

## ヒト免疫不全ウイルス（HIV）感染症：東京都における検査と解析

貞升健志，長島真美，新開敬行，尾形和恵，吉田靖子，矢野一好

### **Human immunodeficiency virus (HIV) infection : Diagnosis and Analysis in Tokyo**

Kenji SADAMASU, Mami NAGASHIMA, Takayuki SHINKAI, Kazue OGATA,  
Yasuko YOSHIDA and Kazuyoshi YANO

# ヒト免疫不全ウイルス（HIV）感染症：東京都における検査と解析

貞升健志\*, 長島真美\*, 新開敬行\*, 尾形和恵\*, 吉田靖子\*, 矢野一好\*\*

## Human immunodeficiency virus (HIV) infection : Diagnosis and Analysis in Tokyo

Kenji SADAMASU \*, Mami NAGASHIMA \*, Takayuki SHINKAI \*, Kazue OGATA \*,  
Yasuko YOSHIDA \* and Kazuyoshi YANO \*\*

**Keywords :** 後天性免疫不全症候群 Acquired Immunodeficiency Syndrome:AIDS), ヒト免疫不全ウイルス Human immunodeficiency virus:HIV, サブタイプ Subtype, HIV 検査 HIV Diagnosis, 薬剤耐性 Drug Resistance, 解析 Analysis, 東京 Tokyo

### 1. はじめに

1981年6月5日付の Mortality and Morbidty Weekly Report (MMWR) に5例のニューモシスチス・カリニの患者報告がなされた<sup>1)</sup>ことを契機に、米国疾病管理センター(CDC:Centers for Disease Control)が、この疾患の調査を開始した(表1)。その後全米各地から、日和見感染症等を伴う重症の免疫不全患者が相次いで報告されたことから、CDCはこの原因不明の免疫不全症を、後天性免疫不全症候群(Acquired Immunodeficiency Syndrome : AIDS)<sup>2)</sup>と命名した。AIDSの病原体は、1983年にフランスのパスツール研究所の Montagnier ら<sup>3)</sup>が LAV (Lymphadenopathy-associated virus) というウイルスが原因であることを最初に報告した。その後、1984年に Gallo ら<sup>4)</sup>により HTLV-III (Human T-lymphotropic virus type III), さらに Levy ら<sup>5)</sup>により ARV (AIDS-associated retrovirus) として発見されたが、3つのウイルスはすべて同一であることが判明し、1986年の国際命名委員会でウイルスの名称はヒト免疫不全ウイルス(Human immunodeficiency virus:HIV)<sup>6)</sup>に統一された。さらに、西アフリカに限局して発生していた同様の疾患から、遺伝子学的に異なる HIV が、Montagnier らにより発見され<sup>7)</sup>、先に発見された HIV-1 と区別され HIV-2

と命名された。HIV は、輸血、非加熱血液製剤、男性同性間感染、異性間性的接触、薬物静注あるいは母子感染等の感染経路で、全世界へと広がっていった。

### 2. 我が国におけるHIV/AIDS監視体制

1984年9月にエイズ調査検討委員会(後のエイズサーベイランス委員会)が設置され、全国的なエイズ患者の調査が開始された。1985年に日本のエイズ患者第一号が報告され<sup>8)</sup>、1987年には神戸で不特定多数の男性と性交渉を持った女性のエイズ患者がマスコミで報道されたことが<sup>9)</sup>、大きな社会問題となった。同年2月の厚生省通知<sup>10)</sup>により、全国の保健所でエイズ相談窓口が開設され、東京都では東京都立衛生研究所(現健康安全研究センター)ウイルス研究科が HIV 検査を担当することとなった。

1989年からは「後天性免疫不全症候群の予防に関する法律」(エイズ予防法)に基づき<sup>11)</sup>、1999年3月まで実施された。同年4月からは、「感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律」(感染症法)の施行に伴い<sup>12)</sup>、後天性免疫不全症候群は第四類感染症、2004年には感染症法改正により第五類感染症全数把握疾患として位置づけられた。

現在、エイズ発生動向調査は感染症法に基づく感染症発生動向調査の一部として整備され、エイズ動向委員会は3

表1. エイズ年表(1981年-1987年)

1981年	CDCは5人のカリニ肺炎患者をMMWRにて報告
1982年	CDCがAIDSという名称を採用
1983年	AIDSの原因ウイルス分離がMontagnierらによりScience誌に報告
1984年	エイズ調査検討委員会(後のエイズサーベイランス委員会)が設置
1985年	日本のエイズ患者第一号
1986年	国際命名委員会にて、ウイルスの名称がHIVに統一 MontagnierらによりHIV-2発見
1987年	日本国内初の女性患者を確認、発表、エイズパニック 全国の保健所で検査受付開始

表2. HIV感染症の診断

・下記の抗HIV抗体スクリーニング検査が陽性で、確認検査が陽性の場合
1) ELISA法、2) PA法、3) IC法、4) その他
・確認検査
1) Western Blot法、2) IFA法
3) HIV病原検査(抗原検査、ウイルス分離、PCR法)
・周産期に母親が感染していたと考えられる18ヶ月未満の児の場合
1) HIV病原検査が陽性の場合
2) CD4陽性Tリンパ球数の減少、CD4/CD8比の減少

\* 東京都健康安全研究センター微生物部ウイルス研究科 169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

\*\* 東京都健康安全研究センター微生物部

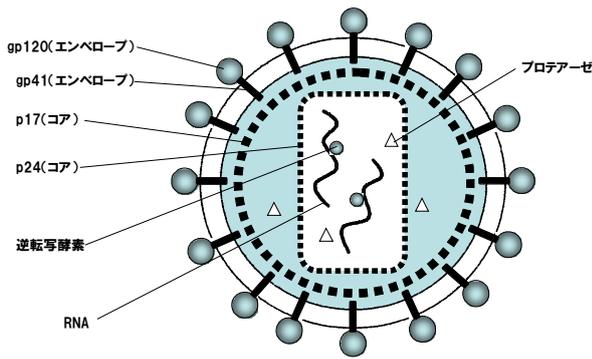


図1. HIV粒子の模式図

ヶ月毎に委員会を開催し、都道府県等からの報告に基づき、HIV感染者またはAIDS患者数を把握し、性別、年齢、感染地域、感染経路等について解析し、公表している<sup>13)</sup>。発生動向調査におけるHIV感染者とは(表2)、HIV感染症のスクリーニング検査または確認検査にて陽性と判定されたものを示し、AIDS患者とは、HIV感染症診断基準を満たし、さらにカンジダ症、クリプトコッカス症やコクシジオイデスなどの指標疾患の一つ以上が明らかに認められる場合をいう<sup>14)</sup>。

### 3. HIVの感染形態

#### 1) HIVの細胞への感染

HIVはレトロウイルス科(*retroviridae*)レンチウイルス(*lentivirus*)亜群に属し、直径約100nmのRNAウイルスである。外側にエンベロープ(gp120, gp41)、ウイルス内部のコア蛋白(p24)の中に、二本のRNA、逆転写酵素、プロテアーゼを有する構造を呈している(図1)。

