

Z00500693 B

厚生労働科学研究費補助金

エイズ対策研究事業

若年婦人におけるHIV感染状況およびHIV感染症と

生殖医療との関連性に関する研究

平成15年度～平成17年度 総合研究報告書

主任研究者 田中憲一

平成18年(2006年)3月

目 次

HIV 感染者の人工授精・体外受精に関する基礎的・臨床的研究

- (1) HIV 感染男性, 非感染女性夫婦に対する
体外受精・胚移植の臨床応用に関する研究 ————— 1
- (2) 濃縮洗浄調整精子の保存温度と時間経過に
おける精子状況に関する研究 ————— 10
- (3) HIV 感染男性, 非感染女性夫婦に対する
体外受精・胚移植に関する基礎的研究 ————— 14

HIV 陽性婦人における STD および若年婦人における HIV 感染実態に関する研究 ————— 17

厚生労働省科学研究費補助金分担研究報告書 ————— 29

酸化チタンによる HIV の経母乳感染の防止に関する基礎研究 ————— 37

研究成果の刊行に関する一覧表 ————— 41

研究成果の刊行物・別刷 ————— 44

平成 15 年度～17 年度厚生労働科学研究費補助金(エイズ対策研究事業)

「若年婦人における HIV 感染状況および HIV 感染症と生殖医療との
関連性に関する研究」

HIV 感染者の人工授精・体外受精に関する基礎的・臨床的研究

(1) HIV 感染男性, 非感染女性夫婦に対する体外受精・胚移植の臨床応用に関する
研究

主任研究者	田中憲一	新潟大学大学院医歯学総合研究科(産婦人科) 教授
分担研究者	岩下光利 高桑好一	杏林大学医学部産科婦人科学講座教授 新潟大学大学院医歯学総合研究科(産婦人科) 助教授
研究協力者	花房秀次 加嶋克則 加藤真吾 兼子智 久慈直昭 島典子 鈴木美奈 藤田和之 牧野麻由子 吉村泰典	荻窪病院血液科部長 新潟大学医歯学総合病院産婦人科 慶応義塾大学医学部微生物学教室 東京歯科大学市川病院産婦人科講師 慶應義塾大学医学部産科婦人科学教室講師 HIV カウンセラー 新潟大学医歯学総合病院産婦人科 新潟大学医歯学総合病院産婦人科 新潟大学医歯学総合病院感染症管理室カウンセラ ー 慶應義塾大学医学部産科婦人科学教室教授

研究要旨

本邦においても HIV 感染者は徐々に増加しつつあるが、従来より HIV 感染男性、非感染女性夫婦の妊娠については、性交渉により妻の二次感染の危険性があることから、妊娠しないよう指導されてきた。これに対し、本研究班では Percoll 法-Swim up 法を応用し夫精液から HIV ウイルスを除去する方法を用い精子浮遊液を作成し、これを体外受精・胚移植に使用することにより、妻の二次感染をほぼ 0 とし、妊娠しうるような臨床応用を進めてきた。その有用性および安全性を明らかにすることを目的としている。また、体外受精・胚移植に比較して簡便である人工授精を実施するためには、Percoll 法-Swim up 法により調整した精子浮遊液について時間をおいて複数回 HIV についての検査を行い、陰性であることを確認することが重要である。このためには、調整した精子浮遊液を一定時間孵置した場合の精子の運動性などに与える影響が問題となる。そこでこの点について検討した。

HIV 感染男性、非感染女性夫婦に対する体外受精・胚移植の実施については、これまでに50名の患者に対し体外受精・胚移植を実施し、35名で妊娠が成立し、のうち26名で妊娠が継続するという結果を得ている。調整した精子浮遊液の孵置に関する研究では、37℃に孵置した場合、7時間経過しても運動率が維持されるとの結果を

得ている。

A 研究目的

1996 年以後、HIV 感染者に対しプロテアーゼ阻害剤を含む Highly active antiretroviral treatment (HAART) が使用されるようになり、エイズによる死亡者は 80% 以上減少し、エイズは死の病気ではなくなりつつある。今日、HIV 感染者はエイズを発症することなく HIV キャリアの状態で経過することが多くなり、今後の人生設計を考え直して QOL の改善を求めるようになってきている。そのような状況下で HIV 感染者の中でも結婚するカップルが増えてきているが、HIV 感染男性、非感染女性の夫婦が挙児を希望し、医療機関に相談に行っても、従来は二次感染の危険性を指摘され、避妊を指導されるだけであった。一方では、二次感染の危険性を危惧しつつも、妊娠、出産を行った夫婦が数多くいることも事実である。

妊娠、出産に伴う HIV 二次感染の危険性は HIV 感染者の状態(ウィルス量や精子数・運動率など)によって異なり、主治医が患者個々の危険度を判断して危険性を正確に話して相談する必要がある。

精液中の HIV RNA 量は血中 HIV RNA 量と相関し、HAART によって精液中の free HIV RNA は減少する。しかし、精液中の HIV 感染力は精液中の単核球が最も強く、HAART で血中の HIV RNA が検出限界以下になっても精液中の HIV 感染単核球は残存し、二次感染する危険

性が残っていることが証明されている。

HAART で精液中の遊離 HIV RNA が検出限界以下になった場合の二次感染の危険性は 4.8% よりも低いと予測されるが今のところ不明であり、実際二次感染の報告例も存在する。このように HAART で血中 HIV RNA が検出限界以下になっても精液を介して二次感染する危険性はあるのでコンドームの使用は続けなければならない。

さらに現在、HIV の薬剤耐性が深刻な問題になっている。変異 HIV の感染性に問題はあるが、変異 HIV による二次感染も報告されており、今後の大きな問題である。多剤耐性 HIV により二次感染が生ずると治療が困難になると予想されるので、二次感染は可能な限り避ける手段が必要である。

