

18. 2006～2008年の東京都におけるHIV検査結果と イムノクロマト法、BED assayによる検査の解析

分担研究者 貞升健志 (東京都健康安全研究センター)
研究協力者 長島真美, 新開敬行, 尾形和恵, 仲真晶子, 矢野一好
(東京都健康安全研究センター)

研究概要

東京都では1987年より保健所における無料匿名HIV検診を開始し、1993年より夜間の受診機関である東京都南新宿検査・相談室を開設している。1990年代後半にHIV検査数が減少し、東京都におけるHIV感染症の実態と検査体制が合致しない状況が続いたため、より効果的な検査体制の構築を目的とし、2003年4月より南新宿における土日検査を開始した。さらに、2004年以降に都内保健所で即日検査が開始され、検査数および陽性数は増加する傾向が認められている。2006～2008年の調査を実施した結果、南新宿・検査相談室に偏る傾向にあった陽性例が、保健所における検査(通常検査または即日検査)においても増加する傾向がみられた。また、BED assayを用いた解析では保健所等陽性例の40%強が感染初期例と判定された。即日検査に使用されているイムノクロマト法にはロット間で差を生じる場合があること、陽性例の多くは60秒以内にバンドが認められることを明らかにした。

A. 背景

東京都では、エイズ対策事業として1987年から保健所における無料・匿名HIV検診を、1993年から東京都南新宿検査・相談室(以下:南新宿)におけるHIV検診事業を開始している。HIV検査をさらに受けやすく、より効果的に実施する目的で、2003年4月より南新宿における土日検査を開始した。加えて、東京都健康安全研究センター(都健安研センター)で検査を行う検体(通常検査)については、2004年9月より抗原抗体同時スクリーニング検査を導入した。また、都内の江戸川区、立川市、杉並区および台東区内等の9保健所ではHIV即日検査を開始しており、即日検査陽性例については、都健安研センターで確認検査を実施している。なお、東京都では感染が推定される時点から検査が可能となる期間を通常検査では2ヶ月、即日検査では3

ヶ月としている。

B. 目的

本研究では、2006年～2008年の南新宿、保健所における通常検査および即日検査陽性例の年次推移の調査を実施するとともに、即日検査で汎用されているイムノクロマト(IC)法の特徴を詳細に解析することを目的とした。さらに、検査陽性例における感染初期例の比率をBED assayにより検討した。

C. 方法

1. 東京都におけるHIV検査

都内の保健所および南新宿におけるHIV検査希望受診者を対象としたHIV検査(通常検査)は、図1のプロトコールに従い実施した。すなわち、スクリーニング検査として抗原抗体を同時に検出するELISA法(エンザイグノ

スト HIV インテグラル；シーメンズ）を実施した。スクリーニング検査陽性の場合には、イムノクロマト(IC)法を実施し、陽性の場合には直ちにウエスタンブロット法 (Bio-Rad) またはアンプリコア HIV-1 モニター-v1.5 (ロシュダイアグノスティクス) を使用し、確認検査を行った。なお、IC 法陰性の場合には二次スクリーニング検査として抗原抗体同時 ELISA 法 (ジェンスクリーン HIV Ag-Ab ; Bio-Rad) を実施し、陽性の場合にはさらに上記の確認検査を実施した。なお、使用した検査キットはすべてキット付属の取り扱い説明書に準じて検査を実施した。

2. 即日検査判定保留例の確認検査

都内9保健所より搬入された即日検査判定保留例 141 件について、抗原抗体同時スクリーニング検査を実施した。IC 法と ELISA 法両方で陽性となった検体は、WB 法またはアンプリコア HIV-1 モニター-v1.5 を用い、確認検査を実施した。

3. 南新宿、保健所 (通常検査)、保健所 (即日検査) における陽性数の年次別比較

南新宿、都内保健所における通常検査、および即日検査における HIV 検査陽性数の比較検討を行った。

4. IC 法キットのロット間差に関する検討

都内保健所で即日検査を実施し、判定保留となった例 19 件 (確認検査陰性例) と HIV 感染初期例 (IC 法陰性例) 7 件について、有効期限内の異なる IC 法キット 5 ロットを用い検討を行った。

5. イムノクロマト法の判定ライン出現時間の違いによる陽性例と偽陽性例の区別

IC 法陽性例 (HIV 検査陽性例 69 件、偽陽性例 6 件) を材料に、IC 法の陽性判定ラインが目視で確認できるまでの時間を測定した。

6. BED assay と WB 法による gp41 バンドの発色度について

HIV 検査陽性例の WB 法による gp41 のバンドの濃淡を (-), (±), (+), (++) の 4 段階に

分け、BED assay の検査結果 (ODn 値) と比較検討した。なお、BED assay についてはキット付属の取り扱い説明書に準じ、実施した。

7. BED assay による感染初期例の検出

BED assay により保健所等検査陽性例の感染初期例の検出を行った。

D. 結果

1. 南新宿、通常検査 (保健所)、即日検査 (保健所) における陽性数の年次別比較

南新宿、都内保健所における通常検査または即日検査で実施した HIV 検査陽性数の比較検討を行った。その結果、2008 年の南新宿における検査陽性数は過去 4 年間で最も少なかった (図 2)。一方、保健所通常検査および即日検査による陽性数は年々増加傾向にあることが判明した (図 3, 4, 5)。

2. 即日検査判定保留例の確認検査

都内9保健所より搬入された即日検査判定保留例 141 件について確認検査を実施した。その結果、保健所にて追加検査を実施している 26 件中 23 件は陽性となり、的中率は 88.5% と高かったのに対し、IC 法のみ実施の保健所陽性例 115 件では 45 件が陽性となり、的中率は 39.1% と低い傾向が認められた。従って、即日検査を実施した場合には、追加検査を実施した方が偽陽性例を迅速に除去することができ、陽性一致率が上昇することが判明した (図 6)。

3. IC 法のロット間差に関する検討

都内保健所で即日検査を実施し、陽性となった例について再度都健安研センターで IC 法を実施したところ、陽性となる率が低かったため、使用期限内のロットの異なる 5 キットを購入し、再現性を調査した。その結果、ロットにより偽陽性率は様々であり、最も偽陽性率が高かったロットでは偽陽性例 (HIV 確認検査陰性) 19 件中 7 件、最も低かったものでは 19 件中 1 件が陽性とロット間で結果に差が生じることが示唆された。また、HIV

感染初期例（IC法陰性例）7件を用いて検討した場合、偽陽性率の高いロットでは検出率が高い傾向が認められた（図7）。

4. イムノクロマト法の判定ライン出現時間の違いによる陽性例と偽陽性例の区別

IC法陽性の確認検査実施事例（HIV検査陽性例69件、偽陽性例6件）を材料に、IC法の陽性判定ラインが出現する時間を測定した結果、WB法で陽性となる例はすべてが60秒以内に陽性判定ラインが出現することが判明した。また、WB法で判定保留かつPCR法で陽性となる例は60～180秒で判定ラインが認められ、IC法偽陽性例については60～300秒で判定ラインが出現する傾向にあることが判明した（図8）。

5. BED assayとWB法のバンド(gp41)との比較検討

HIV検査陽性例のWB法による検査でgp41の発色度、濃淡とBED assayの結果と合わせ検討した結果、WB法でgp41のバンドがみえない場合には100%、(±)の場合には96.7%がBED assayで感染初期と判定され（図9）、(+)の場合には94.3%、(++)の場合には23.6%が感染初期例となり、WB法のgp41のバンドの発色度とBED assayの結果に密接な関連性が認められた。

