

## HIV 感染症の臨床検査

土志田健 山下幸作

**要旨** HIV 感染症に関する臨床検査を分類すると、1. HIV 感染の有無を決定する検査（抗体スクリーニング検査・確認検査）、2. 臨床経過を評価する検査（HIV-RNA 定量・CD4 陽性リンパ球・薬剤感受性検査）、3. 病態進行にともなう日和見感染症の検査（カンジダ症・クリプトコッカス症・ニューモシスチス肺炎・トキソプラズマ脳症・サイトメガロウイルス感染症など）の3つに大別することができ、それぞれの検査方法について概説した。

HIV 感染症では、治療開始時期が病気の予後に大きく影響を与える。臨床検査技師は検査のプロフェッショナルとして各検査方法の特性を十分に理解するとともに、より精度の高い結果を迅速に報告できる検査方法を積極的に採用する体制を確立する必要がある。また、患者の病態把握や検査結果の検証など臨床との連携を密にし、チーム医療の一員として診療を支援することが大切である。

（キーワード：HIV 感染症，AIDS，臨床検査）

### LABORATORY TEST FOR HIV INFECTION

Takeshi TOSHIDA and Kousaku YAMASHITA

（Key Words：HIV infection, AIDS, laboratory test）

HIV 感染症は4つの病期を経て免疫機能が徐々に低下する疾患であり、感染初期（急性期）はウイルスの急激な増加によりインフルエンザ様の症状を呈することもありますが数週間で改善する。その後の無症候性キャリア（AC）asymptomatic carrier 期は半年から数十年間無症状で経過するが、ウイルスは増殖しておりCD4陽性リンパ球に感染するため免疫機能は次第に低下する。さらに病態の進行にともなって細胞性免疫不全が顕著になると、AIDS発症の危険性が高くなるAIDS関連症候群（ARC）AIDS related complex 期へ移行し、AIDS診断基準を満たす日和見感染症などを併発した時点でAIDS発症（AIDS期）という経過をたどる。

エイズ動向委員会の報告によると、1985年以降の血液凝固因子製剤による感染例を除いた累積報告件数はHIV感染者6,560件、AIDS患者3,277件となっている。2004年の1年間の報告ではHIV感染者780件、AIDS患者385件と年々増加傾向にある。地域別の報告状況を見ると、東京を中心とした関東甲信越が大半を占め、近畿

をはじめとした多くの地域においても感染の拡大傾向がみられる（[http://api-net.jfap.or.jp/mhw/survey/mhw\\_survey.htm](http://api-net.jfap.or.jp/mhw/survey/mhw_survey.htm) 参照）。

HIV 感染症の臨床検査としては、1. 感染の有無を決定する検査、2. HIV 感染症の臨床経過を評価する検査、3. 病態進行にともなう日和見感染症検査の3つに大別できる。またHIV感染者の増加にともない、これらの検査は今や特別なものではなくなっている。とくに日和見感染症の検査に関しては、発症したことでHIV感染が判明する症例が増加していることから、エイズ拠点病院に限らずどここの施設においても高い精度の検査結果を迅速に報告し、診療を支援することが重要であると考えられる。

### HIV 感染症に関連する臨床検査

1. HIV 感染の有無を決定する検査

1) 抗体スクリーニング検査

HIV 抗体スクリーニング検査にはゼラチン粒子凝集

国立国際医療センター 臨床検査部  
別刷請求先 土志田健 国立国際医療センター 臨床検査部  
〒162-0855 東京都新宿区戸山1-21-1  
（平成17年9月29日受付）  
（平成17年11月18日受理）

(PA) 法, 酵素抗体 (ELISA) 法およびイムノクロマトグラフ法があり, HIV-1 および HIV-2 抗体の検出が可能となっている。また, HIV-1・HIV-2 抗体および HIV-p24抗原を同時に検出する方法もあり, 感染しているにも関わらず抗体が検出できない期間 (window period) が短縮されている<sup>1)</sup>。さらに HIV 感染者の場合, 病態が進行している状態では抗体が産生されず偽陰性となる場合があるので注意する必要がある。