イタリアの Semprini らは現在までに 2000 人以上に Percoll 法, swim up 法により調整された精子浮遊液を用いた人工授精を実施し、二次感染が全くないとの報告を行っている。しかし、彼らの 2 層しか用いない Percoll 法は精液からの HIV 除去が不十分であり、100% 安全とはいえないと考えられる。われわれは、本研究において、安全性を可能な限り高めた体外受精-胚移植法の開発と臨床実施を検討してきたが、本年度においてもさらに症例を重ね、有効性、安全性について検討した。

B 研究方法および結果

これまでの本研究により、研究協力者の加藤らは超遠心を用いて検出感度が

1 copies/ml の世界最高感度の PCR の開発に成功している(表 1)。

表 1 Swim-up によって洗浄した精子調製液中の HIV-1
を高感度で検出するための方法

洗浄した精子液(全量の半分)



①高速遠心(15,000 rpm、1時間)

(精子とHIV-1が沈殿する)



②RNA精製(QIAGEN RNeasy Mini Kit)

(精子とHIV-1のRNAが得られる)



③逆転写反応

(HIV-1のRNAがcDNAに変換される)



④1回目のPCR

(HIV-1のDNAが約100万倍に増幅される)



⑤2回目のPCR

(HIV-1のDNAがさらに約10万倍増幅される)



アガロースゲル電気泳動

(増幅されたHIV-1 DNAを検出する)

この改良 PCR 法を用いて、HIV 陽性男性から得られた精子浮遊液中の HIV ウイルスが検出されないことを確認し、HIV 感染男性、非感染女性夫婦に対し、体外受精-胚移植を実施している。

2. HIV 感染男性、非感染女性夫婦に対する体外受精-胚移植の臨床応用

(1)「HIV 感染男性、非感染女性夫婦に対する体外受精-胚移植の臨床応用」にあたって、参加希望者が臨床応用に参加するまでの経緯

参加希望者は最初に、荻窪病院血液科を受診し、医師により男性の診察が行われ、病状の安定していることなどを判断し、夫婦の意思を確認している。次に夫婦個別に、カウンセラー及びコーディネーターの面談を受け、それぞれの参加の意思を確認している。夫婦ともに自発的な意思であることが確認され、出産後の育児に対する社会的背景などに問題がないか医療スタッフで検討し、また、HIV 陽性男性の精液検査を荻窪病院で実施、精子数、運動率、HIV RNA、proviral DNA などを検査している。この後、新潟大学医歯学総合病院産婦人科をはじめとする研究参加施設を受診することとしている。

新潟大学医歯学総合病院産婦人科を

(3)「HIV 感染男性、非感染女性夫婦に対する体外受精-胚移植の臨床応用」における実施スケジュール

臨床応用に参加することになった、患者の妻に対しては、通常の体外受精-胚移植で行われる排卵誘発が実施される。内因性の卵胞刺激ホルモン(FSH)、黄体刺激ホルモン(LH)などを抑制する薬剤(GnRH アゴニスト)を使用しつつ、排卵誘発剤を投与する。排卵誘発剤の投与量は、卵胞の大きさをモニターしながら決めていく。卵胞が至適な大きさになった段階で、採卵(卵巣から卵子を採取

受診した場合を例にとって説明すると、受診した患者夫婦に対し、担当医師が、詳細な説明書をもとに、説明している。その内容は、臨床応用の実際、本治療に伴うリスク、万が一二次感染が発生した場合の患者夫婦の負担、治療開始後中止することになっても問題ないことなど、である。そこで妻の検査(感染症検査、ホルモン検査、基礎体温の確認、他)を実施している。この後、新潟在住のカウンセラーにより、夫婦個別の意思確認を行う。これにより、患者夫婦の意思が強い場合には、再度新潟大学医歯学総合病院産婦人科を受診してもらい、夫婦個別に、説明書を用い、治療についての説明を行っている。最終的な意思の確認を行ったのち、夫婦別々に同意書に、夫婦および担当医師が署名、捺印を行う。同意書は同じものを2部作成し、1部は患者夫婦が、1部は新潟大学医歯学総合病院産婦人科が保管している。以上が、臨床応用に実際に参加するまでの経緯である。

HIV 感染男性、非感染女性夫婦に対する体外受精-胚移植の臨床応用を実施している、杏林大学医学部附属病院、慶応大学医学部附属病院でも、十分なインフォームドコンセントを得た上で、実施していることは同様である。

すること)を行なう。採卵は静脈麻酔による全身麻酔下を実施される。

採卵当日から胚移植を実施するまでのスケジュールの概要をフローチャートとして図1に示した。

従来の方法では、採卵当日に、夫から精液を採取し、Percoll法、Swim up法を用いた方法により、HIV 除去精子浮遊液を調整していた。この精子浮遊液中に HIV ウイルスが検出されないことを超高感度 PCR 法により確認し、媒精(卵子と精子浮遊液をともに培養すること)を実施することとしていた。HIV ウイルスの確

認に時間を要する場合には、先に媒精を実施し、仮に精子浮遊液中にHIVウイルスが検出された場合には中止とする、という選択肢もあることとしていた。最近では、採卵当日に夫精子が十分採取できない可能性もあるため、事前に精子を採取、凍結しこれを使用することを主としている。

媒精を開始した後2日後に胚移植(受精卵を女性の子宮内に戻すこと)を行うこととなるが、これに先立ち、受精卵を培養している培養液について、再度、超高度PCR法によりHIVウイルスの検出を試みる。ここで、HIVウイルスが認められた場合には、胚移植を行わず、治療を中止とする。HIVウイルスが認められない場合に胚移植を行う。

