

18.9%が白血球除去フィルター処理によって6.9%、血小板が24.3%から3.4%、血漿が13.2%から3.4にそれぞれ1/3~1/4に減少していた。効果的なスクリーニング法がない現状では、白血球を除去することによって輸血の副作用の発生も抑制する事が期待できることから、白血球除去フィルターの導入は適切な判断だと言える。

また、初流血除去の効果では、多くの報告が細菌感染の率が減少しているとその効果を認めている。無症候性の菌血症には無効であるが、穿刺部からの細菌の混入防止には効果的だと考えられた。

また、エキソソーム精製試薬によって異常プリオンが濃縮されたことは、PMCA法と組み合わせることによって検出感度が大幅に向上する可能性がある。

その一方でエキソソーム精製試薬によってウイルスが濃縮することを発見した。当初は、5%アルブミン製剤や細胞培養上清に添加したウイルスを濃縮できる程度であり、血清や血漿の濃縮は不可能であった。しかし、添加する試薬の量を適正化することによって血清や血漿などタンパク質濃度の高い溶液でも濃縮可能になった。しかも検討した3つのウイルスは何れも感染性を保持した状態で濃縮できることが明らかになった。また、検討したウイルス溶液はウイルス量が多いことから極めて少ない場合の濃縮効率も確認した。1mL当り数個のウイルスが混入した血清10mLを濃縮したところ約83%のウイルスを回収することができ、微量なウイルスにおいても充分濃縮できることを明らかにすることができた。10mLから濃縮できる本方法は、血漿

分画製剤や原料血漿等に混入する極めて少量のウイルスを簡便に濃縮できることから血液製剤の安全性向上に有効だと考えられた。

#### E. 結論

白血球除去フィルターは輸血のアレルギー反応に関する副作用を減少させた。また、実験的には異常プリオンをある程度除去できることが示された。

エキソソーム精製試薬を用いる事によって異常プリオンだけでなくウイルスも血清や血漿から通常の実験室にあるような遠心機と冷蔵庫があれば、簡便に濃縮できることを明らかにした。極微量なウイルスも濃縮することで検出可能になることが期待でき、血液製剤の安全性向上に貢献すると考えられる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Krayukhina E, Uchiyama S, Nojima K, Okada Y, Hamaguchi I, and Fukui K.: Aggregation analysis of pharmaceutical human immunoglobulin preparations using size-exclusion chromatography and analytical ultracentrifugation sedimentation velocity.

J. Biosci Bioeng. 2013. 115(19): 104-10.

2) Baylis SA, Blumel J, Mizusawa S, Matsubayashi K, Sakata H, Okada Y, Nubling CM, Hanschmann KM, HEV collaborative Study Group.: World Health Organization International Standard to harmonize assays for detection of hepatitis E virus RNA.

Emerg. Infect. Dis. 2013. 19(5): 729-735.

3)岡田 義昭、輸血用血液における病原体不活化技術の現状と新規技術の開発。

検査と技術、42巻、4～7ページ、2014年。

## 2. 学会発表

1) 岡田 義昭、水沢 左衛子、浜口 功：血漿分画製剤からの簡便なウイルスの濃縮法：第61回日本輸血・細胞治療学会、横浜、2013年

2) 岡田 義昭：血漿及び血漿分画製剤からの簡便なウイルス濃縮法とその応用、第61回日本ウイルス学会、神戸、2013年

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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。2011～13 年度の研究調査により判明した *T. cruzi* 抗体陽性者にどのように対処するべく医療体制を整えるかを検討、先天性感染例を含めて本疾患慢性期治療にも期待でき南米で本疾患治療に推奨されている LAFEPE-Benzimidazole を用いての治療を試みた。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検査から治療に至る一連の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 病例の有無について検討及び治療指針を策定する。

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、NGO、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々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、信頼性についても検討した。

以上の疫学調査検診による血清検査診断は、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ーのある地域で *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。

25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の出身であった。また在日歴は16~20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33/272名(12.13%)名が日本での献血を経験していた。

25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。日系ポリビア人家族では母子感染も判明している。

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、ポリビア日系先天性感染児もすでに初回検査時には12歳であった。然し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。ちなみに現在まで医療機関を通じての検査依頼は1990年以降45件中19名が抗体陽性