6. BED assayによる感染初期例の検出

保健所等検査で陽性となった例についてBED assayを実施した結果、44.5%が感染初期例と判定された。

E. 考察

2003年4月から南新宿における土日検査を開始したことによって、検査数および陽性数の増加が認められ、土日検査の導入は検査数の増加、陽性者の確認に有効な施策であることが強く示唆されてきた。一方で、南新宿におけるいわば検査陽性例の一極集中化が起きていた。

2008年の調査では東京都のHIV感染者報告

数が増加しているのにも関わらず、南新宿の検査陽性数は減少、逆に都内保健所における検査陽性数は増加している傾向が認められている。この傾向は保健所における検査の利便性が上昇したことによるものと期待されるが、今後の動向についてはさらに継続して調査していく必要がある。

都内で即日検査を導入している保健所は、現在9カ所であり、即日検査（IC法）で陽性となった場合、その多くは都健安研センターで確認検査を実施している。IC法陽性例には、そのまま都健安研センターに搬入している場合とIC法に加え自所で追加検査を行った後、陽性例のみを搬入している場合がある。今回の調査から自所で追加検査を実施している場合には陽性率が88.5%であるのに対し、IC法のみの場合には陽性率が39.1%と一致率が極めて低いことが判明した。このようなことから、同じ即日検査でも、追加検査を入れることによって、より確実な検査結果を検査受診者に迅速に提供できることを示している。

IC法は約1%の割合で偽陽性が出現することが判明しており、偽陽性が否かの確認を行うためには、ELISA法や粒子凝集法による追加検査や確認検査が必要である。しかしながら、即日検査の現場ではできる限り偽陽性例を除去し、陽性例については確実に把握したいところである。今回、IC法を利用した偽陽性例と陽性例の区別が可能か否かについて検討を行ったところ、HIV検査陽性例の場合には60秒以内（平均約35.5秒）に判定ラインが出現するため、強陽性例については事前に予測できる可能性のあること示唆された。

また、一方でキット間にロット間差があり、偽陽性例で認められる判定ラインがロットにより出たり出なかったりする場合があることが示唆された。偽陽性を生じやすいロットは感度の面でやや高く、IC法陰性のHIV検査陽性例の一部の検体が陽性となることがあることも判明し、IC法偽陽性の二次スクリーニン

グ検査として同一社の他ロットを使用することは現段階では推奨することができないと思われる。今後、他社から IC 法が発売されるとの情報もあり、IC 法偽陽性を除去するためには、他社製品を組み合わせた検査法も可能になるため、今後さらに検討して行く必要がある。

BED assay については確認検査法である WB 法の gp41 のバンドの発色度・濃淡と関連していることが判明した。以前は WB 法で判定保留例のみを感染初期と判断していたが、さらに感染初期の枠を拡大したものとして捉えることができるものと思われる。東京都では検査陽性例の 44.5% が感染初期例と判定され、残りの 55.5% は長期の感染となり、感染機会があり抗体が陽転化してから 155 日以上経過してから HIV 検査を受診していることになる。より効果的な検査体制のためにも、BED assay の調査を継続して実施していく必要がある。

F. 研究発表

論文発表

1. 貞升健志, 長島真美, 新開敬行, 尾形和恵, 仲真晶子, 矢野一好: 東京都における 2007 年 HIV 検査陽性例の遺伝子学的, 血清学的解析, 日本エイズ学会誌 (投稿中)
2. 貞升健志, 長島真美, 新開敬行, 尾形和恵, 吉田靖子, 矢野一好: ヒト免疫不全ウイルス (HIV) 感染症: 東京都における検査と解析, 東京都健康安全研究センター年報, 58, 27-36, 2007
3. 藤崎誠一郎, 藤崎彩恵子, 伊部史郎, 浅黄 司, 伊藤俊宏, 吉田 繁, 小池隆夫, 大家正泰, 渡邊香奈子, 正兼亜季, 上田幹夫, 湯永博之, 松田昌和, 貞升健志, 長島真美, 岡田清美, 近藤真規子, 秦 眞美, 溝上泰司, 森 治代, 南 留美, 白坂琢磨, 岡 慎一, 杉浦 互, 金田次弘:

日本における HIV-1 遺伝子型薬剤耐性検査のコントロールサーベイ, 日本エイズ学会誌, 9, 136-146, 2007

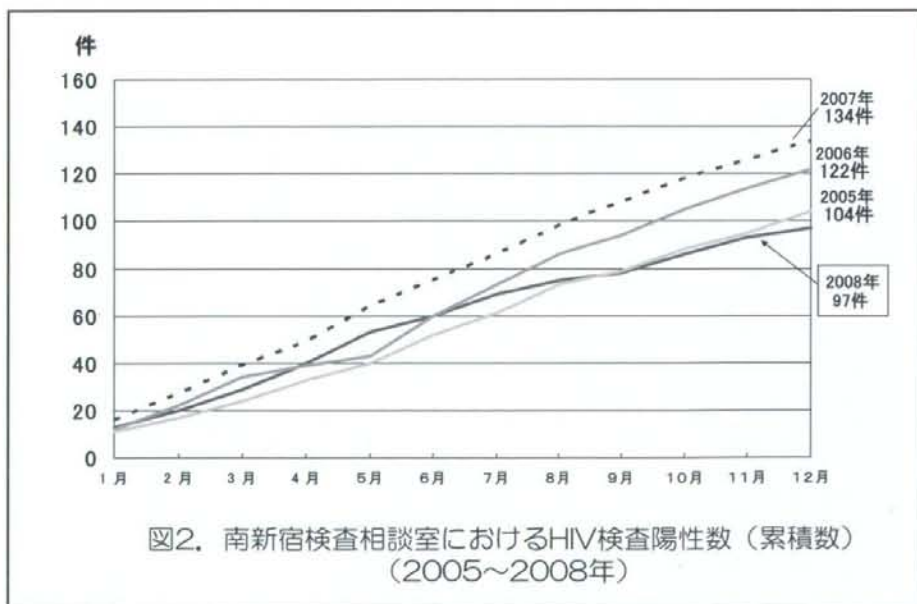
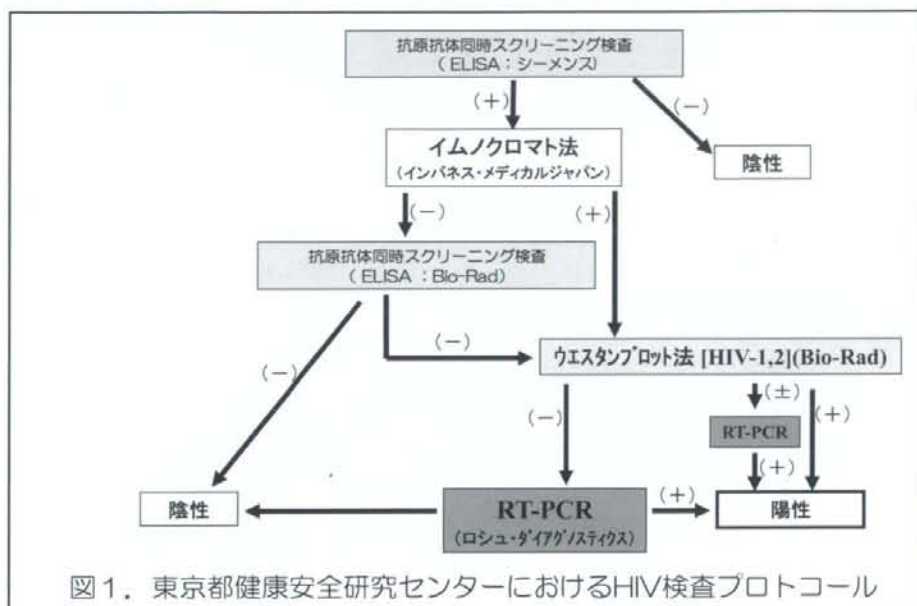
4. Fujisaki, S., Fujisaki, S., Ibe, S., Asagi, T., Itoh, T., Yoshida, S., Koike, T., Oie, M., Kondo, M., Sadamasu, K., Nagashima, M., Gatanaga, H., Matsuda, M., Ueda, M., Masakane, A., Hata, M., Mizogami, Y., Mori, H., Minami, R., Okada, K., Watanabe, K., Shirasaka, T., Oka, S., Sugiura, W. and Kaneda, T.: Performance and quality assurance of genotype drug-resistance testing for human immunodeficiency virus type 1 in Japan, Jpn. J. Infect. Dis., 60, 60, 113-117, 2007
5. Gatanaga, H., Ibe, S., Matsuda, M., Yoshida, S., Asagi, T., Kondo, M., Sadamasu, K., Tsukada, H., Masakane, A., Mori, H., Takata, N., Minami, R., Tateyama, M., Koike, T., Itoh, T., Imai, M., Nagashima, M., Fumitake, G., Ueda, M., Hamaguchi, M., Kojima, Y., Shirasaka, T., Kimura, A., Yamamoto, M., Fujita, J., Oka, S. and Sugiura, W.: Drug-resistant HIV-1 prevalence in patients newly diagnosed with HIV/AIDS in Japan, Antiviral Res., 75, 75-82, 2007

