

東京都のHIV検査におけるHIV-1陽性のWB法判定保留例または陰性例を用いた

HIV-1/2抗体確認検査法の有用性の検討

河上 麻美代^a, 山崎 貴子^b, 北村 有里恵^a, 浅倉 弘幸^a, 林 真輝^c, 永野 美由紀^a, 根岸 あかね^a, 矢尾板 優^a, 黒木 絢士郎^a, 磯貝 まや^a, 長谷川 道弥^a, 藤原 卓士^a, 鈴木 淳^d, 三宅 啓文^e, 長島 真美^a, 貞升 健志^e

HIV 検査は、スクリーニング検査と確認検査の 2 段階で実施されている。確認検査においては、既存法としてウエスタンブロット (WB) 法が使用されてきたが、2018 年 11 月にイムノクロマト (IC) 法を原理とした新たな抗体確認検査法 (以下、確認 IC 法) の試薬が我が国で体外診断用医薬品として承認された。また、2019 年 11 月に病原体検出マニュアルが、2020 年 6 月には「診療における HIV-1/2 感染症の診断ガイドライン 2020 版」が改訂され、確認検査が WB 法から確認 IC 法を用いる手順に変更になったことから、今後、検査現場での確認 IC 法の導入が進むと考えられる。今回、東京都健康安全研究センターにおいて、WB 法判定保留例または陰性例 (HIV 検査陽性) を用いて確認 IC 法の有用性の検討を行った。その結果、WB 法では HIV-1 陽性判定に至らなかった約 75% の検体が確認 IC 法により HIV-1 陽性となり、WB 法に代わる方法として確認 IC 法の使用は有用であることが確認された。

キーワード: ヒト免疫不全ウイルス、後天性免疫不全症候群、HIV 検査、抗体確認検査、確認 IC 法

はじめに

ヒト免疫不全ウイルス (Human Immunodeficiency Virus ; HIV) はレトロウイルス科レンチウイルス属に属する RNA ウイルスであり、後天性免疫不全症候群 (Acquired Immunodeficiency Syndrome ; AIDS) の病原体として知られている¹⁾。世界の HIV 感染者数は、2020 年の集計では約 3,770 万人、新規感染者数は約 150 万人と推定されている²⁾。日本では 2021 年に報告された新規 HIV 感染者数は 742 人であり、5 年連続の減少となった一方で、AIDS 患者数は 315 人であり、昨年よりも減少した。HIV 感染者と AIDS 患者を合わせた新規報告数は 1,057 件であり、新規報告数全体に占める AIDS 患者報告数の割合は、依然として約 3 割を占め、HIV 検査をさらに進める必要がある³⁾。

東京都では、保健所での HIV 検査事業の他に、1993 年 9 月に南新宿検査・相談室 (2021 年 3 月新宿東口検査・相談室に改名) を、2005 年 4 月に多摩地域検査・相談室を開設し、積極的な HIV 検査相談事業を行っている。

HIV 検査は、スクリーニング検査と確認検査の 2 段階で構成されている⁴⁾。HIV に感染後 6~8 週間は HIV 抗体産生量が充分でないため、抗体検査では判定できない「ウィンドウ期」が存在する。この場合、スクリーニング検査で陽性となり、確認検査を行った際に、ウエスタンブロット (WB) 法では抗体の検出が困難なケースが生じ、核酸増幅検査 (NAT 法) を実施し、最終判定を行っている。

2018 年 11 月、WB 法に代わるイムノクロマト (IC) 法を原理とした新たな抗体確認検査法 (以下、確認 IC 法) の試薬が我が国で体外診断用医薬品として承認された。また、2019 年 11 月には病原体検出マニュアル (国立感染症研究所)⁴⁾が、2020 年 6 月には「診療における HIV-1/2 感染症の診断ガイドライン 2020 版」⁵⁾が改訂され、確認検査が WB 法から確認 IC 法を用いる手順に変更になった。さらに、2022 年 6 月末に WB 法の試薬が販売終了となることを契機に、検査現場での確認 IC 法の導入が進むことが想定される。今回、東京都健康安全研究センター (以下、健安研) においても、HIV-1 陽性の WB 法判定保留例または陰性例を用いて確認 IC 法の有用性の検討を行ったので報告する。

