

が、妊娠判明時に抗ウイルス剤を内服していない場合には1st trimester 終了まで治療開始を延期してもよいとされる¹⁹⁾。図1にCDCのプロトコールを示す。

9. 分娩方法の選択

本邦の報告でも、帝王切開群で1.5%、経陰分娩群で25.0%と有意に感染率に差があったと報告されており²⁰⁾ (表1)、母子感染予防には帝王切開が有用といえる。諸外国の報告でも同様である¹⁶⁾²¹⁾。

10. 妊婦罹患率

本邦では抗体検査を行った妊婦10万人対10.0人程度にHIV陽性者が認められる。

III. HIVウイルス感染と出生後の対応

1. 妊婦スクリーニングの必要性

HIV母児感染が予防可能になってきている現在、予防策を講じるためには妊婦のHIV感染が判明していることが前提条件となるため、妊娠初期からの抗体検査によるスクリーニングは必須である。

2. ワクチン

わが国をはじめ世界中でワクチンの開発が進行しているが、まだ実用化には至っていない。

3. 母児の隔離・感染対策

スクリーニングされぬまま分娩に至った場合、25.5%に母児感染が成立し、児の予後は極めて不良で悲惨な結果となる。しかし1) 妊娠中期からの抗HIV薬(AZT)内服と分娩時のAZTを投与、2) 陣痛発来前の選択的帝王切開術、3) 母乳投与の禁止、4) 出生児へのzidovudine (AZT) シロップの予防投与(6週間)により約30%とされる自然感染率を2%程度まで抑制できることが確認されている^{16)22)~24)}。

4. 授乳の可否

乳汁中に移行したHIVウイルスによる母児感染は7~22%といわれるが、母乳栄養禁止により感染率を下げる事が可能であり、断乳のうえ人工乳に切り替えることが望ましい。

5. 出生児の感染診断・治療・管理

HIV感染母体から出生した児は、HIVウイルスの胎内感染や新生児感染が疑われるため、出生時から感染予防対策が必要である。断乳と6週間の予防的AZT投与と平行して、ウイルス学的検査(HIV RNA定量やDNA PCR、ウイルス分離培養)を行う。ウイルス学的検査は、生後①48時間以内、②14日、③1~2カ月、④3~6カ月の計4回実施し、2回の異なる時期(臍帯血を除く)の血液検査で上記項目のうち二つ以上が陽性的の場合、感染と判断する。生後48時間で38%、生後14日目には93%で診断可能といわれる²⁵⁾。逆に陰性的の場合、HIV非感染を確定するためには、生後18カ月までにウイルス抗体検査を実施するのが望ましい。

感染した児の治療に関する結論は出ていないが、小児の場合、成人より進行が早く予後が悪いこと、HIV脳症の頻度が高く早期に出現しやすいこと、種々の感染症に対する基礎免疫が十分確立されていないことに加え、小児の薬物治療の場合、薬物動態や容量、適応、安全性に関する情報が限定されるため一定の見解を出しにくい現状がある。介護の中心となる母親がHIV感染者である例が多いこともあり、今後解決されるべき問題が多い。

6. 次回妊娠の注意点

母体の全身状態を良好に維持することが不可欠で、このためには適切な治療を行って血中ウイルス量を減少させ、垂直感染予防対策(妊娠中からの抗HIV製剤投与、帝王切開分娩、完全断乳)を確実に実行する必要がある。抗HIV製剤の児への影響については不明な点も多いが、治療中断はウイルス量のリバウンドをきたし、かえってHIV感染の機会を増やすことにつながるため慎重な対応を要する。

IV. 今後の展望

今後HIVの母児感染は、抗HIV薬の適切な使用により予防可能となっており、爆発的に増加することはないかも知れない。しかし、世界

的には高価な AIDS 治療薬が使用出来ない開発途上国では母児感染の増加が報告されている。国際的な人の移動が多い現在、日本人若年者の行動に見られるような国籍の枠を超えた自由な交流の結果、今後 HIV 感染妊娠は更に増加することが予想され、十分な対策が必要である。

文 献

- 1) 塚原優己：1) 感染症1 (1) 性感染症の最近の動向。日本産婦人科医学会・研修ノートレビュー：N-517-520, 2004.
- 2) 和田雄一, 高橋尚美：血清検査-HTLV-1 抗体 HIV 抗体。周産期医学, 34(5) : 593-596, 2004.
- 3) 福武勝幸：HIV-1/2, 感染症の診断法 2003 版。エイズ学会誌, 5 : 136-140, 2003.
- 4) 和田雄一：妊婦 HIV スクリーニングについて、ペリネイタルケア, 23(4) : 82-86, 2004.
- 5) Sauer MV : Sperm washing techniques address the fertility needs of HIV-seropositive men : a clinical review. *Reprod Biomed Online*, 10(1) : 135-140, 2005.
- 6) Brocklehurst P, French R : The association between maternal HIV infection and perinatal outcome: a systematic review of the literature and meta-analysis. *Br J Obstet Gynecol*, 105 : 836-848, 1998.
- 7) Ranzini AC, Chavez MR, Ghigliottly B, et al : Thrombotic thrombocytopenic purpura and human immunodeficiency virus complicating pregnancy. *Obstet Gynecol*, 100 (5 Pt 2) : 1133-1136, 2002.
- 8) Khan M, Pilly T, Moodley JM, et al : Durban Perinatal TB HIV-1 Stud Group. Maternal mortality associated with tuberculosis-HIV-1 co-infection in Durban, South Africa. *AIDS*, 15 : 1857-1863, 2001.
- 9) Gloeb DJ, Lai S, Efantis J, et al : Survival and disease progression in human immunodeficiency virus-infected women after an index delivery. *Am J Obstet Gynecol*, 167 : 152-157, 1992.
- 10) Kumar RM, Uduman SA, Khurrana AK : Impact of pregnancy on maternal AODS. *J Reprod Med*, 42 : 429-434, 1997.
- 11) Minkoff H, Hershov R, Watts DH, et al : The relationship of pregnancy to woman immunodeficiency virus disease progression. *Am J Obstet Gynecol*, 189 : 552-559, 2003.
- 12) Casper C, Fenyo EM : Mother-to-child transmission of HIV-1 : the role of HIV-1 variability and the placental barrier. *Acta Microbiol Immunol Hung*, 48 : 545-573, 2001.
- 13) Abrahams EJ, Wiener J, Carter R, et al : Perinatal AIDS Collaborative Transmission Study (PACTS) Group. Maternal health factors and early pediatric antiretroviral therapy influence the rate of perinatal HIV-1 disease progression in children. *AIDS*, 17 : 867-877, 2003.
- 14) 和田雄一：妊婦HIVスクリーニングについて、ペリネイタルケア, 23(4) : 82-86, 2004.
- 15) Hudson C : Elective caesarean section for prevention of vertical transmission of HIV-1 infection. *Lancet*, 353 : 1030-1031, 1999.
- 16) The International Perinatal HIV Group : The Mode of Delivery and the Risk of Vertical Transmission of Human Immunodeficiency Virus Type 1-A Meta-Analysis of 15 Prospective Cohort Studies. *N Eng J Med*, 340 : 977-987, 1999.
- 17) Cooper ER, Charura M, Mofenson L, et al : Combination antiretroviral strategies for the treatment of prenat HIV-1 transmission. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 29 : 484-494, 2002.
- 18) Dictor M, Lindgren S, Bont J, et al : HIV-1 : the role of HIV-1-infected women in relation to viral transmission, infectious HIV-1 and RNA load in plasma. *Scand J Infect Dis*, 33 : 27-32, 2001.
- 19) Hayakawa S : Control of Vertical Viral Infection in Utero. *J Nihon Univ Med Ass*, 63(7, 8) : 326-333, 2004.
- 20) 厚生労働省「HIV感染妊婦の早期診断と治療及び母子感染予防に関する基礎的・臨床的研究」班(班長稲葉憲之)：平成15年度HIV母子感染全国調査研究報告書, 2004-塚原優己ら本邦におけるHIV母子感染の易学的研究(2) HIV感染妊娠の発生動向.
- 21) The European Mode of Delivery Collaboration : Elective caesarean-section versus vaginal delivery in prevention of vertical HIV-1 transmission : a randomized clinical trial. *Lancet*, 353 : 1035-1039, 1999.
- 22) 「厚生労働省「妊婦のSTD及びHIV陽性率と妊婦のSTD及びHIVの出生児に与える影響に関する研究」ジャン, 分担研究「母子感染予防の臨床的研究」班編：平成14年度HIV性感染全国調査研究報告書.
- 23) Connor EM, Sperling RS, Gelber R, et al : Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. *N Eng J Med*, 331 : 1173-1180, 1994.
- 24) 平成14年度構成化学科学研究費補助金(エイズ対策研究推進事業)「妊産婦のSTD及びHIV陽性率と妊婦のSTD及びHIVの新生児に与える英脅威冠する研究」班(主任研究者：田中憲一) 分担研究「HIV母子感染予防の臨床的研究」班(分担研究者：戸谷良造) 研究報告書, 2003.
- 25) Dunn DT, Newell ML, Ades AE, et al : Risk of human immunodeficiency virus type 1 transmission through breastfeeding. *Lancet*, 340(8819) : 585-588, 1992.
- 26) Scarlatti G : Paediatric HIV infection. *Lancet*, 348(9031) : 863-868, 1996.

