

## 総 説

## HIV 検査の新たな展開

## Recent Development in HIV Testing

加藤 真吾<sup>1)</sup>, 今井 光信<sup>2)</sup>Shingo KATO<sup>1)</sup>, Mitsunobu IMAI<sup>2)</sup><sup>1)</sup> 慶應義塾大学医学部微生物学免疫学教室,<sup>2)</sup> 田園調布学園大学人間福祉学部<sup>1)</sup> Department of Microbiology and Immunology, Keio University School of Medicine<sup>2)</sup> Department of Human Welfare, Den-En Chofu University

## はじめに

近年、抗 HIV 治療が飛躍的に進歩し、HIV 感染者の予後や死亡率が大きく改善されるとともに、HIV の感染予防にも貢献しうることがわかってきた。HIV に感染している人が感染の事実をまず知り、抗 HIV 治療を適切な時期に受けることがますます重要となってきた。このため、感染リスクのある人々になるべく多くの HIV 検査を提供することが喫緊の課題となっている。

本稿では、最近の HIV 検査における新しい展開を紹介し、わが国における HIV 検査の促進にそれらをどのように組み込んでいくべきかを考察する。

## 1. スクリーニング検査

HIV 感染を診断するための検査は基本的にスクリーニング検査と確認検査の二段階で行われる。

HIV 抗体のスクリーニング検査として当初より使われていた酵素免疫反応法 (enzyme immunoassay, EIA) が、近年著しい進歩を遂げ、現在では HIV-1/2 抗体と HIV-1 抗原の同時検出が可能で、いわゆる第 4 世代の EIA が一般的に使用されている (表 1)。その結果、HIV に感染してから検査が陽性になるまでの期間 (ウインドウ期) が以前よりかなり短縮され、人により異なるが、平均 20 日程度になっている。

一方、検体を滴下してから 15 分後に結果が得られる簡易迅速検査キットとしては、ダイナスクリーン・HIV-1/2 とエスプライン HIV Ag/Ab の 2 種類が市販されており、診療所や保健所等でのスクリーニング検査に利用されている。どちらもイムノクロマトグラフィーを原理としてお

り、前者は HIV-1/2 の抗体を検出するもので、後者はそれに加えて HIV-1 の p24 抗原も別のラインとして検出できる。使用できる検体は、ダイナスクリーン・HIV-1/2 が血清、血漿または全血で、エスプライン HIV Ag/Ab は血清または血漿である。

## 2. 確認検査

確認検査には、HIV の各種構成タンパク質に対する特異抗体の存在を確認するウエスタンブロット法 (以下 WB) が広く使われている (表 1)。WB が陽性の場合には HIV の感染と判定できる。しかし、第 4 世代の EIA は WB よりも感度が高くなったため、WB が保留あるいは陰性の場合には、抗体による確認ができないので、HIV-1 核酸増幅検査で HIV 遺伝子による確認検査を行う必要がある。

現在、国内で利用可能な HIV-1 核酸増幅検査は、コバス TaqMan HIV-1 「オート」およびアキュジーン m-HIV-1 である。どちらもリアルタイム PCR を原理としている。コバス TaqMan に関しては、それ以前に使用されていたアンプリコア HIV モニター (最少検出限界 50 コピー/mL) で陰性であったにもかかわらず、本法に変更後、50 コピー/mL 以上の測定値を示す例がしばしば現れることが問題となった。その後、製造会社等で行われた検討の結果、検体を採血管内で保存・輸送するときには、血漿では測定前に再度遠心操作を加えること、血清では冷凍処理をしないことにより、測定値の乖離を是正できることがわかった。このような問題が生じた原因については明確でないが、感染リンパ球由来のウイルス核酸の寄与による測定値の増加が強く疑われる。この問題とは別に、TaqMan 法で使用されているプライマーとプローブの反応領域 (gag 遺伝子) に変異のあるウイルスでは反応性が低下し、実際に比べ低い測定値を示し、場合によっては検出されなくなる等の問題が報告されている<sup>1)</sup>。製造会社では、gag 遺伝子に加えて LTR

著者連絡先: 加藤真吾 (〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35 慶應義塾大学医学部微生物学免疫学教室)