実験方法

1. 供試材料

2019 年 1 月から 2021 年 4 月に都内の公的 HIV 検査機関で採血された検体において、健安研の二次スクリーニング検査で HIV 陰性となった 19 検体および、確認検査で HIV-1 陽性となった 109 検体 (WB 法陽性 74, WB 法判定保留 : 29, WB 法陰性 : 6) を供試材料とした。

2. 測定方法

1) 東京都健康安全研究センターでの HIV 通常検査

健安研では病原体検出マニュアル⁴⁾を踏まえ、図 1 に示

^a 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

^b 東京都健康安全研究センター薬事環境科学部環境衛生研究科

^c 東京都健康安全研究センター食品科学部食品添加物研究科

^d 東京都健康安全研究センター微生物部病原細菌研究科

^e 東京都健康安全研究センター微生物部

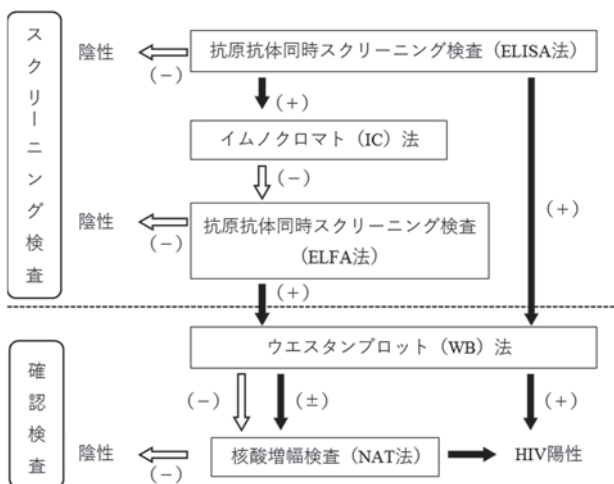


図 1. 東京都健康安全研究センターにおける HIV 検査プロトコール

す検査フローチャートに従いHIV検査を実施している。まず、ELISA法試薬（ジェンスクリーンHIV Ag-Ab ULT：バイオラッド）により一次スクリーニング検査を実施し、陽性の場合、補助的検査としてIC法（ダイナスクリーン・HIV Combo：アボット ダイアグノスティクス メディカル）を行った。IC法陰性の場合、感染初期または一次スクリーニング検査の偽陽性の可能性があるため、ELFA法試薬（バイダスアッセイキットHIVデュオII：バイオメリュー・ジャパン）による二次スクリーニング検査を実施した。二次スクリーニング検査が陰性の場合には、スクリーニング検査陰性と判定し、陽性の場合には確認検査を行った。確認検査はWB法（ラブ・ブロット1およびラブ・ブロット2：バイオラッド）を実施し、WB法にて判定保留または陰性となった検体についてNAT法（コバスTaqMan HIV-1「オート」：ロシュ・ダイアグノスティクス社〔～2020年6月〕／Virus test kit：タカラバイオ〔2020年7月～〕、リアルタイムPCR機器：QuantStudio™ 12K Flex（Thermo Fisher Scientific））を行い、陽性になった検体をHIV検査陽性とした。

2) 抗体確認検査

確認 IC 法（Geenius HIV 1/2 キット：バイオラッド）を用い、添付文書に従って検査を実施した。血清 5 μL をウェル 1 の中央に滴下した後、緩衝液 2 滴をウェル 1 に滴下した。5 分静置後、緩衝液 5 滴をウェル 2 に滴下し、20 分

表 1. 確認 IC 法の検出バンド

バンド	名称	遺伝子	型
1	gp36	ENV	HIV-2
2	gp140	ENV	HIV-2
3	p31	POL	HIV-1
4	gp160	ENV	HIV-1
5	p24	GAG	HIV-1
6	gp41	ENV	HIV-1

