

福井県におけるHIV抗体スクリーニング検査 －1988年から2004年の検査成績のまとめ－

中村 雅子・東方 美保・川畑 光政^{*1}・松本 和男・堀川 武夫

Screening Tests of Human Immunodeficiency Virus (HIV) Antibody in Fukui Prefecture from 1988 to 2004

Masako NAKAMURA, Miho TOHO, Mitsumasa KAWABATA, Kazuo MATSUMOTO, Takeo HORIKAWA

1 はじめに

後天性免疫不全症候群 (acquired immunodeficiency syndrome: AIDS) の原因ウイルスであるHIV (human immunodeficiency virus) の感染者は世界的に拡大している。特に21世紀に入りアジアにおいて深刻な問題となっており、現在の新規感染の2割をアジア・太平洋地域で占めている¹⁾。日本においては平成15年12月末で5,767人のHIV感染者と2,882人のAIDS患者が報告されており²⁾、他の先進国とは異なり現在も増加傾向にある。

HIV感染症の治療は抗HIV薬の開発および多剤併用療法などにより今日大きく進歩しており、特に早期発見、早期治療が予後の改善に強くかかわっているといわれている³⁾。また、感染の事実を知らずに感染を拡大させるリスクを減らすためにもHIVの検査体制を整え、早期発見することが極めて重要である。

わが国では、1989年(平成元年)から保健所において匿名のHIV抗体検査が行われ、広くHIV検査の機会を提供してきた。福井県でも「福井県エイズ対策実施要項」を制定して、1988年から保健所(現健康福祉センター)においてHIV抗体検査の受付を開始した。その検査を衛生環境研究センターにおいて2004年3月までの17年間行ってきたので、その概要を報告する。

2 調査および材料と方法

2.1 検査体制

昭和63年(1988年)1月18日

「エイズ相談業務および抗体検査マニュアル」制定

昭和63年1月25日

HIV抗体検査開始

(匿名、有料、受付保健所は福井および二州)

平成5年4月 全保健所(8カ所)での検査受付開始

平成6年3月31日

感染の可能性が疑われる場合は検査を無料とする
こととした。

平成6年4月 HIV1-2抗体同時検査開始

平成14年4月

40歳以上の希望者にHBs、HCV検査を併せて実施
することとした。

平成16年4月 検査を外部委託とする。

2.2 検体

福井県内の各健康福祉センターにおいて、HIV検査を希望する人から採血した血液。健康福祉センターで遠心分離を行い、得られた血清を検体とした。

2.3 検査方法

「保健所でのエイズ相談業務および衛生環境研究センターでのHIV抗体等検査等マニュアル」(福祉環境部健康増進課：昭和63年1月18日制定、平成14年4月1日改定)に基づいて実施。

ゼラチン凝集法(PA法)にてスクリーニング検査を行い、陽性または保留と判定した場合は、ウェスタンブロット法(WB法)で確認検査を行う。

2.3.1 PA法

平成7年11月まではセロディアHIV(富士レビオ)を、それ以降はジェネディアHIV-1/2ミックスPA(富士レビオ)を常法に従い使用した。

2.3.2 WB法

ラブリット1(富士レビオ)を常法に従い使用した。

2.3.3 遺伝子解析

陽性検体について、サブタイプ決定と薬剤耐性関連変異の解析を愛知県衛生研究所に依頼した。

3 結 果

3.1 検査依頼件数

検査を開始した昭和63年1月から平成16年3月までの年度別の検査依頼数を表1および図1に示す。

検査依頼は平成3年度までは年間100件以内であったが、国民のエイズに対する関心が一気に高まった平成4年度に

^{*1} 健康増進課

急激に増加し665件となった。その後は徐々に減少していたが、ここ数年は年間200件前後で落ち着いている。これを保健所別にみたものが表2および図2である。全体の86%が嶺北地方、14%が嶺南地方であった。嶺北地方では福井保健所が圧倒的に多く全体の約70%を占めており、他の保健所は5%以下であった。

また、平成8年度から統計をとっている年代別・男女

別比をみると(表3)、年代別では20代がもっとも多く次に30代でこの2つの年齢層で全体の72%を占める。さらに男女別にみると20代以下が占める割合は男性が41%であるのに対し、女性が67%と高くなっており、特に女性で若い年代層に検査希望者が集中していることがわかる。(図3)