学会発表

1. 貞升健志, 長島真美, 新開敬行, 尾形和恵, 原田幸子, 仲真晶子, 矢野一好: 2005-2008 年の東京都内保健所等 HIV 検査陽性例の薬剤耐性変異の解析, 第 22 回日本エイズ学会学術集会・総会, 大阪 (2008. 11)
2. 長島真美, 新開敬行, 尾形和恵, 原田幸子, 貞升健志, 仲真晶子, 矢野一好: BED

assay を使用した東京都内保健所等における HIV 検査陽性例の血清学的解析, 第 22 回日本エイズ学会学術集会・総会, 大阪(2008. 11)

3. 貞升健志, 長島真美, 新開敬行, 尾形和恵, 吉田靖子, 矢野一好: 東京都内保健所等の HIV 検査陽性例の血清学的, 遺伝子学的解析, 第 21 回日本エイズ学会学術集会・総会, 広島(2007. 11)
4. 長島真美, 貞升健志, 新開敬行, 尾形和恵, 吉田靖子, 矢野一好: イムノクロマト法における陽性例と偽陽性例の判定ライン出現時間の比較, 第 21 回日本エイズ学会学術集会・総会, 広島(2007. 11)
5. 貞升健志, 長島真美, 新開敬行, 吉田靖子, 山田澄夫: 東京都内で検出された HIV-1 の Protease 遺伝子の解析, 第 20 回日本エイズ学会学術集会・総会, 東京(2006. 11)
6. 新開敬行, 貞升健志, 長島真美, 吉田靖子, 山田澄夫: 東京都の HIV 検査におけるイムノクロマト法偽陰性例について, 第 20 回日本エイズ学会学術集会・総会, 東京(2006. 11)
7. 長島真美, 貞升健志, 新開敬行, 吉田靖子, 山田澄夫: イムノクロマト法のロット間差に関する検討, 第 20 回日本エイズ学会学術集会・総会, 東京(2006. 11)



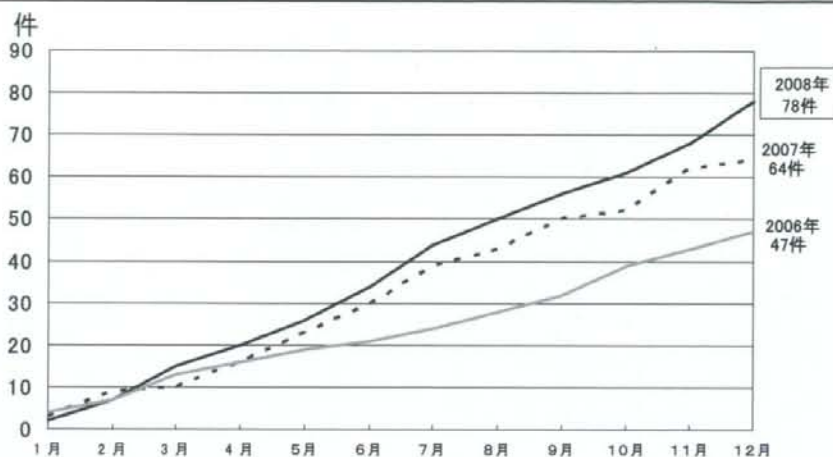


図3. 東京都内保健所におけるHIV検査陽性数（累積数）
（2006-2008年）

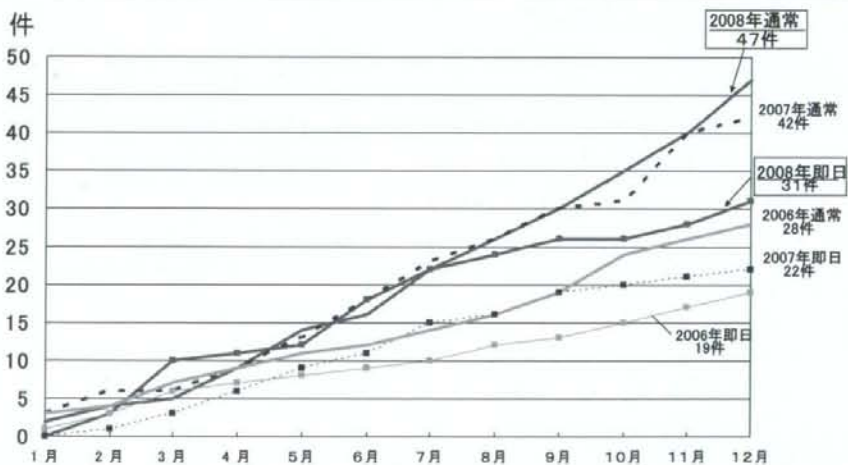


図4. 東京都内保健所におけるHIV検査陽性数（累積数）
（2006～2008年）



図5. 保健所等検査毎のHIV検査陽性数の割合 (%)
(2005~2008年)