胚移植後は、患者の全身状態に注意

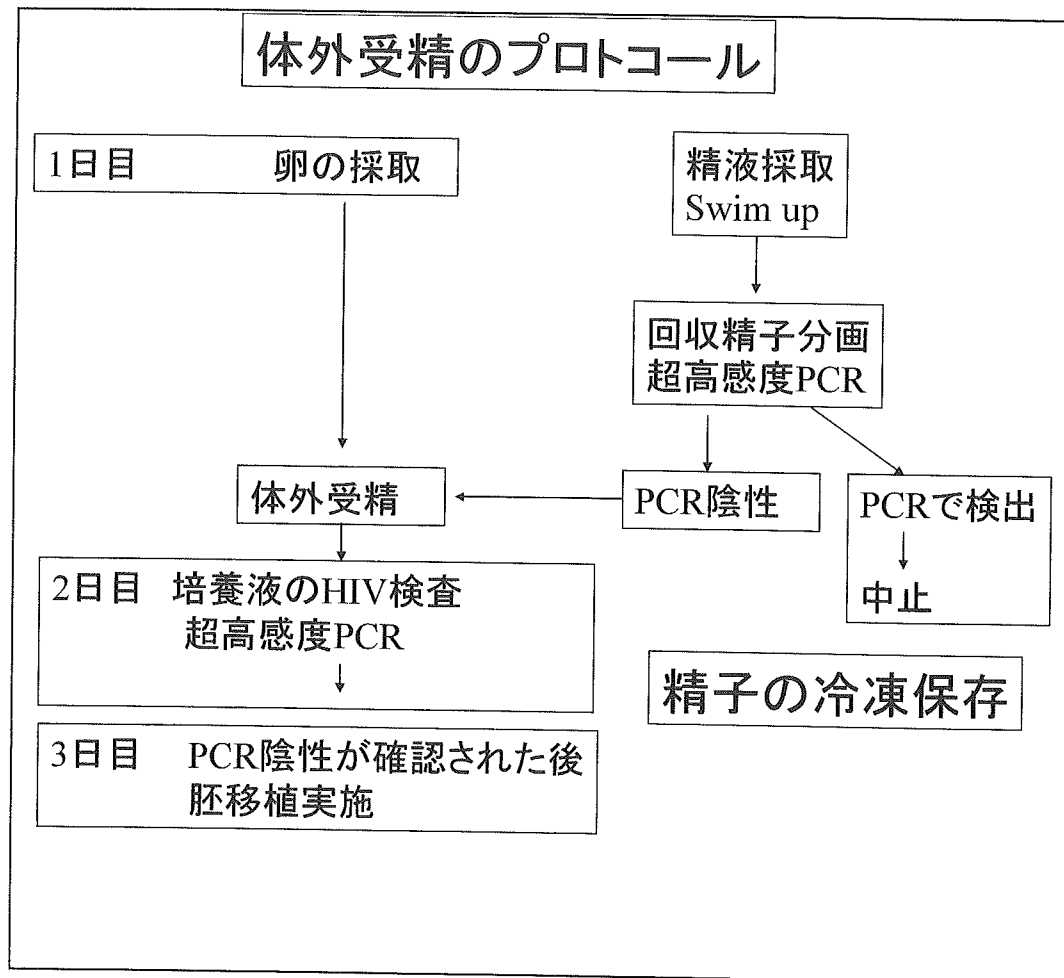
するとともに、妊娠の確認を行う。妊娠が成立した場合でも、成立しない場合でも、移植された妻について、3か月にわたり、血液中のHIV RNA検査およびHIV抗体検査を実施し、二次感染の有無を判断する。

また、妊娠が成立した場合、妊娠12～14週に、胎児の感染を確認する目的で、羊水穿刺の実施が可能であることについて説明し、施行するか否かの意思の確認を行う。施行について希望があれば、これを実施し、希望がない場合には実施せず経過を観察することとする。

妊娠中の管理については、通常の妊婦健康審査が実施される。

以上が本臨床応用の実施にあたってのプロトコールであり、これに基づいて実施された。

図 1 体外受精・胚移植のプロトコール



(4)「HIV 感染男性、非感染女性夫婦に対する体外受精-胚移植の臨床応用」の結果

研究班発足後、現在までに 100 名の HIV 感染者が相談に訪れた。血友病 HIV 感染者が 50 名で年齢の中央値は 32 歳(25～44 歳)であった。性感染者が 50 名で年齢の中央値は 36 歳(23～51 歳)であった。受診者は 9 人が外国人で、我が国では北海道から沖縄まで分布した。

年度別受診者数は、2000 年 13 名(血友病 11 名、性感染 2 名)、2001 年 8 名

(血友病 5 名、性感染 3 名)、2002 年 15 名(血友病 6 名、性感染 9 名)、2003 年 23 名(血友病 13 名、性感染 10 名)、2004 年 17 名(血友病 8 名、性感染 9 名)、2005 年 24 名(血友病 7 名、性感染 17 名)であった。

HIV 感染男性、非感染女性夫婦に対する IVF-ET の実施については、これまで 50 症例に実施し、35 例で妊娠が成立、22 例が分娩し、33 人の児が誕生した。母児ともに二次感染は認めていない。以下の検査結果は中央値(分布)で示す。血友病患者群では CD4 数 439(60

〜957)、VL 70(<50~51000)で、性感染者群では CD4 数 441(41~1070)、VL <50(<50~100000)であった。

HAART 施行率は血友病患者群で 63%、性感染者群で 76%であった。

HIV subtype の検討では B が 31 名、AE が 1 名、AG が 1 名であった。精液検査において、血友病 HIV 感染者では精子数 5350 万(0-26300x10⁴)/ml, 運動率 37%(6~70%)、正常形態率 13%(3~76%)、性感染者では精子数 3750 万(0-20400x10⁴)/ml, 運動率 33%(0.2~71%)、正常形態率 14%(2~43%)であった。改良 Swim up 法により回収された精子は 320(0~2000)万/ml であり、このうちの半量を用いた検査で HIV RNA,