表1 HIV抗体検査依頼数

年度	依頼数
昭和62年度	19
63年度	61
平成元年度	23
2年度	36
3年度	74
4年度	665
5年度	415
6年度	329
7年度	249
8年度	258
9年度	201
10年度	259
11年度	211
12年度	169
13年度	202
14年度	170
15年度	215
合計	3556

表2 保健所別依頼数

年度	福井	坂井	大野	勝山	鯖江	武生	二州	若狭
昭和62年度	19						0	
63年度	51				1		9	
平成元年度	23						0	
2年度	36						3	
3年度	66						25	
4年度	577						88	
5年度	308	14	5	6	16	13	37	14
6年度	217	11	9	2	11	16	36	21
7年度	166	11	4	4	7	15	29	14
8年度	160	14	6	1	25	16	24	12
9年度	146	6	2	2	13	7	14	11
10年度	179	5	7	2	10	27	15	14
11年度	128	11	6	0	16	17	15	18
12年度	107	4	5	2	12	17	11	11
13年度	108	6	5	2	17	28	27	9
14年度	111	8	3	1	9	16	13	9
15年度	154	7	1	0	13	10	17	13
合計	2556	97	53	22	150	182	363	146

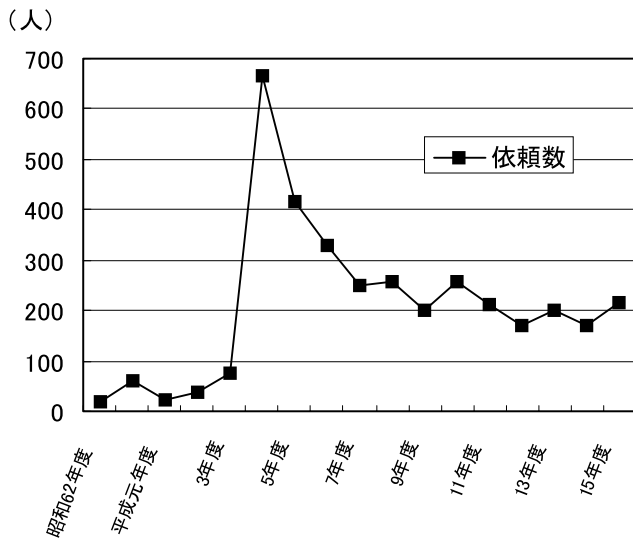


図1 HIV抗体検査依頼数の年次推移

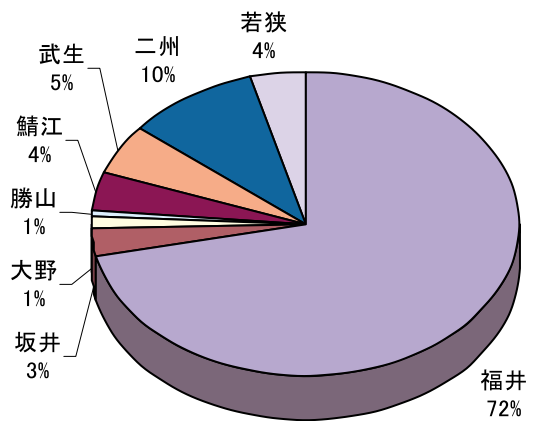


図2 保健所別依頼数

表3 年代別・男女別依頼者数（平成8年度以降）

	10才以下		10代		20代		30代		40代		50代		60代		70代以上		不明	計
	男	女	男	女	男	女	男	女	男	女	男	女	男	女	男	女		
8年度			2	3	46	27	40	13	15	13	13	5	16	3	2	2	58	258
9年度		2	1	3	44	33	33	13	17	5	6	2	6		2		34	201
10年度			4	6	71	48	52	9	19	3	8	2	4		2		31	259
11年度			4	4	47	37	37	6	16	4	15	2	10		3		26	211
12年度			6	5	51	30	34	16	11	2	7	1	6					169
13年度			4	4	50	34	49	11	17	6	16	3	3	1	3		1	202
14年度			4	7	41	25	40	15	15	3	7	1	11		1			170
15年度		1	5	3	55	38	53	8	22		17	2	8	1	2			215
計	0	3	30	35	405	272	338	91	132	36	89	18	64	5	15	2	150	1685

