文献1

Furuta et al. Retrovirology 2011, 8:20
http://www.retrovirology.com/content/8/1/20

RETROVIROLOGY

RESEARCH Open Access

No association of xenotropic murine leukemia virus-related virus with prostate cancer or chronic fatigue syndrome in Japan

Rika A Furuta[1*], Takayuki Miyazawa[2], Takeki Sugiyama[3], Hirohiko Kuratsune[4], Yasuhiro Ikeda[5], Eiji Sato[2], Naoko Misawa[6], Yasuhito Nakatomi[7], Ryuta Sakuma[5,9], Kazuta Yasui[1], Kouzi Yamaguti[8], Fumiya Hirayama[1]

Abstract

Background: The involvement of xenotropic murine leukemia virus-related virus (XMRV) in prostate cancer (PC) and chronic fatigue syndrome (CFS) is disputed as its reported prevalence ranges from 0% to 25% in PC cases and from 0% to more than 80% in CFS cases. To evaluate the risk of XMRV infection during blood transfusion in Japan, we screened three populations-healthy donors ($n = 500$), patients with PC ($n = 67$), and patients with CFS ($n = 100$)-for antibodies against XMRV proteins in freshly collected blood samples. We also examined blood samples of viral antibody-positive patients with PC and all (both antibody-positive and antibody-negative) patients with CFS for XMRV DNA.

Results: Antibody screening by immunoblot analysis showed that a fraction of the cases (1.6-3.0%) possessed anti-Gag antibodies regardless of their gender or disease condition. Most of these antibodies were highly specific to XMRV Gag capsid protein, but none of the individuals in the three tested populations retained strong antibody responses to multiple XMRV proteins. In the viral antibody-positive PC patients, we occasionally detected XMRV genes in plasma and peripheral blood mononuclear cells but failed to isolate an infectious or full-length XMRV. Further, all CFS patients tested negative for XMRV DNA in peripheral blood mononuclear cells.

Conclusion: Our data show no solid evidence of XMRV infection in any of the three populations tested, implying that there is no association between the onset of PC or CFS and XMRV infection in Japan. However, the lack of adequate human specimens as a positive control in Ab screening and the limited sample size do not allow us to draw a firm conclusion.

Background

Xenotropic murine leukemia virus-related virus (XMRV), a gammaretrovirus found in humans, is possibly associated with certain diseases [1,2]. The virus was first identified in prostate cancer (PC) by using a pan-viral microarray: XMRV RNA was detected in eight of 22 R462Q homozygous patients, but in only one of 66 patients with RQ or RR (wild-type [WT]) alleles of the *RNASEL* gene [1], an important component of the innate antiviral response [3]. Schlaberg et al. [4] found XMRV proteins in nearly 25% of PC specimens and reported that XMRV infection is associated with high-grade PC. Conversely, XMRV RNA was detected in only 1.2% of PC cases in a German study [5], and neither XMRV RNA nor anti-XMRV antibodies (Abs) were detected in PC patients in another German cohort [6]. Furthermore, in a recent study, XMRV RNA was detected in the blood of 67% of patients with chronic fatigue syndrome (CFS) and 3.6% of healthy individuals [2]. Lo et al. [7] found murine leukemia virus (MLV)-related sequences in genomic DNA of peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) in 32 of 37 (86.5%) CFS patients and three of 44 (6.8%) healthy blood donors. However, the absence of XMRV infection in CFS patients has been reported in several countries [8-12]. These conflicting results have provoked serious debates about XMRV detection methods and patient characteristics [13].

XMRV can infect many human cell lines by using XPR1 as a receptor, similar to other xenotropic murine

*Correspondence: furuta@osaka-bc.jrc.or.jp
Department of Research, Japanese Red Cross Osaka Blood Center, 2-4-43 Morinomiya, Joto-ku, Osaka 5368505, Japan
Full list of author information is available at the end of the article.

資料4

XMRVに関する文献報告(続報)(平成23年6月27日)

血液事業部会運営委員会委員 岡田 義昭

文献番号	文献名	報告国	要約
1	Furuta R, Miyazawa T, Sugiyama T, et al., Retrovirology.2011, Mar 17;8:20 No association of xenotropic murine leukemia virus-related virus with prostate cancer or chronic fatigue syndorome in Japan	日本	日本の前立腺癌患者67人、慢性疲労症候群患者100人、健常人500人の血液を用いてXMRVの感染リスクを評価した。XMRVの gagのCAタンパクに対する抗体陽性者がいたが、XMRV由来の他のウイルス抗原に対する抗体陽性者はいなかった。CA抗体陽性の前立腺癌患者の末梢単核球からXMRVの遺伝子が検出されたが、再現性が乏しく、また培養法を用いてもXMRVを分離することはできなかった。一方、慢性疲労症候群患者の血漿及び末梢単核球からXMRVの遺伝子を核酸増幅法で検索したが全て陰性であった。これらの結果は、日本の前立腺癌や慢性疲労症候群の発症とXMRV感染との関連がないことを示唆している。
2	Shin H, Bateman L, Schlaberg R, et al., J Virol. 2011, May 4. [Epub ahead of print] No evidence of murine-like gammaretroviruses in CFS patients previously identified as XMRV-infected	米国	同じ地域に住む100例の慢性疲労症候群患者と200例の健常人の血液から、1)XMRV及びXMRV類似ウイルスの遺伝子、2)これらのウイルスに対する抗体、3)高感受性細胞を使用したウイルス分離、をブラインドで実施したが、全て陰性であった。また、過去2年間繰り返して陽性とされた14例のCFS患者を同様に検査したが1例もXMRV及びXMRV類似のウイルス遺伝子、抗体は検出できなかった。さらにTaq polymerase中に少量のマウスDNAがコンタミしていることを発見し、これによってNATの5%が陽性となった。
3	Knox K, Carrigan D, Simmons G, et al., Science. 2011, Jun 2 [Epub ahead of print] No evidence of murine-like gammaretroviruses in CFS patients previously identified as XMRV-infected	米国	ネバダ州の1つの医療機関から提供された過去にXMRV陽性と判断された43名を含む慢性疲労症候群患者61名の血液を核酸増幅法、血清学的検査、感染性ウイルスの検出、等を用いて再評価したところ、XMRVや他のマウス白血病ウイルス(MLV)は全く検出されなかった。以前 scienceに掲載された「慢性疲労症候群から高率にXMRVが検出された」という報告に用いられた多くの検体を提供した同一の医療機関からの検体であることから、診断や患者の集団の差からこれらの結果の不一致を説明できない。原因として、核酸増幅法に用いる酵素に添加されているマウス単クローン抗体や実験室で用いられているマウス単クローン抗体からMLVの遺伝子が検出されること、細胞で継代したXMRV(VP62DU145)は塩基配列に複数の変異が認められたが検体から検出された複数のXMRVの塩基配列はVP62や22RV1由来のものと一致したこと、等から実験室内での検体へこれらが混入したためだと思われる。さらにXMRVや異種指向性MLVは補体によって不活化されることから、実際には人では感染が成立できないことも示唆された。
4	Paprotka T, Delviks-Frankenberry K, et al., Science. 2011, Jun 2. [Epub ahead of print] Recombinant origin of the retrovirus XMRV	米国	XMRVを産生するヒト前立腺癌株のCWR22Rv1とCWR-R1はCWR22株由来である。CWR22はヌードマウスで継代された細胞株であり、継代の初期の細胞株からはXMRVは検出されなかった。一方、継代に用いたマウスからPreXMRV-1とPreXMRV-2の2つのプロウイルスが検出され、前半と後半でそれぞれXMRVと99.92%のホモロジーがあり、2つのプロウイルスが組み換えを起こし、XMRVになったと考えられる。この組み換えが別々に生じる可能性は低く、ヒトの疾患と関連したXMRVはヒトサンプルへの混入のためであることを示している。
5	Alberts B, Science. 2011, Jun 2 [Epub ahead of print] Editorial expression of concern	米国	文献3と4はLombardiらがscienceに発表した「慢性疲労症候群患者の67%からXMRVが検出された」という2009年の論文が、実験室内や解析に用いた試薬へのウイルスのコンタミだったことを強く支持している。そのためLombardiらの論文の正当性に疑念があるので彼らの論文にこれらの懸念があることを添付した。XMRVと慢性疲労症候群との因果関係の有無についてNIHの後援によって研究が行われており、science誌としては結果を待っている。

retroviruses [14-16], and XMRV replication appears to be enhanced in cells with a defective interferon-gamma (IFNγ) intracellular pathway [17]. In terms of *in vivo* infection, the route of transmission, infectivity to humans, and pathogenesis of XMRV are largely unknown; therefore, its potential risk as a transfusion-transmissible infectious agent remains to be clarified.

Many blood service organizations worldwide, including those in Japan, have yet to establish a transfusion policy for XMRV, although in a few countries (e.g., Canada) blood donations are restricted from individuals previously diagnosed with CFS. To investigate the prevalence of XMRV in healthy Japanese individuals as well as in PC patients, we started screening blood samples in 2007 from donors in Osaka prefecture and PC patients in Nishiwaki City, a rural area of Hyogo prefecture close to Osaka prefecture, as a pilot study of XMRV infection. On the basis of Lombardi et al.'s results of XMRV infection in CSF patients and, to a lesser extent, in the healthy population [2], we also screened blood samples from CFS patients. We found that a proportion of the donors and patients had Abs against the XMRV Gag capsid (CA), but XMRV genes were barely detectable. These results suggest that although the presence of human infection with XMRV or XMRV-related viruses in Japan cannot be denied, such infection is likely to be limited.

Results

Study design

Our study design, summarized in Figure 1, was not standardized because the screening process for donors and PC patients was not implemented simultaneously with that for CFS patients. We employed different methods to detect XMRV nucleic acids at different stages of the study, but the same Ab-screening test was used consistently throughout. All plasma samples were screened for XMRV Abs by immunoblot assay to calculate the serological prevalence of XMRV. Plasma samples of viral Ab-positive PC patients were further screened for XMRV RNA. Moreover, PBMCs of PC patients whose plasma was positive for XMRV RNA were examined for the presence of XMRV genes and for *RNASEL* mutations in genomic DNA [1,18]. Plasma samples of CFS patients were simultaneously screened for XMRV Abs and genomic DNA according to published methods [1,2,6]. We did not examine XMRV DNA or RNA in the donor blood samples because, at present, the Japanese Red Cross Society does not have consensus for the genetic analysis of donor blood samples for research purposes, except for the analysis of blood types.

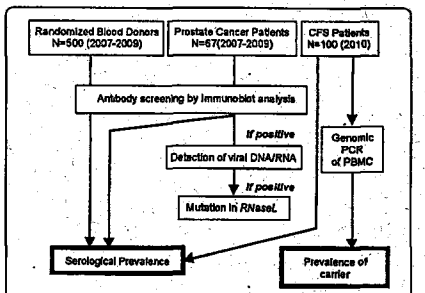


Figure 1 Study flowchart. Plasma samples randomly collected from 500 healthy donors, 67 PC patients and 100 CFS patients were screened for XMRV Abs in an immunoblot assay to estimate the serological prevalence of the virus. Viral Ab-positive PC patients were further tested for the presence of viral RNA in their plasma; genomic DNA from PBMCs of XMRV RNA-positive patients was also tested for viral DNA and *RNaseL* mutations. CSF patients were screened by genomic PCRs at three independent laboratories.

Screening for XMRV Abs

To examine Abs against XMRV by immunoblotting, concentrated viral particles were used as antigens. When the same volume of XMRV and human immunodeficiency virus (HIV)-1 lysate as a negative control was analyzed by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and gel staining, we observed a comparable amount of Gag CA proteins in each preparation (Figure 2A, asterisks). The minimum amount of each virus lysate in which CA protein was detectable by gel staining with SYPRO ruby (3 μl) was used to assess sensitivity of the immunoblot assay by end point dilutions of an anti-Gag monoclonal antibody (mAb) (clone R187; Figure 2B, left) or an anti-Env rabbit polyclonal antibody (pAb) (Figure 2B, right). The detection limit of the screening assay was estimated as 6.3 ng/ml (1:640,000) for R187 mAb and 1.1 μg/ml (1:8,000) for anti-Env pAb.

In the Ab screening, we observed many nonspecific signals. Most of these reacted with both strips at the same mobility, and some weak bands were occasionally detected on either XMRV or HIV-1, or both strips at the position of the CA proteins, probably because of a large amount of CA protein on the strips. Therefore, we regarded such nonspecific signals as false positives, and considered that a band observed on the XMRV strip, but not on the HIV-1 strip, showing signal intensity comparable with that detected using the control anti-Gag mAb was positive for XMRV when the strips were blotted with 100 times-diluted plasma samples (red squares in Figure 2C-E). We identified 12 positive plasma samples: eight from the donors, two from PC patients and two from CFS patients. The prevalence of XMRV calculated from the immunoblot assay was 1.6%

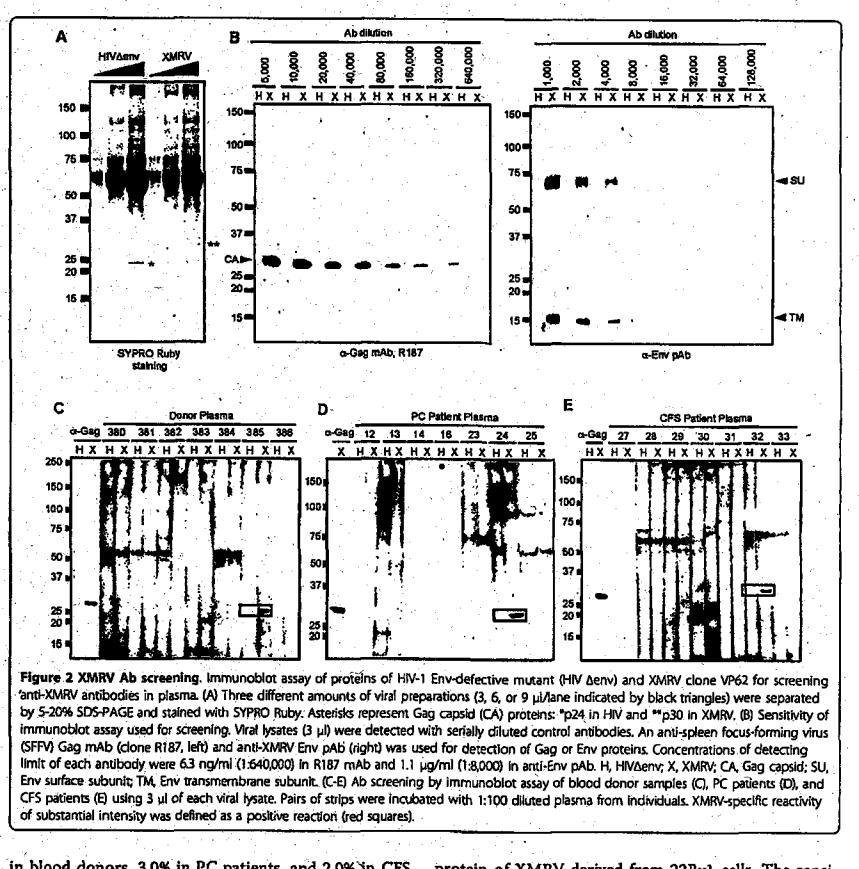


Figure 2 XMRV Ab screening. Immunoblot assay of proteins of HIV-1 Env-defective mutant (HIV Δenv) and XMRV clone VP62 for screening anti-XMRV antibodies in plasma. (A) Three different amounts of viral preparations (3, 6, or 9 μl/lane indicated by black triangles) were separated by 5-20% SDS-PAGE and stained with SYPRO Ruby. Asterisks represent Gag capsid (CA) proteins: *p24 in HIV and **p30 in XMRV. (B) Sensitivity of immunoblot assay used for screening. Viral lysates (3 μl) were detected with serially diluted control antibodies. An anti-spleen focus-forming virus (SFFV) Gag mAb (clone R187, left) and anti-XMRV Env pAb (right) was used for detection of Gag or Env proteins. Concentrations of detecting limit of each antibody were 6.3 ng/ml (1:640,000) in R187 mAb and 1.1 μg/ml (1:8,000) in anti-Env pAb. H, HIVΔenv; X, XMRV; CA, Gag capsid; SU, Env surface subunit; TM, Env transmembrane subunit. (C-E) Ab screening by immunoblot assay of blood donor samples (C), PC patients (D), and CFS patients (E) using 3 μl of each viral lysate. Pairs of strips were incubated with 1:100 diluted plasma from individuals. XMRV-specific reactivity of substantial intensity was defined as a positive reaction (red squares).

in blood donors, 3.0% in PC patients, and 2.0% in CFS patients ($p > 0.05$). Because XMRV was originally identified in PC samples [1], we analyzed whether there was a gender difference in the prevalence of XMRV; however, no significant difference between male and female subjects was noted (Table 1).

Characterization of screening-positive Abs

Because we observed Abs against only the Gag CA protein in the Ab-screening assay, we examined test plasma for reactivity against recombinant Gag and Env proteins (Figure 3A-3C). For recombinant Gag protein, we expressed glutathione S transferase (GST)-fused Gag CA protein of XMRV derived from 22Rv1 cells. The sensitivity of the immunoblot assay using the GST-CA protein was about eight times higher than that used in the screening assay (Figure 3A, 1:5,120,000 dilution corresponding to 0.78 ng/ml R187 mAb). All screening-positive plasma, but not screening-negative plasma, tested positive for GST-CA proteins (Figure 3B), suggesting that the screening-positive plasma specifically recognized XMRV CA. In the upper panel of Figure 3B, D51, P24 and C32, plasma shows some signals migrating close to that of the Env surface subunit (SU). However, these were likely to be nonspecific as we observed similar signals on the paired HIV strip at the same position

Table 1 Summary of anti-Gag Ab reactivities in study population

Population	Gender	Ab negative	Ab positive	Total	Prevalence (%)
Healthy donors	M	336	5	341	1.5
	F	156	3	159	1.9
	Total	492	8	500	1.6
Patients with PC	M	65	2	67	3.0
Patients with CFS	M	31	0	31	0
	F	67	2	69	2.9
	Total	98	2	100	2.0

No significant differences in prevalence were observed between the donors and the patients with PC and between the donors and the patients with CFS. Further, there were no significant differences in prevalence between the male and the female donors.

in the screening immunoblot assay (data not shown for D51, and Figure 2D and 2E for P24 and C32, respectively). We examined the reactivity of the test plasma against a recombinant histidine-tagged Env surface subunit protein (rSU) of a xenotropic MLV [19], in which the detection limit determined by endpoint dilutions was 1.1 μg/ml (1:8,000 dilution in Figure 3C, left), but detected no Abs against the Env SU protein in plasma samples (Figure 3C, right). An immunoblot assay after native-PAGE was also negative for Abs against Env proteins (Figure 3D). Detection limits in the native-PAGE were 6.3 ng/ml for anti-Gag mAb (R187) and 8.5 μg/ml for anti-Env pAb (data not shown).

To examine the specificity of the screening-positive plasma samples, we performed an additional immunoblot assay against proteins from Moloney murine leukemia virus (MoMLV), which has approximately 83% amino acid homology in the Gag region with XMRV. We observed multiple patterns of cross-reactivity (Figure 3E). Most screening-positive plasma samples were recognized exclusively with XMRV Gag CA (e.g., patient 24 in Figure 3E), but some showed weak cross-reactivity with Gag CA of MoMLV (donor 359 in Figure 3E). In another case, almost the same level of signal was detected against Gag CA of XMRV and MoMLV (donor 385 in Figure 3E). Plasma that predominantly reacted with MoMLV Gag was not observed. The Ab specificities are summarized in Table 2.

The serological prevalence of XMRV calculated using only the highly specific Ab was 1.0% in the donors, 1.5% in PC patients, and 1.0% in CFS patients. Again, there were no statistically significant differences in prevalence between blood donors and patients with either PC or CFS. We are unable to determine whether the anti-Gag CA Abs we identified would indicate XMRV infection or not, until panel plasma or serum samples collected from human subjects definitely infected with XMRV become available. Therefore, we tentatively regard those individuals who retain these Abs as suspicious cases.

Detection of XMRV RNA in the plasma of PC patients

In April 2008, we examined XMRV RNA from the plasma of two screening-positive PC patients (P24 and P28) by nested RT-PCR: only one patient (P24) had positive results for XMRV RNA with Gag-specific primers (Figure 4A). The sequence of the amplified PCR product was 99.8% (412/413), identical to that of XMRV VP62 (data not shown). However, we could not conclude that the PCR product was derived from XMRV infection because this fragment did not contain an XMRV-specific 24 nucleotide deletion in the *gag* region [1]. The patient's malignant prostate tissue was not available because it had already been removed and was not deposited in the hospital.

In August 2008, we collected whole blood from this patient to examine *RNASEL* mutations at amino acid positions 462 [1,18] and 541 [20], and found a WT residue at 462 and a low-risk amino acid residue (Glu) at 541 (data not shown). We tried to isolate infectious or full-length XMRV from PBMCs of this patient, but were unsuccessful. We also found that the test results of the nested PCR assay, in which detection limit was approximately 1.5 cell equivalents of genomic DNA from 293T cells infected with 22Rv1 cell-derived XMRV (Figure 4B), using PBMC-extracted genomic DNA were not reproducible (Figure 4C). In November 2009, the whole blood of P24 became available again and was tested for XMRV DNA and RNA. Although the plasma still tested positive for Abs against XMRV Gag CA, neither XMRV RNA nor DNA was detected with the same method used in April 2008 (data not shown). We further examined XMRV RNA from plasma and supernatants of co-cultured P24 PBMCs with LNCap-FGC cells using one-step RT-PCR, but both tested negative for the XMRV Gag gene (Figure 5A). We performed real time PCR on genomic DNA extracted from PBMCs, which is capable of amplifying a fragment of the Env gene with a detection limit of four copies/reaction, but the additional PCR tests of P24 were negative for the XMRV gene (Figure 5B and 5C). These data suggested that the amount of XMRV in the blood of the Ab-positive PC patient was limited, if the virus still existed. Alternatively, it remains possible that the results of the original P24 PCR tests were false positive.

Detection of XMRV DNA in PBMCs of CFS patients

To examine the prevalence of XMRV in CFS cases, we screened CFS patients for XMRV DNA in PBMCs at three independent laboratories. Figure 6 shows the representative results with two primer sets. The

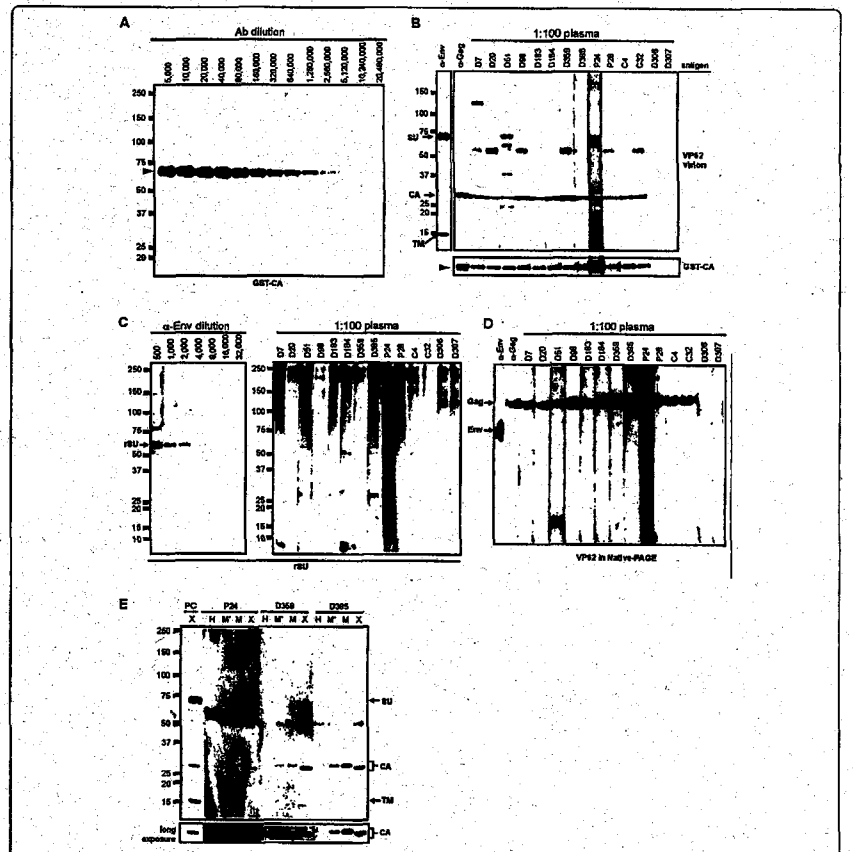


Figure 3 Characterization of Gag CA-positive plasma samples. (A) Sensitivity of immunoblot assay with GST-fused recombinant Gag CA (GST-CA) protein. GST-CA protein (300 ng per lane) was analyzed by 5-20% SDS-PAGE and detected with serially diluted R187 anti-Gag mAb. The concentration of the detection limit was 0.78 ng/ml (1:5,120,000). (B) Immunoblot assay of plasma samples that tested positive (D7, D20, D51, D98, D183, D184, D359, D385 in blood donors; P24 and P28 in PC patients; C4 and C32 in CFS patients) or negative (D306 and D307 in blood donors) for the screening immunoblot assay with 3 μl of VP62 virus lysate (upper panel) or 300 ng of the GST-CA recombinant protein (lower panel). For positive control, 8.5 μg/mL (1:1,000) of anti-Env pAb and 0.8 μg/ml (1:5,000) of anti-Gag mAb, R187, were used. (C) Immunoblot assay using recombinant Env SU (rSU) protein of xenotropic MLV. The detection limit of 300 ng of rSU protein was 1.1 μg/ml (1:8,000) by anti-Env pAb (left). One hundred diluted plasma samples tested positive for the screening assay were negative for rSU protein (right). (D) Immunoblot assay in a native-PAGE using 5 μl of the concentrated VP62 lysate in native sample buffer. Plasma samples testing positive (D7 to C32) and negative (D306 and 307) for the screening assay were examined. α-Env, anti-Env pAb (1:200, 42.5 μg/ml); α-Gag, R187 mAb (1:80,000, 50 ng/ml). (E) MoMLV particles with (M) or without (M') amphotropic Env were produced and subjected to an immunoblot assay to examine their cross-reactivity with XMRV-positive plasma. PC, a mixture of anti-Gag mAb (R187, 0.4 μg/ml) and anti-Env pAb (8.5 μg/ml) as the positive control. Arrow head, GST-fused Gag Capsid protein; SU, Env surface subunit; rSU, recombinant Env surface subunit of xenotropic MLV; TM, Env TM subunit; CA, Gag capsid protein.

Table 2 Cross-reactivities with MoMLV proteins

Population	(-)	(+)
Healthy donors	5	3
Patients with PC*	1	
Patients with CFS	1	1
Total	7	4

The XMRV Ab-positive cases were categorized as having (+) or not having (-) cross-reactivities with Gag proteins of MoMLV.

*Cross-reactivity was not examined in one Ab-positive patient with PC (P28) because additional plasma from this patient was not available.

sensitivities of our PCR tests with primer sets indicated in Figure 6A were determined using genomic DNA extracted from 293T cells infected with 22Rv1 cell-derived XMRV (Figure 6B and 6C). The detection limit of both PCR tests was calculated as approximately 1.5 cell equivalents of genomic DNA from 293T cells infected with 22Rv1 cell-derived XMRV. In screening PCR tests, we observed several nonspecific bands but the XMRV gene was not amplified as shown in Figure 6D. Although bands of a similar size to that expected were occasionally observed, sequencing analysis indicated that they contained human genomic DNA rather than XMRV genes (data not shown).

In the Japanese Red Cross Osaka Blood Center, we performed nested RT-PCR analysis of the *gag* region by using plasma RNA (Figure 5A), and a real-time TaqMan PCR assay of genomic DNA to amplify the *env* region (data not shown) if the patients tested positive for Abs. We observed no positive results from the PCR assays performed at the three independent laboratories or this additional PCR test, indicating that there were no detectable amounts of XMRV DNA in the blood of CFS patients, although two of 100 patients tested positive for the XMRV Gag Ab (Figure 2E, 3B, and 3D, and Table 1).

Discussion

In this study, we identified a small number of people who possessed Abs against XMRV Gag CA, regardless of gender or disease condition (PC and CFS), but none of the individuals in the three tested populations retained strong Ab responses to multiple XMRV proteins. We were unable to isolate XMRV from the blood of PC patients and detected no XMRV genes in the blood of any CFS patients.

We screened blood donors and patients with PC and CFS for XMRV Abs using a similar method to that developed as our in-house confirmatory test for human T-lymphotropic virus (HTLV)-1 infection in Japanese blood donors in the late 1980s, as no XMRV-positive human plasma was available to validate XMRV Ab tests.

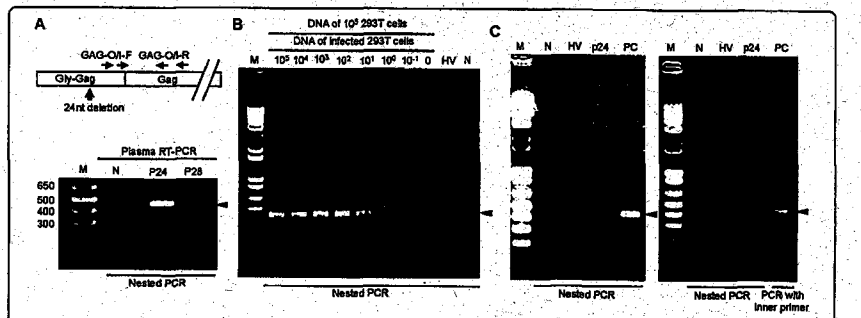


Figure 4 Detection of XMRV genes from viral Ab-positive PC patients. (A) Primer positions used in the PCR assay (upper panel). Gly-Gag; homologous region to glycosylated Gag of MLVs at the NH_2 terminus of Gag. RNAs purified from the plasma of viral Ab-positive PC patients (P24 and P28) were used in a nested RT-PCR with primers GAG-O-F/R and GAG-I-F/R. Unnecessary lanes between the negative control without template RNA (N) and P24 have been removed from the original image (lower panel). (B) The detection limit of nested genomic PCR. Genomic DNA extracted from serially diluted 293T cells infected with 22Rv1 cell-derived XMRV (indicated as 10^5–0) was mixed with genomic DNA extracted from 10^5 293T cells. For one reaction of PCR with a volume of 20 μl, 100 ng of each DNA mixture was used. The final concentration of viral genome contained in a PCR reaction was calculated as 7610.5-0.152 cell equivalents of genomic DNA from 293T cells infected with 22Rv1 cell-derived XMRV (corresponding to the lanes indicated as 10^5-10^{-1} of infected 293T cells). The detection limit of the nested PCR was calculated as approximately 1.5 cell equivalents (indicated as "10^0"). (C) Inconsistent results of nested genomic PCR tests for XMRV using genomic DNA extracted from PBMCs. In a 20 μL volume, 100 ng genomic DNA were used for amplification. Nested genomic PCRs were performed on September 17 (left) and September 18 (right), 2008. M, molecular size marker; N, negative control without nucleic acids; P24 and P28, nucleic acids purified from PBMCs of P24 or P28; HV, genomic DNA of healthy volunteer; PC, diluted XMRV VP62 plasmid; arrow head, amplified band using inner primer pair.

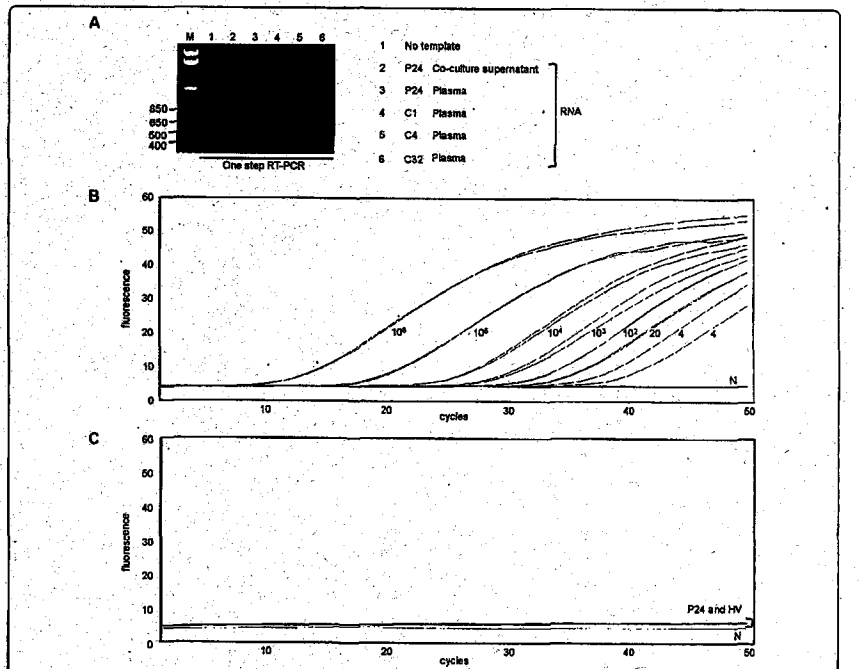


Figure 5 Detection of XMRV RNA and DNA in viral Ab-positive samples. (A) RNA was purified from 1 mL of coculture supernatant of activated PBMCs and LNCap-FGC cells (lane 2) or 1 ml plasma (lanes 3-6). For one-step RT-PCR, 15 μl of 60 μl eluted RNA was amplified in a 25 μl volume. CFS patients C4 and C32 tested positive for XMRV Abs but C1 was negative. (B) Detection of XMRV *env* by TaqMan real-time PCR assay. Duplicated test samples of diluted XMRV plasmid (VP62) were amplified. The detection limit of the TaqMan real-time PCR was 4 copies/reaction determined by VP62 plasmid. (C) Duplicated test samples without template DNA in negative control (N) or with genomic DNA extracted from PBMCs of a viral Ab-positive PC patient (P24) and healthy volunteers (HV) were amplified as for (B).

Unlike HTLV and HIV infection, XMRV-positive plasma bound only to Gag CA proteins in our study. However, in feline gammaretrovirus infections, immune responses are not always strong enough to induce a detectable amount of Abs [21]. In an animal study of XMRV infection, Qiu and colleagues [22] found that rhesus macaques intravenously inoculated with 3.6×10^6 50% tissue culture infective dose of XMRV showed good Ab responses against Env SU, Env transmembrane subunit (TM), and Gag proteins. In this animal model, transient viremia was observed for less than 2 weeks, but the Ab responses prolonged over 100 days post-inoculation and declined thereafter without boosting, despite high-dose viral inoculation [22]. These data suggest that XMRV replication is relatively limited *in vivo* to induce lasting immune responses compared with HIV and HTLV infection. Alternatively, the anti-Gag CA Abs we observed could account for cross-reactivity with other immunogens, although seven of 11 Ab-positive plasma samples showed high specificity to XMRV Gag (Figure 3E and Table 2). In addition, Western blotting of 2262 blood donors by Qiu and colleagues identified two blood donors positive for anti-p30 (CA) Ab and one positive for anti-gp70 (Env SU) [22]. These Ab-positive blood donors showed no multiple reactivities to viral antigens, as observed in the present study, but the prevalence of the single antigen-reactive donor was much lower than that in our current result (0.13% vs. 1.6%,

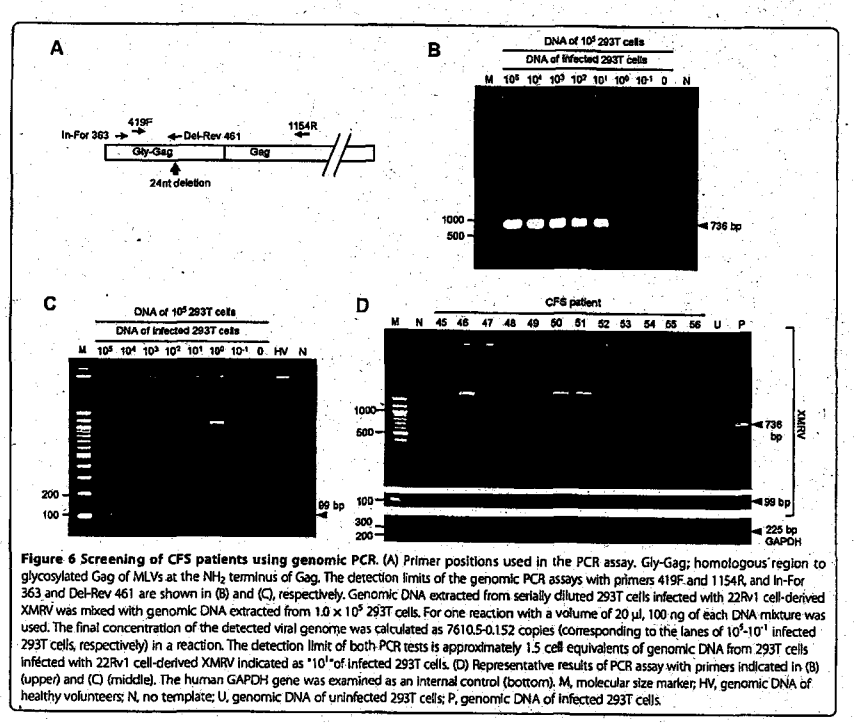


Figure 6 Screening of CFS patients using genomic PCR. (A) Primer positions used in the PCR assay. Gly-Gag; homologous region to glycosylated Gag of MLVs at the NH_2 terminus of Gag. The detection limits of the genomic PCR assays with primers 419F and 1154R, and In-For 363 and Del-Rev 461 are shown in (B) and (C), respectively. Genomic DNA extracted from serially diluted 293T cells infected with 22Rv1 cell-derived XMRV was mixed with genomic DNA extracted from 1.0×10^5 293T cells. For one reaction with a volume of 20 μl, 100 ng of each DNA mixture was used. The final concentration of the detected viral genome was calculated as 7610.5-0.152 copies (corresponding to the lanes of 10^5-10^{-1} infected 293T cells, respectively) in a reaction. The detection limit of both PCR tests is approximately 1.5 cell equivalents of genomic DNA from 293T cells infected with 22Rv1 cell-derived XMRV indicated as "10^1"of infected 293T cells. (D) Representative results of PCR assay with primers indicated in (B) (upper) and (C) (middle). The human GAPDH gene was examined as an internal control (bottom). M, molecular size marker; HV, genomic DNA of healthy volunteers; N, no template; U, genomic DNA of uninfected 293T cells; P, genomic DNA of infected 293T cells.

respectively). It is possible that the positive reaction to CA protein might include more cross-reactivity in our study. Further investigation of human plasma collected from individuals clearly infected with XMRV is required to verify our Ab screening results.

At the beginning of our study, the presence of XMRV in the blood of PC patients had not been reported; however, we speculated that XMRV might infect blood cells similar to the infection of PBMCs by other gammaretroviruses [23]. We obtained positive nested RT-PCR results on plasma collected from the Ab-positive PC patient only with extensive PCR conditions of 50 cycles using outer and inner primer pairs (Figure 4A, P24). We were, however, unable to consistently detect the XMRV gene in the same patient 4 and 15 months later using freshly collected blood samples. Co-cultivation of activated PBMCs by Concanavalin A and IL-2 with the LNCap-FGC cell line, which is highly susceptible to XMRV [17], gave rise to devastating LNCap-FGC cell death (data not shown), and we were unable to detect XMRV genes in the cell culture (Figure 5A). Our data suggest that P24 was perhaps infected with XMRV or some related viruses, but viral replication in the blood was somewhat limited. If this is the case, the prevalence of XMRV in PC patients (one of 67 patients) would be relatively close to that previously reported [5]. We cannot, however, exclude the possibility that the positive P24 signal in the PCR assays was caused by contamination, as discussed recently [24-26]. We did not PCR-amplify mouse-derived genetic materials [24,25] because of the lack of remaining P24 test sample that tested positive for XMRV PCR, although we did use a hot start Taq polymerase that is inactivated not by anti-Taq mouse mAbs but by chemical modification in our RT-PCR test [26].

We were unable to detect XMRV DNA or RNA in CFS patients, in accordance with the results of some previous studies [8-12]. It is unlikely that our detection

procedures caused such a big difference from those studies that reported a prevalence of 67% or 86.5% [2,7], because all studies employed highly sensitive PCR methods. The difference may instead be explained by the characteristics of patient populations. All CFS patients in our study met the Centers of Disease Control and Prevention (CDC) diagnostic criteria [27]; however, the currently employed diagnosis of CFS is not based on objective and quantitative measures but on the claims of patients and some authorized criteria.

Although our results of Ab screening are ambiguous, we conclude that XMRV infection is not involved in the onset and/or progression of PC and CFS in the population we screened. Even if the Abs we detected, or at least the XMRV-specific ones, were caused by XMRV infection, there was no statistically significant difference in the serological prevalence of XMRV among the three populations of the study. Moreover, the negative or inconsistent PCR results in the Ab-positive patients can be explained by the limited replication of XMRV *in vivo*. Alternatively, by assuming that the Ab reaction is attributable to cross-reactivity, the negative PCR results likely indicate the absence of XMRV infection in patients. In either case, our results do not support an association between XMRV and CFS, in line with previous findings [8-12].

Retroviral integration is theoretically harmful to the host cell because it disrupts the host genome. To reduce the risk of XMRV infection during blood transfusion, a reliable screening strategy should be established. The implementation of such a screening or inactivation protocol for blood products, however, will be influenced by the evaluation of the prevalence of XMRV by a universal test with high sensitivity and specificity, which must be urgently developed.

Conclusions

Our data for Japanese blood donors, PC patients and CFS patients imply that there is no association between the onset of PC or CFS and XMRV infection, although the lack of adequate human specimens as a positive control and the limited sample size do not allow us to draw an ultimate conclusion.

Methods

Sample collection

Plasma samples randomly collected from healthy donors ($n = 500$) at the Japanese Red Cross Osaka Blood Center between December 2006 and May 2009 were subjected to XMRV Ab screening. All donors had negative results in the routine tests at the Center: antigen testing of hepatitis B virus (HBV) and human parvovirus B19; Ab testing against HBV, hepatitis C virus (HCV), HIV-1, HIV-2, HTLV-1, and syphilis; nucleic acids of HIV-1, HIV-2, HBV, and HCV. All procedures in the donor screening study were performed according to the guidelines of the Japanese Red Cross Society, which do not permit the detection of nucleic acids from unapproved viruses.