DNA 共に 1 copy も検出されないことが確認された。また、残り半量は冷凍保存して、採卵日に再度解凍して受精させた。

体外受精を施行した女性は妊娠の有無に拘わらず後日 HIV 検査を施行し、全員 HIV 陰性であることを確認した。また、出生児も全員 HIV 陰性であることを確認した。出生児の中に 1 名心室中核欠損を認めたが自然閉鎖した。出生児においては他に大きな合併症は認めていない。

各施設における実施状況を表 2 に示した。

表2 各施設における実施状況

各施設での実施状況						
大学	紹介数	方法	胚移植	妊娠	出産	baby
新潟	22組	IVF	8名	7名	7名	10名
		ICSI	10名	6名	3名	5名
杏林	6組	ICSI	5名	4名	3名	5名
慶應	36組	IVF	0			
		ICSI	27名	18名	9名	13名

C 考察

すでに報告してきたように、Percoll による連続密度勾配を作成して遠心分離することにより HIV の除去率をさらに高めて、精子の回収率を 10%以上にすることに成功した。さらに精子表面に付着した HIV などの物質も殆ど除去できることを超高感度 PCR 法(検出限界は 1copy/ml)で確認し、臨床実施を行っている。

通常行われているように Percoll 法で遠心分離後に HIV の濃度が濃い上層から吸引して最下層の精子分画を回収すると管壁を伝わって HIV が混入する可能性が高いので、研究協力者の兼子らが開発した特殊な試験管を用いて、上層成分の混入の危険性が全くない方法を導入し、応用している。また、Swim up 法実施に当たっては、培養液の下層に capillary tube を用いて慎重に精子浮遊液を挿入する技術を導入し、応用してい

る。

人工授精ではなく、体外受精・胚移植を選択している理由については、これまでも報告しているとおりである。受精卵あるいは胎児に CD4 が発現するのはリンパ組織が発達してくる受精後 10～20 週以後である。精子分画に僅かに HIV が混入していた場合、人工授精では妻に二次感染の危険性があるが、体外受精・胚移植では日毎に HIV の感染性が低下することに加えて 2 日目に培養液を交換するために危険性は極めて少なくなる。卵に CD4 や chemokine receptor が発現していないため体外受精では受精卵に感染の危険性はない。我が国では毎年 100 万人近い出産があるが、その内、体外受精での出産が 1 万人を越えている。

体外受精・胚移植の安全性は免疫学的にも疫学的にも明らかであるが、HIV 様粒子が卵細胞の中で発見されたとの

報告もあり、より安全を期するためには精度の高い swim up 法を用いた精子による体外受精を施行する方がよいと考える。ただし、女性に対する身体的負担を考慮した場合、体外受精・胚移植に比較し、人工授精の応用も必要と考えられ、今後より安全な人工授精が可能となるような取り組みを行っていく必要があるものと判断している。

なお、夫婦の個別の意思確認の必要性は極めて重要であり、荻窪病院に挙児希望の相談に訪れた感染者夫婦は多いが、中には子どもを持ちたい気持ちに夫婦で差が大きい場合もあった。妻の気持ちが強すぎる場合や、夫の気持ちが先行している場合など様々である。夫婦個別に面接して個別にカウンセリングを

行い、個々の意思確認を慎重に行う必要がある。

D 結論

Percoll 法および Swim up 法組み合わせた方法により調整された精子浮遊液を用い、高感度 PCR 法により HIV ウイルスがほぼ除去されていることを、2段階にわたって検索するという今回の方法を用いれば、HIV 感染した男性の夫婦でもほぼ 100%安全に（妻が二次感染することなく）妊娠、出産を行うことが可能であると判断し、これまでに引き続き、倫理委員会の承認を得た後に臨床実施を行っている。Swim up 法や Percoll 分離法には技術と熟練を要し、安全性の確保に努める必要がある。

平成15年度～17年度厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）

「若年婦人における HIV 感染状況および HIV 感染症と生殖医療との
関連性に関する研究」

HIV 感染者の人工授精・体外受精に関する基礎的・臨床的研究

（2）濃縮洗浄調整精子の保存温度と時間経過における精子状況に関する研究

主任研究者	田中憲一	新潟大学大学院医歯学総合研究科産婦人科教授
分担研究者	高桑好一	新潟大学大学院医歯学総合研究科産婦人科助教授
研究協力者	加嶋克則	新潟大学医歯学総合病院産婦人科助手
	鈴木美奈	新潟大学医歯学総合病院産婦人科助手
	竹山 智	新潟大学医歯学総合病院産婦人科
	藤田和之	新潟大学大学院医歯学総合研究科産婦人科講師

研究の背景：

HIV感染男性，非感染女性夫婦間の妊娠については，Percoll法およびSwim up法により夫精子を調整し，この精子浮遊液について，超高感度PCRを用いて，HIVウイルスがほぼ完全に除去されていることを確認した後行う体外受精・胚移植により，女性の二次感染をほぼ0にすることが可能であり，臨床応用を行っている。

一方，体外受精・胚移植の実施は女性に対する身体的負担が大きく，より簡便な人工授精(AIH)の実施が望まれる。その際に二次感染の可能性を極力回避するため，洗浄精子について，時間をおいて，複数回のHIVの検査を行うことが望ましい。その場合，洗浄精子を孵置することによる精子の運動率，良好精子獲得率が問題となるため，時間経過，保存温度等による影響を検討した。

対象および方法：

新潟大学医歯学総合病院産婦人科不妊外来通院中の患者のうち，夫婦間人工授精(AIH)または，体外受精・胚移植による治療を実施している夫婦で，文書による同意の得られた4症例を対象とした。