静置した。コントロールラインを確認した後、専用機器のリーダーを使用し、結果を判定した。検出バンドの名称について表 1 に示す。HIV-1 陽性の判定基準は、バンド 3, 4, 5, 6 のうち、バンド 4 または 6 のいずれかを含む 2 本以上のバンドを検出した場合であり、バンド 3, 4, 5, 6 のいずれのバンドも見られない場合は陰性、それ以外の場合は判定保留である。また、HIV-2 陽性の判定基準は、バンド 1, 2 のうち全てのバンドを検出した場合であり、バンド 1, 2 いずれのバンドも見られない場合は陰性、それ以外の場合は判定保留とした。

結果と考察

1. スクリーニング検査陰性検体とWB法陽性検体の確認IC法の測定結果

一次スクリーニング検査陽性かつ、IC法陰性、二次スクリーニング検査陰性により最終的にHIV陰性となった検体 19 件について確認IC法を実施した結果、19 件全てにおいていずれのバンドも検出されず、HIV陰性と判定された。また、WB法によりHIV-1陽性となった検体 74 件に対して確認IC法を実施した結果、74 件全てHIV-1陽性となった。バンドの検出パターンを比較した結果、すべての検出パターンにおいて、HIV-1陽性判定に必要なバンド 4（gp160）とバンド 6（gp41）の両方のバンドが検出されていた（表 2）。

表 2. WB 法陽性例における確認 IC 法検出バンドパターン (n=74)

検出 パターン	検体数	確認IC法	HIV-2		HIV-1			
			1(gp36)	2(gp140)	3(p31)	4(gp160)	5(p24)	6(gp41)
1	27	+	N.D.	N.D.	○	○	○	○
2	20	+	N.D.	N.D.	○	○	N.D.	○
3	14	+	N.D.	N.D.	N.D.	○	N.D.	○
4	13	+	N.D.	N.D.	N.D.	○	○	○

N.D.= Not Detected

2. WB法判定保留または陰性となりNAT検査によりHIV-1陽性となった検体の確認IC法の測定結果

スクリーニング検査陽性かつWB法判定保留、NAT検査陽性によりHIV-1陽性となった検体 29 件を対象に確認IC法を実施した結果、25 件（86.2%）が確認IC法でHIV-1陽性となった。25 件のバンドの検出パターンは、WB法陽性例

表 3. WB 法判定保留例における確認 IC 法検出バンドパターン (n=29)

検出 パターン	検体数	確認IC法	HIV-2		HIV-1			
			1(gp36)	2(gp140)	3(p31)	4(gp160)	5(p24)	6(gp41)
1	3	+	N.D.	N.D.	○	○	○	○
2	1	+	N.D.	N.D.	○	○	N.D.	○
3	9	+	N.D.	N.D.	N.D.	○	N.D.	○
4	12	+	N.D.	N.D.	N.D.	○	○	○
5	1	±	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	○
6	3	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D.= Not Detected

表 4. WB 法判定保留例における確認 IC 法の測定結果 (n=4)

検体番号	性別	年齢	WB法 (HIV-1)	WB法 (HIV-2)	NAT検査	遺伝子量 (copies/mL)	確認IC法	HIV-2		HIV-1			
								1(gp36)	2(gp140)	3(p31)	4(gp160)	5(p24)	6(gp41)
1	M	26	±	±	+	1.68E+04	±	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	○
2	M	39	±	±	+	4.53E+07	—	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
3	M	21	±	—	+	1.93E+05	—	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
4	M	27	±	±	+	3.11E+07	—	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D.= Not Detected

表 5. WB 法陰性例における確認 IC 法の測定結果 (n=6)