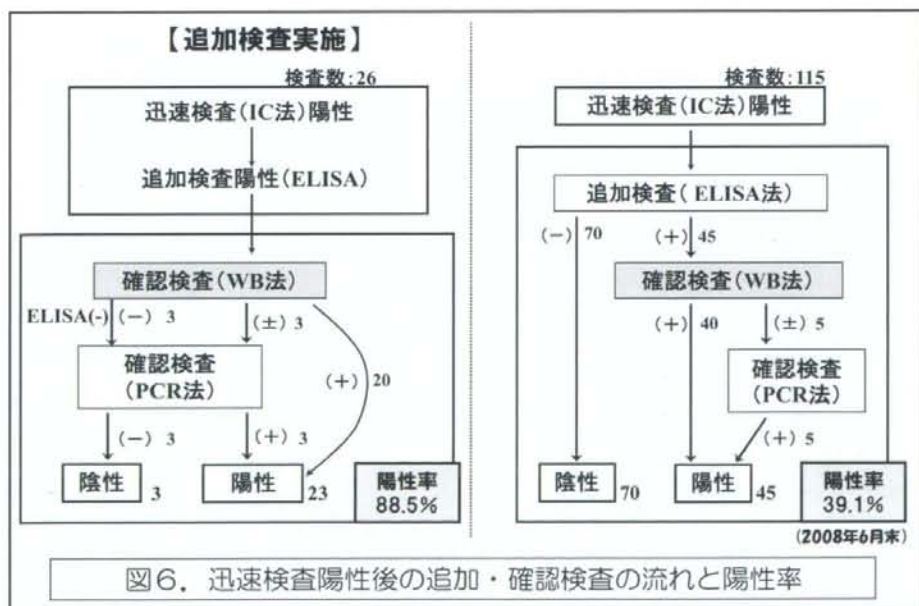
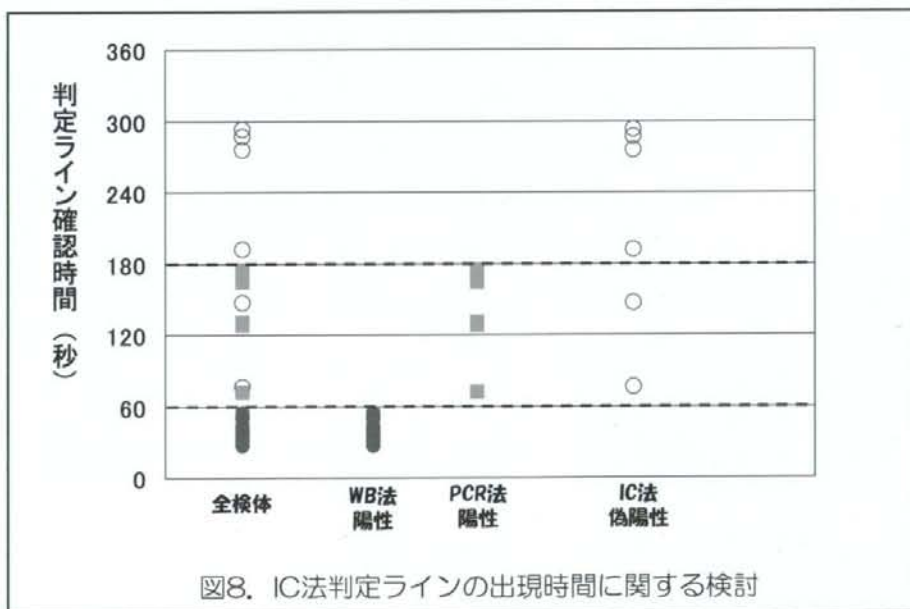
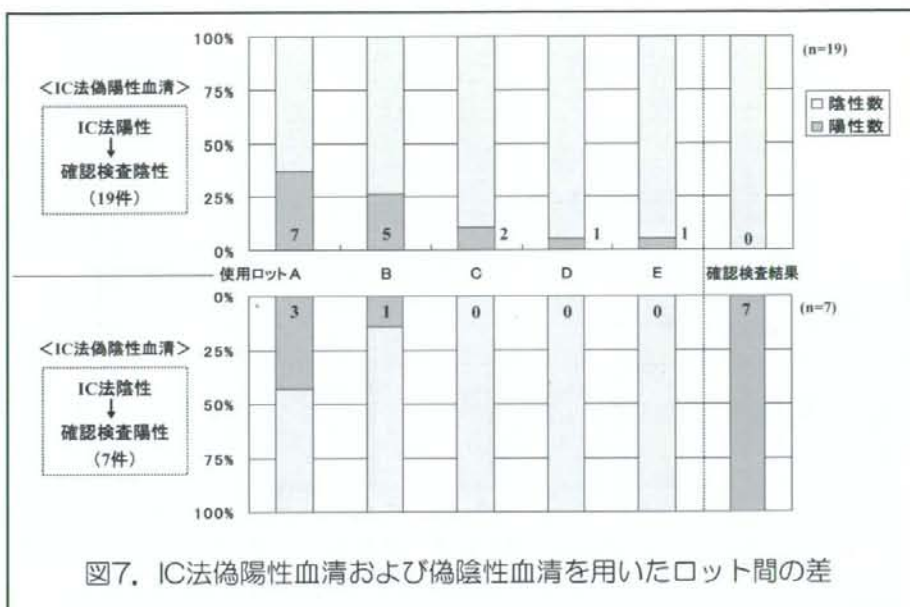


図6. 迅速検査陽性後の追加・確認検査の流れと陽性率



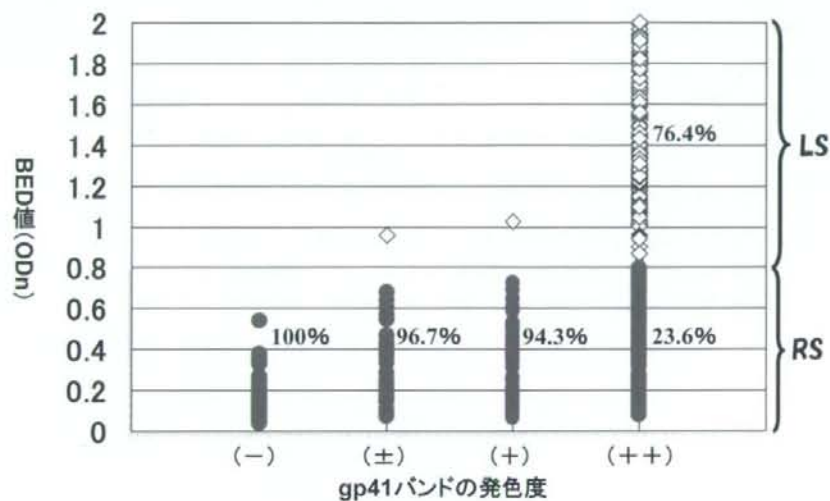


図9. gp41バンドの発色度とBED値

19. 愛知県における HIV 検査結果の解析

皆川洋子 (愛知県衛生研究所)

田中正大 (愛知県衛生研究所生物学部)

秦 眞美 (愛知県衛生研究所生物学部)

研究要旨

2008年に愛知県の公的検査機関における HIV 抗体検査件数は 13,034 件を記録し、11,240 件であった 2007 年より約 16%増加となった。一方平成 20 年度当所における Western Blot 法による確認検査において陽性を示した検体数は平成 19 年度の 24 件から 16 件と減少した。陽性検体のサブタイプは、CRF01_AE1 件をのぞく他の 15 件は全て B であった。抗 HIV 薬耐性変異については、プロテアーゼ阻害剤耐性変異の M46I と核酸系逆転写酵素阻害剤耐性変異の K219Q がそれぞれ 1 件合計 2 件検出された。

A. 研究目的

愛知県では 2006 年 8 月 HIV 即日検査導入以来、保健所エイズ検査数の増加傾向が続いている。愛知県では、保健所におけるイムノクロマト法による一次スクリーニング検査で陰性とならなかった全ての検体について、衛生研究所において二次検査を行う体制をとっているが、衛生研究所における Western Blot 法による確認検査において陽性を示した検体について疫学的検討を行っている。

昨年までに、1995 年から 2007 年まで愛知県衛生研究所での確認検査により HIV 感染が確認された 146 名の血清あるいは血漿から RT-PCR 法により増幅・検出した HIV-1 ウイルスの Env、Pol 遺伝子について解析し、サブタイプ及び薬剤耐性変異の調査結果を報告してきた。サブタイプは B が主流であり、CRF01_AE も少数認められていた。また、薬剤耐性変異については、2003 年にプロテアーゼ (PR) 阻害剤に対する薬剤耐性変異 M46I が検出され、2004 年には多剤の非核酸系逆転写酵素 (RT) 阻害剤 (NNRTI) に対して強い薬剤耐性を示す K103N が検出された。2005 年には 15 名中 3