射精後，精子をPercoll法により洗浄調整し，実際のAIHまたは体外受精・胚移植で使用した余剰精子について

A群：37℃にて孵置

B群：室温（26℃）にて孵置

C群：4℃にて孵置

し，3，7，10時間後の精子の運動率，良好精子獲得率を測定した(n=9)。また，4℃にて孵置のち，37℃に孵置した場合も検討した。

結果

パーコール法により洗浄調整した精子について，37℃にて孵置したところ，調整直後の運動率は平均92.1±13%であった。これに対し3時間後，

7 時間後、10 時間後の運動率はそれぞれ $78.9 \pm 15.5\%$, $68.5 \pm 21.9\%$, $65.5 \pm 33.4\%$ であり、調整直後に比較し 7 時間後、10 時間後に有意の低下が認められた (図 1)。常温での孵置については、調整直後の運動率 $92.1 \pm 13\%$ に対し、3 時間後、7 時間後、10 時間後の運動率はそれぞれ $71.5 \pm 14.4\%$, $67.3 \pm 11.8\%$, $69.5 \pm 16.3\%$ であり、調整直後に比較し 3 時間後、7 時間後に有意の低下が認められた (図 2)。

4℃に孵置した場合には、調整直後の運動率 $92.1 \pm 13\%$ に対し、3 時間後、7 時間後、10 時間後の運動率はそれぞれ $72.8 \pm 15.9\%$, $53.7 \pm 16.3\%$, $39.8 \pm 7.9\%$ であり、調整直後に比較し 3 時間後、7 時間後、10 時間後のいずれも有意の低下が認められた (図 3)。

一方、4℃に孵置した後、7 時間後から 37℃に孵置した場合には運動率が回復する傾向が認められた (図 4)。

考察

現在、本研究班において、HIV 感染男性・非感染女性夫婦の妊娠補助に関して、人工授精ではなく、体外受精・胚移植を選択した理由については、別に述べているとおりである。すなわち、受精卵あるいは胎児に CD4 が発現するのはリンパ組織が発達してくる受精後 10～20 週以後である。精子分画に僅かに HIV が混入していた場合、人工授精では妻に二次感染の危険性があるが、体外受精では日毎に HIV の感染性が低下することに加えて 2 日目に培養液を交換するために危険性は極めて少なくなる。卵に CD4 や chemokine receptor が発現していないため体外受精では受精卵に感染の危険性はない。我が国では毎年 100 万人近い出産があるが、その内、体外受精での出産が 1 万人を越えており、体外受精・胚移植の安全性もほぼ確立されている。

しかしながら、体外受精・胚移植は多数の卵子を採取する必要があることから、強力な卵巣刺激が必要であり、それに伴う合併症も生ずることがある。また、採卵に伴う麻酔のリスク、感染のリスクなどもあり、また、経済的負担も考慮しなければならない。これに対し、人工授精は身体的、経済的負担は体外受精・胚移植に比べはるかに少ない。ただし、上述のように安全性の担保に難点があることは事実である。

そこで、安全性を担保する一方法として、調整した精子浮遊液の検査 (超高度 PCR による HIV ウイルスの検索) を複数回行うことにより、陰性を確認することが有用と考えられる。その場合精子浮遊液を孵置することによる精子運動能の低下などが危惧されるため、今回の検討を行った。昨年度も同様の検討を行ったが、今回は症例数を増やし、常温での検討を加えた。また、時間を 10 時間まで延長して検討した。

今回の結果は以下のようにまとめることができる。

(1) 4℃、常温での孵置は調整後 3 時間で既に有意な精子運動率低下を認めた。

(2) 37℃の環境では調整後 5 時間までは有意な精子運動率低下は認められなかった。

(3) 4℃下の孵置で運動性が不良となった精子でも、再び保温することで運動能の回復が認められた。

今回の研究により、Percoll 法により洗浄調整した精子について、37℃にて孵置することは、精子の運動率に影響を与えず、また、4℃から 37℃に保存温度を変えることで、HIV の検査を複数回実施することにより、AIH が実施可能であることが示唆された。

