

平成22年度薬事・食品衛生審議会血液事業部会安全技術調査会（第2回）及び医薬品等安全対策部会安全対策調査会（第10回）（合同開催）

日時：平成23年3月8日（火）14：00～15：00

場所：中央合同庁舎第5号館共用第8会議室（厚生労働省6階）

議事次第：

- 1. 血漿分画製剤の核酸増幅検査結果について**
- 2. 第一回合同会議資料の一部修正等について**
- 3. その他**

平成22年度薬事・食品衛生審議会血液事業部会安全技術調査会（第2回）及び医薬品等安全対策部会安全対策調査会（第10回）

（合同開催）

配付資料一覧

資料1

資料1-1 過去の血漿分画製剤に対する核酸増幅法によるHCV遺伝子検査に関する研究

資料1-2 血漿分画製剤のHCV核酸増幅検査結果について

資料2

資料2-1 第一回合同会議資料の一部修正等について

資料2-2 エタノール分画以外の製法によるアルブミン・グロブリン製剤に関する安全性評価（株式会社ベネシス作成資料）

参考資料

参考資料1-1 第一回合同会議 当日配布資料3

参考資料2-1 資料2-2主要参考文献

厚生労働科学研究費補助金（レギュラトリーサイエンス総合研究事業）

過去の血漿分画製剤に対する核酸増幅法による
HCV 遺伝子検査に関する研究

報告書(案)

研究代表者 岡田 義昭

国立感染症研究所 血液・安全性研究部

(研究の概要)

これまでに、フィブリノゲン製剤等によるC型肝炎ウイルス (HCV) の感染については、「特定フィブリノゲン製剤及び特定血液凝固第IX因子製剤によるC型肝炎感染被害者を救済するための給付金の支給に関する特別措置法」が制定されているところである。フィブリノゲン製剤以外の過去の血漿分画製剤に対しては、製造販売業者に対し、ウイルス性肝炎又はその可能性のあった症例の提出を求めるなど、平成19年11月から厚生労働省により調査が行われた。この調査の結果については、平成22年6月23日に薬事・食品衛生審議会血液事業部会安全技術調査会と同医薬品等安全対策部会安全対策調査会の合同開催において、過去の血漿分画製剤の製造方法や症例報告の情報に基づいて評価された。

この際、企業から提出されたウイルス安全性のデータを評価するのみならず、別途現存する過去の血漿分画製剤に対し、核酸増幅検査 (NAT) により、C型肝炎ウイルス遺伝子の検査を行う必要性について検討された。

その結果、

客観的にリスクの高いもの (血液凝固因子製剤、生体接着剤等)

少なくとも製造方法の種類ごと

過去のもので、原料血漿のNAT検査が行われていない時期のもの

について、調査を行う必要性が指摘された。

本研究班では、原料血漿のNATが実施されていない時期の製剤ではあるが、製造工程でHCVは除去・不活化されており製品に混入するHCVは、混入していても極めて微量な量であると推定された。そのため、通常の血漿からのHCV検出法を用いての検出は感度的に困難であると考え、下記のような大容量からの核酸抽出法と組み合わせることで「超高感度検出法」を考案し、最終製剤からのHCV遺伝子の検出を行った。

(血漿分画製剤からのHCV検出法の概要)

1. 抽出法

HCV検出感度を向上させるために、QIAamp Circulating Nucleic Acidキット (QIAGEN社) を使用した。このキットは、試料をグアニジンによるタンパク変性とタンパク分解酵素 (proteinase K) を組み合わせてタンパクを除き、これを核酸と親和性のある膜に吸着させ、洗浄液で洗浄することによって核酸以外の夾雑物を取り除くことができ、さらにDNaseを作用させることによってDNAを除去し、高純度のRNAを得ることができる。

このキットは最大5mLの血漿から核酸抽出できる性能があるため、検査対象の血漿分画製剤を用法通りに溶解し、5mLを検査に用いた。なお、2mLの製剤は、PBSを添加して5mLとして抽出を行った。それぞれの製剤から55 μ LのRNAを抽出し、その50 μ Lを下記の増幅・検出に用いた。抽出に際しては、抽出の工程とその後の増幅・検出工程をモニターするために、コバスアンプリスクリーン HCV v2.0 キット (Roche 社) に添付されている internal control (IC) をQIAGEN社の抽出バッファーに添加して一連の操作を行った。

2. 増幅・検出法

HCV-RNAの増幅・検出には、血液のHCVスクリーニング検査に用いられているコバスアンプリスクリーン HCV v2.0 キットを使用した。核酸を増幅するためのバッファーに上記で抽出

した 50 μ L の RNA 溶液を添加し、増幅・検出を行った。

原理：抽出した HCV-RNA と IC はビオチン標識された HCV 増幅用のプライマー（IC を増幅するためのプライマーを含む）により増幅される。増幅された産物は、変性後にそれぞれ自動的に HCV の検出系と IC 検出系とに分けられ、それぞれの検出系で、磁気ビーズが付いたプローブと hybridization することによって増幅産物のみトラップされる。これに酵素を結合させたアビジンを添加すると増幅産物のプライマー部分と結合する。洗浄後に基質を加え、増幅産物と酵素と基質の反応によって発色するため、その吸光度を測定することによって HCV-RNA と IC の増幅産物の有無をそれぞれ定性するものである。

(判定)

判定は、下記のようにコバスアンプリスクリーン HCV v2.0 キットに準じる。

HCV 陽性 : HCV-RNA 陽性、

HCV 陰性 : HCV-RNA 陰性、 IC 陽性

判定保留 : HCV-RNA 陰性、 IC 陰性

結果

検査を実施した 65 ロットのうち、試験が成立した 58 ロットからは HCV 遺伝子は検出できなかった。

製剤	製造所	HCV 陽性ロット/ 検査成立ロット数	感度 (IU/5ml)	備考
ティシール (フィブリノゲン)	日本臓器	0/7	3	7 ロット
(トロンビン)		0/14	3	判定保留
クリスマシン-M	ベネシス	0/12	3	
コンコエイト-HT	ベネシス	0/6	10	
トロンビン	ベネシス	0/33	3	

- 1) 5mL の血漿及びフィブリノゲンに HCV 国内標準品を添加し、検出感度を評価した。その結果、検出感度は 3 IU/5mL とし、その 3 倍の 10IU/5mL を試験成立の条件とした。
- 2) 予備検査として、現在市販されている製品を指定されている容量に溶解後、5mL に 3 IU と 10IU の HCV をそれぞれ添加し、感度を評価した。その後、古い製剤の検査を実施した。
- 3) ティシールは、日本での販売が中止されているため感度評価のための製品が入手できなかった。そのため、日本で市販されている静注用フィブリノゲンをティシールと同濃度 (90mg/mL) に溶解して感度評価を実施した。7 ロットで判定保留となったのは、ティシールのフィブリノゲンには界面活性剤が添加されており、これが添加した IC の核酸 (短い RNA) の回収を抑制したため IC が陰性となったと推定している。
- 4) コンコエイトの検査では、ランコントロールの 3 IU が陰性のため感度は 10IU とした。

1 販売名：ティシール（ロット各1検体ずつ）

日本臓器製薬株式会社

(1) フィブリノゲン 試験実施日 平成23年2月16日（抽出）

平成23年2月17日（検出）

(2) トロンビン 試験実施日 平成23年2月 2日（抽出）

平成23年2月10日（検出）

コントロール

No.	規格	製剤成分	HCV	IC
1	陰性コントロール	フィブリノゲン トロンビン	陰性 陰性	陽性 陽性
2	ランコントロール 3 IU/5 mL	フィブリノゲン トロンビン	陽性 陽性	陽性 陽性
3	陽性コントロール 10 IU/5 mL	フィブリノゲン トロンビン	陽性 陽性	陽性 陽性
4	システムコントロール (フィブリノゲン)	-ACH +ACH	陰性 陽性	- -
5	システムコントロール (トロンビン)	-ACH +ACH	陰性 陽性	- -

ティシール

No.	規格	ロット番号 (製造日)	製剤成分	HCV	IC	判定
1	5.0mL	D001 (1994.11)	フィブリノゲン トロンビン	陰性 陰性	陰性 陽性	判定保留 陰性
2	5.0mL	D002 (1995.1)	フィブリノゲン トロンビン	陰性 陰性	陽性 陽性	陰性 陰性

3	2.0mL	C042 (1994.5)	フィブリノゲン トロンビン	陰性 陰性	陰性 陽性	判定保留 陰性
4	2.0mL	C043 (1994.6)	フィブリノゲン トロンビン	陰性 陰性	陽性 陽性	陰性 陰性
5	2.0mL	C044 (1994.7)	フィブリノゲン トロンビン	陰性 陰性	陰性 陽性	判定保留 陰性
6	2.0mL	C045 (1994.8)	フィブリノゲン トロンビン	陰性 陰性	陽性 陽性	陰性 陰性
7	2.0mL	C046 (1994.11)	フィブリノゲン トロンビン	陰性 陰性	陽性 陽性	陰性 陰性
8	2.0mL	C047 (1994.12)	フィブリノゲン トロンビン	陰性 陰性	陰性 陽性	判定保留 陰性
9	2.0mL	C048 (1995.2)	フィブリノゲン トロンビン	陰性 陰性	陰性 陽性	判定保留 陰性
10	2.0mL	C049 (1995.4)	フィブリノゲン トロンビン	陰性 陰性	陽性 陽性	陰性 陰性
11	2.0mL	C050 (1995.4)	フィブリノゲン トロンビン	陰性 陰性	陰性 陽性	判定保留 陰性
12	2.0mL	C051 (1995.6)	フィブリノゲン トロンビン	陰性 陰性	陰性 陽性	判定保留 陰性
13	2.0mL	C052 (1995.10)	フィブリノゲン トロンビン	陰性 陰性	陽性 陽性	陰性 陰性
14	2.0mL	C053 (1995.10)	フィブリノゲン トロンビン	陰性 陰性	陽性 陽性	陰性 陰性

2 販売名：クリスマシン-M (献血由来)

株式会社ベネシス

試験実施日

平成23年2月14日 (抽出)

平成23年2月15日 (検出)

コントロール

No.	規格	製剤成分	HCV	IC
1	陰性コントロール	血液凝固 第IX因子	陰性	陽性
2	ランコントロール 3 IU/5 mL	血液凝固 第IX因子	陽性	陽性
3	陽性コントロール 10 IU/5 mL	血液凝固 第IX因子	陽性	陽性
4	システムコントロール	-ACH +ACH	陰性 陽性	- -

No.	規格	ロット番号 (製造日)	製剤成分	HCV	IC	判定
1	1000U	B006MXB (1997.10)	血液凝固 第IX因子	陰性	陽性	陰性
2	1000U	B007MXB (1998.1)	血液凝固 第IX因子	陰性	陽性	陰性
3	1000U	C008MXB (1998.3)	血液凝固 第IX因子	陰性	陽性	陰性
4	1000U	C010MXB (1998.12)	血液凝固 第IX因子	陰性	陽性	陰性
5	1000U	D011MXB (1999.3)	血液凝固 第IX因子	陰性	陽性	陰性
6	1000U	D012MXB (1999.10)	血液凝固 第IX因子	陰性	陽性	陰性
7	1000U	E013MXB (2000.5)	血液凝固 第IX因子	陰性	陽性	陰性
8	1000U	E014MXB (2000.10)	血液凝固 第IX因子	陰性	陽性	陰性
9	1000U	E015MXB (2001.1)	血液凝固 第IX因子	陰性	陽性	陰性
10	1000U	F016MXB (2001.4)	血液凝固 第IX因子	陰性	陽性	陰性
11	1000U	F017MXB (2001.8)	血液凝固 第IX因子	陰性	陽性	陰性

1 2	1000U	F018MXB (2001.12)	血液凝固 第IX因子	陰性	陽性	陰性
-----	-------	----------------------	---------------	----	----	----

3 販売名：コンコエイト-HT (献血由来)
株式会社ベネシス

試験実施日 平成23年2月25日 (抽出)
平成23年2月25日 (検出)

コントロール

No.	規格	製剤成分	HCV	IC
1	陰性コントロール	血液凝固 第IX因子	陰性	陽性
2	ランコントロール 3 IU/5 mL	血液凝固 第IX因子	陰性	陽性
3	陽性コントロール 10 IU/5 mL	血液凝固 第IX因子	陽性	陽性
4	システムコントロール	-ACH +ACH	陰性 陽性	- -

No.	規格	ロット番号 (製造日)	製剤成分	HCV	IC	判定
1	500U	B001SXB (1997.11)	血液凝固 第VIII因子	陰性	陽性	陰性
2	500U	C002SXB (1998.10)	血液凝固 第VIII因子	陰性	陽性	陰性
3	500U	D003SXB (2000.2)	血液凝固 第VIII因子	陰性	陽性	陰性
4	500U	F004SXB (2001.8)	血液凝固 第VIII因子	陰性	陽性	陰性
5	500U	G005SX (2002.7)	血液凝固 第VIII因子	陰性	陽性	陰性
6	500U	G006SX (2002.7)	血液凝固 第VIII因子	陰性	陽性	陰性

4 販売名：トロンビン-ミドリ (献血由来)

株式会社ベネシス

試験実施日： 平成23年1月26日 (抽出)：ロット B005VX～F021VX (17ロット)
 平成23年1月27日 (抽出)：ロット F022VX～J019HX (16ロット)
 平成23年1月27日 (検出)：ロット B005VX～F021VX (17ロット)
 平成23年1月28日 (検出)：ロット F022VX～D008HX (9ロット)
 平成23年2月 3日 (検出)：ロット D009HX～G014HX (5ロット)
 平成23年2月10日 (検出)：ロット G015HX～J019HX (2ロット)

コントロール (第1回目：平成23年1月27日 (検出)：ロット B005VX～F021VX)

No.	規格	製剤成分	HCV	IC
1	陰性コントロール	トロンビン	陰性	陽性
2	ランコントロール 3 IU/5 mL	トロンビン	陽性	陽性
3	陽性コントロール 10 IU/5 mL	トロンビン	陽性	陽性
4	システムコントロール	-ACH +ACH	陰性 陽性	- -

コントロール (第2回目：平成23年1月28日 (検出)：ロット F022VX～D008HX)

No.	規格	製剤成分	HCV	IC
1	陰性コントロール	トロンビン	陰性	陽性
2	ランコントロール 3 IU/5 mL	トロンビン	陽性	陽性
3	陽性コントロール 10 IU/5 mL	トロンビン	陽性	陽性
4	システムコントロール	-ACH +ACH	陰性 陽性	- -

コントロール (第3回目：平成23年2月 3日 (検出)：ロット D009HX～G014HX)

No.	規格	製剤成分	HCV	IC
1	システムコントロール	-ACH +ACH	陰性 陽性	- -

コントロール (第4回目:平成23年2月10日 (検出):ロットG015HX~J019HX)

No.	規格	製剤成分	HCV	IC
1	システムコントロール	-ACH +ACH	陰性 陽性	- -

No.	規格	ロット番号 (製造日)	製剤成分	HCV	IC	判定
1	1万U	B005VX (1998.9)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
2	1万U	C006VXA (1999.2)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
3	1万U	C007VX (1999.3)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
4	1万U	C008VX (1999.4)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
5	1万U	C009VX (1999.5)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
6	1万U	C010VX (1999.8)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
7	1万U	C011VX (1999.10)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
8	1万U	D012VX (1999.12)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
9	1万U	D013VX (2000.3)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
10	1万U	D014VX (2000.6)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
11	1万U	D015VX (2000.8)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
12	1万U	D016VX (2000.9)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
13	1万U	E017VX (2001.2)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
14	1万U	E018VX (2001.5)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
15	1万U	E019VX (2001.8)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
16	1万U	E020VX (2001.10)	トロンビン	陰性	陽性	陰性

17	1万U	F021VX (2002.1)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
18	1万U	F022VX (2002.2)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
19	1万U	F023VX (2002.6)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
20	1万U	F024VX (2002.9)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
21	1万U	F025VX (2002.11)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
22	1万U	G026VX (2003.1)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
23	1万U	H029VX (2004.1)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
24	1万U	C006HX (1999.6)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
25	1万U	C007HX (1999.11)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
26	1万U	D008HX (2000.6)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
27	1万U	D009HX (2000.9)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
28	1万U	E011HX (2001.6)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
29	1万U	E012HX (2001.11)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
30	1万U	F013HX (2002.6)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
31	1万U	G014HX (2003.1)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
32	1万U	G015HX (2003.8)	トロンビン	陰性	陽性	陰性
33	1万U	J019HX (2005.4)	トロンビン	陰性	陽性	陰性

血漿分画製剤のHCV核酸増幅検査結果について

○試験検体

販売名：ベリプラスPコンビセット

製造年月：2006年7月

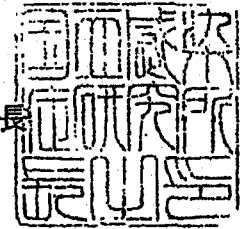
主なHCV安全対策：原料血漿へのHCV-NAT検査及び液状加熱処理（60℃、10時間）

感染研行第07068号

平成23年2月-3日

厚生労働省医薬食品局安全対策課長 殿

国立感染症研究所長



血漿分画製剤に係るC型肝炎ウイルスの核酸増幅検査の実施について (回答)

平成22年7月14日付薬食安発0714第3号をもって依頼のありました
標記について、別添のとおり報告いたします。



試験検査成績書

1. 依頼者：厚生労働省医薬食品局安全対策課
2. 試験検査の名称
「ベリプラスト P コンビセット」製造番号 6 K018C6 F0 1
上記血漿分画製剤からの核酸増幅法を用いた C 型肝炎ウイルス遺伝子の
検出
3. 検体の種類と数量
「ベリプラスト P コンビセット」製造番号 6 K018C6 F0 1
3mL 製剤（フィブリノゲンとトロンビン各 1 本から構成）計 4 キット
4. 試験法
3mL 製剤 2 キットを溶解し、フィブリノゲン 5mL、及びトロンビン 5mL
から C 型肝炎ウイルス遺伝子の検出を行なった。
試験法の概要は別紙 2 参照。
5. 試験検査成績
1 回目：陰性（3IU/5mL を検出できる測定系において感度未満）
2 回目：陰性（3IU/5mL を検出できる測定系において感度未満）
詳細は別紙 1 参照。

別紙1 試験結果

1. 1回目(平成23年1月21日実施)

製剤		HCV 遺伝子	IC
陰性コントロール	フィブリノゲン	陰性	陽性
	トロンビン	陰性	陽性
ランコントロール (3IU/5mL)	フィブリノゲン	陽性	陽性
	トロンビン	陽性	陽性
陽性コントロール (10IU/5mL)	フィブリノゲン	陽性	陽性
	トロンビン	陽性	陽性
検体 (6K018C6F01)	フィブリノゲン	陰性	陽性
	トロンビン	陰性	陽性

IC: インターナルコントロール

2. 2回目(平成23年1月24日実施)

製剤		HCV 遺伝子	IC
陰性コントロール	フィブリノゲン	陰性	陽性
	トロンビン	陰性	陽性
ランコントロール (3IU/5mL)	フィブリノゲン	陽性	陽性
	トロンビン	陽性	陽性
陽性コントロール (10IU/5mL)	フィブリノゲン	陽性	陽性
	トロンビン	陽性	陽性
検体 (6K018C6F01)	フィブリノゲン	陰性	陽性
	トロンビン	陰性	陽性

IC: インターナルコントロール

別紙 2

ベリプラスト P コンビセットに関する HCV 検出法の概要

(始めに)

本試験法は、ベリプラスト P コンビセット (以下「ベリプラスト」という。) の最終製品から RT-PCR 法により高感度に HCV-RNA を検出するために構築し、ベリプラストを構成するフィブリノゲン末とトロンビン末にそれぞれ希釈した HCV 国内標準品 (日本輸血学会雑誌、第 51 巻.515-519.2005) を添加して検出感度を評価した方法である。試験法は、RNA の抽出法と遺伝子の増幅・検出法の 2 つから構成され、製品中の HCV-RNA の検出を行うものである。

(抽出法)

HCV 検出感度を向上させるために、QIAamp Circulating Nucleic Acid キット (QIAGEN 社) を使用した。このキットは、試料をグアニジンによるタンパク変性とタンパク分解酵素 (proteinase K) を組み合わせてタンパクを除き、これを核酸と親和性のある膜に吸着させ、洗浄液で洗浄することによって核酸以外の夾雑物を取り除くことができ、さらに DNase を作用させることによって DNA を除去し、高純度の RNA を得ることができる。

このキットは最大 5mL の血漿から核酸抽出できる性能があるため、ベリプラスト製剤のフィブリノゲン末とトロンビン末をそれぞれ用法通りに溶解した 5mL の検体から、それぞれ 55 μ L の RNA 溶液を抽出し、その 50 μ L を下記の増幅・検出に用いる。抽出に際しては、抽出の工程とその後の増幅・検出工程をモニターするために、コバスアンプリスクリーン HCV v2.0 キット (Roche 社) に添付されている internal control(IC)を添加した抽出バッファーを用いて行なう。

(増幅・検出法)

HCV-RNA の増幅・検出には、血液の HCV スクリーニング検査に用いられているコバスアンプリスクリーン HCV v2.0 キットを使用した。核酸を増幅するためのバッファーに上記で抽出した 50 μ L の RNA 溶液を添加し、装置にセットすると自動的に増幅・検出が行なわれる。

原理は、抽出した HCV-RNA と IC はビオチン標識された HCV 増幅用のプライマー (IC を増幅するためのプライマーを含む) により増幅される。増幅された産物は、変性後にそれぞれ自動的に HCV の検出系と IC 検出系とに分けられ、

それぞれの検出系で、磁気ビーズが付いたプローブと hybridization することによって増幅産物のみトラップする。これに酵素を結合させたアビジンを添加すると増幅産物のプライマー部分と結合する。洗浄後に基質を加え、増幅産物と酵素と基質の反応によって発色するため、その吸光度を測定することによって HCV-RNA と IC の有無をそれぞれ定性する。

(判定)

判定は、下記のようにコバスアンプリスクリーン HCV v2.0 キットに準じる。

HCV 陽性 : HCV-RNA 陽性

HCV 陰性 : HCV-RNA 陰性、 IC 陽性

判定保留 : HCV-RNA 陰性、 IC 陰性

判定保留の場合は、試験不成立のため再試験とする。

(試験)

1) 1回の試験に必要な検体及びコントロールの本数

陰性コントロール-1 (陰性フィブリノゲン末 1本)

陰性コントロール-2 (陰性トロンビン末 1本)

ランコントロール-1 (陰性フィブリノゲン末に 3 IU の HCV を添加した物 1本)

ランコントロール-2 (陰性トロンビン末に 3 IU の HCV を添加した物 1本)

陽性コントロール-1 (陰性フィブリノゲン末に 10 IU の HCV を添加した物 1本)

陽性コントロール-2 (陰性トロンビン末に 10 IU の HCV を添加した物 1本)

HCV 検査を行う製剤-1 (フィブリノゲン末 2本) *

HCV 検査を行う製剤-2 (トロンビン末 2本) *

陰性コントロールは、本検出法で陰性を確認したベリプラストと同一ロットを使用し、ランコントロールと陽性コントロールは陰性を確認したベリプラストと同一ロットに希釈した HCV 国内標準品を添加したもの。

* : 検査検体は 3mL 製剤であるため、1回実施のために各 2本使用した。

2) 抽出および増幅・検出

抽出 : QIAamp Circulating Nucleic Acid キット (QIAGEN 社)

増幅・検出：HCV コバスアンプリスクリーン HCV v2.0 キット (Roche 社)

3) 判定

陽性：HCV が陽性

陰性：HCV が陰性、IC が陽性、陽性コントロールが陽性

判定保留：HCV が陰性、IC が陰性

又は、IC が陽性であっても陽性コントロール陰性

判定保留の場合は、試験不成立のため再試験を実施する。

以上の試験を日を変えて2回実施し、それぞれの結果を報告した。

(参考資料)

上記検査法の実施にあたり、血漿とベリプラストでは組成が異なることから、ベリプラスト及び静注用フィブリノゲン 5mL にそれぞれ 1~30IU に希釈した HCV 国内標準品を添加し、検出感度を求めた。

1) フィブリノゲンにおける感度評価

市販されている静注用フィブリノゲン (ベリプラストのフィブリノゲンと同じ 80mg/mL に溶解したもの) に希釈した HCV 国内標準品を添加し、検出感度を求めた。

静注用フィブリノゲン：3 IU 100%陽性

(IC 4 μ L と HCV3 IU を添加した場合：10回の試験で10回陽性)

IC 6 μ L と HCV3 IU を添加した場合：10回の試験で10回陽性)

2) ベリプラストにおける感度評価

市販されているベリプラスト (5mL 規格) のフィブリノゲンとトロンビンを 5mL に溶解し、HCV 国内標準品を添加して検出感度を求めた。(各濃度1回ずつ測定した)

フィブリノゲン：0 IU	陰性	トロンビン：0 IU	陰性
1 IU	陰性	1IU	陽性
3 IU	陽性	3IU	陽性
10 IU	陽性	10IU	陽性
30 IU	陽性	30IU	陽性

資料 2-1 第一回合同会議資料の一部修正等について

1. エタノール分画以外の製造方法の記載不備について

○平成22年6月23日合同会議 資料1-8 製造工程等一覧において、一部製剤で胎盤由来製造方法の記載を追記

- ・13 アルブミン-ヨシトミ/アルブミン-Wf (1971-1990年に胎盤血由来を追記)
- ・29 ヴェノグロブリン (1976-1983年に胎盤血由来を追記)
- ・グロブリン-Wfの追記 (同じく1965-1989年に胎盤血由来を使用していたため一覧に追記)

2. その他修正について

○平成22年6月23日合同会議 資料1-2 企業、医薬食品局が保有していた血漿分画製剤とウイルス性肝炎症例等に関する調査結果の精査について (説明資料)

・資料5頁

誤	正
1978～1979年のドイツ及びアイルランドで見られたコーン分画法ではない製造方法での筋注用抗D免疫グロブリン使用によるHCV感染事例と、1994年に回収措置のとられたガンマガードによるHCV感染事例～	1978～1979年のドイツ及びアイルランドで見られたコーン分画法ではない製造方法での静注用抗D免疫グロブリン使用によるHCV感染事例と、1994年に回収措置のとられたガンマガードによるHCV感染事例～

○平成22年6月23日合同会議 資料1-8 副作用等報告のあった製剤の製造工程等一覧

- ・46 サングロポールに関するHBV血清学的検査実施時期について、HBs抗原検査実施時期1983年を1985年に訂正

以上

※上記修正に係る資料を以降に添付。2. の製造工程一覧の守勢箇所は太枠罫線で枠囲み
※参考記事を最終24ページに添付

企業、医薬食品局が保有していた血漿分画製剤と
ウイルス性肝炎症例等に関する調査結果の精査について
(説明資料)

1. 特定製剤以外の血漿分画製剤の精査の経緯・内容について

平成20年4月30日に厚生労働省医薬食品局より標題の調査結果について公表(資料1-1)したところであるが、この調査は、

- I 企業が医療機関から収集・保有していた症例に関する調査について
- II 医薬食品局が医療機関から報告を受けて保有していた症例情報に関する調査について

から構成されていた。精査を行うとした内容については次のとおりである。

Iについて

- (1) 特定製剤以外の血漿分画製剤を投与していたところ、投与された製剤と肝炎症状との関連は薄い、或いは不明ではあるが(1例を除く。)、ウイルス性肝炎又はその可能性のある症例として企業が医療機関から収集したもの135例が報告されている。

これら症例については、症状の経過、投与製剤の肝炎ウイルス安全対策(ドナースクリーニング、ウイルス除去・不活化処理等)及び投与製剤と同一ロット製剤での報告の有無等を踏まえ、製剤投与と肝炎ウイルス感染との関連について整理結果を示しているが、当該整理結果を専門家に内容精査いただくとしていた。

- (2) 上記(1)の135例以外に川崎病治療やCIDP(慢性炎症性脱髄性多発神経炎)治療に対する免疫グロブリンの大量投与による肝機能検査値上昇等の報告など、当該製剤による副作用として一般的に知られているものや、肝炎ウイルス安全対策が施されている製剤に係る報告が相当数含まれるものではあるが、血漿分画製剤投与後の肝機能検査値(GOT、GPT等)上昇等の症例が1,502例報告されている。

これらの製剤に係る肝炎ウイルス安全対策の現状等を踏まえれば、多くの症例は、肝炎ウイルス感染の可能性は低いのではないかと考えられるが、報告症例の一部に古い時期の症例もあることから、念のため、それらの報告について専門家に内容を精査いただく予定としていた。

IIについて

- (1) 特定製剤以外の血漿分画製剤の投与例であって、投与製剤との関連は不明ではあるが、ウイルス性肝炎又はその可能性のある症状に関する記載があったもの5例。

これら製剤の投与とウイルス性肝炎との関連について、専門家に内容を精査いただく予定としていた。

- (2) 特定製剤以外の血漿分画製剤を投与していたところ肝機能検査値上昇等がみられたとの記載があったもの7例。

I (2) に示す症例と同様、専門家により精査いただく予定としていた。

今般、上記の内容について、精査を行ったところ以下の通り。

2. 精査について

I (1) の135例について (資料1-4)

平成20年4月の整理結果は資料1-1に記載があるが、概要は次のとおり。

- [1] 血漿分画製剤の投与と肝炎ウイルス感染との関連が否定できないと考えられる症例…1(0)

「コーナインHT」(1986年 不適切な製法の製剤 B型肝炎事例)

- [2] 血漿分画製剤の投与と肝炎ウイルス感染との関連が極めて薄いと考えられる症例…79(63)

アルブミン製剤、グロブリン製剤、トロンビン製剤、アンチトロンビン製剤、ハプトグロビン製剤、血液凝固XⅢ因子製剤、生体組織接着剤

- [3] 血漿分画製剤の投与と肝炎ウイルス感染との関連が認められないと考えられる症例…28(25)

アルブミン製剤、グロブリン製剤、血液凝固XⅢ因子製剤、生体組織接着剤

- [4] 報告情報からは当該製剤と肝炎ウイルス感染との関連の評価が困難と考えられる症例…27(22)

コンコエイトHT、ヘモフィルM、コーエイト、アルブミン製剤、グロブリン製剤

注) ()内は、C型肝炎(疑いを含む。)と報告された症例数で、C型肝炎ウイルス抗体検査陽性の症例のみならず、単にC型肝炎との症例や、非A非B肝炎(又はその疑い)と報告された症例を含む。

これらについて、整理を行った際の、個別の症例毎の製剤とウイルス性肝炎の関連に

については、資料1-4のとおりである。

[1][2][3]の症例については、精査の結果、上記の整理結果を変更すべきと考えられる症例は見当たらなかった。

また、[4]として、関連評価が困難とされる27症例については、さらにI(2)の1,498例の精査における血漿分画製剤とウイルス性肝炎との安全性評価と併せ、改めて評価すると、さらに次のように分類可能と考えられた。分類の結果、なお製剤との関連評価が困難とされた製剤は、ガンマガードの識別番号84、85を除き、いずれも既に受診勧奨の対象とされ、納入医療機関の公表を実施している製剤であった。

1) 血漿分画製剤投与と肝炎ウイルス感染との関連が極めて薄いと考えられる症例

- ・液状加熱処理により製造された血液凝固第Ⅷ因子(1例) 識別番号7
- ・SD処理により製造された血液凝固第Ⅷ因子(3例) 識別番号10, 11, 12
- ・アルブミン製剤(3例) 識別番号31, 34, 35
- ・グロブリン製剤(9例) 識別番号47, 53, 55, 61, 65, 76, 79, 83, 86

.....16例

※アルブミン製剤、ガンマガードを含むグロブリン製剤の評価については後に述べる。

2) 製剤との関連評価が困難と考えられる症例9例

(1) コンコエイト HT (8例)

肝炎ウイルス不活化に一般に効果が高いと考えられる液状加熱処理(60℃/10時間)が1988年に導入される以前の製剤については、乾燥加熱処理(60℃/72時間)が行われていたものである。乾燥加熱処理によるウイルス不活化については、温度・時間のみならず、対象物の含湿度やタンパク質濃度、安定作剤の添加等により効果に大きな差が生じることが知られている。例えばミドリ十字社により製造されていたフィブリノゲンの乾燥加熱処理(60℃/96時間)では、現在HCVのモデルウイルスとして主に用いられるBVDVに対し、ウイルス低減率(Log Reduction Factor)は1.8、60℃、72時間では0.0と報告(平成15年7月25日三菱ウェルファーマ報告書)されており、それら乾燥加熱によるHCV不活化効果は限定的と考えられる。一方、コンコエイト HTの乾燥加熱処理(60℃/72時間)では、BVDVに対して5.3以上、BHVに対して5.0のウイルス低減率が得られるとされており、当該乾燥加熱処理製剤における感染リスクは相当に減じられていたものと考えられる。ただし、第Ⅷ因子製剤はクリオプレシピテートを原材料としておりコーンの低温エタノール分画によるウイルス除去・不活化効果は期待できない。また、液状加熱が導入される1988年までの使用者数は各年毎の累計で約5,000人程度とされるが、多くの患者は反復使用され、また、本剤の承認前から他の血液凝固因子製剤が使用されるなどしていることから、疫学的な安全性評価も困難であり、本剤投与とウイルス性肝炎の関連については評価不能と考えられた。なお、乾燥加熱処理によるコンコエイト HTは、既に肝炎ウイルス検査に係る受診勧奨の対象として、納入医療機関の公表を行っている。

(2) コーエイト (1例)

1985年には製造が中止されている製剤であり、原料血漿や製品でのHBs抗原検査は実施されているものの、それ以外に有効な肝炎ウイルスの除去・不活化処理は行われておらず、ウイルス感染リスクを否定できないと考えられるが、使用患者においては輸血、本剤投与前の他の血液凝固因子製剤投与などの可能性もあり、評価不能とした。なお、本剤は、既に肝炎ウイルス検査に係る受診勧奨の対象として、納入医療機関の公表を行っている。

I (2) について

企業から提出された資料のうち、ウイルス性肝炎又はその可能性があるとしてされた135例以外のものであり、川崎病治療やCIDP（慢性炎症性脱髄性多発神経炎）治療に対する免疫グロブリンの大量投与による肝機能検査値上昇等の報告など、当該製剤による副作用として一般的に知られているものや、肝炎ウイルス安全対策が施されている製剤に係る報告が相当数含まれるものではあるが、一部に古い時期の症例もあることから、念のため精査を行うとしたものである。

資料1-1にも述べられているように、これらの副作用報告例は、ウイルス性肝炎マーカーが投与を挟んで陽転化した症例ではなく、肝機能検査値異常の症例がほとんどである。多くの血漿分画製剤については、肝機能検査値異常の副作用が一般的に認められており、これら血漿分画製剤が投与される病態において肝機能検査値異常はまれな所見ではない。また、通常的一般検診者（人間ドック受診40歳以上の男女）においても、10%内外のGPT異常が見られるとされる報告もあること、さらに、投与前後の詳細な検査値の推移等がない症例がほとんどであり、臨床検査値や肝炎、肝機能異常等の副作用名だけでは、ウイルス性肝炎の判断は極めて困難であった。このため、先の135例の整理と同様、副作用報告が行われている血漿分画製剤の製造方法を踏まえて肝炎ウイルスに対する安全性の評価を行うことにより、精査を実施した。

なお、製剤毎の報告症例の多寡については、そもそもの販売数量、使用成績調査等の積極的調査の実施有無や実施規模によっても大きく異なるため、一概に症例数の多寡でのウイルス安全性評価は困難である。

1) コーンの低温エタノール分画法を基にウイルス安全性評価を行い得る製剤

一部の例外を除いて、血漿分画製剤は、別添1-1、別添1-2に示すようなコーン分画法により製造されることが一般的である。

この製造方法は、必要な画分/上清を得るためにアルコールによる分離処理を繰り返し実施するものであり、この分画工程において一定のウイルス除去・不活化効果が得られる。コーン分画法と血漿分画製剤のウイルス安全性については、これまでも様々な報告があることから、当該製法との関連により血漿分画製剤の分類毎に一定の安全性評価が可能と考えられる。

このような知見に基づき、コーン分画法により製造されるアルブミン及びグロブリン製剤に関する安全性評価について以下のように考察した。

(1) アルブミン製剤 (資料 1-8 の 11~22 の製剤)

アルブミン製剤については、コーン分画法により、最下流の画分である画分 V または IV から製造されるものである。

アルブミン製剤は本製造工程により、分画工程のみでもウイルス除去が行われる他、熱安定性も高いことから、当初より液状加熱処理 (60°C/10 時間) も行われている。コーン分画法と液状加熱処理により製造されたアルブミン製剤に関しては、肝硬変、熱傷、ネフローゼなどの疾患に広く使用されているが、ウイルス性肝炎の感染を生じたとの報告は確認されておらず、B 型及び C 型肝炎に対する感染リスクは極めて低いと考えられる。

(2) 免疫グロブリン製剤 (資料 1-8 の 23~50 の製剤)

免疫グロブリン製剤については、筋注用グロブリン、静注用グロブリンともに、コーン分画法により画分 II 又は画分 II + III から製造される。静注用グロブリンはこれらの画分からポリエチレングリコール処理やスルホ化処理、ペプシン処理などの工程を経て製造される。

製品毎に、製造条件、試験条件等が異なるため、ウイルスクリアランスの数値が異なるが、通常、画分 II にいたるまでに BVDV で 4 程度以上のウイルス低減率が得られる他、製品によって、PEG 処理やイオン交換クロマトグラフィー処理等のウイルスリダクション効果が得られる工程が組み合わされる。さらに、現在は通常、ウイルス除去膜処理、SD 処理、加熱処理等のウイルスの除去・不活化を目的とした工程が含まれる。

免疫グロブリン製剤は古くから、無又は低ガンマグロブリン血症や、重症感染症一般、麻しんや A 型肝炎に使用されており、製品によって、特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) や川崎病、慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー (CIDP) やギランバレー症候群等にも使用される他、B 型肝炎や破傷風など特定の抗体投与を目的とした製剤も使用されており、免疫グロブリン製剤のウイルス性肝炎感染リスクに関する文献報告なども多く公表されている。それらの広範で長年の使用実績の中で、これまでに市販された免疫グロブリン製剤での HCV 感染は、1978~1979 年のドイツ及びアイルランドで見られたコーン分画法ではない製造方法での静注用抗 D 免疫グロブリン使用による HCV 感染事例と、1994 年に回収措置のとられたガンマガードによる HCV 感染事例とされており、これら以外には、過去に、市販された免疫グロブリンで一般に HCV 感染は確認されておらず、免疫グロブリン製剤の肝炎ウイルス感染リスクについては、極めて低いと考えられる。

《 「ガンマガード」について 》

静注用免疫グロブリン製剤であるガンマガードについては、1994 年に海外で HCV

感染報告が見られたため、全世界で回収措置が講じられており、わが国でも1994年2月に自主回収措置が講じられている。

わが国で使用された免疫グロブリン製剤のうち、HCV感染が確認されたとされる唯一の製品でもあることから、改めて、当時の状況、報告を確認したところ、本剤については、1994年の自主回収の際に、全納入医療機関に対し自主回収措置が講じられ、13ロット8,000本余りが回収されるとともに、医療機関への感染疑い者の有無の調査、一部医療機関ではHCV抗体検査の実施、保管製剤でのHCV-PCR検査が行われ、それらの状況は当時の厚生省にも報告された。当該報告によれば、国内では感染者は確認されず、また、保管製剤に対するHCV-PCR検査では全ロットでウイルスは検出されなかったとされている。

ただし、今回の肝炎関連症例調査において、135例中のNo.84、85が回収時期に合致する症例であり、特にNo.84は、投与前未検査から投与後抗HCV抗体陽性が確認されている症例であるため、当時の調査状況を確認したところ、回収当時の厚生省（当時）への調査報告には含まれていなかった。これについて報告企業は、「投与3年前の抗HCV抗体検査の陰性結果は偽陰性であり、従来からの感染である」との医師見解が確認された症例No.85と同一症例であり、No.84の詳細調査結果がNo.85と考えられたが、社内記録では確認できないため今回の症例調査への報告に含めたとされており、改めて、該当すると考えられる医療機関への調査も行ったが、医療機関の診療記録も処分されており、状況が確認できないとのことであった。

当時のガンマガードのHCV感染についてはその後、詳細に調査・評価されている。当該詳細調査によれば、ドナーの抗HCV抗体スクリーニングを第2世代抗体検査により実施した製剤ロットの一部でHCV感染が発生したとされており、当時のドナーのうち、その後の追跡により、HCV感染が判明したドナー由来の血漿が含まれる製剤3ロットの特定等の調査も行われていることから、再度、国内供給ロットとの関係を確認したところ、第2世代抗HCV抗体スクリーニングによるガンマガードは1993年8月以降、国内に3ロット供給されているが、うち1ロットは原料血漿プールがその3ロットの1つと共通していることが判明した。（原料血漿はそれぞれ2つのプール血漿から製造されており、共通するのはうち1プール血漿のみ。また、最終製品に関し、プール血漿の1つが国内製品と共通し、海外で感染が発生したとされるロットにHCV-RNAが検出される一方、国内のロットでは、製品中にHCV-RNAは検出されていない。）

当時回収の対象としたロット（抗体検査法に関係なく）について、国内ではあわせて約80,000本が使用され、そのうち、上記の原料血漿プールが共通する第2世代抗HCV抗体スクリーニングによる1ロットの使用は約5,000本、その他の第2世代抗HCV抗体スクリーニングによる2ロットの使用は約6,000本と推定されている。当時の全納入機関への調査によって、国内感染例の報告はなかったとされているが、投与患者に対する抗体検査が一部機関にとどまっており、また、製剤中にHCVが検出され、感染事例が確認された海外のロットと原料血漿が一部共通していた国内の1ロットを含め、国内に流通した3ロットはHCV-PCRで陰性が確認されていることか

ら、海外で HCV 感染が確認されたロットに比較して感染リスクは低いと考えられ、あるいは、リスクがない可能性も考えられるが、完全に否定することはできず、その一部にのみ感染が生じていたような場合、当時の調査では十分に確認できていなかった可能性もある。また、No.84、85 の症例での本剤による感染を否定する症例の経過や医師所見が正確なものか現時点では記録上確認できない状況となっている。

これらの状況から当該製剤については、第 2 世代抗体スクリーニング導入前の製剤に関しては、ウイルスクリアランス数値は低いものの、従来よりウイルス性肝炎に対し安全とされるとともに、第 1 世代抗体スクリーニング導入前の製品に対しても感染調査等によって安全性評価がなされた上で、感染が第 2 世代抗体スクリーニング製品に由来とすると報告されていることから、それら製剤の感染リスクは低いと考えられるが、No.84、85 の症例に関しては、第 2 世代抗体検査の海外での感染報告のある製剤と共通する原料血漿プールが使用された 1 ロット、あるいは、その他の第 2 世代抗体スクリーニングによるロットの投与の可能性も否定できず、現在確認できる状況からは、評価が不能と言わざるを得ない。

以上のように、当時の調査、検査結果から感染が生じていない可能性も高いが、第 2 世代抗体スクリーニングによるロットの使用の一部に感染が発生していた可能性も明確に否定できないこと。そのような場合には、当時の調査では十分把握しきれていない可能性もある。(平成 6 年当時の回収は約 700 施設を対象に行われているが、第 2 世代抗体検査製品の国内納入先は 427 施設とされている)

【念のための、受診勧奨の必要性があるか】

2) アルブミン、グロブリン以外の製剤

(1) 血液凝固第Ⅷ、Ⅸ因子製剤 (資料 1-8、1~7 の製剤)

資料 1-8 に一覧を示したとおりであり、副作用報告のあったもののうち、液状加熱処理 (60℃/10 時間)、SD 処理、ウイルス除去膜処理が行われているもののウイルス性肝炎感染リスクは極めて低いと考えられるが、次に挙げる製剤については、これまでもウイルス性肝炎検査の受診勧奨が行われているものである。

コンコエイト HT については、2. I. 2) (1) に述べた通り、肝炎ウイルスの不活化に有効な乾燥加熱処理 (60℃/72 時間) が行われており、感染リスクは相当に減じられていたものと考えられる。

コンファクト F については、乾燥加熱処理 (65℃/96 時間) が行われており、BVDV で 5.2 以上のウイルス低減率が得られている他、この乾燥加熱処理条件はチンパンジーを用いた NANB 肝炎感染実験によって、肝炎ウイルスの不活化に有効であることが確認されており、本製剤の感染リスクは相当に低いと考えられるものである。

また、参考であるが、コーナイン HT についても乾燥加熱処理 (68℃/72 時間) が行われており、Sindbis ウイルスにおいて、4.0 以上のウイルス低減率が確認されている他、チンパンジーを用いた NANB 肝炎感染実験により、肝炎ウイルスの不活化に有効であることが確認されている。

以上から、下記の 5 製剤の中でも、加熱処理により一定の不活化が推定されるコン

コエイト HT、コンファクト F 及びコーナイン HT と、有効な不活化処理が行われていないプロフィレート及びコエイトでは感染リスクは異なると考えられるが、これら製剤の効能・効果を踏まえると使用患者数は限られており、使用状況、報告状況からこれらの相違を把握することも困難である。なお、本剤は、既に肝炎ウイルス検査に係る受診勧奨の対象として、納入医療機関の公表を行っている。