名から M46I、1 名から PR 阻害剤に対する薬剤耐性変異 D30N が、さらに、2 名から核酸系 RT 阻害剤 (NRTI) に対する薬剤耐性を示す Y115F と F77L がそれぞれ検出された。2006 年には M46I が 4 名から、2007 年には同じく M46I が 1 名から検出されている。

本 2008 年度は前年度までの調査を継続して確認検査陽性検体の HIV 遺伝子検査を実施したので、愛知県保健所エイズ検査及びハイリスク感染者血清から検出された HIV-1 の疫学的特徴を以下に報告する。

B. 研究方法

平成 20 年度に愛知県内の保健所におけるスクリーニング検査及び医療機関等で HIV 感染が疑われ、当衛生研究所でのウエスタンブロット法による確認検査において HIV-1 抗体陽性を示した血清 16 検体を使用した。血清より RNA を抽出し、RT-PCR 法により Env 遺伝子の C2V3 領域、及び Pol 遺伝子の PR、RT コード領域を増幅した。PCR 産物を鋳型としたダイレクトシーケンシングにより塩基配列を決定した。サブタイプは Env 遺伝子の塩基配列解

析結果に基づいて決定した。サブタイプの参照遺伝子配列セットは Los Alamos National Laboratory の HIV data base

(<http://www.hiv.lanl.gov/>)から入手し、遺伝子解析ソフトウェア MEGA4

(<http://www.megasoftware.net/>)による Neighbor-Joining (NJ) を用いた系統樹解析を実施した。薬剤耐性変異については PR をコードする全領域及び RT 遺伝子の 1~270 番アミノ酸をコードする遺伝子領域を解析した。薬剤耐性アミノ酸変異は International AIDS Society-USA Panel, Dec 2008 に基づき、検出した。

C. 研究結果

16名に由来する HIV-1 陽性検体の概要を表に示す。当所に搬入される検体のほとんどは保健所等において実施している匿名スクリーニング検査受検者由来であるため、性別、国籍、年齢等個人特定につながる情報は得られない場合が多い。感染経路は、11名が男性同性愛 (Men who have Sex with Men: MSM) による感染と推定されたが、残りの5名は不明であった。16名全てについて血清中 HIV-1 ウイルス遺伝子解析を実施した結果を表に示す。サブタイプ解析は、16名のうち15名が B であった。他の1名は、CRF01_AE であった。

薬剤耐性関連変異の解析からは、PR 阻害剤に対するメジャー変異 M46I と、核酸系 RT 阻害剤 (NRTI) に対する薬剤耐性変異 K219Q がそれぞれ1名から検出された。また、PR 阻害剤のマイナー変異は12検体 (75%) に検出された。検出されたのは、L10I, I13V, G16E, K20R, M36I, I62V, L63P, I64V, A71V, L76V,

V77I, I93L, I93M の13種類で、11検体 (69%) からは2種類以上の変異が検出された。(表)

D. 考察

2008年度に愛知県行政検査において陽性を示した HIV-1 のサブタイプは、16件中15件が B、1件のみ非 B (CRF01_AE) であった。2008年度は系統樹解析によりサブタイプを判定したが、2007年まで使用していた NCBI の genotyping ツールを用いると、今回 B と判定された多数の検体の解析結果が非 B となった。2007年度は非 B を多く検出していたことから、2007年度の検体 (24件) についても系統樹解析による再検査を実施したところ、解析した20件中18件が B、2件が CRF01_AE であった。以上の再解析結果から、genotyping ツールを用いて得られた結果の判定には、慎重であるべきと思われる。

薬剤耐性関連変異については、NRTI に対する薬剤耐性変異 K219Q が、愛知県行政権さから初めて検出された。この変異は多剤耐性 HIV-1 にしばしば検出される変異の1つであり、この変異には今後も注目していくべきであろう。PR 阻害剤に対する薬剤耐性変異は、メジャー変異 M46I が2006年に4名、2007年に1名、2008年に1名と3年連続して検出されている。愛知県保健所 HIV 匿名検査陽性者の多くを占めると考えられる未治療 HIV-1 感染者間において、上に記した薬剤耐性 HIV の蔓延が危惧される。愛知県のみならず全国的に HIV 陽性者報告数の増加傾向は続いており、継続的なエイズ検査機会の提供とともに、引き続き耐性ウイルス監視調査が必要と考えられる。

表1 平成20年度に愛知県エイズ検査陽性者の特徴
及び検出 HIV の遺伝子サブタイプ、薬剤耐性関連変異

	性別	年齢	国籍	推定感染経路	サブタイプ	PR メジャー変異	PR マイナー変異	NRTI 変異
1	男	46	不明	不明	B	-	L10I I13V	-
2	男	24	不明	不明	B	-	I62V I93I/M	-
3	男	不明	不明	MSM*	B	-	-	-
4	男	不明	不明	MSM	B	-	M36I	-
5	男	不明	不明	MSM	B	-	L10I M36I	-
6	男	不明	不明	MSM	B	-	I13V A71V I93L	K219Q
7	男	不明	不明	MSM	B	-	-	-
8	男	不明	不明	MSM	B	M46I/K	M36I I64V	-
9	男	不明	不明	MSM	B	-	I62V V77I	-
10	男	不明	不明	MSM	B	-	L10I K20R	-
11	男	32	不明	不明	B	-	I62V L63P V77I I93L	-
12	男	37	不明	不明	B	-	-	-
13	男	41	日本	不明	01_AE	-	I13V K20R M36I L63P I93L	-
14	男	31	日本	MSM	B	-	G16E I62V L76V	-
15	男	30	日本	MSM	B	-	-	-
16	男	35	日本	MSM	B	-	G16E I62V L63P	-

*MSM: Men who have sex with men

20. 大阪府における公的 HIV 検査の状況 (06-08)、STI 関連診療所における検査相談と疫学調査、日曜日常設即日検査所における PA 法併用の効果、献血における大阪と東京の陽性率に関する考察、大阪府内において HIV・AIDS 啓発キャンペーンの及ぼした影響

研究分担者	川畑拓也 (大阪府立公衆衛生研究所 感染症部ウイルス課)
研究協力者	森 治代、小島洋子 (大阪府立公衆衛生研究所感染症部ウイルス課) 大國 剛、古林敬一 (大國診療所)、早川謙一 (早川クリニック)、 木村博子 (木村クリニック)、谷口幸一 (野村クリニック)、 岩佐 厚 (岩佐クリニック)、 谷口 恭 (太融寺町谷口医院(旧すてらめいとクリニック)) 川添昌之 (HIV と人権・情報センター)

研究要旨

1. 大阪府内の公的検査機関を受検した人数は、2006 年は 14,410 名であり、2005 年より 562 人 (4.1%) 増加したに過ぎなかったが、2007 年は 17,609 名、2008 年は 21,229 名であり、それぞれ 2005 年比で 27.2%、53.3% 増加した。また 2006 年から 2008 年までの 3 年間で、陽性者数は 98 名、94 名、110 名、陽性率は 0.68%、0.53%、0.52% と推移した。受検者数が増加したのは、2008 年に検査体制が見直され、また新たな検査場所が増設されたことにも拠るが、2007 年 2008 年に大阪府内で行われた HIV 予防啓発キャンペーンが直接的な要因であると考えられる。
2. 繁華街に隣接した STI 関連診療所を定点として、HIV 感染に対してリスクが高いと思われる受診者における HIV 感染のモニタリングを 1992 年より継続しているが、2006 年は 25 名、2007 年は 24 名、2008 年は 28 名の HIV 陽性例を見出した。このうちの 8 名 (2006 年 1 名、2007 年 3 名、2008 年 4 名) は NAT のみ陽性である真のウィンドウ期の例であり、その陽性率は 0.123% と非常に高いものであった。(6521 件中 8 件)
3. アメ村サンサンサイト JHC クリニック (日曜即日検査所) において IC 法陽性検体に追加検査として PA 法を実施したところ、偽陽性率が 0.32% から 0.10% に低下した。
4. 大阪府内の献血の HIV 陽性率が近年、東京と比較して高い状況が続いているが、その原因について検討したところ、東京よりも実際の感染が拡大している可能性を否定しきれない事、東京に比べて献血へのマグネット効果が高い可能性がある事が分かった。マグネット効果が高い理由としては、利便性の高い無料匿名検査所が不足している事、献血を検査代わりに利用する習慣がある可能性が存在する事、医療機関における HIV 検査が大阪より東京において、より患者に行われている事等が考えられた。
5. 大阪府内において HIV・AIDS 啓発キャンペーンの及ぼした影響について検討したところ、2008 年は 2007 年に比べ HIV 感染のリスクが高い層がキャンペーン中に公的検査を受検したことが明らかとなった。

A. 研究目的

大阪府内の公的検査体制における傾向を示すために解析を行った。

また、性感染症に関して感染の機会が多い性行動を取ると思われる人々における HIV 感染の状況を把握するには、保健所や検査所におけるデータのみでは不十分であると考えられることから、我々は 1992 年より大阪地域の STI 関連診療所を定点として受診者における HIV 感染のモニタリングを継続しており、その結果の解析を行った。

さらに、アメ村サンサンサイト JHC クリニック（日曜即日検査所）における 3 年間の活動を総括し、追加検査に PA 法を用いた場合の偽陽性率の低下について検証した。

大阪府内の献血における HIV 陽性率が東京よりも高い状況が近年続いているが、その状況を改善する為の対策を検討する為、原因をについて検討した。

2007 年と 2008 年に大阪で行われた大規模な HIV/AIDS 啓発キャンペーンの無料匿名検査受検者数、陽性率に対する影響を検証した。

B. 研究方法

1. 大阪府内の公的検査体制の解析

大阪府が府内の自治体から提供を受けた公的 HIV 検査の資料（検査数・陽性数）を用い、08 年の府内公的検査の状況を解析した。

2. STI 関連診療所における疫学調査

大阪府内の繁華街に位置する STI 関連診療所（皮膚科、性病科、泌尿器科、婦人科）の医師の協力を得て、受診者の中で HIV 感染について感染の機会が多い性行動を取っていると思われる人に HIV 検査を勧めて本人の承諾を得、採血後次のような検査を実施した。

HIV 抗体検査については、スクリーニング検査として PA 法（ジェネディア HIV-1/2 ミックス PA）を用い、陽性反応が示された場合は、PA 法（セロディア・HIV-1/2）、抗原抗体検出 EIA 法（バイダスアッセイキット HIV デュオ

II）、ウエスタンブロット法（ラブブロット 1 およびラブブロット 2）、イムブロット法（ペプチラブ 1, 2）などの中から適当な方法を採用した。

HIV スクリーニング検査において陰性を示した検体については、核酸増幅検査（NAT）または RT-PCR 法を行った。NAT はコバス TaqMan を用いて行った（臨床検査会社に外部委託）。

又、HIV 感染者の血清から Isogen LS（NIPPON GENE）を用いて RNA を抽出後、RT-PCR を行い、env- C2V3 領域を増幅させた。増幅産物を BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit（Applied Biosystems）を用いて、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を分析した。DNASIS を用いて env-C2V3 領域のアミノ酸配列を推定した。得られた塩基配列は CLUSTAL W を用いて HIV-1 各遺伝子型の標準株塩基配列を用い、多重整列を行った後、phyllip 近隣結合法により系統樹を作成した。

3. 日曜即日検査所における PA 法併用の効果

イムノクロマトグラフィ法（IC 法）による HIV 抗体即日検査を行っている日曜即日検査所で IC 法陽性の検体に対して PA 法による追加検査を行った。

4. 大阪府と東京都の献血における HIV 陽性率の比較・検討

東京都に比べ大阪府内でなぜ献血の陽性率が高いのかを、幾つかの仮説を立て、それぞれ検討した。

5. 大阪府内において HIV・AIDS 啓発キャンペーンの及ぼした影響

2007 年同様キャンペーン月（6, 9, 12 月）と非キャンペーン月の検査数、陽性数、陽性率を、保健所と公設 HIV 検査所の間で比較し、キャンペーンが大阪府内の HIV 検査に及ぼした影響について検討した。

C. 研究結果と考察

1. 大阪府内の公的検査体制の解析

大阪府における2008年の公的HIV検査数の合計は21,229件で、2007年の17,609件に比べ20.6%増加した。(図1) 2008年に検査数が増加したのは大阪府の保健所であったが、2008年6月に新規に開始された火曜日と金曜日の夜間検査においても多くの人が検査を受けた。他の機関の受検者数は、前の年と比べて若干増加したに留まった。(図2)

2008年の陽性件数は110件で、2007年に比べ16件増加した。(図1) 陽性件数を検査機関別にみると、大阪市保健福祉センターが最も多く、次いで土曜日常設検査、大阪府保健所の順であった。また、新たに開設された火曜日夜間検査において約半年で8件の陽性が見とめられたことは特筆すべきである。また、堺市や高槻市といった検査数がそれほど多くない周辺地域でも陽性が見つかり、感染の広がりを反映したものかどうか、今後も注意深く観察していきたい。(図2)

主要公的検査所の陽性率の年次推移を2003年より掲載した。(図3) 昨年と比較して、府内公的検査全体の陽性率はほぼ同じであったが、検査数の増加からすると、増加した受検者の中に比較的高いリスクの高い集団が含まれていたと推察される。個々の陽性率を見ると、大阪市保健センター、土曜日常設検査において上昇、木曜夜間検査でほぼ横ばい、日曜即日検査、大阪府保健所において下降した。

2008年における月ごとの検査数推移を見ると、公的検査所の検査数の合計は7月までは例年通りの推移(4月に若干減少し、6月の検査普及キャンペーンで増加する)を示した。特に、大阪市は4月にそれまで市内すべての保健福祉センターで行っていた検査を4ヶ所に集約したが、従来より受検者が比較的多く、駅や繁華街から近い4ヶ所に設定し、また検査受付曜日を拡大することで利便性を高めたため、受検者数は集約前と同様の人数を維持することが出来た。(図4、5月・7月)

8月下旬から10月初旬に掛けて大阪府内で行われた大規模な啓発キャンペーンの影響を受けて、大阪市保健福祉センターと大阪府保健所において検査数は大幅に増加した。(図4) 木曜夜間検査と堺市保健所の検査もキャパシティーに余裕があったためか、同様の傾向を示したが、既存の他の検査所(土曜日常設検査と日曜即日検査)は、この啓発キャンペーンの影響で受検者が殺到し、キャパシティーの上限を超えてしまい、来場者は増えたものの断らざるを得ず(於日曜即日検査)、そのためそれほど検査数は増加しなかった。しかし、大阪府と大阪市の保健所、保健福祉センターは検査可能な施設数・曜日が多く(府:14ヶ所、市:4ヶ所)、啓発キャンペーンによる増加した検査希望者を、十分に受け入れられたものと推測される。