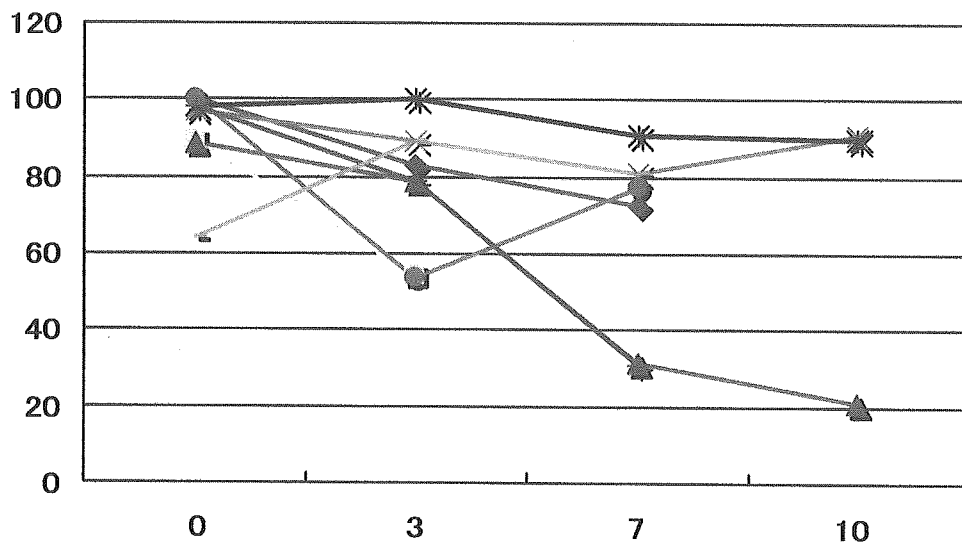


図1 37℃における精子運動率の経時的変化

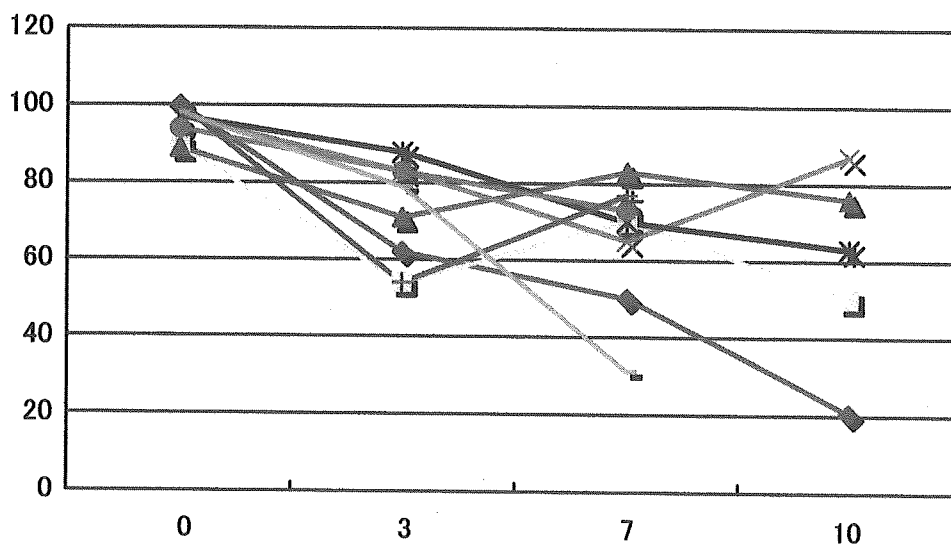
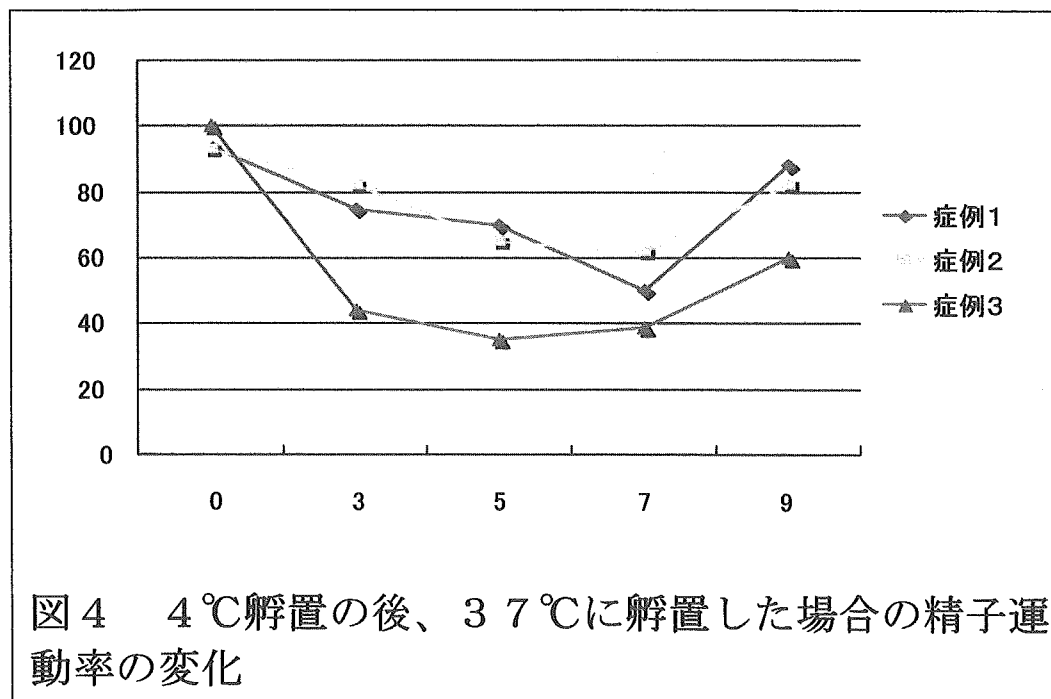
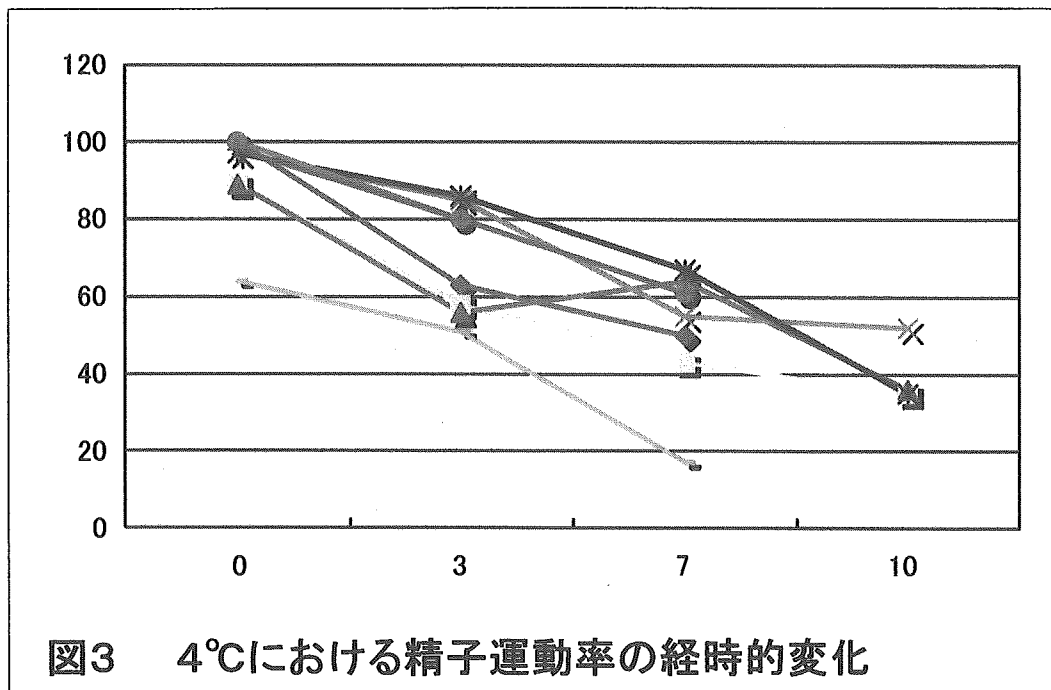