HIVは主としてCD4陽性T細胞とマクロファージに感染する。CD4をレセプターとしてHIVは細胞に吸着し、さらにCXCR4やCCR5といったケモカインレセプターと結合して、細胞内に侵入する<sup>15)</sup>。細胞内に侵入すると、HIVの逆転写酵素の働きでRNAがDNAへと逆転写され、宿主のDNAの中に組み込まれる。組み込まれたHIV遺伝子は、その後、宿主細胞の代謝経路を利用しウイルス蛋白を生成し、完全なウイルス体となって、CD4陽性細胞を破壊して、次なる細胞へと感染していく。一度、HIV遺伝子が組み込まれた細胞は、その細胞が完全に破壊されない限り、HIVが駆逐されることはない。

#### 2) HIVの病原性

HIVに感染した場合、一日に $10^9 \sim 10^{10}$ 個ものHIVが生産され<sup>16)</sup>、CD4陽性T細胞は2.2日で破壊される。CD4陽性T細胞数も体内で再生産されるものの、破壊される数の方が多いため、段々と細胞数が減少していく。CD4陽性T細胞は、体の中の免疫に関する中心的な役割を果たしていることから、CD4細胞数の減少は、免疫能の低下を意味し、最終的には免疫不全症となり、通常は感染することがない病原体に感染(日和見感染)、発症し

表3. HIVの主要な感染経路と世界における割合

	感染効率	世界全体の感染者における割合
輸血による感染	90%以上	3~5%
母子感染	30%	5~10%
性行為による感染	0.1~1.0%	70~80%
薬物静注	0.5~1.0%	5~10%
医療従事者の針刺し事故	0.5%以下	0.01%以下

たり、悪性リンパ腫を起こすことになる。

#### 3) HIVの感染経路

HIV感染者の体液の中で、リンパ球が含まれる血液、精液、膣分泌液および母乳には、多くのHIVが含まれており、これらの体液との接触度により、感染率が異なる。

HIVの主要な感染経路は輸血、同性間の性的接触、異性間の性的接触、母子感染、静注薬物乱用による感染である。WHO(1991年)の資料(表3)によると、輸血によるHIVの感染確率は90%以上、性行為では0.1~1%、母子感染は30%、静脈注射による感染は0.5~1%、医療従事者の事故による感染率は0.5%以下と試算されているが、世界全体の感染者における割合は、性行為による感染が多くを占めている。また、性行為の違いにより感染リスクが異なり、膣性交時の挿入側の感染の危険性を10とすると、肛門性交時は13とやや高くなる<sup>17)</sup>。逆に受け手側のリスクとしては、膣性交時に20であるのに対し、肛門性交時には100となり、肛門性交時の受け手側のリスクは著しく高い。

#### 4) HIV感染後の経過

HIV感染の初期には、ウインドウ期と呼ばれる抗体検査で感染の分からない約2ヶ月間の空白期間が存在する(図2)。また、ウインドウ期の中でも血液中にウイルスが存在し、輸血により感染が起きる可能性のある期間(11~22日)を特に「感染性ウインドウ期」と呼んでいるが<sup>18, 19)</sup>、この時期の感染確定診断は遺伝子検査(RT-PCR法)を実施する以外に方法はなく、臨床症状としては、風邪様の症状を呈することがある程度である。

ウインドウ期を過ぎると、HIVの構成蛋白に対する抗体が産生されてくるため、抗体検査による感染の判定が可能となる。抗体の上昇は、コア蛋白p24に対する抗体が

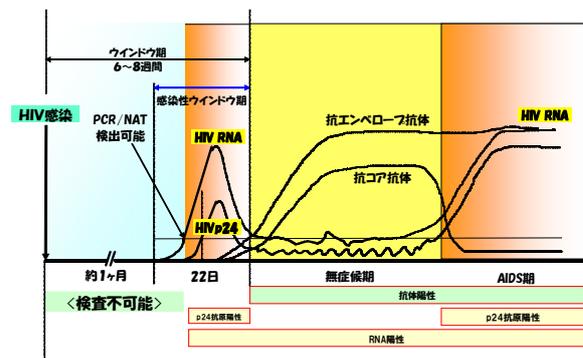


図2. HIV感染後の抗体と抗原の関係

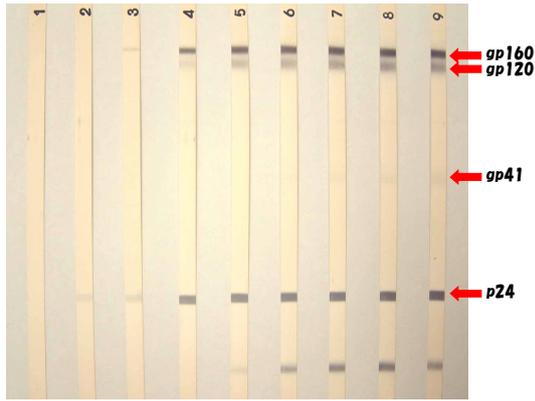


図3. HIV感染後の経過とWB法による解析

まず上昇し、その後、エンベロープ蛋白である gp160, gp120 に対する抗体が産生され (図3), 続いて gp41 や p31 等の他の蛋白に対する抗体が産生される. 抗体の産生に伴い, 血液中の p24 抗原および HIV RNA は一定の基準値まで減少する. その基準値については個人により異なり, 基準値が高く維持されるほど, その後の予後は悪く<sup>20)</sup>, 低い程予後は良い傾向がある. 比較的状态が安定し, 臨床症状を示さないこの時期は無症候期と呼ばれている.

時間の経過とともに, 体内で HIV の産生, 破壊が繰り返されるにつれて, HIV の標的細胞である CD4 陽性 T リンパ球が破壊され, 徐々に CD4 リンパ球が減少してくると, 普段は感染しない病原体に感染するようになる (日和見感染). この時期を AIDS 期と呼び, この頃になると, HIV のコア蛋白 (p24, p17) に対する抗体はなくなり, エンベロープに対する抗体のみ産生されるようになる.

#### 5) HIVのサブタイプ

HIV の逆転写酵素は, 哺乳動物の DNA 複製酵素と異なり, 校正機能を持たないため, RNA を DNA に逆転写する過程で,  $10^4 \sim 10^5$  の頻度で複製ミスを起こす<sup>21)</sup>. さらに, HIV 感染症は長期にわたり継続するため, 変異が蓄積し, 高度の多様性が生み出される.

現在, HIV は全世界で蔓延している HIV-1 と西アフリカを中心にほぼ限局して蔓延している HIV-2 に分類される (表4). HIV-1 は主要な型であるグループ M とそれ以外のグループ O, N に分類され<sup>22)</sup>, グループ M はさらにサブタイプ A, B, C, D, F, G, H, J, K に分類される. サブタイプ E は, サブタイプ A と E が組換え体をつくった型 (組換え流行株: Circulating Recombinant Form) であることが判り, 現在, CRF01\_AE もしくはサブタイプ AE と呼ばれている.