2011 年 8 月 3 日受付

表 1 スクリーニング検査キットと確認検査キット

## スクリーニング検査キット

検査法	試薬名	販売会社	測定方法
抗体検査	ダイナスクリーン・HIV-1/2	アリーア メディカル	IC (迅速検査)
抗原抗体 同時検査	エスプライン HIV Ag/Ab	富士レビオ	IC (迅速検査)
	アキシム HIV Ag/Ab コンボアッセイ・ダイナパック	アボットジャパン	MEIA
	アーキテクト・HIV-Ag/Ab コンボアッセイ	アボットジャパン	CLIA
	ジェンスクリーン HIV Ag・Ab	バイオ・ラッド ラボラトリーズ	EIA
	エンザイグノスト HIV インテグラル	シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティックス	EIA
	バイダスアッセイキット HIV デュオ II	シスメックス・ビオメリュー	ELFA
	エクルーシス試薬 HIV combi	ロシュ・ダイアグノスティックス	CLIA

## 確認検査キット

検査法	試薬名	販売会社	測定方法
抗体検査	ラブプロット 1	バイオ・ラッド ラボラトリーズ	WB
	ラブプロット 2	バイオ・ラッド ラボラトリーズ	WB
遺伝子検査	コバス TaqMan HIV-1 「オート」	ロシュ・ダイアグノスティックス	Real-time RT-PCR
	アキュジーン m-HIV-1	アボットジャパン	Real-time RT-PCR

IC, immunochromatography ; MEIA, microparticle enzyme immunoassay ; CLIA, chemiluminescent immunoassay ; EIA, enzyme immunoassay ; ELFA, enzyme-linked fluorescent immunoassay.

も反応領域としたコバス TaqMan HIV-1 「オート」バージョン 2.0 を新たに開発することでこの問題に対応しており、これにより従来のバージョンによる過小評価は是正されるものと思われる<sup>2)</sup>。コバス TaqMan HIV-1 「オート」バージョン 2.0 は今秋 9 月に国内販売が予定されている。この変更に伴い、使用できる検体が血清・血漿から血漿だけになったことに注意を要する。一方、インテグラーゼ遺伝子 (*int* 遺伝子) を反応領域としているアキュジーンに関しては、インテグラーゼ阻害薬耐性変異があっても HIV-1 RNA の測定値に影響を与えなかったという研究結果が報告されている<sup>3)</sup>。

## 3. 診療における HIV-1 検査

医療機関における診療のための HIV 検査アルゴリズムに関しては、日本エイズ学会と日本臨床検査医学会から推奨法<sup>4)</sup> が公表されているのでそちらを参照していただきたい。ここでは、この推奨法の確認検査の進め方に関する二つの点について論じたい。

一つは、WB と核酸増幅検査を実施するタイミングに関する問題である。推奨法では、スクリーニング検査が陽性であった検体の確認検査として、WB と核酸増幅検査を同時に実施することを推奨している。これは、偽陽性と急性期の感染との鑑別を一度の採血でなるべく早く診断するこ

とを目的としている。しかし、HIV 感染者で急性症状がみられない場合のほとんどは WB の結果も陽性となる。WB の結果は安定しており費用も核酸増幅検査の半分以下であることから、急性期の疑いが強い場合以外では、まず WB を実施し、その結果が陽性でなく陰性が保留であることが分かった後に核酸増幅検査を実施することも効率的な選択肢と思われる。

二つ目は HIV-2 感染の診断の問題である。推奨法では、確認検査において HIV-1 WB が陰性または保留で、HIV-1 核酸増幅検査が「検出せず」の場合、HIV-2 WB を実施し、陰性または保留の場合は、2 週間後にスクリーニング検査からの再検査を勧めることになる。再検査を勧める理由は、第 4 世代 EIA による HIV-2 抗体の検出感度が HIV-2 WB よりも高いため、スクリーニング検査陽性による HIV-2 感染の可能性を HIV-2 WB が陰性でも否定できないことにある。しかし、このアルゴリズムに従うと、通常 0.3% 程度はあると思われるスクリーニング検査の偽陽性例のすべてが確認検査では判定できず、2 週間後の再スクリーニング検査が必要となってしまう。このような検査アルゴリズムは検査として非効率であるだけでなく、妊婦健診においては妊婦に対して無用な感染不安を与える可能性が高い。現在までに国内で見つかった HIV-2 感染例は一桁にとどまっており、その感染例はすべて HIV-2 流行地の出身者もしくは

