

血液により感染した可能性が考えられる症例について示す。輸血により感染した可能性が考えられるケースは輸血された患者さんのウイルス関連マーカーが、輸血前が陰性で輸血後が陽性、輸血用血液の保管検体にウイルス核酸が検出され、患者さんの検体とその保管検体から検出されたウイルス核酸の塩基配列を調査して、一致した場合を基本としている。

輸血が原因と考えられるウイルス感染はNAT実施前の1998年と1999年には、HCVは11例、HIV2例、HBVが35例であるのに対して、NAT実施後にはHIVとHCVの感染は確認されていない。

しかし、HBVについてはNAT実施後には激減しているが、2000年2月の50プールNAT以降に全部で15症例ある。

考察

2002年1月から12月までの献血者は5,484,142人で、その内、HIV抗体・NAT陽性者数は82例、その内、3例はHIV抗体陰性でNATのみ陽性であり、NATは献血血液に対するスクリーニング検査として抗体検査と共に効果は絶大であると考えられた。20才代と30才代男性の占める割合は57例（約70%）で、2001年の64例（81.0%）よりは減少したものの陽性者の大部分を占めている。

また、同期間にHBV・NATのみ陽性は103例で、20才代と30才代の占める割合は72例で約70%を占めているが、HBV・NAT陽性者がHIV抗体・NAT陽性者と大きく異なるのは、HIV抗体・NAT陽性者はほとんどが男性であるのに対して、HBV・NAT陽性者は女性が約39%を占めていることである。

医療機関から報告された感染症情報の解析から、NAT実施後には輸血が原因と考えられるHIVとHCVの感染は確認されていないが、HBVによる感染は年間に数例認めら

れている。このことから他国においてHBVに対するNATが行われていないことが妥当であるとは思えず、各国でもHBV・NATを実施すべきである。

HBV・NAT陽性307例の内、ジェノタイプAは2000年が2例、2001年が16例、2002年が18例の36例で、全て男性である。また、HIV抗体・NAT陽性者とHBV・NAT陽性者は20才代と30才代男性に多くみられる。これらの結果から、献血の趣旨を正しく理解して頂けていない方が献血会場に来ている現状を踏まえ、更に善意無償の献血思想の正しい普及が必要である。

現在、国のエイズ予防キャンペーン等の公衆衛生的な施策が低調になっていることから、国は国民の健康を性行為感染症から守るために、国民に対して性行為感染症の予防に対する積極的なキャンペーン等の啓蒙活動を行い、感染の不安の有効かつ身近な施設を設ける等行政による施策の積極的な展開が必要である。

表1 献血者におけるNATの実施状況

検査年	検査本数	HBV	HCV	HIV	計
1999年	1,668,926	16	5	0	21
2000年	5,542,085	88	18	3	109
2001年	5,457,231	120	20	1	141
2002年	5,484,142	103	11	2	116
累計	18,152,384	327	54	6	387

1999.7～
500本プール

2000.2～
50本プール

NAT陽性血液は輸血用血液、原料血漿からすべて除外している

表2 献血者におけるHIV抗体・NAT陽性者数
(2002年) 献血数：5,484,142

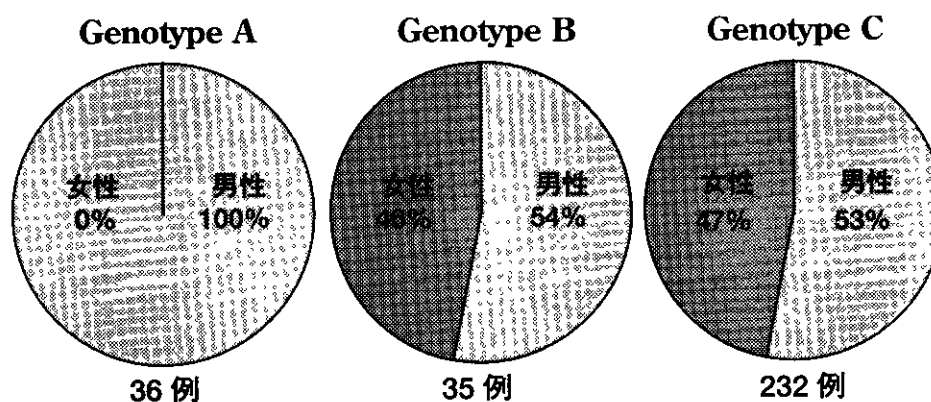
年齢	男性	女性	合計
16～19才	2	0	2
20～29才	23(1)	2	25 (1)
30～39才	34(2)	2	36 (2)
40～49才	16	1	17
50～59才	2	0	2
60～69才	0	0	0
合計	77(3)	5	82 (3)

() NATのみ陽性数

表3 献血者におけるHBV・NAT陽性者数
(2002年) 献血数：5,484,142

年齢	男性	女性	合計
16～19才	3	9	12
20～29才	31	21	52
30～39才	17	3	20
40～49才	6	3	9
50～59才	5	2	7
60～69才	1	2	3
合計	63	40	103

表4 HBVジェノタイプと献血者の性別



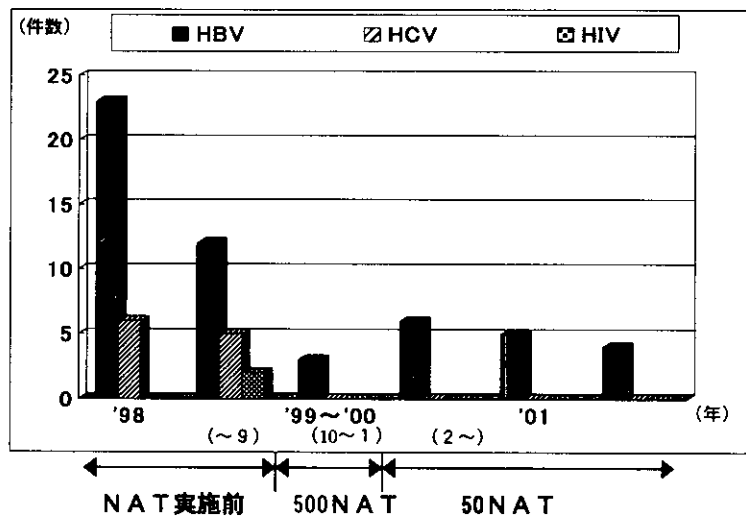
2000.2～2002.12

表5 HBVジェノタイプA 36例の献血者の年齢

年齢	男性	女性	合計
16～19才	1	0	1
20～29才	23	0	23
30～39才	10	0	10
40～49才	2	0	2
50～59才	0	0	0
60～69才	0	0	0
合計	36	0	36