- ア) コンコエイト HT・・・液状加熱処理 (60℃/10 時間) 導入前の製剤 (11 例)
- イ) コンファクト F・・・ウイルス除去膜 (35nm) 処理導入前の製剤 (1 例)
- ウ) コーナイン HT・・・(参考 I (1) の 1 例のみ)
- エ) プロフィレート・・・(1 例)
- オ) コエイト・・・(2 例)

(2) その他の血液凝固因子製剤 (資料 1-8、8~10 の製剤)

資料 1-8 に一覧を示したとおり、副作用報告のあったもののうち、ウイルス除去膜処理、SD 処理、蒸気加熱処理 (60℃/1190mb/10 時間) 等が行われているもののウイルス安全性は高いと考えられるが、次に挙げる製剤については、肝炎ウイルス感染リスクを十分には否定できないと考えられ、既に肝炎ウイルス検査に係る受診勧奨の対象として、納入医療機関の公表を行っている。

- ア) ファイバ「イムノ」・・・蒸気加熱処理 (60℃/1190mb/10 時間) 導入前の製剤 (2 例※蒸気加熱処理の可能性も高い)

(3) アンチトロンビン製剤 (資料 1-8、51~54 の製剤)

資料 1-8 に一覧を示したとおり、アンチトロンビン製剤に関しては、コーン分画法による上清 I 又はそれ以降の上清/画分から製造され、各種クロマトグラフィー処理、ウイルス除去膜処理、加熱処理等も経て製造されており、初期のアンソロビン P 以外は BVDV に対して 9 以上のウイルス低減率が確認されている。また、初期のアンソロビン P (ベアリング) についても、上清 I から製造され、液状加熱処理 (60℃/10 時間) が行われていることから、肝炎ウイルス感染リスクは極めて低いと考えられる。

(4) その他の血漿分画製剤 (資料 1-8、55~59 の製剤)

資料 1-8 に一覧を示したとおり、アフィニティクロマトグラフィー処理、ウイルス除去膜処理、加熱処理等により、BVDV に対し、9 以上のウイルス低減率が確認されている。また、資料 1-8 の 58、59 のリゾチーム注、セルロプラスミンに関しては、使用時期が極めて古く、具体的なウイルス低減率の算出、推計は困難とのことであったが、リゾチーム注ではウイルス不活化に有効な液状加熱処理 (60℃/10 時間) が行われていること、セルロプラスミンではコーン分画による画分 IV-I から製造され、BPL + UV 処理が行われていることから、肝炎ウイルス感染リスクは低いと考えられる。なお、リゾチーム、セルロプラスミン共に治験での使用のみで、一般に販売されるには至っていない。

(5) 生体接着剤等 (資料 1-8、60~70 の製剤)

資料 1-8 に一覧を示したとおりであり、副作用報告のあった製剤のうち、液状加熱処理 (60°C/10 時間)、乾燥加熱処理、ウイルス除去膜処理等により、BVDV に対するウイルス低減率が 9 以上とされるものについては、ウイルス性肝炎感染リスクは低いと考えられる。

それら以外のものについては、以下に考察した。

7) ティシール

当該製剤の副作用症例はいずれも治験中の 3 例とされており、この治験 (1980~84 年) では、556 例に加熱処理等のウイルス不活化処理を実施していない非加熱製剤のフィブリノゲンを用いた製剤が使用されている。当該製剤の治験報告書においては、NANB 肝炎の発生が見られたとの記載はなく、また、治験参加者に対してこれまでも HIV 感染調査が実施されており、それに伴う一部の健康状況調査の実施においても肝炎報告はないとされている。さらに、非加熱製剤の海外での使用においても、NANB 肝炎の発生は確認されていないとされている。

しかしながら、当時の治験報告書等では、被験者に対する観察期間が不明な報告もあり、全ての症例に対して十分な観察が行われていたことは確認できないこと、また、その後の HIV 感染調査でも、明示的に肝炎検査の実施は行われていなかった。一方で、海外でも非加熱製剤について 50 万人相当の使用実績があることが確認されている。

以上のように、当時の調査や海外での同一製品の使用状況から勘案し、感染が生じていない可能性もあるが、当時は明示的に肝炎検査が行われておらず、当時の調査では十分把握しきれていない可能性もある。

【念のための、受診勧奨の必要性があるか】

また、治験の途中段階から乾燥加熱処理が導入されており、承認を取得した 1988 年から 1991 年までは乾燥加熱処理フィブリノゲンが使用されていた。当該乾燥加熱条件 (60°C/30 時間) については、当時、耐熱性モデルウイルスとして Sindbis ウイルスによりウイルスクリアランス試験が行われており、4.7 以上のウイルス低減率が確認されている。乾燥加熱処理は液状加熱処理に比べて処理時の組成等の条件により、不活化効果に差が出ることが知られているが、当該製剤における加熱条件においては、安定剤としてのクエン酸ナトリウムやショ糖の添加は行われておらず、それらを使用した場合より比較的安定した不活化効果が推定されるものの、当時、BVDV を用いたウイルスクリアランス試験は行われておらず、当時のウイルスクリアランス試験成績のみで十分な肝炎ウイルスへの安全性が確保されていたと評価することは難しい。

一方で、本剤は乾燥加熱製剤となって以降、日本国内の他、ドイツ、イタリ

ア、デンマーク、アイルランド、カナダ等、海外でも使用され、それらの国でも、乾燥加熱処理製剤として、早い国（ドイツ）で1985年2月に認可、また、蒸気加熱処理は早い国（ドイツ）で1989年3月に認可され、最も遅い国（ベルギー）では1997年1月に至って認可されたとされており、その間企業によれば、欧州で少なくとも数十万例に使用されたとされるが、ウイルス性肝炎の感染を確認する報告はないとのことである。また、国内では、蒸気加熱処理導入が1991年3月に行われるまでに約4万本（推定使用者数4万人）の販売が行われたとされている。当時、本剤は使用成績調査を実施しており、同調査の計5,593例中、4,805例が乾燥加熱製剤に対して調査されているが、これら症例において、肝炎の報告は見られていないとされている。

以上のことから、乾燥加熱処理製剤のウイルスクリアランス試験のみでは、当時、試験の対象とされるウイルスは現在よりも限定的であったことから、十分な安全性の確認には至らないものの、当時、国内外で広く使用されている際に肝炎の報告はなく、ウイルス性肝炎の感染が確認された事例もないとされていることから、乾燥加熱処理による本剤の使用によりウイルス肝炎感染リスクが増加していた状況にはないと考えられる。

なお、1991年3月に蒸気加熱処理が導入されたフィブリノゲンの製造工程におけるウイルス低減率はTBEVによる評価で8.2以上である。この際にBVDVを用いた評価は実施されていないが、後に申請されたティシール・デュオにおけるウイルスクリアランス試験データにおいて、本剤の凍結乾燥・蒸気加熱処理工程と同一条件で、BVDVに対しても、加熱蒸気化処理の3時間までに、検出限界以下となる4.6～5.1以上のクリアランスが確認されており、ウイルス性肝炎感染リスクは非常に低いと考えられる。また、1994年以降ウシ由来からヒト由来に切り替えられているトロンビンの蒸気加熱処理についても同様である。

イ) フィプロガミン

本剤は1980年に承認されており、胎盤を由来とし、有効なウイルス不活化工程としては、リバノール沈殿、塩化セチルピリジニウム（CPC）処理が行われていたものである。当時においては、HCVウイルスの同定は行われておらず、BVDVでのクリアランス評価は実施されていない。しかしながら、同処理においても、HIVのウイルス安全性評価が実施されており、CPC処理により、HIV-2で5.2以上のウイルス低減効果が確認されている。また、リバノール沈殿処理工程は計2回行われているが、同工程の1回処理でHIV-2に5.8以上のウイルス低減効果が確認されている。CPC処理は同成分の界面活性作用によるものであり、ウイルスのエンベロープの破壊作用によるもので、SD処理と同作用であること、SD処理は通常、HIVとBVDVで近似した不活化効果が得られることがわかっている。また、リバノールに関しても、直接的な試験結果はないが、reoウイルスやIBRVに不活化作用を有するとの報告があり、

また、リバノールが分類されるアクリジン誘導体では、BVDV、IBRV、あるいは、HIV と BVDV で同程度の不活化が得られるとのデータもあり、これらの点から、製造元からは、両工程により直接的なデータはないものの、BVDV に対しても 9 以上のクリアランス値が得られることが推計しうるとの考えが示された。リバノールによる HCV への具体的な推計は困難な部分もあるが、SD 処理と同様の作用である CPC による HCV 不活化効果が同程度に得られると考えることは、一定の合理性が認められ、これに加えて、リバノール処理効果の寄与も考えられること、当時の海外での使用は、1973 年以降、ドイツ、イギリス、オーストリア等で承認・販売されているが、製造元によれば、本剤によるウイルス性肝炎が確認された報告がないとされていること等から、本剤の使用によりウイルス肝炎感染リスクが増加していた状況にはないと考えられる。なお、1986 年以降は、これら処理に加え液状加熱処理 (60°C/10 時間) が追加されていることから、より安全性が向上しているものと考えられる。

ウ) ベリプラスト P

本剤については、フィブリノゲンについては当初から BVDV でクリアランス 9 以上のウイルス不活化工程が行われていたほか、製剤中の第 X III 因子に関しては、フィブロガミンと同様であるが、当初より液状加熱処理 (60°C/10 時間) が行われていることから、ウイルス性肝炎感染可能性は低いと考えられる。

エ) ジーティーサーティーン

本剤は、食道静脈瘤硬化剤として治験に用いられた製剤であり、第 X III 因子 (フィブロガミン) とウシ由来のトロンビンの組み合わせ製剤である。第 X III 因子に関しては、フィブロガミンと同様の評価と考えられる。

オ) ケレス

本剤も、第 X III 因子とトロンビンの組みあわせ製剤であり、いずれもベーリングベルケ社からの導入とされており、フィブロガミン及び、ベリプラストに用いられるトロンビンと同様と考えられる。

II (1) の 5 例について (資料 1-5)

これら 5 例については、資料 1-5 に一覧を示したが、いずれも原料血漿スクリーニング、不活化・除去処理工程等から、製剤投与と肝炎ウイルス感染との関連は極めて低いと考えられる。

II (2) の 7 例について (資料 1-6)

これら 7 例については、資料 1-6 に一覧を示したが、上記 I (2) の 1,498 例についてのガンマグロブリンの項で既に述べたように、製剤投与と肝炎ウイルス感染との関連は

極めて低いと考えられる。

3. 日本赤十字社から提出された輸血と血漿分画製剤併用 39 症例の調査について(資料 1-7)

2008 年 4 月 30 日の調査整理結果において、日本赤十字社より、輸血用血液製剤を投与していたところ、ウイルス性肝炎又はその可能性のある症例として、医療機関から同社が収集した症例のうち、併用薬として血漿分画製剤が投与された症例 39 例が報告されており(22 例については B 型肝炎^{*}、17 例については C 型肝炎との報告^{*})、これらの症例については、併用薬として投与された血漿分画製剤の製造販売業者に対し、当該血漿分画製剤について、必要な調査を行うよう指示するとしていたところである。

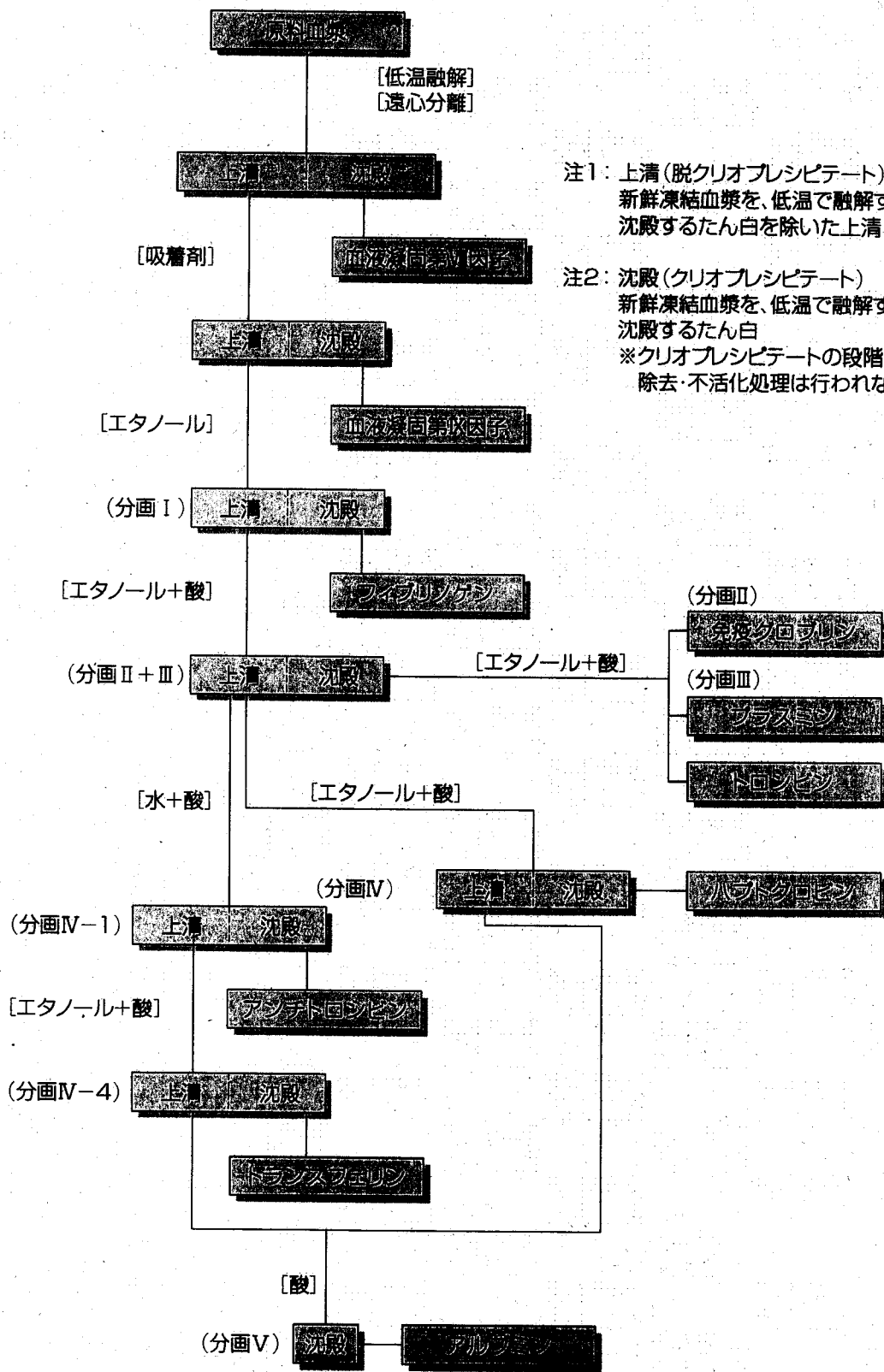
これら 39 例の調査結果は資料 1-7 のとおりであり、製剤としては 55 製剤あるが、そもそも報告医が分画製剤との関連を否定している、あるいは、分画製剤投与前からウイルスマーカーが陽転している等の事例が 29 製剤の評価として見られている他、報告医は血漿分画製剤とウイルス性肝炎の関連を否定していない症例についても、製剤のウイルス安全対策からは、関連は極めて低いと考えられた。

なお、うち 1 例、調査によっても具体的製品が特定できないフィブリン糊とされるものがあったが、特定製剤の可能性のある旨が医療機関にお知らせされている。

【 参 考 】

HCV キャリア推計：

2000 年時点の年齢換算で HCV に関し、16-19 歳で 0.13%、20-29 歳で 0.21%、30-39 歳で 0.77%、40-49 歳で 1.28%、50-59 歳で 1.80%、60-69 歳で 3.38%と推計されている。

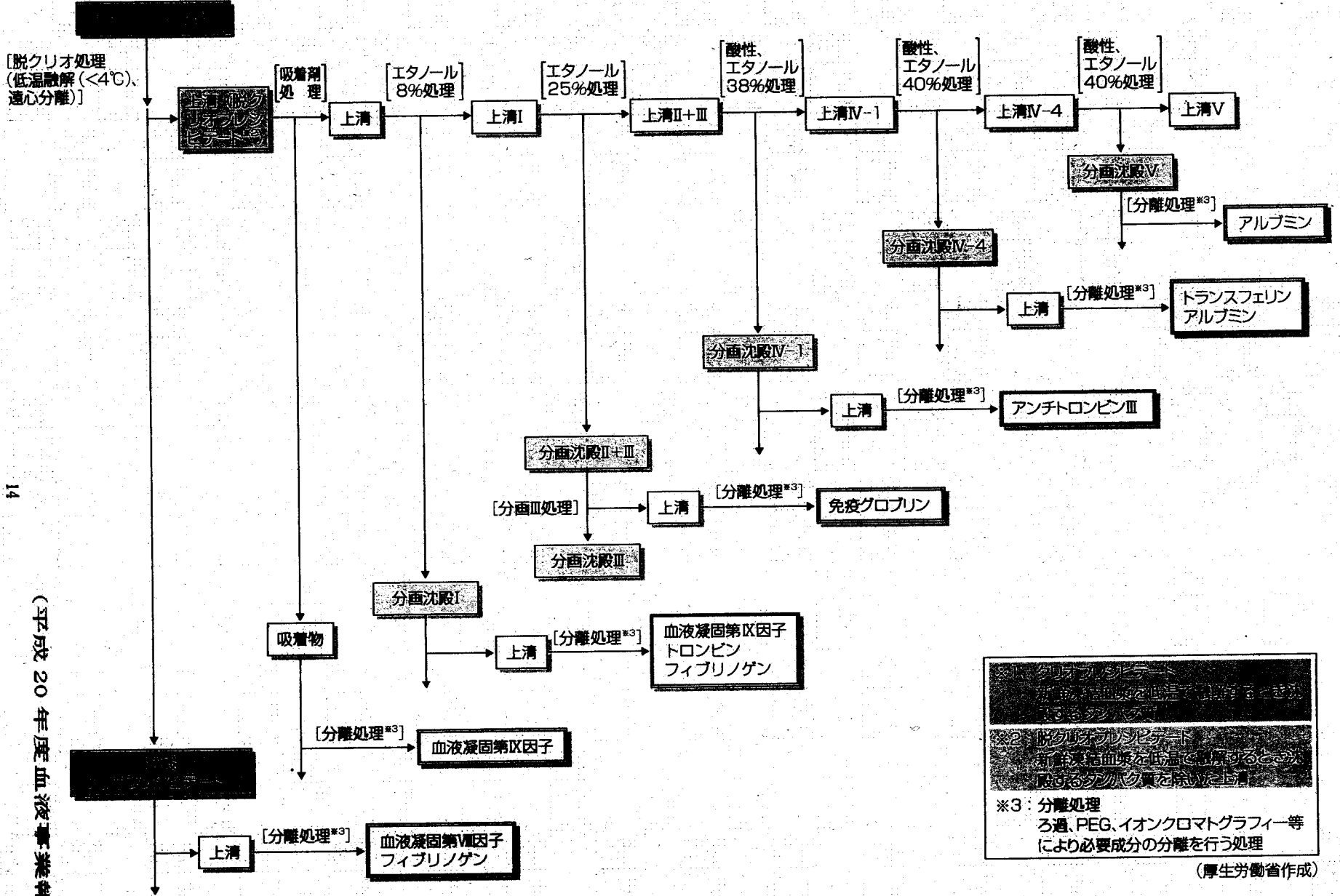


注1：上清(脱クリオプレシピテート)
新鮮凍結血漿を、低温で融解するとき
沈殿するたん白を除いた上清

注2：沈殿(クリオプレシピテート)
新鮮凍結血漿を、低温で融解するとき
沈殿するたん白
※クリオプレシピテートの段階では、
除去・不活化処理は行われない。

(厚生省血液事業対策室監修「血液ハンドブック」(薬業時報社)1995年 p.90より一部改変)

図3-22 コーン分画法の一例



14

(平成20年度血液事業報告より)

図3-22 コーン分画法の一例

肝炎・肝機能異常等に関する副作用症例が報告された製剤一覧

(平成22年6月23日合同会議資料) 資料1-8

1 血液凝固第Ⅲ因子製剤

は既に発動剤が行われているもの

販売名	報告企業名 ^{※1}	肝炎・肝機能異常等副作用報告数	うちウイルス肝炎135例	うち特定製剤使用例	販売期間(治療期間) ^{※2}	ヒト由来有効成分	原料スクリーニング ^{※3}	製造方法							ウイルスクリアランス指数 ^{※4}	備考			
								ウイルス除去工程			ウイルス不活化工程						その他の処理工程		
								出発原料(コーン分画) ^{※4}	クロマトグラフィー ^{※5}	ウイルス除去法	SD処理	液状加熱	蒸気加熱	乾燥加熱					
1 コンコエイトHT	ベネシス	19	8	0	1988.8-1991.10 1991.11-1993.8 1995.12-1998 1998-	第Ⅲ因子	b	クリオ											
		5	1	0		第Ⅲ因子	bc	クリオ				60°C/10h							
		-	-	-		第Ⅲ因子	bc	クリオ				60°C/10h							
		-	-	-		第Ⅲ因子	bc	クリオ				60°C/72h				11.6以上(BVDV)			
2 プロフレート	ベネシス	1	0	0	1998-	第Ⅲ因子	bc-brn	クリオ										11.6以上(BVDV)	
		-	-	-		第Ⅲ因子	bc	クリオ				60°C/10h							
3 ヘモフィルM	バクスター	5	3	1	1988.7-1991 1991-1993	第Ⅲ因子	b	クリオ	アフィニティ									6.1(BVDV)	
		-	-	-		第Ⅲ因子	bc	クリオ	アフィニティ									6.1(BVDV)	
4 コンファクトF	化学及血清療法研究所	1	0	0	1990-1997 1997-1998 1998-	第Ⅲ因子	bc	クリオ	イオン交換						65°C/96h	PEG処理	9.8以上(BVDV)		
		-	-	-		第Ⅲ因子	bc-cr	クリオ	イオン交換						65°C/96h	PEG処理	9.8以上(BVDV)		
		-	-	-		第Ⅲ因子	bc-brn	クリオ	イオン交換						65°C/96h	PEG処理	9.8以上(BVDV)		
		-	-	-		第Ⅲ因子	bc	クリオ	イオン交換						65°C/96h	PEG処理	9.8以上(BVDV)		
		-	-	-		第Ⅲ因子	bc-brn	クリオ	イオン交換						65°C/96h	PEG処理	9.8以上(BVDV)		
5 コーエイト	バイエル薬品	3	1	0	1988.8-1993	第Ⅲ因子	b	クリオ									6.0以上(SN)	1994年5月承認整理	

2 血液凝固第Ⅲ因子製剤(特定製剤を除く)

販売名	報告企業名 ^{※1}	肝炎・肝機能異常等副作用報告数	うちウイルス肝炎135例	うち特定製剤使用例	販売期間(治療期間) ^{※2}	ヒト由来有効成分	原料スクリーニング ^{※3}	製造方法							ウイルスクリアランス指数 ^{※4}	備考		
								ウイルス除去工程			ウイルス不活化工程						その他の処理工程	
								出発原料(コーン分画) ^{※4}	クロマトグラフィー ^{※5}	ウイルス除去法	SD処理	液状加熱	蒸気加熱	乾燥加熱				
7 コーナインHT	バイエル薬品	1	1	0														

3 その他の血液凝固因子製剤

販売名	報告企業名 ^{※1}	肝炎・肝機能異常等副作用報告数	うちウイルス肝炎135例	うち特定製剤使用例	販売期間(治療期間) ^{※2}	ヒト由来有効成分	原料スクリーニング ^{※3}	製造方法							ウイルスクリアランス指数 ^{※4}	備考	
								ウイルス除去工程			ウイルス不活化工程						その他の処理工程
								出発原料(コーン分画) ^{※4}	クロマトグラフィー ^{※5}	ウイルス除去法	SD処理	液状加熱	蒸気加熱	乾燥加熱			
8 トロンピン-ヨシトミ	ベネシス	-	-	-	1959-1972	トロンピン	-	画分Ⅲ							クエン酸バリウム吸着リパノール分画、エタノール沈殿(83%)	3.4以上(BVDV)	ここに示した製造方法は1985年の作業指針に基づく
		-	-	-	1972-1985	トロンピン	b	画分Ⅱ+Ⅲ/画分Ⅲ						クエン酸バリウム吸着リパノール分画、エタノール沈殿(83%)、BPL+UV	5.8以上(BVDV/SN)		
		-	-	-	1985-1992	トロンピン	b	画分Ⅱ+Ⅲ/画分Ⅲ	イオン交換					60°C/72h		6.1以上(BVDV/Echo)	
		-	-	-	1992-1996	トロンピン	bc	画分Ⅱ+Ⅲ/画分Ⅲ	イオン交換					60°C/72h		12.6以上(BVDV)	
		-	-	-	1996-1998	トロンピン	bc	PTC	イオン交換					60°C/72h		17.7以上(BVDV)	
		1	0	0	1998-	トロンピン	bc-brn	PTC	イオン交換					60°C/72h		17.7以上(BVDV)	
9 賦血トロンピン-ニチヤク	日本製薬	-	-	-	1994-1996	トロンピン	bc	上清Ⅰ	イオン交換					65°C/96h		5.58以上(BVDV)	ウイルスクリアランスは、乾燥加熱処理工程のみの値
		-	-	-	1996-1998	トロンピン	bc	上清Ⅰ	イオン交換					65°C/96h		9以上(BVDV)	
		1	1	0	1998-	トロンピン	bc-brn	上清Ⅰ	イオン交換					65°C/96h		9以上(BVDV)	

販売名	報告企業名*	肝炎・肝臓 腫瘍等 副作用報 告数	うちウイ ルス肝 炎135例	うち特定 製剤使 用例	販売期間 (治療期間)**	ヒト由来有効成分	製造方法							ウイルス クリアランス 指数**	備考		
							原料スク リーニング **3	ウイルス除去工程			ウイルス不活化工程					その他の処理工程	
								出発原料 (コン分量)**4	70℃ グアノ **5	ウイルス 除去量	SD処理	液状加熱	蒸気加熱				乾燥加熱
10 ファイバイムノ	日本臓器製薬	-	-	-	1986.8-1993	基質因子抗体抗原活性複合体	b	脱クリオ血漿	イオン交換				60℃/10h /1190hPa 80℃/1h /1375hPa	凍結乾燥	19.5以上 (PRV) 17.5以上 (TBEV)	有効期間からは非加熱製剤使用の可能性も完全には否定できない	
		2	0	0	1993-1995	基質因子抗体抗原活性複合体	bc	脱クリオ血漿	イオン交換				60℃/10h /1190hPa 80℃/1h /1375hPa	凍結乾燥	19.5以上 (PRV) 17.5以上 (TBEV)		
		-	-	-	1995-2000	基質因子抗体抗原活性複合体	bc-bncn	脱クリオ血漿	イオン交換				60℃/10h /1190hPa 80℃/1h /1375hPa	凍結乾燥	19.5以上 (PRV) 17.5以上 (TBEV)	2000年、バクスター社に承継	
ファイバ	バクスター	-	-	-	2000-	基質因子抗体抗原活性複合体	bc-bncn	脱クリオ血漿	イオン交換				60℃/10h /1190hPa 80℃/1h /1375hPa	凍結乾燥	19.5以上 (PRV) 17.5以上 (TBEV)		

4 アルブミン製剤

販売名	報告企業名*	肝炎・肝臓 腫瘍等 副作用報 告数	うちウイ ルス肝 炎135例	うち特定 製剤使 用例	販売期間 (治療期間)**	ヒト由来有効成分	製造方法							ウイルス クリアランス 指数**	備考		
							原料スク リーニング **3	ウイルス除去工程			ウイルス不活化工程					その他の処理工程	
								出発原料 (コン分量)**4	70℃ グアノ **5	ウイルス 除去量	SD処理	液状加熱	蒸気加熱				乾燥加熱
11 プラスマネート・カッター	バイエル薬品	-	-	-	1961-1960	アルブミン	-	画分IV					60℃/10h	アセトン懸濁	12.9以上 (BVDV)	液状加熱、アセトン懸濁開始時期は不明 (1975.11以前)	
		3	0	0	1980-1992	アルブミン	b	画分IV					60℃/10h	アセトン懸濁	12.9以上 (BVDV)		
		1	1	0	1992-1999	アルブミン	bc	画分IV					60℃/10h	アセトン懸濁	12.9以上 (BVDV)	1999年HCV-NATスクリーニング導入 2001年HBV-NATスクリーニング導入 2008年4月承認整理	
12 アルブミン・カッター	バイエル薬品	3	0	0	1980.3-1992	アルブミン	b	画分V					60℃/10h	アセトン懸濁	16.2以上 (BVDV)		
		1	1	0	1992-1999	アルブミン	bc	画分V					60℃/10h	アセトン懸濁	16.2以上 (BVDV)	1998年HCV-NAT導入 2001年HBV-NAT導入 2006年4月承認整理	
13 アルブミン・ヨシトミ/アルブミン-Wf	ベネシス	-	-	-	1964-1971	アルブミン	-	画分V					60℃/10h		16.4以上 (BVDV)	1972年HBe抗原スクリーニング導入 (静脈血由来)	
		-	-	-	1971-1990	アルブミン (胎盤由来)	-	画分V					60℃/10h		9.6以上 (BVDV)	胎盤由来は硫酸アンモニウム分離後、静脈血由来のB+塩上清に混合して以後静脈血由来と同一工程で製造	
		-	-	-	1990-1992	アルブミン	b	画分V					60℃/10h		16.4以上 (BVDV)		
		3	2	0	1992-1998	アルブミン	bc	画分V					60℃/10h		16.4以上 (BVDV)		
		3	2	0	1998-	アルブミン	bc-bncn	画分V					60℃/10h		16.4以上 (BVDV)		
14 アルブミン・ニチャク	日本製薬	-	-	-	1970-1971	アルブミン	-	画分V					60℃/10h		9以上 (BVDV)		
		7	0	0	1971-1989	アルブミン	b	画分V					60℃/10h		9以上 (BVDV)	1989年抗HCV抗体スクリーニング導入 1998年HBV-HCV-NATスクリーニング導入 2000年製造中止	
15 アルブミン・ニチャク	日本製薬	-	-	-	1969-1971	アルブミン	-	画分V					60℃/10h		9以上 (BVDV)		
		3	0	0	1971-1989	アルブミン	b	画分V					60℃/10h		9以上 (BVDV)	1989年抗HCV抗体スクリーニング導入 1992年製造中止	
16 プラスマプロテインフラクション	大日本住友製薬	1	1	0	1974-1991	アルブミン	b	画分V					60℃/10h		9.3以上 (BVDV) 10.8以上 (PRV)	Hbe抗原スクリーニング導入時期は不明 (1985以前) 1991年抗HCV抗体スクリーニング導入 1992年8月バクスター社に承継	
	バクスター	1	1	0	1983-不明	アルブミン	-	画分V					60℃/10h		9.3以上 (BVDV) 10.8以上 (PRV)		
		2	1	0	不明-1991	アルブミン	b	画分V					60℃/10h		9.3以上 (BVDV) 10.8以上 (PRV)	Hbe抗原スクリーニング導入時期は不明 (1987以前)	
		1	1	0	1991-1997	アルブミン	bc	画分V					60℃/10h		9.3以上 (BVDV) 10.8以上 (PRV)		
		7	5	0	1997-1999	アルブミン	bc-cn	画分V					60℃/10h		9.3以上 (BVDV) 10.8以上 (PRV)		
		2	2	0	1999-	アルブミン	bc-bncn	画分V					60℃/10h		9.3以上 (BVDV) 10.8以上 (PRV)		

販売名	報告企業名 ^{※1}	肝炎・肝臓 腫瘍等 副作用報 告数			販売期間 (治療期間) ^{※2}	製造方法								ウイルス クリアランス 指数 ^{※4}	備考			
		うちウイ ルス肝 炎135例	うち特 定製 剤使 用例	ヒト由来有効成分		原料スク リーニング ^{※3}	ウイルス除去工程			ウイルス不活化工程						その他の処理工程		
							出発原料 (コン分量) ^{※4}	加剤 グラマー ^{※5}	ウイルス 除去機	SD処理	液状加熱	蒸気加熱	乾燥加熱					
17 プミネート5%	バクスター	-	-	-	1984-1997	アルブミン	b	菌分V					60℃/10h				9.3以上 (BVDV)	1991年抗HCV抗体スクリーニング導入
		3	3	0	1997-1999	アルブミン	bc-cn	菌分V					60℃/10h				9.3以上 (BVDV)	
		1	1	0	1999-	アルブミン	bc-bncn	菌分V					60℃/10h				9.3以上 (BVDV)	
18 プミネート25%	バクスター	4	0	0	1983-1991	アルブミン	b	菌分V					80℃/10h				9.3以上 (BVDV)	1991年抗HCV抗体スクリーニング導入
		1	1	0	1997-1999	アルブミン	bc-cn	菌分V					60℃/10h				9.3以上 (BVDV)	
		2	2	0	1999-	アルブミン	bc-bncn	菌分V					60℃/10h				9.3以上 (BVDV)	
19 アルブミン25%「バクスター」	バクスター	1	1	0	1999-2005	アルブミン	bc-bncn	菌分V					60℃/10h				11.2以上(BVDV)	2005年3月販売中止
20 アルブミンベレーリング	GSLベレー リング	-	-	-	1985-1991	アルブミン	b	菌分V					60℃/10h				9以上(BVDV, PRV)	
		1	0	0	1991-1997	アルブミン	bc	菌分V					60℃/10h				9以上(BVDV, PRV)	1997年HBV・HCV-NATスクリーニング導入
21 アルブミン5%	GSLベレー リング	-	-	-	1988-1997	アルブミン	b	菌分V					60℃/10h				9以上(BVDV, PRV)	1991年抗HCV抗体スクリーニング導入
		3	3	0	1997-	アルブミン	bc-bncn	菌分V					60℃/10h				9以上(BVDV, PRV)	
22 アルブミン25%	GSLベレー リング	-	-	-	1988-1991	アルブミン	b	菌分V					60℃/10h				9以上(BVDV, PRV)	
		1	1	0	1991-1997	アルブミン	bc	菌分V					60℃/10h				9以上(BVDV, PRV)	1997年HBV・HCV-NATスクリーニング導入

5 免疫グロブリン製剤

販売名	報告企業名 ^{※1}	肝炎・肝臓 腫瘍等 副作用報 告数			販売期間 (治療期間) ^{※2}	製造方法								ウイルス クリアランス 指数 ^{※4}	備考			
		うちウイ ルス肝 炎135例	うち特 定製 剤使 用例	ヒト由来有効成分		原料スク リーニング ^{※3}	ウイルス除去工程			ウイルス不活化工程						その他の処理工程		
							出発原料 (コン分量) ^{※4}	加剤 グラマー ^{※5}	ウイルス 除去機	SD処理	液状加熱	蒸気加熱	乾燥加熱					
23 ガンマグロブリンニチヤク	日本製薬	-	-	-	1960-1971	グロブリン	-	菌分II									5.06以上(BVDV)	
		1	1	0	1971-1989	グロブリン	b	菌分II										5.06以上(BVDV)
24 グロベニン	日本製薬	22	0	0	1975-1989	ヘパリン処理グロブリン	b	菌分II	イオン交換						ペプシン処理		5.06以上(BVDV)	1989年抗HCV抗体スクリーニング導入 1988年製造中止
25 グロベニン-I	日本製薬	86	3	0	1983-1993	PEG処理グロブリン	b	菌分II	イオン交換						PEG処理		9以上 (BVDV)	うち3例治療症例
		3	1	0	1993-1996	PEG処理グロブリン	bc	菌分II	イオン交換						PEG処理		9以上 (BVDV)	
		-	-	-	1996-1998	PEG処理グロブリン	bc-cn	菌分II	イオン交換	○					PEG処理		9以上 (BVDV)	1998年HBV・HCV-NATスクリーニング導入 1999年製造中止
26 減価グロベニン-Iニチヤク	日本製薬	16	0	1	1992-1996	PEG処理グロブリン	bc	菌分II	イオン交換						PEG処理		9以上 (BVDV)	
		83	0	0	1996-1998	PEG処理グロブリン	bc	菌分II	イオン交換	○					PEG処理		9以上 (BVDV)	
27 HBグロブリンニチヤク	日本製薬	161	1	0	1998-	PEG処理グロブリン	bc-bncn	菌分II	イオン交換	○					PEG処理		9以上 (BVDV)	
28 破傷風グロブリンニチヤク	日本製薬	2	1	0	1980-1992	抗Hbsグロブリン	b	菌分II									5.06以上(BVDV)	1992年抗HCV抗体スクリーニング導入 1994年製造中止
		-	-	-	1970-1998	破傷風抗毒素	-	菌分II									5.06以上(BVDV)	1971年HBs抗原スクリーニング導入 1992年抗HCV抗体スクリーニング導入 1998年ウイルス除去機導入
		1	1	0	1998-	破傷風抗毒素	bc-bncn	菌分II		○							9以上 (BVDV)	

販売名	報告企業名 ^{※1}	肝炎・肝臓 腫瘍等 副作用 報告数	うちウイ ルス肝 炎135例	うち特定 薬剤使 用例	販売期間 (治療期間) ^{※2}	製造方法								ウイルス クリアランス 指数 ^{※3}	備考	
						ヒト由来有効成分	原料スク リーニング ^{※4}	ウイルス除去工程			ウイルス不活化工程		その他の処理工程			
								出発原料 (コン成分) ^{※4}	知り た ^{※4}	ウイルス 除去法	SD処理	液状加熱				蒸気加熱
グロブリン-WF	ベネシス	-	-	-	1957-1965	グロブリン	-	画分II+IIIw							2.4 (BVDV)	
		-	-	-	1965-1974	グロブリン グロブリン(胎盤由来)	(b)	画分II							6.4以上 (BVDV) <1.0	1972年HBs抗原スクリーニング導入(静脈血由 来)
		-	-	-	1974-1978	グロブリン グロブリン(胎盤由来)	b	画分II							6.4以上 (BVDV) 4.2 (HCV)	1965年から1989年の間、胎盤由来血漿を原料 として一部使用
		-	-	-	1978-1988	グロブリン グロブリン(胎盤由来)	b	画分II							6.4以上 (BVDV) 9.0以上 (HCV)	リパノール分離、PEG分離
		-	-	-	1989-1993	グロブリン	b(c)	画分II							6.4以上 (BVDV)	1992年抗HCV抗体スクリーニング導入
		-	-	-	1993-1998	グロブリン	bc	画分II							13.0以上 (BVDV)	
		-	-	-	1998-	グロブリン	bc-bncn	画分II							13.0以上 (BVDV)	
ヴェノグロブリン	ベネシス	4	0	0	1976-1978	グロブリン グロブリン(胎盤由来)	b	画分II							4.2 (HCV)	
		-	-	-	1978-1983	グロブリン グロブリン(胎盤由来)	b	画分II							6.4以上 (BVDV)	
		-	-	-	1983-1993	グロブリン	b	画分II							6.4以上 (BVDV)	1992年7月承認整理
		-	-	-	1993-1998	グロブリン	b	画分II							6.4以上 (BVDV)	
ヴェノグロブリン-I	ベネシス	9	0	0	1976-1982	PEG処理グロブリン	b	画分II+III					PEG処理	11.6以上 (BVDV)	治験症例	
		16	2	0	1980-1998	PEG処理グロブリン	b	画分II+III					PEG処理	11.6以上 (BVDV)	1992年抗HCV抗体スクリーニング導入 2003年10月承認整理	
ヴェノグロブリン-II	ベネシス	11	0	0	1989-1992	PEG処理グロブリン	b	画分II+III				60°C/10h	PEG処理	13.4以上 (BVDV)	治験症例	
		40	2	0	1991-1998	PEG処理グロブリン	b(c)	画分II+III				60°C/10h	PEG処理	13.4以上 (BVDV)	1992年抗HCV抗体スクリーニング導入	
		6	1	0	1998-2006	PEG処理グロブリン	bc-bncn	画分II+III				60°C/10h	PEG処理	18.3以上 (BVDV)		
		95	1	0	1991-1998	PEG処理グロブリン	bc	画分II+III				60°C/10h	PEG処理	13.4以上 (BVDV)		
32 減血ヴェノグロブリン-II	ベネシス	91	1	0	1998-	PEG処理グロブリン	bc-bncn	画分II+III				60°C/10h	PEG処理	18.3以上 (BVDV)	2006年低pHインキュベーション導入	
		1	0	0	1994-1995	破傷風抗毒素	bc	画分II+III				60°C/10h	PEG処理	13.4以上 (BVDV)	治験症例 市販薬は1998.3発売、1998.5HBV-HCV-NAT スクリーニング導入、1998.11ウイルス除去薬導入	
34 抗D人免疫グロブリン-ヨ シトミ/抗D人免疫グロブ リン-WF	ベネシス	-	-	-	1972-1998	抗Dグロブリン	-	画分II							6.4以上 (BVDV)	1977年HBs抗原スクリーニング導入 1992年抗HCV抗体スクリーニング導入 1993年ウイルス除去薬導入
		2	2	0	1998-	抗Dグロブリン	bc-bncn	画分II							11.9以上 (BVDV)	
35 H-BIG	ベネシス	1	1	0	1982-1998	抗Hbαグロブリン	b	画分II							6.4以上 (BVDV)	1988年10月承認整理
36 ヘプスブリン	ベネシス	-	-	-	1985-1998	抗Hbαグロブリン	b	画分II							6.4以上 (BVDV)	1992年抗HCV抗体スクリーニング導入 1993年ウイルス除去薬導入
		1	0	0	1998-	抗Hbαグロブリン	bc-bncn	画分II							11.9以上 (BVDV)	
37 ヘプスブリン-I	ベネシス	-	-	-	1989-1998	PEG処理抗Hbαグロブリン	b	画分II					PEG処理	7.8以上 (BVDV)	1992年抗HCV抗体スクリーニング導入 1998年ウイルス除去薬導入	
		1	1	0	1998-2001	PEG処理抗Hbαグロブリン	bc-bncn	画分II					PEG処理	13.3以上 (BVDV)	2003年10月承認整理	
		1	1	0	2001-	PEG処理抗Hbαグロブリン	bc-bncn	画分II+III				60°C/10h	PEG処理	18.3以上 (BVDV)		
38 静注用ヘプスブリン-II	ベネシス	1	1	0	2001-	PEG処理抗Hbαグロブリン	bc-bncn	画分II+III				60°C/10h	PEG処理	18.3以上 (BVDV)		
39 ヒスタグロピン	日本臓器製薬	6	0	0	1987-1993	グロブリン	(b)	画分II	イオン交換						9.6 (PRV) 7.4以上 (TBEV)	HBs抗原検査開始時期不明
		-	-	-	1993-1998	グロブリン	bc	画分II	イオン交換						9.6 (PRV) 7.4以上 (TBEV)	
		1	0	0	1998-2002	グロブリン	bc-bncn	画分II	イオン交換						9.6 (PRV) 7.4以上 (TBEV)	2002年化血研に準承認(輸入→国内製造)
ヒスタグロピン	化学及血清療法研究所	2	0	0	2002-	グロブリン	bc-bncn	画分II						10.5以上 (BVDV)		

