

19. 口腔拭い液および唾液を用いた HIV 検査キットの検討

須藤弘二 (慶応義塾大学医学部微生物学・免疫学教室)

星野慎二 (NPO 法人 SHIP)

井戸田一朗 (しらかば診療所)

藤原 宏 (慶応義塾大学医学部感染制御センター、慶応義塾大学病院呼吸器内科)

長谷川直樹 (慶応義塾大学医学部感染制御センター、慶応義塾大学病院呼吸器内科)

加藤真吾 (慶応義塾大学医学部微生物学・免疫学教室)

研究概要

口腔拭い液や唾液を用いた検査は、採血を伴う血液検査より受検行動への心理的敷居が低いと考えられ、感染者の早期発見の手段の一つとして期待されている。本研究では既に血液検査キットとして市販されている HIV 迅速検査キットについて、検体の適用拡大の可能性を検討するため、口腔拭い液および唾液を用いた抗体検出の検討を行った。HIV 感染者 3 名について、血漿、口腔拭い液、唾液検体を用いてエスプライン HIV Ag/Ab で検査を行った結果、3 名の血漿、口腔拭い液、唾液すべての検体で抗体が検出された。口腔拭い液、唾液の抗体価は血中抗体価の 1/100~1/400 程度であった。HIV 検査受検者 39 名について、血液検査と並行して口腔拭い液検体を用いたエスプライン HIV Ag/Ab の検査を行った結果、確認検査で陽性が確認された検体 2 例については口腔拭い液検体を用いたエスプライン HIV Ag/Ab の検査でも陽性であった。しかし、血液検査で陰性であった 37 人の内、3 人の口腔拭い液検体を用いたエスプライン HIV Ag/Ab の検査で弱陽性が見られた。今後検体処理液の変更等も視野に入れつつより多くの検体で検討を行う予定である。

A. 目的

HIV 感染者の早期発見は、その後の適切な治療により感染者本人の QOL 向上だけでなく、パートナー等への感染防止、ひいては全体の感染者数減少の効果が期待される。口腔拭い液や唾液を用いた検査は、採血を伴う血液検査より受検行動への心理的敷居が低いと考えられ、感染者の早期発見の手段の一つとして期待されている。

日本において国から認可を受けている検査キットは血液を検体とするキットのみであるが、米国においては、口腔拭い液を用いた迅速検査 OraQuick Advance Rapid HIV-1/2 Antibody Test が 2004 年 6 月に認可を受けており、2012 年 7 月には OTC (over-the-counter:

薬局で販売可) 検査キットとして OraQuick In-Home が認可を受けている。

本研究では既に血液検査キットとして市販されている HIV 迅速検査キットについて、検体の適用拡大の可能性を検討するため、口腔拭い液および唾液を用いた抗体検出の検討を行った。

B. 方法

陽性検体の検討として、慶應義塾大学病院に通院している HIV 感染者 3 名 (ART 前 2 名、ART 後 1 名) の血漿、口腔拭い液、唾液 25 μ l を使用し、エスプライン HIV Ag/Ab (富士レビオ) で抗体の検出を行った。

口腔拭い液は綿棒で口腔をぬぐった後、エ

スプライン インフルエンザ A&B-N の検体処理液（アジ化ナトリウム、界面活性剤、BSAを含むトリス緩衝液）につけて溶出した（およそ3倍希釈）。唾液はそのまま用いた場合メンブレンに展開しづらいため、検体処理液を用いて2、5、10倍に希釈した。それぞれの検体はジェネディア HIV-1/2mix（富士レビオ）を用いて抗体価を測定した。比較キットとして OraQuick ADVANCE Rapid HIV-1/2 (Orasure)での検査を併せて行った。

HIV 検査受検者検体の検討として、NPO 法人 SHIP で行っているアウトリーチ HIV 検査を受検した 39 名について、全血を用いたダイナスクリーン・HIV-1/2（アリーアメディカル）による検査に加え、口腔拭い液を用いたエスプラインおよび OraQuick による検査を行った。

