

厚生科学研究費補助金
エイズ対策研究事業

東アジア及び太平洋沿岸地域におけるHIV感染症の疫学に関する研究

平成12年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 武部 豊

平成13年(2001年)3月

----- 目 次 -----

I. 総括研究報告書

東アジア及び太平洋沿岸地域におけるHIV感染症の
疫学に関する研究 (1)
武部 豊

II. 分担研究報告書

1) ミャンマーにおけるHIV流行の分子疫学：HIV-1サブタイプ間
組換えウイルスの出現 (2)
武部 豊

2) HIV免疫学・遺伝学的研究に応用可能なコホート研究の開発 (3)
有吉 紅也

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 (4)

IV. 研究成果の刊行物・別刷り (5)

研究課題：「東アジア及び太平洋沿岸地域におけるHIV感染症の疫学に関する研究」

課題番号： H12-エイズ-12110402

主任研究者：国立感染症研究所エイズ研究センター 武部 豊

「アジアにおけるHIV/AIDS流行の分子疫学」

分担研究者：国立感染症研究所エイズ研究センター 有吉紅也

「HIV感染症の免疫学/分子生物学研究に応用可能なコホート研究」

研究要旨 HIV流行が急速に進行しているアジアをフィールドとして、次の2つの柱からなる研究を推進し、本年度、次に述べる研究成果を得た。

(A)「アジアにおけるHIV/AIDS流行の分子疫学研究」(武部班員)

ミャンマー北中部地域にHIV-1サブタイプB', E, Cがco-circulateしており、この地域の世界的にも例を見ない高い感染率を背景として、これらサブタイプ間の複雑な組み換えウイルスが発生していることを明らかにした。

(B)「HIV感染症の免疫学/分子生物学研究に応用可能なコホート研究」(有吉班員)

北タイのランパンでのコホート研究が開始され、免疫不全の進行速度に關与する宿主の免疫学的・遺伝学的要因に関する研究の準備が順調に整備されつつある。また、本研究の免疫学的研究の技術的基盤として、野外株HIV Gagタンパク質のCTLエピトープ抗原提示効率を評価する新しい実験系が確立した。

1. 研究目的

HIV流行が急速に進行しているアジアをフィールドとして、次の研究を推進する。

(A)「アジアにおけるHIV/AIDS流行の分子疫学研究」

(1) 分子疫学的手法によって、アジアにおけるHIV流行形成のメカニズムとその拡大のダイナミクスの解明を目指す。

(2) 合わせて、アジア諸地域におけるHIV浸淫の実態の把握を進め、我が国を含むアジア地域におけるHIV流行の将来動向を探る。

(B)「HIV感染症の免疫学/分子生物学研究に応用可能なコホート研究」

(1) ランパン県病院エイズ専門外来(デイ・ケア・センター)受診患者のレトロスペクティブ調査。

(2) 同センター受診者とその配偶者を対象とした免疫学的・遺伝学的因子とエイズ進行との関連を探るためのプロスペクティブコホート研究の立ち上げ。

(3) 野外株HIV Gagタンパク質のCTLエピトープ抗原提示効率を評価する新しい実験系の確立。

2. 研究方法

(A)「アジアにおけるHIV/AIDS流行の分子疫学研究」

アジア各国(タイ、ミャンマー、カンボジア、ベトナム、中国)保健省AIDS予防対策プログラムの協力のもとに感染者血液検体を収集。解析対象は、高リスク集団としては注射薬物乱用者(IDU)、売春婦(CSW)、STD患者、また一般集団の指標となる妊産婦および献血者。

感染者血清、PBMCあるいはウイルス分離株を用いて、HIV-1 gag (p17)およびenv C2/V3領域の塩基配列を決定、系統樹解析によってサブタイプ帰属を判定。

サブタイプ帰属に不一致のある検体については、他領域の塩基配列の解析を加え、recombination breakpointsをSimplot programを用いて検索。