表6 NAT実施の効果

-輸血により感染した可能性が考えられる症例数-



7. 海外のドナーセレクトに関する研究

7-1. 海外（ドイツ）のドナーセレクトに関する研究

分担研究者 木村和子（金沢大学大学院自然科学研究科医療薬学専攻）
研究協力者 杉本和隆（金沢大学大学院自然科学研究科）
田辺貴幸（金沢大学薬学部）

研究概要

HIV からの献血血液安全確保対策について、前年度までの西欧先進諸国の調査に加え、ドイツのドナースクリーニングを調査した。ドイツでは、わが国同様検査希望献血の禁止、問診表や面接によるリスク保持者の排除、血液使用辞退の申告制度等を採用しているが、さらに、HIV/AIDS 教育と理解の確認および本人確認を行い、また、HIV 検査施設へのアクセスが良好であることが、HIV 感染者の献血抑制に役立っていると考えられる。

目的

日本は他の先進諸国に比べ、「陽性検体出現率／推定国民 HIV 感染率」が著しく高い。さらに HIV 陽性検体出現率はここ数年増加傾向にある。¹⁾

日本とドイツにおける 1999 年度の HIV 陽性検体出現率、推定国民 HIV 感染者数および導かれる相対指数は表の通りである。

表) 1999 年度の献血における HIV 陽性検体出現率、推定国民 HIV 感染率および相対指数

国名	A	B	相対指数
日本	1.03 ²⁾	7.90 ³⁾	129
ドイツ	1.00 ⁴⁾	45.0 ³⁾	22

A：10 万人あたりの HIV 陽性検体出現率

B：10 万人あたりの推定国民 HIV 感染者数

相対指数：1000×A/B

日本はドイツに比べ推定国民 HIV 感染者数が低いにも関わらず、HIV 陽性検体出現率はほぼ同程度であるため相対指数は約 5.7 倍高い。これは HIV 感染者の増加のみではなく、

HIV 検査を目的とした献血希望者の存在が原因といわれている。

諸外国の献血におけるドナースクリーニング、特に HIV 混入防止対策を調査し、日本の血液安全対策の向上に寄与することを目的とし、2000 年度から調査研究を行ってきた。今年度はドイツについての調査結果を報告する。

方法

ドイツ連邦健康省 (Bundesministerium für Gesundheit) への調査書送付、資料収集および文献調査により調査した。

また随時、詳細について担当者とのコレスポンドンスにより、情報収集と確認を行った。

結果

ドイツの特徴

(1) 血液収集システムと規制

ドイツにおいては年間 430 万以上の全血献血 (600ml) が約 250 万人の献血者により行われ、さらに 60 万血漿献血が行われている。ドイツ赤十字輸血事業 (GRC) が全血献血の 70

～80%と血漿献血の17%を収集している。残り
は大学病院・大病院と製薬企業・民間施設
で集められている。⁵⁾

献血システムは、1998年7月1日施行の輸
血法(Transfusionsgesetz-TFG)及び薬物法
(Arzneimittelgesetz-AMG)によって規制され
ている。他の重要文書はドイツ医師会及びポ
ールエーリック研究所による「血液・血液成
分の収集及び血液製剤使用ガイドライン
(H motherapie)」及び連邦健康省により組織
された血液・血液製剤ワーキンググループの
意見・声明である。⁶⁾

献血は無報酬で行われる。直接輸血及び親
戚輸血は血液・血液製剤ワーキンググループ
が反対表明している。

(2) インフォームドコンセント

献血は、献血希望者に事前に採血及び検査
の性質、必要性、方法について、理解しやす
い形で正確に説明されなければならない。HIV
陽性と判定されたら当局に報告されることな
ど、個人データの利用についても説明に含ま
れなければならない。書面により同意を得る。
また献血者は使用回避申告しない限り自分の
献血が利用できることを表明しなければならない。^{7) 8)}

(3) 献血日前日までの手続き⁹⁾

日本と同じく、献血日前日までのコンタク
ト、予約、感染症検査などは必要としない。

(4) 本人確認

毎回献血時に、身分証明書(写真付公的証明
書・献血手帳・筆跡鑑定できるもの)を確認す
る。この時、献血者の姓名、生年月日、住所、
および血液型を確認する。⁸⁾

(5) HIV/AIDS 教育および理解度確認⁹⁾

面接時の HIV/AIDS に関する情報伝達や
教育は、献血直前に情報シートおよびパンフ
レットを手渡して行う。また、血液使用辞退
に関するシート (self exclusion form) は献
血前に手渡し、内容を確認させ、献血後に記
入させる。教育内容の理解度は、本人の署名

によって確認される。

二回目以降の献血の際にも必ず、同様の情
報提供を行う。

(6) ドナーの選定^{7) 8)}

採血の許可が適当かどうか医学的及び技術
的観点から担当医師が判断できるように既往
歴、身体検査及びラボ検査を経る。連邦医師
会により作成されたガイドラインの除外基準、
一時的制限基準に該当する献血希望者からの
採血は認められない。

献血希望者に対する説明には以下の点が含ま
れていなければならない(抜粋)

- * 既往歴、身体検査及び血液検査の必要
性に関する説明
- * 血液製剤による感染症の感染リスク、
肝炎、HIV/AIDS の兆候や症状の情報
- * 血液製剤による受血者のリスクの原因
例えば性感染症、肝炎、HIV/AIDS、薬
剤依存など
- * 健康に関する本人申告、献血検査結果
及び献血後の追跡調査の秘密に関する
情報
- 献血除外基準(抜粋)
 - * HCV または HIV に感染したか、症候が現
れた者
 - * HBV, HCV または HIV 感染リスクがドイ
ツ全体の人口に比較して高いグループ
に属するかまたはこれらと連結してい
る者
 - * 原因不明の感染性肝炎に罹患してい
る者または罹患していた者
- 一時的献血制限(抜粋)
 - * HBV, HCV 及び/または HIV 感染リスクの
高いグループと親密な交際があった場
合: 12ヶ月
 - * サハラ以南アフリカ、カリブ、東南ア
ジア、南アメリカなど HBV-, HCV-, HIV-
または HTLV-I/-II が蔓延している地
域を一時的に生活の場として入国した
者: 最終滞在日より 12ヶ月