HIV 感染妊娠女性に対する看護と支援

箕浦茂樹* 大金美和** 三島典子*** 石川真由美*** 与那嶺辰美***

はじめに

厚生労働省エイズ動向委員会によれば、我が国における 2004 (平成 16) 年 1 年間の新規 HIV 感染者数とエイズ患者数の報告数の合計は 1,165 件となり、HIV に感染した人の総数が初めて 1,000 件を超える報告数となった¹⁾。一方感染妊婦数については、厚生労働省エイズ対策研究事業 (稲葉班) 「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臨床的・疫学的研究」によれば、1997 (平成 9) 年以降は年度によってバラツキはあるものの、28~40 人の間で、概ね横ばい状態である²⁾。しかし近年若年層における HIV 感染数が増加しており³⁾、今後再び HIV 感染妊婦数が増加に転ずる可能性は十分考えられる。

HIV 感染妊婦の医学的管理

HIV 感染妊婦に対する医学的管理の最大の目的は母子感染予防であり、妊娠初期に HIV 抗体検査を施行し、陽性例に対して妊娠中の抗ウイルス薬投与、陣痛発来前の選択的帝王切開分娩、新生児への Zidovudine (AZT) の投与、人工哺乳により母子感染を 2% 以下にまでおさえることができる。インフォームドコンセントとともに検査前カウンセリングを行った後に抗 HIV 抗体検査を実施し、できるだけ妊娠初期から管理を行う。治療は最近では AZT 単剤に代わって多剤併用療法 (HAART) が主流であるが、抗 HIV 療法に関し

ては、ウイルス量、耐性出現や催奇形性をはじめとする母子のリスクを念頭に置いて治療を行うことが重要である。また分娩方法については、HIV-RNA 量が極めて少ない例では経膈分娩を選択するという考えもあるが、現在の日本における現状を考慮し、陣痛発来前の選択的帝王切開分娩が望ましいと思われる。新生児には出生後なるべく早期から AZT シロップを投与する。母乳は与えず人工哺乳とする。表は当センターにおける HIV 感染妊婦の管理手順である。

コーディネーターナースの役割⁴⁾

1. 妊婦の HIV 抗体検査と感染判明

妊婦の HIV 抗体検査が行われず分娩に至り、児に日和見感染症の発症が確認され、後に母子ともに HIV 感染が判明した紹介ケースがあった。母子感染の予防方法が確立されてきた現在、母体に HIV 感染があっても、児への感染予防を行うことにより、HIV の感染率を下げるのが可能になっている。それだけに児の感染予防の開始を左右する母体の HIV 抗体検査は、医療者の責務として積極的にタイミング良く勧めていくことが重要である。

国立国際医療センターエイズ治療・研究開発センターでは、7名の HIV/AIDS 専任コーディネーターナース (CN) が患者担当制で指導や相談に対応している。妊婦の HIV 感染が判明した場合には、感染症専門医より病名告知と HIV 感染症の病態や治療に関する情報提供が行われ、CN は

みのうらしげき、おおがねみわ、みしまのりこ、いしかわまゆみ、よなみねたつみ
*国立国際医療センター産婦人科 **同 コーディネーターナース ***同 助産師
〒162-8655 東京都新宿区戸山 1-21-1

表 HIV 感染妊婦管理手順

週数	妊娠初期 1回/2週	14～23週 1回/2～4週	23週～入院時 1回/2週	35～36週 1回/週	37週	分娩後
妊婦健診 産科管理上の注意点	分娩予定日の決定	切迫流・早産	切迫早産・IUGR 破水	入院管理 帝王切準備 陣発・破水時の対応 合同カンファ	予定帝王切 合同カンファ	授乳禁止 乳腺炎
検査項目 血液	血液型 血算 生化 凝固 感染症スクリーニング RPR TPHA HBV HCV ATL CMV ウイルス量 CD4	血算 生化 (乳酸)	血算 生化 (乳酸)	(術前検査) 血算 生化 凝固 T&S	(術後検査) 血算 生化 (乳酸)	
産分分泌物など	菌培 Candida GBS クラミジア 淋菌 子宮腔部細胞診 経膈	ウイルス量 CD4 菌培(20週前後)	ウイルス量 CD4	ウイルス量 CD4 菌培(35週前後) GBS	ウイルス量 CD4	ウイルス量 CD4
超音波 NST その他	経膈	経膈	経膈 少なくとも1回	経膈 1回/週以上 胸部X-P 心電図		
HIV 治療 (ACTG076, HAART)	内服薬の決定	14～16週 HAART 開始			手術当日 AZT 静注	

合同カンファのメンバー：産科(医師、助産師)、小児科(医師、看護師)、感染症科(医師、コーディネーター、ナース)

それら情報提供後の理解度の確認や日常生活上の注意点、感染予防等の情報提供を行い、不安や疑問を受け止めながら今後の療養の見通しを立てられるように支援している。告知は本人に行うことが原則であり、パートナーへの病名告白は本人から早期に行うことが望ましいが、それを妊婦自身が決定できるよう支援することが重要である。

2. 妊娠継続の自己決定支援

一般的に HIV 感染症の病態や治療について周知されていないことから、HIV 感染妊婦は HIV 感染症をかかえながらの妊娠・出産・育児に関する漠然とした不安を持ち、妊娠継続を悩むケースが多い。産科医、感染症専門医から妊娠、分娩、産褥期における母子感染予防の方策について説明した後、CN は夫婦それぞれ個別に疾患に関する受け止め方や妊娠継続について決定できる情報が整理されているかを確認し、適宜相談対応する。

具体的な例をあげると、児が感染していた場合、妊婦自身の服薬や受診などの時間的制約がある中で、児の健康管理にも気を配る必要があること、母子感染予防に使用される薬剤の長期副作用や児への影響は不明なことが多いこと、病気を知らぬ家族等の存在は、療養生活の安定につながるため、病名告白できる支援者を検討することが望ましいこと等、ケースでその内容も異なる。

医療者は妊娠継続の可否を勧めるのではなく、あらゆることを検討する夫婦の相談に対応し、母子感染予防の開始時期（妊娠 14 週以降の早期）と、人工妊娠中絶が認められている時期（妊娠 21 週まで）も配慮しながら、最終的に夫婦間で結果を出せるように支援する。また、どちらの選択でも医療者は最善の医療を提供するという保障も必要である。

3. 母子感染予防（抗 HIV 療法の開始）

妊娠継続の決定後は、母子感染予防のための抗 HIV 療法を開始する。不確実な服薬は、母子感染予防を不完全にするため、服薬が順調に継続され

ることを目標とする。しかし、服薬率を保つことは想像以上に努力が必要である。そのため、服薬開始前に妊婦が服薬中断に至るようなリスクがないか、生活リズム・受診行動・HIV 感染症と治療の理解、支援者の有無をアセスメントし、障害になることがあれば事前に解決する。また、薬剤は決められた時間に服薬しなければ、薬剤耐性を生じ、治療失敗に至ることもあるため、生活状況を聞き取りながら、服薬スケジュールの立案、生活とのすり合わせが可能かをシミュレーションし、確実な服薬を目指す。服薬開始後は、服薬継続が維持されるように定期的に服薬状況や療養生活のアセスメントを実施することが重要である。

4. 他科・他部門・地域との連携

HIV 感染妊婦の保健指導は受け持ち助産師が行うなど、お互いの専門分野でのケアの分担を行っている。助産師紹介にあたっては、事前に妊婦に HIV 感染症を含む情報提供の理解を得るなど、プライバシーに十分配慮する。初対面の医療者とは上手にコミュニケーションが取れない場合もあるため、妊婦と受け持ち助産師との初回面接には CN が同席し、信頼関係を築きやすいように両者を支援する。受け持ち助産師と CN が退院時の家族計画・性生活指導等を協力して行うこともある。

連携は院内スタッフのみならず、ケースによっては妊婦に同意を得た上で、地域の保健師を紹介し、妊娠中の経過、出産後の育児相談も含めて訪問を計画し、依頼することがある。これまで、地域で開催されている母親学級等の指導内容によっては妊婦への精神的負担が考えられたため、病院での個別指導や保健師の自宅訪問で母子保健指導を行っていた。一方、妊婦自身も病気を抱えての参加に消極的になりがちであったが、ほかの妊婦とコミュニケーションをもつことにより、妊娠・出産本来の楽しみを感じたり、母親としての実感が培われる良い機会になるため、できるだけ参加することが望ましい。そのためには地域の保健師との連携を深め、HIV 感染妊婦が安心して集団指

導を受けられるようなさらなる配慮が必要である。

助産師の役割⁵⁾

1. 妊婦健診と治療計画

HIV 感染妊婦の妊娠継続が確認されると、CN は病棟へ情報を伝え、病棟での受け持ち助産師が決定される。受け持ちはプライマリーとアソシエートの2名1組とする。プライマリーはリーダーシップをとり、次の事例ではアソシエーターがプライマリーナースとなれるよう、スタッフ間での連鎖的な教育が行われている。

