

## 唾液検体を用いた HIV 検査の検討

研究分担者 加藤 眞吾 (株式会社ハナ・メディテック)  
研究協力者 須藤 弘二 (株式会社ハナ・メディテック)  
志摩 圭子 (株式会社ハナ・メディテック)

### 研究要旨

唾液は採取に痛みを伴わず、心理的敷居が低いため、唾液を検体として用いた検査は、受検しやすい「プレ検査」として有用である可能性がある。本研究の目的は、唾液検体を用いた場合のダイナスクリーン HIV Combo の感度を検討することである。検討検体として、パネル血漿を健常人血漿で 10 倍希釈したものを陽性血漿検体とし、健常人唾液で 10 倍希釈したものを陽性唾液検体、PBS(-)で 10 倍希釈したものを陽性 PBS 検体とした。ダイナスクリーン HIV Combo でそれぞれの抗体価を調べた結果、陽性血漿検体は 16 倍、陽性唾液検体は 32 倍、陽性 PBS 検体は 16 倍であり、唾液検体の結果は血漿検体の結果とほぼ変わらないことが分かった。また、唾液を綿棒に採取した状態で 1 時間経過した後検査を行った陽性唾液検体の抗体価は 16 倍であり、1 時間以内であればほぼ結果が変わらないことが分かった。今回の検討によりダイナスクリーン HIV Combo を用いた唾液検査が可能であることが示唆された。今後臨床検体を用いた検査等を行い、唾液検査の実用化に向けて検討を行いたい。

### A.研究目的

現在病院や検査機関等で行われている HIV 検査は、検体として血清、血漿、全血と、すべて血液由来の検体を用いられている。しかし受検者にとって採血は痛みを伴い、受検に対する心理的敷居となりうる。唾液は採取に痛みを伴わず、心理的敷居が低いため、唾液を検体として用いた検査は、受検しやすい「プレ検査」として有用である可能性がある。唾液検査で用いる検査キットとして、アウトリーチ検査や自己検査の可能性を鑑み、大型専用機械の必要がないイムノクロマト法であるダイナスクリーン HIV Combo を選択した。本研究の目的は、唾液検体を用いた場合のダイナスクリーン HIV Combo の感度を検討することである。

### B.研究方法

#### <材料>

検体作成のため、パネル血漿 SeroDetect HIV-Ab Range Verification Panel (ZeptoMetrix 社、

Cat# KZMC024)) の#10 を用いた。また健常人血漿、健常人唾液、PBS(-)を準備した。

検討検体として、パネル血漿を健常人血漿で 10 倍希釈したものを陽性血漿検体とした。同様にパネル血漿を健常人唾液で 10 倍希釈したものを陽性唾液検体、パネル血漿を PBS(-)で 10 倍希釈したものを陽性 PBS 検体とした。

検査キットはダイナスクリーン HIV Combo (アボット社) を用いた。また唾液採取のため、綿棒入り試験管 (γ コレクトスワブ RI、栄研化学) を準備した。

#### <方法>

##### 1. 唾液検査と血漿検査との抗体価比較

陽性血漿検体について血漿で倍々希釈を行い、陽性となる最終希釈濃度 (抗体価) を測定した。また唾液検体検討のため、陽性唾液検体について唾液で倍々希釈し抗体価の測定を行い、比較検討のため陽性 PBS 検体でも PBS (-) で倍々希釈を行い抗体価の測定を行った。

## 2. 唾液の回収方法の検討

唾液回収方法として、二重管法と PBS 回収法の 2 種の方法を比較した。検体は陽性唾液検体を用いた。検体量は、実際に綿棒で 5 回採取を行い、およその平均値である 100 ul とした。二重管法は、0.5 ml チューブの底に穴をあけ、1.5 ml チューブに乗せた二重管を用意し、綿棒の綿球を二重管に入れた後、1600×g で 1 分遠心を行うことによって検体を回収し、抗体価を測定した。PBS 回収法は、1.5 ml チューブに 200 ul の PBS(-)を入れ、綿球を洗うことによって検体を回収し、抗体価を測定した。

