

輸血後感染症検査にて HIV-1 p24 抗原が一過性に偽陽性反応を呈した症例の検討

中桐 逸博¹⁾ 岡井 美樹¹⁾ 仲井富久江¹⁾ 文屋 涼子¹⁾ 徳永 博俊²⁾
 松橋 佳子²⁾ 田坂 大象²⁾³⁾ 通山 薫⁴⁾ 和田 秀穂¹⁾²⁾

輸血後に HIV-1 p24 抗原が偽陽性反応を呈した稀な症例を経験した。症例は 62 歳女性、肺腺癌に対する右肺下葉切除の目的で当院入院。輸血前は第 4 世代 HIV スクリーニング検査陰性。入院後、Ir-RBC-LR 14 単位、FFP-LR 6 単位が輸血された。3 カ月後の HIV スクリーニング検査で p24 抗原陽性、抗体陰性であった。HIV 確認試験として TaqMan 法による HIV-1 RNA は検出感度未満。In-house の PCR でも HIV-1 proviral DNA は陰性であった。また、HIV-1 と HIV-2 のウエスタンブロット法も陰性であった。これら確認試験の結果から p24 抗原は偽陽性反応と判断した。10 カ月後、HIV スクリーニングは陰転化し、p24 抗原の偽陽性反応もみられなかった。偽陽性反応の成因については明らかではないが、患者血清中に ALP に非特異的に反応する IgM 抗体様物質が存在したために引き起こされたものと推測された。

キーワード：輸血後感染症検査、HIV-1 p24 抗原、偽陽性反応

緒 言

輸血前後の感染症検査は輸血によるウイルス感染を早期に発見する上で重要である。スクリーニング検査用の HIV 感染診断薬は、その目的から感染検体を漏らさず検出することが求められる^{1)~3)}。それゆえ偽陽性が避けられない。特に迅速診断法である抗原・抗体同時測定系のイムノクロマト法においては、0.1~2.2% の偽陽性率が報告され^{4)~6)}、判定には偽陽性反応を常に念頭に置く必要がある⁷⁾。赤十字血液センターにおいては供血者を対象に HIV 抗体検査の他に個別 NAT が実施されている。今回、輸血後に HIV スクリーニング検査結果が陽性となり、精査したところ HIV-1 p24 抗原が偽陽性反応を呈した稀な症例を経験したので報告する。

症 例

患 者：62 歳女性、身長 144.5cm、体重 44.5kg、血液型 A 型 RhD (+)、不規則抗体陰性。

既往歴：30 歳 右乳癌、62 歳 左変形性股関節症。

現病歴：肺腺癌に対する右肺下葉切除の目的で 2013 年 8 月に入院となった。入院時における感染症検査結果は HBs 抗原、HBc 抗体、HCV 抗体および HIV 抗原・抗体スクリーニング結果はすべて陰性であった。今回

の入院時から術後までの約 1 カ月間に計 Ir-RBC-LR 14 単位、FFP-LR 6 単位が輸血された。2013 年 12 月に輸血後感染症検査が行われたところ、HBs 抗原と HCV 抗体は陰性であったが、HIV 抗原・抗体スクリーニングは陽性となった。当院では HIV スクリーニング法は p24 抗原および抗体が識別できるイムノクロマト法であるエスプライン HIV Ag/Ab(富士レビオ、以下エスプライン法)を用いて輸血前後の感染症検査を行っている。本症例では p24 抗原陽性、抗体陰性の結果であった。直ちに、確認法として RT-PCR である TaqMan 法(ロシュ)による HIV-1 RNA の測定⁸⁾を行ったが、20copies/ml の高検出感度である同法では HIV-1 RNA は検出されなかった。エスプライン法では抗体陰性であったが、抗体陰性の確認目的で HIV-1 および HIV-2 特異抗体確認法であるウエスタンブロット法のラブレット 1 および 2(バイオラッド、以下 WB-1 法および WB-2 法)による特異抗体検査を添付文書に従い施行したところ、共に陰性の結果であった。また追加で行った PA 法による HTLV-I 抗体検査も陰性であった。