日本において報告されている HIV-1 のサブタイプ型は, A, B, C, D, CRF01\_AE, F, G であり, 東京都内ではサブタイプ B, C, CRF01\_AE が検出されている<sup>23)</sup>. サブタイプ B は, 日本, 米国, 欧州, オーストラリアで流行している型であり, サブタイプ C は東・南アフリカ, CRF01\_AE は日本, 東南アジアで流行している型

表4. ヒト免疫不全ウイルスの分類と日本, 東京都内における検出状況

	タイプ	グループ	サブタイプ	世界における主な流行地域	日本における報告		東京都	
					日本人	外国人		
ヒト免疫不全ウイルス (HIV)	HIV-1	M	A	東・中央アフリカ	有	有	-	
			B	日本, 米国, ヨーロッパ, オセアニア	有	有	有	
			C	東・南アフリカ	有	有	有	
			D	中央アフリカ	有	-	-	
			AE	日本, 東南アジア	有	有	有	
			F	中央アフリカ, 南米, ルーマニア	-	有	-	
			G	中央アフリカ, 台湾, ロシア	有	-	-	
			H	中央アフリカ, ベルギー	-	-	-	
			J	コンゴ, ガンビア, スウェーデン	-	-	-	
			K	中央アフリカ	-	-	-	
			O	カメルーン, ガボン, フランス	-	-	-	
			N	カメルーン	-	-	-	
			HIV-2	A	西アフリカに限局	-	-	-
				B	西アフリカに限局	-	-	-
C	フランス, アメリカ, インド, 韓国	有		有	-			
D	フランス, アメリカ, インド, 韓国	有		有	-			
E	フランス, アメリカ, インド, 韓国	有		有	-			
F	フランス, アメリカ, インド, 韓国	有		有	-			
G	フランス, アメリカ, インド, 韓国	有		有	-			

である. サブタイプ別には特に感染力の違いは認められないが, 日本における感染経路では, 非加熱血液製剤による感染者, 男性同性間感染者由来の HIV-1 の多くはサブタイプ B であり, 異性間感染者由来 HIV-1 はサブタイプ B もしくは CRF01\_AE による感染である傾向が強い.

一方, HIV-2 は HIV-1 に比べて病原性が低く, A ~ G の 7 種類のサブタイプ型に分類される. 日本における HIV-2 の報告は 1993 年<sup>25)</sup>, 2002 年<sup>26)</sup>, 2004 年<sup>27)</sup>, 2006 年<sup>26)</sup> の 4 例のみであり, そのうち 2006 年の事例のみが日本人で, 3 例は外国人の感染例である. それ以外の日本における HIV 感染はすべて HIV-1 によるものである.

#### 4. 抗HIV薬と薬剤耐性変異

近年の HIV 感染症治療で, めざましい進化を遂げたのは, HAART (Highly Active anti-retroviral therapy) に代表される治療法の開発である<sup>28)</sup>. 今までに, 数多くの作用機序の異なる抗 HIV 薬が開発されてきた. スクレオシド系逆転写酵素阻害薬として, Zidovudine (AZT), 3TC (Lamivudine), Stavudine (d4T) など, 非スクレオシド系逆転写酵素阻害薬として Nevirapine (NVP), Efavirenz (EFV), Delamanid (DLV), プロテアーゼ阻害薬として, Saquinavir (SQV), Ritonavir (RTV), Nelfinavir (NFV) などが HIV 感染症治療薬として使用されている. 単独の薬による治療では, 長期間投与する間に, 薬剤耐性株が出現しやすかったのに対し, 3 種類以上の薬を同時に投薬する HAART 治療法は, 血液中のウイルス量を劇的に減少させ, 長期間の治療でも薬剤耐性変異ウイルスが出現しないというメリットがあった. しかしながら, HAART をもってしても, 体内から完全に HIV を除去することは現在でも不可能であり, 3 種類以上の薬を毎日決まった時間に服用し続けることができなくなると, 徐々に血液中の HIV 量が増加し, 薬剤耐性変異を有する HIV が増加してくる.

薬剤耐性 HIV が存在するか否かについては, 患者の血液から HIV を分離し, 種々の抗 HIV 薬の存在下で培養し, 薬剤耐性の有無を評価する Phenotype 検査<sup>29)</sup> と, 逆転写酵素領域およびプロテアーゼ領域の遺伝子を RT-nested-PCR 法により増幅後, 塩基配列を決定しアミノ酸の変異をみる Genotype 検査<sup>30), 31)</sup> が知られている. 前者については, HIV の分離をバイオハザードレベル 3 実験室で

逆転写酵素（アミノ酸）一次変異																		
薬品名	M41	K65	D67	K70	L74	L100	K103	V106	V108	Y115	Y181	M184	Y188	G190	L210	T215	K219	P225
AZT	L		N	R											W	Y/F	Q/E	
3TC		R										V/I						
ddI		R			V													
d4T	L	R	N	R											W	Y/F	Q/E	
ABC		R			V					F		V						
TDF		R																
FTC		R										V/I						
NVP						I	N	A/M	I		C/I		C/L/H	A				
DLV							N	M			C		L					
EFV						I	N	M	I		C/I		L	S/A				H

核酸系逆転写酵素阻害薬 (NRTI) : AZT:ジドブジン、3TC:ラミブジン、ddI:ジダノシン、d4T:サニルブジン、ABC:アバカビル、TDF:テノホビル、FTC:エムトリシタピン

非核酸系逆転写酵素阻害薬 (NNRTI) : NVP:ネビラビン、DLV:デラビルジン、EFV:エファビレンツ

図 4 . 逆転写酵素領域の薬剤耐性アミノ酸変異

プロテアーゼ（アミノ酸）Major変異										
薬品名	D30	V32	M46	I 47	G 48	I50	V82	I84	N88	L90
IDV			I/L				A/F/T	V		
NFV	N									M
RTV							A/F/T/S	V		
SQV					V					M
APV (FPV)						V		V		
LPV/RTV		I		V/A			A/F/T/S			
ATV					L			V	S	

IDV:インジナビル、NFV:ネルフィナビル、RTV:リトナビル、SQV:サキナビル

APV (FPV):アンブレナビル (フォスアンブレナビル)

LPV/RTV:ロピナビル・リトナビル配合剤、ATV:アタザナビル

図 5 . プロテアーゼ領域の薬剤耐性アミノ酸変異

実施しなければならない上、ウイルス分離に時間がかかるため、あまり汎用されていない。後者は IAS-USA に代表されるアミノ酸変異部位を示したパネルが諸外国で報告され (図 4, 5), 遺伝子上の変異から薬剤耐性を推定することが容易である。例えば、逆転写酵素の 41 番目のアミノ酸は通常の HIV では M (メチオニン) であるが、AZT に対し、薬剤耐性を持つようなウイルスは L (ロイシン) に変化しており、このような変異を M41L のように表記する。逆転写酵素領域では 18 カ所で薬剤に起因する変異が認められる。プロテアーゼ領域では変異により薬剤耐性を示す Major 変異と、それだけでは薬剤耐性を示さないが、Major 変異と組み合わせることにより、強力な薬剤耐性を示すようになる Minor 変異がある。Major 変異には 10 カ所あり、表記薬剤に起因したアミノ酸変異が認められる。