図2 常温における精子運動率の経時的変化



平成 15 年度～平成 17 年度厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）

「若年婦人における HIV 感染状況および HIV 感染と生殖医療との関連性に関する研究」

HIV 感染男性非感染女性夫婦に対する体外受精-胚移植に関する基礎的・臨床的研究

(3) HIV 感染男性非感染女性夫婦に対する体外受精-胚移植に関する基礎的研究

主任研究者名：	田中 憲一	新潟大学大学院医歯学総合研究科 産婦人科教授
分担研究者名：	花房 秀次	荻窪病院血液科部長
研究協力者：	加藤 真吾	慶應義塾大学微生物学教室・ 免疫学教室助手
	兼子 智	東京歯科大学市川病院産婦人科講師

1. 研究目的

HIV 感染男性非感染女性夫婦に対する体外受精-胚移植(IVF-ET)に関する基礎的研究であり、HIV 感染者における精巣機能低下の原因を明らかにする。さらに、HIV 感染や免疫不全及び抗 HIV 剤の精子 DNA に及ぼす検討を行い、DNA 損傷のない精子回収を試みる。さらに、精液中の薬剤濃度を測定し、性交渉による 2 次感染防止対策を検討する。より簡便な人工授精実施に向けた研究を進める。

2. 研究方法

本研究は HIV に関する調査研究であり、倫理面への配慮が重要であることを強く認識している。実施にあたっては対象各個人から書面による同意書を得ることとした。

より簡便でウィルス除去効率がよく、DNA 損傷精子を除去する方法を開発するため、密度勾配遠心分離法においてヨード剤を用いた HIV 分離法を検討した。精子精製は Percoll 沈

降速度差遠心法、Nycodenz 沈降平衡法で分離し、最終に swim up 法により運動精子を分離した。Percoll 法で得られた沈澱分画を 15-60% Nycodenz 直線密度勾配に層積して沈降平衡を行った。つぎに Nycodenz 上層に回収された精子をさらに Swim up して得られた運動精子の性状を観察した。HIV 感染者に対する治療が精子にどのような影響を与えるかを検討するため、電子顕微鏡や特殊染色による検討を行った。

HIV 感染男性の精巣機能を評価するために、血中テストステロン、エストロゲン、下垂体ホルモンなどの測定を行った。

3. 研究結果

ヨード剤単独による調整ではウィルス除去率が悪く、Percoll 遠心分離後にヨード剤による遠心処理を行う方がよいと考えられた。Nycodenz 上層では、非運動精子が混在するにも拘わらず、DSB 陰性精子比率は 94%

に達した。最終的に swim up することにより、頭部形態、先体反応誘起能とも良好で運動性を有する DSB 陰性精子を調製することができた。

HIV 感染男性の血中ホルモンバランスを検討したところ、エストロゲン、エストロゲン/テストステロン比や LH 濃度が高いことが判明した。

HIV 感染者の精子について電子顕微鏡や特殊染色を用いて検討し、HIV/C 型肝炎の治療として IFN+ribavirin 治療を行うと精子の核酸代謝障害をもたらし、necrosis を高率に合併するだけでなく、ミトコンドリア障害を引き起こすことが判明した。

精液中の LPV 薬剤濃度を測定し、血中濃度と比較したところ約 30 分の 1 であった。

4. 考察

近年医療の進歩により先進国ではエイズ死亡者が激減し、HIV 感染男性、非感染女性夫婦で挙児希望を持つ夫婦が増加している。(1)の「HIV 感染男性非感染女性夫婦に対する体外受精-胚移植に関する臨床的研究」において報告したように、HIV 感染者の精液中から HIV を完全に除去した精子浮遊液を得て、これを用いた IVF-ET を実施し、妻が二次感染することなく児を出産した症例がさらに増加した。本研究により HIV 感染男性から完全に HIV RNA,DNA を除去した精子を回収することが可能であり、100%安全に挙児希望をかなえられる方法であることを確認した。しかし、一般に行われている Swim up 法はウィルス除去を目的としておらず、HIV 感染者に臨床実施する場合は HIV の完全除去を確認する必要がある。

HIV 感染男性では精子数が減少し、

精子奇形率が高く、運動率が低下しているなど著明な精巣機能の低下を認めた。この原因が HIV 感染によるのか、免疫不全に起因するのか、抗 HIV 剤の影響か不明である。精子への影響を懸念して抗 HIV 療法を回避している患者も認められた。今回の検討で HIV 感染者では原発性の精巣機能不全が生じていると考えられた。

血友病 HIV 感染者においては C 型肝炎の合併が多く、死因の 1 位を占める重要な問題であるが、PEG IFN+ribavirin 併用療法を行うと精子が極めて高率に奇形を生じ、壊死を起こすことを確認した。IFN 治療を過去に受けた群では明らかに無精子症が多く、HIV 感染者においては IFN による精巣機能障害が疑われた。さらに、精子の回復には IFN 治療終了後 1 年以上を要する場合も多かった。HIV/HCV 感染者において挙児を希望する場合は PEG IFN+ribavirin 併用療法を行う前に体外受精を相談するか、精子の冷凍保存も検討すべきである。

