

乾燥濾紙血液による妊婦抗 HIV 抗体スクリーニングの検討

本間 かおり 三上 篤 福士 勝 佐藤 勇次
藤田 晃三 後藤 史郎^{*1} 藤本 征一郎^{*2}

要 旨

妊婦を対象とした乾燥濾紙血液による抗 HIV 抗体マス・スクリーニングの有用性を検討した。乾燥濾紙血液による検査は血清による検査とよい相関を示し、再現性・保存安定性とも良好であった。2 年半にわたるのべ 31,257 人のスクリーニングの結果、疑陽性が 2 例あったが確認検査では陰性であった。このような陽性率の低い状況では、妊婦全員を対象にするよりも検査が必要と思われる妊婦のみを対象とした検査が有用と考えられた。

1. 緒 言

厚生省 HIV 感染データベースによると、1998 年度までの日本の HIV 母子感染率は約 0.5% と高くはないものの、女性感染者の 90% 以上が 30 代以下であることから、エイズの蔓延を阻止するためには母子感染の予防は重要な課題である。特に、感染者本人が感染している事に気付かずにいる場合が少なくないため、妊娠初期の HIV 抗体検査で感染の有無を確認しておくことが予防対策の上で重要である。青森県、千葉県ほかいくつかの自治体では公費により全ての妊婦に検査を勧める体制がとられている。

そこで札幌市内の妊婦を対象とした抗 HIV 抗体スクリーニング検査の有用性を検討するために、札幌市産婦人科医師会との共同研究として、妊婦を対象とした HIV 抗体スクリーニングを試験的に施行した。また、スクリーニング実施に先立ち、スクリーニング検査に有利な乾燥濾紙血液 (dried blood sample, 以下 DBS) を用いた抗 HIV 抗体検査法を確立したので、合わせて報告する。

2. 方 法

2-1 抗 HIV 抗体測定法の検討

セロディア HIV またはジュネディア HIV / ミックス(富士レビオ社製)のゼラチン粒子凝集反応(PA法)キットを用いた。DBS 直径 4.5mm ディスク 2 枚を平底マイクロプレートにパンチし、キット添付の希釈液 80 μ l を加え、室温で 3 時間振盪(または、4 にて一晚静置)して溶出したものを血清 8 倍希釈液とした。添付書に従って血清による測定と同様の操作を行ない、32 倍希釈で凝集を示すものを陽性とした。

DBS 中の HIV 抗体測定の信頼性を評価するため、キット添付の陽性血清とそれを 2, 4, 8 倍希釈して作成した内部精度管理用血清及び Boston Biomedica Inc(BBI)の市販抗 HIV セロコンバージョンパネル(パネル Q・V)血清それぞれについて同容量の洗浄血球を加えて DBS を調製し、血清法と DBS 法の相関、DBS 法の再現性を検討した。また、温度による安定性と保存時の密閉状態の効果を調べるために、内部精度管理用 DBS について、チャッ

^{*1} 札幌市産婦人科医会

^{*2} 北海道大学医学部産婦人科

ク付のビニール袋に入れ、チャックをして完全に密封したものと、チャックをしない開封状態のもの2種類ずつ用意し、それぞれを4、25、37で保存し、抗体価の変化を調べた。

2-2 スクリーニングの実施

(1) 期間と対象

1995年9月から1998年3月までの2年7ヶ月をスクリーニング実施期間とした。検査を勧奨するために札幌市産婦人科医会では検査案内用のポスターおよびパンフレットを作成した。産科医療機関においてはこれらを活用して妊娠初期の妊婦に対して主治医が検査の趣旨、方法、取り扱いに関する十分な説明を行なう事とし、その上で検査に同意して検査申込書に署名した妊婦をスクリーニング検査の対象とした。

(2) スクリーニングシステム

採血には新生児スクリーニングに用いられている濾紙と同じ品質のもの(東洋濾紙 No.545)を用い、プライバシー保護の徹底のため、病院名、採血日および病院で被検妊婦を特定できる検査番号の3項目のみを記載する専用のものを作成し、当所における検査を完全に匿名で行なった。産科医療機関はこ

表1. 血清法とDBS法の相関

		血清法測定値	DBS測定値
Panel Q	PRB917-01	<32	<32
	PRB917-02	<32	<32
	PRB917-03	<32	<32
	PRB917-04	× 64	× 32
	PRB917-05	× 4096	× 4096
	PRB917-06	× 4096	× 4096
	PRB917-07	× 4096	× 4096
Panel V	PRB922-01	<32	<32
	PRB922-02	<2048	<2048
	PRB922-03	>8192	>8192
	PRB922-04	>8192	>8192
内部管理用血清及びDBS	(× 1)	× 128	× 128
	(× 2)	× 64	× 64
	(× 4)	× 32	× 32
	(× 8)	<32	<32