HIV 抗体スクリーニング検査では方法により 0.3-1% 程度の偽陽性がある<sup>2)</sup>。そのため, HIV 感染を確定するにはさらに精度の高い確認検査を行わなければならない (図 1)。

2) 確認検査

確認検査には western blot (WB) 法, immunoflorescence assay (IFA) 法および HIV-RNA 定量などがある。それらの中で WB 法が多く施設で実施されている。WB 法は HIV の特異的タンパク構造に対する抗体の存在を調べる方法であり, 特異バンド 3 つのうち 2 つ以上が認められた場合は陽性, 認められなかった場合は陰性, 1 つしか認められなかった場合は判定保留とする。判定保留となった場合は 1-3 ヶ月後に再検査を行う必要がある。

2. HIV 感染症の臨床経過を評価する検査

1) ウイルス定量検査

HIV のウイルス量を知ることは病気の進行状態を把握するほか, 治療効果を判定する上で必要不可欠となる。

検査法としては HIV-RNA を定量する「アンプリコア HIV-1 モニター」が多く施設で使用されている。本検査には標準法 (HIM) と高感度法 (HIS) があり, 標準法の測定範囲が 400-750, 000 コピー/ml に対し高感度法は 50-100, 000 コピー/ml となっているため, 患者のウイルス量によって使い分けが必要となる場合がある。

ウイルス定量検査では, 結果が検出感度以下でも血中にウイルスが存在しないことにはならないので注意しなければならない。また, 測定誤差も 1/3 から 3 倍程度あるため判定には変動を考慮する必要がある<sup>2)</sup>。

2) CD4 陽性リンパ球

CD4 陽性リンパ球数は HIV 感染患者の免疫状態を知る指標として重要であり, 日和見感染症の発症を予測することが可能となる。しかし, CD4 陽性リンパ球数は変動が激しいため数回検査を行って判断する必要がある<sup>2)</sup>。

検査法としては CD4・CD8 を染色してフローサイトメトリーにより測定する方法がとられている。従来は CD4・CD8 を 2color 法で測定していたが, 現在は CD45 (白血球共通抗原) と CD3 (成熟 T 細胞特異抗原) でゲートをかけて CD4%, CD8%, CD4 絶対数を測定する 4color 法

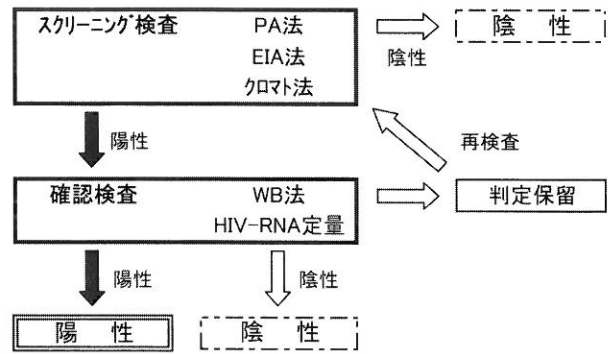


図 1 HIV 感染検査の流れ

に移行しており, コストの削減と検査者の感染機会の減少も同時に図られている<sup>3)</sup>。

3) 薬剤耐性検査および感受性検査

薬剤感受性または耐性検査は抗 HIV 療法の効果を知る上で大切な検査の 1 つである。しかし, 本検査は十分な設備が必要なうえ現時点では保険適用外検査であることから, 一部の研究機関で行われているのが現状である。

薬剤耐性検査には遺伝子の塩基配列から薬剤の耐性を推定する genotype 検査 (遺伝子型解析) があり, 薬剤感受性検査には培養・増殖させたウイルスで増殖能 50% 阻止濃度 (IC<sub>50</sub>) を測定する phenotype 検査 (表現型解析) がある。特徴として genotype 検査は phenotype 検査と比べて検査法が簡便であるとともに短時間で結果が得られるが, 交差耐性の確認やデータの少ない新薬などの耐性変異を判定できないという点が挙げられる<sup>2)</sup>。

