検体のプール検体作製後 TaqMan PCR 法で MPX 検査を行い、検体のサンプリングが終了後 TaqMan PCR 法で WNV-NAT を実施した。WNV-NAT 対象以外の NAT 対象検体は WNV-NAT 対象検体のプール作業終了後、順次プール検体を作製し、MPX 検査を行った。

WNV 対象検体のプール検体作製からすべての検査結果確定までの所要時間は 9 時間 32 分であり、通常の MPX 検査と比べ若干の遅延であった。

②TMA 法

WNV-NAT 対象検体のプール検体作製後 eSAS による TMA 法で WNV 検査をし、検体

のサンプリングが終了後 TaqMan PCR 法で MPX 検査を実施、WNV 検査対象以外の NAT 対象検体は WNV 対象検体のプール作業終了後、順次プール検体を作製し、MPX 検査を実施した。

WNV 対象検体のプール検体作製からすべての検査結果確定までの所要時間は 10 時間 3 分となり、通常の MPX 検査より 40 分程度の遅延となった。

2. シャーガス病の感染リスク

1) 中南米滞在歴等を有する受付者数及び献血者数 (図 5)

平成 24 年 10 月 15 日～平成 25 年 10 月 14 日の 1 年間の中南米滞在歴等を有する受付者数は全国で 10,973 人、献血者数は 9,392 人であった。中南米滞在歴等を有する献血者数のカテゴリー別の内訳は、「本人が中南米諸国で生まれた、又は育った」カテゴリー1は 2,149 人(23%)、「母親が中南米諸国で生まれた、又は育った」カテゴリー2が 301 人(3%)、「カテゴリー1以外で、通算 4 週間以上中南米諸国に滞在した」カテゴリー3が 6,935 人(74%)、分類不明 7 人であった。

都道府県別の献血者数では、東京都の 1,925 人が最も多く、次いで神奈川県 1,021 人、愛知県 584 人と続いた。カテゴリー1の献血者数では、愛知県の 345 人が最も多く、東京都 280 人、静岡県 208 人、神奈川県 151 人、埼玉県 132 人の順であった。中南米滞在歴等を有する献血者数の全体の献血者数に対する割合は、沖縄県が 0.38%と最も高く、東京都、神奈川県、静岡県及び三重県が 0.36%、滋賀県が 0.34%と続いた。全国平均 0.19%であった。東海 4 県の中南米滞在歴等を有する献血者数のうちカテゴリー1の構成比は、岐阜県 37%、静岡県 47%、愛知県 59%、三重県 35%であり、全国平均の 23%に比べ高かった。

2) 東海 4 県におけるパイロットスタディ

平成 25 年 1 月 8 日から東海 4 県における同意を得たカテゴリー1の中南米出身の献血者に

対し、*T. cruzi*抗体検査とシャーガス病に関するアンケート調査を実施した。

平成25年1月8日～11月30日で、対象者は457人、男性335人(73%)、女性122人(27%)であり、年齢別では、10代29人、20代121人、30代154人、40代104人、50代42人、60代7人で、平均35.1歳であった。(図6)

国籍別では、ブラジル380人と最も多く、ペルー27人、アルゼンチン、ボリビア、コロンビアが各4人、チリ2人、エクアドル、パラグアイ、ホンジュラス、メキシコが各1人、日本20人、不明12人であった。出身国別では、ブラジルが401人、88%を占め、次いでペルーが32人(7%)であった。(図6)ブラジル国籍380人の出身州は、サンパウロ州251人(66%)、パラナ州54人(14%)と多く、その外12州に及んだ。(図7)対象者の日本滞在年数は平均15.3年(5ヶ月～43年)であった。献血回数は、初回献血者が42%、2回目が18%であった。

(図6)

シャーガス病に関する7項目のアンケート調査(図8)については、1.幼少時の家の構造は、合計509件(複数回答あり)のうちコンクリートが56%と最も多く、次いでレンガが28%、木造9%で、サシガメが生息する可能性があると考えられる土壁は13件3%であった。2.サシガメを知っていると答えた者は56%、3.刺された経験のある者は1人(*T. cruzi*抗体陰性)。4.シャーガス病を知っていると答えた者は65%、5.シャーガス病の検査経験がある者は59人(13%)で、その検査結果が陽性であった者はいなかった。6.家族にシャーガス病と診断された人がいる者は、7人(1.5%)で全員ブラジル人であった。その家族内訳は、母2、兄弟姉妹2、祖父、いとこ、その他であった。7.心疾患、消化器疾患を指摘されたことがある者は5人であったが、シャーガス病との関連性は認められなかった。

パイロットスタディ対象の457検体のうち、1検体が*T. cruzi*抗体陽性であった。また、1検体はイムノクロマト法STAT-PAK®の偽陽性で、残る455本は全て陰性であった。この

*T. cruzi*抗体陽性の献血者は40代男性、日本滞在13年のボリビア人で、今回が初回の献血であった。アンケート調査への回答は、サシガメやシャーガス病は知っているとの回答だったが、その外シャーガス病のリスクを想起させる回答はなかった。

なお、パイロットスタディとは別に、並行して実施している東海4県におけるカテゴリ2・3の疫学調査(同一期間335件)から陽性者は認められていない。

D. 考察

1. WNV-NAT

今回実施した2種のWNV国際標準品の候補WNV液を用いたTaqMan PCR法及びTMA法の感度は、TMA法の方が高く安定した結果が得られたが、両法とも、ロシュ社、ノバルティス社両社が示している感度とほぼ同等であり、TaqMan PCR法も十分な結果が得られたと考える。

国内感染発生時のWNV-NATを加えたNATスクリーニングの検査所要時間は、WNV対象NAT検体が先行して検査できる場合は、通常検査に比べ40分程度の延長で対応できる事が確認できた。しかし、WNV-NATの先行検査ができない場合は、別途対応する必要がある。また、eSASによるTMA法は実施施設が現在2施設に限定されており、用手法であるため手技の熟練を要することから、完全自動化による検査体制を構築する必要があると考える。

2. シャーガス病の感染リスク

平成24年10月15日からのシャーガス病の安全対策により、献血受付時に中南米滞在歴等の確認を行い、確認票により該当者情報を血液事業統一コンピュータシステムに入力することになったことから、中南米滞在歴等を有する受付者数・献血者数が正確に把握できるようになった。1年間の集計値は、受付者数は約11,000人、献血者数は約9,400人である。このうち、約3/4は「中南米諸国に通算4週間以上滞在し

た」人でほとんどが日本人と考えられる。「本人が中南米諸国で生まれた、又は育った」人は約 1/4、3-4%の人は「母親が、中南米諸国で生まれた、又は育った」人であった。「本人が中南米諸国で生まれた、又は育った」献血者は約 2,100 人であり、都道府県別の分布では関東地方、東海地方に多く、地域的な偏在が認められた。東海 4 県では、中南米出身者である献血者の割合が高かった。

東海 4 県のパイロットスタディのアンケート調査により、「本人が中南米諸国で生まれた、又は育った」献血者の背景は、男性が 73%、女性が 27%と男性が多く、平均年齢 35.1 歳、67%が 40 歳未満の若い世代であり、献血回数は 42%が初回献血であった。大多数の 88%がブラジル出身であり、日本滞在年数は平均 15 年であることが明らかとなった。

また、幼少時の家の構造が土壁と回答した件数が 3%、家族にシャーガス病と診断された者が 1.5%と、シャーガス病の感染リスクのある環境にあった献血者がわずかではあるが存在することも明らかとなった。

東海 4 県の中南米出身献血者（カテゴリー1）の対象 457 名中 *T. cruzi* 抗体陽性者は 1 名のみであったこと、全国で中南米出身献血者（カテゴリー1）は 2,149 人/年であったこと、東海 4 県の他のカテゴリー（2・3）での疫学調査から陽性者は認められていないことから、全国で 1 年間に *T. cruzi* 抗体陽性となる献血者は 5 人以下と推計された。

一方、中南米滞在歴等を有する献血者の約 3/4 を占め、ほとんど日本人と考えられるカテゴリー3「中南米諸国に通算 4 週間以上滞在した」の滞在期間等の基準については、今後の調査、検討により見直しが必要であると考えられる。

E. 結論

1. WNV-NAT

TMA 法の WNV-NAT 試薬（Procleix® WNV Assay）と TaqMan PCR 法の WNV-NAT 試薬（TaqScreen® WNV assay）の感度試験を実施し、TMA 法試薬の方が、TaqMan

PCR 法試薬と比べ高く安定した結果が得られたが、両者とも各社が示している感度とほぼ同等であり、十分な結果が得られた。国内感染発生時の WNV-NAT を加えた NAT スクリーニングの検査所要時間をシミュレートしたところ、WNV 対象 NAT 検体が先行して検査できる場合は、通常検査に比べ 40 分程度の延長で対応できる事が確認できた。

2. シャーガス病の感染リスク

本研究の対象である東海 4 県の中南米出身献血者の中から 1 名の *T. cruzi* 抗体陽性者が認められた。中南米滞在歴等を有する献血者数から推計すると、全国で *T. cruzi* 抗体陽性となる献血者は 5 人以下/年と考えられた。

献血時のシャーガス病の安全対策を講じている日本では、輸血を介したシャーガス病の感染リスクはきわめて低いと考えられる。

<謝辞>

今回の WNV-NAT の研究に WNV 液を分与いただいたイタリア National Center for Immunobiologicals Research and Evaluation (CRIVIB) の Dr. Giulio Pisani と米国 CBER/FDA の Dr. Maria Rios に深謝いたします。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 古澤秀明、森安浩之、後藤康仁、増田久美子、馬場明美、沖 学、山中烈次、平力造、百瀬俊也、河敬世：我が国におけるウエストナイルウイルス (WNV) 感染発生時の献血血液の検査、第 37 回日本血液事業学会総会、札幌、2013 年

- 2) S. Momose, Y. Furui, M. Ishinoda,
T. Takahashi, S. Igarashi, Y. Sayama,
S. Miura, C. Matsumoto, S. Uchida,
S. Hino, A. Onitsuka, T. Minamizawa,
M. Hamaguchi, M. Okada,
J. Takamatsu, M. Satake, M. Minami,
K. Tadokoro : ANTI-*TRYPANOSOMA*
CRUZITEST AND QUESTIONNAIRE
SURVEY IN JAPAN FOR BLOOD
DONORS NATIVE OF LATIN
AMERICA、24th Regional Congress of
the ISBT、Kuala Lumpur、2013

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

中南米地域出身の方、または (ラテンアメリカ) 中南米地域に通算4週間以上 滞在された方々へ

下記1~3のいずれかに該当する方は、
献血の受付時にご申告をお願いいたします。

※シャーガス病の安全対策のため、いただいた血液は、
血漿分画製剤用の原料血漿として利用させていただきます。

1. 中南米諸国で生まれた、又は育った。
2. 母親が、中南米諸国で生まれた、又は育った。
3. 上記1.に該当しない方で、中南米諸国に通算4週間以上滞在した。

〈中南米地域対象国・地域〉

- | | |
|----------|---------------|
| ・アルゼンチン | ・パナマ |
| ・ウルグアイ | ・パラグアイ |
| ・エクアドル | ・ブラジル |
| ・エルサルバドル | ・ベネズエラ |
| ・ガイアナ | ・ペリース |
| ・グアテマラ | ・ペルー |
| ・コスタリカ | ・ボリビア |
| ・コロンビア | ・ホンジュラス |
| ・スリナム | ・メキシコ |
| ・チリ | ・フランス領ギアナ |
| ・ニカラグア | ・フオーランド諸島(英領) |



※シャーガス病とは、メキシコを含む中南米に流行地をもつサシガメ(昆虫)に媒介されて、原虫が感染する病気です。
日本には中南米諸国から来られた方々が25~30万人いると言われており、近年、その方々の中にシャーガス病の
感染者がいることが指摘されております。

この度、国の調査会において、輸血によるシャーガス病に対する安全対策の方針が示されました。

詳しくはこちら



人間を救うのは、人間だ。Our world. Your move.

図1. 日本赤十字社のシャーガス病に対する安全対策
(中南米出身者等への周知)

表1. WNV感度試験(TaqMan PCR法)

日本赤十字社血液管理センター実施

回数	cps/mL	検査本数	WNV-USA				WNV-ITA			
			陽性	陰性	Invalid	陽性率 (%)	陽性	陰性	Invalid	陽性率 (%)
1	100	6	6	0	0	100.0	6	0	0	100.0
	50	6	6	0	0	100.0	6	0	0	100.0
	10	6	5	1	0	83.3	4	2	0	66.7
	5	6	4	2	0	66.7	0	6	0	0.0
	1	6	1	5	0	16.7	0	6	0	0.0
	0.5	6	0	6	0	0.0	0	6	0	0.0
	0	6					0	6	0	0.0
2	100	6	6	0	0	100.0	6	0	0	100.0
	50	6	6	0	0	100.0	6	0	0	100.0
	10	6	6	0	0	100.0	4	2	0	66.7
	5	6	5	1	0	83.3	0	6	0	0.0
	1	6	0	6	0	0.0	1	5	0	16.7
	0.5	6	0	6	0	0.0	0	6	0	0.0
	0	6					0	6	0	0.0
3	100	6	6	0	0	100.0	6	0	0	100.0
	50	6	6	0	0	100.0	6	0	0	100.0
	10	6	6	0	0	100.0	3	3	0	50.0
	5	6	4	1	1	80.0	3	3	0	50.0
	1	6	1	4	1	20.0	0	6	0	0.0
	0.5	6	1	5	0	16.7	0	6	0	0.0
	0	6					0	6	0	0.0
4	100	6	6	0	0	100.0	6	0	0	100.0
	50	6	6	0	0	100.0	6	0	0	100.0
	10	6	6	0	0	100.0	4	2	0	66.7
	5	6	5	0	1	100.0	1	5	0	16.7
	1	6	3	3	0	50.0	0	6	0	0.0
	0.5	6	0	6	0	0.0	0	5	1	0.0
	0	6					0	6	0	0.0
合計	100	24	24	0	0	100.0	24	0	0	100.0
	50	24	24	0	0	100.0	24	0	0	100.0
	10	24	23	1	0	95.8	15	9	0	62.5
	5	24	18	4	2	81.8	4	20	0	16.7
	1	24	5	18	1	21.7	1	23	0	4.2
	0.5	24	1	23	0	4.2	0	23	1	0.0
	0	24					0	24	0	0.0

95%検出感度(PROBIT分析): 11.0 copies/mL 33.4 copies/mL

95%検出感度(ロシュ社社内資料): TaqScreen® WNV assay 23.0 copies/mL

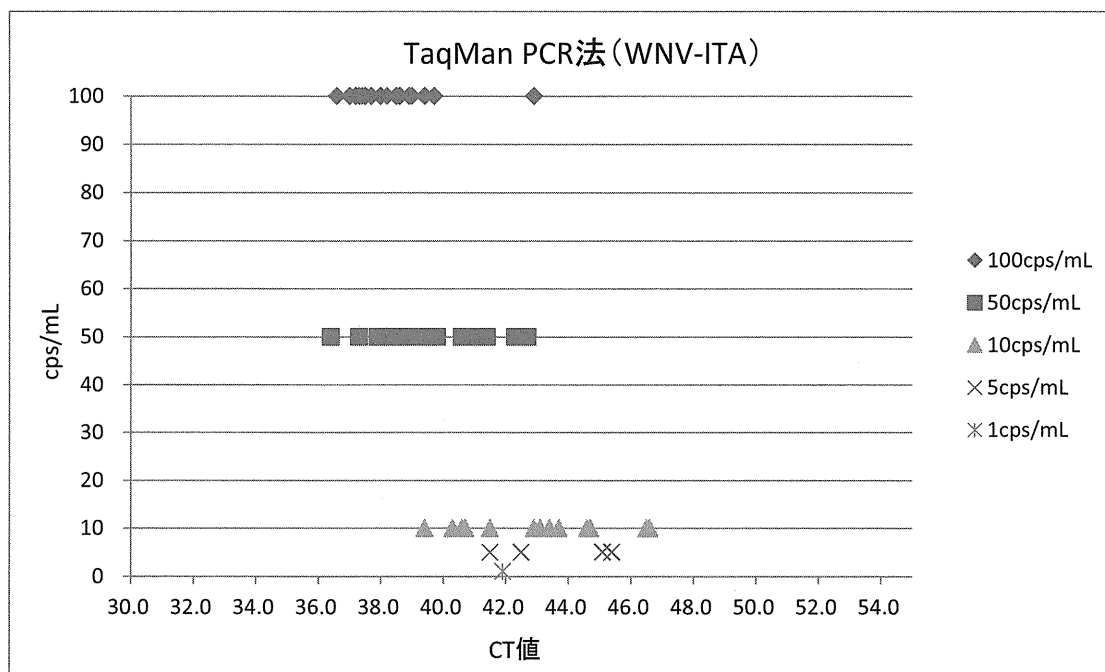
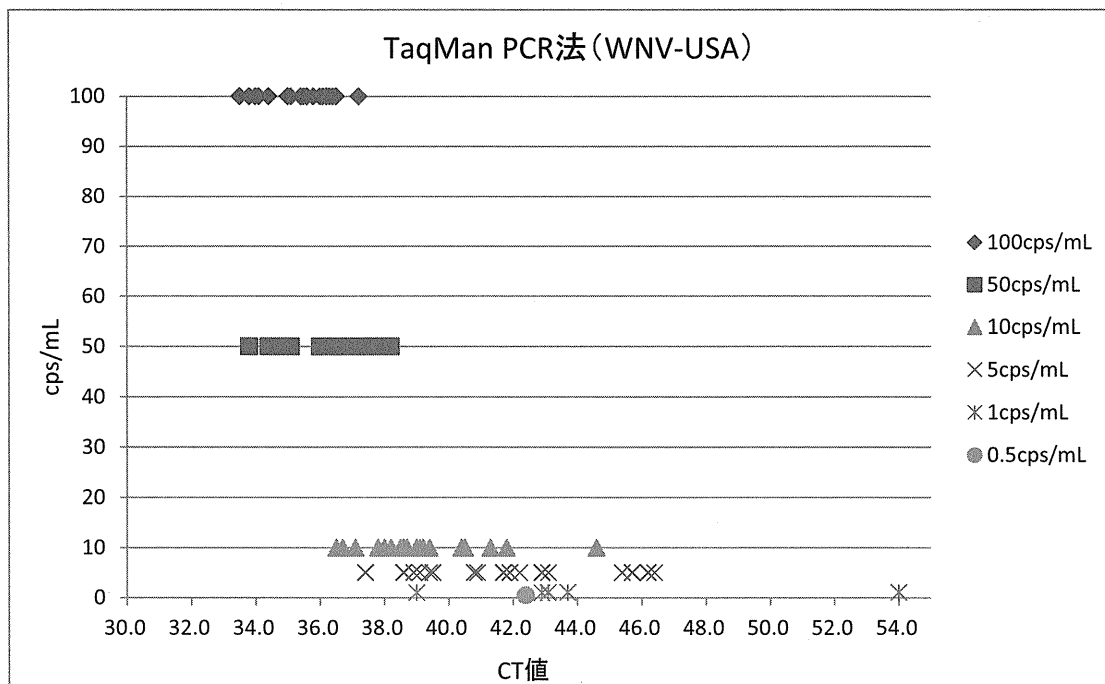


図2. WNV感度試験(TaqMan PCR法)のCT値分布