## 3. 唾液検査の抗体安定検証実験

唾液採取後、綿棒に 1 時間置いた検体を用いて検査を行った。検体は陽性唾液検体を用い、検体量は 100 ul 用い、1 時間置いた後二重管法で回収し、抗体価を測定した。

## C. 研究結果

### 1. 唾液検査と血漿検査との抗体価比較

陽性血漿検体の抗体価は 16 倍であった。陽性唾液検体の抗体価は 32 倍、陽性 PBS 検体の抗体価は 16 倍であった。

### 2. 唾液の回収方法の検討

二重管法で回収した検体の抗体価は 16 倍であった。また、PBS 回収法で回収した検体の抗体価は 4 倍であった。

### 3. 唾液検査の抗体安定検証実験

1 時間置いた陽性唾液検体の抗体価は 16 倍であった。

## D. 考察

陽性唾液検体の抗体価は 32 倍であり、陽性血漿検体および陽性 PBS 検体の 16 倍とほぼ一致していた。このことから、唾液検体での抗体検査が血漿検体と同様に可能であり、抗体価の低下も見られないことが分かった。綿棒に採取した唾液検体の回収方法として二重管法と PBS 回収法を比較した結果、二重管法では検体の抗体

価を低下させずに回収できたが、PBS 回収法で抗体価が低下しており、唾液回収方法として二重管法のほうが優れていることが分かった。また唾液採取後すぐに検査が行えない状況を想定し、綿棒に 1 時間置いた検体を用いて検査を行った結果、抗体価が 16 倍とほぼ感度が低下していなかった。このことから検体採取後 1 時間以内なら感度が低下することなく唾液検査を行えることが分かった。

唾液検査は、採取に痛みを伴わず、心理的敷居が低い、受検しやすい「プレ検査」として有用である可能性がある。また医療機関以外でのイベント検査やアウトリーチ検査を行う際、検体の採取と廃棄が容易であり、検査を行う側でも利点が多い。今回の検討は臨床検体を用いていないため、実際にイベント検査等で臨床検体を用いて唾液検査を行うと同時にペア血漿での血漿検査を行い、唾液と血漿検査の結果を比較検討する必要がある。現在唾液検査に用いているダイナスクリーンは、PMDA に体外診断用医薬品として認可されているが、対象検体は血清、血漿、全血であり、唾液は認可されていない。保険適用となる検査を行うためには、適用拡大の承認審査を受ける必要がある。またダイナスクリーンの唾液適用拡大が難しい場合は、他メーカーが新しく唾液を対象とするキットを開発する必要がある。今後問題点を解決しつつ、唾液検査の実用化に向け検討を行いたい

## E. 結論

唾液検査は「プレ検査」として有用である可能性がある。今回の検討によりダイナスクリーン HIV Combo を用いた唾液検査が可能であることが示唆された。今後、臨床検体を用いた検査等を行い、唾液検査の実用化に向けて検討を行いたい。