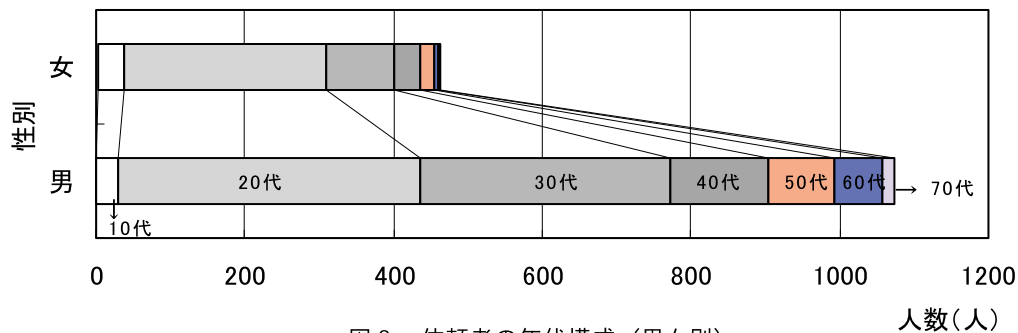


図3 依頼者の年代構成（男女別）

3. 2 検査件数および検査成績

スクリーニング検査と確認検査の件数および結果を表4に示す。17年間でスクリーニング検査を3,556件、確認検査を9件行った。その結果、平成8年度までは陽性例はなかったが、平成9年度以降7年間で5例の陽性例が確認された。

確認検査を行った9例のうち3例は陰性であった。そのうち平成11年度の検体はPA法で1:32（±）で保留、WB法でも反応不鮮明のため判定保留となったので確認のためメーカー（富士レビオ）に送付し精査を依頼した。その結果、これは試薬（ジェネディアHIV-1/2ミックスPA）に使用しているリコンビナント抗原のうちgp36に対する非特異反応であることが判明した。

また確認検査で判定保留となった平成13年度の検体はPA法で陽性（1:512）であったがWB法でENVバンドがGP160の1本しか確認できなかったものである（他にcore領域に対するバンドがP25とP55の2本有り）。使用したキットの結果判定はWHO判定基準に基づいており、陽性となるのは2本以上のENVバンドが検出された場合で、この検体のように他のバンドはあるがENVバンドが2本に満たない場合は判定保留となる（図4）。この例も含め判定保留とした2例はいずれも後日再採血再検を行い、PA法およびWB法において陽性と確認された。検出された陽性例を表5に示す。

表4 検査成績

年度	スクリーニング検査数	確認検査数	結果		
			陰性	判定保留	陽性
昭和62年度	19	0	19		0
63年度	61	0	61		0
平成元年度	23	0	23		0
2年度	36	0	36		0
3年度	74	0	74		0
4年度	665	0	665		0
5年度	415	0	415		0
6年度	329	0	329		0
7年度	249	0	249		0
8年度	258	2 ^{*1)}	258		0
9年度	201	1	199	1 ^{*2)}	1
10年度	259	0	259		0
11年度	211	1 ^{*3)}	211		0
12年度	169	0	169		0
13年度	202	4	198	1 ^{*4)}	3
14年度	170	0	170		0
15年度	215	1	214		1
合計	3556	9	3549	2	5

*1) PA法で保留(1:32でわずかにリング大)、確認検査で陰性

*2) PA法で陽性、はじめてのケースであり慎重を期し再採血依頼後日再採血再検でPA法およびWB法を行い陽性となる(陽性の1件)

*3) PA法で保留、WB法で反応不鮮明で判定保留(メーカー送付し、非特異反応と確認)

*4) PA法で陽性、WB法で判定保留後日再採血再検で陽性となる(陽性件数3件のうちの1件)

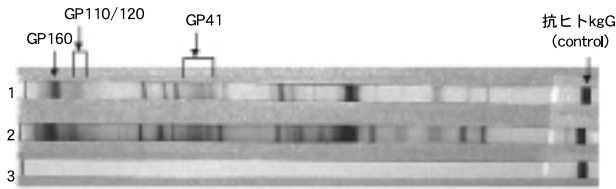


図4 HIV-1 WB法の検出パターン

1 : Positive Control
2 : sample(Positive)
3 : Negative Control

(GP160、GP110/120、GP41がenv領域に対する抗体のバンド
他のバンドはpol/polymerase領域やcore領域に対する抗体のバンド)