の濾紙に採血し、検査機関である当所へ郵送した。検査結果は、陽性の場合のみ各医療機関での検査番号で主治医に対して親展により郵送することとした。スクリーニング陽性例は産婦人科医会の「妊婦HIV抗体検査の指針」に基づき主治医の医療機関で血清による確認検査を行ない、再度陽性の場合十分な説明を行なってHIV感染妊婦受入機関の北海道大学産婦人科、札幌医科大学産婦人科を紹介する事にした。

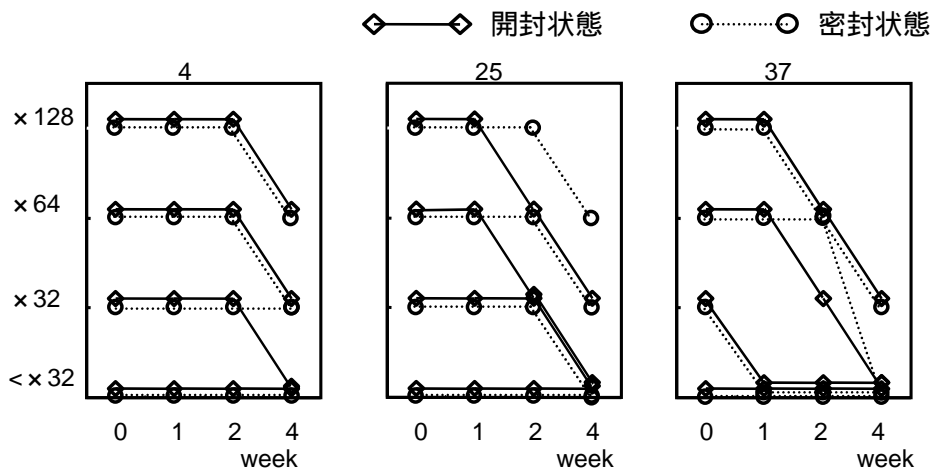


図1 温度による安定性と密封効果

3. 結果

3-1 DBS 測定法の検討

(1) 血清法との相関

キット添付陽性血清から作成した内部精度管理用血清とセロコンバージョンパネル血清の合計 15 検体と、これに同容量の濃厚赤血球を添加して作成した DBS との抗体価は完全に一致した。(表 1)

(2) 再現性と保存安定性

キット添付陽性血清から作成した内部精度管理用 DBS を 4 ヶ月間 20 回にわたり測定した結果、 ± 1 管差以上の抗体価の変動を認めなかった。

温度による安定性と保存時の密閉状態の効果を知る試験では、濾紙を密封した状態では 4、25 とも 2 週間後まで抗体価の変動が見られず、開封した状態でも 4 保存では同じ結果であった。37 では密封・開封ともに 1 週間後には抗体価の低下が認められた。(図 1)

3-2 スクリーニング結果

(1) 検査結果

札幌市産婦人科医会に所属する産科医療機関 89 施設のうち 46 施設が本研究に参加し、計 31,257 人の妊婦が受検した。このうち 2 例が定性試験で陽性となり、希釈試験で抗体価 32 倍を示したが、医療機関での確認検査では陰性であり、最終的に陽性者はいなかった。また、ゼラチン粒子に HIV 抗原が感作されていない未感作粒子でも凝集を示す非特異

凝集例が 14 例あったが、未感作粒子により非特異的凝集素を除く吸収操作後は凝集が見られず全て陰性と確認された。(表 2)

(2) スクリーニング受検率

検査に参加した施設のなかには分娩を行わない施設もあったため、受検率の計算にあたっては、年間の分娩数が 30 以上の 34 施設を対象にした。1997 年度出生数に対する 1996 年度の妊婦 HIV 検査数の比により概算したスクリーニングの受検率は、約 88%であった。医療機関ごとの受検率が 1%から 100%まで大きな開きがみられたため、各医療機関において妊婦に対して検査の勧奨の方法に差があるものと考えられた。そこでこれら 34 医療機関を対象にアンケート調査を行なったところ、受診する全妊婦に積極的に受検を勧めていたところが 22 施設あり、このうち半分の 11 施設では 100%の受検率であった。一方、ポスターを掲示したのみ、あるいはパンフレットを配布したのみで積極的な受検の勧奨を行わなかったとの解答が 3 施設あり、このうち 1 施設は 12%、2 施設では 1%の受検率であった。