## 5. HIV感染者・AIDS患者の疫学

### 1) 世界におけるHIV感染者・AIDS患者の動向

WHO の報告<sup>32)</sup>によると、世界で 3,960 万人の HIV 感染

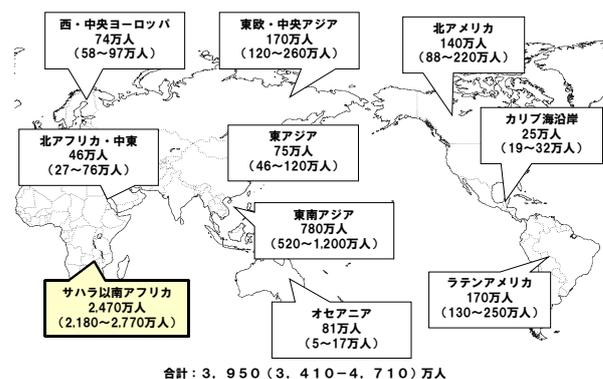


図 6 . 世界における HIV 感染者・AIDS 患者数

者がいると推定されており (図 6), そのうち、2,470 万人 (62.4%) はサハラ以南の南アフリカに居住し、次いで南・東南アジアでは 780 万人、ラテンアメリカ、東欧・中央アジアでは 170 万人の感染者がいると推定されている。2006 年の新規 HIV 感染者数は 430 万人で、そのうち 280 万人 (65.1%) がサハラ以南のアフリカで、南・東南アジアでは 86 万人 (20.0%), 東欧・中央アジアでは 27 万人 (6.3%), ラテンアメリカでは 14 万人 (3.3%) と推定されている。

### 2) 日本におけるHIV感染者・AIDS患者の動向

日本における HIV 感染者・AIDS 患者数は、感染症法に基づく感染症発生動向調査の一部として、3 ヶ月毎にエイズ動向委員会より報告されている。凝固因子製剤による感染例を除いた 2006 年 12 月末までの累計報告件数は、HIV 感染者 8,344 例、AIDS 患者 4,050 例である (表 5)。HIV 感染者の感染経路別構成は、異性間性的接触による感染者が 2,996 例 (35.9%), 同性間性的接触による感染者が 3,727 例 (44.7%), 静注薬物乱用が 41 例 (0.5%), 母子感

表5. 日本における HIV 感染者数・AIDS 患者数

診断区分	感染経路	日本国籍			外国国籍		
		男	女	計	男	女	計
HIV	異性間の性的接触	1507	479	1986	296	714	1010
	同性間の性的接触*1	3495	1	3496	231	0	231
	静注薬物濫用	18	1	19	20	2	22
	母子感染	13	8	21	4	7	11
	その他*2	106	29	135	28	17	45
	不明	527	66	593	279	496	775
	<b>HIV合計</b>	<b>5666</b>	<b>584</b>	<b>6250</b>	<b>858</b>	<b>1236</b>	<b>2094</b>
AIDS*4	異性間の性的接触	1195	142	1337	211	152	363
	同性間の性的接触*1	1055	1	1056	90	2	92
	静注薬物濫用	11	2	13	18	0	18
	母子感染	9	3	12	1	4	5
	その他*2	72	13	85	16	9	25
	不明	582	58	640	279	125	404
<b>AIDS合計*3</b>	<b>2924</b>	<b>219</b>	<b>3143</b>	<b>615</b>	<b>292</b>	<b>907</b>	
凝固因子製剤による感染者*4	1,420	18	1,438	—	—	—	

\*1 両性間性的接触を含む。  
 \*2 輸血などに伴う感染例や推定される感染経路が複数ある例を含む。  
 \*3 平成11年3月31日までの病状変化によるAIDS患者報告数154件を含む。  
 \*4 「血液凝固異常症全国調査」による2006年5月31日現在の凝固因子製剤による感染者

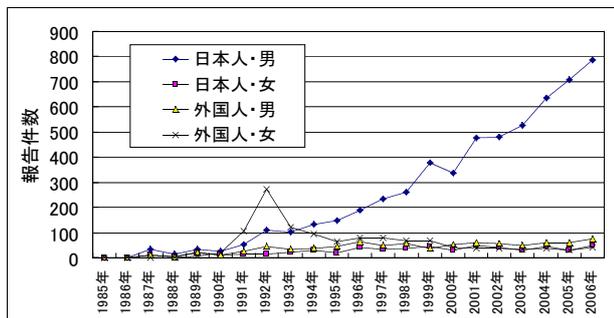


図7. 全国における HIV 感染者の国籍・性別年次推移

染が32例(0.4%)である。

国籍・性別構成では、日本人男性が5,666例(67.9%)、日本人女性584例(7.0%)、外国国籍男性858例(10.3%)、外国国籍女性1,236例(14.8%)であった。AIDS患者の感染経路は、HIV感染者に比べ同性間性的接触が少なく、不明例が多い傾向にある。国籍・性別構成は、日本国籍男性が72.2%、日本国籍女性5.4%、外国国籍男性15.2%、外国国籍女性7.2%であった。

HIV感染者の年間報告数は、1985年に報告が開始されて以来、1992年に外国人女性の感染増によるピーク後、一次減少したが(図7)、1996年以降は日本人男性の感染例の増加傾向が続き、2006年には過去最高のHIV感染者数の報告となっている。感染経路別にみると、1992年には異性間の性的接触による感染者が多くを占めたが、それ以降は、日本人男性のHIV感染者の、同性間の性的接触による感染例の増加が著しい。

都道府県別の報告件数では、東京都を含む関東・甲信越ブロックからの報告が多く、HIV感染者では全体の67.4%、AIDS患者では66.8%を占めている。2006年のHIV感染者報告数の上位は、東京都(37.2%)、大阪府、愛知県、神奈川県、千葉県、静岡県、栃木県、兵庫県、福岡県、京都府の順であり、AIDS患者では、東京都(24.4%)、愛知県、神奈川県、大阪府、兵庫県、千葉県、茨城県、埼玉県、福岡県、長野県の順であった。

### 3) 東京都におけるHIV感染者・AIDS患者の動向

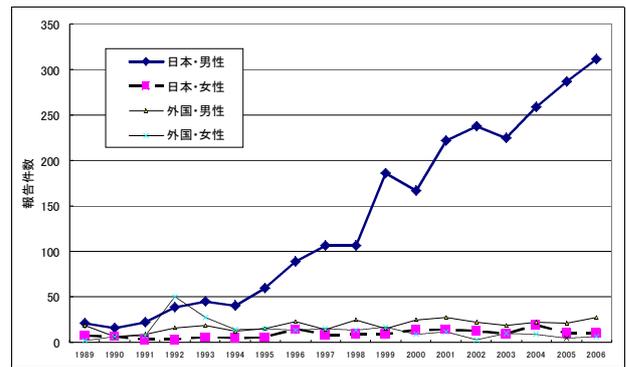


図8. 東京都における HIV 感染者の国籍・性別年次推移

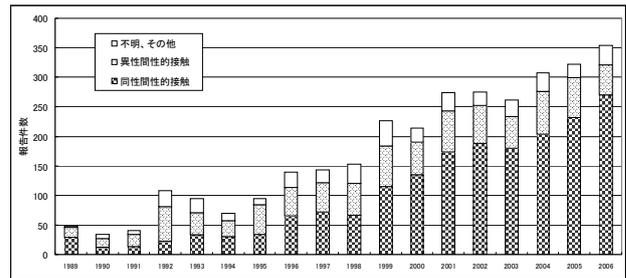


図9. 東京都における HIV 感染者の推定感染経路別年次推移

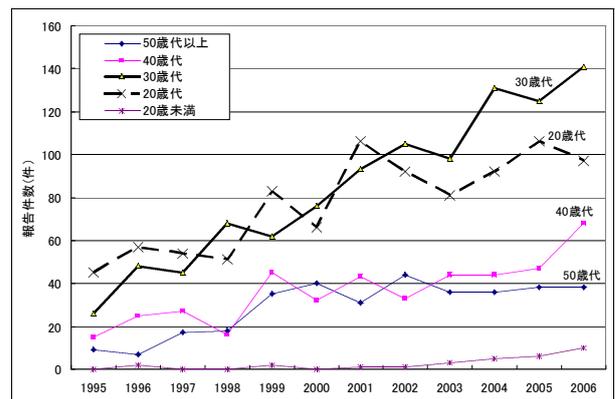


図10. 東京都における HIV 感染者の年齢別報告数の年次推移

全国の報告と同様に、東京都における HIV 感染者・AIDS 患者数は、年々増加傾向にあり<sup>3)3)</sup>、2006年には HIV 感染者354人、AIDS患者は99人が報告されている。