表5 HIV陽性検体の検査結果

No.	採取年度	年齢	性別	検査結果	
				PA法	WB法
1	平成9年度	27	男	1:128000	陽性
2	平成13年度	29	男	1:1024	陽性
3	平成13年度	26	男	1:4096	陽性
4	平成13年度	17	男	1:1024	陽性
5	平成15年度	26	男	1:81920	陽性

3. 3 陽性検体の遺伝子解析

検出された陽性例5例について、愛知県衛生研究所に遺伝子解析を依頼した。

サブタイプ決定のための解析はEnv領域、Gag領域およびProtease(Pro)領域について行った。その結果、No1～4はPCRで増幅されなかったNo2のPro領域を除き、Env領域、Gag領域およびPro領域のいずれにおいてもサブタイプBとなった。No5はEnv領域でサブタイプAE、Pro領域でサブタイプBとなりウイルスに組み替えがおこっている可能性が考えられた(Gag領域はPCRで増幅されなかった)。また、薬剤耐性関連変異を検討するためRT領域とPro領域の解析を行った。No1,3～5についてRT領域では薬剤耐性関連変異は検出されなかったが、Pro領域ではNo5について77番目のアミノ酸がバリンからイソロイシンに変異する2次変異が確認された(No2はPCRで増幅されなかった)(表6)。

表6 遺伝子解析

No.	サブタイプ			薬剤耐性関連変異	
	Env領域	Gag領域	Pol領域	RT領域	Pol領域
1	B	B	B	なし	なし
2	B	B	*	*	*
3	B	B	B	なし	なし
4	B	B	B	なし	なし
5	AE	*	B	なし	V77I

*) PCRに成功せず

3. 4 HBs抗原検査およびHCV抗体等検査

平成14年度からは40歳以上の希望者に対しHBs抗原検査およびHCV抗体等検査を併せて実施しており、その検査件数および陽性者数を表7に示す。2年間でHBs抗原、HCV抗体等とともに1例ずつの陽性例があった。(これらの検体はいずれもHIV抗体は陰性であった。)

表7 HCV, HBs検査結果

	検査数	陽性者数	
		HCV ^{*1)}	HBs ^{*2)}
平成14年度	26	1	0
平成15年度	41	0	1
合計	67	1	1

検査方法

*1) イムノクロマト法(オーソクイッチェイサーHCV Ab)

PA法(オーソHCV Ab PAテストII)

RT-PCR法(アンプリコア HCV v2.0-Roche)

*2) ELISA法(エンザイグノスト HBsAg 5.0-DADE BEHRING)

4 考 察

現在HIVのスクリーニングに用いられているELISA法やPA法などの抗体検査試薬は第3世代であり、改良が重ねられた結果、抗原の質が向上したことや感染初期のIgMクラス抗体の検出が可能になったことで以前に比べウィンドウピリオドが短縮されている。より早期の検体を感度良く検出できる試薬をスクリーニングに用いることが重要である⁴⁾。当センターでスクリーニングに用いているPA法も感染後4～6週で検出可能であるが、確認検査に用いているWB法は特異性は高いものの検出感度はPA法よりもやや劣る。このため感染初期で抗体価が低い場合はスクリーニングで陽性となっても確認検査で判定保留や陰性になる場合がある。このような場合、核酸増幅検査などのウイルス検査を行うか、あるいは時間を置いての再度の抗体検査により診断を確定する必要がある⁵⁾。福井県では他の検査を行う体制にはなっていないため、判定保留となった場合は十分な説明の上後日再採血を勧めている。これまでに検査を行ったなかでPA法で陽性、WB法で判定保留となり、後日再採血で陽性が確認できた事例が1例あった。

現在は余裕をみて感染後3ヶ月経過してからの検査を勧めているが、実際にはそれ以前に検査を希望する人もかなり多いと聞く。近年核酸増幅検査(NAT法)や従来のHIV-1, 2抗体に加えてp24抗原を同時に検出するいわゆる抗原抗体同時検査(第4世代)試薬が開発されており、これらの方法を用いれば抗体のみの検査法に比べてウィンドウピリオドはいくらか短縮される。^{6) 7)} 感染のリスクが高い場合はこれらの検査を併用することもひとつの方法であろう。

一方、非常に簡便で検査時間も15分と短いHIV迅速診断キットが平成10年に認可され、保健所等においてもこのキットを用いた即日検査の導入が望まれている⁸⁾。このキットは偽陽性が1% (従来のスクリーニングキットは約0.3%) あるため⁹⁾ 結果の告知は十分な配慮のもとに行うべきであり確認検査を慎重に行う必要があるが、その日に結果を聞くことができるというのは受診者にとっても検査をする側にとっても大きなメリットである。