3. 病態進行にともなう日和見感染症の検査

CD4 陽性リンパ球数が保たれている間は免疫能も一般の人と変わらないため, 通常の日常生活を送ることが出来る。しかし, 病態が進行し CD4 陽性リンパ球が 200 個/μl 以下になると免疫能が低下して日和見感染症を発症する<sup>4)</sup>。(表 1)

1) 真菌症

(1) カンジダ症

カンジダ症には口腔や食道などのカンジダ症のほか, 急速な臨床経過で予後が不良となる深在性真菌症を引き起こす場合がある。

確定診断には, 細菌または病理学的な顕微鏡検査や培養検査が必要となるが, 深在性カンジダ症の場合, 血液培養による陽性率が低く検出までに日数がかかるため, 臨床診断の補助として血清中の抗体検査や易熱性糖蛋白抗原検査, 真菌の細胞膜構成成分の 1 つである (1, 3)-β-D-グルカンの測定が用いられていた。しかし, 抗体検査では抗体産生までのタイムラグがあるため早期診断

表 1 サーベイランスにおけるエイズ診断のための指標疾患

	指標疾患	確定診断法
A. 真菌症	1. カンジダ症（食道，気管，気管支または肺）	（いずれか1つに該当） ①内視鏡もしくは剖検による肉眼的観察によりカンジダ症を確認 ②患部組織の顕微鏡検査によりカンジダを確認
	2. クリプトコッカス症（肺以外）	（いずれか1つに該当） ①顕微鏡検査 ②培養 ③患部組織またはその浸出液においてクリプトコッカスを検出
	3. コクシジオイデス症（肺，頸部もしくは肺門リンパ節以外にまたはそれらの部位に加えて全身に播種したもの）	（いずれか1つに該当） ①顕微鏡検査 ②培養 ③患部またはその浸出液においてコクシジオイデスを検出
	4. ヒストプラズマ症（肺，頸部もしくは肺門リンパ節以外にまたはそれらの部位に加えて全身に播種したもの）	（いずれか1つに該当） ①顕微鏡検査 ②培養 ③患部またはその浸出液においてヒストプラズマを検出
	5. ニューモシスチス肺炎	顕微鏡検査により，ニューモシスチスを確認
B. 原虫症	6. トキソプラズマ脳症（生後1ヵ月以後）	組織による病理診断によりトキソプラズマを検出
	7. クリプトスポロジウム症（1ヵ月以上続く下痢をともなったもの）	組織による病理診断または一般検査によりクリプトスポロジウムを確認
	8. イソスポラ症（1ヵ月以上続く下痢をともなったもの）	組織による病理診断または一般検査によりイソスポラを確認
C. 細菌感染症	9. 化膿性細菌感染症（13歳未満，ヘモフィルス，連鎖球菌等の化膿性細菌により①敗血症，②肺炎，③髄膜炎，④骨関節炎，⑤中耳・皮膚粘膜以外の部位や深在臓器の膿瘍のいずれかが，2年以内に2つ以上多発あるいは繰り返しておこったもの）	細菌学的培養により診断
	10. サルモネラ菌血症（再発を繰り返すもので，チフス菌を除く）	細菌学的培養により診断
	11. 活動性結核（肺結核または肺外結核）	細菌学的培養により診断
	12. 非定型抗酸菌症	細菌学的培養により診断
D. ウイルス感染症	13. サイトメガトウイルス感染症（生後1ヵ月以後で，肝，脾，リンパ節以外）	組織による病理診断により核内封入対を有する巨細胞の確認
	14. 単純ヘルペスウイルス感染症（1ヵ月以上継続する粘膜，皮膚の潰瘍を形成するもの。生後1ヵ月以後で気管支炎，肺炎，食道炎を合併するものいずれか）	①組織による病理診断 ②培養 ③患部組織またはその浸出液においてウイルスを検出
	15. 進行性多巣性白質脳症	組織による病理診断
E. 腫瘍	16. カポジ肉腫	組織による病理診断
	17. 原発性脳リンパ腫	組織による病理診断
	18. 非ホジキンリンパ腫（LSG分類による①大細胞型，免疫芽球型，②Burkitt型）	組織による病理診断
	19. 浸潤性子宮頸癌	組織による病理診断
F. その他	20. 反復性肺炎	1年以内に2回以上の急性肺炎が臨床上又はX線写真上認められた場合に診断
	21. リンパ性間質性肺炎／肺リンパ過形成：LTP／PLH complex（13歳未満）	組織による病理診断
	22. HIV脳症（痴呆又は亜急性脳炎）	臨床的診断
	23. HIV消耗性症候群（全身衰弱又はスリム病）	臨床的診断

