

## 原 著

AIDS 患者の髄液病原体網羅的解析を目的とした  
マルチプレックス PCR の有用性についての検討

松川 敏大<sup>1,2)</sup>, 遠藤 知之<sup>1,2,3)</sup>, 森木 朝子<sup>2,4)</sup>, 長井 惇<sup>2,4)</sup>, 宮島 徹<sup>2,4)</sup>,  
長谷川祐太<sup>1,2)</sup>, 荒 隆 英<sup>1,2)</sup>, 後藤 秀樹<sup>1,2)</sup>, 豊嶋 崇徳<sup>1,2)</sup>  
北海道大学病院<sup>1)</sup> HIV 診療支援センター, <sup>2)</sup> 同 血液内科, <sup>3)</sup> 同 感染制御部, <sup>4)</sup> エイズ予防財団

**背景:** HIV 患者の中中枢神経合併症は迅速な診断が重要である。髄液検査にて精確に診断を行うには病原体の PCR 検査が重要だが、高額な検査費用と診断までに時間を要することが問題となる。マルチプレックス PCR 法は、同時に複数の原因病原体を迅速に診断できる。今回、AIDS 患者の髄液マルチプレックス PCR の有用性について検討した。

**方法:** 北海道大学病院に 2018 年 7 月から 2024 年 3 月までに受診した AIDS 発症患者を文書での同意を得て後方視的に解析した。14 種の病原微生物を検出可能な本研究用に構築した検出キットを用いて髄液をマルチプレックス PCR で解析した。

**結果:** 研究期間内に AIDS 発症患者 33 名のうち、31 例 (93.9%) に対して髄液をマルチプレックス PCR で検討した。進行性多巣性白質脳症 (PML) や HIV 脳症がおのおの 3 例、トキソプラズマ脳炎やサイトメガロウイルス (CMV) 脳炎、クリプトコッカス髄膜炎、脳膿瘍、脳動脈炎がおのおの 1 例で、中中枢神経合併症は 11 例 (37.9%) に認められた。PML では全例がマルチプレックス PCR で JC ウイルス、CMV 脳炎でも CMV が検出でき、早期診断に役立てることができた。しかし、トキソプラズマ脳炎などは PCR での検出ができず、生検や抗原検査により診断に至った。

**考察:** マルチプレックス PCR による髄液検査により AIDS 患者の中中枢神経合併症を診断できた疾患もある一方で、別のモダリティにより診断に至った疾患もあったため、検出できない病原微生物の精度をあげることが今後の課題である。

**キーワード:** AIDS, 中中枢神経合併症, マルチプレックス PCR

日本エイズ学会誌 27: 147-153, 2025

## 序 文

HIV/AIDS 患者の中中枢神経合併症は免疫不全による感染症や悪性腫瘍など原因が多岐にわたることから診断に難渋する。中中枢神経合併症の中には進行性多巣性白質脳症 (PML) のように重篤な経過を辿る疾患もあるため迅速で正確な診断が肝要である。中中枢神経 (CNS) 合併症の診断には MRI のような画像診断に加えて、髄液検査が有用である。髄液検査は、入院や外来下で簡便にできる検査ではあるが、HIV/AIDS 患者に生じうる原因を精確に診断するためには病原体の PCR 検査が必要であり、高額な検査費用と診断までに時間を要することが問題となる。

マルチプレックス PCR 法は、複数の原因病原体の遺伝子を一度に増幅することによって迅速な診断が可能となることから<sup>1)</sup>、感染症を含むさまざまな原因を有する HIV/AIDS 患者に対する CNS 合併症の診断に有用であると考えられている<sup>2)</sup>。

そこで、われわれは、今回 AIDS 患者における CNS 合併症の探索において髄液マルチプレックス PCR の有用性について検討した。

## 方 法

## 1. 対象患者

2018 年 7 月 1 日から 2024 年 3 月 31 日までに北海道大学病院を受診した 18 歳以上の HIV 感染者のうち、33 名の AIDS 発症患者を対象とした。

## 2. 分析方法

血液検査では、CD4 数や HIV-RNA 量などの検査結果を、髄液検査は細胞数や蛋白、糖、クリプトコッカス抗原、HIV-RNA 量などの検査結果、髄液細胞診や細菌培養の結果を診療録から収集し後方視的に解析を行った。

