

表4 抗ウイルス薬による血中ウイルス量の変化別症例数 (%) (文献2より引用)

薬剤数	1/100以下へ減少	1/10以下へ減少	やや減少	感度未滿維持	増加	総計
単剤	0 (0.0)	5 (16.1)	16 (51.6)	4 (12.9)	5 (19.4)	31 (100.0)
2剤	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)
3剤以上	46 (41.4)	33 (29.7)	9 (8.1)	21 (18.9)	2 (1.8)	111 (100.0)
レジメン変更	7 (38.9)	3 (16.7)	1 (5.6)	6 (33.3)	1 (5.6)	18 (100.0)
合計	53 (32.9)	41 (25.5)	27 (16.8)	31 (19.3)	9 (5.6)	161 (100.0)

うに3剤以上の抗ウイルス剤を用いる HAART により、母体血中ウイルス量は71%の例で10分の1あるいは10分の1へ良好にコントロールされることがわかっている。ZDV 単剤ではその効果は16%のみで、19%の例ではウイルス量が増加し、垂直感染のリスクも増加すると考えられる。選択的帝王切開例の81%では抗ウイルス薬が投与されており、一方経膈分娩例では12%の例でしか投与されていなかった。HIV スクリーニング検査を行っていない感染妊婦では抗ウイルス療法が行われないうまま経膈分娩に至る場合が多く、垂直感染のリスクはさらに増加する。

以上の情報から、HIV 垂直感染率は産婦人科全国調査のみの報告例から推定するほうが信頼度は高いと考えられる。表5に示したように、児の AIDS 発症を契機に HIV 感染妊娠が判明した症例を除き小児科調査に含まれるバイアスを除去すると、垂直感染率は選択的帝王切開では0.46%、緊急帝王切開では5.88%、経膈分娩では21.43%となった。0.46%という低い垂直感染率は、選択的帝王切開および抗ウイルス薬投与という2つの垂直感染予防対策の成果であると考えられる。

2. HIV 垂直感染に関する欧米の報告

1994年に米国主導の臨床試験による成績が報告され、PACTG076プロトコールという HIV 垂直感染予防対策が提唱された⁹⁾。HIV 感染妊婦に ZDV を ①妊娠中は100mg/日を経口投与し、②分娩時は2mg/kg/h 静注に次いで、1mg/kg/h 持続点滴静注し、③さらに新生児に ZDV シロップを2mg/kg で6時間毎生後6週間投与する方法である。この予防法により垂直感染率は

表5 産婦人科全国調査による分娩様式別母子感染率 (文献2より引用)

分娩様式	非感染	感染	感染率
選択的帝王切開	218	1	0.46%
緊急帝王切開	16	1	5.88%
経膈	22	6 [*] (14)	21.43%
合計	256	8 [*] (16)	3.03%

*児の異常による受診を契機に母親の HIV 感染と垂直感染が判明した8例を除く。

25.5%から8.3%と約1/3に低下した。産科的適応がなければ帝王切開術は行わず、経膈分娩である。1999年には欧米のメタアナリシスの結果が報告された⁹⁾。垂直感染は、予防対策を何ら講じない場合の19.0%と比べて、選択的帝王切開術のみ10.4%、抗ウイルス薬の投与のみ7.3%、その両者の併用2.0%の順に低下するということが明らかになったわけである。その後 ZDV 単剤療法よりさらに強力な HAART 療法により、母体血中ウイルス量を著明に減少させることが可能になった。この結果欧米においては、HAART 療法を中心とする抗ウイルス薬の投与、選択的帝王切開術および人工乳保育が標準となった。

2000年代になり HAART により母体血中 HIV ウイルス量が良好にコントロールされている場合には経膈分娩による垂直感染率は、メタアナリシスで報告された7.3%よりさらに低いという報告が散見されるようになった。Cochrane Database 2005では、抗ウイルス療法が行われていないか、ZDV 単剤療法のための妊婦に限っては選択的帝王切開が垂直感染予防に有効であったが、HAART などにより血中ウイルス量が低い妊婦

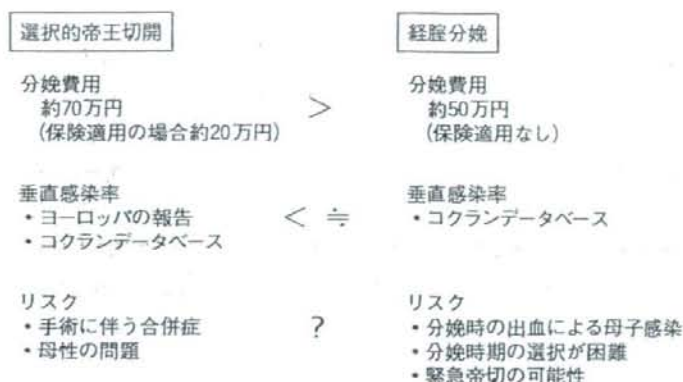


図3 各分娩法のメリット・デメリット

ではその有用性は不明で、選択的帝王切開の有効性を検証するには、血中ウィルス量が感度以下のHIV感染妊婦を対象とした大規模な臨床試験が必要と結論されている¹⁰⁾。

ヨーロッパにおける大規模前方視的コホート研究では、母子感染リスクファクターは妊婦の高ウィルス量 ($p=0.003$) と選択的帝王切開 ($p=0.04$) で、HAARTによって血中ウィルス量が測定感度以下となった560例においても、選択的帝王切開は経膈分娩や緊急帝王切開と比べて垂直感染リスクを90%低下させたことから、全HIV感染妊婦に対して選択的帝王切開を推奨している¹¹⁾。

図3に選択的帝王切開と経膈分娩のメリット・デメリットを比較した。分娩費用は経膈分娩で安価であるが、垂直感染率はいまだ確定されていないものの経膈分娩のほうが低率になることは考えにくい。分娩におけるリスクは妊婦個々により異なり、各国の医療レベルによっても異なるため、優越つけがたいであろう。

以上の報告から、現時点ではHAARTを行っていない妊婦においては選択的帝王切開が推奨されるが、HAARTにより血中ウィルス量が良好にコントロールされている妊婦の場合は、選択的帝王切開による合併症のリスクと経膈分娩による垂直感染のリスクを十分に説明し、さらに妊婦の経済事情も考慮したうえで、分娩法を妊婦とその家族にイ

ンフォームドチョイスしてもらうことが適切であろうと考えられる。

わが国における HIV 垂直感染 予防対策

厚生省研究班から平成20(2008)年9月に「HIV母子感染予防対策マニュアル第5版」が刊行されている。エイズ予防情報ネットのホームページ：<http://api-net.jfap.or.jp/> で閲覧可能であるので是非参考にされたい。以下の6項目は、わが国におけるレトロスペクティブな検討からは、ほぼ適切なHIV垂直感染予防対策と考えられる。

1. 妊娠早期の HIV スクリーニング検査による感染の診断
2. HAARTによる抗ウィルス療法
3. 児への人工栄養
4. 陣痛発来前の選択的帝王切開術による分娩
5. 帝王切開時の ZDV 点滴投与
6. 出生児への ZDV シロップの予防投与

しかし上記1~3については、本稿で述べてきた内容から不可欠な対策として確立されたものと考えられるが、4の選択的帝王切開については、図3に示すような決定手順を踏む必要がある。しかし5~6の帝王切開時のZDV点滴や児へのZDV予防投与の効果についてエビデンスは得られておらず、その必要性については疑問が残る。

■ ■ ■ おわりに

近年わが国においては、クラミジア感染症をはじめとする性感染症の増加が、10歳代から20歳代において問題となっている。同様に若年層における HIV 感染者の増加から HIV 感染妊婦の増加も予想される。少子化の進むわが国においては毎

年30~50例程度の HIV 感染妊娠といえども、垂直感染を完全に回避することの臨床的・倫理的・経済的重要性は高い。しかし HIV 垂直感染予防対策を確立し普及させることも重要であるが、HIV 感染症を含む性感染症の蔓延を防止することのほうが先決であろう。中高生をはじめとする思春期における教育においては、性感染症も受験必須科目と同様に重視してほしいものである。

文 献

- 1) API-Net エイズ予防情報ネット <http://api-net.jfap.or.jp>. 2008年8月31日アクセス.
- 2) 平成19年度厚生労働科学研究費補助金 (エイズ対策研究事業)「周産期・小児・生殖医療における HIV 感染対策に関する集学的研究」班 (主任研究者:和田裕一) 編, 分担研究「HIV 母子妊婦の実態調査とその解析および HIV 感染妊婦とその出生児に関するデータベースの構築」班 (分担研究者:喜多恒和) 研究報告書, 2008年3月.
- 3) Arias RA, Munoz LD, Munoz-Fernandez MA: Transmission of HIV-1 infection between trophoblast placental cells and T-cells take place via an LFA-1-mediated cell to cell contact. *Virology* 307: 266-277, 2003.
- 4) Gaillard P, Verhofstede C, Mwanyumba F et al: Exposure to HIV-1 during delivery and mother-to-child transmission. *AIDS* 14: 2341-2348, 2000.
- 5) Rousseau CM, Nduati RW, Richardson BA et al: Longitudinal analysis of human immunodeficiency virus type 1 RNA in breast milk and of its relationship to infant infection and maternal disease. *J Infect Dis* 187: 741-747, 2003.
- 6) Nduati N, Richardson BA, John G et al: Effect of breastfeeding on mortality among HIV-1 infected women: a randomized trial. *Lancet* 357: 1651-1655, 2001.
- 7) European Collaborative Study Group: Risk factors for mother-to-child transmission of HIV-1. *Lancet* 339: 1007-1012, 1992.
- 8) Connor EM, Sperling RS, Gelber R et al: Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. Pediatric AIDS Clinical Trial Group Protocol 076 Study Group. *N Engl J Med* 331: 1173-1180, 1994.
- 9) The International Perinatal HIV Group: The mode of delivery and the risk of vertical transmission of human immunodeficiency virus type 1. *N Engl J Med* 340: 977-987, 1999.
- 10) Read JS, Newell MK: Efficacy and safety of cesarean delivery for prevention of mother-to-child transmission of HIV-1. *Cochrane Database Syst Rev* Oct 19(4): CD005479, 2005.
- 11) European Collaborative Study: Mother-to-child transmission of HIV infection in the era of highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 40: 458-465, 2005.

Mucosal Administration of Completely Non-Replicative Vaccinia Virus Recombinant Dairen I strain Elicits Effective Mucosal and Systemic Immunity

N. Yoshino*,†, M. Kanekiyot, Y. Hagiwarat, T. Okamura†, K. Someyaf, K. Matsuo†, Y. Amis, S. Sato*, N. Yamamoto† & M. Honda†

*Department of Microbiology, School of Medicine, Iwate Medical University, Iwate; †AIDS Research Center, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo; ‡Research Center for Biologicals, The Kitasato Institute, Saitama; and §Division of Experimental Animals Research, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan

Received 27 March 2008; Accepted in revised form 15 July 2008

Correspondence to: N. Yoshino, Department of Microbiology, School of Medicine, Iwate Medical University, 19-1 Uchimarui, Morioka, Iwate 020-8505, Japan. E-mail: nyoshino@iwate-med.ac.jp

Abstract

We studied the immunogenicity of completely replication-deficient vaccinia virus Dairen I strain recombinant encoding simian immunodeficiency virus (SIV) *gag/pol* (rDIs) in both mucosal and systemic compartments. When administered either intranasally or intragastrically, rDIs elicited enhanced levels of both SIV Gag p27-specific IgA antibodies and specific plasma antibodies, and the enhanced immunity persisted for the 1-year of observation by intranasal immunization. Increases were observed in antigen-specific IgA antibody-forming cells (AFC) in intestinal mucosal tissues and in IgG AFC in spleens. Furthermore, induction of type 1 and 2 helper cytokines in CD4⁺ spleen T cells and of CD8⁺ IFN- γ spot-forming cells in mucosal tissues was observed in the intranasally immunized mice. Moreover, not even high-dose rDIs generated an SIV gene signal in the brain tissues of immunized mice. These findings suggest that mucosal immunization with the DIs recombinant hold promise as a safe mucosal vector.