販売名	報告企業名*	肝炎・肝臓 能異常等 副作用報 告数	うちウイ ルス肝 炎135例	うち特 定製 剤使 用例	販売期間 (治療期間)**	ヒト由来有効成分	原料スク リーニング ※3	製造方法						ウイルス クリアランス 指数**	備考	
								ウイルス除去工程			ウイルス不活化工程					その他の処理工程
								出発原料 (コン分量)**4	加ト クラー**5	ウイルス 除去率	SD処理	液状加熱	蒸気加熱			
40 ベニロン	化学及血清療法研究所	37	7	0	1979-1993	スルホ化グロブリン	b	画分II						スルホ化処理	7.2(BVDV) 11.8以上(PRV)	うち1例治療症例
		7	0	0	1993-1997	スルホ化グロブリン	bc	画分II		○				スルホ化処理	13.4以上(BVDV)	
		-	-	-	1997-1998	スルホ化グロブリン	bc-cn	画分II		○				スルホ化処理	13.4以上(BVDV)	
		1	0	0	1998-2003	スルホ化グロブリン	bc-bncn	画分II		○				スルホ化処理	13.4以上(BVDV)	
41 献血ベニロン-I	化学及血清療法研究所	10	0	0	1991-1994	スルホ化グロブリン	bc	画分II		○				スルホ化処理	7.2以上(BVDV)	うち7例治療症例
		8	0	0	1994-1997	スルホ化グロブリン	bc	画分II		○				スルホ化処理	13.4以上(BVDV)	うち4例治療症例
		3	0	0	1997-1998	スルホ化グロブリン	bc-cn	画分II		○				スルホ化処理	13.4以上(BVDV)	うち1例治療症例
		188	4	0	1998-	スルホ化グロブリン	bc-bncn	画分II		○				スルホ化処理	13.4以上(BVDV)	うち1例治療症例
42 ヘパトセーラ	化学及血清療法研究所	14	1	0	1981.3-1984.3	抗Hbeグロブリン	b	画分II						4.6(BVDV) 7.0(PRV)	治療症例 市販製剤は1985年発売、1993年抗HCV抗体スクリーニング導入、1994年ウイルス除去導入、1997年HCV-NATスクリーニング導入、1998年HBV-NATスクリーニング導入	
43 日赤ポリグロビンN注5%	日本赤十字社	1	0	0	2006-	pH4処理グロブリン	bc-bncn	上清血			○		低pH処理、デプスフィルトレーション	17.6以上(BVDV) 21.8以上(PRV)		
44 ガンマ・ベニン	CSLベーリン	1	1	0	1970-1976	ペブシン処理グロブリン	-	画分II+III						ペブシン処理	5以上 (BVDV-HSV)	
		10	0	0	1976-1992	ペブシン処理グロブリン	b	画分II+III						ペブシン処理	5以上 (BVDV-HSV)	1988年7月承認整理
45 ガンマ・ベニンP	CSLベーリン	35	1	0	1988-1991	ペブシン処理グロブリン	b	画分II+III				60°C/10h		ペブシン処理	9以上 (BVDV-HSV)	
		-	-	-	1991-1997	ペブシン処理グロブリン	bc	画分II+III				60°C/10h		ペブシン処理	9以上 (BVDV-HSV)	
		2	1	0	1997-2006	ペブシン処理グロブリン	bc-bncn	画分II+III				60°C/10h		ペブシン処理	9以上 (BVDV-HSV)	2007年10月承認整理
46 サングロボール	CSLベーリン	3	0	0	1983-1985	pH4処理グロブリン	-	画分II+III						pH4ペブシン処理	9以上(BVDV,PRV)	治療症例
		17	0	0	1985-1990	pH4処理グロブリン	b	画分II+III						pH4ペブシン処理	9以上(BVDV,PRV)	
		-	-	-	1990-1998	pH4処理グロブリン	bc	画分II+III						pH4ペブシン処理	9以上(BVDV,PRV)	
		-	-	-	1998-2000	pH4処理グロブリン	bc-bncn	画分II+III						pH4ペブシン処理	9以上(BVDV,PRV)	
		-	-	-	2000-	pH4処理グロブリン	bc-bncn	画分II+III			○			pH4ペブシン処理	9以上(SFV,SIN,PRV)	
47 グロブリン-N	富士レボ	1	1	0	1982-1997.4	PEG処理グロブリン	-	画分II					PEG処理	-	1985年HBe抗体スクリーニング導入 1984年抗HCV抗体、HCV-NATスクリーニング導入 1998年ウイルス除去フィルター導入 2000年6月承認整理	
48 ポリグロビン	バイエル薬品	57	0	0	1984.12-1992	アルキル化グロブリン	b	画分II+III					アルキル化処理、 25°C/3週間液状インキュベーション	6.4以上(BVDV)	1982年抗HCV抗体スクリーニング導入 1992年12月承認整理	
49 ポリグロビンN	バイエル薬品	17	0	0	1988-1991	グロブリン	b	画分II+III					25°C/2~3週間液状インキュベーション	7.7以上(BVDV) 12.5以上(PRV)		
		2	0	0	1991.10-1992	グロブリン	b	画分II+III					25°C/2~3週間液状インキュベーション	7.7以上(BVDV) 12.5以上(PRV)		
		113	1	0	1992-1998	グロブリン	bc	画分II+III					25°C/2~3週間液状インキュベーション	7.7以上(BVDV) 12.5以上(PRV)		
		31	0	0	1998-1999	グロブリン	bc	画分II+III				○		25°C/2~3週間液状インキュベーション	11.9以上(BVDV) 17.1以上(PRV)	
		2	0	0	1999-2001	グロブリン	bc-cn	画分II+III				○		25°C/2~3週間液状インキュベーション	11.9以上(BVDV) 17.1以上(PRV)	
		12	0	0	2001-2006	グロブリン	bc-bncn	画分II+III				○		25°C/2~3週間液状インキュベーション	11.9以上(BVDV) 17.1以上(PRV)	2008年4月承認整理
50 SM-4300 (IVGG治療)	大日本住友製薬	6	0	0	1983頃	グロブリン	b	画分II	イオン交換					1.3(BVDV) 7.4以上(PRV)	治療症例	
		4	1	0	1988-1992	グロブリン	b	画分II	イオン交換					1.3(BVDV) 7.4以上(PRV)	1992年9月承認整理	
	ガンマガード	バクスター	15	2	1	1985-1991	グロブリン	b	画分II	イオン交換					1.3(BVDV) 7.4以上(PRV)	
			2	2	0	1991-1994	グロブリン	bc	画分II	イオン交換					1.3(BVDV) 7.4以上(PRV)	1993年抗HCV抗体(第2世代)スクリーニング導入 1994年2月海外でのHCV感染報告による自主回収後調査における副作用症例
			-	-	-	1994-1997	グロブリン	bc	画分II	イオン交換			○		9.7以上(BVDV)	
1	1	0	1997-	グロブリン	bc-cn	画分II	イオン交換			○		9.7以上(BVDV)	1998年HBV-NATスクリーニング導入			

6 アンチロビン製剤

販売名	報告企業名*	肝炎・肝臓 他異常等 副作用報 告数	うちウイ ルス肝 炎135例	うち特 定製 剤使 用例	販売期間 (治験期間)**	ヒト由来有効成分	原料スク リーニング **3	製造方法						ウイルス クリアランス 指数**4	備考	
								ウイルス除去工程			ウイルス不活化工程					その他の処理工程
								出発原料 (コーン分画)**4	クロマト グラフ**5	ウイルス 除去膜	SD処理	液状加熱	蒸気加熱			
51 アンスロビンP-ベアリン グ	CSLベアリン グ	11	0	0	1991-1994	アンチロビンⅢ	bc	上清Ⅰ							9以上(HSV) 5.4以上(BVDV)	治験症例
		1	0	0	1994.4-1997	アンチロビンⅢ	bc	上清Ⅰ							9以上(HSV) 5.4以上(BVDV)	
		-	-	-	1997-	アンチロビンⅢ	bc-bnen	上清Ⅰ							9以上(BVDV,HSV)	2009年6月承認整理
52 アンスロビンP	化学及血清疫 学研究所	1	0	0	1987-1993	アンチロビンⅢ	bc	上清Ⅰ							9以上(HSV) 5.4以上(BVDV)	1991年抗HCV抗体スクリーニング導入
		1	1	0	1993-1997	アンチロビンⅢ	bc	上清Ⅰ	アフィニティ						12.9以上(BVDV)	
		1	0	0	1998-2004	アンチロビンⅢ	bc-bnen	上清Ⅰ	アフィニティ						12.9以上(BVDV)	
		-	-	-	2004-	アンチロビンⅢ	bc-bnen	上清Ⅰ	アフィニティ	○				確定分画	18.7以上(BVDV)	
53 ノイアート	ベネシス	1	0	0	1987-1992	アンチロビンⅢ	b	画分Ⅳ							10.4以上(BVDV)	
		-	-	-	1992-1997	アンチロビンⅢ	bc	画分Ⅳ又は 上清Ⅰ+Ⅱ							10.4以上(BVDV)	
		-	-	-	1997-1998	アンチロビンⅢ	bc	画分Ⅳ又は 上清Ⅰ+Ⅱ			○				13.4以上(BVDV)	
		2	0	0	1998-	アンチロビンⅢ	bc-bnen	画分Ⅳ又は 上清Ⅰ+Ⅱ			○				13.4以上(BVDV)	
54 献血ونسロン	日本製薬	-	-	-	1996-1998	アンチロビンⅢ	bc	上清Ⅰ						65℃/96h	9以上(BVDV)	
		7	0	0	1998-	アンチロビンⅢ	bc-bnen	上清Ⅰ	アフィニティ イオン交換	○				65℃/96h	9以上(BVDV)	

7 その他の血漿分画製剤

販売名	報告企業名*	肝炎・肝臓 他異常等 副作用報 告数	うちウイ ルス肝 炎135例	うち特 定製 剤使 用例	販売期間 (治験期間)**	ヒト由来有効成分	原料スク リーニング **3	製造方法						ウイルス クリアランス 指数**4	備考		
								ウイルス除去工程			ウイルス不活化工程					その他の処理工程**6	
								出発原料 (コーン分画)**4	クロマト グラフ**5	ウイルス 除去膜	SD処理	液状加熱	蒸気加熱				乾燥加熱
55 ハプトグロビン注-ヨシ ミ	ベネシス	1	0	0	1986.6-1992	ハプトグロビン	b	画分Ⅳ							確定分画、PEG処理	15.3以上(BVDV)	
		4	0	0	1992-1998	ハプトグロビン	bc	画分Ⅳ							確定分画、PEG処理	15.3以上(BVDV)	
		1	1	0	1998-2001	ハプトグロビン	bc	画分Ⅳ			○				確定分画、PEG処理	19.3以上(BVDV)	
		1	0	0	2001-	ハプトグロビン	bc-bnen	画分Ⅳ			○				確定分画、PEG処理	19.3以上(BVDV)	
56 ベリナートP	CSLベアリン グ	-	-	-	1990-1991	C1-インアグヘクター	b	脱クリオ血漿								9以上(BVDV,HSV)	
		-	-	-	1991-1997	C1-インアグヘクター	bc	脱クリオ血漿								9以上(BVDV,HSV)	
		1	0	0	1997-	C1-インアグヘクター	bc-bnen	脱クリオ血漿								9以上(BVDV,HSV)	
57 注射用アナクトC2500単 位	化学及血清疫 学研究所	1	0	0	1989.6-1991.5	活性化プロテインC	b	脱クリオ血漿	アフィニティ						65℃/96h	11.0以上(BVDV)	治験症例
		12	0	0	1991.11-1993.3	活性化プロテインC	bc	脱クリオ血漿	アフィニティ						65℃/96h	11.0以上(BVDV)	治験症例
		4	0	0	2000-	活性化プロテインC	bc-bnen	脱クリオ血漿	アフィニティ	○					65℃/96h	17.2以上(BVDV)	
58 リゾチーム注(ヒト胎盤由 来)	ベネシス	1	0	0	1975年頃	リゾチーム(胎盤由来)	-	-						60℃/10h	確定分画	-	治験症例(開発中止)
59 セルロプラスミン-ミドリ	ベネシス	2	0	0	1975年頃	セルロプラスミン	-	画分Ⅳ-Ⅰ							BPI+UV	-	治験症例(開発中止)

8 生体接着剤等

販売名	報告企業名 ^{※1}	肝炎・肝臓 能異常等 副作用報 告数	うちウイ ルス肝 炎135例	うち特定 製剤使 用例	販売期間 (治験期間) ^{※2}	ヒト由来有効成分	原料スク リーニング ^{※3}	製造方法						ウイルス クリアランス 指数 ^{※4}	備考		
								ウイルス除去工程			ウイルス不活化工程					その他の処理工程	
								出発原料 (コンシメ) ^{※4}	加圧 処理 ^{※5}	ウイルス 除去法	SD処理	液状加熱	蒸気加熱				乾燥加熱
60 ティシール	日本製薬製薬	3	0	0	1982-1983頃	フィブリゲン (XIII因子含有)	b	クリオ							-	治験症例	
					1988-1991	フィブリゲン (XIII因子含有)	b	クリオ					60°C/30h		4.7以上(SIN)		
					1991-1993	フィブリゲン	b	クリオ					60°C/10h /1190hPa			8.2以上(TBEV)	
						XIII因子	b	画分I					60°C/10h /1190hPa	破安分画、PEG処理、加熱 沈殿(56°C/10min)		12.6以上(TBEV)	
					1993-1994	フィブリゲン	bc	クリオ					60°C/10h /1190hPa			8.2以上(TBEV)	
						XIII因子	bc	画分I					60°C/10h /1190hPa	破安分画、PEG処理、加熱 沈殿(56°C/10min)		12.6以上(TBEV)	
					1994-1996	フィブリゲン	bc	クリオ					60°C/10h /1190hPa			8.2以上(TBEV)	
						トロンビン	bc	脱クリオ血漿	イオン交換				60°C/10h /1190hPa、 60°C/1h			8.4以上(TBEV/BVDV)	
						XIII因子	bc	画分I					60°C/10h /1190hPa	破安分画、PEG処理、加熱 沈殿(56°C/10min)		12.6以上(TBEV)	
					1996-2000	フィブリゲン	bc-bnen	クリオ					60°C/10h /1190hPa			8.2以上(TBEV)	
						トロンビン	bc-bnen	脱クリオ血漿	イオン交換				60°C/10h /1190hPa			8.4以上(TBEV/BVDV)	2000年、バクスター社に承継 2005年販売中止
						XIII因子	bc-bnen	画分I					60°C/10h /1190hPa	破安分画、PEG処理、加熱 沈殿(56°C/10min)		12.6以上(TBEV)	
61 ティシールデュオ	日本製薬製薬	18	3	0	1996頃	フィブリゲン	bc-bnen	クリオ						60°C/10h /1190hPa、 60°C/1h /1395hPa	5.9以上 (TBEV/BVDV) 蒸気加熱処理3hrまで に検出限界以下	治験症例 2003年承認 2006年承認整理 販売実績無し	
						トロンビン	bc-bnen	脱クリオ血漿	イオン交換				60°C/10h /1190hPa		8.4以上 (TBEV/BVDV)		
						XIII因子	bc-bnen	画分I				60°C/2h		破安分画、PEG処理、加熱 沈殿(56°C/10min)			12.2以上 (TBEV)
62 フィブロガミン	CSLベリン グ	43	1	0	1980-1986	XIII因子(胎盤由来)	-	-						リパノール沈殿×2回・CPC 沈殿	リパノール沈殿(1回処 理) HIV ≥ 5.8 CPC沈殿 HIV ≥ 5.2 (†1)	2002年9月承認整理 (†1参照)未検出	
					1986-1991	XIII因子(胎盤由来)	-	-				60°C/10h			リパノール沈殿×2回・CPC 沈殿		4.9(HBV) 5.4(HCV) ※リパノール、CPC処理
					1991-1996	XIII因子(胎盤由来)	-	-				60°C/10h			リパノール沈殿×2回・CPC 沈殿		4.9(HBV) 5.4(HCV) ※リパノール、CPC処理

販売名	報告企業名 ^{※1}	肝炎・肝機能異常等副作用報告数			販売期間 (治療期間) ^{※2}	製造方法										ウイルス クリアランス 指数 ^{※4}	備考			
		うちウ イルス肝 炎135例	うち特 定製 剤使 用例	ヒト由来有効成分		原料スク リーニング ^{※3}	ウイルス除去工程			ウイルス不活化工程			その他の処理工程							
							出清原料 (コン分画) ^{※4}	クロマト 分離 ^{※5}	ウイルス 除去法	SD処理	液状加熱	蒸気加熱		乾燥加熱						
63 フィブロガミン	CSLベーリン グ	10	2	0	1994.9-1997	XⅢ因子	bc	画分Ⅰ					60°C/10h			AKOH13吸着・脱繊維処理	9以上 (BVDV)			
		2	2	0	1997-	XⅢ因子	bc-bn	画分Ⅰ					60°C/10h			AKOH13吸着・脱繊維処理 グリシン沈殿	9以上 (BVDV)			
64 ベリプラストP	CSLベーリン グ	67	4	0	1988.4-1991	フィブリノゲン	b	クリオ					60°C/10h			グリシン沈殿	4.9(HBV) 5.4(HCV) ※リバーノール、CPC処理 (11巻)未検	1986年7月承認整理		
						XⅢ因子(胎盤由来)	-	-					60°C/10h			グリシン沈殿	9以上(BVDV)			
	CSLベーリン グ	-	-	-	1991-1996	フィブリノゲン	bc	クリオ					60°C/10h			活性炭/リン酸カルシウム吸着	9以上(BVDV)			
						XⅢ因子(胎盤由来)	-	-					60°C/10h			リバーノール沈殿×2回・CPC 沈殿	4.9(HBV) 5.4(HCV) ※リバーノール、CPC処理 (11巻)未検			
65 ベリプラスト	CSLベーリン グ	12	10	0	1995.6-1997	フィブリノゲン	bc	クリオ					60°C/10h			グリシン沈殿	9以上(BVDV)	2007年10月承認整理		
						トロンピン	bc	脱クリオ血漿					60°C/10h			活性炭/リン酸カルシウム吸着	9以上(BVDV)			
						XⅢ因子	bc	画分Ⅰ					60°C/10h			水酸化アルミニウム吸着/ 脱繊維	9以上(BVDV)			
		5	4	0	1997-2007	フィブリノゲン	bc-bn	クリオ						60°C/10h			グリシン沈殿		9以上(BVDV)	
						トロンピン	bc-bn	脱クリオ血漿					60°C/10h			活性炭/リン酸カルシウム吸着	9以上(BVDV)			
						XⅢ因子	bc-bn	画分Ⅰ					60°C/10h			水酸化アルミニウム吸着/ 脱繊維	9以上(BVDV)			
66 ベリプラストPコンビセット	CSLベーリン グ	1	1	0	2003-	フィブリノゲン	bc-bn	クリオ					60°C/10h			グリシン沈殿	9以上(BVDV)			
						トロンピン	bc-bn	脱クリオ血漿					60°C/10h			活性炭/リン酸カルシウム吸着	9以上(BVDV)			
						XⅢ因子	bc-bn	画分Ⅰ					60°C/10h			水酸化アルミニウム吸着/ 脱繊維	9以上(BVDV)			
67 タココンP	CSLベーリン グ	1	0	0	1992.6-1993.3	フィブリノゲン	bc	クリオ					60°C/20h			グリシン沈殿処理、γ線滅菌(製剤)	9以上(BVDV)	治療症例		
		6	0	0	1993.4-1997	フィブリノゲン	bc	クリオ					60°C/20h			グリシン沈殿処理、γ線滅菌(製剤)	9以上(BVDV)			
		20	8	0	1997-	フィブリノゲン	bc-bn	クリオ					60°C/20h			グリシン沈殿処理、γ線滅菌(製剤)	9以上(BVDV)			
68 ポルヒール	化学及血清療法研究所	4	0	0	1991.11-1992	フィブリノゲン	b	クリオ	イオン交換					65°C/144h				9.1以上(BVDV) 5.7以上(PRV)		
						トロンピン	b	脱クリオ血漿	イオン交換	○				65°C/96h						11.1以上(BVDV) 11.0以上(PRV)
						XⅢ因子	b	画分Ⅰ	イオン交換					65°C/144h						脱フィブリノゲン処理 10.1以上(PRV)
		-	-	-	1992-1996	フィブリノゲン	bc	クリオ	イオン交換					65°C/144h				9.9以上(BVDV) 9.1以上(PRV)		
						トロンピン	bc	脱クリオ血漿	イオン交換	○				65°C/96h						11.1以上(BVDV)
						XⅢ因子	bc	画分Ⅰ	イオン交換					65°C/144h						脱フィブリノゲン処理 9.9以上(BVDV)
4	3	0	1996-	フィブリノゲン	bc-bn	クリオ	イオン交換	○				65°C/144h				13.6以上(BVDV)				
				トロンピン	bc-bn	脱クリオ血漿	イオン交換	○				65°C/96h					10.4以上(BVDV)			
XⅢ因子	bc-bn	画分Ⅰ	イオン交換	○				65°C/144h						脱フィブリノゲン処理 10.9以上(BVDV)						
69 ジーティーサーティーン	ユニチカ	3	0	0	1988.10-1991.3	XⅢ因子(胎盤由来)	-	-					60°C/10h			リバーノール沈殿×2回・CPC	4.9(HBV) 5.4(HCV)	治療症例		
70 ケレス	ユニチカ	1	0	0	1994-1995	XⅢ因子(胎盤由来)	-	-					60°C/10h			リバーノール沈殿×2回・CPC	4.9(HBV) 5.4(HCV)	1996年9月承認整理		

注1: 本表は肝炎又は肝機能異常等の肝臓に関する副作用症例について、当該症例に投与された製剤のウイルス安全性に関する情報を製造方法の変更の経緯を含めて整理したものである。
 注2: 本表に示したウイルスクリアランス指数については、試験条件(ウイルス添加量等)により過小評価される場合があること、また、必ずしも全製造工程のクリアランスを評価したものではないことから、本表における数値の大小がそのまま各製剤の製造工程のウイルス不活化効力の高低を示すものではない。また、一部の過去に製造されていた製剤については、同等の製造工程のウイルスクリアランスからの推計値を含んでいる。

- ※1 今題、報告が行われた企業名であり、販売当時の社名とは必ずしも一致しない。
- ※2 製造期間に関する出荷時期が明確なものは月を記載している。
- ※3 ドナースクリーニングの記録
 b: ドナーのHBe抗原検査を実施
 c: ドナーの抗HCV抗体検査を実施
 bn: プール/ミニプール血漿におけるHBV-NAT検査を実施
 on: プール/ミニプール血漿におけるHCV-NAT検査を実施
- ※4 コーン分離の記録
 クリオ: クリオプレシタート
 PTC: プロトロンビンコンプレックス(エタノール分離を行う前の血漿に陰イオン交換体を追加し、吸着成分を濾出により得る)
- ※5 クロマトグラフィーの記録
 アフィニティ: イムノアフィニティ-カラムクロマトグラフィー等
 イオン交換: Sephadex等のイオン交換クロマトグラフィー
- ※6 モデルウイルスの記録
 BVDV: ウンウイルス性下痢ウイルス
 SIN: シンドビスウイルス
 Echo: エコーウイルス
 PRV: 慢性肝炎ウイルス
 TBEV: 脳脊髄液性脳炎ウイルス
 HSV: 単純ヘルペスウイルス
 SFV: サル痘状ウイルス
 HIV: ヒト免疫不全ウイルス

グロブリンに感染力

血液製剤 C型肝炎ウイルス陽性

はしかの予防や治療などに使われた血液製剤「グロブリン製剤」の安全性を研究した実験で、一部の製剤が

らC型肝炎ウイルスが感染力を維持したまま混入していることを示す陽性反応が出たことがわかった。

同製剤は製造段階のアルコール処理により、ウイルスが混入しても死滅するとされ、国は感染の危険性を認めていない。同製剤は被害C型肝炎の被害者救済法の対象外だが、投与された大分市の男性が同法適用を求める訴訟を起こしており、関係者は今回の結果に注目している。

長井名誉教授によると、陽性反応が出たのは旧シメ

リ十字が1970年代に製造した製剤。77年に同社の製造担当者から譲り受け、密封状態で保管していた。2006年に同大を退職した後、実験を始め、翌07年には、製剤中にウイルスの遺伝子が存在することを示す結果を得た。

09年以降、ウイルスが生きたままなのか、死んで感染力を失った状態かを検証する実験を継続。ヒトの肝細胞に製剤を4時間触れさせた後、ウイルスを蛍光色素で確認する蛍光抗体法を用いたところ、肝細胞が感染したことを示す反応が表れた。実験は複数回行い、いずれも陽性反応が出たという。

厚生労働省は07年の実験について、ウイルスの断片が含まれる可能性を認めた上で、翌年の厚生労働委員

会では「米国での動物実験では感染力は確認されなかった」との見解を示し、グロブリン製剤による感染の危険性を否定してきた。今回の結果については、研究の内容を確認しており、コメントを返さないとしている。

資料 2-2

エタノール分画以外の製法によるアルブミン・グロブリン製剤に関する安全性評価

株式会社ベネシス

アルブミン-ミドリ、ヴェノグロブリン、グロブリン-ミドリについては、2010年6月23日の合同調査会で出発原料が静脈血漿由来と報告していた。しかしながら、アルブミン-ミドリは1971年から1990年の間、ヴェノグロブリンは1975年から1983年の間、グロブリン-ミドリは1965年から1997年の間、胎盤血漿を原料に製造できる承認も取得しており、その製造方法がエタノール分画とは異なることからこれら3製剤について追加のウイルス試験等を行い（別添表1及び別添表2の通り）、安全性評価について以下のように考察した。

(1) アルブミン-ミドリ

本剤については、静脈血漿の場合はコーン分画法の画分Vから製造されるが、胎盤血漿を使用した場合でも硫安分画後に静脈血漿由来の上清II+IIIに混合しコーン分画による画分Vを経て、液状加熱処理が施されていることから（別添図1）、ウイルス肝炎感染リスクは十分に低いと考えられる。

(2) ヴェノグロブリン

本剤は、静脈血漿の場合はコーン分画法の画分IIから製造されるが、胎盤血漿を使用した場合は硫安分画やアクリノール分画などの工程を経て製造される（別添図2の製法B及び製法C）。製法B,Cに共通のアクリノール分画では4以上のウイルス低減率が得られ、さらに製法CにおいてはPEG分画法が追加されている。このことから、本剤については、ウイルス肝炎感染リスクは十分に低いと考えられる。

(3) グロブリン-ミドリ

本剤については、静脈血漿の場合は1957年から1965年の間はコーン分画法の画分II+IIIから、1965年以降はコーン分画法の画分IIから製造されている。一方、1965年以降1989年までは原料に胎盤血漿を用いる製法も存在し、硫安分画法を主とした製法A（1965年～1974年）、製法B（1974年～1979年）及び製法C（1979年～1989年、1990年以降は製造実績なし）を用いて原画分（グロブリン画分）が製造されている（別添図2）。現存する製造記録によれば、静脈血漿由来のグロブリン画分に対して胎盤血漿由来のグロブリン画分を4～10%程度混合するか、もしくは静脈血漿由来のグロブリン画分のみで製剤化している。

上記製法A,B,Cのうち製法B及び製法Cについては、ヴェノグロブリンと同様に工程中に4以上のウイルス低減率が得られるアクリノール分画法が採用されており、

さらに製法 C については PEG 分画法が追加されている。このことから、製法 B 及び製法 C により製造する本剤はウイルス肝炎感染リスクは十分に低いと考えられる。

これに比して、製法 A では硫酸分画は行われているが顕著なウイルス低減を示す工程が含まれていなかった。しかしながら、次の点で本剤の使用によりウイルス肝炎感染リスクが増加していた状況にはないと考えられる。

【副作用報告による安全性評価】

製法 A による胎盤血漿由来のグロブリン画分が混合された製剤は、1965 年から 1974 年の間に延べ 200 万人以上に投与されたと推定される（下表参照）。一般的に、血漿分画製剤はそのロットに感染性のウイルスが混入した場合、集団的な感染症例が顕在化すると考えられる。本剤については 1967 年以降現在までに 10 例の副作用報告を入手しているが、肝炎ないし肝機能異常に関する副作用報告はない。

表. グロブリン—ミドリの推定製造本数と推定使用患者数

期間	推定製造本数 ¹⁾ (15% ,10mL 製剤換算) (万本)	推定使用患者数 ²⁾ (万人)
1964 年以前	不明 (資料なし)	不明 (資料なし)
1965 年～1974 年 (製法 A)	141	219
1975 年～1979 年 (製法 B)	108	167
1980 年～1989 年 (製法 C)	94	146

¹⁾: 販売記録がない 1979 年以前のものについては、人免疫グロブリン国家検定合格数量に旧ミドリ十字の市場占有率 (70% とした) を乗じたものから推定した。

1980 年以降については販売記録に基づいた。

²⁾: 成人には 10mL 製剤を 1 本、小児には 3mL 製剤を 1 本投与するとして推定した。したがって、推定使用患者数は推定製造本数よりも多くなる。

また、1965 年から 1983 年に報告された本剤を使用したと明記した論文は 15 報、総症例数は 735 例あった。15 報のうち輸血後肝炎予防目的での使用が 4 報で、うち 2 報 (179 例) が製法 A の製剤を使用した報告であると推定された。そのうち 1 報は、術後 6 カ月にわたり月に 1-2 回肝機能検査を行って肝炎発生の有無を観察した研究であり、もう 1 報は厚生省研究班の輸血後肝炎の診断基準に基づいた研究で、いずれも十分な観察の上で本剤の投与により肝炎の発生及び黄疸の発現を低下させることができたというものであった。さらに、輸血後肝炎予防目的以外の 11 報 (355 例) においても、肝炎伝播に関する記述はなかった。これらのことから、当時のグロブリン—ミドリは肝炎感染リスクを増大させることはなく、原料に胎盤血漿由来のグロブリン画分が含まれていた製剤においても肝炎感染リスクは低いものであったと考えられる。

【参考文献】

- 1) 松岡伊津夫、水痘の疫学的観察及び二、三のウイルス疾患との重感染、小児科, 1982;23(4),359-369

- 2) 播磨良一、閉鎖集団における麻疹ワクチンの予防効果 第2編 麻疹流行時、緊急接種としてのワクチン及びγ-グロブリンの効果、日本小児科学会雑誌,1977: 81(12),1291-98
- 3) 側見鶴彦ほか、グロブリンによる血清肝炎の予防、Medical Postgraduates, 1967:5(1),35-38
- 4) 佐藤陸平ほか、γ-globulin 大量投与による血清肝炎予防に関する研究、Medical Postgraduates, 1967:5(1),24-34
- 5) 清水力ほか、輸血後肝炎予防としてのγ-グロブリンの使用経験、Medical Postgraduates, 1970:8(2),31-34
- 6) 細馬静昭ほか、最近3年間の輸血後肝炎の現況、広島医学, 1976:29(2),127-133
- 7) 田中博美ほか、小児感染症に対するγ-globulin の使用経験、Medical Postgraduates, 1966:4(10),7-10
- 8) 須貝哲郎、帯状疱疹とγ-グロブリン療法、皮膚, 1968:10(1),91-97
- 9) 須貝哲郎、帯状疱疹に対するγ-グロブリン療法の治験、診療と新薬, 1970:7(5),955-961
- 10) 船橋俊行ほか、帯状疱疹に対するγ-globulin の治験、新薬と臨床, 1968:17(4),519-524
- 11) 大石正夫ほか、ヘルペス性角膜炎に対するγ-Globulin 結膜下注射療法、眼科臨床医報, 1968:62(9),848-851
- 12) 倉田和夫ほか、骨髄炎に対する抗生物質とγグロブリンの投与、整形外科, 1965:16(14),1253-7
- 13) 世山邦彦、小児科領域におけるγ-globulin の使用経験について、Medical Postgraduates, 1966: 4(10),11-13
- 14) 館野幸司ほか、小児気管支喘息のガンマ・グロブリン微量投与療法、小児科診療, 1967:30(5),738-740
- 15) 西田勝ほか、小児喘息性疾患に対するγグロブリン治療成績、小児科臨床, 1967:20(2),237-240

【筋注用グロブリン製剤の安全性に関する報告】

1960年代のWHOの報告においては、胎盤血漿由来グロブリンを含む筋注用グロブリン製剤による肝炎伝播症例は報告されておらず、当時からそのリスクは低いものと認識されていた。さらに、WHOのテクニカルレポート(1967年)には、筋注用グロブリンの製造に汎用されていたと考えられる硫酸分画法についても、血清肝炎の伝播に関して安全な製剤を製造できる製法である旨の記載がある。

一方では、静注用グロブリン製剤の開発初期の1980年代に、イギリス、アメリカ、スウェーデンで肝炎発生の報告があった。そのうちのイギリスでの事例では、静注用グロブリン製剤の治験において、同一の原料から製造された筋注用グロブリン製剤と治験品の静注用グロブリン製剤を先天性低ガンマグロブリン血症の患者に投与したところ、静注用グロブリン製剤を投与された患者12例全例で肝炎の発生があったが、筋注用グロブリン製剤を投与された患者12例には肝炎の発生がなかった。また、筋注用及び静注用グロブリン製剤を介したHCV感染について、投与ルートがウイルス伝播に影響を与えることがPiazzaにより指摘されている。

1990年代に発生したガンマガードによるHCV感染事例では、製造法を変更していないにもかかわらず、HCV抗体検査を第一世代から第二世代に切り替えた後に肝炎が発生したことから、第一世代の検査では排除されなかった抗体が、原料に混入していたウイルスを中和し、製剤による肝炎伝播を防御していたことが示唆された。さらに、ヴェノグロブリン250mg(IgGとして)を輸血液1単位(230mL)ごとに混合してから輸血するという1970年代の研究報告(ヴェノグロブリン投与群380例、非投与群378例)によれば、ヴェノグロブリンをあらかじめ混合しておく輸血後肝炎の発生が抑えられるという結果(輸血後肝障害の発生率:投与群5%vs非投与群13.7% (p<0.01)、発黄発生率:投与群1.3%vs非投与群5.5% (p<0.01))であった。同様の傾向がグロブリン-ミドリを用いた研究報告でも報告されている。また、約200人の抗HCV抗体陽性のドナーから実験的に調製された静注用グロブリンとインキュベ

ートした感染性のHCVを含む血漿がチンパンジーに感染を起こさなかったのに対し、その感染性の血漿を1000人以上の抗HCV抗体陰性のドナーから製した市販の静注用グロブリンとインキュベートしたものでは感染を引き起こしたという報告がある。これらの結果は、製剤中に含まれた中和抗体が肝炎の防止効果に寄与していたことを示唆するものである。

これらのことから、HCV抗体検査が行われる以前（概ね1990年以前）の本剤については、投与ルートが筋注であったこと及び製剤中の中和抗体の存在が安全性に大きく寄与していたと考えられる。

以上のように、製法Aによるグロブリン画分を混合した本剤については1965年から1974年の間に延べ200万人以上に投与されていたと推定されるが肝炎の発生は報告されていないこと、投与ルートの違いにより静注用グロブリン製剤よりも筋注用グロブリン製剤の方が肝炎発生リスクが少ないことが示唆されていること、さらに、製剤中の中和抗体が作用することでグロブリン製剤の感染リスクを低減させたと考えられることから、製法Aにおいてもウイルス肝炎感染リスクが増加していた状況にはないと考えられる。また、その他の製法についても、製法Aよりも何らかのウイルス低減率を有する工程を経て製造されていることから、ウイルス肝炎感染リスクは十分に低いと考えられる。

【参考文献】

- 1) World Health Organization. WHO Expert Committee on Hepatitis second edition. WHO Technical Report Series 285. 1964: 1-25
- 2) World Health Organization. The Use of Human Immunoglobulin: Report of a WHO Expert Committee. WHO Technical Report Series 327. 1966: 1-29
- 3) World Health Organization. WHO Expert Committee on Hepatitis nineteenth edition. WHO Technical Report Series 361. 1967: 41-56
- 4) Lane RS. Non-A, non-B hepatitis from Intravenous Immunoglobulin. Lancet 1983;ii: 974-975.
- 5) Lever AML, Webster ADB, Brown D, et al: Non-A, non-B hepatitis occurring in agammaglobulinaemic patients after intravenous immunoglobulin. Lancet 1984;ii:1062-1064.
- 6) Ochs HD, Fischer SH, Virant FS, et al: Non-A, non-B hepatitis and intravenous immunoglobulin. Lancet 1985;i:404-405
- 7) Bjorkander J, Cunningham-Rundles C, Lundin P, et al: Intravenous immunoglobulin prophylaxis causing liver damage in 16 of 77 patients with hypogammaglobulinemia or IgG subclass deficiency. Am J Med 1988;84:107-111.
- 8) Piazza M: Immunoglobulin transmits hepatitis C. True or false, Hepatology 1999; 29(1):299-300,
- 9) Mey-ying W. Yu, et al: Neutralizing antibodies to hepatitis C virus (HCV) in immune globulins derived from anti-HCV-positive plasma., PNAS 2004; 101(20): 7705-7710.
- 10) 菊池金男ほか, 静注用ヒトγ-globulin(Venoglobulin)による血清肝炎予防の試み. 日本輸血学会誌 1978 ;24(1-2): 2-8

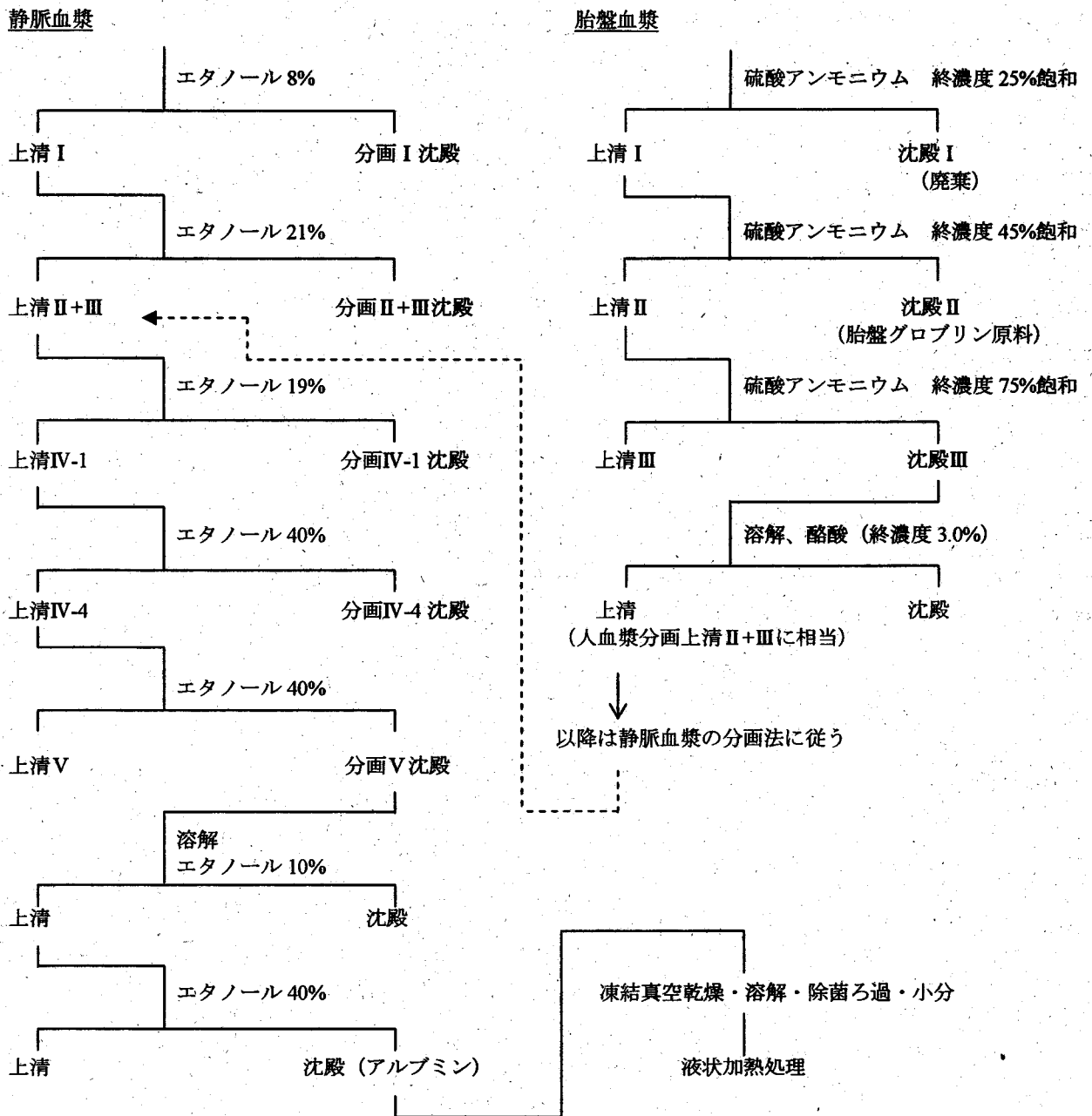


図 1. アルブミン-ミドリの製造フロー

表 1 アルブミン-ミドリ製造法のウイルス不活化/除去の評価

ステップ	HCV	BVD
分画 IV-1 + 分画 IV-4	ND	3.6
60°C 10 時間 (25% 製剤)	ND	≥ 6.9
(5% 製剤)	ND	≥ 6.0

BVD : Bovine Viral Diarrhoea Virus

HCV : Hepatitis C Virus

ND : Not done (実施せず)

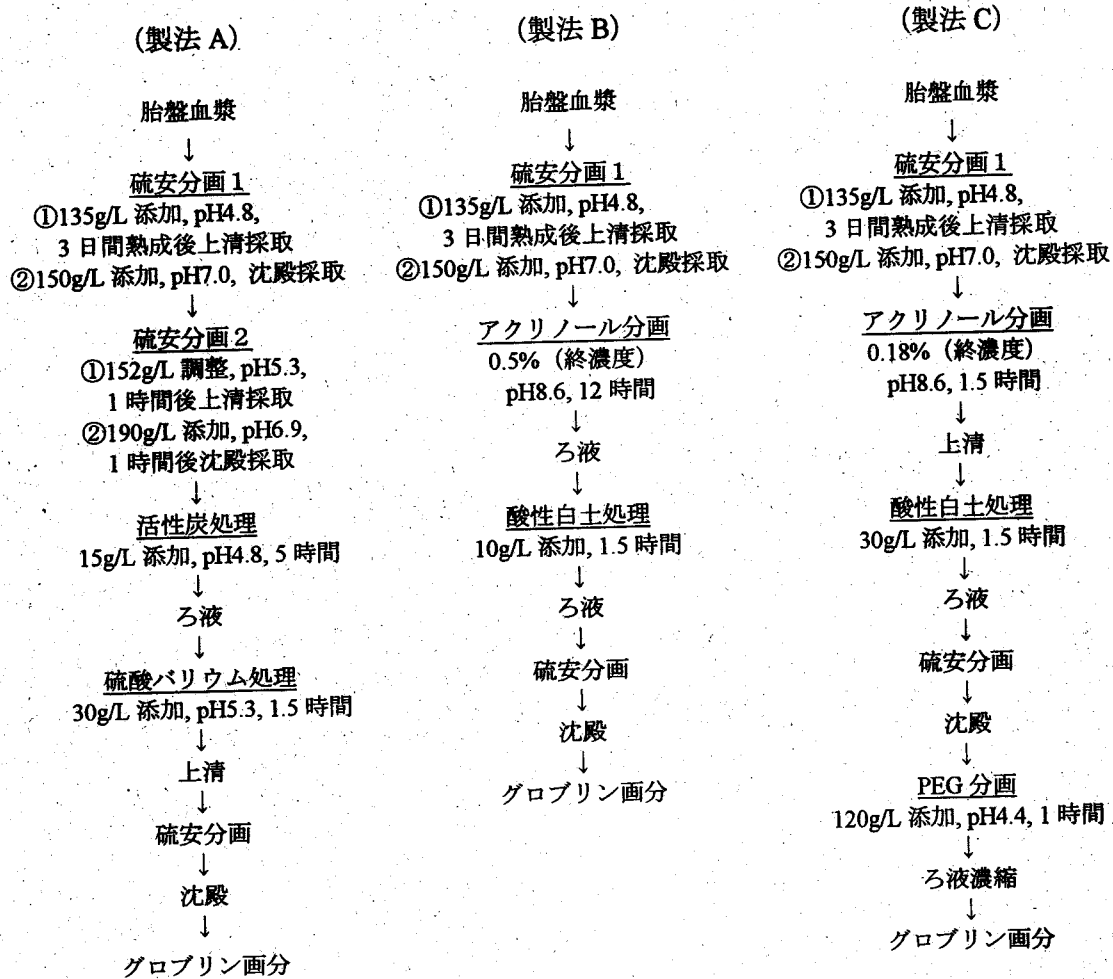


図 2. 胎盤血漿由来グロブリン画分の製造法

表 2. 胎盤血漿由来グロブリン画分の製法ごとのウイルス不活化/除去の評価

ステップ	製法 A		製法 B			製法 C		
	HCV	BVD	HCV ¹⁾	HCV ²⁾	BVD	HCV ¹⁾	HCV ²⁾	BVD
硫酸分画 1	<1.0 ³⁾	ND	<1.0	ND	<1.0	<1.0	ND	<1.0
硫酸分画 2	—	—	—	—	—	—	—	—
活性炭処理	<1.0	ND	—	—	—	—	—	—
硫酸バリウム処理	<1.0	ND	—	—	—	—	—	—
アクリノール分画	—	—	≥4.0	4.2	≥2.2 ⁴⁾	≥4.0	4.2	≥2.2 ⁴⁾
酸性白土処理	—	—	<1.0	ND	—	<1.0	ND	—
PEG 分画	—	—	—	—	—	≥5.5	≥4.8	<1.0

HCV : Hepatitis C Virus

BVD : Bovine Viral Diarrhoea Virus

ND : Not done (実施せず)

— : 該当工程なし

1) : 抗 HCV 抗体の影響を排除した評価系で実施

2) : 抗 HCV 抗体の影響を含めた評価系で実施

3) : 硫酸分画 1 + 硫酸分画 2 を 1 工程として評価

4) : アクリノール分画 + 酸性白土処理を 1 工程として評価

(課題) 企業から提出されたウイルスクリアランスの資料のみならず、国が、患者に直接投与された最終製品のNATを実施する必要の有無について。

1 製品の種類の範囲

- (1) すべての製品
- (2) 客観的にリスクの高いもの（製造方法、製造時期、感染報告の内容）
- (3) 実施する必要なし

2 ロットの検査の範囲

- (1) 全ロットを検査
- (2) 副作用報告があったロットが特定できる場合の検査
- (3) 各製品の製造方法の種類毎に検査

3 製品の製造時期の範囲

- (1) ある一定時期（例えば、1980年代、1990年代中頃まで、など企業の品質管理の保管検体がある限り）
- (2) 保管検体があるもの（例えば、法定保管義務・H15年以降）

4 NATの実施機関について

- (1) 国立試験研究機関で実施（例えば、依頼検査）
- (2) 外部の衛生検査機関で実施
- (3) 製造販売業者の責任で実施

資料 2 - 2 主要参考文献

下記の文献のうち、文献番号に下線のあるものを添付

【参考文献】

- 1) 松岡伊津夫、水痘の疫学的観察及び二、三のウイルス疾患との重感染、小児科, 1982:23(4),359-369
 - 2) 播磨良一、閉鎖集団における麻疹ワクチンの予防効果 第 2 編 麻疹流行時、緊急接種としてのワクチン及び γ -グロブリンの効果、日本小児科学会雑誌, 1977: 81(12),1291-98
 - 3) 側見鶴彦ほか、グロブリンによる血清肝炎の予防、Medical Postgraduates, 1967:5(1),35-38
 - 4) 佐藤陸平ほか、 γ -globulin 大量投与による血清肝炎予防に関する研究、Medical Postgraduates, 1967:5(1),24-34
 - 5) 清水力ほか、輸血後肝炎予防としての γ -グロブリンの使用経験、Medical Postgraduates, 1970:8(2),31-34...p1
 - 6) 細馬静昭ほか、最近 3 年間の輸血後肝炎の現況、広島医学, 1976:29(2),127-133...p5
 - 7) 田中博美ほか、小児感染症に対する γ -globulin の使用経験、Medical Postgraduates, 1966:4(10),7-10
 - 8) 須貝哲郎、帯状疱疹と γ -グロブリン療法、皮膚, 1968:10(1),91-97
 - 9) 須貝哲郎、帯状疱疹に対する γ -グロブリン療法の治験、診療と新薬, 1970:7(5),955-961
 - 10) 船橋俊行ほか、帯状疱疹に対する γ -globulin の治験、新薬と臨床, 1968:17(4),519-524
 - 11) 大石正夫ほか、ヘルペス性角膜炎に対する γ -Globulin 結膜下注射療法、眼科臨床医報, 1968:62(9),848-851
 - 12) 倉田和夫ほか、骨髄炎に対する抗生物質と γ グロブリンの投与、整形外科, 1965:16(14),1253-7
 - 13) 世山邦彦、小児科領域における γ -globulin の使用経験について、Medical Postgraduates, 1966: 4(10),11-13
 - 14) 館野幸司ほか、小児気管支喘息のガンマ・グロブリン微量投与療法、小児科診療, 1967:30(5),738-740
 - 15) 西田勝ほか、小児喘息性疾患に対する γ グロブリン治療成績、小児科臨床, 1967:20(2),237-240
-
- 1) World Health Organization. WHO Expert Committee on Hepatitis second edition. WHO Technical Report Series 285. 1964: 1-25...p12
 - 2) World Health Organization.. The Use of Human Immunoglobulin: Report of a WHO Expert Committee. . WHO Technical Report Series 327. 1966: 1-29...p17
 - 3) World Health Organization. WHO Expert Committee on Hepatitis nineteenth edition. WHO Technical Report Series 361. 1967: 41-56...p21
 - 4) Lane RS. Non-A, non-B hepatitis from Intravenous Immunoglobulin. Lancet 1983;ii: 974-975...p26
 - 5) Lever AML, Webster ADB, Brown D, et al: Non-A, non-B hepatitis occurring in agammaglobulinaemic patients after intravenous immunoglobulin. Lancet 1984;ii:1062-1064...p28
 - 6) Ochs HD, Fischer SH, Virant FS, et al: Non-A, non-B hepatitis and intravenous immunoglobulin. Lancet 1985;i:404-405...p31
 - 7) Bjorkander J, Cunningham-Rundles C, Lundin P, et al: Intravenous immunoglobulin prophylaxis causing liver damage in 16 of 77 patients with hypogammaglobulinemia or IgG subclass deficiency. Am J Med 1988;84:107-111...p33
 - 8) Piazza M.: Immunoglobulin transmits hepatitis C. True or false, Hepatology 1999; 29(1):299-300...p38
 - 9) Mey-ying W.Yu, et al: Neutralizing antibodies to hepatitis C virus (HCV) in immune globulins derived from anti-HCV-positive plasma., PNAS 2004: 101(20): 7705-7710...p40
 - 10) 菊池金男ほか、静注用ヒト γ -globulin(Venoglobulin)による血清肝炎予防の試み、日本輸血学会誌 1978 :24(1-2): 2-8...p46

輸血後肝炎予防としての γ-グロブリンの使用経験

清水 力*
平塚 弘之

野松 憲一
久下 衷

1. はじめに

いわゆる輸血後肝炎の発現は術後の経過を遷延せしめらるばかりでなく、慢性肝炎や肝硬変へ進展する危険性を帯び始めるもので外科医にとつて、まことに困却する合併症の一つである。

かかる輸血後肝炎の最善の予防対策は輸血をしないことであるから、われわれも日常は努めて輸血節減化手術を行なっている。即ち術前に著明な貧血がなければ手術時の出血量が500ml以下の場合には原則として輸血を行わず血漿増量剤などの輸液ですましていくことが多い。しかしながら胃や十二指腸潰瘍で出血が著明な場合、また後出血の際、あるいは最近頻発している交通事故や産業災害による外傷時の大量出血などでは勿論輸血が必要とされるが、かかる場合にもわれわれは日常屢々遭遇する。

われわれは今回輸血後肝炎の発生予防としてγ-グロブリンを試す機会を得たのでその大要を報告する。

2. 輸血後肝炎の発生状況

昭和43年3月より翌年2月に至る1年間に外科を退院した患者は562例であるがこの中輸血を施行したものは119例で輸血頻度は21.1%であつた(表1a)。一般に輸血後肝炎は輸血施行後2~3カ月して頻発しているようであるが、われわれは日常輸血後には6カ月間にわたり1カ月に1~2度の定期的な肝機能検査を行なつて肝炎の発見に努めている。われわれの輸血施行119例の中、癌末期例や術後早期死亡例を除きかかる肝機能検査をroutineにfollow upし得たものは78例である。血清肝炎と輸血後の肝障害との厳密な分析が困難である今日、われわれはGOTあるいはGPT値またはその両者がともに100単位以上を示した場合を輸血後肝炎と考え、この

* 大分赤十字病院 外科

本論文の要旨は第16回日本輸血学会九州支部総会、第30回例会にて発表したものである。

際肉眼的に黄疸が明瞭に識別されるもの(黄疸指数が20単位以上)を黄疸発現例とした。その結果肝炎発生例は15例19.2%、黄疸発現例は4例5.1%であつた(表1b)。

輸血血液の種類では献血による日赤保存血が75例、96%で大多数を占めている。日赤保存血輸血群では肝炎の発生は17.3%、黄疸の発現は5.3%であり、日赤保存血と新鮮血混合輸血群では肝炎発生は66.7%、黄疸発現は0%であつた(表2a)。ここに献血血液はすべてGOT値が40単位以下の健康者からのみ採血しているが遺憾ながら肝炎の発生は絶無ではない。

これには、いわゆる silent carrier の存在が関与しているものと考えられ今後の問題であろう。つぎに肝炎発生と輸血量との関係についてみると1000ml以上の大量輸血群に肝炎が多発した黄疸発現例もすべてこの中に含まれているが、他方200ml1本の輸血でも肝炎の発生がみられた事実からとにかく日赤の献血保存血液1本でも輸血を受ければ肝炎との腐れ縁ができたものと考えねばならない(表2b)。

輸血後肝炎発生15例についてGOT、GPT値の消長

表 1. a)

1年間における退院患者総数	1年間における輸血施行例数	輸血頻度
562	119	21.1%

b)

輸血施行例総数	肝炎発生例		黄疸発現例	
	例数	%	例数	%
78	15	19.2	4	5.1

(癌末期症例および手術後早期死亡症例を除く)

を追跡した結果、両者共に100単位以上を示したものが大多数で、この際 GOT 値の方が高いものが多く、輸血後1~2カ月してピークを示すものが頻発している(図1図2)。

3. 臨床成績

γ-グロブリン(ミドリ十字製で1ml中100mgのγ-グロブリンを含む)を使用したものは32例である。本剤の使用方法は輸血直後に15ml(平均30mg/kg)、更に4~5週後に再び同量を筋注するのが基準とされている。

われわれの場合には輸血直後にのみγ-グロブリンを15ml筋注した1回使用群は19例、基準通りの2回使用群は12例、更に3回使用したものが1例である。まずこれらを区別することなく一括してγ-グロブリン使用群32例と非使用の対照群46例とについての肝炎発生および黄疸発現状況を検討した結果は両者内に大差が認められなかった(表3a)。次にγ-グロブリン1回使用群と2回使用群(適正注射群)とを比較した結果、後者の方が肝炎発生特に黄疸発現率が低下していた(表3b)。

以上の成績から本剤の肝炎予防効果は使用基準の如く2回注射しなければ期待できないものと推察される。即

表 2. a)

輸血々液の種類	肝炎発現例		黄疸発現例	
	例数	%	例数	%
日赤保存血(献血)	13/75	17.3	4/75	5.3
日赤保存血(献血) 新鮮血	2/3	66.7	0/3	0

b)

輸血量 ml	200	800	1000	2000	3400	3400	合計
	まで	まで	まで	まで	まで	以上	
肝炎発現例	3	2	0	5	3	2	15
黄疸発現例	0	0	0	1	2	1	4

ちγ-グロブリンを2回以上注射した13例では肝炎発生は15.4%で対照群の19.5%に比しやや少なく、また黄疸発

図 1.

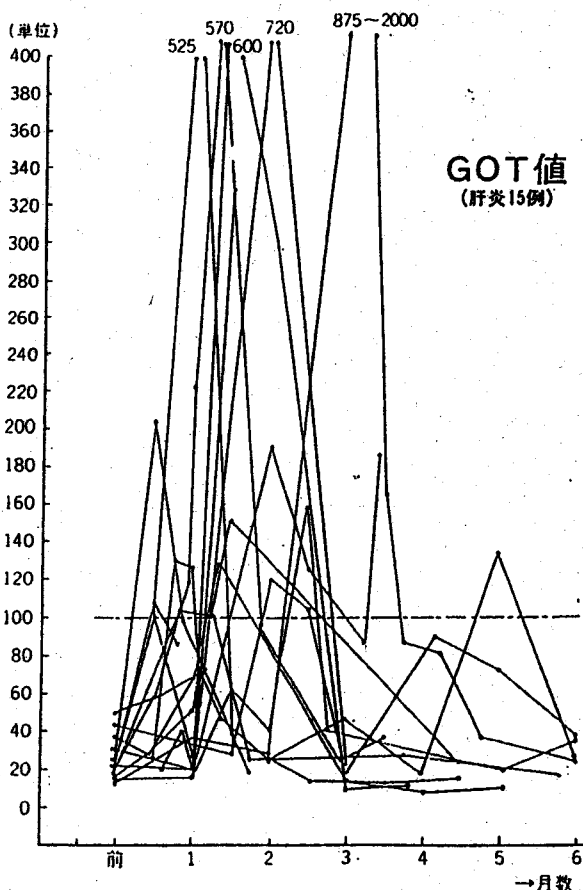


図 2.

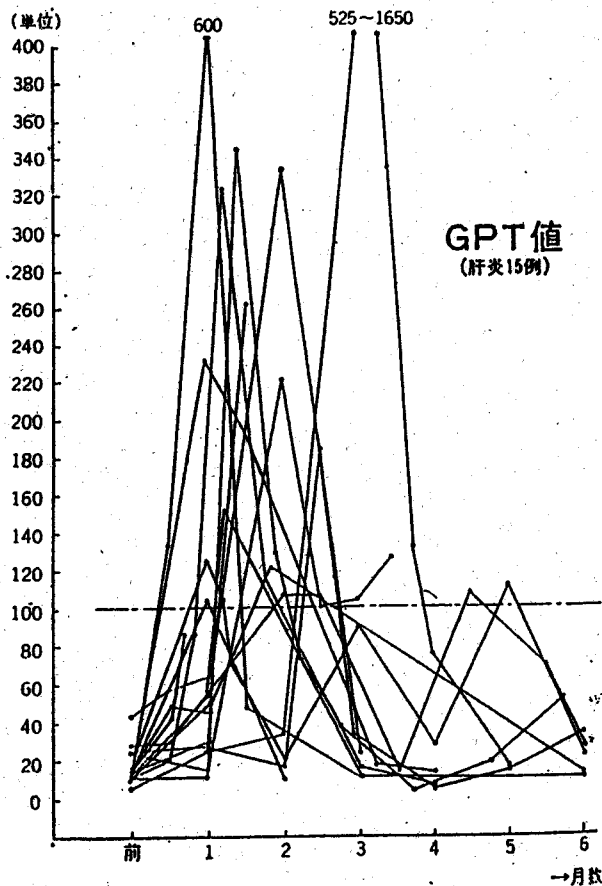


表 3. a)

	例数	肝炎発症例		黄疸発現例		合計
		例数	%	例数	%	
γ-グロブリン 使用群	32	6	18.7	2	6.2	78
対 照 群	46	9	19.5	2	4.3	

b)

	例数	肝炎発症例		黄疸発現例		合計
		例数	%	例数	%	
γ-グロブリン (15ml) 1回注射	19	4	21.0	2	10.5	32
γ-グロブリン (15ml) 2回注射	12	2	16.7	0	0	
γ-グロブリン (15ml) 3回注射	1	0	0	0	0	

現は0%で対照群の4.3%に比し明らかに低下していた(表4)。

つきに肝炎15例についてGOT, GPT値の回復までの期間をみると、本剤使用の6例では最短11日最長42日平均19.8日であり、対照の9例では最短15日最長67日平均33.9日であつた(表5, 表6)。即ち本剤使用群ではトランスアミナーゼ値の回復期間が対照群に比し短縮していた。

4. まとめとむすび

献血思想や制度の普及により現在では国内の輸血々液の殆んどが献血々液で充たされるに至つたことはまことに同度の至りである。買血隆盛時代に比し血清肝炎の発生は急激に減少してきたが、献血々液の輸血でも遺憾ながら肝炎の発生は皆無ではない。たとえば日本輸血学会血清肝炎調査委員会の全国統計によれば、昭和42年6月および7月に輸血した患者で、その後6カ月の観察結果では肝炎発生頻度は15.5%、黄疸発現頻度は4.0%であり、この内日赤保存血輸血群では夫々17.8%、3.7%となつてゐる。われわれの成績(昭和43年3月から翌年2月に至る1年間に外科を退院した輸血施行患者についての調査)でも献血血液輸血群の肝炎発生は17.3%に黄疸発現は5.3%に認められた。

かかる輸血後肝炎発生予防の対策は従来から多くのものがあり枚挙にいとまがない。たとえば九州大学血清肝炎研究班の調査では抗ウイルス剤のABOBの効果を検討

表 4.

γ-グロブリンの輸血後肝炎発生に対する予防効果

	肝炎発症例		黄疸発現例		合計
	例数	%	例数	%	
γ-グロブリン 適正注射群	2 13	15.4	0 13	0	59
対 照 群	9 46	19.5	2 46	4.3	

した結果、本剤は発症した肝炎の重症度を軽減する効果があるようだといつている²⁾。また太田らは、イノシンが明らかに術後肝炎の発生率を低下したと云つてゐる³⁾。更に桜井は胸部外科領域における輸血後肝炎の対策としてγ-グロブリンを使用し肝炎発生が対照群では11.3%であつたが使用群では2%に低下し効果があつたといひ、山本らも肝炎発生頻度はγ-グロブリン使用群では19.3%、対照群では46.2%であつた点からその予防的効果を認めてゐる⁴⁾。しかしながら、γ-グロブリン使用群では肝障害が15.2%、黄疸発現が4.8%であり、なにも対策を行なわなかつた群の夫々15.3%、3.2%に比し大差がなかつたと云う報告もある¹⁾。

われわれの成績では症例が僅少で確定的なことは云えないが、γ-グロブリン使用群では肝炎発生は15.4%、黄疸発現は0%、対照群では夫々19.5%、4.3%であつたことから本剤は輸血後の肝炎発生特に黄疸の発現を低下せしめる傾向が窺われた。またわれわれの場合にはγ-グロブリンを1回注射した症例では肝炎、黄疸の発現の予防的効果は殆んど認められなかつた事実から本剤のこの方面の効果を期待するには基準通りの2回注射が望ましい。

山本らはγ-グロブリン使用群では対照群に比し肝障害の程度も軽く、持続時間も短かつたといつてゐる⁵⁾。われわれの場合にも肝炎15例についてみると本剤使用群ではトランスアミナーゼ値の回復期間は平均19.8日に対照群の平均33.9日に比し約半分近くの短縮が認められた。肝炎の治療には輸液、ビタミン剤、食餌療法、安静、ステロイド、その他種々の強肝底護剤などが使用されているため、勿論γ-グロブリン単独の効果を正確に云々することはできないにしても、本剤は肝炎の治療機転を促進せしめる傾向があるように思惟される。

輸血後肝炎の決定的な予防対策がない今日では一方肝炎発生が殆んどないとされている冷凍血液や赤血球浮遊液などの早期普及化を望むとともに、他方肝炎の発生予防薬の一つとしてγ-グロブリンも使用してみるべきことをわれわれの追試成績に徹し強調したい。

(ご指導を仰いだ院長荒巻逸夫博士に謝意を捧げる。)

表 5. γ -グロブリン使用群

番号	姓名	性別	年齢	病名	術式	γ -グロブリン 使用量	GOT 最高値	GPT 最高値	GOT・GPT値 の回復までの期間
1	赤 ○	女	46	出血性 十二指腸潰瘍	胃切除	15ml×2	135	125	11 日
2	穴 ○	男	65	出血性 胃潰瘍	胃切除	15ml×2	190	220	12 日
3	小○丸	男	51	直腸癌	直腸切断	15ml×1	155	185	13 日
4	佐 ○	男	59	胃癌	胃切除	15ml×1	720	335	18 日
5	小 ○	男	63	直腸癌	直腸切断	15ml×1	2000	1650	22 日
6	藤 ○	男	36	胃癌	胃切除	15ml×1	120	105	42 日
平 均									19.8 日

表 6. 対 照 群

番号	姓名	性別	年齢	病名	術式	GOT 最高値	GPT 最高値	GOT・GPT値 の回復までの期間
1	山 ○	女	47	出血性 胃潰瘍	胃切除	570	321	67 日
2	大 ○	女	52	特発性 食道拡張症	噴門切除	128	150	49 日
3	富 ○	女	65	出血性 胃潰瘍	胃切除	600	345	43 日
4	千 ○	男	54	胃潰瘍	胃切除	100	48	15 日
5	衛 ○	男	53	十二指腸 潰瘍穿孔	胃切除	525	600	28 日
6	末 ○	男	57	胃潰瘍	胃切除	200	105	27 日
7	森 ○	男	39	十二指腸 潰瘍	胃切除	102	230	28 日
8	戸 ○	男	38	出血性 胃炎	胃切開	102	64	18 日
9	甲 ○	女	54	胃潰瘍	胃切除	150	120	30 日
平 均								33.9日

文 献

- 1) 島田信勝ら：日本輸血学会雑誌, 190頁, 第15巻, 1969年.
- 2) 九州大学血清肝炎研究班：血清肝炎の実態と対策, 金原出版, 東京, 1966年.
- 3) 太田満夫ら：臨床と研究, 107頁, 第8号, 第44巻, 1967年.
- 4) 桜井淑史：Medical Postgraduates, 17頁, 第7号, 第6巻, 1968年.
- 5) 山本浩ら：Medical Postgraduates, 23頁, 第7号, 第6巻, 1968年.

最近3年間の輸血後肝炎の現況

—特にγ-グロブリンの予防効果について—

細馬 静昭*・大城 久司*・山本 泰次*
 中谷 一彌*・山下 達博*・八幡 浩*
 夜陣 正明*

1. はじめに

輸血による肝炎が報告されたのは比較的新しく、1943年 Beeson による報告が最初であり、本邦では1952年楠井、天野によって始めて報告されている。

その後、本邦では血液供給源をもっぱら売血に求めたことにより、輸血後肝炎の発生は逐年毎に増加し、日本輸血学会血清肝炎委員会の調査では、昭和37年頃から目立って急増し、昭和40、41年には最盛期をむかえているが、これが社会的問題となった昭和39年頃から次第に売血から預血献血制度に移行したことによって、昭和42年になって低下をみた¹⁾。広島地方では、広島血液銀行の協力を得て他地方よりも割合に早く、昭和39年12月から完全に預血または献血にふみ切ったので、昭和40年より輸血後肝炎の低下をみている²⁾。しかし42年になると再び売血使用時の如く発生率が高くなり、最近の Au 抗原スクリーニング後の輸血の場合でも、肝炎発症 19.7%、発黄 4.4%³⁾、肝炎発症 16.8%⁴⁾ と高い発生報告をみており、低い報告でも 8.7%⁵⁾ の輸血後肝炎発生率の報告がされているので、輸血血液の質的改善はなお完全とはいえない。これは現在の採血検査基準が、肝機能検査基準として GOT 40単位以下と Au 抗原スクリーニングは行われているが、長尾⁶⁾や二之宮⁷⁾ ののべるごとく、GOT 20単位、GPT 15単位以下に基準を下げておらず、また Au 抗原についてももっと厳重にチェックをすれば、肝炎の発症が低下するものと考えられる。しかしながら現在の血液不足状態から考えても、採血基準を厳しくすることは仲々困難な事情があり、ただ血液センターのみを責めるのは苛酷であろう。広島血液センターでは、50年4月から Au 抗原陽性チェックを従来の倍に厳重に行なっており、また、近く ALP、GPT の検査も追加する予定であるので、私は将来の輸血後肝炎の低下に希望をもっているものである。そこで当地方で Au 抗原検査が行なわれ出した47年1月からの3年間における、当院第1外科での輸血後肝炎の調査をまとめておき、将来の輸血後肝炎の資料とするのも意義がある

と考えたので、今回の調査を試みた次第である。

輸血後肝炎の予防対策としては、(A)輸血の節減、(B)供血者のスクリーニング、(C)血液に対する洗浄等の物理的な処理、(D)輸血時の器具及び薬剤による予防に4大別されることは論をまたない。このうち一般病院で予防対策として行ないうるのは、(A)の輸血の節減は当然のことであるが、(D)のうちの disposable の器具使用であり、薬剤による予防としては抗アレルギー剤の使用、γ-グロブリンの使用、ステロイドの使用等であろう。われわれは、輸血後肝炎の予防対策として、①輸血の節減、② disposable の器具使用、③ γ-グロブリンの筋注の3点を行なっており、すでに昭和43年12月からの1年間の成績については発表している⁸⁾ので、今回は最近3年間(昭和47年1月~49年12月)の、当院外科における輸血後肝炎の現況、並びに γ-グロブリン筋注の予防効果について主に検討を加えたので発表する。

2. 輸血後肝炎の診断基準

輸血後肝炎の診断基準としては、日本輸血学会血清肝炎調査委員会の基準もあるが、われわれが前回調査

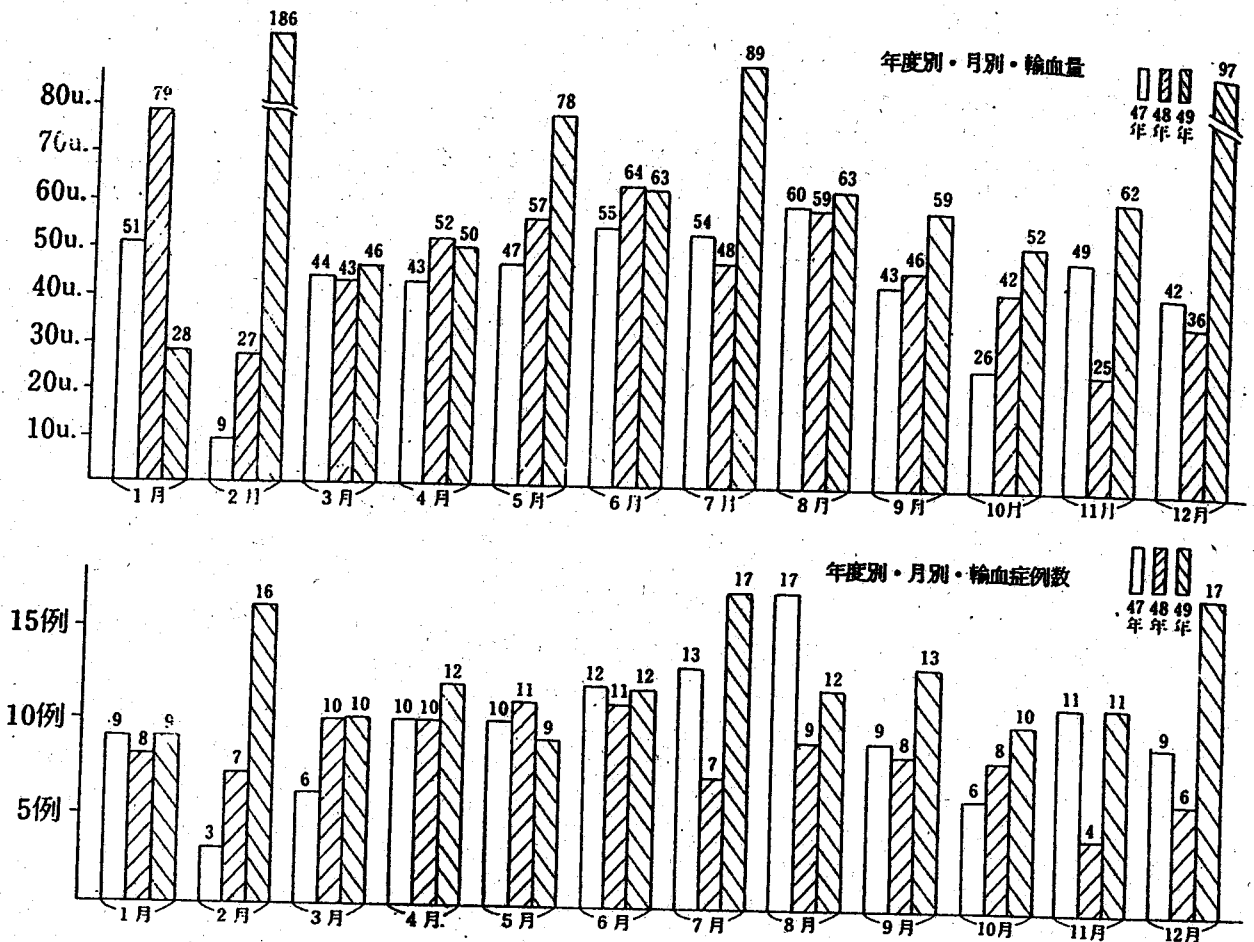
表1 輸血後肝炎の診断基準(吉利班)

- | |
|--|
| 1) 輸血後3週以後に GPT 値50単位以上の上昇が連続2回以上みとめられたものを、血清肝炎の疑いあるものとする。 |
| 2) 上記の症例で、200単位以上の上昇がみられた例は血清肝炎と診断する。 |
| 3) MG 15単位以上の例を発黄例とする。 |

*Shizuaki Hosoma, *Hisashi Oshiro, *Taizi Yamamoto, *Kazuya Nakatani, *Tatsuhiko Yamashita, *Hiroshi Yawata, *Masaaki Yazin: Post-transfusion hepatitis in the past three years, especially on the protective effect of γ-globulin. *The 1st Department of Surgery, Hiroshima Prefectural Hospital.

*広島県立広島病院第1外科

表 2



報告した時に用いた厚生省の研究班(班長, 吉利 和)で決定されている表1の判定基準¹⁾に従った(表1)。

3. 輸血状況と検索例について

県立広島病院第1外科において昭和47年1月1日より昭和49年12月31日迄の3年間に使用した血液は、321症例に対して1692u. (1u. = 200ml)であり、A型123症例、B型64症例、AB型41症例、O型93症例となっている。

月別による輸血症例数及び使用血液量は表2の如くであり、各月による著しい差異は認められない。またRh検査では298例がRh陽性であり、わずかに3例(0.93%)のみがRh陰性の患者であった(表2)。

321症例のうち、輸血前から肝機能異常を示した肝胆道障害患者や、癌末期、或いは輸血後短時日で死亡した症例を除外して、輸血後に長期にわたり肝機能検査を追求しえたものは224例であった。以下は224例を対象に検討を加えることにした。

4. 輸血後にみられた肝機能検査異常

われわれは肝機能検査として、MG, ALP, GOT,

GPT, CCF, ZTT (または TTT), 及び LAP, LDH の検査を基本として行なっている。輸血前にこれ等の検査が正常範囲内にあった症例で、輸血後に異常値を示した症例は224例のうち112例(50%)に達した。112例のうちには、一時的に異常値を呈したもの、持続的に異常値を呈したもの、また1種類の検査のみ異常を呈したものから数種類の検査値が異常を呈したもののすべてを含んでいるので、112例のすべてが肝機能障害を生じたとは勿論いわれないし、また肝障害の軽重をこれにより論ずることも出来ない。8種の検査のうち、GPTの異常をみた症例が最も多くて53例、次いでLDHの異常46例、以下ALPの36例、GOTの32例、ZTT (TTT)の17例、CCFの13例、LAPの12例の順にみられた。

疾患部位別に表3の如く、 $\frac{\text{肝機能検査異常例}}{\text{肝機能検査追求例}}(\%)$ をみると、 $P < 0.1$ の有意差で乳房疾患例では肝機能検査異常例が多く、また直腸疾患例には少ないといえる(表3)。

表3 疾患別による輸血後の肝機能検査異常例

乳房疾患	$\frac{13}{20}$	65.0%
良性胃十二指腸疾患	$\frac{18}{34}$	52.9%
悪性胃疾患	$\frac{38}{91}$	41.8%
胆嚢疾患	$\frac{7}{16}$	43.8%
回盲部・結腸疾患	$\frac{6}{15}$	40.0%
直腸疾患	$\frac{6}{23}$	26.1%

(少数疾患例を除く)

5. 輸血後肝炎の発生状況

さきののべた輸血後肝炎の診断基準に従って判定をすると、最近3年間に於ける肝炎の疑いは25例(男性15例, 女性10例)にみられ、肝炎は23例(男性13例, 女性10例)にみられた。これは224例の検索例に対して、肝炎の疑い11.2%, 肝炎10.3%となる。また発黄例は肝炎23例中7例(男性4例, 女性3例)を占め、検索例に対して3.1%を占めていた(表4)。

輸血時期と輸血後肝炎の関係では、表5の如く、秋期と春期に多く肝炎が発症し、冬期の輸血例では発症

表4 輸血後肝炎(47~49年)

	男性	女性	計
肝炎の疑い	15例 (14.0%)	10例 (8.6%)	25例 (11.2%)
肝炎	13例 (12.2%)	10例 (8.6%)	23例 (10.3%)
肝炎のうち発黄例	4例 (3.7%)	3例 (2.6%)	7例 (3.1%)

検索例 224例 (男 107例
女 117例)

表5 輸血時期と輸血後肝炎

	肝炎の疑い	肝炎	発黄例	計
3~5月	9.1%	12.7%	1.8%	21.8%
6~8月	9.7%	9.7%	4.2%	19.4%
9~11月	18.4%	14.3%	4.1%	32.7%
12~2月	8.3%	4.2%	2.1%	12.5%
計	11.2%	10.3%	3.1%	21.4%

が少ない。発黄例は夏期と秋期に多くみられた。しかしながら、これは推計学的には有意の差とは認め難い(表5)。

疾患別と輸血後肝炎との関係では、表6の如く、直腸疾患輸血例では肝炎の疑い、肝炎の発症が明らかに少ないが、推計学的には有意の差として認められなかった(表6)。

血液型と輸血後肝炎との関係では、表7の如く、A型では肝炎の疑い14.1%, 肝炎12.9%, 計27.1%で非常に高くみられ、B型では肝炎の疑い5.0%, 肝炎5.0%, 計10.0%で最も低い発生率を示し、 $P < 0.10$ の有意差でB型では肝炎の疑い、肝炎の発生が少ないといえる(表7)。

表6 疾患別による輸血後肝炎

	肝炎の疑い	肝炎	計
乳房疾患	10.0%	20.0%	30.0%
良性胃十二指腸疾患	20.6%	8.8%	29.4%
悪性胃疾患	9.9%	13.2%	23.1%
胆嚢疾患	12.5%	6.3%	18.8%
回盲部・結腸疾患	13.3%	13.3%	26.7%
直腸疾患	4.4%	4.4%	8.7%

(少数疾患例を除く)

表7 血液型と輸血後肝炎

	肝炎の疑い	肝炎	計
A型	14.1%	12.9%	27.1%
B型	5.0%	5.0%	10.0%
AB型	10.0%	6.7%	16.7%
O型	11.6%	11.6%	23.2%

6. γ -グロブリンの輸血後肝炎予防効果

輸血症例に対しては、 γ -グロブリン10ml(ミドリ十字製1500mg以上含有)の筋注を輸血直後と4週間後の2回にわたり、予防的に使用することを原則としたが、症例によっては4週以内に退院したため2回目の注射が脱落したり、また症例によっては主治医により最初から注射をしなかった場合や注射を忘れていた症例もあって、必ずしも全例に γ -グロブリンの2回注射が行なわれていなかった。輸血後肝機能検査追求例は224例であるが、これを γ -グロブリン2回注射群と1回注射群及び非使用群に分類をすると、表8の如く、2回注射群が84例(男性42例, 女性42例)で最も

多く、1回注射群は63例（男性30例、女性33例）となり、非使用群は77例（男性35例、女性42例）となった（表8）。

γ-グロブリン2回注射群84例では、輸血後肝機能検査異常例が37例、肝炎の疑いが6例、肝炎6例、うち発黄例1例であり、γ-グロブリン1回注射群63例中の輸血後肝機能検査異常例は28例、肝炎の疑いが8

表 8

	男性	女性	計
γ-グロブリン2回注射例	42例	42例	84例
γ-グロブリン1回注射例	30例	33例	63例
γ-グロブリン非使用例	35例	42例	77例

表 9

	肝機能異常	肝炎の疑	肝 炎	発 黄
γ-グロブリン2回注射例	$\frac{37}{84}$ (44.05%)	$\frac{6}{84}$ (7.14%)	$\frac{6}{84}$ (7.14%)	$\frac{1}{84}$ (1.19%)
γ-グロブリン1回注射例	$\frac{28}{63}$ (44.44%)	$\frac{8}{63}$ (12.70%)	$\frac{9}{63}$ (14.29%)	$\frac{3}{63}$ (4.76%)
γ-グロブリン非使用例	$\frac{31}{77}$ (40.26%)	$\frac{11}{77}$ (14.29%)	$\frac{8}{77}$ (10.39%)	$\frac{3}{77}$ (3.90%)
計	$\frac{96}{224}$ (42.86%)	$\frac{25}{224}$ (11.16%)	$\frac{23}{224}$ (10.27%)	$\frac{7}{224}$ (3.13%)

例、肝炎9例、うち発黄例3例であった。これに対してγ-グロブリン非使用群77例中の輸血後肝機能検査異常例は31例、肝炎の疑いは11例、肝炎8例、うち発黄例は3例であった（表9）。

従って表9の如く、γ-グロブリン2回注射群では輸血後肝機能検査異常例は44.05%、肝炎の疑い7.14%、肝炎7.14%、発黄例1.19%がみられたことになり、γ-グロブリン1回注射群では輸血後肝機能検査異常例が44.44%、肝炎の疑い12.70%、肝炎14.29%、発黄例4.76%となる。またγ-グロブリン非使用群では輸血後肝機能検査異常例が40.26%、肝炎の疑い14.29%、肝炎10.39%、発黄例3.90%となり、γ-グロブリン2回注射群では、 $P < 0.10$ の有意差で肝炎の疑い、肝炎、発黄例の発生頻度が少ないといえる。γ-グロブリン1回注射群やγ-グロブリン非使用群に比して、γ-グロブリン2回注射群では、輸血後肝炎の明らかな予防効果を認めることが出来た。

7. 考 按

輸血後肝炎の診断基準については、日本輸血学会血清肝炎調査委員会の基準と、厚生省の研究班会議による基準とがあり、何れを診断基準にとるかは報告者によりまちまちである。われわれは、前回調査の昭和43年12月からの1年間の成績と比較する必要性からも、また消化器癌症例の輸血例が多いことから、前回同様に厚生省の研究班会議で決定された輸血後肝炎の基準に従ったが、若林¹³⁾の報告では、後者の基準をとれば、肝炎の疑いを入れてもなお前者の肝炎よりも発生

率が低くなり、また発黄率も後者が低くなるという（表10）。

前回の43年12月からの1年間に比して、最近の47年48年、49年の夫々1年間における輸血症例数、使用血液量はともに減少しているが、これはやはり輸血後肝炎防止のためにわれわれが第一に心がけている輸血の節減のあらわれであろう（表11）。

輸血後肝炎は、前回調査と同様に今回の調査でも、女性に比して男性にやや高い発生率を示しており、肝炎の疑いを加えても各年度ともに明らかに男性に発生率が高い様である。輸血後肝炎について、男女間の発生率についての文献は少ないが、天羽¹²⁾、勝屋¹⁴⁾はわれわれと同様に男性に発生率が高いとのべている（表12）。

表10 輸血後肝炎の診断基準（日輸血肝調委）

- 1) 消化器癌および肝・胆道疾患を除き、輸血後 GOT あるいは GPT 値の何れかの1つが100単位以上上昇したものを輸血後肝炎とする。
- 2) MG 11単位以上の例を発黄例とする。

表11 当院の輸血状況

	43.12.1~44.11.30	47.1.1~47.12.31	48.1.1~48.12.31	49.1.1~49.12.31
輸血例	144例	115例	99例	107例
血液量	782 u.	524 u.	578 u.	590 u.

表12 当院外科の性別・年度別の輸血後肝炎

	男 性				女 性			
	44年	47年	48年	49年	44年	47年	48年	49年
肝炎の疑	4.7%	17.5%	14.3%	9.4%	2.9%	7.5%	6.8%	12.1%
肝 炎	18.6%	5.0%	14.3%	18.8%	14.7%	7.5%	9.1%	9.1%
肝炎のうち発黄	7.0%	0	8.6%	3.1%	11.8%	2.5%	2.3%	3.0%
計	23.3%	22.5%	28.6%	28.1%	17.7%	15.0%	15.9%	21.2%

表13 当院外科の輸血後肝炎

輸血例	肝炎の疑	肝 炎	肝炎のうち発黄	計
44年・77例	3.9%	16.9%	9.1%	20.8%
47年・80例	12.5%	6.3%	1.3%	18.9%
48年・79例	10.1%	11.4%	5.1%	21.5%
49年・65例	10.8%	13.9%	3.1%	24.6%

前回調査と最近3年間の輸血後肝炎の発生状況については、表13の如く、前回調査では肝炎の疑いが少なく、肝炎、発黄例が多くみられており、最近3年間では肝炎は前回調査ほど多くはない。しかし47年にくらべて48年、さらに49年と最近3年間における肝炎発生の増加が目立ち、肝炎の疑いも入れると、47年度18.9%、48年度21.5%、49年度24.6%と漸増傾向にあるようである。かかる状況からみても緒言にのべた如く、血液センターの採血基準がさらに厳重に行なわれることを早急に望む次第である(表13)。

輸血時期と輸血後肝炎の発生については、前回調査と同様に今回調査でも、秋期と春期に多く発症をみており冬期では発生が著しく低かったが、推計学的には有意の差を認めていない。

血液型と輸血後肝炎の発生については、前回調査と同様にA型が最多であり、推計学的にはB型では肝炎の疑い、肝炎の発生が少なく、Allenも血液型による発生率はA型とO型に多いとのべている¹³⁾。

輸血後肝炎の最近の発生率は、塚田¹⁴⁾その他によれば、厚生省の研究班会議による基準によって、表14の如くであり、昭和44年以降は肝炎の疑いの発生率は横道を示し、また昭和45年以降は肝炎の発生率が横道いとなっているが、文献的に最近3年間の発生率の報告がみあたらないので、著者等の感じている最近の肝炎漸増傾向が、杞憂に終われば幸いだと考えている。

佐々木⁹⁾は、輸血後肝炎の発生予防について、γ-グロブリン使用による希望的観測をのべているが、果たして本当にγ-グロブリンは有効なのであろうか？。

表14 輸血後肝炎の発生率

報告者	輸血数	肝炎の疑	肝 炎
島田・塚田 41年	394	28.9%	13.7%
" 42年	742	16.6%	8.0%
" 43年	516	24.8%	14.0%
若林 44~45年	109	11.9%	14.7%
佐々木 44年	77	3.9%	16.9%
島田・塚田 45年	523	16.1%	8.0%
片山 "	124		18.6%
菊地 45~47年	425	5.0%	8.7%
島田・塚田 46年	290	13.1%	6.2%
自験例 47~49年	224	11.2%	10.3%

輸血後肝炎の予防としてのγ-グロブリンについては否定的な意見¹⁵⁻¹⁸⁾もあるが、一方その有効性を認める報告¹⁹⁻²⁶⁾も多数あって、統一されていないのが現状である(1967年以前の有効の文献は省略)。市田²⁵⁾は、γ-グロブリンの血清肝炎予防効果についてのWHO肝炎専門委員会の再検討で、黄痘発現例の減少をきたす報告が行なわれたとのべており、また最近になりKatzらは、静注用γ-グロブリンを血液に加えて輸血することにより、肝炎の発生頻度と重症化の阻止に有効であったとのべ、γ-グロブリンの有効性について再認識をされている。

若林^{27), 28)}は、プレドニンとクロールトリメトロン併用により輸血後肝炎に対して予防効果をあげており、隅田²⁹⁾は、冷凍血液輸血によって血清肝炎の発生を著減させて、さらに加熱ヒト血漿蛋白液による血清肝炎ワクチンとの併用によって、その発生を皆無にすべく、研究中であるが、島田¹⁶⁾の全国実態調査によれば、薬剤による予防対策として最も多く使用されているのは、抗アレルギー剤が多くついでγ-グロブリンが使用されているという。

われわれは、最近の3年間において、輸血後にγ-グロブリンを2回筋注するのを原則として来たが、集計してみると表8の如く2回注射例が84例、1回注射例が63例、非使用例が77例となったので、さいわい

表15 γ -グロブリンの効果

	肝炎 の疑	肝炎	発黄例
γ -グロブリン2回注射 (84例)	7.14%	7.14%	1.19%
γ -グロブリン1回注射 (63例)	12.70%	14.29%	4.76%
γ -グロブリン非使用 (77例)	14.29%	10.39%	3.90%
計 224例	11.16%	10.27%	3.13%

に各群について輸血後肝炎の予防効果についての検討を加えることが出来た。

すなわち表15の如く、 γ -グロブリン1回注射群(63例)では非使用群(77例)に比して全くその有効性を認めることが出来ない。しかしながら γ -グロブリン2回注射群(84例)では、厚生省の研究班会議による判定基準で、肝炎の疑い、肝炎、発黄率において0.10以下の危険率で推計上でも有効性を認めることが出来た。桜井²²⁾、浅野²³⁾、清水²³⁾もわれわれと同意見であり、 γ -グロブリンの2回注射(輸血時と輸血後1カ月)が輸血後肝炎予防に有効だと述べている。前田²¹⁾も γ -グロブリンの2回注射の有効性を認めているが、輸血量1000ml以上の大量輸血時には無効であったとのべており、勝屋²⁴⁾も γ -グロブリンを肝炎潜伏期中に充分量使用して、輸血後肝炎の予防、或いは軽症化に努めることが必要だと述べている。側見²²⁾は、 γ -グロブリン注射は、2回よりも3回注射がより有効であり、 γ -グロブリンの必要最少量は体重1kg当り30mgを3回、総量90mg/kgが望ましいとのべている。

我々は、 γ -グロブリン1500mg筋注を、輸血直後及びその1カ月後の2回注射をして、その有効性を認めることが出来たが、今後は、投与量、投与時期について再検討し、さらに輸血後肝炎の発生低下に努力する考えである。

8. 結 論

当院第1外科で昭和47年1月から昭和49年12月迄の3年間に輸血した321症例のうち、輸血前に正常肝機能を示し輸血後に長期間肝機能検査を追求しえた224例について、輸血後肝炎の発生状況、ならびに γ -グロブリン筋注の肝炎予防効果について検討を加え、次の如き結論をえた。

1) 昭和43年12月からの1年間に当院第1外科で施行した輸血にくらべて、最近の3年間は、輸血症例数においても使用血液量においても著減をみており、われわれが輸血後肝炎防止の第一手段と考えている輸血の節減が認められた。

2) 輸血後に肝機能検査異常をみた症例は112例(50

%)に達した。肝機能検査異常はGPT, LDH, ALP, GOT, ZTT(TTT), CCF, LAPの順に多くみられた。また疾患別による輸血後の肝機能検査異常は、 $P < 0.10$ の有意差で乳房疾患群に多く、直腸疾患群では少なかった。

3) 輸血後肝炎の発生は、厚生省の研究班会議で決定した診断基準に従えば、3年間で肝炎の疑い25例(11.2%)、肝炎23例(10.3%)、肝炎のうち発黄例7例(3.1%)である。肝炎の疑いは、最近3年間の増減はみられないが、肝炎及び発黄例は48年以降漸増する傾向を認めた。

4) 血液型と輸血後肝炎については、B型が $P < 0.10$ の有意差で肝炎の疑い、肝炎の発生が少なかった。

5) 輸血後肝炎予防の目的で、 γ -グロブリンを輸血直後と1カ月後の2回にわたって10ml(1500mg)宛筋注した群では、 $P < 0.10$ の有意差で、輸血後肝炎の疑い、肝炎、発黄率において有効性を認めた。しかしながら γ -グロブリン1回のみ注射群では、肝炎防止効果は全くみられなかった。

本論文の要旨は、第50回中国四国外科学会において発表した。

文 献

- 1) Beeson PB: Jaundice occurring one to four months after transfusion of blood or plasma. JAMA 121: 1332-1334, 1943.
- 2) 綿貫 詰: 血清肝炎の現況と将来. 外科治療 24: 334-342, 1971.
- 3) 上村良一, 坂下英明ら: 輸血後肝炎の状況と予防対策. 外科治療 22: 601-605, 1970.
- 4) 細井武光, 佐治博夫ら: Au 抗原スクリーニングと輸血後肝炎の発生. 日輪学誌 20: 173-174, 1974.
- 5) 片山 透: 胸部外科手術後の肝炎とオーストラリヤ抗原. 日輪学誌 20: 207-209, 1974.
- 6) 菊地金男, 館田 朗: Au 抗原スクリーニング後の血清肝炎. 日輪学誌 20: 197-200, 1974.
- 7) 長尾房大: 供血者トランスアミナーゼを中心とした予防対策. 日輪学誌 17: 248-250, 1971.
- 8) 二之宮景光: 輸血用血液の GPT 値と血清肝炎の発生との関連性に関する研究. 日輪学誌 17: 205-206, 1971.
- 9) 佐々木潮, 細馬静昭ら: 輸血後肝炎の発生状況および術後の肝機能について. 広島県病年報 2: 97-108, 1969.

29:2

- 10) 島田信勝, 村上省三ら: 血清肝炎調査委員会報告 (昭和45年度調査成績). 日輪学誌 18: 73-77, 1971.
- 11) 若林利重, 斉藤慶一ら: 血清肝炎の再検討. 日輪学誌 18: 139-143, 1971.
- 12) 天羽道男: 肺外科術後における血清肝炎の検討. 日輪学誌 15: 202-203, 1968.
- 13) Allen JG, Sayman WA: Serum Hepatitis for Transfusion of Blood. JAMA 180: 1079-1085, 1952.
- 14) 塚田 稔: 血液行政の現状と課題. 厚生 の 指 標 20: 14, 59-68, 1973.
- 15) 小坂淳夫: 輸血後肝炎. 日本医事新報2021: 116, 1963.
- 16) 島田信勝: 血清肝炎の予防対策に関する全国実態調査. 日輪学誌 15: 32-35, 1968.
- 17) 古賀道弘: 輸血後肝炎予防としてのガンマーグロブリンの使用経験 (追加). 日輪学誌 17: 25, 1970.
- 18) 水沼孝義, 篠原新一ら: 教室の心臓外科における血清肝炎の統計的観察. 日輪学誌 19: 65-66, 1973.
- 19) 竹内 実, 多田韶夫: 血清肝炎の予防対策と遠隔成績 (γ-グロブリンを中心として). 日輪学誌 14: 194-196, 1967.
- 20) 桜井淑央, 広野達彦ら: 胸部外科領域における輸血後肝炎の対策. 日輪学誌 15: 203-205, 1968.
- 21) 山本 浩, 高橋正敏ら: 術後血清肝炎の予防法について. Medical Postgraduates 6: 293-296, 1968.
- 22) 桜井淑央, 浅野献一ら: 胸部外科領域における輸血後肝炎の対策. 主としてγ-グロブリン投与. 日輪学誌 16: 121-123, 1969.
- 23) 清水 力, 野松憲一ら: 輸血後肝炎予防としてのガンマーグロブリンの使用経験. 日輪学誌 17: 24-25, 1970.
- 24) 勝屋次郎, 小野塚清一ら: 血清肝炎の予防に関する研究. 防衛衛生 17: 105-117, 1970.
- 25) 市田文弘: Au 抗原保持者の管理とγ-グロブリンの肝炎予防効果. 日本医事新報 2512: 129, 1972.
- 26) 馬場 孝, 滝沢久夫ら: 胸部外科における輸血後肝障害に関する検討. 日輪学誌 20: 152-154, 1974.
- 27) 若林利重, 斉藤慶一ら: 血清肝炎の再検討. 日輪学誌 18: 139-143, 1971.
- 28) 若林利重, 斉藤慶一ら: プレドニン・クロールトリメトン併用による血清肝炎の予防およびその遠隔成績に及ぼす影響について. 日輪学誌16: 123-125, 1969.
- 29) 隅田幸男: 加熱ヒト血漿蛋白液輸注後のオーストラリア抗体の形成. 血清肝炎ワクチンの可能性. 日輪学誌 19: 124-126, 1973.
- 30) 浅野献一, 桜井淑央ら: 胸部外科領域における輸血後肝炎の対策. 主としてγ-グロブリンの投与. Medical Postgraduates 7: 280-284, 1969.
- 31) 前田 勲: 輸血後血清肝炎に対するγ-グロブリンの試用効果について. Medical Postgraduates 3: 39-40, 1965.
- 32) 側見鶴彦, 多田韶夫ら: γ-グロブリンによる血清肝炎の予防. Medical Postgraduates 3: 35-38, 1965.

(受付 1975-10-27)

This report contains the collective views of an international group of experts and does not necessarily represent the decisions or the stated policy of the World Health Organization.

**WORLD HEALTH ORGANIZATION
TECHNICAL REPORT SERIES**

No. 285

**WHO EXPERT COMMITTEE ON
HEPATITIS**

Second Report

	Page
Introduction	3
Terminology and classification	4
Morbidity and mortality of viral hepatitis	5
Epidemiology of viral hepatitis	8
Clinical-pathological classification of acute hepatitis and its sequelae	12
Pathology of viral hepatitis	15
Possible long-term sequelae of viral hepatitis	16
Drug-associated hepatitis	16
Laboratory tests in viral hepatitis	17
Etiology	19
Control of viral hepatitis	21
Recommendations	25

WORLD HEALTH ORGANIZATION

GENEVA

1964

in a marked shift in the usual age and sex distribution of cases in these countries when outbreaks associated with this vehicle for infection recently occurred. Predominance of cases among adults has also been observed when serum hepatitis constitutes a significant proportion of total cases in the community. In such situations preventive measures are available and can be applied if the mode of transmission is identified.

Though it might reasonably be expected that mortality data would be more accurate than morbidity data, this is not true with present reporting practices. Deaths from viral hepatitis may be included under a variety of other classifications, and jaundice due to other etiologies may be inaccurately coded as due to viral hepatitis. It is usually not possible to evaluate the accuracy of coding those deaths ascribed to acute and sub-acute necrosis of the liver and to other possible sequelae of viral hepatitis. A comparison of morbidity/mortality ratios, in various countries, however, may be useful as a guide to under- and over-reporting of both types of data.

EPIDEMIOLOGY OF VIRAL HEPATITIS

Information on the period of infectivity of patients with serum hepatitis and infectious hepatitis has been obtained from epidemiological studies and volunteer experiments.

Infectivity of infectious hepatitis

Faecal filtrates from infectious hepatitis patients have been shown to transmit the disease when administered to volunteers by the oral route. Serum is infective by both the oral and parenteral routes. Transmission, therefore, can occur from person to person by the faecal-oral route, and also as a result of transfer of blood by any procedure which breaks the skin or mucous membranes. Blood and serum are infective during approximately the same period as faeces, and virus is excreted in the faeces of individuals infected by the parenteral route. In studies of experimentally infected subjects viraemia and faecal excretion of the agent have been demonstrated during the pre-icteric stage and have ceased by about three weeks after onset of jaundice. Studies of urine and nasopharyngeal washings are limited and inconclusive.

In one series of experimental transmission studies with a virus having an average incubation period of 40 days, the agent was demonstrated to be in the faeces of icteric patients from about 16 days before until between one and eight days after the onset of jaundice. Individuals with anicteric infections are believed to excrete the virus for a comparable period of time. Virus excretion between eight and 18 days after onset of jaundice was not studied.

Attempts to transmit the disease with faecal pools collected during convalescence, 19 to 33 days after onset of jaundice, were unsuccessful. In another study of two children with chronic anicteric hepatitis, infective faeces were obtained five and 15 months respectively after the diagnosis was made, but it is not known whether they were infective throughout the whole of these periods.

Infectivity of serum hepatitis

Experimental transmission of serum hepatitis has been produced by blood taken as long as 89 days before the onset of symptoms and four to eight days after jaundice has occurred. It is known from follow-up studies of blood transfusions that the blood of some donors may be continuously or intermittently infective for many years. Blood and blood fractions containing serum hepatitis virus have produced disease experimentally only when given parenterally. Faeces, urine and nasopharyngeal washings administered orally have not been shown to be infective.

Environmental factors

Available data indicate that most cases of infectious hepatitis are due to person-to-person transmission, the effectiveness of which appears to be related to the closeness of contact. Persons living in the same household as a patient are at the greatest risk. Spread between families and in communities usually occurs as a result of activities which provide for close contact between preschool and school-age children. In most studies the lower socio-economic groups have a higher prevalence of infectious hepatitis in childhood, presumably as a result of greater crowding, poorer sanitation and less adequate personal hygiene.

The recognition of water- and food-borne epidemics of hepatitis has resulted in an increased awareness of the potential importance of this mode of spread. In Delhi, India, an estimated 29 000 cases occurred in 1955-56, as a result of contamination of the municipal water supply. Elsewhere, four epidemics spread by milk have been reported; in two of these, contaminated water used to wash dairy equipment was responsible. Ingestion of raw shellfish from polluted waters is known to have caused three epidemics. The incriminated clams and oysters were widely distributed and cases occurred in different parts of the country, thus making it difficult to recognize the common vehicle of infection. Contamination during preparation has resulted in transmission by other foods, including custard, sandwiches, orange juice, salads and cooked meat.

Mechanical transfer of the virus from faeces to food or eating-utensils by flies and cockroaches has been suggested, but there is no evidence that this mode of transmission has any significance.

The parenteral transmission of serum hepatitis or infectious hepatitis usually occurs in one of three ways: (1) through therapeutic administration of blood and unsterilized blood products or, rarely, by transplantation of human tissue; (2) by use of a contaminated instrument which has broken the skin of two persons, the first of whom was viraemic; and (3) through accidental cuts or scratches.

The risk of transmitting viral hepatitis by the use of blood and untreated blood products may be summarized as follows:

Whole blood. The frequency of viral hepatitis from the transfusion of whole blood ranges between 0.09% and 4.1% (usually less than 1%). The larger the number of units administered, the greater the risk of transmitting the disease. In some areas it has been observed that blood from donors receiving payment has been responsible for a higher frequency of hepatitis than that obtained from voluntary donors.

Plasma. Untreated pooled human plasma carries a higher risk than whole blood and the risk increases with the size of the pool. The attack rates in several studies ranged from 0.12% to 12.2%.

Fibrinogen. Fibrinogen cannot be sterilized without loss of its biological properties. The assessment of the risk it involves is difficult because it is generally given with whole blood. The attack rate, which in one instance was 17%, appears to be related to the size of the pool from which the fibrinogen is prepared.

Antihæmophilic globulin. The risk with antihæmophilic globulin is probably similar to that from fibrinogen.

Thrombin. Thrombin prepared by the ethanol or by the ether method may transmit serum hepatitis.

There have been no cases of hepatitis attributable to gamma-globulin prepared by the cold ethanol method of Cohn, and only one doubtful case attributable to gamma-globulin prepared by the cold ether method. Available evidence indicates that ammonium sulfate precipitation and ethacridine (Rivanol) precipitation are also safe methods of preparation, but specific follow-up studies have not been reported. Other products prepared from pooled plasma can be sterilized by heat. Stable plasma protein solution, albumen, fibrin foam and plasminogen appropriately treated are safe.

Viral hepatitis has been transmitted parenterally by needles, tubing, bottles and syringes used for intravenous, intramuscular, subcutaneous, and intradermal injections; needles and syringes used for venepuncture, lancets used for scarification and capillary puncture; dental equipment; tattooing needles; and improvised equipment used by narcotic addicts.

Accidental inoculation of medical, nursing and laboratory personnel dealing with patients or handling human blood is well recognized. In

Sweden a curious form of accidental infection has been recently described in cross-country runners with scratches on their limbs.

Transplacental transmission of serum hepatitis has been suggested on the basis of very limited observations which require confirmation.

No evidence for transmission of either infectious or serum hepatitis by haemophagous arthropods has been produced.

Host factors

Infection may or may not result from exposure. When infection takes place it may be apparent or inapparent. Estimates of the ratio of apparent to inapparent cases vary widely depending on the laboratory tests used and the population surveyed. Natural resistance may play some role in determining whether infection will occur but there are no methods for evaluating it. Acquired immunity plays a demonstrable role in protection against the homologous agent. The duration of protection is unknown, but from epidemiological observations it is presumed to be life-long in most instances.

Second attacks of icteric disease, both presumably due to infectious hepatitis virus, have been observed in up to 5% of patients. The interval between such episodes varies from several months to many years. It has also been found recently that inapparent infections may occur in persons who some months later develop icteric disease. A number of hypotheses can be brought forward to explain second attacks (for example, infection with antigenically distinct strains, or the recrudescence of a chronic process), but more information on the etiology and immunology of the infection is required before the mechanism of second attacks can be clearly understood.

Epidemics of both infectious and serum hepatitis which were associated with common vehicles of infection and in which large populations were apparently exposed to the same degree of infection have brought to light some factors other than acquired immunity which influence the attack rates. During water-borne epidemics of infectious hepatitis in Sweden, India and the United States of America attack rates increased with age up to 25 years. In Delhi the incidence in pregnant women was significantly higher than in non-pregnant women of the same age-group.

In the late 1930s and early 1940s many people were inoculated with yellow fever vaccine containing human serum contaminated with serum hepatitis virus. It was found that the attack rates of viral hepatitis varied with age and with ethnic group, the older age-groups and white races having the higher attack rates.

2)

This report contains the collective views of an international group of experts and does not necessarily represent the decisions or the stated policy of the World Health Organization.

**WORLD HEALTH ORGANIZATION
TECHNICAL REPORT SERIES
No 327**

THE USE OF HUMAN IMMUNOGLOBULIN

Report of a WHO Expert Committee

	Page
1. Introduction	3
2. Terminology	4
3. Heterogeneity of antibodies and immunoglobulins	4
4. Production procedures for the preparation of immunoglobulin concentrates	7
4.1 Preparations for intravenous use	9
4.2 Isolation of antibodies	10
5. Procurement of plasma for immunoglobulin preparation	11
6. Clinical application of human immunoglobulins	13
7. Requirements for human immunoglobulins	25
8. Recommendations	27

**WORLD HEALTH ORGANIZATION
GENEVA
1966**

antibody on coupling antigen to adsorbent, ensuring adequate elution of the antibody (especially of that fraction with the highest binding capacity for antigen), and ensuring that the recovered antibody is unchanged with respect to its biological properties, neutralizing ability and rate of elimination from the body. This was considered an important area for research, and when antigenic determinants associated with neutralizing ability ultimately become available, it will be possible to extend the methods to the specific purification of the therapeutically effective antibodies to each infectious agent.

5. PROCUREMENT OF PLASMA FOR IMMUNOGLOBULIN PREPARATION

The difficulty of obtaining sufficient plasma to meet the demand for human immunoglobulin is a major problem. On the other hand, the problems of supply are not insuperable, since sufficient quantities of human immunoglobulin preparations to meet national requirements are being produced in some countries. Methods of obtaining plasma may be considered separately for the two categories of human immunoglobulin.

5.1 Human normal immunoglobulin

In a number of countries, this is already produced, in amounts sufficient to meet the present national need, from time-expired plasma provided by blood transfusion units, from plasma specially collected for the purpose, or from human placentas. However, if the need for immunoglobulin increases, as, for example, if its value in preventing serum hepatitis is firmly established, then difficulties will be encountered in meeting the demand. Among possible methods of increasing plasma supplies the Committee considered that the most promising was the removal of a quantity of plasma routinely from all blood donations. This can be accomplished by keeping the blood in a bag to the neck of which is attached a small side-bag sufficient to take about 75-100 ml of plasma, which can be squeezed into it when the blood cells have settled. It has been estimated that in the USA this procedure could increase the annual supply of plasma for immunoglobulin preparation from 300 000 litres to approximately 750 000 litres, an increase of about 150%. The Committee also noted that the use of human placentas is insufficiently exploited in many countries.

5.2 Human specific immunoglobulin preparations

A number of methods of obtaining plasma rich in specific antibodies are practised.

Certain antibodies, such as those of mumps, rubella, measles and variola, can be obtained from convalescent patients, but the quantities obtainable in this way clearly cannot be large. Supplies of convalescent plasma depend on the co-operation of general medical practitioners and of hospitals, institutions and recruit camps, and the difficulties are mainly those of organization.

The supply of plasma from persons who have been specially immunized has been successfully practised on a relatively small scale for a number of immunoglobulin preparations (e.g., in the case of tetanus, pertussis and rabies), but considerable difficulties are anticipated in achieving large-scale supplies. Good supplies of human tetanus antitoxin have been obtained in some countries by the use of volunteers from the armed forces and from industrial groups, such as miners, and steel workers, amongst whom active immunization is common.

Where routine immunization of pregnant women is employed, the use of human placentas may constitute a source of specific immunoglobulin, for example, tetanus antitoxin.

Work is being done to find other methods of concentrating specific human antibodies. Thus the possibility, which was discussed earlier, of extracting antibody from plasma by means of antigens attached to supporting particles, might eventually prove of value. The potency of such preparations would need to be assessed to ensure that protective properties remained.

It was noted that subjects in some geographical zones, notably West Africa, have very high plasma concentrations of γ G or γ M immunoglobulins. There are indications that these high levels may not be entirely due to the intensity of exposure to infectious agents and that differences in the degree of the antibody response may be involved. Interesting information might therefore be obtained from studies of the antibody-producing capacity of different human populations.

It is possible that human immunoglobulin from certain geographical areas might prove to be rich in particular antibodies for which a demand exists elsewhere. Information is therefore required concerning the amount of various antibodies to be found in immunoglobulin preparations from different parts of the world.

The screening of normal time-expired plasma has been used in certain countries to allow the selection of samples rich in particular antibodies.

Increased plasma yields have been obtained by means of plasmaphoresis and this procedure may become increasingly important, particularly in the case of specifically immunized donors.

There is evidence that the type of vaccine, the immunization schedule and the time interval between giving an antigen booster and taking plasma are of considerable importance in obtaining maximum antibody titres.

Investigation of these points is necessary so that optimum antibody yields can be obtained from immunized donors, although the immunization and bleeding schedules to be used may have to be established separately for each immunizing antigen.

It may be necessary, in order to obtain sufficient immunized donors, to resort to payment; this has proved successful in some areas in the case of both tetanus and mumps immunoglobulin.

An interesting possibility is to try to obtain from the general population volunteers who will allow themselves to be immunized and then contribute plasma, rather in the same manner as ordinary blood donors. By suitable appeals, it might well be possible to obtain large numbers of such volunteers.

Finally, it is important that attention should be given to ways of decreasing the demand for immunoglobulin. Thus, in the case of tetanus, diphtheria, measles, pertussis, etc., active immunization campaigns should have an appreciable effect. The development of methods whereby blood could be freed from hepatitis viruses would eliminate any need to give immunoglobulin with blood transfusions. In the meantime, it may be desirable to take blood from patients routinely before operations so that their own blood can be available for transfusion if necessary, particularly since it is now possible to preserve blood from individuals by long-term, low-temperature storage.

6. CLINICAL APPLICATION OF HUMAN IMMUNOGLOBULINS

6.1 Introduction

Human immunoglobulin is used in both prophylaxis and treatment to provide passive immunity by virtue of the specific antibodies it contains. Although it has been used in a wide variety of conditions, good evidence of its effectiveness exists only for a small number of diseases, and there is a great need for studies from which the value of human immunoglobulin can be estimated. Animal antisera have been used in a number of conditions for many years and there is no doubt that they should be replaced by the corresponding human immunoglobulins. This is recommended with the aim both of eliminating hypersensitivity reactions to animal sera and of prolonging the time during which passively injected antibody circulates in the blood. The various diseases considered in this section are mainly those in which passive immunization is either of undoubted use or should carefully be considered in the light of available evidence. In addition, a number of instances are discussed in which recent work suggests that a role for passive immunization may develop in the future.

3)

This report contains the collective views of an international group of experts and does not necessarily represent the decisions or the stated policy of the World Health Organization.

**WORLD HEALTH ORGANIZATION
TECHNICAL REPORT SERIES**

No. 361

**WHO EXPERT COMMITTEE ON
BIOLOGICAL STANDARDIZATION**

Nineteenth Report

WORLD HEALTH ORGANIZATION

GENEVA

1967

- Dr P. Krag, Director, Department of Biological Standards, Statens Seruminstitut, Copenhagen, Denmark
- Professor T. Kravčenko, Director, State Control Institute for Medical Biological Preparations (Tarasevič Institute), Moscow, USSR
- Dr M. Kurokawa, Department of General Biologics Control, National Institute of Health, Tokyo, Japan
- Dr A. Lafontaine, Directeur de l'Institut d'Hygiène et d'Epidémiologie, Ministère de la Santé publique et de la Famille, Brussels, Belgium
- Lederle Laboratories, Pearl River, New York, USA
- Dr J. J. van Loghem, Central Laboratory of the Netherlands Red Cross Blood Transfusion Service, Amsterdam, Netherlands
- Dr W. d'A. Maycock, The Lister Institute of Preventive Medicine, Elstree, Herts, England
- Dr F. Meisl, Director, Federal Serum Control Institute, Vienna, Austria
- Dr E. A. Paktoris, Institute of Virology, Moscow, USSR
- Dr R. B. Pennell, Blood Characterization and Preservation Laboratory, The Protein Foundation, Jamaica Plain, Mass., USA
- Dr F. T. Perkins, Head, Division of Immunological Products Control, Medical Research Council, Holly Hill, London, England
- Professor M. Pontecorvo, Istituto Sieroterapico Italiano, Naples, Italy
- Dr P. Richter, "Human" Serum and Vaccine Institute, Budapest, Hungary
- Dr K. Schindl, Director-General of Public Health, Vienna, Austria
- Dr Schmitt, Blood Transfusion Service of the German Red Cross, Springe/Deister, Federal Republic of Germany
- Dr W. Schneider, Paul-Ehrlich-Institut, Frankfurt-am-Main, Federal Republic of Germany
- Dr J. W. G. Smith, Consultant Clinical Bacteriologist, Department of Pathology, The Gibson Laboratories, Radcliffe Infirmary, Oxford, England
- Professor R. Soemiatno, Director, Pasteur Institute, Bandung, Indonesia
- Dr W. Aeg. Timmerman, Blauwkapelseweg 29, De Bilt, Netherlands
- Dr J. Ungar, Swiss Serum and Vaccine Institute, Berne, Switzerland
- Dr J. F. Winn, National Drug Company, Biological Laboratory, Swiftwater, Pa., USA

General Consideration

Human immunoglobulin preparations¹ have been in use for many years and there can be no doubt of their efficacy for the prevention and treatment of various infectious diseases. These preparations contain immunoglobulins mainly of the IgG class.

Recent advances in epidemiology, virology and immunology have given a better understanding of the natural history of a number of diseases.

¹ A WHO Expert Committee on the Use of Human Immunoglobulin recommended that the term "immunoglobulin" should be used instead of previously used names, such as "gamma globulin" and "immune serum globulin" (*Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser.*, 1966, 327).

Moreover, techniques for assaying antibodies against a number of viruses have been developed and corresponding international standards and reference preparations are now available so that the results of such assays can be expressed in uniform terms. These developments, together with recent progress in immunochemistry, have provided a better basis for the production, control and clinical use of human immunoglobulin.

Human immunoglobulin is a safe product and rarely causes side-effects when given intramuscularly. The requirements are generally the same, whether the preparations are made from plasma or from placental material, as both preparations should have the same properties with regard to efficacy and safety.

Recently, a WHO Expert Committee on the Use of Human Immunoglobulin¹ gave special attention to the clinical use and efficacy of immunoglobulin preparations in a number of diseases. The Committee recognized two distinct categories of human immunoglobulin: (a) human normal immunoglobulin, which is a preparation made from pooled human plasma from a large number of randomly selected donors; and (b) human immunoglobulin specific for a particular antibody, which is a preparation made from pooled human plasma obtained from convalescent patients, immunized donors or selected antibody-rich plasma sources. The requirements formulated below relate to both these categories.

The requirements for human normal immunoglobulin have been formulated to ensure the effectiveness of these preparations in different diseases, including those for which the estimation of protective antibodies is not yet practicable, such as infectious hepatitis and some bacterial diseases. Potency requirements specific for each of the various antibodies that normal immunoglobulin may contain are not given, but some requirements are specified to ensure that no substantial loss of antibodies present in the original plasma pool has occurred during fractionation. The requirements for human immunoglobulin specific for a particular antibody have been formulated to ensure that a definite amount of the particular antibody is present. Thus, it is required that the potency is expressed in terms of international units for each of three different specific human immunoglobulin preparations available at present, namely those containing tetanus antitoxin, measles antibody and vaccinia antibody. When other specific human immunoglobulin preparations have been developed and their efficacy has been demonstrated, it will be necessary to include such preparations in future revisions of these requirements.

The present requirements relate to three methods of production using: (a) alcohol, (b) ether, and (c) ammonium sulfate. All three methods provide products that are safe in respect of the transmission of homologous serum hepatitis, but that contain predominantly only those antibodies that

¹ *Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser.*, 1966, 327.

are present in immunoglobulins belonging to the IgG class.¹ New procedures for the preparation of immunoglobulin are being developed, but until they have been shown to yield a safe product, especially with regard to the transmission of hepatitis, adequate requirements for them cannot be formulated. National control authorities are advised to take this into consideration before such products are released for general use.

Immunoglobulin preparations generally available at present cannot be used for intravenous administration because of the risk of untoward reactions in some recipients. It is desirable, however, to have immunoglobulin preparations suitable for intravenous use, since they would permit the rapid attainment of high titres of circulating antibody and allow the painless injection of relatively large volumes. During the last few years some promising results with preparations suitable for intravenous administration have been reported. Existing information, however, is not sufficient to enable adequate requirements for such preparations to be formulated. The present requirements have therefore been formulated to cover preparations intended for intramuscular administration only.

No precise tests have been included in the requirements to give an indication of the degree of degradation of immunoglobulin during preparation and storage. Such tests would be useful to ensure that the product after administration to man is maintained at an effective level and for an adequate time. Some indications might be obtained for example by ultracentrifugal and immuno-electrophoretical studies, combined with blood-level duration studies. The national control authority should take into consideration all available information on this question in deciding on the tests to be prescribed for particular types of immunoglobulin preparations and methods of manufacture (see Part B, section 1).

In view of the continued research and the rapid advances in the field of human immunoglobulin, it is foreseen that the present requirements are likely to need revision within a few years.

Each of the following sections constitutes a recommendation. The parts of each section that are printed in large type have been written in the form of requirements so that, if a health administration so desires, these parts as they appear may be used as definitive national requirements. The parts of each section that are printed in small type are comments and recommendations for guidance.

Should individual countries wish to adopt these requirements as the basis of their national regulations concerning human immunoglobulin, it is recommended that a clause be included that would permit modifications of manufacturing requirements on the condition that it be demonstrated, to the satisfaction of the national control authority, that such modified

¹ *Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser.*, 1966, 327.

requirements ensure that the safety and potency of human immunoglobulin are at least equal to those provided by the requirements formulated below. It is desirable that the World Health Organization should then be informed of the action taken.

The terms "national control authority" and "national control laboratory", as used in these requirements, always refer to the country in which the human immunoglobulin is manufactured.

Part A. Manufacturing Requirements

1. Definitions

1.1 *International name and proper name*

The international name applicable to all preparations shall be *Immunoglobulinum humanum*. Preparations of *Immunoglobulinum humanum* may be divided into two groups. One is designated *Immunoglobulinum humanum normale* and the other includes the preparations designated as follows:

Immunoglobulinum humanum antitetanicum,
Immunoglobulinum humanum antimorbillicum,
Immunoglobulinum humanum antivaccinosum.

The proper name shall be the equivalent of the international name in the language of the country of origin.

The use of the international name should be limited to preparations of human immunoglobulin that satisfy the requirements formulated below.

1.2 *Descriptive definition*

Immunoglobulinum humanum is a preparation of immunoglobulin of human origin intended generally for the prevention and treatment of infectious diseases. It is prepared either from human plasma or from material containing human plasma proteins.

Immunoglobulinum humanum normale is prepared from pooled material from at least 1000 human donors.

*Immunoglobulinum humanum anti(x)*¹ contains specified amounts of antibodies against designated viral or bacterial agents or bacterial toxins and therefore may be prepared from pooled plasma from a limited number of donors who are either convalescent patients or immunized donors.

¹ (x) is to be replaced in each particular case by the appropriate name given in Part A, section 1.1.

SEVERE NAIL DYSTROPHY ASSOCIATED WITH RETINOID THERAPY

SIR.—Vitamin A and synthetic retinoids regulate the proliferation and differentiation of squamous epithelium. This group of drugs has lately been used to treat disorders of keratinisation, including psoriasis, Darier's disease and the ichthyoses.¹ They have also been used for severe cases of acne vulgaris, lichen planus, and certain cutaneous tumours. The synthetic retinoids have a greater therapeutic index, thus reducing the hepatotoxicity associated with high doses of vitamin A. Common side-effects reported with synthetic retinoid therapy are cheilitis, exfoliation of the feet and hands, hair loss, paronychia, and pruritus.² Other disturbances of ectodermal tissues have not been recognised.

In a clinical trial extending over 12 weeks (to be published) of etretinate in ten patients with severe erosive lichen planus of the oral mucosa, the frequency of the above side-effects was comparable with that in previous studies. Two female patients without cutaneous or lingual manifestations of lichen planus also acquired nail dystrophy (Beau's lines). In both cases a daily dosage of 75 mg etretinate was prescribed but this had to be reduced intermittently because of the severity of side-effects. The nail dystrophy became apparent 6 weeks after the start of treatment and consisted of a horizontal depression with splitting of the nail plate. Additional horizontal lines became evident 2 months after the trial was completed and corresponded to phases of maximum dosage.

The actions of retinoids are focused principally upon tissues of ectodermal origin, and a disturbance of nail growth might be anticipated during therapy. This side-effect may have been overlooked previously in the management of dermatological disorders because nail involvement commonly occurs as an integral part of many of these. The nails of our two patients reverted to normal after the end of etretinate treatment and have remained so for a further 6 months.

It is perhaps surprising that no dental changes have been noted in children receiving long-term retinoid therapy because the ameloblasts, being of ectodermal origin, are susceptible to changes in vitamin A levels in laboratory animals.³⁻⁵

Department of Oral Medicine and Pathology,
Glasgow Dental Hospital and School,
Glasgow G2 3JZ;
and Department of Dermatology,
Glasgow Royal Infirmary

M. M. FERGUSON
N. B. SIMPSON
N. HAMMERSLEY

INTRACRANIAL HYPERTENSION WITH ETRETINATE

SIR.—Central nervous system toxicity associated with vitamin A is well known, but synthetic retinoids seem to be rarely responsible of such side-effects.⁶ We report here a case of benign intracranial hypertension due to etretinate.

A 35-year-old woman admitted with a 4 year history of typical Darier's disease. She had keratotic papules on her trunk and neck, associated with wart-like lesions on the back of her hands and ungual changes. There were no other signs or symptoms. Histological examination of a keratotic papule confirmed the clinical diagnosis. Blood cell counts and serum creatinine, transaminase, and triglyceride levels were normal.

A daily dose of 1 mg/kg of etretinate was reduced to 0.7 mg/kg after 4 weeks because of an excellent therapeutic response. At that time she complained of slight headaches, which were controlled by floctafenine. After 2 months of treatment no more papules were

observed but severe pruritus, cheilitis, dryness of the nasal mucosa, and palmoplantar desquamation led to reduction of etretinate daily dose to 0.5 mg/kg. 1 month later the patient reduced the daily dose to 0.3 mg/kg because cheilitis and palmoplantar desquamation persisted. 10 days later the drug was stopped because of rapid aggravation of occipital headache, vomiting, and giddiness, followed by two episodes of loss of consciousness. Neurological examination was normal. There was no papilloedema. An electroencephalogram and isotope encephalography were normal 15 days after drug withdrawal. Headaches disappeared 2 months later.

3 months later natural vitamin A, prescribed by another physician, induced rapid recurrence of headaches, and treatment was stopped. The Darier's disease remained uncontrolled.

This observation is characteristic of acute hypervitaminosis A due to etretinate. Headaches were the first symptom and therefore should be considered as a warning of possible drug neurotoxicity. Neurological abnormalities, rarely described in association with Darier's disease, might have been predisposing factor, but 1 year after this experience, a computerised tomographic scan did not show major abnormalities. Moreover, the rapid reappearance of headaches with natural vitamin A can be considered as secondary to the slow elimination of etretinate by the liver.⁷

Departments of Dermatology
and Neurology,
CHU Dupuytren,
87031 Limoges, France

J. M. BONNETBLANC
J. HUGON
M. DUMAS

Pharmacology Unit,
Roche Laboratories, Neuilly sur Seine

D. RUPIN

NON-A, NON-B HEPATITIS FROM INTRAVENOUS IMMUNOGLOBULIN

SIR.—A 1982 review⁸ of hepatitis after infusions of plasma derivatives drew attention to the high risk of transmission of hepatitis B and, more recently, non-A, non-B hepatitis by concentrates of factor VIII (antihæmophilic globulin) and factor IX. In contrast, human normal immunoglobulin (HNIG) is not usually regarded as a vehicle for viral hepatitis infection. This is commonly attributed to loss or inactivation of virus during fractionation and to neutralising antibody in the immunoglobulin. The safety record of intramuscular HNIG in this respect is impressive and has been reinforced by the sensitive screening methods to detect HBsAg in the plasma used to prepare the fraction. However, routine screening is not available for non-A, non-B hepatitis.

In a clinical trial of an intravenous HNIG developed in this laboratory for the maintenance therapy of hypogammaglobulinaemia all twelve patients developed hepatitis compatible with a non-A, non-B viral origin. Three patients had symptoms, two being mildly icteric for a short period. The remaining patients showed only mild increases in aminotransferase levels. The data were compatible with a virus infection with a minimum incubation period of 14 to 28 days. No patients in the matched control group, receiving intramuscular HNIG from our laboratory had any clinical or biochemical evidence of hepatitis. It is not likely that the hepatitis was due to the fresh plasma that some of the patients received before the trial since aminotransferase levels at the beginning of the trial were normal. The intravenous immunoglobulin was also given, outside the trial, to patients with other conditions and their response is being carefully observed with regard to hepatitis and liver function.

From the fractionation and production aspects, these preliminary results are highly significant since the source material, a modified Cohn fraction II,⁹ for manufacture of HNIG is the same whether the

1. Bollag W. Vitamin A and retinoids: from nutrition to pharmacotherapy in dermatology and oncology. *Lancet* 1983; i: 860-63.
2. Orfanos CE, Braun-Falco O, Farber EM, Grupper Ch, Polano MK, Schupp R. Retinoids: Advances in basic research and therapy. Berlin: Springer Verlag, 1981.
3. Wolbach SB, Howe PR. The incisor teeth of albino rats and guinea pigs in vitamin A deficiency and repair. *Am J pathol* 1933; 9: 275-94.
4. Irving JT, Richards MB. Protective action of vitamin A upon various tissues in the avitaminous rat, and sensitivity of these tissues to vitamin A deficiency. *Br J Nutr* 1956; 10: 7-14.
5. Baume LJ, Conna P, Korner WF. Progressive atrophy and expulsion of upper rat incisor after prolonged vitamin A deficiency. *J Dent Res* 1969; 48: 330.
6. Peck GL. Retinoids. Therapeutic use in dermatology. *Drugs* 1982; 24: 341-51.

7. Lauharanta J, Paravicini U, Kacerova L, Lassus A. Decline of plasma concentrations of etretinate and its main metabolite after treatment. *Arch Dermatol Res* 1982; 274: 377-79.

8. Gerety RJ, Aronson DL. Plasma derivatives and viral hepatitis. *Transfusion* 1982; 22: 347-51.

9. Kistler P, Nischmann H. Large-scale production of human plasma fractions. *Vox Sang* 1962; 7: 414-24.

end product is for intravenous or intramuscular use. Since hepatitis or associated transaminase increases after the use of intramuscular HNIG prepared by this laboratory have never been reported, it may be that a change in downstream processing of the fraction II for intravenous use is responsible for the presence of active virus in the end product.

In view of past experience with these products, these differences in the final stages of preparation may have important implications. Thus, all preparations of immunoglobulin which have not been previously validated should be tested for viral safety and modifications in the manufacture of intramuscular or intravenous immunoglobulin should be introduced only after testing. This experience does not cast doubt on the safety of the standard intramuscular preparations which have been prepared by the established cold ethanol methods for many years.

Blood Products Laboratory,
Elstree, Herts WD6 3BX

R. S. LANE

DOPAMINE RECEPTORS DISPLAYED IN LIVING HUMAN BRAIN WITH ^{77}Br -*p*-BROMOSPIPERONE

SIR.—Biochemical studies of post-mortem brains have revealed abnormally high numbers of dopamine receptors in patients with schizophrenia.¹ Confirmation of these and similar findings in other conditions has awaited the availability of suitable γ -ray emitting ligands. Most of the interest has so far centred on the 20 min half-life ^{11}C and some success with this radionuclide has recently been achieved.² However, the use of ^{11}C is restricted to those centres with an "in-house" cyclotron as well as a tomographic positron scanner (ECAT). Recently, Garnett and co-workers have used ^{18}F -6-fluoro-L-dopa and ECAT scanning to display the distribution of dopamine as distinct from dopamine receptors in living man.³

In 1980, Huang et al⁴ prepared *p*-bromospiperone (BrSp) and showed it to be a potent displacer of ^3H -spiperone in rats, and that the distribution in rat brain was similar to that of the dopamine receptors. Our own studies in rats indicate a striatum-cerebellum

uptake ratio of as much as 10:1; and showed that displacement of the ligand by α and β flupenthixol was stereospecific.⁵

^{77}Br ($T_{1/2} = 56$ d) is prepared in the Medical Research Council cyclotron by the $^{75}\text{As}(\alpha, 2n)^{77}\text{Br}$ reaction and received as irradiated target material. $^{77}\text{BrSp}$ is prepared by a method similar to that described by DeJesus et al.⁶ The preparation and purification by high performance liquid chromatography of $^{77}\text{BrSp}$ takes about 4 h, and an additional 4 h is required to check the striatum-cerebellum ratio in rats. The specific activity is 200–400 Ci (7–14 TBq)/mmol. Imaging studies were done with an IGE 400T gamma camera with a Star computer system. The optimum time for imaging was found to be about 24 h after intravenous injection of the tracer.

After the administration of 6.5 mCi of $^{77}\text{BrSp}$ to a fully informed normal volunteer, the reconstructed images obtained after a 1 h data acquisition period with single photon emission computed tomography (SPECT) clearly show the selective uptake of $^{77}\text{BrSp}$ in the striata (see figure).

Thus it seems that useful clinical studies will be possible with administered doses of the order of 10 mCi (400 MBq), though accurate quantitation may not be simple, owing to scattering of the superfluous 0.5 MeV γ -ray emitted by ^{77}Br . The 56 h half-life of ^{77}Br means that investigations can be performed in centres remote from a cyclotron, but it also means that the radiation dose received by the subject is higher than that from most routine nuclear medicine procedures, though well within the annual limit for occupationally exposed workers.

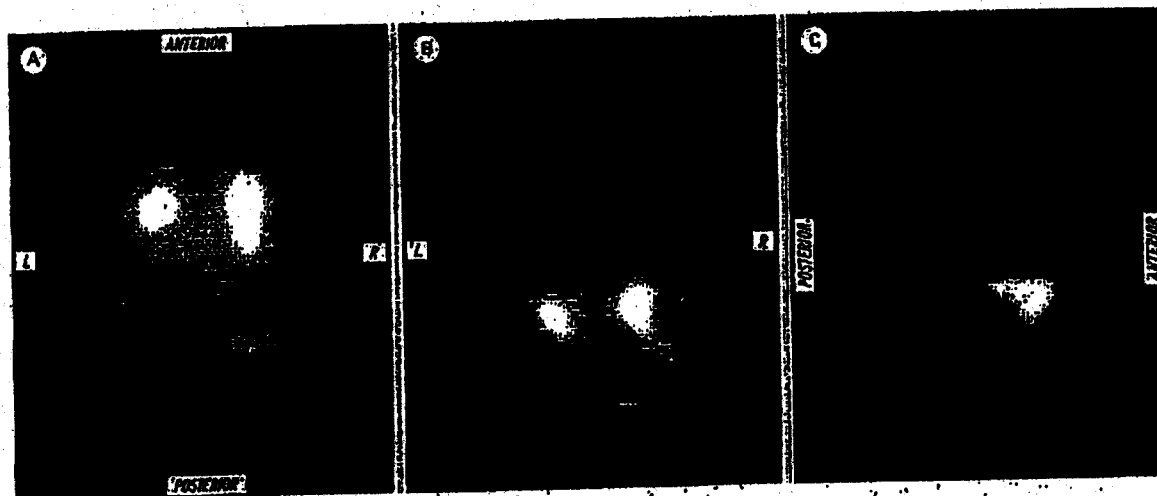
Metabolic data from tracer studies in rats and normal volunteers show that most of the administered $^{77}\text{BrSp}$ is initially taken up by liver and lungs and excreted largely unchanged in both urine and faeces. The effective dose equivalent in a human being is about 0.3 rem/mCi administered (0.08 mSv/MBq); this has to be considered in relation to the value of the clinical or scientific information likely to be obtained.

J. C. W. CRAWLEY
T. SMITH
N. VEALL
G. D. ZANELLI
T. J. CROW
F. OWEN

Radiolopes Division
and Division of Psychiatry,
MRC Clinical Research Centre,
Watford Road, Harrow,
Middlesex HA1 3UJ

- Owen F, Cross AJ, Crow TJ, Longden A, Poulter M, Riley GJ. Increased dopamine receptor sensitivity in schizophrenia. *Lancet* 1978; ii: 223–26.
- Wagner HN Jr. *J Nucl Med* (in press).
- Garnett ES, Firson G, Nahata C. Dopamine visualized in the basal ganglia of living man. *Nature* 1983; 305: 137–38.
- Huang CC, Friedman AM, So R, Simonovic M, Meltzer HY. Synthesis and biological evaluation of *p*-bromospiperone as potential neuroleptic drug. *J Pharm Sci* 1980; 69: 984–86.

- Owen F, Poulter M, Mashal R, Crow TJ, Veall N, Zanelli GD. ^{77}Br -*p*-spiperone: a ligand for in-vivo labelling of dopamine receptors. *Life Sci* 1983; 33: 765–68.
- DeJesus OT, Friedman AM, Brnard A, Revenaugh JR. Preparation and purification of ^{77}Br -labelled *p*-bromospiperidol suitable for in vivo dopamine receptor studies. *J Labelled Comp Radiopharm* 1983; XX: 745–56.



SPECT images of the head obtained 24 h after administration of 6.5 mCi $^{77}\text{BrSp}$ to a normal volunteer. 2 cm slices: A, transaxial; B, coronal; C, sagittal, to right of midline.

NON-A, NON-B HEPATITIS OCCURRING IN AGAMMAGLOBULINAEMIC PATIENTS AFTER INTRAVENOUS IMMUNOGLOBULIN

A. M. L. LEVER
D. BROWN

A. D. B. WEBSTER
H. C. THOMAS

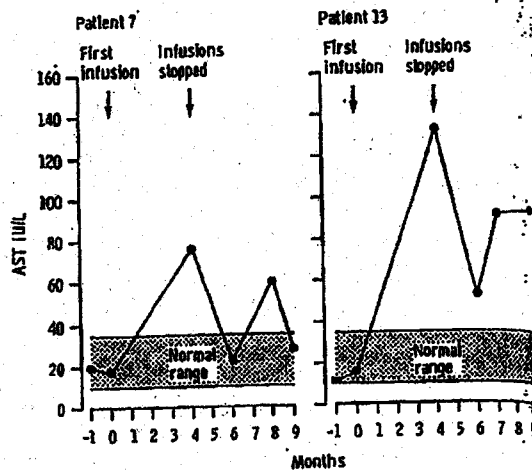
Division of Immunological Medicine, Clinical Research Centre, Harrow; and Department of Medicine, Royal Free Hospital, London

Summary Acute non-A, non-B hepatitis developed in twelve patients with primary hypogammaglobulinaemia during treatment with intravenous gammaglobulin prepared by Cohn fractionation of pooled plasma. The illness was clinically and histologically identical to the short-incubation non-A, non-B hepatitis observed in haemophilic patients receiving factor VIII concentrates. Most of the patients were symptomless, but 10 months after onset ten of the twelve still had abnormal liver function. The occurrence of non-A, non-B hepatitis in agammaglobulinaemics indicates that humoral mechanisms are not essential for production of hepatocyte necrosis in this infection. This outbreak emphasises the need for a screening test to identify the agent in blood products, and shows that Cohn fractionation of plasma does not always inactivate the agent. Furthermore, the finding that the virus can be transmitted in IgG concentrates suggests either that the general population has a very low level of antibodies to the putative virus or that such antibodies are not virus-neutralising.