All patients with PC enrolled in this study ($n = 67$) received medical treatment at Nishiwaki City Hospital (Hyogo Prefecture, Japan) between December 2007 and December 2009, when plasma samples were collected, and provided written informed consent. Whole blood samples in ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) were separated by centrifugation, and the plasma was stored at -80°C until use. PBMCs of the patients who tested positive for XMRV Abs and RNA were used for *RNA-SEL* sequencing and viral isolation. This study was approved by the ethical committee of Nishiwaki City Hospital.

CFS patients in this study fulfilled the 1994 CDC Fukuda criteria [27] and received medical treatment at the Fatigue Clinic Center, Osaka City University Graduate School of Medicine, Osaka, Japan between April and August 2010. Most of the patients were female (69%) with an age distribution of 17-62 years (mean, 38 years). The mean interval from disease onset to blood collection was 126.5 months (11-337 months). Duplicated tubes of 4 ml of whole blood in EDTA were used for Ab screening and genomic PCR assay. Whole blood samples were also collected into sodium heparin tubes (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) for cell culture. All blood samples were conveyed to the Japanese Red Cross Osaka Blood Center and genomic DNA was purified from them on the same day. Three aliquots of genomic DNA purified from one patient were independently analyzed at three laboratories. This study was approved by the Ethics Committee of Osaka City University Graduate School of Medicine and all blood samples were collected with written informed consent.

Cell lines and culture

Human 293T and 22Rv1 cells were obtained from the American Type Culture Collection (CRL-1537 and CRL-2525, respectively; ATCC, Manassas, VA). Human prostate cancer cell line LNCap-FGC was obtained from the RIKEN Cell Bank (Tukuba, Japan), and the GP293 packaging cell line was purchased from Clontech Laboratories (Mountain View, CA). These cells were grown in Dulbecco's modified essential medium supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS) and antibiotics. Rat hybridoma cell line R187 was obtained from ATCC (CRL-1912) and maintained in RPMI-1640 medium supplemented with 50 nM 2-mercaptoethanol, 10% FBS, and antibiotics. Before collecting the culture supernatant, the growth medium was replaced with CD Hybridoma medium (Invitrogen, Carlsbad, CA)

supplemented with 8 mM l-glutamine. For recombinant Env production, Sf9 and High Five cells (Invitrogen) were maintained in Sf-900 III SFM and Expressed Five medium (Invitrogen), respectively.

Control antibodies

IgG proteins in culture supernatants from R187 cells, prepared against SFFV Gag and able to react with Gag capsid proteins from a wide variety of gammaretroviruses [28], were purified using a protein G affinity column (MabTrap Kit; Amersham Biosciences, Piscataway, NJ). For anti-Env Abs, rabbits were immunized with a mixture of two peptides (PRVPIGPNPV[C] of Env SU and [C]QFEQLAAIHTDLG of Env TM; [C] indicates an additional cysteine residue for peptide purification), and their antisera were collected and purified after five immunization steps with a Protein A affinity column (GE Healthcare, Buckinghamshire, UK). Concentrations of the purified R187 mAb and anti-Env pAb were 4.0 mg/ml and 8.5 mg/ml, respectively.

Antibody screening

An infectious XMRV molecular clone, pcDNA3.1-VP62, was provided by Dr. R. H. Silverman. To produce the viral particles, 293T cells were transfected with pcDNA3.1-VP62 by a liposome method (Lipofectamine LTX; Invitrogen). Two days after transfection, the culture supernatant was collected, filtered, and concentrated 20 times by centrifugation at 20,000 × *g* for 4 h at 4°C. The concentrated virus was suspended in a Laemmli SDS sample buffer. As a negative control, we prepared an env-defective HIV-1 virus (pNLΔenv, provided by Dr. A. Adachi) by using the same method as for XMRV. A MoMLV-derived retrovirus vector was produced using the GP293 cell line, with or without transfection of an amphotropic Env expression vector (provided by Dr. D. R. Littman). Viral proteins were separated by 5-20% gradient SDS-PAGE and either stained with SYPRO Ruby (Bio-Rad, Hercules, CA) or transferred to a polyvinylidene difluoride membrane (Wako Pure Chemical Industries, Osaka, Japan) cut into strips. After blocking with 5% skimmed milk in Tris-buffered saline (TBS), the strips were incubated with 1:100 diluted donor or patient plasma samples at 4°C overnight. After washing with TBS containing 0.05% Tween-20, the strips were incubated with 1:5,000 diluted horseradish peroxidase (HRP)-conjugated anti-human IgG Ab (GE Healthcare), and detected by ECL Plus (GE Healthcare). For endpoint dilutions, a pair of strips was blotted with 0.8 μg/ml-6.25 ng/ml (1:5,000-1: 640,000) R187 mAb and detected using 1:5,000 diluted HRP-conjugated anti-rat IgG (H+L) secondary Ab (Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, PA) for Gag, or blotted with 8.5 μg/ml-66.4 ng/ml (1:1,000-1:128,000) anti-Env pAb and detected using 1:2,500 diluted HRP-conjugated anti rabbit IgG (GE Healthcare).

Other immunoblot assays

To produce GST-fused XMRV Gag CA protein, a 789-bp fragment of the CA gene was amplified using genomic DNA of 293T cells infected with XMRV derived from 22Rv1 cells, and cloned into the pET-42b(+) vector (Merck KGaA, Darmstadt, Germany). The GST-CA protein was purified by a Glutathione-Sepharose 4B column (GE Healthcare) from bacterial lysate of BL21 Star (DE3) (Invitrogen) transformed by the GST-fused CA expression plasmid. To produce His-tagged recombinant Env SU of xenotropic MLV [19], a PCR-amplified *env* SU region was cloned into pcDNA3.1myc/His (Invitrogen) followed by subcloning of an env-His DNA fragment into the Bac-to-Bac Baculovirus Expression System (Invitrogen). The supernatant of Sf9 cells transfected with the bacmid was used for infection of HighFive cells. Recombinant Env proteins collected from the culture supernatant of infected cells were purified using a HisTrapHP column (GE Healthcare). In the native-PAGE, concentrated viruses were suspended with native sample buffer (Native Sample Buffer; Bio-Rad) and separated on a 5-20% gel in a Tris-glycine buffer (25 mM Tris-Cl, 192 mM glycine, pH 8.4). The subsequent procedures were for the Ab-screening immunoblot assay.

Detection of viral nucleic acids

For RT-PCR analysis of Ab-positive PC patient samples (Figure 4A), RNA was isolated from 500 μl of plasma using the PureLink Viral RNA/DNA Kit (Invitrogen), and 8 μl of the 10 μl eluted RNA was reverse-transcribed using Superscript III (Invitrogen) with random hexamer primers in a total reaction volume of 10 μl. In the nested PCR assay, 3 μl cDNA or 100 ng genomic DNA of PBMCs was amplified in a 20 μl volume with primer pairs GAG-O-F/R and GAG-I-F/R [1] and AmplyTaq Gold DNA polymerase (Applied Biosystems, Foster City, CA) for 50 cycles. The PCR cycling conditions were as follows: activation at 95°C for 5 min; then 50 cycles of 95°C for 15 *s*, 60°C for 15 s, and 72°C for 60 s (30 s in the second-round PCR); with a final extension at 72°C for 7 min.

To extract genomic DNA from CFS patients, 4 ml of whole blood in EDTA were centrifuged at 1500 × *g* for 10 min at room temperature, and 200 μl of the buffy coat were transferred to a 2 ml tube for DNA purification using the QIAamp Blood Mini Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany). We divided 180 μl of eluted DNA equally into three tubes for analysis at three independent laboratories: Department of Research, Japanese Red Cross Osaka Blood Center, and the Laboratories of Signal Transduction and Viral Pathogenesis, Institute for Virus Research, Kyoto University, Japan. PCR of 1 μg genomic DNA in a 50 μl reaction was performed with primer pairs GAG-O-F/R and GAG-I-F/R [1] for nested genomic PCR (data not shown) or 419F and 1154R [2] and In-For363 and n-Rev536 [6] for single PCR. In the genomic PCRs, we used PrimeSTAR GXL DNA polymerase (Takara Bio, Shiga, Japan) with the following conditions: activation at 98°C for 2 min; then 45 cycles of 98°C for 10 *s*, 63°C for 15 s, and 68°C for 45 *s*; and a final step at 68°C for 2 min. For one-step RT-PCR (Figure 5A), RNAs were purified from 1 ml of 4-day culture supernatants of P24 PBMCs activated with 10 ng/ml concanavaline A (J-Oil Mills, Tokyo, Japan) and 100 U/ml IL-2 (e-Bioscience, San Diego, CA) and maintained with LNCap-FGC cells or patient plasma using a QIAamp Ultrasense Virus Kit (Qiagen). One-step RT-PCR was performed using 15 μl of 60 μl eluted RNA and a 419F and 1154R primer pair [2] and the following conditions: reverse transcription at 50°C for 30 min; activation at 95°C for 15 min; then 45 cycles of 94°C for 30 *s*, 57°C for 30 *s*, and 72°C for 1 min; and a final extension at 72°C for 10 min.

TaqMan real-time PCR tests were performed with 200 ng of genomic DNA, Universal ProbeLibrary, and FastStart TaqMan Probe Master (Roche, Basel, Switzerland) in a total reaction volume of 20 μl with a Rotor-Gene Q thermal cycler (Qiagen). Primer and probe sequences are as follows: 5'-cctagtggccaccaaacaat-3' (Env forward), 5'-ggccccaaggtctgtatgta-3' (Env reverse), and 5'-FAM-gctccagg-3' (Env probe, #1 of Universal ProbeLibrary). The following condition was used: 1 cycle of 95°C for 10 min, and 50 cycles of 95°C for 15 s and 60°C for 45 s.

RNASEL mutation

In patients whose serum tested positive for XMRV RNA, mutations of *RNASEL* at amino acid positions 462 [18] and 541 [20] were examined as previously described [1,20]. PCR-amplified genomic DNA fragments were sequenced using an ABI PRISM 3100 genetic analyzer (Applied Biosystems).

Statistics

Non-parametric analysis was performed with the Mann-Whitney *U*-test to determine any statistical significance in the data. A p value of less than 0.05 was considered to be significant.

Abbreviations

Ab: antibody; ATCC: American Type Culture Collection; CDC: Centers of Disease Control and Prevention; CFS: chronic fatigue syndrome; EDTA: ethylenediaminetetraacetic acid; FBS: fetal bovine serum; HBV: hepatitis B virus; HCV: hepatitis C virus; HIV: human immunodeficiency virus; HRP: horseradish peroxidase; HTLV: human T-lymphotropic virus; IFNγ: interferon-gamma; MLV: murine leukemia virus; PAGE: polyacrylamide gel electrophoresis; PBMC: peripheral blood mononuclear cell; PC: prostate cancer; SDS: sodium dodecyl sulfate; TBS: Tris-buffered saline; XMRV: xenotropic murine leukemia virus-related virus; WT: wild-type.

Acknowledgements

This work was supported by grant-in-aid "virus-37-2007" from the Blood Service Headquarters, Japanese Red Cross Society (RAF) and by a grant from the Bio-oriented Technology Research Advancement Institution (TM). We thank Dr Robert H. Silverman (Cleveland Clinic, Cleveland, OH) for the pcDNA3.1-VP62 XMRV clone, Dr Dan R. Littman (New York University, New York, NY) for pAmpho, and Dr Akio Adachi (Tokushima University, Tokushima, Japan) for the pNL43 env-deleted mutant. We also thank Ms Mika Kagura for collecting the blood samples (Osaka City University, Osaka, Japan), Dr Takayuki Shojima (Kyoto University, Kyoto, Japan) for helping with the experiments, and our colleagues Mr Hideki Aso and Mr Masaki Yasui (Department of Blood Products, Osaka Red Cross Blood Center, Osaka, Japan) for shipping the test blood samples weekly. Finally, we thank the Bio-oriented Technology Research Advancement Institution for technical advice.

Author details

[1]Department of Research, Japanese Red Cross Osaka Blood Center, 2-4-43 Morinomiya, Joto-ku, Osaka 536-8505, Japan. [2]Laboratory of Signal Transduction, Institute for Virus Research, Kyoto University, 53 Shogin Kawaharacho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507, Japan. [3]Department of Urology, Nishiwaki Hospital, 652 Shimotoda, Nishiwaki, Hyogo 677-0043, Japan. [4]Department of Health Science, Kansai University of Welfare Science, 3-11-1 Asahigaoka, Kashiwara, Osaka 582-0026, Japan. [5]Department of Molecular Medicine, Mayo Clinic, College of Medicine, Rochester, MN55905, USA. [6]Laboratory of Viral Pathogenesis, Center for Human Retrovirus Research, Institute for Virus Research, Kyoto University, 53 Shogin Kawaharacho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507, Japan. [7]Department of Metabolism, Endocrinology and Molecular Medicine, Osaka City University Graduate School of Medicine, 1-4-3 Asahicho, Abeno-ku, Osaka 545-8585, Japan. [8]Department of Physiology, Osaka City University Graduate School of Medicine, 1-4-3 Asahicho, Abeno-ku, Osaka 545-8585, Japan. [9]Department of Molecular Virology, Tokyo Medical and Dental University, 1-5-45 Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8519, Japan.

Authors' contributions

RAF conceived and designed the study, coordinated the collaboration, carried out the Ab screening and PCR tests, and drafted the manuscript. TM designed the study, coordinated the collaboration for studies of XRMV infection in CFS patients and attempted to isolate XMRV. TS recruited PC patients and carried out immunohistochemical testing of prostate tissues (data not shown). HK helped in designing the study and recruiting CFS patients. YI developed the real-time PCR test. ES conducted the Ab screening and PCR tests of CFS patients and attempted to isolate XMRV. NM conducted the PCR tests of CFS patients. YN and KY helped in designing the study and recruiting CFS patients. RS participated in the development of the real-time PCR test. KY participated in the Ab screening. FH helped in designing the study and drafting the manuscript. All authors have read and approved the final manuscript.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Received: 3 November 2010 Accepted: 17 March 2011
Published: 17 March 2011

References

1. Urisman A, Molinaro RJ, Fischer N, Plummer SJ, Casey G, Klein EA, Malathi K, Magi-Galluzzi C, Tubbs RR, Ganem D, Silverman RH, DeRisi JL: Identification of a novel gammaretrovirus in prostate tumors of patients homozygous for R462Q *RNASEL* variant. *PLoS Pathog* 2006, 2:e25.
2. Lombardi VC, Ruscetti FW, Das Gupta J, Pfost MA, Hagen KS, Peterson DL, Ruscetti SK, Bagni RK, Petrow-Sadowski C, Gold B, Dean M, Silverman RH, Mikovits JA: Detection of an infectious retrovirus, XMRV, in blood cells of patients with chronic fatigue syndrome. *Science* 2009, 326:585-589.
3. Zhou A, Hassel BA, Silverman RH: Expression cloning of 2-5A-dependent RNAase: a uniquely regulated mediator of interferon action. *Cell* 1993, 72:753-765.

4. Schlaberg R, Choe DJ, Brown KR, Thaker HM, Singh IR: XMRV is present in malignant prostatic epithelium and is associated with prostate cancer, especially high-grade tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009, 106:16351-16356.
5. Fischer N, Hellwinkel O, Schulz C, Chun FK, Huland H, Aepfelbacher M, Schlomm T: Prevalence of human gammaretrovirus XMRV in sporadic prostate cancer. *J Clin Virol* 2008, 43:277-283.
6. Hohn O, Krause H, Barbarotto P, Niederstadt L, Beimforde N, Denner J, Miller K, Kurth R, Bannert N: Lack of evidence for xenotropic murine leukemia virus-related virus (XMRV) in German prostate cancer patients. *Retrovirology* 2009, 6:92.
7. Lo SC, Pripuzova N, Li B, Komaroff AL, Hung GC, Wang R, Alter HJ: Detection of MLV-related virus gene sequences in blood of patients with chronic fatigue syndrome and healthy blood donors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010, 107:15874-15879.
8. Erlwein O, Kaye S, McClure MO, Weber J, Wills G, Collier D, Wessely S, Cleare A: Failure to detect the novel retrovirus XMRV in chronic fatigue syndrome. *PLoS ONE* 2010, 5:e8519.
9. Groom HC, Boucherit VC, Makinson K, Randal E, Baptista S, Hagan S, Gow JW, Mattes FM, Breuer J, Kerr JR, Stoye JP, Bishop KN: Absence of xenotropic murine leukaemia virus-related virus in UK patients with chronic fatigue syndrome. *Retrovirology* 2010, 7:10.
10. van Kuppeveld FJ, de Jong AS, Lanke KH, Verhaegh GW, Melchers WJ, Swanink CM, Bleijenberg G, Netea MG, Galama JM, van der Meer JW: Prevalence of xenotropic murine leukaemia virus-related virus in patients with chronic fatigue syndrome in the Netherlands: retrospective analysis of samples from an established cohort. *BMJ* 2010, 340:c1018.
11. Switzer WM, Jia H, Hohn O, Zheng HQ, Tang S, Shankar A, Bannert N, Simmons G, Hendry RM, Falkenberg VR, Reeves WC, Heneine W: Absence of evidence of Xenotropic Murine Leukemia Virus-related virus infection in persons with Chronic Fatigue Syndrome and healthy controls in the United States. *Retrovirology* 2010, 7:57.
12. Hong P, Li J, Li Y: Failure to detect Xenotropic murine leukaemia virus-related virus in Chinese patients with chronic fatigue syndrome. *Virol J* 2010, 7:224.
13. Enserink M: Chronic fatigue syndrome. Conflicting papers on hold as XMRV frenzy reaches new heights. *Science* 2010, 329:18-19.
14. Battini JL, Rasko JE, Miller AD: A human cell-surface receptor for xenotropic and polytropic murine leukemia viruses: possible role in G protein-coupled signal transduction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999, 96:1385-1390.
15. Tailor CS, Nouri A, Lee CG, Kozak C, Kabat D: Cloning and characterization of a cell surface receptor for xenotropic and polytropic murine leukemia viruses. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999, 96:927-932.
16. Yang YL, Guo L, Xu S, Holland CA, Kitamura T, Hunter K, Cunningham JM: Receptors for polytropic and xenotropic mouse leukaemia viruses encoded by a single gene at *Rmc1*. *Nat Genet* 1999, 21:216-219.
17. Dong B, Kim S, Hong S, Das Gupta J, Malathi K, Klein EA, Ganem D, Derisi JL, Chow SA, Silverman RH: An infectious retrovirus susceptible to an IFN antiviral pathway from human prostate tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007, 104:1655-1660.
18. Casey G, Neville PJ, Plummer SJ, Xiang Y, Krumroy LM, Klein EA, Catalona WJ, Nupponen N, Carpten JD, Trent JM, Silverman RH, Witte JS: RNASEL Arg462Gln variant is implicated in up to 13% of prostate cancer cases. *Nat Genet* 2002, 32:581-583.
19. Takeuchi Y, Patience C, Magre S, Weiss RA, Banerjee PT, Le Tissier P, Stoye JP: Host range and interference studies of three classes of pig endogenous retrovirus. *J Virol* 1998, 72:9986-9991.
20. Nakazato H, Suzuki K, Matsui H, Ohtake N, Nakata S, Yamanaka H: Role of genetic polymorphisms of the *RNASEL* gene on familial prostate cancer risk in a Japanese population. *Br J Cancer* 2003, 89:691-696.
21. Gardner MB, Brown JC, Charman HP, Stephenson JR, Rongey RW, Hauser DE, Diegmann F, Howard E, Dworsky R, Gilden RV, Huebner RJ: FeLV epidemiology in Los Angeles cats: Appraisal of detection methods. *Int J Cancer* 1977, 19:581-589.
22. Qiu X, Swanson P, Luk KC, Tu B, Villinger F, Das Gupta J, Silverman RH, Klein EA, Devare S, Schochetman G, Hackett J Jr: Characterization of antibodies elicited by XMRV infection and development of immunoassays useful for epidemiologic studies. *Retrovirology* 2010, 7:68.
23. Tailor CS, Lavillette D, Marin M, Kabat D: Cell surface receptors for gammaretroviruses. *Curr Top Microbiol Immunol* 2003, 281:29-106.
24. Robinson MJ, Erlwein OW, Kaye S, Weber J, Cingoz O, Patel A, Walker MM, Kim WJ, Uprasertkul M, Coffin JM, McClure MO: Mouse DNA contamination in human tissue tested for XMRV. *Retrovirology* 2010, 7:108.
25. Oakes B, Tai AK, Cingöz O, Henefield MH, Levine S, Coffin JM, Huber BT: Contamination of human DNA samples with mouse DNA can lead to false detection of XMRV-like sequences. *Retrovirology* 2010, 7:109.
26. Sato E, Furuta RA, Miyazawa T: An Endogenous Murine Leukemia Viral Genome Contaminant in a Commercial RT-PCR Kit is Amplified Using Standard Primers for XMRV. *Retrovirology* 2010, 7:110.
27. Fukuda K, Straus SE, Hickie I, Sharpe MC, Dobbins JG, Komaroff A: The chronic fatigue syndrome - a comprehensive approach to its definition and study. *Annals of Internal Medicine* 1994, 121:953-959.
28. Chesebro B, Britt W, Evans L, Wehrly K, Nishio J, Cloyd M: Characterization of monodonal antibodies reactive with murine leukemia viruses: use in analysis of strains of friend MCF and Friend ecotropic murine leukemia virus. *Virology* 1983, 127:134-148.

doi:10.1186/1742-4690-8-20
Cite this article as: Furuta *et al.*: No association of xenotropic murine leukemia virus-related virus with prostate cancer or chronic fatigue syndrome in Japan. *Retrovirology* 2011, 8:20.

JVI Accepts, published online ahead of print on 4 May 2011
J. Virol. doi:10.1128/JVI.00693-11

文献 2

Absence of XMRV and other MLV-related viruses in patients with Chronic Fatigue Syndrome

Running Title: Absence of XMRV and other MLV-related viruses in CFS

Clifford H. Shin[1]
Lucinda Bateman[2]
Robert Schlaberg[1]
Ashley M. Bunker[3]
Christopher J. Leonard[1]
Ronald W. Hughen[4]
Alan R. Light[4]
Kathleen C. Light[4]
Ila R. Singh[1]*

[1]Department of Pathology, University of Utah, Salt lake City, Utah, 84112
[2]Fatigue Consultation Clinic, Salt Lake City, Utah, 84102
[3]ARUP Laboratories, Salt Lake City, Utah, 84108
[4]Department of Anesthesiology, University of Utah, Salt Lake City, Utah, 84112

*Corresponding author:
Mailing address: Emma Eccles Jones Medical Research Building, Department of Pathology, 15 North Medical Drive East, Suite #2100, Salt Lake City, UT 84112
Phone: (801) 213-3737
Fax: (801) 585-7376
Email: ila.singh@path.utah.edu

Abstract

Chronic fatigue syndrome (CFS) is a multi-system disorder characterized by prolonged and severe fatigue that is not relieved by rest. Attempts to treat CFS have been largely ineffective primarily because the etiology of the disorder is unknown. Recently CFS has been associated with xenotropic murine leukemia virus-related virus (XMRV) as well as other murine leukemia virus (MLV)-related viruses, though not all studies have found these associations. We collected blood samples from 100 CFS patients and 200 self-reported healthy volunteers from the same geographical area. We analyzed these in a blinded manner using molecular, serological and viral replication assays. We also analyzed samples from patients in the original study that reported XMRV in CFS. We did not find XMRV or related MLVs, either as viral sequences or infectious virus, nor did we find antibodies to these viruses in any of the patient samples, including those from the original study. We show that at least some of the discrepancy with previous studies is due to the presence of trace amounts of mouse DNA in the Taq polymerase enzymes used in these previous studies. Our findings do not support an association between CFS and MLV-related viruses including XMRV and off-label use of antiretrovirals for the treatment of CFS does not seem justified at present.

JVI Accepts published online ahead of print

Introduction

Chronic fatigue syndrome, a disorder characterized by severe debilitating fatigue along with variable presence of post-exertion malaise, joint and muscle aches, headache, sore throat, tender lymph nodes, unrefreshing sleep and cognitive deficits, has had an uncertain etiology since its recognition. An estimated 0.4 to 4% of the US population suffers from this disease (9, 17, 18). While a series of infectious agents and environmental toxins have been proposed to be linked with CFS, none have been universally associated (2). In late 2009, XMRV, a recently discovered retrovirus was detected in the blood of 68% of patients with CFS (12). More recently, another study detected sequences related to XMRV, viz. those belonging to a polytropic murine leukemia virus (PMV) in 86.5% of CFS patients and in only 6.8% of healthy controls (11). There have also been studies that failed to detect XMRV in CFS patients in the US (6, 21, 24), in Europe (3, 5, 25) and in China (7). However, there were several confounding factors with many of these studies including differences in patient characterization, differences in geographical locations of patients vs. controls, differences in samples (whole blood vs. leukocytes vs. plasma), and many differences in methods used to detect virus. For example, both studies that found a retroviral association in CFS selected their patients and controls from completely different geographical regions (11, 12). This approach could result in a spurious association if regional differences among prevailing viruses result in detection of virus from one region but not from another. Control populations were often small, as few as 43 in one study (25), and patient and control samples were often collected at different times, sometimes several years apart (11), leaving open the possibility that patient samples might have been handled more – and thus possibly contaminated more easily than controls. Furthermore, in all except a subset of samples from one study (12), investigators were not blinded to the identity of samples. In all but two studies that

failed to detect virus in association with CFS (5, 24), only PCR-based assays were used, thus relying heavily on conservation of retroviral sequences. The limits of detection, reproducibility and precision of the assays used in different studies were not known, making it difficult to distinguish the lack of ability to detect XMRV from a genuine absence of XMRV from samples. Furthermore, tests that had resulted in more frequent detection of XMRV, such as growth of virus in cultured cells (14), were not used in subsequent studies. Adequate controls for each step of the analysis, such as controls that would flag contamination occurring during the nucleic acid extraction process, were mostly lacking. Furthermore, the number of negative controls should equal or exceed the expected prevalence of the virus in the control population. It is not clear if any of the studies employed more than one negative control per experiment, which would be important for the detection of a low incidence of sample contamination. Finally, none of the studies tested samples from the same patients that were found to be positive in the original study by Lombardi *et al* (12). In line with our own recommendations for an accurate study (23) we incorporated all of these factors in the design of the investigation reported here, and have performed what we believe is the most comprehensive study to date on the proposed association of XMRV and other related viruses with CFS.

We enrolled 105 CFS patients, including 100 who fulfilled both the 1994 case definition of the CDC (4) as well as the criteria defined by the Canadian consensus document on myalgic encephalomyelitis ME/CFS (1). Patients and 200 healthy volunteers were all from the greater Salt Lake City area. Blood samples from both patients and healthy volunteers were prospectively collected and processed in parallel. In conjunction with a third-party phlebotomy service, we also collected, in a blinded manner, samples from 14 patients in the cohort used in the original CFS-

JVI Accepts published online ahead of print

XMRV study performed at the Whittemore Peterson Institute (WPI) (12). For virus detection, we utilized four different TaqMan qPCR assays, PCR assays that had resulted in detection of XMRV or MLV-like sequences in previous studies (11, 12) and an ELISA, to look for XMRV sequences and antibodies in all of our samples. A subset of samples was analyzed by Western blots. From some samples we also attempted to grow virus in cell culture, a technique outlined in the original study (12) and though labor-intensive, has been proposed to be the most sensitive method for viral detection (14). All samples were processed and tested in a blinded manner.

Materials and Methods

Patient and participant selection

We initially identified 150 patients from a clinic that specializes in the diagnosis and management of CFS and fibromyalgia. All patients had been diagnosed with CFS using the CDC-Fukuda criteria (4) in a clinical setting by a board certified clinician (LB). The vast majority of these patients had been serially assessed and managed by LB for many years to verify the CFS diagnosis as primary and to treat symptoms and any comorbid conditions. Each patient was subjectively assigned a severity score by the clinician (1 = severely ill, dependent on help; 2 = moderate to severely ill, not able to sustain a regular schedule of part-time work or school; or 3 = moderately ill, able to sustain at least part-time work or school). All subjects were recruited for the study by telephone contact within a one-week period, starting with the more impaired, until 105 patients had successfully enrolled. At enrollment, subjects were screened to determine if they met the Canadian consensus criteria (1), and all but 5 qualified for both case definitions. Subjects were administered the Rand SF-36 (26). The participants were 68% female which is consistent with females being afflicted with CFS in greater numbers.

Controls consisted of 100 healthy males and 100 healthy females by self report, all employed at Salt Lake City. Participants were recruited via email and enrolled after informed consent under University of Utah IRB protocol #7740.

CFS onset, duration and life impact:

CFS onset was reported to be associated with viral-like symptoms in 72% of patients. Seventeen patients had participated in the Phase III Clinical trial of Ampligen (AMP516), which required viral-like onset inclusion criteria. Age of CFS onset was under 50 years in 92% of all enrolled, with 16% under age 20, 76% age 20-50, and 8% over 50. Average duration of illness was 16 years, ranging from 2 to 60 years. The patients had been under the care of the CFS clinician for an average of 6 years, with 80% from 5-10 years, the newest under care for 2 months and the longest 16 years. Patients had been sick an average of 9 years before initial consultation at the clinic.

To assess life impact of CFS, the subjects were administered the Rand SF-36 on the day of the blood draw. Developed as a 36 item self-report instrument for the Medical Outcomes Study, the SF-36 assesses overall health status through 8 subscale domains: 1) health-related limitations in physical functioning, 2) limitations in social functioning, 3) limitations of usual life role activities due to physical factors, 4) limitations of usual life role activities due to emotional factors, 5) pain, 6) emotional well-being/psychological distress, 7) energy/fatigue, and 8) general health (26). Using the Rand scoring method, scores on these 8 subscales range from 0 for most severe symptoms to a best score of 100. In our sample of patients, 78% of participants scored

JVI Accepts published online ahead of print

<50 on the Physical Function subscale, 88% of participants scored 0 on the Role Functioning due to Physical Factors subscale, and 92% of participants scored <25 on the Energy/Fatigue subscale. These scores indicate a high level of physical disability and limitations on ability to work, to care for home or family, or perform self-care due to physical factors in this sample.

Participant characteristics

The average age of females was 34.6 yr (median 30 yr) and average BMI (Body Mass Index) 23.7. Twenty percent had a family history of prostate cancer, 18 of which included blood-relatives (4% did not know about family history of prostate cancer). One female reported a diagnosis of fibromyalgia, and 17% reported a family history of CFS/fibromyalgia, 14 of which included blood-relatives (4% did not know about family history of CFS/Fibromyalgia). The average age of males was 34.6 yr (median 33 yr) and the average BMI was 27.6. No participant had ever been diagnosed with prostate cancer. Fourteen percent had a family history of prostate cancer, 12 of which included blood-relatives (1% did not know family history of prostate cancer). No males reported a diagnosis of fibromyalgia; however 13% reported a family history of CFS/fibromyalgia, 10 of which were blood-relatives.

Blood sampling protocol

Immediately after arrival at the clinic, subjects were given full details about the study verbally and in writing, had all questions answered, and provided informed consent in writing according to a protocol approved by the University of Utah IRB. For 15 min on average, they sat quietly and completed self-report questionnaires, then had blood drawn. The clinical research division of ARUP Laboratories, Salt Lake City, Utah, collected blood samples from all 300 individuals

within a period of 3 weeks. Blood was collected into 8.5ml vacutainer tubes (Becton-Dickinson): 2 EDTA and 1 serum separator. After allowing the blood to clot at room temperature for 30 min, the serum separator tube was spun for 10 min at 3,000 rpm. Serum aliquots of 1 ml were frozen in cryovials at -80°C. From the EDTA tubes, 1ml of whole blood was removed and stored at -80°C in cryovials (Nunc). The remaining volume was spun for 10 min at 3,000 rpm and plasma aliquots of 1ml were frozen in cryovials at -80°C. The buffy coats were removed and combined into a 15ml falcon tube for each individual and 7ml of ACK lysis buffer (28) was added to the tube to clear red blood cells. The tube was inverted 5 times, incubated at room temperature for 10 minutes, and centrifuged at 3,000 rpm for 5 min The supernatant was discarded and the pellet resuspended in 10ml of wash buffer (PBS, 2mM EDTA). After spinning for 5 min at 3,000 rpm, the pellet was divided into three aliquots: one in 1ml of fetal calf serum containing 10% v/v DMSO, another in 1ml of RLT buffer containing guanidine isothiocyanate and 1% beta-mercaptoethanol (Qiagen), and the third without any buffer. All aliquots were stored in cryovials at -80°C.

Nucleic acid extraction from buffy coat and whole blood

Nucleic acid from buffy coat was extracted using the DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen) following manufacturer's directions. One extraction control was included for every 7 samples that were extracted.

PCR – quantitative and nested

All qPCRs were done using the TaqMan probe system on a 7900HT Real Time PCR System with a standard 96-well block module (Applied Biosystems). Each 20µlreaction contained 1x

JVI Accepts published online ahead of print

TaqMan Universal PCR Master Mix, 900nM forward and reverse primers, 250mM TaqMan probe, and 400-1,000 ng of DNA or 5µlof water. Thermocycling conditions were 50°C for 2 min, 95°C for 10 min, followed by 45 cycles of 95°C for 15 sec and 60°C for 1 min Four XMRV amplicons were used, 63bp in LTR, 157bp in *gag*, 65bp product in *pol*, and 86bp product in *env*. The 63bp LTR product was composed of 47F (5'- AATAAAGCCTTTTGCTGTTTGCA-3'), 109R (5'- GAGGAGACCCTCCCAAGGAA-3'), and 74MGB (5'-6FAM-AAGCGTGGCCTCGC-MGB-3'). The 157bp *gag* product was composed of 505F (5'-GAATTTTTGCTTTCGGTTTTACG-3'), 663R (5'-TCCCCAGTGCTGCAAGGT-3'), and 618MGB (5'-TET- ACAGACCGTAACTACC-MGB-3'). The 65bp *pol* product was composed of 4552F (5'- CGAGAGGCAGCCATGAAGG-3'), 4616R (5'-GCGTATACGGGGTTGAGTCC-3'), and 4572MGB (5'-6FAM-AGTTCTAGAAACCTCTACACTC-MGB-3'). The 86bp *env* product was composed of 6356F (5'- GGATGCCCCCAAAACATG-3'), 6441R (5'- GGACCTGGCGGGTCAGA'3'), and 6393MGB (5'-6FAM- TCCACTGGGGCCGAC-MGB-3'). VAMP assay to assess DNA integrity was composed of 3613F (5'- CCCCACACTTCTGGTTTTCTG-3'), 3690R (5'-CAGCATCTCTCCTACCCTTTCAC-3'), and 3645MGB (5'-TET-AGCAGGGATATCTAAGC –MGB-3'). IAP assay to look for mouse DNA contamination was composed of IAP-F (5'- GCCGCGCCCACATTC-3'), IAP-R (5'-CGCAGATTATTTGTTTACCACTTAGAA-3'), and IAP-MGB (5'-TET-CCGTTACAAGATGGTGCTGA-3'). Mlu1 assay to look for XMRV plasmid contamination was composed of Mlu1-F (5'- GGTGGCCCCCTTGCC-3'), Mlu1R (5'-AGTTAGCTTGCCTGCATCCTTT-3'), and Mlu1-MGB (5'-6FAM-CGTGGTAGCAGCCAT-MGB-3').

For the nested PCR, we made 2 modifications to the original protocol (11). We used 1.0 U of Platinum Taq instead of 0.5 U, and added dUTP to the mastermix to prevent subsequent PCR contamination with amplicons.

XMRV SU recombinant protein

Forward primer with XhoI site 5'-ATTATCCTCGAGCAACGTGACAGCCCTCAC-3' and reverse primer with HindIII site 5'-ATTATCAAGCTTCTTTTCAAACTGGCCATAAA-3' were used to PCR amplify SU from pXMRV1 (22). Forward primer with NheI site 5'-ATTATCGCTAGCTACTGAATGGCGCGTTCA-3' and reverse primer with XhoI site 5'-ATTATACTCGAGGGAGCCGGGCGAAGCAGTA-3' were used to PCR amplify the signal peptide (SP) from pNCA. PCR products were purified and digested with their respective restriction enzymes: XhoI and HindIII for SU fragment, NheI and XhoI for SP fragment. Mammalian expression vector pcDNA3.1myc-His(-)A (Invitrogen) was digested with NheI and HindIII. Digested SU fragment, SP fragment, and vector were ligated to make pXSUSP and transformed into bacteria, DNA prepared and verified by sequencing, and transfected into 293T cells with Lipofectamine 2000 (Invitrogen). Supernatant was collected after 72 hr, tested by western blot assays, and purified using His-Pur Cobalt columns (Pierce) following manufacturers' directions.

ELISA with human sera

150ng of purified XMRV SU protein diluted in PBS was absorbed onto 96-well Maxisorp Flat-Bottom Immuno plates overnight at 4°C (Nunc). Plates were washed five times with detergent-free high salt wash buffer (0.030M Potassium Phosphate, 0.080M Sodium Phosphate, 2.90M

JVI Accepts published online ahead of print

NaCl, pH 7.2), and blocked with Seablock (Thermo) for 1 hr at RT. Human sera was then added at a 1:150 dilution in Seablock with 0.05% Tween20. Following incubation for 2 hr at RT, plates were washed five times with high salt wash buffer with 0.05% Tween20 and a 1:15,000 dilution of HRP-conjugated AffiniPure F(ab')$_2$ fragment goat anti-human IgG antibody was added (Jackson ImmunoResearch). The plates were then incubated for 1 hr at RT, and washed again five times with high salt wash buffer with 0.05% Tween20. TMB substrate was added and allowed to incubate for 30 min at RT. Development was stopped with 1N sulfuric acid and the absorbance was measured at 450nm and 650nm. Results were expressed as OD450-OD650 to correct for irregularities in the plate.

Western blot assays with human sera

5µg of purified XMRV SU protein or 5µg of uninfected 293T cell lysate was diluted in 2x sample buffer (2% SDS. 50mM Tris [pH 6.8, 10% glycerol] and heated for 5 min at 99°C. Proteins were loaded into 4-20% gradient Precise Protein Gels (Pierce) in 1x Tris/HEPES/SDS running buffer (Pierce). The gel was run at 150V for 50 min Transfer to PDVF Immobilon-FL membrane (Millipore) occurred in chilled transfer buffer (25mM Tris, 192mM Glycine, 20% methanol) at 20V for 40 min in semi-dry apparatus (Bio-Rad). Membrane was blocked in 5% milk (1xPBS, 0.01% Tween-20) for 1 hr. Membranes probed with human serum diluted 1:50 in 5% milk overnight at 4°C. Membranes were washed 4 times with PBST (1x PBS, 0.01% Tween-20) and probed with goat-anti-human-IR-700 (Rockland) at 1:10,000 in 5% milk for 2 hr at RT. Membranes were washed 4 times with PBST before imaging on Odyssey Scanner (Licor).

Viral replication assay using spin inoculation

This protocol was adapted from the one used in the original study that found XMRV in CFS (12) with extensive help from Dr. Frank Ruscetti (Leukocyte Biology Section, NCI). LNCaP cells (15,000 cells/well of 6-well tray with 300 µl RPMI) were inoculated with 100 µl of plasma from patients or controls. Trays were centrifuged at 900xg for 5 min, overlaid with 500µlof RPMI and incubated overnight at 37°C in a 5% CO2- air mix. An additional 2 ml of RPMI was added the following morning. When cells became confluent, they were trypsinized and transferred to a T-25 flask, and when that became confluent, the cells were transferred into a T-75 flask. Cells were passaged for at least 6 weeks, and at week 2, 4 and 6, cells were lysed into RIPA buffer (Tris 50mM pH 7.4, NaCl 150mM, SDS 0.1%, sodium deoxycholate 0.5%, TritonX100 1% + Roche Complete Protease Inhibitor Cocktail) for analysis by Western blots, and into guanidium isothiocyanate containing AL buffer (Qiagen) for extraction of DNA and qPCR analysis.

Western blot on spin inoculation samples

Similar to western blot protocol above except 20µg to 30µg of whole cell lysate was electrophoresed, membranes were probed with anti-XMRV rabbit anti-serum (22) at 1:10,000 and rat anti-tubulin (Millipore) at 1:10,000 overnight at 4°C, followed by goat-anti-rabbit-IR-700 (Rockland) at 1:10,000 and goat-anti-rat-IR-800 (Rockland) at 1:10,000 for 2hr at room temperature.

Results

Patient selection and study design

We enrolled 105 patients from a Salt Lake City clinic that specializes exclusively in the diagnosis and management of CFS and fibromyalgia. All patients had been diagnosed with CFS

JVI Accepts published online ahead of print

in a clinical setting using the CDC-Fukuda criteria (4) by a board certified internal medicine specialist, a clinician with 20 years of experience with CFS (LB). At enrollment, subjects were screened to determine if they also met the Canadian consensus criteria (1), and all but 5 qualified for both case definitions. The patients were 68% female, with an average age of 48 years (range 20-70), and 90% of them lived within a 50-mile radius of Salt Lake City, Utah. For details on onset, severity, and duration of illness, *see Materials and Methods*. Controls consisted of 100 males and 100 females, all healthy by self-report, average age 35 years, and living in the greater Salt Lake City area. The participants completed a questionnaire to assess their health, height, weight, personal and family histories of prostate cancer and CFS (see *Materials and Methods*). Both the healthy volunteers and patients were primarily Caucasian, reflecting the local population. All healthy volunteers were employed full time. Among the CFS patients, a total of 43% were unable to work or attend college even part time, including 13% who were on disability.

The Clinical Research department of ARUP Laboratories, Salt Lake City, Utah, collected blood samples from all 300 individuals within a period of 3 weeks (*see Materials and Methods* and Fig. 1). Anticoagulated whole blood was separated into white blood cells (for DNA isolation and qPCR assays) and plasma (for inoculation of cultured cells to assay for viral replication). Whole blood was also allowed to clot and the serum used for ELISA and Western blots assays designed to detect anti-XMRV antibodies.

qPCR assays for XMRV are sensitive to at least five viral copies.