(B)「HIV感染症の免疫学/分子生物学研究に応用可能なコホート研究」

a)ランパン県病院におけるレトロスペクティブ研究
本病院デイ・ケア・センターを1999年10月31日までに受診したHIV感染者を対象に、登録カード、病院カルテから初診時の感染者の人口統計学的デー

タおよび臨床データを調査票に収集、1999年10月31日時点における生存データを解析。

b)ランパン県病院デイ・ケア・センターにおけるプロスペクティブコホート研究

2000年8月より患者のリクルートを開始。夫婦間のHIV伝播について研究する機会を得るために、その配偶者も対象にした。インフォームドコンセントを得た後、インタビューによる質問票記入、臨床的診察を行い、EDTA血液サンプル(5ml)を血算・CD4値検査用、EDTA血液サンプル(7ml)をウイルス量測定用血漿として保存。遺伝因子解析のためのバッフィーコート保存。さらに将来細胞性免疫に関する因子を経過観察する目的でCD4値の比較的高い感染者を選抜し、これらの患者については3ヶ月毎にインタビューによる質問票記入と臨床的診察、6ヶ月毎にさらにCPT(Cell Preparation Tube)チューブ2本(各7~10ml)分の血液サンプルを採取、血漿・リンパ細胞を分離・凍結保存。コホート患者のリクルートは、2001年12月まで行い、2004年3月まで追跡の予定。

c)野外株HIVGagタンパクのCTLエピトープ抗原提示効率評価系の確立

(1) HXB2をもとに、VSV-G pseudotype用HIVベクターを構築。(2)組み換えHIV-1ベクターとVSV-G発現ベクターをCOS7細胞に同時形質導入し、VSV pseudotyped HIV-1を含む培養上清を、患者由来のEB virus transformed B細胞に感染させ標的細胞を樹立。(3)既知のHIVGagエピトープ(p17領域のSLYNAVATL(HLA-A*0201拘束性)およびKYKLVK(HIVW(HLA-A24拘束性))を特異的に認識するCTLラインを作成し、抗原発現効率の評価のためのプローブとして用いた。(4)⁵¹Cr release法により抗原提示効率を比較検討した。(5)野外株Gagを発現するHIVベクター、野外株Gagクローンを組み入れられたリコンビナントワクシニアを作製し、野外株Gagを発現するCTL標的細胞作製系として、標準のワクシニアの系やペプチドパルスの系と比較検討した。

(倫理面への配慮)

研究はすべてunlinked anonymousの手法によって行われる。研究方法による研究対象者に対する不利益について充分の説明を加え、起こりえる危険性

の排除に可能なかぎりの方策をとる。またアジア各国エイズ研究機関との共同研究に関しては各国政府所轄機関の指示する倫理規程に従って遂行されている。なお、タイ国におけるコホート研究の目的・概要については1999年11月にタイ国立衛生研究所より申請、1999年12月にタイ政府保健省医学研究倫理委員会にて協議され、2000年1月に承認された。

3. 研究結果および考察

(A) 「アジアにおけるHIV/AIDS流行の分子疫学研究」 (武部班員)

[ミャンマー] タイに次ぐ東南アジア第2の流行地であるミャンマーの北中部地域における流行の解析

① ミャンマー北中部には、これまでに検出されていたサブタイプB' (タイB型) とE (CRF01_AE)の他に、サブタイプCが20-30%の割合でこの地域に存在すること。またこの地域に分布するサブタイプCの多くが、隣接する雲南省に分布するウイルスと塩基配列上最も近縁性が高いことを明らかにした。

② この地域に、20%の高い頻度でサブタイプB', C, Eの間の様々なタイプ組み換えウイルスが存在することをはじめ明らかにした。ミャンマー北中部の高リスク集団における感染率は、東南アジア地域においても最も高い水準にあり、このことが、co-circulateしている複数のサブタイプ間の高頻度の組み換えに関与していることが示唆された。