Introduction

Human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1), like most infectious agents, gains entry into the host via the mucosal surfaces. Immunoprophylaxis by the mucosal route is an important approach to control mucosally transmitted infections. Moreover, because most generic immunization procedures for vaccinia virus require needles, mucosal vaccines pose the risk of cross-contamination due to needle reuse. But mucosal immunization would eliminate such a risk.

A number of groups have demonstrated the efficacy of poxvirus as a mucosal vaccine vector. Recombinant modified vaccinia virus Ankara (rMVA) expressing HIV-1 89.6 gp160 induced both mucosal and systemic cytotoxic T-lymphocyte responses in intrarectally immunized mice [1]. The MVA vector was tested in multiple prime-boost vaccine protection studies in macaques [2, 3]. In another study, NYVAC/SIV_{gpc}, the highly attenuated poxvirus vector NYVAC, encoding the SIV_{mak6w} *gag*, *pol*, and *env*,

was administered via various routes and its immunogenicity against simian immunodeficiency virus (SIV) Gag peptide was assessed. This NYVAC study found that mucosal immunization routes were effective in inducing mucosal immune responses [4]. Obtaining the appropriate balance between safety and immunogenicity is a critical issue for the development of any vaccine. Some of vector systems, such as those based on replication-deficient poxviruses, are readily established and have undergone clinical testing in humans, mainly for safety and, to some extent, for immunogenicity [5–7].

In this study, we selected the completely replication-deficient vaccinia virus, Dairen I strain (DIs) for the vaccinia vector. A highly attenuated mutant of vaccinia virus obtained by successive 1-day egg passages of the DIE virus [8–10], DIs replicates only in chick embryo fibroblast cells and is not pathogenic to mice, guinea pigs or rabbits [8]. Although completely non-virulent, the recombinant virus efficiently produces foreign gene products [11, 12]. When systemically administered,

recombinants of DIs have induced specific immunities in mice and non-human primates [11–14]. Furthermore, the efficacy of prime-boost regimen that primed with recombinant *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin expressing SIV gag or DNA encoding SIV gag and pol genes and boosted by DIs recombinants have been shown in macaques [13, 14].

Although parenterally administered vaccines induce protective immune responses, they are less able to induce the mucosal immune responses needed to prevent infection at the site of initial contact between the host and the infectious agent [15]. However, no study has as yet been performed to determine the potential of recombinant DIs (rDIs) as a mucosal vaccine vector in experimental animals. In this study, we assessed the capability of rDIs to induce mucosal and systemic immunity in animals.

Materials and methods

Recombinant vaccinia virus vectors. We propagated rDIs-SIVgag/pol as a candidate vaccine expressing full-length SIV gag and rDIs expressing LacZ (rDIsLacZ) as a control vector in chick embryo fibroblast cells and prepared them as previously described [11, 12]. Dr Bernard Moss (Laboratory of Viral Diseases, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) generously supplied the recombinant modified vaccinia virus Ankara (rMVA) expressing SIV gag (rMVA-SIVgag/pol) and non-recombinant MVA 74LVD6 as the parent strain of rMVA-SIVgag/pol. These vaccinia virus vectors were stored at -80°C until used.

Mice. Five-week-old C57BL/6 mice (H-2^b) were purchased from Charles River Japan, Inc. (Yokohama, Japan). Mice were acclimated to the experimental animal facility for 1 week before being used in experiments and were maintained in the facility under pathogen-free conditions. All experimental procedures were conducted following the guidelines established by the National Institute of Infectious Diseases, Japan. The study was conducted in a biosafety-level 2 facility with the approval of an institutional committee for biosafety and in accordance with the requirements of the World Health Organization.

Immunization of mice. Several groups of mice were immunized with rDIsSIVgag/pol by intranasal, intragastric or intradermal routes. Similar results were obtained when experiments were conducted for a second or third time. For intranasal immunization, the mice were lightly anesthetized with ketamine before being immunized with a 5- μl aliquot (2.5 μl /nostril) of PBS containing several concentrations of rDIsSIVgag/pol, rDIsLacZ, rMVA-SIVgag/pol or MVA 74LVD6. For intragastric immunization, mice were deprived of food for 12 h before immunization and neutralized stomach acidity

[16]. The mice were immunized with a 250- μl aliquot of PBS containing several concentrations of rDIsSIVgag/pol by intragastric gavage. For intradermal immunization, the mice were lightly anesthetized with ketamine and immunized with a 50- μl aliquot of PBS containing several concentrations of rDIsSIVgag/pol in the inguinal region.

Sampling of plasma and fecal pellets. Blood and fecal pellets were collected 1 week after the last immunization, and then at 2 to 8-week intervals for 49 weeks. The collection and preparation methods have been previously described [17]. Samples of plasma and fecal extract were stored at -80°C until needed.

Detection of p27-specific antibody production by enzyme-linked immunosorbent assay. Simian immunodeficiency virus Gag p27-specific antibody (Ab) titres in plasma and fecal extracts were determined by an endpoint enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The assay was conducted in 96-well plates (Nalge Nunc International, Rochester, NY, USA), that had been coated with 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of SIV Gag p27 (recombinant Gag p27 SIV_{mac251}; ImmunoDiagnostics, Inc., Woburn, MA, USA) in PBS. Twofold serial dilutions of samples were added after blocking with 1% BSA-PBS. Horseradish peroxidase-conjugated goat anti-mouse IgG (H + L), IgM, or IgA Ab (Southern Biotechnology Associates, Inc., Birmingham, AL, USA) were used to detect the p27-specific Ab, which were then developed at room temperature with TMB+ substrate-chromogen (DAKO, Carpinteria, CA, USA). Endpoint titres were expressed as the last dilution that gave an optical density at 450 nm (OD_{450}) of ≥ 0.1 OD units above the OD_{450} of negative controls after 15-minute incubation. Incubations were terminated by addition of 0.5 M H_2SO_4 .

Preparation of single-cell suspensions. Single-cell suspensions were obtained from spleen, submandibular lymph nodes (SMLN), mesenteric lymph nodes (MLN), Peyer's patches (PP), small intestinal lamina propria (i-LP), small intestinal intraepithelial lymphocytes (IEL), nasal lamina propria (n-LP), and nasopharynx-associated lymphoid tissue (NALT), and then prepared according to the protocols described elsewhere [17]. The cells were washed and resuspended in RPMI 1640 supplemented with 10% heat-inactivated fetal calf serum, antibiotics and 55 μM 2-mercaptoethanol (Sigma-Aldrich Co., St Louis, MO, USA) (complete medium).

Detection of p27-specific Ab-forming cells by enzyme-linked immuno spot assay. Simian immunodeficiency virus p27-specific IgG, IgM and IgA Ab-forming cells (AFC) in the mucosal and systemic tissues of mice were determined by enzyme-linked immuno spot (ELISPOT) assay which was conducted in 96-well filter plates (Millititer HA; Millipore Co., Bedford, MA, USA). Plates were coated with 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of SIV p27 in PBS. After blocking with complete medium, single-cell suspensions of mononuclear

cells from the spleen, MLN, PP, i-LP, n-LP and NALT were added at various concentrations into each well and incubated for 4 hours at 37 °C in 5% CO₂. SIV p27-specific AFC were detected by alkaline phosphatase-conjugated goat anti-mouse IgG (H + L), IgM or IgA Ab and developed with Nitro blue tetrazolium chloride/5-Bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate, toluidine salt (Roche Diagnostics GmbH, Penzberg, Germany). After being washed with water, the palates were dried and p27-specific AFC were quantitated with the aid of stereomicroscope.

Analysis of the cytokine production of SIV Gag peptide-specific CD4⁺ T cells. CD4⁺ T cells were isolated from spleen by auto MACS (Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch Gladbach, Germany). The purified T-cell fractions were > 97% CD4⁺ and were > 99% viable. Cells were resuspended in complete medium, and purified CD4⁺ T cells (4×10^6 cells/ml) were cultured with or without 50 µg/ml of overlapping Gag peptides [12] in the presence of T cell-depleted, mitomycin C-treated splenic antigen-presenting cells (APC) at 37 °C in 5% CO₂. Culture supernatants were collected after 5 days, and IFN-γ, IL-4 and IL-10 were measured by ELISA kit (eBioscience, San Diego, CA, USA). The levels of Gag-specific cytokine production were calculated by subtracting the results of control cultures (e.g. without Gag peptide stimulation) from those of Gag peptide-stimulated cultures.

Analysis of IFN-γ production of SIV Gag peptide-specific CD8⁺ T cells. To prepare APC for this assay, CD11c⁺ dendritic cells were isolated from the spleens of naive mice by auto MACS and then resuspended into complete medium before being added into 96-well anti-mouse IFN-γ Ab-coated (R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA), sterilized nitrocellulose plates at the rate of 1×10^4 APC/well. The APC were then incubated with or without 50 µg/ml of overlapping Gag peptides for 24 hours at 37 °C in 5% CO₂. CD8⁺ T cells were isolated from spleen, SMLN, PP, and IEL by auto MACS. The enriched CD8⁺ cells were added to APC-cultured wells and incubated for 24 hours at 37 °C in 5% CO₂. IFN-γ spot-forming cells (SFC) were detected by ELISPOT kit (R&D Systems, Inc.) and quantitated with the aid of stereomicroscope. The number of Gag-specific IFN-γ SFC was calculated by subtracting the results of the control culture (e.g. without Gag peptide stimulation) from those of the peptide-stimulated culture. In contrast, the calculated numbers of Gag-specific IFN-γ SFC of naive mice were < 20/10⁶ cells.

Detection of rDIsSIVgag/pol in the central nervous system by nested reverse transcription PCR. To determine the dissemination of intranasally administered rDIsSIVgag/pol in the brain, a nested DNA-PCR and reverse transcription PCR (RT-PCR) were used to amplify a fragment of the SIV gag gene [18]. Mice were intranasally inoculated with 10⁶ plaque-forming units (PFU) of

rDIsSIVgag/pol. After 48 hours, brains were removed and the olfactory bulbs, cerebellum and cerebrum were sectioned. The DNA and mRNA were extracted from the olfactory bulbs, cerebellum and cerebrum by the DNeasy tissue kit (QIAGEN, KJ Venlo, The Netherlands) and the RNeasy mini kit (QIAGEN), respectively. RT-PCR was performed using One-Step RT-PCR kit (Takara Bio Inc., Shiga, Japan). Reverse transcription was carried out at 50 °C for 30 min with avian myeloblastosis virus reverse transcriptase. The initial and nested PCR protocols and the sequences of the primers have been described elsewhere [18]. After the second amplification, 10 µl of nested PCR-amplified product was run on 1.0% agarose gel, and DNA bands were visualized by staining with ethidium bromide. The lowest concentration of plasmid SIV DNA that could be detected with this PCR method in the first amplification with outer gag primer pair was 10³ copies. Upon further amplification with nested/internal gag primers, a single copy of plasmid DNA could be routinely detected [18].