検体番号	性別	年齢	WB法 (HIV-1)	WB法 (HIV-2)	NAT検査	遺伝子量 (copies/mL)	確認IC法	HIV-2		HIV-1			
								1(gp36)	2(gp140)	3(p31)	4(gp160)	5(p24)	6(gp41)
5	M	38	—	—	+	6.90E+04	+	N.D.	N.D.	N.D.	○	N.D.	○
6	M	30	—	—	+	8.11E+05	±	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	○
7	M	29	—	—	+	4.97E+05	—	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
8	M	20s	—	—	+	2.90E+06	—	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
9	M	32	—	—	+	3.61E+06	—	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
10	M	28	—	—	+	1.69E+05	—	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D.= Not Detected

における確認IC法検出バンドパターン（表2）と類似していた（表3）。WB法では、バンドの検出パターンによりHIV感染初期を推定することができていたが、確認IC法ではバンド検出パターンに特徴的な差異が認められず、バンド検出パターンによりWB法と同程度のHIV感染初期を推定することは困難であると考えられた。

一方で、1件はバンド6（gp41）のみの検出でHIV-1判定保留となり、3件はバンドが検出されずHIV陰性となった。このことから、29件中4件（13.8%）は確認IC法でHIV-1陽性と確定されず、いわゆる感染初期例となり、NAT検査が必要になった（表4）。確認IC法で確定されなかった4検体の遺伝子量は、NAT検査の結果、 $10^4 \sim 10^7$ copies/mLであり、感染初期の検体であることが推定された。よって、ある一定の感染初期の検体に対しては確認IC法では確定できず、NAT検査が必要になる場合があることが示唆された。

次に、スクリーニング検査陽性かつWB法陰性、NAT検査陽性によりHIV-1陽性となった検体6件を対象に確認IC法を実施した。その結果、1件（16.7%）はバンド4（gp160）とバンド6（gp41）が検出され、HIV-1陽性となったが、1件はバンド6（gp41）のみ検出され判定保留となり、4件は陰性であった（表5）。このことから、6件中5件（83.3%）は確認IC法でHIV-1陽性と確定されず、NAT検査が必要になる検体であった。

以上のことから、WB法ではHIV-1と判定されなかったHIV-1陽性検体35件中9件（25.7%）は確認IC法ではHIV-1と判定できずNAT検査が必要になるが、26件（74.3%）は確認IC法でHIV-1と判定された。全体では109件中100件（91.7%）が確認IC法によりHIV-1陽性と判定された。

Kondoらの報告⁶⁾では、WB法により判定保留であった感染初期検体13例中7例が陽性（6例は判定保留）でWB法に比べ高感度であり、陰性血清を用いた特異性も98.5%とWB法（HIV-1：81.5%，HIV-2：90.0%）と比べて高く、非特異反応も少ないことから、WB法より多くの点で優れているとしている。今回の検討においても、WB法で陽性とならなかった検体の74.3%，検討に用いた検体の91.7%がNAT検査を経ることなくHIV-1陽性と判定することができ、確認IC法の有用性が示された。

既存法のWB法は特異性が高く、HIV-1とHIV-2の抗体の検出が可能であり、確認検査として重要な検査法である反面、約3時間30分の検査時間を要すること、交差反応が生じやすく、目視による結果判定のために判定に苦慮する場合があるといった課題があった。確認IC法はイムノクロマト法の原理を用いており、WB法と比較して作業時間が短く、約30分で検査が実施できる。さらに、専用リーダーの使用により自動で結果判定が行われ、検査結果を電子データとして残すことができるため、精度管理の観点からも有用である。以上のことから、確認IC法はWB

法よりも高感度であり、判定が容易である。また、作業が簡便で検査時間が短いことから、保健所等の採血現場でも確認検査の実施が可能であり、HIV 検査相談事業の拡充に繋がる可能性がある。

自治体が実施する保健所等における HIV 検査実施件数は、2020 年は 68,998 件（前年 142,260 件）であり、前年の検査数の約 49%と大きく減少したが⁷⁾、2021 年は 58,172 件とさらに減少し、過去 20 年間で最も少ない検査数であった³⁾。この検査数の減少は 2019 年に発生した新型コロナウイルス感染症の流行による HIV 検査の受検機会の減少や受検控えが要因として考えられる。しかし、HIV 感染者の早期発見および、HIV 感染蔓延防止のためにも、検査受検者に対し、より負担が少なく効率的な検査を提供できるように検査体制を再検討していく必要があると考える。