原因検索

本症例は輸血施行から 3 カ月経過後に p24 抗原が検

1) 川崎医科大学附属病院輸血部

2) 川崎医科大学血液内科学

3) 埼玉医科大学総合医療センター輸血・細胞治療部

4) 川崎医科大学検査診断学

〔受付日：2016 年 7 月 22 日、受理日：2016 年 9 月 15 日〕

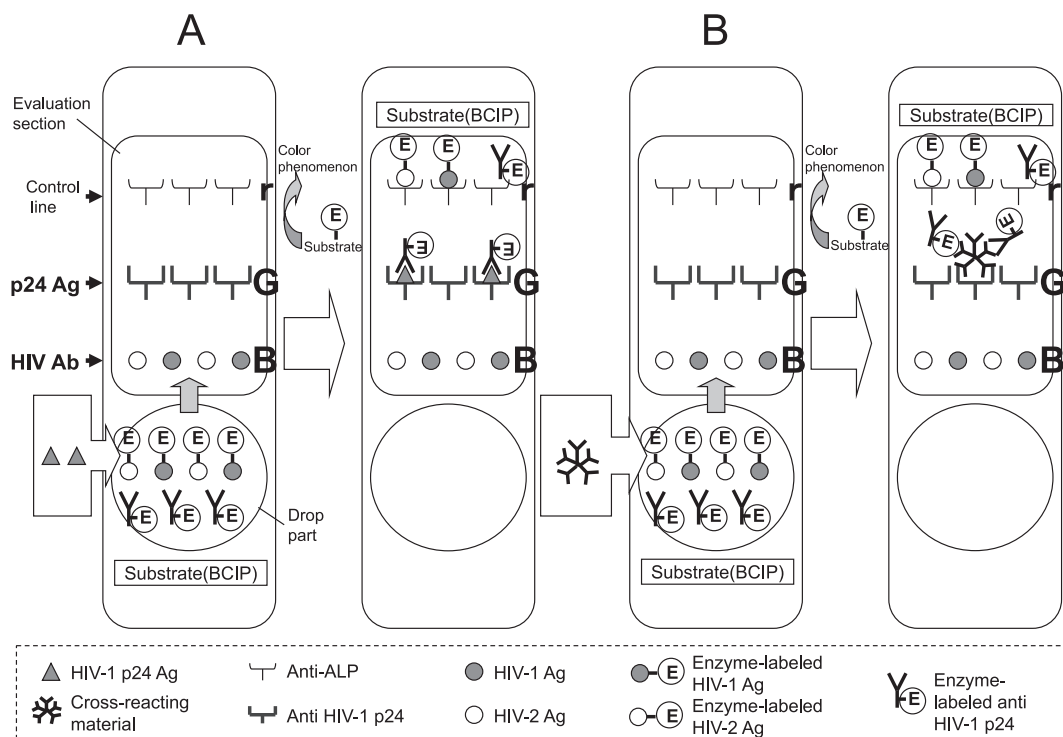


Fig. 1 Reaction image of HIV-1 p24 antigen in serum and nonspecific reaction image using the Espline HIV Ag/Ab assay

A: Reaction image of HIV-1 p24 Ag in serum
B: Nonspecific reaction in the serum

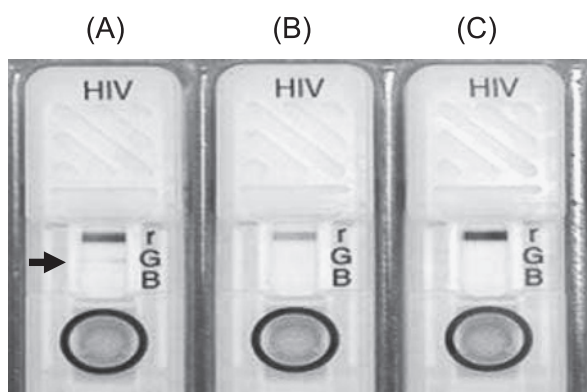


Fig. 2 Reaction after removal of an HIV-1 p24-nonspecific reaction substance by absorption tests using inactivated ALP and anti-IgM

(A) Unprocessed reaction
(B) Reaction after the absorption test using inactivated ALP
(C) Reaction after the absorption test using anti-IgM

出されたが、HIV-1 RNA は検出されなかったのでウイルス血症の再確認のため in-house 法による HIV-1 proviral DNA の検出⁹⁾を行った。本法の検出感度は 10copies/1μg DNA であるが、結果は未検出であった。以上のことからウイルス血症の可能性は否定された。