ここで chot CAST なんぼについて解説しておく。chot CAST なんぼは正式名称を「大阪検査相談・啓発・支援センター」といい、大阪府と大阪市がエイズ予防財団の支援を受け、2008年3月に大阪・難波に開設した。3月末に、それまで心斎橋のアメリカ村で行われていた日曜即日検査が、6月からは北区の堂山で行われていた土曜日常設検査が移転・入所し、また新たに火曜日と金曜日の夜間検査が新設された。日曜即日検査・土曜日常設検査とともに、それまでの施設よりも床面積・カウンセリングルームの数等、キャパシティーが増加したため、検査日当りの検査可能人数が増え、その結果、検査数の増加がみられた(図4)、元来この2施設は恒常的に来場者であふれていたため、その増加割合は府や市の保健所ほどではなかった。また、6月に新たに開始された火曜日夜間検査と金曜日夜間検査は、周知も行き届いていなかったためか当初は認知度も低く、検査数は少なかったが、時間の経過と共に徐々に来場者数は増加し、9月くらいには土曜日や日曜日の検査と同等の受検者数となった。(図4)

月別の陽性率であるが、検査機関ごとの陽性率の推移は、陽性者の数に左右される振れの大きな推移となったが、全体の陽性率に注目すると、2月、7月、9月が高く、4月が低かった。全体の平均した陽性率は0.5%程度であった。(図5) また、火曜日夜間検査は比較的陽性率が他に比べて高く、これが週末明けの夜間検査特有の現象であるのか、今後も注目していきたい。

2. STI 関連診療所における疫学調査

2008年のSTI関連診療所におけるHIV検査数は男性1,233人、女性616人、性別不明7人の合計1,856人であった。この内、男性29人がHIV陽性であり、男性の陽性率は2.4%であった。(表1)

図6に調査開始時(1992年)から2008年までの陽性件数の年次推移を国籍別・性別のグラフで示した。調査開始当初見られた外国人女性の陽性者は1999年を最後に見つかっていない。これに対し、本調査においては1994年に初めて見つかった日本人男性の陽性者は、ここ数年増加傾向であることが伺える。

本調査において、HIV抗体検査が陰性であった全ての検体についてNAT(核酸増幅検査)を実施し、感染直後で抗体が陽性になる前のHIV遺伝子のみ陽性の感染者を見逃さないよう努めている。NATは2000年より導入し、2008年までの9年間で2万1700件あまりの検査を行ったが、これまでに8例の抗体陰性・遺伝子陽性である真のウィンドウ期例を見出した。(表2) この内半数に相当する4例が2008年に見つかった。(表2)

3. 日曜日常設即日検査所におけるPA法併用の効果

大阪における唯一の公的常設即日検査所であるアメ村サンサンサイト JHC クリニック(2008年3月末より、なんばサンサンサイト

JHCとして「shot CAST なんば(大阪 HIV 検査相談・啓発・支援センター)」内に移転)は2004年夏にオープンし、2006年度末までに4,051人(男性2,873人、女性1,158人)についてイムノクロマトグラフィー法(IC法)によるHIV抗体検査を行い、IC法陽性の検体に関してはPA法による追加検査を行った。

(IC法、PA法共に陽性の検体は、当所にて確認検査を行った。)この間、抗体陽性者は男性30人、女性2人の合計32人であり、陽性率は男性1.1%、女性0.17%であった。受検者の年齢構成は、20歳代が約6割、30歳代が約3割、10歳代と40歳以上が残り約1割を占めていた。(データは示さず)

オープンから2006年度末までの間に、IC法による陽性数は45例であり、その内36例がPA法による追加検査でも陽性であり、確認検査の結果32例が真のHIV抗体陽性であった。偽陽性率は、IC法の場合0.32%(13/4019×100)であるが、PA法を追加検査として併用した結果0.10%(4/4019×100)にまで低下した。(図7)

4. 大阪府と東京都の献血におけるHIV陽性率の比較・検討

ここ数年、大阪府内の献血におけるHIV陽性率が東京都内より高いことが問題となっている。そこで、「大阪府において、東京都に比べHIVの感染が実は拡大している。」「大阪府において、東京都に比べ献血へのマグネット効果が高い。」という二つの仮説を立て、それぞれ検証した。

その結果、HIV感染者及びエイズ患者の報告数(エイズ発生动向)を元に考えると、大阪府においてHIV感染は東京都ほどには拡大していない事が示唆されたが、府内で報告されるHIV陽性例の5%程度が感染後数週間と考えられる感染初期例であることから、水面下での感染拡大は否定できない。一方、休日夜間や即日検査等、利便性の高い公的無料匿名

検査が不足していること、感染症による献血の不適合数が大阪の方が多いため、大阪では献血を検査代わりに利用している習慣がありそうなこと、大阪地域の医療機関においてHIV検査があまりなされておらずHIV感染の発見が遅れている可能性が有ること等の理由から、大阪府において、東京都に比べ献血へのマグネット効果が高い可能性が有ることが示唆された。

5. 大阪府内においてHIV・AIDS啓発キャンペーンの及ぼした影響

2008年、大阪府内において例年通り6月に検査普及キャンペーン、12月に世界エイズデーにちなんだストップエイズキャンペーンが行われた。また、8月下旬から10月初旬まで、大規模なHIV啓発キャンペーンが行われた。一方、3月末にchot CASTなんぼ（大阪検査相談・啓発・支援センター）が開所され、4月には大阪市の保健福祉センターにおけるHIV抗体検査がそれまでの24ヶ所から4ヶ所へ集約されるなど、検査体制が大きく変化した。

そこで、キャンペーン月（6, 9, 12月）と非キャンペーン月（6, 9, 12月以外）の検査数、陽性数、陽性率を比較したところ、キャンペーン期間中、昨年同様保健所では受検者数が約1.5倍に増加したが、土日・夜間の検査所ではchot CASTなんぼへの移転に伴うキャパシティの増加と、日曜即日検査が12月に行った検査イベントにより、受検者数は若干増加しただけだった。（図8）受検者数の増加に伴い保健所では昨年同様、陽性数も若干（約1.2倍）に増加した。しかしながら、土日・夜間の検査所では昨年とは異なり約2倍に増加した。（図9）陽性率を比較すると、保健所では昨年同様キャンペーン月とそうでない月の陽性率は殆んど差が無いが、若干キャンペーン月が減少傾向だが、土日・夜間の検査

所では昨年とは異なり陽性率が大幅に上昇した。（図10）

次に、各土日・夜間検査所により傾向が異なるかどうかを検討するため、それぞれの施設ごとに分け、また複数ある施設は1箇所当りの平均で検討した。対象月は、キャンペーン月は変わらないが（6, 9, 12月）、大阪市が4月よりHIV検査を行う保健福祉センターを24→4ヶ所に集約したので、非キャンペーン月は集約後の4, 5, 7, 8, 10, 11月とした。なお、図中の大阪市以外の保健所とは大阪府、堺市、東大阪市、高槻市の計26保健所の平均を指す。また図中ではスペースの制約から、大阪市保健福祉センターを保健所と便宜上略記した。

検査数はキャンペーン月にはすべての施設で非キャンペーン月に比べて増加した。（図11）陽性数は、大阪市保健福祉センターでは差は見られないが、土日・夜間検査所すべてでキャンペーン月に増加が見られた。

（図12）陽性率は木曜夜間検査、土曜常設検査での増加が大きかったが、これは受検者数に制限を設けていないため、リスクの高い受検者の取りこぼしが少なかったからだと考えられる。日曜即日検査では毎回検査希望者が定員を超過し、超過した受検希望者を断っているため、リスクの高い受検者を取りこぼしている可能性があると考えられる。（図13）また、どうしても受検したい人が日曜日の混雑を避け、他の実施曜日に受検している可能性があることも、他の曜日のカウンセリングから得られた受検者の声から明らかとなっている。