Statistical Analysis. The results are expressed as the mean + the standard deviation (SD). Normally distributed variables were compared by using the two-tailed Student's *t* test and non-normally distributed variables by the two-tailed Mann-Whitney *U*-test. Probability value of < 0.05 was considered significant.

Results

Induction of SIV p27-specific IgA Ab responses in mucosal secretions

We ran an endpoint ELISA to determine the levels of SIV p27-specific IgA Ab in the fecal extracts by collecting fecal pellets at 1 week after the last immunization. SIV p27-specific IgA Ab were detected in the fecal extracts from all mice that had been immunized intranasally with 10⁶ PFU of rDIsSIVgag/pol and in seven of the eight (88%) mice given 10⁵ PFU of rDIsSIVgag/pol (Fig. 1). In contrast, p27-specific IgA Ab were detected in the fecal extracts from five of eight (63%) mice given 10⁶ PFU of rDIsSIVgag/pol intragastrically. As a reference, SIV p27-specific IgA Ab were also detected in the fecal extracts of mice immunized intranasally with 10³–10⁶ PFU of rMVA-SIVgag/pol (Fig. 1). The titres of p27-specific IgA Ab in fecal extracts of mice immunized intranasally with 10⁶ PFU of rDIsSIVgag/pol were significantly higher than in those mice immunized intranasally with the same dose of rMVA-SIVgag/pol (*P* = 0.026). No SIV p27-specific IgA Ab were detected in the fecal extracts of controls immunized with either rDIsLacZ or MVA 74LVD6 (Fig. 1). These results show that mucosal vaccination with rDIsSIVgag/pol can induce antigen (Ag)-specific humoral immunity in mucosal compartment.

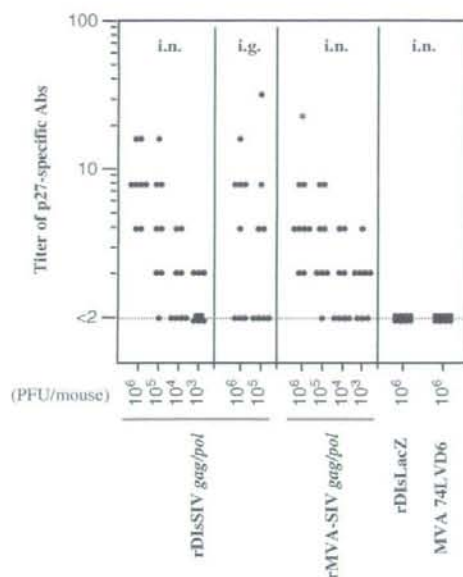


Figure 1 Titres of SIV p27-specific IgA Ab in fecal extracts of mice immunized with rDIsSIVgag/pol or rMVA-SIVgag/pol. Fecal pellets were collected at 1 week after the last immunization. The titres of p27-specific IgA Ab in the fecal extracts of mice immunized with rDIsSIVgag/pol or rMVA-SIVgag/pol were determined using an endpoint ELISA. The data are representative of two separate experiments. Each group was compared by a two-tailed Mann-Whitney *U*-test. Significant differences between rDIs group and rMVA group are indicated by asterisks ($*P < 0.05$). in, intranasal; ig, intragastrical.

Induction of SIV p27-specific Ab in plasma of mice immunized via mucosal routes

Our previous studies showed that SIV Gag-specific immune responses were induced in mice intradermally immunized with rDIsSIVgag/pol [12]. We assessed that IgG Ab response to SIV p27 in the plasma of immunized mice at 1 week after the last immunization. Our results clearly show that intranasal, intragastrical, and intradermal immunization with rDIsSIVgag/pol induced p27-specific IgG Ab in plasma (Fig. 2), with similar titres of p27-specific IgG observed for intranasal, intragastrical and intradermal groups receiving the same dose. In contrast, the titres of < 16 were observed for p27-specific IgG Ab in plasma of control mice immunized intranasally with 10^6 PFU rDIsLacZ.

Induction of p27-specific AFC in the mucosal and systemic immune systems

Once the SIV p27-specific Ab responses had been further confirmed at the cellular level, we compared the number of p27-specific AFC induced in the mucosal and systemic lymphoid tissues after intranasal and intragastrical

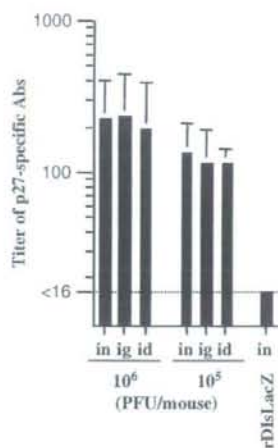


Figure 2 Comparison of SIV p27-specific IgG Ab responses in the plasma of mice immunized via different routes. Plasma samples were collected at 1 week after the last immunization. The titres of p27-specific IgG Ab in the plasma of mice immunized with 10^5 or 10^6 PFU of rDIsSIVgag/pol were determined using an endpoint ELISA. The data are shown as the mean titre + SD for 12 mice in each experimental group. Data are representative of three separate experiments. in, intranasal; ig, intragastrical; id, intradermal.

immunization with 10^5 PFU of rDIsSIVgag/pol. When we quantitated p27-specific AFC in the mucosal tissues and spleens of mucosally immunized mice, we found clear evidence of p27-specific IgA AFC in the PP, i-LP, NALT and n-LP of mice immunized intranasally with 10^5 PFU of rDIsSIVgag/pol (Fig. 3A). The numbers of p27-specific IgA AFC in the i-LP of intragastrically immunized mice were significantly higher than in intranasally immunized mice. Conversely, intranasal immunization of rDIsSIVgag/pol strongly induced p27-specific IgA AFC in the NALT and n-LP. We also found the number of p27-specific IgG AFC in the spleen of mice immunized intranasally with rDIsSIVgag/pol to be significantly higher than in intragastrically immunized mice ($P < 0.05$) (Fig. 3B). These findings suggest that mucosally administered rDIs can act as a vector for the induction of p27-specific AFC in both mucosal and systemic tissues.

Helper cytokine profiles of SIV Gag-specific CD4⁺ T cells

Simian immunodeficiency virus Gag-specific helper T-cell responses were assessed using cytokine-specific ELISA for culture supernatants of CD4⁺ T cells isolated from the spleen of immunized mice. Our results demonstrated that both type 1 helper T cell (Th1) and Th2 cytokines were upregulated in overlapping Gag peptide-stimulated CD4⁺ T cells taken from the spleen of mice immunized with 10^5 PFU of rDIsSIVgag/pol. Of special note, the levels of IFN- γ in mice immunized intranasally with

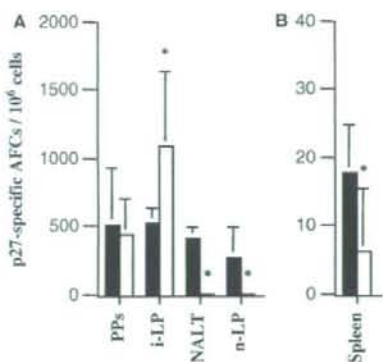


Figure 3 SIV p27-specific IgA AFC in the mucosal tissues and IgG AFC in systemic tissues of mice immunized intranasally or intragastrically with rDisSIV_{gag/pol}. The mice were killed 1 week after the last immunization. Levels of p27-specific IgA AFC in PP, i-LP, NALT and n-LP (A) and levels of p27-specific IgG AFC in spleen (B) of mice immunized intranasally (closed column) or intragastrically (open column) with 10^5 PFU rDisSIV_{gag/pol} were determined using an ELISPOT assay. The data are shown as the mean number of AFC/ 10^6 cells \pm SD for 12 mice in each experimental group. Data are representative of three separate experiments. Each group was compared by a two-tailed Student's *t* test. Significant differences between the intranasal group and intragastric group are indicated by asterisks (**P* < 0.05).

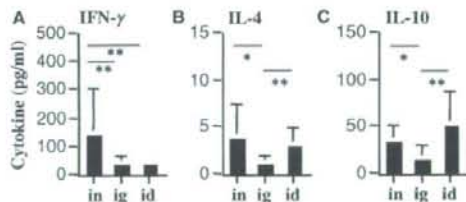


Figure 4 Th1/Th2 cytokine production of SIV Gag overlapping peptide-stimulated CD4⁺ T cells of mice immunized with 10^5 PFU rDisSIV_{gag/pol}. CD4⁺ T cells were isolated from spleen at 1 week after the last immunization. Culture supernatants were harvested and then analysed for the production of IFN- γ (A), IL-4 (B), and IL-10 (C) by ELISA. The levels of Gag-specific cytokine production were calculated by subtracting the results of the control culture from the peptide-stimulated culture. The data are shown as the mean concentration \pm SD for 12 mice in each experimental group. Data are representative of three separate experiments. Each group was compared by a two-tailed Student's *t* test. Significant differences are indicated by asterisks (**P* < 0.05, ***P* < 0.005). in, intranasal; ig, intragastric; id, intradermal.

rDisSIV_{gag/pol} were significantly higher than in those intragastrically or intradermally immunized (Fig. 4A). However, no preferential association was noted between Th2 and either the intranasal or intradermal group (Fig. 4B, 4C). In contrast, the intragastric group showed significantly lower levels of Th2 cytokines than did the intranasal or intradermal group.

IFN- γ production of SIV Gag-specific CD8⁺ T cells

Cytotoxic T-lymphocyte activity in viral infection has been shown to be of central importance for host defence. To assess the mucosal induction of cellular immunity, we assessed the CD8⁺ IFN- γ -producing cells in the immunized mice. Because non-specific activated CD8⁺ cells produced IFN- γ , the number of SIV Gag-specific IFN- γ SFC was calculated (see *Materials and methods*). In the IEL of mice immunized intranasally with rDisSIV_{gag/pol}, the numbers of IFN- γ SFC in unstimulated condition were 70–460 cells/ 10^6 CD8⁺ cells. The numbers of IFN- γ SFC in Gag peptide-stimulated condition were 150–1385 cells/ 10^6 CD8⁺ cells. There were significant differences between stimulated and unstimulated group. It was demonstrated that SIV Gag-specific IFN- γ -producing CD8⁺ cells appeared in both systemic and mucosal compartments in the intranasally immunized mice and were particularly abundant in the IEL of the mice (Fig. 5).

