

分担研究報告書

日本国内におけるシャーガス病疑い例の検査経験、
輸血用血液製剤製造・保存中における *Trypanosoma cruzi* 原虫の動態および
日本の献血者における *Trypanosoma cruzi* 抗体陽性率の調査

研究代表者 倉根一郎 (国立感染症研究所 所長)
研究協力者 佐竹正博 (日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所 所長)
佐山勇輔 (日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所)
高倉明子 (日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所)
松本千恵子 (日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所)
古居保美 (日本赤十字社血液事業本部)
平 力造 (日本赤十字社血液事業本部)

研究要旨

シャーガス病は、*Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) 原虫の感染により引き起こされる疾患であり、主に中南米諸国で流行している。*T. cruzi* 感染者(キャリア)の末梢血や臓器には原虫が存在するため、キャリアからの輸血や移植などにより患者に *T. cruzi* が伝播する可能性がある。また、近年の人々の往来のグローバル化によりシャーガス病は、流行地域だけでなく非流行地域でも注視すべき疾患の一つとなった。特に中南米諸国出身献血者由来の血液を介した *T. cruzi* 感染が非流行地域でも多数報告され、問題となっている。そこで下記の実験を通して、主に輸血用血液製剤および献血者検体を用いたシャーガス病に関する研究を行った。

日本国内におけるシャーガス病疑い例の検査経験

シャーガス病の可能性のある中南米諸国出身者と日本人から検体を得て、シャーガス病に関する検査法の評価をしつつキャリアの状態を把握した。期間中に中南米諸国出身者 10 名、日本人 10 名から検体が提供された。抗体検査法により、中南米諸国出身者 7 名が抗体陽性、その内 6 名が PCR 陽性、3 名から *T. cruzi* が分離された。サシガメとの接触歴が不明な人からも *T. cruzi* 感染者が認められた。日本人からの陽性者は確認されなかった。日本国内でも医療関係者におけるシャーガス病の認知度を上げる必要がある。さらに検査機関を含めて、診断・治療が可能な体制の整備が必要であると考えられた。

輸血用血液製剤製造工程および各輸血用血液製剤保存条件下中における *T. cruzi* 原虫の動態

上記 で分離した *T. cruzi* 原虫を用い、輸血用血液製剤製造工程および各輸血用血液製剤保存環境下での *T. cruzi* の動態を評価した。さらに低温環境下中での *T. cruzi* の増殖能および感染能を解析した。白血球除去フィルターにより、増殖可能な *T. cruzi* は 4 log 程度の減少が認められた。濃厚血小板中では、増殖可能な *T. cruzi* は接種 2 日目以降から減少

し、平均 3 log 程度の減少を示したが、濃厚血小板の有効期間を通じて増殖可能な *T. cruzi* は認められた。新鮮凍結血漿は一度の凍結融解により、平均して 5 log 以上減少し、検出限界以下となった。赤血球液中では、増殖可能な *T. cruzi* は、接種 4 日目から 1~2 log 程度減少し、21 日目では 1~4 log の減少が認められたが、減少幅にばらつきが認められた。低温環境下(4)にて培養した *T. cruzi* は増殖が認められず、特に 4 日目から細胞内 *T. cruzi* の形態である amastigotes の減少が認められ 14 日目では検出限界以下となり、感染能も低下していることが考えられた。本邦で使用されている白血球除去フィルターには、*T. cruzi* を低減化させる効果があることが認められた。濃厚血小板は、有効期間中に再増殖可能な *T. cruzi* が検出されたことから、濃厚血小板を介した感染が少なからず示唆された。新鮮凍結血漿は、検出限界以下にまで減少した。赤血球液は、その保存環境下により *T. cruzi* の増殖能および感染能が低下したことから新鮮凍結血漿および赤血球液による *T. cruzi* 感染のリスクは低いことが示唆された。

日本の献血者における *T. cruzi* 抗体陽性率の調査

シャーガス病にリスクがあると考えられる献血者を対象に抗体検査を実施した。検体は期間中 18,487 検体が採取され、抗体検査を実施した。18,487 検体中、3 検体(0.016%)が抗体陽性であった。抗体陽性者 3 名は、全て中南米諸国出身者であった。1 名の抗体陽性者は、複数回献血歴があったため遡及調査を行った。検査可能であった 5 名の受血者は、全て抗体陰性であった。日本での献血血液においては、*T. cruzi* 抗体陽性者は中南米諸国出身者に限られたが、一定の感染者が認められた。しかしながら、これまで日本国内では、輸血を介した *T. cruzi* 感染は確認されていない。