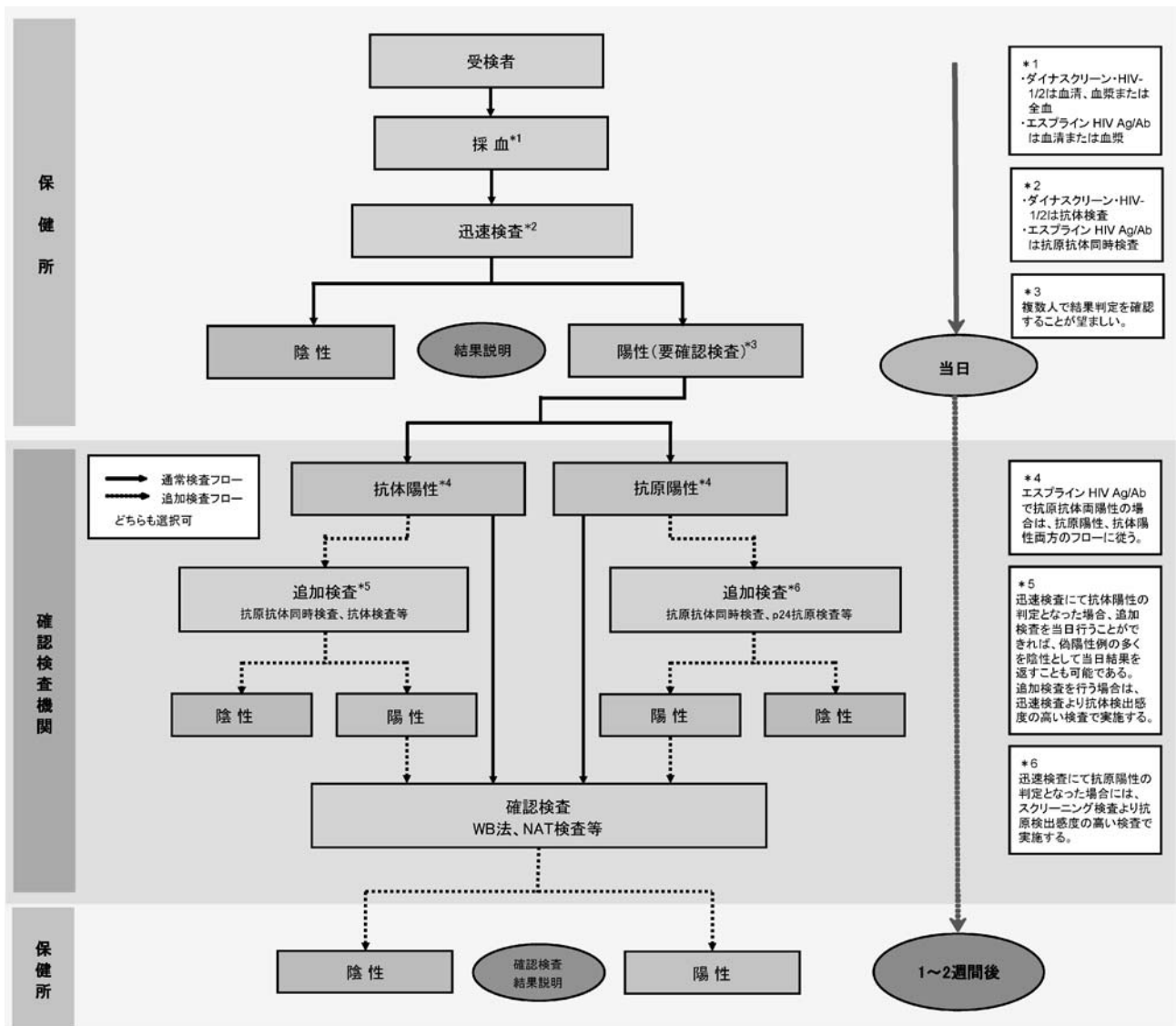


図 1 保健所等における HIV 即日検査のフローチャート

は渡航者またはそれらの接触者である<sup>5,6)</sup>。したがって、HIV-2 の感染リスクのある人の場合を除いて、確認検査の HIV-2 WB が陰性であれば、HIV-2 非感染と判定するのが妥当であると考えられる。また、次に述べる保健所等の検査において導入される追加検査の活用もこの問題への対応策としてきわめて有効と思われる。

#### 4. 保健所等における HIV 即日検査のフローチャート

HIV 迅速検査キットを利用した HIV 即日検査が 2003 年から保健所に導入され、受検者数の増大に大きく寄与した。現在では、全保健所の 63% が実施するまでに普及している<sup>7)</sup>。