髄液は、採取後すぐに QIAamp DNA Mini Kit (250) (QIAGEN, オランダ) を用いて推奨プロトコールどおりに DNA サンプルを調製し、リアルタイム PCR 法を用いたマルチプレックス PCR 法により本研究用に構築した検出キット HUH001 微生物検出用ストリップ Ver.HKD2.1 (日本テクノサービス株式会社, 日本) を用い、初期変性とし

著者連絡先: 松川敏大 (〒060-8648 札幌市北区北 14 条西 5 北海道大学病院 HIV 診療支援センター)

2025 年 2 月 3 日受付; 2025 年 5 月 9 日受理

て95°C/10秒の後、変性98°C/5秒、会合・伸長反応として60°C/30秒を45サイクルのプログラムで反応させた。検出系は、FAM, HEX, ROXの蛍光色素を組み合わせたTaqManプローブで、CFX96 Touch Real-Time PCR解析システム(BIO-Rad, アメリカ)により特異的増幅を示した定量サイクル(Cq)値35以下を陽性と判定し、14種の病原微生物(単純ヘルペスウイルス(HSV)1, HSV2, 帯状疱疹ウイルス(VZV), Epstein-Barrウイルス(EBV), サイトメガロウイルス(CMV), ヒトヘルペスウイルス(HHV)6, HHV7, HHV8, BKウイルス(BKV), JCウイルス(JCV), アデノウイルス(ADV), パルボウイルスB(PVB)19, トキソプラズマ(TOXO), クリプトコッカス(CRYP))を8ウエルで測定した。これらのプライマーやプローブは既報の報告を基に構築した<sup>3-5)</sup>。CNS合併症は、HIV関連神経認知機能障害に関しては対象から除外した。

統計解析は連続変数にMann-WhitneyのU検定を用い、EZR ver. 1.61。(自治医科大学附属さいたま医療センター, 日本)で解析を行った。

### 3. 倫理的配慮

本研究にあたっては、北海道大学病院倫理審査委員会の承認を得た(承認番号:自019-0425)。

## 結 果

対象期間に診断となったAIDS患者は33名であった。そのうち、髄液検査を施行した患者31名(93.9%)を解析対象とした(表)。男性が30名(96.8%),女性が1名(3.2%)であり、年齢中央値44歳[範囲:32~69歳], CD4中央値28/ $\mu$ L[範囲:1~284/ $\mu$ L], 血中HIV-RNA量中央値189,500 copies/mL[範囲:5,300-3,510,000 copies/mL], 髄液HIV-RNA量中央値16,800 copies/mL[範囲:310~366,000 copies/mL](19例は未検査), 髄液蛋白中央値52 mg/dL[範囲:22~252 mg/dL], 髄液糖中央値56.5 mg/dL[範囲:33~87 mg/dL]であった。

髄液検査を行っていない2名を加えた33名のAIDS患者のうち、CNS合併症は11例(33.3%)に生じた。内訳は、PML・HIV脳症がそれぞれ3例(27.3%), TOXO脳炎・CMV脳炎・CRYP髄膜炎・脳膿瘍・脳動脈炎・肺がん転移疑いがそれぞれ1例(9.1%)であった。マルチプレックスPCRにより、PMLは3例中3例(100%)がJCV陽性となった。CMV脳炎は1例中1例(100%)がCMV陽性となった一方で、TOXO脳炎・CRYP脳炎の症例はマルチプレックスPCRにてTOXOやCRYPは陽性とならなかった。EBVは2例で陽性となり、1例はTOXO脳炎症例で、もう1例は神経症状がなく画像評価でもCNS合併症は生じていない症例であった。HHV8は1例で陽性であったが、神経症状はなく画像評価でもCNS合

併症は生じていない症例であった。

髄液細胞診にて異型リンパ球が検出された4例は、CRYP髄膜炎、脳動脈炎、脳膿瘍、CNS合併症がない症例のそれぞれ1名ずつであった。PMLやHIV脳症、CMV脳炎では、一部の症例で細胞数の軽度上昇を認めたが、髄液細胞診では異型リンパ球などの異常は認められなかった。