A. 研究目的

シャーガス病は *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*)により引き起こされる原虫疾患であり、主に中南米諸国で流行している。ヒトへの感染は、ベクターであるサシガメを介した感染経路が主であり、感染すると一時的な急性期症状を呈するが、ほとんどの場合一過性の経過を辿り、その後慢性期に至り、キャリアとなる。

近年の人々の往来のグローバル化により、日本国内にも中南米諸国出身者が約 25 万人滞在中であり、その内、3,000 ~ 4,000 人が *T. cruzi* のキャリアであると言われている。また、中南米諸国に長期滞在歴のある日本人も増加している。しかしながら、日本国内ではシャ

ーガス病は稀な疾患であるため、的確な診断や検査が困難であり、調査用検体の確保も難しい。

輸血による *T. cruzi* 感染は、シャーガス病非流行国であるアメリカ、カナダ、スペインにおいて、これまで 20 例が同定されている。その原因となった主な輸血用血液製剤は血小板製剤であり、全血製剤も可能性が危惧されている。一方、血漿製剤および赤血球製剤からの輸血を介した伝播は認められていない。しかしながら、各輸血用血液製剤の製造、保存方法・期間などは、各国で異なっており日本国内で製造・保存されている条件下における *T. cruzi* の動態については不明である。

また日本国内にも、中南米諸国出身者や中南

米諸国への長期滞在者が多数居住し、その中には *T. cruzi* 感染者が存在していることがすでに報告されている。また血液センターでは中南米出身者・長期滞在者による献血も多数受け入れている。そのため、シャーガス病にリスクがあると考えられる上記の献血者の血液は、2012年10月15日から血漿分画製剤用の原料血液への使用に制限する安全対策を実施している。しかしながら、シャーガス病にリスクがあると考えられる日本の献血者における *T. cruzi* 抗体陽性率は不明である。

そこで本研究では、下記3項目の研究を行った。

日本国内におけるシャーガス病疑い例の検査経験

検査経験:中南米諸国出身者を含めた日本でシャーガス病と疑われた方から血液を提供いただき、抗体検査法、遺伝子検査法、そして原虫培養法を実施して各検査法の評価をしつつキャリアの状態を把握した。

輸血用血液製剤製造・保存中における *T. cruzi* 原虫の動態

輸血用血液製剤製造・保存中における *T. cruzi* 原虫の動態:輸血用血液製剤へ *T. cruzi* を接種し、白血球除去(白除)フィルターおよび各輸血用血液製剤保存条件下における *T. cruzi* の動態を解析した。

日本の献血者における *T. cruzi* 抗体陽性率の調査

日本の献血者における *T. cruzi* 抗体陽性率の調査:シャーガス病にリスクがあると考えられる日本の献血者における *T. cruzi* 抗体陽性率を調査した。

B. 研究方法

(倫理面への配慮)

本研究は、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2012-007,2012-009)。

(1) シャーガス病疑い例の検査

2012年10月から2014年8月の間に医療機関およびNGOなどから連絡のあった提供者から血液を採取した。提供者は、1)中南米諸国出身者、2)サシガメとの暴露歴、3)中南米諸国に滞在歴のある方を対象とした。提供者は、検体採取時に主治医などを介し、十分に本研究の概要を説明後、同意書に署名をいただいた。さらに、提供者にアンケート調査を行い、サシガメとの接触歴などを調査した。提供された検体は、抗体検査法、遺伝子検査法および血液培養を用いた。抗体検査法は、ELISA(オーソ社)およびイムノクロマト法(Chembio社)を用いた。遺伝子検査法は、TaqMan PCR法(*T. cruzi* Satellite repeat領域をターゲットとした各プライマー・プローブ)により *T. cruzi* DNAの増幅を試みた。血液培養は、N.N.N.(Novy-MacNeal-Nicolle)培地を用いた。*T. cruzi*が分離・培養された際は、DNAを抽出後、*T. cruzi*ミトコンドリア領域をターゲットとしたプライマーを用いたPCR法を行った。増幅産物からダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定後、系統樹解析による *T. cruzi* 遺伝子型(DTUs; Discrete Typing Units)の同定を行った。