が行えず，易熱性糖蛋白抗原検査には感度の問題があった。また，(1, 3)- $\beta$ -D-グルカンはカンジダ症以外の真菌症でも陽性となることや，非特異的に陽性を示すことが指摘されている。現在ではカンジダの細胞壁マンナン

抗原や細胞質の抗原を直接検出することで特異性を向上させた迅速検査があり，深在性カンジダ症の補助診断として有用であると言われている<sup>5)</sup>。

(2) クリプトコッカス症

クリプトコッカス症には肺・皮膚クリプトコッカス症のほか、クリプトコッカス髄膜炎のように重症感染症となる場合がある。

確定診断には、墨汁染色などの細菌学的または病理学的な顕微鏡検査や培養検査が広く実施されている。また、血清・髄液中の *Filobasidiella neoformans* (旧名: *C. neoformans*) の荚膜多糖体抗原を検出する迅速検査もあり、抗原価の測定が行えることで治療経過および予後の判定にも使用できる。

(3) コクシジオイデス症

コクシジオイデス症はアメリカ西南部やメキシコ西部の風土病であり、土壌中の *Coccidioides immitis* を吸入することにより肺に感染を起こす。また、真菌としては最も感染力が高く危険である。

確定診断には、顕微鏡検査、培養、患部・浸出液においてコクシジオイデスを検出することが必要となる。しかし、本菌の培養は感染事故が起こる可能性が高く非常に危険である<sup>6)</sup>ため、設備の整った実験室で熟練者により検査を行う必要がある。したがって、本菌感染症を疑う場合は、専門機関に依頼することが望ましい。当院では千葉大学真菌医学研究センターに検査を依頼している。

(4) ヒストプラズマ症

ヒストプラズマ症はアメリカ中南部で多く発生しており、鳥類やコウモリに寄生している *Histoplasma capsulatum* の孢子が糞中に排泄され、塵埃と一緒に吸い込んで肺に感染をおこす。

確定診断には、抗原検出法が感度・特異度ともに優れている<sup>6)</sup>。また、培養に関してはコクシジオイデス症と同様に危険性が高いため、専門機関に依頼することが望ましい。

(5) ニューモシスチス肺炎

ニューモシスチス肺炎は *Pneumocystis jiroveci* (旧名: *P. carinii*) が感染しておこす病気である。ニューモシスチス肺炎は CD4 陽性リンパ球が 200 個/μl 以下で発症する可能性が高くなる<sup>4)</sup>。

確定診断は、喀出(誘発)痰・気管支肺胞洗浄液から迅速性に優れている Diff-Quik 染色のほか、ギムザ染色やモノクローナル抗体を用いた蛍光抗体法により栄養体を検出する細胞診検査が最も一般的な検査であり、気管支肺胞洗浄液を用いるとほとんどの症例で検出が可能である。しかし、それでも検出ができないような場合には肺生検材料から検出する組織診検査が必要となる。

近年では、PCR (polymerase chain reaction) 法による *P. jiroveci* の検出も臨床応用されている。表 2 は当センター検査部において HIV 患者から提出された喀

出痰 16 例について PCR 法と塗抹鏡検の結果を比較したもので、喀出(誘発)痰では PCR 法が塗抹検査と比較して感度が優れていた。また、気管支肺胞洗浄液ではほぼ同等の感度であった。このことから、喀出痰しか採取できない場合には PCR 法が有効であると考えられる。