Kinetics of p27-specific Ab in plasma

IgA, IgG and IgM class-specific endpoint ELISA was used to investigate an SIV p27-specific Ab in the plasma of mice immunized intranasally with 10^5 PFU of rDisSIV_{gag/pol}. Up until 11 weeks after the last immunization, the titres of p27-specific IgA Ab were low (mean values < 50). Without further boosting, increased p27-specific IgA Ab titres were observed after 11 weeks and were maintained in the plasma for approximately 1 year (49 weeks) at a mean value between 48 and 92 (Fig. 6A). Levels of p27-specific IgA Ab did not correlate with those of IgG and IgM Ab; p27-specific IgG Ab were maintained in the plasma for 1 year, and increases in IgG Ab titres were observed until 17–21 weeks after the last immunization. After peaking, the mean titre in

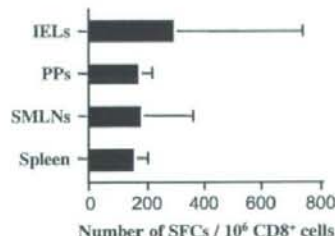


Figure 5 IFN- γ production of SIV Gag overlapping peptide-stimulated CD8⁺ cells isolated from mucosal and systemic components of mice immunized with rDisSIV_{gag/pol}. CD8⁺ cells were isolated from IEL, PP, SMLN and spleen at 1 week after the last immunization. IFN- γ production was assessed by ELISPOT assay. The number of Gag-specific IFN- γ SFC was calculated by subtracting the results of the control culture from those of the peptide-stimulated culture. The data are shown as the mean number of SFC \pm SD for 12 mice in each experimental group. Data are representative of three separate experiments.

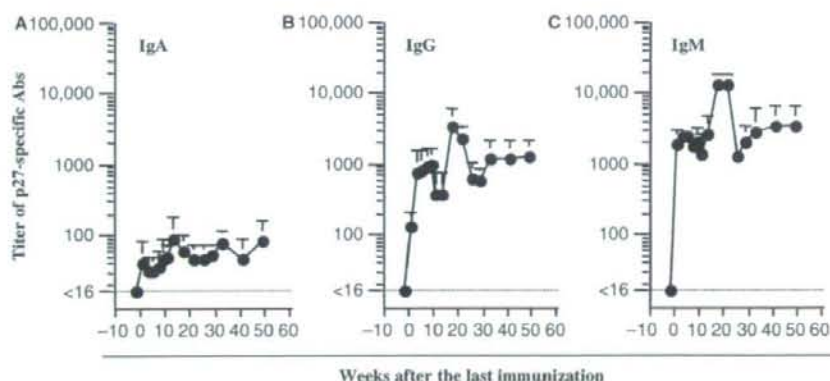


Figure 6 Sequential assessment of SIV p27-specific IgA, IgG, and IgM Ab in plasma of mice that have been intranasally immunized with 10^5 PFU rDIsSIVgag/pol. Plasma p27-specific IgA (A), IgG (B), and IgM (C) Ab were determined using an endpoint ELISA. The data are shown as the mean titres \pm SD for 12 mice in each experimental group. Data are representative of three separate experiments.

intranasally immunized mice declined to a value between 580 and 1300 (Fig. 6B). The p27-specific IgM Ab were observed in the plasma of intranasally immunized mice throughout the 1-year period (Fig. 6C). Titre kinetics was similar for p27-specific IgM Ab and IgG Ab. Thus, it is important to note that the p27-specific plasma Ab responses were maintained for 1 year after the last immunization via the nasal route.

We quantitated p27-specific IgG, IgM and IgA AFC both in systemic tissues such as spleen and in mucosal tissues such as MLN, PP, and i-LP of the mice at 49 weeks after the last immunization. Our results clearly demonstrated that high numbers of p27-specific IgG, IgM and IgA AFC in mice immunized intranasally with 10^5 PFU of rDIsSIVgag/pol were maintained even for 1 year after immunization (Fig. 7). Moreover, the mean titres of p27-specific IgA Ab in fecal extracts from mice at 49 weeks were 54 ± 18 ($n = 12$).

Analysis of viral dissemination in the central nervous system

Adverse reactions to vaccinia virus can occur regardless of pre-existing susceptibilities [19]. Of the adverse events known to occur after smallpox vaccination [20, 21], the most serious is post-vaccinal encephalitis (PVE) [20]. Although the pathogenesis of PVE is unknown, vaccinia viruses were isolated from brain tissues in PVE cases [22, 23]. As the nasopharynx resides in close proximity to the brain, we sought to determine whether rDI is disseminated from the nasal cavity to the brain. The olfactory bulbs, cerebellum and cerebrum of mice immunized intranasally with 10^6 PFU of rDIsSIVgag/pol were assessed using both nested DNA PCR and RT-PCR. The SIV gag gene was not detected in the olfactory bulbs, cerebellum or cerebrum of any of the eight mice (data not shown).

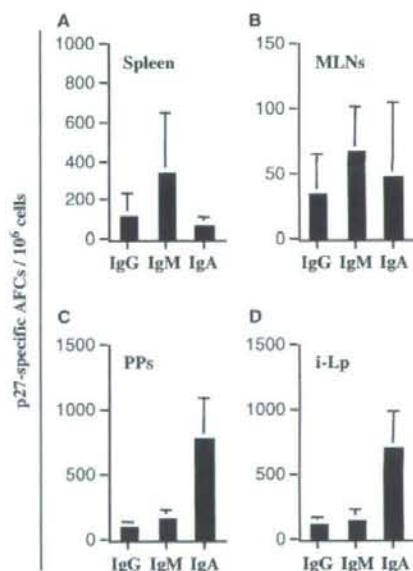


Figure 7 SIV p27-specific AFC in mucosal and systemic tissues of mice immunized intranasally with 10^5 PFU rDIsSIVgag/pol at 49 weeks after the last immunization. Levels of p27-specific IgG, IgM and IgA AFC in spleen (A), MLN (B), PP (C), and i-LP (D) of mice were determined using an ELISPOT assay. Data are shown as the mean number of AFC/ 10^6 cells \pm SD for 12 mice in each experimental group and the data are representative of three separate experiments.

Discussion

In this study, p27-specific IgA Ab in fecal extracts and IgG Ab in plasma were confirmed in mice immunized intranasally or intragastrically with rDIsSIVgag/pol. The compartmentalization within the mucosal immune system places constraints on the choice of vaccination route

for inducing effective immune responses. Oral immunization induces substantial Ab responses in the small intestine [24, 25]. We also found that the numbers of p27-specific IgA AFC were strongly induced in the small intestine by intragastric route. Conversely, intranasal immunization results in Ab responses in the upper airway mucosa and regional secretions without evoking an immune response in the gut [26, 27]. Although the numbers of p27-specific IgA AFC in i-LP of mice intranasally immunized rDIsSIVgag/pol were significantly lower than intragastric group, the titres of p27-specific IgA Ab in fecal extracts of mice immunized intranasally or intragastrically were roughly equivalent. Intranasal immunization of rDIsSIVgag/pol dominantly induced p27-specific IgA AFC in nasal tissues, and these cells might powerfully produce dimeric or polymeric IgA Ab. Polymeric IgA Ab removed from the circulation into bile by the hepatic polymeric immunoglobulin receptor/secretory component-driven. A large portion of murine gut IgA Ab is derived from blood rather than mucosal production [28–30]. Taken together, this study showed that intranasal immunization of rDIs, induced not only potent plasma IgA Ab response but also a good intestinal IgA Ab level despite a poorer cellular IgA Ab response in intestinal mucosa.

One of the keys to vaccine development is the longevity and stability of immune memory. We have shown that p27-specific IgG, IgM and IgA Ab and p27-specific AFC remain detectable for at least 1 year after intranasal administration of replication-deficient rDIsSIVgag/pol. Interestingly, IgM Ab against p27 in plasma were detected throughout the period of Ab monitoring, and significant numbers of p27-specific IgM AFC were observed in spleen even 1 year after immunization. Significantly more p27-specific IgM AFC were observed in spleens, suggesting that they may originate from those central lymphoid tissues in immunized mice. Based on the results of the current study, we theorize that SIV Gag continued to be produced in the mice in sufficient quantities to reactivate IgM Ab production in the absence of viral replication and reinfection. Others have shown that hepatitis B virus core Ag-specific or hepatitis C virus capsid Ag-specific IgM Ab are found in the plasma of individuals in the chronic phase of hepatitis B or C viral infection [31, 32]. We have not assessed long-term rDIs vector persistence in mucosal tissues, and we have not yet managed to elucidate the mechanism governing prolonged p27-specific Ab induction. However, we showed that rDIs were able to induce long-term immunity against an inserted foreign Ag in intranasally immunized mice.

Intranasal vaccination has caused unexpected complications. Although DIs vector did not detected in the brain of mouse in this study, it is not clear about the safety for human brain. Intranasal vaccination with rDIs may pose

risks such as PVE. It must concern the possibility that nasal vaccines could enter the central nervous system, because of the anatomical proximity of the nasal cavity to the brain. On the other hand, although oral delivery has become an accepted route for administration of polio-vaccine, the gastrointestinal tract presents several formidable barriers to candidate vaccines. In general, oral immunization is relatively inefficient at evoking an IgA Ab response in the distal segments of the large intestine or female genital tract mucosa [24, 25]. Of special interest for possible vaccination against HIV and other sexually transmitted infections, not only intravaginal but also intranasal immunization has been found to give rise to substantial IgA and IgG Ab responses in human cervicovaginal mucosae [24, 27, 33]. This study demonstrated that both intranasal and intragastric immunizations of rDIs induce Ag-specific mucosal immune responses. However, we could not settle which is the better strategy of vaccine administration to prevent HIV infection in this study.

Of course, much more intensive examination of the efficacy and safety of the mucosal rDIs vaccine are needed before use in humans. Nonetheless, in this study we demonstrated that it is an effective vector for the induction of Ag-specific mucosal immunity in the mucosally immunized mouse model, and represents an important step towards the development of an effective mucosal rDIs vaccine against HIV.

Acknowledgments

This work was supported by the Human Science Foundation of Japan, and the Japanese Ministry of Health, Labor, and Welfare. A part of this work was supported by the 'Open Research Center' Project for Private Universities: matching fund subsidy from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, 2004–2008, Iwate Medical University and by a grant from the Keiryokai Research Foundation No. 94.

References

- 1 Belyakov IM, Wyatt LS, Ahlers JD *et al.* Induction of a mucosal cytotoxic T-lymphocyte response by intrarectal immunization with a replication-deficient recombinant vaccinia virus expressing human immunodeficiency virus 89.6 envelope protein. *J Virol* 1998; 72:8264–72.
- 2 Amara RR, Villinger F, Altman JD *et al.* Control of a mucosal challenge and prevention of AIDS by a multiprotein DNA/MVA vaccine. *Science* 2001;292:69–74.
- 3 Casimiro DR, Chen RL, Fu TM *et al.* Comparative immunogenicity in rhesus monkeys of DNA plasmid, recombinant vaccinia virus, and replication-defective adenovirus vectors expressing a human immunodeficiency virus type 1 gag gene. *J Virol* 2003;77:6305–13.
- 4 Stevceva L, Alvarez X, Lackner AA *et al.* Both mucosal and systemic routes of immunization with the live, attenuated NYVAC/simian immunodeficiency virus SIV_{gpe} recombinant vaccine result in

- gag-specific CD8⁺ T-cell responses in mucosal tissues of macaques. *J Virol* 2002;76:11659–76.
- 5 Ceberle I, Dorrell L, McShane H *et al.* Phase I clinical trial safety of DNA- and modified virus Ankara-vectored human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) vaccines administered alone and in a prime-boost regime to healthy HIV-1-uninfected volunteers. *Vaccine* 2006;24:417–25.
 - 6 Goonertilleke N, Moore S, Dally L *et al.* Induction of multifunctional human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)-specific T cells capable of proliferation in healthy subjects by using a prime-boost regimen of DNA- and modified vaccinia virus Ankara-vectored vaccines expressing HIV-1 Gag coupled to CD8⁺ T-cell epitopes. *J Virol* 2006;80:4717–28.
 - 7 Jaoko W, Nakwagala FN, Anzala O *et al.* Safety and immunogenicity of recombinant low-dosage HIV-1 A vaccine candidates vectored by plasmid pTHr DNA or modified vaccinia virus Ankara (MVA) in humans in East Africa. *Vaccine* 2008;26:2788–95.
 - 8 Kitamura T, Kitamura Y. Interference with the growth of vaccinia virus by an attenuated mutant virus. *Jpn J Med Sci Biol* 1963;16:343–57.
 - 9 Kitamura T, Kitamura Y, Tagaya I. Immunogenicity of an attenuated strain of vaccinia virus on rabbits and monkeys. *Nature* 1967;215:1187–8.
 - 10 Tagaya I, Kitamura T, Sano Y. A new mutant of dermiovaccinia virus. *Nature* 1961;192:381–2.
 - 11 Ishii K, Ueda Y, Matsuo K *et al.* Structural analysis of vaccinia virus DIs strain: application as a new replication-deficient viral vector. *Virology* 2002;302:433–44.
 - 12 Someya K, Xin KQ, Matsuo K, Okuda K, Yamamoto N, Honda M. A consecutive priming-boosting vaccination of mice with simian immunodeficiency virus (SIV) gag/pol DNA and recombinant vaccinia virus strain DIs elicits effective anti-SIV immunity. *J Virol* 2004;78:9842–53.
 - 13 Ami Y, Izumi Y, Matsuo K *et al.* Prime-boost vaccination with recombinant *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin and a non-replicating vaccinia virus recombinant leads to long-lasting and effective immunity. *J Virol* 2005;79:12871–9.
 - 14 Someya K, Ami Y, Nakasone T *et al.* Induction of positive cellular and humoral immune responses by a prime-boost vaccine encoded with simian immunodeficiency virus gag/pol. *J Immunol* 2006;176:1784–95.
 - 15 Kiyono H, Czeckinsky C. Consideration of mucosally induced tolerance in vaccine development. In: Kiyono H, Ogra PL, McGhee JR, eds. *Mucosal Vaccine*. San Diego: Academic Press, 1996:89–101.
 - 16 Jackson RJ, Fujihashi K, Xu-Amano J, Kiyono H, Elson CO, McGhee JR. Optimizing oral vaccines: induction of systemic and mucosal B-cell and antibody responses to tetanus toxoid by use of cholera toxin as an adjuvant. *Infect Immun* 1993;61:4272–9.
 - 17 Moldoveanu Z, Fujihashi K. Collection and processing of external secretions and tissues of mouse origin. In: Mestecky J, Lamm ME, McGhee JR, Bienenstock J, Mayer L, Strober W, eds. *Mucosal Immunology*, 3rd Edn. San Diego: Academic Press, 2005:1841–52.
 - 18 Unger RE, Marthas ML, Lackner AA *et al.* Detection of simian immunodeficiency virus DNA in macrophages from infected rhesus macaques. *J Med Primatol* 1992;21:74–81.
 - 19 Kempe CH. Studies smallpox and complications of smallpox vaccination. *Pediatrics* 1960;26:176–89.
 - 20 Fulginiti VA, Papier A, Lane JM, Neff JM, Henderson DA. Smallpox vaccination: a review, part II adverse events. *Clin Infect Dis* 2003;37:251–71.
 - 21 Goldstein JA, Neff JM, Lane JM, Koplan JP. Smallpox vaccination reactions, prophylaxis, and therapy of complications. *Pediatrics* 1975;55:342–7.
 - 22 Angulo JJ, de Campos EP, de Gomes LF. Postvaccinal meningoencephalitis: Isolation of the virus from the brain. *J Am Med Assoc* 1964;187:151–3.
 - 23 Gurvich EB, Movsesyants AA, Stepenenkova LP. Isolation of vaccinia virus from children with postvaccinal encephalitis at late intervals after vaccination. *Acta Virol* 1975;19:92.
 - 24 Quiding M, Nordström I, Kilander A *et al.* Intestinal immune responses in humans. Oral cholera vaccination induces strong intestinal antibody responses and interferon-gamma production and evokes local immunological memory. *J Clin Invest* 1991;88:143–8.
 - 25 Kozłowski PA, Cu-Uvin S, Neutra MR *et al.* Comparison of the oral, rectal, and vaginal immunization routes for induction of antibodies in rectal and genital tract secretions of women. *Infect Immun* 1997;65:1387–94.
 - 26 Johansson EL, Bergquist C, Edebo A *et al.* Comparison of different routes of vaccination for eliciting antibody responses in the human stomach. *Vaccine* 2004;22:984–90.
 - 27 Johansson EL, Wassén L, Holmgren J *et al.* Nasal and vaginal vaccinations have differential effects on antibody responses in vaginal and cervical secretions in humans. *Infect Immun* 2001;69:7481–6.
 - 28 Vaerman JP, Langendries A, Giffroy D *et al.* Lack of SC/plgR-mediated epithelial transport of a human polymeric IgA devoid of J chain: *in vitro* and *in vivo* studies. *Immunology* 1998;95:90–6.
 - 29 Mecklein B, Externest D, Schmidt MA *et al.* Contribution of serum immunoglobulin transudate to the antibody immune status of murine intestinal secretions: influence of different sampling procedures. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003;10:831–4.
 - 30 Brandtzaeg P. Induction of secretory immunity and memory at mucosal surfaces. *Vaccine* 2007;25:5467–84.
 - 31 Chen PJ, Wang JT, Hwang LH *et al.* Transient immunoglobulin M antibody response to hepatitis C virus capsid antigen in posttransfusion hepatitis C: putative serological marker for acute viral infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:5971–5.
 - 32 Sjogren M, Hoofnagle JH. Immunoglobulin M antibody to hepatitis B core antigen in patients with chronic type B hepatitis. *Gastroenterology* 1984;89:252–8.
 - 33 Nardelli-Haeffiger D, Wirthner D, Schiller JT *et al.* Specific antibody levels at the cervix during the menstrual cycle of women vaccinated with human papillomavirus 16 virus-like particles. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:1128–37.

第21回日本エイズ学会シンポジウム記録

シンポジウム14 「HIV 母子感染予防対策の20年」

—現在の医学的・社会的問題点とその対策—

The History of HIV Mother to Child Transmission Prevention in Japan

—Medical and Social Problems Left until Today—

塚原優己^{1),10)}, 関矢早苗²⁾, 矢永由里子^{3),10)}, 内山正子^{4),10)}, 喜多恒和^{5),10)},
外川正生^{6),10)}, 大金美和^{7),10)}, 稲葉憲之^{8),10)}, 和田裕一^{9),10)}

Yuki TSUKAHARA^{1),10)}, Sanae SEKIYA²⁾, Yuriko YANAGA^{3),10)},
Masako UCHIYAMA^{4),10)}, Tsunekazu KITA^{5),10)}, Masao TOGAWA^{6),10)},
Miwa OGANE^{7),10)}, Noriyuki INABA^{8),10)}, Yuichi WADA^{9),10)}

¹⁾ 国立成育医療センター周産期診療部産科, ²⁾ 東京都立駒込病院看護部, ³⁾ エイズ予防財団研修・研究課, ⁴⁾ 新潟大学医学部総合病院感染管理部, ⁵⁾ 帝京大学医学部産婦人科, ⁶⁾ 大阪市立総合医療センター小児医療センター小児救急科, ⁷⁾ 国立国際医療センターエイズ治療・研究開発センター, ⁸⁾ 獨協医科大学産婦人科, ⁹⁾ 国立病院機構仙台医療センター産婦人科, ¹⁰⁾ 平成19年度厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業「周産期・小児・生殖医療における HIV 感染対策に関する集学的研究」班 (主任研究者: 和田裕一)

シンポジウムの趣旨

塚原優己, 関矢早苗

1987年, 本邦で初めて HIV 感染妊娠例に妊娠中から分娩後まで一貫した母子管理が行われた。現行の感染予防対策の原型が考案され母子感染も回避できた。以来20年, この間に HIV 治療は格段の進歩を遂げたが, 残念なことにわが国の感染者は増加の一途をたどっている。母子感染に関する対応にも改良が加えられ, 母子感染はほぼ回避可能と考えられるまでに至った。

HIV 感染は, 世界中で流行している重篤な感染症である。それゆえ医療者の間でも, また一般社会のなかでも問題意識が高く, 他の感染症とは異なった対応を必要とすることも多い。HIV 母子感染にも, HIV に特化した対応や, 殊更細やかな配慮が求められている。そのなかには, 既に通常の一般的な対応で十分と考えられるもの, 未だに特別な配慮が必要なもの, どちらにすべきか意見が異なるものなどが混在している。

今回のシンポジウムの目的は, HIV 母子感染に関わる様々な対応について, 一般的な感染症と同等の標準的対応を目指す上での医学的・社会的問題点とその対策に焦点を当て, その妥当性を再検証することである。

妊婦 HIV スクリーニング検査は, その実施率は年々上

著者連絡先: 塚原優己 (〒157-8535 東京都世田谷区大蔵2-10-1 国立成育医療センター周産期診療部産科)

2008年9月4日受付

昇し日本全国でほとんど(約95%)の妊婦が受検するようになったが, 一方でその陽性の中率の低さから医療現場で結果陽性妊婦への対応に混乱が生じているケースも散見される。この問題を踏まえ, 妊娠初期に行う他のスクリーニング検査(梅毒, B型肝炎, C型肝炎, 風疹抗体価, 血算, 血糖など)同様の対応(検査項目を明記した紙面を妊婦に手渡すことで説明と同意を簡略化)について, その問題点と対策を提示していただいた。

院内感染対策の分野では, 現在スタンダードプリコーションが一般化している。HIV 感染者の受け入れは, スタンダードプリコーションに基づく院内感染対策マニュアルに準拠することだけで可能か? 妊娠分娩管理では血液や体液曝露による感染の危険性が高い。この点も考慮した上で, 感染管理の立場から, HIV 母子感染予防対策マニュアルの妥当性について検証していただいた。

近年, 妊婦血中ウイルス量が母子感染の主たるリスクファクターと考えられ, また HAART により血中ウイルス量を感度以下まで抑えることも可能となった。ウイルス量の低い妊婦では母子感染予防のための帝王切開術は不要との議論も噴出している。はたして現在の HIV 感染妊婦管理で, 経膈分娩時の母子感染の危険性はどこまで回避可能か? これまでに集積されたわが国の経膈分娩症例の臨床経過や諸外国からの報告をもとに, わが国の医療事情に照合して検討していただいた。

1980~90年代に HIV 感染妊婦から出生した児は, 既に思春期を迎えている。現在小児 HIV 感染は少数ではある

が、HIV感染者数が増加し続ければ将来母子感染の増加も危惧される。感染小児では、告知の問題を始め、HAARTの継続、入園・入学、性教育など成長・発達に伴う様々な医学的・社会的問題が山積している。感染小児の療育の現状とその問題点の整理をお願いした。感染を回避し得た小児では、家族(両親)のHIV感染に関わる問題を取りあげ、その対応を検討していただいた。

