HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ヒトパルボウイルスB19およびE型肝炎ウイルスによる輸血感染のリスク低減化および献血者における感染実態の解明に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	坂田, 秀勝
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(薬科学)
Dissertation Number	乙第7022号
Issue Date	2017-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/65278
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Hidekatsu_Sakata_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称　博士（ 薬科学 ）　　氏　名　　坂田　秀勝

審査担当者	主　査	教　授	松田　正
	副　査	教　授	菅原　満
	副　査	講　師	室本　竜太
	副　査	教　授	前田　伸司（北海道薬科大学）

学 位 論 文 題 名

ヒトパルボウイルス B19 および E 型肝炎ウイルスによる輸血感染のリスク低減化
および献血者における感染実態の解明に関する研究

博士学位論文審査等の結果について（報告）

献血者から得られた血液は、血清学的検査および核酸増幅検査の各種感染症検査を経て、「輸血用血液製剤」、または「血漿分画製剤」用原料血漿となる。そのため、各種感染症に対する検査法の開発、検査精度の向上が、輸血用血液の安全性確保には非常に重要である。

ヒトパルボウイルス B19（B19V）は、小児の伝染性紅斑の原因ウイルスとして広く知られており、更に免疫不全患者、妊婦などに感染した場合には、造血不全や胎児水腫が起こることも報告されている。B19V の主な感染経路は飛沫感染であるが、B19V 感染者ではウイルス血症を呈するため、献血によって輸血用血液や血漿分画製剤用原料に B19V が混入する可能性がある。また B19V はノンエンベロープウイルスで有機溶剤／界面活性剤処理等の不活化技術に抵抗性を示すため、血漿分画製剤原料に大量に混入すると除去や不活化が困難であり、感染リスクとなる。

一方、E 型肝炎は、E 型肝炎ウイルス（HEV）によって引き起こされる肝炎であり、日本では、HEV に感染した非加熱のシカ肉の摂取から E 型急性肝炎を発症した事例が報告され、現在では「食物感染」は国内の E 型肝炎症例の主要な感染経路と考えられている。また、北海道では 2002 年と 2004 年には輸血後 E 型肝炎症例が確認されているが、HEV の疫学的背景や感染経路等、未だ不明な部分が多い。

本研究は、輸血による感染リスクを有するこれら 2 種類のウイルス B19V および HEV に着目し、輸血感染のリスク低減化対策とその評価、および陽性献血者の疫学的な解析を目的としたものである。

第 1 章では、B19V 輸血感染のリスクを減らす目的で、B19V レセプター（グロボシド）を介して B19V と赤血球が凝集することを利用した血球凝集法である receptor-mediated hemagglutination assay（RHA）試薬を作製し、これを用いた B19V 抗原検査を導入した。その結果、約 0.01%の B19V DNA 陽性例を検出したことから、分画血漿プール中の B19V 混入量は明らかに減少した。その後、さらに高感度の化学発光酵素免疫測定法（CLEIA）による B19V 抗原検査（CLEIA-B19）を導入し、これが米国 FDA の基準（分画血漿プール中

の B19V 混入量および遺伝子型検出能）を満たしているかどうか検証した。B19V のすべての遺伝子型を検出できるリアルタイム PCR 法を設定し、WHO パネルの希釈系列を CLEIA-B19 と PCR で測定した。その結果、CLEIA-B19 がこれらすべての B19V 遺伝子型をほぼ同等な感度・特異性で検出可能であることを示した。また、CLEIA-B19 導入前後の分画血漿プール中の B19V 混入量を測定し、導入後のすべてのバッチが欧米諸国の基準である 4 log IU/ml 未満であることを明らかにした。さらに、B19V 陽性献血者由来 198 株の遺伝子配列を解析し、Neighbor-joining 法による分子系統樹から遺伝子型を決定した結果、北海道内の献血者ではこれまで 1 型のみが流行していたことを明らかにした。したがって、著者は CLEIA-B19 導入後の分画製剤原料血漿が米国 FDA の B19V に関する品質基準を満たしていることを示した。また、北海道における B19V の流行は 1 型によるものであるが、将来的に 2 型、3 型が輸入感染症として侵入してくる可能性があるため、すべての遺伝子型に対する CLEIA-B19 の特異性を確認した意義は大きいと言える。

第 2 章では、献血者における HEV 感染実態の解明を目的として、全国の肝機能（ALT）高値献血者を対象に、各種 HEV マーカー（抗 HEV 抗体、HEV RNA）を測定した。HEV RNA の陽性率は「東高西低」の傾向を認め、北海道が最も高かったことから、全国的に HEV 感染者は存在し、北海道は流行地域であることを明らかにした。また、既往感染を示す IgG クラスの抗体保有者は加齢とともに上昇し、過去にも HEV 感染が起きていたことを示した。さらに系統解析により、献血者由来 HEV 株が国内のブタまたは市販ブタレバー由来の HEV 株と高い類似性があることを明らかにした上で、HEV の感染経路として経口感染が疑わしいことから、食肉の流通や東西食肉文化の差が、HEV 陽性率の「東高西低」の一因である可能性を示した。

これを要するに、著者は、新規に B19V 抗原検出系を構築、製造し、献血血液スクリーニング検査法を確立した。その結果、輸血用血液製剤および血漿分画製剤の安全性を高めることに成功した。さらに、国内での HEV 感染が過去においても発生しており、3 型を中心に全国的に「東高西低」で蔓延していることを明らかにした。一部はブタの内臓肉が感染源となっている可能性を示し、献血者における HEV の感染実態について新知見を得たものである。本研究で得られた知見は、B19V あるいは HEV に起因する輸血後感染のリスク低減化ならびに今後の感染防止対策を講じるうえで貢献するところ大なるものがある。よって著者は、北海道大学博士（薬科学）の学位を授与される資格あるものと認める。