- * 手術後は医師の判断による
- * 血液成分又は血漿分画製剤を施用した場合（自家血及び人アルブミンは除外）：6ヶ月
- * 偶然血液に暴露、侵入を受けた場合または血液が付着した注射針その他の装置によって負傷した場合：6ヶ月
- * 鍼治療を受けている者で、滅菌条件下で行っていない場合：6ヶ月
- * 刺青を入れている最中の者、または皮膚に穿孔をあける装飾を受けている者で滅菌条件下で実施されていない場合：6ヶ月

(7) 問診表⁹⁾

問診表は基本的に、全て献血希望者が記入する。必要と判断された場合には一部、面接担当者が口頭で確認し記入する場合もある。

(8) 面接⁹⁾

面接は、訓練を受けた医師がこれを行い、定期的な研修も受ける。

ベルギー、イングランド、カナダ、スイスのように、二回目以降は必要と判断された場合に行うという手順は採っておらず、初回～二回目以降ともに同じレベルの面接が行われる。

(9) 記録

すべての献血データは医療専門家によって管理・記録される。データは献血、成分製造及び最終使用から最低15年間保存され、ルックバックに利用される。^{6) 7)}

(10) 血液検査⁹⁾

ドイツではHIV検査のためすべての血液に対してELISAを行っている。二度のELISAによる試験で陽性が疑われた場合は、リファレンスラボにおいてELISA, Western blot等による確認試験を行う。

また現在、9割以上の検体に対してHIV-1 NATによる検査が行われている。

(11) ルックバック（遡及調査）⁷⁾

献血者は、HIVに感染していた場合に告知

されることを、献血実施前に伝えられる。

献血施設が、献血者がHIVなどの感染症に感染していることが判明した又はその疑いを持った場合、採血を隔離しかつ以前の献血を調査しなければならない。再検査または確認試験によってその後の手続きが決定されるまでは感染疑いの血液は封印される。感染状態はただちに解明されなければならない。感染が確認された献血は間違わないように隔離する。感染が確認された場合、決定できない又は再検査不可能な場合には、該当する施設はルックバックに着手したことを即座に当局に報告しなければならない。また、HIV感染が判明したものは永久に献血から除外される。

献血責任医師はすぐに献血者に感染について詳細を説明し、助言を与えなければならない。健康管理施設は当該献血で処置された者に即座に報告し、検査を受けるよう勧めなければならない。

(12) HIV検査施設

HIV感染検査を希望する者は、保健所またはエイズ専門カウンセリングセンターにおいてBMGS(連邦健康省社会保障)の負担により、無料で、希望すれば匿名で検査を受けることができる。カウンセリングおよびサポートも同施設で受けることができ、利用頻度は高い。また、検査施設への予約は必要無い。^{6) 9)}

考察

ドイツにおけるドナーセレクトの基準は、HIV感染症状および感染リスク行為の確認によるものであり、日本の基準と大きな差は見られなかった。

ドナーセレクトの方法としては、情報シートの手渡しによる教育、本人の署名による理解の確認、訓練を受けた医師による面接、血液使用辞退の申告による。身分証明書による本人確認も行われている。なお、輸血法およびガイドラインにおいて、献血希望者に対し、分かりやすい形式でHIV/AIDSの情報を含ん

だ説明を行った上で、同意を得ることが義務付けられている。

これまで調査した諸外国と同様にドイツでも、陽性検体が判明した場合は本人に告知し、ルックバックが徹底して行う。このように、HIV 陽性の告知を前もって献血希望者に伝えているにも関わらず、分かりやすい形式での HIV/AIDS 教育を含んだ説明、理解の確認、本人確認の実行を徹底することにより、HIV 感染者の献血率が低く抑えられていると推測された。

平成 14 年度論文発表等

論文発表

杉本和隆、高西優子、今井光信、木村和子
「海外のドナーセレクトに関する研究」、日本エイズ学会誌（投稿中）

学会発表

K. Sugimoto, Y. Takanishi, T. Nakaisi,

K. Kimura, M. Imai

“Donor select for blood safety from HIV contamination “

XIV International AIDS conference 2002

参考文献

- 1) 木村和子 海外のドナーセレクトに関する研究、厚生労働省、厚生科学研究費補助金エイズ対策研究事業 HIV の検査法と検査体制を確立するための研究(主任研究者 今井光信) 平成 13 年度研究報告書 122 頁
- 2) UNAIDS, Epidemiological Fact Sheet on HIV/AIDS and sexually transmitted infections, Update 2000
- 3) エイズ動向委員会 献血検体および HIV 抗体陽性件数、厚生労働省エイズ動向委員会報告 2001 年 10 月
- 4) European Centre for the Epidemiological Monitoring of AIDS, Systematic HIV antibody screening in blood banks, HIV prevalence in blood donations by country, 1995-2001, WHO European Region,

HIV/AIDS Surveillance in Europe June 2002, Page 36-37

- 5) Peter Heimer, Blood transfusion system in the Federal Republic of Germany Activities of the GRC Blood Transfusion Services 1999, Bonn 13.04.2000
- 6) Dr. E. Werner, Blood transfusion safe from HIV, Bundesministerium f r Gesundheit, Bonn 07.03 2001
- 7) Act Regulating Transfusion Practice (Transfusion Act) Gesetz zur des Transfusionswesens (Transfusionsgesetz-TFG) of 1 July 1998 (Non-official translation)
- 8) Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Haemotherapie), Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch-Gesundheitsschutz 7.2000, 555-583
- 9) Fax-mitteilung from Dr. Horst Klamm, Department of Blood and Bloodproducts, Bundesministerium f r Gesundheit und Soziale Sicherung, Bonn 28.03 2003

謝辞

調査にご協力いただいた次の方々に深謝いたします：

Dr. Horst Klamm, Department of Blood and Bloodproducts, Bundesministerium f r Gesundheit und Soziale Sicherung