性行動は日常の自然な営みであり、また女性感染者が妊娠・出産を望むこともごく自然の心理である。しかし感染者が性交渉による自然の妊娠を求めた時には、少なからずパートナーへ感染の危険を伴うことになる。感染回避という医学的観点からは、人工授精による妊娠が勧められるが、日常の性交渉により妊娠された例も数多い。人工授精に対する女性感染者の思いにも配慮した上で、妊娠・出産に関する情報提供を行う医療者の望ましい姿勢などについて考察していただいた。

1. 妊婦 HIVスクリーニング検査：これまで～今～そして今後の検討

矢永由里子

今回は次の3点 ①妊婦 HIV検査の現在の実施状況 ②検査の現状と課題 ③今後の方向性や提言に絞って発表を行なった。これらの項目をまとめて、発表内容を報告したい。

【妊婦 HIV検査の現在の実施率と検査の課題】

これまでの研究班の調査では、全国の妊婦 HIV検査実施率は平成18年度に95.3%まで上がっている。ほぼ妊婦の一般検査に HIV検査も組み込まれると言える。しかし、一方でスクリーニング検査の偽陽性が妊婦群においては非常に高く、陽性的中率が約10%という問題も残されている。

【電話相談や調査結果から見えてきたもの】

平成18年にエイズ予防財団の電話相談に寄せられた検査に関する相談を分析すると、HIV検査方法の問い合わせが29%、検査の信頼性が23%、受検後の動揺を強く訴える相談が22%であった。

また、18年度に和田グループで実施した「HIVスクリーニング検査で「陽性」・その後確認検査で「陰性」となった妊婦の実態調査」では、30名の妊婦を確認検査のために担当したエイズ診療拠点病院や検査・相談機関から、検査の実態についての動向を得ることが出来た。その概要は次の通りである。

- ①検査のスタート地点である実施機関の説明の適・不適は妊婦の状態や理解と関連していた。
- ②受け入れ機関における妊婦の心理状態は、実施機関のスクリーニング検査の意味理解の有無、妊婦が理解できる説

明や結果告知の有無、メンタル面への配慮の有無と関連していた。

電話相談と実態調査が示す共通課題として、妊婦 HIVスクリーニング検査は、他の HIV検査同様受検者(妊婦)の理解に沿った適切なインフォームドコンセント下での実施と対応の必要性が挙げられる。19年6月末日には、厚生労働省より各自治体の主管や医師会、産婦人科学会に対し、妊婦対象のスクリーニング検査前後の説明・相談の重要性とプライバシー保護への配慮についての通達が行われた。

【課題に対する取り組み】

妊婦への情報提供として、現在二種類のちらしが作成されている(①妊婦全般用として HIV検査理解を促すため:「あなた自身の健康と赤ちゃんの健やかな誕生のために」② HIV感染が判明した妊婦を対象として:「妊婦 HIVスクリーニング検査で結果が陽性だった方へ」)。また、19年度末ごろには、HIV検査を妊婦に実施する医療従事者向けに、検査前準備～検査前説明～結果説明をステップごとに具体的に提示した「妊婦 HIV一次検査(スクリーニング検査)実施マニュアル」パンフレットを作成・配布の予定である。妊婦検査における病診連携の整備も急がれるが、一地域で実践されている検査実施機関と確認検査や HIV陽性だった場合の診療の受け入れ医療機関との連携も重要である。今回発表した連携は妊婦検査のために作られたものではなく、妊産婦診療全般の連携のために日常的な情報交換やスムーズな妊婦紹介の活動が土台となり、そこに妊婦検査における連携も検討されていったという経緯があり、今後の病診連携のあり方を示唆された活動と思われる。

【今後の方向性や提言】

今後もスクリーニング検査で偽陽性を経験する妊婦数が継続すると思われるので、検査推進と同時に、偽陽性対応についての対策も一層強化する必要があるだろう。現在、妊婦への情報提供のちらしも作成されているが、今後は外国人妊婦にも情報提供の機会を広げていくことが大切と思われる。

偽陽性の課題とともに今後予測される状況として、HIV検査で「陽性」が確定する妊婦数の増加である。今の日本における HIV感染の広がりを鑑みれば、妊婦群での感染増加も想定される。現在、財団の電話相談に寄せられる妊婦検査の相談から、スクリーニング検査で「陽性」判明した妊婦に、安易に「最終結果は陰性だから」と「陰性」のみを強調する対応もなされている機関もあるようである。今後、陽性妊婦に対応する可能性も踏まえ、紹介先の医療機関の確保や地域連携のモデル体制の展開や感染妊婦の出産と地域での生活の場の確保なども重要になってくるだろう。

シンポジウム当日は、妊婦に関する HIVのテーマを多

角的に検討できたが、Opt-Out Testingのあり方や妊婦検査、検査時の情報提供や相談をどこまで行なうかという点について意見が出されたが、各人の感想に留まっているものが多く、今後このような重要テーマについては、実態や当事者の状況を正確に把握しつつ、また海外で作成されたコンセプトはその基本となる考えや実際の応用の全体像を明確にしながらか議論を深めていく必要があると考える。

2. 感染管理の視点でとらえた「HIV 母子感染予防対策マニュアル」

内山正子

「HIV 母子感染予防対策マニュアル第4版」の院内感染対策に関する事項について、医療現場における感染対策の現状を踏まえながら感染管理の視点で捉え、改善策について検討した。

全ての湿性生体物質を感染性があるものとみなすスタンダードプリコーション(以下「SP」とする)の概念は、HIV感染症の出現によって提唱されたユニバーサルプリコーションが時代とともに改変されたものである。したがって、HIV感染者の受け入れはSPに基づく院内感染対策マニュアルに準拠することだけで可能であるといえる。

第4版の母子感染マニュアルにおける感染対策の事項は、ほとんどがSPに準拠した内容であるが、一方でSPを逸脱していると考えられる内容が見受けられるのも事実である。具体的には、日常診療や帝王切開時の過剰な防護用具の着用や器具、環境の覆い、新生児の沐浴などが挙げられる。

HIVだけに特化した感染対策が行われる理由は、医療従事者が、SPによってHIVの感染予防が可能であることを十分に認識していないこと、医療従事者自身への感染に対する強い懸念などが挙げられる。さらにSPが施設内において全ての患者さんに標準的に実施されていないため、HIV感染者だけにSPが実施されるという矛盾が生じている。また、不要と思われる事項でも「マニュアルに記載されているため念のため実施する」という施設もある。特にHIV感染者の受け入れの経験がない、あるいは少ない施設においては、特別な対応となりやすい。

以上のような現状をふまえ、マニュアル改訂時には、極力SPに準拠した内容に再編成し、特別な対策は、血液や体液の曝露を防止するための工夫点として、曝露のリスクの高い処置やケアに限定して記載することを提案する。具体的には、日常診療や看護ケアにおいては、特別な対応は不要で、再生器材は、HIVに限らず、次に使用する際に感染が起らないよう適切な消毒あるいは滅菌が施されるため、HIVだけに特化して消毒製品を使用する必要はない。帝王切開時は、顔面も含め血液に曝露しやすいため、

術者や直接介助の看護師などが安心して手術に臨むことを目的に服装や覆いなどを通常より厳重にしてもよいが、麻酔医や間接介助看護師のディスポガウンは皮膚や衣服への血液曝露が想定されなければ不要と考える。新生児の沐浴は、清拭だけで対応しても感染が発生しておらず、沐浴によって感染防御の効果が高まるという根拠もないことから、通常と同様に清拭の記載でよいと考える。

以上、HIV感染者の受け入れはSPに基づく院内感染対策マニュアルに準拠するだけで可能であることから、母子感染マニュアルの改訂では、極力SPに準拠した内容とし、感染者への対応だけにマニュアルを活用するのではなく、自施設のSPの実施状況の見直しに活用してほしい。最後に、全ての医療施設においてSPの実施が徹底され、HIV感染者への特別な対応がなくなることを期待する。

3. HIV感染妊娠の自然(経腔)分娩

喜多恒和, 稲葉恵之

近年欧米では、HIV感染妊娠の経腔分娩は母子感染に関しても安全であるとして、これを推奨する傾向がある。われわれは、厚生省研究班の研究成果をもとにHIV感染妊娠の分娩転帰を解析し、わが国における経腔分娩の妥当性について検討した。2006年2月までに産婦人科・小児科全国調査にて報告された468例のHIV感染妊娠のうち、母子感染が確認されたのは42例であった。その42例の内訳は選択的帝王切開が7例(母子感染率3.2%)で、帝王切開の適応は母子感染予防が1例のみで残りは産科的適応であり、緊急帝王切開は4例(同18.2%)で、すべて産科的適応による帝王切開であった。経腔分娩は25例(同50%)であったが、感染診断や投薬などの予防対策が講じられていた例はなかった。分娩様式不明は6例であった。一方経腔分娩で母子感染しなかったのは25例で、妊娠中から感染が判明したため免疫機能の測定やウイルス量のコントロールが行われていた5例が含まれている。しかし母子感染例の大多数が児の発症などを機に母親のHIV感染が判明した例であるため、各分娩法の母子感染率は高く正確な比較はできない。産婦人科のみの全国調査での母子感染率の比較が妥当と考えられ、この解析から母子感染率は選択的帝王切開0.5%(1/194)、緊急帝王切開5.9%(1/17)、経腔分娩20.8%(5/24)となった。経腔分娩による母子感染の最終報告は2000年であり、その後のHAART時代での報告はない。しかもHIV感染妊娠に対するHAARTを中心とする抗ウイルス療法は上記分娩法の80%、53%、14%に行われており、母子感染率の差は分娩法と抗ウイルス療法の相加結果であると考えられる。HAARTにより血中ウイルス量がコントロールされている場合の経腔分娩の安全性は否定できない。2005年Cochrane Databaseの報告でも同様の結論を示

しているが、2005年ヨーロッパからの報告ではHAARTを行っていても選択的産切のほうが経膈分娩より安全であるとしている。一方2006年インドからの報告では、AZT単独療法後でも選択的産切と経膈の2つの分娩法の母子感染率に統計学的有意差はないとしているものの、それぞれの母子感染率は1.1%と2.1%で、経膈分娩の母子感染率はほぼ2倍であった。HIV感染妊婦に対しHAARTを行いウイルス量が良好にコントロールされている場合においては、妊婦とその家族へ各国の医療技術や医療経済のレベルと母子感染率に関する正確な情報を提供した後、インフォームド・チョイスにしたがって分娩法が選択されるべきであると考えられた。

4. HIV感染妊婦から出生した児の成長発達支援

外川正生, 稲葉憲之, 和田裕一

厚労科研稲葉班の全国病院小児科調査によれば、1984年から2006年の間にHIV感染女性から出生した児は287例であり、感染児は42例、非感染児は199例、未確定・不明は46例であった。母児への抗ウイルス治療・予定帝王切開・断乳による母子感染予防対策が全て実施された群での感染率は0.6%（同産科調査では0.5%）まで減少した。しかし対策無し、または不完全が理由での母子感染例は2000年以降も現れている。免疫不全が乳児期早期に発症するとHAARTが適用できる現在でもAIDS発症または死亡の確率が高く、難病であることに変わりがない。HAARTが時宜を得て開始され免疫が回復した小児も、生涯にわたっての服薬が必要であり、耐性・副作用・アドヒアランスの課題が待ちかまえている。出生児の現状から、子どもたちの健やかな成長にとって何が必要かを考察した。

【非感染児の課題】

新生児への抗ウイルス療法は従来AZT単独であったが、2NRTIあるいはHAARTが選択される例も現れた。生後の貧血に対してはPCR陰性結果を勘案したAZT投与期間短縮例が増える傾向にあった。平均観察期間2年1ヵ月（2ヵ月～5年2ヵ月）の50例においては、ミトコンドリア機能障害に合致する報告は確認されなかったが、就学年齢までの発育発達を確認すること、親あるいは感染した同胞についての告知あるいは病状を受けとめるに際しての精神的支援を欠かしてはならないであろう。

【感染児の臨床】

42例の予後は、無症状23例（54.8%）、中等症1例（2.4%）、AIDS3例（7.1%）、死亡11例（26.2%）、転帰不明4例（9.5%）であった。初診年齢が4歳未満の26例では、AIDSまたは死亡が11例（42%）と予後不良であったが、HAARTが実施された15例では12例が良好に経過していた。一方、初診時4歳以上の11例ではHAART未実施

でも3例中2例が、さらにHAART実施群では8例中7例が良好に経過していた。休業例での薬剤耐性出現有無については情報が得られなかった。

【水平感染予防】

本邦のHIV感染妊婦は1万人に1人、母子感染率は自然状態で30%強、対策実施で0.5%であるから、感染児の出現頻度は1/200万から1/3万である。現在0～18歳に分布する感染児の殆どがHAARTの恩恵によって健康に生活している。彼らからの水平感染は、標準的予防によって可能である。幼稚園・学校などの指導者が、血液を媒介する感染症の普遍的存在を認識して、出血の場面では全ての子どもに対して同じ方法で処置することが必要である。HBV・HCVキャリアー同様、HIV感染児は全ての学校行事に参加可能であり、病状公表を強制されるべきではない。

【告知・カウンセリング】

病名告知は通院・検査・HAARTを正しく受容するために10歳頃から必要となるが、定まった最適年齢はなく、本人の能力や環境を見極めて医師and/or家族が判断するのが現状である。病名告知に到らなくても、病態の説明、周囲へのカウンセリングから徐々に準備が進められている。他の慢性疾患同様、医師では行き届かない支援については、看護師・薬剤師・MSW・カウンセラー・保健師・通訳などが担当している。経験施設が限られているので、支援の過程における課題とその解決の実際について、記録を残すことが重要と考えられる。

5. 女性HIV陽性者の妊娠・出産支援

大金美和

HIV感染症の治療法が未確立の時代には、予後が極めて不良という疾患の特徴から、当時の医療者は二次感染予防と妊娠回避の指導をする傾向にあり、また既にHIV感染が判明した女性のなかには妊娠・出産をあきらめていたケースも多々散見される。しかし、治療法の進歩によりHIV感染症の予後が著しく改善した昨今、感染者支援は長期療養における生活の質にその重点がおかれ、女性陽性者では自然の心理として妊娠・出産の希望も増えてきている。

育児を希望しての性行為はパートナーへの感染の危険性を持ち合わせており、医療者は、この相反する問題に対応することが求められている。感染回避という観点では人工受精による妊娠も選択肢となる。ACC・ブロック拠点病院に通院中の女性HIV陽性者10人に聞き取り調査を実施したところ、その多くが育児希望はあるものの人工受精に対しては抵抗感を持っていることが判明した。人工受精に対しては、「自然ではない」、「人工受精にかかる時間や通院の手間」、「経済的負担」、「パートナーへの精神的負担」等が抵抗を感じる主な理由であった。

女性 HIV 陽性者の中には、希望により自然妊娠し出産するケースや、望まない妊娠により人工妊娠中絶するケースがみられた。自然妊娠に関する問題として、パートナーへの感染の可能性、治療方針への影響などがあげられる。未治療の妊娠女性の場合には、免疫状態にかかわらず、母子感染予防としての抗 HIV 療法の開始が直ちに検討される。また治療中の妊娠女性でも、薬剤の組み合わせの見直しや器官形成期の服薬継続に関する判断などが突然求められることになる。このような突発事態を回避するためには、リプロダクティブヘルスと HIV 感染症の互いに密接に関連する問題を熟慮し、予め治療方針や将来設計を立てておくことが望ましい。つまり、陽性女性の治療と療養生活の安定のためには、支援者が妊娠前から妊娠・出産に関する意志決定過程に関わり、サポートすることが最も重要と考える。

偶発的な自然妊娠は、その後の転帰や療養生活にも影響を及ぼす。例えば、HIV 感染症の病態や治療に関する知識が乏しい場合には、療養生活の見通しが持てず、HIV 感染症への不安に加えて、妊娠や出産に対する漠然とした不安が生じる。また母子感染予防法や妊娠経過、出産に伴う母体と児の状態に関する情報不足もより不安を増強させる。あるいは、事前のパートナーとのコミュニケーション不足が原因で、妊娠後にお互いの妊娠・出産に関する考え方の違いが判明し、妊娠継続に関する女性自身の意志決定が揺らぐ場合もある。医療者の対応は、第一に通院早期から面接の機会を持つことが肝要であり、そのなかで現時点で行える医療とその限界についての情報を提供し相談を行いながら、女性自身の意志決定の過程を継続してサポートすることが求められる。具体的には、① HIV 感染症の病態や治療の概要の情報提供、② 妊娠方法を含む家族計画の情報提供、③ 母子感染予防法や妊娠経過、出産に伴う母体と児の状態に関する情報提供、④ 夫婦それぞれに対して提供した情報の理解度の確認、および個別的問題に対する助言、⑤ パートナーや家族などからの支援体制の調整、⑥ 必要時にはカウンセリングなどの専門職を紹介し連携を図り支援、である。

これまで、妊娠している女性 HIV 陽性者に対する医療者の対応は、感染予防対策に焦点が置かれており、妊婦ケ

アというよりも HIV 感染症ケアに偏っている傾向が見られた。今後は、スタンダードプリコーションに基づき、過剰な予防対策を見直す必要もある。また、HIV 感染症特有のケアに取り組みながらも、妊娠女性に対し通常行っている一般的な妊婦ケアの充実にも目を向ける事が大切である。さらには、妊娠中のみならず、出産・育児にも喜びを持って日々過ごせることが大切であり、家族と母と子の愛着形成を促し、新しい家族形成を見守るための支援を行うことが課題となっている。

ま と め

この 20 年間、効果的な治療法である HAART の導入により、HIV 感染症はかつての不治の病から治療の継続が不可欠な慢性感染症に様変わりし、また社会からも性感染症のひとつとして正確に認識されるようになってきた。しかしながら、感染予防のキャンペーンは未だその効果が数字に表れず、わが国の感染者数は右肩上がりの増加を続ける現状にある。

母子感染に関しては、ほとんど全ての妊婦が通常の妊娠管理の一環として HIV スクリーニング検査を受検し、また母子感染予防対策では自然分娩やスタンダードプレコーションなど質の向上が検討され、社会医学的視点に立てば極めて好ましい方向に変化してきた。しかしこのような現代社会においても、慢性的に HAART を続ける陽性者の生活の質の向上を目指す上での支援策は、未だ十分とは言いがたい側面が指摘されている。陽性女性の妊娠・出産・育児は当然の課題としてクローズアップされ、陽性児では成長に伴い広がる社会活動に対する社会の受け入れ、あるいは陽性の親を抱える子供たちへの支援など、今後も感染者の増加が見込まれる現在、早急に対策を講じるべき課題は数多い。母子感染予防を考える上で、「妊婦 HIV スクリーニング検査の普及啓発と陽性妊婦に対する母子感染予防策の完遂」と「陽性が判明した感染女性とその家族および感染児への支援」は表裏一体の課題である。前者をほぼ達成しえた現在、これを維持しつつ取り組むべき次の課題は陽性者の支援と陽性者を取り巻く環境の整備ではないだろうか。

沖縄県妊婦 HIV 抗体スクリーニングの現状



琉球大学医学部器官病態医科学講座女性・生殖医学分野
佐久本 薫、青木 陽一

はじめに

沖縄県の HIV 感染者/AIDS 患者は、平成 19 年末の厚生労働省エイズ動向委員会の報告¹⁾によると、HIV 感染者が 24 人、AIDS 患者が 7 人で合計 31 人であり急速に増加している (図 1)。これまでで最も多い数であり、人口当たりの感染者数は東京都に次いで沖縄県が第 2 位である。爆発的な増加に繋がるのではないかと関係者は、深刻に受け止めている。HIV 感染者/AIDS 患者は男性同性愛者が多く、そのコミュニティへの働きかけが必要である。拠点病院で外来通院している患者も相当な数になり、病状の安定した患者は分散して管理する必要がでてきている。一般の人への波及や妊娠合併例も出現してくることが危惧される。一方、日本全国の HIV 感染妊婦は増加しており、厚生労働科学研究「周産期・小児・生殖医療における HIV 感染対策に関する集学的研究」班 (主任研究者：和田裕一) の報告によると、平成 19 年度の新規報告数は 43 例で、これまでの累積 HIV 感染妊娠数は 503 例に達している²⁾。このような現状から、妊婦 HIV 抗体スクリーニングに対する沖縄県による公的補助事業が平成

15 年度から開始されている。全国的にも 5 つの自治体 (平成 15 年 12 月時点で秋田県、茨城県、群馬県、埼玉県、沖縄県。青森県、千葉県は行っていたがその後中止) でしか行われておらず、画期的な事業である。沖縄県医師会では沖縄県からの委託を受け、妊婦 HIV 抗体スクリーニングの業務を代行してきた。今回、県医師会事務局に代わって、平成 15 年からの妊婦 HIV 抗体スクリーニングの実施率を算出し、若干の考察を加えて報告する。

妊婦 HIV 抗体スクリーニング実施数、実施率

沖縄県の補助事業を委託された沖縄県医師会事務局による集計から、5 年間の妊婦 HIV 抗体スクリーニング実施数、実施率を算出した。実施数は事務局に公的補助の申請された実数であり、県のホームページに示された出生数 (年度ではなく年) で除して実施率を算出した。

表 1 に 5 年間の妊婦 HIV 抗体スクリーニング実施数、実施率を示した。平成 15 年度からの各年度の実施率は 80.9%、77.2%、81.3%、82.6%、86.0% であった。図 2 に 5 年間の推移を示したが、ほぼ横ばいで推移している。5 年

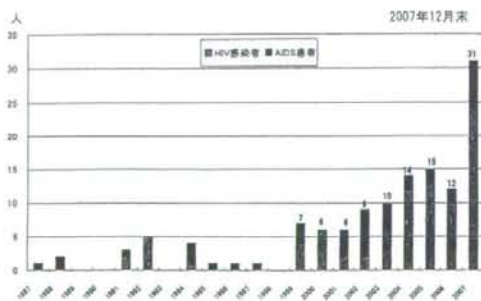


図 1. 沖縄県 HIV 感染者/AIDS 患者数の年次推移¹⁾

年度	実施数	出生数	検査実施率 (%)	陽性/陽性数
15	13,403	16,564	80.9	9
16	12,678	16,431	77.2	7
17	13,129	16,147	81.3	4
18	13,694	16,570	82.6	7
19	14,412	16,765	86.0	5
計	67,316	82,477	81.6	32 (0.05%)