この治療が広まることは、HIV 感染者の QOL を向上させるだけでなく、治療費の抑制、社会の労働力増加など多大な利益につながる。現在までのところ、治療を受けた妻および出生した児に二次感染は認められていないが、さらに安全性を担保することは極めて重大な問題である。

また、今回の基礎的研究により、HIV を除去しつつより効率的に正常精子を回収しうるということが可能となりつつある。これにより、人工授精の応用が期待できる。

5. 自己評価

1) 達成度

第 1 の研究については当初の目的をほぼ達成しているものと判断して

いる。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

精子に HIV が感染するか否か、精子表面に HIV が付着するか否か、HAART 後も精巣に HIV が残存するか否かは長年論争されてきたが、我々の検討により HIV を完全に除去した精子が得られることを証明したことから結論が出たと考えられる。HIV は HIV 感染男性、非感染女性夫婦に対する 体外受精-胚移植の応用については、社会的にも強い要請があるものと判断している。現在、米国 CDC は 100%安全な方法でない限り HIV 感染者夫婦は挙児希望を断念するように医療従事者に勧告しているが、本研究成果の発表により方針が変更されることを期待している。本研究成果はマスコミやインターネットにより世界中に配信されており、米国をはじめとする海外から早期の研究発表を要望されている。さらに、インド、台湾、中国、タイなど海外からの参加希望の問い合わせも多い。

3) 今後の展望について

HIV 感染男性、非感染女性夫婦に対する 体外受精-胚移植の応用については、治療を継続し、その有効性、安全性を確認するとともに、基礎的

研究をもとにした人工授精の応用も考慮していく予定である。今後の課題として、精液処理により完全に HIV を除去した精子を冷凍保存し、感染者夫婦の地元の協力施設に搬送することができれば、患者負担を少なくできる。そのための医療施設ネットワーク形成が求められる。

精液中の薬剤濃度を高めることができれば性交渉による 2 次感染を減少させ、感染者の増加抑制に有効と思われる。

また、現在 HIV 感染者では薬剤の副作用に伴うリポジストロフィーが大変深刻となっているがホルモン検査の検討は対処法の検討に有効である。さらに、HIV を完全に除去した精子が得られることから HIV は精巣に感染していないと思われる。精巣に HIV が潜んでいないことが証明できれば体内から HIV を完全除去する検討において有用である。

6. 結論

HIV 感染は確実に増加しており、本研究グループでなされている各研究の継続は意義あるものと判断される。

7. 知的所有権の出願・取得状況

現在のところ予定なし。

平成 15 年度～平成 17 年度厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）

「若年婦人における HIV 感染状況および HIV 感染症と生殖医療との関連性に関する研究」

HIV 陽性婦人における STD および若年婦人における HIV 感染実態に関する研究（平成 15 年度のみ実施）

主任研究者	田中憲一	新潟大学大学院医歯学総合研究科（産婦人科）教授
分担研究者	高桑好一	新潟大学大学院医歯学総合研究科（産婦人科）助教授
研究協力者	田村正毅	新潟大学大学院医歯学総合研究科産婦人科
	藤田和之	新潟大学医歯学総合病院産婦人科
	加嶋克則	新潟大学医歯学総合病院産婦人科
	伴千秋	国立大阪病院産婦人科
	宇田川秀雄	旭中央病院産婦人科
	井上孝実	国立名古屋病院産婦人科
	谷口晴記	三重県立医療センター産婦人科

1) HIV 陽性婦人の STD 罹患状況に A. 研究目的

本邦における HIV の感染者および AIDS の患者数は増加傾向にあることが指摘されており、平成 22 年度には、患者数が 5 万人に達すると推計されている。このような HIV も含めた性感染症(STD)の増加は重大な問題であり、その対策は緊急の課題である。

STD 感染と HIV 感染は悪循環を作り感染伝播することが知られている。すなわち、STD 感染がある場合局所の粘膜組織の障害が生じ、HIV 感染が生じやすくなる。一方、HIV 感染がある場合免疫能の低下が認められ、STD 感染の可能性も高くなる。そこで、HIV 感染婦人における STD 感染の状況を明らかにするために、全国のエイズ拠点病院に対するアンケート調査を行った。平成 14 年度の研究においては、アンケート調査による後方視的検討を行った。今回の研究

に関する検討

では、これらに加え、さらにアンケート調査を実施するとともに、協力施設において HIV 陽性婦人に関して、十分な説明のもと同意を得て、子宮頸管クラミジア DNA、淋菌 DNA、ヒトパピローマウイルス(HPV)、子宮頸部スメアテストの検査を実施した。

B. 研究方法

最初に全国のエイズ拠点病院産婦人科施設に対して調査を行った。調査項目は、(1) HIV 陽性婦人の診察を行ったことがあるか否か、(2) HIV 陽性婦人で各種 STD（クラミジア、淋菌、HPV）および子宮頸部スメアテストを実施したことがあるか、(3) HIV 陽性婦人について前方視的に STD の検討を行う場合協力してもらえるか否か、である。(2)で該当症例が存在する場合にはその概要を報告してもらった（表 1、表 2）

表 1

HIV 感染女性の STD 感染に関するアンケート

貴施設名

担当者ご所属

担当者ご氏名

質問 1.貴施設で HIV 合併婦人の診察を行ったことがありますか。

(括弧内に○をつけて下さい。)

() 有り () 無し

有りの場合以下の質問にお答え下さい。

質問 2. HIV 合併婦人で STD (クラミジア, 淋菌, HPV, その他のいずれか) の検査を行ったことがありますか。

() 有り (約 名) () 無し

質問 3. HIV 合併婦人のクラミジア、淋菌、HPV の感染調査を予定していますが、これらの感染症の検査にご協力いただけますか。

() 可 () 不可

質問 2.で HIV 感染婦人の STD の検査を行ったことがある施設に対しましては、あらためて質問表を送付させていただきたいと存じますので、よろしくお願いいたします。