国内で認可された迅速検査キットは長らく抗体検査のダ

イナスクリン・HIV-1/2 だけであったが、抗原抗体同時検査が可能となったエスプライン HIV Ag/Ab が新たに加わった。それを考慮して改訂した、保健所等における即日検査のフローチャートを図 1 に示す。まずスクリーニング検査として迅速検査を実施し、陰性の場合はその日のうちに結果を受検者に伝える。陽性の場合には、可能な場合には、追加検査を当日行うことにより、偽陽性の多くを陰性として当日結果を返すことが可能となる。追加検査には、迅速検査より抗体あるいは抗原の検出感度の高い検査法を使用しなければならない。エスプライン HIV Ag/Ab は抗原と抗体を別個に判定することが可能なので、このキットを用いた場合、図 1 に示したように、抗体と抗原のどちらが陽性となったかにより追加検査が異なることに注意を要する。

迅速検査が陽性の場合、あるいは追加検査を実施したときは追加検査でも陽性の場合、確認検査が必要となる。確認検査には WB および核酸増幅検査を使用する。確認検査では、HIV-1 および HIV-2 の感染の両方の診断が必要である。また感染初期のウィンドウ期での見逃しを減少させることも考慮する必要がある。確認検査における HIV-2 の偽陽性の問題に関しては前述したとおりであり、適切な追加検査の実施により、スクリーニング検査の段階で偽陽性例を大幅に減少させることで、HIV-2 問題の解決にも有効となる。

## 5. 国外の迅速検査法

口腔液を検体として使用できる迅速検査キット (OraQuick ADVANCE Rapid HIV-1/2 Antibody Test) が米国を始めとする多くの国で利用されている。唾液検査として紹介される場合もあるが、検体とするのは歯茎の外側をスワブで擦り取った液 (口腔粘膜浸出液) であって正確には唾液とは若干異なる。いずれにしろ検体採取が血液検査に比べて簡便であり、受検者に受け入れられやすいという特徴がある<sup>8)</sup>。イベント会場やアウトリーチなどでの検査に適しており、わが国への早期の導入が望まれる。著者らはいくつかの関連会社に打診しているが、採算上の問題から販売に名乗りを上げる会社はまだない。

2010年12月、米国FDAが認可した INSTI HIV-1/HIV-2 Rapid Antibody Test は全血、指穿刺血、血清、血漿の HIV-1 あるいは HIV-2 の抗体をわずか1分で検出することができる。他の多くの迅速検査法がイムノクロマトグラフィーを原理にしているのに対し、このキットはイムノフィルトレーションにより測定時間の短縮化を図っている。感度に関しては、他の迅速検査法と同程度であると報告されている<sup>9)</sup>。検査に要する時間が短いので、検査結果に見合った予防カウンセリングとセットで推進できる利点があると思われる。

## 6. 郵送検査と自己検査キット

郵送検査とは、HIV 検査希望者が血液検体あるいは乾燥血液スポット検体を送付し、後で検査結果を郵便、メールあるいはインターネットなどを介して受け取るシステムである。厚生労働省エイズ対策事業の研究班の報告によると<sup>10)</sup>、郵送検査数は年々増加し、2010年の年間検査数は60,609件(陽性数223例)にのぼった。これは、同年の保健所等での検査数130,930例の46%に相当し、自発検査において実際上大きな比重を占めているといえる。検査費用は2,625~7,950円、検査結果が返ってくるまでの日数は1~14日である。郵送検査で使用している検査法はPA法、イムノクロマト法あるいはEIA法と会社によって異なるが、

いずれもスクリーニング検査であり、確認検査を含む HIV 検査を医療機関でもう一度受けてもらわなければならない。したがって、いかにして確実に医療機関に繋げるかが郵送検査の重要な課題である。また、対面のないインターネット環境において、検査前後における情報提供、カウンセリング、支援 NPO への照会などをいかにして十分に行うかも重要な課題の一つである。

インターネット上ではまた、自分で検査のできる HIV 自己検査キットが販売されているが、これは郵送検査とは別のものである。現在、厚生労働大臣が認可した HIV 自己検査キットは国内に存在しない。インターネット上で販売されているものはほとんど海外で製造・販売されたものであるが、認可制度の整った先進国で許可されたものではない。実際に購入して調べてみると、使用期限が切れていたり、模造品であったり、また、使用法や判定法の説明も不十分であったりと様々な問題点が報告されている<sup>11)</sup>。このため、国内における自己検査キットの使用は、現在のところ勧められない。

一方、国外では、HIV 検査の拡大促進のために HIV 自己検査キットを OTC (over-the-counter) として販売する動きもある。米国の OraSure Technologies 社は OraQuick の OTC 版の販売に向け、FDA の勧告に従い、検査経験のない利用者がこの検査キットを正しく使えるかどうかを検討するための第 III 相試験を実施している。今年中にはその結果が発表される予定である。自己検査キットをめぐるこれらの国外の動きについては今後とも注視を続ける必要がある。