Dr. Edgar Werner, Bundesministerium f r Gesundheit

Mr. Freidger von Auer, Bundesministerium f r Gesundheit

Dr. Peter Heimer, Blood Transfusion Service German Red Cross

Dr. Lefevre, German Red Cross donation organization

Dr. Offergeld, Robert Koch-Institut, Berlin

7-2. 海外のドナーセレクトに関する研究（総括）

分担研究者 木村和子（金沢大学大学院自然科学研究科医療薬学専攻）
研究協力者 杉本和隆（金沢大学大学院自然科学研究科）
田辺貴幸（金沢大学薬学部）

研究概要（2001～2003）

ベルギー、カナダ、スイス、イングランド、ドイツ、スウェーデンについて献血血液の安全確保対策、特に HIV 混入の防止対策を調査し、日本との比較を行った。その結果、献血希望者に対する HIV 教育の徹底と理解度の確認、献血登録前の本人確認、面接効果の向上、本人への告知と官公署への報告、HIV 検査施設のアクセスの良さなどが注目された。

目的

日本は他の先進諸国に比べ、「陽性検体出現率／推定国民 HIV 感染率」が著しく高い。さらに HIV 陽性検体出現率はここ数年増加傾向にある。¹⁾ これは HIV 感染者の増加のみではなく、HIV 検査を目的とした献血希望者の存在が原因といわれている。

諸外国の献血におけるドナースクリーニング、特に HIV 混入防止対策を調査し、日本の血液安全対策の向上に寄与することを目的とした。

方法

調査対象国と調査機関：

ベルギー (BE)：

Croix-Rouge de Belgique Service de Sang

カナダ (CA)：

Canadian Blood Services (CBS)

スイス (CH)：

Service de transfusion sanguine CRS

英国 (EN)：

National Blood Services (NBS)

ドイツ (GE)：

Bundesministerium für Gesundheit

スウェーデン (SE)：

Bloodcentralerna i Stockholm

調査方法

1. 資料収集および文献調査
2. 調査書送付
3. 海外血液センターへの訪問面接調査
4. 調査対象国担当者とのコレスポンドンス

各年の研究内容

平成 12 年度

各国の献血血液の安全確保対策に関する調査を行うにあたり調査書を作成し、担当機関へ送付および資料収集を行った。

また、2001 年 3 月末にベルギー、英国、スウェーデン、スイスの血液センターへの訪問面接調査を行った。

平成 13 年度

文献および資料調査により、ベルギー、英国、スウェーデン、スイスおよびカナダにおけるドナースクリーニング体制を調査し、日本と比較した。

2001 年 12 月にカナダの血液センターへの訪問面接調査を行った。

平成 14 年度

ドイツにおけるドナースクリーニング方法を、調査書、文献およびコレスポンドンスにより調査した。

結果

献血における HIV 混入防止関連項目について、各国の特徴をまとめた（表）。詳細については平成 12 年度、13 年度および 14 年度の厚生労働省科学研究費補助金エイズ対策研究事業「HIV の検査法と検査体制を確立するための研究（主任研究者今井光信）」報告書を参照されたい。

課題および提言

各国における献血希望者の HIV 感染リスクのチェック項目は、問診表や面接者マニュアルを含めると表現に違いはあるが何処の国も基本的に同じであり、感染リスクの見逃しにつながるような欠落は見られなかった。また、検査目的献血の禁止、問診表の記入、面接による感染リスク保持者の除外、電子データによる全国での統一的な情報管理、血液使用辞退の申告制度など、ドナースクリーニングに効果的と思われる体制についても、各国間で大きな差は見られなかった。

それらを踏まえた上で、諸外国の HIV 混入防止対策の調査結果より導かれる、日本における更なる血液安全性確保策の課題と提言は以下の通りである。

1. 献血希望者の自覚の向上

1) 教育・啓発

諸外国では感染リスク行為のみならず、病態や症状など、HIV/AIDS についての重要な情報を一通り伝え、その情報を通読したことを署名や口頭により確認している。

また、問診表や情報シートに明示的に載せられている感染リスク行為の種類も多く、具体的な項目が示され、面接で詳細を問う必要

の無い献血希望者に対しても詳しい情報を与えることができる。

調査対象国の中で日本は唯一、献血希望者に、献血後の HIV 検査結果を通知すると伝えていない。この方法は、検査目的献血を抑止する効果はあるが、感染リスクに全く気付いていない献血希望者には効果が無い。これに対しては献血希望者の誰しにも HIV/AIDS についての正しく十分な情報を与え、理解を図ることがとりわけ重要と思われる。

日頃から HIV/AIDS に関する関心を高め、啓発普及に努めることも大切であり、また、感染の心配がある場合は献血センターではなく町の検査施設で検査を受けるよう誘導することが肝心である。

2) 面接の活用

献血希望者に対する HIV/AIDS 教育を行うだけでなく、理解できているかの確認も採血者側に求められる。そのためには、情報を受け取り通読したという献血者の署名によって確認を行うだけでなく、面接を通じて理解度を確認することも有用と思われる。例えばカナダでは問診表の HIV 感染リスクに関するチェック項目を、面接者が面接しながら記入するという方法をとっている。さらに各国では、面接は必ず訓練を受けた面接担当者（医師、看護師）が行い、特に初回献血希望者に対して入念に行っていることも注目される。

2. 抑止策

1) 本人確認

英国を除いた各国ではいずれも、献血登録時に身分証明書等による本人確認が行われており、HIV 検査陽性者に対する通知を確実に行うことができる。英国でも献血希望者に事前に説明書が送付され、住所確認がされている。また献血不適格者を登録し、そのデータを本人及び近縁者の献血防止に活用している。

2) 面接効果の向上

献血希望者の問診表への署名および面接担

当者の面接技法の向上だけでなく、面接担当者の確認義務の法定化、面接担当者の問診表への署名、コード記載、検印、面接での見逃し責任の追及や遡及調査の実施により、面接による抑止効果の向上が図られている。

3) HIV 陽性者への通知と官公署または集計機関への報告

各国では、HIV 陽性または擬陽性が疑われる者にはその結果を告知することが明記されている。告知した後は専門家への受診を勧めている。

さらに法令に基づき個人データを公官署へ報告することも明示している。これらの取組みは検査目的来所を防止するために HIV 感染検査結果の告知を明言していないわが国とは異なる手法である。

3. HIV 検査施設へのアクセス向上

各国において、診療所・検査センター・病院、保健センターなどで他の疾患検査と同じように、アクセスしやすい環境で保険適用や公費負担により、施設によっては匿名無料で HIV 感染検査を受けることができる。身分証明書の呈示を求められる献血センターに HIV 感染検査のためにあえて行く必要がないといわれている。