HIV感染者のうち、国籍・性別報告では、全国の報告と同じように、日本人男性の感染者の増加が著しく、日本人女性、外国人男性、外国人女性の年間感染者数は少なく、ほとんど変化がない(図8)。感染経路別の年次推移では、同性間の性的接触による感染者数の増加が著しい(図9)。すなわち、東京都では、日本人男性の男性同性間の性的接触による感染者数が1998年以降、継続して増加していることが明らかである。

年齢別の構成では、20歳代および30歳代と、40歳代と50歳代が継続して増加してきたが、ここ数年は30歳代が多い傾向がある。また、直近の4年間については、50歳代は伸びが止まり横ばいが続いているが、40歳代は

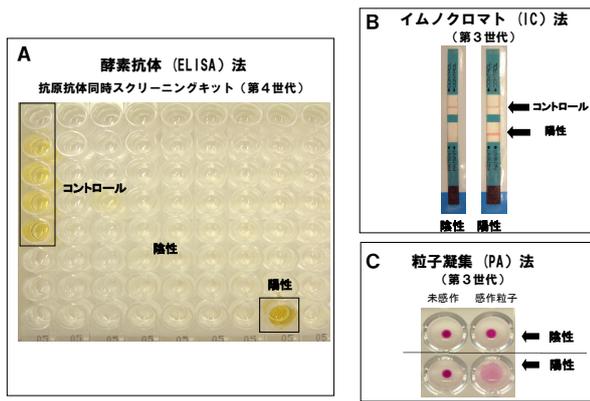


図 1 1. HIV スクリーニング検査法

A : 酵素抗体 (ELISA) 法, B : イムノクロマト (IC) 法, C : 粒子凝集 (PA) 法

2006 年に増加し, 20 歳代に迫る勢いである (図 10)。

## 6. HIV 検査法

1987 年以降様々な HIV 検査キットが普及し, 改良されてきたが<sup>3,4)</sup>, 現在, 市販されている検査キットには, スクリーニング検査キットとして, ELISA (酵素抗体) 法, 粒子凝集法, イムノクロマト法等, 確認検査キットとして, ウェスタンブロット法, 遺伝子検査法によるキットがある。

### 1) スクリーニング検査

スクリーニング検査キットは, 1980 年代から現在まで「偽陽性が少なく, 検出感度を高く」するために, 最も改良されてきたキットである。不活化した HIV 抗原を使用していた第 1 世代, 遺伝子組換え蛋白を用いた第 2 世代, 遺伝子組換え蛋白に合成ペプチドを加えた抗原を使用した第 3 世代, 抗体のみならず血液中の p24 抗原を検出可能にした第 4 世代キットというように, 改良が進められてきている。2007 年現在, 市販されているキットは第 3 および第 4 世代のキットである。

(1) **ELISA 法** 一般に血液中の抗 HIV 抗体がマイクロプレート等に固相化されたウイルス抗原と反応し抗原抗体複合物を形成する。この複合物を酵素標識抗体を加えて反応させた後, 酵素特異的な基質を加えて発色させることにより検体中の抗体を検出する方法である (図 11 A)。第 4 世代のキットでは抗体以外に血液中の HIV-1 p24 抗原の捕捉も可能になっている。

(2) **イムノクロマト (IC) 法** 第 3 世代のキットであり, 血液中の抗 HIV 抗体がセレンウムコロイド標識 HIV 抗原と反応し, 抗 HIV 抗体-セレンウムコロイド標識 HIV 抗原複合物を形成する。この複合物がシート上を移動し, セレンウムコロイド由来の赤色のラインとして判定される (図 1 1 B)。約 15 分で結果が得られるため, 保健所等における即日検査や, 病院における緊急検査に使用されている。迅速性の反面, 偽陽性率が約 1 % 存在するため, IC 法のみでの結果判定には十分注意する必要がある。

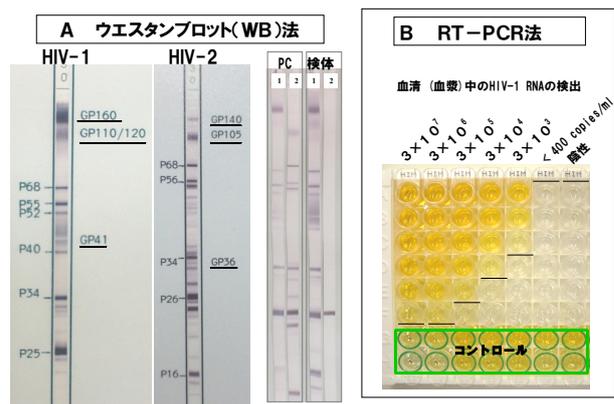


図 1 2. HIV 確認検査法

A : ウェスタンブロット法, B : RT-PCR (NAT) 法

### (3) 粒子凝集 (PA) 法

第 3 世代のキットであり, 人工担体 (ゼラチン) 粒子に遺伝子組換え HIV 抗原を吸着させた感作粒子が血液中の抗 HIV 抗体と反応し, 凝集することを応用した方法である (図 11 C)。

## 2) 確認検査

(1) **ウェスタンブロット (WB) 法** ニトロセルロース膜上の HIV-1 (または HIV-2) 構成蛋白と血液中の抗 HIV-1 (または HIV-2) 抗体が反応し, 抗原抗体複合物を形成する。この複合物を酵素標識抗体を加えて反応・発色させることにより, 血液中の特異抗体を検出する方法である (図 12A)。診断基準は WHO の基準に準じており<sup>3,5)</sup>, エンベロープのバンド (HIV-1:gp160, gp120, gp41, HIV-2:gp140, gp105, gp36) が 2 本以上検出された場合に, 陽性と判定する。1980 年代後半より HIV 検査法の確認検査として用いられてきた方法であるが, ほとんど改良されておらず, スクリーニング検査キットと比べ, 感度の面でやや劣る傾向にあり, 抗原抗体同時スクリーニング検査陽性, WB 法陰性の場合には, 遺伝子検査等の検査を実施する必要がある。

(2) **遺伝子検査 (RT-PCR, NAT)** Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) 法と ELISA 法を組み合わせた方法である (図 12B)。血漿 (血清) から HIV-1 RNA を抽出し, 逆転写反応により cDNA 合成後, PCR 法により核酸を増幅する。次に, 増幅産物を段階希釈し, マイクロプレート上の固相化 DNA プロブとのハイブリダイゼーション反応後, 酵素標識アビジンと反応・発色させることにより, 検体中の RNA 量を定量する方法である。本法は, HIV 感染患者の血液中のウイルス量の測定が可能であることから, 経過観察や治療効果の判定に使用されてきた。また, ウインドウ期, HIV 抗体検査判定保留例, 母子感染の確認検査に有効な手段である。

