

3. HIVスクリーニング検査体制と検査結果に関する研究

3-1. ①東京地区におけるHIV感染の遺伝子血清疫学的研究

分担研究者 関根大正 (東京都立衛生研究所)
研究協力者 貞升健志、中村敦子、諸角聖 (東京都立衛生研究所)
堀江 徹 (東京都衛生局感染症対策課)
山口 剛 (東京都南新宿検査・相談室長)
笹井 敬子 (台東区台東保健所)
木村 馥 (中野区中野区保健所)

研究要旨： 1987年2月より2001年12月までの間に都内保健所及び都の検査・相談室を受診したHIV抗体検査希望者の血液検体186、586件に対し抗体検査が実施され491件のHIV抗体陽性例が確認された。期間を87年2月-90年12月、91年、92年、93年、94年、95年、96年、97年、98年、99年、2000年、2001年に分けると、抗体陽性例はそれぞれ4件、6件、25件、21件、28件、20件、43件、56件、62件、66件、67件、93件となり、92年~95年20件代、96年40件代、97年50件代、98~2000年60件代と推移してきたのが2001年は93件と急増した。

2001年の陽性者のうち83件をペプチドELISA法を用いてサブタイピングを行ったところ欧米型であるB型が82件、E型が1件検出された。

昨年度と同様、2001年9月から希望者に抗体検査に加えて遺伝子検査を実施したところ受診者の大部分が遺伝子検査を希望し、1保健所及び検査・相談室においては受診者の数も増加した。抗体陰性でHIV遺伝子の検出された例はなかった。

A. 研究目的

研究目的は東京地区の一般の住民におけるHIV感染の侵淫度を血清疫学的・遺伝子学的に検索すること、及び、従来の抗体検査に加えて遺伝子検査導入の効果を検討することである。

B. 研究方法

1. 抗体検査

1987年2月より2001年12月末日の間、都内保健所、東京都検査・相談室、並

びに都内医療機関及び検査所でのHIV抗体検査希望受診者より採血した検体の抗体検査を実施した。1987年2月より1991年12月の期間はスクリーニング検査はELISA法、確認検査はIF法とウエスタンブロット法でHIV-1型に対するキットを用いて行った。1992年1月より1993年7月の期間はスクリーニング検査はHIV-1及びHIV-2のELISA法で、確認検査はHIV-1のIF法とウエスタンブロット法で行った。

1993年8月以後はスクリーニング検査と確認検査のウエスタンブロットはHIV-1及びHIV-2のキットを用いて行った。スクリーニング検査は一次スクリーニングをパスツール社のHIV-1及びHIV-2のELISAで、一次スクリーニングで陽性のものにはHIV-1及びHIV-2のPA法を二次スクリーニングとして実施した。二次スクリーニングで陰性でないものについては、HIV-1及びHIV-2のウエスタンブロット並びにHIV-1のIFを行った。

1996年4月以後は一次スクリーニング検査陽性のものについての二次スクリーニングに、従来のPA法に加えて、ヘキスト社のHIV-1及びHIV-2のELISAを実施し、二次スクリーニングで一法以上が陽性の場合には確認検査を行うこととした。

2. ペプチドELISA法によるサブタイプ解析

2001年の保健所・検査・相談室受診者由来陽性血清のうち83件に対して、ペプチドELISA法を用いて、サブタイプ解析を行った。使用したペプチドは、B (KRKRIHIGPGRAFYT TKNII)、E (TRTSITIGPGQVFYRTGDII) である。

3. 抗体検査受診者へのHIV遺伝子検査

HIV感染者の確認法としては世界的に抗体検査が用いられてきたが、HIV感染者の増加も一因として、抗HIV抗体の上昇以前のHIV感染者からの輸血による感染が報告され、日赤など一部において遺伝子検査の導入が検討されたり、実施されたりしている。

都内のHIV抗体検査実施3機関 (M検査相談室、T保健所、N保健所) において、受診時に書面にて遺伝子検査の意義を紹介するとともに、遺伝子検査の希望の有無を確認し、希望者に抗体検査に加えて遺伝子検査を実施し、抗体検査の結果と併せて遺伝検査の結果を知らせることとした。

検査方法は血清100 μ l を数件~10件分を1本のチューブにプールし、15,000回転、2時間、遠心してウイルス粒子を沈渣にしたものからウイルスRNAを抽出し、RT-PCR法によってHIV遺伝子を増幅したものを検出した。

プールしたのちからHIV遺伝子が検出された場合は、それぞれの検体に対するRT-PCRを実施し、HIV遺伝子陽性のものを確定することとした。

C. 研究結果

1. 抗体検査

表1に示すように都内保健所及び東京都検査・相談室受診者の抗体検査数は92年の29,382件がピークで以後、93年26,484件、94年19,581件、95年13,704件、96年14,659件と減少してきて、この4年は11,000件代で推移してきたが2001年は18000件代に検査件数が急増した。この増加は大部分が保健所受診者の増加による。

抗体陽性者数は87年2月-90年12月が4件、以後91年、92年、93年、94年、95年はそれぞれ6件、25件、21件、28件、20件であった。96年以後43件、97年56件、98年62件、99年66件、2000年67件と漸増傾向であったが2001年は93件に急増した。

民間検査機関などよりの確認検査の数 (陽性数) は、92年以後2001年まで、95件 (88件)、57件 (51件)、30件 (30件)、30件 (27件)、45件 (30件)、30件 (30件)、30件 (28件)、18件 (15件)、12件 (11件)、13件 (12件) と推移している。

2. 保健所、検査相談室受診陽性者の国籍・性別

2001年の抗体陽性者のうち国籍・性別

の判明したもの84名の中、日本人では男性72名、女性4名、日本人以外では男性5名女性3名であった(表2-2)。この割合の傾向は前年と特に差はない。

3. 保健所、検査相談室受診陽性者の感染経路、感染地

2001年の抗体陽性者のうち国籍、性別、感染経路、感染地などの判明しているのは82名である(表3B)。日本人男性では異性間の性行為8名に対し同性間と両性間の性行為が併せて62名と多く、また感染地は3名を除き大部分が国内である。

日本人女性は4名で感染経路は全員、異性間性行為、感染地は3名が国内、1名が国外であった。

外国人男性は5名で、感染経路は日本人の場合と逆に異性間の性行為が4名と多く、感染地は国内が4名と多かった。

外国人女性は1名であるが感染経路は異性間の性行為で感染地は不明であった。

全体としてみると感染地は大部分が国内で感染経路は日本人男性は同性間の性行為が多く、日本人男性以外は異性間の性行為が多いという結果であった。

この結果を2000年の結果(表3C)と比較してみると、感染地が国内が大部分であるのは変わらないが、外国人男性が2000年は同性間の性行為が多かった(5名中4名)のが、2001年は異性間の性行為が多い(5名中4名)という変化があった。

4. サブタイプ解析

サブタイプ解析では92年、93年に出現したE型は94年以後は漸減傾向であったが、97年10件と過去最多数を記録した。98年は4件、99年は6件、2000年は3件と推移してきたが2001年は1件であった。欧米型であるB型が93年以来大多数を占めている傾向は変わらないが2001年は83

件中82件がB型であった。(表3A)。

5. 遺伝子検査

遺伝子検査は2001年9月から2002年2月まで実施したが、本報告書では2002年1月までの途中経過について報告する。その詳細は研究協力者の堀江が別途報告するがM検査・相談室、N保健所、T保健所でそれぞれ受診者761名中732名、56名中52名、57名中51名が遺伝子検査を希望し、検査を実施した(表5A,B,C)。このうちN保健所では遺伝子検査の実施を区報、インターネット等で公表した。

M検査・相談室では遺伝子検査実施前の17週間と遺伝子検査実施中の17週間の平均受診者数を比較すると、実施前の男性25.2人、女性9.5人、計34.7人が実施中は男性31.5人、女性11.6人、計44.8人にそれぞれ増加した。

N保健所では遺伝子検査実施前の5ヶ月間と遺伝子検査実施中の5ヶ月間の平均受診者数を比較すると、実施前の8.2人が、実施中は11.2人に増加した。

T保健所では遺伝子検査実施前の5ヶ月間と遺伝子検査実施中の5ヶ月間の平均受診者数を比較すると、実施前の11.6人が実施中は11.4人とほぼ変わりなかった。

これら受診者のうち南新宿検査相談室で17名抗体陽性者があったが、抗体が陰性或いは判定保留で遺伝子の検出されたものはなかった。

D. 結論及び考察

抗体検査に関しては、97年から2000年にかけての4年間は検査数が11,000件代でほぼ横ばいだったが、2001年は約18,000件に急増した。抗体陽性者数もその前3年間の60件代から93件に急増した。①日本人が多いこと、②男女別で男性が圧倒的に多いこと、③日本人男性は同性間の

性行為によるものが多いこと、④感染地が国内が多いこと、などはこれまでと同じ傾向であった。違いがみられたこととして外国人男性は前年、前々年は同性間の性行為が多かったのが、2001年は異性間の性行為が多くなったことがあげられる。

昨年につき、遺伝子検査を導入したがM検査相談室では大部分の受診者が検査を希望し、遺伝子検査実施時は実施前に比べ受診者数も増加した。N保健所では2001年は遺伝子検査の導入を積極的に公表した。2000年には遺伝子検査に実施時と実施前で受診者数はかわらなかったが2001年は実施時に受診者数が30%以上増加した。T保健所では、遺伝子検査の導入は公表しなかったが、遺伝子検査実施時は実施前と比べ受診者数がほぼ同様であった。M検査相談室では遺伝子検査の実施を公表していないが、多くの受診者は口コミでそのことを知っているようである。今年度から遺伝子検査の導入を公表したN保健所で遺伝子検査実施時に受診者が大幅に増

加したが、このことはM検査相談室でも検査実施時に受診者が増加すること、公表していないT保健所では受診者数がほとんど変わらないことなどと併せて、遺伝子検査の導入及びそのことの周知が受診者を増やす可能性があることを示唆した。N、Tの2保健所においては3月以後も引き続き遺伝子検査の実施を継続する予定である。

E. 研究発表

学会発表

- 1) 味澤 篤、関根大正他：抗HIVサルベージ療法。第14回日本エイズ学会、2000。
- 2) 味澤 篤、関根大正他：IDV/RTV 療法の臨床と血中濃度。第14回日本エイズ学会、2000。
- 3) 味澤 篤、関根大正他：Abacavir 使用例についての臨床的検討、第75回日本感染症学会、2001。

表1 検査件数及び抗体陽性数の年次推移

時期	保健所及び 検査相談室		民間検査機関等 よりの依頼検査		合計	
	スクリーニング検査数	陽性数	総検査数	陽性数	検査数	陽性数
1987. 2-1990. 12	14,787	4			14,787	4
91. 1-12	3,900	6			3,900	6
92. 1-12	29,382	25	95	88	29,477	113
93. 1-12	26,484	21	57	51	26,541	72
94. 1-12	19,581	28	30	30	19,611	58
95. 1-12	13,704	20	30	27	13,734	47
96. 1-12	14,659	43	45	30	14,704	73
97. 1-12	11,994	56	30	30	12,024	86
98. 1-12	11,213	62	30	28	11,243	90
99. 1-12	11,643	66	18	15	11,658	81
2000. 1-12	11,139	67	12	11	11,202	79
2001. 1-12	18,098	93	13	12	18,111	105
合計	186,586	491	360	322	187,004	814

表 2 - 1 保健所及び検査・相談室受診抗体陽性例の内訳

時期		1987.2-1991	92	93	94	95	96	97	98	99	2000	2001	合計
性別	男	7	17	15	24	18	37	43	55	58	61	77	412
	女	1	4	6	3	1	5	12	7	7	3	7	56
	不明	2	4	0	1	1	1	1	0	1	3	9	23
計		10	25	21	28	20	43	56	62	66	67	93	491

表 2 - 2 保健所及び検査・相談室受診抗体陽性者の国籍・性別(1995-2001)

時期			95	96	97	98	99	2000	2001	合計
国	日本	男	12	22	27	32	30	47	72	212
		女		3	2	1	2	2	4	14
籍	その他	男	2	5	5	7	1	3	5	28
		女	2	3	5	1	2	1	3	17
計			16	33	39	41	35	53	84	271

表 3 A. 保健所・相談室受診陽性血清の年次別サブタイピング

年	検査件数	B型	B+E型	E型	NR型
87	1	1	0	0	0
88	0	0	0	0	0
89	1	0	0	0	0
90	1	1	0	0	0
91	5	0	0	0	5
92	24	13	1	6	4
93	20	14	1	3	2
94	27	19	0	2	6
95	24	20	0	2	2
96	44	34	0	1	9
97	56	46	0	10	0
98	62	50	0	4	8
99	66	56	0	6	4
2000	67	60	0	3	4
2001	83	82	0	1	0
合計	481	396	2	38	45

表 3B 2001 年保健所・相談室受診抗体陽性者の内訳

国籍	性別	人数	感染経路			感染地		
			同性間	異性間	両性間	国内	国外	不明
日本	男	72	61	8	1	64	3	5
	女	4	0	4	0	3	1	0
その他	男	5	1	4	0	4	0	1
	女	1	0	1	0	0	0	1
合計		82	62	17	1	71	4	7

表 3C 2000 年保健所・相談室受診抗体陽性者の内訳

国籍	性別	人数	感染経路			感染地		
			同性間	異性間	両性間	国内	国外	不明
日本	男	51	42*	7	2	44	3	4
	女	2	0	2*	0	2	0	0
その他	男	5	3	1	1	3	0	2
	女	1	0	1	0	0	0	1
合計		59	45	11	3	49	3	7

サブタイプ B : 54

E : 3 : * : 日本人・異性間、女 2、男 1

NR : 2 : 日本人・男、異性間 1、同性間 1

表 4 A 2001年HIV抗体陽性者の年齢階級別内訳

	性別	年 齢							計	
		-9	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69		70-
保健所	男性			6	4	1				11
	女性			3						3
M検査 相談室	男性			27	22	11	4			64
	女性			4		1				5
計				40	26	13	4			83

表 4 B 2000年HIV抗体陽性者の年齢階級別内訳

	性別	年 齢							計	
		-9	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69		70-
保健所	男性			3	2	5				10
	女性							1		1
M検査 相談室	男性			20	26	5	1	2		54
	女性			2						2
計				25	28	10	1	3		67

表 5 A 抗体検査受診者と遺伝子検査希望者 (M検査・相談室)

月	抗体検査+遺伝子検査		抗体検査のみ			受診者 合計	抗体陽性数	抗体陽性 遺伝子陽性数
	男	女	男	女	合計			
5	0	0	109	40	149	149	2	0
6	0	0	100	33	133	133	1	0
7	0	0	119	49	168	168	1	0
8	0	0	100	40	140	140	6	0
小計	0	0	428	162	590	590	9	0
17週平均			25.2	9.5	34.7	34.7		
9	109	34	?	?	3	146	3	0
10	114	50	?	?	3	167	3	0
11	108	37	?	?	12	157	0	0
12	112	42	?	?	7	161	1	0
1	92	34	?	?	4	130	1	0
小計	535	197	?	?	29	761	8	0
17週平均	31.5	11.6			1.7	44.8		
合計	535	197	428	162		1351	17	0
17週平均	31.5	11.6	25.2	9.5				

表 5 B 抗体検査受診者と遺伝子検査希望者 (N保健所)

月	抗体検査+遺伝子検査		抗体検査のみ			受診者 合計	抗体陽性数	抗体陰性 遺伝子陽性数
	男	女	男	女	合計			
4	0	0	?	?	8	8	0	0
5	0	0	?	?	6	6	0	0
6	0	0	?	?	11	11	0	0
7	0	0	?	?	10	10	0	0
8	0	0	?	?	6	6	0	0
小計	0	0	?	?	41	41	0	0
月平均					8.2	8.2		
9	2	3	?	?	1	6	0	0
10	9	5	0	0	0	14	0	0
11	7	2	?	?	3	12	0	0
12	5	1	0	0	0	6	0	0
1	12	6	0	0	0	18	0	0
小計	35	17	?	?	4	56	0	0
月平均	7.0	3.4			0.8	11.2	0	0

表 5 C 抗体検査受診者と遺伝子検査希望者（T保健所）

月	抗体検査+遺伝子検査		抗体検査のみ			受診者 合計	抗体陽性数	抗体陰性 遺伝子陽性数
	男	女	男	女	合計			
4	0	0	?	?	7	7	0	0
5	0	0	?	?	10	10	0	0
6	0	0	?	?	19	19	0	0
7	0	0	?	?	6	6	0	0
8	0	0	?	?	16	16	0	0
小計	0	0	?	?	58	58	0	0
月平均					11.6	11.6		
9	9	7	?	?	2	18	0	0
10	9	6	?	?	2	17	0	0
11	3	1	?	?	2	6	0	0
12	6	1	0	0	0	7	0	0
1	9	0	0	0	0	9	0	0
小計	36	15	?	?	6	57	0	0
月平均	7.2	3.0			1.2	11.4	0	0

3-1. ②東京における HIV 検査体制に関する研究： HIV 検査をより有効にするための試み等

分担研究者	堀江 徹	(東京都衛生局医療福祉部)
研究協力者	山口 剛	(東京都南新宿検査・相談室)
	笹井 敬子	(台東区台東保健所)
	木村 馥	(中野区中野区保健所)

研究要旨

2001年に東京都内の2保健所とHIV検査・相談室において、HIV遺伝子検査を導入した。アンケート調査からは遺伝子検査受検者では、感染の心配があつてから検査までの期間が短いものが多かった。感染不安者は、遺伝子検査を通じて結果を早く知りたいと期待していることが示唆された。

A 研究目的

HIV検査をより有効にするための試みとしてHIV遺伝子検査を試験的に導入し、その効果の調査をする。

B 研究方法と対象

1 遺伝子検査の試験導入

東京都内の2保健所(A保健所、B保健所)と東京都のHIV検査・相談機関であるM検査・相談室にて、通常の抗体検査に加えて希望者に遺伝子検査(PCR)を実施した。両保健所では2001年の1・2月および同年9月から12月まで、月2日の抗体検査日に併せて実施し、M検査・相談室では、2001年の1・2月および同年9月から12月まで週5日の検査日のうち月曜日にのみ、抗体検査に併せて実施した。

遺伝子検査を実施することについて、B保健所では区報とインターネットにて公表したが、A保健所とM検査・相談室では公表しなかった。

検査は予約制で行われた。予約時に感染機会より3ヶ月過ぎていることを確認している

が、遺伝子検査については、感染機会より2ヶ月以上過ぎている者を対象とした。検査結果は保健所では2週間後、M検査・相談室は1週間後に、来所した本人に医師より伝えた。

2 アンケート調査

結果通知日に陰性の結果の告知を受けた受検者に対して、無記名アンケートを依頼した。了解が得られた場合には別室で記入してもらい、その場で回収した。

アンケート項目は、性別、年齢、職業、居住地、検査回数、検査をしていることを知った情報媒体、感染不安の理由、過去1年間のコンドームの使用頻度等であった。

なお、A保健所では2001年5月から同年10月まで、匿名で行われるHIV検査と同一枠内で希望者のみにC型肝炎の抗体検査を実施した。HIV検査目的とC型肝炎検査目的の受検者とをアンケートで明確に区別できないため、C型肝炎検査の影響がないM検査・相談室のアンケートを分析対象とした。

C 結果

1 2001年の月別受検者数の推移（網かけは遺伝子検査実施月）

表1 A、B保健所

	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	計
A保健所	6	19	7	7	10	19	6	16	19	17	6	7	139
B保健所	7	7	7	8	6	11	10	6	6	14	12	8	102

表2 M検査・相談室

	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	計
月	150	169	139	148	150	133	169	143	146	170	159	162	1838
火	154	133	94	116	166	126	133	114	111	162	113	127	1549
水	139	115	113	111	158	120	114	160	133	143	104	113	1523
木	85	95	128	120	101	108	87	160	120	92	132	135	1363
金	150	137	183	135	102	134	93	152	117	109	116	75	1503
計	678	649	657	630	677	621	596	729	627	676	624	612	7776

A、B保健所は月2回の検査体制であり、各月の受検者数にばらつきがあった。特にA保健所ではC型肝炎検査実施による見かけの受検者増加があったものと思われた（表1）。

M検査・相談室では月曜日の受検者数が他の曜日に比較して高かった（表2、図1）。各曜日の平均検査数は、月曜日から金曜日までそれぞれ、41件、31件、30件、27件、31件であった。月曜日のうちPCRを導入した時の平均検査数は48件で、PCRなしの時が37件であった。

2 M検査・相談室におけるアンケート結果

合計7,143件：男5,026件、女2,117件

PCRあり：779件（男560件、女219件）

PCRなし：6,364件（男4,466件、女1,898件）

(I) 年齢分布

男性は20代が最も多く、次いで30代、40代、50代、10代と続いた。女性は20代が最も多く、次いで30代、10代、40代と続いた。PCRの有無で年齢層の順位は変動しなかった（図2-3）。

(II) 検査回数

男女共に検査が初めての人数が最も多かつ

た。PCRの有無で検査回数の変化は認められなかった（図4-5）。

(III) 検査を知った情報媒体

マスコミとインターネットが検査を知る媒体として多かった。PCRの有無では差は認められなかった（図6-8）。

(IV) 感染の心配があつてからの期間

感染の機会や心配があつてからの期間では、90日未満と回答したものがPCR実施群で多く、PCR未実施群との有位差が認められた（ $P<0.0001$ ）（図9）。

(V) 過去1年間の献血の有無

過去1年間に献血を行ったものは、PCRの有無にかかわらず、それぞれ約10%であった（図10）。

D 結論及び考察

1 抗体検査・遺伝子検査の実施数

A、B保健所は月2回の平日午後に検査体制を組んでいる。A保健所における5月から10月までの受検者数は、C型肝炎検査実施による見かけの増加と思われた(表1)。B保健所では広報やインターネットを通じて遺伝子検査についての情報提供を行ったが、明らかな受検者増加効果は認められなかった。A、B保健所では、抗体検査に加えて遺伝子検査を導入することにより、採血や結果説明、事務作業など実務上の問題は特に生じなかった。

M検査・相談室はHIV検査専門の常設機関であり、ターミナル駅に近い繁華街に位置し、多くの人が受診しやすい状況にある。また、平日夜間に検査体制をとっていることなど利便性がよい。PCRを導入した月曜日の平均受検者数が他の月曜日よりも11件多いことから、M検査・相談室ではPCR導入によりさらなるマグネット効果が生じたものと考えられた。

2 アンケート調査

M検査・相談室でのアンケート調査からは、PCR導入のみでは、受検者における性別、年齢別分布や検査回数の差は生じなかった。しかし、感染の心配があってから検査に来るまでの期間が短い人が受診する傾向にあり、PCR検査に対する関心と期待が高いことが示唆された(図9)。また、過去1年間に献血を行っているものが10%いることから、感染不安者が献血を行わないよう普及啓発が必要と考えられた(図10)。

M検査・相談室は、一つの機関で東京都内の保健所における合計数を超える検査数を実施しており、この機関の意義はとても大きい。しかし、受検者数が多いため、検査実施から結果通知までが流れ作業的に忙しくなりがちであり、細かなサービスを提供することが課題であると考えられる。

東京都内の保健所におけるHIV抗体検査数は1992年をピークに減少し、現在は横ばい状態に

ある。受検者が比較的少ない保健所では、受検者のセーフターセックス等に関する行動変化を促す機会が作れることに利点があると思われる。検査日や検査時間の延長等を含めた体制の見直しが今後必要と考えられる。また、今後は公的機関においても迅速検査の導入を検討する必要があると思われる。しかし、迅速検査で陽性の場合には確認検査をする必要があり、その際の事務作業量や体制作りには検討の必要がある。

図1 月別受診者数

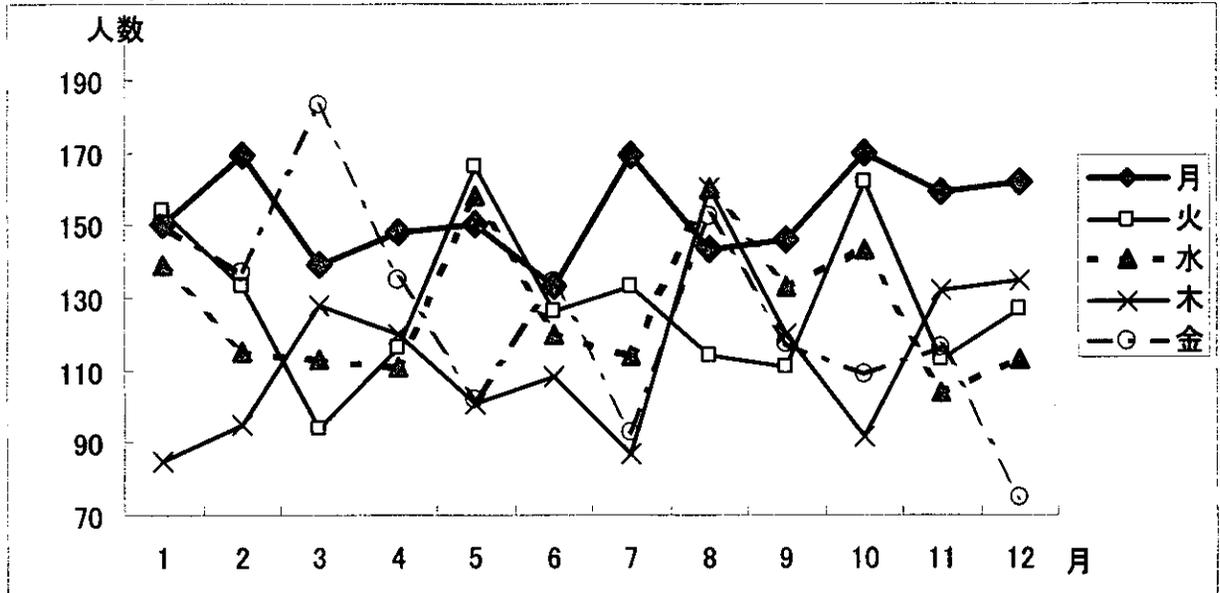


図2 年齢分布 (PCRあり)

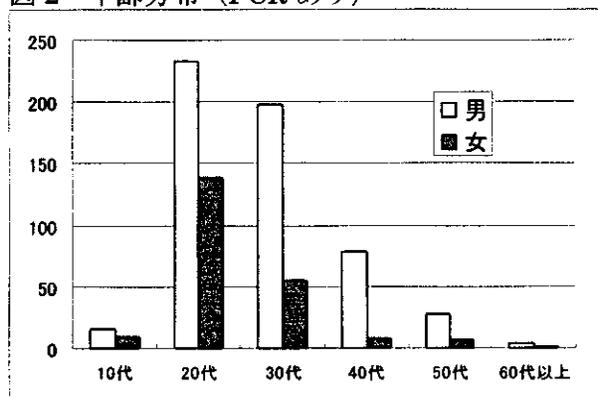


図3 年齢分布 (PCRなし)

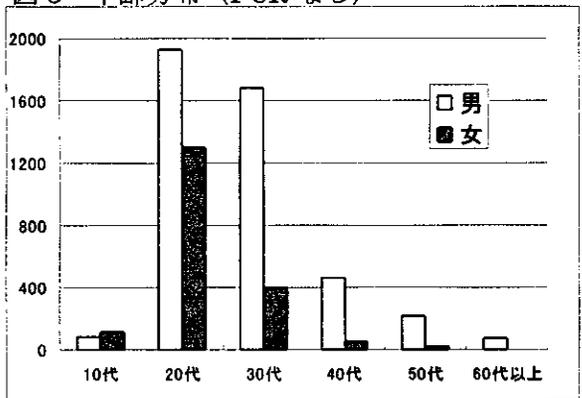


図4 検査回数 (PCRあり)

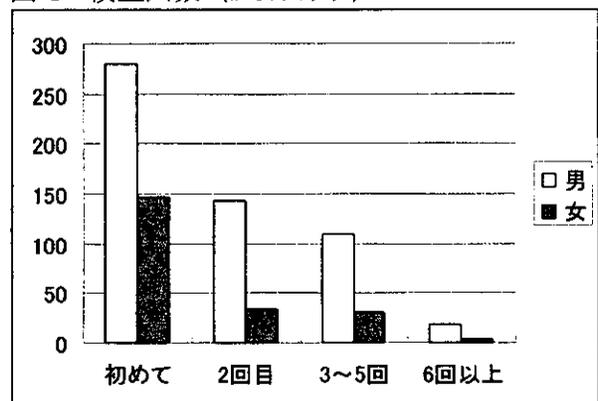


図5 検査回数 (PCRなし)

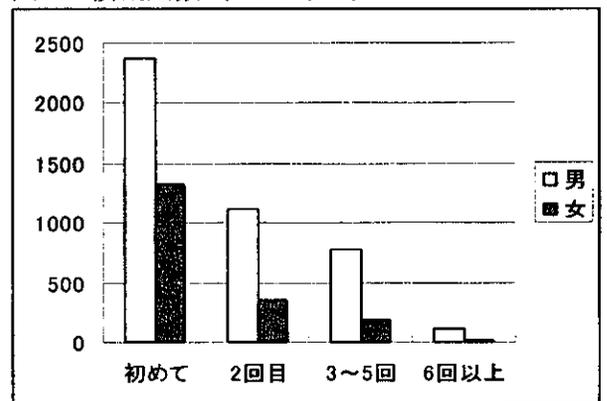


図6 検査を知った情報媒体

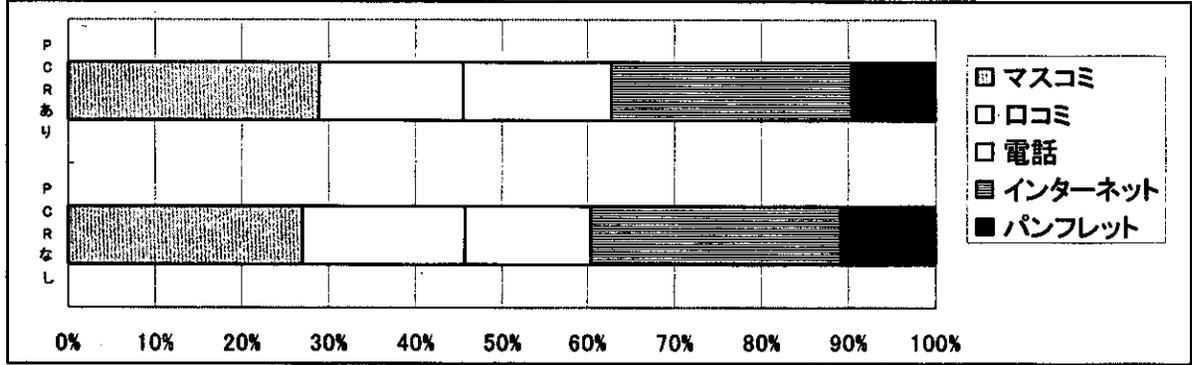


図7 マスコミから検査を知った場合

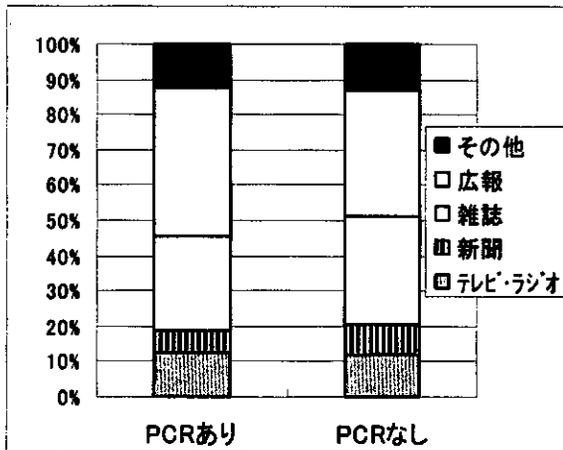


図8 インターネットから検査を知った場合

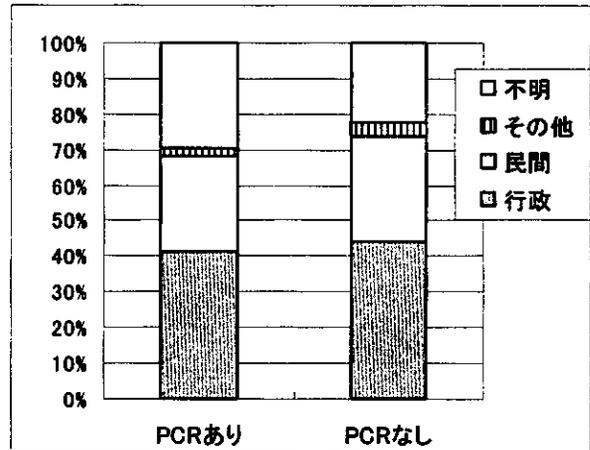


図9 感染の心配があつてからの期間

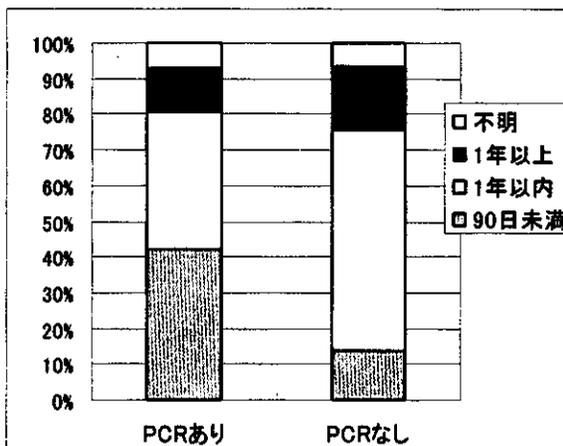
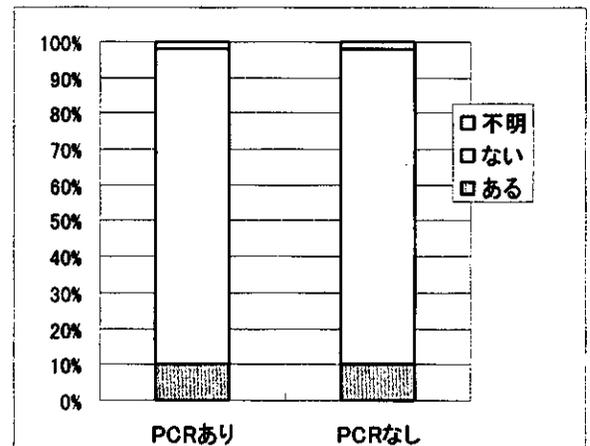


図10 過去1年間の献血の有無



3-2. ①STD クリニックにおける HIV 感染のモニタリング

—大阪の事例について—

分担研究者 大石 功 大阪府立公衆衛生研究所病理課
研究協力者 森 治代、川畑拓也、小島洋子、大竹 徹 (同病理課)

研究概要

大阪府内の繁華街に隣接した5ヶ所のSTDクリニックの協力を得て、HIV感染に対してリスクが高い受診者を対象にHIV感染のモニタリングを行った。2001年はHIV抗体検査と核酸増幅検査(NAT)を併せて実施した。今年度はHIV抗体陽性者が感染したウイルスのサブタイプを決定して、大阪府下で伝播されているHIV-1の遺伝特性を調査した。また、HIV検査法を確立するために、保健所(府民健康プラザ)を窓口とする血液サンプルの確認検査に、新規の抗原抗体の同時検出EIA法を導入して検査精度の向上に努めた。

A. 研究目的

性感染症であるHIV感染症において、性行動が活発で、HIV感染に対してリスクが高い行動を取るとされる人たちを対象に行うHIV感染の動向調査は、保健所(府民健康プラザ)を窓口とするHIVの検査情報とともに、地域内におけるエイズ対策の有用な基礎資料となる。このことから当所では、1992年以来大阪府下のSTDクリニックと連携して、受診者におけるHIV感染のモニタリングをすすめてきた。

2001年はこれまでの抗HIV抗体検査に加えて、前年の12月から開始した感染初期のウィンドウ期を検出するNAT検査を継続して実施し、HIV感染のモニタリングにおける検査の高度化を図った。

今年度はHIV抗体陽性者が感染したウイルスのサブタイプを決定して、大阪府下で伝播されているHIVの遺伝特性を調査し、さらにHIV感染の確認検査に新規のEIA法を導入して検査技術の向上を図った。

B. 研究材料

府下の繁華街に隣接するSTDクリニック(性病科、皮膚泌尿器科、産婦人科)の個人開業医(表1)の協力を得て、外来患者の中でHIV感染に対してリスクが高い行動を取っていると思われる人に、HIV検査を勧めて血液サンプルを採取し、以下に述べるエイズ検査を実施した。

HIV抗体検査のスクリーニングテストには粒子凝集法:ジエネディアHIV-1/2ミックスPA(バイオラッド/富士レビオ)を用いた。スクリーニングテストで抗体陽性となったサンプルは、ウエスタンブロット法WB;ラブロット1と2(バイオラッド/富士レビオ)で確認検査を行った。

WBで判定が困難であったサンプルは、抗原と抗体を同時に測定するバイダスアッセイキットHIVデュオ(日本ビオメリュ-)を用いた。また必要に応じてHIV-1の逆転写酵素あるいはプロテアーゼ領域をRT-PCRで調べるか、またはアンプリコアHIV-1モニター(ロシュ)

による遺伝子検査を行った。

NAT 試験は、HIV 抗体が陰性と確認された血液サンプルに限って実施した。

本年度から始めた HIV のサブタイプは概ねつぎの手順で決定した。まず HIV 抗体陽性血清を ISOGEN-LS (日本ジーン) によりウイルス核酸を抽出したのち、V3 領域の 258bp を RT-PCR 法で増幅させ、このプロダクトの塩基配列の分析結果を、各サブタイプの標準ウイルスのそれと比較して同定した。また、一部のウイルスについて逆転写酵素領域およびプロテアーゼ領域の塩基配列を分析して、薬剤耐性変異の有無を調べた。

前述したように WB に代わる新規で判定の精度が期待できる確認検査法を検討したが、試験的にバイダスアッセイキット HIV デュオを導入してその検査結果を評価した。

《倫理面への配慮》被検者の同意を得て血液サンプルを採取し、HIV 抗体検査と NAT による HIV 検査を実施した。

C、研究結果

1、HIV 抗体検査

5ヶ所の STD クリニック (B~F) から受診者の同意を得て採取した血液サンプルの総数は 2302 例で、クリニック別のサンプル数を表 1 に示した。性別と国籍別の内訳は、男性が 330 例 (外国人男性は 5 名)、女性が 1970 例 (外国人女性は 42 名)、性別不明が 2 例であった。検査の結果、HIV 抗体陽性者は 9 例で、いずれも 20~40 歳までの日本人男性であった。全数比からみた陽性率は、0.39% (9/2303) であったが、男性のみの陽性率は、2.7% (9/330) で高率であった。抗体陽性者をクリニック別に概観すると、今年度の 9 例の陽性者は全て D クリニックの受診者から見いだされた。当クリニックにおけるこの陽性者数 (9 例) と男性のみの陽性率 3.8% (9/240) は、い

ずれも同医院で検査を開始して以来最も高い値であった (表 2)。

2) NAT 検査結果

STD クリニックで採取された血液サンプルのスクリーニング検査から NAT の検査結果を受領するまでのフローチャートを図 1 に要約した。昨年度と同様に HIV 抗体陽性者は直ちに担当クリニックに連絡した。一方、抗体が陰性と判定した血清サンプルは、32 サンプルを 1 プールとして検査センター (SRL) へ送付した。サンプルの受領から NAT の結果が得られるまでにおよそ 4~5 日を要するが、NAT が陽性と疑われた場合は、1 検体毎の検査が必要となるため、結果の報告は翌週となる。

表 3 は 4ヶ所の STD クリニック (B から E) の NAT に供したサンプル数を示している。2001 年 1 月から 12 月までの期間に 1797 例を調べたが、いずれのプールも 400 コピー未満で全例が陰性であった。

3) STD クリニックと保健所サンプルの陽性率の比較

本年度の STD クリニックにおける HIV 抗体陽性率は、前述したように 0.39% であった。この値は過去 10 年間で最も高率である (表 4)。一方、同年の大阪 (府と市) における保健所経由の HIV 抗体陽性数は 25 例で、陽性率は 0.3% (25/8482) であった。これらの値は 1992 年以後で最も高い。ところが、表 4 と図 2 で明らかなように、STD クリニックと保健所を経由したサンプルの HIV 抗体の陽性率を比較すると、1998 年から 2001 年には両検査群で有為な開きがみられなくなっている。

4) HIV-1 サブタイプピング

今年度は新たに STD クリニックで採取し抗体陽性となった血清について、HIV-1 のサブタイプピングを実施した。試験に供したサンプルは、1994 年から 2001 年の期間に採取さ

れたものである。現在、20株の同定を完了しているが、この内サブタイプAEが3株、サブタイプBが17株であった。図3にそれぞれの採取年代とサブタイプの遺伝的分布を示した。図には各年代の代表株を記載したが、ウイルスの株名は、アルファベットで標記しそのうしろに採取年代を示している。系統分析の結果から、サブタイプBが遺伝的に著しく多様であることが分かる。このような多様性の中で2001年のR、Q、およびSの3株は、アミノ酸配列のホモロジーが90～98%と著しく高く、遺伝的に近縁であると判断された。この3株はプロテアーゼ領域においても薬剤耐性のアミノ酸配列の2次的変異で知られる《Val-77-Ile》が共通して認められた（図示していない）。一方、逆転写領域ではこのような変異は認められなかった。

上記のサブタイプを性別でみると、AEタイプがすべて外国人女性であったのに対して、Bタイプは日本人男性で占められた。

5) HIV 感染確認検査法の改良

当所はエイズの確認検査法に主としてウェスタンブロット法を採用している。しかし最近、このWBで判定保留となる事例が増加する傾向がみられ、判定に苦慮している。このため確認検査法の改善が必要となった。そこで、最近第4世代の検査法として注目されている抗原と抗体を同時検出できるEIAの導入を検討することになった。図4は1999年5月から2002年1月までの期間に送付されたスクリーニング判定後の血清サンプル77検体の検査結果である。これによると77件中WB法でHIV感染の有無が確認ができたものは約半数の39件で残りが判定保留となった。この結果を踏まえて、次にバイダスアッセイキットHIVデュオを検討したところ、1例を除いて陰性であることが明確に判定された。

6) HIV 相談・検査マップ

本研究班がすすめているHIV相談・検査マップに大阪府内のSTDクリニックを掲載するために、HIVの迅速検査や性病検査を実施しているDクリニックを推薦し、同医院の協力を得て詳細なエイズと性病診療の情報提供を行った。2001年12月に同マップに掲載され以後活用されている。

D、考察

STDクリニックの長年に渡る協力により大阪府下における保健所の検査結果と併せた能動的なエイズのサーベイランス情報が提供できるようになった。このような疫学情報の中から、20歳代から40歳代の日本人男性の陽性者が増加している傾向（図5、図6）がより鮮明に指摘できたことになり、エイズ予防対策に重要な示唆を与えるものとなった（図6）。また、このような知見の中からSTDクリニックと保健所サンプルのHIV抗体陽性率が、1998年を境にして有意差がなくなってきたことを指摘した（表4と図2）。この要因は多様であると思われる。近年保健所へHIV検査を受けに来る検査希望者が減少しているが、これとは対照的に、感染のリスクを自ら疑って受診する事例が増加していることが要因の一つとして挙げられる。

2000年12月以来、検査対象としている4ヶ所のクリニックでは、現在NAT検査が定着しているが、これまでに約2000検体を調べてきた。現時点で陽性者は見つからないが、STDクリニックにおいては、通常の性病診断と併せてHIVに対してリスク高い性的行動も疑われる受診者から、感染初期のウィンドウ期が検出される可能性が考えられる。このためNATは引き続き実施することが望まれる。

STDクリニックのHIV抗体陽性者が感染したHIVのサブタイプは、大阪府で伝播されているHIV-1の特長を知る上で、重要な基礎資