## おわりに

ここで取り上げた検査以外にも薬剤耐性検査、細胞指向性検査、RIA (recent infection assay) などの重要な検査があるが、今回はスクリーニング検査を中心に論じたため割愛した。また、今回は HIV 検査法に議論を限ったため HIV 検査前後の相談あるいはカウンセリングに関してあまり触れなかったが、これらも HIV 検査の根幹となる要素であることは言うまでもない。特に、陽性告知においては、陽性判明者がこれから HIV 感染と向き合っていくための支援となることが重要である。HIV 陽性者の治療、ケア、支援へのアクセスと HIV 感染の拡大防止のため、わが国の HIV 検査相談体制がなお一層充実、発展することを願ってやまない。

## 文 献

- 1) Korn K, Weissbrich B, Henke-Gendo C, Heim A, Jauer CM, Taylor N, Eberle J : Single-point mutations causing more than 100-fold underestimation of human immuno-



- deficiency virus type 1 (HIV-1) load with the Cobas TaqMan HIV-1 Real-Time PCR Assay. *J Clin Microbiol* 47 : 1238-1240, 2009.
- 2) Wirden M, Tubiana R, Fourati S, Thevenin M, Simon A, Canestri A, Ait-Arkoub Z, Soulie C, Marcelin AG, Katlama C, Calvez V : Upgraded Cobas Ampliprep-Cobas TaqMan version 2.0 HIV-1 RNA quantification assay versus first version: Correction of underestimations. *J Clin Microbiol* 49 : 2700-2702, 2011.
  - 3) Young TP, Cloherty G, Fransen S, Napolitano L, Swanson P, Herman C, Parkin NT, Hackett J Jr : Performance of the Abbott RealTime HIV-1 viral load assay is not impacted by integrase inhibitor resistance-associated mutations. *J Clin Microbiol* 49 : 1631-1634, 2011.
  - 4) 山本直樹, 宮澤幸久 : 診療における HIV-1/2 感染症の診断ガイドライン 2008 (日本エイズ学会・日本臨床検査医学会標準推奨法). *日本エイズ学会誌* 11 : 70-72, 2009.
  - 5) Ibe S, Yokomaku Y, Shiino T, Tanaka R, Hattori J, Fujisaki S, Iwatani Y, Mamiya N, Utsumi M, Kato S, Hamaguchi, M, Sugiura W : HIV-2 CRF01\_AB : First circulating recombinant form of HIV-2. *J Acquir Immune Defic Syndr* 54 : 241-247, 2010.
  - 6) 伊部史郎 : 世界最初の HIV-2 組換え流行株 CRF01\_AB の発見. *日本エイズ学会誌* 13 : 76-82, 2011.
  - 7) 今井光信, 近藤真規子, 佐野貴子, 大野理恵, 中瀬克己, 須藤弘二, 加藤真吾 : HIV 検査相談に関する全国保健所アンケート調査 (H22 年). 厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業「HIV 検査相談体制の充実と活用に関する研究」平成 22 年度研究報告書, pp 19-56, 2011.
  - 8) 佐野 (嶋) 貴子, 山中晃, 金子恵, 井戸田一朗, 平井由児, 岩室紳也, 近藤真規子, 今井光信 : 血液を用いない検査法 (唾液検査) による HIV 検査相談機会の拡大の可能性に関する検討. 厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業「HIV 検査相談機会の拡大と質的充実に関する研究」平成 18~20 年度総合研究報告書, pp 198-212, 2009.
  - 9) Pavie J, Rachline A, Loze B, Neidbalski L, Delaugerre C, Laforgerie E, Plantier J-C, Rozenbaum W, Chevret S, Mokina J-M : Sensitivity of five rapid HIV tests on oral fluid or finger-stick whole blood: A real-time comparison in a healthcare setting. *PLoS One* 5 : e11581, 2010.
  - 10) 須藤弘二, 佐野貴子, 近藤真規子, 加藤真吾, 今井光信 : HIV 郵送検査に関する実態調査と検査精度調査. 厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業「HIV 検査相談体制の充実と活用に関する研究」平成 22 年度研究報告書, pp 74-82, 2011.
  - 11) 木村和子, 奥村順子, 本間隆之, 徳田貴裕, 村田志乃 : HIV 自己検査キット個人輸入の保健衛生の調査研究. 厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業「HIV 検査相談機会の拡大と質的充実に関する研究」平成 18~20 年度総合研究報告書, pp 187-197, 2009.