(10/19=52.6%)はPCRで抗原 *T.cruzi*-DNAを検出)慢性キャリアーと確認した。特に2011~13年度に行ったラテンアメリカ人コミュニティーでの *T-cruzi* 抗体検査では11/522(2.1%)と前回調査研究期間を上回るものであった。

### 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%)

### 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ーでの *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、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もある。

昨年度からの東海4県のパイロッ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* キャリアーが出たが、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。

更に在日ブラジル人およびポリビア人の献

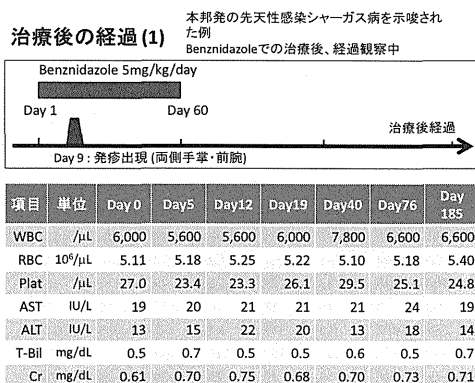
血人数と現在までの在日ラテンアメリカ人の *T.cruzi* 抗体陽性率（1.9%）から潜在する抗体陽性者数は数十名と推定される。シャーガス病に関する世界的な見直しにより情報は国内外伴に関心が高まりつつあり在日ラテンアメリカ人の検診相談が増加した。母国での啓蒙教育のため病名だけは知っている程度であった在日ラテンアメリカ人の集住地域東海4県以外でもシャーガス病に関する啓発活動は自治体の多文化共生課など行政（各県国際交流課など）がNPO,NGOと共同で実施するようになった。各地のコミュニティーで行われる *T. cruzi* 抗体診断キット（試験研究用）では現在CHAGAS-STAT-PACK（CHEMBIO）、Detect-Trypanosoma cruzi(*In-Bios*)の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。

しかし、我が国の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として常備出来ない。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及びChagas病に対する特異的治療を行った者

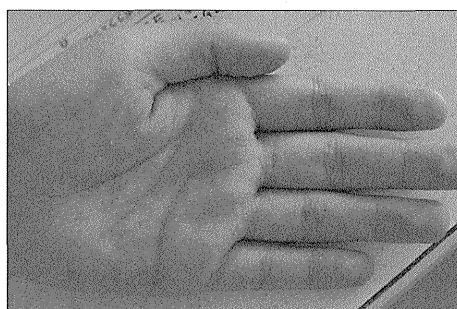
に対しての予後観察に関しては、日赤中央血液研究所感染症解析部で行っている。

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3例について以下に示す。



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 *T. cruzi* 抗体検査、健康相談にて Chagas 病末期合併症の診断のもと、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。

#### 治療後の経過 (2)

日系ブラジル人(女性・53歳) 心臓病・不整脈・慢性チブチ病 本人の希望により治療中

| 項目            | 単位               | Day 0 | Day 10 | Day 17 | Day 25 | Day 32 | Day 39 | Day 53 |
|---------------|------------------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| WBC           | / $\mu$ L        | 4,900 | 5,700  | 5,000  | 4,800  | 5,200  | 5,300  | 4,900  |
| RBC           | $10^9$ / $\mu$ L | 4.26  | 4.64   | 4.03   | 4.20   | 4.15   | 4.11   | 5.40   |
| Plat          | / $\mu$ L        | 25.1  | 28.2   | 24.2   | 25.3   | 27.6   | 25.9   | 26.8   |
| AST           | IU/L             | 23    | 23     | 21     | 26     | 45     | 55     | 71     |
| ALT           | IU/L             | 19    | 18     | 14     | 24     | 59     | 87     | 130    |
| T-Bil         | mg/dL            | 0.4   | 0.5    | 0.4    | 0.6    | 0.5    | 0.5    | 0.5    |
| ALP           | IU/L             | 357   | 362    | 314    | 317    | 382    | 372    | 382    |
| $\gamma$ -GTP | IU/L             | 34    | 28     | 23     | 24     | 24     | 24     | 23     |
| Cr            | mg/dL            | 0.91  | 0.99   | 1.06   | 1.13   | 1.00   | 1.10   | 1.06   |
| BNP           | pg/mL            | 130.1 | 76.5   | 106.1  | 60.9   | 84.5   | 90.5   | 120.8  |

