

# 山梨県で献血された輸血用血液中の TTウイルス (TTV) 遺伝子の検出

町田篤彦 鈴木典子\*<sup>1</sup> 伊藤直文\*<sup>1</sup> 赤羽賢浩\*<sup>2</sup>

Detection of TTV Genome DNA  
in Blood for Transfusion in Yamanashi Prefecture

Atsuhiko MACHIDA, Noriko SUZUKI,  
Naohumi ITOH and Yoshihiro AKAHANE

肝炎ウイルスとしてA型, B型, C型, D型, E型およびG型の6種類が登場しているが, 1997年秋, 非A-G型輸血後肝炎患者(症例T.T.)から, 肝炎の経過と平行して感染が認められる新たなウイルスがわが国で分離同定された<sup>1)</sup>。このウイルスは, 発見の契機となった患者のイニシャルからTTウイルス(TTV)と呼ばれている。TTVはenvelopeをもたず, capsidにウイルス遺伝子として約3.9kb長の環状1本鎖DNA(マイナス鎖)を内包するウイルスであり, 世界各地に広く分布していることが判明している<sup>2,3,4)</sup>。しかも, このウイルスには核酸配列が大きく異なるgenotypeが多数見出され, genotypeの違いによって宿主に対する感染の影響には大きな違いが見られることが認識されてきている。TTV感染には一過性感染のみならず, 持続感染も多く認められる。TTVは輸血用血液や血液製剤などを通じて血行感染するだけでなく, 胆汁や糞便中にも排泄されていることから, fecal-oralの経路での感染の可能性も示唆されている。そこで今回は, 山梨県赤十字血液センターに献血された血液のうち輸血用血液として選択されたものの中にどのくらいの頻度でTTVが存在するのかを, このウイルスの遺伝子DNAを検出することによって調べたのでその結果を報告する。

## 材 料 と 方 法

### 1. 被検血清およびプラズマ

1995年5月から6月にかけて山梨県赤十字血液センターに献血された血液のうち, 輸血に適する血液のパイロット血清あるいはプラズマの一部を検体として用いた。

年齢別, 性別に分けた時, 各々の検体数があまり違わないように無作為に選択した。

\* 1 : 山梨県赤十字血液センター

\* 2 : 山梨医科大学

### 2. PCR法によるTTV遺伝子DNAの検出<sup>5)</sup>

50 $\mu$ lの被検血清あるいはプラズマに50 $\mu$ lの蒸留水を加え, DNA抽出試薬(STG Buffer, Biotronic Tech. Corp.)を用いて全DNAを抽出し, ジエチールピロカーボネートで処理した蒸留水30 $\mu$ lに溶かした。その10 $\mu$ lを用いてPerkin-Elmer Ampli Taq DNA PolymeraseによるPCRを行った。1次PCRはsense primer NG059 (5'-ACAGACAGAGGAGAAGGCCAACATG-3')とantisense primer NG063 (5'-CTGGCAATTTTACCATTTCCAAAGTT-3')の2種のprimerを用いて以下の条件で行なった。94 $^{\circ}$ Cで30秒, 60 $^{\circ}$ Cで45秒, 72 $^{\circ}$ Cで45秒を1サイクルとして35サイクル行い最後に72 $^{\circ}$ Cで7分を行った。1次PCRで増幅した産物(286bp)の1/25量をsense primer NG061 (5'-GGCAACATGYTRTGGATAGACTGG-3') [Y=T or C, R=A or G]とantisense primer NG063を用いたsemi-nested 2次PCRにより, 1次PCRと同じ条件で25サイクル行い, 271bpのフラグメントを増幅した。PCR増幅産物をアガロースゲル電気泳動で分画した後エチジウムブロマイドで染色して, 紫外線ランプにより271bpのバンドの存否を調べた。

## 結 果 と 考 察

### 年齢別, 性別からみた

#### 輸血用血液中のTTV遺伝子DNA陽性頻度

表1に山梨県で献血された血液のうち輸血に適しているものについてTTV遺伝子の検出を行った結果を年齢別および性別に分けて示した。男女別のTTV遺伝子陽性率をみると各年齢層でまちまちで性別での違いはみられなかった。年齢別にTTV遺伝子陽性率をみると, 10歳代から40歳代にかけては20%台で徐々に上昇したが50-59歳で38%に急に増加し献血年齢層が高くなる

表1 輸血用血液中のT T Vウイルス遺伝子の検出

年 齢	性 別	検体数	陽性検体数	陽性率(%)	
16-19	男	55	15	27.3	21.2
	女	63	10	15.9	
20-29	男	52	11	21.2	22.3
	女	51	12	23.5	
30-39	男	60	12	20.0	24.2
	女	35	11	31.4	
40-49	男	69	23	33.3	26.2
	女	38	5	13.2	
50-59	男	34	12	35.3	37.9
	女	32	13	40.6	
60-64	男	7	3	42.9	27.3
	女	4	0	0	
計	男	277	76	27.4	
	女	223	51	22.9	
総 計		500	127	25.4	

につれて上昇することが分かった。(60-64歳については検体数が少なく評価できなかった)

山梨県において献血され輸血用として選択された血液の約1/4 (25.4%, 127/500)にT T V遺伝子が検出された。肝機能値(ALT値)が正常な血液でのわが国でのT T V遺伝子陽性率は約16%であることが報告されているが<sup>6)</sup>本県について得られた結果はこれより高いことを示している。

T T VはDNAウイルスでありながら、遺伝的多様性が顕著であり、T T V遺伝子DNAには保存性の高い領

域と変異に富む領域とが存在する。すなわち、非翻訳領域は保存性が高いが、ウイルス蛋白をコードする遺伝子領域は保存性が低く変異に富んでいる。そのため、T T Vにはコード領域の配列が大きく異なる変異ウイルスが多数存在し、数多くの genotype が認められる。今回用いた primer pair では、数多く認められるT T Vの genotype のうち最初に非A-G型輸血後肝炎から見出されたT T V株が属する1型を検出することができる<sup>5)</sup>。この型の感染が肝障害等の病態といかに関連しているか、また別の型のウイルス感染の方がより関連しているのかについては目下研究が進められている。

## 謝 辞

稿を終るにあたり、PCRに用いた primer を恵みくださり、またご指導頂きました自治医科大学の眞弓忠博士ならびに岡本宏明博士に深謝致します。

## 文 献

- 1) Nishizawa, T. et. al. : Biochem. Biophys. Res. Commun., 241, 92~97 (1997)
- 2) Okamoto, H. et. al. : Hepatol. Res., 10, 1~16 (1998)
- 3) Mushahwar, I. K. et. al. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96, 3177~3182 (1999)
- 4) Miyata, H. et. al. : J. Virol., 73, 3582~3586 (1999)
- 5) Okamoto, H. et. al. : J. Med. Virol., 56, 128~132 (1998)
- 6) Itoh, K. et. al. : Transfusion, 39, 522~526 (1999)