

一の HIV-1 RNA 定量検査試薬として長らく使用されてきたが、2007 年暮れから、リアルタイム PCR を原理とするコバス TaqMan HIV-1 (以下、コバス TaqMan) が同じロシュ社から発売された。また、アボット社からも 2009 年 1 月、同じくリアルタイム PCR を原理とするアキュジーン m-HIV-1 が発売されている。両社の製品の性能比較を表 2 に示す。リアルタイム PCR は、蛍光プローブを用いて得られた PCR 産物の増幅曲線を解析することにより目的の DNA あるいは RNA を定量するものであり、従来の方法に比べて自動化が進み、迅速で定量範囲が広いなどの特徴がある。

コバス TaqMan の発売に伴い、国内のほとんどの検査センターにおける HIV-1 RNA 定量は、2008 年 3 月頃からアンプリコアからコバス TaqMan に移行していったが、その過程でコバス TaqMan による患者の血中 HIV-1 RNA 測定値がアンプリコアによる測定値よりも 2-3 倍高くなることがわかってきた。また、それまでアンプリコアで検出限界以下 (<50 コピー/mL) を保っていた症例において、コバス TaqMan で測定されるようになると 50 コピー/mL 以上の値で検出される例も少なからずあることがわかった。

一方、ヨーロッパでは、逆にコバス TaqMan の測定値がアンプリコアの測定値より有意に低い例のあることが報告されている^{1,2)}。最近、その原因の一つが、PCR に使われている下流プライマーと一部の HIV-1 変異株との間の特定の 1 塩基ミスマッチにあり、定量値を 1/100 以下に低下させるという論文が発表された³⁾。HIV データベースを調べると、報告された HIV-1 の約 2% で同種のミスマッチが見つかった。国内においても、このミスマッチを原因とする HIV RNA 定量値の低下例が観察されている (近藤ら、第 23 回エイズ学会学術集会発表予定)。

ロシュ社では、以上のような問題を解決するため、コバス TaqMan の更なる改良を検討中である。

c. 診断法としての HIV 核酸検査

HIV-1 RNA 定量法を確定診断に使用することで HIV-1 感染をより早期に診断することが可能となった。しかし、HIV-1 RNA 定量法はあくまでも定量を主な目的として作られたものであることを忘れてはならない。すなわち、感染者のウイルス量の動態把握のためのウイルス定量を目的に設計されており、非特異的シグナル増幅やコンタミネーションなどによる偽陽性反応の抑制を最優先課題として考慮して設計されたものではない。実際、EIA に比べてその特異度は必ずしも高くないとの報告もある⁴⁾。現在、米国の FDA で認可されている診断目的の HIV-1 RNA 検査法は、TMA を原理とする 1 機種だけである。このため、HIV-1 RNA 定量法を実際に診断で用いる場合、定量値が非常に低いときには注意が必要である。例えば、EIA 陽性、WB 陰性で、コバス TaqMan の結果が '<40 コピー/mL で検出' の場合、感染初期か PCR の偽陽性かを再検査などにより慎重に判断することが必要と思われる。このような低いレンジにおける特異度は今後、更に詳細に検討すべき課題である。

また、HIV-2 についても、その感染初期における診断をより確実に行うためには、EIA や WB などの免疫学的検査法だけでなく、遺伝子検査法が利用できることが望ましい。日本赤十字社では、血液製剤の安全確保のため、スクリーニング検査が陰性であった全血液について検査試薬 TaqScreen s401 を用いて 20 プールで HIV-1 と HIV-2 の RNA を検査している。将来、このような HIV-1/2 の同時 RNA 検出法が、HIV の確認検査法の一つとして利用できることが望まれる。

参考文献

- 1) Damond F, et al: Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) plasma load discrepancies between the Roche COBAS AMPLICOR HIV-1 MONITOR Version 1.5 and the Roche COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HIV-1 assays. *J Clin Microbiol* 45: 3436-3438, 2007.

- 2) Gueudin M, et al: Evaluation of the Roche Cobas TaqMan and Abbott RealTime extraction-quantification systems for HIV-1 subtypes. *J Acquir Immune Defic Syndr* 44: 500-505, 2007.
- 3) Korn K, et al: Single-point mutations causing more than 100-fold underestimation of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) load with the Cobas TaqMan HIV-1 real-time PCR assay. *J Clin Microbiol* 47: 1238-1240, 2009.
- 4) Owen SM, et al: Alternative algorithms for human immunodeficiency virus infection diagnosis using tests that are licensed in the United States. *J Clin Microbiol* 46: 1588-1595, 2009.