In order to be confident of detecting XMRV in clinical samples, we developed our PCR assays to the robust and reliable standards of clinically used assays. We developed four distinct qPCR (TaqMan) assays that target different regions of the XMRV proviral sequence. One targeting the *pol* gene region, has been used extensively by us (22) and others (15, 21, 25), and of all the published PCR-based tests for XMRV, has been shown to be the most specific (8). We improved on the sensitivity of this assay so that it could reliably detect at least 5 viral copies of XMRV DNA (see Fig. 2A). To allow for possible variations in viral sequence in our subjects, we developed three additional qPCR tests that targeted the LTR, *gag* and *env* regions of XMRV proviral DNA. We characterized each of these assays in detail to determine their limits of detection, specificity and reproducibility. Assay characteristics for the LTR qPCR are shown in Fig. 2B. We could reliably detect less than 5 copies of XMRV plasmid DNA in a background of 400 ng of human placental DNA, and the assay was linear over a large range, viz. 5000 to 5 copies of viral DNA. This sensitivity was matched by the assays targeting the *env* and *pol* regions. The *gag* assay was also able to reliably detect at least 5 viral copies with an average of 3 cycles delay in crossing the threshold (threshold cycle, C_t, see Fig. 2C). We also demonstrated that the assays had good precision and reproducibility as demonstrated by the R^2 values of C_ts being close to 1. To determine intra-run precision, 4 different amounts of XMRV plasmid DNA, ranging from 5 copies to 5000 copies, were amplified in 3 different reactions in the same run. To determine inter-run precision, the 4 different levels of XMRV DNA were amplified in 3 different runs on 3 different days. The assays had good intra-run precision with a mean CV of 0.99%, and also good inter-run precision, with a mean CV of 1.36%. We also verified that the tests were specific for XMRV and did not detect other common human pathogens, including other human retroviruses (Fig. 2C).

JVI Accepts published online ahead of print

Blood from CFS patients and healthy volunteers is negative for XMRV by qPCR

Using our four qPCR assays, we looked for XMRV and related viral sequences in DNA made from white blood cells of 100 CFS patients and 200 healthy volunteers. We did not find any positive samples even when reactions were carried out to 45 cycles. Positive control reactions were reliably positive for 50 and 5 copies of XMRV plasmid DNA. To verify that the DNA extracted from samples was of adequate and comparable quality, each sample was also tested by a qPCR targeting a single copy gene, VAMP2 (vesicle associated membrane protein 2) (22), and was found to be positive at a C_t of 21 to 23 cycles. Water controls that were subjected to the same extraction method as samples were consistently negative. Each plate of 96 PCRs also contained 12 wells with water instead of template DNA; these were always negative, as expected.

Absence of XMRV anti-SU antibodies in serum of CFS patients and healthy volunteers

Infection of Rhesus macaques with XMRV has shown that the most prominent antibody response is to the XMRV Env protein, gp70 (SU) (16). We tested serum from CFS patients and healthy volunteers for reactivity to recombinant XMRV-SU protein in an ELISA that we developed. Rabbit anti-XMRV antisera were used as controls. We found no difference in the reactivity to XMRV-SU protein between patients and healthy volunteers (p=0.541, Kruskal-Wallis test) (Fig. 3). Samples with reactivity higher than 2 SD from the mean were tested by Western blotting against recombinant His-tagged XMRV-SU protein. For controls on the Western blots, we used a His-tagged protein that is unrelated to XMRV, as well as uninfected

cell lysates. While we saw a good response with the XMRV antisera, no reactivity was seen with any of the human sera.

Absence of infectious XMRV in plasma of CFS patients and healthy volunteers

Inoculating cultured cells with patient plasma and monitoring for evidence of XMRV replication has been proposed to be the most sensitive method for XMRV detection in plasma samples from CFS patients (14). Because of the labor-intensive nature of this method, we decided to perform this procedure on a subset of our samples (n=65) chosen by a random number generator. We inoculated LNCaP cells with 100 µl of plasma from 31 patients and 34 healthy volunteers, and passaged the cells weekly for 6 weeks. 13 negative controls and 2 positive controls were also included. Only one culture was handled at a time to prevent any cross-contamination. After weeks 2, 4 and 6, cultures were lysed and analyzed by Western blots (Fig. 4) and by qPCR for XMRV. No XMRV protein or DNA was detected in any of the cultures.

Mouse DNA is present in a reagent used in previously published nested PCR assay

Since we were unable to find any evidence of XMRV using our sensitive qPCR assays, serological methods or viral growth assays, we decided to test our samples using the PCR assay first used in the original study that found XMRV in CFS (12). Another study utilized a modified, nested version of this assay to discover the presence of polytropic murine leukemia virus-like sequences in CFS (11). Using this assay, we found approximately 5% of our samples to be positive for products of the expected size, regardless of whether they were patients or healthy volunteers. It was possible that our samples were contaminated with XMRV plasmid DNA, even though work with the plasmid is done in a separate laboratory. We decided to test for this

JVI Accepts published online ahead of print

possibility with qPCR primers flanking a restriction site for endonuclease MluI that had been introduced during the construction of our infectious clone (22). Thus, the laboratory plasmid can be distinguished from a wild isolate of XMRV by a qPCR assay where the probe would bind to the MluI site. Fig. 5A shows that the peak fluorescence from the reporter for plasmid pAO-H4, which does not have the MluI site, is consistently lower than the MluI containing plasmid pXMRV1 at varied copy numbers. Using this assay, we determined that none of the positive reactions were due to contamination with the XMRV infectious clone.

We next checked if our samples were contaminated with mouse DNA, since that has been shown to be a potential source of XMRV-like sequences (15, 19). Based on an assay first introduced by Oakes *et al* (15), we developed a qPCR TaqMan assay to detect small amounts of contaminating mouse DNA. This assay targeted the sequences coding for intracisternal A-type particles (IAP), which are present in approximately 2000 copies per diploid genome of many mouse strains (13). As seen in Fig. 5B, our qPCR assay was linear down to as little as 62.5fg of C57BL/6 mouse DNA and could reproducibly detect as little as 625 ag of mouse DNA per reaction, making it a remarkably sensitive method for detection of contaminating mouse DNA. Using this assay, we determined that our samples did not contain any mouse DNA, and the nested PCRs could not be positive due to mouse DNA in the samples.

When repeating the nested PCR assays, we noticed that the initially positive samples were not consistently positive in subsequent nested assays. However, the proportion of positive reactions remained constant at approximately 5%. Even though extraction and amplification controls (1 per 7 samples) were consistently negative, we suspected that contamination of a PCR reagent

might cause the lack of reproducibility and the consistent positivity rate of 5%. We tested 36 replicates of genomic DNA from uninfected LNCaP cells with the nested PCR and found that 2 produced a positive result (Fig. 5C for a subset of the data). Sequencing these products revealed MLV-related sequences that ranged from 95 to 100% in similarity to those published previously (11, data not shown). In contrast to the nested PCR results, this DNA tested consistently negative with all our XMRV qPCR assays and the IAP qPCR assay for detection of trace amounts of mouse DNA. We next tested each component of the nested PCR using the IAP qPCR assay in replicates of 8. We discovered that both recombinant Taq polymerase (Invitrogen) and the Platinum Taq polymerase (Invitrogen) tested positive for IAP sequences. Furthermore, adding increasing amounts of both Taq polymerases resulted in progressively lower C_t (Fig. 5D). Along similar lines, when increasing amounts of both Taq polymerases were used as a template for the *gag* qPCR, positivity also increased. Positive reactions were obtained with four different batches of Taq polymerase. ABI's Amplitaq Gold Taq polymerase contained in the mastermix of all of our qPCR TaqMan assays did not contain any IAP sequences (Fig. 5D), indicating that it was free of mouse DNA. When adding additional Amplitaq Gold Taq polymerase as template for the IAP qPCR assay as was done with the other polymerase preparations, all reactions remained negative. Contamination of Taq polymerase preparations with mouse RNA has been reported in an independent study (20). Taken together, our analysis shows that certain Taq preparations contain very small amounts of mouse DNA that can cause false-positive reactions when used in highly sensitive assays for XMRV.

Blinded subset of samples from the original XMRV-CFS study was negative for XMRV

JVI Accepts published online ahead of print

To test if we could detect XMRV in samples that had previously tested positive or negative for XMRV, we obtained a subset of samples from the original cohort that was used to make the association of XMRV with CFS (12). Using a third party phlebotomy service that collected blood samples in home visits, we obtained blinded whole blood and serum samples from 14 individuals. These individuals had repeatedly tested positive in the last two years when tested by the labs at the WPI, though this information was not available to us till the completion of our study. The Clinical Research department at ARUP Laboratories received these specimens and processed the blood using the same protocols as for our healthy volunteers and CFS patient samples. Thus the samples were never opened in a research lab where XMRV might be present – until they reached us. We tested these samples using all of the assays we developed – four qPCR assays, ELISA and Western blots. None of the samples contained any evidence of XMRV. Serologically, there was no difference in the reactivity to XMRV-SU between healthy volunteers and the WPI cohort (p-value = 0.467, Kruskal-Wallis test), indicating that there was no detectable antibody response that was specific to XMRV in the WPI cohort. Furthermore, we also analyzed the WPI samples using tests utilized in the two studies that found XMRV or XMRV-like viruses in CFS, viz. a PCR assay for *gag* sequences, both in single-round (12) and nested formats (11), and a test for viral growth in cultured cells (12). Neither of these tests revealed any evidence of XMRV.

Discussion

We examined blood samples from 100 CFS patients and 200 regionally matched healthy volunteers. The patients met both CDC-Fukuda and Canadian criteria for CFS/ME, and over 70% reported the association of a flu-like illness with the onset of their disorder. All blood

samples had been freshly collected, blinded, processed, and analyzed identically. Special care was taken to avoid contamination using proper controls during DNA extraction, spin inoculation, and PCR analysis. Despite using a number of carefully characterized tests that were capable of detecting small amounts of XMRV and related MLVs, we did not detect XMRV in any of our samples. These tests consisted of sensitive qPCR assays, ELISA and Western blots that we developed. We also performed PCR assays for *gag* sequences used in the studies that found XMRV or XMRV-like viruses in CFS (11, 12). In addition, we used a viral replication assay used in the original study that made the association between XMRV and CFS (12), and was claimed to be the most sensitive assay for XMRV detection. Extending these negative findings, and adding more validity to our study was our inability to detect any XMRV in samples from patients that had tested positive for XMRV in the original study. We report here a repeat testing of samples obtained from CFS patients that were recruited, diagnosed and defined as positive exemplars of XMRV infection by the investigators who performed the original WPI-based study. This testing was performed in an independent laboratory (ours), using many of the same techniques as in the original study. To our knowledge, this is the first study to report negative findings after a full repetition of all assay methods in patients who have previously tested positive for XMRV.

Our experience has taught us that the detection of XMRV in blood is fraught with difficulties. In our own laboratory, starting with aliquots of samples from the same patients that we report here, we initially found some samples to be positive for XMRV. DNA from these aliquots had been extracted on a biorobot (Qiagen) in a 96-well format. Twelve wells spread throughout the plate served as negative extraction controls, and a few of these also tested positive. It turns out that a

JVI Accepts published online ahead of print

few months prior to extracting our blood samples, the same biorobot had been used to extract DNA from tissue culture cells that had been infected with XMRV. Despite the several months interval between the two extractions and the use of sterile, disposable reagents in the biorobot, we obtained false positives in our negative extraction controls and some patient samples. Once we abandoned the biorobot, and used new aliquots of samples to extract DNA manually, we did not find any patient or healthy volunteer samples to be positive. We continued this process of extreme care not to contaminate samples in all of our techniques, especially the viral replication assay. Because the viral replication assay consists of passaging cells inoculated with patient samples and controls inoculated with infectious XMRV, every week for 6-8 weeks, this assay is especially vulnerable to contamination. We prevented this by handling only one set of cultures in the biosafety cabinet at a time, and meticulously decontaminated the cabinet between cultures with 70% ethanol and UV irradiation. This made the viral replication assay very time-consuming and labor-intensive, and we could perform it only on a subset of our samples. But it is easy to see how the sample extraction and tissue culture processes might be the most vulnerable to contamination, providing a possible explanation for why the 14 samples from individuals tested repeatedly by the WPI over a period of two years were positive in their hands and negative in ours. Our early false positive findings did have one benefit: they confirmed beyond a doubt that our assay methods were highly sensitive to even tiny quantities of XMRV, and thus we would have every expectation of detecting it if it had been present in any of the samples we tested.

The presence of mouse DNA in PCR reagents emphasizes the critical importance of proper controls and carefully chosen, sensitive assays to detect trace amounts of mouse DNA. Sato *et al.* (20) found that Platinum Taq polymerase (Invitrogen) contained RNA from polytropic

endogenous MLV using a sensitive RT-PCR kit. This is not too surprising because the mouse monoclonal antibody used to prevent enzyme activity prior to heat activation might be the source of mouse DNA in the enzyme. What was surprising, however, was our finding mouse sequences in Invitrogen's recombinant Taq polymerase that is expressed in E. coli; we are not sure what the source of mouse DNA is, in this case. We did confirm, however, that Applied Biosystems' Amplitaq Gold polymerase that was used in all of our qPCRs, both here and in previous studies (5, 22, 25) did not contain any detectable mouse DNA. Lo *et al.* used the finding of negative results with the mouse mitochondrial semi-nested PCR assays to support the assertion that their samples were free of mouse DNA. Like others (15, 19), we propose the detection of IAP sequences instead of mouse mitochondrial DNA as a better approach to look for contamination. We demonstrate that our qPCR assay for IAP sequences is exquisitely sensitive and can detect attogram quantities of mouse DNA.

The question remains how mouse DNA in the Taq polymerase could lead to a disproportionate number of positives in patients versus controls in the two studies linking XMRV to CFS. It is possible, as has been suggested before (27), that patient samples were handled more than control samples and thus had a higher likelihood of contamination. In our study, both patient and control samples were handled in the same manner with the same frequency, in a blinded manner. We also suggest that any planned studies proposed to screen for XMRV carefully check their reagents, equipment, and all possible - and seemingly not possible - sources of contamination with exogenous XMRV and mouse DNA. Obviously, all such studies should be conducted with careful blinding of investigators and staff to prevent unintended experimental bias.

JVI Accepts published online ahead of print

Unlike molecular and cell culture amplification assays, serological assays have the advantage of being difficult to contaminate. However, serological assays are still susceptible to false positives because of non-specific binding of antibodies to related antigens. Serologically, our patient samples appear indistinguishable from controls, as do the samples from the WPI cohort. It is possible that assays that have found anti-XMRV reactivity in CFS patients are due to cross-reactivity to related antigens.

Given the lack of evidence for XMRV or XMRV-like viruses in our cohort of CFS patients, as well as the lack of these viruses in a set of patients previously tested positive, we feel that that XMRV is not associated with CFS. We are forced to conclude that prescribing antiretroviral agents to CFS patients is insufficiently justified and potentially dangerous. It is also vital to state that there is still a wealth of prior data (2, 10) to encourage further research into the involvement of other infectious agents in CFS, and these efforts must continue.

Acknowledgements

We thank Alison Allen, RN, CCRP and Kristin Pierce, CCRP for help with patient enrollment, and Kyle Rasmussen for help with specimen collection and processing. We thank Swetha Narsing for contributing to the initial development of our TaqMan assays. We thank Shelly Sorrels, Daria Drobysheva, and John Gorzynski for blinding samples before analysis. We thank Judy Mikovits for help with coordinating sample collection from the previously tested WPI cohort of patients. We thank Steve Goff for help with unblinding results from samples obtained from the WPI cohort at the completion of the study. We thank Frank Ruscetti for advice on the spin inoculation protocol. We thank Oya Cingöz for initial help with the development of the IAP

qPCR assay.

JVI Accepts published online ahead of print

References

1. **Carruthers, B. M., A. K. Jain, K. L. De Meirleir, D. L. Peterson, N. G. Klimas, A. M. Lerner, A. C. Bested, P. Flor-Henry, P. Joshi, and A. P. Powles.** 2003. Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome. Journal of Chronic Fatigue Syndrome **11**:7-115.
2. **Devanur, L. D., and J. R. Kerr.** 2006. Chronic fatigue syndrome. J Clin Virol **37**:139-50.
3. **Erlwein, O., S. Kaye, M. O. McClure, J. Weber, G. Wills, D. Collier, S. Wessely, and A. Cleare.** 2010. Failure to detect the novel retrovirus XMRV in chronic fatigue syndrome. PLoS ONE **5**:e8519.
4. **Fukuda, K., S. E. Straus, I. Hickie, M. C. Sharpe, J. G. Dobbins, and A. Komaroff.** 1994. The chronic fatigue syndrome: a comprehensive approach to its definition and study. International Chronic Fatigue Syndrome Study Group. Ann Intern Med **121**:953-9.
5. **Groom, H. C., V. C. Boucherit, K. Makinson, E. Randal, S. Baptista, S. Hagan, J. W. Gow, F. M. Mattes, J. Breuer, J. R. Kerr, J. P. Stoye, and K. N. Bishop.** 2010. Absence of xenotropic murine leukaemia virus-related virus in UK patients with chronic fatigue syndrome. Retrovirology **7**:10.
6. **Henrich, T. J., J. Z. Li, D. Felsenstein, C. N. Kotton, R. M. Plenge, F. Pereyra, F. M. Marty, N. H. Lin, P. Grazioso, D. M. Crochiere, D. Eggers, D. R. Kuritzkes, and A. M. Tsibris.** 2010. Xenotropic murine leukemia virus-related virus prevalence in patients with chronic fatigue syndrome or chronic immunomodulatory conditions. J Infect Dis **202**:1478-81.

7. **Hong, P., J. Li, and Y. Li.** 2010. Failure to detect Xenotropic murine leukaemia virus-related virus in Chinese patients with chronic fatigue syndrome. Virol J **7**:224.

8. **Hue, S., E. R. Gray, A. Gall, A. Katzourakis, C. P. Tan, C. J. Houldcroft, S. McLaren, D. Pillay, A. Futreal, J. A. Garson, O. G. Pybus, P. Kellam, and G. J. Towers.** 2010. Disease-associated XMRV sequences are consistent with laboratory contamination. Retrovirology **7**:111.

9. **Jason, L. A., J. A. Richman, A. W. Rademaker, K. M. Jordan, A. V. Plioplys, R. R. Taylor, W. McCready, C. F. Huang, and S. Plioplys.** 1999. A community-based study of chronic fatigue syndrome. Arch Intern Med **159**:2129-37.

10. **Komaroff, A. L., and D. S. Buchwald.** 1998. Chronic fatigue syndrome: an update. Annu Rev Med **49**:1-13.

11. **Lo, S. C., N. Pripuzova, B. Li, A. L. Komaroff, G. C. Hung, R. Wang, and H. J. Alter.** 2010. Detection of MLV-related virus gene sequences in blood of patients with chronic fatigue syndrome and healthy blood donors. Proc Natl Acad Sci U S A.

12. **Lombardi, V. C., F. W. Ruscetti, J. Das Gupta, M. A. Pfost, K. S. Hagen, D. L. Peterson, S. K. Ruscetti, R. K. Bagni, C. Petrow-Sadowski, B. Gold, M. Dean, R. H. Silverman, and J. A. Mikovits.** 2009. Detection of an infectious retrovirus, XMRV, in blood cells of patients with chronic fatigue syndrome. Science **326**:585-9.

13. **Lueders, K. K., and E. L. Kuff.** 1977. Sequences associated with intracisternal A particles are reiterated in the mouse genome. Cell **12**:963-72.

14. **Mikovits, J. A., V. C. Lombardi, M. A. Pfost, K. S. Hagen, and F. W. Ruscetti.** 2010. Detection of an infectious retrovirus, XMRV, in blood cells of patients with chronic fatigue syndrome. Virulence **1**:386-90.

JVI Accepts published online ahead of print

15. **Oakes, B., A. K. Tai, O. Cingoz, M. H. Henefield, S. Levine, J. M. Coffin, and B. T. Huber.** 2010. Contamination of human DNA samples with mouse DNA can lead to false detection of XMRV-like sequences. Retrovirology **7**:109.

16. **Qiu, X., P. Swanson, K. C. Luk, B. Tu, F. Villinger, J. Das Gupta, R. H. Silverman, E. A. Klein, S. Devare, G. Schochetman, and J. Hackett, Jr.** 2010. Characterization of antibodies elicited by XMRV infection and development of immunoassays useful for epidemiologic studies. Retrovirology **7**:68.

17. **Reeves, W. C., J. F. Jones, E. Maloney, C. Heim, D. C. Hoaglin, R. S. Boneva, M. Morrissey, and R. Devlin.** 2007. Prevalence of chronic fatigue syndrome in metropolitan, urban, and rural Georgia. Popul Health Metr **5**:5.

18. **Reyes, M., R. Nisenbaum, D. C. Hoaglin, E. R. Unger, C. Emmons, B. Randall, J. A. Stewart, S. Abbey, J. F. Jones, N. Gantz, S. Minden, and W. C. Reeves.** 2003. Prevalence and incidence of chronic fatigue syndrome in Wichita, Kansas. Arch Intern Med **163**:1530-6.

19. **Robinson, M. J., O. W. Erlwein, S. Kaye, J. Weber, O. Cingoz, A. Patel, M. M. Walker, W. J. Kim, M. Uiprasertkul, J. M. Coffin, and M. O. McClure.** 2010. Mouse DNA contamination in human tissue tested for XMRV. Retrovirology **7**:108.

20. **Sato, E., R. A. Furuta, and T. Miyazawa.** 2010. An endogenous murine leukemia viral genome contaminant in a commercial RT-PCR kit is amplified using standard primers for XMRV. Retrovirology **7**:110.

21. **Satterfield, B. C., R. A. Garcia, H. Jia, S. Tang, H. Zheng, and W. M. Switzer.** 2011. Serologic and PCR testing of persons with chronic fatigue syndrome in the United States

shows no association with xenotropic or polytropic murine leukemia virus-related viruses. Retrovirology 8:12.

22. **Schlaberg, R., D. J. Choe, K. R. Brown, H. M. Thaker, and I. R. Singh.** 2009. XMRV is present in malignant prostatic epithelium and is associated with prostate cancer, especially high-grade tumors. Proc Natl Acad Sci U S A 106:16351-6.

23. **Singh, I. R.** 2010. Detecting Retroviral Sequences in Chronic Fatigue Syndrome. Viruses 2:2404-2408.

24. **Switzer, W. M., H. Jia, O. Hohn, H. Zheng, S. Tang, A. Shankar, N. Bannert, G. Simmons, R. M. Hendry, V. R. Falkenberg, W. C. Reeves, and W. Heneine.** 2010. Absence of evidence of xenotropic murine leukemia virus-related virus infection in persons with chronic fatigue syndrome and healthy controls in the United States. Retrovirology 7:57.

25. **van Kuppeveld, F. J., A. S. de Jong, K. H. Lanke, G. W. Verhaegh, W. J. Melchers, C. M. Swanink, G. Bleijenberg, M. G. Netea, J. M. Galama, and J. W. van der Meer.** 2010. Prevalence of xenotropic murine leukaemia virus-related virus in patients with chronic fatigue syndrome in the Netherlands: retrospective analysis of samples from an established cohort. BMJ 340:c1018.

26. **Ware, J. E., Jr., and C. D. Sherbourne.** 1992. The MOS 36-item short-form health survey (SF-36). I. Conceptual framework and item selection. Med Care 30:473-83.

27. **Weiss, R. A.** 2010. A cautionary tale of virus and disease. BMC Biol 8:124.

28. **Yamamoto, Y., F. Usui, Y. Nakamura, Y. Ito, T. Tagami, K. Nirasawa, Y. Matsubara, T. Ono, and H. Kagami.** 2007. A novel method to isolate primordial germ cells and its use for the generation of germline chimeras in chicken. Biol Reprod 77:115-9.

JVI Accepts published online ahead of print

Figure Legends

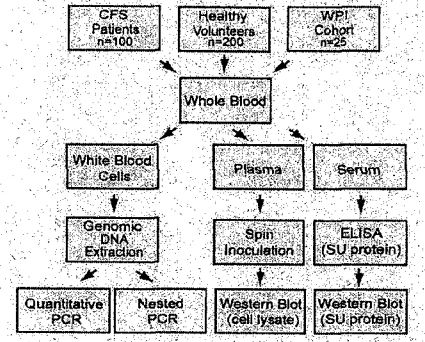
Fig. 1. Study scheme showing collection, processing, and analysis of blood samples from CFS patients and healthy volunteers.

Fig. 2. Defining qPCR assay characteristics. A. Reproducibility of all XMRV qPCR assays (*pol*, *env*, LTR, *gag*), performed in triplicate with pXMRV1 template amounts of 500, 50 and 5 copies. R^2 values show high reproducibility for each assay. B. Sensitivity of XMRV LTR qPCR assay with a FAM reporter showing that the assay was linear with as low as 5 copies of pXMRV1 template added in a background of 400 ng of human placental DNA. R_n is the difference in fluorescence between the FAM reporter and the standard reference ROX dye. C. Testing for cross reactivity (or specificity) of XMRV qPCR assays against other common human pathogenic viruses. A positive clinical sample or plasmid DNA from a variety of common pathogenic viruses was amplified using the LTR and *pol* (shIN) qPCR assays. No significant cross-reactivity was seen with any of the following: BK virus, Cytomegalovirus (CMV), Epstein Barr virus (EBV), Enterovirus (EV), Human Herpes virus 6 Variant A (HHV6-A), Human Herpes virus 6 Variant B (HHV6-B), Human immunodeficiency virus (HIV), Human metapneumovirus (HMPV), Influenza A virus (FLUA), and Influenza B virus (FLUB). Each sample was extracted with an exogenous internal control plasmid IC2, containing *C. elegans* pax1/9 gene fused to GFP, added to each aliquot of whole blood prior to sample extraction. This internal control plasmid was co-amplified with each sample to identify potential inhibitors of PCR and to monitor extraction efficiency. Extraction was efficient as seen from the IC C_ts ranged between 33.5 and 35.9.

Fig. 3. ELISA to measure reactivity of human sera against recombinant XMRV-SU protein. Sera from CFS patients (black bars), healthy males (light grey bars) and healthy females (dark grey bars) in reaction with gp70 Env (SU) fragment tested in three replicates. Arrow indicates average OD values using XMRV anti-serum at 1:10,000 (22).

Fig. 4. Western blot analysis on a subset of CFS patients (P) and controls (C) six weeks after spin inoculation of plasma onto cultured LNCaP cells. Cell lysates from XMRV infected cells probed with rabbit anti-XMRV antisera are shown in lane (+). Lane (–) represents cell lysates from uninfected cells probed with rabbit anti-XMRV antisera. M = molecular weight marker. To indicate loading amounts, the same gel was probed with anti-tubulin antibody (bottom).

Fig. 5. Nested PCR assay. A. MluI qPCR assay to detect pXMRV1 contamination. The 5' end of the probe spans the MluI restriction site that was introduced to create pXMRV1. pAO-H4, which does not have the MluI restriction site has lower peak fluorescence as well as a delay in C_ts for the same copy numbers of plasmid. B. Sensitivity of the IAP qPCR assay for different amounts of C57BL/6 mouse DNA ranging from 62.5 ng to 625 ag, all in the presence of 400 ng of human placental DNA. C. Nested PCR on a small set of samples, showing ~5% samples to be positive for MLV *gag* sequences using NP116/NP117 (11). LNCaP genomic DNA show in lanes G. Lane (–) represents negative control. Lane l shows 100bp ladder. D. Detection of mouse DNA in Platinum Taq (IP Taq, Invitrogen) and Recombinant Taq (IR Taq, Invitrogen), but not in Amplitaq Gold (AAG Taq, ABI). For each qPCR assay, the left column shows number of replicates that are positive, and the right column shows the average C_t at which positivity occurs. The more XMRV-specific *pol* qPCR assay (in triplicates) was consistently negative, but IAP and *gag* assays (eight replicates each) were both positive as more Platinum or Recombinant Invitrogen Taq was used as template.

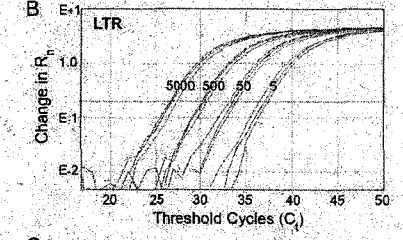


JVI Accepts published online ahead of print

A

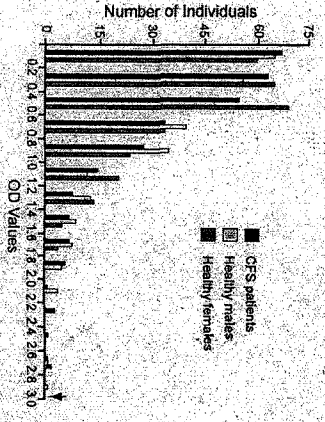
qPCR assay	pXMRV1 Template Amounts 500 copies	50 copies	5 copies	R^2
pol	30.1	33.5	36.3	0.989
env	29.5	33.1	36.3	0.993
LTR	30.4	33.6	36.9	0.992
gag	32.6	35.8	39.9	0.989

B

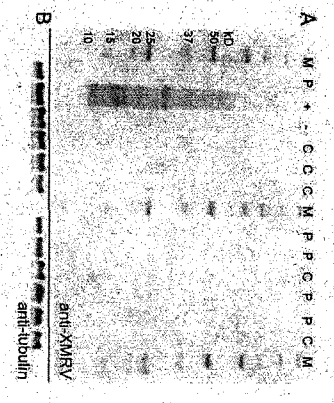


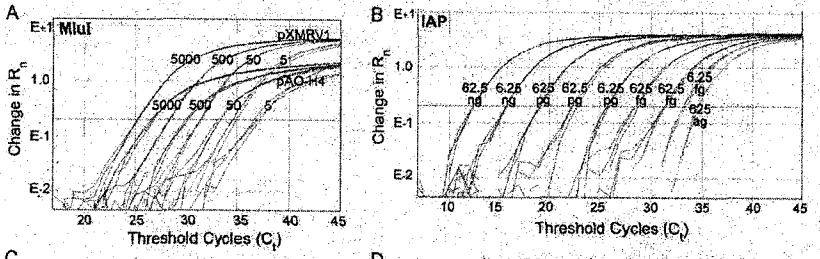
C

Template	*pol* C_t	IC C_t	LTR C_t	IC C_t
BK	0	33.5	0	34.5
CMV	0	34.5	0	34.4
EBV	0	34.4	0	34.8
EV	0	34.9	0	35.9
HHV6-A	0	34.7	0	35.4
HHV6-B	0	34.6	0	33.7
HIV	0	34.9	0	34.5
HMPV	0	34.7	0	34.3
FLUA	0	35.3	0	34.9
FLUB	0	34.4	0	34.9

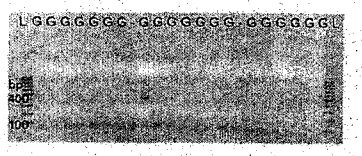


JVI Accepts published online ahead of print





C



D

	pol qPCR		IAP qPCR		*gag* qPCR	
	+	C_t	+	C_t	+	C_t
IP Taq 0.5U	0/3	0	8/8	35.4	0/8	0
IP Taq 1.0U	0/3	0	8/8	34.7	1/8	39.3
IP Taq 2.0U	0/3	0	8/8	34.2	2/8	37.9
IR Taq 0.5U	0/3	0	8/8	37.9	0/8	0
IR Taq 1.0U	0/3	0	8/8	36.8	1/8	48
IR Taq 2.0U	0/3	0	8/8	36.3	2/8	42.4
AAG Taq 0.5U			0/8	0		
AAG Taq 1.0U			0/8	0		
AAG Taq 2.0U			0/8	0		

文献3

xpress Report

No Evidence of Murine-Like Gammaretroviruses in CFS Patients Previously Identified as XMRV-Infected

Konstance Knox,[1,2] Donald Carrigan,[1,2] Graham Simmons,[3,4] Fernando Teque,[5] Yanchen Zhou,[3,4] John Hackett Jr.,[6] Xiaoxing Qiu,[6] Ka-Cheung Luk,[6] Gerald Schochetman,[6] Allyn Knox,[1] Andreas M. Kogelnik,[2] Jay A. Levy[5]*

[1]Wisconsin Viral Research Group, Milwaukee, WI 53226, USA. [2]Open Medicine Institute, Mountain View, CA 94040, USA. [3]Blood Systems Research Institute, San Francisco, CA 94118, USA. [4]Department of Laboratory Medicine, University of California, San Francisco, San Francisco, CA 94143, USA. [5]Department of Medicine, Hematology/Oncology Division, University of California, San Francisco, San Francisco, CA 94143, USA. [6]Abbott Laboratories, Abbott Park, IL 60064, USA.

*To whom correspondence should be addressed. E-mail: Jay.Levy@ucsf.edu

Murine-like gammaretroviruses (MLVs), most notably XMRV [xenotropic murine leukemia virus (X-MLV)–related virus], have been reported to be present in the blood of patients with chronic fatigue syndrome (CFS). We evaluated blood samples from 61 patients with CFS from a single clinical practice, 43 of whom had previously been identified as XMRV-positive. Our analysis included polymerase chain reaction and reverse transcription polymerase chain reaction procedures for detection of viral nucleic acids and assays for detection of infectious virus and virus-specific antibodies. We found no evidence of XMRV or other MLVs in these blood samples. In addition, we found that these gammaretroviruses were strongly (X-MLV) or partially (XMRV) susceptible to inactivation by sera from CFS patients and healthy controls, which suggested that establishment of a successful MLV infection in humans would be unlikely. Consistent with previous reports, we detected MLV sequences in commercial laboratory reagents. Our results indicate that previous evidence linking XMRV and MLVs to CFS is likely attributable to laboratory contamination.

Xenotropic retroviruses, first discovered in mice, have the unusual characteristic of being endogenous to animal species, i.e., integrated into the animal's genome, but not able to re-infect cells from that species. However, as the name (*xenos*, foreign) implies, these viruses can infect cells from other animal species. The xenotropic murine leukemia virus (X-MLV), for example, infects cells from several species including humans but cannot infect many mouse cells (*1–3*). One particular virus within this group, XMRV (xenotropic murine leukemia virus-related virus), has been reported to be present in a subset of human prostate tumors (*4*) and in blood samples from patients with chronic fatigue syndrome (CFS) (*5*). Other murine-related gammaretroviruses (MLVs) have also reportedly been detected in CFS patients (*6*). The infection of humans with these viruses is controversial. Investigators evaluating independent cohorts of CFS patients have failed to detect XMRV or other MLV (*7–12*), and contamination of human clinical material (*13, 14*) and reagents (e.g., Taq polymerase) (*15*) with mouse DNA containing MLV-like sequences has been reported.

To investigate these discrepancies in a more direct manner, we performed an extensive virological evaluation of blood samples from two human populations with a clinical diagnosis of CFS (*16*), many of whom had been diagnosed previously as XMRV-infected. The first (P1) consisted of 41 CFS patients ranging in age from 5 years to 73 years who came from a private medical practice (Sierra Internal Medicine, Incline Village Nevada). Twenty-six of the CFS subjects (63%) were female and 15 (37%) were male; the female median age was 52 years (range 5 to 72 years) and male median age was 49 years (range 20 to 73 years). These patients were an unselected, sequentially enrolled population submitted for diagnostic testing to Wisconsin Viral Research Group (WVRG), and were therefore a true cross-section of the patients in the medical practice. Thirty-seven of these 41 patients had been tested previously for XMRV infection by the following assays: whole blood PCR, serum PCR, or viral XMRV culture with PCR (*17*).

These evaluations were performed by a commercial (VIPDx, Reno, NV) or research laboratory (Whittemore Peterson Institute [WPI], Reno, NV). Twenty-six were reported as being XMRV positive and 11 were reported as being negative. Blood samples used from this patient cohort were archived diagnostic specimens and, therefore, exempt from IRB consideration [46.101 (b)(4), Code of Federal Regulations].

The second population (P2) came from the same medical practice and subjects were selected largely on the basis of a previous positive diagnosis for XMRV infection. This patient cohort included 29 CFS patients, 26 of whom (89.6%) had tested positive for XMRV in at least one of the three virus assays listed above, and/or had antibodies to XMRV detected in a commercial (VIPDx) or research laboratory (WPI) (*5*) (table S1). Twenty of the patients (69%) were female and 9 (31%) were male with a median age of 52 years. Nine of these subjects were also part of P1 (table S1). Fresh blood samples were used for viral culture and testing (see supporting online material). For the serum inactivation studies, seven healthy UCSF laboratory workers, ranging in age from 21 to 72 years, served as controls. These volunteers were afebrile without signs of any illness. This research received approval of the Human Subjects Committee at the University of California, San Francisco. All participants signed IRB-approved consent forms.

We initially assessed the peripheral blood leukocytes from the 41 subjects in P1 for XMRV DNA using nested PCR targeting *gag* (primers 419F/1154R and 445F/870R) and *env* (primers 5922F/6273R and 5937F/6198R). The sensitivity of these PCR assays is at least 10 XMRV genomes per reaction (table S3). No XMRV DNA was detected in any sample (see Fig. 1A for representative data). Notably, a chart review of the 41 patients revealed that 19 had two blood samples drawn on the same day by the same phlebotomist, with one sample submitted to VIPDx and the other to WVRG. For XMRV analysis, VIPDx used diagnostic technologies identical to those utilized in previous studies on XMRV and CFS (*5*). The chart review indicated that 53% (10/19) of the blood samples were reported by the commercial laboratory as being positive for XMRV DNA. This difference in our results (0/19) versus the chart review results (10/19) was statistically significant ($p < 0.0004$, two-sided Fisher's Exact test).

Our failure to detect XMRV DNA in patient population P1 prompted us to undertake a more extensive study of patient population P2. We used multiple methodologies to evaluate P2 blood samples for the presence of (i) nucleic acids derived from XMRV or MLV; (ii) infectious XMRV and MLV; and (iii) XMRV-specific antibodies (*17*). Ficoll-Hypaque purified peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were evaluated by RT– PCR procedures directly or after activation with phytohemagglutinin (PHA; 3 μg/ml for 3 days) using primers and protocols described by others (*6*) and previously demonstrated to be highly sensitive for detection of XMRV and MLVs (*6, 18*). In addition, plasma was evaluated by RT-PCR in a similar manner. No MLV was found in the PBMC or plasma of these 29 CFS patients (Table 1, Fig. 1B). The positive control, consisting of the 730 bp fragment of XMRV amplified from prostate cancer cell line, 22Rv1, was able to detect at least 10 copies of XMRV *gag* DNA per reaction; second-round PCR detected 1-10 copies/reaction (table S3).

We next investigated whether infectious XMRV or MLV was detectable in the P2 blood samples. The patients' PBMCs were added to duplicate plates of early-passaged mink lung cells to enhance detection of X-MLV and maintained for 5 days (*2, 19, 20*). The PBMCs were then removed and the mink lung cells passed weekly for 3 weeks. Culture fluids were then evaluated for infectious XMRV or MLV by monitoring the induction of focus formation in the mink S+L- cell line (*19, 20*), by measuring RT activity in the cell culture fluids (*21*), and by PCR analysis (*11, 18*). We also looked for infectious virus in culture fluids from 19 patient PBMCs that had been cultured for 1-3 weeks after PHA stimulation. As summarized in Table 1, we did not detect XMRV or MLV in any of the patient samples.

A previous study reported that 50% (9/18) of patients with CFS had plasma antibodies reactive with XMRV (*5*). We evaluated 60 plasma samples from P1 and P2 patients for the presence of XMRV-specific antibodies by means of two direct format chemiluminescence immunoassays (CMIAs) using either transmembrane p15E or envelope gp70 recombinant proteins of XMRV (*22*). These assays can detect antibodies to other MLVs. None of the 60 plasma samples from these CFS patients was reactive in the p15E CMIA (Fig. 2A). One of the 60 samples was weakly reactive in the gp70 CMIA with a sample/cut-off (S/CO) value of 5.4 (Log N of S/CO = 1.68). However, the plasma was not positive by Western blot (WB) assay using purified XMRV viral lysate as well as recombinant gp70 protein (*22*) (Fig.2B). It was. therefore considered negative.

Further studies of antiviral responses in the P2 population assessed whether serum samples from these patients could inactivate X-MLV and XMRV. Previous work (*23*) had indicated that X-MLV is sensitive to inactivation by sera from healthy individuals, most likely by human complement (*24–26*); conceivably, CFS patient sera are deficient in this activity. X-MLV and XMRV were mixed with unheated or heated human sera from 7 healthy subjects and from 19 CFS patients (*17*). Both viruses were susceptible to inactivation by unheated, complement-containing sera from both groups; over a 2-log reduction in virus infectivity was noted in several cases. XMRV was less susceptible to inactivation than X-MLV (Fig. 3) most likely reflecting the passage of XMRV through human cells, which renders the virus less sensitive to human complement (*24–26*). These results, as well as other reports showing restriction of XMRV replication in human cells (*27, 28*), suggest that an established MLV infection in humans is unlikely.

Because neither XMRV or MLV sequences or infectious virus could be detected in the blood of the 61 CFS patients in our P1 and P2 populations, we explored whether XMRV and MLV sequences might be present in research reagents used to detect these viruses. While our own studies were underway, other investigators considered the same possibility (*29*) and reported that mouse DNA and MLV sequences were detectable in reagents and tissues used for RT-PCR (*13–15*), particularly the mouse monoclonal antibodies (MAbs) in Taq polymerase preparations (*15*). Notably, we detected MLV sequences not only in 3/5 Taq polymerases that utilize MAbs, but also in 9/17 other MAbs-containing reagents used in research laboratories (table S2) including antibodies to CD4, CD8, and CD14. Sequencing of these PCR products revealed a high degree of sequence homology with known MLV sequences from laboratory strains; they most closely resembled the MLV sequences reported by others in the blood of CFS patients (*6*) (figs. S1 and S2). Bioreagent contamination, however, does not adequately explain the detection of XMRV by Lombardi *et. al.* (*5*). We have found that the DNA sequences of 3 XMRV proviruses they described are identical to that of VP62, which is the prototype XMRV cloned from prostate cancer tissue (*4*). Long-term passage of VP62 led to proviruses with accumulated multiple point mutations (fig. S3). As suggested by others (*30*), independently derived XMRV DNA sequences should show increased genetic diversity compared to the VP62 clone sequence. Therefore, the remarkable conservation of the WPI-XRMV sequences is most consistent with laboratory contamination with the original infectious VP62.