外来での保健指導の初回面接はCN 同席のもとで行われ、その後は外来受診日にあわせて指導を行っていく。保健指導はCN や医師など他職種との連携を図り、以下の目的を持って行われる。

- 1) 妊婦および家族との信頼関係を築く
- 2) 妊娠経過・生活環境・家族の協力・病識など看護に必要な情報を得る
- 3) 妊娠生活を健康に過ごし、計画的な出産ができるよう、週数に応じた指導を行う
- 4) 看護に必要な情報を病棟スタッフに伝達し、受け入れの準備を始める

特に配慮して行っている内容は、切迫早産の予防、緊急時の連絡対処方法、帝王切開の準備と入院生活について、胎児とのコミュニケーション、止乳に関して(方法・気持ち)、感染予防のための自己対処方法(出血、母乳などの体液処理方法の紹介)、妊娠中や産後の性生活についてである。また夫への保健指導の機会を作り、本人へ説明した内容のほか、止乳についての母親の気持ちを伝えたり、赤ちゃんとの生活に協力できそうなことを夫婦で話し合うきっかけ作りを行っていくことも大切である。

また妊婦は複数診療科を受診するため、時間的負担が大きいので、産科外来、感染症外来、検査などの受診状況に合わせて連絡を取り合い、できるだけ待ち時間を利用しながら心身ともにストレスのない保健指導の工夫が必要である。

2. 産科病棟での看護の実践

1) 分娩2週間前の入院(妊娠35週)

看護側では受け持ち助産師を中心に、出産前(予定帝王切開前)の不安を軽減し、心身の準備を確実にすること、手術が安全に確実に進むこと、二次感染予防に努めることなどの計画を立てる。また病棟では、陣痛発来や破水など緊急の入院に備えて、その時の対応方法と常時物品の準備が必要となる。そのためにも日々のカンファレンスなどでの情報共有が大切である。なお、医療処置および看護ケアはスタンダードプリコーションにそって行われている⁶⁾。

これまでの症例から、自己の健康管理や出産までの準備に追われて胎児とのコミュニケーションなどを考える余裕がなかった、出産が近づいてくるにつれて胎児奇形が心配となって不安が増強した、誕生後に薬を内服しなければならない児に対して申し訳ない気持ち、母乳を与えられないことへの悲しみや罪悪感や周囲の人々への説明に対するストレス、夫がHIV 陰性の場合はずべてが自分のせいだとその責任の大きさに苛まされる、出産後は児への感染を心配して抱くことにごさえ神経をとがらせてしまうなど、それぞれにおかれた環境の中でさまざまな悩みが聞かれた。私たちは安全で確実な医療と看護を提供すると同時に、このような悩みを持つ母親たちに寄り添い、母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忘れてはならない。

2) 合同カンファレンス

感染症専門医とCN、産科医、小児科医、受け持ち助産師で出産の数日前に合同カンファレンスを行う。また麻酔科や手術室との連携も必要であり、事前の打ち合わせが行われる。カンファレンスでは日程の説明、担当者や役割分担、病状説明、患者の背景や気持ち、家族への説明状況、出産後の止乳方法など、それぞれの部署から報告しあい、最終確認を行う。

3) 帝王切開術分娩(妊娠37週)

安全に手術を行うとともに、児の全身状態の管

理と感染予防のための処置が重要となる。また臍帯血採取は物品の工夫や環境の整備を行い、針刺し事故のないよう落ち着いて行う。また廃棄物、胎盤などは手術室から病棟には持ち出さないように決められている。なお胎盤は全例手術室から直接病理検査室に提出する。

過度な防御は必要ないが、血液や体液が飛散する恐れのある処置が迅速に行われなければならない。緊張感が高まることは避けられない。だからこそ関連する部署の医療者と役割分担や打ち合わせを行い、良い人間関係の中で穏やかに出産の場面を迎えることが肝要である。

*当センターでの出生直後の児の洗浄・清拭方法

吸水性に優れたディスポマットを数枚、インフアントウォーマーの処置台に重ねて敷く。児を受け取ったらすばやく全身の血液や羊水をふき取り、洗浄ピデなどを使用し、1～2 lの温蒸留水を念入りに全身を洗い流しながら水分をふき取る。児の保温と再汚染に注意し、ディスポマットは適宜取り替える。胎脂は温オリーブオイルでふき取る。胃洗浄を行う場合は温生食を使用する。児の全身状態の管理も同時に行われるので、前もって役割分担を決めておく。

4) 産後の看護

手術直後は受け持ち助産師を中心にできるだけ2日目以上のスタッフが直接看護にあたるように、部屋の割り振りを行っている。悪露の付着したものはすべてナイロン袋に入れて処理し、自己管理ができるようになった場合は本人にも同様に指導する。

出生直後の児は、小児科特殊新生児室にて保育器内で管理され、呼吸・循環動態が安定し、嘔吐せずにAZTシロップの内服が確実にできるようになると産科病棟の新生児室へ移床する。最近では非感染帝王切開術後と同じクリニカルパスに従って母子同室も可能となっている。母子同室が始まる頃から、母親に対し児への感染予防である

抗HIV薬のAZTシロップの内服方法を理解度に合わせたペースで指導する。

我が国で止乳に使用されている薬剤は、内服中の抗HIV薬の副作用が増強される恐れが強いため使用できないので、手術後はできるだけ早い時期に乳房を冷却する。乳房緊満によって苦痛が強いときは、助産師による乳房の圧抜きが必要な場合もある。乳汁の付着したものは血液と同じ扱いで処理され、手洗いをするよう指導する。乳房が張ってくるのに母乳を与えられない母親のつらい思いを十分に理解して、気持ちを聴きながら児のあやし方やタッチングの効果や方法などを指導していくことも大切な看護である。

退院後、母親は育児を行いながら自身の治療のための抗HIV薬を12時間ごとに確実に内服していかなければならない。児の退院は、副作用と日齢との関係や、母親の性格や生活状態や退院後の受診体制などを考慮し、小児科医師が決定する。最近では母児同期の早期退院も可能になってきている。児が生後6週間の内服期間中に退院した場合、児への6時間ごとの正確な投薬が続けられることが重要で、そのためには母親一人ですべてを抱え込まないよう、夫の妻へのいたわりや育児参加が必要であり、夫を巻き込んだ育児支援を行っていくことが大切である。

5) 退院指導

退院指導は妊娠中からかかわってきたCNと受け持ち助産師、本人の承諾が得られれば夫も交えて行われることが望ましい。特に性生活についてはコンドームの正しい使い方や、口内や肛門性行為の注意なども含めて指導を行う。夫婦ともHIV陽性の場合でも、どちらかに耐性ウイルスを生じていることもあるため、夫婦間で再感染しないよう、またその他STD等の感染予防も考慮し、コンドーム使用が必要である。次の妊娠を希望する場合も、これからの生活状態を考え、体の状態の良い時期を選ばなくてはならないことを話し、必ず前もって相談するよう指導する。

6) 退院後の外来フォロー

現在は慢性疾患に分類されてきている HIV 感染症は、出産後も 1～3 カ月ごとのペースで診察を継続する。出生した児の健診は HIV 抗体検査の実施と合わせて、成長や発達段階を診る。当センターでは生後 2 週間、1 カ月、2～3 カ月、6 カ月、12 カ月、18 カ月、それ以降は年齢ごとに健診を行っているが、特に小児は薬剤の長期的な副作用や成長への影響を考えて見守っていく必要がある。

なお、以上の担当助産師および CN のためのケアフローチャートは文献 7 を参照されたい。

おわりに

HIV 感染妊娠女性のケアについて、主に看護と支援という視点から述べてきた。国立国際医療センターでは、2005 年 12 月末までに 29 例の HIV 感染妊婦の診療を経験し、その中で帰国や転院、人工妊娠中絶を除いた 20 例が当センターで分娩した。17 例は選択的帝王切開、3 例は破水後時間が経過していたり、来院時子宮口全開大などの理由で経膈分娩であったが、いずれも母子感染は起こっていない。このように医学的には HIV の母子感染はほぼ確実に防止することが可能となった現

在、正確な情報提供ときめ細かなケアがますます重要性を増してきており、診療の現場において本稿が少しでも役立てられれば幸いである。

文献

- 1) http://www.acc.go.jp/mlhw/mhw_survey/04nenpo/gaiyou.pdf
- 2) 喜多恒和, 阿部史朗, 北村勝彦, 他: HIV 感染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. 平成 16 年度厚生労働省科学研究費補助金エイズ対策研究事業 (H15-エイズ-007) 「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臨床的・疫学的研究」平成 16 年度総括・分担研究報告書 (主任研究者: 稲葉憲之) pp13-53, 2005
- 3) http://www.acc.go.jp/mlhw/mhw_survey/04nenpo/hyo_06_01.pdf
- 4) 大金美和, 福山由美, 他: 妊娠と同時に HIV 感染が判明したケースの支援から. 助産雑誌 57(12): 1053-1058, 2003
- 5) 三島典子, 井上富貴子, 他: 助産師として HIV 陽性妊婦に関わって. 助産雑誌 57(12): 1060-1065, 2003
- 6) <http://acc-elearning.org/AIDS/> 「HIV/AIDS 治療・検査・看護」
- 7) 塚原優己, 谷口晴記, 源河いくみ, 他: HIV 母子感染予防対策マニュアル第 3 版 (平成 15 年度厚生労働省科学研究費補助金エイズ対策研究事業「わが国独自の HIV 母子感染予防対策マニュアルの作成・改定に関わる検討」班編), p47, 2005

* * *

Complete removal of HIV-1 RNA and proviral DNA from semen by the swim-up method: assisted reproduction technique using spermatozoa free from HIV-1

Shingo Kato^a, Hideji Hanabusa^c, Satoru Kaneko^d, Koichi Takakuwa^e,
Mina Suzuki^e, Naoaki Kuji^b, Masao Jinno^f, Rie Tanaka^a,
Kenichi Kojima^c, Mitsutoshi Iwashita^f, Yasunori Yoshimura^b
and Kenichi Tanaka^e

Background: Use of antiretroviral drugs has reduced the mortality rate for HIV infection and many HIV-discordant couples wish to have children. It is possible for an HIV-infected man to father children without risk of HIV transmission if HIV-free spermatozoa can be obtained from his semen.

Methods: An improved swim-up method was used to collect HIV-free spermatozoa from the semen of HIV-positive males. Diluted semen was layered over a Percoll solution with a continuous density gradient of 30–98%, and then centrifuged. The bottom layer was collected by cutting the end from the tube and the sperm suspension was collected using the swim-up method. Spermatozoa were tested by nested polymerase chain reaction (PCR) for HIV-1 RNA and DNA, with a detection limit of one copy. Spermatozoa were used for assisted reproduction in 43 couples.

Results: HIV-1 RNA and proviral DNA were not detected by nested-PCR assay in all 73 of the collected spermatozoa samples from 52 patients. The HIV-1-negative sperm was used for *in vitro* fertilization in 12 couples and for intracytoplasmic sperm injection in 31 couples. No detection of HIV-1 RNA or proviral DNA in the culture medium of the fertilized eggs was confirmed again before embryo transfer. Of the 43 female partners, 20 conceived and 27 babies were born. HIV antibodies, HIV RNA and proviral DNA were negative in all of the females and babies.

Conclusions: HIV-negative spermatozoa could be obtained from semen of HIV-positive men. The method involves no risk of HIV transmission to female partners and their children.

© 2006 Lippincott Williams & Wilkins

AIDS 2006, 20:967–973

Keywords: assisted reproductive techniques, HIV-1, sperm, HIV-free spermatozoa

From the ^aDepartment of Microbiology and ^bDepartment of Obstetrics and Gynecology, Keio University School of Medicine, Tokyo, the ^cDepartment of Hematology, Ogikubo Hospital, Tokyo, the ^dDepartment of Obstetrics and Gynecology, Tokyo Dental College, Ichikawa City, Chiba Prefecture, the ^eDepartment of Obstetrics and Gynecology, Niigata University, Ichibancyo Asahimachidoori Niigata City, Niigata Prefecture and ^fDepartment of Obstetrics and Gynecology, Kyorin University, Mitaka City, Japan.

Correspondence to Dr Hideji Hanabusa, Tokyo Ogikubo Hemophilia Center and Department of Hematology, Ogikubo Hospital, 3-1-24 Imagawa Suginami-ku, Tokyo 167-0035, Japan.

E-mail: hanabusa@muh.biglobe.ne.jp

Received: 24 August 2005; revised: 4 January 2006; accepted: 26 January 2006.

ISSN 0269-9370 © 2006 Lippincott Williams & Wilkins

967

Copyright © Lippincott Williams & Wilkins. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

Introduction

Since the mid-1990s, the use of HAART has spread, and the AIDS mortality rate has decreased by more than 80% in the industrialized world [1]. HIV infection/AIDS is becoming a controllable chronic infection and HIV-infected individuals are now living longer. Many HIV-positive people are getting married and wishing to have children.

Semprini *et al.* [2] reported that they had conducted artificial inseminations in more than 2000 HIV-discordant couples (HIV-positive male and HIV-negative female) using their swim-up method, and that no HIV transmission was observed. However, their method may be suboptimal because it has not been proven to remove HIV RNA completely, and they did not measure proviral DNA in infected cells in the semen. Zhang *et al.* [3] reported that HIV may be present as proviral DNA in seminal cells in HIV-infected men who have achieved undetectable levels of viral RNA in plasma with HAART, and this HIV could be capable of sexual transmission. It has not been determined whether HIV is attached to spermatozoa or whether spermatozoa can be infected with HIV [4,5]. Therefore, contraception is recommended for HIV-discordant couples, even if HIV RNA is undetectable in plasma [3].

Authorities in different countries have different opinions concerning the use of assisted reproductive technology using spermatozoa collected by the swim-up method [6–8]. However, it would be possible for an HIV-infected man to father children without risk of HIV transmission if HIV-free spermatozoa can be obtained from his semen. This study examines an improved swim-up method for isolating HIV-free sperm and its use in assisted reproductive methods.

Methods

This clinical study was approved by the ethics committees of Niigata University, Ogikubo Hospital, Keio University and Kyorin University. All of the couples visited the Hematology Department of Ogikubo Hospital and received counselling and explanations of the clinical study. Informed consent was obtained from all participating couples. Semen was obtained by masturbation, and then tested for sperm concentration, motility and deformity.

Percoll preparation

An isotonic solution of Percoll (Amersham Life Science, Tokyo, Japan) was made by dissolving 980 g Percoll in 10.0 ml 2.0 mol/l Hepes-NaOH, pH 7.4, 10.0 ml human serum albumin (25%w/v), 0.05 g fosfomycin

and 0.05 g cefarotin. The resulting 98% Percoll solution was sterilized with a Millipore filter (0.45 μ m pore size).

Semen pretreatments

The procedure is shown in Fig. 1. Ejaculates were diluted twice with Hanks solution, followed by standing in a test tube for 10 min to precipitate filterable micro-calculus, then filtered through an ART filter (20 μ m clearance; ART filter, Nipro, Osaka, Japan) to remove fibers, micro-calculus and mucinous debris. The upper phase of sperm suspension was loaded onto 6 ml Percoll linear gradient from 98% to 30% in a separable fine-neck tube (Nipro) and centrifuged at $400 \times g$ for 30 min. The separable fine-neck tube was made of glass, and its bottom was squeezed to minimize the volume of sediment. To recover the sperm precipitated in the bottom tip, the top of the tube was plugged with a rubber cap, and the middle of the squeezed bottom was snapped off with an ampoule cutter.

Motile sperm were separated by the modified swim-up method. A fine glass capillary was inserted in 2 ml of the medium in a vial, then a needle tip was introduced to the bottom through the inner capillary. The motile sperm were allowed to swim up at 37°C in an incubator with 5% CO₂-air. After 60 min, 1 ml of upper layer was collected, containing the sperm that had swum up.

The sperm suspension was divided into two portions. One was used for HIV assessment, and the other was cryopreserved with KS-II medium [9] in a liquid nitrogen container.

Standard HIV-1 materials

MOLT-4 cells infected with HIV_{LAI} and its culture supernatant were used as standards for HIV-1-infected cells and virus stock, respectively. RNA purified from virus stock and the pNL4-3 plasmid [10] were the standards for HIV-1 RNA and DNA, respectively. The concentrations of the standard HIV-1 DNA and RNA were determined by spectrophotometry and the null-class equation of the Poisson distribution of the reverse transcriptase (RT)-nested polymerase chain reaction (PCR). Cells were counted using a Burkert-Turk hemocytometer (Emergo, Landsmeer, the Netherlands). The virion concentration was considered to be half the virus RNA concentration.

Detection of HIV-1 RNA and DNA

The samples of sperm suspension, culture medium or plasma were centrifuged at $35\,500 \times g$ for 1 h at 4°C. RNA and DNA were extracted from the precipitate using QIAamp UltraSens Virus Kit (Qiagen, Tokyo, Japan). One fourth of the eluate was tested in quadruplicate by RT-nested PCR as follows. The RT reaction was performed by incubation at 42°C for 10 min in a

20 μ l solution consisting of 1 \times PCR buffer II (10 mmol/l Tris-HCl pH 8.3, 50 mmol/l KCl; Perkin Elmer Life Sciences, Yokohama, Japan), 3 mmol/l MgCl₂, 0.2 mmol/l each dNTP, 0.1 μ mol/l primer GA1R (5'-CCCAGGATTATCCATCTTTTATAG-3', 1595-1572 [10]), 4 U RNasin (Promega, Tokyo) and 20 U SuperScript II (Invitrogen, Tokyo, Japan). The whole RT product was subjected to a first-round PCR in a 50 μ l solution consisting of 1 \times PCR buffer II, 4 mmol/l MgCl₂, 0.2 mmol/l each dNTP, 0.2 μ mol/l primers GA1F (5'-TGTTAAAAGAGACCATCAATGAGG-3', 1388-1411) and GA1R and 0.5 U AmpliTaq (Perkin-Elmer). Then, 1 μ l of the first-round PCR product was used in the second-round PCR in a 50 μ l solution containing primers GA2F (5'-GGCCAGATGAGA-GAACCAAGG-3', 1465-1485) and GA2R (5'-CATCCTATTTGTTCCCTGAAGGGTAC-3', 1535-1511) and the other components in first-round PCR. The primers were located in gag p24. The thermal profile of PCR in GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, Tokyo, Japan) was 94°C for 2 min; three cycles of 94°C for 5 s, 48°C for 10 s and 72°C for 15 s; 22 cycles of 94°C for 5 s, 60°C for 10 s and 72°C for 15 s; with a final cycle of 72°C for 1 min and then the mixture kept at 4°C. The PCR products were electrophoresed through a 2.0% agarose gel in the presence of 0.5 μ g/ml ethidium bromide and photographed under ultraviolet illumination. Throughout the procedure, the medium used for washed sperm or fertilized eggs was the negative control and this medium with 10 virions added was the positive control. The whole process took approximately 5 h. For samples of peripheral blood mononuclear cells (PBMC), DNA was extracted using QIAamp DNA Kit (Qiagen) and 0.5 μ g of the DNA was tested in triplicate by the PCR procedures omitting reverse transcription. Competitive RT-nested PCR was performed as previously described [11].

Infectivity of HIV-1 during incubation

After incubation at 37°C under 5% CO₂ for various periods, the virus stock was added to 5 \times 10⁶ stimulated donor PBMC in 1 ml RPMI 1640 medium supplemented with 30% immobilized fetal calf serum and 70 U/ml human recombinant interleukin 2 (Shionogi, Osaka, Japan), and further incubated for 5 days. The culture supernatants were tested for p24 concentration with VIDAS HIV P24 II (BioMérieux, Tokyo, Japan).

Clinical study

If the HIV-1 testing for virion RNA and proviral DNA was negative, the other portion of frozen sperm was thawed for use in assisted reproduction. Mature eggs were obtained by means of ovulation-inducing drugs, and then placed in a dish containing 3 ml RPMI culture medium (20% albumin). The HIV-1-negative sperm solution was introduced to eggs by means of *in vitro* fertilization (IVF) or intracytoplasmic sperm injection (ICSI), and the dish containing treated eggs was incubated at 37°C under 5%

CO₂ for 48 h. Before embryo transfer, the culture medium for the fertilized egg was collected and tested for the presence of HIV-1 again. Only when HIV-1 RNA and DNA assays by nested PCR were negative was embryo transfer conducted. All the female partners who underwent assisted reproductive therapy, even those who did not conceive successfully, were tested for HIV antibodies, HIV-1 RNA and proviral DNA in the blood at 1 and 3 months after the assisted reproductive technique and after delivery. The babies were tested for HIV RNA and proviral DNA in umbilical cord blood at birth and in blood until 6 months after birth.

Results

Sensitivity of the HIV-1 RNA/DNA test

The procedure to detect a single copy of either HIV-1 virion RNA or proviral DNA in sperm suspensions (the HIV-1 RNA/DNA test) was developed by selecting and improving techniques in three main steps (collection of HIV-1 virions and infected cells by centrifugation, extraction of viral RNA and DNA with silica-gel-membrane technology, and the detection of the viral RNA and DNA by nested PCR) to achieve zero apparent loss in recovery at each step. First, the exact virion concentration of the standard HIV_{LA1} virus stock was determined by direct RT-nested PCR at endpoint dilution by using the null-class equation of the Poisson distribution. Then, one virion of HIV_{LA1}, on average, was added to 1 ml Sydney IVF medium (Cook, Tokyo, Japan) and the whole procedure was initiated. When one fourth of the eluate from an extraction column was examined (replicated four times) with RT-nested PCR, 12 of

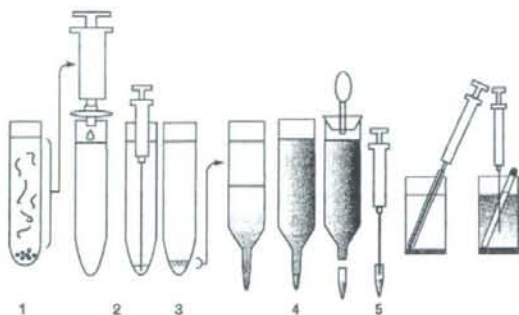


Fig. 1. Revised swim-up method to remove HIV completely. (1) The semen is diluted and debris allowed to precipitate. (2) The suspension is filtered, 0.1 ml Percoll added to the bottom, and the tube is centrifuged. (3) The sperm sediment is layered onto a linear gradient of Percoll (30-98%). (4) After centrifugation, the sediment is recovered by cutting the tube. (5) The sperm suspension is introduced into the bottom of the culture medium using a microtube. (6) The sperm that swim up are recovered.

20 samples exhibited at least one band in four reactions (Fig. 2). Next, a single MOLT-4 cell chronically infected with HIV_{1,LA1} was added to 1 ml Sydney IVF medium and subjected to the HIV-1 RNA/DNA test without reverse transcription. RT-nested PCR showed that 6 of 10 samples exhibited positive reactions. The ratios of positive reactions for virions (60%) and infected cells (60%) were in close agreement with that predicted from the Poisson distribution (63%), providing evidence that the protocol has the ability to detect RNA/DNA in a single virion as well as in a single infected cell when present in as much as 1 ml of IVF medium. To study the influence of the presence of sperm in the medium on the sensitivity of the test, two sets of five samples containing 0.5, 1, 2, 4 and 8×10^6 /ml spermatozoa in Sydney IVF medium were tested; one set was mixed with 50 virions and the other set with 100 infected cells. The numbers of virion RNA and proviral DNA from sperm-containing samples that were determined by competitive PCR varied in the range 75–112 copies (note two RNA copies/virion) and 96–122 copies, respectively, in a manner that was not dependent on the sperm quantity. These results strongly suggest that the protocol can detect a single virion or infected cell even in the presence of up to 8×10^6 spermatozoa per sample.

Removal of HIV-1 virions and infected cells from mixed semen by sperm-washing

To assess the efficiency of sperm-washing procedures with Percoll density gradient centrifugation and swim-up for removal of HIV-1 from semen, HIV-1 virions or HIV-1-infected cells were added to healthy donor semen. When 2×10^7 virions HIV-1 were mixed with 1.6 ml healthy donor semen containing 6.3×10^7 spermatozoa/ml, 63 copies of HIV-1 RNA were detected after centrifugation but no HIV-1 RNA was detected after swim-up. When 5×10^5 HIV-1-infected cells were mixed with 1.6 ml of healthy donor semen containing 6.3×10^7 spermatozoa/ml, no HIV-1 DNA was detected after either centrifugation or swim-up. The sperm suspension collected after swim-up was 1.0 ml in volume and contained 50 000 spermatozoa of 100% motility.

Decay of infectivity of HIV-1 during incubation

A virus solution of HIV_{1,LA1} was incubated in culture medium for various periods and the p24 production ability was quantified in stimulated PBMC to evaluate the stability of HIV-1 *in vitro* with regard to infectivity. Infectivity decreased semiexponentially with a half-life of approximately 13 h.

Results of the clinical study

A total of 52 HIV-1-positive individuals participated in the clinical study (Table 1); 29 were haemophiliacs and 23 had become infected through sexual contact. The median age was 33 years (range, 27–44) in the 16 untreated individuals, 34 years (range, 28–41) in patients receiving antiretroviral drugs and with viral load ≥ 50 copies/ml, and 32 years (range, 20–51) in patients receiving HAART and with viral load < 50 copies/ml. Median plasma viral load was 17 500 copies/ml (range, 70–100 000) in the untreated group and 1500 copies/ml (range, 54–31 000) in patients receiving treatment and with a viral load ≥ 50 copies/ml.

Among 48 patients whose partner had assisted reproductive therapy, the median plasma viral load was 17 500 copies/ml (range, 70–100 000) in 15 patients in the untreated group, 4800 copies/ml (range, 54–31 000) in 10 patients receiving antiretroviral treatment and with viral load ≥ 50 copies/ml, and < 50 copies/ml in 23 patients taking HAART. Median CD4 cell count was 365 cells/ μ l (range, 66–1071) in the untreated group, 457 cells/ μ l (range, 60–652) in patients receiving antiretroviral drugs and with viral load ≥ 50 copies/ml, and 399 cells/ μ l (range, 41–792) in patients receiving HAART and with viral load < 50 copies/ml. The median sperm count of the HIV-positive males was 47×10^6 /ml (range, 0–82) in the untreated group, 41×10^6 /ml (range, 0–65) in patients receiving antiretroviral drugs and with viral load ≥ 50 copies/ml, and 35×10^6 /ml (range, 0–120) in patients receiving HAART and with viral load < 50 copies/ml.

Azoospermia occurred in four patients, who were excluded from this study.

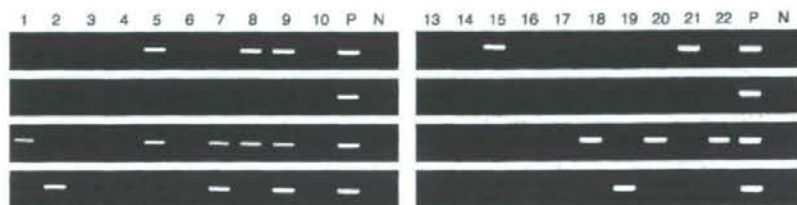


Fig. 2. Reverse transcriptase nested polymerase chain reaction (RT-nested PCR) capable of detecting a single copy of HIV-1 RNA. One virion of HIV-1_{LA1}, on average, was added to 20 sets of 1 ml Sydney IVF medium and then tested with the RT-nested PCR. When one fourth of the eluate from an extraction column was examined (in quadruplicate) with RT-nested PCR, 12 of 20 sets (lanes 1–10 and 13–22) exhibited at least one band in four reactions. Lanes P, positive control using 10 copies of HIV-1_{LA1} RNA; lanes N, negative control with no HIV-1 RNA.

Table 1. Characteristics of male patients with HIV infection.

	Untreated men (n = 16)	Men treated with HAART	
		Viral load \geq 50 copies/ml (n = 13)	Viral load < 50 copies/ml (n = 23)
Median age [years (range)]	33 (27–44)	34 (28–41)	32 (20–51)
Route of infection			
Haemophilia	10	8	11
Sexually transmitted	6	5	12
Median HIV viral load in serum [copies/ml (range)]	17 500 (70–100 000)	1500 (54–31 000)	< 50
CD4 cell count [cells/ μ l (range)]	365 (66–1071)	457 (60–652)	399 (41–792)
Sperm concentration [$\times 10^6$ /ml (range)]	47 (0–82)	41 (0–65)	35 (0–120)
Azoospermia (No.)	1	2	1

In all patients, the median motility rate was 28%, and the median incidence of morphologically normal spermatozoa was 12%. The median concentration of spermatozoa in patients (excluding the four patients with azoospermia) was 42×10^6 /ml (range, 3–120) and 52×10^6 /ml (range, 0–170) spermatozoa were collected after the Percoll centrifugation. The median motility rate was 28% and 45% before and after the Percoll procedure. Following the swim-up method, there were 1.5×10^6 /ml (range, 0–11) collected spermatozoa, and the motility rate was 100%. Spermatozoa could be collected by the swim-up method in 73 semen samples from the 48 patients. No HIV-1 RNA or proviral DNA was detected in any sperm suspensions collected after the swim-up procedure. The HIV-1-negative sperm was used for IVF in 12 couples and for ICSI in 31 couples. HIV-1 RNA or proviral DNA could not be detected in the culture medium of the fertilized eggs before embryo transfer. Of the 43 female partners, 20 conceived and 27 babies were born. HIV antibodies, HIV RNA and proviral DNA were negative in all of the females and babies.

Discussion

This study demonstrated that it is possible to detect a single copy of HIV-1 RNA or proviral DNA, and that HIV-negative spermatozoa can be obtained from the semen of HIV-positive males with the careful use of density gradient centrifugation and the swim-up technique. There has been no HIV-1 transmission in any of the female partners who underwent IVF or ICSI, nor in any of the babies.

Some studies have indicated that HIV can bind and enter into spermatozoa [4,5,12,13]. However, CD4 is not expressed on the surface of spermatocytes or spermatozoa [14,15]. Brogi *et al.* [4] have reported that HIV can attach to the surface glycoprotein of spermatozoa. In children at birth, the infection route is considered to be mother to child [16], and there is no case report of a child or embryo

who has been infected with HIV via spermatozoa. It has also not been proven that a spermatid could be infected with HIV during spermatogenesis. This study showed that spermatozoa collected by the swim-up method were neither infected with HIV-1 nor had HIV-1 attached to them.

Semen contains spermatozoa, seminal plasma, white blood cells, microbes, metallic crystals and fibres of underwear. If components with higher density than spermatozoa are in a sample at centrifugation, those components may bring viruses and infected cells down to the bottom sperm fraction. Therefore, in our technique, we left diluted semen undisturbed to settle heavy components, and then took the sperm-containing upper fraction. If the sperm fraction (the bottom layer) following Percoll centrifugation is pipetted through the other denser layers, as is commonly done, HIV may contaminate the sperm fraction via the tube wall. In this study, we sealed the top of the tube after centrifugation and collected the sperm fraction by cutting off the bottom layer, which prevented contamination from the higher layers.

Gomibuchi *et al.* [17] reported that their method could not reduce HIV-1 RNA in semen to < 100 copies/ml in 55.6% of patients. Kuji *et al.* [18] have reported that the use of endotoxin-free Pureseption for semen processing had a lower elimination rate for HIV than the Percoll method. Some groups have used a swim-up technique in which the spermatozoa collected after centrifugation with a separating solution were washed with a culture medium and layered below the medium, followed by swim-up. Because the difference in the specific gravity of the sperm suspension and that of the culture medium is small, HIV and mononuclear cells may easily diffuse to the top layer during the swim-up method [17]. The actual procedures of the swim-up method, such as semen-washing techniques, the materials used in centrifugation, the concentrations of separating solutions, and the methods used to collect the bottom layer (sperm fraction) vary among researchers [17,19,20]. Therefore, it is

considered that the HIV elimination rate will also vary. Our improved swim-up method provides a safer procedure for use in assisted reproductive techniques.

Semprini *et al.* [2] have reported that HIV transmission has not occurred in over 2000 patients who underwent artificial insemination using their method. Their successful results may be explained by the fact that infectious HIV is less than 1/10 000 of all HIV virions [11,21,22] and that removal of the HIV-producing mononuclear cells by the swim-up method is a major factor in reducing infection risk. We have reported that a female was infected with HIV-1 after six artificial insemination procedures using sperm prepared only by centrifugation in another hospital [23]. Artificial insemination should not be performed when inadequate HIV elimination methods are used or when the absence of HIV is not confirmed by highly sensitive tests.

Most HIV-infected patients in this study had low sperm counts and sperm motility rates, and provided a small number of spermatozoa after the swim-up method. As we try to achieve higher virus elimination rates, the number of collected spermatozoa becomes small. Ohl *et al.* [24] reported no pregnancies after artificial insemination using sperm obtained by the swim-up method. If it takes too long for PCR procedures, or if spermatozoa are frozen, the fertilization ability of the spermatozoa may be decreased and the probability of pregnancy may be low. It is difficult to confirm rapidly the removal of HIV-1 RNA and DNA in spermatozoa actually used for artificial insemination. CD4 and chemokine receptors are not expressed on eggs [25] and, therefore, eggs cannot become infected with HIV in the sperm suspensions collected using the swim-up method even if HIV is present in the suspension. If the suspensions are contaminated with a small amount of HIV, the infectivity of the HIV would still decrease to below 1/10 after a 2 day incubation. In addition, in IVF or ICSI, it is possible to confirm the absence of HIV-1 in the culture medium of fertilized eggs before embryo transfer. Therefore, we conducted IVF or ICSI using frozen spermatozoa that had been confirmed negative for HIV-1.

In conclusion, we have demonstrated that it is possible to collect spermatozoa with evidence of the absence of HIV-1 RNA and proviral DNA from semen of HIV-infected males. Whatever method is used for assisted reproductive technique and for removal of HIV from semen to reduce the risk of secondary transmission, it is essential to confirm the absence of HIV-1 RNA and proviral DNA in the sperm preparation used for the assisted reproductive technique with the most sensitive tests possible.

Sponsorship: This study was supported, in part, by grants from the Ministry of Health, Labour and Welfare in Japan.