次に本症例の p24 抗原の偽陽性を疑い、エスプライン

法における非特異反応物質の反応性について検討した。エスプライン法の反応原理からは、抗 HIV-1p24 抗体にトラップされた非特異反応物質と ALP 標識抗体の結合が起こる可能性があるため (Fig. 1), 予め検体中の非特異反応物質を測定系と同一の ALP (不活化したもの) とマウス由来の抗 IgM 抗体 (コスモバイオ) でそれぞれ 15 分間室温で反応させることで、非特異反応物質の周辺を不活化 ALP と抗 IgM 抗体でブロッキングし、非特異物質の反応性を遮断させた。吸着試験については検体の希釈率を抑えるために、検体と各々の反応液の割合を 9 : 1 で実施した。その反応液を遠心し、上清を用いてエスプライン法を実施した結果、それぞれ陰転化した (Fig. 2)。なお、対照としてエスプライン法で抗原陽性を示した急性 HIV 感染症患者の保存検体を用いて、同様に不活化 ALP と抗 IgM 抗体で処理した後、再測定でそれぞれ抗原陽性の確認を行った。エスプライン法の抗原陽性ラインの濃淡や太さ等の特徴からは急性 HIV 感染例と偽陽性例との区別はできないが、抗原ラインの発色は比較的薄い傾向にある。エスプライン法による偽陽性反応はこれまでがほとんど抗体の偽陽性例であり、判定部位の HIV 抗原にトラップされることが多かったが、非特異反応物質が抗 HIV-1 p24 抗体か HIV 抗原のどちらにトラップされるかの機序は不明である。

なお、10 カ月後に再検査を施行したところ、HIV スクリーニング結果は陰転化し、p24 抗原の偽陽性反応は認められなかった。

考 察

第4世代 HIV スクリーニング検査において本邦では通常 CLIA 法や CLEIA 法などの自動化法により p24 抗原と HIV-1 および HIV-2 抗体が同時測定されており、自動化法が陽性の場合には抗原か抗体のどちらが陽性かの識別は出来ない。そのため、本邦では特に抗原単独の偽陽性反応を示す詳細な報告例は見当たらない。また、諸外国ではイムノクロマト法を用いた場合の抗原の偽陽性率は 0.04~1.6% との報告⁴⁾⁵⁾があるが、いずれにしても詳細な解析には至っていない。

当院は、HIV スクリーニング検査の導入時から、急性 HIV 感染症の診断等のため、陽性時に抗原か抗体の識別が出来るように迅速診断法としてイムノクロマト法による HIV スクリーニング検査を実施してきた。これまでの約4年間でエスプライン法による偽陽性率は 0.24% (93/37,842 検体) であり⁶⁾、偽陽性が認められた 93 例中 91 例が抗体の偽陽性例で、2 例が抗原単独の偽陽性例であった。抗原が偽陽性を示した 2 例のうち 1 例は多発外傷例で救急搬入後、間もなく死亡退院となり、残る 1 例が本症例である。

今回、肺腺癌に対する右肺下葉切除術後に輸血された症例において、輸血後 HIV スクリーニング検査を施行したところ p24 抗原の偽陽性反応を呈した現象を経験した。本症例は、輸血前検査では HIV スクリーニングが陰性であり、術中、術後に計 Ir-RBC-LR 14 単位、FFP-LR 6 単位が輸血され、3 カ月経過した時点で HIV-1 p24 抗原が陽性反応を示した。ウィンドウ期には個体差があるが、p24 抗原は感染初期にウイルス量が概ね 10^6 copies/ml 相当量を超える p24 抗原量がなければエスプライン法では検出できず¹⁰⁾、さらに感染から 3 カ月経過すれば抗体だけが検出されるのが一般的である。いずれにしろ本症例は輸血後 3 カ月経過している時点で、HIV 抗体は陰性で p24 抗原だけが陽性であったことから、輸血後 HIV 感染症の経過でないことは明らかである。

なお、HIV 感染症では gag p24 は前駆体である gag p55 からプロテアーゼにより切断されて生成される。本症例は DIC や敗血症などの合併症はなく、セリンプロテアーゼが活性化する状態にはなかった。

本例の p24 抗原陽性反応は測定系に非特異反応物質が影響を及ぼさないように不活化酵素である ALP と抗 IgM 抗体による吸収操作を施し再検査を行ったところ、陰性化した。原因物質の特定には至らなかったが、これらの結果から患者血清中に ALP に非特異的に反応す

る IgM 抗体様物質が存在したために引き起こされた反応であると推測された。

診療における HIV-1/2 感染症診断のためのフローチャートに基づき⁷⁾、再検査やフォローアップを行い、本症例の HIV スクリーニング検査は抗原の非特異反応であると確認し得た。

結 語

「輸血療法の実施に関する指針」に基づき、輸血後には HBV (NAT)、HCV コア抗原、HIV 抗体などの感染症検査が推奨されている。今回、輸血後 HIV スクリーニング検査での p24 抗原偽陽性反応を示した担癌患者を経験した。判定において留意すべき現象と考えられたので報告した。