以上、大阪市の保健福祉センターにおいては昨年と同様の傾向が見られたが、土日・夜間検査所においては、キャンペーン月にリスクの高い受検者が増加した影響と考えられる変化が認められ、2007年のキャンペーンはリスクの高い層へはメッセージがあまり届かなかったが（2007年度、当研究班報告書参照）、2008年のキャンペーンはリスクの高い層の

受検行動を促す強烈なメッセージであった可能性が示唆された。

なお、年の途中から chot CAST なんばに設置された火曜夜間検査と金曜夜間検査は、周知が行き届き受検者数が増加するのに3-4ヶ月かかり、比較対象としうる月数が十分取れなかったため、今回解析対象から削除した。

G. 研究発表

論文発表

1. HIV感染と疫学調査(2005年)川畑拓也、小島洋子、森 治代、大竹 徹、平成17年度 感染症流行予測調査結果報告書、第41報、53-54、2006
2. 当所にてHIV感染を確認した、2例のイムノクロマトグラフィー法陰性の感染初期例、川畑拓也、小島洋子、森 治代、大竹 徹、大國 剛、感染症学雑誌、81(1)、76-77、2007
3. HIV感染と疫学調査(2006年)小島洋子、川畑拓也、森 治代、平成18年度 感染症流行予測調査結果報告書、第42報、42-46、2007
4. HIV-1急性感染期検出のためのHIV-1抗原イムノクロマトグラフィー法の検討、川畑拓也、小島洋子、森 治代 大阪府立公衆衛生研究所 研究報告 46、17-19、2008
5. 大阪府内のHIV感染者における性感染症の罹患状況調査と伝播形態の解明、川畑拓也 財団法人大同生命厚生事業団 第13回「地域保健福祉研究助成」報告集、235-239、2008
6. 未治療HIV-1感染者に検出されたV108I変異がefavirenz耐性誘導に及ぼす影響 森 治代、小島洋子、川畑拓也、後藤哲志、日本エイズ学会誌 10、184-190、2008
7. HIV感染と疫学調査(2007年)森 治代、小島洋子、川畑拓也、平成19年度 感染症流行予測調査結果報告書、第43報、

31-34、2008

8. Recent Diversity of HIV-1 in Individuals who visited STI-related clinics in Osaka, Japan、小島洋子、川畑拓也、森 治代、大石 功、大竹 徹、Journal of Infection and Chemotherapy 14、51-55、2008

学会発表

1. HIV感染に対して感染リスクの高い行動を取る人々を対象にした疫学調査において見つかった、HIV-1遺伝子陽性である3例の感染初期例、川畑拓也、小島洋子、森 治代、大竹 徹、大國 剛、第20回近畿エイズ研究会学術集会、大阪、2006
2. 大阪府内においてHIV感染に対してリスクの高い行動をとるグループ内で広がるHIV-1の疫学調査、小島洋子、川畑拓也、森 治代、大竹 徹、第20回近畿エイズ研究会学術集会、大阪、2006
3. V108I polymorphismがEFV耐性の誘導に及ぼす影響 森 治代、小島洋子、川畑拓也、大竹 徹、第20回日本エイズ学会、東京、2006
4. IC法において陰性を示した3例のHIV感染初期例、川畑拓也、小島洋子、森 治代、大竹 徹、大國 剛、第20回日本エイズ学会学術集会、東京、2006
5. HIV疫学調査における母集団の性感染症罹患リスクの解析、川畑拓也、小島洋子、森 治代、大竹 徹、大國 剛、第20回日本エイズ学会学術集会、東京、2006
6. IC法において陰性を示した3例のHIV感染初期例、川畑拓也、小島洋子、森 治代、大竹 徹、大國 剛、平成18年度 地研近畿支部ウイルス部会研究会、大阪市、2006
7. 大阪府内のSTI関連クリニックにおけるHIV感染初期例、小島洋子、川畑拓也、森 治代、大竹 徹、大國 剛、第21

- 回近畿エイズ研究会学術集会、大阪、2007
8. 診療所における HIV 検査の重要性、川畑拓也、第 26 回 大阪 STI 研究会、大阪、2007
 9. 腹部の皮疹を主訴に来院した 3 例、谷口恭、川畑拓也、第 13 回 大阪プライマリケア研究会、大阪、2007
 10. 腹部の皮疹を主訴に来院した 3 例、谷口恭、川畑拓也、第 3 回 日常診療経験交流会、大阪、2007
 11. STI 関連医療機関における HIV 抗体検査の現状に関するアンケート調査結果報告、下内 昭、川畑拓也、大國 剛、大里和久、第 26 回 大阪 STI 研究会、大阪、2007
 12. 大阪府内の STI 関連医療機関における HIV 検査の現状、川畑拓也、下内 昭、大國 剛、第 21 回日本エイズ学会学術集会、広島、2007
 13. アメ村サンサンサイト JHC クリニックにおける日曜即日 HIV 抗体検査・相談事業の 3 年間の報告、矢川幸子、川畑拓也、中瀬克己、東 政美、伊藤麻里子、尾澤るみ子、川添昌之、桜井健司、塩入康史、前田智児、石神 互、第 21 回日本エイズ学会学術集会、広島、2007
 14. 大阪近隣の未治療新規感染者における薬剤耐性 HIV-1 の伝播状況、小島洋子、川畑拓也、森 治代、大國 剛、第 21 回日本エイズ学会学術集会、広島、2007
 15. プライマーにより異なるサブタイプおよび薬剤耐性変異が検出された HIV-1 重感染例、森 治代、小島洋子、川畑拓也、大國 剛、第 21 回日本エイズ学会学術集会、広島、2007
 16. 大阪府立公衆衛生研究所における HIV 研究、川畑拓也、森 治代、小島洋子、平成 19 年度・厚生労働省エイズ対策研究推進事業・研究成果発表会シンポジウム「個別施策層への HIV/エイズ対策における学際的連携の可能性- 若手研究者の研究事例報告を中心に-」
 17. 大阪府内の性病科・泌尿器科・婦人科を定点とした HIV-1 の疫学調査、小島洋子、川畑拓也、森 治代、大國 剛、第 22 回近畿エイズ研究会学術集会、奈良、2008
 18. Mismatched primers detected covert drug-resistant mutations in a patient of HIV-1 dual infection (HIV-1 重感染の患者においてミスマッチのプライマーが隠れた薬剤耐性変異を検出した)、森 治代、小島洋子、川畑拓也、大國 剛、XVII INTERNATIONAL AIDS CONFERENCE, 3-8 August 2008, Mexico City (第 17 回国際エイズ会議、2008 年 8 月 3-8 日、メキシコシティ)
 19. Mismatched primers detected covert drug-resistant mutations in a patient of HIV-1 dual infection (HIV-1 重感染の患者においてミスマッチのプライマーが隠れた薬剤耐性変異を検出した)、森 治代、小島洋子、川畑拓也、大國 剛、3rd International Workshop on HIV Transmission, 2008, Mexico City (第 3 回国際 HIV 伝播ワークショップ、メキシコシティ)
 20. 大阪府の HIV/HBV 重感染例における HBV 遺伝子型別、小島洋子、川畑拓也、森 治代 第 22 回 日本エイズ学会学術集会、大阪、2008
 21. 大阪府内の診療所を定点とした HIV 疫学調査、川畑拓也、小島洋子、森 治代、大國 剛、古林敬一、早川謙一、木村博子、岩佐 厚、谷口幸一、谷口 恭、第 24 回地研全国協議会近畿支部疫学情報部会定期研究会、京都、2008
 22. 抗体陰性の時期に発見された HIV 感染症例、古林敬一、大國 剛、川畑拓也、第 29 回大阪 STI 研究会、大阪、2008