スクリーニング陽性/陽性者のうち真の陽性者：0

表 1. 妊婦 HIV 抗体スクリーニング実施率

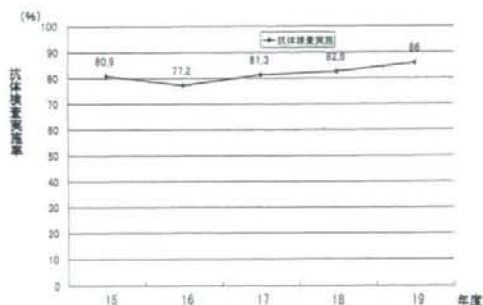


図2. 沖縄県妊婦HIV抗体検査実施率年次推移

間の出生数は82,477人で妊婦HIV抗体スクリーニング実施数は67,316件、平均実施率は81.6%であった。公的補助が実施されている割には低い値と考えられる。関係者は、90%以上を期待していた。81.6%に止まった原因が、スクリーニングを勧める産科医の側にあるのか、妊婦が検査を拒否したのかは明らかでないが、著者の経験からは妊婦のHIV抗体検査への感心は高いことから産科医がより積極的にスクリーニングを勧めて実施率を上げる必要があると思われる。報告書に記載された偽陽性/陽性の数は32例(0.05%)であった。偽陽性の数は二次検査(確認検査)の結果も反映している可能性もある。著者が把握している限りでは、この中から真のHIV感染者は出ていない。

図3に厚生労働省班研究(和田班)で行った全国産科病院へのアンケート調査のデータから沖縄県の妊婦HIV抗体スクリーニング実施率を示した²⁾。和田班の報告によると、沖縄県の平成18年度の抗体スクリーニング実施率は92.2%であったが平成19年度は73.3%に低下

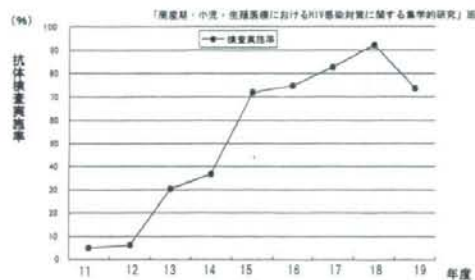


図3. 病院アンケート調査による妊婦HIV抗体検査年次推移²⁾

したことが指摘されていた。しかし、今回の調査では平成19年度の実施率は86.6%で過去最高値であり、実施率の低下は認められなかった。和田班の調査はアンケート調査であり、1年間の分娩数と妊婦へのスクリーニング実施率を大まかに答えてもらうもので、限界があるものと考えられる。

公的補助の継続について

一般に成人が、HIVに感染しても免疫機能が低下してAIDSを発症するのに数年から十数年かかると言われている。しかし、研究班の報告でも母子感染が成立した新生児は、適切な抗HIV療法を行うのが困難であり、早期に発症し予後は極めて不良である。本邦ではHIV感染妊婦に対しては抗HIV療法(最近では一般に行われる多剤療法HAART)と陣痛発来前の帝王切開術、抗ウイルス薬の点滴静注、新生児への抗ウイルス薬の予防投与、母乳保育の禁止が推奨されている³⁾。この方法を行うことにより、母子感染をほぼ予防できることが報告されている。この予防を行うためにも妊娠初期に妊婦全員にHIV抗体スクリーニングを実施することが重要である。

妊婦HIV抗体スクリーニング事業を通して、わが国、沖縄県のHIV感染者/AIDS患者の現状、適切な予防法と治療法、国、県、保健所などの行政の取り組み、母子感染の予防法について、産科医が妊婦へ直接説明、啓蒙できる機会が有ることが重要である。また、妊婦というひとつの集団をスクリーニングすることができ、その結果からHIV感染の一般家庭への拡大を推量することができることも重要と考える。

補助事業が開始された平成15年度の補助額は1,500円であったが、徐々に減額され平成20年4月からは1件当たりの補助額750円となった。予算の関係で致し方ない実情があると思うが、過去に青森県において、3年間継続した公的補助を中止したところスクリーニング実施率が30%台に急落したことがある。できる限り沖縄県の公的補助が継続される事を期待したい。

諸事情から沖縄県による公的補助が中止される可能性があると考えられる。その場合でも、妊婦 HIV 抗体スクリーニングの意義を十分に理解し、検査実施率が低下することがないように、産科・周産期に関わる関係各位にご努力をお願いしたい。

妊婦 HIV 抗体スクリーニングの実施手順

図4に妊婦 HIV 抗体スクリーニングの実施手順を示した。現在沖縄県のほとんどの施設で HIV-1、2 抗体と HIV-1 抗原を検出する ELISA 法が行われている。この検査では、陽性の中にウイルスに感染していない偽陽性が出てくることを認識する必要がある。妊婦では偽陽性率が上昇することが山田、塚原らによって報告されている（平成16年度報告書）。一次検査で20名の陽性者が出た場合、真の陽性者（二次検査で陽性）はそのうち1名であると報告されている。産科医は沖縄県の HIV 感染者/AIDS 患者の急激な増加の現状と母子感染が成立した場合の児の予後が不良なこと、検査で偽陽性がでることがあるため、一次スクリーニング陽性が即 HIV 感染を意味するものではなく、二次検査（確認検査）を行う必要があること、真の陽性者（HIV 感染妊婦）は適切な治療が受けられること、母子感染予防の方法があることを検査前に充分説明しておくことが重要である。平成19年6月に厚生労働省より全国自治体主管、日本産婦人科学会へ出された通達にも検査前および検査後のカウンセリングを十分に行うこととプライバシーの保護に十分配慮す

るよう記述されている。近日中にエイズ予防財団が作成した妊婦検査に関わる医療従事者向けの「妊婦 HIV 一次検査実施マニュアル」が配布されることになっている。

まとめ

公的補助が施行されてから5年間の妊婦 HIV 抗体検査実施率は81.6%であった。県医師会では県に代行してこの事業を推進してきた。大きな成果を上げたものとする。県全体の HIV 感染者/AIDS 患者は増加しており、いずれ HIV 陽性妊婦が経験されることが考えられる。適切な母子感染予防を行うためにもスクリーニングが大切である。今後も沖縄県の公的補助が継続されることを希望するとともに、産婦人科医による妊婦抗体スクリーニングを徹底して実施することが重要である。

謝辞：補助事業の集計をして下さった沖縄県医師会事務局山田愛里様に心より感謝申し上げます。また、県医師会の事業報告としてコメントをいただいた補助事業の担当事務金城忠雄先生、医師会誌の紙面を割いて下さった広報担当理事の先生方へ深謝致します。

本稿の要旨は、第106回沖縄県医師会医学会総会（平成20年6月8日）において発表した。

参考文献

- 1) 厚生労働省エイズ動向委員会報告2007年12月、http://api-net.jfap.or.jp/aids/aids_Frame.htm.
- 2) 平成19年度厚生労働省科学研究費補助金エイズ対策事業「HIV 感染妊婦の早期診断と治療および母子感染予防に関する基礎的・臨床的研究」班（主任研究者：国立病院機構仙台病院副院長 和田裕一）報告書、2008.
- 3) 塚原優己、今井光信、松岡 恵、他：HIV 母子感染予防対策マニュアル第5版、平成19年度厚生労働省科学研究費補助金エイズ対策事業「HIV 感染妊婦の早期診断と治療および母子感染予防に関する基礎的・臨床的研究」班・分担研究「わが国独自の HIV 母子感染予防対策マニュアルの作成・改訂に関わる検討」班（分担研究者：国立生育医療センター周産期診療部産科 塚原優己）編、2008.

本文中に引用した班研究の成績と内容は過去の研究報告書に詳述されている。各年度の報告書を参照されたい。

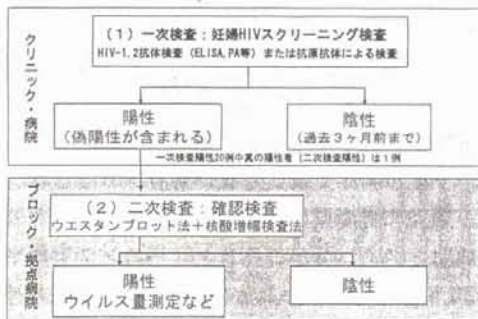


図4. 妊婦HIV抗体スクリーニング実施手順

—産科医療従事者からみた周産期医療の変遷—
周産期指標はどのようにして向上したか？

箕浦茂樹

はじめに

我が国の周産期指標は現在世界のトップレベルにあり、これは我々周産期医療に携わってきた者の努力の賜であるが、明治以来行政が行ってきた数々の施策、インフラの整備など大きな流れの結果でもある。本稿では我が国が明治以来どのようにして周産期指標を向上させてきたかを概説する。

我が国における母子保健行政の歴史

我が国において母子保健に携わる者について規定した法規は、1867(明治元)年12月に発布された産婆取締規則に始まるとされている。これは墮胎や間引きを規制したものであるが、一方で江戸時代の妊産婦管理の杜撰さを示すものでもある。続いて1874年、医制公布により産婆資格が規定され、免許制となった。また、1899年には産婆規則と産婆名簿登録規則が発布され、初めて産婆に対する免許制度が確立し、職業としての資質水準の統一が図られた。1906年には医師法・歯科医師法が制定され、近代的資格制度が確立した。さらに1915年の看護婦規則、1941年の保健婦規則制定と続き、戦後の1947年には保健婦助産婦看護婦令が発布され、それを受けて1948年に保健婦助産婦看護婦法が制定され、資格、業務、免許が規定された。その後1951年、1963年に同法が一部改正され、また2001年には保健師、助産師、看護師、準看護師と名称が変更されて現在に至っ

みのうらしげき 国立国際医療センター産婦人科
〒162-8655 東京都新宿区戸山1-21-1

ている。ところで、産婆が取り扱える領域は正常分娩だけであり、いわゆる医療行為を一切認めないという基本認識は、産婆取締規則、医制、そして産婆規則以来一貫したものであったが、現実には骨盤位分娩まで扱う者もいたといわれている。

我が国における主な母子保健施策を概観してみると、1937年保健所法による保健所における妊産婦と乳幼児の保健指導の実施、1940年国民体力法による乳幼児の健康診査や保健指導の全国実施、1942年妊産婦手帳制度の創設、そして1947年には厚生省(現厚生労働省)に母子衛生課が設置され、児童福祉法が制定された。妊産婦手帳は現在の母子健康手帳の前身ともいべきもので、産婦の約70%が交付を受けていた。妊産婦手帳には妊産婦の心得や妊産婦・新生児の健康チェック、分娩記録などが記入できるようになっており、妊産婦には特別に物資が配給された。1948年母子手帳(1966年母子健康手帳に改称)ができ、妊産婦および乳幼児保健指導要領が定まった。母子手帳には生まれてからの児の健康チェックや予防接種の記録が付け加えられた。1964年には妊娠中毒症医療援助と保健指導が始まり、1965年母子保健法が公布された。さらに1968年妊産婦糖尿病医療援助と保健指導、1969年妊産婦健康診査の公費負担制度の発足、1977年先天性代謝異常のマススクリーニングの実施、1980年母子の救急医療の充実、1984年周産期医療施設整備事業、1985年B型肝炎母子感染防止事業、1991年周産期救急システムの整備充実(ドクターカーの整備)、1996年妊産婦健康診査内容の充実(超音波検査)、2000年「健やか親子21」策定など