この例は我が国で今後最も多く経験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 *T. cruzi* 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みられない。

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）については日赤より基幹病院を紹介、紹介先病院からの依頼に基付き、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、2011 年度の震災以来定住者の動向が安定せず懸念されたが 2012、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の共同作業で広い地域での抗体検査を呼びかけた結果 522 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。国内で感染慢性期を示すケースは 19 名におよび、そのうち 10 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。

同時に今後 Brazil、Bolivia 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、1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、他の1名に関しては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をされていない。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。今後NPO-日本ボリビア中央協会の協力でBoli via 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期待する。

*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、患者医療情報を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 (LAF EPE-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 病についても検査～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 病児が見出されることは今後に予想され、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する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有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は対象として用いた 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て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) がバ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。今回治療を行った例に関わった医療従事者7名に関しては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。本研究期間中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

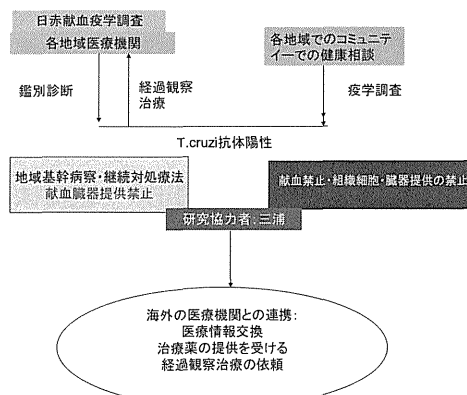


がりかつ、安全な献血協力への呼びかけにもなる。

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、ボ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。東海4県の以外に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。

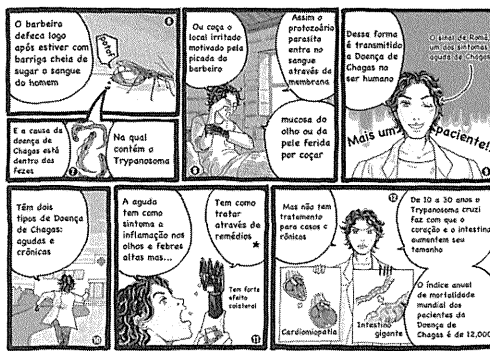
### F) 健康危険情報

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』朱戸アオ著；講談社のダイジェスト版をポルトガル語に翻訳して、掲示、検査の呼びかけを行っている。

### Chagas病について



### 感染から慢性期合併症とは？



献血輸血臓器移植による二次感染の危険性を提示、検査を受けましょう！！



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リーフレットで呼びかけている。また在日ラテンアメリカ人妊婦の抗体陽性者については本疾患の慢性感染からの先天性感染児出産を想定すべきであることを産科、小児科領域へ注意喚起を更に強化する必要がある。既に日本で出産経験をしたラテンアメリカ人家族に関しての抗体検査の呼びかけにより、潜在的先天性感染者につい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事が必要。早期診断、治療により *Chagas* 病慢性期合併症予防にも繋がる。更に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血に関しては抗体スクリーニング検査を全例行う事が望ましい。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。

献血者及びラテンアメリカ人コミュニティーで検出された *T. cruzi* 抗体陽性者に対する医療機関としての対応は以下の通りである。

1) 居住地域基幹病院への受診紹介。

2) 紹介先医療機関からの精査依頼：

抗体検査及び抗原検出について日赤中央血液研究所感染症解析部で行う。治療後の予後診断についても同様に行う。

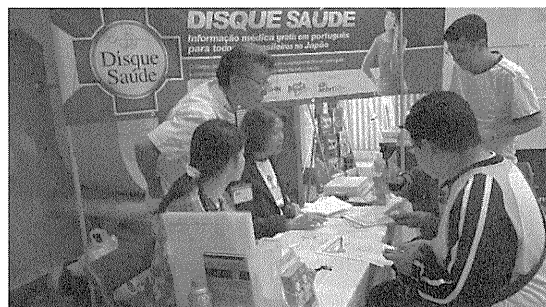
#### 既に *Chagas* 病慢性期合併症患者などを診た経験ある医療機関

滋賀県守山成人病センター、滋賀医大付属病院、滋賀県甲賀市公立甲賀病院、三重県医大付属病院、菰野厚生病院、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、J A 厚生連遠州病院、浜松医大付属病院、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、埼玉県：防衛医科大学病院、群馬県：太田総合病院、栃木県：那須日赤病院、赤字表記は *Chagas* 病特異的治療薬（国内未承認薬）Benznidazole の使用経験あり。