(2) *T. cruzi*原虫

*T. cruzi*は、(1)で中南米諸国出身キャリアから分離した JRC Tc-1 (DTUs TcV)および JRC Tc-2 (DTUs TcII)を用いた。各 *T. cruzi*は、Schneider's Drosophila Mediumに最終濃度が30%になるようにFBSを添加し、25℃で培養した。原虫数は、顕微鏡下にて細胞計算盤により計測した。

(3) 白除フィルターによる *T. cruzi*の低減化能の解析

白除フィルターは、セパセル・インテグラ CA(旭化成メディカル)を用いた。培養した *T. cruzi* (10^8 parasites/Bag) を採血翌日の3名の異なる献血者由来の全血製剤に接種し、白除フィルター前後の血液を一部採取した。採取した血液は、QIASymphony DNA MIDI Kit(QIAGEN)を用い、DNAを抽出後、定量(q)PCR法(*T. cruzi* Satellite repeat領域をターゲットとした各プライマー・プローブ)により、*T. cruzi*量を測定した。また、*T. cruzi*混入による白血球除去能への影響をみるため、同様にqPCR法(ヒトCD81 DNAをターゲットとしたプライマー・プローブ)により白血球数を計測した。培養は、採取した血液を培養液にて段階希釈後培養を行い、最大50日間観察し、顕微鏡下で*T. cruzi*の活動が確認されたものを陽性とした。

(4) 輸血用血液製剤保存環境下中における *T. cruzi*の動態

輸血用血液製剤は異なる3~4名の献血者由来の濃厚血小板(PC; Platelet Concentrate)、新鮮凍結血漿(FFP; Fresh Frozen Plasma)、赤血球液(RBC)を用いた。培養した *T. cruzi* (10^8 parasites/Bag) を各製剤へ接種後、PCは20 ~ 24、60 rpm、FFPは-20以下、RBCは4にそれぞれ保存した。PCは接種後0, 2, 3, 4, 7日経過時、FFPは凍結融解前後、RBCは接種後0, 4, 7, 14, 21, 28, 42日経過時にそれぞれ一部採取したサンプルを段階希釈後、培養を行った。培養は、(3)と同様の方法を行った。

(5) 低温環境下における *T. cruzi*の増殖能および感染能の評価

培地に *T. cruzi* (10,000 parasites) を接種し、25および4にて培養をおこなった。接種後

0, 4, 7, 14, 21, 28, 35, 42日経過時にそれぞれ一部採取し、qPCR法による *T. cruzi*量の測定および感染能を評価した。感染能の評価は、採取した *T. cruzi*を段階希釈後、MRC-5細胞(ヒト線維芽細胞、ATCC)に接種し、37にて共培養を行った。7日後に細胞を固定後、間接蛍光抗体法により細胞内 *T. cruzi*の形態である amastigotesの観察により感染能の評価を行った。

(6) 国際標準品を用いた *T. cruzi*抗体検査試薬の感度の評価

WHO国際標準品(NIBSC, 11/216, TcIおよびTcII)は、*T. cruzi*抗体陰性血漿を用い段階希釈を行った。段階希釈した標準品を用い、各抗体検査試薬の感度を求めた。抗体検査試薬は、(1)ELISA(オーソ社)、(2)CLIA(アボット社)、(3)ESA(アボット社)、(4)IFA(in-house)、(5)PA(富士レビオ)、(6)ICT-1(Chembio社)、(7)ICT-2(Inbios社)、(8)ICT-3(Inbios社)を用いた(表1)。IFAは、当施設で培養した *T. cruzi*を抗原として作成した。作成したIFAのカットオフ値は、80倍希釈とした。IFAを除いた検査試薬は、添付文書の方法に準じて行った。

(7) シャーガス病のリスク因子および献血者検体

2013年1月8日から2016年8月21日に「中南米諸国で生まれた、又は育った」、「母親が、中南米諸国で生まれた、又は育った」、「中南米諸国に通算4週間以上滞在、または居住したことがある」をシャーガス病のリスク因子とし、問診時に献血者に伺い、該当した献血者のうち、調査への同意が得られた献血者の血液を採取した。