厚生労働省HIV研究班の調査によると¹⁰⁾、全国的に保健所等におけるHIV抗体検査数は横ばいか減少傾向にあるが、その一方で確認検査陽性件数は年々増加している。福井県においても健康福祉センターからの検査依頼数はここ数年横ばいであるが、当センターのこれまでの検査で平成9年以降陽性例が検出されていることから感染者は常に潜在している可能性がある。検査を希望する多くが20~30才代であり仕事を持っている世代であるので、即日検査や休日検査の導入など検査を希望する人が少しでも早く受診しやすい体制を整えることが、これからのHIV感染症の拡大防止において極めて重要であると考えられる。

検出された陽性例の詳細な遺伝子解析の結果、4例はサブタイプBであり、1例はサブタイプBとAEの組み換えの可能性があることがわかった。また、薬剤耐性の1次変異は検出されず2次変異のみであった。

サブタイプBはアメリカ、ヨーロッパで優位であるのに対し、サブタイプEとAはアジアとアフリカに多い。日本においては従来非加熱血液製剤や同性間性的接触による感染でのサブタイプBが主流であったが、近年では異性間性的接触による感染でサブタイプEが増加している^{11) 12)}。福井県においても例数は少ないながらも同様の傾向を示していると推察される。また、薬剤耐性関連変異の解析で今回検出されたPro領域のV771Iの2次変異はこれまでの東海地区の調査¹³⁾ からB型に多く認められており、薬剤耐性変異とは関係なくサブタイプB型のpolymorphism (多型性) と考えられている。

今後福井県では、このスクリーニング検査は外部委託となるが、確実なスクリーニングとともに、陽性検体を詳細に解析することがHIVの流行状況の解明と拡大防止に欠かせないものである。

5 ま と め

1988年から2004年までの17年間、PA法とWB法によりHIV抗体スクリーニング検査を行った。3,556検体の検査を行い、5例の陽性を確認した。

6 謝 辞

遺伝子解析を実施していただきました愛知県衛生研究所佐藤克彦氏、森下高行氏、榮賢司氏に深謝いたします。

7 参 考 文 献

- 1) 小松隆一、山本直彦：アジアにおけるAIDS流行，日本エイズ学会誌，5，113-117(2003)
- 2) 厚生労働省健康局疾病対策課：日本のAIDS患者・HIV感染者の状況，病原微生物検出情報，25(2)，47-49(2004)
- 3) Donna Mildvan：Atlas of AIDS，サイエンスプレス，(2002)，309
- 4) 吉原なみ子：HIV抗体検査法とRNA定量法，臨床と微生物，25，295-298(1998)
- 5) 今井光信：HIV感染症の初期診断のための検査，日本医事新報，4104，98-99(2002)
- 6) Schreiber GB et al.：The risk of transfusion-transmitted viral infections.The Retrovirus Epidemiology Donor Study.，N Engl J Med.，26，1685-90(1996)
- 7) 嶋貴子他：マイクロプレート法によるHIV-1抗体、HIV-2抗体およびHIVp24抗原検出用キット (HIV抗原抗体同時検出キット) の検討，感染症誌，75(12)，1014-1024(2001)
- 8) 保健所等におけるHIV即日検査のガイドライン：HIV検査体制の構築に関する研究班，平成16年3月
- 9) 嶋貴子他：HIVスクリーニング検査に関する研究，厚生労働省「HIVの検査法と検査体制を確立するための研究」総合研究報告書，平成12~14年度(2003)
- 10) 河原和夫他：行政におけるエイズ対策としてのHIV検査体制のあり方に関する研究，厚生労働省「HIVの検査法と検査体制を確立するための研究」総合研究報告書，平成12~14年度(2003)
- 11) 近藤真規子他：日本におけるHIV-1サブタイプの解析，厚生労働省「HIVの検査法と検査体制を確立するための研究」総合研究報告書，平成12~14年度(2003)
- 12) 小松隆一、山本直彦：アジアにおけるAIDS流行，日本エイズ学会誌，5，114(2003)
- 13) 鈴木康元他：東海地区におけるHIV初感染者の薬剤耐性変異について，厚生労働省「HIV検査体制の構築に関する研究」平成15年度研究報告書 (2004)