日本でも、予約不要の施設、受付時間を拡大した施設、検査可能な一部の性感染症クリニック、特殊検査も選択可能な施設などが増えているが、更なるアクセス向上が望まれる。

安全性を確保する一つの決定的な方法があるわけではないが、各国とも様々な手法の組み合わせにより献血の安全性向上を図ることが認められた。

謝辞

本研究における日本の献身体制の調査にあたって、日本赤十字社の多大なご協力をいただきました。

また、ベルギー、ドイツ、スイスの赤十字社、カナダ、英国、スウェーデンの血液サービスおよび各国の関連機関にご協力いただきました。この場にてお礼を申し上げます。

表 欧米諸国の献血のHIV混入防止方策

項目	日本	ベルギー	イギリス	スウェーデン	スイス	カナダ	ドイツ	
血液収集機関	日本赤十字社	ベルギー赤十字血液事業	国家血液事業	血液センター	スイス赤十字血液事業	ケベック州、Hema-Québec その他の地域、カナダ血液事業	ドイツ赤十字血液事業、大学病院、大病院、製薬会社、民間施設	
初回献血日以前の手続き	なし	なし	献血希望者にパンフレットを送付	登録前にHIV検査を含む血液検査	なし	登録とHIV教育	なし	
本人確認	なし	身元確認(法令で規定)	資料送付時に住所確認	個人番号	身元確認	身元確認	身元確認	
献血とHIV感染リスクに関する教育	①問診表・面接、リーフレット・ポスター等	①+ ②HIV/AIDSに関する啓発資料の交付	①+②	①+②	①	①	①+②	
感染リスクの確認方法	共通項目	問診表・問診(面接)・検査 献血希望者の署名 面接担当者の定期研修(除スウェーデン) 感染リスク行為の範囲						
	面接者	医師	専任医師	看護師	看護師	看護師	看護師	医師
	その他	①面接による確認 +②選及調査	①+②+ ③問診表に面接者の署名・検印・コード	①+②+③	①+②+③	①+②+③	①+②+③	①+②
使用回避申告	連絡先、製造番号を記載した情報シートを渡す					問診表提出時に、血液使用の可否を献血者が意思表示	あり 献血前に説明、後に記入	
HIV(偽)陽性者に対する告知と公官署への報告	明示されていない	検査結果の告知を採血前の説明や問診表で同意を得ている。 告知はホームドクター経由で行う場合と、直接献血者に行いその後の対応を指導する場合がある。 また献血希望者に対し、公官署や集計機関に報告することを明示し、同意を求めている国もある。						
NAT	日本・カナダで全検体に、ドイツで9割以上の検体に行われている。 スイスでは確認検査として行うことがある。							
HIV/AIDS検査体制	保健所(匿名、無料、限られた利用時間)、性感染症クリニックなど一部の診療所・病院	検査所、泌尿器科・婦人科、病院、保健センターなどで広く行われている。 国民健康保健や社会保障でカバーされる。施設によって匿名検査も可能。						

8. 薬剤耐性変異の解析法の開発改良実用化と技術研修に関する研究

分担研究者 杉浦 互 (国立感染症研究所エイズ研究センター)

研究概要

HIV-1 治療を適切に進める上で薬剤耐性検査の重要性が認識されつつあるが、現時点で検査を受ける機会に恵まれている患者は一部にすぎない。この研究ではより多くの感染者が薬剤耐性検査の恩恵にあずかることができるように感染症研究所エイズ研究センターで開発した遺伝子検査手技を地方衛生研究所に技術移転することを目的としている。平成14年度は遺伝子検査技術の移植を目的に16の施設を対象に技術講習会を開催した。また薬剤感受性検査に関しては、ウイルス発現ベクター、出力用のレポーター細胞を開発し試験的運用を開始した。

A. 研究目的

遺伝子検査による薬剤耐性 HIV-1 解析と薬剤感受性検査法の開発改良を行う。さらに開発した検査手技を講習会を通じて地方衛生研究所に公開し、より多くの患者が検査の恩恵にあずかることができる検査体制を構築することを目的とする。

B. 研究方法

1. 検査技術の公開と普及

薬剤耐性遺伝子検査手技をテーマに研究班では技術講習会を主催しており、この講習会を通じて薬剤耐性検査技術の公開、サポートを実施した。本年度は薬剤耐性検査に加えてサブタイピングもテーマとして取り上げた。

2. 新たな薬剤感受性検査技術開発研究

サブタイプ E 感染症例から薬剤感受性検査用ウイルスを回収するために、サブタイプ E 分子クローンである NH-1 株を元にした相同組み替え用ベクターを構築した。昨年度に報告したサブタイプ B 用の組み換えベクター HRV3 と HRV5 と同様の領域を欠損させた HRV3E, HRV5E を作成しサブタイプ E 感染者から増幅した gag-pol 遺伝子片の組み込み効率の検討を行った。

(倫理面への配慮)

患者の血液検体を取り扱う際には検査の目的、必要性を十分に説明をし、同意書を作成する。

C. 研究成果

1. 遺伝子検査

感染症研究所エイズ研究センターでは平成14年度は32施設の医療機関を対象に総計634検体の遺伝子検査を実施した(4月から2月末まで)。検査は2-3週間で結果を主治医に返送している。

2. 薬剤耐性遺伝子検査技術の公開

薬剤耐性遺伝子検査技術を地方衛生研究所に移植するために平成15年1月8日から10日の3日間にわたり HIV-1 技術研修会を開催した。研修会には表1に示す16施設からの参加があった。技術実習は感染者血漿からのウイルス RNA の抽出から始まり、プロテアーゼ、エンベロープ遺伝子の RT-PCR で増幅し、塩基配列を解析した。加えて、感染研と国立国際医療センターの講師による HIV-1 に関する基本的な知識についての講義も行った。