(8) 保管検体

2002年4月1日から2012年10月14日に採血され、日本赤十字社の献血者情報データベースに保管されていた献血者のうち、過去に中南米諸国への滞在歴等を申告され、血小板製剤を製造した献血者の保管されていた血液を採取した。

(9) 献血者検体による抗体検査法および遺伝子検査法

抗体検査法は、ELISAを用いスクリーニングを行った。反応が認められた検体は、同じELISAを用い二重試験を行った。ELISAにより2/3以上陽性を示した検体は、CLIAを用い、確認試験を行った。確認試験で陽性を示した検体を、抗体陽性と判定した。

遺伝子検査法は、まず1mLの血液を用い QIASymphony DNA MIDI Kit(QIAGEN)によりDNA抽出をおこなった。抽出したDNAを用い、TaqMan PCR法(*T. cruzi*サテライトDNAをターゲットとした各プライマー・プローブ)で*T. cruzi* DNAの増幅を試みた。

C. 研究結果

(1) シャーガス病疑い例における検査結果

期間中、中南米諸国出身者10名、日本人10名から検体が得られた(表1)。中南米諸国地域出身者は、NGOの健康診断などにより、心疾患や消化器疾患が疑われ医療機関を受診した方や、親類にシャーガス病診断歴がある方などであった。日本人は中南米諸国地域への渡航歴またはサシガメとの暴露歴がある方であり、1名は心疾患を患っていた。各検査法により、中南米諸国出身者のうち7名から抗体が陽性と認められた。抗体陽性者7名中6名がTaqMan PCR法により*T. cruzi* DNA陽性、3名から*T. cruzi*

が分離された。サシガメとの接触歴が不明であった提供者からも*T. cruzi*感染者が認められた。抗体検査法に用いた2法の結果に差異は認められなかった。分離された*T. cruzi*のDTUsを同定したところ、1株がDTUs TcV(JRC Tc-1)、残り2株がDTUs TcII(JRC Tc-2, JRC Tc-3)であった(図1(A))。DTUsの分布には地域性があるが、各提供者からの出身地域と分離された*T. cruzi*のDTUsはほぼ一致していた(図1(B))(Zingares et al. Infection, Genetics and Evolution, 12, 2012による)。日本人10人はいずれも全ての検査法で陰性であった。

(2) 白除フィルターによる*T. cruzi*の除去能
qPCR法による*T. cruzi*量では、JRC Tc-1およびJRC Tc-2は、それぞれ2および3 log程度の減少が認められた(図2(A))。また、白除フィルター通過後における増殖可能な*T. cruzi*は、両株とも4 log以上減少し、検出限界以下であった。*T. cruzi*混入により白血球除去能が低下することはなかった(図2(B))。

(3) 輸血用血液製剤中における*T. cruzi*の動態

PC中における再増殖可能な*T. cruzi*数は2日目以降から減少し、平均3 log程度の減少が確認された(図3)。しかし、異なる献血者由来のPCにおいて、*T. cruzi*の減少の程度が大きく異なっていた。特に、JRC Tc-2 Bag#7では、検出限界以下にまで減少していた。JRC Tc-2 Bag#7を除いたPCでは、PCの有効期間以降も増殖可能な*T. cruzi*が確認された。一方、FFPは一回の凍結融解により、平均5 log以上減少し、検出限界以下となった(図4)。異なる献血者由来のFFPにおいてもほぼ同様の結果であ

った。RBC 中での再増殖可能な *T. cruzi* 数は、JRC Tc-2 Bag#6 を除き 7 日目から減少が認められ、21 日目には 1~4 log 程度の減少が確認された(図 5)。RBC の有効期間内である 21 日では、いずれの RBC においても増殖可能な *T. cruzi* が確認された。株による大きな差は 3 製剤とも認められなかった。

(4) 低温環境下での *T. cruzi* の増殖能および感染能

25 で培養を行った *T. cruzi* は、時間の経過と共に増殖が認められたが、4 では *T. cruzi* の増殖は認められなかった(図 6(A))。同様に 25 で培養を行った *T. cruzi* では、amastigotes の増殖が認められたが、4 での *T. cruzi* は、4 日目から amastigotes の減少が認められ、14 日目以降では検出限界以下であった(図 6(B))。両株とも同様の結果であった。