2) 原虫症

(1) トキソプラズマ脳症

トキソプラズマ症の病原体は *Toxoplasma gondii* で、ヒトを含む温血動物に広く感染する。ネコ科の動物は、トキソプラズマが有性で増殖する唯一の宿主として知られており、トキソプラズマ症の主要な感染源と考えられる。AIDS 患者では、トキソプラズマ脳炎 (TE: Toxoplasmic encephalitis) によって頭蓋内に病変を形成することがある。これは以前に感染して潜伏していたがトキソプラズマが再活性化することによって起こる場合が多いと考えられている。トキソプラズマ脳症は CD4 陽性リンパ球が 100 個/μl 未満 (とくに 50 個/μl 未満) で発症しやすくなる<sup>4)</sup>。

確定診断は組織からのトキソプラズマを確認することだが、検体採取のための患者負担を考慮した場合、髄液中の *T. gondii* を nested-PCR 法で検出するのが有効である<sup>7)</sup>。表 3 は当センター検査部において HIV 患者から提出された髄液 42 例について PCR 法と臨床診断を比

表 2 PCR 法と塗抹鏡頭検査の比較 (喀痰)

		塗抹鏡頭検査	
		陽 性	陰 性
PCR 法	陽 性	8	4
	陰 性	0	4

表 3 PCR 法と塗抹鏡頭検査の比較 (喀痰)

		臨床診断 (TE)	
		陽 性	陰 性
PCR 法	陽 性	3	0
	陰 性	3	36

※TE: Toxoplasmic encephalitis

		臨床診断 (PML)	
		陽 性	陰 性
PCR 法	陽 性	4	0
	陰 性	1	36

※PML: Progressive multifocal leukoencephalopathy

較したものである。この結果より、PCR法の感度は低いものの臨床診断では判断が困難な症例には有効であると考えられる。なお、抗体検査に関しては30%近くの人々が不顕性感染で抗体陽性となっているため、診断を行う検査としては適していない。

#### (2) クリプトスポロジウム症

クリプトスポロジウム症はヒトをはじめとした哺乳類、爬虫類、鳥類および魚類などに広く寄生する *Cryptosporidium spp.* によって腹痛をともなう水様性下痢や粘液便などの感染症を引き起こす。また、AIDS患者に日和見感染をおこした場合は下痢が長期間持続する。

確定診断には、糞便や胆汁から抗酸染色法や酵素免疫染色法などによりオーシストを検出する必要がある。クリプトスポロジウムのオーシストは類円形で直径が4.5–5.0  $\mu\text{m}$  と小さく、壁は薄く、中に4個のスポロゾイトと1個の残体を有している。しかし、原虫の形態学的同定を的確に行える検査技師が少ないことから、熟練者の養成が臨床より熱望されている。

#### 3) 細菌感染症

細菌感染症に関しては日常行っている塗抹鏡検・培養検査で対応出来る。しかし、抗酸菌によるリンパ節炎疑いなどで検査材料が血液の場合、赤血球を溶血させる必要があることから溶血剤入りの採血容器による採血、および液体培地による培養が感度的に優れている。また、PCRは迅速検査として有効であるが、増幅阻害を防ぐためEDTA採血管を用いるとともに、十分な溶血操作を行わなければならない。そのため、菌の損失が大きくなり感度が低くなるので培養と併せて行うことが必要となる。

#### 4) ウイルス感染症

##### (1) サイトメガロウイルス感染症

健康人がサイトメガロウイルスに感染した場合、ほとんどの場合不顕性感染となる。しかし、AIDS患者が感染すると網膜炎をはじめとして、間質性肺炎や骨髄機能不全を発症し、急速に進行するために致命的になる場合があることから早期診断・早期治療が必要となる。なお、サイトメガロウイルス感染症はCD4陽性リンパ球が100個/ $\mu\text{l}$ 未滿で発症の確率が高くなる<sup>4)</sup>。

確定診断には、組織の病理診断による核封入体を有する巨細胞の確認が必要である。そのほかに、現在最もよく用いられているのはアンチゲネミア法で、サイトメガロウイルス感染初期から検出されるウイルスの構造蛋白であるpp65に対するモノクローナル抗体を用いてサイトメガロウイルス抗原を証明する検査である。本法はサイトメガロウイルス感染症発症後1週間程度で検出が可能であると言われていたとともに、病態把握および治療