4. 考察

DBS による検査は、検体の採取や輸送が容易であり、血中のアミノ酸、ホルモン、抗体等の保存安定性にも優れていることから、新生児を対象とした先天性代謝異常症検査等のマス・スクリーニングに広く用いられている。札幌市では、DBS を妊婦甲状腺機能検査にも応用し、妊婦の甲状腺機能異常症の早

表2 乾燥濾紙血液による妊婦HIV抗体測定成績

使用キット	期間	検査数	未感作粒子で陽性例	疑陽性例	2次検査陽性例
セロディアHIV	1995年9月～1996年3月	7,133	4	0	0
ジューネディアHIV-1/2ミックスPA	1996年4月～1997年3月	11,770	0	1	0
	1997年4月～1998年3月	12,354	10	1	0
合計		31,257	14	2	0

未感作粒子で陽性: 未感作粒子・感作粒子の両者に凝集、未感作粒子で吸収後凝集なし
疑陽性: 乾燥濾紙血液法で陽性
2次検査: 病院での血清による確認検査 (ELISA, ウェスタンブロット法)

期発見と、産後の甲状腺機能異常の予知に大きな成果をあげてきた¹⁾。今回の研究では、DBSによる抗HIV抗体の測定と血清による方法との間により相関が認められ、再現性・保存安定性も良好であることが示された。

妊娠初期の抗HIV抗体検査は母子感染・医療従事者への感染の対策上重要であり、すべての妊婦を対象としたマス・スクリーニングの必要性も指摘されている²⁾。今回、札幌市内の産科医療機関を受診する妊婦を対象にしたマス・スクリーニングを試験的に行なった。この実施にあたっては、主治医が積極的に勧奨する施設と、単にポスター掲示・パンフレットの配布のみで積極的な勧奨を行なわなかった施設とがあり、受検率は施設により大きな差異が見られたが、主治医が積極的に受検を勧めた場合は多くの妊婦がこの検査に関心を示したと考えられる。ただし、その後行なったアンケートの調査結果をみると、この検査に対する妊婦の負担が無料であったことが、この検査を受けた大きな要因の1つと考えられた。

厚生省 HIV の疫学と対策に関する研究班は、妊婦の大集団に出産前 HIV 検査を一律に実施する場合の利益と損失を推計した結果、HIV 抗体陽性率の低い地域での検査は一律に実施するものではなく、必要と思われる症例に対してのみ実施すべきである

と報告している³⁾。札幌市の妊婦を対象にして2年半にわたって行なった今回のスクリーニングでは、3万人の中に感染者は発見されなかった。このような、抗体陽性率の低い札幌市の現状では、HIV 母子感染防止対策として、妊婦全員に一律に検査を実施するよりも、検査が必要と思われる妊婦に対してのみ検査を選択的に行なう方が有用と考えられる。

謝辞：本研究の一部は「おぎゃあ献金研究補助金」の助成によって行なった。また、本研究に資材の一部のご供与をいただきました富士レビオ(株)、東洋濾紙(株)ならびに北海道赤十字血液センターに深謝致します。

6. 文 献

- 1) 本間かおり, 三上 篤, 福士 勝 他: 札幌市における妊婦甲状腺機能スクリーニング, 日本マス・スクリーニング学会誌, 7, 19-26, 1997.
- 2) 石渡 勇, 石渡千恵子, 岡根夏美: 周産期医学, 27, 377-388, 1997.
- 3) 森尾真介, 曾田研二, 鎌倉光宏 他: 厚生省 HIV の疫学と対策に関する研究平成8年度報告書「妊婦に対する HIV 抗体検査の効果評価研究」, 49-55, 1996.

Screening for Anti-HIV Antibody in Dried Blood Samples from Pregnant Women

Kaori Honma, Atsushi Mikami, Masaru Fukushi, Yuji Sato,
Kozo Fujita, Shiro Goto*¹, Seiichiro Fujimoto*²

A pilot screening for anti HIV antibody was carried out from September 1995 to March 1998, targeting pregnant women in Sapporo City. We measured the titer of anti-HIV antibody in dried blood samples on filter paper by particle agglutination method. Of 31,257 screened, no positive case was detected over the period. We concluded that selective screening for high-risk womens would be more profitable than mass screening for all pregnant women in Sapporo.

*1 Sapporo Medical Association of Obstetrics

*2 Department of Obstetrics, Hokkaido University School of Medicine