## 3) 東京都における検査プロトコール

東京都健康安全研究センターにて実施している検査で

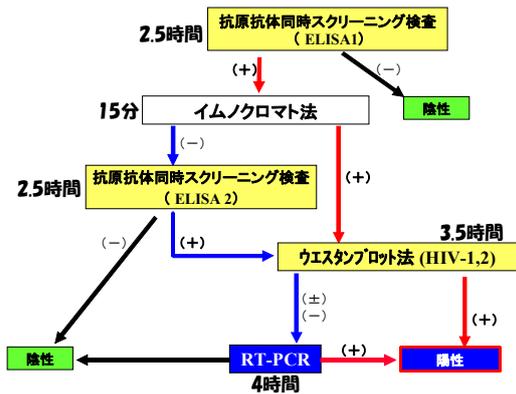


図 1 3. 東京都健康安全研究センターにおける HIV 検査プロトコール (通常検査)

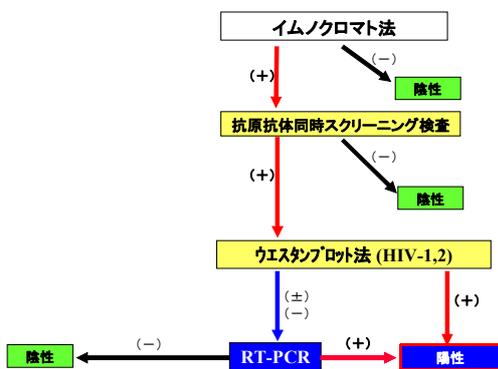


図 1 4. 即日検査判定保留検体の確認検査プロトコール

は、2004 年 9 月より、第 4 世代キット (抗原抗体同時スクリーニングキット) をスクリーニング検査として使用し、図 13 のようなプロトコールで検査を実施している。ELISA 法で陽性の場合、時間、人件費の節約を目的に、IC 法を補助検査として実施している。IC 法は抗原抗体同時スクリーニングキットよりも感度が劣るが、約 15 分で検査結果が得られるため、1 回目に ELISA 法で陽性の検体を WB 法で検査を実施すべきか、再度、他社の ELISA キットで検査すべきかのスイッチの役目を果たしている。1 回目の ELISA 法陽性で、IC 法陽性の場合には WB 法を実施し、ELISA 法陽性、IC 法陰性の場合には、他の ELISA キットを使用した二次スクリーニング検査を実施している。なお、第 4 世代キットの検出感度が高いことから、検査を受診できるまでに必要な期間 (ウインドウ期間) を 2 ヶ月とし、検査結果については 1 週間で報告している。

一方、保健所で実施している即日検査では、IC 法陰性の場合には検査日に陰性と判定可能である。しかしながら、判定付近にバンドが認められた場合には判定保留とし、健康安全研究センターで、第 4 世代の ELISA 法または WB 法等により確認検査を実施している (図 14)。

即日検査では 3 ヶ月のウインドウ期間を設定しているが、異なるウインドウ期間を設定する理由の一つとして、使用キットの感度の差が挙げられる。IC 法は操作簡便で

感染機会から 1 ヶ月弱の事例

検査データ: ELISA (1) (+) 0.626/0.476  
 ELISA (2) (+) 3.107/0.178  
 PA法 (+) 128倍  
 IC法 (-)  
 WB法 HIV-1 (-), HIV-2 (-)  
 PCR (+) >7.5 × 10<sup>5</sup> copies/ml

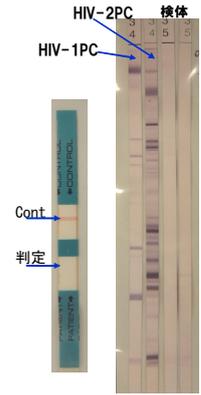


図 1 5. IC 法で陰性を示した HIV-1 感染初期例

あり、迅速な検査結果が得られるが、他の検査キットに比べて検出感度が低い傾向がある。図 15 の例は、感染機会から 1 ヶ月に満たない例で、ELISA 法では陽性であったが、IC 法は陰性であった事例である。この事例では、他社の ELISA 法、PA 法でも陽性であったが、WB 法では HIV-1 および HIV-2 についても陰性となった。そこで、RT-PCR 法により、HIV RNA の検出を試みた結果、 $7.5 \times 10^5$  copies/mL 以上の RNA 量が検出され、HIV 感染初期検体であることが明らかとなった。

以上のように、感染初期検体では IC 法で陽性とならない場合も存在することがあるため、感染初期を疑う症例の検査には、検査法の選択に十分に注意を払う必要がある。

## 7. 東京都における検査と解析

### 1) スクリーニング検査数の推移

東京都では、エイズ対策事業として 1987 年 2 月から保健所における HIV 検診事業を<sup>36)</sup>、1993 年から東京都南新宿検査・相談室における HIV 検診事業を開始した<sup>37)</sup>。

東京都における HIV 検査数は、諸外国における有名人の AIDS による死により、社会的に関心が高まったこともあり、1992 年には年間 30,000 件を超えたが、その後は年々減少し、12,000 ~ 13,000 件で推移していた<sup>38, 39)</sup>。

2001 年には厚生労働省の通知による C 型肝炎との同時検査の実施により<sup>40)</sup>、一時的に 17,000 件まで上昇したが、2002 年には再び年間の HIV 検査数は 2000 年とほぼ同じ件数になっていた<sup>41, 42)</sup>。

HIV 検査をさらに受けやすく、より効果的に実施する目的で、2003 年 4 月より、南新宿検査・相談室における土日検査を開始した (図 16)。土日検査を導入した 2003 年の翌年以降、年間 10,000 件を超えており、その内約 30% が、土日に検査を受診している<sup>41)</sup>。加えて、東京都健康安全研究センターで検査を実施する検体については、2004 年 9 月より、抗原抗体同時スクリーニング検査を導入し、感染してから検査が可能となる期間 (ウインドウ期) を 3 ヶ月から 2 ヶ月へ、1 ヶ月の短縮化を図った。さらに、2004 年 4 月から江戸川区の保健所、2005 年 4 月から

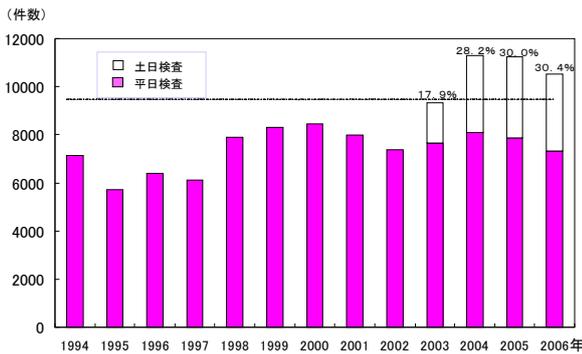


図 1 6. 南新宿検査・相談室における検査数の年次推移  
(土日検査導入による検体数の変化)

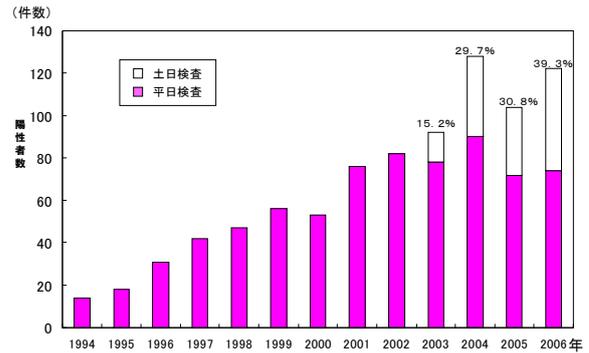


図 1 8. 南新宿検査・相談室における陽性数の年次推移  
(土日検査導入による検体数の変化)