効果の判定に最も有効である<sup>8)</sup>。PCR法についてもアンチゲネミア法と同様に早期検出が可能であるが、定性検査のため不顕性感染と感染症の判断が困難であった。しかし、近年では定量が行えるリアルタイムPCRの検討が進められており、簡便かつ迅速なうえ白血球が減少していても検査が可能であると報告されている<sup>9)</sup>。なお、抗体検査に関しては、前述のとおり成人になるまでに不顕性感染となっているため判断が困難である。

##### (2) 単純ヘルペスウイルス感染症

単純ヘルペスウイルスには1型(HSV-1)と2型(HSV-2)の2種類があり、1型は口唇や顔面などの上半身に、2型は性器やお尻の周りなどの下半身に発症する。

確定診断には、モノクローナル抗体を用いた蛍光抗体法による組織の病理診断またはウイルス培養が行われる。

##### (3) 進行性多巣性白質脳症

進行性多巣性白質脳症 Progressive Multifocal Leukoencephalopathy (PML) は、パポウイルス科のJCウイルスにより脱髄性疾患を発症する日和見感染症で、健康人が感染してもほとんどの場合不顕性感染となる。

確定診断には、組織の病理学診断が必要となる。しかし、患者の負担を考慮するとトキソプラズマ脳症と同様に、髄液中のJCウイルスをnested-PCR法により検出するのが有効であると思われる(表3)。

## おわりに

HIV感染症では治療開始時期が予後に大きく影響することから、臨床検査技師もHIV感染症の基本的知識を理解し検査に対応すべきと考える。そのためには各検査方法の長所と短所を十分に把握し、検査結果に対して的確な判断が行えることが重要である。また結果の報告にあたっては、検査方法についても担当医へ明確に伝えるとともに、短所を補う他の検査の実施をも提言できるようにする必要がある。

感染症検査では、抗体検査から抗原検査へ移行したことで早期診断および治療が可能になったように検査技術は日々進歩している。常に新しい技術の情報を積極的に収集し、より精度の高い結果を迅速に報告できる検査体制の構築も重要となる。

検査のプロフェッショナルである臨床検査技師は、より一層の自覚を持って検査技術の研鑽に努め、チーム医療の一員として診療支援をすべきと考える。

## 文 献

- 1) 林 孝子, 渡邊寿美, 近藤真規子ほか: HIV抗体・抗原の同時測定試薬の検討. 感染症誌 73: 681-688,

1999

- 2) HIV 感染症治療研究会：HIV 感染症「治療の手引き」第 8 版, 1-24, HIV 感染症治療研究会, 東京, 2004
- 3) 小川 哲, 正兼亜季, 大森 恵ほか：フローサイトメトリーを使った CD4・CD8 測定 4 color 測定法の検討, 医学検査 53 : 545-545, 2004
- 4) 木村 哲：HIV-1 感染症と日和見感染症. 医のあゆみ 213 : 869-875, 2005
- 5) 塩見和雄, 新崎晃弘, 木下承皓ほか：フロースルー型 EIA 法によるカンジダマンナン抗原検出試薬の基礎的検討. 臨と微生物 32 : 415-420, 2005
- 6) 亀井克彦：コクシジオイデス症とヒストプラズマ症. 医のあゆみ 206 : 419-422, 2003
- 7) 矢野明彦, 青才文江：AIDS ではびこる寄生虫病. 医のあゆみ 210 : 705-709, 2004
- 8) 田辺一成, 小山一郎, 高橋公太ほか：腎移植後のサイトメガロウイルス (CMV) 感染症に関する各種検査法の臨床的有用性について. 今日の移植 9 : 649-654, 1996
- 9) 沼田早苗, 七字晶子, 山本茂子ほか：リアルタイム PCR によるサイトメガロウイルスの迅速定量法. 医学検査 52 : 1274-1278, 2003