著者の COI 開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

謝辞：非特異反応の解析に協力して下さった富士レボロ株式会社の堀田弘美先生に深謝いたします。

文 献

- 1) Louie B, Pandori MW, Wong E, et al: Use of an acute seroconversion panel to evaluate a third-generation enzyme-linked immunoassay for detection of human immunodeficiency virus-specific antibodies relative to multiple other assays. *J Clin Microbiol*, 44: 1856—1858, 2006.
- 2) Li CC, Seldel KD, Coombs RW, et al: Detection and quantification of human immunodeficiency virus type 1 p24 antigen in dried whole blood and plasma on filter paper stored under various conditions. *J Clin Microbiol*, 43: 3901—3905, 2005.
- 3) Stekler J, Maenza J, Stevens CE, et al: Screening for acute HIV infection: lessons learned. *Clin Infect Dis*, 44: 459—461, 2007.
- 4) Duong YT, Mavengere Y, Patel H, et al: Poor performance of the Determine HIV-1/2 Ag/Ab combo fourth-generation rapid test for detection of acute infections in a national household survey in Swaziland. *J Clin Microbiol*, 52: 3743—3748, 2014.
- 5) Rosenberg NE, Kamanga G, Phiri S, et al: Detection of acute HIV infection: A field evaluation of the Determine HIV-1/2 Ag/Ab combo test. *J Infect Dis*, 205: 528—534, 2012.
- 6) 中桐逸博, 和田秀穂, 徳永博俊, 他: 新たに開発された第4世代 HIV 迅速診断試薬の性能評価. *感染症誌*, 89: 733—740, 2015.

- 7) 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. 日本エイズ学会誌, 11: 70—72, 2009.
- 8) Pas S, Rossen JW, Schoener D, et al: Performance evaluation of the new Roche Cobas AmpliPrep / Cobas TaqMan HIV-1 test version 2.0 for quantification of human immunodeficiency virus type 1 RNA. J Clin Microbiol, 48: 1195—1200, 2010.
- 9) Lynch CE, Madej R, Louie PH, et al: Detection of HIV-1 DNA by PCR. Evaluation of primer pair concordance and sensitivity of a single primer pair. JAIDS, 5 (5): 433—440, 1992.
- 10) 川畑拓也, 長島真美, 貞升健志, 他: HIV 急性感染期の診断における第4世代 HIV 迅速検査試薬の性能評価. 感染症誌, 87: 415—423, 2013.

TRANSIENT FALSE-POSITIVE HIV SCREENING TEST RESULT IN A LUNG CANCER PATIENT PRESUMABLY DUE TO TRANSFUSION

*Itsuhiro Nakagiri*¹⁾, *Miki Okai*¹⁾, *Fukue Nakai*¹⁾, *Ryoko Bunya*¹⁾, *Hirotohi Tokunaga*²⁾, *Yoshiko Matsuhashi*²⁾, *Taizo Tasaka*²⁾³⁾, *Kaoru Tohyama*⁴⁾ and *Hideho Wada*¹⁾²⁾

¹⁾Division of Transfusion, Kawasaki Medical School Hospital

²⁾Department of Hematology, Kawasaki Medical School

³⁾Department of Transfusion Medicine and Cell Therapy, Saitama Medical Center, Saitama Medical University

⁴⁾Department of Laboratory Medicine, Kawasaki Medical School

Abstract:

We encountered a lung cancer patient whose HIV screening test result became falsely positive after transfusion, which we consider rare. The patient was hospitalized for right lower lobectomy for adenocarcinoma. Before admission, the patient's screening for HIV was negative. During the lobectomy, the patient received 14 units of red blood cells and 6 units of fresh frozen plasma transfusion. After 3 months, the patient visited our hospital and underwent an HIV screening test as a routine follow-up, which revealed a positive result for the HIV-1 p24 antigen.

To verify this result, the TaqMan HIV-1 test and an in-house PCR test, which can detect HIV-1 proviral DNA, were performed. Both methods showed that the patient was negative for HIV. Western blot analysis also failed to detect HIV-1 and HIV-2. These HIV validation tests clearly indicated that the positive result observed in the HIV screening test was a false positive. Ten months later, the false-positive reaction against the HIV-1 p24 antigen in the HIV screening test disappeared. Although the etiology for the false-positive HIV-1 p24 antigen test result remains unclear, possible IgM-like substance which may react with ALP in patient's serum may have caused the false result. This case emphasizes the importance of validation tests.

Keywords:

Post-transfusion-transmitted infection test, HIV-1 p24 antigen, false-positive reaction