## F. 健康危険情報

なし

## G.研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Yamada E, Takagi R, Moro H, Sudo K, Kato S. Saliva as a potential matrix for evaluating pharmacologically active dolutegravir concentration in plasma. *PLoS One*. 2021 Feb 18;16(2): e0246994. 2021.
- 2) 加藤眞吾. 新型コロナウイルス流行に関する疫学的考察. *BIO EX-press*秋号. 1-4, 2021.
- 3) 加藤眞吾. 新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) に有効な消毒法. *医学のあゆみ*. 274(3), 2020.
- 4) Murayama M, Yamazaki S, Yamada E, Ikeno R, Nagata M, Takagi R, Kato S. Evaluation of intravirion human immunodeficiency virus type 1 RNA degradation activity in saliva by an RNA cleavage quantification method. *Oral Science International*. 00: 1-7, 2019. DOI: 10.1002/osi2.1032
- 5) Kobayashi H, Shinjoh M, Sudo K, Kato S, Morozumi M, Koinuma G, Takahashi T, Takano Y, Tamura Y, Hasegawa N. Nosocomial infection by human bocavirus and human hinovirus among paediatric patients with respiratory risks. *Journal of Hospital Infection*. 103(3): 341-348, 2019. DOI: 10.1016/j.jhin.2019.05.002
- 6) 加藤眞吾. HIV感染症の検査：郵送検査を含めて. *呼吸器内科*. 36(5)440-446, 2019.
- 7) Kondo M, Sudo K, Sano T, Kawahata T, Itoda I, Iwamuro S, Yoshimura Y, Tachikawa N, Kojima Y, Mori H, Fujiwara H, Hasegawa N, Kato S. Comparative evaluation of the Geenius™ HIV 1/2 Confirmatory Assay and the HIV-1 and HIV-2 Western blots in the Japanese population. *PLoS One*. 13(10):

e0198924. DOI: 10.1371/journal.pone.0198924.eCollection. Oct 31, 2018.

### 2.学会発表

- 1) 須藤弘二、佐野貴子、近藤真規子、今井光信、今村顕史、加藤眞吾. HIV 郵送検査に関する実態調査(2020). 第 35 回日本エイズ学会学術集会・総会、2021 年 11 月.
- 2) 佐野貴子、近藤真規子、土屋菜穂、井戸田一郎、堅多敦子、須藤弘二、星野慎二、清水茂徳、生島嗣、岩橋恒太、今井光信、加藤眞吾、市川誠一、白阪琢磨、櫻木淳一、今村顕史. COVID-19 流行下におけるウェブサイト「HIV 検査・相談マップ」のサイト利用状況と公的 HIV 検査縮小による影響. 第 35 回日本エイズ学会学術集会・総会、2021 年 11 月.
- 3) 土屋菜穂、佐野貴子、カエベタ亜矢、城所敏英、関なおみ、根岸潤、堅多敦子、川畑拓也、貞升健志、須藤弘二、加藤眞吾、大木幸子、生島嗣、今井光信、今村顕史. 保健所・検査所における HIV 検査・相談体制と実施状況および課題に関するアンケート調査. 第 35 回日本エイズ学会学術集会・総会、2021 年 11 月.
- 4) 土屋菜穂、佐野貴子、カエベタ亜矢、城所敏英、関なおみ、根岸潤、堅多敦子、川畑拓也、貞升健志、須藤弘二、加藤眞吾、大木幸子、生島嗣、今井光信、今村顕史. 保健所・検査所における梅毒検査実施状況および陽性率に関するアンケート調査. 第 35 回日本エイズ学会学術集会・総会、2021 年 11 月.
- 5) 近藤真規子、佐野貴子、須藤弘二、井戸田一郎、土屋菜穂、貞升健志、今井光信、加藤眞吾、櫻木淳一、中澤よう子、今村顕史. 新型コロナウイルス感染症流行禍における HIV 検査体制の実態. 第 35 回日本エイズ学会学術集会・総会、2021 年 11 月.
- 6) 土屋菜穂、佐野貴子、カエベタ亜矢、関なお