ま と め

新たな抗体確認検査法試薬の有用性を検討した。既存法の WB 法で HIV-1 陽性と確定できなかった検体の約 75%が確認 IC 法で HIV-1 と判定された。確認 IC 法を用いて確認検査を実施した場合、既存法の WB 法と比較して、NAT 検査を経ることなく HIV-1 陽性と判定される検体が増加することが示された。よって、WB 法に代わる方法として確認 IC 法の使用は有用であることが確認された。

文 献

- 1) 国立感染症研究所：AIDS（後天性免疫不全症候群）とは、
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/400-aids-intro.html>（2022 年 7 月 15 日現在。なお本 URL は変更または抹消の可能性がある）
- 2) UNAIDS FACT SHEET 2021:
<https://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet>（2022 年 7 月 15 日現在。なお本 URL は変更または抹消の可能性がある）
- 3) 厚生労働省エイズ動向委員会：令和 3（2021）年エイズ発生動向年報、
<https://api-net.jfap.or.jp/status/japan/nenpo.html>（2022 年 8 月 15 日現在。なお本 URL は変更または抹消の可能性がある）
- 4) 病原体検出マニュアル 後天性免疫不全症候群（エイズ）/HIV 感染症（2019 年 11 月改訂）：国立感染症研究所 <https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/HIV20191122.pdf>（2022 年 7 月 15 日現在。なお本 URL は変更または抹消の可能性がある）
- 5) 松下修三，村上正巳：日本エイズ学会誌，**23**，39–43，2021.
- 6) Kondo, M., Sudo, K., Sano, T., *et al.* : PLoS One, **13**, e0198924, 2018.
- 7) 厚生労働省エイズ動向委員会：令和 2（2020）年エイズ発生動向年報，

<https://api-net.jfap.or.jp/status/japan/data/2020/nenpo/coment.pdf>（2022 年 7 月 15 日現在。なお本 URL は変更または抹消の可能性がある）

Evaluation of HIV-1/2 antibody confirmation test in HIV-1-positive cases in Tokyo with indeterminate or negative Western blot results

Mamiyo KAWAKAMI^a, Takako YAMAZAKI^a, Yurie KITAMURA^a, Hiroyuki ASAKURA^a, Masaki HAYASHI^a, Miyuki NAGANO^a, Akane NEGISHI^a, Yu YAOITA^a, Kenshirou KUROKI^a, Maya ISOGAI^a, Michiya HASEGAWA^a, Takushi FUJIWARA^a, Jun SUZUKI^a, Hirofumi MIYAKE^a, Mami NAGASHIMA^a, and Kenji SADAMASU^a

HIV testing is conducted in two stages: screening and confirmation testing. Western blot (WB) is a standard test used in the confirmation testing stage; however, a new antibody confirmation test based on the immunochromatographic (IC) method (confirmation-IC method) was approved as an in vitro diagnostic assay in November 2018 in Japan. Additionally, the Pathogen Detection Manual and “Guidelines for the Diagnosis of HIV-1/2 Infection in Clinical Practice” were revised in November 2019 and June 2020, respectively. In the revised guidelines, WB was replaced with confirmation-IC method as the confirmatory test for HIV. The confirmation-IC method is expected to gain more prominence in the future. In this study, we examined the effectiveness of the confirmation-IC method in detecting HIV-1 in the patients who presented to the Tokyo Metropolitan Institute of Public Health with indeterminate or negative WB results.

It was found that confirmation-IC method could detect HIV-1 in approximately 75% patients that were tested negative by WB method. Therefore, it is evident that the confirmation-IC method can be a potential alternative to WB.

Keywords: human immunodeficiency virus, acquired immunodeficiency syndrome, HIV testing, antibody confirmation test, confirmation-IC method

^a Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan