

## 妊婦 HIV スクリーニングの実態と問題点

稲葉 憲之\*<sup>1</sup> 大島 教子\*<sup>1</sup> 西川 正能\*<sup>1</sup>  
 和田 裕一\*<sup>2</sup> 喜多 恒和\*<sup>3</sup> 外川 正生\*<sup>4</sup>  
 塚原 優己\*<sup>5</sup> 戸谷 良造\*<sup>6</sup>

## はじめに

我が国における HIV 感染は近年増加傾向にあり、この傾向は先進国の中では唯一の例外である。隣国の中国ではエイズ患者の急増にその対策が追いつかず、「棄民政策」さえ台頭しつつある（中日育児シンポジウム、2004年9月、西安）。我が国でも女性感染者の増加が顕著であり、感染妊婦と母子感染の急増が危惧される。我々は厚生労働省のエイズ対策研究事業の研究班として HIV 母子感染ゼロを目指して、①周産期における HIV 感染対策の現状把握、②日本の国情に合致した最も有効な母子感染防止対策の確立と標準化、③ HIV 母子感染及びその対策に関する医療

Inaba Noriyuki

- \*<sup>1</sup> 獨協医科大学産婦人科  
 (〒321-0293 栃木県下都賀郡壬生町北小林 880 番地)  
 \*<sup>2</sup> 国立病院機構 仙台医療センター産婦人科  
 \*<sup>3</sup> 防衛医科大学校産婦人科  
 \*<sup>4</sup> 大阪市立総合医療センター小児内科  
 \*<sup>5</sup> 国立成育医療センター周産期診療部産科  
 \*<sup>6</sup> 医療法人 和合病院

関係者のみならず一般国民に対する啓発教育・広報活動の推進を一貫して行ってきた。

①周産期における HIV 感染対策の現状把握については、a) 妊婦 HIV スクリーニングの実施状況の一次、二次アンケート調査研究（産科施設 1,570、小児科施設 3,142）（和田分担）、b) HIV 感染妊婦並びにその出生児の後方視的調査研究（喜多、外川分担）、c) HIV 母子感染予防対策未施行例の社会疫学的解析と予防対策に関する研究（戸谷分担）、d) 妊婦 HIV スクリーニング検査における偽陽性率の検討と陽性例への対応（塚原分担）などを後方視的または前方視的に調査検討を実施した。

本稿では当班の平成 15 年、16 年度研究報告書の成績をもとに妊婦 HIV スクリーニングの実態とその問題点について以下述べたい。

## 1. 妊婦 HIV スクリーニングの実態

当班は、平成 11 年度より厚生省編「全国病院便覧」に記載されている産科または産婦人科を標榜する施設のうち個人の開設するものを除く

表1 都道府県別 HIV スクリーニング検査実施率

都道府県	分娩件数	HIV 検査件数	HIV 検査率
山梨	2,690	2,690	100.0%
滋賀	2,762	2,762	100.0%
埼玉	19,606	19,602	100.0%
三重	5,793	5,789	99.9%
静岡	12,327	12,309	99.9%
奈良	3,440	3,432	99.8%
新潟	10,349	10,285	99.4%
長野	10,197	10,119	99.2%
京都	10,116	10,033	99.2%
石川	5,233	5,168	98.8%
茨城	11,496	11,330	98.6%
群馬	6,085	5,955	97.9%
福島	8,358	8,158	97.6%
愛媛	4,121	3,986	96.7%
宮城	7,993	7,716	96.5%
岡山	7,112	6,819	95.9%
大阪	38,159	36,497	95.6%
千葉	10,040	9,595	95.6%
栃木	4,916	4,668	95.0%
兵庫	18,631	17,532	94.1%
富山	3,725	3,479	93.4%
東京	43,696	40,593	92.9%
神奈川	31,789	29,378	92.4%
岐阜	5,871	5,411	92.2%
佐賀	1,598	1,465	91.7%
鹿児島	6,417	5,779	90.1%
高知	2,584	2,308	89.3%
北海道	21,106	18,669	88.5%
香川	4,329	3,828	88.4%
愛知	28,213	24,943	88.4%
広島	10,900	9,617	88.2%
秋田	5,755	5,068	88.1%
福井	3,532	2,940	83.2%
和歌山	3,813	3,117	81.7%
徳島	2,423	1,948	80.4%
山形	6,355	5,073	79.8%
大分	2,514	1,956	77.8%
山口	5,199	3,928	75.6%
沖縄	7,423	5,552	74.8%
岩手	5,674	4,238	74.7%
青森	4,405	3,231	73.3%
熊本	6,342	4,651	73.3%
島根	3,429	2,438	71.1%
福岡	9,933	6,813	68.6%
長崎	4,512	3,064	67.9%
鳥取	2,191	1,318	60.2%
宮崎	2,124	1,144	53.9%
全国	435,276	396,394	91.1%

1,570 施設に対して、妊婦 HIV 検査率について調査を行ってきた。今年度は1,557 件の有効送付数に対して最終回答数は1,168 件で、最終回答率は75.0%であった。質問項目は次の5点であ

る。①昨年度全国調査(平成15年10月)以後に診療し、本調査に未報告の HIV 感染妊婦数、②昨年度全国調査(平成15年10月)以前に診療し、本調査に未報告または報告したかどうか不明の HIV 感染妊婦数、③妊婦に対する HIV 抗体検査の実施率、④平成14年1月から12月までの分娩件数、⑤回答者氏名と医療機関名。上記質問に対しての有効回答の統計学的解析を行った。

送付数は1,570 件であり、回収数は843 件、回収率54.0%、産婦人科廃止等による返送は10 施設であり、有効送付数1,560 件であった。「回収率」とは、送付数に対しての本研究班に戻ってきた葉書の数から算出したものであり、「回答率」とは、送付数から産婦人科廃止等で返信された葉書の枚数を差し引いたもの(有効件数)に対して回答のあった葉書の数から算出したものである。有効回答率は56.2%で、都道府県別有効回答率は83.3%(大分県)~10.4%(兵庫県)に分布した。回答率にばらつきがあり、さらに回答率が低かったために、平成15年11月10日に未回答施設に対して再調査を行った。最終的に有効回答率は本年は75.0%(昨年比0.2%減)に達し、都道府県別有効回答率は91.7%(徳島県)~55.6%(栃木県)であった。本調査では日本全国での年間分娩件数1,153,660 件(平成15年:母子保健の主なる統計—平成15年度刊行—編集:財団法人母子衛生研究会,発行:母子保健事業団,東京)のうち病院調査で435,276 人(37.7%,昨年比1.1%減)の妊婦を捕捉したことになる。

妊婦 HIV スクリーニング実施率は、「各病院での分娩件数」×「各病院での HIV スクリーニング検査実施率」=「各病院での検査件数」,「総検査件数」÷「総分娩件数」×100=「検査率(%)」とした。検査率は全国平均で91.1%(昨年比1.4%増)であった(表1)。もっとも検査率の高かった県は山梨県、滋賀県で100.0%、もっとも検査率の低かった県は宮崎県で53.9%であった。依然として地域差があるが、その差が縮小される



表2 都道府県別 HIV スクリーニング検査実施率の年次推移

都道府県	抗体検査率						昨年度比	11年度比
	16年度	15年度	14年度	13年度	12年度	11年度		
佐賀	91.7%	91.8%	33.9%	0.1%	0.1%	2.3%	-0.1%	89.4%
沖縄	74.8%	72.0%	36.8%	30.3%	6.3%	5.1%	2.8%	69.7%
和歌山	81.7%	85.1%	67.7%	48.9%	34.5%	13.9%	-3.4%	67.8%
島根	71.1%	57.5%	42.8%	21.3%	20.5%	17.6%	13.6%	53.5%
愛媛	96.7%	95.2%	61.4%	73.1%	40.8%	45.6%	1.5%	51.1%
高知	89.3%	78.7%	47.2%	53.9%	33.4%	40.0%	10.6%	49.3%
大分	77.8%	68.3%	50.2%	74.6%	31.0%	31.2%	9.5%	46.6%
山口	75.6%	70.4%	64.6%	38.0%	32.2%	29.9%	5.2%	45.7%
山形	79.8%	74.6%	66.3%	64.2%	49.7%	34.5%	5.2%	45.3%
香川	88.4%	93.2%	84.1%	76.9%	45.8%	44.2%	-4.8%	44.2%
徳島	80.4%	85.3%	79.3%	50.3%	50.1%	37.9%	-4.9%	42.5%
福岡	68.6%	56.9%	40.5%	34.8%	36.0%	32.7%	11.7%	35.9%
兵庫	94.1%	84.1%	80.0%	68.9%	73.0%	58.5%	10.0%	35.6%
鹿児島	90.1%	88.2%	88.9%	85.6%	71.6%	55.2%	1.9%	34.9%
奈良	99.8%	94.0%	87.1%	96.4%	85.2%	68.7%	5.8%	31.1%
岡山	95.9%	85.9%	85.2%	75.8%	69.2%	66.6%	10.0%	29.3%
岩手	74.7%	59.5%	58.3%	58.9%	56.6%	46.9%	15.2%	27.8%
滋賀	100.0%	98.0%	76.7%	71.5%	75.6%	73.0%	2.0%	27.0%
北海道	88.5%	81.9%	79.9%	71.5%	69.8%	64.0%	6.6%	24.5%
熊本	73.3%	83.7%	68.5%	68.0%	60.8%	49.7%	-10.4%	23.6%
広島	88.2%	83.3%	78.6%	81.1%	76.8%	65.0%	4.9%	23.2%
秋田	88.1%	95.5%	96.0%	68.9%	72.1%	65.0%	-7.4%	23.1%
大阪	95.6%	93.4%	87.0%	81.1%	83.3%	74.0%	2.2%	21.6%
栃木	95.0%	99.6%	99.3%	87.4%	90.2%	75.0%	-4.6%	20.0%
宮崎	53.9%	48.6%	32.5%	47.0%	22.0%	34.0%	5.3%	19.9%
福井	83.2%	100.0%	75.6%	54.1%	71.7%	65.3%	-16.8%	17.9%
京都	99.2%	89.1%	94.5%	95.1%	91.5%	81.4%	10.1%	17.8%
長野	99.2%	98.3%	97.4%	95.1%	98.4%	82.8%	0.9%	16.4%
三重	99.9%	91.3%	93.9%	90.8%	96.5%	83.6%	8.6%	16.3%
愛知	88.4%	95.0%	89.9%	90.9%	83.6%	73.8%	-6.6%	14.6%
長崎	67.9%	58.1%	58.8%	59.7%	56.5%	55.2%	9.8%	12.7%
富山	93.4%	90.5%	89.3%	81.3%	79.4%	80.7%	2.9%	12.7%
岐阜	92.2%	93.3%	97.0%	94.9%	97.0%	80.6%	-1.1%	11.6%
静岡	99.9%	100.0%	100.0%	98.4%	98.4%	88.4%	-0.1%	11.5%
新潟	99.4%	99.1%	99.5%	99.9%	95.1%	88.4%	0.3%	11.0%
群馬	97.9%	97.7%	98.9%	94.2%	95.7%	87.1%	0.2%	10.8%
石川	98.8%	98.7%	94.9%	97.3%	92.1%	89.3%	0.1%	9.5%
鳥取	60.2%	44.2%	52.2%	49.6%	59.6%	52.2%	16.0%	8.0%
福島	97.6%	98.6%	99.5%	92.8%	96.0%	89.9%	-1.0%	7.7%
茨城	98.6%	98.3%	98.7%	98.4%	94.7%	91.2%	0.3%	7.4%
山梨	100.0%	100.0%	99.9%	100.0%	95.7%	94.8%	0.0%	5.2%
宮城	96.5%	95.4%	88.8%	95.7%	95.1%	91.5%	1.1%	5.0%
東京	92.9%	95.2%	93.8%	96.5%	91.5%	88.8%	-2.3%	4.1%
埼玉	100.0%	99.5%	99.0%	99.1%	99.6%	96.1%	0.5%	3.9%
千葉	95.6%	98.7%	95.0%	98.6%	97.5%	95.1%	-3.1%	0.5%
神奈川	92.4%	96.8%	96.0%	95.8%	97.0%	93.1%	-4.4%	-0.7%
青森	73.3%	57.7%	41.1%	42.6%	69.0%	87.8%	15.6%	-14.5%
全国	91.1%	89.7%	85.0%	82.6%	79.7%	73.2%	1.4%	17.9%

傾向にあることが明らかになった。昨年比で10%以上検査率が上昇した府県は、鳥取県(16.0%増)、青森県(15.6%増)、岩手県(15.2%増)、島根県(13.6%増)、福岡県(11.7%増)、

高知県(10.6%増)、京都府(10.1%増)、兵庫県(10.0%増)、岡山県(10.0%増)(昨年比)の9府県であった(表2)。また、調査を開始した平成11年度との比較で30%以上検査率が上昇し

表3 病院区分別 HIV スクリーニング検査実施率 (エイズ拠点病院・大学病院)

区分	有効送付数	回答数	回答率	分娩件数	検査件数	検査率	未実施施設数	未実施施設率
拠点病院	309	257	83.2%	121,612	116,049	95.4%	9	3.5%
拠点病院以外	1,248	911	73.0%	313,664	280,345	89.4%	93	10.2%
合計	1,557	1,168	75.0%	435,276	396,394	91.1%	102	8.7%
大学病院	112	101	90.2%	38,612	36,768	95.2%	4	4.0%
大学病院以外	1,445	1,067	73.8%	396,664	359,626	90.7%	98	9.2%
合計	1,557	1,168	75.0%	435,276	396,394	91.1%	102	8.7%

た県は、佐賀県 (89.4%増)、沖縄県 (69.7%増)、和歌山県 (67.8%増)、島根県 (53.5%増)、愛媛県 (51.1%増)、高知県 (49.3%増)、大分県 (46.6%増)、山口県 (45.7%増)、山形県 (45.3%増)、香川県 (44.2%増)、徳島県 (42.5%増)、福岡県 (35.9%増)、兵庫県 (35.6%増)、鹿児島県 (34.9%増)、奈良県 (31.1%増) (11年度比) の15県であった。調査を開始した平成11年度との比較では、47都道府県で青森県と神奈川県を除く45都道府県で検査率が上昇していた。昨年比で検査率が減少していたのは1都14県あった。このうち1都12県は10%未満の変動であり、さらにこのうちの1都10県は5%未満の変動であった。福井県では、昨年度比で16.8%の検査率の減少が見られた。昨年度と今年度ともに回答した施設は福井県内で9施設あったが、このうち1施設で昨年は全例に HIV スクリーニング検査を行っていたが、今年は1例も検査を行わなかった施設があったため、県内の検査率が大きく減少したと考えられた。他の8施設では昨年と今年で検査率に変化はなかった。青森県では平成11年度調査開始以降、検査率が減少し続けていたが (41.1%:平成14年度調査)、平成15年度調査以降検査率が上昇に転じた (73.3%:平成16年度調査)。青森県は、平成11年4月より県による HIV 抗体検査の公的補助を中止したため検査率が急激に減少したが、検査率の減少に歯止めがかかったと推測する。千葉県でも平成15年に県の全額公費負担を中止しているが、

検査率は平成11年度調査開始以来95%以上で推移している (表2)。

全国平均検査率 (91.1%) を上回る県はほとんど関東・甲信越、東海・北陸、近畿ブロックに所属する県であった。ブロック別の検査率は、北海道・東北ブロックで87.4%、関東・甲信越ブロックで95.6%、東海・北陸ブロックで92.8%、近畿ブロックで95.4%、中国・四国ブロックで85.6%、九州ブロックで74.5%であった。昨年比では、北海道・東北、近畿、中国・四国、九州の各ブロックで約5%程度検査率が上昇したが、関東・甲信越、東海・北陸ブロックでは、それぞれ1.7%、2.7%検査率が減少していた。平成11年度では、関東・甲信越ブロックと九州ブロックで52.9%の差があったのに対し、今年度では21.1%にまで差が縮小していた (平成11年度「厚生省 HIV 感染症の疫学研究班・母子感染に関する研究グループ」報告書および平成12~14年度「厚生労働省 妊産婦の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班・HIV母子感染予防の臨床的研究班」報告書の数値を含む)。

拠点病院・拠点病院以外の病院との区別による HIV スクリーニング検査率を表3に示す。回答率は拠点病院で約10%上回っていた。検査率は拠点病院で95.4%、拠点病院以外の病院で89.4%であり、その差は6.0%であった。拠点病院では回答のあった257施設中9施設 (3.5%) でまったく検査を行っていなかった。大学病院・大学



病院以外の病院との区別による HIV スクリーニング検査率調査では、回答率は大学病院で約 16% 上回っていた。検査率は大学病院で 95.2%、大学病院以外の病院で 90.7% であり、その差は 4.5% であった。大学病院では回答のあった 101 施設中 4 施設 (4.0%) でまったく検査が行われていなかった。

ここで述べた成績は、平成 11 年度厚生労働科学研究費補助金エイズ対策事業「妊産婦の 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」班、分担研究「HIV 母子感染予防の臨床的研究」班が調査を開始し、以後「妊婦 HIV 抗体検査率の全国調査」として報告してきたが、近年、スクリーニングとして抗原・抗体同時測定キットが臨床の場に導入されてきており、今年度から HIV 検査として総称した。また、平成 15 年度は全国の病院のほか診療所に対しても調査を実施したところ、診療所での実施率は 80.8% と病院に比べて約 9% 実施率が低いことが確認された。しかし、全体的な傾向として病院と診療所での調査結果に極端な違いがなかったため、平成 16 年度は再び病院のみについての全国調査を行った。

平成 11 年度の調査開始時 73.2% だった全国病院の平均 HIV 検査率が平成 16 年度は遂に 90% を超えたことが確認された。調査開始時の全国平均 (73.2%) を下回ったのは 5 県のみで、26 都道府県が 90% を上回った。さらに、検査率の低かった中国・四国、九州ブロックでは検査率の上昇が持続して認められた。これらの結果は HIV 感染症がマスメディアその他の情報の中で、我が国では依然として HIV 感染が増加していることや若年者の性感染症の増加についての報告がなされていること、HIV 感染妊婦が大都市周辺のみならず地方都市でも発生してきていること、また、妊婦 HIV スクリーニングの必要性に関して日本産科婦人科学会が推奨したこと、さらに本研究班が我が国の現状を毎年学会や研究成果発表会で啓発してきたことなどの結果と考えられる。ま

た、同じくマスメディアの報道などにより妊婦自身に HIV 検査がより身近になったことで、検査を受けることの意義が理解されるようになったことも大きいと考えられる。ただ、個々に各都道府県別の実施率を見ると前年度と大きく結果が異なっているところも見られており、これは県や市町村、医師会、大学などの取り組みによって実施率が上昇した地区もある一方、病院数の少ない県では産婦人科の閉鎖による病院数の減少が実施率に大きく影響したところもあり、今後数年の推移を見守る必要があると思われる。

## 2. HIV 感染妊婦と母子感染の現状

今回の病院 1 次調査で平成 15 年 10 月以後の HIV 感染妊婦数は 16 都府県でのべ 40 人 (昨年比 13 人増) であった。全 346 例の都道府県別全国地図を図 1 に示す。東京 88 例、千葉 46 例、愛知 28 例、神奈川 27 例、埼玉 21 例、大阪 18 例、茨城 17 例、長野 16 例、静岡 12 例、栃木 11 例が上位 10 都府県であり、次いで宮城・京都・福岡の 6 例である。北海道・東北ブロックでは、宮城などにおいて散発的に発生し、14 例 (4.0%) のみであるが、関東・甲信越ブロックにおいては、群馬・新潟・山梨を除く都県ではほぼ毎年感染妊婦が報告され、238 例 (68.8%) を占めている。東海・北陸ブロックでは、報告のほとんどは静岡・愛知で 44 例 (12.7%) と関東・甲信越ブロックに次いで多い。近畿ブロックでは、大阪から毎年報告があり 31 例 (9.0%) である。中国・四国ブロックおよび九州ブロックからは各 7 例 (2.0%)、12 例 (3.5%) の報告しかなく、1999 年以降散発的に報告されるのみである。さて、平成 14 年 10 月以前の未報告 HIV 感染妊婦症例は 17 例であった。この 17 例と今年度および昨年度までの HIV 感染妊婦報告数を合計すると約 35 都道府県で 463 人になる。平成 16 年 9 月末日まで

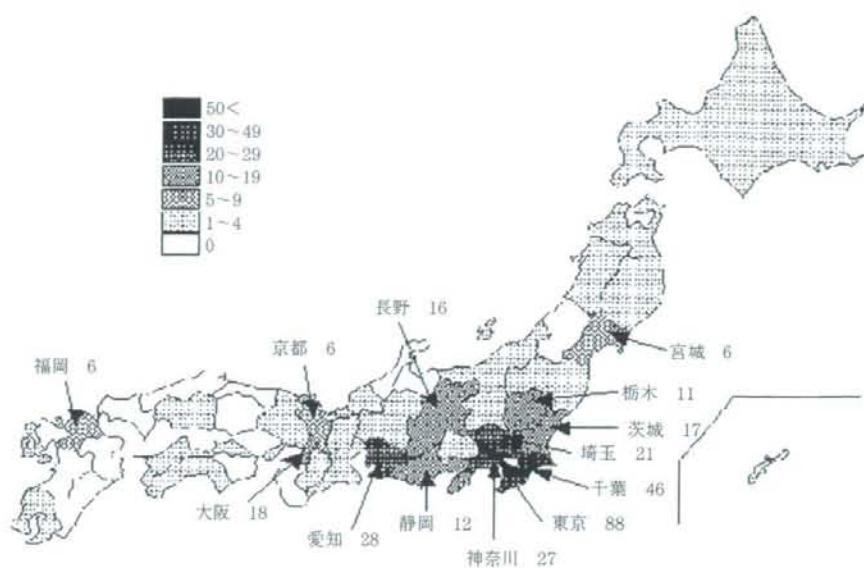


図1 HIV感染妊婦の発生都道府県別分布 (平成16年度 346例)

表4 HIV-1感染妊婦の国籍別年次別発生状況

年 (転帰時)	国 籍					
	日本	タイ	ブラジル	フィリピン	ケニア	中国
1987	1					
1988	2					
1989						
1990	2					
1991	1					
1992	2	3	1			
1993	3	8				
1994	4	7	2		1	
1995	6	6		2		
1996	10	10	1			
1997	6	11	4	1		
1998	9	18	2	1	1	
1999	17	13	1	1	1	
2000	16	11	3		1	1
2001	11	7	5		1	1
2002	14	1	4		2	1
2003	5	8	1	3		1
2004	12	4	2	3		2
2005	7	2				
不明	1	1	0			
合計	129	110	26	11	7	6

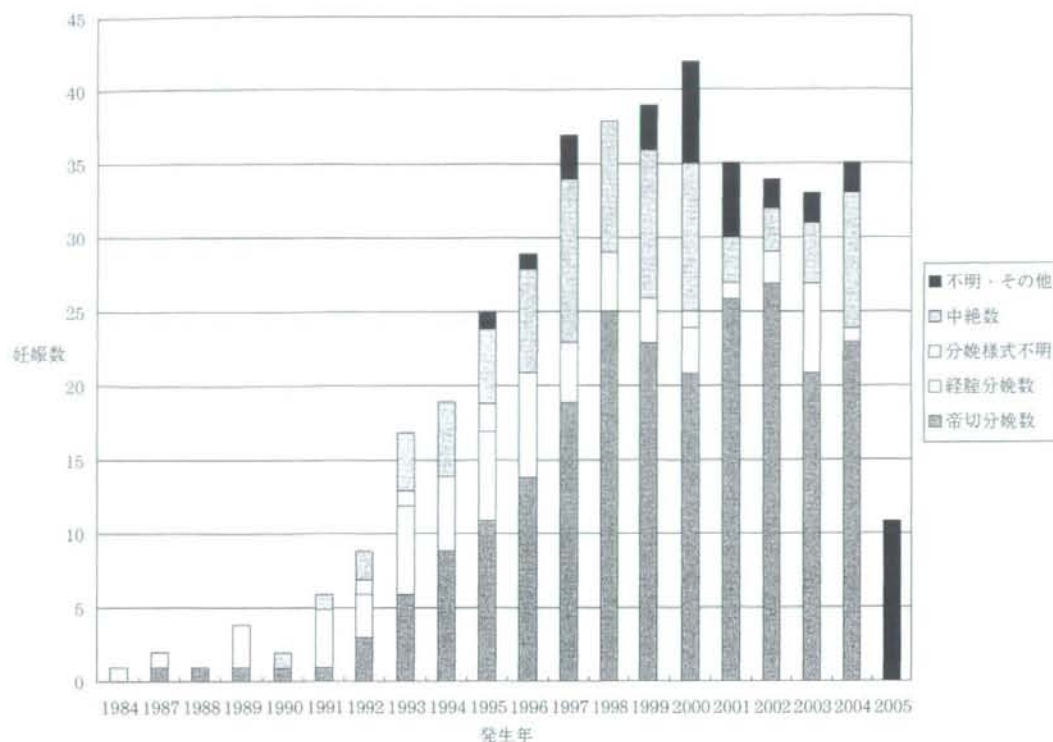


図2 HIV感染妊婦の年次別発生状況 (産科小児科統合ファイル 423例)

のエイズ動向委員会による HIV 感染者数は 6,337 人であった。都道府県別の HIV 感染者数と HIV 感染妊婦数は昨年度同様相関していた (相関係数 = 0.919)。すなわち各都道府県において、HIV 感染者が 25 人いれば HIV 感染妊婦が 1 人発生することになる。また、HIV 感染者が 20 人以上いる都道府県では HIV 感染妊婦症例が必ず存在しており、10 人未満の県では HIV 感染妊婦の症例はなかった。HIV 感染者数が 10 人以上 20 人未満の県のうち、和歌山県 (19 人)、熊本県 (18 人)、青森県 (15 人)、富山県 (14 人)、山形県 (10 人) (HIV 感染者数) の 5 県では感染妊婦症例はなかったが、今後、HIV 感染妊婦症例が新たに現れる可能性が高いと推測される。

今年度の妊婦国籍報告は新たに 46 例が加えられたが、日本人が 22 例と約半分を占め、タイ人は 9 例のみであった。マレーシア人・アルゼンチン人・イギリス人の各 1 例が初めて報告された。

表5 HIV感染妊婦の妊娠転帰

妊娠転帰	平成 15 年度 報告数	今年度追加 報告数	合計
帝王切	161	18	179
経膈	32	1	33
中絶・流産	72	12	84
妊娠中・不明	38 (3 例帝王切)	15	50
合計	303 (300)	46	346

中国人 2 例、韓国人 1 例も含まれている。表 4 に上位 6 カ国の国籍別年次別発生状況を示す。日本人 129 例 (37.3%)、タイ人 110 例 (31.8%) で、この 2 カ国で約 70% を占めている。次いでブラジル人 26 例 (7.5%)、フィリピン人 11 例 (3.2%)、ケニア人 7 例 (2.0%)、中国人 6 例 (1.7%) であった。1999 年以降は 2003 年を除き、日本人が毎年の半数前後を占めている。ブラジル人・フィリピン人・中国人も少数ではあるが毎年報告されている。



表6 HIV-1感染妊婦の年次別妊娠転帰と母子感染

年 (転帰時)	妊娠数	分娩		帝王切開		感染	経膈分娩	
		分娩数	分娩率 (%)	帝王切開数	帝王切開率 (%)		経膈分娩数	経膈分娩率 (%)
1987	1	1	100				1	100
1988	2	2	100	2	100			
1989								
1990	2	1	50	1	100			
1991	1							
1992	8	6	75	3	50		3	50
1993	12	8	67	4	50		4	50
1994	17	12	71	8	67	1	4	33
1995	20	14	70	9	64	1	5	36
1996	23	16	70	11	69		5	31
1997	28	15	54	13	87		2	13
1998	33	24	73	23	96		1	4
1999	40	27	68	25	93		2	7
2000	33	15	45	14	93		1	7
2001	29	19	66	18	95		1	5
2002	31	18	58	18	100			0
2003	23	15	65	12	80		3	20
2004	28	19	68	18	95		1	5
2005	11	0	0	0	0		0	0
不明	4							
合計	346	212	61	179	84	2	33	16

\* ( ) 内は児の異常による受診を機に母親の HIV 感染が確認された症例数

過去 20 年間の HIV 感染妊婦数の年次推移 (妊娠転帰を含む) を図 2 に示す。また、表 5 に図 2 に示されたこれまでの HIV 感染妊婦の妊娠転帰を整理した。2004 年以降に分娩転帰を迎える新規症例は 39 例、2003 年以前の未報告例は 7 例で、昨年度までの症例ファイルで重複していたものが 10 例あり、今年度調査での追加症例数は 46 例となった。それらの妊娠転帰は帝王切開 18 例、経膈分娩 1 例、中絶・流産は 12 例と例年に比べて多めであり、妊娠中・不明などは 15 例であった。昨年度調査では妊娠中であった 3 例が今年度調査では帝王切開として報告されたため、総数は 346 例となる。内訳は帝王切開 179 例、経膈分娩 33 例、中絶・流産 84 例、妊娠中・不明などが 50 例となった。

HIV 感染妊婦の年次別妊娠転帰と母子感染の有無を表 6 に示した。妊婦の中で分娩を選択したものの (分娩率) は例年 60 % 前後で変化はない

が、中絶は例年 10 % 程度であったのが 2004 年は 9 例 (32 %) と、2000 年以前と同程度まで増加した。分娩した中ではやはり帝王切開がほとんどで、2004 年は 95 % と例年通りであった。一方、経膈分娩は 1997 年以降毎年 1~3 例のみで、2004 年は妊娠 33 週の前期破水で飛び込み入院後、早産となった 1 例のみであった。母子感染の有無は未定である。母子感染は、帝王切開では 1994 年と 1995 年に各 1 例報告されているのみで、経膈分娩でも 12 例報告があるものの 2001 年以降は報告がない。分娩様式ごとの母子感染率を整理すると、帝王切開は 179 例で、母子感染が不明と報告されたままになっている 30 例を除く 149 例のうち 2 例のみに母子感染を認め、感染率は 1.3 % であった。一方経膈分娩では、33 例から感染不明な 6 例を除いた 27 例のうち 12 例に母子感染を認め、感染率は 44.4 % であった。しかしこの 12 例には児の異常による受診を機に母親の HIV 感染



表7 分娩様式と抗ウイルス薬の投与状況

分娩様式	感染の有無	投与なし/不明	投与あり				合計	
			AZTのみ	2剤併用	3剤以上併用	小計		
帝王切開	非感染	38	49	5	55	109	74.1	147
	感染	1	1			1	50.0	2
	不明	10	5		15	20	66.7	30
	小計	49	55	5	70	130	72.6	179
経膣分娩	非感染	11	1		2	3	21.4	14
	感染	12				0	0.0	12
	不明	6	1			1	14.3	7
	小計	29	2	0	2	4	12.1	33
合計		78	57	5	72	134	63.2	212

が判明した7例が含まれており、正確な母子感染率を求める上でバイアスがかかっていることになる。この7例を除くと20例中5例(25.0%)となり、これまでの経膣分娩の母子感染率に関する諸家の報告と一致する。帝王切開では妊娠36~37週が圧倒的に多く、最近では本研究班が作成したHIV母子感染予防対策マニュアルの改訂に伴い、妊娠36週以前の選択的帝王切開にこだわらず、陣痛発来前の妊娠37週の選択的帝王切開が増加しつつある。過去において報告したように、帝王切開にもかわらず母子感染に至った2例のうち1例は、ZDV治療後妊娠35週での帝王切開であったが、妊娠初期より妊婦の著明なCD4数の低下が確認されており、妊娠中の胎内感染が疑われている。妊娠40週の症例は緊急帝王切開による分娩例で、分娩直後にHIV感染が判明し、抗ウイルス療法はされていなかった。経膣分娩ではどの週数においても母子感染を認め、時期による差は認められない。平均妊娠週数は帝王切開36.0週、経膣分娩37.6週で、両者間に有意差を認めた。

分娩に至った212例のHIV感染妊婦への抗ウイルス薬の投与状況を表7に示す。帝王切開179例の72.6%に抗ウイルス薬が投与されていたが、経膣分娩33例では投与されていたのは4例(12.1%)のみであった。今年度追加分の経膣分娩1例を含む19例では、帝王切開の16例(84.2

%)に対して3剤以上を用いるHAART療法が行われていた。投与された抗ウイルス薬やその投与開始週数と投与期間が判明している帝王切開114例においては、LPV/RTV複合薬カレトラを含む4剤投与は6例(5.3%)、3剤投与は59例(51.8%)で、内訳はAZT(ZDV)+3TC+NFVがもっとも一般的で38例、次いでd4T+3TC+NFVが12例であった。AZT単剤投与は最近ではほとんど用いられず、無治療妊婦の分娩直前に投与されるのみである。

以上の当班の調査結果よりHIV母子感染予防対策を再設定すれば以下の如くである。①妊娠早期のHIV抗体検査による感染の診断、②HAARTによる抗ウイルス療法、③陣痛発来前の選択的帝王切開による分娩、④帝王切開時のZDV点滴投与、⑤出生児へのZDVシロップの予防投与および⑥児への人工栄養。この6項目は本研究班によるレトロスペクティブな検討からほぼ完全なHIV母子感染予防対策と考えられる。しかし上記①②および③についてはHIV感染妊婦症例の臨床的情報から検証されたと考えられるが、④⑤および⑥の効果についてのエビデンスは今回の検討からは得られておらず、今後産科小児科統合ファイルを用いて詳細に検討する必要がある。

表8 年間治療費が200万円、300万円だった場合の各予防システムの費用対効果費  
(200万円だった場合)

HIV 頻度	0.01%	0.02%	0.05%	0.1%
未実施 (control)	498,312	499,325	502,363	507,427
ACTG076	500,894	501,257	502,349	504,168
ACTG076+選択的帝王切開	500,668	500,805	501,219	501,907
HAART	500,709	500,888	501,425	502,319
HAART+選択的帝王切開	500,685	500,841	501,307	502,084
HAART+選択的帝王切開 (15%)	500,614	500,699	500,951	501,373

(300万円だった場合)

HIV 頻度	0.01%	0.02%	0.05%	0.1%
未実施 (control)	498,812	500,325	504,863	512,428
ACTG076	501,054	501,577	503,149	505,768
ACTG076+選択的帝王切開	500,708	500,885	501,419	502,307
HAART	500,749	500,968	501,625	502,719
HAART+選択的帝王切開	500,705	500,881	501,407	502,284
HAART+選択的帝王切開 (15%)	500,634	500,739	501,051	501,573

(単位：円/人)

### 3. 妊婦 HIV スクリーニングの問題点

HIV 母子感染を防止するためには妊婦 HIV スクリーニングが不可欠である。「先ずスクリーニングありき」が我が班の「班是」であるが、厚生省班研究選考委員会でのヒアリングで毎回問題になったのは、①全妊婦スクリーニングのコストエフェクティブネスであり、②検査の「偽陽性率」あるいは「陽性的中率」である。

まず、全妊婦スクリーニングのコストエフェクティブネスであるが、HIV 母子感染予防の主流になりつつある HAART について HIV 陽性妊婦の頻度と生まれてきた HIV 陽性児への治療費をパラメータとして医療経済的な観点から費用対効果比を検討した (表 8)。すなわち、日本における通常の妊娠・分娩費用に加えて、HIV スクリーニング費用、母子感染予防費、HIV 感染児へ

の治療費の総額を妊娠・分娩費用とし、それにより得られる非感染児を次世代数と考える。妊娠・分娩総費用を非感染児数で除し、次世代 1 人あたりを得るための費用対効果比として検討した。また、HIV 陽性児に対する治療期間は成人するまでの 20 年間とし、年間治療費を 200 万円と 300 万円に設定した。表 8 に示した如く、それぞれの予防法は ACTG076、ACTG076+選択的帝王切開、HAART、HAART+選択的帝王切開、コントロールとして未実施の 5 種類に、また妊婦の HIV 陽性頻度は 0.01~0.1% の 4 段階に設定した。国立国際医療センターのデータより HAART の治療費のうち純粋な母子感染予防費用を 15% と仮定した計算 (HAART+選択的帝王切開：15%) も行った。HIV 陽性児に対する年間治療費を 200 万円と 300 万円とした場合の HIV 非感染である次世代 1 人を得るための費用を妊婦 HIV 陽性頻度別に計算すると表 8 の如くで、いずれの場合も HAART による HIV 母子感染予防は ACTG076 や ACTG076+帝王切開に比して同等の費用

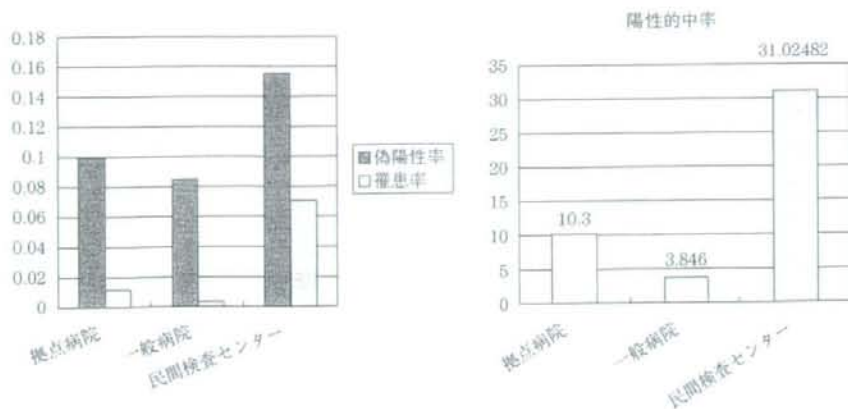


図3 各施設における偽陽性率と陽性的中率

対効果比を示した。また、HAARTに要する費用のうち母子感染予防のための部分の割合を15%と仮定した場合、HAARTを使用したHIV母子感染予防法がもっとも高い費用対効果比を示した。さらに、妊婦HIV陽性者が0.03%を超えれば、単純な経済的観点においても有益であることが明らかとなった。HIV予防法の経済的分岐点は妊婦HIV陽性率0.03%近辺であったが、もっとも重要なファクターはスクリーニング検査の費用である。試みにその費用を1検査あたり実費650円に設定すると、現在の日本における妊婦HIV陽性率より低い0.001%でもその経済的優位性が認められる結果である。

さて、現行のHIV妊婦スクリーニングの「偽陽性率」および「陽性的中率」である。全国のエイズ拠点病院314施設と年間分娩件数1,000件以上の産科施設43施設を対象に、平成15年度妊婦HIVスクリーニングの確認検査実施数、確認検査陽性件数などのアンケート調査（後方視的検討）および研究協力が得られた産婦人科2施設および民間検査センターとの共同研究により、妊婦検診でのHIVスクリーニング検査が陽性であった検体について追加・確認検査を実施し（前方視的検討）、これらの結果から偽陽性の発生率を検討した。スクリーニング検査はEIA法（エンザイグノストHIVインテグラル/デイドベーリング社：抗原抗体同時検査法）、追加・確認検査は

PA法（ジェネディアHIV-1/2ミックスPA、富士レビオ社：抗体検査法）、WB法（ラブプロット1、2、富士レビオ社：抗体検査法）、PCR法（アンプリコアHIV-1モニターVer.1.5、ロシュ・ダイアグノスティックス社：核酸増幅検査法）により行った。

エイズ拠点病院314施設と年間分娩件数1,000件以上の一般産科施設43施設を対象にアンケート調査を実施したところ、拠点病院125施設、一般病院22施設より回答を得た（回収率41.2%）。これらの施設の総分娩件数は拠点病院58,825件、一般病院30,140件で、妊婦HIVスクリーニング検査実施率は拠点病院89.4%、一般病院98.5%であった。スクリーニング検査実施率と分娩件数より概算した検査件数は、拠点病院で52,601件、一般病院で29,689件となる。うちスクリーニング検査陽性件数は、拠点病院56件（0.106%）、一般病院26件（0.088%）だった。拠点病院のスクリーニング検査陽性例に対し行われた確認検査59件（確認検査目的の紹介例を含む）の結果は、陽性（=感染例）が6件（総分娩件数の0.011%）、陰性（=スクリーニング検査偽陽性）が52件で偽陽性例の発生率は0.099%、スクリーニング検査の陽性的中率は10.3%（6/58）と低率であった。一般病院では、スクリーニング検査陽性26件中、確認検査陽性1件（0.0034%）、陰性25件で偽陽性例の発生率は0.084%、陽性



的中率は3.8% (1/26) とさらに低率だった (図3)。拠点病院と一般病院のデータを合算すると、妊婦 HIV スクリーニング検査 82,290 件中、スクリーニング検査陽性 82 件 (0.100%)、確認検査陽性 7 例 (0.0085%)、確認検査陰性 75 例で偽陽性の発生率は 0.091%、陽性的中率は 8.3% (7/84) だった。

平成 16 年 9～12 月までの産婦人科 2 施設の妊婦 HIV 検査検体数は 1,484 件であった。うちスクリーニング検査陽性件数は 5 件であり、これらの検体について追加・確認検査を実施したところ、すべて HIV 陰性であることが確認された。したがって、現在までに実施した妊婦検体におけるスクリーニング検査偽陽性の発生率は 0.34% である。CDC の発表している妊婦 HIV 抗体検査に関するガイドラインでも、HIV 罹患率が低い場合にはスクリーニング検査の陽性的中率が低くなることが指摘されている。今回の後方視的研究の結果、我が国における妊婦 HIV スクリーニング検査の陽性的中率は 3.8～10.3% ときわめて低率であることが明らかとなった。スクリーニング検査陽性者に及ぼす心理的重圧を回避するためにも偽陽性を低減したスクリーニング検査法の開発

が求められるが、現状の検査法では妊婦に対し偽陽性に関する詳細な情報を理解しやすい形で提供することが肝要である。

## おわりに

以上当班の成績を紹介したが、HIV 母子感染対策の基本は妊婦 HIV スクリーニングにあり、「先ず検査ありき」という単純明快な当班の「班是」をお心にとどめ置かれたい。

## 参考文献

- 1) 平成 15 年度厚生科学研究費補助金エイズ対策研究事業 (H 15-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基礎的・臨床的研究 (主任研究者: 稲葉憲之), 2004.
- 2) 平成 16 年度厚生科学研究費補助金エイズ対策研究事業 (H 15-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 (主任研究者: 稲葉憲之), 2005.