(5) 国際標準品による *T. cruzi* 抗体検査試薬の感度評価

段階希釈した各国際標準品を用い、計 8 種類の試薬の感度評価を行った。その結果、TcI 標準品においては、CLIA が最も感度が高く 0.016IU/mL であった。次いで ELISA および ESA の感度が高かった(表 2)。TcII 標準品においても TcI と概ね同様の結果であった。

(6) リスク因子に該当した献血者検体における *T. cruzi* 抗体陽性率および遺伝子検査の結果

2013 年 1 月 8 日から 2016 年 8 月 22 日までに該当した献血者検体は 13,709 本、2002 年 4 月 1 日から 2012 年 10 月 14 日に該当した献血者検体は 4,778 本、合計 18,487 検体について抗体検査を行った。その内、ELISA により複数回陽性 (2/3 以上) を示した検体は、12 検

体(0.065%)であった。また、ELISA および CLIA で陽性を示し、抗体陽性と判定された検体は、3 検体(0.016%)であった。3 名とも中南米諸国出身者による 2013 年以降の献血であり、その内 2 名は、リスク因子の + に該当し、1 名は のみに該当した。TaqMan PCR 法により 3 名の抗体陽性献血者のうち、1 名から *T. cruzi* DNA の増幅が認められた。あとの 2 名の血液からは *T. cruzi* DNA は検出されなかった。

(7) 遡及調査

T. cruzi 抗体/*T. cruzi* DNA が陽性であった 1 名は、過去に複数回の献血歴があり、11 本の輸血用血液製剤が医療機関に供給されていたため、遡及調査を実施した。その結果、受血者 5 名はすでに多病死していたが、検査可能であった 5 名の受血者は、全て抗体陰性であった。残り 1 名は高齢のため、承諾が得られなかった。

D. 考察

本研究期間中に、*T. cruzi* の感染を疑われた中南米諸国出身者 10 名中 7 名が抗体陽性であり、その 6/7(85.7%)が PCR も陽性であり、*T. cruzi* が分離された提供者も確認された。これまで日本在住の中南米諸国出身者の一部に、*T. cruzi* 感染者がいることが知られていたが、本研究においてもキャリアが認められた。しかし、日本在住の中南米諸国出身者のキャリア中に、どのくらいの割合で *T. cruzi* の原虫血症が認められ、さらにシャーガス病の症状を有するキャリアが存在するかについては不明であり、今後規模を大きくした調査が必要と思われる。さらに今回、感染は否定されたが、中南米諸国

地域の滞在歴やサシガメに暴露歴がある日本人からも検体の提供があった。近年の人々の往來のグローバル化などにより、流行地出身者だけでなく、日本人による流行地への渡航などによって、シャーガス病などの日本では稀な疾患に罹患する可能性も大きくなっている。日本においては、シャーガス病は稀な疾患であることから、医療機関などにおいても認識しづらく、今後シャーガス病をはじめとした疾患に対しては、国内でも医療関係者における認知度をより上げる必要がある。さらに、検査機関などの充実を図り、診断・治療できる体制の整備も必要と思われる。

シャーガス病疑い提供者検体を用いた各検査方法の評価では、抗体検査法に用いたELISAおよびイムノクロマト法の両試験で結果に差異は認められず、PCR法および血液培養からも*T. cruzi* DNA および *T. cruzi* の検出が確認された。従って、シャーガス病疑い患者に対し、これら検査方法は有効な方法であることが示唆された。さらに、今回、*T. cruzi* のDTUsを解析したところ、各提供者からの出身地域と分離された*T. cruzi* のDTUsの地域との間には相関があることが示された。従って、*T. cruzi* のDTUsを同定することにより、その*T. cruzi*の地域性を推察するには有効な方法であることが示唆された。

また日本国内での輸血用血液製剤製造および保存条件下に準じて*T. cruzi*の動態解析を行った。白除フィルターにより*T. cruzi*は、2~3 log程度の減少が認められ、さらに培養による再増殖可能な*T. cruzi*は、4 log以上の減少が認められた。これはフィルターがそのトラップ能によって*T. cruzi*を低減化するだけでなく、*T.*