C. 結果・考察

HIV 感染者 3 名の血漿、口腔拭い液、唾液についてエスプラインで検査を行った結果、3 名の血漿、口腔拭い液、唾液すべての検体で抗体が検出された（表 1）。同様に OraQuick による検査を行った結果、3 名とも抗体が検出された。

PA により各検体の抗体価を測定したところ、FR1 の拭い液は 120 倍、唾液は 80 倍、血漿は 16000 倍であった。FR2 の拭い液は 480 倍、唾液は 400～640 倍、血漿は 64000 倍であった。FR3 の拭い液は 480 倍、唾液は 200～320 倍、血漿は 80000 倍であった。口腔拭い液および唾液中の抗体価は 80 倍から 640 倍と低力価であり、血漿中の抗体価と比較すると 1/100～1/400 程度であった。

エスプラインでの検査において、唾液を 2 倍希釈した検体では 3 名すべての検体で抗体を検出するまでに 30 分の時間を要した。口腔

拭い液、唾液とも抗体価は同程度であったが、唾液は検体希釈率によって粘性による測定時間の遅延があるため、測定検体としては口腔拭い液が適当と考えられた。

HIV 検査受検者 39 名の口腔拭い液を用いてエスプラインと OraQuick による検査を行い、同時に全血を用いてダイナスクリーンによる検査を行った結果、2 名の受検者がエスプライン、OraQuick、ダイナスクリーン共に陽性であった（表 2）。後日血漿を用いて確認検査を行った結果、2 例とも陽性であり、口腔拭い液での OraQuick や全血でのダイナスクリーンと同様に口腔拭い液を用いたエスプラインの検査でも陽性となることが確認された。しかし、OraQuick、ダイナスクリーン共に陰性であった 37 名の内、口腔拭い液を用いたエスプラインの検査でのみ 3 例弱陽性例が見られた。エスプラインによる検査はすべて同一ロットを用いており、ロットによる誤差ではないと考えられた。また、3 例の弱陽性例はすべて同一の日に検出されており、その他の日については弱陽性が検出されなかった。今後検体処理液の変更等も視野に入れつつより多くの検体で検討を行う予定である。

D. 発表

学会発表

1. 須藤弘二、佐野貴子、近藤真規子、今井光信、加藤真吾：HIV 郵送検査に関する実態調査と検査精度調査（2012）、第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会、2013 年 11 月、熊本



表1. HIV感染者検体を用いた検討

感染者ID	検体	エスブライン	ジェネディア(抗体価)			OraQuick	
			検体	原液	血漿中抗体価との比		
FR 1 (治療前)	拭い液(およそ3倍希釈)	+	x40	x120	1/133	+	
	唾液	+(30分)	x40	x80	1/200		
	血漿	+	x16000	x16000			
FR 2 (治療前)	拭い液(およそ3倍希釈)	+	x160	x480	1/133	+	
	唾液	+(30分)	x320	x400~x640	1/100~1/160		
		2倍希釈	+				x80
		5倍希釈	+				x40
	10倍希釈	+	x40				
血漿	+	x64000	x64000				
FR 3 (治療中)	拭い液(およそ3倍希釈)	+	x160	x480	1/167	+	
	唾液	+(30分)	x160	x200~x320	1/250~1/400		
		2倍希釈	+				x40
		5倍希釈	+				x40
	10倍希釈	+	x20				
血漿	+	x80000	x80000				



表2. HIV受検者検体を用いた検討

No	検査受検日	拭い液 エスブライン	拭い液 オラクイック	血漿 ダイナスクリーン
1	2013/10/21	-	-	-
2		-	-	-
3		-	-	-
4		-	-	-
5		-	-	-
6		-	-	-
7		-	-	-
8		-	-	-
9		-	-	-
10		-	-	-
11		-	-	-
12	2013/12/2	-	-	-
13		+	+	+
14		-	-	-
15		-	-	-
16		-	-	-
17		-	-	-
18		-	-	-
19	-	-	-	
20	-	-	-	
21	-	-	-	
22	-	-	-	
23	-	-	-	
24	-	-	-	
25	2014/2/18	-	-	-
26		-	-	-
27		-	-	-
28		-	-	-
29		-	-	-
30		-	-	-
31		-	-	-
32	-	-	-	
33	-	-	-	
34	-	-	-	
35	2014/2/25	+	+	+
36		-	-	-
37		-	-	-
38		-	-	-
39		-	-	-

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表
雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kondo M, Lemey P, Sano T, Itoda I, Yoshimura Y, Sagara H, Tachikawa N, Yamanaka K, Iwamuro S, Matano T, Imai M, Kato S, Takebe Y.	Emergence in Japan of an HIV-1 variant associated with MSM transmission in China: First indication for the international dissemination of the Chinese MSM	J Virol.	87(10)	5351-61	2013
Miyoshi, M., Komagome, R., Ishida, S., Nagano, H., Takahashi, K. and Okano, M.	Genomic characterization of echovirus 6 causing aseptic meningitis in Hokkaido, Japan: a novel cluster in non-structural protein coding region of human enterovirus B.	Archives of Virology.	158(4)	775-784	2013
Shimuta K, Unemo M, Nakayama S, Morita-Ishihara T, Dorin M, Kawahata T, Ohnishi M; Antibiotic-Resistant Gonorrhoea Study Group.	Antimicrobial resistance and molecular typing of Neisseria gonorrhoeae isolates in Kyoto and Osaka, Japan in 2010-2012 - intensified surveillance after identification of the first high-level ceftriaxone resistant strain H041.	Antimicrob. Agents Chemother.	57(11)	5225-5232	2013
Kojima Y, Kawahata T, Mori H, Furubayashi K, Taniguchi Y, Iwasa A, Taniguchi K, Kimura H, Komano J.	Prevalence and epidemiological traits of HIV infections in populations with high-risk behaviours as revealed by genetic analysis of HBV.	Epidemiol Infect.	141	2410-2417	2013
Kaneko H, Tsuboi H.	Analysis on Awareness of Functional Dyspepsia and Rome Criteria Among Japanese Internists by the Self-administered Questionnaires.	J Neurogastroenterol Motil.	in press		
Takahashi N, Tsuboi H, Yoshida N, Tanimoto T, Khan M, Kimura K.	Investigation into the Antinfluenza Agent Oseltamivir Distributed via the Internet in Japan.	Therapeutic Innovation & Regulatory Science	47(6)	699-705	2013
Khojah HMJ, Pallos H, Yoshida N, Akazawa M, Tsuboi H, Kimura K.	The Quality of Medicines in Community Pharmacies in Riyadh, Saudi Arabia: A Lot Quality Assurance Sampling (LQAS)-Based Survey.	Pharmacol Pharmacy.	4	511-9	2013
Khojah HMJ, Pallos H, Tsuboi H, Yoshida N, Abou-Auda HS, Kimura K.	Adherence of Community Pharmacies in Riyadh, Saudi Arabia, to Optimal Conditions for Keeping and Selling Good-Quality Medicines.	Pharmacol Pharmacy.	4	431-7	2013
Tsuboi H, Watanabe M, Kobayashi F, Kimura K, Kinae N.	Associations of depressive symptoms with serum proportions of palmitic and arachidonic acids, and α -tocopherol effects among male population—a preliminary study.	Clin Nutr	32(2)	289-93	2013
Shibata M, Takahashi M, Yoshino M, Kuwahara T, Nomura T, Yokomaku Y, Sugiura W.	Development and application of a simple LC-MS method for the determination of plasma rilpivirine (TMC-278) concentrations.	The journal of medical investigation : JMI.	60(1-2)	35-40	2013
Saito A, Nomaguchi M, Kono K, Iwatani Y, Yokoyama M, Yasutomi Y, Sato H, Shioda T, Sugiura W, Matano T, Adachi A, Nakayama EE, Akari H.	TRIM5 genotypes in cynomolgus monkeys primarily influence inter-individual diversity in susceptibility to monkey-tropic human immunodeficiency virus type 1.	The Journal of general virology.	94(Pt 6)	1318-1324	2013
Nii-Trebi NI, Ibe S, Barnor JS, Ishikawa K, Brandful JA, Ofori SB, Yamaoka S, Ampofo WK, Sugiura W.	HIV-1 Drug-Resistance Surveillance among Treatment-Experienced and -Naive Patients after the Implementation of Antiretroviral Therapy in Ghana.	PloS one.	8(8)	e71972	2013
Katano H, Yokomaku Y, Fukumoto H, Kanno T, Nakayama T, Shingae A, Sugiura W, Ichikawa S, Yasuoka A.	Seroprevalence of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus among men who have sex with men in Japan.	Journal of medical virology.	85(6)	1046-1052	2013
Jahanbakhsh F, Ibe S, Hattori J, Monavari SH, Matsuda M, Maejima M, Iwatani Y, Memarnejadian A, Keyvani H, Azadmanesh K, Sugiura W.	Molecular epidemiology of HIV type 1 infection in Iran: genomic evidence of CRF35_AD predominance and CRF01_AE infection among individuals associated with injection drug use.	AIDS research and human retroviruses.	29(1)	198-203	2013

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Jahanbakhsh F, Hattori J, Matsuda M, Ibe S, Monavari SH, Memarnejadian A, Aghasadeghi MR, Mostafavi E, Mohraz M, Jabbari H, Kamali K, Keyvani H, Azadmanesh K, Sugiura W.	Prevalence of transmitted HIV drug resistance in Iran between 2010 and 2011.	PloS one.	8(4)	e61864	2013
Gatanaga H, Murakoshi H, Hachiya A, Hayashida T, Chikata T, Ode H, Tsuchiya K, Sugiura W, Takiguchi M, Oka S.	Naturally Selected Rilpivirine-Resistant HIV-1 Variants by Host Cellular Immunity.	Clinical infectious diseases	57(7)	1051-1055	2013
井戸田一朗、星野慎二、沢田貴志、佐野貴子、上田敦久、加藤真吾、今井光信.	コミュニティセンター「かながわレインボーセンター-SHIP」の夜間HIV/STIs即日検査相談を受けたmen who have sex with menの特徴及び罹患率	日本公衆衛生雑誌	60(5)	253-261	2013
佐野貴子、近藤真規子、吉村幸浩、立川夏夫、相楽裕子、井戸田一朗、山中晃、須藤弘二、加藤真吾、今井光信.	HIV-1 p24抗原検出感度が向上した改良型HIV抗原抗体同時検出試薬の検討.	感染症学雑誌	87(4)	415-423	2013
長島真美、宮川明子、新開敬行、林志直、貞升健志、甲斐明美	東京都におけるHIV検査数と陽性例の解析	病原微生物検出情報	34	254-255	2013
川畑拓也、長島真美、貞升健志、小島洋子、森 治代	HIV急性感染期の診断における第4世代迅速検査試薬の性能評価	感染症誌	87	431-434	2013
武部豊、近藤真規子	中国における男性同性愛者(MSM)間のHIV-1流行の急速な拡大と我が国への流行波及に関する知見	病原微生物検出情報	34(3)	72-73	2013

研究成果の刊行に関する一覧表
書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
矢永由里子		矢永由里子、小池真規子	がんとエイズの心理臨床	創元社	大阪	2013	203-215

平成25年度 厚生労働科学研究費補助金 エイズ対策研究事業
「HIV検査相談の充実と利用機会の促進に関する研究」
平成25年度 研究報告書

発行日 2014年3月31日
発行者 研究代表者 加藤真吾 (慶應義塾大学医学部)
発行所 研究班事務局
慶應義塾大学医学部微生物学・免疫学教室
〒160-8582 東京都新宿区信濃町35

©2014 編集・構成： 須藤弘二、野口祐紀 印刷：(有)長谷川印刷

本報告書に掲載された論文及び図表には
著作権が発生しておりますので
利用にあたりご注意ください。

HIV検査相談の充実と
利用機会の促進に関する研究

平成25年度
研究報告書