In conclusion, we have found no evidence that XMRV or other murine-like gammaretroviruses are present in blood samples from 43 CFS patients who were previously reported to be infected by XMRV (*5, 6*). Notably, over a period of several months, 7 of our subjects were studied on two occasions; 2 subjects, on three occasions. Because our blood samples were obtained from CFS patients from the same clinical practice that provided the majority of patients described in the early XMRV report (*5*), differences in the patient cohort or clinical diagnosis cannot account for the discrepancies between our findings and the previous observations. We believe that the detection of MLV in human blood in previous studies (*5, 6*) reflects contamination of reagents used to assess their presence and/or contamination of human samples during laboratory manipulation of the infectious XMRV clone, VP62 (*5*). In addition, our studies indicate that X-MLV and XMRV are fully or partially inactivated by human serum, suggesting that these viruses could not readily establish a human infection. Since an activated immune system has been observed in CFS patients (*31*), the possibility of another infectious agent(s) being associated with this illness merits continual attention.

References and Notes

1. J. A. Levy, *Science* 182, 1151 (1973).
2. J. A. Levy, *Current Topics in Microbiology and Immunology* 111 (1978).
3. S. Baliji, Q. Liu, C. A. Kozak, *J Virol* 84, 12841 (2010).
4. A. Urisman *et al.*, *PLoS Pathog* 2, e25 (2006).
5. V. C. Lombardi *et al.*, *Science* 326, 585 (2009).
6. S. C. Lo *et al.*, *Proc Natl Acad Sci U S A* 107, 15874 (2010).
7. O. Erlwein *et al.*, *PLoS One* 5, e8519 (2010).
8. T. J. Henrich *et al.*, *J Infect Dis* 202, 1478 (2010).
9. H. C. Groom *et al.*, *Retrovirology* 7, 10 (2010).
10. P. Hong, J. Li, Y. Li, *Virol J* 7, 224 (2010).
11. W. M. Switzer *et al.*, *Retrovirology* 7, 57 (2010).
12. F. J. van Kuppeveld *et al.*, *Bmj* 340, c1018 (2010).
13. B. Oakes *et al.*, *Retrovirology* 7, 109 (2010).

14. M. J. Robinson *et al.*, *Retrovirology* 7, 108 (2010).
15. E. Sato, R. A. Furuta, T. Miyazawa, *Retrovirology* 7, 110 (2010).
16. K. Fukuda *et al.*, *Annals of Internal Medicine* 121, 953 (1994).
17. Materials and methods are available as supporting material on *Science* Online.
18. G. Simmons, e. al., *Transfusion* 51, 643 (2011).
19. O. E. Varnier, A. D. Hoffman, B. A. Nexo, J. A. Levy, *Virology* 132, 79 (1984).
20. O. E. Varnier, C. M. Repetto, S. P. Raffanti, A. Alama, J. A. Levy, *J Gen Virol* 64, 425 (1983).
21. A. D. Hoffman, B. Banapour, J. A. Levy, *Virology* 147, 326 (1985).
22. X. Qiu *et al.*, *Retrovirology* 7, 68 (2010).
23. B. Banapour, J. Sematinger, J. A. Levy, *Virology* 152, 268 (1986).
24. Y. Takeuchi *et al.*, *J Virol* 68, 8001 (1994).
25. R. P. Rother *et al.*, *J Exp Med* 182, 1345 (1995).
26. D. M. Takefman, G. T. Spear, M. Saifuddin, C. A. Wilson, *J Virol* 76, 1999 (2002).
27. T. Paprotka *et al.*, *J Virol* 84, 5719 (2010).
28. H. C. Groom, M. W. Yap, R. P. Galao, S. J. Neil, K. N. Bishop, *Proc Natl Acad Sci U S A* 107, 5166 (2010).
29. R. Weiss, *BMC Biology* 8, 124 (2010).
30. S. Hue *et al.*, *Retrovirology* 7, 111 (2010).
31. A. L. Landay, C. Jessop, E. T. Lennette, J. A. Levy, *Lancet* 338, 707 (1991).

Acknowledgments: We thank D. Peterson for referral of all the subjects evaluated; J. Weismann for coordinating subject participation; I. Livinti for assistance with data management; E. Delwart and J. Fiddes for comments on the manuscript, and K. Peter for help in preparation of the manuscript. These studies were conducted with support of private funds to the investigators. Patent applications have been filed by Abbott Laboratories relating to detection of XMRV using immunoassays and molecular-based assays.

Supporting Online Material

www.sciencemag.org/cgi/content/full/1204963/DC1
Materials and Methods
Figs. S1 to S3
Tables S1 to S3
References

1 March 2011; accepted 16 May 2011Published online 2 June 2011; 10.1126/science.1204963

Fig. 1. (A) Representative nested *gag* PCR results using genomic DNA (gDNA) from P1 patient leukocytes. A negative control (water, lane 0) and two positive controls (XMRV *gag* plasmid at 10 and 100 copies/reaction) were included in each run. As control, patient DNA was also tested with single-round PCR for RNaseL (*17*). DNA markers (M) and the positions of expected PCR-products are annotated. (**B**) Representative nested RT-PCR results on P2 PBMC samples. Positive and negative controls are shown. Ten-fold serial dilutions of XMRV *gag* plasmid control start at 1000 copies/reaction. Negative controls for each reaction step were tested in triplicate. *RNA/DNA extraction negative control, **RT control, and ***PCR control.

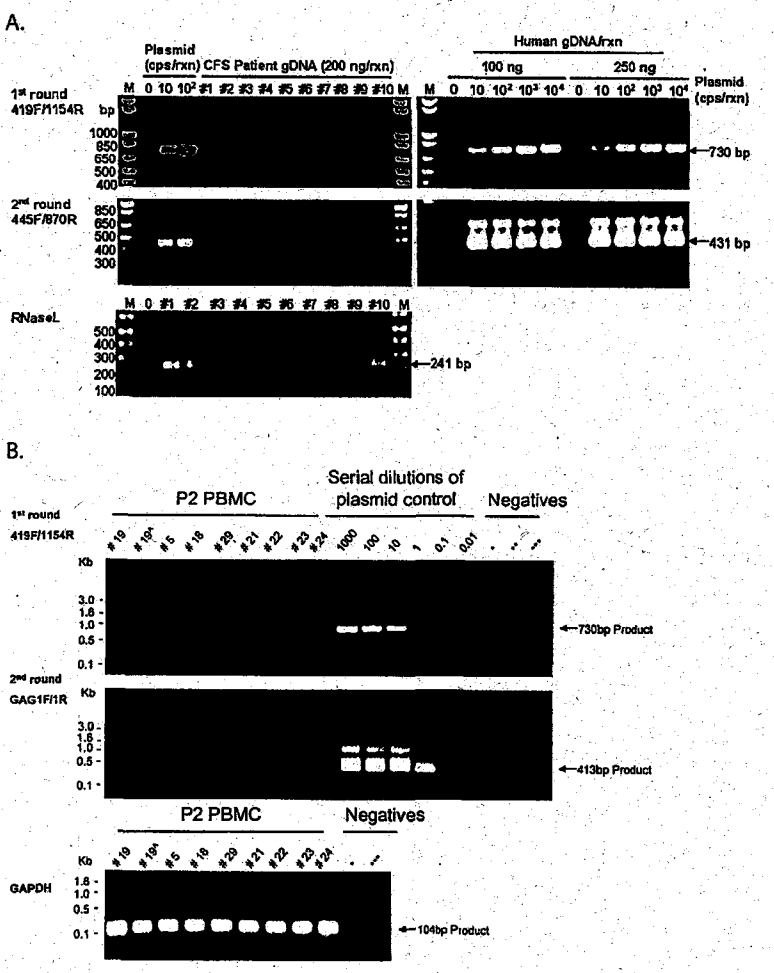
Fig. 2. Evaluation of 60 CFS plasma samples for the presence of XMRV antibodies. (**A**) Two recombinant protein-based CMIAs were used to detect specific antibodies to XMRV gp70 and p15E proteins (*17*). The X axis represents the CMIA signal in a unit of natural log-transformed ratio of sample signal to the cutoff signal (Log N S/CO). (**B**) Western blot analysis of gp70 CMIA reactive CFS sample using native XMRV viral proteins and mammalian-expressed recombinant gp70 protein. Sample keys: the gp70 CMIA-reactive (CFS) sample 09-7571, Positive control (PC) of antisera of XMRV-infected macaque, negative control (NC) of normal blood donor and Molecular weight (MW) markers in kilodaltons (KD).

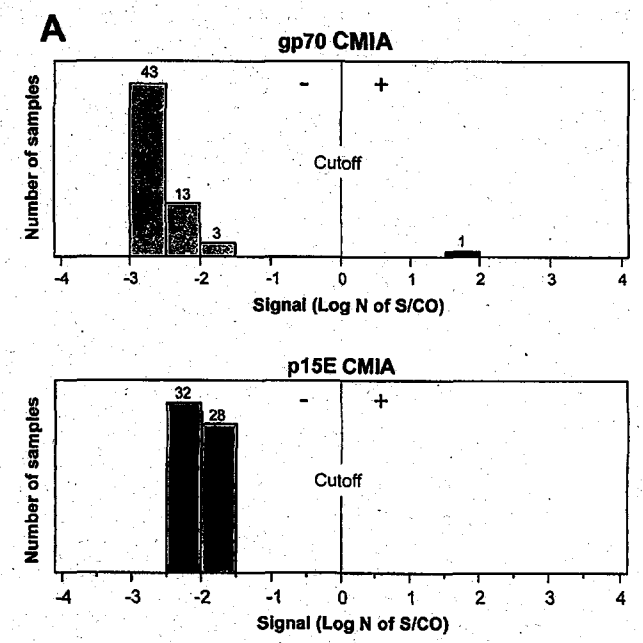
Fig. 3. Effects of Human Serum on Xenotropic MLV and XMRV. Shown is the percent serum inactivation of virus, as measured by induction of focus formation in mink S+L- cells by untreated X-MLV and XMRV (*17*). Representative results are shown. Unheated sera from 12 other CFS patients gave similar findings with nearly complete inactivation of X-MLV and partial to high inactivation of XMRV. X-MLV was obtained from NZB mouse cells and propagated in mink lung cells (*20*). XMRV was obtained from the human prostate cell line (22Rv1). For the five studies conducted, the control virus titers measured as focus formation in mink S+L- cells were 126, 430, 168, 246, 208 foci (X-MLV); 84, 376, 208, 284, 206 foci (XMRV). N, control; P, CFS patient (see table S1); black bars, X-MLV unheated sera; shaded bars, X-MLV heated sera; white bars, XMRV unheated sera; hatched bars, XMRV heated sera.

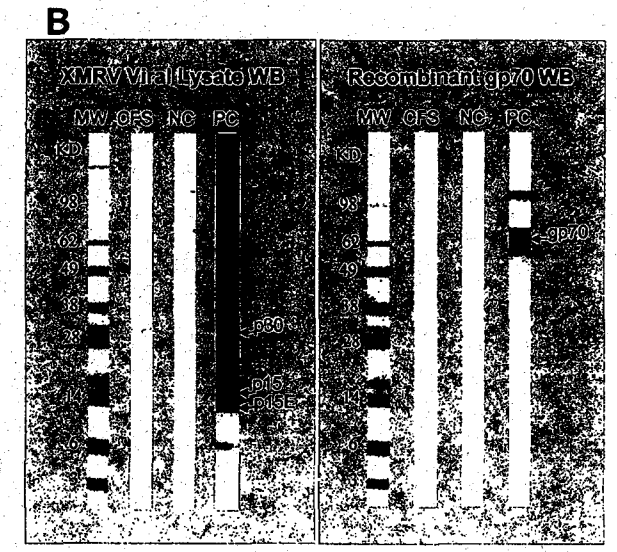
Table 1. Summary of assays used to evaluate blood samples from CFS patients in population P2. Information about the CFS patients is provided in table S1. Two subjects were studied twice within a 3-month period (table S1) and gave the same results.

Assay	Percent XMRV-positive (*n*)
PCR analysis of PBMC-derived DNA	0 (0/31)
RT-PCR analysis of patient plasma	0 (0/31)
PBMC culture fluids*	0 (0/19)
Reverse transcriptase assay of supernatants from mink lung cells passed after PBMC co-culture*	0 (0/30)†

*Infectious virus assay: Fluids were tested for infectious virus production by reverse transcriptase (RT) and the mink S+L- cell assays (see text) (*17*). †Insufficient cells were available for these studies from subject #24.


A.
Plasmid (cps/rxn)
CFS Patient gDNA (200 ng/rxn)
Human gDNA/rxn
100 ng
250 ng
Plasmid (cps/rxn)
1st round 419F/1154R
bp
1000
850
650
500
400
730 bp
2nd round 445F/870R
850
650
500
400
300
431 bp
RNaseL
500
400
300
200
100
241 bp
B.
P2 PBMC
Serial dilutions of plasmid control
Negatives
1st round 419F/1154R
Kb
3.0
1.6
1.0
0.5
0.1
730bp Product
2nd round GAG1F/1R
413bp Product
P2 PBMC
Negatives
GAPDH
104bp Product


A
gp70 CMIA
Number of samples
43
13
3
1
-
+
Cutoff
Signal (Log N of S/CO)
p15E CMIA
32
28
Cutoff
Signal (Log N of S/CO)


B
XMRV Viral Lysate WB
MW
CFS
NC
PC
kD
98
62
49
38
28
p80
p15
p15E
Recombinant gp70 WB
gp70

xpress Report

Recombinant Origin of the Retrovirus XMRV

Tobias Paprotka,[1]* Krista A. Delviks-Frankenberry,[1]* Oya Cingöz,[3,4]* Anthony Martinez,[5] Hsing-Jien Kung,[5,6] Clifford G. Tepper,[5] Wei-Shau Hu,[2] Matthew J. Fivash Jr.,[7] John M. Coffin,[3,4] Vinay K. Pathak[1]†

[1]Viral Mutation Section, HIV Drug Resistance Program, National Cancer Institute at Frederick, Frederick, MD 21702, USA. [2]Viral Recombination Section, HIV Drug Resistance Program, National Cancer Institute at Frederick, Frederick, MD 21702, USA. [3]Department of Molecular Biology and Microbiology, School of Medicine, Tufts University, 150 Harrison Avenue, Boston, MA 02111, USA. [4]Genetics Program, School of Medicine, Tufts University, 150 Harrison Avenue, Boston, MA 02111, USA. [5]Department of Biochemistry and Molecular Medicine, University of California, Davis, Sacramento, CA 95817, USA. [6]Department of Urology, University of California, Davis, Sacramento, CA 95817, USA. [7]Data Management Services, Inc., National Cancer Institute at Frederick, Frederick, MD 21702 USA.

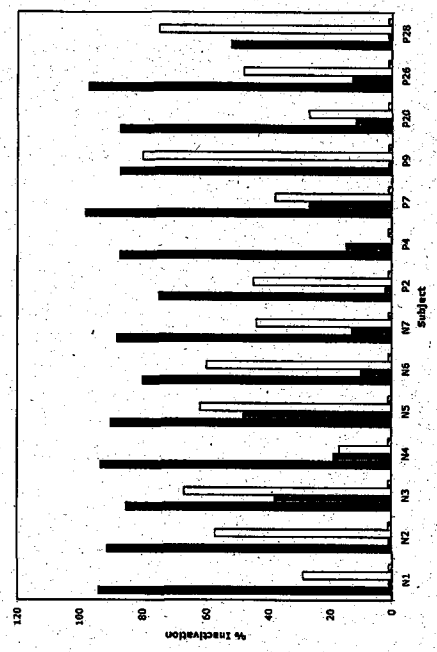
*These authors contributed equally to this work.

†To whom correspondence should be addressed. E-mail: vinay.pathak@nih.gov

The retrovirus XMRV (xenotropic murine leukemia virus–related virus) has been detected in human prostate tumors and in blood samples from patients with chronic fatigue syndrome, but these findings have not been replicated. We hypothesized that an understanding of when and how XMRV first arose might help explain the discrepant results. We studied human prostate cancer cell lines CWR22R*v1* and CWR-R1, which produce XMRV virtually identical to the viruses recently found in patient samples, as well as their progenitor human prostate tumor xenograft (CWR22) that had been passaged in mice. We detected XMRV infection in the two cell lines and in the later passage xenografts, but not in the early passages. In particular, we found that the host mice contained two proviruses, PreXMRV-1 and PreXMRV-2, which share 99.92% identity with XMRV over >3.2-kilobase stretches of their genomes. We conclude that XMRV was not present in the original CWR22 tumor but was generated by recombination of two proviruses during tumor passaging in mice. The probability that an identical recombinant was generated independently is negligible (~10^{-12}); our results suggest that the association of XMRV with human disease is due to contamination of human samples with virus originating from this recombination event.

Murine leukemia viruses (MLVs) are retroviruses belonging to the genus *Gammaretrovirus* that cause cancers and other diseases in mice, and they are divided into the ecotropic, amphotropic, polytropic, and xenotropic classes on the basis of their receptor usage. Xenotropic MLVs cannot infect cells from inbred mice but can infect cells from other species, including humans. Xenotropic murine leukemia virus–related virus (XMRV) was isolated from a human prostate cancer (PC) in 2006 and has been reported to be present in 6 to 27% of human PCs (*1*, *2*) and in the peripheral blood of 67% of chronic fatigue syndrome (CFS) patients (*3*). The assertion that XMRV is circulating in the human population has been challenged by several studies that have failed to detect XMRV in multiple cohorts of PC and CFS patients or healthy controls [reviewed in (*4*)]. Endogenous xenotropic MLVs can infect human tumors during passage through nude mice (*5*), and it has been suggested that XMRV may have arisen in this manner (*5*, *6*). In addition, XMRV replication is highly sensitive to human APOBEC3s and tetherin (*7*–*11*), making it doubtful that XMRV replication occurred efficiently in human peripheral blood mononuclear cells of CFS patients as previously reported (*3*).

The human PC cell line CWR22R*v1* (hereafter 22R*v1*) (*12*) produces infectious XMRV essentially identical in sequence to that obtained from patients. 22R*v1* contains ≥10 proviral copies/cell (*13*), and was proposed to have been derived from an XMRV-infected tumor. This cell line was derived from a xenograft (CWR22) that was established from a primary prostate tumor at Case Western Reserve University and serially passaged in nude mice (*14*, *15*). To explore the origin of the virus in 22R*v1* cells, we analyzed various passages of the CWR22 xenograft as well as a subline of the CWR22 xenograft (2152) from which the 22R*v1* cell line was established (*12*), and another prostate cancer cell line, CWR-R1, which was also derived from CWR22 (*16*). Fig. 1A traces the timeline of the serial xenograft transplants of CWR22 up to the derivation of the cell lines 22R*v1* and CWR-R1 and indicates (bold letters) the samples that were available for analysis. Nude mouse strain(s) maintained by Charles River (NU/NU) and Harlan Laboratories (Harlan Sprague Dawley [Hsd]) are likely to have been used for *in vivo* passages of the xenograft (*17*). DNA samples from passage 3 (777, Fig. 1A) and an unknown early passage (736) were obtained along



with samples from a 7th passage, CWR22-9216R and CWR22-9218R. A xenograft tumor from the early 7th passage was independently propagated at the University of California, Davis using Hsd nude mice (CWR22-8R and 8L). Total nucleic acid from relapsed androgen-independent tumors (CWR22R) 2152, 2524, 2272, and 2274 and the 22R*v1* and CWR-R1 cell lines was available for analysis (*14*).

We verified that the xenograft samples (736, 777, 9216R, 9218R, 8R and 8L) and the 22R*v1* or CWR-R1 cell lines were all derived from the same person by performing short tandem repeat (STR) analysis at 7 loci (Fig. 1B and fig. S1). The probabilities that the xenografts and the two cell lines have the same allele patterns for these loci by chance are 1.6×10^{-13} and 6.3×10^{-13}, respectively.

To quantify the amount of XMRV DNA in the CWR22 xenografts, we developed a real-time PCR primer-probe set that specifically detected XMRV *env* and excluded murine endogenous proviruses present in BALB/c and NIH3T3 genomic DNA (Fig. 1C). We used quantitative PCR of 22R*v1* DNA to estimate 20 proviruses/cell and used the 22R*v1* DNA to generate a standard curve. The CWR22 xenografts had significantly fewer copies of XMRV *env* (<1–3 copies/100 cells) compared to the 22R*v1* cells (2000 copies/100 cells). The CWR-R1 cell line had ~3000 copies/100 cells, and the NU/NU and Hsd nude mice, thought to have been used to passage the CWR22 xenograft, had 58 and 68 copies/100 cells, respectively. Since xenograft tumors are expected to contain a mixture of human and mouse cells, we quantified the amount of mouse DNA by analyzing mouse intracisternal A-type particle (IAP) DNA as previously described (*18*, *19*). Approximately 0.3–1% of the total DNA from all 6 xenografts consisted of mouse DNA (Fig. 1D); this result is consistent with the <1–3 XMRV *env* sequences/100 cells detected in the same samples (Fig. 1C).

We characterized XMRV and related sequences in the xenografts, cell lines, and nude mouse strains by PCR and DNA sequencing (Fig. 2). Using primers previously used to clone and sequence XMRV from 22R*v1* cells (*8*), we determined that all the XMRV proviruses in the CWR-R1 and 22R*v1* cell lines are identical in sequence, with the exception of some rare hypermutated proviruses (Fig. 2A and figs. S2 and S3). Next, we developed several primer sets to specifically amplify XMRV sequences and exclude endogenous murine retroviruses (fig. S2). Primers that specifically amplified XMRV were used to perform PCR on DNA from the late-passage xenografts 2152, 2524, 2272 and 2274; sequencing confirmed the presence of these XMRV sequences in these tumors (Fig. 2A and fig. S3A; boxed in Fig. 1A).

We used the same XMRV-specific primer sets to amplify and sequence DNA from early passage xenografts (736, 777, 8L, 8R, 16R, and 18R; Fig. 2B); the results showed that XMRV *env*, but not *gag* sequences were present (sequencing coverage summarized in fig. S3), indicating that the early xenografts did not contain XMRV. However, we did find that early xenografts contained a previously undescribed XMRV-related provirus that we have named PreXMRV-1 (Fig. 2B). The complete sequence of PreXMRV-1 was determined from the early passage xenografts, the NU/NU and Hsd strains, and the CWR-R1 cell line. PreXMRV-1 and consensus XMRV differed by only one base in a 3211-nt stretch of the genome encoding the 3' half of *pol* and the 5' 2/3 of *env*. In addition, the LTRs were nearly identical; PreXMRV-1 had a single adenine deletion relative to XMRV in a run of 6 adenines. The two genomes differed by 10% over the remaining 3.5-kb stretch of *gag-pro-pol* and by 9% in a 600-nt stretch at the 3' end of *env*. PreXMRV-1 is replication defective because of a 16-nt deletion in *gag* and a +1 frameshift mutation in *pol*. Late-passage xenografts 2524 and 2274, but not 2152 and 2272, also contained PreXMRV-1. The detection of low levels of XMRV *env* sequence in the early xenografts (Fig. 1C) can be attributed to the PreXMRV-1 proviruses present in the contaminating mouse DNA. Overall, these results indicate that PreXMRV-1 is an endogenous murine provirus that is present in the NU/NU and Hsd strains, but neither of these strains contains XMRV (the PCR and sequencing coverage are detailed in fig. S3, A and B).

To screen for the presence of endogenous XMRV in mouse strains, we developed an XMRV-specific PCR assay based on sequence differences in the LTR and *gag* leader regions that excluded all known endogenous murine retroviruses (fig. S2). A survey of 45 laboratory mouse strains and 44 wild mice failed to detect XMRV (fig. S4). In a search for proviruses that might contain XMRV-specific sequence features, we found a second previously undescribed endogenous provirus that we named PreXMRV-2 (Fig. 2C). A portion of PreXMRV-2 corresponds to an 1124-nt sequence of an endogenous provirus from the 129X1/SvJ mouse genome (Acc. No. AAHY0159188.1) (*6*, *20*). The sequence of PreXMRV-2 revealed that *gag*, *pol*, and *env* reading frames are open and can potentially express functional proteins. A 3.6-kb stretch encompassing the *gag* leader region and *gag-pro-pol* differs by one base from the consensus XMRV (99.9% identity); in addition, a ~700-nt region of *env* is 99% identical to XMRV; however, the LTRs and the remaining viral genome differ by 6–12% from consensus XMRV. Phylogenetic analysis indicates that PreXMRV-1 groups with xenotropic viruses whereas PreXMRV-2 appears to be a recombinant, grouping with polytropic and modified polytropic viruses for certain stretches of its genome (fig. S5).

We screened 15 mouse strains, which included 12 nude mice, for the presence of XMRV, PreXMRV-1, and PreXMRV-2 using XMRV-specific primers, primers that amplified XMRV or PreXMRV-1, and PreXMRV-2-specific primers (Fig. 2D and fig. S2). None of the mouse strains contained XMRV and only the Hsd and the NU/NU outbred nude strains contained PreXMRV-1 (Fig. 2D and fig. S6). Six of the 15 mouse strains contained PreXMRV-2, but only the NU/NU and Hsd mice contained both PreXMRV-1 and PreXMRV-2 (Fig. 2D and fig. S6). It should be noted that since the Hsd and the NU/NU are outbred strains, individual mice differ in their endogenous proviruses. NU/NU mice showed variation in the presence of these two endogenous proviruses, and two out of five animals tested contained both (fig. S6). The 22R*v1* cell line contained only XMRV as confirmed by sequence analysis; however the CWR-R1 cell line contained both XMRV and PreXMRV-1. The CWR-R1 cell line has been reported to contain contaminating mouse cells (*21*) (and see IAP signal, Fig 2D), which is likely to be the source of the PreXMRV-1 sequences.

We used the same specific primer sets to determine the distribution of XMRV, PreXMRV-1 and PreXMRV-2 in early and late xenografts (Fig. 2B). None of the early xenografts (736, 777, 9216R, 9218R, 8R and 8L), but all of the late xenografts (2152, 2524, 2272, and 2274) and both cell lines were positive for XMRV. The primers used to detect PreXMRV-1 could also detect XMRV; sequencing analysis of the PCR products from all of the early xenografts detected only PreXMRV-1, but both XMRV and PreXMRV-1 were detected from the late xenografts 2524 and 2274 (Fig. 2B). Amplification with PreXMRV-2-specific primers revealed the presence of this provirus in early xenografts 736, 777, 8R and 8L, and late xenografts 2272 and 2274 (Fig. 2, C and E, and fig. S3C). The variable detection level of PreXMRV-2 in the late xenografts could be due to individual differences in the outbred mice, and by extension, in the mouse DNA in these samples.

Comparison of the PreXMRV-1 and PreXMRV-2 sequences revealed that the regions of near identity to XMRV are reciprocal and largely non-overlapping. We therefore hypothesized that recombination between these two retroviruses resulted in the formation of XMRV. As shown in Fig. 3A, reverse transcriptase template switching events during minus-strand DNA synthesis can form a recombinant that is essentially identical to the sequences of all of the XMRVs reported to date, and differing from the consensus XMRV by only 4 nucleotides. The six switching events occurred in 20–73 nucleotide stretches that are identical between PreXMRV-1 and PreXMRV-2 (Fig. 3A, red numbers; fig. S7A). Of the four nucleotide differences between the predicted recombinant and consensus XMRV, only the A>G change at position 790 results in a conservative valine-to-isoleucine amino acid substitution; the other 3 substitutions are silent. The 22R*v1* and CWR-R1 cell lines as well as VP42 have an A at position 790, whereas all other XMRV isolates have a G at position 790. The insertion of an A at position 8092 occurred within a run of 6 adenines; frameshift mutations commonly occur in such homopolymers during retroviral replication (*22*). A comparison of the predicted recombinant to the available XMRV sequences is shown in fig. S7B. The available XMRV sequences all have the same six recombination junctions predicted in the hypothetical recombinant, and differ from the consensus XMRV by 3 – 14 nucleotides. These differences may be the result of errors during PCR or sequencing, or mutations during the passage of XMRV in another cell line. Phylogenetic analysis supports the predicted recombinant virus as the precursor of the virus in the CWR22 xenografts, the 22R*v1* and CWR-R1 cell lines, and all XMRVs isolated and sequenced from patients (Fig. 3B) (*23*).

Our findings indicate that virus derived from two previously undescribed murine endogenous retroviruses, PreXMRV-1 and PreXMRV-2, most likely underwent retroviral recombination to generate XMRV during *in vivo* passaging of the CWR22 xenograft in nude mice. The fact that both parental endogenous proviruses were present in some of the nude mouse strains used for *in vivo* passaging of the xenografts indicates that there were opportunities for this recombinant to form and spread in the tumor cells that were the progenitors of the 22R*v1* and CWR-R1 cell lines. Only 6 template switching events, which is close to the average of 4 template switches per replication cycle (*24*), are needed to generate a recombinant that is both essentially identical and ancestral to all XMRV sequences characterized to date from cell lines and patients (Fig. 3B). We have estimated the probability that the exact set of template switching events occurred independently is 1.3×10^{-12} (fig. S8) (*23*), making it very likely that contamination of human samples with XMRV originating from the relapsed CWR22 xenografts or either of the two cell lines, perhaps through other intermediate cell lines, contributed to its reported association with PC and CFS. Our results and conclusions relate to XMRV detection by isolation of virus of this specific sequence (*1–3*), and do not directly address detection of antibodies or viral antigens (*25*, *26*), or PCR detection of related but distinct MLV sequences (*27*). We note, however, that most "XMRV-specific" PCR assays may detect PreXMRV-1 or -2 proviruses in contaminating mouse DNA, and that specific detection of XMRV requires the use of primers that flank a crossover site.

The alternative possibility is that recombination between PreXMRV-1 and PreXMRV-2 occurred during mouse evolution, giving rise to an endogenous XMRV provirus that is present in mice and can occasionally infect humans. We think this possibility is remote because analysis of the early xenografts, which contained contaminating nude mouse DNAs, failed to detect XMRV. Furthermore, we were unable

to detect XMRV in a screen of 89 inbred and wild-derived mouse strains including 17 individual nude mice (fig. S4) (*23*).

We conclude that XMRV was generated as a result of a unique recombination event between two endogenous MLVs that took place around 1993–1996 in a nude mouse carrying the CWR22 PC xenograft. Since the probability that the same recombination event could occur independently by random chance is essentially negligible, any XMRV isolates with the same or nearly the same sequences identified elsewhere originated from this event (*23*).

References and Notes

1. R. Schlaberg, D. J. Choe, K. R. Brown, H. M. Thaker, I. R. Singh, XMRV is present in malignant prostatic epithelium and is associated with prostate cancer, especially high-grade tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**, 16351 (2009).
2. A. Urisman *et al.*, Identification of a novel Gammaretrovirus in prostate tumors of patients homozygous for R462Q RNASEL variant. *PLoS Pathog* **2**, e25 (2006).
3. V. C. Lombardi *et al.*, Detection of an infectious retrovirus, XMRV, in blood cells of patients with chronic fatigue syndrome. *Science* **326**, 585 (2009).
4. A. C. Van der Kuyl, M. Cornelissen, B. Berkhout, Of mice and men: on the origin of XMRV. *Frontiers in Microbiology* **1**, (2011).
5. R. A. Weiss, A cautionary tale of virus and disease. *BMC Biol* **8**, 124 (2010).
6. S. Hue *et al.*, Disease-associated XMRV sequences are consistent with laboratory contamination. *Retrovirology* **7**, 111 (2010).
7. H. C. Groom, M. W. Yap, R. P. Galao, S. J. Neil, K. N. Bishop, Susceptibility of xenotropic murine leukemia virus-related virus (XMRV) to retroviral restriction factors. *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**, 5166 (2010).
8. T. Paprotka *et al.*, Inhibition of xenotropic murine leukemia virus-related virus by APOBEC3 proteins and antiviral drugs. *J Virol* **84**, 5719 (2010).
9. K. Stieler, N. Fischer, Apobec 3G efficiently reduces infectivity of the human exogenous gammaretrovirus XMRV. *PLoS One* **5**, e11738 (2010).
10. H. P. Bogerd, F. Zhang, P. D. Bieniasz, B. R. Cullen, Human APOBEC3 proteins can inhibit xenotropic murine leukemia virus-related virus infectivity. *Virology* **410**, 234 (2011).
11. C. Chaipan *et al.*, Severe Restriction of Xenotropic Murine Leukemia Virus-Related Virus Replication and Spread in Cultured Human Peripheral Blood Mononuclear Cells. *J Virol* **85**, 4888 (2011).
12. R. M. Sramkoski *et al.*, A new human prostate carcinoma cell line, 22Rv1. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* **35**, 403 (1999).
13. B. C. Knouf *et al.*, Multiple integrated copies and high-level production of the human retrovirus XMRV (xenotropic murine leukemia virus-related virus) from 22Rv1 prostate carcinoma cells. *J Virol* **83**, 7353 (2009).
14. M. Nagabhushan *et al.*, CWR22: the first human prostate cancer xenograft with strongly androgen-dependent and relapsed strains both in vivo and in soft agar. *Cancer Res* **56**, 3042 (1996).
15. T. G. Pretlow *et al.*, Xenografts of primary human prostatic carcinoma. *J Natl Cancer Inst* **85**, 394 (1993).
16. C. W. Gregory, R. T. Johnson, Jr., J. L. Mohler, F. S. French, E. M. Wilson, Androgen receptor stabilization in recurrent prostate cancer is associated with hypersensitivity to low androgen. *Cancer Res* **61**, 2892 (2001).
17. Materials and methods are available as supporting material on *Science* Online.
18. B. Oakes *et al.*, Contamination of human DNA samples with mouse DNA can lead to false detection of XMRV-like sequences. *Retrovirology* **7**, 109 (2010).
19. M. J. Robinson *et al.*, Mouse DNA contamination in human tissue tested for XMRV. *Retrovirology* **7**, 108 (2010).
20. V. Courgnaud, J.-L. Battini, M. Sitbon, M. A. L., Mouse retroviruses and chronic fatigue syndrome: Does-X (or P) mark the spot? . *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**, 15666 (2010).
21. A. van Bokhoven *et al.*, Molecular characterization of human prostate carcinoma cell lines. *Prostate* **57**, 205 (2003).
22. V. K. Pathak, H. M. Temin, Broad spectrum of in vivo forward mutations, hypermutations, and mutational hotspots in a retroviral shuttle vector after a single replication cycle: substitutions, frameshifts, and hypermutations. *Proc Natl Acad Sci U S A* **87**, 6019 (1990).
23. Further discussion in support of the unique origin of XMRV and its role as the source of XMRV in PC and CFS patients is available as supporting material in *Science* Online.
24. J. Zhuang, S. Mukherjee, Y. Ron, J. P. Dougherty, High rate of genetic recombination in murine leukemia virus: implications for influencing proviral ploidy. *J Virol* **80**, 6706 (2006).
25. R. S. Arnold *et al.*, XMRV infection in patients with prostate cancer: novel serologic assay and correlation with PCR and FISH. *Urology* **75**, 755 (2010).
26. X. Qiu *et al.*, Characterization of antibodies elicited by XMRV infection and development of immunoassays useful for epidemiologic studies. *Retrovirology* **7**, 68 (2010).
27. S. C. Lo *et al.*, Detection of MLV-related virus gene sequences in blood of patients with chronic fatigue syndrome and healthy blood donors. *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**, 15874 (2010).

Acknowledgments: We thank W. Shao for analysis of MLV diversity, and E. Freed and S. Hughes for helpful discussions. This research was supported in part by the Intramural Research Program of the NIH, National Cancer Institute, Center for Cancer Research. The content of this publication does not necessarily reflect the views or policies of the Department of Health and Human Services, nor does mention of trade names, commercial products, or organizations imply endorsement by the U.S. Government. This work was also supported in part by Bench-to-Bedside Award to V.K.P., research grant R37 CA 089441 to J.M.C. and R01CA150197 to H.T.K. J.M.C. was a Research Professor of the American Cancer Society with support from the F.M. Kirby Foundation.

Supporting Online Material

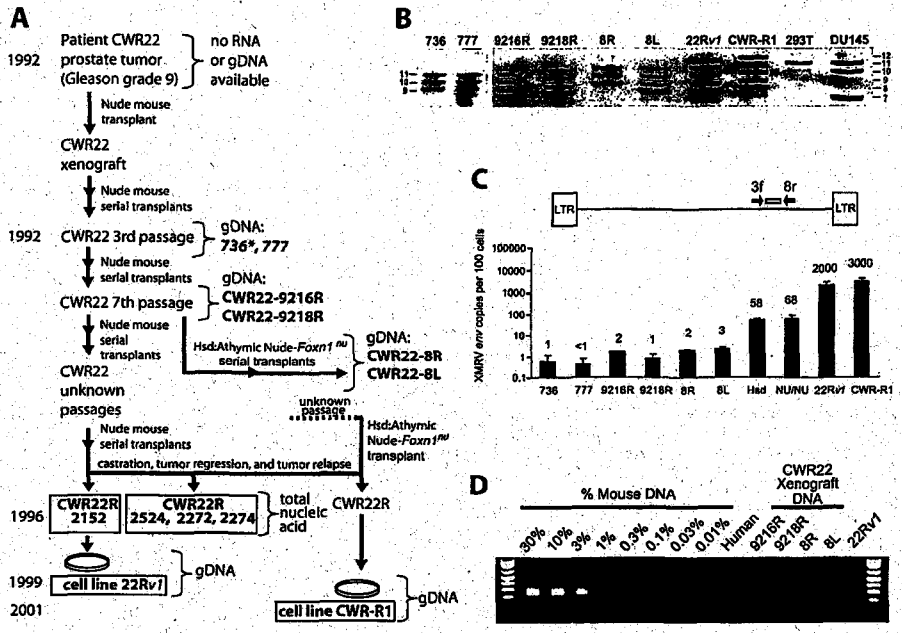
www.sciencemag.org/cgi/content/full/science.1205292/DC1
Materials and Methods
Figs. S1 to S8
Table S1
References

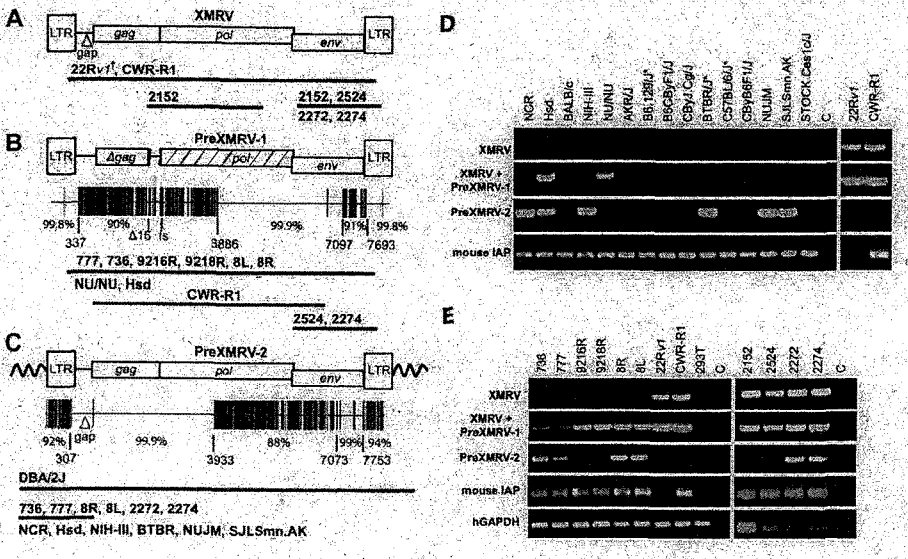
1 February 2011; accepted 5 May 2011
Published online 2 June 2011; 10.1126/science.1205292

Fig. 1. Characterization of CWR22 xenografts and XMRV-related sequences. (**A**) Genesis of 22Rv*1* and CWR-R1 cell lines. Bold letters indicate samples from which genomic DNA (gDNA) or total nucleic acid was available for analysis. XMRV-positive samples are boxed. *, unknown early passage. (**B**) Short tandem repeat (STR) analysis. Representative D7S280 allele pattern of xenografts, 22Rv*1* and CWR-R1 cell lines, along with analysis of six additional loci (fig. S1). An allelic ladder is shown on left and right of gel. (**C**) Quantitative real-time PCR to detect XMRV *env* sequences. Calculated copies/100 cells are indicated above each bar. (**D**) IAP assay to quantitate the amount of mouse DNA present in the xenograft gDNAs.

Fig. 2. PCR and sequencing analysis of XMRV and XMRV-related sequences from xenografts, cell lines, and nude mouse strains. Using specific primer sets (fig. S2), cloned PCR products from the xenografts, 22Rv*1*, CWR-R1, or mouse strains were sequenced. Approximate length and location of sequences determined from samples that were positive for XMRV (**A**), PreXMRV-1 (**B**) and PreXMRV-2 (**C**) are shown as red bars beneath each provirus. Details of primers and numbers of cloned products sequenced are shown in figs. S2 and S3. Hypermut plots (see fig. S3 for details), which indicate nucleotide mismatches relative to XMRV as color-coded vertical lines, are shown for PreXMRV-1 (**B**) and PreXMRV-2 (**C**), together with the percent identity to consensus XMRV for different regions of each provirus (nucleotide numbers refer to the 22Rv*1* XMRV sequence [FN692043]). PreXMRV-1 has a 16-nt deletion (Δ16) in *gag* and a frameshift (fs) in *pol* making it replication defective while PreXMRV-2 *gag*, *pol*, *and env* reading frames are open. Mouse strains (**D**) and xenograft and PC cell lines (**E**) were analyzed by PCR for the presence of XMRV, PreXMRV-1 and PreXMRV-2. Mouse IAP and human GAPDH serve as positive controls for the presence of mouse and human DNA, respectively. For both (**D**) and (**E**) the primer set used to detect PreXMRV-1 can also detect XMRV. For ease of comparison, the 22Rv*1* and CWR-R1 gel lanes from (**E**), which were run in parallel, are duplicated in (**D**). DNAs in (**D**) and (**E**) were all amplified with the same PCR primer master mix. †We previously determined the full-length sequence of XMRV from 22Rv*1* cells (*8*). Δgap refers to the 24-bp deletion in the *gag* leader characteristic of XMRV. All mouse strains shown in (**D**) are nudes except for those indicated with *.

Fig. 3. Predicted recombinant between PreXMRV-1 and PreXMRV-2 is nearly identical to XMRV. (**A**) Alignment of Hypermut plots of PreXMRV-1 and PreXMRV-2 reveals the reciprocal and largely nonoverlapping regions of near identity to XMRV. The direction of minus-strand DNA synthesis catalyzed by reverse transcriptase, and predicted template switching events (numbered 1–6) are shown. The lengths of nucleotide identity within the presumed template switching regions are indicated in red numbers. The predicted recombinant and the 4 nucleotide differences with consensus XMRV are shown. The nucleotide numbers refer to numbers of the 22Rv*1* XMRV (Acc. No. FN692043). Note that nucleotide 8092 is within the U3 region, and is present in both LTRs (boxes). A5 and A6 refer to homopolymeric runs of 5 and 6 adenines, respectively. The A>G change at 790 results in an isoleucine (I) to valine (V) substitution. (**B**) Phylogenetic tree of all full-length XMRV sequences to date and the predicted recombinant implicates the predicted recombinant as the ancestor of all sequenced XMRV isolates. The tree shown is an enlargement of the XMRV-specific portion of the complete endogenous MLV tree (fig. S5A) (*23*).


A
1992
Patient CWR22 prostate tumor (Gleason grade 9)
no RNA or gDNA available
Nude mouse transplant
CWR22 xenograft
Nude mouse serial transplants
1992
CWR22 3rd passage
gDNA: 736*, 777
Nude mouse serial transplants
CWR22 7th passage
gDNA: CWR22-9216R CWR22-9218R
Nude mouse serial transplants
Hsd:Athymic Nude-Foxn1nu serial transplants
gDNA: CWR22-8R CWR22-8L
CWR22 unknown passages
unknown passage
Hsd:Athymic Nude-Foxn1nu transplant
Nude mouse serial transplants
castration, tumor regression, and tumor relapse
1996
CWR22R 2152
CWR22R 2524, 2272, 2274
total nucleic acid
CWR22R
1999
cell line 22Rv1
gDNA
2001
cell line CWR-R1
gDNA
B
736 777 9216R 9218R 8R 8L 22Rv1 CWR-R1 293T DU145
C
LTR
3f 8r
LTR
XMRV env copies per 100 cells
100000
10000
1000
100
10
1
0.1
1 <1 2 1 2 3 58 68 2000 3000
736 777 9216R 9218R 8R 8L Hsd NU/NU 22Rv1 CWR-R1
D
% Mouse DNA
CWR22 Xenograft DNA
30% 10% 3% 1% 0.3% 0.1% 0.03% 0.01% Human 9216R 9218R 8R 8L 22Rv1


A
XMRV
LTR
Δ gap
gag
pol
env
LTR
22Rv1†, CWR-R1
2152
2152, 2524
2272, 2274
B
PreXMRV-1
LTR
Δgag
pol
env
LTR
99.8% 90% Δ15 fs 99.9% 91% 99.8%
337 3886 7097 7693
777, 736, 9216R, 9218R, 8L, 8R
NU/NU, Hsd
CWR-R1
2524, 2274
C
PreXMRV-2
LTR
gag
pol
env
LTR
92% gap 99.9% 88% 99% 94%
307 3933 7073 7753
DBA/2J
736, 777, 8R, 8L, 2272, 2274
NCR, Hsd, NIH-III, BTBR, NUJM, SJLSmn.AK
D
NCR Hsd BALB/c NIH-III NU/NU AKR/J B6.129J1/J B6CBy.F1/J CBy.Cg/J BTBR/J* C57BL6/J* CBy/B6F1/J NUJM SJLSmn.AK STOCK Cast/EiJ C 22Rv1 CWR-R1
XMRV
XMRV + PreXMRV-1
PreXMRV-2
mouse IAP
E
736 777 9216R 9218R 8R 8L 22Rv1 CWR-R1 293T C 2152 2524 2272 2274 C
XMRV
XMRV + PreXMRV-1
PreXMRV-2
mouse IAP
hGAPDH

Sciencexpress Letter

Editorial Expression of Concern

Bruce Alberts

Editor-in-Chief

In the issue of 23 October 2009, *Science* published the Report "Detection of an infectious retrovirus, XMRV, in blood cell of patients with chronic fatigue syndrome," a study by Lombardi *et al.* purporting to show that a retrovirus called XMRV (xenotropic murine leukemia virus-related virus) was present in the blood of 67% of patients with chronic fatigue syndrome (CFS) compared with 3.7% of healthy controls (*1*). Since then, at least 10 studies conducted by other investigators and published elsewhere have reported a failure to detect XMRV in independent populations of CFS patients. In this week's edition of *Science* Express, we are publishing two Reports that strongly support the growing view that the association between XMRV and CFS described by Lombardi *et al.* likely reflects contamination of laboratories and research reagents with the virus. In the first Report, "Recombinant origin of the retrovirus XMRV" (*2*), T. Paprotka *et al.* trace the ancestry of XMRV and provide evidence that the virus originated when two mouse leukemia viruses underwent recombination during experimental passage of a human prostate tumor xenograft in mice in the 1990s. A combination of sequencing, phylogenetic, and probability analyses lead Paprotka *et al.* to conclude that laboratory contamination with XMRV produced by a cell line (22Rv1) derived from these early xenograft experiments is the most likely explanation for detection of the virus in patient samples. In the second Report, "No evidence of murine-like gammaretroviruses in CFS patients previously identified as XMRV-infected" (*3*), K. Knox *et al.* examined blood samples from 61 CFS patients from the same medical practice that had provided patient samples to Lombardi *et al.*, including 43 patients who had been diagnosed previously as XMRV-positive. Comprehensive assays by Knox *et al.* for viral nucleic acids, infectious virus, and virus-specific antibodies revealed no evidence of XMRV in any of the samples.

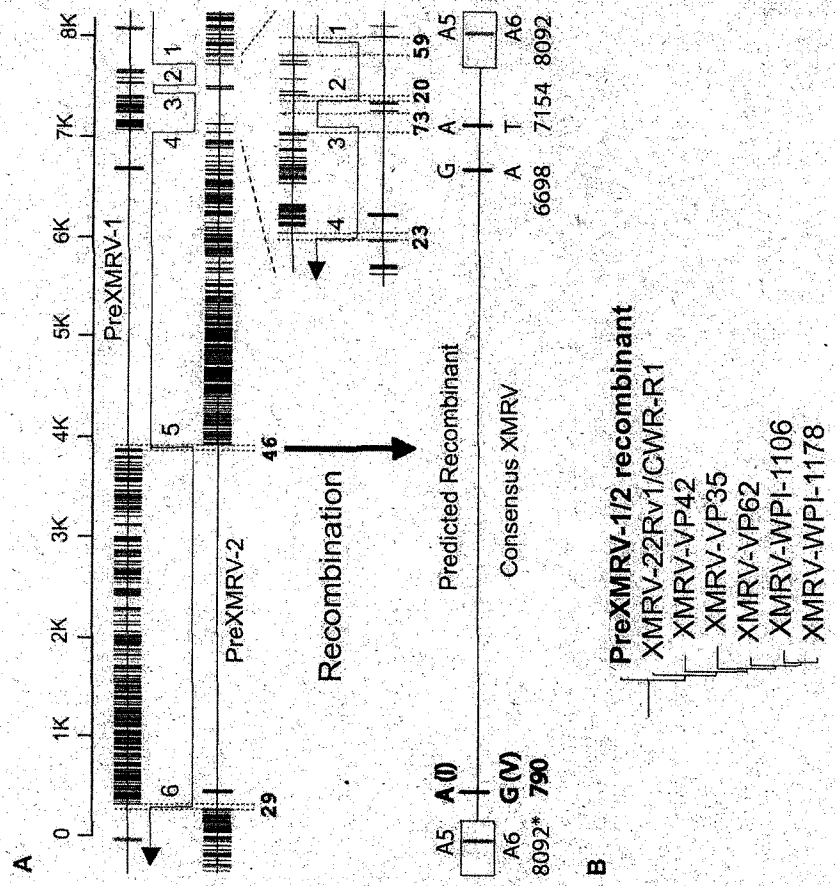
The study by Lombardi *et al.* (*1*) attracted considerable attention, and its publication in *Science* has had a far-reaching impact on the community of CFS patients and beyond. Because the validity of the study by Lombardi *et al.* is now seriously in question, we are publishing this Expression of Concern and attaching it to *Science*'s 23 October 2009 publication by Lombardi *et al.*

The U.S. National Institutes of Health is sponsoring additional carefully designed studies to ascertain whether the association between XMRV and CFS can be confirmed. *Science* eagerly awaits the outcome of these further studies and will take appropriate action when their results are known.

References

1. V. C. Lombardi *et al.*, *Science* **326**, 585 (2009); published online 8 October 2009 (10.1126/science.1179052).
2. T. Paprotka *et al.*, *Science*, published online 2 June 2011 (10.1126/science.1205292).
3. K. Knox *et al.*, *Science*, published online 2 June 2011 (10.1126/science.1204963).

17 May 2011; accepted 26 May 2011
Published online 2 June 2011; 10.1126/science.1208542
Include this information when citing this paper.



1. 血液センターの被災状況
2. 血液製剤の安定供給と献血者の安定的確保
3. 福島第一原子力発電所事故にかかる対応
4. 計画停電の影響
5. 身元不明者の特定にかかる協力

資料5

東日本大震災への対応

平成23年6月27日

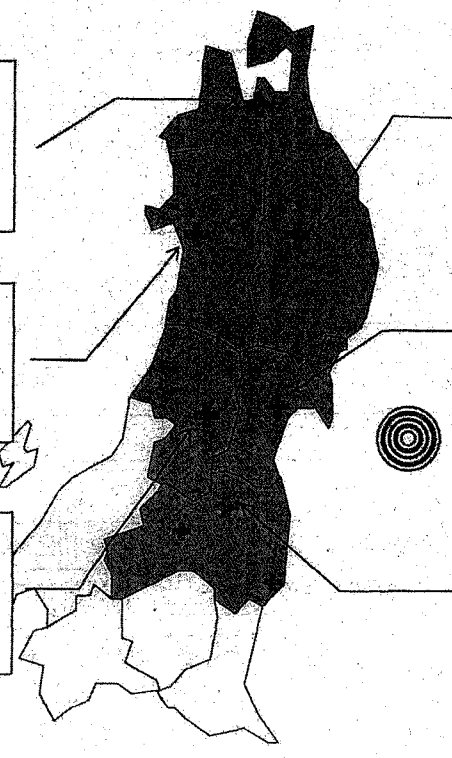
日本赤十字社
Japanese Red Cross Society

ライフラインの復旧と各業務の再開日

	ライフラインの復旧			献血受入再開日		検査・製剤再開日	
	電気	ガス	水道	固定施設	移動採血	検査	製剤
青森C	3/12	—	—	3/13	3/14	宮城C再開まで東京Cで実施	3/13
八戸C	3/12	—	—	3/14			
岩手C	3/12	—	—	4/20	4/18	4/18	4/18
宮城C	3/12	3/27	3/22	4/18	5/1（受入可能な会場から再開）	4/13	4/13
秋田C	3/12	—	—	3/13	3/14	宮城C再開まで東京Cで実施	3/13
山形C	3/12	—	—	3/13	3/14	宮城C再開まで埼玉Cで実施	宮城C再開まで新潟Cで実施
福島C	—	—	3/18	4/18	5/1（受入可能な会場から再開）	4/18	4/18
会津C	—	—	—	4/25			
いわきC	—	3/14	4/8	4/26			

検査：東北各県の検査業務は宮城Cに集約
製剤：岩手C、山形Cの製剤業務は宮城Cに集約

1．血液センターの被災状況



青森県センター（青森市）
・本震震度：4（八戸C 5強）
・職員安否：3/11夜 全員確認
・主な施設被害
　・八戸C：敷地に地盤沈下

秋田県センター（秋田市）
・本震震度：5強
・職員安否：3/11夜 全員確認
・主な施設被害
　・特になし

山形県センター（山形市）
・本震震度：4
・職員安否：3/11夜 全員確認
・主な施設被害
　・特になし

岩手県センター（盛岡市）
・本震震度：5強
・職員安否：3/11夜 全員確認
・主な施設被害
　・特になし

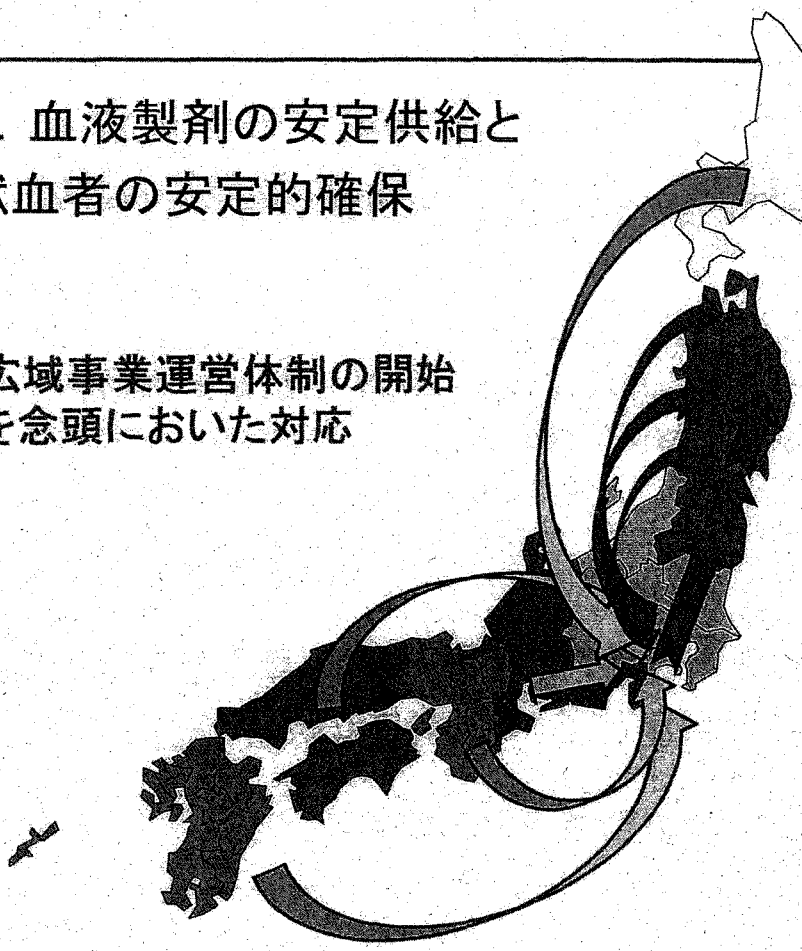
宮城県センター（仙台市）
・本震震度：6強
・職員安否：3/14朝 全員確認
・主な施設被害
　・事務室等のOA機器の転倒や転落
　・検査、製剤機器の転倒や破損等
　・施設配管設備等の破損

福島県センター（福島市）
・本震震度：5強
（いわきC 6弱、会津C 5強）
・職員安否：3/13午後 全員確認
・主な施設被害
　・天井巾板剥落程度の損壊あり
　・郡山供給出張所：建物損壊の恐れ
　・原町供給出張所：原発の影響により撤収

日本赤十字社
Japanese Red Cross Society

2. 血液製剤の安定供給と献血者の安定的確保

広域事業運営体制の開始を念頭においた対応



一部の被災地域では献血受入が困難

↓

被災地域の需要分を上乗せして被災していない地域で採血

↓

採血した血液は各製造所で製造後、東京に集め、使用可能な搬送手段により被災地域に毎日補充

日本赤十字社
Japanese Red Cross Society

被災地域における安定供給への影響

- 医療機関と連絡がとれない（有線電話・携帯電話ともに不通）
  - ○医療機関に直接訪問し血液製剤を供給（巡回供給）
- 燃料の不足（ガソリン、軽油）
  - ○緊急車輌の燃料補給にも苦慮
  - ○公共交通機関の不通、一般車輌の燃料補給が困難なことにより職員の通勤に支障（基幹センターである宮城県センター供給業務を中心として、全国の血液センターから緊急車輌8台、延べ100人の支援）
- 停電により自家発電装置のない供給施設等の血液製剤等は母体の血液センターへ搬送
- 被災地域での献血受入は困難

血液製剤(赤血球製剤)の在庫保有率の推移

適正在庫数(過去一年間の平日の平均1日需要量の3日分を目安)を100%としている

ブロック	3月11日	3月21日	3月31日	4月11日	献血者数対前年同月比※	
					400mL献血	血小板献血
北海道	154%	263%	194%	203%	107.0%	119.0%
宮城	175%	172%	157%	177%	61.7%	39.0%
東京	200%	245%	209%	180%	104.8%	98.5%
愛知	190%	283%	282%	229%	113.4%	113.4%
大阪	180%	262%	246%	192%	114.5%	108.4%
岡山	170%	236%	267%	195%	115.3%	108.3%
福岡	167%	371%	397%	200%	131.4%	119.9%
合計	**183%**	**263%**	**249%**	**195%**	**109.5%**	**102.1%**

※【参考】平成23年3月分における400mL献血者数及び血小板献血者数の対前年同月比(献血者速報値)

震災後のブロック間　受払状況

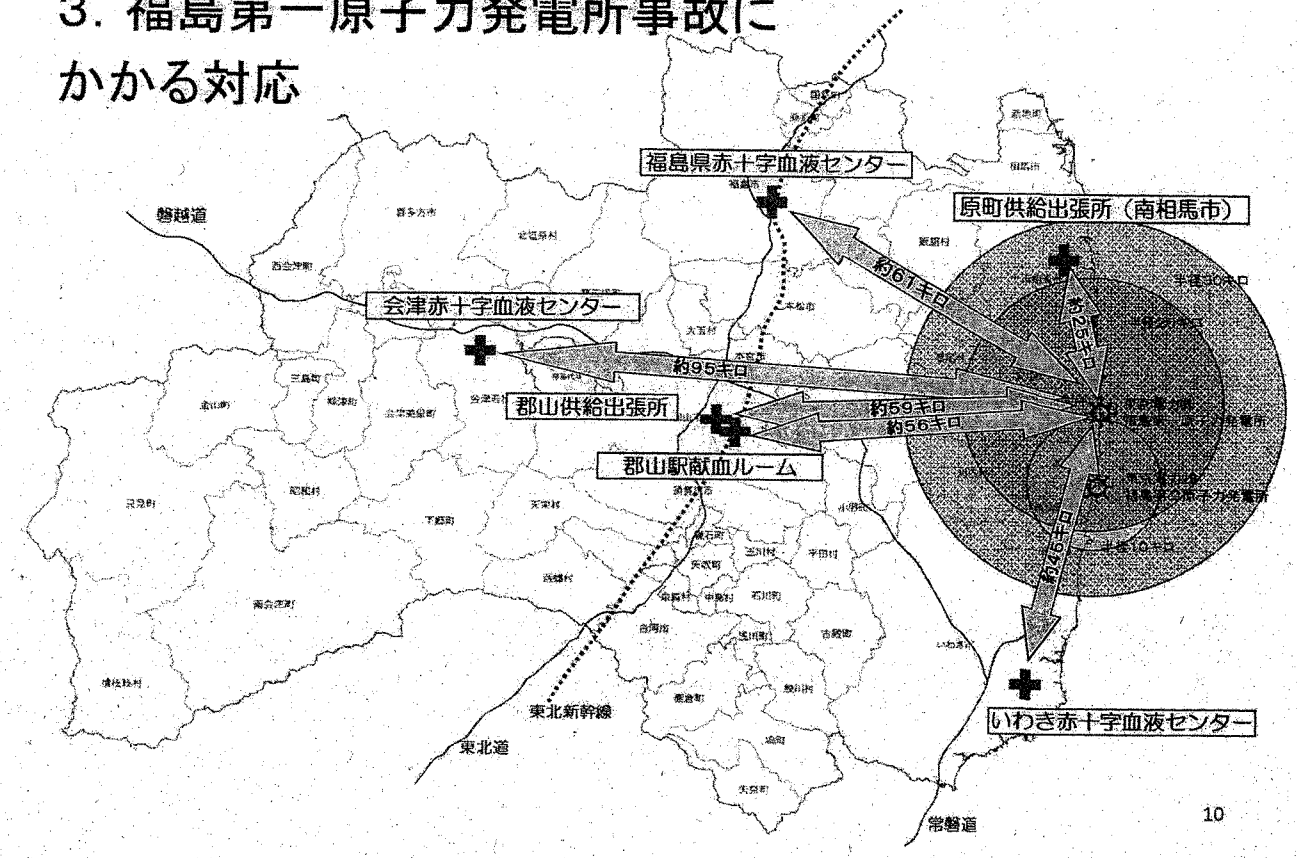
(単位:換算)

ブロック	赤血球製剤				血小板製剤			
	受入		払出		受入		払出	
	3/12~3/31	4/1~4/30	3/12~3/31	4/1~4/30	3/12~3/31	4/1~4/30	3/12~3/31	4/1~4/30
北海道	0	20	491	2,375	20	0	2,500	4,015
宮城	12,285	26,651	0	0	31,500	38,325	0	0
東京	156	17,601	9,720	21,820	27,735	43,280	29,390	38,700
愛知	2	1	152	5,272	30	160	6,100	11,295
大阪	3	422	1,049	4,365	60	60	10,430	13,265
岡山	38	210	0	3,027	85	175	5,530	8,810
福岡	0	2	1,072	8,048	330	225	5,810	6,140
合計	**12,484**	**44,907**	**12,484**	**44,907**	**59,760**	**82,225**	**59,760**	**82,225**

全国的な支援体制により安定供給を確保

日本赤十字社
Japanese Red Cross Society

3. 福島第一原子力発電所事故にかかる対応



10

日本赤十字社
Japanese Red Cross Society

― 安定供給への対応 ―
―時期に偏ることのない継続的な献血へのお願い

〔日赤ホームページに3月13日に掲載（一部を抜粋）〕

皆様からのご協力によりまして、現時点におきましては、医療機関からの需要に安定的に血液をお届けできております。

しかしながら、血液製剤は有効期限があることから、一時期に献血者が集中すると、期限切れが発生し、医療機関への安定供給に支障をきたす恐れがあります。

皆様からの善意の献血を無駄にすることなく最大限に被災地の医療に活用するため、一時期に偏ることのない継続的な献血が必要でありますので、何卒ご理解のうえ、今後とも献血へのご支援を賜りますようよろしくお願いいたします。

4. 計画停電の影響

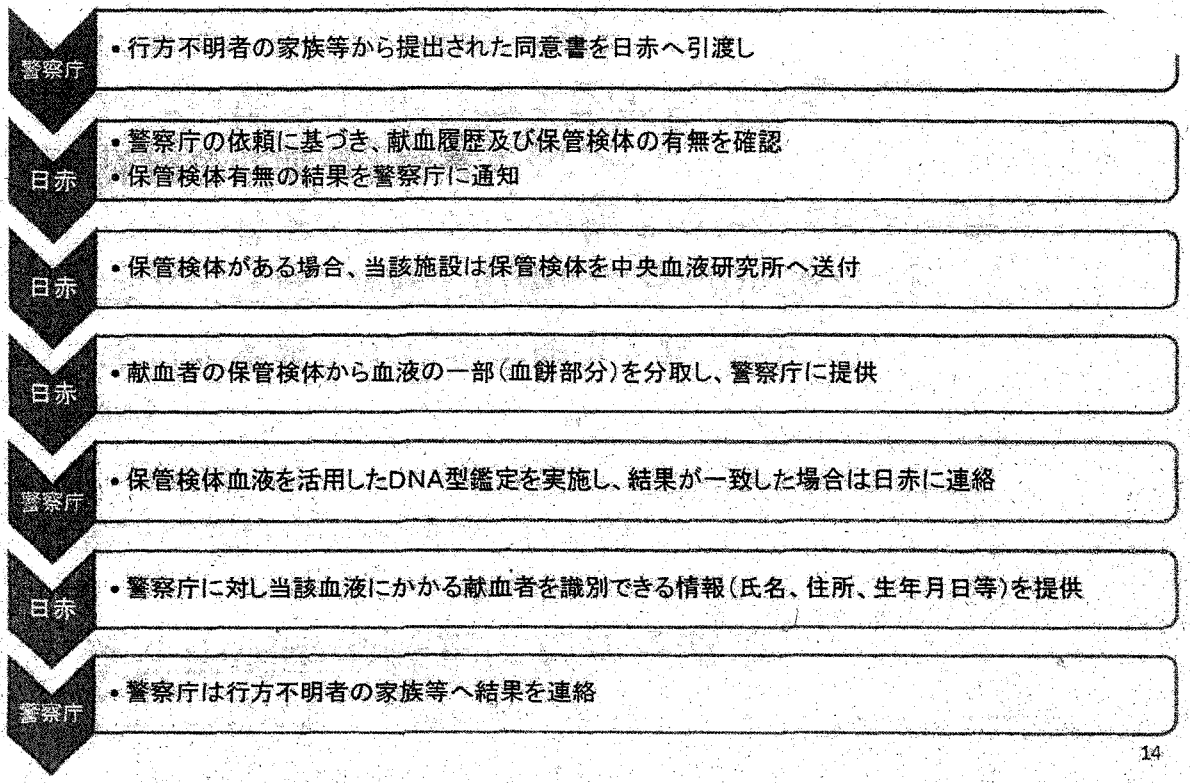
- 対象地域の献血ルームでは受付時間の変更(時間短縮)
- 検査・製剤業務の作業時間の延長(夜間対応等)

- **南相馬市・原町供給出張所(第一原発から約25km)の業務休止**
  → 半径20km～30km圏内の地域住民に対する国からの自主避難指示を受け3月13日に撤収し、在庫を福島センターに移管し、福島センターからの供給に切替える

- **いわきセンター(第一原発から約45km)の貯留保管新鮮凍結血漿の移管**
  → 非難区域が拡大する事態を想定し、移送に時間がかかる貯留保管新鮮凍結血漿(約6,500本)を3月18日に九州血液センターへ移管
  現在も業務は継続中

- **供給時における放射能対策**
  → 線量計を配備し、30km圏内を走行する場合は携帯

全体的な流れ



14

日本赤十字社
Japanese Red Cross Society

5. 身元不明者の特定にかかる協力

非常時における例外措置として協力

【条件】

① 東日本大震災の行方不明者であること
② 本人の家族、親族の要請によるものであること
③ 本人の特定のためのDNA鑑定のためにのみ使用すること
④ 使用後は血液を廃棄すること
⑤ 検体保管の目的に支障を及ぼすことがないこと
（提供する血液は微量であること）

Ⅰ．採血基準の改正内容

「安全な血液製剤の安定供給の確保等に関する法律施行規則の一部を改正する省令の施行について」（平成 23 年 3 月 11 日付け薬食発 0311 第 1 号厚生労働省医薬食品局長通知）により、採血基準が以下のとおり改正された（施行時期　平成 23 年 4 月 1 日）。

1. 健康診断の方法の見直し
   ・健康診断の方法から血液比重検査を削る。
2. 全血採血基準の見直し
（1）共通
   ・血液比重に係る部分を削る。
（2）200mL 全血採血
   ・男性に限り、献血可能な者の血色素量の下限値を「12g/dl」から「12.5g/dl」に引き上げる。
（3）400mL 全血採血
   ・男性に限り、献血可能な者の年齢の下限を「18 歳」から「17 歳」に引き下げる。
   ・男性に限り、献血可能な者の血色素量の下限値を「12.5g/dl」から「13g/dl」に引き上げる。
3. 血小板成分採血基準の見直し
   ・男性に限り、献血可能な者の年齢の上限を「54 歳」から「69 歳」に引き上げる（65 歳から 69 歳までの者については、60 歳から 64 歳までの間に献血の経験がある者に限る。）。

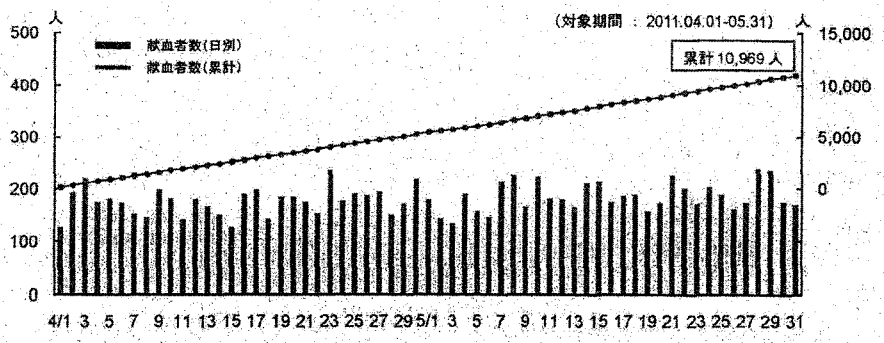
資料６
20110627
日本赤十字社血液事業本部

改正採血基準の実施状況（報告）

2. 血小板成分献血者数(55-69 歳の男性)の推移

対象となる献血者数は 10,969 人であった。血小板成分献血者(男性)の合計は 107,927 人であり、55-69 歳男性の血小板成分献血者数の構成比は 10.2%であった(グラフ 2)。今後、同様の協力状況が継続された場合、年間で約 66,000 人になるものと推定される。

(グラフ 2)



(単位:人)

	18-54 歳	構成比	55-69 歳	構成比	計	構成比
平成 22 年度	103,290	100.0%	—	—	103,290	100.0%
平成 23 年度	96,958	89.8%	10,969	10.2%	107,927	100.0%

*4-5 月(2ヵ月間)の比較

Ⅱ. 採血基準の改正に伴う献血状況

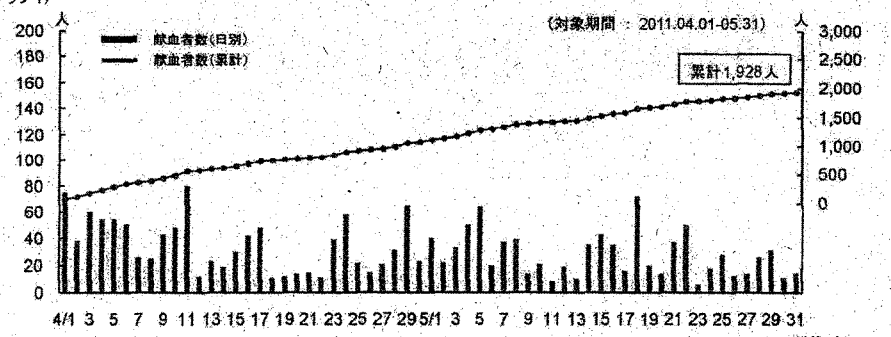
日本赤十字社では、平成 23 年 4 月 1 日から、改正された採血基準による献血受入を開始した。それに伴う献血の状況及び開始前後の広報展開について、以下のとおり概要を報告する。

なお献血状況の対象期間は、平成 23 年 4 月 1 日から平成 23 年 5 月 31 日までの 2 ヵ月間とした。

1. 400mL 献血者数(17 歳男性)の推移

対象となる献血者数は 1,928 人であった。また、17 歳男性全血献血者の合計は 2,439 人であり、400mL 献血者数の構成比は 79.0%であった(グラフ 1)。今後、同様の協力状況が継続された場合、年間で約 12,000 人になるものと推定される。

(グラフ 1)



(単位:人)

	200mL 献血	構成比	400mL 献血	構成比	計	構成比
平成 22 年度	1,653	100.0%	—	—	1,653	100.0%
平成 23 年度	511	21.0%	1,928	79.0%	2,439	100.0%

*4-5 月(2ヵ月間)の比較

〔参考〕

Ⅰ テレビ CM 放映(別添 1 参照)

1. 番組提供(全国放送)

放送局名	番組名	放送日	放送曜日	放送時間
日本テレビ	Going ! Sports&News	平成 23 年 3 月 5 日, 13 日, 19 日, 27 日	土, 日	23 時 55 分−24 時 35 分
TBS	激闘大家族 SP 東京下町5つ子ちゃん成長期 2011	平成 23 年 3 月 8 日	火	19 時 56 分−21 時 48 分
	世界進出バラエティー メイドイン JAPAN	平成 23 年 3 月 22 日	火	19 時 00 分−20 時 54 分
	神助社長のプロデュース大作戦 SP	平成 23 年 3 月 29 日	火	19 時 00 分−20 時 54 分
フジテレビ	LIVE2010 すぽると ! (土曜日)	平成 23 年 3 月 5 日, 19 日	土	24 時 15 分−25 時 05 分

*上記番組中に 30 秒の CM を 1 回又は 2 回放映したこと。

2. スポット放映

地 区	放送局名				
北海道	札幌テレビ	北海道放送	北海道文化放送	北海道テレビ	−
東 北	青森放送	青森テレビ	青森朝日放送	テレビ岩手	IBC 岩手放送
	岩手めんこいテレビ	岩手朝日テレビ	岩手朝日テレビ	宮城テレビ	東北放送
	仙台放送	東日本放送	秋田放送	秋田テレビ	秋田朝日放送
	山形放送	テレビユー山形	さくらんぼテレビ	山形テレビ	福島中央テレビ
	テレビユー福島	福島テレビ	福島放送	−	−

20110627
日本赤十字社血液事業本部

3. 血色素量の下限値の引き上げにより献血できなかった方(男性)の推移

200mL 献血希望者 122 人については、血色素量の下限値の引き上げ(12.0g/dl → 12.5g/dl)により採血基準を満たしていないことから、献血ができなかった。

また、400mL 献血希望者 6,861 人については、血色素量の下限値の引き上げ(12.5g/dl → 13.0g/dl)により、6,209 人(献血希望者の 90.5%)が献血できなかった状況である一方で、200mL 献血、血小板成分献血及び血漿成分献血での協力者は 652 人であった(献血希望者の 9.5%)。

(単位:人)

血色素量 12.0-12.4	献血希望者*	献血できなかった方	献血協力者
200mL 献血	122	122	−

*血色素量の下限値の引き上げにより 200mL 全血採血基準を満たさない群

(単位:人)

血色素量 12.5-12.9	献血希望者*	献血できなかった方	400mL 献血以外での献血協力者			
			200mL 献血	血小板成分献血	血漿成分献血	計
400mL 献血	6,861	6,209	582	31	39	652

*血色素量の下限値の引き上げにより 400mL 全血採血基準を満たさない群

4. 広報展開

また、広報展開として、①テレビ CM の放映、②新聞 43 紙(全国紙 3 紙, 各地域で購読率の高い地方紙 36 紙, スポーツ紙全国版 4 紙 計 3,700 万部)への掲載、③ラジオ番組での周知、④ポスターの作製(B2 判 5,000 部, B3 判 5,000 部)、掲出、及び⑤日本赤十字社 HP への関連情報の掲載並びに各献血会場でのデジタルサイネージ(映像配信機器)を用いた周知等を実施した(参考)。

Ⅱ 新聞広告掲載(別添 2 参照)

1. 掲載紙

全国紙(読売新聞・朝日新聞・日本経済新聞)3 紙・地方主要紙 36 紙・全国版スポーツ新聞(スポーツ報知・, 日刊スポーツ, スポニチ, サンケイスポーツ)4 紙の合計 43 紙　合計 約 3,700 万部

2. 掲載規格

全 5 段モノクロ

3. 掲載日

平成 23 年 3 月 1 日から 31 日までの間 各紙 1 回

Ⅲ ラジオ番組での告知

JFN38 局ネットにより毎週月曜日から金曜日の午前 6 時 30 分から 10 分間放送している「LOVE in Action」において、逐次、採血基準の一部改正に係る情報を提供したこと。

Ⅳ ポスター製作及び配布等

採血基準の一部改正に係るポスター(別添 3 参照)を 1 万部(B2 判 5,000 枚、B3 判 5,000 枚)、A4 判クリアファイル(別添 4 参照)を 40 万部(A4 判)、各々製作して各血液センターに配布するとともに、各献血ルームに整備してあるデジタルサイネージ(映像配信機器)においてもポスター情報を掲出したこと。

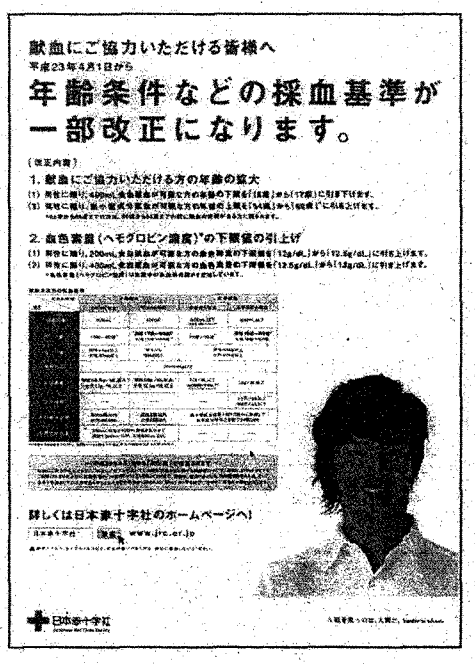
また、献血推進団体等に配布することを目的に、当該採血基準の一部改正に係るリーフレット(別添 5 参照)を制作し、より詳細な情報の周知を図ったこと。さらに、献血 Walker(一般国民向け献血推進小冊子)に関連記事を掲載したこと (別添 6 参照)。

20110627
日本赤十字社血液事業本部

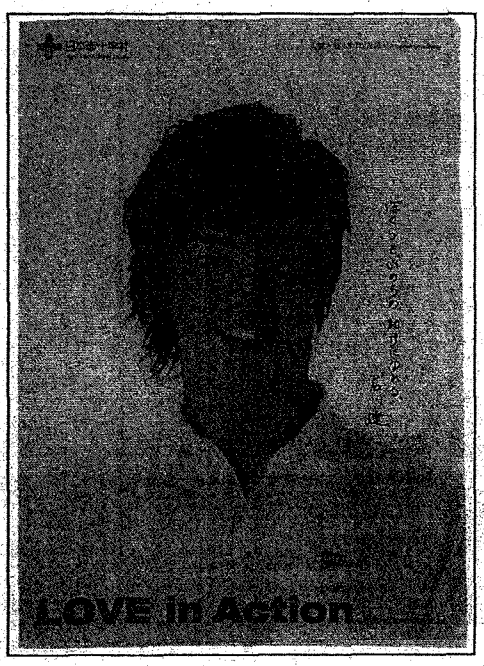
地 区	放送局名				
関東甲信越	日本テレビ	フジテレビジョン	テレビ新潟	新潟放送	新潟総合テレビ
	新潟テレビ 21	山梨放送	テレビ山梨	—	—
東海北陸	北日本放送	チューリップテレビ	富山テレビ	テレビ金沢	北陸放送
	石川テレビ	北陸朝日放送	福井放送	福井テレビ	テレビ信州
	信越放送	長野放送	長野朝日放送	静岡第一テレビ	静岡放送
	テレビ静岡	静岡朝日テレビ	中京テレビ	中部日本放送	東海テレビ
	メ～テレ	—	—	—	—
近畿	讀賣テレビ	関西テレビ	—	—	—
中四国	日本海テレビ	山陰放送	山陰中央テレビ	西日本放送	山陽放送
	岡山放送	瀬戸内海放送	広島テレビ	中国放送	テレビ新広島
	広島ホームテレビ	山口放送	テレビ山口	山口朝日放送	四国放送
	南海放送	あいテレビ	テレビ愛媛	愛媛朝日テレビ	高知放送
	テレビ高知	高知さんさんテレビ	—	—	—
九州沖縄	福岡放送	RKB 毎日放送	テレビ西日本	九州朝日放送	サガテレビ
	長崎国際テレビ	長崎放送	テレビ長崎	長崎文化放送	熊本県民テレビ
	熊本放送	テレビ熊本	熊本朝日放送	テレビ大分	大分放送
	大分朝日放送	宮崎放送	テレビ宮崎	鹿児島読売テレビ	南日本放送
	鹿児島テレビ	鹿児島放送	琉球放送	沖縄テレビ	琉球朝日放送

*各放送局の空き時間帯に放映を依頼したこと(平成 23 年 3 月 18 日から 31 日までの間)。

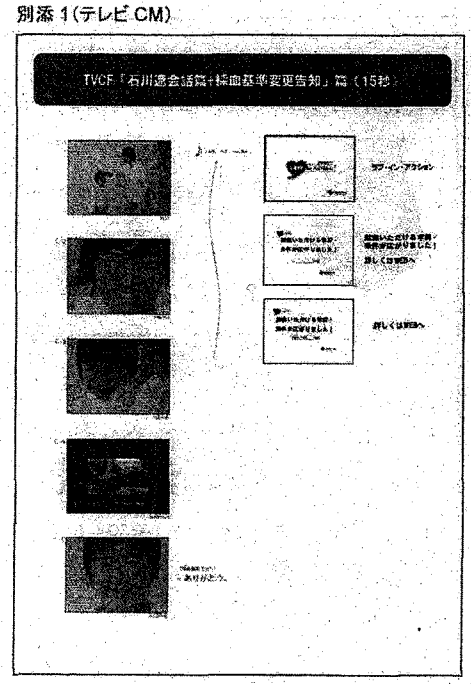
別添 3(ポスター)



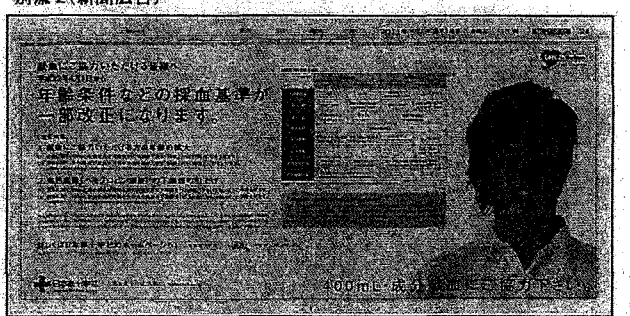
別添 4(クリアファイル)



別添 1(テレビ CM)



別添 2(新聞広告)



追加資料１

1. 男性400mL献血年齢引き下げ（18歳→17歳）による影響

平成23年4月～5月

表1. 献血者数

献血者合計

	男性			女性			計
	200	400	小計	200	400	小計	
計	8,827	422,364	431,191	58,299	131,478	189,777	620,968

16～18歳

	男性			女性			計
年齢	200	400	小計	200	400	小計	
16	1,523		1,523	2,146		2,146	3,669
17	511	1,928	2,439	2,443		2,443	4,882
18	519	11,469	11,988	2,696	4,184	6,880	18,868
計	2,553	13,397	16,674	7,285	4,184	12,527	27,419

表2. VVR発生数

献血者合計

	男性			女性			計
	200	400	小計	200	400	小計	
計	94	3,149	3,243	402	1,743	2,145	5,388

16～18歳

	男性			女性			計
年齢	200	400	小計	200	400	小計	
16	10		10	25		25	35
17	2	45	47	16		16	63
18	16	313	329	39	181	220	549
計	28	358	386	80	181	261	647

表3. VVR発生率

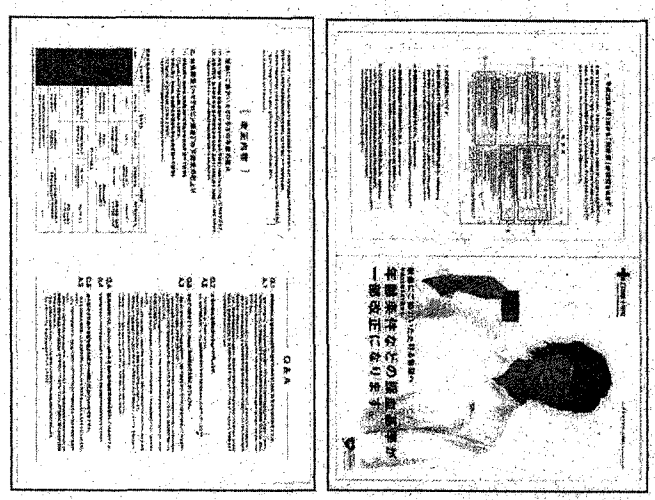
献血者合計

	男性			女性			計
	200	400	小計	200	400	小計	
計	1.06%	0.75%	0.75%	0.69%	1.33%	1.13%	0.87%

16～18歳

	男性			女性			計
年齢	200	400	小計	200	400	小計	
16	0.66%		0.66%	1.16%		1.16%	0.95%
17	0.39%	2.33%	1.93%	0.65%		0.65%	1.29%
18	3.08%	2.73%	2.74%	1.45%	4.33%	3.20%	2.91%
計	1.10%	2.67%	2.31%	1.10%	4.33%	2.08%	2.36%

別添５（リーフレット）



別添６（献血 Walker）

資料 7-1

ひと、くらし、みらいのために
厚生労働省
Ministry of Health, Labour and Welfare

Press Release

平成23年6月24日
医薬食品局血液対策課
(担当・内線) 課長　三宅 (2900)
企画官 安田 (2901)
(代表電話)　03(5253)1111
(直通電話)　03(3595)2395

報道関係者　各位

フィブリノゲン製剤納入先医療機関の追加調査について

平成16年12月9日に公表したフィブリノゲン製剤納入先医療機関を対象として、平成19年11月7日付で実施した追加調査の結果について、平成23年6月10日までに回収した医療機関からの回答を取りまとめた状況をお知らせいたします。

1　回答状況

(1) 追加調査実施期間　平成19年11月7日～12月5日(※1)
(ただし、現在も回収中)

(※1) (1)の調査以降、平成20年8月25日及び平成21年1月16日にも元患者の方へのお知らせ状況等について再度調査を行っており、(3)回答施設数以降はそれらの結果を反映したものである。

(2) 追加調査対象施設数　医療機関　6,610施設
(平成16年公表施設のうち、所在地等が不明であった施設を除いた医療機関)

(3) 回答施設数
- 平成16年公表時に存続していた5,397施設のうち、5,291施設(98%)から回答があった。
- なお、このほか平成16年公表時に廃院等していた1,213施設のうち、508施設から回答があった。

2　主な調査結果

(1) 投与の年月について回答があった医療機関数と元患者数
医療機関数　932施設
元患者数　14,219人 (投与年別は別表)

(2) 上記以外に、過去に投与の事実をお知らせしたという記録が残されているが、現在では投与の年月は特定できないとする回答があった医療機関数と元患者数
医療機関数　102施設
元患者数　349人

(3) (1)と(2)の合計
医療機関数　1,011施設(※2)
元患者数　14,568人

(※2) 厚生労働省ホームページ「C型肝炎ウイルス検査受診の呼びかけ(フィブリノゲン製剤納入先医療機関名の再公表について)」の公表医療機関等リスト上の該当医療機関の「備考」欄に、「フィブリノゲン製剤を投与されたことが判明した元患者の方がいるとの報告あり。」と記載した。

(4) 元患者の方への投与の事実のお知らせの状況

		元患者数
お知らせした		8,665人　(59%)(※3)
お知らせしていない		5,903人　(41%)
理由	投与後に原疾患等により死亡	1,938人　(13%)
	連絡先が不明又は連絡がつかない	2,832人　(19%)
	肝炎ウイルス検査の結果が陰性	463人　(3%)
	今後お知らせする予定である	235人　(2%)
	その他(未記入含む)	435人　(3%)
合　計		14,568人

(※3) 元患者の方に一人でも投与の事実をお知らせした医療機関は841施設であった。

(5)診療録等の保管状況

平成6年以前の診療録等が次のいずれかにより保管されている施設数
(括弧内は調査対象施設数に対する割合)

2,045 施設(31%)(※4)

(内訳)(※5)

診療録(カルテ)	1,498 施設 (23%)
手術記録あるいは分娩記録	1,578 施設 (24%)
製剤使用簿	136 施設 (2%)
処方箋	144 施設 (2%)
輸液箋あるいは注射指示箋	276 施設 (4%)
レセプトの写し	83 施設 (1%)
入院サマリーあるいは退院サマリー	296 施設 (4%)
その他の書類	296 施設 (4%)

(※4)平成 16 年の調査では「昭和 63 年6月 30 日以前にフィブリノゲン製剤を投与した記録(診療録、使用簿など)が保管されていますか。」との設問であったのに対し、今回の調査では、「平成6年以前のカルテ等の各種書類が保管されていますか。」との設問であったため、保管していると回答した施設の割合が異なったものと思われる。

(※5)厚生労働省ホームページ「C型肝炎ウイルス検査受診の呼びかけ(フィブリノゲン製剤納入先医療機関名の再公表について)」の公表医療機関等リスト上の「カルテ等の有無」欄に、平成6年以前のカルテ等の記録が一部でも保管されている場合、△印を付していたが、さらに保管されている記録の保管期間、保管状況等を記載した。

(別表)

投与の年月について回答があった元患者数の投与年別の内訳

投与年	人数
昭和 39年	0人
40年	7人
41年	8人
42年	12人
43年	16人
44年	18人
45年	19人
46年	22人
47年	25人
48年	34人
49年	48人
50年	47人
51年	67人
52年	89人
53年	127人
54年	199人
55年	332人
56年	441人
57年	572人
58年	979人
59年	1,509人
60年	1,777人
61年	2,459人
62年	3,001人
63年	1,736人
平成 元年	235人
2年	178人
3年	104人
4年	62人
5年	52人
6年	44人
計	14, 219人

（参　考）

リストの見方について

(1)医療機関は、病院の種別ごとに分けて掲載しています。

(2)項目ごとの記載事項は次のとおりです。

	項　目	解　説
1	施設名	公表時点の医療機関の名称を記載しています。
2	所在地	公表時点の所在地を記載しています。
3	No.	厚生労働省のホームページ「C型肝炎ウイルス検査受診の呼びかけ フィブリノゲン製剤納入先医療機関名の再公表について」において公表している医療機関リスト（（以下「フィブリノゲン製剤納入先医療機関リスト」という。）中のフィブリノゲン製剤納入先医療機関の番号を記載しています。 （なお、合併等により施設が統合している場合には、統合前の施設の番号を全て記載しています。）
4	リスト上の施設名	フィブリノゲン製剤納入先医療機関リスト中の医療機関の名称を記載しています。 （なお、合併等により医療施設が統合している場合には、統合前の施設名を全て記載しています。）
5	カルテ等の有無	フィブリノゲン製剤納入先医療機関リストに準じ、平成6年以前のカルテ等の記録が一部でも保管されている場合には、○印を付しています。
6	平成6年以前のカルテ等の保管期間、保管状況等	5に関して、医療機関より回答があった内容（自由記載）を記載しています。
7	カルテ等の確認状況	フィブリノゲン製剤の投与事実の確認について実施状況を記載しています。記載する記号は以下のとおりです。 全　:全ての記録について確認した 時　期:フィブリノゲン製剤の納入時期に限定して確認した 科　:診療科を限定して確認した 他記録:他の記録を使用して対象を限定して確認した 問　:問い合わせのあった方について確認した 記録なし:記録が保管されていない 検討中:実施を検討中 問なし:問い合わせがなかった
8	納入期間・納入本数	フィブリノゲン製剤の納入が判明している期間及びその期間におけるフィブリノゲン製剤の合計の納入本数を記載しています。 （なお、ここに記載されている期間以外でもフィブリノゲン製剤が対象医療機関に納入されている可能性は否定できないため、必ずしも正確な納入本数でない場合があります。）

別添

【(独)国立高度医療研究センター病院・(独)国立病院機構病院】

施設名	所在地	No.	リスト上の施設名	カルテ等の有無：カルテ	手術記録又は分娩記録	製剤使用簿	処方箋	輸液箋又は注射指示箋	レセプトの写し	入院又は退院サマリー	その他	その他内容	平成6年以前のカルテ等の保管期間、保管状況等	カルテ等の確認状況	納入期間	納入本数
【(独)国立高度医療研究センター病院】																
国立国際医療研究センター国府台病院	千葉県市川市国府台1−7−1	1714	国立精神・神経センター 国府台病院（現：国立国際医療センター国府台病院）	○	○				○		○	看護記録 麻酔記録	【カルテ等保管期間】 カルテ（全科）：昭和33年1月〜 手術記録・分娩記録、看護記録：昭和47年1月〜現在 レセプトの写し：平成1年1月〜現在 【カルテ等保管状況等】 レセプトの写し：磁気テープにて保管	問、時期	昭和55年〜昭和62年	116
国立がん研究センター中央病院	東京都中央区築地5−1−1	1870	国立 がんセンター中央病院（現：国立がん研究センター中央病院）	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録・分娩記録：昭和37年5月〜現在	問、時期、科	昭和55年〜昭和63年	255
国立国際医療研究センター病院	東京都新宿区戸山1−21−1	1997	国立 国際医療センター	○	○					○			【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和54年1月1日〜（但、外来カルテについては直近10年間分） 手術記録・分娩記録：昭和54年1月1日〜（入院カルテに編さんされている記録のみ） 入院サマリーは入院カルテに編さん	問、時期	昭和55年〜昭和63年	563
		2204	国立療養所中野病院（現：国立国際医療センター）													
国立成育医療研究センター病院	東京都世田谷区大蔵2−10−1	1994	国立 小児医療センター	○									【カルテ等保管状況等】 継続的に診療を受けている患者のカルテはほぼ保管されている	問	昭和57年〜昭和62年	152
国立長寿医療研究センター病院	愛知県大府市森岡町源吾36−3	3734	国立療養所中部病院（現：国立長寿医療センター）	○									【カルテ等保管状況等】 カルテ：昭和60年7月29日〜	問、時期	昭和56年〜昭和62年	86
国立循環器病研究センター病院	大阪府吹田市藤白台5−7−1	4451	国立循環器病センター	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和52年8月1日〜平成6年12月31日 手術記録（手）（心臓血管外科）：昭和52年〜現在 （脳血管外科）：昭和53年〜現在 （周産期科）：昭和57年〜現在 【カルテ等保管状況等】 手術記録・分娩記録：正本はカルテに添付	問、時期、他記録	昭和55年〜平成6年	3398
【(独)国立病院機構病院】																
北海道がんセンター	北海道札幌市白石区菊水四条2丁目3−54	21	独立行政法人国立病院機構北海道がんセンター	○	○			○			○	麻酔記録	【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和46年1月1日〜現在（一部廃棄カルテ有り） 【カルテ等保管状況等】 手術記録・分娩記録、輸液箋・注射指示箋：カルテの中に編綴	問、検討中	昭和55年〜平成4年	2197
北海道医療センター	北海道札幌市西区山の手五条7丁目1−1	53	独立行政法人国立病院機構 札幌南病院	○	○	○							【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録・分娩記録：昭和57年1月〜平成6年12月、使用簿：昭和57年4月〜平成6年12月	問	昭和56年〜昭和63年	12
		66	国立療養所西札幌病院（現：独立行政法人国立病院機構西札幌病院）	○									【カルテ等保管期間、保管状況等】 入院カルテ：平成8年退院〜（長期入院患者において、平成6年以前の診療情報を含む） 外来カルテ：平成15年最終受診〜（継続患者において、平成6年以前の診療情報を含む）		不明	不明
函館病院	北海道函館市川原町18−16	138	独立行政法人国立病院機構函館病院								○	フィブリノゲンHT−ミドリ肝炎調査記録用紙		問	昭和62年〜昭和63年	26
旭川医療センター	北海道旭川市花咲町7丁目4048番地	107	独立行政法人国立病院機構道北病院	○	○								【カルテ等保管状況等】 カルテ：全科。平成10年以降まで診療が継続しているカルテはある。 手術記録：カルテに添付されているため、カルテに同じ。	問、時期、科	昭和61年〜昭和62年	22
帯広病院	北海道帯広市西十八条北2丁目16	232	独立行政法人国立病院機構 帯広病院	○	○					○	○	麻酔記録	【カルテ等保管期間】 カルテ（全科）、入院サマリー（全科）：平成6年1月1日〜 【カルテ等保管状況等】 手術記録、麻酔記録：カルテの中に綴綴	問	昭和55年〜昭和63年	129
青森病院	青森県青森市浪岡大字女鹿沢字平野155	431	独立行政法人国立病院機構青森病院	○							○	退院簿	【カルテ等保管期間、保管状況等】 入院カルテ：昭和29年退院〜（一部） 外来カルテ：継続通院患者の一部 退院簿：昭和29年〜	問、時期	昭和56年〜昭和57年	25
弘前病院	青森県弘前市大字富野町1番地	416	独立行政法人国立病院機構弘前病院	○	○						○	麻酔台帳、麻酔記録	【カルテ等保管期間】 カルテ：（整形外科）平成1年1月1日〜平成6年12月31日 手術簿：（外科）昭和21年1月〜平成6年12月、（整形外科）昭和30年1月〜平成6年12月 手術台帳：昭和60年1月〜平成6年12月 麻酔台帳、麻酔記録：昭和48年1月〜平成6年12月 分娩助産記録：昭和40年1月〜平成6年12月	問	昭和57年〜昭和63年	27
盛岡病院	岩手県盛岡市青山1−25−1	474	国立療養所盛岡病院（現：独立行政法人国立病院機構盛岡病院）	○	○						○	麻酔記録	【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ、手術記録：昭和43年5月8日〜平成6年3月31日（一部のみ保管。手術記録はカルテに編綴） 麻酔記録：昭和55年7月30日〜（昭和55年、56年は一部のみ保管）	全	昭和59年1月	2
仙台医療センター	宮城県仙台市宮城野区宮城野2−8−8	577	独立行政法人国立病院機構仙台医療センター	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ、手術・分娩記録：昭和62年1月1日〜※診療科によっては、20年以上（昭和61年以前分）保管あり	問、科	昭和55年〜平成4年	950
宮城病院	宮城県亘理郡山元町高瀬字合戦原100	658	独立行政法人国立病院機構宮城病院	○							○	麻酔記録	【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ：昭和45年7月21日（重症心身障害者の長期入院継続患者など） 麻酔記録：昭和60年9月5日〜昭和61年4月16日、昭和62年1月7日〜平成6年12月19日	科	昭和55年	63
福島病院	福島県須賀川市芦田塚13	901	独立行政法人国立病院機構福島病院	○	○								【カルテ等保管期間、保管状況等】 （国立療養所福島病院分） カルテ：昭和60年〜平成6年（外科） 手術記録・分娩記録：昭和52年〜平成6年（外科） （国立郡山病院分） カルテ：昭和59年〜平成6年（整形外科）、昭和62年〜平成6年（小児科） 手術記録・分娩記録：昭和47年〜平成6年（整形外科）	問	不明〜平成5年10月	不明
霞ヶ浦医療センター	茨城県土浦市下高津2−7−14	974	独立行政法人国立病院機構霞ヶ浦医療センター	○	○			○		○			【カルテ等保管期間】 入院カルテ、手術記録・分娩記録、輸液箋・注射指示箋：平成5年1月1日〜平成5年12月31日 【カルテ等保管状況等】 カルテ、手術記録・分娩記録、輸液箋・注射指示箋、入院サマリー：入院カルテに編綴されているもののみ	問	昭和55年〜昭和62年	43

資料7-2

ひと、くらし、みらいのために
厚生労働省
Ministry of Health, Labour and Welfare

Press Release

平成23年6月27日
医薬食品局血液対策課
(担当・内線) 課長　三宅 (2900)
企画官 安田 (2901)
(代表電話) 03(5253)1111
(直通電話) 03(3595)2395

報道関係者　各位

国立病院等におけるフィブリノゲン製剤投与に係る診療録等の精査状況等の調査結果について

平成 22 年7月 12 日付けで実施いたしましたフィブリノゲン製剤投与に係る診療録等の精査状況等調査について、対象医療機関ごとの調査結果をとりまとめましたので、公表いたします。

1. 調査方法

(1)対象施設について

平成 16 年 12 月以降ホームページに公表しているフィブリノゲン製剤納入先医療機関のうち、国立高度専門医療研究センター病院、(独)国立病院機構の病院、労災病院、国立障害者リハビリテーションセンター病院、社会保険病院、厚生年金病院、船員保険病院及び国立大学病院の合計 252 施設です。(平成 22 年7月現在)

(2)調査事項

平成22年7月12日付けで、カルテ、手術記録・分娩記録、製剤使用簿、処方箋等の記録の状況、フィブリノゲン製剤の納入本数等について追加調査を実施しました。

2. 調査結果(別添のとおり)

【概要】 (平成 22 年7月現在(重複有り))

(1)平成6年以前の診療録等の記録がある医療機関(一部記録がある医療機関も含む)	215 機関	85.3%
(ア)全ての記録について網羅的に確認した医療機関	21 機関	(9.8%)
(イ)次の記録について網羅的に確認した医療機関	120 機関	(55.8%)
① フィブリノゲン製剤の納入時期に絞って記録を確認した医療機関	80 機関	(37.2%)
② 特定の診療科に絞って記録を確認した医療機関	18 機関	(8.4%)
③ 診療録とは別に保管されている記録等で対象を絞って記録を確認した医療機関	38 機関	(17.6%)
	※重複あり	
(ウ)記録の確認の実施を検討中の医療機関	6 機関	(2.8%)
(エ)調査時点で、網羅的な確認につき回答がなかった医療機関	68 機関	(27.0%)
(2)平成6年以前の診療録等の記録がない医療機関	37 機関	14.7%
(※問合せのあった方について診療録等の記録を確認した医療機関	217 機関	86.1%)

3. フィブリノゲン製剤の投与事実のお知らせ状況

対象施設のうち、107 施設で合計 4,108 名のフィブリノゲン製剤の投与事実が確認されており、元患者の方等へのお知らせ状況は以下のとおり(平成 22 年 4 月 22 日時点)。

投与判明者数		4,108 名	(100%)
お知らせした		2,260 名	(55.0%)
お知らせしていない		1,848 名	(45.0%)
理由	投与後に原疾患等により死亡	594 名	(14.5%)
	肝炎ウイルス検査の結果が陰性	107 名	(2.6%)
	今後お知らせする予定	60 名	(1.5%)
	連絡先が不明又は連絡がつかない	1,055 名	(25.7%)
	その他(患者の特定ができていない)	32 名	(0.8%)

4. 留意事項

(1)調査結果は、協力頂いた医療機関より提供された情報をそのまま掲載しています。

(2)調査結果の記載内容は、今後、医療機関から追加報告があった場合等に随時修正します。

施設名	所在地	No.	リスト上の施設名	カルテ等の有無 カルテ	手術記録又は分娩記録	麻薬使用簿	処方箋	輸液箋又は注射指示箋	レセプトの写し	入院又は退院サマリー	その他	その他内容	平成６年以前のカルテ等の保管期間、保管状況等	カルテ等の確認状況	納入期間	納入本数
水戸医療センター	茨城県東茨城郡茨城町桜の郷280番地	1019	独立行政法人国立病院機構水戸医療センター	○	○						○	麻酔記録	【カルテ等保管期間】 カルテ：平成6年1月1日～ 手術記録・分娩記録：昭和44年1月1日～ 麻酔記録：昭和57年～ 【カルテ等保管状況等】 手術記録・分娩記録：期間は、診療科等によって異なる。	間、他記録	昭和55年～昭和63年	1409
茨城東病院	茨城県那珂郡東海村照沼825	1077	独立行政法人国立病院機構茨城東病院	○	○						○		【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録・分娩記録、その他の書類：平成1年～現在	間	昭和55年～昭和63年	286
栃木病院	栃木県宇都宮市中戸祭１－１０－３７	1137	独立行政法人国立病院機構栃木病院	○	○						○	入退院名簿	【カルテ等保管期間、保管状況等】 外来カルテ：平成10年最終受診～（継続患者において、平成6年以前の診療情報を含む） 手術記録：保管診療録分のみ 入退院名簿：昭和38年4月～	間、時期、料、他記録	昭和55年～昭和62年	267
宇都宮病院		1148	国立療養所宇都宮病院（現：独立行政法人国立病院機構宇都宮病院）											全	不明	不明
	栃木県宇都宮市下岡本２１６０	1160	独立行政法人国立病院機構宇都宮病院	○									【カルテ等保管期間】 平成6年7月1日～		昭和57年～63年	20
高崎総合医療センター	群馬県高崎市高松町３６	1257	独立行政法人国立病院機構高崎病院（現：高崎総合医療センター）		○								【カルテ等保管期間】 分娩台帳：昭和36年1月～（記載内容：氏名、年齢、住所、入院月日、退院月日、分娩経過、身重、分娩時間、出血量） 手術台帳（産婦人科）：昭和58年12月～（記載内容：手術日、氏名、年令、性別、病名、術式、手術時間、麻酔量）	間、時期	昭和55年～昭和63年	146
沼田病院	群馬県沼田市上原町１５５１－４	1331	独立行政法人国立病院機構沼田病院	○									【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和56年1月1日～平成6年12月31日 【カルテ等保管状況等】 （昭和56年以降分を保存しているが、一部は処分済みの可能性あり）	間、時期	昭和55年～昭和63年	208
西群馬病院	群馬県渋川市金井２８５４	1328	独立行政法人国立病院機構西群馬病院	○									【カルテ等保管期間、保管状況等】 外来カルテ：昭和57年以降継続受診患者	間なし	昭和56年～昭和62年	54
西埼玉中央病院	埼玉県所沢市若狭２－１６７１	1528	独立行政法人国立病院機構西埼玉中央病院	○	○								【カルテ等保管期間】 入院カルテ：平成4年1月1～平成6年12月31日 分娩記録台帳：昭和48年1月1日～ 【カルテ等保管状況等】 入院カルテ、分娩記録台帳のみ保管有。	間	昭和55年～昭和63年	168
埼玉病院	埼玉県和光市諏訪２－１	1492	独立行政法人国立病院機構埼玉病院	○	○		○	○			○	入院患者台帳	【カルテ等保管期間、保管状況等】 入院カルテ：昭和62年1月1日退院～（全科） 外来カルテ：最終来院日が平成17年1月1日以降分について保管している 手術記録・分娩記録（全科）、処方箋、輸液箋・注射指示箋：保管カルテに綴じ込み分に限る 入院患者台帳：昭和19年1月1日～	間、時期	昭和55年～昭和62年	238
東埼玉病院	埼玉県蓮田市黒浜４１４７	1468	独立行政法人国立病院機構東埼玉病院	○									【カルテ等保管期間】 外来カルテ： ①最終来院日が平成14年8月1日から現在までの最終来院患者分（同期間の退院患者分を含む）：平成1年5月～平成6年12月31日 ②最終来院日が平成11年1月17日から平成14年7月31日までの最終来院患者分の一部（入院歴なし）：昭和58年11月8日～平成6年12月31日 ③現在入院中患者のうち平成6年以前の受診歴のある患者分：昭和45年11月17日～平成6年12月31日 入院カルテ： ①平成14年8月1日から現在までの退院患者分：平成1年5月1日～平成6年12月31日 ②現在入院中患者のうち平成6年以前の受診歴のある患者分：昭和45年11月17日～平成6年12月31日 ③研究目的による保存カルテ（筋ジストロフィー退院患者分の一部）：昭和45年12月10日～平成6年11月29日	間、時期	不明（昭和55年以降の納入はなし）	不明
千葉医療センター	千葉県千葉市中央区椿森４－１－２	1619	独立行政法人国立病院機構千葉医療センター	○									【カルテ等保管期間】 入院カルテ：昭和58年1月1日～	間	昭和55年～平成2年	20
千葉東病院	千葉県千葉市中央区仁戸名町６７３	1620	独立行政法人国立病院機構千葉東病院	○									【カルテ等保管期間】 カルテ；昭和61年4月1日～現在 【カルテ等保管状況等】 カルテ：小児科	時期	昭和58年	2
下志津病院	千葉県四街道市鹿渡９３４－５	1756	独立行政法人国立病院機構下志津病院	○	○			○			○		【カルテ等保管期間】 カルテ（全科）、輸液箋・注射指示箋、その他の書類（全科）：平成6年以降も継続して受診されている方についてはあり 手術記録・分娩記録（全科）：昭和29年4月～	間、時期	昭和58年～昭和63年	32
東京医療センター	東京都目黒区東が丘２－５－１	1946	独立行政法人国立病院機構東京医療センター	○	○								【カルテ等保管期間、保管状況等】 入院カルテ：平成7年1月退院～（長期入院患者において、平成6年以前の診療情報を含む） 外来カルテ：平成14年最終受診～（継続患者において、平成6年以前の診療情報を含む） 分娩記録：昭和63年～	時期	昭和55年～昭和63年	不明
災害医療センター		2212	国立王子病院（現：独立行政法人国立病院機構災害医療センター）												不明	不明
		2273	独立行政法人国立病院機構災害医療センター	○									【カルテ等保管期間】 カルテ：平成5年1月～現在 【カルテ等保管状況等】 カルテ：平成7年7月以降の長期保存分と、ごく一部の平成5年～平成7年の旧立川病院分	間なし	不明	不明
	東京都立川市緑町３２５６	2392	国立立川病院（現：独立行政法人国立病院機構災害医療センター）												不明	不明
東京病院	東京都清瀬市竹丘３－１－１	2367	独立行政法人国立病院機構東京病院	○	○	○	○	○		○			【カルテ等保管状況等】 カルテ（一部の診療科）：現在も通院中の患者で入院歴のある患者 手術記録・分娩記録、麻薬使用簿、処方箋、輸液箋・注射指示箋、入院サマリー：カルテに含まれる分	全、他記録	昭和55年3月、昭和61年12月、平成2年12月	7

施設名	所在地	No.	リスト上の施設名	カルテ等の有無 カルテ	手術記録又は分娩記録	麻薬使用簿	処方箋	輸液箋又は注射指示箋	レセプトの写し	入院又は退院サマリー	その他	その他内容	平成６年以前のカルテ等の保管期間、保管状況等	カルテ等の確認状況	納入期間	納入本数
村山医療センター	東京都武蔵村山市学園２－３７－１	2376	独立行政法人国立病院機構村山医療センター	○	○	○	○	○		○	○	入院患者名簿、入院患者カード	【カルテ等保管期間、保管状況等】 入院カルテ：平成9年1月退院～（長期入院患者において、平成6年以前の診療情報を含む） 外来カルテ：平成6年最終受診～（継続患者において、平成6年以前の診療情報を含む） 手術記録、退院サマリー、入院処方指示表及び入院注射指示箋：保管カルテ分のみ 麻薬使用簿：昭和59年4月～ 麻酔記録：昭和36年9月～ 入院患者名簿（一部）：昭和43年1月～昭和53年12月、及び昭和61年1月～平成1年12月 入院患者カード：昭和56年1月から平成1年12月	時期	昭和53年～昭和62年	38
横浜医療センター	神奈川県横浜市戸塚区原宿３－６０－２	2516	独立行政法人国立病院機構横浜医療センター	○							○		【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和58年～	間、検討中	昭和55年～昭和62年	85
相模原病院	神奈川県相模原市桜台１８－１	2608	独立行政法人国立病院機構相模原病院											間、記録なし	昭和55年～昭和63年	177
神奈川病院	神奈川県秦野市落合６６６－１	2709	独立行政法人国立病院機構神奈川病院	○	○					○			【カルテ等保管期間、保管状況等】 入院カルテ：昭和61年1月～平成1年12月退院 昭和57年1月～昭和59年12月退院（心臓外科のみ） 平成6年1月退院～（長期入院患者において、平成6年以前の診療情報を含む） 外来カルテ：昭和62年4月1日～平成6年12月31日（継続通院患者のみ） 手術記録、処方箋、輸液箋、入院サマリー：入院カルテ分のみ	間	昭和57年～昭和63年	198
西新潟中央病院	新潟県新潟市西区真砂１－１４－１	2756	独立行政法人国立病院機構　西新潟中央病院	○	○	○							【カルテ等保管期間、保管状況等】 入院カルテ（呼吸器科、呼吸器外科）：昭和36年12月～昭和47年3月（一部）、平成7年7月退院～（長期） 外来カルテ（呼吸器科、呼吸器外科）：昭和62年8月～平成7年6月（一部）、平成7年7月最終受診～（継続） 手術記録（呼吸器科、呼吸器外科）：昭和35年12月～平成7年6月（入院カルテに控えを綴じていた） 薬剤使用簿：昭和63年8月21日～平成1年3月（薬品供用簿として保管）	間、時期、他記録	昭和55年～昭和63年	82
富山病院	富山県富山市婦中町新町３１４５	2926	独立行政法人国立病院機構　富山病院	○	○								【カルテ等保管期間、保管状況等】 入院カルテ：平成7年4月退院～（長期入院患者において、平成6年以前の診療情報を含む） 手術名簿：昭和45年3月～	全	昭和57年～昭和63年	19
医王病院	石川県金沢市岩出町ニ７３－１	2948	独立行政法人国立病院機構金沢若松病院（現：独立行政法人国立病院機構医王病院）											記録なし	不明	不明
金沢医療センター	石川県金沢市下石引町１－１	2955	独立行政法人国立病院機構金沢医療センター	○	○						○	手術台帳、分娩台帳	【カルテ等保管期間、保管状況等】 入院カルテ：平成5年4月入院～（長期入院患者において、平成5年以前の診療情報を含む） 平成9年4月～（継続受診患者において、平成5年以前の診療情報を含む） 昭和23年～（精神科の一部） 昭和47年1月～昭和50年6月（一部） 外来カルテ：平成9年最終受診～（継続患者において、平成6年以前の診療情報を含む） 手術記録：保管カルテ分、昭和44年12月～（整形外科）、昭和46年12月～（脳神経外科） 手術台帳：昭和23年～（外科）、昭和39年～（脳神経外科）、昭和67年～（泌尿器科）、昭和23年～（婦人科） 分娩台帳：昭和26年～（産科）	間、時期	昭和55年～昭和62年	100
石川病院	石川県江沼郡山中町上野町ル１５－１（現：石川県加賀市手塚町サ１５０番地）	3014	国立山中病院（現：独立行政法人国立病院機構石川病院）	○	○					○			【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ：昭和63年～（小児科の入院カルテの一部） 手術記録：昭和39年～（台帳的なもの。ただし薬品等の投与状況までは不明） サマリー：一部、カルテと同様 フィブリノゲン製剤が納入されたのは、旧山中病院であり、山中病院の記録については、田辺三菱製薬からの「医薬品等副作用報告書」のみ保管している。	記録なし	昭和62年	1
福井病院		3042	独立行政法人国立病院機構福井病院	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和64年12月13日～現在（血友患者のカルテのみ） 手術記録・分娩記録：平成1年4月3日～現在（外科手術台帳）	全	不明	不明
	福井県敦賀市桜ケ丘町３３－１	3072	国立療養所福井病院（現：独立行政法人国立病院機構福井病院）												不明	不明
あわら病院	福井県あわら市北潟２３８－１	3035	独立行政法人国立病院機構あわら病院	○									【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ（重心病棟（小児科））：昭和50年4月1日～平成7年3月31日（重心病棟（小児科）については、入所時から現在、入所中である入院患者分について保管）	時期	昭和57年～昭和59年	5
甲府病院	山梨県甲府市天神町１１－３５	3088	独立行政法人国立病院機構甲府病院	○									【カルテ等保管状況等】 カルテ（小児科）：外来カルテはない。平成4年頃の未熟児（ＮＩＣＵ）の入院カルテが9件あり。	全	不明	不明
東長野病院	長野県長野市上野２－４７７	3140	独立行政法人国立病院機構東長野病院	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録：昭和46年4月1日～	間	昭和57年～昭和62年	481
まつもと医療センター（松本病院）	長野県松本市村井町南２－２０－３０	3222	独立行政法人国立病院機構松本病院	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録：平成3年4月1日～現在	間	昭和53年～昭和62年	101
長野病院	長野県上田市緑が丘１－２７－２１	3172	独立行政法人国立病院機構長野病院	○	○			○					【カルテ等保管期間】 カルテ：平成5年1月～現在 手術記録（産婦人科）：昭和62年1月6日～平成3年9月3日 分娩記録：昭和60年1月1日～平成5年9月6日 【カルテ等保管状況等】 カルテ：現院分 分娩記録：正常分娩のみ記録 輸液箋・注射指示箋：入院カルテに添付してあるものについては、平成5年1月退院分～現在	間	昭和58年	3
長良医療センター		3248	独立行政法人国立病院機構岐阜病院（現：独立行政法人国立病院機構長良医療センター）		○								【カルテ等保管期間】 手術記録の写し（全科）：昭和47年1月～平成6年12月	間、時期、他記録	昭和56年～昭和63年	75
	岐阜県岐阜市長良１３００－７	3266	独立行政法人国立病院機構長良病院（現：独立行政法人国立病院機構長良医療センター）	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ（一部の診療科）、手術記録・分娩記録：昭和46年～平成6年		昭和56年～昭和62年	5

施設名	所在地	No.	リスト上の施設名	カルテ等の有無									平成６年以前のカルテ等の保管期間、保管状況等	カルテ等の確認状況	納入期間	納入本数
				カルテ	手術記録又は分娩記録	製剤使用簿	処方箋	輸液箋又は注射指示箋	レセプトの写し	入院又は退院サマリー	その他	その他の内容				
静岡てんかん・神経医療センター	静岡県静岡市葵区城東町２４－１（現：静岡県静岡市葵区漆山886番地）	3369	国立静岡病院（現：国立病院機構静岡てんかん・神経医療センター）											記録なし	不明	不明
天竜病院	静岡県浜北市浜北区於呂４２０１－２	3472	独立行政法人国立病院機構天竜病院	○	○					○			【カルテ等保管期間、保管状況等】 入院カルテ：平成3年4月退院～（長期入院患者において、平成6年以前の診療情報を含む） 外来カルテ：平成7年3月最終受診～（継続患者において、平成6年以前の診療情報を含む） 手術記録、入院サマリー：保管カルテ分のみ 手術台帳：昭和17年～	閲、時期	昭和59年～昭和62年	11
静岡富士病院	静岡県富士宮市上井出８１４	3455	独立行政法人国立病院機構静岡富士病院	○					○				【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和58年1月1日～平成6年12月31日（入院カルテは昭和58年1月～） レセプトの写し：平成6年4月1日～平成6年12月31日	閲	昭和61年～昭和62年	10
静岡医療センター	静岡県駿東郡清水町長沢７６２－１	3426	独立行政法人国立病院機構静岡医療センター	○	○						○	麻酔記録	【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和47年1月4日～現在 手術記録：昭和56年4月1日～現在 その他の書類（麻酔記録）：昭和60年4月1日～現在 【カルテ等保管状況等】 カルテ：最終来院日より10年経過したものは随時処分	閲、時期、他記録	昭和55年～平成4年	604
名古屋医療センター	愛知県名古屋市中区三の丸４－１－１	3658	独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター	○	○					○			【カルテ等保管状況等】 カルテ：最終来院日より10年間保存（該当者のカルテあり） 手術記録・分娩記録：最終来院日より10年間保存（記録はカルテ内にあり） 入院サマリー：カルテ内にあり保存はカルテと同じ	他記録	昭和55年～平成5年	2927
東名古屋病院	愛知県名古屋市名東区梅森坂５－１０１	3604	独立行政法人国立病院機構東名古屋病院	○	○					○			【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和50年～ 手術記録：昭和43年～ 入院サマリー：昭和50年～	閲、時期、他記録	不明	不明
		3661	独立行政法人国立病院機構　豊橋東病院（現：独立行政法人国立病院機構　豊橋医療センター）	○									【カルテ等保管期間、保管状況等】 入院カルテ：平成12年3月退院～（長期入院患者において、平成6年以前の診療情報を含む） 外来カルテ：平成12年3月最終受診～（継続患者において、平成6年以前の診療情報を含む）	閲なし	不明	不明
豊橋医療センター	愛知県豊橋市飯村町字浜道上５０	3657	独立行政法人国立病院機構豊橋病院（現：独立行政法人国立病院機構　豊橋医療センター）	○									【カルテ等保管期間、保管状況等】 入院カルテ：平成12年3月退院～（長期入院患者において、平成6年以前の診療情報を含む） 外来カルテ：平成12年3月最終受診～（継続患者において、平成6年以前の診療情報を含む）		不明	不明
三重病院	三重県津市大里窪田町３５７	3824	独立行政法人国立病院機構三重病院	○									【カルテ等保管状況等】 カルテ：一部消失しているものがある	閲	不明	0
		3863	独立行政法人国立病院機構三重中央医療センター											閲、記録なし	不明	不明
三重中央医療センター	三重県津市久居明神町２１５８－５	3912	国立療養所静澄病院（現：国立病院機構三重中央医療センター）												不明	不明
滋賀病院	滋賀県東近江市八日市五智町２５５	3956	独立行政法人国立病院機構滋賀病院	○						○			【カルテ等保管期間、保管状況等】 外来カルテ：外来カルテについては継続通院患者（平成14年以降において）は一部保管 入院サマリー：外来カルテに添付	閲	昭和55年～昭和62年	63
宇多野病院	京都府京都市右京区鳴滝音戸山町８	4060	独立行政法人国立病院機構宇多野病院	○									【カルテ等保管期間】 入院カルテ：昭和61年4月1日～ 外来カルテ：平成7年1月以降に最終来院した分	閲	昭和55年～昭和63年	108
京都医療センター	京都府京都市伏見区深草向畑町１－１	4035	独立行政法人国立病院機構京都医療センター	○	○					○			【カルテ等保管期間、保管状況等】 入院カルテ：昭和60年1月1日～ 外来カルテ：平成5年4月以降に最終来院した分 手術記録・分娩記録、入院サマリー：カルテに編綴	閲、時期	昭和55年～平成6年	671
舞鶴医療センター	京都府舞鶴市字行永２４１０	4122	独立行政法人国立病院機構舞鶴医療センター								○	手術台帳	【カルテ等保管期間】 手術台帳：平成3年4月1日～現在	閲	不明	不明
南京都病院	京都府城陽市中芦原１１	4087	独立行政法人国立病院機構南京都病院	○									【カルテ等保管期間】 カルテ：平成6年4月1日～平成19年11月	閲	昭和55年～昭和62年	91
		4186	独立行政法人国立病院機構大阪医療センター	○	○					○			【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ（入院診療分）：昭和51年頃～現在 手術記録・分娩記録、入退院サマリー：カルテに編綴	閲、他記録	昭和55年～昭和63年	549
大阪医療センター	大阪府大阪市中央区法円坂２－１－１４	4656	国立療養所千石荘病院（現：国立病院機構大阪医療センター）	○									【カルテ等保管期間】 概ね平成5年以降のカルテ（一部）が保管されている。		昭和56年～平成元年	51
近畿中央胸部疾患センター	大阪府堺市北区長曽根町１１８０	4342	独立行政法人国立病院機構近畿中央胸部疾患センター	○	○								【カルテ等保管期間、保管状況等】 外来カルテ：平成7年最終受診～（継続患者において、平成6年以前の診療情報を含む） 手術記録：昭和54年～	閲	昭和55年～平成2年	310
刀根山病院	大阪府豊中市刀根山５－１－１	4419	独立行政法人国立病院機構　刀根山病院	○	○					○	○	麻酔記録	【カルテ等保管期間】 手術記録：平成4年～ 入院サマリー：昭和57年～ 麻酔記録：平成3年1月～ 【カルテ等保管状況等】 カルテ：継続して受診歴のある患者等のカルテを一部保管 手術記録、入院サマリー：呼吸器外科 麻酔記録：呼吸器外科、整形外科	閲	昭和57年～昭和63年	231
大阪南医療センター	大阪府河内長野市木戸東町２－１	4560	独立行政法人国立病院機構大阪南医療センター	○	○								【カルテ等保管期間】 入院カルテ：昭和59年1月～退院分 分娩記録：平成６年１月１日～	閲	昭和55年～昭和62年	508
神戸医療センター	兵庫県神戸市須磨区西落合３－１－１	4724	独立行政法人国立病院機構神戸医療センター	○	○								【カルテ等保管期間】 入院カルテ：昭和58年～平成3年の一部 分娩記録：昭和63年1月1日～ 【カルテ等保管状況等】 産科：分娩記録	閲、時期、科、他記録	昭和58年～昭和63年	40
姫路医療センター	兵庫県姫路市本町６８	4789	独立行政法人国立病院機構姫路医療センター	○									【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和62年1月～現在	閲	昭和55年～昭和63年	293
兵庫青野原病院	兵庫県小野市南青野	4966	独立行政法人国立病院機構兵庫青野原病院	○									【カルテ等保管期間】 カルテ（入院カルテ）：昭和61年4月1日退院分～現在	閲、他記録	昭和51年～昭和62年	31
兵庫中央病院	兵庫県三田市大原１３１４	4920	独立行政法人国立病院機構兵庫中央病院	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録：平成1年4月～現在	閲	昭和58年～昭和63年	147

施設名	所在地	No.	リスト上の施設名	カルテ等の有無									平成６年以前のカルテ等の保管期間、保管状況等	カルテ等の確認状況	納入期間	納入本数
				カルテ	手術記録又は分娩記録	製剤使用簿	処方箋	輸液箋又は注射指示箋	レセプトの写し	入院又は退院サマリー	その他	その他の内容				
		5141	独立行政法人国立病院機構南和歌山医療センター	○									【カルテ等保管期間、保管状況等】 外来カルテ：平成4年7月最終受診～（継続患者において、平成6年以前の診療情報を含む）	閲	不明	不明
南和歌山医療センター	和歌山県田辺市たきない町２７－１	5169	国立白浜温泉病院（現：独立行政法人国立病院機構南和歌山医療センター）	○									【カルテ等保管期間】 カルテ：平成4年7月1日～ 【カルテ等保管状況等】 カルテ：統合後、継続通院されている外来カルテ			
和歌山病院	和歌山県日高郡美浜町大字和田１１３８	5135	独立行政法人国立病院機構和歌山病院								○		【カルテ等保管状況等】 昭和47年頃の心臓手術の一部の資料が残っている。	全、閲	不明	不明
米子医療センター	鳥取県米子市車尾４－１７－１	5199	独立行政法人国立病院機構米子医療センター	○	○			○		○			【カルテ等保管期間】 カルテ（全科）、手術記録・分娩記録（全科）、輸液箋・注射指示箋、入院サマリー（全科）：永久 【カルテ等保管状況等】 輸液箋・注射指示箋：カルテに添付	閲、時期	昭和55年～平成14年	300
松江医療センター	島根県松江市上乃木５－８－３１	5229	独立行政法人国立病院機構松江病院	○	○								【カルテ等保管状況等】 カルテ：期間を特定出来ないので事例ごとに照会いただきたい。 手術記録・分娩記録：個別にしていなくカルテにつづってある。	閲	昭和60年～昭和62年	5
浜田医療センター	島根県浜田市浅井町７７７－１２	5264	独立行政法人国立病院機構浜田医療センター	○		○							【カルテ等保管期間】 カルテ：平成5年1月1日～ 製剤使用簿：平成5年4月1日～ 【カルテ等保管状況等】 カルテ：退院日で綴り	全、閲	昭和55年～昭和62年	46
岡山医療センター	岡山県岡山市田益１７１１－１	5302	国立岡山病院（現：独立行政法人国立病院機構岡山医療センター）	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ（全科）、手術記録・分娩経過表（全科）：昭和61年1月1日～現在	全、時期、閲	昭和55年～平成4年	156
南岡山医療センター	岡山県都窪郡早島町大字早島４０６６	5367	独立行政法人国立病院機構南岡山医療センター	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録：昭和56年4月～ 【カルテ等保管状況等】 カルテ：検索可能なカルテは平成1年以後。 手術記録：カルテに綴じている。	閲、時期	昭和60年～昭和63年	17
呉医療センター	広島県呉市青山町３－１	5524	独立行政法人国立病院機構呉医療センター	○	○					○			【カルテ等保管期間】 入院カルテ：昭和59年4月1日～（一部廃棄しているカルテもある） 外来カルテ：平成16年4月1日～ 【カルテ等保管状況等】 カルテ：昭和59年4月1日以降に入院歴がある患者については、それ以前のカルテが合冊されている。 手術記録・分娩記録、サマリー：入院カルテに準ずる	閲、時期、他記録	昭和55年～平成元年	847
福山医療センター	広島県福山市沖野上町４－１４－１７	5506	独立行政法人国立病院機構福山医療センター	○	○					○			【カルテ等保管期間】 分娩台帳：昭和46年～現在 退院時サマリー：平成4年～現在 【カルテ等保管状況等】 入院カルテ（内科、外科、婦人科、脳神経外科、消化器科、整形外科、泌尿器科）一部あり、外来カルテ：分野により一部あり。 分娩記録：昭和59年及び昭和61年の一部あり。 手術記録：整形、眼科、耳鼻科、脳外、形成、皮膚科、泌尿科、産婦人科、外科。	閲、時期	昭和55年～昭和63年	858
広島西医療センター	広島県大竹市玖波４－１－１	5597	独立行政法人国立病院機構大竹病院（現：独立行政法人国立病院機構広島西医療センター）	○	○								【カルテ等保管期間、保管状況等】 入院カルテ：昭和59年2月20日～（一部） 外来カルテ：昭和49年1月9日～（平成11年1月最終受診以降（継続患者）） すでに廃棄しているカルテもある 手術記録：カルテに添付	閲	昭和55年～昭和62年	136
東広島医療センター	広島県東広島市西条町寺家５１３	5593	独立行政法人国立病院機構東広島医療センター	○					○				【カルテ等保管期間】 カルテ：平成3年以降に受診歴のある患者分のみ レセプト写し：平成6年3月1日～平成6年12月31日	時期	昭和57年～昭和62年	21
関門医療センター	山口県下関市長府外浦町１－１	5617	独立行政法人国立病院機構関門医療センター	○									【カルテ等保管期間、保管状況等】 外来カルテ：平成13年1月最終受診～（継続患者において、平成6年以前の診療情報を含む） 入院カルテ：外来カルテ保管患者の入院カルテは全て保管	閲	昭和55年～昭和62年	42
山口宇部医療センター	山口県宇部市東岐波６８５	5671	独立行政法人国立病院機構山陽病院（現：独立行政法人国立病院機構山口宇部医療センター）	○	○								【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ：昭和43年3月27日～（重症心身障害病棟の長期入院患者分及び長期通院患者分のみ） 手術記録：昭和58年1月11日～	閲、時期	昭和60年～昭和61年	10
岩国医療センター	山口県岩国市黒磯町２－５－１	5628	独立行政法人国立病院機構岩国医療センター	○	○								【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ：昭和32年4月1日～平成6年12月31日（期間を通じて全てのカルテが保管されているわけではない。） 手術記録：昭和43年1月～昭和52年12月および昭和59年4月～（外科）、昭和55年1月～（整形外科）、昭和58年1月～（脳神経外科）、昭和53年1月～（産婦人科）、昭和47年1月～（泌尿器科）、昭和63年5月～（眼科）、昭和49年2月～（耳鼻科） 分娩台帳：昭和51年1月～ 助産録：昭和41年1月～	閲	昭和39年～昭和63年	1696
柳井病院	山口県柳井市伊保庄９５	5634	独立行政法人国立病院機構柳井病院	○	○					○			【カルテ等保管期間、保管状況等】 入院カルテ：昭和28年8月～ 外来カルテ：平成1年初診～ 手術記録・分娩記録：昭和51年4月～ 入院サマリー：平成1年初診分以降の外来カルテにあり	時期	昭和62年	2
徳島病院	徳島県吉野川市鴨島町敷地１３５４	5746	独立行政法人国立病院機構徳島病院	○				○					【カルテ等保管期間】 カルテ：平成2年1月～（外来カルテは昭和61年頃以降） 輸液箋・注射指示箋：平成4年4月1日～	閲	昭和56年～昭和62年	20
東徳島医療センター	徳島県板野郡板野町大寺字大向北１－１	5749	独立行政法人国立病院機構東徳島病院（現：東徳島医療センター）	○						○	○	麻酔記録	【カルテ等保管期間】 カルテ　外来：昭和54年頃から平成6年12月31日、入院：（年月不明）～平成6年12月31日 入院サマリー：～平成6年12月31日 麻酔記録：昭和58年4月1日～平成6年12月31日	閲、時期	昭和60年～昭和62年	3
高松医療センター	香川県高松市新田町乙８	5705	独立行政法人国立病院機構高松東病院（現：独立行政法人国立病院機構高松医療センター）	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和44年～ 手術記録・分娩記録：昭和27年4月～	時期、他記録	昭和56年～昭和60年	8
善通寺病院	香川県善通寺市仙遊町２－１－１	5811	独立行政法人国立病院機構善通寺病院	○	○								【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ：昭和55年9月～昭和63年4月の外科・産婦人科の入院カルテ（期間内の全てが保管されている訳ではない） 手術記録・分娩記録：昭和４６年１月１日～（分娩記録は昭和４６年以降、産婦人科手術記録は昭和５１年以降）	全、閲、時期、科	昭和55年～昭和63年	306

施設名	所在地	No.	リスト上の施設名	カルテ等の有無									平成６年以前のカルテ等の保管期間、保管状況等	カルテ等の確認状況	納入期間	納入本数
				カルテ	手術記録又は分娩記録	麻酔記録	処方箋	検査又は放射線フィルム	レセプトの写し	入院又は当日のサマリー	その他	その他内容				
香川小児病院	香川県香川郡香川町浅野甲６０３	5813	独立行政法人国立病院機構香川小児病院	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和50年4月1日～平成9年12月31日 手術記録又は処置記録：昭和60年1月1日～平成6年12月31日 【カルテ等保管状況等】 カルテについては、過去10年以上受診歴のない患者の場合、依頼されていないため検索はほとんど不可能である。使用の記載はカルテにはなく、手術記録であった。	同、時期	昭和59年～昭和63年	84
四国がんセンター	愛媛県松山市南梅本町甲１６０	5841	独立行政法人国立病院機構四国がんセンター	○									【カルテ等保管期間】 カルテ：現在20年間保管している	同	昭和55年～昭和62年	322
愛媛病院	愛媛県宮窪町椋名甲３９９	5867	独立行政法人国立病院機構愛媛病院	○							○		【カルテ等保管期間】 カルテ、その他の書類：昭和59年１月～	同、時期	昭和58年～平成元年	53
高知病院	高知県高知市朝倉西町１－２－２５	5992	独立行政法人国立病院機構高知病院	○	○								【カルテ等保管期間、保管状況等】 入院カルテ：平成1年退院～、平成8年4月最終受診～ 外来カルテ：平成8年最終受診～ 手術記録：保管カルテ分のみ	同、他記載	昭和55年～平成2年	324
小倉医療センター	福岡県北九州市小倉南区春ケ丘１０－１	6057	独立行政法人国立病院機構小倉病院（現：独立行政法人国立病院機構小倉医療センター）	○									【カルテ等保管期間、保管状況等】 入院カルテ：昭和43年～ 外来カルテ：平成13年1月最終受診～（継続患者において、平成8年以前の診療情報を含む）	同、他記載	昭和53年～昭和63年	35
九州医療センター	福岡県福岡市中央区地行浜１－８－１	6140 6281	独立行政法人国立病院機構九州医療センター（旧：国立久留米病院）	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ（入院のみ）、手術記録・分娩記録（カルテに含まれる）：昭和59年1月1日～平成8年8月30日までに退院したもの 【カルテ等保管期間、保管状況等】 九州医療センターに資料の確保はないため、保管無し。（来院の紙入気候のみ。） 九州ブロック事務所にて平成3～5年の助成情報を一部保管。（092-852-1724）	同、時期、他記載	昭和55年～昭和62年	182 24
九州がんセンター	福岡県福岡市南区野多目３－１－１	6105	独立行政法人国立病院機構九州がんセンター	○									【カルテ等保管期間】 カルテ：全診療科永久保管（昭和47年3月～現在）	同	昭和55年～平成4年	165
福岡病院	福岡県福岡市南区屋形原４－３９－１	6104	独立行政法人国立病院機構福岡病院		○								【カルテ等保管期間、保管状況等】 手術記録：4歳以上　昭和46年1月～	時期、他記載	昭和62年～昭和63年	4
大牟田病院	福岡県大牟田市大字橘１０４４－１	6146	独立行政法人国立病院機構大牟田病院	○	○						○	入院患者名簿、手所在名簿	【カルテ等保管期間】 カルテ：平成5年1月1日～ 手術記録：平成1年1月1日～ 入院患者名簿、手術者名簿：昭和39年1月1日～ 【カルテ等保管状況等】 カルテ：紹病状病院カルテは平成5年以前保管していない。 手術記録：手術室にて手術記憶情を保管している	同、時期、他記載	昭和55年～昭和61年	53
六牟田病院	福岡県大牟田市大字橘１０４４－１	6288	独立行政法人国立病院機構筑後病院（現：国立病院機構大牟田病院）	○									【カルテ等保管期間、保管状況等】 入院カルテ：平成5年退院～（名簿入院患者において、平成6年以前の診療情報を含む） 外来カルテ：平成5年最終受診～（継続患者において、平成6年以前の診療情報を含む）		昭和53年～昭和61年	25
福岡東医療センター	福岡県古賀市千鳥１－１－１	6185	独立行政法人国立病院機構福岡東医療センター	○									【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和24年7月2日～	金、同	昭和55年～昭和63年	239
佐賀病院	佐賀県佐賀市日の出１－２０－１	6323	独立行政法人国立病院機構佐賀病院	○	○						○	手所台帳	【カルテ等保管期間、保管状況等】 入院カルテ：昭和62年退院分は　永久保存として一部有、平成6年外科　永久保存として一部有 外来カルテ：現在通院しているものは、平成5年以前のカルテを主に保っている 検査結（皮膚人科）：平成1年1月～ 通院時契約（皮膚人科）：平成3年4月～現在 手術台帳（皮膚人科）：昭和57年4月～現在	同、時期、例	昭和53年～昭和63年	865
嬉野医療センター	佐賀県嬉野市嬉野町下宿丙２４３６	6307	独立行政法人国立病院機構嬉野医療センター								○	入退院患者名簿	【カルテ等保管期間、保管状況等】 入退院患者名簿：昭和15年～	同、時期	昭和55年～昭和63年	35
東佐賀病院	佐賀県三養基郡みやき町大字原古賀７３２４	6319	独立行政法人国立病院機構東佐賀病院	○	○								【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ：（入院）平成12年1月1日～現在、（外来）平成12年1月1日～現在 ただし、フィブリノゲンに係るものについては入院、外来とも昭和63年より保管 手術記録（全科）：平成12年1月1日～現在 ただし、フィブリノゲンに係るものについては昭和63年より保管	同、時期、他記載	昭和61年～昭和63年	30
長崎病院	長崎県長崎市弥木町６－４１	6345	独立行政法人国立病院機構長崎病院	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ（重症心身障害カルテ、一般一部）：昭和38年4月～ 手所記録（手術室控記録）：昭和59年1月～平成4年3月	時期、他記載	昭和59年～昭和63年	10
長崎医療センター	長崎県大村市久原２－１００１－１	6412	独立行政法人国立病院機構長崎医療センター	○	○	○	○	○	○		○		【カルテ等保管期間】 カルテ：平成58年1月～ 手所記録・分娩記録、麻酔使用簿、処方箋、検査箋・注射箋申請、その他の書類：昭和59年1月～ レセプトの写し：平成5年7月～ 【カルテ等保管状況等】 カルテ：一部なくしものもある。部屋の移転により保管されていた昭和44年3月～昭和58年12月の入院期間のカルテが716件あり。 手所記録・分娩記録、麻酔使用簿、処方箋、検査箋・注射箋申請：その他の書類：カルテ添付のもののみ レセプトの写し：古い型の電子媒体であるため紙レセでしか出せない	同	不明	不明
熊本医療センター	熊本県熊本市二の丸１－５	6439	独立行政法人国立病院機構熊本医療センター		○								【カルテ等保管期間】 手所台帳（外科）：昭和52年～ 分娩台帳（産婦人科）：昭和31年、昭和62年	同、時期	昭和55年～昭和63年	368
熊本南病院	熊本県宇城市松橋町大字曲２３３８	6526	独立行政法人国立病院機構熊本南病院		○								【カルテ等保管期間、保管状況等】 手術者簿（外科）：昭和58年1月～平成2年3月	同、時期	昭和61年～昭和63年	70
熊本再春荘病院	熊本県合志市須屋２６５９	6481	独立行政法人国立病院機構熊本再春荘病院	○	○								【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ（全科）：平成3年8月25日～（継続的な受療患者のみ） 手所台帳（全科）：昭和43年11月1日～	同、時期	昭和55年～昭和62年	43

施設名	所在地	No.	リスト上の施設名	カルテ等の有無									平成６年以前のカルテ等の保管期間、保管状況等	カルテ等の確認状況	納入期間	納入本数
				カルテ	手術記録又は分娩記録	麻酔記録	処方箋	検査又は放射線フィルム	レセプトの写し	入院又は当日のサマリー	その他	その他内容				
大分医療センター	大分県大分市横田２－１１－４５	6530	独立行政法人国立病院機構大分医療センター	○									【カルテ等保管期間】 カルテ（現代眼科）：昭和55年7月～平成9年10月 【カルテ等保管状況等】 カルテ：第保管24箱（入院診療歴）平成10年12月にフィブリノゲン投与に関する問い合わせのあった患者	同	昭和55年～昭和62年	363
別府医療センター	大分県別府市大字内竈１４７３	6581	独立行政法人国立病院機構別府医療センター	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録・分娩記録：平成12年1月1日～ 【カルテ等保管状況等】 カルテ：フィブリノゲン投与について問い合わせのあったカルテ＋ 分娩台帳、胎成簿：平成8年以降	同	昭和55年～昭和62年	122
別府病院	大分県別府市大字観見４５４８	6586	独立行政法人国立病院機構別府病院	○									【カルテ等保管期間】 入院カルテ：平成4年4月1日～平成8年12月31日	同、時期	昭和62年～昭和63年	7
宮崎東病院	宮崎県宮崎市大字田吉４３７４－１	6634	独立行政法人国立病院機構宮崎東病院	○									【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ（眼科、耳鼻科　各5分）：①昭和33年12月18日～平成10年10月31日、②昭和37年3月8日～平成14年1月9日、③昭和33年10月18日～平成19年7月8日	同、時期	昭和58年	40
都城病院	宮崎県都城市祝吉町６０３３－１	6654	独立行政法人国立病院機構都城病院	○	○			○			○		【カルテ等の保管期間、保管状況等】 外来カルテ：(外科、整形外科のみ一部）平成1年、（外科の一部）平成2年、（整形外科の一部）平成3年 入院カルテ：(小児科非独男の一部)昭和58年～61年、（内科、外科、整形外科の一部）平成1年～3年、（耳鼻科の一部）平成2年、（内科、小児科、外科、整形外科、泌尿器科、皮膚人科、耳鼻科、放射線科、眼科、皮膚科、歯科の一部）平成4年、（全ての科全般）平成5年～6年 手術記録・分娩記録、麻酔簿・注射箋申請、その他の書類：カルテに添下る	同	昭和53年～平成元年	157
鹿児島医療センター	鹿児島県鹿児島市城山町８－１	6729	独立行政法人国立病院機構九州医療センター（現：独立行政法人国立病院機構鹿児島医療センター）	○									【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ：平成8年以前に入院歴のある患者で、同年以降継続受診しており、かつ最終入院日が平成10年以降であった場合、過去の記録が新しい入院記載と併せて複写されていた。	同、時期	昭和55年～昭和63年	385
指宿病院	鹿児島県指宿市十二町４１４６	6758	独立行政法人国立病院機構指宿病院		○	○							【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ（小児科）：昭和43年～ 手術記録（全科）：平成6年4月1日～	同、時期	昭和55年～昭和61年	54
南九州病院	鹿児島県姶良市加治木町木田1882	6811	独立行政法人国立病院機構南九州病院	○									【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ：昭和58年～一部保存（眼科が必要としたもの）	金、同	昭和58年～昭和62年	20
沖縄病院	沖縄県宜野湾市志和古３－２０－１４	6872	独立行政法人国立病院機構沖縄病院		○								【カルテ等保管期間】 手術記録（外科）昭和39年4月1日～昭和62年3月31日	同、時期	昭和60年～昭和62年	14

【労災病院】

施設名	所在地	No.	リスト上の施設名	カルテ	手術記録又は分娩記録	輸血使用簿	処方箋	検査結果又は注射指示書	レセプトの写し	入院又は退院サマリー	その他	その他内容	平成６年以前のカルテ等の保管期間、保管状況等	カルテ等の確認状況	納入期間	納入本数
カルテ等の有無																
独立行政法人労働者健康福祉機構　釧路労災病院	北海道釧路市中園町１３－２３	243	独立行政法人労働者健康福祉機構　釧路労災病院	○							○	手術台帳 麻酔台帳	【カルテ等保管期間・保管状況等】 カルテ：継続して受診されている患者の分は保管。過去7年間一度も受診歴がない場合は廃棄処分対象。なお、昭和63年以前の入院カルテは全て廃棄処分済み。 手術台帳：昭和35年～ 麻酔台帳：平成元年～	問、時期、他記録	昭和58年～昭和61年	332
独立行政法人労働者健康福祉機構　北海道中央労災病院	北海道岩見沢市四条東１６丁目５	196	独立行政法人労働者健康福祉機構　岩見沢労災病院（現：独立行政法人労働者健康福祉機構北海道中央労災病院）	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ（じん肺内科）：昭和38年8月～現在 手術台帳（全科）：昭和38年4月1日～現在 【カルテ等保管状況等】 カルテ：じん肺患者のカルテについては、開院時から保存しているがその他の患者分は5年経過後、処分されている 手術記録：手術簿を手術台帳として保存している 麻酔記録、注射指示書はカルテに保管	問、検討中	昭和58年～昭和62年	38
独立行政法人労働者健康福祉機構　北海道中央労災病院　せき損センター	北海道美唄市東四条南１丁目３－１	207	独立行政法人労働者健康福祉機構　美唄労災病院（現：北海道中央労災病院せき損センター）	○	○					○			【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和34年～現在（脊髄損傷患者の整形・泌尿器科） 手術記録：昭和34年～現在（脊髄損傷患者の整形・泌尿器科） 分娩記録：昭和61年度～平成15年度	問	昭和57年～昭和63年	63
独立行政法人労働者健康福祉機構　青森労災病院	青森県八戸市大字白銀町字南ケ丘１	393	独立行政法人労働者健康福祉機構　青森労災病院	○	○						○	麻酔台帳	【カルテ等保管期間】 カルテ（入院）：平成5年1月1日～平成6年12月31日 分娩記録：昭和61年4月～ 麻酔台帳：昭和51年4月～	問、他記録	昭和55年～昭和63年	668
独立行政法人労働者健康福祉機構　東北労災病院	宮城県仙台市青葉区台原４－３－２１	572	独立行政法人労働者健康福祉機構　東北労災病院											記録なし	昭和55年～平成元年	379
独立行政法人労働者健康福祉機構　秋田労災病院	秋田県大館市軽井沢字下岱30	761	独立行政法人労働者健康福祉機構　秋田労災病院	○	○					○			【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ：平成2年4月1日～（ただし、継続して通院中の患者分のみ） 手術記録（整形）：昭和58年6月1日～ （外科）：昭和59年9月1日～ （脳外）：上記カルテと同じ 入院サマリー：昭和59年4月1日～	問	昭和58年～平成2年	41
独立行政法人労働者健康福祉機構　福島労災病院	福島県いわき市内郷綴町沼尻３	898	独立行政法人労働者健康福祉機構　福島労災病院	○									【カルテ等保管状況等】 外科の入院診療録の一部：昭和46年～ 整形外科の入院診療録の一部：昭和59年～	問、時期、他記録	昭和55年～昭和62年	150
独立行政法人労働者健康福祉機構　鹿島労災病院	茨城県神栖市土合本町１－９１０８－２	1056	独立行政法人労働者健康福祉機構　鹿島労災病院（現：鹿島労災病院）	○									【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテは平成5年4月1日～平成19年11月30日まで保管 整形外科と脳神経外科の手術症例のカルテは昭和50年から	問、時期	昭和56年～平成2年	62
独立行政法人労働者健康福祉機構　千葉労災病院	千葉県市原市辰巳台東２－１６	1782	独立行政法人労働者健康福祉機構　千葉労災病院	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ：平成元年1月1日～現在 昭和40年～（マイクロフィルム） 昭和58年～（光ディスク） 手術記録（写）（心臓血管外科）：昭和52年～現在 （脳血管外科）：昭和53年～現在 （産婦人科）：昭和57年～現在 【カルテ等保管状況等】 手術記録・分娩記録：原本はカルテに添付	問	昭和55年～平成3年	40
独立行政法人労働者健康福祉機構　東京労災病院	東京都大田区大森南４－１３－２１	1954	独立行政法人労働者健康福祉機構　東京労災病院	○									【カルテ等保管期間】 期間記入無 【カルテ等保管状況等】 一部入院カルテ	時期	昭和55年～昭和56年	68
独立行政法人労働者健康福祉機構　関東労災病院	神奈川県川崎市中原区木月住吉町１－１	2565	独立行政法人労働者健康福祉機構　関東労災病院（現：関東労災病院）	○									【カルテ等保管期間】 カルテ：平成4年1月1日～平成6年12月31日 【カルテ等保管状況等】 カルテ：一部の入院カルテについてマイクロ化保存あり	問	昭和55年～昭和63年	22
独立行政法人労働者健康福祉機構　燕労災病院	新潟県燕市佐渡６３３	2833	独立行政法人労働者健康福祉機構　燕労災病院	○	○					○			【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録：昭和62年4月1日～（入院カルテ、ただし整形外科は昭和54年6月1日～） 入院サマリー：昭和63年4月1日～（ただし整形外科は昭和54年6月1日～）	問	昭和57年～平成6年	61
独立行政法人労働者健康福祉機構　新潟労災病院	新潟県上越市東雲町１－７－１２	2788	独立行政法人労働者健康福祉機構　新潟労災病院	○	○								【カルテ等保管期間】 分娩記録：平成3年1月1日～ 【カルテ等保管状況等】 カルテ：病名により保存しているもの有	問	昭和62年～平成4年	28
独立行政法人労働者健康福祉機構　富山労災病院	富山県魚津市六郎丸９９２	2912	独立行政法人労働者健康福祉機構　富山労災病院	○	○							麻酔記録	【カルテ等保管期間】 手術記録：（外科）昭和50年4月～、（整形外科）昭和34年1月～ 分娩記録：平成5年4月～平成14年10月 入院診療録：平成5年4月～保管。 麻酔記録：昭和62年～カルテに添付	問	昭和55年～平成元年	84
独立行政法人労働者健康福祉機構　浜松労災病院	静岡県浜松市東区将監町２５	3383	独立行政法人労働者健康福祉機構　浜松労災病院	○	○					○			【カルテ等保管状況等】 カルテ：最終受診日より5年を経過したカルテは廃棄処分している。当時から継続している方のカルテは保存されている。 入院サマリー：カルテの扱いと同様	問	昭和58年～昭和61年	17
独立行政法人労働者健康福祉機構　中部労災病院	愛知県名古屋市港区港明１－１０－６	3541	独立行政法人労働者健康福祉機構　中部労災病院	○						○			【カルテ等保管状況等】 カルテ、入院サマリー：現在も継続して受診している患者、一部の疾患（脊髄、関節、男性不妊症及び医師の指示によるもの）のカルテは保管している。	問	昭和55年～昭和63年	549
独立行政法人労働者健康福祉機構　旭労災病院	愛知県尾張旭市平子町北６１	3774	独立行政法人労働者健康福祉機構　旭労災病院（現：旭労災病院）											記録なし	昭和62年	1
独立行政法人労働者健康福祉機構　大阪労災病院	大阪府堺市北区長曽根町１１７９－３	4341	独立行政法人労働者健康福祉機構　大阪労災病院	○	○					○			【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ：平成6年以前のもので平成17年～現在までに受診した方のカルテ 手術記録・分娩記録：カルテに編綴して保管 入院サマリー：昭和５５年１月１日入院分～現在	問、時期、科、他記録	昭和55年～昭和63年	911
独立行政法人労働者健康福祉機構　神戸労災病院	兵庫県神戸市中央区籠池通４－１－２３	4693	独立行政法人労働者健康福祉機構神戸労災病院	○									【カルテ等保管状況等】 カルテ（全科）：継続して受診歴のある患者の分は入院カルテを保管している。	問	昭和55年～平成元年	80
独立行政法人労働者健康福祉機構　関西労災病院	兵庫県尼崎市稲葉荘３－１－６９	4826	独立行政法人労働者健康福祉機構　関西労災病院	○									【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ：平成4年～平成5年、昭和55年～平成3年の一部の入院カルテについてマイクロ化保存あり。	問	昭和55年～昭和63年	332
独立行政法人労働者健康福祉機構　和歌山労災病院	和歌山県和歌山市木ノ本９３－１	5099	独立行政法人労働者健康福祉機構　和歌山労災病院											記録なし	昭和55年～平成元年	302
独立行政法人労働者健康福祉機構　山陰労災病院	鳥取県米子市皆生新田１－８－１	5195	独立行政法人労働者健康福祉機構　山陰労災病院	○									【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ：昭和50年～昭和64年（マイクロ化保存）、平成2年～平成4年CD-R化保存。ただし、マイクロフィルム等で保存している場合、全体、全ページを保存しているとは限らない。	問	昭和55年～平成6年	646
独立行政法人労働者健康福祉機構　岡山労災病院	岡山県岡山市南区築港緑町１－１０－２５	5308	独立行政法人労働者健康福祉機構　岡山労災病院（現：岡山労災病院）							○			【カルテ等保管期間】 入院サマリー：昭和59年4月1日～	問	昭和59年～平成元年	59
独立行政法人労働者健康福祉機構　中国労災病院	広島県呉市広多賀谷１－５－１	5528	独立行政法人労働者健康福祉機構　中国労災病院	○	○					○			【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録・分娩記録、入院サマリー：昭和46年～現在 【カルテ等保管状況等】 カルテ、手術記録・分娩記録、入院サマリー：一部の期間マイクロフィルムにて保存	問、時期、他記録	昭和55年～平成6年	123
独立行政法人労働者健康福祉機構　山口労災病院	山口県山陽小野田市大字小野田１３１５－４	5674	独立行政法人労働者健康福祉機構　山口労災病院								○	麻酔記録	【カルテ等保管期間】 麻酔記録：昭和54年11月5日～	問	昭和55年～昭和63年	227
独立行政法人労働者健康福祉機構　香川労災病院	香川県丸亀市城東町３－３－１	5807	独立行政法人労働者健康福祉機構　香川労災病院	○	○					○			【カルテ等保管期間】 カルテ：最終診療日より10年間の保存としている。ただし、平成9年以前のカルテについては診療科ごとに最終診療日より10年間の保存としていたため、一部の診療科については廃棄されている。 手術記録、入院サマリー：紙カルテに貼付されているものは保管。	問	昭和57年～平成4年	7
独立行政法人労働者健康福祉機構　愛媛労災病院	愛媛県新居浜市南小松原町１３－２７	5880	独立行政法人労働者健康福祉機構　愛媛労災病院	○	○								【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ（全科）：平成5年1月1日～平成6年12月31日（労災患者のみ保管あり） 分娩記録：平成元年7月17日～平成5年12月31日（分娩台帳には使用薬剤の記録なし）	他記録	昭和61年～昭和63年	36
独立行政法人労働者健康福祉機構　九州労災病院　門司メディカルセンター	福岡県北九州市門司区東港町３－１	6038	独立行政法人労働者健康福祉機構　門司労災病院（現：独立行政法人労働者健康福祉機構九州労災病院　門司メディカルセンター）	○	○					○			【カルテ等保管状況等】 カルテ（全科）、手術記録・分娩記録（全科）、入院サマリー（全科）：最終来院日より１０年間のうち１度でも受診があれば保管 手術記録・分娩記録、入院サマリー：入院カルテ添付分	問、時期	昭和60年～昭和63年	7
独立行政法人労働者健康福祉機構　九州労災病院	福岡県北九州市小倉南区葛原高松１－３－１	6036	独立行政法人労働者健康福祉機構　九州労災病院	○									【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ：（神経内科）入院カルテ一部、退院カルテ一部 （外科）入院カルテ一部、退院カルテ一部	問、時期	昭和55年～昭和61年	57
独立行政法人労働者健康福祉機構　総合せき損センター	福岡県飯塚市大字伊岐須字道目５５０－４	6197	独立行政法人労働者健康福祉機構　総合せき損センター	○	○			○			○		【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録・分娩記録・注射指示箋：昭和54年6月（開院時）～現在 【カルテ等保管状況等】 カルテ：永久保存 手術記録・分娩記録・注射指示箋：カルテに貼布	全、問	昭和55年～昭和62年	30
独立行政法人労働者健康福祉機構　長崎労災病院	長崎県佐世保市瀬戸越２－１２－５	6378	独立行政法人労働者健康福祉機構　長崎労災病院	○	○					○			【カルテ等保管状況等】 カルテ、手術記録、入院サマリー：継続して受診されている患者	問	昭和57年～昭和58年	3
独立行政法人労働者健康福祉機構　熊本労災病院	熊本県八代市竹原町１６７０	6542	独立行政法人労働者健康福祉機構　熊本労災病院	○						○			【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ：最終受診日より5年を経過したカルテは廃棄しているが、継続して受診している患者のカルテについては全て保存している。 入院サマリー：平成元年1月1日～	問、時期	昭和55年～昭和63年	5

【国立障害者リハビリテーションセンター病院】

施設名	所在地	No.	リスト上の施設名	カルテ等の有無									平成６年以前のカルテ等の保管期間、保管状況等	カルテ等の確認状況	納入期間	納入本数
				カルテ	手術記録又は分娩記録	製剤使用簿	処方箋	輸液箋又は注射指示箋	レセプトの写し	入院又は退院サマリー	その他	その他内容				
国立障害者リハビリテーションセンター病院	埼玉県所沢市並木４－１	1632	国立身体障害者リハビリテーションセンター(現:国立障害者リハビリテーションセンター病院)	○	○		○	○	○				【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和54年7月～現在 レセプト写し：平成2年1月～現在	聞、時期、科	昭和58年～昭和61年	12

【社会保険病院・厚生年金病院・船員保険病院】

施設名	所在地	No.	リスト上の施設名	カルテ等の有無									平成６年以前のカルテ等の保管期間、保管状況等	カルテ等の確認状況	納入期間	納入本数
				カルテ	手術記録又は分娩記録	製剤使用簿	処方箋	輸液箋又は注射指示箋	レセプトの写し	入院又は退院サマリー	その他	その他内容				
【社会保険病院】																
札幌社会保険総合病院	北海道札幌市厚別区厚別中央二条６丁目２－１	26	社団法人 全国社会保険協会連合会 札幌社会保険総合病院(現:札幌社会保険総合病院)											聞、記録なし	不明	不明
北海道社会保険病院	北海道札幌市豊平区中の島一条８丁目３－１８	60	北海道社会保険病院											聞、記録なし	昭和55年～昭和62年	不明
仙台社会保険病院	宮城県仙台市青葉区堤町３－１６－１	563	仙台社会保険病院	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ、手術・分娩記録：（胃科）昭和44年12月23日～、（腎移植科）昭和61年4月6日～、（産科）昭和52年1月1日～ 【カルテ等保管状況等】 入院カルテ分	全、聞	昭和55年～平成6年	682
宮城社会保険病院	宮城県仙台市太白区中田町字前沖１４３	566	宮城社会保険病院											聞、記録なし	昭和55年～平成元年	228
秋田社会保険病院	秋田県能代市緑町５－２２	740	秋田社会保険病院											聞、記録なし	昭和55年～昭和63年	63
宇都宮社会保険病院	栃木県宇都宮市南高砂町１１－１７	1139	宇都宮社会保険病院（現：(社)全国社会保険協会連合会宇都宮社会保険病院)	○	○						○		【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ；最終受診から原則５年保存だが、入院カルテは病棟入院時のものを今回カルテへ追加するため、当院で診療を継続している場合は残っている場合もある。ただし、検索できないため抽出は不可能である 手術記録・分娩記録、その他の書類：入院カルテと一緒に古い記録が綴じられている場合があるが、検索・抽出は不可能である	聞	昭和57年～昭和60年	34
社会保険 群馬中央総合病院	群馬県前橋市紅雲町１－７－１３	1276	社会保険 群馬中央総合病院	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ：婦人科：昭和56年1月1日～現在、外科：昭和58年1月1日～現在、産科：昭和61年1月1日～現在、手術記録・分娩記録：婦人科：昭和56年1月1日～現在、外科：昭和58年1月1日～現在、産科：昭和61年1月1日～現在 【カルテ等保管状況等】 カルテ：婦人科・外科・産科、手術記録・分娩記録：婦人科・外科・産科	聞	不明	不明
埼玉社会保険病院	埼玉県さいたま市浦和区北浦和４－９－３	1366	埼玉社会保険病院											聞、記録なし	昭和55年～昭和62年	302
社会保険 大宮総合病院	埼玉県さいたま市北区盆栽町４５３	1374	社会保険 大宮総合病院		○								【カルテ等保管期間】 分娩記録：昭和63年4月1日～	聞、時期	昭和55年～昭和62年	59
千葉社会保険病院	千葉県千葉市中央区仁戸名町６８２	1626	千葉社会保険病院	○									【カルテ等保管期間】 カルテ（透析科）：昭和45年～	聞	昭和57年～昭和61年	32
社会保険 船橋中央病院	千葉県船橋市海神６－１３－１０	1664	社会保険 船橋中央病院	○							○		【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録・分娩記録：昭和57年1月～平成6年12月、使用簿：昭和57年4月～平成6年12月	全、聞、時期、科	昭和55年～平成2年	130
社会保険 中央総合病院	東京都新宿区百人町３－２２－１	1901	社会保険中央総合病院											聞、記録なし	昭和55年～昭和62年	95
社会保険 蒲田総合病院	東京都大田区南蒲田２－１９－２	1963	社会保険蒲田総合病院											聞、記録なし	昭和55年	1
社会保険 横浜中央病院	神奈川県横浜市中区山下町２６８	2473	社会保険 横浜中央病院											聞、記録なし	昭和55年～昭和63年	124
川崎社会保険病院	神奈川県川崎市川崎区田町２－９－１	2557	川崎社会保険病院	○	○						○		【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録・分娩記録、その他の書類：平成9年1月1日～現在 【カルテ等保管状況等】 平成9年に診療実績のある方	聞	不明～昭和61年	不明
社会保険 相模野病院	神奈川県相模原市淵野辺１－２－３０	2611	社会保険 相模野病院											記録なし	昭和62年	3
社会保険 高岡病院	富山県高岡市伏木古府元町８－５	2898	社会保険 高岡病院											聞、記録なし	不明	不明
金沢社会保険病院	石川県金沢市沖町ハ１５	2951	金沢社会保険病院		○								【カルテ等保管状況等】 手術記録（外科、産婦人科）	聞	不明	不明
福井社会保険病院	福井県勝山市長山町2丁目5－21	3037	福井社会保険病院		○								【カルテ等保管期間】 手術記録：外科・昭和26年9月15日～、産婦人科・昭和52年4月8日～、整形外科・平成元年1月5日～、眼科・平成2年4月5日～、耳鼻科・平成3年1月29日～ 分娩台帳：昭和61年～、分娩経過記録：平成5年～、病理診断記録：昭和57年～ 【カルテ等保管状況等】 手術記録：外科・産婦人科・整形外科・眼科・耳鼻科	聞	昭和55年～昭和57年	59
社会保険 高浜病院	福井県大飯郡高浜町宮崎８７－１４－２	3061	社会保険 高浜病院		○									全	不明	不明
社会保険 山梨病院	山梨県甲府市朝日３－８－３１	3075	社会保険 山梨病院											記録なし	昭和63年	1
岐阜社会保険病院	岐阜県可児市土田１２２１－５	3322	岐阜社会保険病院		○								【カルテ等保管期間】 手術記録：（外科）昭和49年～現在、（泌尿器科）平成1年～現在、（整形外科）昭和58年～現在、（脳外科）平成5年～現在、（眼科）昭和62年～現在、（耳鼻咽喉科）昭和61年～現在	聞、時期、科	昭和55年～平成2年	39
社会保険 桜ヶ丘総合病院	静岡県静岡市清水区桜が丘町１３－２３	3384	社会保険 桜ヶ丘総合病院											聞、記録なし	昭和56年～昭和62年	46

施設名	所在地	No.	リスト上の施設名	カルテ等の有無 カルテ	手術記録または分娩記録	助産録	麻酔記録または分娩台帳	レセプトのコピー	入院又は退院サマリー	もの忘れ	その他内容	平成６年以前のカルテ等の保管期間、保管状況等	カルテ等の確認状況	納入期間	納入本数
三島社会保険病院	静岡県三島市谷田第久保２２７６	3417	三島社会保険病院	○	○						○	【カルテ等保管状況等】 カルテ、手術記録・分娩記録、その他の書類：平成6年以前の差異であっても、平成8年以降に変動があれば保管している	同	昭和57年～昭和63年	31
社会保険　中京病院	愛知県名古屋市南区笠寺１－１－１０	3553	社会保険　中京病院										同、記載なし	昭和56年～昭和63年	305
四日市社会保険病院	三重県四日市市羽津山町１０－８	3826	四日市社会保険病院	○	○							【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和40年頃から 手術記録・分娩記録：昭和58年頃から	同、時期	昭和57年～昭和62年	28
社会保険　滋賀病院	滋賀県大津市富士見台１６－１	3930	社会保険　滋賀病院		○							【カルテ等保管期間】 手術記録：（呼吸器科）昭和57年～	同、時期、科、他記載	昭和55年～平成5年	392
社会保険　京都病院	京都府京都市北区小山下総町２７	4000	社会保険　京都病院										同、記載なし	昭和55年～昭和63年	125
社会保険　神戸中央病院	兵庫県神戸市北区惣山町２－１－１	4094	社会保険　神戸中央病院	○	○				○			【カルテ等保管期間】 入院カルテ：昭和64年1月1日退院分から 外来カルテ：平成10年1月1日から 手術記録・分娩記録：昭和64年1月1日退院分から 退院時サマリー：昭和45年1月1日退院分から	同、時期	不明	不明
東良社会保険病院	奈良県大和郡山市朝日町１－８２	5064	奈良社会保険病院	○	○							【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録・分娩記録：平成3年～	同	昭和55年～昭和63年	65
社会保険　紀南病院	和歌山県田辺市新庄町４６番地７０	6142	社会保険　紀南綜合病院（現：社会保険　紀南病院）	○	○					○		【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録・分娩記録、その他の書類：昭和62年～ 【カルテ等保管状況等】 カルテ、手術記録・分娩記録、その他の書類：入院分について一部をマイクロフィルム・CD化	同	昭和55年～昭和63年	507
社会保険　下関厚生病院	山口県下関市上新地町３－３－８	6914	社会保険　下関厚生病院										同、記載なし	昭和55年～昭和62年	403
社会保険　倉山中央病院	山口県周南市栄町１－１	6951	社会保険　倉山中央病院	○	○				○			【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ：基本的には平成６年以前のカルテ等を保管している。（眼神経外科：昭和63年以降の外来及び入院カルテ、産婦人科：平成元年以降の入院カルテ及び昭和63年以降のがん患者等特定用の一部外来及び入院カルテ、歯科口腔外科及び泌尿器科：昭和67年以降の外来及び入院カルテ、耳鼻咽喉科：昭和56年以降の入院カルテ） 最終来院日が平成5年以前のものは廃棄している。平成5年以降も継続治療を行っているカルテはある。 手術記録・分娩記録：診療部にファイルされているものはある。 入院サマリー：平成5年～	同	昭和55年～平成2年	482
社会保険　呉共病院	広川県高砂市緑町町３－５－９	6777	社会保険　呉共病院										同、記載なし	不明	不明
中和島社会保険病院	愛媛県中和島市笑古町２－１－３７	6918	中和島社会保険病院										同、記載なし	不明	不明
財団法人平成栄川会　社会保険小倉記念病院	福岡県北九州市小倉北区金松町１番１号	6053	財団法人平成栄川会　社会保険小倉記念病院	○								【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ（心臓血管外科）：昭和55年～平成5年。ただし、全てではなく一部でカルテの整備十全。	同	昭和55年～昭和63年	739
社会保険　久留米第一病院	福岡県久留米市野原町２１	6218	社会保険　久留米第一病院	○	○		○		○			【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録・分娩記録、処方箋、入院サマリー：昭和63年1月～ 【カルテ等保管状況等】 手術記録・分娩記録、処方箋：カルテに綴冊	同	昭和56年～昭和62年	60
佐賀社会保険病院	佐賀県佐賀市兵庫南３－６－１	6321	佐賀社会保険病院	○	○							【カルテ等保管期間】 カルテ（全科）：昭和54年10月1日～ 手術記録：（産婦人科）昭和51年4月～、（外科）昭和37年4月～（ただし昭和56、57、58年度は不明） 分娩記録：昭和47年1月以降	同、時期、科	昭和55年～昭和59年	94
健康保険　八代総合病院	熊本県八代市松江城町２－２０	6514	健康保険　八代総合病院	○	○			○		○		【カルテ等保管期間】 入院カルテ：平成6年1月1日～ 外来カルテ：平成17年1月1日～ 手術記録・分娩記録、検査値・注射指示箋、入院サマリー：平成6年1月1日～	同、時期	昭和55年～昭和62年	25
健康保険　南海病院	大分県佐伯市常盤西町１１－２９	6593	健康保険　南海病院			○						【カルテ等保管期間】 分娩記録（産婦人科）：昭和49年4月22日～平成4年12月31日	全	昭和56年～昭和63年	61
社会保険　宮崎江南病院	宮崎県宮崎市大坪西１－２－１	6637	宮崎社会保険病院（現：社会保険　宮崎江南病院）										同、記載なし	昭和56年～昭和59年	49
健康保険　鳴門病院	徳島県鳴門市撫養町黒崎字小谷32	6726	健康保険　鳴門病院	○	○							【カルテ等保管期間】 カルテ：平成1年1月1日～平成5年12月31日 分娩記録：平成1年1月1日～平成5年12月31日 【カルテ等保管状況等】 カルテ：外来患者用は平成8年以降の保管なし	同	昭和55年～平成5年	251
健康保険　人吉総合病院	熊本県人吉市永神町３９	6822	健康保険　人吉総合病院										同、記載なし	不明	不明
健康保険　天草中央総合病院	熊本県天草市東町１０１	6501	健康保険　天草中央総合病院										同、記載なし	昭和58年～昭和62年	5
【厚生年金病院】															
登別厚生年金病院	北海道登別市登別温泉町１３３	178	登別厚生年金病院	○	○							【カルテ等保管期間】 カルテ：（整形外科）昭和58年～昭和67年 手術記録：（外科）昭和61年～昭和62年	時期	昭和55年～昭和62年	37
東北厚生年金病院	宮城県仙台市宮城野区福室１－１２－１	585	東北厚生年金病院	○	○							【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和57年10月1日～平成8年12月31日、手術記録・分娩記録：昭和57年10月1日～平成5年12月31日 【カルテ等保管状況等】 手術記録・分娩記録：カルテに綴じ込みまたは各科台帳	同	昭和57年～平成3年	130
東京厚生年金病院	東京都新宿区津久戸町６－１	1699	東京厚生年金病院	○							○ 分娩台帳	【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和43年1月1日～ 分娩台帳：昭和46年～平成8年 【カルテ等保管状況等】 カルテ：入院カルテ（一部），平成2年以前の一部のカルテは院外に別に保管しており、問い合わせがあった場合にカルテの有無、内容の調査を行い、回答する取り扱いとなる。	同	昭和55年～昭和63年	73

施設名	所在地	No.	リスト上の施設名	カルテ等の有無 カルテ	手術記録または分娩記録	助産録	麻酔記録または分娩台帳	レセプトのコピー	入院又は退院サマリー	もの忘れ	その他内容	平成６年以前のカルテ等の保管期間、保管状況等	カルテ等の確認状況	納入期間	納入本数
大阪厚生年金病院	大阪府大阪市福島区福島４－２－７８	4240	大阪厚生年金病院	○	○					○	入院病歴管理カード、麻酔記録	【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ：昭和58年～（昭和58年以前の記載も一部含まれている。） 手術記録：昭和58年～（カルテに綴冊、産婦人科の手術原則は昭和29年5月～） 分娩記録：昭和43年1月～ 入院病歴管理カード：昭和49年～ 麻酔記録（院）：昭和34年～	同、時期	昭和55年～平成3年	806
星ヶ丘厚生年金病院	大阪府枚方市星丘４－８－１	4490	星ヶ丘厚生年金病院	○	○				○			【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録・分娩記録、入院サマリー：昭和６３年～（完全保存） 外来診療録：一部保存 手術記録・分娩記録、その他の書類：カルテと同じ 【カルテ等保管状況等】 カルテ：昭和48年～現時点まで、入院診療録返却保存	同、科	昭和55年～昭和60年	160
玉造厚生年金病院	島根県松江市玉湯町玉造１－２	5262	玉造厚生年金病院	○	○					○		【カルテ等保管期間】 入院診療録：昭和44年～昭和62年（返却保存）、平成1年～（完全保存） 外来診療録：一部保存 手術記録・分娩記録、その他の書類：カルテと同じ 【カルテ等保管状況等】 カルテ：昭和48年～現時点まで、入院診療録返却保存	同、時期	昭和58年～昭和62年	9
厚生年金　高知リハビリテーション病院	高知県高知市神田３１７－１２	5978	厚生年金　高知リハビリテーション病院										同、記載なし	昭和57年～昭和59年	6
九州厚生年金病院	福岡県北九州市八幡西区岸の浦一丁目８番１号	6069	九州厚生年金病院		○							【カルテ等保管期間】 分娩記録のみ：昭和32年6月1日～ 【カルテ等保管状況等】 分娩記録：現在に対する詳細な情報はない	同	昭和55年～平成元年	379
湯布院厚生年金病院	大分県由布市湯布院町川南２５２	6804	湯布院厚生年金病院（現：（財）厚生年金事業振興団　湯布院厚生年金病院）	○						○		【カルテ等保管期間】 カルテ、その他の書類：昭和62年10月28日～昭和62年10月29日	他記載	昭和62年	1
【船員保険病院】															
せんぽ東京高輪病院	東京都港区高輪３－１０－１１	1804	船員保険会　せんぽ東京高輪病院（現：せんぽ東京高輪病院）										記載なし	昭和56年～昭和63年	102
横浜船員保険病院	神奈川県横浜市保土ケ谷区星ケ谷町４３－１	2503	横浜船員保険病院		○							【カルテ等保管期間】 手術記録・分娩記録（外科、整形外科、眼科）：昭和48年4月1日～平成20年2月	全、同、時期	昭和55年～平成元年	105
大阪船員保険病院	大阪府大阪市港区築港１－８－３０	4349	船員保険会　大阪船員保険病院（現：財団法人船員保険会　大阪船員保険病院）										同、記載なし	不明～昭和57年	3

【国立大学病院】

施設名	所在地	No.	リスト上の施設名	カルテ等の有無									平成6年以前のカルテ等の保管期間、保管状況等	カルテ等の確認状況	納入期間	納入本数
				カルテ	手術記録又は分娩記録	[illegible]	処方箋	輸液箋又は注射指示箋	レセプトの写し	入院又は退院サマリー	その他	その他内容				
北海道大学病院	北海道札幌市北区北十四条西5丁目	52	国立大学法人 北海道大学病院											同、記録なし	昭和55年～昭和62年	1985
旭川医科大学病院	北海道旭川市緑が丘東二条1丁目1番1号	114	旭川医科大学医学部附属病院（現：旭川医科大学病院）											同、記録なし	昭和55年～昭和63年	2795
弘前大学医学部附属病院	青森県弘前市大字本町53	421	弘前大学医学部附属病院											同、記録なし	不明～平成8年	1681
	宮城県仙台市青葉区星陵町1－1	555	東北大学加齢医学研究所附属病院（現：国立大学法人 東北大学病院）											同	不明	不明
東北大学病院	宮城県仙台市青葉区星陵町1－1	558	東北大学医学部附属病院（現：国立大学法人 東北大学病院）	○	○			○			○		【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和40年～、昭和42年～、昭和45年～、昭和50年～、昭和62年～ 手術・分娩記録：昭和33年～、昭和42年～、昭和50年～、昭和62年～ 輸液箋・注射指示箋：昭和33年～、昭和42年～ その他：昭和39年～、昭和40年～、昭和50年～ ※それぞれ科により異なる。		不明	不明
秋田大学医学部附属病院	秋田県秋田市広面字蓮沼44－2	710	秋田大学医学部附属病院	○	○			○		○			【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録・分娩記録、輸液箋等・注射指示箋、入院サマリー（全科）：昭和60年4月1日～	同、時期	昭和55年～平成元年	2130
山形大学医学部附属病院	山形県山形市飯田西2－2－2	775	国立大学法人山形大学医学部附属病院								○		【カルテ等保管期間】 その他の書類：昭和51年	同、検討中	不明	不明
筑波大学附属病院	茨城県つくば市天久保2－1－1	994	国立大学法人筑波大学附属病院	○	○		○	○					【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和51年10月1日～現在、手術記録・分娩記録：昭和51年10月1日～現在、処方箋：昭和51年10月1日～現在、輸液箋・注射指示箋：昭和51年10月1日～現在 【カルテ等保管状況等】 手術記録・分娩記録、処方箋、輸液箋・注射指示箋：カルテに保存	同、時期	昭和51年～昭和63年	不明
群馬大学医学部附属病院	群馬県前橋市昭和町3－39－15	1288	国立大学法人群馬大学医学部附属病院	○	○			○		○		麻酔記録	【カルテ等保管期間】 カルテ： ・小児科（昭和60年～）・第一外科（昭和50年～） ・第二外科（昭和29年～）・皮膚科（昭和54年～） ・産科婦人科（平成元年～）・麻酔科蘇生科（昭和47年～） ・脳神経外科（昭和42年～）・神経内科（昭和53年～） ・第一内科（昭和32年～）・第三内科（昭和48年～） ・放射線科（昭和38年～）・泌尿器科（昭和44年～） ・整形外科（昭和57年～）・歯科口腔外科（昭和33年～） ※ただし、診療科によっては一部欠損している場合があります。 【カルテ等保管状況等】 手術記録・分娩記録：診療録の中に綴EN	同、検討中	不明	不明
千葉大学医学部附属病院	千葉県千葉市中央区亥鼻1－8－1	1627	国立大学法人千葉大学医学部附属病院	○							○	日本泌尿器科学会誌76巻第10号	【カルテ等保管期間】 入院カルテ：昭和62年1月～ その他の書類（日本泌尿器科学会誌76巻第10号P1523～1577）：昭和59年	同、科	昭和55年～昭和62年	1136
東京大学医科学研究所附属病院	東京都港区白金台4－6－1	1885	国立大学法人 東京大学医科学研究所附属病院	○									【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ（全科）：昭和39年4月～現在（100%保管されているとは言い切れないが、現在までの申し出の患者カルテについては確認することができた。）	同	不明	不明
東京医科歯科大学医学部附属病院・歯学部附属病院	東京都文京区湯島1－5－45	1906	東京医科歯科大学医学部附属病院・歯学部附属病院	○							○	医事会計データ	【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録・分娩記録：昭和57年1月～平成6年12月、使用簿：昭和57年4月～平成6年12月	同	昭和55年～昭和63年	不明
	東京都文京区本郷7－3－1	1908	東京大学医学部附属病院	○	○	○	○	○		○	○	「凝固因子製剤と術後肝炎の発生率について」日本輸血学会雑誌、1984	【カルテ等保管期間】 旧第二内科：昭和56年以降（入院カルテ、処方箋、輸液箋・注射指示箋、入院サマリー） 旧第三内科：昭和44年以降（入院カルテ） 旧物療内科：昭和60年1月1日以降（カルテ、輸液箋・注射指示箋、入院サマリー） 神経内科：昭和49年4月以降（外来カルテ）、昭和42年以降（入院カルテ） 旧第一外科：昭和36年1月1日以降（カルテ、手術記録） 旧第二外科：平成6年以前の記録は何らかの形で医局病歴室など に保管（カルテ、手術記録） 胸部外科：昭和36年以降（カルテ、手術記録、輸液箋・注射指示箋、入院サマリー、「凝固因子製剤と術後肝炎の発生率について」日本輸血学会雑誌、1984） 脳神経外科：昭和22年以降（カルテ、手術記録、入院サマリー） 整形外科：明治40年以降（外来カルテ、手術記録、麻酔使用簿、処方箋、輸液箋・注射指示箋）、大正12年以降（入院カルテ）、昭和62年以降（分院入院カルテ） 泌尿器科：昭和42年4月以降（カルテ）、昭和29年1月以降（手術記録） 産科婦人科：昭和42年4月以降（カルテ、手術記録・分娩記録） 小児科：明治22年12月以降（入院カルテ、手術記録） 耳鼻咽喉科：昭和23年6月以降（カルテ、手術記録、麻酔使用簿、処方箋、輸液箋・注射指示箋、簡単な入院サマリーが存在する場合がある） 精神神経科：平成4年1月以降（カルテ、処方箋、輸液箋・注射指示箋、入院サマリー） 歯科口腔外科：昭和63年7月6日以降（入院カルテ、一部保管） 小児外科：昭和50年3月26日以降（カルテ、手術記録）	同、他記録	不明	不明
東京大学医学部附属病院	東京都文京区目白台3－28－6	2171	東京大学医学部附属病院分院（現：東京大学医学部付属病院）												不明	不明
新潟大学医歯学総合病院	新潟県新潟市中央区旭町通1番町754	2764	新潟大学医歯学総合病院	○	○					○			【カルテ等保管期間】 外来カルテ：（医科）昭和58年4月1日～平成6年12月31日、（歯科）昭和59年1月1日～平成6年12月31日 入院カルテ：（医科）昭和57年4月1日～平成6年12月31日 手術記録・分娩記録：（医科）昭和57年4月1日～平成6年12月31日、（歯科）平成5年1月1日～平成6年12月31日 【カルテ等保管状況等】 入院サマリー：カルテと一体保存	同、他記録	昭和59年～平成6年	491
富山大学附属病院	富山県富山市杉谷2630	2870	国立大学法人富山医科薬科大学附属病院（現：国立大学法人富山大学附属病院）	○				○					【カルテ等保管期間】 カルテ（全科）、輸液箋・注射指示箋：昭和62年9月1日～平成6年1月1日	同、時期	昭和61年～昭和63年	149
金沢大学附属病院	石川県金沢市宝町13－1	2954	国立大学法人金沢大学医学部附属病院（現：国立大学法人金沢大学附属病院）	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ：平成2年1月1日～ 手術記録・分娩記録：平成2年1月1日～	同	不明	不明

施設名	所在地	No.	リスト上の施設名	カルテ等の有無									平成6年以前のカルテ等の保管期間、保管状況等	カルテ等の確認状況	納入期間	納入本数
				カルテ	手術記録又は分娩記録	[illegible]	処方箋	輸液箋又は注射指示箋	レセプトの写し	入院又は退院サマリー	その他	その他内容				
福井大学医学部附属病院	福井県吉田郡永平寺町松岡下合月23－3	3034	国立大学法人福井大学医学部附属病院（現：福井大学医学部附属病院）	○				○		○			【カルテ等保管期間】 カルテ、輸液箋・注射指示箋、入院サマリー：昭和58年10月～平成5年12月31日 【カルテ等保管状況等】 カルテ：マイクロ化し保管している。 輸液箋・注射指示箋：カルテの一部としてマイクロ化し保管 入院サマリー：マイクロ化し保管している。	同、他記録	昭和58年～平成6年	747
山梨大学医学部付属病院	山梨県中央市下河東1110	3107	山梨大学医学部付属病院	○	○				○		○	薬品払出簿	【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録・分娩記録、その他の書類（薬品払出簿）：昭和58年10月12日～現在 レセプトの写し：昭和62年度以降から現在 【カルテ等保管状況等】 カルテ、手術記録・分娩記録：教育・研究用資料として完全ではないが保存してる レセプトの写し：診療情報のデータとして保存	同、他記録	昭和58年～平成2年	246
信州大学医学部附属病院	長野県松本市旭3－1－1	3185	国立大学法人信州大学医学部附属病院	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録・分娩記録：病院として10年間保存で統一している。症例によっては個別に保存している場合もある。	同	不明	不明
岐阜大学医学部附属病院	岐阜県岐阜市柳戸1番1	3259	国立大学法人岐阜大学医学部附属病院	○	○		○				○		【カルテ等保管期間】 カルテ：（第1内科）昭和28年4月～、（第3内科）平成5年4月30日～（入院カルテのみ）、（第1外科）昭和63年4月～、（脳神経外科）昭和56年1月～、（耳鼻咽喉科）平成2年～平成5年、（精神神経科）昭和28年5月～、（第2外科）平成元年～、（産婦人科）昭和60年～昭和63年、（眼科）昭和60年～、（皮膚科）昭和42年～平成2年、（放射線科）平成2年～平成5年、（歯科口腔外科）昭和26年4月～ 手術記録：（脳神経外科）昭和56年1月1日～、（耳鼻咽喉科）平成1年～ 処方箋：（精神神経科）昭和28年5月1日～ その他の書類：（脳神経外科）昭和54年1月1日～、（皮膚科）昭和61年1月1日～（皮膚病理組織検査結果）、（精神神経科）昭和28年5月1日～	同、科	昭和55年～昭和63年	1710
浜松医科大学医学部附属病院	静岡県浜松市東区半田山1－20－1	3384	浜松医科大学医学部附属病院	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録・分娩記録：最終受診日より5年を経過したカルテは廃棄処分している。当時から継続して受診している方のカルテは保存されている。	同、他記録	昭和62年～平成5年	729
		3608	名古屋大学医学部附属病院	○	○						○	研究論文データ	【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ（一部の診療科）、手術記録・分娩記録（一部の診療科）：昭和40年～平成6年（診療科からの要望のある患者分のみ保存）	同	不明	不明
名古屋大学医学部附属病院	愛知県名古屋市昭和区鶴舞町65	3627	名古屋大学医学部附属病院分院（現：名古屋大学医学部附属病院）	○									【カルテ等保管状況等】 カルテ（内科、外科、放射線科、整形外科、産婦人科、耳鼻咽喉科、皮膚科、精神科、歯科口腔外科）：昭和45年～平成6年	（旧名古屋大学医学部附属病院分院の記録は全て確認）	不明	不明
三重大学医学部附属病院	三重県津市江戸橋2－174	3866	国立大学法人三重大学医学部附属病院	○	○			○			○		【カルテ等保管期間】 入院カルテ、手術記録・分娩記録、輸液箋・注射指示箋、その他：昭和22年5月～ 【カルテ等保管状況等】 外来カルテ：5年経過したものは廃棄	同、検討中	昭和55年～昭和63年	1460
滋賀医科大学医学部附属病院	滋賀県大津市瀬田月輪町	3933	滋賀医科大学医学部附属病院	○	○					○			【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録・分娩記録、入院サマリー：昭和53年10月3日～調査日現在 【カルテ等保管状況等】 カルテ：平成9年8月30日以前の入院カルテは電子データのみ保管 手術記録・分娩記録：平成9年8月30日以前は電子データのみ保管 入院サマリー：電子データで保管	同	昭和55年～平成元年	1080
京都大学医学部附属病院	京都府京都市左京区聖護院川原町54	4022	京都大学医学部附属病院	○	○		○	○			○	麻酔記録	【カルテ等保管期間】 外来カルテ：最終来院日～20年 入院カルテ：退院日～20年 手術記録・分娩記録、処方箋、輸液箋・注射指示箋：カルテに添付 その他の書類（麻酔記録）：昭和31年～	同	昭和55年～平成4年	2364
	大阪府吹田市山田丘2－15	4450	国立大学法人大阪大学医学部附属病院	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録・分娩記録：平成5年9月1日～	同	昭和43年～昭和63年	不明
大阪大学医学部附属病院	大阪府吹田市山田丘2－15	4622	大阪大学微生物病研究所附属病院（現：大阪大学医学部付属病院）												不明	不明
神戸大学医学部附属病院	兵庫県神戸市中央区楠町7－5－2	4690	国立大学法人神戸大学医学部附属病院	○	○								【カルテ等保管状況等】 診療録：診療科によっては、研究資料として平成6年以前分も保管されている場合がある。 手術記録：研究資料（カルテ）に編綴されている。	同	昭和55年～平成2年	1055
岡山大学病院三朝医療センター	鳥取県東伯郡三朝町大字山田827	6187	岡山大学医学部・歯学部附属病院三朝医療センター（現：岡山大学病院三朝医療センター）	○									【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和14年7月28日開設～現在	同	昭和55年	24
鳥取大学医学部附属病院	鳥取県米子市西町36－1	6203	国立大学法人鳥取大学医学部附属病院	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録：（小児科、第二外科、整形外科、放射線科、脳神経内科）昭和39年1月1日～現在、（歯科口腔外科）昭和42年1月1日～現在、（脳神経外科）昭和42年11月1日、（泌尿器科）昭和45年4月1日、（脳神経小児科）昭和46年3月1日、（その他の診療科）昭和47年1月1日～現在 分娩記録：昭和55年1月1日～現在	同	昭和55年～平成2年	2091
島根大学医学部附属病院	島根県出雲市塩冶町89－1	6244	国立大学法人島根大学医学部附属病院	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和54年10月～現在 手術記録・分娩記録：昭和54年10月～現在 【カルテ等保管状況等】 入院カルテ：紙の原本は処分したが、マイクロフィッシュを使えば中身を見ることは可能である。 手術・分娩記録：カルテの中に綴られている。	同、時期、他記録	昭和55年～平成6年	1184
岡山大学病院	岡山県岡山市北区鹿田町2－5－1	6284	国立大学法人岡山大学医学部・歯学部附属病院（現：岡山大学病院）	○	○						○		【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和60年1月1日～ 手術記録・分娩記録：昭和60年1月1日～ その他：昭和60年1月1日～	同	昭和55年～昭和63年	947
広島大学病院	広島県広島市南区霞1－2－3	6467	広島大学病院											同、記録なし	不明	不明

施設名	所在地	No.	リスト上の施設名	カルテ等の有無：カルテ	手術記録又は分娩記録	製剤使用簿	処方箋	輸液箋又は注射指示箋	レセプトの写し	入院又は退院サマリー	その他	その他内容	平成６年以前のカルテ等の保管期間、保管状況等	カルテ等の確認状況	納入期間	納入本数
山口大学医学部附属病院	山口県宇部市南小串１－１－１	5672	山口大学医学部附属病院	○	○	○	○	○	○	○	○	麻酔記録	【カルテ等保管期間、保管状況等】 カルテ：（第二外科）昭和59年1月1日～平成5年12月31日、（泌尿器科（一部））昭和61年～平成5年、（産婦人科（一部））平成1年～平成6年、（脳外科）、（歯科（一部）） 手術・分娩記録：（第二外科）昭和59年1月1日～平成5年12月31日、（泌尿器科）平成4年1月1日～平成6年12月31日、（産婦人科（一部））：平成1年～平成6年、（歯科(一部)） 製剤使用簿：（第二外科）昭和59年1月1日～平成5年12月31日、（泌尿器科）昭和61年～平成5年 処方箋：（第二外科）昭和59年1月1日～平成5年12月31日、（泌尿器科）昭和61年～平成5年 輸液箋・注射指示箋：（第二外科）昭和59年1月1日～平成5年12月31日、（泌尿器科）昭和61年～平成5年 レセプトの写し：（第二外科）昭和59年1月1日～平成5年12月31日 入院サマリー：（第1外科）昭和56年1月1日～平成5年12月31日 その他の書類：（第2外科）昭和59年1月1日～平成5年12月31日、（産婦人科）平成1年～平成6年、（麻酔科、麻酔記録のみ）昭和43年10月～一部あり、（薬剤部、薬品購入記録）昭和61年2月14日～昭和62年3月24日	全、問	昭和61年～63年	610
徳島大学病院	徳島県徳島市蔵本町２－５０－１	5726	国立大学法人徳島大学病院											問、記録なし	昭和53年、57年、58年、61年、平成2年、3年	198
香川大学医学部附属病院	香川県木田郡三木町池戸１７５０－１	5798	国立大学法人香川大学医学部附属病院	○	○			○		○			【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録・分娩記録、輸液箋・注射指示箋、その他の書類：昭和58年10月（開院時）～	問	不明	不明
愛媛大学医学部附属病院	愛媛県東温市志津川	5858	国立大学法人愛媛大学医学部附属病院	○	○					○			【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和51年5月10日～ 手術記録・分娩記録、入院サマリー：昭和51年5月10日～ 【カルテ等保管状況等】 カルテ：原本は保存していないが原則マイクロ化、又は電子化し退院カルテは保存している。 手術記録・分娩記録、：カルテの一部として保管 入院サマリー：カルテに同じ	全、問	昭和55年～平成6年	1219
高知大学医学部附属病院	高知県南国市岡豊町小蓮１８５－１	6013	国立大学法人高知大学医学部附属病院	○	○			○		○			【カルテ等保管状況等】 カルテの取扱は、病歴室運営要項に基づき、10年以上診療歴がない場合は、廃棄処分とすることが決定されている。平成16年3月フィブリノゲン使用状況を調査した時点で廃棄処分されていないカルテは、別途保管している（当時診療継続されていたもののみ）。したがって、保管期間を限定した書き方はできない。	全、問	昭和56年～平成4年	不明
九州大学病院	福岡県福岡市東区馬出３－１－１	6114	九州大学病院	○									【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和61年1月1日～平成6年12月31日	問・他記録	昭和55年～平成4年	1123
	福岡県福岡市東区馬出３－１－１	6116	九州大学病院歯科医療センター（現：九州大学病院）												不明	不明
佐賀大学医学部附属病院	佐賀県佐賀市鍋島５－１－１	6326	佐賀大学医学部附属病院	○	○					○			【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和56年10月26日～現在 【カルテ等保管状況等】 カルテには、診療経過・手術記録、入院サマリー、検査データ等が一体になっている。	問、時期	不明	不明
長崎大学病院	長崎県長崎市坂本１－７－１	6369	長崎大学医学部・歯学部附属病院（現：長崎大学病院）	○	○	○	○	○					【カルテ等保管期間】 入院カルテ：平成1年3月1日～ 【カルテ等保管状況等】 カルテ：原則として、外来カルテは最終診療日から10年間、入院カルテは退院日から20年間保管している。その後については、当該診療科の長が特に必要と判断した場合、保存している場合もある。 手術記録・分娩記録、製剤使用簿、処方箋、輸液箋・注射指示箋：カルテに綴じているので、カルテの保存状況と同じ	問	昭和55年～平成2年	1234
熊本大学医学部附属病院	熊本県熊本市本荘１－１－１	6444	国立大学法人熊本大学医学部附属病院	○							○	入院サマリー	【カルテ等保管期間】 カルテ：平成6年1月1日～平成6年12月31日（旧第一内科の一部） 入院サマリー：（一部）昭和46年～昭和55年、昭和63年～現在（旧第一外科）、平成5年7月2日～平成6年12月31日（旧第一内科）	問	不明	不明
九州大学病院別府先進医療センター	大分県別府市鶴見鶴見原４５４６	6585	九州大学病院別府先進医療センター	○	○								【カルテ等保管期間】 カルテ：（婦人科）昭和54年～、（外科）昭和60年～、（免内）昭和60年～、（循内）昭和57年～ 分娩記録：昭和37年～平成17年	問	昭和55年～昭和63年	153
大分大学医学部附属病院	大分県由布市挾間町医大ケ丘１－１	6606	大分大学医学部附属病院	○	○					○			【カルテ等保管期間】 カルテ、手術記録・分娩記録：昭和60年6月1日～平成6年12月31日 【カルテ等保管状況等】 入院サマリー：カルテに綴っている	問、他記録	昭和56年～平成元年	1192
宮崎大学医学部附属病院	宮崎県宮崎郡清武町木原５２００	6673	国立大学法人宮崎大学医学部附属病院	○	○						○		【カルテ等保管期間】 カルテ、分娩記録、その他の書類：昭和52年10月31日～平成6年12月31日	問	昭和55年～平成元年	817
鹿児島大学病院	鹿児島県鹿児島市桜ケ丘８－３５－１	6711	国立大学法人鹿児島大学病院	○	○	○	○	○			○	サマリー	【カルテ等保管期間】 カルテ：昭和61年1月1日～ 手術記録・分娩記録：（2外科・皮膚科・産科婦人科）昭和61年1月～、（脳外科）昭和61年3月～、（泌尿器科）昭和61年4月1日～、（麻酔科）昭和57年1月1日～平成5年12月31日、（小児外科）昭和59年4月1日～平成5年12月31日、（眼科）平成1年1月～ 製剤使用簿：（皮膚科）昭和61年1月～、（脳外科）昭和61年3月～、（泌尿器科）昭和61年4月1日～、（眼科）平成1年1月～ 処方箋：（皮膚科）昭和61年1月～、（脳外科）昭和61年3月～、（眼科）平成1年1月～ 輸液箋・注射指示箋：（2外科・皮膚科）昭和61年1月～、（脳外科）昭和61年3月～、（耳鼻咽喉科）昭和61年4月～、（小児外科）昭和59年4月1日～平成5年12月31日、（眼科）平成1年1月～ その他の書類：（3内科）昭和39年1月7日～、（脳外科、サマリー）昭和52年～、（2外科・皮膚科、サマリー）昭和61年1月1日～）、（小児外科）昭和59年4月1日～、（眼科）平成1年1月～ 【カルテ等保管状況等】 カルテ：入院カルテは退院後20年間保管	問、他記録	昭和55年～平成2年	1332
琉球大学医学部附属病院	沖縄県中頭郡西原町字上原２０７	6883	国立大学法人琉球大学医学部附属病院	○	○			○		○			【カルテ等保管状況等】 昭和60年度から平成6年度までの診療録に関しては、マイクロ化したものも含めて保存しているが、全部かどうかは確定できない。手術記録・分娩記録は診療録に添付されているため、診療録の分については保存している。入院サマリーなどは診療録に添付してある。 フィブリン糊として使用した可能性があると報告あり。	問	不明	不明

ひと、くらし、みらいのために
厚生労働省
Ministry of Health, Labour and Welfare

資料7-3

Press Release

平成23年6月27日
医薬食品局血液対策課
(担当・内線) 課長　三宅(2900)
企画官　安田(2901)
(代表電話) 03(5253)1111
(直通電話) 03(3595)2395

平成22年度フィブリノゲン製剤納入医療機関への訪問調査の結果について

1. 調査の目的

フィブリノゲン製剤の納入が確認されている厚生労働省所管の医療機関及び国立大学法人の医療機関に対し、診療録等の保管状況を確認するとともに、投与事実の確認作業の実態等を把握するため、厚生労働省職員による訪問調査を実施した。

2. 調査期間及び調査対象施設

訪問調査は、平成22年9月24日から開始し、平成23年3月1日に終了した。調査対象施設は、以下の34医療機関であった。

(1)国立高度専門医療センター

国立がん研究センター中央病院、国立国際医療研究センター病院

(2)独立行政法人国立病院機構病院

北海道がんセンター、函館病院、高崎総合医療センター、西埼玉中央病院、名古屋医療センター、京都医療センター、神戸医療センター、姫路医療センター、兵庫青野原病院、呉医療センター、都城病院

(3)労災病院

中部労災病院、神戸労災病院、中国労災病院、山口労災病院

(4)社会保険病院

札幌社会保険総合病院、北海道社会保険病院、社会保険船橋中央病院、社会保険中央総合病院、社会保険京都病院、社会保険神戸中央病院、社会保険下関厚生病院、佐賀社会保険病院、社会保険宮崎江南病院

(5)国立大学法人の医療機関

東京医科歯科大学医学部附属病院、東京大学医学部附属病院、東京大学医科学研究所附属病院、神戸大学医学部附属病院、山口大学医学部附属病院、佐賀大学医学部附属病院、宮崎大学医学部附属病院、鹿児島大学病院

3. 調査結果

(1) 問い合わせに対する対応について

元患者の方及びそのご家族の方(以下「元患者の方等」という。)からの問い合わせに対しては、今回の調査対象であった34の全医療機関において、保管されている診療録等の記録を確認の上回答するなど、誠実な対応がなされていた。

(2) 診療録等の保管状況及び精査方法について

34の医療機関のうち、22の医療機関において、平成6年以前の診療録等は保管されていたが、保管方法は個々の医療機関により異なっており、それぞれ次のような対応がなされていた。

① 22の医療機関のうち、10の医療機関では、特定の診療科や、フィブリノゲン製剤の納入が確認された診療年に対象を絞る等して、網羅的な診療録等の記録の精査を行っていた。また、フィブリノゲン製剤の投与事実が確認され、元患者の方等の連絡先が判明した場合には、お知らせがなされていた。

これら10の医療機関のうち、

i) 7の医療機関では、診療録が診療科別又は診療年別に保管されていたため、特定の診療科又は診療年に絞った精査がなされていた。

ii) 3の医療機関では、診療録とは別にレセプトデータ、薬剤供用簿と連動する会計カード等が保管されており、これら記録等の精査がなされていた。

② 22の医療機関のうち、12の医療機関では、診療録等の記録が保管されてはいたが、網羅的な診療録等の記録の精査は行われていなかった。しかし、医事課等に担当者を置き、元患者の方等からの問い合わせに対して、必要に応じ、医師が診療録等を直接精査して投与事実の確認が行えるよう体制がとられていた。

i) 8の医療機関では、大量の診療録が患者ごとに一括して管理されていた(1患者1カルテ)。

ii) 3の医療機関では、大量の診療録が入院ごとに一括して管理され(1入院1カルテ)診療年別に管理されていた。

iii) 1の医療機関では、診療録は残っていなかったものの、別に入院サマリーが診療科ごとに作成され、保管されていた。

(3) 訪問調査対象医療機関の投与のお知らせ状況について

34の医療機関のうち、18の医療機関で、合計887名のフィブリノゲン製剤の投与事実が確認されており、元患者の方等へのお知らせ状況は以下のとおりであった。(平成23年6月24日現在)

投与判明者数		887名	(100 %)
お知らせした		424名	(47.8 %)
お知らせしていない		463名	(52.2 %)
理由	投与後に原疾患等により死亡	227名	(25.6 %)
	肝炎ウィルス検査の結果が陰性	41名	(4.6 %)
	連絡先が不明又は連絡がつかない	188名	(21.2 %)
	その他(患者の特定ができていない)	7名	(0.8 %)

4. 今後の対応

今般の訪問調査の結果を踏まえて、以下の対応を行うこととする。

(1) 全てのフィブリノゲン製剤納入医療機関に対して、投与事実の確認のための参考として、今般の訪問調査の結果を情報提供し、特に、以下を依頼する。

i) 今般の訪問調査では、診療録とは別に保管されていた記録等を精査することにより投与の事実が確認された事例があった。そのため、診療録とは別に保管されている記録等の有無について改めて確認いただき、確認された場合には、フィブリノゲン製剤の投与事実の有無を確認していただくこと。併せて、投与の事実が確認され、元患者の方等の連絡先が判明した場合には、元患者の方等へお知らせいただくこと。

ii) 引き続き、診療録等の保管や元患者の方等からの問い合わせに対して、誠実に対応できるよう、院内での体制整備を図っていただくこと。

(2) 診療録等について網羅的な確認がされていない医療機関に対して、引き続き、確認をいただくよう協力を依頼する。

(3) 厚生労働省のホームページ上で提供している医療機関における診療録等の保管状況等に関する情報を継続的に更新することにより、引き続き、国民に最新の情報をお知らせする。

ひと、くらし、みらいのために
厚生労働省
Ministry of Health, Labour and Welfare

資料7-4

Press Release

平成23年6月27日
医薬食品局血液対策課
(担当・内線) 課長　三宅 (2900)
企画官 安田 (2901)
(代表電話) 03(5253)1111
(直通電話) 03(3595)2395

報道関係者　各位

平成２３年度フィブリノゲン製剤納入先医療機関訪問調査について

1　趣旨

フィブリノゲン製剤の納入が確認されている厚生労働省所管の医療機関及び国立大学法人の医療機関に対し、診療録等の保管状況を確認するとともに、投与事実の確認作業の実態等を把握するため、平成23年度は、以下の要領で訪問調査を実施する。

2　調査対象施設

厚生労働省所管の医療機関及び国立大学法人の医療機関のうち、過去に訪問調査が実施されていない158医療機関（別添参照）

3　調査のスケジュール

年度内を目途に訪問調査の結果をとりまとめ、公表を行う予定。

(参考)

過去のフィブリノゲン製剤の納入が確認されている医療機関への訪問調査は、厚生労働省所管の医療機関等に対して、平成20年度に46施設、平成21年度に15施設、平成22年度に34施設に対して実施済みである。

（別　添）

○調査対象施設

１．独立行政法人国立高度専門医療研究センター

（１）国立国際医療研究センター国府台病院
（２）国立成育医療研究センター
（３）国立長寿医療研究センター

２．独立行政法人国立病院機構病院

（１）帯広病院
（２）弘前病院
（３）宮城病院
（４）福島病院
（５）霞ヶ浦医療センター
（６）宇都宮病院
（７）沼田病院
（８）東埼玉病院
（９）千葉医療センター
(10) 千葉東病院
(11) 下志津病院
(12) 東京病院
(13) 横浜医療センター
(14) 石川病院
(15) 福井病院
(16) 甲府病院
(17) 東長野病院
(18) まつもと医療センター
(19) 信州上田医療センター
(20) 長良医療センター
(21) 静岡てんかん・神経医療センター
(22) 静岡富士病院
(23) 静岡医療センター
(24) 東名古屋病院
(25) 三重病院
(26) 宇多野病院
(27) 舞鶴医療センター
(28) 南京都病院
(29) 大阪南医療センター
(30) 兵庫中央病院
(31) 和歌山病院
(32) 米子医療センター
(33) 松江医療センター
(34) 浜田医療センター
(35) 岡山医療センター
(36) 南岡山医療センター
(37) 東広島医療センター
(38) 徳島病院
(39) 東徳島医療センター
(40) 香川小児病院
(41) 四国がんセンター
(42) 東佐賀病院
(43) 長崎病院
(44) 長崎医療センター
(45) 別府医療センター
(46) 西別府病院
(47) 沖縄病院

３．独立行政法人労働者健康福祉機構病院

（１）北海道中央労災病院
（２）北海道中央労災病院せき損センター
（３）釧路労災病院
（４）東北労災病院
（５）秋田労災病院
（６）福島労災病院
（７）鹿島労災病院

（８）千葉労災病院
（９）東京労災病院
（10）関東労災病院
（11）燕労災病院
（12）新潟労災病院
（13）富山労災病院
（14）浜松労災病院
（15）旭労災病院
（16）関西労災病院
（17）和歌山労災病院
（18）山陰労災病院
（19）岡山労災病院
（20）香川労災病院
（21）愛媛労災病院
（22）九州労災病院
（23）九州労災病院門司メディカルセンター
（24）長崎労災病院
（25）熊本労災病院
（26）総合せき損センター

４．国立障害者リハビリテーションセンター病院

５．社会保険病院
（１）仙台社会保険病院
（２）宮城社会保険病院
（３）秋田社会保険病院
（４）宇都宮社会保険病院
（５）社会保険群馬中央総合病院
（６）埼玉社会保険病院
（７）社会保険大宮総合病院
（８）千葉社会保険病院
（９）社会保険蒲田総合病院
（10）社会保険横浜中央病院
（11）川崎社会保険病院
（12）社会保険相模野病院
（13）社会保険高岡病院
（14）金沢社会保険病院
（15）福井社会保険病院
（16）社会保険高浜病院
（17）社会保険山梨病院
（18）岐阜社会保険病院
（19）社会保険桜ヶ丘総合病院
（20）三島社会保険病院
（21）社会保険中京病院
（22）四日市社会保険病院
（23）社会保険滋賀病院
（24）奈良社会保険病院
（25）社会保険紀南病院
（26）健康保険鳴門病院
（27）社会保険栗林病院
（28）宇和島社会保険病院
（29）社会保険久留米第一病院
（30）健康保険人吉総合病院
（31）健康保険天草中央総合病院
（32）健康保険八代総合病院
（33）健康保険南海病院

６．厚生年金病院
（１）登別厚生年金病院
（２）東北厚生年金病院
（３）東京厚生年金病院
（４）星ヶ丘厚生年金病院
（５）玉造厚生年金病院
（６）厚生年金高知リハビリテーション病院
（７）九州厚生年金病院
（８）湯布院厚生年金病院

7．船員保険病院

（1）せんぼ東京高輪病院
（2）横浜船員保険病院
（3）大阪船員保険病院

8．国立大学法人病院

（1）北海道大学病院
（2）旭川医科大学病院
（3）弘前大学医学部附属病院
（4）東北大学病院
（5）秋田大学医学部附属病院
（6）山形大学医学部附属病院
（7）筑波大学附属病院
（8）群馬大学医学部附属病院
（9）千葉大学医学部附属病院
(10) 新潟大学医歯学総合病院
(11) 富山大学附属病院
(12) 金沢大学附属病院
(13) 福井大学医学部附属病院
(14) 山梨大学医学部附属病院
(15) 信州大学医学部附属病院
(16) 岐阜大学医学部附属病院
(17) 浜松医科大学医学部附属病院
(18) 名古屋大学医学部附属病院
(19) 三重大学医学部附属病院
(20) 滋賀医科大学医学部附属病院
(21) 京都大学医学部附属病院
(22) 大阪大学医学部附属病院
(23) 鳥取大学医学部附属病院
(24) 島根大学医学部附属病院
(25) 岡山大学病院
(26) 広島大学病院
(27) 徳島大学病院
(28) 香川大学医学部附属病院
(29) 愛媛大学医学部附属病院
(30) 高知大学医学部附属病院
(31) 九州大学病院
(32) 長崎大学病院
(33) 熊本大学医学部附属病院
(34) 大分大学医学部附属病院
(35) 琉球大学医学部附属病院
(36) 岡山大学病院三朝医療センター
(37) 九州大学病院別府先進医療センター