## Molecular genetic studies on the compatibility of HLA class II alleles in patients with unexplained recurrent miscarriage in the Japanese population

Koichi Takakuwa\*, Keisuke Honda, Tomokazu Yokoo, Isao Hataya, Masaki Tamura, Kenichi Tanaka

*Department of Obstetrics and Gynecology, Niigata University School of Medicine, 1-757, Asahimachi-dori, Niigata 951-8510, Japan*

Received 30 April 2005; accepted with revision 27 July 2005

Available online 24 August 2005

### Abstract

It is hypothesized that patients having unexplained recurrent miscarriage lack an appropriate immune reaction against their partner's antigens, which means possible compatibility of HLA antigens between the patient couples. The conclusion, however, has not yet been achieved, so the purpose was to determine whether significant compatibility of HLA class II exists between the couples. The HLA-DRB1 and -DQB1 genotypes were determined using PCR-RFLP method in 91 patient couples and in 72 normal couples. The number of patient couples with zero-allele mismatch was not significantly different compared with that of control couples regarding HLA-DRB1 genotype and phenotype, as well as regarding HLA-DQB1 genotype and phenotype. While the number of patient couples with zero- and one-allele mismatch was significantly higher compared with that in control as to HLA-DR and -DQ phenotype ( $P = 0.029$  by Chi-square test). In conclusion, it is suggested that the compatibility of HLA class II antigens between couples might be involved in the genesis of unexplained recurrent miscarriage.

© 2005 Elsevier Inc. All rights reserved.

**Keywords:** Compatibility; HLA class II; HLA-DQB1 genotype; HLA-DRB1 genotype; Unexplained recurrent miscarriage

### Introduction

It has been revealed that the production of a diversity of cytokines by maternal immune-competent cells in decidua promotes the growth of trophoblastic cell (Immunotrophic theory) [1]. Moreover, a shift to a T-helper 2-related phenomenon from T-helper 1-driven cell-mediated immunity is thought to be beneficial for the immunologically successful continuation of pregnancy [2–6].

According to the Immunotrophic theory, it is suggested that patients with recurrent miscarriage tend to lack an immune reaction against their partner's antigens, which means possible compatibility of HLA antigens between the patients and their partners. In this context, many reports have

focused on the compatibility of human leukocyte antigen (HLA) systems among couples having unexplained recurrent miscarriage [7–17]. No definitive conclusions have yet been reached, mainly because of the small populations of patient couples or serological test for determining HLA class II alleles in the studies. Therefore, we examined whether the compatibility of HLA class II antigens between spouses with unexplained recurrent miscarriage existed using genotyping methods in a significant number of patients in the Japanese population.

### Materials and methods

#### *Patients and control*

The HLA-DRB1 genotype and HLA-DQB1 genotype were determined by the polymerase chain reaction-restric-

\* Corresponding author. Fax: +81 25 227 0789.

E-mail address: [obgy@med.niigata-u.ac.jp](mailto:obgy@med.niigata-u.ac.jp) (K. Takakuwa).

tion fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method in 91 patient couples with unexplained recurrent miscarriage. All the patients had experienced three or more consecutive first-trimester spontaneous miscarriages with the same partner and had no other pregnancy history. None of the patients indicated the presence of any genetic impairment, mullerian anomaly, hormonal deficiency, infectious disease, metabolic disorder, or autoimmune abnormalities, such as positive antiphospholipid antibodies or lupus anticoagulant in our systemic work-up. The HLA-DRB1 and HLA-DQB1 genotype were also determined in 72 couples with normal fertile women, who had experienced two or more normal term deliveries and had no history of spontaneous miscarriage. The numbers of mismatched alleles in patient couples with unexplained recurrent miscarriage were determined, and was compared with that in control couples. All the patient couples and control couples were Japanese. Institutional review board approval was obtained, and informed consent for this study was also obtained from all individuals.

#### Analyses of the HLA-DRB1 genotype and HLA-DQB1 genotype

Analyses of the HLA-DRB1 genotypes and HLA-DQB1 genotypes were performed using the PCR-RFLP method. Primers used in this study are listed in Table 1.

Genomic DNA extracted from peripheral lymphocytes was amplified by the PCR procedure. The second exon of DRB1 genes for DR2, DR4, DR1, DR7, DR10, DR3, DR5, DR6, and DR8 was amplified using one of six group-specific 5' primers along with the common 3' primer. The second exon of the DRB1 gene for DR9 was amplified using a specific 5' primer and a 3' primer [18].

A 241-base pair fragment from the second exon of the HLA-DQB1 gene was amplified by using DQ1 group-specific primers, and a 237-base pair fragment was amplified using DQ2, DQ3, and DQ4 group-specific primers, according to the methods described by Nomura et al. [19].

After amplification, aliquots of the reaction mixture were digested by allele-specific restriction endonucleases. The samples were subjected to electrophoresis in a minigel apparatus (AE6450; Atto Corporation, Tokyo, Japan). HLA-DRB1 gene and HLA-DQB1 gene types were determined by comparing the patterns of RFLP obtained in tested individuals with those of amplified DRB1 and HLA-DQB1, as reported by Ota et al. [18] and Nomura et al. [19], respectively.

Each phenotype of HLA-DR and HLA-DQ allele, which means the type of HLA alleles expressed on the surface of cells or tissues, was determined by the PCR-RFLP-determined HLA allele according to Table 2, although the PCR-RFLP method employed in this study did not detect all the HLA-DRB1 or -DQB1 alleles previously reported [20].

#### Scoring of the number of mismatched alleles

A two-allele mismatch was scored when both of the paternal alleles at one locus were different from their partner's types for the HLA-DRB1 genotypes or phenotypes, and HLA-DQB1 genotypes or phenotypes, respectively. If one allele was shared, one-allele mismatch was scored. If genotypes or phenotypes from both individuals were identical, a zero-allele mismatch was recorded. A zero-allele mismatch was also recorded in cases where the male was homozygous for a genotype or phenotype shared by his partner. Thus, the number of mismatched types of one locus ranged from zero to two, and the number of mismatched types

Table 1  
PCR primers for amplification of the DRB1 and DQB1 genes

Gene	Primer	Sequences (5' to 3')	Den (°C)	Ann (°C)	Ext (°C)	
DRB1	for DR2	5' Primer 5'R2	TTCCTGTGGCAGCCTAAGAG (261 bp)	94	60	72
	for DR4	5' Primer 5'R4	GTTTCTTGAGCAGGTTAAAC (263 bp)	94	60	72
	for DR1	5' Primer 5'R1	GGTTGCTGAAAGATGCATCT (206 bp)	94	55	72
	for DR7	5' Primer 5'R7	AGTTCTGGAAAGACTCTTCT (206 bp)	94	60	72
	for DR10	5' Primer 5'R10	GGTTGCTGAAAGACGCGTCC (206 bp)	94	60	72
	for DR3	5' Primer 5'R3568	ACGTTTCTGGAGTACTCTIACG (265 bp)	94	60	72
	DR5					
	DR6					
	DR8	3' Primer 3'R*	CCGCTGCACTGTGAAGCTCT			
	for DR9	5' Primer 5'R9	GGACGGAGCGGGTGCGGTATC (193 bp)	94	63	72
	3' Primer 3'R9	CCGTAGTTGTGTCTGCACACGG				
DQB1	for DQ1	5' Primer GH28NL	GCATGTGCTACTTCACCAACG (241 bp)	94	55	72
		3' Primer QB202	CACCTGCAGATCCCGCGGTACGCCACCTC			
	for DQ2	5' Primer GH28NL	GCATGTGCTACTTCACCAACG (237 bp)	94	55	72
	DQ3 DQ4	3' Primer QB204	CACCTGCAGTCCGGAGCTCCAACCTGGTA			

Note. Den = denaturing; Ann = annealing; Ext = extension.  
Common for DRB1 alleles except DR9 allele.



Table 2

Association of reported HLA-DRB1\* and -DQB1\* alleles, those defined by current PCR-RFLP method, and HLA-DRB1\* and -DQB1\* phenotypes

Genotypes <sup>a</sup>	Equivalent allele by PCR-RFLP	Phenotype	Genotypes <sup>a</sup>	Equivalent allele by PCR-RFLP	Phenotype
DRB1*0101	DRB1*0101	DR1	DRB1*1404	DRB1*1404	DR14(6)
DRB1*0102	DRB1*0102	DR1	DRB1*1405	DRB1*1405	DR14(6)
DRB1*0103	No	DR103	DRB1*1406	No	DR14(6)
DRB1*1501	DRB1*1501	DR15(2)	DRB1*1407	No	DR14(6)
DRB1*1502	DRB1*1502	DR15(2)	DRB1*1408	No	DR14(6)
DRB1*1503	No	DR15(2)	DRB1*1409	No	DR14(6)
DRB1*1601	DRB1*1601	DR16(2)	DRB1*1410	No	DR14(6)
DRB1*1602	DRB1*1602	DR16(2)	DRB1*0701	DRB1*0701 = 2	DR7
DRB1*0301	DRB1*0301	DR17(3)	DRB1*0702	DRB1*0701 = 2	DR7
DRB1*0302	DRB1*0302	DR18(3)	DRB1*0801	DRB1*0801	DR8
DRB1*0303	No	DR18(3)	DRB1*08021	DRB1*0802	DR8
DRB1*0401	DRB1*0401	DR4	DRB1*08022	DRB1*0802	DR8
DRB1*0402	DRB1*0402	DR4	DRB1*08031	DRB1*0803	DR8
DRB1*0403	DRB1*0403	DR4	DRB1*08032	DRB1*0803	DR8
DRB1*0404	DRB1*0404	DR4	DRB1*0804	DRB1*0804	DR8
DRB1*0405	DRB1*0405	DR4	DRB1*0805	No	DR8
DRB1*0406	DRB1*0406	DR4	DRB1*09011	DRB1*0901	DR9
DRB1*0407	DRB1*0407	DR4	DRB1*09012	DRB1*0901	DR9
DRB1*0408	DRB1*0408	DR4	DRB1*1001	DRB1*1001	DR10
DRB1*0409	DRB1*0409	DR4			
DRB1*0410	DRB1*0410	DR4			
DRB1*0411	DRB1*0411	DR4	DQB1*0501	DQB1*0501	DQ5(1)
DRB1*0412	No	DR4	DQB1*0502	DQB1*0502	DQ5(1)
DRB1*11011	DRB1*1101	DR11(5)	DQB1*05031	DQB1*0503	DQ5(1)
DRB1*11012	DRB1*1101	DR11(5)	DQB1*05032	DQB1*0503	DQ5(1)
DRB1*1102	DRB1*1102	DR11(5)	DQB1*0504	No	DQ5(1)
DRB1*1103	DRB1*1103 = 4	DR11(5)	DQB1*0601	DQB1*0601	DQ6(1)
DRB1*11041	DRB1*1103 = 4	DR11(5)	DQB1*0602	DQB1*0602	DQ6(1)
DRB1*11042	DRB1*1103 = 4	DR11(5)	DQB1*0603	DQB1*0603 = 4	DQ6(1)
DRB1*1105	No	DR11(5)	DQB1*0604	DQB1*0603 = 4	DQ6(1)
DRB1*1201	DRB1*1201	DR12(5)	DQB1*0605	No	DQ6(1)
DRB1*1202	DRB1*1202	DR12(5)	DQB1*0606	No	DQ6(1)
DRB1*1301	DRB1*1301	DR13(6)	DQB1*0201	DQB1*0201	DQ2
DRB1*1302	DRB1*1302	DR13(6)	DQB1*0301	DQB1*0301	DQ7(3)
DRB1*1303	DRB1*1303	DR13(6)	DQB1*0302	DQB1*0302	DQ8(3)
DRB1*1304	DRB1*1304	DR13(6)	DQB1*03031	DQB1*0303	DQ9(3)
DRB1*1305	DRB1*1305	DR13(6)	DQB1*03032	DQB1*0303	DQ9(3)
DRB1*1306	No	DR13(6)	DQB1*0304	No	DQ7(3)
DRB1*1401	DRB1*1401	DR14(6)	DQB1*0401	DQB1*0401	DQ4
DRB1*1402	DRB1*1402	DR14(6)	DQB1*0402	DQB1*0402	DQ4

<sup>a</sup> These genotypes were reported by the 11th IHWG (Reference [20]).

of two loci (HLA-DRB1 and -DQB1 genotypes, or HLA-DRB1 and -DQB1 phenotypes) ranged from zero to four.

### Statistical analyses

Data analyses were performed by Chi-squared or Fisher's exact probability test. A *P* value less than 0.05 was considered significant.

### Results

#### Determination of the HLA-DRB1 alleles

The determination of the HLA-DRB1 alleles is mentioned as an example. The products of PCR amplification,

using 7 pairs of group-specific 5' primers and 3' primers, of a patient with recurrent miscarriage are shown in Fig. 1. It is obvious that this patient has HLA-DRB1\*4 and DRB1\*3, 5, 6, 8 (left part of Fig. 1). The electrophoretic patterns of the polymorphic restriction fragments of DRB1\*3, 5, 6, 8 in this patient are shown in the right upper part of Fig. 1. One of the DRB1 alleles from this patient was determined to be DRB1\*1301 (phenotype; DR13) by comparing the patterns of restriction fragment polymorphisms to those with the amplified DRB1\*3, 5, 6, 8 gene, as described by Ota et al. The electrophoretic patterns from the polymorphic restriction fragments of DRB1\*4 in this patient are shown in the right lower part of Fig. 1. The other DRB1 allele from this patient was determined to be DRB1\*0403 (phenotype; DR4) by comparing the patterns of restriction fragment polymorphism to those of the amplified DRB1\*4 gene, as described by Ota et al. [18].

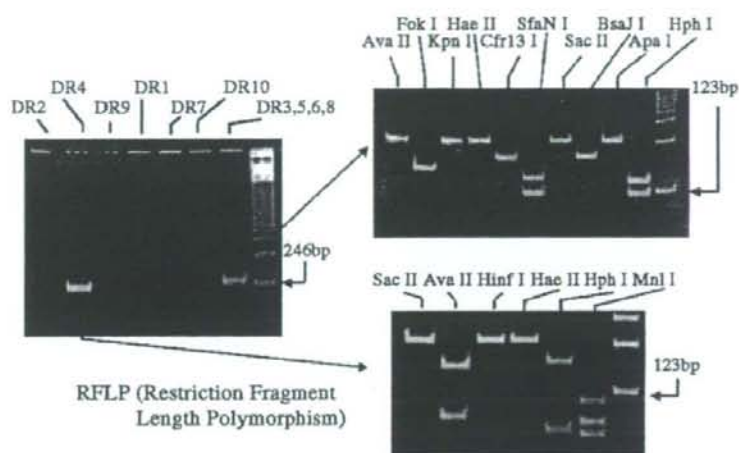


Fig. 1. An example for determination of the HLA-DRB1 alleles using PCR-RFLP method. Left panel: The products of PCR amplification using 7 pairs of group-specific 5' primers and 3' primers of a patient with recurrent miscarriage. Seven group-specific primers, DR1, DR2, DR4, DR7, DR9, DR10, and DRW52-associated (DR3, -5, -6, and -8) antigen-specific primers, were used to obtain only the amplified product from the DRB1 gene. The figure over each lane indicates each group-specific primer. It is clear that this patient has HLA-DRB1\*4 and DRB1\*3, 5, 6, 8. Upper right panel: Electrophoretic patterns of the polymorphic restriction fragments of DRB1\*3, 5, 6, 8. Restriction endonucleases used for digestion are described over each lane. One of the DRB1 alleles in this patient was determined to be DRB1\*1301 (phenotype; DR13) by comparing the patterns of restriction fragment polymorphisms to those with the amplified DRB1\*3, 5, 6, 8 gene, as described by Ota et al. [18]. Lower right panel: Electrophoretic patterns of the polymorphic restriction fragments of DRB1\*4. Restriction endonucleases used for digestion are described over each lane. The other DRB1 allele in this patient was determined to be DRB1\*0403 (phenotype; DR4) by comparing the patterns of restriction fragment polymorphism to those of the amplified DRB1\*4 gene, as described by Ota et al. [18].

#### Compatibility of HLA class II alleles

The number of patient couples and control couples with each number of mismatched allele of HLA-DR genotype and phenotype was shown in Table 3. Of 91 patient couples, two-allele mismatch of HLA-DR genotype was observed in 51 couples (56.0%), one-allele mismatch was observed in 34 (37.4%), and zero-allele mismatch was observed in 6 couples (6.6%). Of 72 control couples, two-allele mismatch of HLA-DR genotype was observed in 49 couples (68.0%), one-allele mismatch was observed in 20 (27.8%), and zero-allele mismatch was observed in 3 couples (4.2%).

As to HLA-DR phenotype, two-allele mismatch was observed in 32 of 91 patient couples (35.2%), one-allele mismatch was observed in 48 (52.8%), and zero-allele mismatch was observed in 11 couples (12.1%). Of 72

control couples, two-allele mismatch of HLA-DR phenotype was observed in 36 (50.0%), one-allele mismatch was observed in 28 couples (38.9%), and zero-allele mismatch was observed in 8 couples (11.1%). There was no significant difference between patient couples and control couples concerning HLA-DR genotype and phenotype.

The number of patient couples and control couples with each number of mismatched allele of HLA-DQ genotype and phenotype was shown in Table 4. Of 91 patient couples, two-allele mismatch of HLA-DQ genotype was observed in 37 couples (40.6%), one-allele mismatch was observed in 42 (46.2%), and zero-allele mismatch was observed in 12 couples (13.2%). Of 72 control couples, two-allele mismatch of HLA-DQ genotype was observed in 34 couples (47.2%), one-allele mismatch was observed in 33 (45.9%), and zero-allele mismatch was observed in 5 couples (6.9%).

Table 3

The number of mismatched alleles of HLA-DR genotype and phenotype in patient couples with recurrent miscarriage and control couples

The number of mismatched allele	Mismatched allele DR genotype, the number of couples		Mismatched allele DR phenotype, the number of couples	
	Patients (n = 91)	Controls (n = 72)	Patients (n = 91)	Controls (n = 72)
0	6 (6.6%)	3 (4.2%)	11 (12.1%)	8 (11.1%)
1	34 (37.4%)	20 (27.8%)	48 (52.8%)	28 (38.9%)
2	51 (56.0%)	49 (68.0%)	32 (35.2%)	36 (50.0%)

Not significant by Chi-square test.

Table 4

The number of mismatched alleles of HLA-DQ genotype and phenotype in patient couples with recurrent miscarriage and control couples

The number of mismatched allele	Mismatched allele DQ genotype, the number of couples		Mismatched allele DQ phenotype, the number of couples	
	Patients (n = 91)	Controls (n = 72)	Patients (n = 91)	Controls (n = 72)
0	12 (13.2%)	5 (6.9%)	22 (24.2%)	9 (12.5%)
1	42 (46.2%)	33 (45.9%)	49 (53.8%)	43 (59.7%)
2	37 (40.6%)	34 (47.2%)	20 (22.0%)	20 (27.8%)

Not significant by Chi-square test.



Table 5

The number of mismatched alleles of HLA-DR and -DQ genotype and phenotype in patient couples with recurrent miscarriage and control couples

The number of mismatched allele	Mismatched allele DR and DQ genotype, the number of couples		Mismatched allele DR and DQ phenotype, the number of couples	
	Patients <sup>a</sup> (n = 91)	Controls <sup>a</sup> (n = 72)	Patients <sup>b</sup> (n = 91)	Controls <sup>b</sup> (n = 72)
0	2 (2.2%)	2 (2.8%)	5 (4.5%)	3 (4.2%)
1	8 (8.8%)	3 (4.2%)	19 (15.1%)	6 (8.3%)
2	28 (30.7%)	15 (20.8%)	32 (32.9%)	28 (38.9%)
3	23 (25.3%)	22 (30.5%)	23 (24.0%)	21 (29.2%)
4	30 (33.0%)	30 (41.7%)	12 (14.5%)	14 (19.4%)

<sup>a</sup> Not significant by Chi-square test.

<sup>b</sup> 0 + 1 vs. 2 + 3 + 4;  $P = 0.029$  by Chi-square test.

There was no significant difference between patient couples and control couples concerning HLA-DQ genotype.

As to HLA-DQ phenotype, two-allele mismatch was observed in 20 of 91 patient couples (22.0%), one-allele mismatch was observed in 49 (53.8%), and zero-allele mismatch was observed in 22 couples (24.2%). Of 72 control couples, two-allele mismatch of HLA-DQ phenotype was observed in 20 (27.8%), one-allele mismatch was observed in 43 (59.7%), and zero-allele mismatch was observed in 9 couples (12.5%). There was no significant difference between patient couples and control couples concerning HLA-DQ phenotype.

The number of patient couples and control couples with each number of mismatched allele of HLA-DR and -DQ genotype and phenotype was shown in Table 5. There was no significant difference between patient couples and control couples concerning HLA-DR and -DQ genotype.

The number of patient couples with zero- and one-allele mismatch was 24 (26.4%), and that with two-, three-, and four-allele mismatch was 67 (73.6%) as to HLA-DR and -DQ phenotype. On the other hand, the number of control couples with zero- and one-allele mismatch was 9 (12.5%), and that with two-, three-, and four-allele mismatch was 63 (87.5%). Thus, the number of patient couples with zero- and one-allele mismatch was significantly higher compared with that in control couples (zero- and one-allele mismatch vs. two-, three-, and four-allele mismatch;  $P = 0.029$  by Chi-square test).

## Discussion

As antigens expressed on the surface of fetal or placental tissues possibly induce the allo-immune response of the mother, recurrent spontaneous miscarriage, especially that of unknown etiology, has been assumed to be caused by an immunological defect that elicits maternal allogeneic reactions against the fetus [21].

It has been recognized for many years that the human leukocyte antigen system plays an important role in the etiology of a number of diseases [22], and HLA systems

could also be implicated in the genesis of human abortions. In this context, there have been reports concerning the frequency and sharing of HLA antigens in couples who experienced recurrent miscarriage.

As for the frequency of HLA class II antigens in the patients with recurrent miscarriage, our group reported that the rate of possession of HLA-DRB1\*1502 in a patient group with unexplained recurrent miscarriage was significantly higher compared with that in normal fertile women [23]. Christiansen et al. reported that maternal HLA-DR1, -DR3, and -DR10 were genetic markers for pregnancy loss in Danish recurrent spontaneous abortion patients and their relatives [24]. Recently, Kruse et al. reported the strong susceptibility of HLA-DR\*03 to recurrent miscarriage analyzing over 500 patients with recurrent miscarriage [25].

Earlier studies indicated significant HLA sharing between couples where unexplained recurrent miscarriage occurred [7–9,13]. On the other hand, some investigators demonstrated that sharing of HLA antigens was not significantly higher among couples with unexplained recurrent miscarriage [10,11]. As a larger study, Orgad et al. reported that no significant compatibility of HLA-DR antigens was observed in recurrent miscarriage couples analyzing 425 study couples and control couples [17]. The major difficulty of these studies was that the conventional serological tests were used for determining HLA class II alleles.

In this study, we used the PCR-RFLP method to examine whether significant compatibility of HLA class II alleles, namely, HLA-DRB1 and -DQB1 alleles, existed between spouses with unexplained recurrent miscarriage. We adopted the PCR-RFLP method for this study because there are many serologically undetermined or ambiguous class II antigens, evidenced by the fact that upwards of 25% of serological HLA-DR typing assignments were incorrect when compared with a more precise DNA-RFLP method reported in a multicenter study [26]. The method enables us to determine simply and accurately HLA class II genotypes, as well as class II phenotypes.

The appropriate selection of a control population in such a study is crucial. In the present study, 72 normal fertile women and their husbands were used as a control population. The frequency of each HLA-DRB1 and HLA-DQB1 genotype and phenotype in this control group (both wife and husband groups) was not significantly different compared with that in 916 Japanese unrelated individuals reported previously [27] (data not shown). Thus, the frequency of the HLA-DRB1 and DQB1 alleles in the control group did not deviate from that of the total population.

Although several DNA analyses, including our own, showed a lack of significant compatibility between patient couples compared with normal fertile couples, the numbers of tested couples in these studies were relatively small [12,14,16]. Ober et al. pointed out the possibility of significant compatibility of the HLA-DQA1 and DQB1 alleles between patients and aborted fetuses using a PCR-



SSO (sequence-specific oligonucleotides) method [15]. Although significant compatibility between the patient couples could not be observed in the HLA-DQB1 genotype and phenotype, as well as in the HLA-DRB1 genotype and phenotype, in this study, significant compatibility was observed in the HLA-DRB1 and -DQB1 phenotypes. Thus, the compatibility of HLA-DR and -DQ antigen systems might be implicated in the genesis of recurrent miscarriage.

There are two major lines of conceptual thinking regarding the involvement of MHC genes in reproduction. The first holds that inadequate immunological interactions between partners or between the mother and fetus are a potential cause of pregnancy failure. Wegmann firstly reported the so-called Immunotrophic theory, whereby some cytokines produced by maternal cells which recognize fetal antigens promote the proliferation of trophoblastic cells and sustain pregnancy continuation [1]. Moreover, some investigators demonstrated the importance of a T-helper 2 (Th2) bias for normal pregnancy, indicating the crucial role of maternal humoral immunity activation following recognition of fetal antigens during pregnancy [2–6]. MHC antigens are major determinants of acceptance or rejection of mammalian allografts in transplantation medicine. It is well known that syncytiotrophoblasts of the human fetus do not express polymorphic MHC class I or class II molecules [28]. Fetal tissue, however, expresses HLA-DR antigens as early as the 9th week of gestation, which possibly elicits maternal immune responses [29]. MHC class II molecules, especially HLA-DR molecules, bind peptides derived from the degradation of proteins ingested by MHC class II-expressing APC, and display them at the cell surface for recognition by CD4-positive T-lymphocytes [30]. In the deciduas, CD4-positive T-lymphocytes expressing HLA-DR antigens are reported to be activated during early pregnancy [31]. Thus, there is a possibility that significant compatibility of HLA-DR and -DQ alleles in couples with recurrent abortion might suppress the appropriate immune response of the mother against her fetus.

The second theory on the involvement of MHC genes in control of pregnancy development has a genetic basis. In wild mouse strains, 30–40% of chromosomes contain the so-called T/t alleles, which are located within the murine homologue of the MHC complex on chromosome 17. Presence of T/t alleles in homo- or heterozygosity can lead to a range of symptoms from embryonic death to reduced fertility or malformations [32]. The existence of lethal and semilethal genes located within or in close neighborhood to the MHC complex has been proposed for humans [33,34]. Further studies, including the analysis of expression of potential human homologues of murine T/t loci, might clarify the role of the MHC complex and its components in the pathophysiology of recurrent miscarriage.

The results of this study, as well as other studies [23–25], revealed possible associations between HLA class II genes and risk of recurrent spontaneous miscarriage, although the significance of compatibility of HLA-DRB1

and -DQB1 between the patient couples in this study was not so strong. Moreover, as mentioned above, these genes are not expressed at the fetomaternal interface, and the nonclassical HLA class I antigens, such as HLA-G and HLA-E, are expressed on the extravillous trophoblast, which make these antigens more obvious candidate genes for a possible influence on pregnancy outcome. Although several studies indicated no significant compatibility of these antigens between the spouses with recurrent miscarriage [35,36], further investigations concerning the compatibility is considered to be crucial.

#### Acknowledgments

This study was supported by a research grant from the Ministry of Health, Labor, and Welfare of Japan, and by a Grant-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Science, and Culture of Japan.

#### References

- [1] T.G. Wegmann, Placental immunotrophism: maternal T cell enhance placental growth and function, *Am. J. Reprod. Immunol. Microbiol.* 15 (1987) 67–69.
- [2] H. Lin, T.R. Mosmann, L. Guilbert, S. Tuntipopipat, T.G. Wegmann, Synthesis of T helper 2-type cytokines at the maternal–fetal interface, *J. Immunol.* 151 (1993) 4562–4573.
- [3] T.G. Wegmann, H. Lin, L. Guilbert, T.R. Mosmann, Bidirectional cytokine interactions in the maternal–fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunol. Today* 14 (1993) 353–356.
- [4] L. Guilbert, There is a bias against type 1 (inflammatory) cytokine expression and function in pregnancy, *J. Reprod. Immunol.* 32 (1996) 105–110.
- [5] M. Marzi, A. Vignani, D. Trabattini, M.L. Villa, A. Salvaggio, E. Clerici, M. Clerici, Characterization of type 1 and type 2 cytokine production profile in physiologic and pathologic human pregnancy, *Clin. Exp. Immunol.* 106 (1996) 127–133.
- [6] R. Raghupathy, Th1-type immunity is incompatible with successful pregnancy, *Immunol. Today* 18 (1997) 478–482.
- [7] M. Gerencer, A. Drazancic, I. Kuvacic, Z. Tomaskovic, A. Kastelan, HLA antigen studies in women with recurrent gestational disorders, *Fertil. Steril.* 31 (1979) 401–404.
- [8] A.E. Beer, J.A. Quebbeman, J.M.T. Ayers, R.F. Haines, Major histocompatibility complex antigens, maternal and paternal immune responses, and chronic habitual abortions in humans, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 141 (1981) 987–999.
- [9] A.E. Beer, A.E. Semprini, Z. Xiaoyu, J.F. Quebbeman, Pregnancy outcome in human couples with recurrent spontaneous abortions: HLA antigen profiles: HLA antigen sharing; female serum MLR blocking factors; and paternal leukocyte immunization, *Exp. Clin. Immunogenet.* 2 (1985) 137–153.
- [10] M.N. Cauchi, B. Tait, M.I. Wilshire, Histocompatibility antigens and habitual abortion, *Am. J. Reprod. Immunol.* 18 (1988) 28–31.
- [11] J.B. Smith, F.S. Cowchock, Immunological studies in recurrent spontaneous abortion: effect of immunization of women with paternal mononuclear cells on lymphocytotoxic and mixed lymphocyte reaction blocking antibodies and correlation with sharing of HLA and pregnancy outcome, *J. Reprod. Immunol.* 14 (1988) 99–113.
- [12] O.B. Christiansen, K. Riisom, J.G. Lauritsen, N. Grunnet, No

- increased histocompatibility antigen sharing in couples with idiopathic habitual abortions, *Hum. Reprod.* 4 (1989) 160–162.
- [13] H. Ho, T.G. Gill III, R. Nsieh, H. Hsieh, T. Lee, Sharing of human leukocyte antigens in primary and secondary recurrent spontaneous abortions, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 163 (1990) 178–188.
- [14] K. Takakuwa, M. Higashino, H. Ueda, K. Yamada, K. Asano, M. Yasuda, S. Ishii, Y. Kazama, K. Tanaka, Significant compatibility does not exist at the HLA-DQB gene locus in couples with unexplained recurrent abortions, *Am. J. Reprod. Immunol.* 28 (1992) 12–16.
- [15] C. Ober, T. Steck, K. Van der Ven, C. Billstrand, L. Messer, J. Kwak, K. Beaman, A. Beer, MHC class II compatibility in aborted fetuses and term infants of couples with recurrent spontaneous abortion, *J. Reprod. Immunol.* 25 (1993) 195–207.
- [16] D.R. Wagenknecht, K.M. Green, J.A. McIntyre, Analyses of HLA-DQ alleles in recurrent spontaneous abortion (RSA) couples, *Am. J. Reprod. Immunol.* 37 (1997) 1–6.
- [17] S. Orgad, E. Gazit, H.J. Carp, Shared HLA antigens in couples with 5 or more, compared to 3 or 4 consecutive recurrent miscarriages, *Early Pregnancy* 4 (2000) 144–153.
- [18] M. Ota, T. Seki, H. Fukushima, K. Tsuji, H. Inoko, HLA-DRB1 genotyping by modified PCR-RFLP method combined with group-specific primers, *Tissue Antigens* 39 (1992) 187–202.
- [19] N. Nomura, M. Ota, K. Tsuji, H. Inoko, HLA-DQB1 genotyping by a modified PCR-RFLP method combined with group-specific primers, *Tissue Antigens* 38 (1991) 53–59.
- [20] J.G. Bodmer, S.G.E. Marsh, E.D. Albert, W.F. Bodmer, B. Dupon, H.A. Ehlich, B. Mach, W.R. Mayr, P. Parham, T. Sasazuki, G.M.T. Schreuder, J.L. Strominger, A. Svegaard, P.I. Terasaki, Nomenclature for factors of the HLA system, 1991, in: K. Tsuji, M. Aizawa, T. Sasazuki (Eds.), *Proceedings of the Eleventh International Histocompatibility Workshop and Conference*, Oxford University Press, Oxford, 1992, pp. 17–31.
- [21] T.J. Gill III, Immunogenetic aspects of the maternal–fetal interaction, in: T.G. Wegmann, T.J. Gill III (Eds.), *Immunology of Reproduction*, Oxford Univ. Press, Oxford, 1983, pp. 53–76.
- [22] G. Thomson, HLA disease associations: models for the study of complex human genetic disorders, *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 32 (1995) 183–219.
- [23] K. Takakuwa, H. Adachi, I. Hataya, M. Tamura, K. Tanaka, Molecular genetic studies of HLA-DRB1 alleles in patients with unexplained recurrent abortion in the Japanese population, *Hum. Reprod.* 18 (2003) 728–733.
- [24] O.B. Christiansen, M. Ring, A. Rosgaard, N. Grunnet, C. Gluud, Association between HLA-DR1 and -DR3 antigens and unexplained repeated miscarriage, *Hum. Reprod. Updat.* 5 (1999) 249–255.
- [25] C. Kruse, R. Steffensen, K. Varming, O.B. Christiansen, A study of HLA-DR and -DQ alleles in 588 patients and 562 controls confirms that HLA-DRB1\*03 is associated with recurrent miscarriage, *Hum. Reprod.* 19 (2004) 1215–1221.
- [26] G. Opelz, J. Mytilineos, S. Scherer, H. Dunckley, J. Trejaut, J. Chapman, D. Middleton, D. Savage, O. Fisher, J. Bignon, J. Bensa, E. Albert, H. Noreen, Survival of DNA HLA-DR typed and matched cadaver kidney transplants, *Lancet* 338 (1991) 461–463.
- [27] M. Hashimoto, T. Kinoshita, M. Yamasaki, H. Tanaka, T. Imanishi, H. Ihara, Y. Ichikawa, T. Fukunishi, Gene frequencies and haplotypic associations within the HLA region in 916 unrelated Japanese individuals, *Tissue Antigens* 44 (1994) 166–173.
- [28] C.A. Sunderland, M. Najem, D.Y. Mason, C.W.G. Redman, G.M. Stirrat, The expression of major histocompatibility antigens by human chorionic villi, *J. Reprod. Immunol.* 3 (1981) 323–331.
- [29] I. Trebichavsky, O. Nyklicek, Expression of HLA-DR molecules and some other differentiation antigens with early human fetus, *Folia Biol.* 38 (1992) 269–276.
- [30] D.H. Margulies, The major histocompatibility complex, in: W.E. Paul (Ed.), *Fundamental Immunology*, 4th ed., Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1999, pp. 263–285.
- [31] K.H. Chao, M.Y. Wu, C.D. Chen, J.H. Yang, Y.S. Yang, H.N. Ho, The expression of killer cell inhibitory receptors on natural killer cells and activation status of CD4+ and CD8+ T cells in the decidua of normal and abnormal early pregnancies, *Hum. Immunol.* 60 (1999) 791–797.
- [32] A.M. Frischauf, The T/t complex of the mouse, *Trends Genet.* 1 (1985) 10–103.
- [33] T.J. Gill III, Invited editorial, Influence of MHC and MHC-linked genes on reproduction, *Am. J. Hum. Genet.* 50 (1992) 1–5.
- [34] H.N. Ho, Y.S. Yang, R.P. Hsieh, H.R. Lin, S.U. Chen, H.F. Chen, S.C. Huang, T.Y. Lee, T.J. Gill III, Sharing of human leukocyte antigens (HLA) in couples with unexplained infertility affects the success of in vitro fertilization and tubal embryo transfer, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 170 (1994) 63–71.
- [35] T.V. Hiviid, S. Hylenius, A.M. Hoegh, C. Kruse, O.B. Christiansen, HLA-G polymorphisms in couples with recurrent spontaneous abortions, *Tissue Antigens* 60 (2002) 122–132.
- [36] T. Kanai, T. Fujii, N. Keicho, K. Tokunaga, T. Yamashita, H. Hyodo, A. Miki, N. Umno, S. Kozuma, Y. Taketani, Polymorphism of human leukocyte antigen-E gene in the Japanese population with or without recurrent abortion, *Am. J. Reprod. Immunol.* 45 (2001) 168–173.



Short communication

## Studies on the prevalence of human papillomavirus in pregnant women in Japan

Koichi Takakuwa<sup>1,\*</sup>, Takuya Mitsui<sup>1</sup>, Mitsutoshi Iwashita<sup>2</sup>, Iwao Kobayashi<sup>3</sup>, Akira Suzuki<sup>4</sup>, Takaaki Oda<sup>5</sup>, Yuichi Torii<sup>6</sup>, Masahiko Matsumoto<sup>7</sup>, Goki Yahata<sup>8</sup> and Kenichi Tanaka<sup>1</sup> (Cooperative Study Group of the Prevalence of Sexually Transmitted Disease in Pregnant Women by Scientific Study of Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan)

<sup>1</sup> Department of Obstetrics and Gynecology, Niigata University School of Medicine, Japan

<sup>2</sup> Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Kyorin University, Tokyo, Japan

<sup>3</sup> Department of Obstetrics and Gynecology, Nagoya Daini Red Cross Hospital, Aichi, Japan

<sup>4</sup> Department of Obstetrics and Gynecology, Osaka National Hospital, Osaka, Japan

<sup>5</sup> Department of Obstetrics and Gynecology, Kokura National Hospital, Fukuoka, Japan

<sup>6</sup> Department of Obstetrics and Gynecology, Seirei-Hamamatsu Hospital, Shizuoka, Japan

<sup>7</sup> Department of Obstetrics and Gynecology, Osaka Medical Center, Osaka, Japan

<sup>8</sup> Department of Obstetrics and Gynecology, Isehara Kyodo Hospital, Kanagawa, Japan

### Abstract

**Aims:** In order to evaluate the prevalence of human papillomavirus (HPV) in the pregnant population in Japan.

**Methods:** We examined cervical swabs of 1,183 pregnant women for HPV DNA using a PCR-RFLP method during October, 2000 and February, 2001. The overall prevalence of HPV in 1,183 pregnant women was analyzed and stratified by age.

**Results:** The overall prevalence of HPV in pregnant women was 12.5% (148 of 1,183 cases). The prevalence in pregnant women younger than 25 years (22.6%, 28 of

124 cases) was significantly higher compared with that in pregnant women  $\geq 25$  years (11.3%, 120 of 1057 cases,  $P < 0.0005$ ).

**Conclusions:** The data indicate a significantly higher prevalence of HPV infection in younger pregnant Japanese women.

**Keywords:** Human papillomavirus; infection; pregnancy; prevalence.

### Introduction

In recent years, estimates of the prevalence of HPV infection at the uterine cervix in the general population have varied widely, making comparisons difficult. The most important factor explaining the variation is the small sample size in the study population. In this context, we examined a significantly large sample of pregnant women in the Japanese population in order to clarify the prevalence of HPV in the pregnant population.

### Materials and methods

During October, 2000 and February, 2001, 1,183 pregnant women were enrolled in this study. Informed consent was obtained at the obstetric outpatient clinics of the hospitals, to which the Cooperative Study Group members belong. The inclusion criteria were any pregnant women, without age or gestational week restriction, who consecutively visited the hospitals during the study period. The hospitals were major general hospitals in each district of Japan, and the pregnant women who visited these hospitals did not belong to a high risk group of sexually transmitted diseases. A sample for HPV DNA analysis was taken using Cytospick (cell sampling device from the uterine cervix, Lion Co. Ltd., Tokyo, Japan) from the uterine cervix by an obstetrician. The specimens were assayed using polymerase chain reaction (PCR)-restriction fragment length polymorphism (RFLP) by the method of Yoshikawa et al. [15]. Briefly, the genomic DNA extracted from the cells was amplified by consensus primers for the L1 region of HPV. After amplification, the DNAs were digested by restriction enzymes. The subtypes of HPV were determined by the patterns of restriction fragment polymorphism. The prevalence of HPV was stratified by age, and the distribution of each HPV subtype was analyzed.

\*Corresponding author:

Koichi Takakuwa, MD  
Department of Obstetrics and Gynecology  
Niigata University School of Medicine  
1-757, Asahimachi-dori  
Niigata, 951-8510  
Japan  
Tel.: +81-25-227-2320  
Fax: +81-25-227-0789  
E-mail: obgy@med.niigata-u.ac.jp