- み、城所敏英、根岸潤、堅多敦子、川畑拓也、貞升健志、須藤弘二、加藤眞吾、大木幸子、生島嗣、今井光信、今村顕史。保健所・検査所における HIV 検査・相談体制と実施状況および課題に関するアンケート調査。第 34 回日本エイズ学会学術集会・総会、2020 年 11 月。
- 7) 土屋菜穂、佐野貴子、カエベタ亜矢、関なおみ、城所敏英、根岸潤、堅多敦子、川畑拓也、貞升健志、須藤弘二、加藤眞吾、大木幸子、生島嗣、今井光信、今村顕史。保健所・検査所における梅毒検査実施状況および陽性率に関するアンケート調査。第 34 回日本エイズ学会学術集会・総会、2020 年 11 月。
- 8) 小谷宙、西松直美、田中千晶、戸蒔祐子、丸山理恵、須藤弘二、上叢義典、宇野俊介、藤原宏、西村知泰、加藤眞吾、長谷川直樹。組み換え PCR を用いた準完全長 HIV-1 プロトコル定量法の開発。第 34 回日本エイズ学会学術集会・総会、2020 年 11 月。
- 9) 須藤弘二、佐野貴子、近藤真規子、今井光信、今村顕史、加藤眞吾。HIV 郵送検査に関する実態調査(2019)。第 34 回日本エイズ学会学術集会・総会、2020 年 11 月。
- 10) 須藤弘二、佐野貴子、近藤真規子、今井光信、今村顕史、加藤眞吾。HIV 郵送検査に関する実態調査 (2018)第 33 回日本エイズ学会学術集会・総会、熊本県、2019 年 11 月。
- 11) 土屋菜歩、佐野貴子、近藤真規子、カエベタ亜矢、関なおみ、城所俊英、根岸潤、堅多敦子、川畑拓也、貞升健志、須藤弘二、加藤眞吾、大木幸子、生島嗣、今井光信、今村顕史。保健所・検査所における HIV 検査・相談体制と実施状況および課題に関するアンケート調査。第 33 回日本エイズ学会学術集会・総会、熊本県、2019 年 11 月。
- 12) 土屋菜歩、佐野貴子、近藤真規子、カエベタ亜矢、関なおみ、城所俊英、根岸潤、堅多敦子、川畑拓也、貞升健志、須藤弘二、加藤眞吾、大木幸子、生島嗣、今井光信、今村顕史。保健所・検査所における梅毒検査実施状況および陽性率に関するアンケート調査。第 33 回日本エイズ学会学術集会・総会、熊本県、2019 年 11 月。
- 13) 蜂谷敦子、佐藤かおり、豊嶋崇徳、伊藤俊広、林田庸総、岡慎一、渦永博之、古賀道子、長島真美、貞升健志、近藤真規子、椎野禎一郎、須藤弘二、加藤眞吾、谷口俊文、猪狩英俊、寒川整、中島秀明、吉野友祐、堀場昌秀、太田康男、茂呂寛、渡邊珠代、松田昌和、重見麗、岡崎玲子、岩谷靖雅、横幕能行、渡邊大、小島洋子、森治代、藤井輝久、高田清式、中村麻子、南留美、山本政弘、松下修三、健山正男、藤田次郎、杉浦互、吉村和久、菊池正。国内新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性 HIV-1 の動向。第 33 回日本エイズ学会学術集会・総会、熊本県、2019 年 11 月。
- 14) 佐野貴子、近藤真規子、土屋菜歩、須藤弘二、星野慎二、井戸田一朗、清水茂徳、生島嗣、岩橋恒太、今井光信、加藤眞吾、市川誠一、白阪琢磨、今村顕史。ウェブサイト「HIV 検査・相談マップ」を用いた HIV 検査相談情報の提供とサイト利用状況の解析。第 33 回日本エイズ学会学術集会・総会、熊本県、2019 年 11 月。
- 15) 近藤真規子、佐野貴子、長島真美、貞升健志、蜂谷敦子、渦永博之、吉村幸浩、立川夏夫、岩室紳也、井戸田一朗、今井光信、加藤眞吾、椎野貞一郎、吉村和久、菊池正。日本で流行している HIV-1 CRF01\_AE の分子疫学的特徴の解析。第 33 回日本エイズ学会学術集会・総会、熊本県、2019 年 11 月。

#### H.知的所有権の出願・登録状況

なし