地方に散在するラテンアメリカ人コミュニティーでの健康相談会が潜在感染者を検出するためには有効である。

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。静岡県浜松市にて、日系ブラジルNGO-Disque-saude との協力によるブラジル人医師も含めての健康相談会風景：



群馬県邑楽町大泉にて日本ボリビア協会・NPO-MAIKEN, NGO-D. Saudeの共同作業、JICA中南米シャーガスプロジェクト参加OGなど、民間の多くの方々の支援を得てラテンアメリカ人コミュニティーで*T. cruzi* キャリアーの検査・健康相談活動を行っている。こうした活動が潜在キャリアーを検出するためには必要不可欠であり、彼らの健康管理にも貢献する。



こうしたコミュニティーで判明した抗体陽性+有症者に対してはブラジル人医師も含めて健康相談を行い、精査治療可能な感染症科を有する医療機関を紹介した

#### 紹介医療機関

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

那須日赤病院

三重医科大学病院

滋賀県成人病センター

三重県厚生菰野病院

等が協力を申し出ている。25年度は防衛医科大病院・那須日赤病院に於いてシャーガス病の患者について予後経過観察を行っている。献血者からの感染者及び医療機関からの依頼検査に限り日赤感染症解析部で

研究的予後観察調査は継続する。

**治療**：Chagas 病の治療に関しては我が国では熱帯病治療薬研究班に Lampit(Nifrutimox) を保有しているはずであるが、日本では先天性感染新生児（急性期）、輸血・臓器移植などによる二次感染急性期にのみ対応可能であるが、現在我が国では在日ラテンアメリカ人の慢性感染者を対象にする治療薬としては慢性期にも一定の効果を期待できる LAFEPE-Benznidazole をブラジル連邦共和国・保健省・地域保健局 Chagas 病対策委員会より提供を受ける以外に方策が無い。今後、熱帯医学治療薬研究班の協力を得て国レベルでの提供ルートを確認すべきである。先に示す通り治療を受けた3名の患者は血液中の *T.cruzi* は消滅したが、抗体価の推移については経過観察を防衛医科大学病院及び日赤中央血液研究所にて継続する。3例目の日系ブラジル人慢性感染シャーガス病患者についても治療中であり、特筆すべく副作用もなく経過良好である。今後の問題は母国への帰国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 Conselho Regional de Medicina do Sao Paulo-Brazil
- 4) CENETROP/Banco Nacional de Sangre/ SC-Bolivia
- 5) Programa Nacional de Chagas/SC.Bolivia

更にサンパウロ州全地域に支部を持つ APM (Associação Paulista de Medicina)

Av.Brigadeiro Luis Antonio 278

Boavista-Sao Paulo-SP-Brasil

TEL: -55-11-3188-4200

が在日日系人のChagas病治療に協力が可能である。

G ; 業績

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) 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](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  
Vol 24-1-33 ; 2013

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.

国際シンポジウム

第11回日本ボリビア国際内視鏡シンポジウム(招待講演): 日本-ボリビア医療友好協会・スクレ・ボリビア・スクレ

2012・11

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Chagas感染状況と二次感染予防について。

ブラジル日系人文科学研究会

- 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>

その他: TV放映

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

H: 該当なし

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)  
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)  
小島 精 (前、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)  
五井 薫 (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：

1. ウエストナイル熱等の新興感染症発生時の献血対応

ウエストナイルウイルス (以下、WNV という) の国内感染が認められた場合の献血者への対応については、感染媒体ごとに献血制限範囲や WNV-NAT の実施有無などが示されている (平成 17 年度第 1 回血液事業部会安全技術調査会) (表 1)。日本赤十字社では、都道府県単位で 1 ヶ月間 WNV-NAT が実施できるよう TMA 法の WNV-NAT 試薬 (Procleix® WNV Assay) を備蓄している。この WNV-NAT 試薬 (Procleix® WNV Assay) と日本赤十字社 4 ヶ所の 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、特異性の比較検討を行った。TMA 法の試薬の方が、TaqMan PCR 法の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。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、WNV 国内発生時において、このことは大きな問題とはならないと考えられる。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。