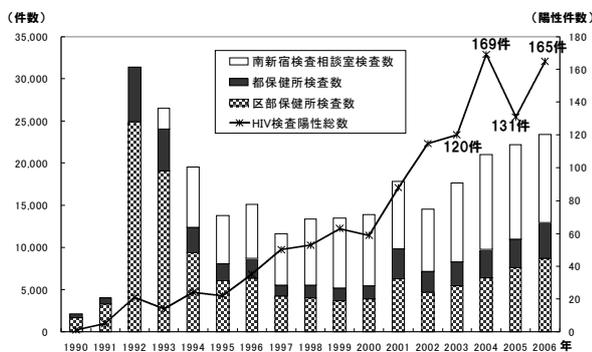


図 1 7. 東京都における HIV 検査と陽性数の推移

は多摩立川保健所および杉並区の保健所、2005 年 12 月からは台東区の保健所で即日検査を開始し、2007 年 4 月からは葛飾区、豊島区の保健所および八王子市の保健所においても、即日検査を実施している。そのような行政努力もあり、検査数については 2002 年以降、5 年間連続で増加している<sup>4,3)</sup>。

## 2) HIV検査陽性数の推移

1990 年以前には、年 1 例程度であった HIV 検査陽性例が、以降、年々増加し続けている<sup>3,6-4,3)</sup> (図 17, 18)。特に 1991～2000 年の 10 年間に於いて、年 5 例から 60 例に増加したのに対し、2000 年～2006 年の 7 年間では 60 例から 165 例に増加した。1991 年～2006 年までに、2 年連続して減少に転じたことはなく、未だに HIV 陽性数は増加傾向にある。感染症法により報告されている都内の HIV 感染者数と、保健所等の検査で陽性となった数を比べてみると、この 5 年間では東京都内の HIV 感染者の 40～50 % が保健所等の検査で見つかったことになる。

南新宿検査・相談室における HIV 検査陽性数は年々増加傾向にあり、図 18 に示すように、土日の陽性数の割合が増加する傾向にある。以上の結果から、東京都における HIV 検査数、HIV 陽性数共に、土日検査が有用であることを示唆している。一方、即日検査により陽性となった事

例は、2004 年 4 例、2005 年 8 例、2006 年 18 例と年々増加傾向にあることから、即日検査は、検査の簡便さのみならず、HIV 感染者の検出という面でも有用であることが示唆された。

## 3) 都内で検出されるサブタイプ

都内の保健所等の検査で 2004 年から 2006 年に、HIV-1 陽性となった 226 例より抽出した HIV の Reverse Transcriptase 領域を RT-nested-PCR 法により増幅後、塩基配列を決定し、分子系統樹解析によりサブタイプ分類を行った結果<sup>4,4)</sup>、214 例がサブタイプ B(94.7%)で、10 例(4.4%)が CRF01\_AE、2 例(0.9%)がサブタイプ C に分類された。東京都においては同性間の性的接触による感染者が 81 %を占め、異性間では 13 %を占めていることから<sup>2,6)</sup>、同性間の性的接触による感染はサブタイプ B による感染がほとんどで、それ以外の経路で CRF01\_AE またはサブタイプ C の感染が見られると推定された。

## 4) 都内で検出される薬剤耐性 HIV

2004～2006 年に都内保健所等の HIV 検査で陽性となった症例より検出された 226 例の HIV-1 において、逆転写酵素およびプロテアーゼ領域の遺伝子解析を実施した結果、T215D/E の変異が 6 例(2.7%)、V108I が 1 例(0.4%)に認められ、プロテアーゼ領域では、Major Mutation M46L が 2 例(0.9%)に認められた。このことから、保健所等の HIV 検査陽性例における薬剤耐性 HIV の出現率は 4.0%と算定された<sup>4,4)</sup>。しかしながら、薬剤による耐性変異は、通常、数カ所のアミノ酸に見られることが多いのに対し、解析結果では耐性変異を示すアミノ酸が一カ所のみ出現であることから、薬剤に起因した変異であるとは言い切ることができない。また、分子系統樹解析を行った結果では、T215D/E および M46L 共に同変異が検出された事例が極めて近隣にクラスタリングされたことから (図 19)、何らかの原因で T215D/E または M46L のような変異を有した HIV が、ある特定の集団内で感染が広がったと推察された。

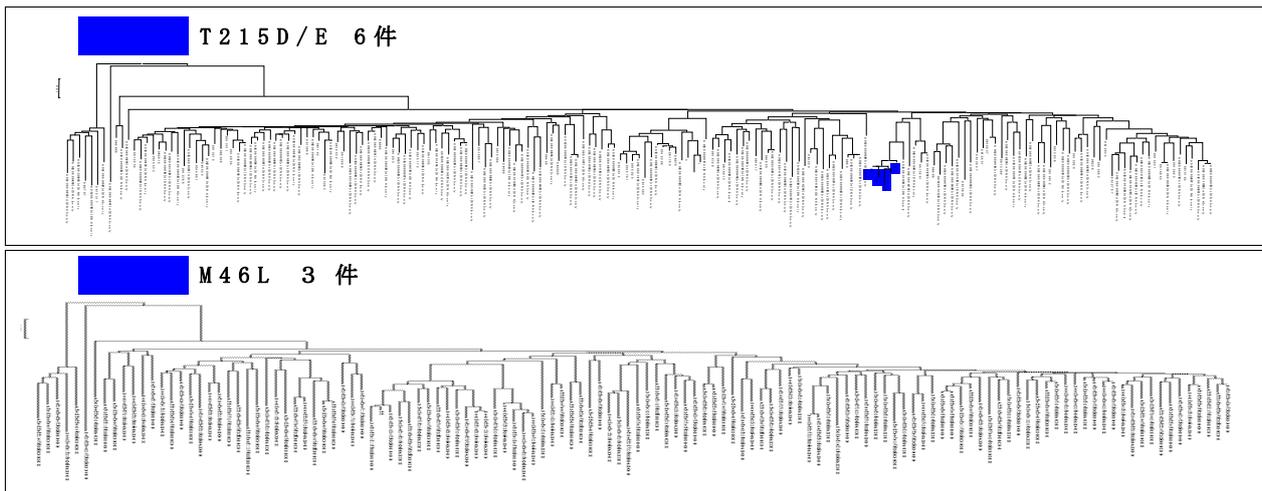


図19. 薬剤耐性変異の認められた検体の分子系統樹解析

以上の結果から考えて、HIV 感染症治療患者からの感染拡大は今のところないか、あってもごく僅かである。東京都においては、日本人男性の同性間の性的接触により、主としてサブタイプ B 型の HIV-1 が、本人が HIV に感染していることを知らずに、他者へと感染させている例が大部分であると推測される。

#### 8. おわりに

HIV-1 が最初に発見されてから、早 24 年が経過しようとしている。その間に多くの検査キットが開発され、ウィンドウ期間を過ぎれば、全国どこでも確実な検査ができるような体制が組まれるようになったといえる。