Introduction

SENSITIVE radioimmunoassays for hepatitis B surface antigen and IgM anti-HB-core allow identification of cases of post-transfusion hepatitis caused by the hepatitis B virus, and similar assays exist for the diagnosis of hepatitis A, cytomegalovirus, and Epstein-Barr virus infections which are rarer causes. Most post-transfusion hepatitis, however, is caused by a group of unidentified viruses designated non-A, non-B.¹ Serial investigations of haemophilic patients² and cross-challenge experiments in chimpanzees^{3,4} have confirmed the existence of at least two parenterally transmitted non-A, non-B viruses with differing incubation periods. The short-incubation (2-4 weeks) type of non-A, non-B hepatitis is seen predominantly in haemophilic patients receiving factor VIII concentrates.⁵ This disease is usually mild during the acute phase but a large proportion, usually greater than 80%, go on to acquire chronic lesions culminating sometimes in cirrhosis.⁵ The serum transaminases fluctuate rapidly during the course of this condition and liver biopsy usually reveals a lobular hepatitis in which the mononuclear cell infiltrate is disproportionately high in relation to hepatocyte necrosis.⁶ The second type of parenterally transmitted non-A, non-B hepatitis has an incubation period of 6-10 weeks. This also is a mild illness but 20-40% of patients still have abnormal liver function 6 months after onset,⁶ progressing sometimes to cirrhosis. Again, the transaminases may fluctuate and liver biopsy shows chronic persistent or chronic active hepatitis with only minor lobular inflammation. This is a point of distinction from the short-incubation haemophilia-associated type of disease.

In contrast to plasma, blood, and coagulation factors, immunoglobulin preparations have rarely transmitted hepatitis. Because immunoglobulin preparations are usually prepared from large plasma pools derived from numerous donors, it has been assumed that the Cohn fractionation



Aspartate aminotransferase fluctuations in two representative patients.

process either excludes or inactivates viruses.⁷ We describe here an outbreak of non-A, non-B hepatitis acquired from Cohn fraction II material modified for intravenous injection. The study helps clarify the role of specific antibody in the pathogenesis of this condition.

Patients and Methods

Twenty-four patients with hypogammaglobulinaemia were recruited into an open cross-over trial to evaluate the efficacy of intravenous gammaglobulin versus conventional intramuscular immunoglobulin in preventing infection. Twelve patients were allocated to intravenous treatment, three of them with X-linked agammaglobulinaemia and 9 (2 females) with "common variable" hypogammaglobulinaemia. All twelve had previously been on regular weekly intramuscular gammaglobulin replacement therapy (25-50 mg/kg). Three had also been receiving two units of plasma every three weeks. All patients had normal serum transaminase levels at the start of the trial.

The intravenous globulin was prepared by the British Blood Products Laboratory by conventional⁸ alcohol fractionation. Maltose was added to stabilise the immunoglobulin, followed by removal of the alcohol on a Sephadex G25 column and 0.2 µm filtration; the resulting solution was freeze dried. It was given fortnightly, freshly reconstituted with pyrogen-free water, at a dose of 200 mg/kg and patients were monitored for adverse effects. The trial was discontinued when hepatitis developed in some of the patients.

Peripheral-blood T cell numbers and T cell markers for helper and suppressor/cytotoxic cells were measured with commercial antibodies (Leu 1, 2, 3a) on a fluorescence activated cell sorter. Cytotoxic (NK) cell activity was assessed with a chromium-51 release assay with myeloid cells (K562) as targets, and lymphocyte/target cell ratios ranging from 1:1 to 200:1.⁹ Concanavalin-A-induced suppressor function was measured *in vitro* with Con A concentrations of 10 µg, 5 µg, and 1 µg per well.¹⁰ All tests were done on freshly separated peripheral-blood mononuclear cells or on samples that had been frozen in liquid nitrogen within half an hour of separation (this freezing technique has been shown not to influence either lymphocyte populations or functional assays).

Liver function tests were done before the trial and then monthly after the onset of hepatitis for a total of 10 months. In the three patients who had a liver biopsy (Menghini needle) the samples were sent for conventional histological examination and serial sections were examined for hepatitis B surface antigen. Hepatitis B surface antigen was measured in the serum of all patients with a commercial assay (Abbott).

Results

Clinical Observations

Within two weeks of the first infusion, one patient who had previously been receiving plasma experienced a "flu-like" illness and two weeks later became jaundiced with greatly raised transaminase concentrations. Hepatitis B surface antigen was absent from the blood and no virus particles were detected on electronmicroscopy of the stools. Non-A, non-B hepatitis was provisionally diagnosed. The other recipients of the intravenous immunoglobulin preparations were clinically well at this time and showed symptomatic benefit from their higher serum immunoglobulin concentrations. Therefore it was assumed that the patient with non-A, non-B hepatitis had acquired the virus from previous plasma therapy. However, 3 months after the onset of the trial, the patients were reassessed and all proved to have a raised serum aspartate aminotransferase. One patient, on close questioning, admitted to having been mildly jaundiced for about a week between infusions. Three patients then had a liver biopsy.

Six months after diagnosis of hepatitis all patients had raised transaminase concentrations and were thus, by definition, at the stage of chronic hepatitis. The transaminases have since returned to normal in two. Only two of the group ever became clinically jaundiced and most were symptomless. One patient now has unexplained marrow hypoplasia.

Laboratory Tests

The baseline aspartate aminotransferase concentrations were all normal (10–35 IU/ml), and at the first assessment after treatment all were abnormal (mean 132, range 39–545). Some patients had large fluctuations in transaminases (figure).

Hepatitis B surface antigen was never detected in any patient. Table 1 shows T-cell helper/suppressor ratios in the twelve patients who received intravenous gammaglobulin and in four patients who were on intramuscular gammaglobulin originating from the same plasma pool as the intravenous preparation. Where the T cell phenotype had

TABLE 1—T CELL PHENOTYPE

Patient	Pan-T (Leu-1) %	Helper T (Leu-3) %	Suppressor T (Leu-2) %	Ratio ^a	1981 ratio ^a
<i>Intravenous gammaglobulin</i>					
1	78	29	58	0.5	0.37
2	83	59	36	1.64	ND
3	29	25	19	1.3	ND
4	82	50	44	1.14	0.72
5	71	44	39	1.13	1.2
6	26	19	5	3.8	4.8
7	57	43	19	2.26	2.8
8	29	9	20	0.45	ND
<i>Intramuscular gammaglobulin</i>					
9	41	33	15	2.2	1.24
10	58	44	26	1.7	1.77
11	52	41	31	1.3	1.83
12	70	28	29	0.96	0.76

^aNormal = 1.1–3.1.
ND = not done.

TABLE II—CON A SUPPRESSOR ACTIVITY

Con A concentration/well	Patients			NR±SD
	2	4	8	
10 µg	0.81	1.08	1.16	1.1±0.13
5 µg	1.15	2.55	1.53	1.3±0.41
1 µg	0.63	4.39	1.64	2.9±0.7

TABLE III—NK CELL ACTIVITY (% CYTOTOXICITY)

Lymphocyte target cell ratio	Patients			NR±SD
	2	4	8	
200	66.3	23	61.5	69.4±13.5
100	57.5	17.5	49	74.14±7.61
50	21.1	12.3	38.9	62.5±17.6
10	12.7	4.6	15.3	28.6±9.1
1	2.5	1.0	2.9	5.1±2.4

NR = normal range.

been examined previously, this is recorded. Overall there is little or no change in subset ratios and no reversal of the ratios. Those patients who were known to have excess suppressor cells before the trial started continued to show such an excess. Concanavalin-A-induced T suppressor activity, measured in patients 2, 4, and 8, was normal (table II). NK cell activity, measured in the same three subjects, was low in patient 4 but normal in patients 2 and 8 (table III).

All three biopsy specimens showed severe lobular hepatitis with widespread mononuclear cell infiltration of the hepatic sinusoids. There was reticulin condensation indicating some liver cell loss, but in general the inflammatory infiltrate was disproportionate to the amount of liver cell necrosis.

Discussion

All the hypogammaglobulinaemic patients who received intravenous gammaglobulin acquired a short-incubation non-A, non-B hepatitis which progressed to chronic hepatitis. The rapidity of onset (2–4 weeks after infusion), the high chronicity rate, and the prominent lobular hepatitis seen on liver biopsy were reminiscent of the short-incubation non-A, non-B hepatitis seen in haemophilic patients receiving factor VIII concentrate. Probably the same virus is responsible for both conditions.

The fact that large-pool gammaglobulin preparations are capable of transmitting this type of non-A, non-B hepatitis implies that, in the community, virus-neutralising antibody occurs rarely or in extremely low titre. This has already been suggested by the observation that pooled intravenous immunoglobulin preparations do not prevent non-A, non-B hepatitis infection transmitted by factor VIII concentrates to haemophilic patients¹¹ and experimentally to chimpanzees.¹² Furthermore, the occurrence of severe non-A, non-B hepatitis in agammaglobulinaemic patients suggests that humoral immune mechanisms are not involved in the liver cell damage; we presume that the mechanisms are cellular or that the virus is directly cytopathic. In our patients T cell and NK function were normal and the prominent cellular infiltrate in the liver suggests their participation in the process. This notion is supported by the observation that the mononuclear cells in the livers of haemophilic patients are predominantly of the T8 phenotype (H. C. Thomas,

unpublished) which include cytotoxic T cells. There were also no significant changes in T-cell subset ratios—ie, the excess of circulating suppressor T8 lymphocytes in some hypogammaglobulinaemic patients is unlikely to be due to subclinical non-A, non-B virus infection acquired from gammaglobulin treatment.

Bone-marrow aplasia developed in one patient. This is of particular interest in that anaemia has been reported in a chimpanzee with short-incubation non-A, non-B hepatitis after injections of factor VIII concentrate.¹³ Human parvovirus, which causes a failure of erythropoiesis in sickle cell anaemia,¹⁴ can be transmitted by factor VIII concentrates¹⁵ and can cause hepatitis. Diagnosis of parvovirus infections depends on detection of a specific IgM response which in hypogammaglobulinaemic patients is not possible. Parvovirus antigen was sought in the patient with marrow aplasia and not detected, but a parvovirus-like agent does remain a possible cause of this particular outbreak.

The apparent absence of hepatitis in patients receiving intramuscular immunoglobulin from the same pool of plasma suggests that minor variations in the manufacturing process allowed the non-A, non-B virus to remain infectious in the intravenous preparation.¹⁶ The dose and route of administration of the infected material, and the susceptibility of the host, may also have influenced the infection rate and severity of the disease. Other intravenous gammaglobulin preparations currently available do not seem to have transmitted hepatitis, probably because viruses are inactivated by the procedures used. Various other methods have been suggested to eliminate hepatitis virus in blood products.^{17,18}

Correspondence should be addressed to A. M. L. L., Division of Immunological Medicine, Clinical Research Centre, Harrow, Middlesex HA1 3UJ.

REFERENCES

1. Alter HJ, Holland FV, Purcell RH, et al. Post transfusion hepatitis after exclusion of commercial and hepatitis-B antigen positive donors. *Ann Intern Med* 1972; 77: 691-99.
2. Craike J, Spooner RJD, Vandervelde EM. Evidence for existence of at least two types of factor VIII associated non-B transfusion hepatitis. *Lancet* 1978; ii: 1051-52.
3. Tsiquaye KN, Bird RG, Tovey G, Wyke RJ, Williams R, Zuckerman AJ. Further evidence of cellular changes associated with non-A, non-B hepatitis. *J Med Virol* 1980; 5: 63-71.
4. Bradley DW, Maynard JE, Cook EH, et al. Non-A/non-B hepatitis in experimentally infected chimpanzees: cross challenge and electron microscopic studies. *J Med Virol* 1980; 6: 185-201.
5. Bamber M, Murray A, Ayrbrough BAM, et al. Short incubation non-A, non-B hepatitis transmitted by factor VIII concentrates in patients with congenital coagulation disorders. *Gut* 1981; 22: 854-59.
6. Barman M, Alter HJ, Ishak KG, Purcell RH, Jones EA. The chronic sequelae of non-A, non-B hepatitis. *Ann Intern Med* 1979; 91: 1-6.
7. Lane RS, Vallet L, Kavanagh ML. Human immunoglobulin for clinical use. *Lancet* 1983; i: 357-58.
8. Kistler P, Mischmann H. Large scale production of human plasma fractions. *Vox Sang* 1962; 7: 414-24.
9. West WJ, Cannon GB, Kay HD, Bonnard GD, Herberman RB. Natural cytotoxic reactivity of human lymphocytes against a myeloid cell line: Characterisation of effector cells. *J Immunol* 1977; 118: 355-61.
10. Biesulhan B, Jasin HE. Suppressor function of peripheral blood mononuclear cells in normal individuals and in patients with systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 1977; 59: 106-16.
11. Kernoff PBA, Lee CA, Karayiannis P, Thomas HC. High risk of non-A, non-B hepatitis after a first exposure to volunteer of commercial clotting factor concentrates: effects of prophylactic immune serum globulin. *J Haematol* (in press).
12. Spichin H, Eder G, Gudat F, Krey G, Bianchi L. Ultrastructural alterations in hepatocytes and sinus endothelia in experimental non-A, non-B hepatitis in chimpanzees with and without immunoglobulin prophylaxis. *J Med Virol* 1983; 12: 215-26.
13. Tsiquaye KN, Portmann B, Tovey G, et al. Non-A, non-B hepatitis in persistent carriers of hepatitis B virus. *J Med Virol* 1983; 11: 179-89.

References continued at foot of next column

INFLUENCE OF PROPRANOLOL ON WEIGHT AND SALT AND WATER HOMOEOSTASIS IN CHRONIC LIVER DISEASE

P. C. HAYES W. W. STEWART
I. A. D. BOUCHIER

University Department of Medicine and Department of Medical Physics, Ninewells Hospital and Medical School, Dundee

Summary Sixteen patients with chronic liver disease were treated with propranolol or placebo in a double-blind study. Skinfold thickness, total body water and exchangeable sodium, and urinary sodium were measured every 6 months for a year; body weight was measured every 2 (later every 3) months for 15 months. Propranolol treatment was associated with a significant rise in body weight after 9 months and significant rises in skinfold thickness and body fat after 12 months. Propranolol-treated patients showed a fall in total body water at 6 months and a rise in urinary sodium concentration at 12 months. They did not show the rise in total body exchangeable sodium that occurred in placebo-treated patients. Propranolol seems to affect salt and water homoeostasis favourably in patients with chronic liver disease.

Introduction

SODIUM retention is a characteristic of advanced liver disease, but the mechanism is unclear. Activation of the renin-angiotensin-aldosterone system, which occurs in patients with ascites,¹⁻⁴ may be important. Plasma renin levels correlate directly with the wedged hepatic venous pressure.⁵ Increased sympathetic activity has been implicated in the impaired sodium and water excretion in cirrhotic patients.⁶ Animal models suggest that sodium retention precedes ascites formation,^{7,8} although this view is not universally supported.⁹ Associated with the increase in body sodium and water is a loss of body fat and cellular mass.¹⁰

The effect of propranolol, advocated by Lebrec et al¹¹ for prevention of rebleeding from oesophageal varices in cirrhotic patients, on the renin-angiotensin system in patients with cirrhosis and ascites has been studied. Wilkinson et al showed that propranolol protected against diuretic-induced renal impairment in cirrhotic patients by blocking the rise in plasma renin activity.¹² Despite suppression of the plasma renin activity in cirrhotic patients with ascites treated with β -adrenergic antagonists, the renal excretion of aldosterone is variable, suggesting the involvement of other factors.² Renal sodium excretion is inversely related to aldosterone excretion before and after β -adrenergic blockade.²

In a study of four patients with cirrhosis and ascites, Panitch and co-workers observed a rise in urinary sodium in a patient whose renin and aldosterone levels returned to normal on propranolol.³ Shohat et al found that propranolol increased urinary sodium excretion after an acute saline load in five cirrhotic patients with ascites.¹³ This finding is

A. M. L. LEVER AND OTHERS; REFERENCES—continued

14. Serjeant GR, Mason K, Topley JM, et al. Outbreak of aplastic crises in sickle cell anaemia associated with parvovirus like agent. *Lancet* 1981; ii: 594-97.
15. Mortimer PP, Luban NLC, Kellerman JF, Cohen BJ. Transmission of serum parvovirus-like virus by clotting factor concentrates. *Lancet* 1983; ii: 482-84.
16. Lane RS. Non-A, non-B hepatitis from intravenous immunoglobulin. *Lancet* 1983; ii: 974-75.
17. Welch AG, Cuthbertson B, McIntosh RV, Foster PR. Non-A, non-B hepatitis from intravenous immunoglobulin. *Lancet* 1983; ii: 1198-99.
18. Stephen W, Dichtelndiller H. Non-A, non-B hepatitis from intravenous immunoglobulins. *Lancet* 1983; ii: 1483.

MORTALITY FROM CANCER AND LEUKAEMIA IN PERSONS UNDER THE AGE OF 25 YEARS IN MILLOM AND DEPWADE RURAL DISTRICTS DURING 1959-78

Cause and time period	Millom RD			Depwade RD		
	O	E	SMR	O	E	SMR
All cancer:						
1959-67	3	4.5	67
1968-78	10	4.0	253*	11	5.3	209
Leukaemia:						
1959-67	1	1.6	63
1968-78	6	1.4	435†	8	1.8	440

O = observed number of deaths; E = expected number of deaths at age, sex and cause specific rates in England and Wales during appropriate period. SMR = 100A(O/E) = standardized mortality ratio. ICD 7 (1959-67) and ICD 8 (1968-78) code numbers are respectively 140-207 and 140-209 for cancer, and 204 and 204-207 for leukaemia. Significantly different from 100 at *p<0.05, †p<0.01.

although the standardised mortality ratio in Urquhart and Cutler's table II is slightly different. The figure of 10 deaths which they give from cancer in Depwade RD during 1968-78 in under 25-year-olds is 1 short of the 11 which were coded as such. The correct figures produced on a nationally comparable basis are shown in the accompanying table. Data for 1959-67 for Depwade RD are not available, although it is known that only 2 deaths from leukaemia occurred in the age-group during those years.

I strongly endorse their final comment, that in any investigation all cases are recorded for analysis, and this we are aiming for by using every source of information available in our current case-control study in West Cumbria.

MRC Environmental Epidemiology Unit
(University of Southampton),
Southampton General Hospital,
Southampton SO9 4XY

M. J. GARDNER

1. Gardner MJ, Winter PD. Mortality in Cumberland during 1959-78 with reference to cancer in young people around Windscale. *Lancet* 1984; ii: 216-17.
2. Report of the Independent Advisory Group (chairman Sir Douglas Black). Investigation of the possible increased incidence of cancer in West Cumbria. London: HMSO, 1984.

KETOCONAZOLE IN ADVANCED PROSTATIC CANCER: DUAL PUBLICATION?

*We have received the following comment from a reader: "The preliminary communication by Dr Trachtenberg and Dr Pont (Aug 25, p 433) is virtually the same paper rewritten as Ketoconazole Therapy in Advanced Prostatic Cancer by Dr Trachtenberg in the *Journal of Urology* (1984; 132: 61-63). Both papers give the results of treating 13 patients presenting with stage D2 prostatic cancer with high-dose ketoconazole. The paper in *The Lancet* starts off with 15 patients, but after 2 dropouts it appears to deal with the same patients. The data revealed in each paper are slightly different—for example, the time intervals for which information is given".

We asked Dr Trachtenberg and Dr Pont to respond to this point and their reply follows.—ED.L.

SIR,—We feel that the *Lancet* paper is different from and adds to the communication in the *Journal of Urology*. Therefore, both articles merit publication. Our reasons include:

(a) The 15 patients in the *Lancet* paper include the first 10 from the Toronto group and 5 never previously published cases from San Francisco. The 13 patients in the *J Urol* article are all Toronto patients.

(b) The *J Urol* paper gives results of three months' treatment; the *Lancet* paper gives six months' data.

(c) There are added biochemical, endocrinological, and radiological data in the *Lancet* article, including cholesterol values, luteinising hormone levels, prostatic acid phosphatase measured in different patients by radioimmunoassay and enzymatic assay, and a fuller delineation of effects on bone scans. In addition, the *Lancet* paper provides a comprehensive description of clinical and biochemical side effects of high-dose ketoconazole therapy.

In retrospect, we recognise that the articles appear similar upon rapid review. We regret any questions this may have raised about the primacy of data published by *The Lancet*. However, for the reasons stated, we feel that the *Lancet* report represents documentation of continuing studies rather than duplication. Given the relatively short life expectancy of patients with stage-D2 prostatic carcinoma, and the potential importance of the research, we shall continue to attempt to publish combined data from our studies at intervals of six months.

Children's Hospital of San Francisco,
San Francisco, California 94119, USA

ALLAN PONT

Division of Urology,
Toronto General Hospital,
Toronto, Ontario M5G 1L7, Canada

JOHN TRACHTENBERG

**The need to seek this explanation from Dr Pont and Dr Trachtenberg might have been avoided if Dr Trachtenberg had informed *The Lancet* of his intention to place his separate paper in the *Journal of Urology*.—ED.L.

NON-A, NON-B HEPATITIS AND INTRAVENOUS IMMUNOGLOBULIN

SIR,—Immunoglobulin is one of the safest biological products available.¹ Since the development of the cold alcohol precipitation technique, immunoglobulin from pooled plasma has been given to millions of individuals and has become the cornerstone for management of patients with humoral immunodeficiency.² Modified immunoglobulin (IVIG) preparations now permit intravenous infusion of large amounts of IgG.^{3,4}

Last year non-A, non-B (NANB) hepatitis was reported in 12 immunodeficient patients given IVIG^{5,6} prepared by the British Blood Products Laboratory from conventional Cohn fraction II suspended in a maltose-containing medium; 12-28 days after the first infusion serum transaminase levels rose, compatible with NANB hepatitis. We have had a similar outbreak in immunodeficient patients after the introduction of a new IVIG preparation.

16 patients (11 with common variable immunodeficiency, 4 with X-linked agammaglobulinemia, and 1 with immunodeficiency and hyper-IgM; 3 females, 13 males) were enrolled during 1982 and 1983 in a longitudinal safety and efficacy study. The starting dose of 100 mg/kg per infusion was rapidly increased to 400 mg/kg every 4 weeks. In July 1984, 2 years after the study began, 1 patient had oedema, ascites, and jaundice, and, although he had had normal levels of alanine aminotransferase/aspartate aminotransferase (ALT/AST or SGPT/SGOT) at the start of the study, transaminase activities were high (ALT 100-230, AST 120-200 U/l). Tests on stored sera showed that all but 1 patient had had normal ALT and AST levels before the study. All patients were free of hepatitis A and hepatitis B antigen before and 5 months after the first infusion and IgM antibody to hepatitis A or B virus could never be demonstrated. In 6 of 7 affected patients ALT and AST levels rose 1-3 months after the first infusion of the new preparation; 1 had had elevated transaminase levels before the study. The index case has since died of coronary artery disease and had a grossly cirrhotic liver. None of the other 6 patients has had any symptoms of hepatic disease to date but moderately increased and fluctuating transaminase levels persist. The 9 study patients who did not have raised AST/ALT levels have been followed up for two years without AST/ALT increases or evidence of hepatitis.

The increase in transaminase activity in the affected individuals was closely related in time to the first administration of one of two lots of IVIG prepared from a single lot of Cohn fraction II paste. The differences between the affected and non-affected groups were that none of the 7 patients with increased AST/ALT had received immunoglobulin intravenously during the year before the study began and that 6 of the other 9 patients had been on high dose (400 mg/kg monthly) IVIG from a different source before the study. Perhaps some of the patients who remained free of AST/ALT increases were protected passively by the IVIG given earlier. The AST/ALT levels of these 9 patients remained normal during

continued use of several other lots of this experimental IVIG preparation.

Two outbreaks of NANB hepatitis in patients with immunodeficiency receiving modified immunoglobulin intravenously raises a number of questions. Does immunoglobulin contaminated with low-dose NANB virus cause hepatitis more readily if given intravenously than intramuscularly? Could the modification procedures used to stabilise IgG increase the infectivity of the virus? The preparation causing NANB hepatitis in Britain was stabilised by the addition of maltose and the material used in our patients contained glucose. Could NANB virus-antibody complexes formed in pooled plasma (inactivating contaminating virus) dissociate during the modification and stabilisation processes? Clearly, new methods must be explored to improve safety of immunoglobulin preparations, both modified and non-modified. The detection of reverse transcriptase activity in serum and plasma contaminated with NANB hepatitis agent(s)⁷ and the isolation of a virus from sera containing NANB hepatitis agent(s) using chimpanzee liver cell cultures⁸ may allow the screening of each individual plasma unit and the final product. Alternatively, it may be necessary to inactivate contaminating viral agents by methods such as pasteurisation,⁹ cold sterilisation,¹⁰ or the use of low concentrations of pepsin.^{11,12}

Department of Pediatrics,
University of Washington,
Seattle, Washington 98195, USA

Hyland Therapeutics Division,
Travenol Laboratories, Inc.,
Glendale, California

Department of Pediatrics,
University of Washington, Seattle

HANS D. OCHS
SUSANNA H. FISCHER
FRANK S. VIRANT

MARTIN L. LEE
HENRY S. KINGDON

RALPH J. WEDGWOOD

1. Stiehm ER. Immunodeficiency disorders: general considerations. In: Stiehm ER, Pulginiti VA, eds. *Immunologic disorders in infants and children*. Philadelphia: Saunders, 1980.
2. Janeway CA, Rosen FS. The gamma globulins. IV: Therapeutic uses of gamma globulin. *N Engl J Med* 1966; 275: 826-31.
3. Ochs HD, Fischer SH, Wedgwood RJ, et al. Comparison of high-dose and low-dose intravenous immunoglobulin therapy in patients with primary immunodeficiency diseases. In: *Proceedings of a symposium on intravenous immune globulin and the compromised host*. *Am J Med* 1984; 76 (A): 78-82.
4. Mease PJ, Ochs HD, Wedgwood RJ. Successful treatment of echovirus meningoencephalitis and myelitis-fasciitis with intravenous immune globulin therapy in a patient with X-linked agammaglobulinemia. *N Engl J Med* 1981; 304: 1278-81.
5. Lane RS. Non-A, non-B hepatitis from intravenous immunoglobulin. *Lancet* 1983; ii: 974-75.
6. Lever AML, Webster ADB, Brown D, Thomas HC. Non-A, non-B hepatitis occurring in agammaglobulinemic patients after intravenous immunoglobulin. *Lancet* 1984; ii: 1062-64.
7. Seto B, Coleman WG, Jr, Iwarson S, Gerety RJ. Detection of reverse transcriptase activity in association with the non-A, non-B hepatitis agent(s). *Lancet* 1984; ii: 941-43.
8. Prince AM, Haima T, Williams BAA, Bardina L, Bromson B. Isolation of a virus from chimpanzee liver cell cultures inoculated with sera containing the agent of non-A, non-B virus hepatitis. *Lancet* 1984; ii: 1071-75.
9. Welch AG, Cuthbertson B, McIntosh RV, Foster PR. Non-A, non-B hepatitis from intravenous immunoglobulin. *Lancet* 1983; ii: 1198-99.
10. Stephan W, Dieckmüller H. Non-A, non-B hepatitis from intravenous immunoglobulins. *Lancet* 1983; ii: 1488.
11. Baraudun S, Kistler P, Jeune F, Isliker H. Intravenous administration of human γ -globulin. *Vox Sang* 1962; 7: 157-74.
12. Welch AG, McIntosh RV, Foster PR. Human immunoglobulin for clinical use. *Lancet* 1983; ii: 357-58.

SIR.—There has been a tendency of late to refer to all plasma fractionation methods which involve the use of alcohol as "Cohn fractionation". Dr Lever and colleagues (Nov 10, p 1062) describe the transmission of non-A, non-B hepatitis by an intravenous immunoglobulin preparation and incorrectly refer to the primary method of isolation as "Cohn fractionation", but with a reference to the method of Kistler and Nitschmann.¹ The method of IgG isolation is critically important to reports of transmission of disease with this plasma fraction.

Most manufacturers use one of two methods to isolate from plasma the IgG-rich fraction used to prepare purified immunoglobulin suitable for intravenous use—namely, those of Cohn and Oncley^{2,3} (methods 6 and 9) or Kistler and Nitschmann.¹ Both involve the purification of IgG by fractional precipitation or extraction with alcohol. Cohn's method was developed in the 1940s

at Harvard Medical School under the auspices of the US Government and involves the purification of IgG exclusively by fractional precipitation. In the late 1950s Kistler and Nitschmann, using a modification of Cohn and others, combined fractional precipitation and extraction. This modification, which reduces the working times, volumes, and alcohol consumption necessary to isolate purified plasma fractions while increasing yields, was developed at the central laboratory of the Swiss Red Cross Blood Transfusion Service. As noted¹ "careful attention to ionic strength is of great importance during the fractionation of precipitate A (the IgG containing fraction). Slight deviations in the ionic strength will influence yield and purity of the gamma-globulin remarkably". The Cohn process uses re-precipitation and washing steps to control ionic strength precisely. As a result, it consistently yields IgG of higher quality and purity, but yields are lower than those of the streamlined but less controlled Kistler process.

Cohn methods 6 and 9 (with modifications^{4,5}) are used almost everywhere in the United States while the Kistler and Nitschmann method or variations of it is preferred by European manufacturers. In the United States, this preference is in part due to the regulatory constraints of the Food and Drug Administration, stemming from a bad experience with Cohn method 12. Method 12 involves fractional precipitation and extraction with, primarily, zinc ions,⁶ and the IgG was found to transmit hepatitis.⁷ Immunoglobulins produced by methods 6 and 9 have a proven record of safety with respect to the transmission of viral diseases, especially hepatitis.⁸ The development of new methods for isolating IgG has been severely limited in the United States by the difficulties with lack of success in proving equivalent safety. Dr J. S. Finlayson, of the US Food and Drug Administration, has stated⁹ that fraction 11 (the IgG-containing fraction) isolated by Cohn methods 6 and 9 from starting plasma of proven infectivity does not transmit hepatitis.

The use of alcohol in the fractionation of immunoglobulins does not itself guarantee that the preparation will not transmit disease. If departures from proven methods are used the researcher must prove that his method produces a safe preparation.

Plasma Manufacturing Technology,
Altes Laboratories,
Cawer Group,
Berkeley, California 94710, USA.

RONALD H. HEIN
JOHN P. MCCUE
JOHN HINK

1. Kistler P, Nitschmann H. Large scale production of human plasma fractions. *Vox Sang* 1962; 7: 414-24.
2. Cohn EJ, Strong LE, Hughes WL, et al. Preparation and properties of serum and plasma proteins. *J Am Chem Soc* 1946; 68: 459-75.
3. Oncley JL, Melin M, Richert DS, et al. The separation of the antibodies, isoagglutinins, prothrombin, plasminogen, and beta-1-lipoprotein into subfractions of human plasma. *J Am Chem Soc* 1949; 71: 541-50.
4. Pennell RB. In: Putnam FW, ed. *The plasma proteins*. New York: Academic Press, 1960.
5. Hink JH, Hidalgo J, Seeborg VP, Johnson FF. Preparation and properties of a heat-treated human plasma protein fraction. *Vox Sang* 1957; 2: 174-86.
6. Sargenor DM, Penwell RB, Alameri E, et al. Preparations and properties of serum and plasma proteins XXXV: a system of protein fractionation using zinc complexes. *Vox Sang* 1960; 5: 272-96.
7. Pennell RB. The distribution of certain viruses in the fractionation of plasma. In: LoGrippe GA, Matzer JG, Barron J, eds. *Hepatitis frontiers*. Boston: Little, Brown, 1957: 297-310.
8. Ness PM, Pennington RM. Plasma fractionation in the United States. *JAMA* 1974; 230: 247-50.
9. Finlayson JS. *Sci Thromb Haemostas* 1979; 6: 44-74.

HEPATITIS B IMMUNE GLOBULIN TO PREVENT NON-A, NON-B POST-TRANSFUSION HEPATITIS

SIR.—While Lane and Lever et al^{1,2} have described cases of non-A, non-B (NANB) hepatitis after intravenous immunoglobulin, Simon³ found that hepatitis B immune globulin (HBIG) could prevent NANB hepatitis in haemodialysis patients. Like Simon we have done a study of HBIG in the prevention of NANB hepatitis, this time in the context of heart surgery.

Patients aged 15-65 scheduled for open heart surgery and with no history of hepatitis, alcohol or drug abuse, or hypersensitivity to blood products were randomly assigned to a control or HBIG group. Patients in the treated group received 10 ml HBIG intravenously (anti-HBs titre 250 IU/ml; 'Hepatect', Biotest Pharma, Frankfurt), 5 ml being given immediately after admission to hospital and 5 ml on the day after surgery. Further infusions were

Intravenous Immunoglobulin Prophylaxis Causing Liver Damage in 16 of 77 Patients with Hypogammaglobulinemia or IgG Subclass Deficiency

JANNE BJÖRKANDER, M.D., Ph.D.
Göteborg, Sweden

CHARLOTTE CUNNINGHAM-
RUNDLES, M.D., Ph.D.
New York, New York

PER LUNDIN, M.D., Ph.D.
ROLF OLSSON, M.D., Ph.D.
RUZENA SÖDERSTRÖM, M.D.
LARS Å. HANSON, M.D., Ph.D.
Göteborg, Sweden

Sixteen of 77 patients (21 percent) with common variable immunodeficiency or IgG subclass deficiency contracted non-A, non-B hepatitis in association with intravenous infusions of immunoglobulin. The hepatitis seemed to run a more severe course in these patients than in non-immunodeficient patients. Twelve patients had clinical symptoms, and five died with hepatitis being the cause of death in two and a contributing factor in three. Liver biopsy specimens showed early chronic active hepatitis and cirrhosis. In addition to increases in liver enzymes, 13 patients had increases in alkaline phosphatase levels. All but two patients who contracted hepatitis had been given 50 mg/kg per week or more of intravenous immunoglobulin. Lymphocyte counts, T/B cell ratios, and T-lymphocyte function did not differ between those in whom hepatitis developed and those in whom it did not develop. The hepatitis was associated with more than one batch of a Swedish intravenous immunoglobulin, the immunoglobulin being derived from United States sources as well as from European plasma. Three previous brief reports in the literature have also associated non-A, non-B hepatitis with the intravenous infusion of various immunoglobulins. Biologic materials given to patients, including immunoglobulin, should, whenever possible, be prepared so as to ensure absence of viruses.

Immunoglobulin prophylaxis is vital for patients with hypogammaglobulinemia. After years of use, intramuscular immunoglobulin has been shown to be safe, with no reports of transmission of hepatitis virus. Recently, however, a few reports have suggested the transfer of non-A, non-B hepatitis with some of the new-generation immunoglobulin preparations made for intravenous use [1-7]. At present, the mechanism whereby these intravenous preparations can be infectious is unknown, since the same source materials are used for the intravenous and intramuscular preparations. To illustrate this problem further, we describe our experience with several patients with hypogammaglobulinemia or IgG subclass deficiency in whom liver damage developed after intravenous infusions of immunoglobulin prophylaxis were administered.

PATIENTS AND METHODS

Patients. The patients with common variable immunodeficiency (CVID) or IgG subclass deficiency included in this study and the doses and type of immunoglobulin they received appear in Table I. Nineteen patients with CVID participated in a two-dose study with 25 or 100 mg/kg per week of intravenous immunoglobulin, and 17 other patients with IgG subclass deficiencies while receiving intravenous immunoglobulin were followed in separate clinical trials. Several of these patients have been described earlier [8-10]. The other 120 patients were receiving regular immunoglob-

From the Asthma and Allergy Research Center and Departments of Clinical Immunology, Pathology, and Medicine II, University of Göteborg, Göteborg, Sweden, and the Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New York, New York. This study was made possible by grants from the Swedish Medical Research Council (#215), Göteborg Medical Society, and the Ellen, Lennart, and Walter Hesselman Foundation for Medical Research, Sweden. Requests for reprints should be addressed to Dr. Lars Å Hanson, Department of Clinical Immunology, Guldhedsgatan 10 S-41348, University of Göteborg, Sweden. Manuscript submitted May 11, 1987, and accepted in revised form August 13, 1987.

TABLE I Hepatitis in 16 of 156 Patients with Immunodeficiency after Intramuscular (n = 79) and Intravenous (n = 77) Immunoglobulin Prophylaxis

Diagnosis	Number of Patients	Location	Dose (mg/kg/week)	Mode of Injection	Source of Plasma	Hepatitis Developed
CVID	76					
	13	NYC	25-150	IV	American	3
	10	Gbg	25-100	IV	American	6
	24	Gbg	25-50	IV	Nordic	4
	1	Gbg	100	IV	Nordic	0
	1	Gbg	1000	IV	Nordic	0
	27	Gbg	25	IM	Nordic-Irish	0
IgG subclass deficiency	80					
	7	NYC	50	IV	American	1
	21	Gbg	50	IV	Nordic	2
	52	Gbg	25	IM	Nordic-Irish	0

NYC = New York City; Gbg = Göteborg, Sweden; IV = Intravenous; IM = Intramuscular; Nordic = from Sweden and Finland.

ulin prophylaxis, but one patient with polymyositis received 1,000 mg/kg during one week (Table I).

Immunoglobulin Preparations. In this study, we used a Swedish albumin-stabilized immunoglobulin preparation (Gammonativ, KabiVitrum, Stockholm, Sweden) given intravenously or an immunoglobulin preparation given intramuscularly (Gammaglobulin 16.5 percent, KabiVitrum). The immunoglobulin preparations are prepared using the Cohn cold ethanol fractionation procedure with 25 percent ethylalcohol. The fraction II paste for intravenous use is not freeze-dried, but dissolved and treated with DEAE-Sephadex, stabilized with glycine, albumin, and glucose, and lyophilized. The intramuscular preparation, after freeze drying of fraction II paste, is dissolved, stored, and bottled.

Immunologic Tests. Total lymphocyte counts, percentages of T and B lymphocytes, responsiveness to phytohemagglutinin and concanavalin A mitogens, and delayed-type hypersensitivity reactions to purified protein derivative of tuberculosis, Candida, Varidase, mumps virus, and Trichophyton antigens were measured as described previously [11].

The sera of the immunodeficient patients were analyzed on two to three occasions for hepatitis B surface antigen and for antibodies against human immunodeficiency virus, Epstein-Barr virus, and cytomegalovirus.

Liver Tests. The activity of aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, and alkaline phosphatase was determined in Göteborg as recommended by the Scandinavian Committee on Enzymes [12] and in New York as described [13,14]. Hepatitis was diagnosed if aminotransferase levels were 2.5 times above the normal level (1.75 μ /liter or 62.5 U/ml, respectively) in at least two consecutive samples taken at a six-week interval or longer, without any other reason for these elevations [15]. Liver biopsy specimens were obtained in eight patients using a Menghini needle.

RESULTS

Clinical Data. Sixteen of the 77 (21 percent) patients had levels of serum aminotransferases 2.5 or more times the normal level after the initiation of intravenous immuno-

globulin prophylaxis (Table I). All patients had normal levels before the study. Fourteen of these patients had been given 50 mg/kg per week or more of intravenous immunoglobulin of which five patients had 100 and one 150 mg/kg per week, and two others had received 25 mg/kg per week, also intravenously. Hepatitis developed in recipients of intravenous immunoglobulin made of plasma obtained from both United States and European sources (Table I). Increased serum alkaline phosphatase levels were present in 13 of the patients, with extremely high levels in two (Table II). Hyperbilirubinemia developed in four patients. In contrast, 27 other patients with CVID receiving 25 mg/kg per week of intramuscular immunoglobulin for one-half to three years, with a mean of 1.5 years, did not show any increased aminotransferase levels.

In two IgG subclass-deficient patients (Patients 14 and 15), increased enzyme levels developed after only two infusions at 50 mg/kg per week three weeks apart. One of these patients (Patient 15) had a sharp and brief rise initially, followed by four months with normal levels of aminotransferases and then had another sharp increase of three enzymes. The enzyme levels of 12 patients have not returned to normal; five of these 12 have died.

Four patients with increased transaminase levels had no symptoms of liver disease. Eleven had symptoms within zero to 41 months, (mean: 11 months) after the enzyme elevation was first noted. Five patients (Patients 1 to 4 and 6 in Table II) had signs of severe liver disease, e.g., ascites and edema.

Of the five patients who died, one (Patient 1) had slowly progressive deterioration of liver function for 23 months but died of an erysipelas infection. The second (Patient 2) had increased levels of transaminases for 46 months. He had both hips replaced because of aseptic osteonecrosis, but poor clinical condition due to liver disease was present only during the last five months of his life. He died of hepatic failure. The third patient (Patient 4) had a more

TABLE II Clinical Data in 16 Patients with Hepatitis

Patient Number	Sex	Age (years)	Duration of Immunodeficiency (years)	Duration of Ig Prophylaxis (years)		Peak Values for Abnormal Liver Enzyme Levels*			Duration of Raised Aminotransferase Levels (months)	Subclinical Period (months)	Presence of Clinical Symptoms	Histopathologic Findings†	
				III	IV	ASAT	ALAT	ALP					BIL
1	F	73	16	11	3	3.1	1.3	9.5	65	23	3	+ dead	
2	M	43	30	25	4	13	7.4	9.9	504	46	41	+ dead	
3	M	57	29	24	4	20	14	47	80	7	Md	+ dead	CAH, CIRR
4	M	45	12	2	2	6.0	5.0	97	—	18	9	+ dead	1. CAH 2. CIRR
5	M	52	22	8	3	12	9.9	110	33	28	9	+ dead	1. AH 2. CIRR
6	M	20	3	1	2	3.6	4.5	21	—	30	0	+	1. AH 2. AH 3. AH CAH?
7	M	21	12	8	3	4.6	10	6.2	—	20	20	—	CAH
8	F	42	22	18	4	2.4	2.8	—	—	28	28	—	AH
9	M	23	13	7	6	199	50	94	—	13	13	—	
10	M	52	15	7	6	960	607	437	—	14	0	+	
11	M	36	10	5	3	250	469	140	—	3	0	+	
12	M	47	15	5	2	1.9	4.5	5.4	—	8	Md	+	
13	F	37	11	6	5	11	7.7	13	—	2	2	—	
IgG subclass deficiency													
14	F	33	2	1	1/4	1.4	3.4	—	—	10	0	+	CAH
15	M	33	2	—	1/4	9.8	14	5.5	—	7	3	+	AH
16	F	10	2	0	1	83	81	—	—	3	4	+	

IM = intramuscular; IV = intravenous; ASAT = aspartate aminotransferase; ALAT = alanine aminotransferase; ALP = alkaline phosphatase; BIL = bilirubin; Md = missing data (liver enzyme levels were not obtained before clinical symptoms appeared); CAH = chronic active hepatitis; CIRR = cirrhosis; AH = acute hepatitis.

* Upper limits of normal sera: In Göteborg, ASAT and ALAT equaled 0.7 μ kat/liter, ALP equaled 5 μ kat/liter, and BIL equaled 21 μ mol/liter. In New York City (bold face), ASAT and ALAT equaled 25 U/ml, ALP equaled 88 U/ml, and BIL equaled 1.0 mg/dl.

† Consecutive biopsies indicated by numbers.

rapid progression of liver disease with edema and ascites. He died suddenly and unexpectedly at home. Autopsy suggested vascular collapse as the cause of death. The fourth patient who died (Patient 3) showed a very severe and rapid course with profound fatigue, hypotension, diarrhea, jaundice, ascites, and intermittent fever. During the last nine days of his life, he was treated with 5×10^6 IU units of alpha interferon per day (Introne-A, Schering Corp., Kenilworth, New Jersey). Results of his liver function tests improved dramatically, but he died of bilateral pneumonia. One additional patient (Patient 5) received alpha interferon for four months. He showed clinical improvement and the liver enzyme levels decreased. When the alpha interferon treatment was stopped, his aminotransferase levels increased rapidly and the patient's condition deteriorated. A second course of alpha interferon therapy had no effect and the patient died.

Two additional patients have had increased liver enzyme levels, but not 2.5 or more times the upper normal limit. Enzyme levels for one of these patients have normalized and results of a subsequent liver biopsy were normal. One additional patient with CVID, who had polymyositis and received 1,000 mg/kg of immunoglobulin during one week, later had increased aminotransferase levels (data not shown). However, results of the liver biopsy was normal.

Histopathologic Evaluation. A liver biopsy was performed in eight patients. In four, the histology showed chronic active hepatitis with varying degrees of inflammation and aggressivity; in one of these patients, early cirrhosis developed (Patient 3, Table II). Another patient who also had micronodular cirrhosis at autopsy had a few months earlier only some fibrosis on biopsy (Patient 4). Patient 5 had initially had a mild acute hepatitis, but died six months later with cirrhosis.

Liver samples from four patients showed acute hepatitis. One originally had a clinical picture of acute viral hepatitis with necrosis of single hepatocytes and a moderate inflammatory reaction. One year later, a few necrotic hepatocytes could still be seen, but the inflammatory process had changed to more chronic active hepatitis of the early aggressive type (Patient 6). One patient had an acute hepatitis (Patient 15). Patient 8 was classified as having mild acute hepatitis with very discrete inflammatory reactions consistent with unspecific reactive processes.

The microscopic examination showed the common features of active hepatitis as seen in non-immunodeficient patients. No plasma cells could be seen and no lymph follicles were observed in the chronic cases. A pronounced Kupffer cell proliferation seemed to occur with an increased number of lymphocytes within the lobules.

Immunologic Investigations. No differences were noted between the hepatitis diseased and healthy patients in

regard to total leukocyte and lymphocyte counts, B cell, T cell, CD3-, CD4-, or CD8-positive cell percentages, mitogen responsiveness to phytohemagglutinin and concanavalin A, or in delayed-type hypersensitivity reactions. All patients tested negative against hepatitis B surface antigen and no changes in antibody titers against human immunodeficiency virus, Epstein-Barr virus, or cytomegalovirus were noted.