*cruzi*の増殖にも影響を与えていることを示唆するが、詳細は不明である。

PC中では、製剤の有効期間を越える7日までの全観察期間にわたって増殖可能な*T. cruzi*が認められたことから、PC輸血による*T. cruzi*の感染リスクが示された。また、異なる献血者由来するPCでは、*T. cruzi*の生存率が異なることも示された。近年、熱帯熱マラリア原虫に対し、血小板に抗原虫活性が存在することが見出されているが、*T. cruzi*に対しても同様の抗原虫活性があるのか、また、その活性が宿主によって異なるのかは、今後の研究課題である。一方、FFPでは、すべての献血者由来の製剤において検出限界以下にまで減少することが示された。FFPは冷凍状態で保存し、使用時に融解させることから、使用するまでに一サイクルの凍結融解が発生する。この凍結融解により、*T. cruzi*の感染リスクが大幅に減少することが示された。また、RBCは低温(2~6℃)に保存されているため、今回RBC中における*T. cruzi*の動態だけでなく低温環境下(4℃)での*T. cruzi*の増殖能および感染能を評価した。その結果、RBC中での*T. cruzi*は、製剤有効期限である21日目においても1~4 log程度の減少を示すだけであったが、低温環境下にて*T. cruzi*を培養すると*T. cruzi*の増殖は認められず、さらに感受性細胞への感染能が低下することが示された。これまで非流行地域において、血漿製剤および赤血球製剤を介した*T. cruzi*感染の報告はない。その原因として、白除フィルターによる*T. cruzi*のトラップ能および増殖能の減少、さらには血漿製剤および赤血球製剤の各製剤保存環境下による*T. cruzi*の増殖能および感染能を低下させることが両製剤を介した*T. cruzi*感染

が確認されない一因であることが示唆された。従って、本邦にて製造される全血採血由来輸血用血液製剤を介した*T. cruzi*の感染は、限りなく低いことが考えられた。

入手可能であった*T. cruzi*抗体検査試薬について、国際標準品を用いて感度評価を行った。CLIAおよびELISAは、高い感度を有しており、本研究で使用した抗体検査試薬は、適切な検査法であったと判断された。

シャーガス病のリスクがあると考えられた国内の献血者検体を用いて*T. cruzi*抗体検査を行った。その結果、該当した18,487検体中、ELISAのみ陽性は12検体、ELISAおよびCLIA両検査で陽性を示したのは3検体であった。異なるメカニズムの二つの方法を用いることによって高い特異度も実現されていると考えられた。カナダやアメリカなどのシャーガス病スクリーニング検査でも異なる二種類の方法により*T. cruzi*抗体検査を行い、結果を確定している。今回、シャーガス病に関する安全対策を実施した2012年10月15日以前の献血で、中南米諸国に滞在歴がある献血者から採血され、血小板製剤に使用された血液について抗体検査を行ったが、抗体陽性者は認められなかった。そのため、安全対策以前の輸血を介した*T. cruzi*感染の可能性は、限りなく低いと考えられた。

*T. cruzi*抗体陽性/DNA陽性の1名には、複数回献血歴があったため、遡及調査を実施した。検査が可能であった受血者5名は、全て抗体陰性であり、当該献血者由来の血液製剤を介した*T. cruzi*感染は、認められなかった。これら5名に使用された血液製剤は、全血採血由来のFFPおよびRBCであった。これまで非流行地域での輸血を介した*T. cruzi*感染の原因製剤は、主に

血小板製剤であり、一部全血製剤が原因であるとされている。昨年度の我々の報告では、全血採血由来の製剤に使用される白血球除去フィルターおよびFFP、RBCの保存条件は、*T. cruzi*の数および細胞への感染能を低下させることを示した。今回、輸血を介した*T. cruzi*感染が認められなかったのは、使用されていた製剤の種類も一因であった可能性もある。

シャーガス病のキャリアを原因とした輸血感染は、非流行地域においては重要な問題の一つである。実際、カナダおよびヨーロッパ諸国などの輸血に関する安全対策では、中南米諸国出身であることおよび滞在歴があることなどをリスク因子として献血者を選択し、スクリーニング検査を実施している。これまで日本国内のシャーガス病にリスクがあると考えられた献血者の*T. cruzi*抗体陽性率は不明であったが、本研究により、リスクのある献血者の0.016%が抗体陽性であった。これは、カナダ(0.089%)やスペイン(0.622%)に比べ低い結果であった。また今回、本人もしくは母親が中南米諸国出身者であった献血者からのみ陽性者が認められた一方、中南米諸国に滞在歴がある人からは抗体陽性者は認められなかった。日本においては、シャーガス病のリスク因子としては、中南米諸国滞在歴よりも、本人もしくは母親が中南米諸国出身者であることの方が重要であることが示唆された。