また、保健所、南新宿検査・相談室で実施されている無料匿名 HIV 検査は、毎日都内のどこかで実施されている。通常検査では検査結果が一週間で得られ、即日検査では、陰性の場合には 1 日で検査結果を告知できる体制も確立されている。

医療機関では HAART に代表される HIV 感染症治療が効果を上げており、決められた抗 HIV 薬を、決められた時間に正確に服薬することにより、少なくとも死なない病気へと変わってきている。

一方で、東京都では、HIV 感染者数は年々増加傾向を示し、2007 年には過去最高の HIV 感染者数が報告された。万全な HIV 検査法による検査体制は、検査における信用度を増加させてきたが、全体の感染者数の減少には結びつかず、特に、日本人男性の同性間性的接触による HIV 感染者数の増加はさらに加速されてきている。このままでは、HIV に感染した一部の人間のみならず、血液行政、薬事行政あるいは社会福祉の面からも、今後さらに深刻な状況になる可能性がある。

HIV 感染症は以前よりは死亡率が低くなったとはいえ、薬を飲み続けても治らない病気である。一方で、インフルエンザや麻疹のような、急性感染症のウイルスとは異なり、HIV は個人の努力により感染経路の遮断、感染予

防が可能な疾患である。

健康安全研究センターの使命として、検査の実施、検査精度を維持するのみならず、HIV の遺伝子解析データ等の解析を今後も行い、感染者数の減少へと結びつくような行政の施策に反映させるとともに、新たな HIV 感染者を減少させていくことこそが、任務であると考えられる。

#### 文 献

- 1) CDC, *MMWR*, June 5, **30**(21),1-3, 1981
- 2) CDC, *MMWR*, Sep. 24, **31**(37)507-508, 1982
- 3) Barre-Sinoussi, F., Chermann, J.C., Rey, F., *et al.*: *Science*, **220**,868-871, 1983
- 4) Gallo, R.C., Salahuddin, S.Z., Popovic, M., *et al.*: *Science*, **224**,500-503, 1984
- 5) Levy, J.A., Hoffman, A.D., Kramer, S.M., *et al.* : *Science*, **225**,840-842, 1984
- 6) Coffin, J., Haase, A., Levy, J.A., *et al.* : *Nature*, **321**,10, 1986
- 7) Guyader, M., Emerman, M., Sonigo, P., *et al.* : *Nature*, **326**, 662-669, 1987
- 8) 塩川優一：からだの科学，増刊，21-25，1994，日本評論社，東京
- 9) 池田恵理子：からだの科学，増刊，164-167，1994，日本評論社，東京
- 10) 厚生省保健医療局長通知“エイズ問題総合対策大綱”昭和 62 年 2 月 24 日健医感第 20 号（1987）
- 11) 厚生事務次官通知“後天性免疫不全症候群の予防に関する法律の施行について”平成元年 2 月 10 日厚生省発健医第 22 号（1989）
- 12) 厚生省保健医療・生活衛生局長通知“感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律”平成 11 年 3 月 19 日健医発第 452 号・生衛発第 434 号(1999)
- 13) エイズ動向委員会報告：<http://api-net.jfap.or.jp/htmls/fr>

ameset-03-02.html

- 14) 厚生労働省健康局結核感染症課長通知 “ 感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律第 12 条第 1 項及び第 14 条第 2 項に基づく基準等について ” 平成 18 年 3 月 8 日(2006)
- 15) Davis, CB., Dikic, I., Unutmaz, D., *et al.* : *J.Exp.Med.***186**,1793-1798, 1997
- 16) Perelson, AS., Neumann, AU., Markowitz, M., *et al.*: *Science*, **271**, 1582-1586, 1996
- 17) CDC, *MMWR*,**52**(No.RR-12),1-24,2003
- 18) Busch, MP., Lee, LL., Satten, GA.,*et al.* : *Transfusion*. **35**, 91-97, 1995
- 19) Schreiber, GB., Busch, MP., Kleinman, SH.,: *N Engl J Med*. **334**,1685-1690, 1996
- 20) Mellors, JW., Kingsley, LA., Rinaldo, CR Jr.,: *Ann Intern Med*. **122**, 573-579,1995
- 21) Mansky LM.:*J Gen Virol.*,**79**,1337-1345,1998
- 22) Robertson, DL., Anderson, JP., Bradac, JA., *et al.*: *Science*, **288**, 55-56, 2000
- 23) 貞升健志, 森 功次, 関根整治, 他 : 東京衛研年報, **49**, 29-32,1998
- 24) 貞升健志 : 東京都微生物検査情報, 話題提供, **23**, 2002
- 25) 鈴木ゆかり, 植田昌宏, 第 40 回日本臨床病理学会総会, 広島, 1993
- 26) 永川博義, 内海孝信, 草川 茂, 他 : 病原微生物検出情報, **27**, 343, 2006
- 27) 川畑拓也, 小島洋子, 森 治代, 他 : 病原微生物検出情報, **25**, 335, 2004
- 28) Finzi, D., Hermankova, M., Pierson, T., *et al.*: *Science*, **278**, 1295 -1300, 1997
- 29) Hachiya, A., Matsuoka-Aizawa, S.,Tsuchiya, K., *et al.* : *J.Virol.Methods*, **111**, 43-53, 2003
- 30) Johnson, VA.,Vrun-Vezinet, F.,Clotet, B., *et al.*: *Top.HIV Med*, **15**, 119-125, 2007
- 31) Shafer, R., Rhee, S., Pillay, D.,*et al.*: Stanford HIV Drug Resistance Database, <http://hivdb.stanford.edu>,2006
- 32) UNAIDS, AIDS epidemic update,December 2006, [http://www.unaids.org/en/HIV\\_data/epi2006/](http://www.unaids.org/en/HIV_data/epi2006/)
- 33) 東京都福祉保健局感染症対策課 AIDS News Letter, 2007 年 7 月臨時増刊号資料編
- 34) 貞升健志 : *Medical technology*,1392-1398,2003
- 35) *Wkly.Epidem.Rec.***65**, 281-283, 1990
- 36) 大貫奈穂美, 中村清純, 伊藤忠彦, 他 : 東京衛研年報, **39**, 43-48,1988
- 37) 森 功次, 貞升健志, 田部井由紀子, 他 : 東京衛研年報, **45**, 23-27,1994
- 38) 関根大正, 貞升健志, 大貫奈穂美, 他 : 東京衛研年報, **43**, 12-15,1992
- 39) 田部井由紀子, 貞升健志, 森 功次, 他 : 東京衛研年報, **46**, 37-40,1995
- 40) 貞升健志, 中村敦子, 森 功次, 他 : 東京衛研年報, **50**, 16-19,1999
- 41) 貞升健志, 山崎 清, 中村敦子, 他 : 東京衛研年報, **53**, 25-27,2002
- 42) 長島真美, 貞升健志, 新開敬行, 他 : 東京衛研年報, **56**, 41-44,2005
- 43) 吉田靖子, 貞升健志, 長島真美, 他 : 厚生労働省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班, 平成 18 年度研究報告書, 2007
- 44) 貞升健志, 長島真美, 新開敬行, 他 : 厚生労働省エイズ対策研究事業, 薬剤耐性 HIV の発生動向把握のための検査方法・調査体制確立に関する研究班, 平成 16 ~ 18 年度研究報告書, 2007

上記文献中の URL は, 2007 年 10 月 1 日現在のものであり, 変更または抹消の可能性がある.