## 2. 国内献血におけるシャーガス病の感染リスクの把握

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、献血血液の重要な安全対策上の課題である。シャーガス病の感染リスクのある中南米諸国の居住歴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から平成22年度データを抽出し集計したところ、10,190人であり、日本人は8,490人(83.3%)、外国人1,700人(16.7%)と推計された。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。

平成23年4月の問診票の改訂に伴い、問診票の外国滞在歴に関する質問が、マラリアの感染リスクを想定した滞在期間を限定した質問に変更されたことから、中南米からの定住者の中南米居住歴を十分に拾えなくなった可能性が考えられた。

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。(東海4県パイロットスタディⅠ期)平成23年2月～平成24年9月で、対象者120人(男性81人、女性39人)全て*T. cruzi*抗体検査陰性であった。国籍別では、ブラジルが97人と最も多く、ペルー8人、メキシコ、コロンビア、パラグアイが各1人、日本12人であった。

日本赤十字社では、薬事・食品衛生審議会血液事業部会安全技術調査会の審議を踏まえ、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。

東海4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実施した。(東海4県パイロットスタディⅡ期)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

### 1. WNV-NAT

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 カ所の NAT 施設に導入している。迅速かつ広域的な対応を可能とするため、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。

### 2. シャーガス病の感染リスク

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。

平成 23 年 4 月から外国居住歴・滞在歴の問診票が図 1 のとおり変更となったことによる中南米居住歴又は滞在歴を有する献血受付け者、献血者の推移を検討した。併せて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推計した。

さらにブラジル居住歴を有する献血受付け者が偏在している愛知県、静岡県、岐阜県、三重県の東海 4 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、*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実施し、抗体陽性者に

対しては、その後の健康管理に繋げていくこととした。(パイロットスタディ I 期)

日本赤十字社では、薬事・食品衛生審議会血液事業部会安全技術調査会の審議を踏まえ、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 2) 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。

安全対策実施以降、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、I 期と同様に *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た。(パイロットスタディ II 期)

## 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

### 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 (以下、MPX 検査) 陰性の 80 検体について、TaqScreen®WNV assay 試薬及び Procleix® WNV Assay 試薬を用いて NAT を 3 回実施した (平成 24 年度)。さらに、TaqScreen®WNV assay 試薬については、MPX 検査陰性の 80 検体で WNV-NAT を 2 回実施した (平成 25 年度)。

### ②WNV-RNA 及び日本脳炎ウイルス RNA 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+E7 cps/mL の 50  $\mu$  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  $\mu$  L から抽出した RNA を 100  $\mu$  L の蒸留水で再浮遊し、その 50  $\mu$  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、0.1 cps/mL 濃度に、日本脳炎ウイルスの RNA については 1000、500、100、50、10 PFU/mL 濃度に注射用水で希釈したものを各々 3 本作製し、両 WNV-NAT 試薬を用いて NAT を 2 回測定した。各々の濃度における 6 重測定の結果から試薬の交差反応性を評価した。

### 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

平成 23 年 4 月から外国居住歴・滞在歴の問診票が変更となったので、中南米諸国の居住歴 (平成 23 年 1~3 月) 又は滞在歴 (同年 4~12 月) を有する献血申込 (受付) 者数及び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集計・解析した。

問診票変更前のデータとして、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。

### <東海 4 県パイロットスタディ I 期>

東海 4 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、愛知県赤十字血液センター (平成 24 年 4 月以降は、東海北陸ブロック血液センター) にてイムノクロマト法 (Chembio 社 CHAGAS 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) 及びイムノクロマト法 (InBios 社 Trypanosoma Detect®) 迅速検査による *T. cruzi* 抗体検査を実施した。

平成 24 年 10 月 15 日からのシャーガス病の安全対策実施以降、献血受付時に、図 2 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。

### <東海 4 県パイロットスタディ II 期>

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



リー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)

中南米居住歴を有する者のシャーガス病の感染リスク調査(I期)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。中南米滞在歴カテゴリー1の献血者に対するシャーガス病の感染リスク調査(II期)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2)

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3)

##### ②TMA法(表3)

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4)

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4)

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

##### ①実検体による試験

20本プールした献血者検体80検体を用い、TMA法及びTaqMan PCR法について、WNV-NATを3回実施したが、両法共に全て陰性で、陽性又は偽陽性は検出されなかった(平成24年度)。

同様に、20本プールした献血者検体80検体を用いTaqMan PCR法で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(平成25年度)。

##### ②WNV-RNA及び日本脳炎ウイルスRNAを用いた特異性・交差反応性試験(表5)

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。日本脳炎ウイルスは10PFU/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。

### 3) 実検体を用いた検査シミュレーション (図 5)

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) 中南米居住歴又は滞在歴を有する献血申込(受付)者数及び献血者数(平成 23 年 1 月～平成 23 年 12 月)

シャーガス病の感染リスクのある中南米諸国の居住歴又は滞在歴を有する、平成 23 年(2011 年:速報値)の献血申込(受付)者数及び献血者

数を集計・解析した。平成 23 年 1～3 月の中南米居住歴のある献血申込(受付)者数 3,184 人(月平均 1,061 人)、献血者数 2,683 人(同 894 人)に対し、同年 4 月の問診票改訂以降の 4～12 月(9 ヶ月間)では、過去 1 年以内の中南米滞在歴のある献血申込(受付)者数 4,020 人、献血者数 3,244 人、過去 4 年以内に 1 年以上の中南米滞在歴のある献血申込(受付)者数 451 人、献血者数 337 人であり、その合計(重複あり)は、献血申込(受付)者数 4,471 人(月平均 497 人)、献血者数 3,581 人(同 398 人)であった。国別で分類してみると、従来最も多かったブラジルは、1～3 月の献血申込(受付)者数 1,344 人(月平均 448 人)、献血者数 1,127 人(月平均 376 人)から 4～12 月の献血申込(受付)者数 1,040 人(月平均 116 人)、献血者数 835 人(月平均 93 人)と約 1/4 に減少していた。一方、メキシコは、1～3 月の献血申込(受付)者数 701 人(月平均 234 人)、献血者数 607 人(月平均 202 人)から 4～12 月の献血申込(受付)者数 1,525 人(月平均 169 人)、献血者数 1,240 人(月平均 138 人)となり、国別では最も多くなった。(表 6)。

2) 中南米諸国の居住歴を有する献血者数(平成 22 年 4 月～平成 23 年 3 月)

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 7、表 8、図 6)

3) 東海 4 県パイロットスタディ I 期

平成 23 年 2 月～平成 24 年 9 月で、東海 4 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。対象者 120 人(男性 81 人、女性 39 人)は全て *T. cruzi* 抗体検査陰性であった。年齢別では、20 代 36 人、30 代 46 人、40 代 31 人、50 代 6 人、60 代 1 人であった。国籍別では、ブラジルが 97

人と最も多く、ペルー8人、メキシコ、コロンビア、パラグアイが各1人、日本12人であり、中南米国籍を有する者は108人（男性74人、女性34人）、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。彼らの日本滞在期間は平均10.7年（2ヵ月～28年）であった。

#### （図7）

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。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8）

#### 4）中南米滞在歴等を有する受付者数及び献血者数（図9）

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。

#### 5）東海4県パイロットスタディⅡ期

平成25年1月8日から（平成26年1月31日まで）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。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。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。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18%であった。（図10・図11）

シャーガス病に関する7項目のアンケート調査については、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。（図12）

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

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。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。

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

シャーガス病の非流行地域の日本では、中南米からの定住者や中南米に長期滞在歴のある日本人の感染リスクを考慮する必要がある。献血時の問診上の取り扱いは、「シャーガス病の既往歴のある者から採血しないこと」としているが、感染者自身も無症候期には自覚していないことから、実際にはシャーガス病の既往歴を申告する者はいないと考えられる。現状においては、日本語を十分に理解していない外国人は献血に協力することが困難であること、中南米の一部地域はマラリア流行地と重なることなどから一定のバリアになっていると考えられる。

しかし、平成23年4月以降の中南米滞在歴のある献血者数の減少は、東日本大震災の影響により中南米出身定住者の減少も考えられるが、問診票の外国滞在歴に関する質問が、マラリアの感染リスクを想定した、滞在期間を限定した質問になっていることから、中南米出身定住者の中には問診項目に該当せず中南米滞在歴を捨てなくなったと考えられる。

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。