以上の結果から、日本の献血者全体での*T. cruzi*抗体の陽性率は極めて低いものの、陽性者は確実に存在することから、有リスク献血者についてはスクリーニングをする必要性が確認された。現在の献血の検診では、「中南米諸国で生まれた、又は育った」、「母親および母

方の祖母が、中南米諸国で生まれた、又は育った」、「中南米諸国に連続して4週間以上滞在、または居住したことがある」に該当する献血者を対象に*T. cruzi*抗体スクリーニング検査を実施している。

E. 結論

本研究において、日本に滞在する中南米諸国出身者に *T. cruzi* 感染者が認められ、その中に血中に原虫が確認される感染者も見いだされた。また、日本人からもサシガメとの暴露歴などにより、本研究に検体が提供された。国内でも医療関係者におけるシャーガス病の認知度を上げる必要がある。さらに検査機関を含めて、診断・治療が可能な体制の整備が必要であると考えられた。

本邦で行っている輸血用血液製剤製造・保存条件下における *T. cruzi* は、各条件下により減少することが認められた。特に、白除フィルターにより *T. cruzi* の低減化能が認められた。PC 中では、*T. cruzi* は保存期間中に増殖可能な *T. cruzi* が認められたことから、PC 輸血による感染リスクが示された。一方、FFP は一度の凍結融解により、検出限界以下にまで減少が認められ、FFP 輸血による *T. cruzi* の感染リスクは低いことが示された。RBC 中では、*T. cruzi* は保存期間中に増殖可能な *T. cruzi* が認められたが、低温環境下に保存することで、*T. cruzi* の増殖能および感染能が減少したことから RBC による *T. cruzi* の感染リスクは低いことが示唆された。

シャーガス病にリスクがあると考えられた日本の献血者における *T. cruzi* 抗体陽性率は、3/18,487 (0.016%)であった。遡及調査により、

T. cruzi 抗体陽性/DNA 陽性献血者由来の血液を介し、検査可能であった受血者 5 名は、*T. cruzi* の感染は認められなかった。国内における輸血による *T. cruzi* 感染はこれまでのところ確認されていない。

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) Furui Y, Ishinoda M, Sayama Y et al. THE RISK OF TRANSFUSION-TRANSMITTED CHAGAS' DISEASE IN JAPAN. 33rd International Congress of the International Society of Blood Transfusion. Seoul, 2014.

(2) SAYAMA Y, MATSUMOTO C, SOBATA R et al. EVALUATION OF SEROLOGICAL AND PCR METHODS FOR DIAGNOSIS OF CHAGAS DISEASE CAUSED BY *TRYPANOSOMA CRUZI* INFECTION. 33rd International Congress of the International Society of Blood Transfusion. Seoul, 2014.

(3) 佐山勇輔、三浦左千夫、松本千恵子、内田茂治、佐竹正博、田所憲治：日本国内におけるシャーガス病疑い例の検査経験、第 89 回日本感染症学会学術講演会、京都市、2015 年

(4) 佐山勇輔、松本千恵子、三浦左千夫、内田茂治、佐竹正博、田所憲治：輸血用血液製剤中における *Trypanosoma cruzi* の動態、第 84 回日本寄生虫学会大会、東京、2015 年

(5) 佐山勇輔、松本千恵子、三浦左千夫、瀧

崎晶宏、内田茂治、佐竹正博、田所憲治．輸血用血液製剤における *Trypanosoma cruzi* (シャーガス病)の動態．第 63 回日本輸血・細胞治療学会総会．東京都、2015 年

(6) 古居保美、輸血感染症とその安全対策 シャーガス病、第 39 回日本血液事業総会，大阪府、2015 年

(7) 佐山勇輔、山岸尚仁、松本千恵子、内田茂治、永井正、佐竹正博：輸血用血液製剤における製造および保存条件による *Trypanosoma cruzi* (シャーガス病)の動態． - 白血球除去フィルターおよび赤血球製剤を中心に - ．第 64 回日本輸血・細胞治療学会総会、京都市、2016 年

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし