

2、学会発表

1、川畑拓也、大竹徹、森治代、小島洋子、大石功、HIV感染に対してリスクの高い行動を取る集団における HIV 抗体調査、第14回近畿エイズ研究会学術集会(大阪) (2000年)。

2、川畑拓也、大竹徹、森治代、小島洋子、大石功、HIV感染に対してリスクの高い行動を取る集団における HIV 抗体調査、第75回日本感染症学会総会 (奈良) (2001年)。

3、大竹徹、HIV治療のためのウイルス学的検査、第75回日本感染症学会総会、(奈良) (2001年)。

知的財産の出願と登録 なし

地方衛生研究所におけるHIV検査体制について（福岡県）

班員研究者 千々和 勝己（福岡県保健環境研究所）

研究協力者 江藤 良樹（福岡県保健環境研究所）

柏木 征三郎（国立病院九州医療センター、元九州大学医学部）

研究要旨

当研究所は、保健所を窓口とする HIV 抗体検査においては、保健所で実施したスクリーニング検査の結果が陽性の者について、確認検査のみを行っている。今年度は、それまで使用していたスクリーニング試験のキットが製造中止となり、新たに使用するキットを選定し、それに伴い確認試験法も変更した。また、従来より行っていた、県下の2病院を受診した HIV-1 感染者について、そのプロウイルスのサブタイプ決定と、末梢血リンパ球からのウイルス分離も継続して実施した。それらの結果を報告するとともに、今後地域におけるエイズ研究センターとしての当研究所の果たすべき役割について考察した。

A. 研究目的

これまで行ってきた保健所を窓口とする HIV 抗体検査について再検討を行い、今後の検査体制のあるべき姿を検討する。また、エイズ拠点病院との連携により、HIV のサブタイプの分布の解析を行い、福岡県における HIV 感染の実態を分子疫学的に解明するとともに、HIV の分離を行い、薬剤耐性等のウイルス学的な性状を解析し、治療に有用な情報の提供も目的とする。さらに、今後の地域におけるエイズ研究センターとしての、地方衛生研究所の役割を検討することを目的とする。

B. 研究方法

（1）HIV 血清検査

保健所で採血された検体について、1987 年から 1993 年の 3 月までは当研究所で、それ以降は 2000 年 6 月まで、県内 4 箇所の検査保健所で抗体スクリーニング試験を行った。検査には、アボット社製の EIA 法によるキットを用いた。また、同キットが製造中止となった 2000 年 7 月からはビオメリュー社のバイダスアッセイキット HIV デュオを用いて、抗原・抗体の同時スクリーニング試験を行っている。

確認試験は、当初はデュポン社製の、以後は

富士レビオ社製のウェスタンブロット法によるキットを用いた。また、バイダスキットを用いるようになってからは、ロッシュ社製のアンプリコア HIV-1 モニターを用いて PCR 法による血清中の HIV-1 RNA の検出も併せて行っている。

（2）分子系統樹解析による HIV-1 のサブタイプの決定

九州大学医学部附属病院総合診療部と国立病院九州医療センターを受診した HIV-1 感染者については、プロウイルスのサブタイプの決定を試みた。その方法は、感染者の末梢血リンパ球（PBMC）から抽出・精製した DNA をサンプルとし、env 領域については、C2/V3 領域を含む約 320 塩基について、また、gag 領域については、約 410 塩基について分子系統樹解析を行いサブタイプを決定した。

（3）HIV-1 の分離

HIV-1 の分離は、感染者の PBMC と健常者の PBMC を混合培養することにより実施し、培養上清中の HIV-1 抗原をアボット社製 EIA 法で検出し、分離を確認した。

C. 結果

（1）HIV 抗体検査

福岡県では、1987 年 2 月から HIV に対する抗

体検査を開始した。当初は、福岡市、北九州市の両政令市で採血された血清についても検査を当研究所で行っていたが、1988年からはそれぞれの市で独自に検査を実施するようになった。また、1993年4月からは、保健所で採血後、抗体スクリーニング検査は、県下4箇所の検査保健所で実施するようになった。両政令市分を除く検査件数の推移を、図1に示す。開始した最初の年には638件の検査を行ったが、その後4年間は100件前後と少ない数であった。しかし、1992年に1207件、1993年には1390件と急増し、その後2年間は減少したものの1996年には再び1200件を超えた。その翌年には再び減少し2000年に至るまでは、400から600件で推移している。

各年の検査件数と、スクリーニング試験では陽性でありながら確認検査では陰性となったいわゆる偽陽性数、確認試験でも陽性であった例数を表1に示す。アボット社のEIA法のキットでは、全部で11件が偽陽性を示した。また、2000年7月から使用している抗原・抗体同時検出キットでは、3件が偽陽性を示した。確認検査でも陽性であったものは、2件であった。

(2) サブタイプの決定

HIV-1 プロウイルスの env 領域または、gag 領域の塩基配列を決定できたものについて、そのサブタイプを決定した。1991年の研究開始以来54名について、env または gag 領域についてサブタイプを決定できた。それらを感染経路別に示したものが、表2である。サブタイプBと判定した32例中15例が血液製剤関連による感染例で、14例が男性同性間性的接触による感染であり、2例が異性間性的接触による感染であった。また、サブタイプA/E(E型)の3例は、全て異性間性的接触による感染例であった。また、外国人にサブタイプAが1例、C/A、C/Eの様なリコンビナントが疑われる例が2例見られた。

(3) HIV-1 の分離

1991年の研究開始以来の HIV-1 分離総数は、147株となった。その感染経路別、サブタイプ別の分離株数を表3に示す。

D. 考察

過去14年間の福岡県における HIV 抗体検査の結果をまとめた。検査受診者数は1993年の1390件を最高とし、以後は1996年を除き減少傾向にあり、ここ3年間は600件前後でほとんど変化がない。このことは、全国の傾向¹⁾ともほぼ一致している。HIVの流行は潜在化し、拡大化しつつあると考えられるので、今後感染者を発見し、早期治療の機会を与えるためにも、受診者数を再び増加させることが重要である。

次に偽陽性率は、アボット社のキットでは何度かの内容の変更があったが、全体では0.13%(11/8568)であった。また、ビオメリュー社製のキットになってからは、まだ件数が少ないが、偽陽性率は1.0%(3/290)であった。同社のキットは、抗原も同時に検出するため、ある程度の偽陽性率の上昇は予想されたが、使用開始直後で、操作に熟練していないことも、偽陽性率が高い原因かもしれない。

抗体検査における陽性者は2名であり、全検査数(8858件)に対する陽性率は0.02%だった。これは、全国の主要都道府県の保健所を窓口とした検査における陽性率0.11%よりかなり低い値で、最も陽性率の高い東京都の約1/10であった。¹⁾

サブタイプの分布状況と、HIVの分離状況については、「HIV感染症の疫学研究」報告書²⁾に報告してきたが、本年は、新たな感染者からの検体が非常に少なかったため、前年の報告と大きく変わってはいない。

これまでは、血中RNAの定量に影響を与えかねないサブタイプの情報と、症状のマーカーとしても有用なHIV分離結果について、検体を採取した医療機関に提供してきた。さらに、今後は、直接治療方針を左右する薬剤耐性についての情報が提供できる体制を作り、地域におけるエイズ治療体制に貢献できるようにしていきたいと考えている。

E. 参考文献

1) 今井 光信：血清・遺伝子疫学グループ平成

11 年度総括報告書 平成 11 年度厚生科学研究費補助金エイズ対策研究事業「HIV 感染症の疫学研究」研究報告書 p313-316.

ズ対策研究事業「HIV 感染症の疫学研究」研究報告書 p371-373.

2) 千々和 勝己他：福岡県における HIV-1 の分子疫学 平成 11 年度厚生科学研究費補助金エイ

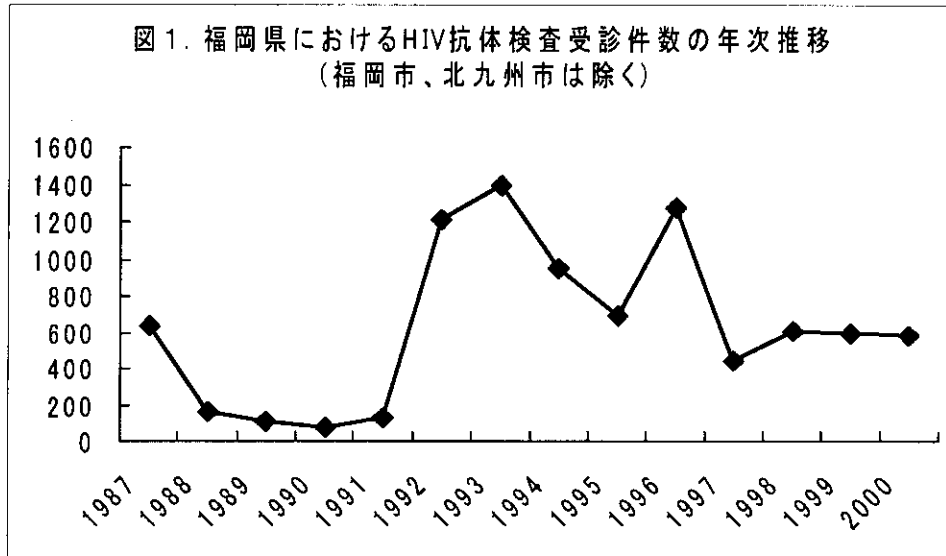


表 1. 年次別 HIV 血清検査件数、偽陽性数、陽性数

年	検査件数	スクリーニング [*] 偽陽性数	確認試験陽性数
1987	638	2	0
1988	164	0	0
1989	105	0	0
1990	81	0	0
1991	135	0	0
1992	1207	4	0
1993	1390	1	0
1994	954	0	0
1995	688	0	0
1996	1281	0	1
1997	438	0	0
1998	605	2	0
1999	591	2	1
2000(1-6)	291	0	0
2000(7-12)	290	3	0
合 計	8858	14	2

表 2. 感染経路別のサブタイプ(gag/env)の分布

感染経路	B/B	B/ND*	ND/B	A/E	A/A	C/A	C/E
血液製剤	15	7	1				
男性同性間性的接触	14	7					
異性間性的接触	2	1		3	1**		
薬物乱用	1**						
不明						1**	1**
合計	32	15	1	3	1	1	1

* not determined

** 外国人

表 3. 感染経路別、サブタイプ別 HIV-1 分離株数

感染経路	分離株数	分離感染者数	サブタイプ B	サブタイプ E
血液製剤	90	11	90	0
男性同性間性的接触	52	10	52	0
異性間性的接触	4	2	2	2
薬物乱用	1	1	1	0
合計	147	24	145	2

血液センターにおけるH I V検査体制に関する研究： 日赤のH I V検査体制の検討と他機関との連携について

分担研究者 山中 烈次（日本赤十字社事業局血液事業部次長）

研究要旨

輸血によるウイルス感染の防止を目的に行っている献血血液に対するH I V、HBV、HCVの核酸増幅検査による安全対策、H I V検査等に関してその現状と成果、今後さらに必要な対策について報告する。

日本赤十字社では1997年11月から北海道千歳市にある血漿分画センターで血漿分画製剤の原料血漿について、H I V、HBV、HCVの核酸増幅検査（NAT）を実施したのを始め、1999年10月からは全献血者の血液についてNATを実施している。更に、2000年8月からは採血後の有効期限が72時間以内の血小板製剤についてもNAT結果を確認し、供給するように全国の血液センターのコンピュータ・システムを変更した。

全献血者の血液についてNATを実施し、その結果を血液センターに伝達し、NAT済みの輸血用血液だけを供給することが可能になったのは①NAT実施施設の建設・改築 ②NAT用検体の全国統一 ③NAT用検体の輸送体制の確立 ④NAT用検体作製装置の開発 ⑤NAT用試薬・自動機器の開発 ⑥NAT実施施設と血液センター間のコンピュータのオン・ライン化等を各々の専門メーカーと共同開発を行ってきた結果である。

NAT実施には高度な技術、特別な施設、多額の費用が必要であり、また、災害等の危機管理を考慮し、現在、NATは北海道千歳市、東京都大田区、京都府福知山市の3カ所で実施している。

全国の血液センターは当日採血されたNAT用検体を当日夕方から夜中にかけてNAT実施施設に送付し、その間に終了した血清学的検査結果をコンピュータにより送信する。NAT実施施設は24時間、365日稼働しており、夜中に検体を受取り、血清学的検査陰性の検体を自動選別装置で抜き取り、自動NAT用検体作製装置によりプーリングした検体を用いて、NATを実施し、翌朝にNAT結果を血液センターに送信し、100% NAT済の血小板製剤の供給に対応している。

NATの手法は主に血清学的ウィンドウ期に献血された血液の排除に有効である。1999年7月から2001年2月までに8,072,781検体に対してNATを実施し、HBV119例、HCV27例、HIV4

例の計150例を検出し、血小板製剤を含むNAT陽性血液を輸血用血液から除外した。また、この150例について再度、血清学的検査を実施し、陰性であることを確認している。

平成12年1月から12月までの献血者は5,877,971人で、その内、HIV陽性は67件であったが、すべて輸血に供されるのを防いだ。67件の内3件はHIV抗体陰性でNATのみ陽性であり、これらの献血者はごく最近HIVに感染したと考えられる。性別では男性63件(94%)、女性4件(6%)、年齢では20才代28件(42%)、30才代26件(39%)、献血地域では東京を中心とした関東地域で44件(66%)、大阪を中心とした関西地域で10件(15%)となっており、東京地区の20才代の男性にHIV陽性が多く見つかっている。

血液センターでは献血血液のHIV検査とは別に、献血時に全国统一の問診票を用いて問診を実施し、HIV検査目的の献血者とHIVに感染している可能性の高い献血者を排除している。更に、献血者全員に対してエイズ感染に心配のある場合は献血血液を使用しない連絡をお願いするHIVの自己申告制を行っている。

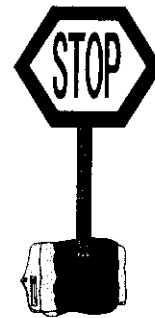
ウインドウ期の献血血液増加の要因として、HIV検査目的の献血者の増加(マグネット効果)が問題とされている。その一因として行政による無料匿名検査体制において受診時間の制約、予約の繁雑さ、結果を得るまでの時間、NATが未実施等の問題点が考えられ、当研究班ではその対応について検討を行っている。

ウィンドウ期のウイルス血症血液 NATによる検出

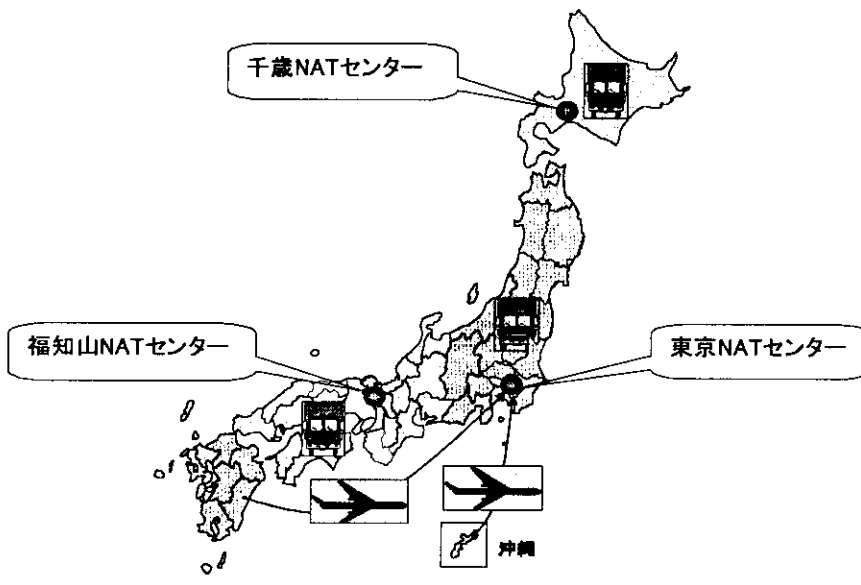
期間： 1999.7.1～2001.2.28

検査検体数： 8,072,831

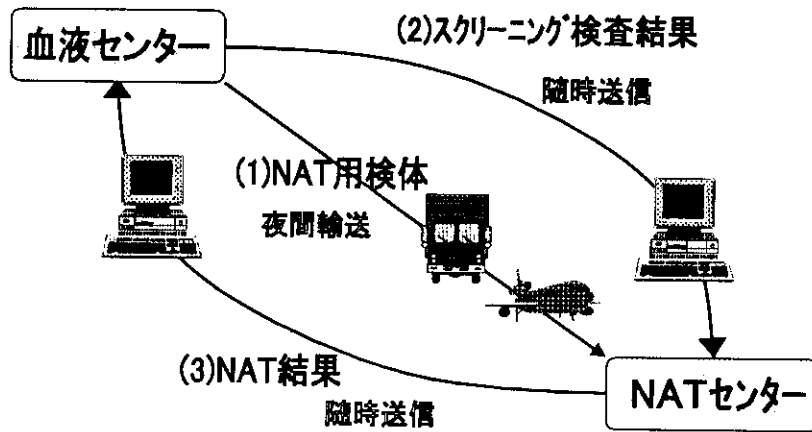
ウイルス	陽性数
HBV	119
HCV	27
HIV	4



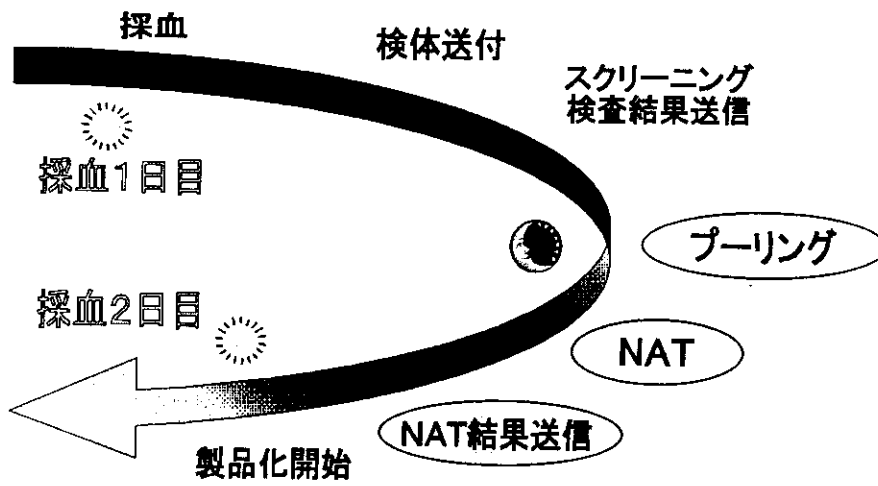
NAT実施施設とNAT用検体の送付

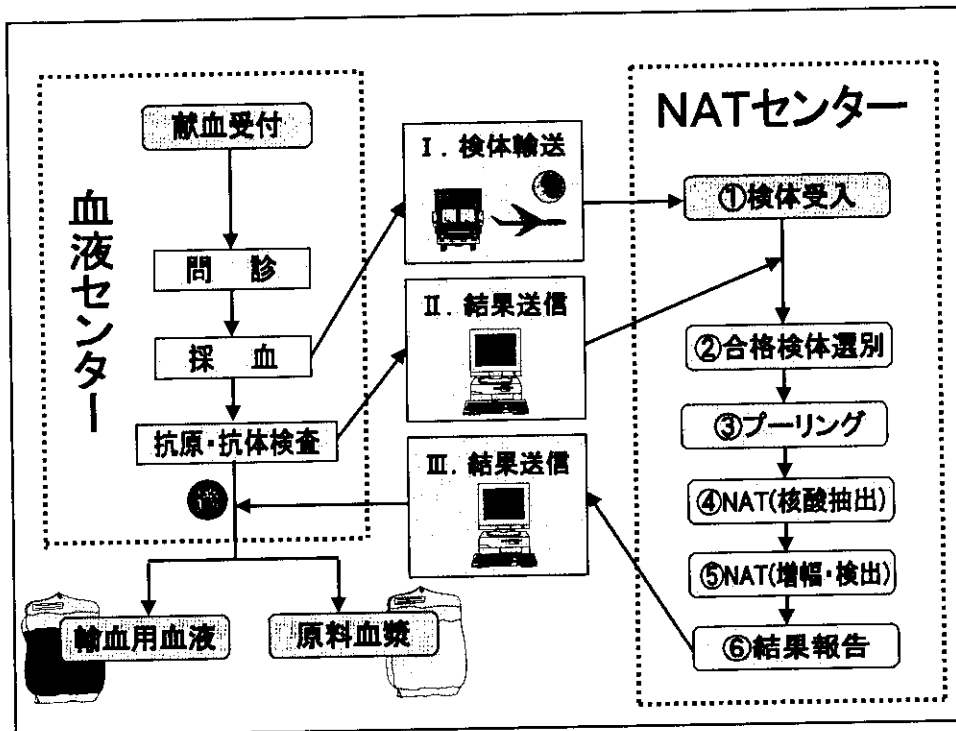


NAT用検体と検査データの流れ



NATのタイムスケジュール





HIV サブタイプと HIV 検査体制の確立に関する研究

分担研究者	近藤真規子	(神奈川県衛生研究所ウイルス部 主任研究員)
班員研究者	速水正憲	(京都大学ウイルス研究所附属免疫不全ウイルス 研究施設 教授)
	市村 宏	(金沢大学医学部医学科国際保健学講座 教授)
	山本直彦	(名古屋大学大学院医学研究科国際保健医療学 助教授)

研究要旨

HIV-1は遺伝子の差異によってM、N、Oの3つのグループに分類され、この内、世界中で大きな流行となっているのはMグループで、Mグループは現在までA、B、C、D、E、F、G、H、J、Kの10のサブタイプに分類されてる。

世界各地で流行している HIV のサブタイプの分布には特徴があり、たとえば東南アジアではサブタイプ E が、欧米ではサブタイプ B が主に流行している。また、アフリカでは全てのサブタイプが検出されているが、最近ではサブタイプ A と C が流行の中心となっている。しかしながら、交通網の発達や人々の交流範囲の拡大に伴い、各地域で検出されるサブタイプは多様化してきている。また、各種サブタイプのリコンビナントも報告されるようになってきた。

そこで我々は、現状の HIV 検査体制をより確実なものとするため、日本や各地域で流行している HIV のサブタイプを解析し、検査法等 HIV 対策の問題点等を明らかにすると共に新しい検査法の開発や改良法の検討を行っている。今年、我々は以下の4課題について検討した。

- 1) 日本における HIV-1 サブタイプの解析
- 2) 既知サブタイプとは異なる HIV-1 の検出法の確立
- 3) HIV-1 重感染個体内におけるサブタイプ/グループ別ウイルスコピー数の定量
- 4) パキスタンにおける HIV の分子疫学的解析

これらの詳細については、各班員の個別報告書に記載した。

日本における HIV-1 サブタイプの解析

分担研究者 近藤真規子（神奈川県衛生研究所ウイルス部）

研究協力者 伊藤章、川田かおる（横浜市大医学部）、相楽裕子、坂本光男（横浜市民病院）、岩本愛吉（東大医科研）、野口有三、宇宿秀三（横浜市衛研）、齋藤隆行、今井光信（神奈川衛研）

研究要旨

日本で流行している HIV の特徴を明らかにするため、env C2V3 領域についてサブタイプを決定し、感染経路別、国籍別にサブタイプの解析を行った。男性同性間の性行為による感染ではほとんどがサブタイプ B であった。一方、異性間性行為による日本人感染ではサブタイプ E が最も多く、ついでサブタイプ B、少数ではあるがサブタイプ A、C、D、G が検出された。外国籍では東南アジアが最も多く、そのほとんどはサブタイプ E であった。その他、アフリカや南米出身者からはサブタイプ A、C、F や A/C リコンビナントウイルスが検出されており、これらはそれぞれの国の流行状況を反映しているものと考えられた。

異性間における日本人感染者について、HIV 感染が判明した年とサブタイプの関連について解析した結果、男女ともサブタイプ E は 1994 年以降増加していることが確認された。また、女性感染者では 1994 年以降、サブタイプ E の他に A、C、D 等も増加傾向が認められた。異性間性行為による感染で、サブタイプが多様化していることが確認された。

2000 年 1 月から 12 月の献血において HIV 感染が判明した 67 例の内 34 例についてサブタイプを解析した結果、サブタイプ B が最も多く (76%)、ついでサブタイプ E が 9%、サブタイプ A が 3% であり、1999 年までの結果と同様の傾向を示した。

A. 研究目的

HIV-1 は遺伝子の差異によって M、N、O の 3 つのグループに分類され、この内、世界中で大きな流行となっているのは M グループで、M グループは 10 のサブタイプに分類されている。日本で見られるサブタイプは従来は B が主流であったが、近年、異性間性的接触による感染では、

サブタイプ E が増加している。また、最近では少数ながらサブタイプ B、E 以外の A や C 等も報告されるようになった。

私たちは日本で流行している HIV の特徴を明らかにするため、サブタイプの解析を行った。

B. 研究方法

1. 2000 年未までに当研究室に依頼のあった HIV 感染者検体（リンパ球および血漿）を用いて感染経路別にサブタイプを解析した。解析方法は、サブタイプ B または E の流行地（日本、北米、東南アジア等）での感染例については、PCR によるサブタイプ B と E の簡易鑑別法および env V3 領域のペプチドを用いた ELISA 法により行った。これらの方法で判定が困難であった症例、サブタイプ B、E 以外の流行地（アフリカ等）での感染例および感染地不明例については、env C2V3 領域の塩基配列を決定後、neighbor-joining 法により系統樹を作成し、サブタイプを決定した。

2. 献血での HIV 抗体、あるいは HIV 遺伝子陽性検体について、HIV 遺伝子を抽出し、env C2V3 領域について上記方法でサブタイプを決定した。

C. 研究結果

1. 感染経路別 HIV サブタイプの解析（図 1-3）

日本人の男性同性間性行為による感染では 79 名中そのほとんどがサブタイプ B（97.5%）であった（図 1）。

一方、異性間の性的接触による日本人感染者では、サブタイプ E が 58% と最も多く、ついでサブタイプ B が 32%、その他（A、C、D、G、F）10% であった（図 1、図 2）。

外国籍では東南アジア出身者が最も多く、そのほとんどがサブタイプ E（95%）であり、サブタイプ B は 5% であった。その他、アフリカや南米出身者からはサ

ブタイプ A、C、F や A/C リコンビナントウイルスが検出されており、これらはそれぞれの国の流行状況を反映しているものと考えられた（図 2）。

日本人感染者について、HIV 感染が判明した年とサブタイプの関連について解析した結果、男女ともサブタイプ E は 1994 年以降増加していることが確認された。また、女性感染者では 1994 年以降、サブタイプ E の他に A、C、D 等も増加傾向が認められた（図 3）。

2. HIV 検査陽性検体（献血）における HIV サブタイプの解析（表 1、図 4）

2000 年（平成 12 年）1 月から 12 月までの献血例数は約 588 万例で、その内 HIV 検査陽性検体は 67 例であった。この内 34 例について HIV-1 envV3 領域のサブタイプを解析したところ、サブタイプ B が 26 例（76%）と最も多く、ついでサブタイプ E が 3 例（9%）、サブタイプ A が 1 例（3%）であった。本年の献血検体における HIV-1 サブタイプの分布は 1999 年までの解析結果とほぼ同様の傾向を示した。

D. 考察および結語

以上の結果から、日本で流行している HIV-1 のサブタイプは男性同性間性行為による感染ではほとんどがサブタイプ B であるが、異性間性行為による感染では従来のサブタイプ B から最近ではサブタイプ E が増加しており、またこの他にも、少数ながらサブタイプ A、C、D、F、G、A/C リコンビナント等も存在していることが明らかとなった。特に異性間性行為による感染においてサブタイプが

多様化しており、これら多様なサブタイプの分子疫学調査は、HIV 感染実態の解明等に重要であり、迅速な HIV 対策に役立つものと考えられる。

E. 研究発表

論文発表

1. 近藤真規子、今井光信：HIV-1 subtypes detected during 1991-March 1999 in Japan、*Infectious Agents Surveillance Report*、21、141-142 (2000)
2. 嶋貴子、林孝子、近藤真規子、齋藤隆行、川田かおる、伊藤章、相楽裕子、今井光信：マイクロプレートを用いた HIV 抗原抗体同時検出試薬の検討、*医学と薬学*、43、1131-1140 (2000)

学会発表

1. 近藤真規子、宇宿秀三、野口有三、齋藤隆行、川田かおる、伊藤章、白井輝、石ヶ坪良明、坂本光男、相楽裕子、今井光信：The molecular epidemiology of HIV-1 in Yokohama, Japan、第 13 回国際エイズ会議 (2000 年 7 月 7-14 日、ダーバン)
2. 今井光信、林孝子、近藤真規子、西岡久寿弥：Viral dynamics In early stage of HIV Infection、第 13 回国際エイズ会議 (2000 年 7 月 7-14 日、ダーバン)
3. 向出雅一、近藤真規子、鈴木一雄、齋藤隆行、川田かおる、伊藤章、白井輝、石ヶ坪良明、坂本光男、相楽裕子、今井光信：Rapid and sensitive HIV quantification: The Real-Time PCR

based HIV-DNA Quantification Assay、第 13 回国際エイズ会議 (2000 年 7 月 7-14 日、ダーバン)

4. 川田かおる、伊藤章、白井輝、石ヶ坪良明、近藤真規子、齋藤隆行、今井光信、坂本光男、相楽裕子：Comparison with the several methods of measurement of HIV-1 RNA viral load In HIV positive patients with subtype E、第 13 回国際エイズ会議 (2000 年 7 月 7-14 日、ダーバン)
5. 近藤真規子、嶋貴子、齋藤隆行、島崎緑、齊藤由美子、川田かおる、伊藤章、相楽裕子、今井光信：Transcription mediated amplification (TMA) 法による HIV-1・RNA 検出、第 48 回日本ウイルス学会 (2000 年 10 月 12-14 日)
6. 向出雅一、近藤真規子、齋藤隆行、嶋貴子、須藤弘二、西澤雅子、鈴木一雄、宇宿秀三、野口有三、川田かおる、伊藤章、相楽裕子、山代雅敏、引地一昌、植田昌宏、今井光信：Real-Time PCR 法による簡便で高感度な HIV-1 DNA 定量法の開発、第 48 回日本ウイルス学会 (2000 年 10 月 12-14 日)
7. 近藤真規子、嶋貴子、島崎緑、齊藤由美子、合地研吾、後藤守孝、松田重三、川田かおる、伊藤章、坂本光男、三浦大、相楽裕子、齋藤隆行、今井光信：HIV-1・RNA 検出法の検討 — 各種検査材料による Transcription mediated

amplification (TMA)法の比較、第
14回日本エイズ学会(2000年11月
28-30日)

8. 向出雅一、近藤真規子、西澤雅子、
鈴木一雄、須藤弘二、斎藤隆行、嶋
貴子、宇宿秀三、野口有三、川田か
おる、伊藤章、坂本光男、相楽裕子、
植田昌宏、今井光信：Real-Time
PCR法を用いた簡便で高感度な
HIV-1 DNA および episomal
2-Long Terminal Repeat DNA 定量
法とその臨床的意義、第14回日本
エイズ学会(2000年11月28-30
日)

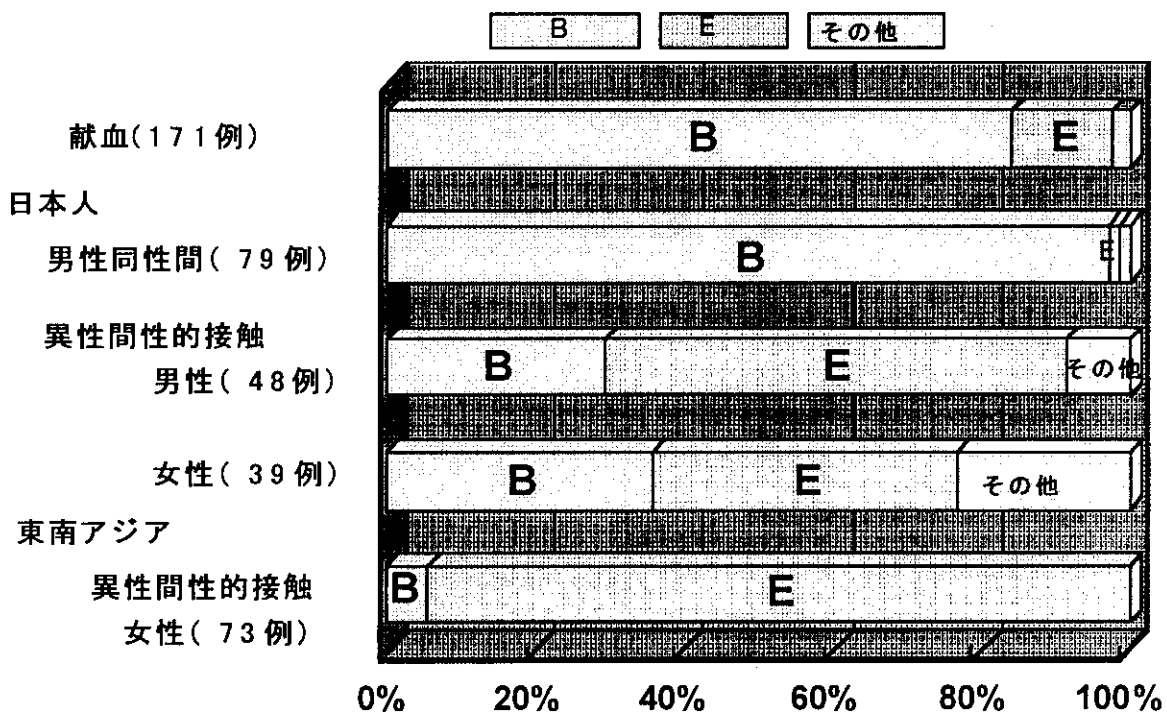


図1 日本におけるHIV-1サブタイプの解析

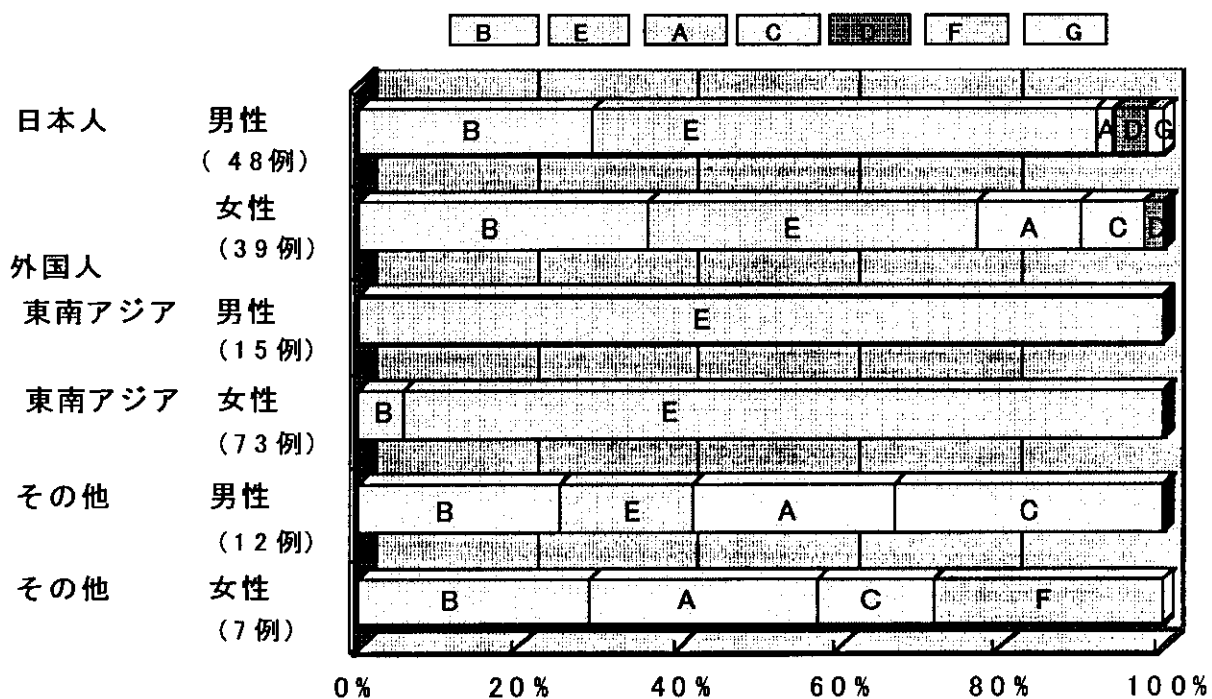


図2 異性間性行為感染におけるHIV-1サブタイプ

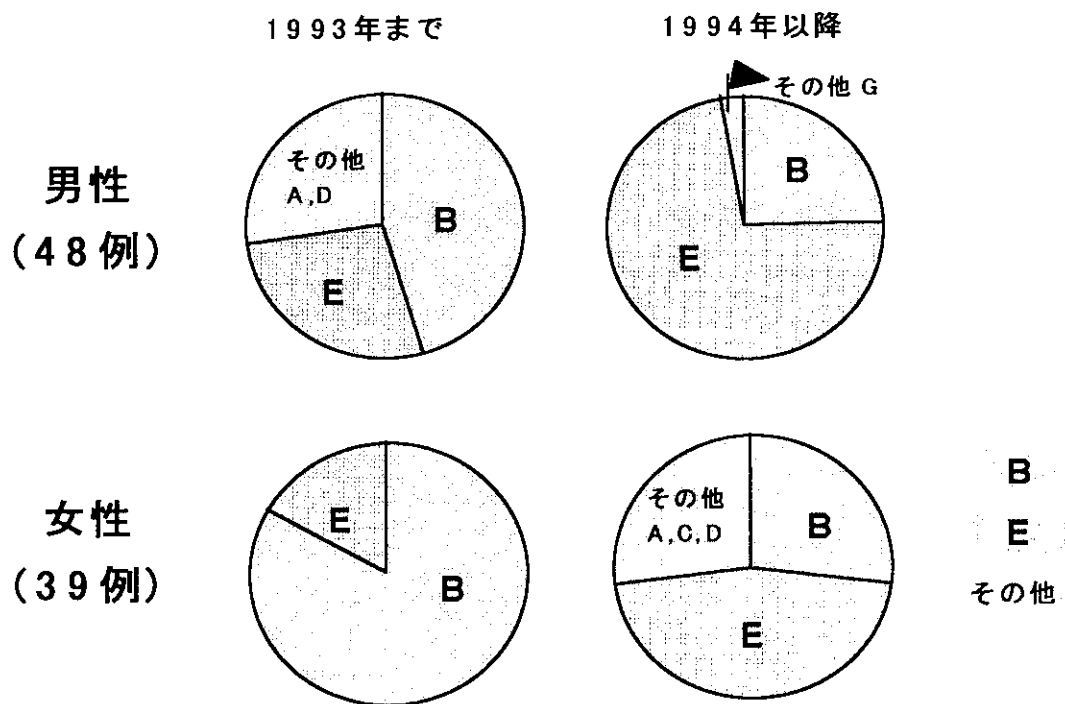


図3 日本人の異性間性行為感染におけるHIV-1 サブタイプの移り変わり

表1 HIV-1 検査陽性血液(献血)のHIV-1サブタイプ

採血年	件数	HIV-1 サブタイプ			
		B	E	A	?
1992～1996	28	24	4		
1997	36	28	6	1	1
1998	37	31	4	2	
1999	36	30	5		1
2000	34	26	3	1	4
合計	171	139 (81%)	22 (13%)	4 (2%)	6 (4%)

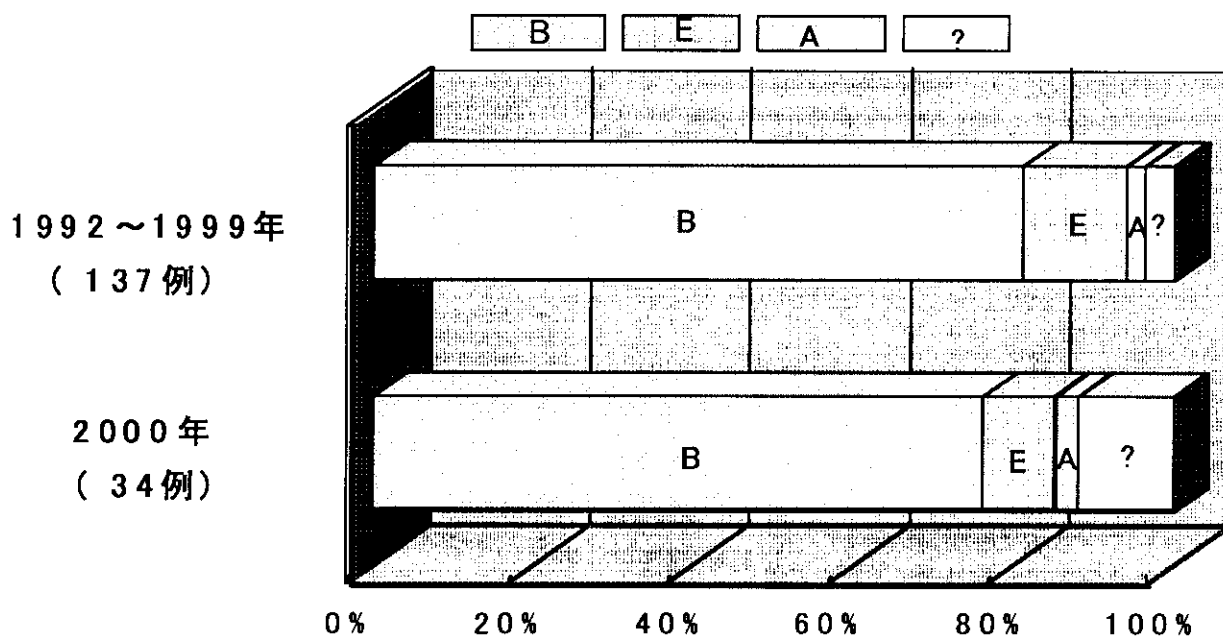


図4 HIV-1 検査陽性血液(献血)のHIV-1サブタイプ

既知サブタイプとは異なるHIV-1の検出法の確立

班員研究者 速水正憲（京都大学ウイルス研究所附属免疫不全ウイルス研究施設）

研究要旨

HIVはその逆転写酵素の複製エラーのため、DNAをゲノムとして持つ通常生物の100万倍の速度で進化しており、これがもたらすHIVの多様性はエイズに対する治療法の確立を困難にしている。本研究では、この変わり身の速いHIV-1の既知のグループ、サブタイプのみならず新型のHIV-1も検出する方法を確立することを目的とし、コンゴ共和国において臨床的にAIDSと疑われた患者の血清より既報のHIV-1の塩基配列を基に作成したプライマーを用いてenvV3遺伝子をPCR法を用いて増幅解析を行った。31株の分子系統解析の結果、29株はHIV-1グループMの既報のサブタイプに属したが、2株はグループMに属するものの既報のどのサブタイプとも異なっていた。このことからこの方法はあらゆるHIV-1グループMを検出でき、従来の抗体検査と併せて用いることで有効な検出法になると考えられた。

A. 研究目的

世界中で猛威をふるっているHIV-1は遺伝的に非常に多様であり3つのグループ（グループM、N、O）が存在し、最も大きなグループであるグループMでは現在まで既にAからJないしKまで10以上のサブタイプが報告されている。現在のHIVの検出法は抗体検査が主流であるがHIV-1グループNのように抗体検査のみでは検出できなかったウイルスもあり、抗体検査の他に新たなHIVの検出法の確立が求められている。本研究では新たな型のHIV-1の出現にも対応できるHIV-1の検出法の確立を目的とした。

B. 研究方法

ウイルス感染個体としては、HIV-1の起源と進化を解明するうえで最も重要な地域と考えられていると同時に新たな型のウイルスが出現する可能性が高いアフリカ中央部に位置するコンゴ共和国の2大都市ブラザヴィル（首都）とポントノールにおいて主として臨床症状から見てAIDS患者31名より採血を行った。採取された血液より末梢血単核球(PBMC)を分離しDNAを抽出した。抽出したDNAから外皮蛋白をコードす

るenv遺伝子領域を既報のHIV-1の塩基配列を基に作成したプライマーを用いPCR法でウイルスDNAを増幅し、その塩基配列を決定した。既に報告されているウイルス株の塩基配列も含め新たに解析したウイルス株の塩基情報を基に詳細な分子系統樹を作成し、HIV-1の系統関係を明らかにした。

C. 研究結果

解析の結果、以下に述べる知見が得られた。31株についてのenv遺伝子V3領域の一部についての塩基配列情報が得られた。その分子系統解析から31株はいずれもHIV-1グループMに属するウイルスであったが、そのサブタイプを検討してみると29株は既報のサブタイプに分類できたが（サブタイプ別にみると、サブタイプAが12例、Gが8例、Hが6例で、他にJが2例、Dが1例）、残り2株はサブタイプHに近い系統関係を示すものの既報のいずれのサブタイプにも属さないUnclassified型であった。このことから今回の方法を持ちいることで既報のサブタイプに属さないものも含めたあらゆるHIV-1グループMを検出できることを示唆した。

D. 考察及び結語

以上の結果より、今回用いたPCR法による検出法は従来の抗体検査と併せてもちいることで、これからさらに多様性を増すであろうHIV-1に対するより正確な検出法になり得る。更にこの方法ではPCR法を用いるためその後の遺伝子解析が容易になる。その結果、その都度疫学的な情報収集が可能となり、迅速なHIV-1対策にも直接役立つものと考えられる。

E. 研究発表

論文発表

1. Bikandou,B., Takehisa,J., Mboudjeka,I., Ido,E., Kuwata,T.,Miyazaki,Y.,Moriyama,H., Harada,Y., Taniguchi,Y., Ichimura,H., Ikeda, M., Ndolo,P,J.,Nzoukoudi,M,Y., M'Vouenze, R., M'Pandi,M., Parra,H,J., M'Pele,P. Hayami,M.:Genetic subtypes of HIV type 1 in republic of Congo. AIDS & Human.Retro.,16(7):613-619, 200