## 考 察

髄液マルチプレックスPCR法によるAIDS患者におけるCNS合併症診断の有用性について後方視的解析を行った。本試験ではAIDS患者の33.3%にCNS合併症がみられた。英国のAIDS患者の多施設後方視的解析では、1996~1997年にかけて13.1/1,000人年であったCNS合併症は、ARTの普及により2006~2007年には1.0/1,000人年にまで減少しているが、治療が十分に行われていない患者やCD4数が低値である患者はCNS合併症の発症リスクが高いことが報告されている<sup>3)</sup>。CNS合併症では、HIV脳症1.2/1,000人年、TOXO脳炎1.2/1,000人年、CRYP髄膜炎0.8/1,000人年、PML0.7/1,000人年と頻度が高くなっている(UK CHIC study)<sup>6)</sup>。しかし、CNS合併症、特に感染症に関しては地域による差が大きい<sup>2)</sup>。CNS合併症における悪性疾患として、中枢神経原発悪性リンパ腫(primary CNS lymphoma; PCNSL)があげられるが、欧州を中心とした多国間前向き共同研究であるEuroSIDA studyでは、CNS合併症におけるPCNSLが9.2%を占めていた<sup>7)</sup>のに対して、EuroSIDA studyよりも新しいUK CHIC studyのコホートではPCNSLが少数に限られるために解析から除外された。また、米国の大規模なコホートでも、AIDS患者100,000人年あたり1980~1989年には233.4であったが、2001~2007年には26.52と激減している<sup>8)</sup>。これらのことから、PCNSLは他のCNS合併症と同様にARTが普及することにより発症数が著しく低下していると考えられ、2018年から開始した本研究でもPCNSLは認められていない。

AIDS患者におけるCNS合併症は、他のCNS感染症や悪性疾患と同様に、発熱や痙攣発作、頭痛などの頭蓋内圧亢進症状を認めるが特異的な症状はなく、髄液検査や画像検査による診断が重要となる<sup>2)</sup>。髄液内の白血球数や糖、蛋白は正常~やや増加することが多いためにCNS合併症の有無などを鑑別することは困難である<sup>2)</sup>。本研究では4例の髄液細胞診に異型リンパ球を認めたが、診断の根拠とはならずCNS合併症のない症例も含まれており診断の根拠としては乏しいと考えられた。AIDS患者におけるCNS合併症でも、脳MRIなど画像診断により占拠性病変や白質病変、造影効果などで鑑別することは可能であるが、AIDS患者では非特異的な画像所見を呈することも少な

表 髄液検査を施行したAIDS患者

UPN	年齢 (歳)	血中 CD4数 (/μL)	血中 HIV-RNA (copies/mL)	AIDS 指標疾患	CNS 合併症	脳 MRI 所見	HSV1	HSV2	VZV	EBV	CMV
1	38	53	5,300	PCP, PML	PML	軽度の脳萎縮, 前頭葉皮質下, 橋, 小脳脚, 小脳半球に T2WI, FLAIR で高信号	-	-	-	-	-
2	43	28	158,000	PML	PML	軽度の脳萎縮, 頭頂葉, 側頭葉の皮質下白質および小脳脚, 橋の T2WI, FLAIR で高信号	-	-	-	-	-
3	66	40	89,300	PCP, 食道カンジダ	なし	異常なし	-	-	-	-	-
4	49	23	2,370,000	PCP	なし	異常なし	-	-	-	-	-
5	40	11	170,000	PCP, CMV 網膜炎	なし	異常なし	-	-	-	-	-
6	63	25	430,000	NHL, 食道カンジダ, PCP, HIV 脳症, CMV 腸炎	HIV 脳症	軽度の脳萎縮, 右前頭葉皮質下, 両側側頭葉白質, 両側基底核, 視床, 橋に T2WI で高信号	-	-	-	-	-
7	45	9	2,070,000	CMV 腸炎・脳炎・網膜炎, HIV 脳症, 播種性 MAC	CMV 脳症・HIV 脳症	大脳萎縮, 側脳室壁に沿って DWI, FLAIR で高信号	-	-	-	-	+
8	68	49	202,000	PCP	なし	異常なし	-	-	-	-	-
9	43	204	563,000	食道カンジダ	なし	異常なし	-	-	-	-	-
10	39	22	551,000	CMV 網膜炎	脳動脈炎	大脳萎縮, 左淡蒼球～内包後脚に DWI, T2WI, FLAIR で高信号	-	-	-	-	-
11	46	28	100,000	PCP, CMV 肺炎	なし	異常なし	-	-	-	-	-
12	50	15	27,000	播種性 CRYP 症 (血液・髄液・尿)	CRYP 髄膜炎	異常なし	-	-	-	-	-
13	45	8	807,000	NHL, 食道カンジダ	なし	異常なし	-	-	-	-	-
14	38	48	83,700	PCP, 食道カンジダ	なし	異常なし	-	-	-	-	-
15	66	148	29,300	NHL	肺動脈梗死	左頭頂葉深部白質に T1WI, DWI で高信号の結節	-	-	-	-	-
16	32	46	166,000	PCP	なし	異常なし	-	-	-	-	-
17	42	10	421,000	PCP	なし	異常なし	-	-	-	-	-
18	45	9	94,100	PCP	なし	異常なし	-	-	-	-	-
19	69	21	50,000	CMV 網膜炎	なし	T2*WI で右視床に小さな低信号域	-	-	-	-	-
20	48	284	62,900	PML	PML	左前頭葉白質に T2WI, FLAIR で高信号域, DWI で両側大脳白質に高信号域, 左中小脳脚に高信号域	-	-	-	-	-
21	45	21	177,000	食道カンジダ, CMV 食道炎	脳膿瘍	DWI, T1WI で左被殻背側に高信号	-	-	-	-	-
22	39	48	25,700	PCP	なし	T2, FLAIR で両大脳皮質下に高信号を示す小さな領域 (加齢性変化)	-	-	-	-	-
23	58	33	56,600	PCP, 食道カンジダ	なし	異常なし	-	-	-	-	-
24	41	16	102,000	PCP	なし	異常なし	-	-	-	-	-
25	48	46	2,180,000	NHL	なし	T2, FLAIR で両大脳皮質下に高信号を示す小さな領域 (加齢性変化)	-	-	-	-	-
26	44	84	446,000	PCP	なし	T2, FLAIR で両大脳皮質下に高信号を示す小さな領域 (加齢性変化)	-	-	-	-	-
27	33	63	268,000	TOXO 脳症	TOXO 脳症	多発脳病変	-	-	-	-	+
28	43	1	2,460,000	NHL, HIV 脳症	HIV 脳症	右前頭葉皮質下～右側脳室前角周囲白質, 脳梁膝部の異常信号域	-	-	-	-	-
29	32	14	939,000	PCP	なし	軽度の非特異的な白質病変	-	-	-	-	+
30	39	61	714,000	PCP	なし	T2, FLAIR で両大脳皮質下に高信号を示す小さな領域 (加齢性変化)	-	-	-	-	-
31	37	100	3,510,000	PCP, CMV 肝炎	なし	異常なし	-	-	-	-	-

表 つづき

HHV6	HHV7	HHV8	BKV	JCV	ADV	PVB19	TOXO	CRYP	髄液細胞数 (/μL)	髄液蛋白 (mg/dL)	髄液糖 (mg/dL)	髄液細胞診	髄液細菌/ 抗酸菌培養	髄液 Tb-/MAC-PCR	CRYP 抗原	髄液 HIV-RNA (copies/mL)	髄液外注 PCR
-	-	-	-	+	-	-	-	-	1 (単1)	68	87	陰性	陰性/陰性	陰性/NA	NA	NA	JCV (+), EBV (+)
-	-	-	-	+	-	-	-	-	<1	59	63	陰性	陰性/陰性	陰性/NA	NA	NA	JCV (+)
-	-	-	-	-	-	-	-	-	<1	61	71	陰性	陰性/陰性	陰性/NA	NA	NA	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	2 (単1, 多1)	42	69	NA	陰性/NA	NA/NA	NA	NA	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	<1	51	40	陰性	陰性/NA	NA/NA	NA	NA	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	<1	53	54	陰性	陰性/陰性	陰性/陰性	NA	37,900	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	<1	109	41	陰性	陰性/陰性	NA/NA	NA	34,800	CMV (+)
-	-	-	-	-	-	-	-	-	<1	28	53	陰性	陰性/NA	NA/NA	NA	NA	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	30 (単29, 多1)	102	59	NA	陰性/NA	NA/NA	陰性	10,700	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	21 (単18, 多3)	163	33	異型リンパ球	陰性/陰性	陰性/NA	NA	NA	EBV (+)
-	-	-	-	-	-	-	-	-	5 (単2, 多3)	40	48	陰性	陰性/NA	NA/NA	陰性	8,390	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	<1	46	45	異型リンパ球	陰性/陰性	陰性/陰性	陽性	2,070	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	1 (単1)	88	49	異型リンパ球	陰性/NA	NA/NA	NA	NA	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	<1	25	61	陰性	陰性/NA	NA/NA	NA	NA	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	<1	22	61	陰性	陰性/NA	NA/NA	NA	NA	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	<1	37	72	陰性	陰性/陰性	陰性/陰性	NA	610	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	<1	34	59	NA	NA/NA	NA/NA	NA	NA	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	<1	61	67	NA	陰性/陰性	陰性/陰性	NA	NA	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	1 (単1)	27	57	陰性	陰性/陰性	陰性/陰性	NA	920	
-	-	-	-	+	-	-	-	-	3 (単3)	73	60	陰性	陰性/陰性	陰性/陰性	NA	89,700	JCV (+)
-	-	-	-	-	-	-	-	-	92 (単8, 多84)	252	52	異型リンパ球	陰性/陰性	陰性/陰性	NA	NA	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	<1	63	61	陰性	陰性/NA	NA/NA	NA	NA	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	1 (単1)	45	48	NA	NA/NA	NA/NA	NA	NA	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	<1	48	56	陰性	陰性/陰性	NA/NA	陰性	310	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	1 (単1)	45	61	NA	NA/陰性	NA/NA	陰性	NA	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	<1	36	58	NA	陰性/NA	NA/NA	NA	NA	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	1 (単1)	77	40	陰性	陰性/陰性	陰性/陰性	NA	366,000	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	1 (単1)	81	37	陰性	NA/NA	NA/NA	陰性	22,900	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	2 (単2)	44	54	陰性	NA/陰性	NA/NA	陰性	NA	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	2 (単1, 多1)	53	55	陰性	NA/陰性	陰性/陰性	陰性	NA	
-	-	+	-	-	-	-	-	-	<1	17	67	陰性	陰性/NA	NA/NA	NA	45,700	

CNS, 中枢神経; HSV, 単純ヘルペスウイルス; VZV, 帯状疱疹ウイルス; EBV, Epstein-Barr ウイルス; CMV, サイトメガロウイルス; HHV, ヒトヘルペスウイルス; BKV, BK ウイルス; JCV, JC ウイルス; ADV, アデノウイルス; PVB, パルボウイルス B19; TOXO, トキソプラズマ; CRYP, クリプトコッカス; Tb, 結核; MAC, 非結核性抗酸菌; PCP, ニューモシスチス肺炎; NA, 未検査; NHL, 非ホジキンリンパ腫; 髄液細胞数中の単, 単核球・多, 多核球; N/A, 実施せず。

くない<sup>2)</sup>。マルチプレックス PCR 法により、感染症を中心に髄膜炎や脳炎の鑑別が可能であることが報告されており<sup>9~11)</sup>、本研究のように PCR により病原微生物の検出や抗原検査が HIV/AIDS 感染者における CNS 合併症の鑑別に重要である。特に、網羅的に病原微生物の解析が可能なマルチプレックス PCR 法は利点が多いと考えられ、本研究では 14 種の病原微生物を同時に測定可能であり、髄液約 1 mL の検体で検査から約 2 時間と短時間で結果が判明し、2025 年 1 月時点で、1 検体当たり約 8,000 円と安価に測定できることは AIDS 患者の CNS 合併症の検索で大きな利点である。FilmArray<sup>®</sup> 髄膜炎・脳炎パネル（バイオメリュー・ジャパン株式会社）は、従来の培養検査などと比べ、細菌 97.5%、ウイルス 90.1%、*Cryptococcus neoformans*/*C. gattii* 52% の陽性一致率を示す網羅的な PCR 法であり<sup>10)</sup>、本邦では 2022 年 9 月に保険収載されている。米国で HIV 患者を対象とした独自に構築した髄膜炎・脳炎のマルチプレックス PCR では、FilmArray<sup>®</sup> 髄膜炎・脳炎パネルを基準とした比較を行い、細菌 89.3%、ウイルス 93.2%、*C. neoformans*/*C. gattii* 100% に陽性一致率であった<sup>11)</sup>。PCR における原因微生物の感度、特異度は病因種によって異なっており、PML における JCV の検出感度・特異度はそれぞれ 50~90%、90~100%、TOXO 脳症はそれぞれ 50~80%、約 100% などと原因微生物によって幅がある<sup>2)</sup> ことからマルチプレックス PCR のみで診断を確定、除外できない点には留意が必要である。本研究で EBV や HHV8 の陽性となった症例は病的意義に乏しく、診断的な意義が明らかではないと考えられた。今後は既存のマルチプレックス PCR 法と比してより良い感度、特異度を持つマルチプレックス PCR キットの開発が重要であると考えられる。一方で、神経症状がないが、PCR にて偽陽性となる原因微生物が検出された場合に関しては病的意義を慎重に検討する必要がある。

HIV/AIDS 患者においては、マルチプレックス PCR による CNS 合併症の原因微生物の検索以外にも、ニューモシスチス肺炎などの呼吸器感染症<sup>12,13)</sup> や下痢などの消化器感染症<sup>14,15)</sup> の鑑別においてもマルチプレックス PCR は有用である。さらに、HIV 感染症は他の性感染症との重複感染が多い<sup>16)</sup> が、B 型肝炎ウイルスや C 型肝炎ウイルスなど HIV 感染との合併が多い感染症を、HIV 感染の判明と同時に感染症の合併の有無を知ることができる検査キットを構築し報告しているグループもある<sup>17,18)</sup>。このように、HIV/AIDS 患者に対しては、髄液以外にもさまざまな用途でマルチプレックス PCR が使用できる機会があると考えられる。

本研究の限界として、単施設での後方視的解析であることや対象症例が比較的少数の解析であることが考えられ

る。本研究で JCV が全例で陽性となり診断が確定した PML に関してもさらに多くの症例の蓄積が必要であると考えられる。次に、本研究用に構築された検査キットを用いているため、他施設でも同じ検査キットを使用して再現性が得られるのかは重要な点であり、また、他の検査法にて中枢神経合併症の診断が得られたが、マルチプレックス PCR で検出されなかった病原微生物があったため、今後、同検査キット、検査法を使用していく中で改善が必要である。また、本試験は本試験用に構築したキットを使用しており、FilmArray<sup>®</sup> 髄膜炎・脳炎パネルなど既存の検出法との比較ができていないため、感度・特異度の優劣がつけられていない。さらに、髄液検査において、髄液細胞診や培養検査、髄液 HIV-RNA 量などが測定されていない症例があることは本研究の問題点であると考ええる。さらに、髄液圧は、中枢神経合併症の診断で有益な情報であるにもかかわらず、ほとんどの症例で診療録から確認できなかったことは問題点である。

## 結 語

HIV/AIDS 患者における CNS 合併症は ART の発展により減少しているが、HIV/AIDS 患者における CNS 合併症の除外は重要である。髄液マルチプレックス PCR 法による病原微生物の検出は、画像検査など他のモダリティを併用することにより病変部の直接的で侵襲的な生検を避け診断に至ることが可能となる。本研究で用いた検査キットは、感度・特異度が明確になっておらず、今後の検討が必要であるが、PML のように病原微生物を早期に検出することにより早期診断が可能となった症例もあった。マルチプレックス PCR 法は網羅的に病原微生物の検出が可能のため、CNS 合併症の迅速な診断を行う上で中心的な役割を果たすと考えられ、本研究で用いたキットの感度や特異度を高め早期診断に役立てることが重要であると考えた。

## 謝辞

本研究にご協力いただいた皆様、特に、マルチプレックス PCR の実施を一手に施行していただいた技術補佐員の横山千晶様、北海道大学病院 HIV 相談室の皆様へ深謝申し上げます。

**利益相反：**本研究において利益相反となる事項はない。

## 文 献

- 1) Hawkins SFC, Guest PC : Multiplex analyses using real-time quantitative PCR. *Meth Mol Biol* 1546 : 125-133, 2017.
- 2) Tan IL, Smith BR, von Geldern G, Mateen FJ, McArthur

- JC : HIV-associated opportunistic infections of the CNS. *Lancet Neurol* 11 : 605-617, 2012.
- 3) Sasaki M, Shimizu N, Zushi Y, Saito T, Tsunemine H, Itoh K, Aoyama Y, Goto Y, Kodaka T, Tsuji G, Senda E, Fujimori T, Itoh T, Takahashi T : Analysis of gastrointestinal virus infection in immunocompromised hosts by multiplex virus PCR assay. *AIMS Microbiol* 4 : 225-239, 2018.
  - 4) Nakano S, Sugita S, Tomaru Y, Hono A, Nakamuro T, Kubota T, Takase H, Mochizuki M, Takahashi M, Shimizu N : Establishment of multiplex solid-phase strip PCR test for detection of 24 ocular infectious disease pathogens. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 58 : 1553-1559, 2017.
  - 5) Veron V, Simon S, Blanchet D, Aznar C : Real-time polymerase chain reaction detection of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* in human samples. *Diagn Microbiol Infect Dis* 65 : 69-72, 2009.
  - 6) Garvey L, Winston A, Walsh J, Post F, Porter K, Gazzard B, Fisher M, Leen C, Pillay D, Hill T, Johnson M, Gilson R, Anderson J, Easterbrook P, Bansi L, Orkin C, Ainsworth J, Phillips AN, Sabin CA : HIV-associated central nervous system diseases in the recent combination antiretroviral therapy era. *Eur J Neurol* 18 : 527-534, 2011.
  - 7) d'Arminio Monforte A, Cinque P, Mocroft A, Goebel FD, Antunes F, Katlama C, Justesen US, Vella S, Kirk O, Lundgren J : Changing incidence of central nervous system diseases in the EuroSIDA cohort. *Ann Neurol* 55 : 320-328, 2004.
  - 8) Shiels MS, Pfeiffer RM, Hall HI, Li J, Goedert JJ, Morton LM, Hartge P, Engels EA : Proportions of Kaposi sarcoma, selected non-Hodgkin lymphomas, and cervical cancer in the United States occurring in persons with AIDS, 1980-2007. *JAMA* 305 : 1450-1459, 2011.
  - 9) Roberts TC, Storch GA : Multiplex PCR for diagnosis of AIDS-related central nervous system lymphoma and toxoplasmosis. *J Clin Microbiol* 35 : 268-269, 1997.
  - 10) Liesman RM, Strasburg AP, Heitman AK, Theel ES, Patel R, Binnicker MJ : Evaluation of a commercial multiplex molecular panel for diagnosis of infectious meningitis and encephalitis. *J Clin Microbiol* 56 : e01927-17, 2018.
  - 11) Sundelin T, Bialas J, de Diego J, Hermanowski M, Leibhan H, Ponderand L, Juanola-Falgarona M, Jones T, Rey M, Johnson S, Pareja J, Caspar Y : Evaluation of the QI-Astat-Dx meningitis/encephalitis panel, a multiplex PCR platform for the detection of community-acquired meningoencephalitis. *J Clin Microbiol* 61 : e0042623, 2023.
  - 12) Rhein J, Bahr NC, Hemmert AC, Cloud JL, Bellamkonda S, Oswald C, Lo E, Nabeta H, Kiggundu R, Akampurira A, Musubire A, Williams DA, Meya DB, Boulware DR : Diagnostic performance of a multiplex PCR assay for meningitis in an HIV-infected population in Uganda. *Diagn Microbiol Infect Dis* 84 : 268-273, 2016.
  - 13) Maartens G, Griesel R, Dube F, Nicol M, Mendelson M : Etiology of pulmonary infections in human immunodeficiency virus-infected inpatients using sputum multiplex real-time polymerase chain reaction. *Clin Infect Dis* 70 : 1147-1152, 2020.
  - 14) Yang S, Li M, Cheng J, Wan G, Zhou Y, Jia H, Wei H, Song R, Sheng L, Wang H, Wang L, Hua W : Diagnostic determination of Norovirus infection as one of the major causes of infectious diarrhea in HIV patients using a multiplex polymerase chain reaction assay. *Int J STD AIDS* 30 : 550-556, 2019.
  - 15) Verma A, Hine AM, Joelson A, Mei R, Pitts RA, Lebwohl B, Axelrad JE : The influence of hospitalization and HIV severity on gastrointestinal PCR panel evaluation of HIV-related acute diarrhea in New York City : a retrospective, cross-sectional study. *Therap Adv Gastroenterol* 15 : 17562848221092593, 2019.
  - 16) 松川敏大, 遠藤知之, 長井惇, 宮島徹, 須藤啓斗, 長谷川祐太, 荒隆英, 後藤秀樹, 豊嶋崇徳 : HIV 陽性者における性感染症の実態. *日本エイズ学会誌* 26 : 132-138, 2024.
  - 17) Zhou L, Gong R, Lu X, Zhang Y, Tang J : Development of a multiplex real-time PCR assay for the detection of *Treponema pallidum*, HCV, HIV-1, and HBV. *Jpn J Infect Dis* 68 : 481-487, 2015.
  - 18) Hsieh YH, Rothman RE, Laeyendecker OB, Kelen GD, Avornu A, Patel EU, Kim J, Irvin R, Thomas DL, Quinn TC : Evaluation of the centers for disease control and prevention recommendations for hepatitis C virus testing in an urban emergency department. *Clin Infect Dis* 62 : 1059-1065, 2016.

## Multiplex PCR on Cerebrospinal Fluid to Diagnose Central Nervous System Complications in AIDS Patients

Toshihiro MATSUKAWA<sup>1,2)</sup>, Tomoyuki ENDO<sup>1,2,3)</sup>, Asako MORIKI<sup>2,4)</sup>, Jun NAGAI<sup>2,4)</sup>,  
Toru MIYAJIMA<sup>2,4)</sup>, Yuta HASEGAWA<sup>1,2)</sup>, Takahide ARA<sup>1,2)</sup>, Hideki GOTO<sup>1,2)</sup>  
and Takanori TESHIMA<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup> HIV Infection Medical Support Center, <sup>2)</sup> Department of Hematology, and  
<sup>3)</sup> Department of Infection Control and Prevention, Hokkaido University Hospital,  
<sup>4)</sup> Japan Foundation for AIDS Prevention

**Background** : Prompt diagnosis of central nervous system (CNS) complications in HIV/AIDS patients is crucial. Cerebrospinal fluid (CSF) tests require pathogen-specific PCR, which is expensive and time-consuming. Multiplex PCR facilitates rapid detection of multiple pathogens simultaneously. This study aimed to evaluate the utility of multiplex PCR in diagnosing CNS complications in AIDS patients.

**Methods** : We retrospectively studied AIDS patients diagnosed at Hokkaido University Hospital between July 2018 and March 2024. CSF samples were analyzed using a multiplex PCR kit designed for this study, which could detect 14 pathogens. Written informed consent was obtained from all participants.

**Results** : Among 33 AIDS patients identified during the study, CSF samples from 31 patients (93.9%) were analyzed with multiplex PCR. CNS complications were identified in 11 patients (35.5%), including progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) and HIV-associated encephalopathy (3 cases each), toxoplasmic encephalitis, cytomegalovirus (CMV) encephalitis, cryptococcal meningitis, brain abscess, and cerebral arteritis (1 case each). Multiplex PCR successfully detected JC virus in all PML cases and CMV in CMV encephalitis cases. However, PCR did not detect toxoplasmic encephalitis; it was diagnosed through biopsy and antigen testing.

**Conclusion** : While multiplex PCR in the current study proved effective for diagnosing some CNS complications in AIDS patients, specific pathogens could not be detected. Enhancing the detection capabilities of multiplex PCR for underdiagnosed pathogens remains a challenge for future research.

**Key words** : AIDS, central nervous system complications, multiplex PCR