3. サブタイプ E 感染者血液検体から相同組み換えによるウイルス回収技術開発

gag-p2 から RNaseH 直前までの約 1.8Kb が欠損した HRV3E と gag-p24 から RNaseH 直前までの 2.2Kb が欠損した HRV5E 2つのベクターを構築した (図 1)。HRV3、HRV5、HRV3E そして HRV5E それぞれについて遺伝子導入後逆転写酵素活性ピーク達成までの日数の比較を行った。図 2 に示すようにベクターの元となった親株同士を比較すると HXB2 の 9.1 日に対し NH1 は 16.5 日と NH1 において 7.4 日の遅延が認められた ($p < 0.0001$)。相同組み換えになると HXB2 ベクターの場合 HRV3 で 18.4 日 HRV5 で 16.4 日目にピークが観察され、親株 HXB2 より約 1 週間の遅延が認められた。NH ベクターの場合も HRV3E で 23.9 日 HRV5E では 24.3 日と親株 NH1 より約 1 週間の遅延が認められた。相同組み換えでの遅延は相同組み替え効率に依存するものと考えられる。NH1 ベクターの場合、親株自体の増殖が遅いこともありウイルス回収まで 4 週間近く必要とするものもあり、今後より迅速に回収するための改良が必要と考えられた。またウイルス回収率の点においてもサブタイプ B 感染症例からの HXB2 ベクターによる回収率に比してサブタイプ E 感染症例からの NH1 ベクターによる回収率は低くこの点においても更なる改良が必要と考えられた (表 2)。

D. 考察および結論

地方衛生研究所への薬剤耐性検査の技術公開は本年度から 2 クール目に入ったこともあり、サブタイピングも加えたより実践的な実習を行った。今後の課題として各地の治療等拠点病院とどのように連携していくか、その体制作りが重要と考えられる。

感受性検査に関してはウイルス回収ベクターなど運用開始してから改善すべき点は何箇所か見つかっており、現在これらの点を改良中である。感受性検査は遺伝子検査に比較し

て費用と時間がかかることから全ての症例に適応することは困難である。現時点では新規感染者と多剤耐性症例への適応を検討している。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Fumihiko Yagyu, Yusei Ikeda, Koya Ariyoshi, Wataru Sugiura, Som-Arch Wongkhomthong, Michiaki Matsuda, Hiroshi Ushijima
Differentiation of Subtype B and E of Human Immunodeficiency Virus type 1 by Polymerase chain reaction Using novel env gene primers.
Journal of Virological Methods 2002, 101:11-20
- 2) Aiko Okano, Masakazu Matsuda, Tomoko Chiba, Kenji Moriya, Kaneo Yamada and Wataru Sugiura
Discordant Movement of CD4-Positive T-Cell Count in HIV-1 Infected Patients with HARRT Failure.
Jpn. J. Infect. Dis., 2002, 55: 62-65
- 3) Lay Myint, Koya Ariyoshi, Hua Yan, Alexander J. Frater, Wattana Auwanit, Panita Pathipvanith, Kaneo Yamada, Masakazu Matsuda, Tomoko Chiba, Kazunori Fujita, Myra McClure, Jonathan N. Weber, and Wataru Sugiura
Mutagenically Separated PCR Assay for Rapid Detection of M41L and K70R Zidovudine Resistance Mutations in CRF01_AE (Subtype E) Human Immunodeficiency Virus Type 1.
Antimicrobial Agents & Chemotherapy, 2002, Vol. 46: 3861-3868

- 4) Noriko Kobayashi, Hitomi Taguchi-Nakamura, Mieko Goto, Tetsuya Nakamura, Koichiro Nakamura, Wataru Sugiura, Aikichi Iwamoto and Yoshihiro Kitamura
Polymorphisms and Haplotypes of the CD209L Gene and Their Association with the Clinical Courses of HIV-Positive Japanese Patients.
Jpn. J. Infect. Dis., 2002, Vol.55: 131-133
- 5) L Myint, M Matsuda, Z Matsuda, Y Yokomaku, T Chiba, A Okano, and W Sugiura
HIV-1 Gag cleavage site mutations and non-cleavage site mutations are closely related in viral fitness recovery process.
Antiviral Therapy 2002, Vol.7; S63
- 6) K Ariyoshi, M Matsuda, H Miura, K Yamada, NS Hellmann, and W Sugiura
Unique drug resistant mutation patterns found in HIV-1 CRF01_AE (subtype E) with antiretroviral treatment failure.
Antiviral Therapy 2002, Vol.7; S150
- 7) Mutsumori Iga, Zene Matsuda, Akihiko Okayama, Wataru Sugiura, Seiichi Hashida, Kazuhiro Morishita, Yoshiyuki Nagai, Hirohito Tsubouchi
Rapid Phenotypic assay for human immunodeficiency virus type 1 protease using in vitro translation.
Journal of Virological Methods 2002, 106:25-37
- 8) 杉浦 互
HIV のゲノムと薬剤耐性
現代医療 Vo.34, No.5:153-159, 2002
- 9) 杉浦 互
HIV 診断技術と薬物治療の発展
ウィルス 第 52 巻 :83-87 2002
2. 学会発表
- 1) L Myint, M Matsuda, Z Matsuda, Y Yokomaku, T Chiba, A Okano, K Yamada, W Sugiura
HIV-1 gag cleavage site mutations and non-cleavage site mutations are closely related in viral fitness recovery process
XI International HIV Drug Resistance Workshop. Jul.2-5, Seville-Spain
- 2) K Ariyoshi, M Matsuda, H Miura, K Yamada, NS Hellmann, W Sugiura
Unique Drug Resistant Mutation Patterns Found in HIV-1 CRF01_AE(subtype E) with Anti-Retroviral Treatment Failure.
XI International HIV Drug Resistance Workshop. Jul.2-5, Seville-Spain
- 3) W. Sugiura, F Ren, M. Matsuda, T. Chiba, M. Kakizawa, H. Tanaka.
Sequential Linking Analyses Of Within-Host Drug Resistance Evolution by Reconstructing The Serial Phylogenetic Tree Of HIV-1 Protease Under HAART
Third HIV DRP Symposium Antiviral Drug Resistance. Dec, 8-11, Virginia, USA. 2002
- 4) 杉浦 互
薬剤耐性 HIV-1 における gag の関与と薬