COMMENTS

This study shows that severe and sometimes lethal hepatitis developed after prophylaxis with an immunoglobulin preparation for intravenous use in antibody-deficient patients. The increased aminotransferase concentrations and the histopathologic picture in our patients are consistent with a drug- or virus-induced hepatitis, which is supported by studies in chimpanzees [15]. However, increased serum levels of alkaline phosphatase are not usually part of the pattern of that disease [16], but other or additional forms of viral hepatitis cannot be excluded serologically in patients with hypogammaglobulinemia.

In patients with antibody deficiency, severe forms of viral hepatitis may develop when infection with hepatitis B virus occurs [17]. Chronic active disease, with or without cirrhosis, has been reported after acute hepatitis in patients with agammaglobulinemia or hypogammaglobulinemia [18], but there is also a report of an asymptomatic carrier state in a patient with X-linked hypogammaglobulinemia [19]. In three of our patients, hepatitis contributed to death. One patient died of hepatic failure and chronic active liver disease verified by microscopy developed in four patients. In four of the 16 patients, however, the liver disease was asymptomatic.

It was notable that hepatitis occurred in three patients after only two intravenous infusions of immunoglobulin of 50 mg/kg per week, three weeks apart. Two of these patients were IgG subclass deficient (Patients 14 and 15). In other patients, higher doses and a larger number of infusions had been given for a much longer time before the liver damage appeared. The mean initial period without clinical symptoms was at least 11 months. Hepatitis developed in recipients of different batches of intravenous preparations made from United States sources as well as from European plasma.

No case of hepatitis was observed among the patients given intramuscular immunoglobulin, although this preparation was made from the same plasma pools as the intravenous immunoglobulin. It is not clear whether the absence of hepatitis in patients receiving intramuscular immunoglobulin prophylaxis is due to the different final steps used in the production procedures for the intravenous as compared with the intramuscular form or to the different routes of administration [20]. It could also be a matter of the dose; intravenous immunoglobulin was given in larger doses than was intramuscular immunoglobulin.

lin. It could also be that the hypogammaglobulinemia and the often impaired T-lymphocyte function in these patients [21,22] made them an easier target for a drug-carried virus. However, hepatitis developed in three patients with only IgG subclass deficiency and normal T-cell function, and no differences in immunologic parameters were noted among hepatitis diseased and healthy patients with CVID. Two patients were treated with alpha interferon with some success [23], in agreement with a recent report [24].

The intravenous immunoglobulin preparation used here has been successful in preventing infections in CVID patients, has been easy to administer, and has caused few side effects in previous studies [9]. It is tragic that this

useful drug has caused hepatitis. It is urgent to determine the mechanisms involved since our experience is not unique [1-7]. To avoid similar incidents in the future, it seems necessary to include a step in the production of immunoglobulin preparations that eliminates viruses. Such procedures have been applied to a few intravenous immunoglobulin preparations, one of which we are currently testing.

ACKNOWLEDGMENT

We thank Karin Sandblom for skilled assistance, and our colleagues Tønnes Eilard, Lars Granström, and Gunmar Stålenhelm for valuable cooperation.

REFERENCES

- Lane RS: Non-A, non-B hepatitis from intravenous immunoglobulin (letter). *Lancet* 1983; ii: 974-975.
- Lever AML, Brown D, Webster ADB, Thomas HC: Non-A, non-B hepatitis occurring in agammaglobulinemic patients after intravenous immunoglobulin. *Lancet* 1984; ii: 1062-1064.
- Ochs HD, Fischer SH, Virant FS, Lee ML, Kingdon HS, Wedgwood RJ: Non-A, non-B hepatitis and intravenous immunoglobulin (letter). *Lancet* 1985; i: 404-406.
- Webster ADB, Lever AML: Non-A, non-B hepatitis after intravenous gammaglobulin (letter). *Lancet* 1986; i: 322.
- Ochs HD, Fisher SH, Vivant FS, et al: Non-A, non-B hepatitis after intravenous gammaglobulin (letter). *Lancet* 1986; i: 322-323.
- Trepo C, Hantz O, Vitvitski L: Non-A, non-B hepatitis after intravenous gammaglobulin (letter). *Lancet* 1986; i: 322.
- Welland O, Mattson L, Glaumann H: Non-A, non-B hepatitis after intravenous gammaglobulin. *Lancet* 1986; i: 976-977.
- Björkander J, Bake B, Hanson LÅ: Primary hypogammaglobulinemia: impaired lung function and body growth with delayed diagnosis and inadequate treatment. *Eur J Respir Dis* 1984; 65: 529-536.
- Björkander J, Wadsworth C, Hanson LÅ: 1040 prophylactic infusions with an unmodified intravenous product causing few side-effects in patients with antibody deficiency syndromes. *Infection* 1985; 13: 102-110.
- Björkander J, Bengtsson U, Oxelius V-A, Hanson LÅ: Symptoms in patients with lowered levels of IgG subclasses and effects of immunoglobulin prophylaxis. *Monogr Allergy* 1986; 20: 157-163.
- Dernevik L, Björkander J, Hanson LÅ, Larson S, Söderström T, William-Olsson G: Immunological abnormalities in shrinking pleuritis with atelectasis. *Eur J Respir Dis* 1985; 66: 128-134.
- Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology: Recommended methods for the determination of four enzymes in blood. *Scand J Clin Lab Invest* 1974; 33: 291-306.
- Kessler G, Rush RL, Leon L, Delea A, Cupiola R: Automated 340 nm measurement of SGOT, SGPT and LDH. In: Thurman T, ed. *Advances in automated analyses*, vol 1. Miami, Florida: Technicon International Congress 1970. 1971; 67-74.
- Schwartz MK, Bethune VG, Sleisher M, Pennaccio G, Mendez-Botet G, Lehman D: Chemical and clinical evaluation of the continuous flow analyzer: SMAC. *Clin Chem* 1974; 20: 1062-1070.
- Iwarson S, Wejstål R, Ruttmann E, et al: Non-A, non-B hepatitis associated with the administration of intravenous immunoglobulin—transmission studies in chimpanzees. *Serodiagnostics and Immunotherapy* 1987; 1: 261-266.
- Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH, Alter HJ, Holland PV: Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. *N Engl J Med* 1976; 292: 767-770.
- Good RA, Page AR: Fatal complications of viral hepatitis in two patients with agammaglobulinemia. *Am J Med* 1960; 29: 804-810.
- Tong MJ, Nies KM, Redekes AG: Rapid progression of chronic active hepatitis in a patient with hypogammaglobulinemia. *Gastroenterology* 1977; 73: 1418-1421.
- Wray BB, Faguet GB, Middleton HM III, Hela S, Plaxico DT: Congenital X-linked hypogammaglobulinemia and asymptomatic B antigen carrier state. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 76: 507-510.
- Lane RS: Important parameters in plasma fractionation. *Vox Sang* 1986; 51(suppl 1): 49-51.
- Cunningham-Rundles S, Cunningham-Rundles C, Siegal FP, et al: Defective cellular response in vitro in common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol* 1981; 1: 65-72.
- Karlsson G, Hansson H-A, Petrusson B, Björkander J, Hanson LÅ: Goblet cell number in the nasal mucosa relates to cell mediated immunity in patients with antibody deficiency syndromes. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1985; 78: 86-91.
- Björkander J, Cunningham-Rundles C, Lundin P, Olsson R, Söderström R, Hanson LÅ: Intravenous immunoglobulin prophylaxis and non-A, non-B hepatitis in antibody deficient patients. In: Vossen J, Griscelli C, eds. *Progress in immunodeficiency research and therapy II*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1986; 177-182.
- Hoofnagle JH, Mullen KD, Jones DB, et al: Treatment of chronic non-A, non-B hepatitis with recombinant human alpha interferon. *N Engl J Med* 1986; 315: 1575-1578.

Immunoglobulin Transmits Hepatitis C. True or False?

To the Editor:

In their interesting review, Heintges and Wands¹ wrote: "... HCV-RNA was detectable in more than one-half of the intramuscular preparations of immunoglobulins. Thus, patients with immunoglobulin deficiency and who received such prophylactic antibody preparations frequently developed chronic HCV infection."

However, Heintges and Wands cited a study by Bjørø et al.,² who reported that patients with primary hypogammaglobulinemia who received intramuscular immunoglobulins for long periods of time never acquired hepatitis C virus (HCV) infection. Only a group of patients who received a batch of intravenous immunoglobulin contaminated with non A, non B hepatitis virus acquired the infection.

Clearly, there is a need to clarify the topic of immunoglobulin administration and HCV transmission also in view of the medical, scientific, and legal aspects.

IMMUNOGLOBULIN PREPARATIONS

Standard or "polyvalent" immunoglobulin is prepared from blood pooled from at least 1,000 donors. Immunoglobulin preparations contain a wide range of antibodies resulting from infections widely spread in the population or from vaccinations. Hyperimmune globulin is prepared from the blood of a smaller number of donors appropriately vaccinated or convalescent from a given disease; hence hyperimmune globulin contains the same range of antibodies as standard immunoglobulin, but one antibody is much more concentrated than the others (at least 5-fold). After injection, the antibodies are present in the bloodstream and in interstitial fluids where they bind specifically to the various infectious agents (antigens) to form immune complexes that then are eliminated via the reticular-endothelium cell system. Antibodies do not enter the cells, and they have a half-life of 21 to 25 days. Thus, their protective effect can last 2 to 3 months.

Since 1971, hepatitis B surface antigen-positive blood units have not been included in immunoglobulin starting material. Since 1985 and 1992, also anti-human immunodeficiency virus-1- and anti-human immunodeficiency virus-2-positive units, respectively, have been discarded. In the early 1990s, most developed countries forbade the use of anti-HCV-positive blood for immunoglobulin products (e.g., 1990 in France, 1991 in the United States, and 1993 in Italy).

INTRAMUSCULAR IMMUNOGLOBULIN

Intramuscular immunoglobulin preparations are prepared according to the Cohn fractionation process, which separates the fraction containing antibodies that neutralize various infectious agents. The resulting preparations are highly concentrated (16% in solution and containing 160 mg of protein/mL). Other manufacturing procedures do not ensure the same safety.³

Over the last 50 years, many millions of individuals worldwide have received intramuscular immunoglobulin without contracting infections. Intramuscular immunoglobulin prepared according to the Cohn process has been proclaimed safe by the Centers for Disease Control^{4,5} and by the World Health Organization.⁶

Recently, concern was aroused when 50% of batches of unscreened intramuscular immunoglobulin, both standard⁷ and hyperimmune,^{7,8} tested positive for HCV-RNA. This led to the suggestion that patients with chronic hepatitis C infection could have been infected by a previous inoculation of intramuscular immunoglobulin. We were able to provide the first direct evidence that HCV infection is not transmitted by intramuscular immunoglobulin containing HCV-RNA. In fact, in a randomized controlled trial 450 at-risk sexual partners (mean age: 43.8 years) of HCV-infected individuals received 4 mL of unscreened intramuscular immunoglobulin every 2 months for a mean of 13.5 months. A total of 3,260 doses of immunoglobulin were administered, about 50% of which were HCV-RNA positive, and none of the immunoglobulin recipients monitored at 4-month intervals became HCV infected.^{9,10}

Similarly, in an uncontrolled trial that started at the end of 1989,¹¹ we treated 78 at-risk sexual partners (mean age: 29 years) of HCV-infected subjects for about 6 years according to the same protocol.⁹ The partners received unscreened intramuscular immunoglobulin (about 50% were HCV-RNA positive) until March 1993, when testing of blood units for anti-HCV became mandatory in Italy. Thenceforth, the sexual partners received screened immunoglobulin preparations. The study was stopped in July 1995, when it was first demonstrated that the "new" screened commercial intramuscular immunoglobulin lacked anti-gpE1/E2 neutralizing antibodies, whereas the "old" unscreened commercial intramuscular immunoglobulin contained high titers of these antibodies.^{9,12} No sexual partner of this study became HCV-RNA positive.

The safety of HCV-RNA-positive intramuscular immunoglobulin preparations can be attributed to several factors: (1) partitioning of viruses away from immunoglobulin, (2) inactivation of viruses by the fractionation process, and (3) a high concentration of neutralizing antibodies.^{7,9,12}

Since 1995, it has been recommended to perform HCV-RNA testing on the final product^{13,14} or on the starting plasma pools¹⁵ with respect to intramuscular immunoglobulins that have not undergone any HCV inactivation process following Cohn fractionation process.

INTRAVENOUS IMMUNOGLOBULIN

Intravenous immunoglobulin is 5% solution of normal or specific immunoglobulin (the concentration of the latter can be even higher) that undergoes an additional preparation process to be administered by the intravenous route.

Although intramuscular immunoglobulin has never been associated with HCV transmission, from 1983 to 1994 at least 8 outbreaks of non A, non B/HCV infections occurred, 7 outside the United States and 1 inside the United States, in subjects who received intravenous immunoglobulin. During each outbreak, the number of HCV-infected patients varied from 1 to 28.¹⁶ In 1994 an outbreak of HCV infection was associated with intravenous immunoglobulin (Gammagard) produced by Baxter Healthcare Corporation (BHC), Deerfield, IL.¹³ The first cases occurred in the United Kingdom, Spain, and Sweden. Successively, 110 cases were reported in the United States.¹⁷ It is noteworthy that, at that time, Gammagard was produced without any of the additional HCV-

inactivation processes that later came into use.^{13,18} To explain this outbreak, it was suggested that, after the introduction of blood screening for anti-HCV and consequently the exclusion of anti-HCV-positive blood units, the starting blood pool could have contained blood from donors in an early stage of disease, i.e., before the patients became anti-HCV positive. It was also speculated that a hypothetical neutralizing antibody could have been removed with the anti-HCV-positive blood units.^{19,20}

In this context, it is interesting to recall a recent study in which plasma containing infectious HCV incubated with experimental intravenous immunoglobulin prepared from about 200 anti-HCV-positive blood donors did not cause infection in the chimpanzee, whereas the same infectious plasma incubated with commercial intravenous immunoglobulin prepared from over 1,000 anti-HCV-negative donors caused infection in the animal.²¹ These results are consistent with the presence of neutralizing antibodies in the intravenous immunoglobulin from anti-HCV-positive blood and their absence from intravenous immunoglobulin from anti-HCV-negative blood.

Since 1994, most intravenous immunoglobulin products—in addition to the Cohn method—undergo stringent procedures to inactivate HCV and other infectious agents.^{18,22}

Although many millions of grams of intravenous immunoglobulin are used each year, and their use is continuously increasing, no cases of HCV infection have been reported in treated subjects after the advent of new viral-inactivation procedures.¹⁴

There are several possibilities to explain why pre-1994 intravenous immunoglobulin resulted in some cases of HCV infection, whereas intramuscular immunoglobulin did not. (1) Intramuscular immunoglobulin is more concentrated than intravenous immunoglobulin, so that immune complexes form more easily in the former; when these complexes enter the bloodstream they are eliminated by the reticuloendothelium cells system. (2) Intramuscular immunoglobulin is adsorbed more slowly; in fact, the highest antibody titer in the blood is reached about 48 hours after injection. (3) A higher amount of immunoglobulin is injected intravenously than intramuscularly. (4) Although both types of immunoglobulin were produced with the Cohn method, the subsequent production steps differ.

In conclusion, (1) intramuscular immunoglobulin has never transmitted HCV infection; and (2) some intravenous immunoglobulin products used before 1994 caused a few cases of HCV infection, whereas intravenous immunoglobulin prepared after 1994 is totally safe.

MARCELLO PIAZZA, M.D.
Istituto di Malattie Infettive
Secondo Policlinico
Università "Federico II" Napoli
Napoli, Italy

REFERENCES

- Heintges T, Wands JR. Hepatitis C virus: epidemiology and transmission. *HEPATOLOGY* 1997;28:521-526.
- Bjoro K, Froland SS, Yun Z, Samdal HH, Haaland T. Hepatitis C infection in patients with primary hypogammaglobulinemia after treatment with contaminated immune globulin. *N Engl J Med* 1994;331:1607-1611.
- Foster PR, McIntosh RV, Welch AC. Hepatitis C infection from anti-D immunoglobulin. *Lancet* 1995;346:372-375.
- Centers for Disease Control. Recommendations of the Immunization Practices Advisory Committee (ACIP): Recommendations for protection against viral hepatitis. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1985;34:313-335.
- Centers for Disease Control. Prevention of hepatitis A through active or passive immunization: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1996;45:1-30.
- World Health Organization. Public health control of hepatitis A: memorandum from a WHO meeting. *WHO Bulletin* 1995;73:15-20.
- Yu MYW, Mason BL, Tankersley DL. Detection and characterization of hepatitis C virus RNA in immune globulins. *Transfusion* 1994;34:596-602.
- Pisani T, Cristiano K, Wirz M, Pini C, Gentili G. Hepatitis C viral RNA in tetanus intramuscular immune globulin. *Transfusion* 1997;37:986-987.
- Piazza M, Saggiocca L, Tosone G, Guadagnino V, Stazi MA, Orlando R, Borgia G, et al. Sexual transmission of the hepatitis C virus and efficacy of prophylaxis with intramuscular immune serum globulin: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med* 1997;157:1537-1544.
- Piazza M, Saggiocca L, Tosone G, Orlando R, Borgia G, Pelumbo F, Guadagnino V, et al. More evidence on safety of intramuscular immune serum globulin produced from plasma unscreened for anti-hepatitis C virus antibodies. *Arch Intern Med* 1998;158:807-808.
- Piazza M. Periodic gammaglobulin to prevent hepatitis C in at-risk sexual partners. *Lancet* 1990;336:823-824.
- Piazza M, Chlen D, Quan S, Houghton M. Lack of antibodies to the envelope glycoproteins of hepatitis C virus in immunoglobulin preparations from screened donors. *J Biol Res Boll Soc It Biol Sper* 1996;72:69-70.
- Bresee JS, Mast EE, Coleman PJ, Baron MJ, Schonberger LB, Alter MJ, Jonas MM, et al. Hepatitis C virus infection associated with administration of intravenous immune globulin. A cohort study. *JAMA* 1996;276:1563-1567.
- Bresee JS, Mast EE, Yu MW, Schneider LC, Alter MJ. Hepatitis C virus and intravenous immune globulin. *JAMA* 1997;277:627-628.
- Committee for Proprietary Medicinal Products. Intramuscular immunoglobulins: nucleic acid amplification tests for HCV-RNA detection. *CPMP* 117/95.
- Healey CJ, Sabharwal NK, Daub J, Davidson R, Yap PL, Fleming KA, Chapman RWG, et al. Outbreak of acute hepatitis C following the use of anti-hepatitis C virus—screened intravenous immunoglobulin therapy. *Gastroenterology* 1996;110:1120-1126.
- Meeks EL, Beach MJ. Outbreak of hepatitis C associated with intravenous immunoglobulin administration—United States, October 1993–June 1994. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1994;43:505-509.
- Schiff RL. Transmission of viral infections through intravenous immune globulin. *N Engl J Med* 1994;331:1649-1650.
- James RC, Mosley JW. Hepatitis C virus transmission by intravenous immunoglobulin. *Lancet* 1995;346:374-375.
- Koretz RL. Less than an ounce of prevention. *Gastroenterology* 1998;115:234-236.
- Yu MW, Guo ZP, Mason BL, Feinstone SM, Renzi PM, Jong JS. Presence of protective antibodies in an experimental intravenous immune globulin prepared from anti-HCV positive donor units. *Proceedings of 5th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses*. Venice, June 25-28 1998; Abs n°H13 (p 223).
- Yap PL. The viral safety of intravenous immune globulin. *Clin Exp Immunol* 1996;104(Suppl 1):35-42.

Neutralizing antibodies to hepatitis C virus (HCV) in immune globulins derived from anti-HCV-positive plasma

Mei-ying W. Yu^{*†}, Birke Bartosch^{*}, Pei Zhang^{*}, Zheng-ping Guo^{*}, Paula M. Renzi^{*}, Li-ming Shen^{*}, Christelle Granier[‡], Stephen M. Feinstone[§], François-Louis Cosset[‡], and Robert H. Purcell^{†¶}

Divisions of ^{*}Hematology and [§]Viral Products, Center for Biologics Evaluation and Research, Food and Drug Administration, 29 Lincoln Drive, Bethesda, MD 20892; [†]Laboratoire de Virologie Rétrovirale et Thérapie Génique, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale U412, IFR 128, Ecole Normale Supérieure de Lyon, 69364 Lyon Cedex 07, France; and [‡]Laboratory of Infectious Diseases, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, 50 South Drive MSC 8009, Bethesda, MD 20892-8009

Contributed by Robert H. Purcell, April 12, 2004

The role of humoral immunity in hepatitis C virus (HCV) infections is uncertain. Nevertheless, there is increasing evidence for neutralizing antibodies to HCV in the serum or plasma of chronically infected individuals. Immune globulins prepared by ethanol fractionation of plasma had long been considered safe until a commercial immune globulin product, Gammagard, prepared from plasma from which units containing anti-HCV had been excluded, transmitted HCV to recipients. Studies suggested that the exclusion might have removed neutralizing antibodies from the plasma and hence compromised the safety of the resulting immune globulins. In the present study, by using chimpanzees and a recently validated *in vitro* system based on neutralization of infectious HCV pseudoparticles, we found broadly reactive neutralizing and protective antibodies in experimental immune globulin preparations made from anti-HCV-positive donations. Neutralizing antibodies were also found in Gammagard lots made from unscreened plasma that did not transmit hepatitis C but not in Gammagard lots, which were prepared from anti-HCV-screened plasma, that did transmit hepatitis C. The results provide an explanation for the mechanism by which the safety of this product was compromised. Immune globulins made from anti-HCV-positive plasma and containing broadly reactive neutralizing antibodies may provide a method of preventing HCV infection.

Hepatitis C virus (HCV) is an enveloped virus containing a single-stranded, positive-sense RNA. It infects up to 170 million people worldwide. Although acute HCV infections are generally asymptomatic, the rate of persistence is remarkably high (80%), leading to chronic liver disease, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma in some patients.

The role of the humoral immune response in preventing and/or controlling HCV infection has not been well defined, which may be due chiefly to the lack of a reliable cell culture system useful for *in vitro* neutralization assays, the genetically heterogeneous nature of HCV, and the limited resources for studying HCV infection in chimpanzees, the only species susceptible to HCV infection other than man. In addition, it is a general perception that humoral immunity is largely ineffective in resolving HCV infection or preventing reinfection, perhaps because of emergence of neutralization-resistant variants (1, 2) and/or the "masking" of HCV by serum lipoproteins (3).

Previously, Shimizu *et al.* (2, 4) and Farci *et al.* (1, 5) identified neutralizing antibodies (Nt Abs) to HCV by their ability to prevent replication of the virus in a lymphoid cell line and to prevent hepatitis C in chimpanzees, respectively. By using a recently established *in vitro* neutralization assay system based on the neutralization of infectious retroviral pseudoparticles bearing HCV envelope glycoproteins, Bartosch *et al.* (6) were able to confirm the existence of Nt Abs shown previously in both systems. Relatively high titers of Nt Abs were present in plasma or serum from chimpanzees and humans who were chronically infected with HCV (7).

Several lines of evidence also suggest the presence of Nt Abs in immune globulins. U.S.-licensed immune globulin products were historically considered safe with respect to hepatitis transmission until the "Gammagard incident," which began in late 1993 (8–12): one commercial i.v. immune globulin (IGIV) product prepared from pooled plasma from which anti-HCV-positive plasma donations were excluded transmitted HCV to recipients. Epidemiologic and laboratory studies suggested that such screening might have removed complexing and/or Nt Abs from plasma and hence compromised the safety of the immune globulins (9, 11–16).

In this study, we correlated the presence of Nt Abs in several experimental IGIV preparations (HCIGIV) made solely from anti-HCV-positive plasma donations with their ability to prevent HCV infection in chimpanzees. Preliminary data indicating that an experimental HCIGIV product could neutralize a low-dose HCV inoculum administered to a chimpanzee were reported (17). In addition, we measured Nt Abs in commercial Gammagard lots manufactured before or after the screening of plasma for anti-HCV was instituted. We demonstrated the presence of high-titer and broadly reactive Nt Abs to HCV in a pool of anti-HCV-positive plasma donations in three HCIGIV preparations made from anti-HCV-positive pools and in Gammagard lots prepared from unscreened plasma. In contrast, we did not find Nt Abs to HCV in a plasma pool from which anti-HCV-positive plasma donations had been excluded, in immune globulins prepared from such plasma pools, or in lots of Gammagard prepared from screened plasma. Thus, our data indicate that anti-HCV contributes to the historic safety of immune globulins and that anti-HCV screening of donors removes Nt Abs from plasma and could therefore compromise the safety of immune globulins unless their manufacturing procedures include one or more viral inactivation steps.

Materials and Methods

Anti-HCV Testing. Antibodies to HCV core and nonstructural proteins (anti-HCV) in immune globulins and chimpanzee sera were determined by a second-generation enzyme immunoassay (EIA)-2 or a third-generation EIA-3 kit (both from Ortho Diagnostics) according to the manufacturer's instructions. Immune globulin preparations were serially 2-fold-diluted with a specimen diluent provided, and the reported titer represented the highest dilution that gave a reading above the cutoff value specified for the kit. The presence of anti-HCV in immune globulins was confirmed by a second-generation strip recombinant immunoblot assay (RIBA-II).

Abbreviations: HCV, hepatitis C virus; Nt Abs, neutralizing antibodies; IGIV, intravenous immune globulin; HCIGIV, experimental IGIV made from anti-HCV-positive plasma; CID, chimpanzee infectious dose; CID₅₀, CID at 50%; EIA, enzyme immunoassay; ALT, alanine aminotransferase.

[†]To whom correspondence may be addressed. E-mail: rpurcell@niaid.nih.gov or yu@cber.fda.gov

© 2004 by The National Academy of Sciences of the USA

MEDICAL SCIENCES

PNAS

Table 1. Samples tested under code

Code	Sample	Anti-HCV plasma screening	Anti-HCV RIBA II	Anti-E1*	Anti-E2*	HCV RNA	Virus inactivation	IgG, %
1	Control IGIV	EIA-2 neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Yes	5
2	HCIGIV	EIA-2 pos	Pos	Pos	Pos	Neg	Yes	5
3	HCIGIV	EIA-1 pos	Pos	Pos	Pos	Pos	No	5
4	HCIGIV	EIA-1 pos	Pos	ND	ND	Neg	Yes	5
5	Human albumin	EIA-2 neg	N/A	N/A	N/A	Neg	Yes	(5% prot)
6	Plasma pool	EIA-1 pos	Pos	Pos	Pos	Pos	No	1*
7	Plasma pool	EIA-2 neg	Neg	Neg	Neg	Neg	No	1*
8	Gammagard	EIA-2 neg	Neg	Neg	Neg	Neg	No	10
9	Gammagard	EIA-2 neg	Neg	Neg	Neg	Pos	No	10
10	Gammagard	EIA-2 neg	Neg	Neg	Neg	Pos	No	10
11	Gammagard	EIA-2 neg	Neg	Neg	Neg	Pos	No	10
12	Gammagard	EIA-2 neg	Neg	Neg	Neg	Pos	No	10
13	Gammagard	Unscreened	Pos	Pos	Pos	Neg	No	10
14	Gammagard	Unscreened	Pos	Pos	Pos	Neg	No	10
15	Gammagard	Unscreened	Pos	ND	ND	Neg	No	10
16	Gammagard	Unscreened	Pos	ND	ND	Neg	No	10
17	IGIV	EIA-3 neg	ND	ND	ND	Neg	Yes	10
18	Gammagard	Unscreened	Pos	ND	ND	Neg	No	10
19	Gammagard	Unscreened	Pos	ND	ND	Neg	No	10

pos, positive; neg, negative; ND, not determined; N/A, not applicable.

*In-house EIA procedures for anti-E1 and anti-E2 (see *Materials and Methods* for details).

*Assumed value.

Chiron). Determination of antibodies to HCV envelope glycoprotein E1 and E2 has been described (14). Briefly, the antibodies were determined by in-house EIA methods by using partially purified fusion proteins expressed in baculovirus. Immune globulins were first diluted to a 5% IgG solution and then diluted with PBS, pH 7.4, containing 0.05% Tween 20 before being incubated in wells coated with either the expressed E1 (7.2 µg/ml) or expressed E2 antigen (38 µg/ml) at 4°C overnight. Subsequently, standard EIA procedures were followed. The absorbance at 490 nm was measured, and cutoff values for anti-E1 and anti-E2 were set at 0.5 and 0.6, respectively.

Immune Globulins and Plasma Pools. Nineteen coded samples were tested in this study (Table 1). The code was not broken until after testing was completed. Samples 1, 2, and 5 were previously described in a preliminary report (17). Briefly, sample 1 was a commercial 5% IGIV solution (Venoglobulin-S, Alpha Therapeutic, Los Angeles) prepared from >43,000 plasma donations screened for anti-HCV (EIA-2) and virally inactivated by a solvent-detergent treatment (18). Sample 1 had no detectable antibodies to HCV, including antibodies to envelope glycoproteins E1 and E2, and, hence, was used as a control IGIV. Sample 2 (HCIGIV) was an experimental 5% IGIV that had been solvent-detergent treated (kindly provided by Nabi Biopharmaceuticals, Boca Raton, FL). Sample 2 was made from pooled plasma of 198 anti-HCV (EIA-2)-positive donors who otherwise met the requirements for normal plasma donor, i.e., negative for both anti-HIV and hepatitis B surface antigen and without elevated levels of alanine aminotransferase (ALT). This HCIGIV contained the highest levels of anti-E1 and anti-E2 among all experimental and commercial IGIVs examined (14) and had an anti-HCV (EIA-3) titer of 1:2048. Sample 5 (albumin) was derived from commercial 25% albumin (human) that had been virally inactivated by heating at 60°C for 10–11 h and was diluted to 5% with PBS before its use as a control. Sample 3 (HCIGIV), a 5% IgG solution prepared by the Food and Drug Administration from 4 liters of pooled plasma from 186 anti-HCV (EIA-1)-positive plasma donations as described (19), was not virally inactivated and contained HCV RNA. This HCIGIV also had high levels of anti-E1 and anti-E2 (14). Sample 4 (HCIGIV), also prepared by the Food and Drug Administration, was similar to sample 3, except that the former was prepared from portions of 23

plasma donations selected from among the 186 donations for sample 3, was virally inactivated at low pH, and was used previously in a chimpanzee study by Krawczynski *et al.* (20). In that study, a chimpanzee was inoculated with 30 chimpanzee infectious doses (CID) of HCV, strain HCV-1 (closely related to the strain H77 used herein), and infused with the HCIGIV 1 h later.

Sample 6 was a plasma pool consisting of the 186 donations (19) that formed the starting pool for the HCIGIV designated sample 3. Sample 7 was a plasma pool from anti-HCV (EIA-2)-screened donors provided by a manufacturer. Samples 8–12, i.e., Gammagard lots implicated in transmission of HCV to recipients, were made solely from anti-HCV (EIA-2)-screened plasma donations in 1993, whereas samples 13–16 and 18–19 were different Gammagard lots from plasma unscreened for anti-HCV and manufactured between 1988 and 1990. Sample 17 was a current, virally inactivated IGIV product made by another manufacturer from anti-HCV (EIA-3)-negative plasma donations. Many of the lots of IGIV and the human albumin were from product lots submitted by manufacturers for release by the Food and Drug Administration. Lyophilized Gammagard lots were reconstituted to 10% IgG solutions with PBS before use.

HCV Inoculum, Chimpanzee Inoculation, and Monitoring. An inoculum diluted to contain ≈64 CID₅₀ (50% chimpanzee infectious doses) of HCV was prepared from the acute phase plasma of patient H as described (1, 5). By limiting dilution, the inoculum was found to contain 630 copies of HCV RNA per milliliter based on our sample extraction and subsequent RT-PCR procedures. This ratio of infectious doses to genome equivalents was similar to that found for the H strain inoculum described (ref. 21 and unpublished data). One-milliliter portions of the inoculum were incubated with 50 ml of the test substance overnight at 4°C before administering to chimpanzees. Sample 3, HCIGIV that had not been virally inactivated, was infused into a chimpanzee at a dose of 1.0 g of IgG per kg of body weight, divided into two daily doses. Serum samples were obtained weekly from the chimpanzees and tested for anti-HCV by EIA-2 or EIA-3. Serum ALT levels were measured weekly by standard methods (Antech Diagnostics, Baltimore, MD). ALT was considered elevated when it reached levels twice the upper limit of normal. Sera were also tested weekly for HCV RNA. The housing,

maintenance, and care of the chimpanzees met or exceeded all relevant guidelines and requirements.

Detection and Quantitation of HCV RNA by RT-PCR. Procedures were performed as described previously with some modifications (11, 15). To detect low levels of HCV RNA in some immune globulin samples, 4-ml aliquots were used for RNA extraction. For plasma pools, chimpanzee sera, and HCV inocula, sample aliquots ranging from 0.05 to 0.2 ml were used. The extracted RNA was dissolved in 100 μ l, and 25- μ l serially diluted (0.5 or 1 log) aliquots were assayed by RT-PCR in a total reaction mixture of 50 μ l that contained 5 units of rTth DNA polymerase, 1 \times EZ buffer, 2.5 mM Mn(OAc)₂, 300 mM each of the 4 deoxyribonucleotides, and 0.4 mM each of the outer primer pair [nucleotides 39–59, 5'-ACTCCCCTGTGAGGAAGTACT and nucleotides 329–310, 5'-ACGAGACCTCCGGGGCACT]. All RT-PCR reagents were from Applied Biosystems except the primers, which were prepared by GIBCO/BRL. The RT reaction was carried out for 30 min at 60°C followed by heating for 1 min at 94°C to denature the RNA:DNA hybrid. The first PCR step was performed in the same tube for 30 cycles, each cycle consisting of 15 s at 94°C and 30 s at 60°C, followed by one cycle of 7 min at 60°C. The second PCR step was performed by adding 5- μ l aliquots of the first PCR product to the same ingredients and incubating them under the same conditions as described for the first PCR step but with the inner primer pair (nucleotides 57–76, 5'-ACTGTCTTCACGCAGAAAGC, and nucleotides 312–293, 5'-ACTCGCAAGCACCTATCAG). The amount of HCV RNA, expressed as copies per ml, was determined by limiting dilution analysis as described (13). In the RT-PCR assays, two to four copies of HCV RNA were equivalent to 1 international unit when compared to the established international standard for HCV RNA (22).

Production and Neutralization of Pseudoparticles. Pseudoparticles were generated as described (6). Briefly, 293T cells were transfected with expression vectors encoding HCV envelope glycoproteins, a retroviral core/packaging component, and the GFP gene with integration signal. Expression plasmids encoding both E1 and E2 glycoproteins of either HCV genotype 1a strain H77 or genotype 2a were used. The medium was replaced 16 h after transfection. Supernatants containing the pseudoparticles were harvested 24 h later, filtered through 0.45- μ m-pore membranes, and used to infect Huh-7 cells that had been seeded the day before at a density of 8×10^4 cells per well in 12-well plates. Coded samples were diluted and tested for neutralization of HCV pseudoparticles of both genotypes by preincubating the mixture at room temperature for 1 h before adding it to the target cells. After 3 h, the supernatants were removed and the cells were incubated in regular medium for 96 h at 37°C. Input pseudoparticles infected 2–4% of the cells in the absence of antibody. The infectivity of pseudoparticles exposed to sera from two healthy seronegative human donors from France was standardized to 100% for comparison with the two plasma pool samples (samples 6 and 7), whereas that exposed to albumin (sample 5) was used as a negative control for all immune globulin samples. All dilutions of test samples were compared with the same dilutions of these negative control samples. A diminished number of infected cells that was $\leq 50\%$ of the negative controls was considered to be evidence of significant neutralization. The positive control sample was from a French patient (Vu) who was chronically infected with HCV, genotype 1b. Control neutralization experiments were also performed with an irrelevant target by using pseudoparticles bearing glycoproteins derived from the feline endogenous retrovirus RD114 as described because antibodies to this virus are not found in human sera (6).

Results

Prevention of HCV Infection in Chimpanzees by Experimental IGIV Preparations Made from Anti-HCV-Positive Plasma. To investigate whether withholding anti-HCV-positive plasma units from a

plasma pool and, hence, the resulting IGIV product, depleted Nt Abs, we assessed the capabilities of two IGIV preparations to neutralize 64 CID₅₀ of HCV, strain H77. One IGIV was an experimental globulin preparation (HCIGIV) made solely from plasma of anti-HCV-positive donors. The preparation had high levels of both anti-E1 and anti-E2 (14). The other was a commercial globulin preparation made from anti-HCV (EIA-2)-negative plasma donations; it was devoid of detectable anti-E1 and anti-E2 (14). To confirm the viability of the inoculum, a 5% human albumin solution was used as a control. All three preparations had been virally inactivated, and each was incubated with the inoculum as described above before infusing the globulin–virus (or albumin–virus) mixtures i.v. into individual chimpanzees.

The control chimpanzee, CH 1560, infused with an incubation mixture of the inoculum and a 5% human albumin solution (sample 5), was infected and HCV RNA was detected in the serum within one week (Fig. 1A, which is published as supporting information on the PNAS web site). The other control chimpanzee, CH 1587, which was infused with a mixture of the same inoculum and the control IGIV (sample 1), was similarly infected (Fig. 1B). Both CH 1560 and CH 1587 had serum ALT elevations, and both seroconverted (EIA-3) at weeks 9 and 11, respectively. In contrast, the HCIGIV (sample 2) neutralized the HCV inoculum: CH 1588 exhibited neither elevated ALT nor detectable HCV RNA over a period of 58 weeks (Fig. 1C). Passively acquired anti-HCV (EIA-3) from the HCIGIV was present in CH 1588 from week 1 through week 22.

To determine whether CH 1588 had remained fully susceptible to infection with HCV, it was challenged at week 59, after all passively acquired anti-HCV had disappeared, with 1 ml of the same inoculum containing 64 CID₅₀ of HCV. As expected, HCV RNA was detected within 1 week after challenge, and serum ALT levels became elevated 11 weeks after challenge, thereby demonstrating susceptibility of the chimpanzee to HCV infection. Interestingly, anti-HCV (EIA-3) was again found 1 week after challenge, at week 60. Given that the challenge inoculum did not have anti-HCV, such a rapid appearance of HCV antibodies in the chimpanzee suggests priming of the immune system by HCV-specific antigens associated with the first challenge, as described (23). Our data strongly suggest that the HCIGIV designated sample 2, prepared from anti-HCV-positive donor units, contained specific Nt Abs to HCV.

To determine whether the presence of anti-HCV correlated with the apparent safety of immune globulins (which often contained HCV RNA) (13), we infused CH 1430 with sample 3, which contained not only high levels of anti-HCV, including both anti-E1 and anti-E2 (14), but also HCV RNA (Fig. 1D). Furthermore, this HCIGIV had not been subjected to viral inactivation. The chimpanzee was infused intravenously with 20 g of sample 3 and hence received a total of 3×10^4 copies of HCV RNA. After the infusion, the chimpanzee had neither elevated ALT nor detectable HCV RNA in serum samples examined weekly for a period of 50 weeks. Passively acquired anti-HCV was detected until week 17. The chimpanzee was proven to be fully susceptible to HCV by subsequently rechallenging it with 1 ml of plasma from patient H, diluted to contain $10^{3.5}$ CID₅₀ of HCV, strain H-77, at week 51. The chimpanzee became infected and developed ALT elevation at week 56 and anti-HCV at week 60. Thus, the lack of infectivity for HCV of an immune globulin positive both for anti-HCV and for HCV RNA suggested that the antibody in the globulin neutralized the large dose of potentially infectious virus that was also present.

As noted, the two chimpanzees that were protected from HCV infection by HCIGIV were rechallenged to ascertain their susceptibility to infection. Both animals not only became infected with HCV but also developed hepatitis. Although reinfection of previously infected chimpanzees with HCV is widely recognized, such infections seldom result in hepatitis (24). Thus, the demonstration of hepatitis in these two rechallenged chimpanzees is strong evidence that they were not infected previously.

Table 2. Comparison of neutralizing activities detected in chimpanzee and pseudoparticle assays

Coded sample	Composition	Anti-HCV status of plasma	Chimpanzee 1a*	Pseudoparticle†	
				1a	2a
5	Albumin.	Neg	Not protected	<1:20	<1:20
1	Control IGIV	Neg	Not protected	<1:20	<1:20
2	HCIGIV	Pos	Protected	≥1:320	1:160
3	HCIGIV	Pos	Protected	≥1:320	≥1:320
4	HCIGIV	Pos	Modified infection‡	≥1:320	1:80

*Genotype of HCV inoculum.

†Highest dilution that neutralized indicated genotype of pseudoparticle. Some values are extrapolated, based on values of consecutive 4-fold dilutions.

‡Postexposure passive immunoprophylaxis: prolonged incubation period relative to negative control globulin (see text).

In Vitro Assay for Nt Abs to HCV in Selected Immune Globulins and Plasma Pools. We measured the Nt Abs of those preparations tested in chimpanzees along with the other selected IGIV lots and plasma pools listed in Table 1 by using the recently established *in vitro* neutralization assay (7), based on neutralization of infectious HCV pseudoparticles. The coded samples were diluted 1:20, 1:80, and 1:320 and tested against pseudoparticles bearing HCV envelope glycoproteins of genotype 1a or 2a. The Nt Ab titer of the globulin samples was calculated as described in *Materials and Methods*.

All immune globulins prepared from known or presumed anti-HCV-positive plasma donations (coded samples 2–4, 13–16, and 18–19) and sample 6 (plasma pool for globulin sample 3) neutralized the pseudoparticles of HCV genotype 1a, i.e., exhibited ≥50% reduction in percent of GFP-positive cells. (Tables 2 and 3 and Fig. 2A, which is published as supporting information on the PNAS web site). The titers of Nt Abs in all these samples were very high, ≥1:320, when assayed with HCV genotype 1a pseudoparticles. To estimate the breadth of neutralization against different genotypes, the samples were also tested against pseudoparticles of genotype 2a, the genotype most divergent from genotype 1a. All three HCIGIV preparations (samples 2–4, Table 2) and sample 6 (anti-HCV-positive plasma pool, Fig. 2B) also exhibited significant but less potent neutralization than that against genotype 1a pseudoparticles. Samples 13–16 and 18–19, Gammagard lots manufactured from unscreened plasma, were more variable in their ability to neutralize the genotype 2a pseudoparticles; only samples 16 and 19 were positive for such Nt Abs and only at a dilution of 1:20. However, all diminished the titer of pseudoparticles when compared with the control, but with the two exceptions, by <50% (Table 3 and Fig. 2B). The EIA-2-screened plasma pool (coded sample 7) and immune globulins prepared from anti-HCV-screened plasma

(coded samples 1, 8–12, and 17) did not demonstrate neutralization against HCV pseudoparticles of either genotype (Tables 2 and 3 and Fig. 2). Neutralization observed with the plasma pool and the various globulins prepared from unscreened plasma was specific because none of the samples neutralized the pseudoparticles with an irrelevant envelope glycoprotein derived from the feline endogenous virus RD 114 (data not shown).

Comparison of Neutralizing Activities Detected with Chimpanzees and Pseudoparticles. As seen in Table 2, neutralizing activity detected with pseudoparticles bearing HCV glycoproteins of genotype 1a agreed well with that observed with chimpanzees (Fig. 1). The results thus provided a possible explanation for the lack of infectivity as shown in a chimpanzee infused with sample 3, the HCIGIV that was positive for both HCV RNA and anti-HCV. Sample 4, which was prepared from a subset of plasma donations used to prepare sample 3, also contained a high titer of Nt Ab. This preparation, administered to a chimpanzee after exposure to HCV, had been shown previously to prolong the incubation period to hepatitis (120 days versus 30 days) but not to viremia (20).

Correlation Between the Number of Reported Human Cases of Hepatitis C Associated with Gammagard Lots and Titers of Nt Abs. We assessed the presence of Nt Abs in Gammagard lots prepared before and after anti-HCV screening of plasma. As shown in Table 3, none of the five tested Gammagard lots prepared from screened plasma had detectable Nt Abs, and four of the lots were associated with reported hepatitis cases (the fifth did not contain detectable HCV RNA). In contrast, all six Gammagard lots made from unscreened plasma had Nt Ab titers of ≥1:320 against pseudopar-

Table 3. Correlation between number of reported human cases of hepatitis C associated with Gammagard lots and the titer of Nt Abs detected with pseudoparticles

Sample number	Date of manufacture	Plasma screening by anti-HCV EIA-2	HCV RNA	Hepatitis cases*	Pseudoparticle†	
					1a	2a
8	1993	Screened	Neg	0	<1:20	<1:20
9	1993	Screened	Pos	4	<1:20	<1:20
10	1993	Screened	Pos	2	<1:20	<1:20
11	1993	Screened	Pos	60	<1:20	<1:20
12	1993	Screened	Pos	18	<1:20	<1:20
13	1990	Unscreened	Neg	0	≥1:320	<1:20
14	1990	Unscreened	Neg	0	≥1:320	<1:20
15	1989	Unscreened	Neg	0	≥1:320	<1:20
16	1989	Unscreened	Neg	0	≥1:320	1:20
18	1989	Unscreened	Neg	0	≥1:320	<1:20
19	1989	Unscreened	Neg	0	≥1:320	1:20

*From case reports received by the manufacturer; patients often received either multiple or unidentified lots.

†Same as described in Table 2.

ticles of genotype 1a. Among these six lots, two were found to have Nt Abs against the 2a particles, albeit at a low titer of 1:20.

Discussion

Evidence that normal immune globulin could protect against hepatitis C (previously designated non-A non-B hepatitis) dates back at least to 1967, when U.S. soldiers stationed in Korea participated in a randomized, double-blind clinical trial of the protective effect of globulin against viral hepatitis (25). Other clinical trials of immune globulin for the prevention of transfusion-associated non-A/non-B hepatitis (virtually all of which was hepatitis C) revealed that such globulin was protective if administered before exposure to the virus (26, 27) but not after (28, 29).

When chimpanzees were vaccinated with recombinant HCV glycoproteins E1 and E2, they were partially protected against a subsequent low-dose homologous HCV challenge (30). This finding suggests that antibodies to E1 and/or E2 may have protected against HCV. The existence of Nt Abs against HCV was first directly demonstrated by *in vitro* and *in vivo* test systems in a patient who was chronically infected with HCV (1, 2). However, such antibodies appeared to be isolate-specific and not protective over time, possibly because of the emergence of neutralization-resistant variants of HCV or limitations in the tests. Even though the principal neutralization epitopes were not identified in those earlier studies, antibodies to the putative envelope proteins of HCV, especially to the hypervariable region of the E2 envelope protein, were suspected. With the newly available *in vitro* neutralization system, based on neutralizing the infectivity of pseudoparticles bearing HCV envelope glycoproteins (6), the presence of Nt Abs in plasma or serum of chronically infected hepatitis C patients was confirmed (7). Furthermore, in addition to the neutralization epitope(s) previously found in the hypervariable region of the E2 envelope protein, one or more additional epitopes have been tentatively localized to other regions of E2 (31).

Historically, U.S.-licensed immune globulins prepared by ethanol fractionation of plasma had a remarkable safety record until one commercial IGIV product, Gammagard, prepared from anti-HCV (EIA-2)-screened plasma was withdrawn worldwide in February 1994 because of HCV transmission to recipients (8-12). Before 1993, globulin-related transmission of hepatitis C by licensed products had not been reported in the U.S. The mechanism of this apparent safety of immune globulins before the Gammagard incident was unknown, although the possible neutralization of HCV by antibodies in products not screened for such antibodies had long been suspected (13, 32). Epidemiological and laboratory follow-up studies of the Gammagard incident revealed the following:

- (i) Anti-HCV screening with the EIA-2 test resulted in the presence of HCV RNA in lots prepared from such screened plasma. In contrast, HCV RNA was rarely detected in Gammagard lots made from either unscreened plasma or plasma screened with the relatively insensitive EIA-1 test (9, 15). The lots derived from plasma screened with the more sensitive EIA-2 test were associated with many reported cases of hepatitis C transmission.
- (ii) Gammagard was the only IGIV product implicated (8-12, 15). All other IGIV products were not similarly affected because of deliberately incorporated viral inactivation steps or other manufacturing (e.g., purification) procedures that fortuitously inactivated or removed virus.
- (iii) Anti-HCV screening greatly reduced levels of antibodies to HCV E1 and E2 envelope proteins in plasma and the resulting immune globulin products (14).
- (iv) The presence of anti-HCV in plasma had a substantial effect on the partitioning of HCV away from the resultant immune globulin. Overall, ethanol fractionation of anti-HCV-negative plasma resulted in a 3.5 log reduction in HCV RNA (16),

whereas a 4.7 log reduction was achieved with anti-HCV-positive plasma (19).

- (v) The lot of Gammagard associated with the most reported cases of hepatitis C (sample 11 in Table 3) (9, 12, 15) had the highest level of HCV RNA found among the commercial lots tested, $\approx 7,000$ copies of HCV RNA per g of IgG. This anti-HCV-negative lot exhibited poor ultracentrifugal recovery of HCV RNA: only 10% was recovered in the pellet when compared with that from anti-HCV-positive immune globulins (15). Furthermore, the HCV in this lot had a low buoyant density, 1.08 g/ml (15) (determined by sucrose gradient ultracentrifugation), suggesting that the virus was not complexed with antibody (3, 21). This finding was in contrast to the buoyant density of HCV recovered from anti-HCV-positive immune globulin, 1.16 g/ml, as found in intramuscular globulin derived from plasma that was not screened for anti-HCV (13) or found in plasma from patients chronically infected with HCV (21).

In line with these findings, a retrospective cohort study conducted by Feray *et al.* (33) clearly showed that the prevalence of HCV viremia was lower in liver transplant patients who received hepatitis B immune globulin made before the time when anti-HCV screening of plasma began, suggesting that the hepatitis B immune globulin also contained Nt Abs against HCV. All these studies, therefore, provided evidence that globulins prepared from anti-HCV-positive plasma contained antibodies that complexed with HCV and that these antibodies neutralized the virus.

In the present study we found that HCIGIV (sample 2), prepared from healthy anti-HCV-positive donors, contained specific Nt Abs to HCV, as evidenced by protection of a chimpanzee and by neutralization of HCV pseudoparticles bearing HCV envelope glycoproteins. In contrast, IGIV prepared from anti-HCV-screened plasma did not have any detectable Nt Abs as measured by either system.

Similarly, we showed that HCIGIV (sample 3) prepared from anti-HCV-positive donors and containing high levels of both anti-HCV and HCV did not transmit HCV to a chimpanzee, although the preparation was not virally inactivated. This preparation also contained high levels of Nt Abs, as measured by neutralization of HCV pseudoparticles. Thus, our data confirm that globulins made from anti-HCV-positive plasma contain Nt Abs to HCV and that these antibodies are capable of neutralizing both endogenous and exogenous HCV.

The presence of HCV RNA in plasma or its derived product does not necessarily equate with infectivity, especially when anti-HCV antibodies are present as immune complexes (13, 15). It has been suggested that when HCV is present as circulating immune complexes, its infectivity is lower (21). In addition, density heterogeneities of HCV measured in human sera have been attributed to binding with IgG (3, 21). An early finding that mutations within the hypervariable region of E2 led to the accumulation of IgG-free virus particles in the sera of patients with chronic HCV infection strongly implied that anti-E2 was involved (34). When 180 of the 186 EIA-1 reactive plasma units making up sample 6 were tested, 73% of them were positive for anti-E2, 63% contained anti-E1, and 58% had both antibodies (14). Neutralizing antibodies would be directed against E1, E2, or both envelope glycoproteins. In contrast, the antibodies measured by the EIA tests (EIA-1, EIA-2, and EIA-3) are directed against the nonstructural proteins and core protein of HCV and would not be neutralizing.

Direct assessment of neutralizing antibodies in various Gammagard lots by tests in chimpanzees would not be feasible. However, by means of the *in vitro* assay system, we demonstrated that all six tested Gammagard lots prepared from unscreened plasma contained high titers ($\geq 1:320$) of Nt Abs against the HCV pseudoparticles of genotype 1a but only 2 lots had titers as high as 1:20 of Nt Abs against genotype 2a pseudoparticles. We did not perform end

point titrations of Nt Abs in the Gammagard lots and HCIGIV preparations. However, because levels of both anti-E1 and anti-E2 were previously found to be lower in all un-screened Gammagard lots when compared with those obtained with HCIGIV (14), levels of Nt Abs in Gammagard lots from un-screened plasma would be expected to be lower than in HCIGIV. By contrast, implicated Gammagard lots derived from anti-HCV-screened plasma had neither detectable antibodies to E1 or E2 glycoproteins (14) nor Nt Abs to HCV pseudoparticles. The results agreed well with the results of retrospective studies of the safety of Gammagard summarized in Table 3. Therefore, our data clearly demonstrate that the apparent safety of immune globulins before the Gammagard incident can be attributed to the presence of Nt Abs to HCV. The lack of Nt Abs in Gammagard lots manufactured after the implementation of anti-HCV screening of plasma by EIA-2 provides a mechanism by which the safety of this noninactivated product was compromised. This conclusion is consistent with the concept that infectivity depends on the balance between the virus and the Nt Abs. In addition, anti-HCV screening would not result in the exclusion of units with high levels of HCV RNA associated with the window period of HCV infection, i.e., before anti-HCV seroconversion. Similarly, we observed in chimpanzees (Fig. 1) that the levels of HCV RNA before anti-HCV seroconversion were always higher than after seroconversion. Plasma units obtained from donors during the incubation period of hepatitis C, when HCV titers are the highest, would be exactly the units that would escape screening for anti-HCV in the absence of a nucleic acid screening test for HCV RNA.

It is desirable to have HCIGIV containing Nt Abs against all genotypes of HCV. In the present study, all three HCIGIV preparations could neutralize HCV pseudoparticles bearing HCV envelopes derived from two different genotypes, 1a and 2a, the two most genetically divergent genotypes of HCV. It is not known whether Nt Abs against other genotypes are present in these samples. However, genotype analysis of HCV in sample 6, the 186-donor plasma pool, revealed that all genotypes (i.e., 1–6) were present (data not shown). All six Gammagard lots derived from un-screened plasma had high levels of Nt Abs to genotype 1a but less Nt Abs against genotype 2a. Genotype analysis of HCV RNA-positive Gammagard lots made from screened plasma revealed that some lots contained only one HCV genotype, e.g., genotype 1a for sample 9 (12) and genotype 1b for sample 12 (15). Genotypes 1a and 1b are the most common genotypes in the U.S. (35). However,

some Gammagard lots (not included in this study) contained mixed genotypes, e.g., 1a/2b, 1a/2a–c, 1a/3b (data not shown). Such a finding is not surprising given that every lot of Gammagard and of other IGIV products is prepared from plasma of at least 10,000 donors. Whether the extended profiles of HCV genotypes in the starting plasma pools can correlate with the broad neutralizing capabilities in the resulting immune globulins is currently unknown. Nevertheless, in view of the genetic diversity of HCV, the neutralizing capabilities and, hence, the therapeutic utility of HCIGIV may be enhanced by incorporating plasma from a greater number of anti-HCV-positive plasma donors or by selecting donors who are infected with diverse HCV genotypes. Further studies are required to address this issue.

In conclusion, we have confirmed and extended the previous observation by Bartosch *et al.* (7) that neutralization of pseudoparticles bearing HCV envelope glycoproteins has biological significance and have evaluated the role of Nt Abs in the passive immunoprophylaxis of hepatitis C. We have also confirmed that such Nt Abs are not strain-specific as previously thought but may be broadly protective. In addition, we have demonstrated that Nt Abs to HCV were present in commercial immune globulins derived from plasma un-screened for anti-HCV and that they contributed to the historic safety of these products. Finally, screening tests for anti-HCV can be used to identify plasma units that contain Nt Abs. These units may be useful for preparing immunoprophylactic products to prevent hepatitis C infection, if protective levels of antibody and schedules of administration can be developed.

We thank Mr. B. L. Mason and Ms. J. S. Jong for excellent technical assistance, Dr. J. S. Finlayson for critical review of the manuscript, Baxter Healthcare Corporation for providing the information regarding lot-associated case reports and plasma screening status, Nabi Biopharmaceutical for providing a HCIGIV preparation, Alpha Therapeutic Corporation for providing the number of donations to an IGIV lot used as a control in a chimpanzee study, and the late Mr. Donald Tankersley for his contribution in making two in-house preparations of HCIGIV. This study was supported in part by the Agence Nationale pour la Recherche contre le Sida and the Institut National de la Santé Et de la Recherche Médicale, Action Thématique Concertée "Hépatite C." B.B. is supported by a Marie Curie Fellowship from the European Community. Z.G. and L.S. were supported by the Research Participation Program at Center for Biologics Evaluation and Research administered by the Oak Ridge Institute for Science and Education through an interagency agreement between the U.S. Department of Energy and the Food and Drug Administration.

- Fanci, P., Alter, H. J., Wong, D. C., Miller, R. H., Govindarajan, S., Engle, R., Shapiro, M., & Purcell, R. H. (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 7792–7796.
- Shimizu, Y., Hijikata, M., Iwamoto, A., Alter, H. J., Purcell, R. H., & Yoshikura, H. (1994) *J. Virol.* 68, 1494–1500.
- Thomsen, R., Bonk, S., & Thiele, A. (1993) *Med. Microbiol. Immunol.* 182, 329–334.
- Shimizu, Y., K., Igarashi, H., Kiyohara, T., Cabezon, T., Fanci, P., Purcell, R. H., & Yoshikura, H. A. (1996) *Virology* 223, 409–412.
- Fanci, P., Shimoda, A., Wong, D., Cabezon, T., De Giovanni, D., Strazzera, A., Shimizu, Y., Shapiro, M., Alter, H. J., & Purcell, R. H. (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 15394–15399.
- Bartosch, B., Dubuisson, J., & Cosset, F. L. (2003) *J. Exp. Med.* 197, 633–642.
- Bartosch, B., Bukh, J., Meunier, J. C., Granier, C., Engle, R. E., Blackwelder, W. C., Emerson, S. U., Cosset, F. L., & Purcell, R. H. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 14199–14204.
- Anonymous (1994) *Morbil. Mortal. Wkly. Rep.* 43, 505–509.
- Yu, M. W., Mason, B. L., Guo, Z. P., Tankersley, D. L., Nedjar, S., Mitchell, F. D., & Biswas, R. M. (1995) *Lancet* 345, 1173–1174.
- Gomperts, E. D. (1996) *Clin. Ther.* 18, Suppl. B, 3–8.
- Bresce, J. S., Mast, E. E., Coleman, P. J., Baron, M. J., Schonberger, L. B., Alter, M. J., Jonas, M. M., Yu, M. W., Renzi, P. M., & Schneider, L. C. (1996) *J. Am. Med. Assoc.* 276, 1563–1567.
- Healey, C. J., Sabharwal, N. K., Daub, J., Davidson, F., Yap, P. L., Fleming, K. A., Chapman, R. W. G., Simmonds, P., & Chapel, H. (1996) *Gastroenterology* 110, 1120–1126.
- Yu, M. W., Mason, B. L., & Tankersley, D. L. (1994) *Transfusion* 34, 596–602.
- Guo, Z. P., Akatsuka, T., Mason, B. L., Feinstone, S. M., & Yu, M. W. (1997) in *Viral Hepatitis and Liver Disease*, eds. Rizzetto, M., Purcell, R. H., Gerin, J. C., & Verme, G. (Edizioni Minerva Medica, Turin, Italy), pp. 253–257.
- Yu, M. W., Mason, B. L., Guo, Z. P., Renzi, P. M., & Tankersley, D. L. (1997) in *Viral Hepatitis and Liver Disease*, eds. Rizzetto, M., Purcell, R. H., Gerin, J. C., & Verme, G. (Edizioni Minerva Medica, Turin, Italy), pp. 276–279.
- Tankersley, D. L., Mason, B. L., Guo, Z. P., & Yu, M. W. (1996) in *Intravenous Immunoglobulin Research and Therapy*, eds. Kazatchkine, M. D., & Morell, A. (Parthenon, London), pp. 3–9.
- Yu, M. W., Shen, L., Major, M. E., Feinstone, S. M., & Jong, J. S. (2002) in *Viral Hepatitis and Liver Disease*, eds. Margolis, H. S., Alter, M. J., Liang, T. J., & Dienstag, J. L. (International Medical, London), pp. 374–377.
- Uemura, Y., Yang, Y. H. J., Heldebrand, C. M., Takechi, K., & Yokoyama, K. (1994) *Vox Sang.* 67, 246–254.
- Yei, S., Yu, M. W., & Tankersley, D. L. (1992) *Transfusion* 32, 824–828.
- Krawczynski, K., Alter, M. J., Tankersley, D. L., Beach, M., Robertson, B. H., Lambert, S., Kuo, G., Spelbring, J. E., Meeks, E., Sinha, S., & Carson, D. A. (1996) *J. Infect. Dis.* 173, 822–828.
- Hijikata, M., Shimizu, Y., Kato, H., Iwamoto, A., Shih, J. W., Alter, H. J., Purcell, R. H., & Yoshikura, H. (1993) *J. Virol.* 67, 1953–1958.
- Saldanha, J., Heath, A., Lefie, N., Pisani, G., Nubling, M., Yu, M. (2000) *Vox Sang.* 78, 217–224.
- Kolykhalov, A. A., Mihalik, K., Feinstone, S. M., & Rice, C. M. (2000) *J. Virol.* 74, 2046–2051.
- Fanci, P., Alter, H. J., Govindarajan, S., Wong, D. C., Engle, R., Lesniowski, R. R., Mushahwar, T. K., Desai, S. M., Miller, R. H., Ogata, N., & Purcell, R. H. (1992) *Science* 258, 135–140.
- Conrad, M. E., & Lemon, S. M. (1987) *J. Infect. Dis.* 156, 56–63.
- Knudell, R. G., Conrad, M. F., Ginsberg, A. L., Bell, C. J., & Flannery, E. P. (1976) *Lancet* i, 557–561.
- Kikuchi, K., & Tateda, A. (1980) *J. Jpn. Soc. Blood Transfus.* 24, 2–8.
- Kuhns, W. J., Prince, A. M., Brotman, B., Hazzi, C., & Grady, G. F. (1976) *Am. J. Med. Sci.* 272, 255–261.
- Seef, L. B., Zimmerman, H. J., Wright, E. C., Finkelstein, J. D., Garcia-Pont, P., Greenlee, H. B., Dietz, A. A., Leevy, C. M., Tamburno, C. H., Schiff, E. R., *et al.* (1977) *Gastroenterology* 72, 111–121.
- Choo, Q. L., Kuo, G., Ralston, R., Weiner, A., Chien, D., Van Nest, G., Han, J., Berger, K., Thudium, K., Kuo, C., *et al.* (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 1294–1298.
- Hsu, M., Zhang, J., Flint, M., Logvinoff, C., Cheng-Mayer, C., Rice, C. M., & McKeating, J. A. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 7271–7276.
- Finlayson, J. S., & Tankersley, D. L. (1990) *Lancet* 335, 1274–1275.
- Feray, C., Gigou, M., Samuel, D., Ducot, B., Maisonneuve, P., Keynes, M., Bismuth, A., & Bismuth, H. (1998) *Ann. Intern. Med.* 128, 810–816.
- Choo, S.-H., So, H.-S., Cho, J. M., & Ryou, W.-S. (1995) *J. Gen. Virol.* 76, 2337–2341.
- Bukh, J., Miller, R. H., & Purcell, R. H. (1995) *Semin. Liver Dis.* 15, 41–63.

静注用ヒト γ -globulin (Venoglobulin) による 血清肝炎予防の試み

Venoglobulin 研究班 (班長: 山村秀夫)
菊地金男*・館田 朗**
(国立仙台病院外科)

(受付: 昭和52年 4月18日)

A TRIAL FOR PREVENTION OF SERUM HEPATITIS WITH INTRAVENOUS HUMAN γ -GLOBULIN (VENOGLOBULIN)

Venoglobulin Research Group
(Head: Hideo Yamamura)
Kaneo KIKUCHI and Akira TATEDA
(Surgery Dept., Sendai National Hospital)

The hepatic disturbance appears about 15% after blood transfusion even when HBs antigen screening is performed on donors. For preventing hepatitis after blood transfusion as utilizing the strong antibody activity of Venoglobulin (VG) against hepatitis viruses which might be in the transfused blood, VG Research Group was organized under the leadership of Prof. Yamamura at Tokyo University, including eleven facilities. On blood transfusion, 250mg VG was added to each one unit of the blood, and after more than one hour, the blood was transfused. Before transfusion and every or every other week after transfusion, the liver functions, HBs antigen, and antibody were observed. The course was also observed for more than 12 weeks. The subjects consisted of 380 cases in the VG group and 378 cases in the control group. The data of the cases in all the facilities were collected

and researched statistically to get the following results.

- 1) The appearance of hepatic disturbance after blood transfusion was 5% in the VG group and 13.7% in the control ($p < 0.01$). The difference was not consistent with the original disease, the quantity of the transfused blood, and sex, and any consistent tendency was not recognized.
- 2) The appearance of jaundice was 1.3% in the VG group and 5.5% in the control ($p < 0.01$)
- 3) The appearance of HBs positive hepatitis was not different between the both groups, while the appearance of negative hepatitis was 4.8% in the VG group and 14% in the control group ($p < 0.05$).
- 4) According to the above described results, addition of VG to the transfusion blood is very effective on prevention on non-A, non-B hepatitis, especially prevention of jaundice.

I. 緒 言

1965年 Blumberg¹⁾ による Australia 抗原の発見以来, 血清肝炎の研究は著しく進歩し, いわゆる Hepatitis B (以下 HB) の原因として HB 抗原陽性血の輸注が最も重大な役割を演じているも

のと見做され, 1971年から供給血の HBs 抗原の screening が IES 法により実施されるに至った。その後血清肝炎の発生頻度は著しく低下したとはいえ, 輸血後の肝障害はなお15%前後を示しているのが現状であり²⁾, その予防対策は臨床家の重

要な課題の一つである。

Venoglobulin は血清 globulin 中の γ -globulin を人血清由来の plasmin を用いて処置し、Plasmin を除去した後、凍結乾燥したヒト免疫 globulin で²⁾、静脈内注射が可能であり、補体結合性が低く、抗体活性はほとんど元のまま維持され³⁾、重症感染症に対して優れた臨床効果のあることが報告されている⁴⁾⁵⁾。

輸血液内に存在の疑われる肝炎 Virus に対し、Venoglobulin の持つ強い抗体活性を利用し、輸血後肝炎の発生を防止しようと企図し、昭和47年東大山村秀夫教授を班長とし、Venoglobulin (以下 VG) 研究班が結成され、参加した11施設 (表1)

表1 Venoglobulin 研究班

(班長 東大麻酔科 山村秀夫)	
東京女子医大輸血部	村上 省三
東京女子医大心研外科	林 久恵
東邦大学第1外科	亀谷 寿彦
国立療養所東京病院外科	片山 透
群馬県立癌センター輸血部	滝沢 久夫
群馬県立癌センター外科	馬場 孝
国立療養所刀根山病院外科	越山健二郎
大阪大学輸血部	川越 裕也
国立岡山療養所外科	岸本 清美
国立療養所近畿中央病院外科	沢村 猷児
国立仙台病院外科	菊地 金男

において輸血液に対して VG の混入を試みた。研究の概要は昭和49年第22回日本輸血学会学術大会において報告したが、その後各施設において更に症例を重ね、全検索症例が758例に達したので、改めて推計学的検討を加えて報告する。

II. 検索方法並びに検索症例

VG 250mg を輸血液1単位 (230ml) ごとに混入、少なくとも1時間以上を経過してから輸注した。輸血前、および輸血後は1~2週間隔で、肝機能の検索を行い、12週間以上観察した。また298例については肝機能と同様に毎週、3カ月以上に亘り HBs の検索を行った。なお HBs の検索には抗原は R-PHA 法、抗体は PHA 法を用いた。肝炎の判定は吉利肝炎研究班の基準に従い、初回輸血から3週以後に2回以上連続して S-GPT 値が50単位以上の上昇を示したものを肝

炎とし、200単位以上の上昇が認められたものを肝炎と診断した。肝炎、または肝炎疑の症例で、Meulengracht 黄疸指数が15単位以上を示したものを総て発黄例と見做した。なお判定困難な症例については東大内科織田敏次教授の御教示を得た。

検索症例は758例で、VG を混入した輸血液を用いた例が380例 (以下 VG 群)、VG を混入しない輸血液を用いた例が378例 (以下対照群) であり、原疾患別にみれば、消化器悪性疾患、心疾患、肺良性疾患が最も多く、次いで消化器良性疾患、その他の良性疾患の順である (表2)。肺良性

表2 検索症例

	VG群	対照群	計	
疾患別	心疾患	94	95	189
	肺良性疾患	109	76	185
	肺悪性疾患	9	7	16
	消化器良性疾患	32	37	69
	消化器悪性疾患	81	110	191
	その他良性疾患	33	29	62
	その他悪性疾患	22	24	46
	計	380	378	758
輸血量別	~600g	79	80	159
	601~1000g	94	78	172
	1001~2000g	125	125	250
	2001~3000g	49	45	94
	3001g~	33	50	83
計	380	378	758	

	VG群	対照群	計	
年齢別	0~19歳	55	57	112
	20~29歳	45	43	88
	30~39歳	60	47	107
	40~49歳	59	72	131
	50~59歳	80	55	135
	60~69歳	59	86	145
	70~79歳	20	15	35
	80歳~	2	3	5
性別	男	219	230	449
	女	161	148	309
計	380	378	758	

疾患が VG 群に、消化器悪性疾患が対照群にやや多くみられたほか、疾患別にみた分布状態は両群の間にほとんど差はなく、推計学的にも有意差は認められなかった。輸血量では1001~2000grの例が250例で、約1/3を占め、次いで601~1000grの例、600gr以下の例の順となり、3001gr以上の例が対照群にやや多く、601~1000grの例はVG群にやや多かったが、全般的にみて両群とも類似の分布状態を示している。年齢別に検討してみると、70歳以上の高齢者を除き、各年代ともほぼ同数で、両群の間には50~59歳の例、60~69歳の例で、若干の差を見るに過ぎない。また男女別では両群とも男が過半数を占めている。

III. 検索成績

1. 原疾患別にみた肝障害発生頻度

対照群の肝障害発生率は肝炎52例、13.7%、肝炎疑43例、11.4%、計95例、25.1%の高率を占

め、そのうち発黄例は21例、全例の5.5%の高率を示した。原疾患別にみれば、消化器悪性疾患は110例中26例、23.6%、心疾患では95例中24例、25.2%の高頻度に肝障害が発生しているが、特に消化器良性疾患、その他良性疾患においては症例数は少ないが、それぞれ30%以上が肝炎、肝炎疑に罹患し肝障害の発生頻度には疾患別による差はなかった。肝炎、肝炎疑例中黄疸の発生は肺良性疾患、消化器良性疾患、その他良性疾患に比較的多発している(表3)。VG群の肝障害発生率は肝炎19例、5%、肝炎疑35例、9.2%、計54例、14.2%、発黄例は僅か5例、1.3%に過ぎず、対照群と比較して全般に低率で、特に肝炎が8.7%、発黄例が4.2%も低く、推計学的にも肝炎並びに発黄例の発生頻度は危険率1%以下で、両者の間に有意の差が認められた。原疾患別にみれば肺良性疾患、消化器悪性疾患に肝炎疑の発生率が

表3 原疾患別にみた肝炎発生頻度 対照群

疾患	総数	肝炎	肝炎疑	発黄	計
心疾患	95	13(1) 13.7%	11(3) 11.6%	4 4.2%	24 25.2%
肺良性疾患	76	11(5) 14.5%	7(2) 9.2%	7 9.2%	18 23.7%
肺悪性疾患	7		1 14.3%		1 14.3%
消化器良性疾患	37	7(3) 18.9%	5 13.5%	3 8.1%	12 32.4%
消化器悪性疾患	110	11(2) 10.0%	15(1) 13.6%	3 2.7%	26 23.6%
その他良性疾患	29	7(3) 24.1%	2 6.9%	3 10.3%	9 31.0%
その他悪性疾患	24	3(1) 12.5%	2 8.3%	1 4.2%	5 20.8%
計	378	52(15) 13.7%	43(6) 11.4%	21 5.5%	95 25.1%

() 内は発黄例

表4 原疾患別にみた肝炎発生状況 Venoglobulin 使用群

疾患	総数	肝炎	肝炎疑	発黄	計
心疾患	94	4(2) 4.2%	4(1) 4.2%	3 3.2%	8 8.4%
肺良性疾患	109	5(1) 4.6%	18 16.5%	1 0.9%	23 21.1%
肺悪性疾患	9				0
消化器良性疾患	32	3(1) 9.3%		1 3.1%	3 9.3%
消化器悪性疾患	81	5 6.2%	10 12.3%		15 18.5%
その他良性疾患	33	1 3.0%	2 6.1%		3 9.1%
その他悪性疾患	22	1 4.5%	1 4.5%		2 9.1%
計	380	19(4) 5.0%	35(1) 9.2%	5 1.3%	54 14.2%

() 内は発黄例

高く、心疾患においては肝炎例は少なかったが、肝炎例に発黄した例が多かった。原疾患別に対照群と比較してみると、心疾患、肺良性疾患などの開胸術を行った症例に肝炎の発生は低率であった(表4)。

2. 輸血量別にみた肝障害発生頻度

対照群においては輸血量 600gr 以下の例の肝障害発生頻度は80例中12例、15%で、最も低く、1001gr 以上の例は輸血量に関係なく、平均して約30%の高い発生率を示した。発黄例は 600gr 以下の例には1例もなかったが、601gr 以上の例には輸血量別にみても大差はなく、6~8%の発生頻度であった(表5)。VG 群においては 600gr 以下の例が8.9%、601~1000gr の例が17%、1001~2000gr の例が12.8%、2001~3000gr の例が20.4%、3001gr 以上の例では15.1%の肝障害発生率を示し、発黄例は 601~1000gr の例に3.2

表5 輸血量別にみた肝炎発生状況 対照群

輸血量	総数	肝炎	肝炎疑	発黄	計
~600	80	4 5.0%	8 10.0%	0	12 15.0%
601~1000	78	8(4) 10.3%	6(2) 7.7%	6 7.7%	14 17.9%
1001~2000	125	21(6) 16.8%	17(2) 13.6%	8 6.4%	38 30.4%
2001~3000	45	9(3) 20.0%	5(1) 11.1%	4 8.9%	14 31.1%
3001~	50	10(2) 20.0%	7(1) 14.0%	3 8.0%	17 34.0%
計	378	52(15) 13.7%	43(6) 11.4%	21 5.5%	95 25.1%

() 内は発黄例

表6 輸血量別にみた肝炎発生状況 Venoglobulin 使用群

輸血量	総数	肝炎	肝炎疑	発黄	計
~600	79	2 2.5%	5 6.3%		7 8.9%
601~1000	94	6(3) 6.4%	10 10.6%	3 3.2%	16 17.0%
1001~2000	125	7 5.6%	9(1) 7.2%	1 0.8%	16 12.8%
2001~3000	49	1 2.0%	9 18.4%	0	10 20.4%
3001~	33	3(1) 9.1%	2 6.1%	1 3.0%	5 15.1%
	380	19(4) 5.0%	35(1) 9.2%	5 1.3%	54 14.2%

() 内は発黄例

%と最も高率に発生したが、対照群と同様に輸血量と肝障害発生率との間に相関関係は認められなかった。また輸血量別に対照群と VG 群とを対比してみると VG 群が全般に低率であるが、特に 1001~3000gr の例においては肝炎の発生率は著しく低く、黄疸の発症も1%に達しなかった(表6)。

3. 年齢別にみた肝障害発生頻度

対照群の肝障害発生頻度を年齢別にみると19歳以下の例においては57例中19例、33.3%で、最も高頻度に発生し、次いで40歳代の25%であるが、70歳代の1.3%を除けば、各年代とも22~23%で、ほとんど差はなかった。発黄例は19歳以下が8.8%、30歳代が8.5%で、ほぼ同率の高い頻度を示し、40歳代、50歳代、60歳代はそれぞれ5%前後であった(表7)。VG 群においては70歳代、

表7 年齢別にみた肝炎発生状況 対照群

年齢	総数	肝炎	肝炎疑	発黄	計
0~19	57	13(3) 22.8%	6(2) 10.5%	5 8.8%	19 33.3%
20~29	43	4(1) 9.3%	6 13.9%	1 2.3%	10 23.2%
30~39	47	8(2) 17.0%	3(2) 6.4%	4 8.5%	11 23.4%
40~49	72	13(4) 18.0%	5 6.9%	4 5.6%	18 25.0%
50~59	55	5(2) 9.1%	7(1) 12.7%	3 5.4%	12 21.8%
60~69	86	8(3) 9.3%	14(1) 16.3%	4 4.6%	22 25.6%
70~79	15	1 6.7%	1 6.7%		2 1.3%
80~	3		1 33.3%		1 33.3%
計	378	52(15) 13.7%	43(6) 11.4%	21 5.5%	95 25.1%

() 内は発黄例

30歳代が18%以上の高率を示し、19歳以下が最も低率で、5.4%に過ぎず、それ以外の年代は10~16%であった。発黄例は高齢者を除く各年代に1例ずつみられた。対照群と VG 群とを年代別に比較してみると VG 群が全般に低い発生率を示しているが、特に19歳以下の若年者が低率であったことが目立った所見である(表8)。

4. 性別にみた肝障害発生頻度(表9)

対照群においては男230例中肝炎13.9%、肝炎

表8 年齢別にみた肝炎発生状況
Venoglobulin 使用群

年齢	総数	肝炎	肝炎疑	発黄	計
0~19	55	1(1) 1.8%	2 3.6%	1 1.8%	3 5.4%
20~29	45	1 2.2%	5(1) 11.1%	1 2.2%	6 13.3%
30~39	60	5(1) 8.3%	6 10.0%	1 1.7%	11 18.3%
40~49	59	4(1) 6.8%	5 8.5%	1 1.7%	9 15.3%
50~59	80	5(1) 6.2%	8 10.0%	1 1.2%	13 16.2%
60~69	59	2 3.4%	4 6.8%		6 10.2%
70~79	20	1 5.0%	3 15.0%		4 20.0%
80~	2				
計	380	19(4) 5.0%	35(1) 9.2%	5 1.3%	54 14.2%

() 内は発黄例

表9 性別にみた肝炎発生状況

性別	総数	肝炎	肝炎疑	発黄	計	
VG群	♂	219	12(4) 5.5%	21 9.6%	4 1.8%	33 15.1%
	♀	161	7 4.3%	14(1) 8.7%	1 0.6%	21 13.0%
	計	380	19(4) 5.0%	35(1) 9.2%	5 1.3%	54 14.2%
対照群	♂	230	32(12) 13.9%	31(3) 13.5%	15 6.5%	63 27.4%
	♀	148	20(3) 13.5%	12(3) 8.1%	6 4.0%	32 21.6%
	計	378	52(15) 13.7%	43(6) 11.4%	21 5.5%	95 25.1%

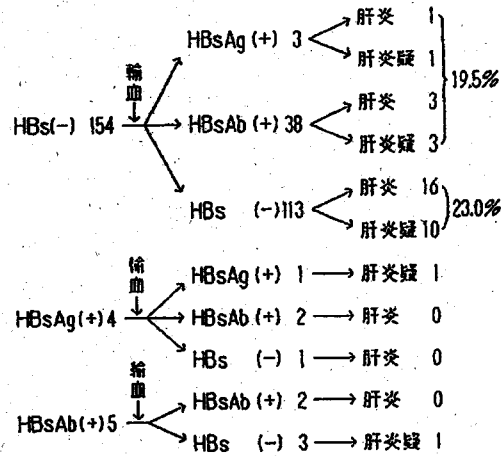
() 内は発黄例

疑13.5%、発黄6.5%の発生率を示していた。女148例中肝炎の発症は20例、13.5%で、男に比べて差はないが、肝炎疑ならびに発黄の発生率はかなり低率であった。VG群においては肝炎並びに肝炎疑の発生率は男がやや高い程度で、性別による差はなかったが、発黄例は男が4例、1.8%、女1例0.6%で、男がかなり高率であった。男女別に対照群とVG群とを比較してみたが、VG群が全般に低率である他、特徴的な所見は認められなかった。

5. HBs 抗原、抗体と肝障害発生状況

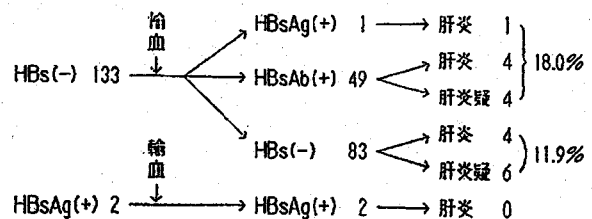
HBs 抗原、抗体を12週間以上に亘って検索し得た症例は、対照群が163例、VG群が135例である。対照群についてみれば、輸血前抗原陽性例は

表10 HBs 抗原抗体と肝炎発生状況 対照群



4例、2.45%、抗体陽性例が5例、3.1%であった(表10)。抗原陽性例4例中輸血後も引続き陽性を示した例は1例で、肝炎疑の症状を呈したが、輸血後抗原は陰性となり、抗体の出現した2例、及び抗原消失し、抗体の認められなかった1例は肝炎の症状なく、順調に経過した。輸血前HBs 抗体陽性の5例中3例は輸血後陰性となり、そのうち1例は肝炎疑と診断された。輸血後も引続き抗体陽性の2例には肝炎、ないし肝炎疑の所見はなかった。輸血前HBs 陰性の154例中輸血後3例、2%がHBs 抗原陽性となり、そのうち2例が肝炎、または肝炎疑と見做された。またHBs 抗体は38例、24.7%の高率に発生し、そのうち肝炎が3例、肝炎疑が3例、計6例に肝障害が認められた。輸血後もHBs 陰性の113例中肝炎は16例、14.2%、肝炎疑は10例、8.8%、計26例、23%の高率に肝障害が発生している。VG群においては輸血前HBs 抗体陽性例は1例もなく、抗原陽性例が2例、1.5%であり、2例とも肝炎の発症はなかった(表11)。輸血前HBs 陰

表11 HBs 抗原抗体と肝炎発生状況
Venoglobulin 群



性の133例中輸血後 HBs 抗原陽性例は1例で、定型的な肝炎の経過をとった。HBs 抗体陽性例は49例、36.8%の高率にみられ、しかもそのうち8例、16.3%は肝炎、ないし肝炎疑を発症している。輸血後も引続き HBs 陰性の83例中肝炎は4例、4.8%、肝炎疑は6例、7.2%、計10例12%であった。輸血前 HBs 陰性例について対照群とVB群とを対比してみると、輸血後 HBs 陽性化した症例の肝炎、肝炎疑の発生率は対照群が19.5%、VG群が18%で、両群の間に差はないが、輸血後も HBs 陰性例の肝炎発生率は対照群14.2%、VG群4.8%、肝炎疑は対照群8.8%、VG群7.2%となり、肝炎の発生率についてみると5%以下の危険率で、両群の間に有意の差が認められた。

IV. 考 案

輸血後に頻発する肝障害は恐らく Virus による肝炎であろうと予測されていた時代から肝炎予防の試みは多くの研究者により行われていたが、その成績は芳しいものではなかった。売血が禁止され、IES 法による供血者血液の screening が行われてから、血清肝炎の発生頻度は著しく低下したとはいえ、今回の検索においてもなお対照群の肝炎発生率が肝炎疑を含めて25%の高率であったことは、現在の HBs screening では十分な効果を挙げ得ないことを物語るもので、今後 RIA 法、少なくとも RPHA 法による screening が必要であろう。

血清肝炎の予防対策の一つに輸血液に対する処理がある。洗滌赤血球輸注、冷凍血液の輸注が代表的な方法であるが、一般に普及するまでには設備、人員などの面でなお多くの問題がある。Katzら⁹⁾は肝炎予防の目的で、静注用のヒト γ -globulin を輸血液内に混入、輸注を行い、添加血輸注例をA群、無添加血輸注例をB群、無輸血例をC群として検討した結果、肝障害発生率はA群1.37%、B群1.68%、C群0.32%で、本邦の発生率に比較して著しく低率であるが、A、B群の間に大差はなかった。しかしながら黄疸肝炎はA群が0.25%、B群0.89%で、B群が明らかに高率であ

り、しかも重症例が多く、2例は死の転帰をとったことを報告し、静注用 γ -gl が重症肝炎の予防に役立つと述べている。本研究班の検索では対照群の肝炎発生率は13.7%、VG群は5%、肝炎疑の頻度は対照群11.4%、VG群9.2%を示し、肝障害の軽度な肝炎疑の発症は両群の間に大差はないが、障害程度の高い肝炎の発生率は危険率1%以下の有意差を以ってVG群が低率であり、しかも黄疸を伴う重篤例は対照群5.5%、VG群1.3%で、両者の間に明らかに有意の差 ($p < 0.01$) が認められ、Katzの報告と同様の結果を得た。これらの成績を疾患別にみるとVG群の心疾患、肺良性疾患の開胸術を行った疾患では対照群に比較して肝炎発生頻度は著しく低く、特に肺良性疾患例の黄疸発症は僅か1例、0.9%に過ぎなかった。またVG群においては対照群に比べて、1001gr以上の輸血例、29歳以下の症例の肝炎発生率が著しく低く、黄疸の発症も少なかったが、これらの事実は全例についてHBs 抗原、抗体を継続して検索出来なかったので、Venoglobulin 混注による結果であるとはいえないが、Venoglobulin が肝炎発症の抑制にある役割を演じていることを示す証左と考えられる。

HBs 抗原、抗体を経時的に追求した症例は298例で、対照群163例、VG群135例中HBs 抗原、抗体が輸血前、または輸血後の追跡経過中に証明された症例は対照群50例、VG群52例である。これらのHBs 陽性例に発生した肝炎、ないし肝炎疑は対照群10例、VG群では9例で、両者の間に全く差が認められなかったことはVenoglobulin がHBvirus に対してはほとんど効果を示めさなかったというべきであろう。

対照群163例中HBs 抗原、抗体とも全く証明されなかった113例にも肝炎16例、肝炎疑10例、計26例の発生がみられ、またVG群においてもHBs 陰性例の中に4例に肝炎、6例に肝炎疑が発症した。これら症例の全例についてHBc 抗体およびA型肝炎(以下HA) virusの抗原、抗体の検索を行い得なかったが、本邦においては輸血後肝炎の中にA型肝炎をみることは極めて少な

く⁹⁾、また著者らの検索においても HA 抗体価の上昇を示した例が1例も認められなかったこと¹⁰⁾などから推測して、Prince ら¹¹⁾のいわゆるC型肝炎、あるいは非A、非B肝炎の範疇に入るべきものと思われる。非A、非B肝炎については本態の究明をはじめ、なお多くの問題があるにしても、著者の検索例にみられた HBs 陰性肝炎を非A、非B肝炎と見做すならば、対照群に比較してVG群における肝炎発生頻度は著しく低く、両群の間に明らかに有意の差が認められたことは Venoglobulin の混注が非A、非B肝炎の予防に極めて効果的であったことを示すものである。

輸血液について HBs の Screening が広く実施され、一般的にも HBvirus についての認識が深められた現今、なお10%を超す輸血後肝炎、ないし肝炎疑が発症しているが、その過半数が非A、非B型肝炎であり、しかも伝染的な要素を含んでいるので¹⁰⁾、本症の処置には常に周到な配慮が必要である。Venoglobulin の輸血液への混注により非A、非B肝炎の発生を抑制し得たことは輸血後肝炎の発生頻度の低下に役立つのみならず、非A、非B肝炎の本態究明になんらかの示唆を与えるものと思われる。しかしながら輸血の度毎に輸血液内に Venoglobulin を混入することは臨床に携るものにとっては煩わしく、緊急時には時間的制限のため困難で、操作中の細菌混入も全く否定し得ないなどの問題点が今後の課題であろう。

V. 結 論

輸血後肝炎防止の目的で、輸血液内にヒト免疫globulin (Venoglobulin) の混入を試み、次の結果を得た。

1. 輸血後肝障害発生率はVG群5%、対照群13.7%で、有意の差 ($p < 0.01$) をもってVG群が低率であったが、原疾患、輸血量、年齢、性別に検討してみると輸血後肝障害の発生率の差は不定で、両群とも一定の傾向は認められなかった。
2. 発黄の発生率はVG群1.3%、対照群5.5%で、両群の間に有意差 ($p < 0.01$) が認めら

れ、いずれの面から検討してもVG群が著しく低率であった。

3. HBs 陽性肝炎の発生率は両群の間にほとんど差はなかったが、HBs 陰性肝炎の発生率はVG群4.8%、対照群14%で、VG群が明らかに低率 ($p < 0.05$) であった。

4. VG の輸血液混入は非A、非B肝炎の発生予防、特に発黄の予防に著明な効果をもたらすものと思われる。

(山村秀夫教授の御校閲を深謝す)

文 献

- 1) Blumberg, B.S., Alter, H.J. and Visnich, S.: A "nc" antigen in leukemia sera. J.A.M.A., 191(7): 541—546, 1965.
- 2) 菊地金男, 館田 朗: 輸血に伴う生体反応—血清肝炎: 予防とその治療. 臨床外科, 31: 601—605, 1976.
- 3) Sgouris, J.T.: The preparation of plasmin treated immune serum globulin for intravenous use. Vox Sang, 3: 71—84, 1967.
- 4) 平井秀松: ヴェノグロブリンの組成に関する検討. ヴェノグロブリン医学文献集, 第1集, 医学書房, 大阪, 1976.
- 5) 有藤 茂他: 重症感染症に対する静注用 γ -globulin "Venoglobulin" の効果. 診察と新薬, 9: 123—132, 1972.
- 6) 藤井 肇他: 静注用 γ -globulin の使用経験. 小児科診療, 35: 237—243, 1973.
- 7) 中沢 進他: 静注用 γ -globulin (Venoglobulin) の小児科領域における臨床的検討. 新薬と臨床, 22: 273—280, 1973.
- 8) Katz, R., Rodriguez, J. and Ward, R.: Post-transfusion hepatitis: Effect of modified gamma globulin added to blood in vitro. New Engl. J. Med., 285: 925—932, 1971.
- 9) 片山 透: 輸血後肝炎. 臨床科学, 12: 937—944, 1976.
- 10) 館田 朗, 菊地金男他: 輸血後の非A・非B肝炎の発生状況. 医学のあゆみ, 99: 755—757, 1976.
- 11) Prince, A.M., Brotman, B., Grady, G.F., Kuhns, W.J., Hazzi, C., Levine, R.W. and Millian, S.J.: Long-incubation post-transfusion hepatitis without serological evidence of exposure to hepatitis-B virus. Lancet, II: 241—246, 1974.