References

1. Hammer SM, Squires KE, Hughes MD, Grimes JM, Demeter LM, Currier JS, *et al.* A controlled trial of two nucleoside analogues plus didanosine in persons with human immunodeficiency virus infection and CD4 cell counts of 200 per cubic millimeter or less. AIDS Clinical Trials Group 320 Study Team. *N Engl J Med* 1997; 337:725-733.
2. Semprini AE, Fiore S, Pardi G. Reproductive counselling for HIV-discordant couples. *Lancet* 1997; 349:1401-1402.
3. Zhang H, Dornadula G, Beumont M, Livornese L Jr, van Ulter B, Henning K, Pomerantz RJ. Human immunodeficiency virus type 1 in the semen of men receiving highly active antiretroviral therapy. *N Engl J Med* 1998; 339:1803-1809.
4. Brogi A, Presentini R, Moretti E, Strazza M, Piomboni P, Costantino-Ceccarini E. New insights into the interaction between the gp120 and the HIV receptor in human sperm (human sperm/gp120/galactoglycerolipid/antigalactosylceramide/seminal lipid/spermatogonia). *J Reprod Immunol* 1998; 41:213-231.
5. Bagasra O, Farzadegan H, Seshamma T, Oakes JW, Saah A, Pomerantz RJ. Detection of HIV-1 proviral DNA in sperm from HIV-1-infected men. *AIDS* 1994; 8:1669-1674.
6. Garrido N, Meseguer M, Simon C, Pellicer A, Remohi J. Assisted reproduction in HIV and HCV infected men of serodiscordant couples. *Arch Androl* 2004; 50:105-111.
7. Weigel MM, Gentili M, Beichert M, Friese K, Sonnenberg-Schwan U. Reproductive assistance to HIV-discordant couples: the German approach. *Eur J Med Res* 2001; 6: 259-262.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Epidemiologic Notes and Reports HIV-1 Infection and Artificial Insemination with Processed Semen. *MMWR* 1990; 39:249, 255-256.
9. Kaneko S, Kobayashi T, Lee HK, Won WK, Oda T, Izumi Y, *et al.* Cryogenic preservation of low-quality human semen. *Arch Androl* 1990; 24:81-86.
10. Adachi A, Gendelman HE, Koenig S, Folks T, Willey R, Rabson A, *et al.* Production of acquired immunodeficiency syndrome-associated retrovirus in human and nonhuman cells transfected with an infectious molecular clone. *J Virol* 1986; 59:284-291.
11. Kato S, Hiraishi Y, Nishimura N, Sugita T, Tomihama MM, Takano T. A plaque hybridization assay for quantifying and cloning infectious human immunodeficiency virus type 1 virions. *J Virol Meth* 1998; 72:1-7.
12. Nuovo GJ, Becker J, Sinsir A, Margiotta M, Khalife G, Shevchuk M. HIV-1 nucleic acids localize to the spermatogonia and their progeny. A study by polymerase chain reaction in situ hybridization. *Am J Pathol* 1994; 144:1142-1148.
13. Baccetti B, Benedetto A, Burrini AG, Collodel G, Ceccarini EC, Crisa N, *et al.* HIV-particles in spermatozoa of patients with AIDS and their transfer into the oocyte. *J Cell Biol* 1994; 127:903-914.
14. Gil T, Castilla JA, Hortas ML, Molina J, Redondo M, Samaniego F, *et al.* CD4+ cells in human ejaculates. *Hum Reprod* 1995; 10:2923-2927.
15. Kim LU, Johnson MR, Barton S, Nelson MR, Sontag G, Smith JR, *et al.* Evaluation of sperm washing as a potential method of reducing HIV transmission in HIV-discordant couples wishing to have children. *AIDS* 1999; 13:645-651.
16. Peckham C, Gibb D. Mother-to-child transmission of the human immunodeficiency virus. *N Engl J Med* 1995; 333:298-302.
17. Gomibuchi H, Nagamatsu A, Minoura S, Nonoyama M, Tachikawa N, Oka S. Intrauterine insemination with processed semen of HIV positive husband: study of semen processing. *J AIDS Res* 2001; 3:6-9.
18. Kuji N, Yoshii T, Kato S, Asada H, Sueoka K, Yoshimura Y. Sedimentation kinetics of HIV-1 in two gradient media. 58th Annual Meeting of American Society for Reproductive Medicine. Seattle, 2002, pp. 12-17.
19. Meseguer M, Garrido N, Gimeno C, Remohi J, Simon C, Pellicer A. Comparison of polymerase chain reaction-dependent methods for determining the presence of human immunodeficiency virus and hepatitis C virus in washed sperm. *Fertil Steril* 2002; 78:1199-1202.

20. Hanabusa H, Kuji N, Kato S, Tagami H, Kaneko S, Tanaka H, *et al.* An evaluation of semen processing methods for eliminating HIV-1. *AIDS* 2000; **14**:1611-1616.
21. Layne SP, Merges MJ, Dembo M, Spouge JL, Conley SR, Moore JP, *et al.* Factors underlying spontaneous inactivation and susceptibility to neutralization of human immunodeficiency virus. *Virology* 1992; **189**:695-714.
22. McKeating JA, McKnight A, Moore JP. Differential loss of envelope glycoprotein gp120 from virions of human immunodeficiency virus type 1 isolates: effects on infectivity and neutralization. *J Virol* 1991; **65**:852-860.
23. Hanabusa H, Kato S, Kaneko S, Suzuki M, Takakuwa K, Kuji N, *et al.* Clinical outcome of artificial reproductive technology using HIV-1 free sperm and the problems. 17th Congress of the Japanese Society for AIDS Research. Kobe, November 2003 [abstract 148].
24. Ohl J, Partisani M, Wittemer C, Schmitt MP, Cranz C, Stoll-Keller F, *et al.* Assisted reproduction techniques for HIV serodiscordant couples: 18 months of experience. *Hum Reprod* 2003; **18**:1244-1249.
25. Baccetti B, Benedetto A, Collodel G, Crisa N, di Caro A, Garbuglia AR, *et al.* Failure of HIV-1 to infect human oocytes directly. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999; **21**:355-361.

HIV 感染合併妊娠

—周産期専門医—

濱田亜衣子 小早川あかり 五味淵秀人 箕浦茂樹

はじめに

我が国は先進国の中で唯一 HIV 感染者、AIDS 患者が増加しているとされている。周産期医療における HIV 感染妊娠の管理のポイントは、感染症専門医による HIV そのものに対する治療と、産科・小児科・感染症科一体となった母子感染予防である。抗 HIV 薬の進歩により HIV/AIDS は慢性疾患となり、管理を徹底すれば母子感染もほぼ予防できる時代になった。本稿では現在最良と考えられている HIV 感染妊娠の管理について、具体的に述べてみたい。

HIV 感染妊婦に対する妊娠中の治療の実際

妊産婦自身の AIDS 発症予防ならびに母子感染予防を図る目的で、母体の血中 HIV ウイルス量をできるだけ低く抑えるように妊娠初期から管理を行う。妊産婦の感染判明時期や妊娠の時期、抗 HIV 療法の有無などにより、妊産婦やその配偶者（パートナー）、家族に十分な説明を行い、合意を得た上で管理方針を決定する。抗 HIV 薬の選択と投与時期の決定については内科感染症専門医に委ねるべきであり、その後も産科医と感染症専門医で連携をとって診療にあたるのが大切である。

妊婦に対しても、成人に対する標準的な治療である抗 HIV 薬を 3 剤以上用いる多剤併用療法（HAART：highly active antiretroviral therapy）を選択することが基本である^{1,2)}。抗 HIV 薬を内

服していない妊婦に HIV 感染が判明した場合、胎児に対する影響を考慮して、妊娠 14 週まで（器官形成期の間）は抗 HIV 薬を内服せずに待ち、それ以降に AZT を含む抗 HIV 薬を開始する。抗 HIV 薬を内服している女性で妊娠が判明した場合は、妊娠 14 週以降であれば抗 HIV 薬を継続し、可能であれば AZT を含んだ治療薬に変更する。妊娠 14 週以前に判明した場合は、抗 HIV 薬を継続するか、妊娠 14 週までは休薬するかをそれぞれのリスクを十分に説明のうえ決定する。休薬する場合はウイルス量のリバウンドや耐性ウイルスの出現などを考慮して 3 剤すべてを同時に中止する。しかし、一時的な休薬は再開後の母体治療を困難なものとする可能性が高く、可能であれば抗 HIV 薬の投与を注意深く継続することが望ましいとされる。

HIV 感染症に対する抗 HIV 療法は、以前は催奇形性の点から AZT 単剤投与が推奨されていたが、近年では耐性出現の問題などから HAART が行われることが多い^{1,2)}。しかし、未だ対象例も少なく長期予後が確認されていないことから、十分なインフォームドコンセントが必要である。

抗 HIV 療法の治療効果を得ること、かつ薬剤耐性ウイルスの出現を防ぐために重要なことは定期的な服薬である。自覚症状がない HIV 感染者に比較的副作用の頻度の高い抗 HIV 薬を内服させることが必要となるため、内服開始後はアドヒアランスの確認と副作用（嘔気・嘔吐、薬疹、肝機能障害、高血糖・高脂血症、貧血、乳酸アシドーシスなど）の有無を 1～2 週間ごとに経過観察する。

はまだ あいこ、こばやかわあかり、ごみぶちひでと、みのうらしげき
国立国際医療センター産科 〒162-8655 東京都新宿区戸山 1-21-1

当科では HIV 感染妊婦に対して 2 週間ごとの妊婦健診を行っており(表), ①カンジダ外陰腔炎, クラミジア頸管炎, ヘルペスなどの性感染症やヒトパピローマウイルスによる子宮頸癌の発生頻度が高いこと, ②絨毛膜羊膜炎, 切迫早産, 子宮収縮, 前期破水などの胎内感染のリスクを増加させる疾患の予防, ③抗 HIV 薬の胎児への影響が未だ明らかでないため, 胎児発育・胎児形態異常の評価, ④検査のための頻回の採血や抗 HIV 薬の影響によりさらに貧血が助長されやすいこと, また胃腸管障害の強い抗 HIV 薬を服薬しているため, 同じく胃・腸管への副作用を有する鉄剤の内服治療は困難なことが多いこと, などに留意している¹⁾。