- 剤耐性検査におけるその意義
第5回 白馬シンポジウム-最新エイズ研究 2002-白馬
- 5) 杉浦 互、松田昌和、千葉智子、岡野愛子、
守谷研二、山田兼雄、山本直樹
多剤併用療法の導入による抗 HIV-1 薬剤耐性変異の動向
第50回日本ウィルス学会 2002年10月16-18日、札幌
- 6) 杉浦 互
プロテアーゼ阻害剤耐性 HIV-1 で見られるプロテアーゼ領域外変異とその働き
第16回日本エイズ学会学術集会 2002年11月28-30日、名古屋
- 7) 松田昌和、千葉智子、岡野愛子、守谷研二、
富田康浩、佐藤裕徳、杉浦 互
相同組換えによる患者由来 CRF01_AE の再構築とその解析
第16回日本エイズ学会学術集会 2002年11月28-30日、名古屋
- 8) 千葉智子、滝澤万里、松田昌和、松田善衛、
横幕能行、岡野愛子、守谷研二、山田兼雄、
本多三男、杉浦 互
ヒト T細胞株を用いた新たな HIV-1 薬剤感受性検査法の確立の試み
第16回日本エイズ学会学術集会 2002年11月28-30日、名古屋
- 9) 田中理恵、松田昌和、杉浦 互、花房秀次、
根岸昌功、加藤真吾
ジェノタイプ法とフェノタイプ法による抗レトロウィルス薬に対する HIV-1 の薬剤感受性検査結果の比較
第16回日本エイズ学会学術集会 2002年11月28-30日、名古屋
- 10) 岡野愛子、松田昌和、千葉智子、守谷研二、
山田兼雄、杉浦 互
多剤併用療法導入後の本邦における抗 HIV-1 薬剤耐性変異の動向
第16回日本エイズ学会学術集会 2002年11月28-30日、名古屋
- 11) 須藤弘二、西澤雅子、嶋 貴子、近藤真規子、
向出雅一、蜂谷敦子、岡 慎一、加藤真吾、
伊藤 章、宇宿秀三、野口有三、相楽裕子、
杉浦 互、今井光信
同一患者検体を用いた薬剤体制感受性検査結果の比較
第16回日本エイズ学会学術集会 2002年11月28-30日、名古屋
- 12) 林 公一、戸谷良三、喜多恒和、稲葉憲之、
井村総一、大場 悟、葛西建郎、北村勝彦、
杉浦 互、高野政志、谷口晴記、外川正生、
早川 智、塚原優己、箕浦茂樹、保田仁介、
和田裕一、大久保秀夫、長縄 聡、吉野直人
HIV 母子感染予防の臨床的研究(1) この3年間における妊婦 HIV 抗体検査率の動向について
第16回日本エイズ学会学術集会 2002年11月28-30日、名古屋
- 13) 和田裕一、戸谷良三、喜多恒和、稲葉憲之、
井村総一、大場 悟、葛西建郎、北村勝彦、
杉浦 互、高野政志、谷口晴記、塚原優己、
外川正生、早川 智、林 公一、箕浦茂樹、
保田仁介、大久保秀夫、長縄 聡、吉野直人
HIV 母子感染予防の臨床的研究(2) 産婦人科領域からの全国調査成績
第16回日本エイズ学会学術集会 2002年11月28-30日、名古屋
- 14) 外川正生、戸谷良三、喜多恒和、稲葉憲

之、井村総一、大場 悟、葛西建郎、北村勝彦、杉浦 亙、高野政志、谷口晴記、塚原優己、林 公一、箕浦茂樹、保田仁介、和田裕一、大久保秀夫、長縄 聡、吉野直人、早川 智

HIV 母子感染予防の臨床的研究 (3) 小児科領域からの全国調査

第 16 回日本エイズ学会学術集会 2002 年 11 月 28-30 日、名古屋

- 15) 塚原優己、戸谷良三、喜多恒和、稲葉憲之、井村総一、大場 悟、葛西建郎、北村勝彦、杉浦 亙、高野政志、谷口晴記、外川正生、早川 智、林 公一、箕浦茂樹、保田仁介、大久保秀夫、長縄 聡、吉野直人

HIV 母子感染予防の臨床的研究 (4) HIV 母子感染予防対策の普及を目的としたマニュアルの改訂

第 16 回日本エイズ学会学術集会 2002 年 11 月 28-30 日、名古屋

図1 相同組み換えベクターの構築

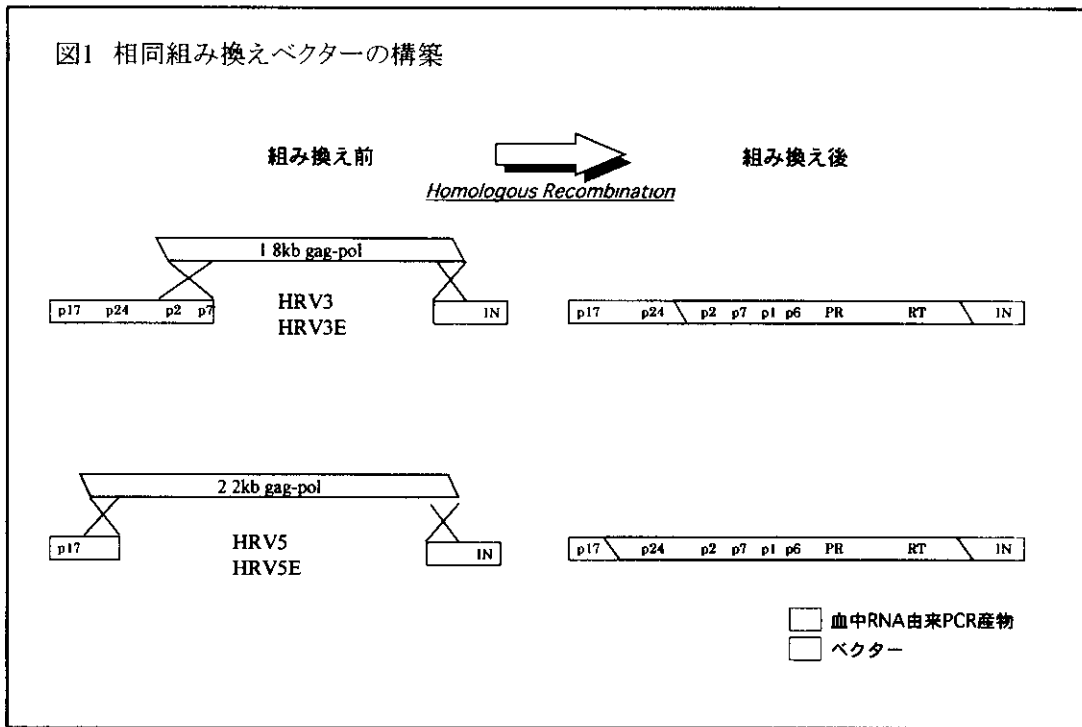


図2 相同組み換えによるウイルス回収

--- 遺伝子導入後の逆転写酵素活性ピーク到達までの日数---

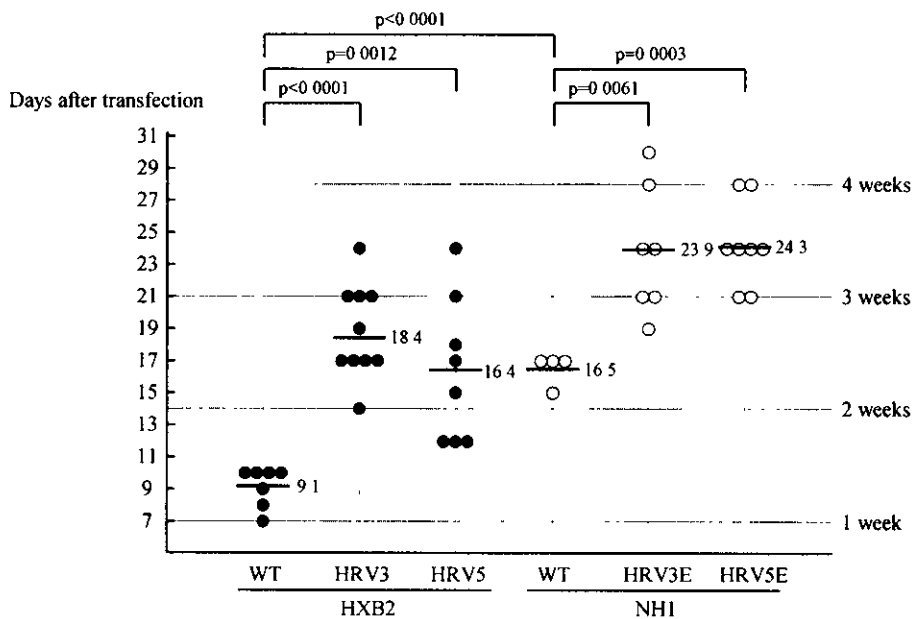


表1 HIV-1技術研修会(平成15年1月8日-10日)参加施設

1. 仙台市衛生研究所
2. 茨城県衛生研究所
3. 栃木県保健環境センター
4. 群馬県衛生環境研究所
5. 埼玉県衛生研究所
6. 神奈川県衛生研究所
7. 川崎市保健福祉局衛生研究所
8. 山梨県衛生公害研究所
9. 富山県衛生研究所
10. 京都府保健環境研究所
11. 京都市衛生公害研究所
12. 愛媛県衛生環境研究所
13. 福岡市環境局保健環境研究所
14. 佐賀県衛生薬業センター
15. 宮崎県衛生環境研究所
16. 鹿児島県環境保健センター

表2 相同組み換えウイルス回収率のまとめ

	subtype B		subtype E	
	HRV3	HRV5	HRV3E	HRV5E
試行数	41	41	19	19
成功例	33	20	7	8
成功率	81%	49%	37%	42%

9. 薬剤耐性変異の解析法の開発に関する研究

分担研究者 加藤真吾 (慶応義塾大学医学部微生物学・免疫学教室)
研究協力者 田中理恵 (慶応義塾大学医学部微生物学・免疫学教室)

研究概要

未治療患者 11 人と既治療患者 14 人を対象に、血漿中ウイルスと PBMC 由来分離ウイルスのジェノタイプを比較した。また、これらのウイルス分離株を用いて 12 種類の抗レトロウイルス薬に対するジェノタイプとフェノタイプの関係調べた。ジェノタイプの解釈はスタンフォード大学のアルゴリズム HIVDB を利用した。フェノタイプは PBMC を用いた IC₅₀ 測定によって評価した。血漿ウイルスと分離ウイルスの遺伝学的差異は未治療患者より既治療患者の方が大きかった。血漿ウイルスと分離ウイルスの薬剤耐性関連変異は治療中患者 1 例を除いてほぼ一致していた。耐性の判定に関してはフェノタイプとジェノタイプは ddI を除いてよく一致していた。しかし、ジェノタイプによって耐性の程度を正確に予測することは困難であった。d4T と ABC はそれ以外の薬剤と比較して IC₅₀ の上限が 10 倍程度とかなり低かった。このような薬剤に対する耐性獲得の臨床的意義についてさらに検討する必要がある。また、非サブタイプ B の薬剤愛耐性の研究も今後の重要な研究課題である。

目的

抗レトロウイルス薬に対するウイルスの耐性検査にはジェノタイプ法とフェノタイプ法があるが、両者の結果の間に差異が生じる場合が少なくない。その一つの原因として、血漿中のウイルス集団と PBMC から分離されたウイルス集団が異なっていることが考えられる。そこで、未治療患者 11 人と既治療患者 14 人を対象に、血漿中ウイルスと PBMC 由来の分離培養液中ウイルスのジェノタイプを比較した。また、これらのウイルス分離株を用いて 12 種類の抗レトロウイルス薬に対するジェノタイプとフェノタイプの関係調べた。

方法

対象：未治療患者 11 人、抗レトロウイルス薬による既治療患者 14 人。

ウイルス分離：感染者と健常者のクエン酸ナトリウム採血液から Ficoll-Paque

(Pharmacia) を用いて PBMC と血漿を調製した。これらの PBMC から Dynabeads M-450 CD8 (DynaI) を用いて CD8 陽性細胞を除去し、それぞれ 5×10^6 細胞ずつ 10 ml の RPMI 1640 培地 [30%FCS と 70 U/ml rIL-2 (イムネース注 35、シオノギ) 含有] の中で混合し、50 倍希釈した抗 CD3 抗体 (CLB-CD3、PeliCluster) を 40 μ l 加え、CO₂ インキュベーターで培養した。3 日後に培養上清を遠心 (1,000 rpm、10 分間) して除き、細胞濃度が 0.5×10^6 /ml になるように RPMI 1640 培地を加えて培養を続けた。その後 2 日ごとに同様にして細胞を播き直し、上清中の HIV-1 p24 濃度をミニバイダス (ビオメリュー社) を用いて測定した。

IC₅₀ の測定：健常人 PBMC を先の方法で 4 日間培養し、その 1×10^7 細胞に約 100 ng の p24 量のウイルス液を 1 ml の RPMI 1640 培地中で 1 時間感染させ、培地で一度洗浄した。