HIV 感染が母体・胎児に及ぼす影響

HIV 感染が妊娠経過に及ぼす悪影響はなく, また妊娠が HIV 感染の症状を悪化させることはない²⁾とされている³⁾。また, 奇形や器官形成を損なうような先天性 HIV 感染症候群は今までのところ報告されていない。

HIV 感染妊婦の妊娠, 分娩管理

HIV の母子感染には, ①経胎盤感染, ②産道感染, ③母乳からの感染が考えられる。感染が起りうる量のウイルスに児を被曝させない, つまり①母体のウイルス量を低下させること, ②母体の血液, 体液への接触を極力さけることが母子感染予防の基本である。

陣痛(子宮収縮)時には母体血(HIV 汚染血液)が児へ移行しやすくなり, 児は分娩中に産道からの HIV の曝露を受けやすいため, 陣痛発来前, かつ破水前に選択的帝王切開を施行する。米国を中心に母体血中のウイルス量が低い場合には選択的帝王切開は不要だとする考え方もある。しかし我が国においては, HIV 感染妊娠数は年間 30 例程度と少なく, 分娩の準備にかかる時間, 大人数のスタッフの必要性など, 夜間の対応も考慮する

と選択的帝王切開が望ましいと思われる⁴⁾。以前は 35~36 週での帝王切開を行っていたが, 出生後の呼吸障害, 沐浴による低体温, AZT シロップの経口投与困難などが児に認められたため, 現在では, 急な破水や陣痛発来に対処できるように妊娠 35 週より管理入院を行い, 児の成熟を待つて 37~38 週前半の正期産となるよう, 原則として通常どおり腰椎麻酔下に帝王切開を行っている⁵⁾。入院後, 産科, 感染症を専門とする内科, 小児科と帝王切開数日前に合同カンファレンスを行い, 図のような妊婦のプロフィールを確認し, 陣痛発来, 破水などの緊急の対応についても確認を行う。また手術室, 麻酔科との連携も大切である。

切迫早産の場合, 積極的に子宮収縮を抑制するが, 帝王切開予定日を早めることも検討する。手術予定日前に陣痛発来あるいは破水した場合, 直ちに AZT 点滴静注を開始し, 同時に帝王切開の準備を進める。分娩経過が急速で, 帝王切開術に比べ経腔分娩のほうが早期に児娩出可能と判断した場合には経腔分娩とする。

帝王切開施行にあたっては, 付着した母体血が児の体内に入らないように, 子宮切開創からの出血を減らすように注意を払うこと, ガーゼ等で児の皮膚を十分に拭うこと, 過剰な口腔内吸引で粘膜損傷を起こさないことなどに留意する必要がある。

抗 HIV 薬は手術前日夜まで内服とし, 当日手術開始 3 時間前から AZT 点滴投与(2 mg/kg/時で 1 時間投与, その後は 1 mg/kg/時)を手術終了まで継続し, 分娩後は経口摂取が可能となった時点で内服を再開する⁶⁾。児には出生後 8~12 時間以内に AZT シロップ(2 mg/kg を 6 時間ごと)を 6 週間投与する^{1,2)}。

母乳中には多量の HIV が含まれるため断乳を行う^{1,2)}。プロモクリプチン, テルグライド, カベルゴリンなど, 通常止乳に使用される薬剤と抗ウイルス薬のプロテアーゼ阻害薬とを併用すると, これらの薬剤代謝に関与している CYP3A4 に対して競合的に作用するため, 代謝が阻害されて血中濃度が上昇する可能性があり, 消化器症状や精神・神

表 HIV 感染妊婦の管理手順

週数	妊娠初期 1回/2週	14～23週 1回/2～4週	23週～入院時 1回/2週	35～36週 1回/週	37週	分娩後
妊婦健診 産科管理上の注意点	分娩予定日の決定	切迫流・早産	切迫早産・IUGR 破水	入院管理 帝切準備 陣発・破水時の対応 合同カンファ (術前検査)	予定帝切 合同カンファ	授乳禁止 乳腺炎
検査項目 血液	血液型 血算 生化 凝固 感染症スクリーニング RPR TPHA HBV HCV ATL CMV ウイルス量 CD4	血算 生化 (乳酸)	血算 生化 (乳酸)	血算 生化 凝固 T&S		血算 生化 (乳酸)
腔分泌物など	腔培 Candida GBS クラミジア 淋菌 子宮腔部細胞診	ウイルス量 CD4 腔培(20週前後)	ウイルス量 CD4	ウイルス量 CD4 腔培(35週前後) GBS	ウイルス量 CD4	ウイルス量 CD4
超音波 NST その他	腔経	腔経	腔経 少なくとも1回	腔経 1回/週以上 胸部X-P 心電図		
HIV 治療 (ACTG076, HAART)	内服薬の決定	14～16週 HAART 開始			手術当日 AZT 静注	

合同カンファのメンバー：産科(医師, 助産師), 小児科(医師, 看護師), 感染症科(医師, 看護師), コーディネーター(ナース)

患者病歴番号			
氏名		年齢	歳
HIV抗体陽性と判明した日 (/ /)			
治療前CD4		/mm ³	(/ /)
治療前ウイルス量		copies/ml	(/ /)
抗ウイルス療法開始	(/ /) ~		
抗ウイルス療法内容			
日和見感染予防			
当院産科初診日	(/ /)	: 週 日	
分娩予定日	(/ /)		
帝王切開直前CD4		/mm ³	(/ /)
帝王切開直前ウイルス量		copies/ml	(/ /)
内科合併症			
妊娠経過・特記事項			
推定体重		g	(/ /) : 週 日
経腹超音波所見			
帝王切開予定日	(/ /)	: 週 日	
分娩前日	(/)	まで抗ウイルス薬 ()	内服
当日分娩前	手術開始3時間前からAZT点滴静注 (体重 kg) 点滴用AZT2A (400mg/40ml) + 5%Glu 160ml (2mg/ml) に調整 (:) ~ m/h (2mg/ml) で1時間 (:) ~ m/h (1mg/ml) で継続し手術終了まで		
当日分娩後	経口摂取可能となったら抗ウイルス薬を再開する 母乳禁：乳房冷却 新生児：出産後8~12時間以内にAZTシロップ内服		
* 切迫早産の場合：積極的に子宮収縮を抑制するが、帝王切開予定日を早めることも検討する			
* 帝王切開予定日前に陣痛発来あるいは破水した場合：入院後直ちにAZTの点滴静注を開始し、同時に帝王切開の準備を勤める。分娩経過が急速で、帝王切開術に比べ経膈分娩のほうが早期に娩出可能と判断した場合には経膈分娩とする。			
* その他の連絡事項			

図 合同カンファレンスのためのデータシート

経症状などの副作用を強く発現させる可能性があるため、原則として薬剤ではなく乳房のクーリングによる断乳を行っている^{1,4)}。

母子感染予防対策を行わなかった場合、約2割の児に感染が起こる。抗HIV療法を行ったが経膈

分娩の場合は7%、選択的帝王切開を行ったが抗HIV療法を行わなかった場合は10%、抗HIV療法と選択的帝王切開を行った場合は2%の母子感染率とされる。現在、我が国における母子感染率は1.6%に抑えることが可能となっており、特に

HAARTがなされた症例では母子感染はない。当科では、2006年5月までに32例のHIV感染妊娠例を経験しており、うち22例は当科において分娩、4例が他院に転院または帰国後分娩、5例が人工妊娠中絶、1例が子宮外妊娠となった。分娩した22例のうち19例はいずれも選択的帝王切開、3例は経膣分娩でいずれも母子感染は起こっていない。

HIV感染妊婦の妊娠、出産、育児には、産科医、助産師、感染症を専門とする内科医、小児科医の連携が不可欠である。当院では専任のコーディネーターナースが情報提供後の理解度の確認や、感染予防に関する日常生活上の注意点や情報の提供を行い、患者やその家族が今度の療養の見通しを立てられるよう支援を行っている⁵⁾。

おわりに

HIV感染妊娠はきっちり管理されれば、母子感

染はほぼ100%防止できるようになった。今後は母体にHAARTが行われていた場合、帝王切開時のAZT点滴投与や出生児へのAZT投与の必要性など、エビデンスが乏しいと考えられる項目に関するさらなる検討が必要である。

文献

- 1) 稲葉憲之：HIV母子感染予防対策マニュアル 第3版，平成15年度厚生労働科学研究補助金エイズ対策事業，東京，pp312-317，2003
- 2) HIV感染症治療研究会：HIV感染症「治療の手引き」第9版，東京，2005
- 3) Beckerman KP：Conception, Pregnancy, and parenthood：Maternal health Care and the HIV Epidemic. Sande MA, Volberding PA：The medical management of AIDS, W.B.Saunders, Philadelphia, pp555-573, 1999
- 4) 五味淵秀人：感染症合併妊娠 HIV感染症. 産と婦 72 (11)：1542-1547, 2005
- 5) 箕浦茂樹, 大金美和, 三島典子, 他：HIV感染妊娠女性に対する看護と支援. 周産期医学 36 (5)：587-592, 2006

* * *