③ ミャンマー中部から分離された組換えウイルス株のほぼ完全長の塩基配列を決定し、他の地域に見られない新しいタイプの組換えウイルス (B'/C および E/B') が存在することを見出した。

[ベトナム] ベトナム北部の中国と国境を接する地域に始まった、IDUを中心とする流行のアウトブレイクに関する解析。

① ベトナム北部および南部においてもサブタイプE (CRF01_AE) が唯一の流行株であり、タイとは異なり、性感染者およびIDU共に分布している。またベトナムでの最初の報告例 (1990年) は欧米型のサブタイプB感染者であることも合わせて確認した。

② 系統関係の解析の結果、北部ベトナムのIDU間に流布しているウイルス株は、国境を接する中国南部の広西チワン族自治区 (Guangxi) のIDUの間に分布するサブタイプE株と同一起源のウイルスであることを明らかにし、V3領域のアミノ酸配列の特徴からEv-ヴァリエントと命名した。

(B) 「HIV感染症の免疫学/分子生物学研究に適用可能なコホート研究」

① タイマヒドン大および阪大微研・塩田博士 (研究協力者) との共同研究で、タイをフィールドとしてDiscordant couplesを利用したcross-section studyを行い、CCR5 927T 変異の頻度がdiscordant couplesの非感染パートナーで統計的に有意に高い (4/22 (18.2%) vs 2/158 (1.3%) [対照], $p=0.002$) ことを明らかにし、この変異がタイ人集団において、HIV-1の感染抵抗性を支配する有力な遺伝子多型の一つであることを確認した。

② (有吉班員)

a) レトロスペクティブ研究 - 1995年10月2日より1999年10月31日までに、同センターを受診した感染者の総数1,115名の全体像が把握できた。生存に関しては85%以上の高い追跡率を得ることができ、生存

解析が充分可能なことが実証された。

b) プロスペクティブ・コホート研究 - 2000年7月6日から開始し、2001年1月10日の時点で、計339名の感染者がリクルートされ、血漿・パuffyコートまた選択された感染者についてはリンパ細胞が凍結保存され、今後の遺伝、免疫学的因子研究の準備が進行した。discordant coupleの数は、現時点で21名。

c) 新しいCTLアッセイ系の開発 - HIVをベクターとしてCTLの標的細胞作製系が確立した

4. 評価

1) 達成度について

アジアをフィールドとするHIV流行の分子疫学的解析とタイにおけるコホート研究の立ち上げという2つの研究目標について、全体として順調に目的を達成しつつあると考える。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

(A) 「アジアにおけるHIV/AIDS流行の分子疫学研究」

① 現在、アジア地域では年間130万人以上の感染者が発生し、サハラ以南のアフリカ地域に次ぐ地球上で最も深刻な流行地の一つとなっている。しかし、この地域の急激な流行がどのような起源のウイルス株によって形成され、またどのように拡大しているかはタイを除いては必ずしも解明は進んでいない。本研究は、とりわけ情報の乏しいタイ周辺諸国のHIV流行の形成のメカニズムを明らかにするものとして、その学術的な意義は大きいと考えられる。

② ミャンマーにおいて多様な組換えウイルス株が発生している事実は、世界的にも特異な知見であり、学術的意義は大きい (CDC/Reuter News)。また、このことは、異なるウイルス間のsuper-infectionを防ぐ免疫学的メカニズムは十分に作動しないことを示唆しており、ワクチン開発の困難さを改めて浮きぼりにするものである。

③ アジア地域における流行拡大は我国におけるHIV感染症の将来動向を探る上で、重要な関わりがあると考えられ、その社会的意義は大きいと考えられる。

(B) 「HIV感染症の免疫学/分子生物学研究に適用可能なコホート研究」

a) レトロスペクティブ研究 - サブタイプEに感染した患者群で、抗エイズ薬の生存におよぼす影響を定量化した研究は例を見ない。抗エイズ薬の延命効果を明らかにすることは、医療財政に制約のある国々における抗エイズ薬剤使用指針を考える上で非常に重要な課題と考えられる。

b) プロスペクティブ・コホート研究 - 東南アジアで遺伝因子 (HIV感染・エイズ発症抵抗性の遺伝的背景) や免疫因子 (特にCTLエпитープ認識パターン) と結びつけたコホート研究は例がない。またこの研究を通じてタイ国内の研究者育成が行われ、国際協力につながる貢献が期待される。

c) 新しいCTLアッセイ系の開発 - 従来のワクチンアウイルスを用いたCTL標的細胞や合成ペプチドパルスによる標的細胞と比較し、HIV特異的CTLエピトープ抗原がより効率的に発現され、またより自然界に近いプロセッシングをうけてHLA分子上に抗原提示されることから、CTL標的細胞の作製系として

優れたものと考えられる。また実験室株ではなく感染者由来の野外株をCTL標的細胞に発現させCTL活性測定が出来たことは画期的と考えられる。

3) 今後の展望について

(A)「アジアにおけるHIV/AIDS流行の分子疫学研究」

① 本研究によってミャンマー北中部またベトナム北部の流行と、隣接する中国南部（雲南省、広西省など）の流行との間に密接不可分が関係あることが明らかにされた。この地域の流行のメカニズムの理解に、隣接する中国の流行のより深い理解が必須であり、今後の研究の重点の一つとする。

② ミャンマー北中部に見い出される組換え体は、他の地域のものとは異なり、感染者間で異なる組換え点をもつ極めて多様で特異なもので、組換えがこの地域でまさに *de novo* に発生していることが示唆される。感染者のフォローアップは多くの場合困難と推測されるが、個体内で組換えウイルスの発生・進化の時間経過を追跡する研究を進める。

(B)「HIV感染症の免疫学/分子生物学研究に応用可能なコホート研究」

a) レトロスペクティブ研究 - 感染者をCD4値でグループに分け、HIV関連症状、性別、年齢、CD4値を補正して、multivariate analysisとCox regression modelを解析に加え、さらに詳しく延命効果について考察する。

b) プロスペクティブ・コホート研究 - 2001年12月までリクルートを続け、選択した感染者については、6ヶ月ごとの採血を行い少なくとも2004年3月まで経過観察を続け、それをベースとして遺伝学的・免疫学的研究を推進する。

c) 新しいCTLアッセイ系の開発 - HIVのCTL認識からのエスケープ機構の解明。サブタイプE gagのCTLエピートブ抗原提示効率を評価することによりワクチン開発へ役立てる。

5. 結論

① ミャンマー北中部地域にHIV-1サブタイプB', E, Cがco-circulateしており、これらサブタイプ間の複雑な組み換えウイルスが発生していること。またベトナム北部と隣接する中国広西省のIDUの間でのHIV流行がアウトブレイクが同一起源のサブタイプE株によって形成されていることを明らかにした。

② 北タイのランバンでのコホート研究が開始され、免疫不全の進行速度に関与する宿主の免疫学的・遺伝学的要因に関する研究の基盤が順調に整備されつつある。

③ アジアをフィールドとする疫学研究は、今後のHIV研究に新たな局面を切り開く可能性を秘めていると考えられ、今後、独自性の高い特色ある研究成果が生み出される可能性が期待される。

6. 研究発表 (2000-2001年度)

1) 国内

口頭発表 18件
 原著論文による発表 1件
 それ以外 (レビュー等) の発表 9件

そのうち主な論文発表

1. 武部 豊 (2001). HIV-1 分類・命名法の新ガイドラインとサブタイプ分類を巡る諸問題. ウイルス 50: 123-138 (日本ウイルス学会).
2. 武部 豊 (2000). 感染症の話「エイズ (ヒト後天性免疫不全症候群)」. 感染症週報 (Japan IDWR [Infectious Diseases Weekly Report]) (厚生省ホームページ [http://www.mhw.go.jp]).

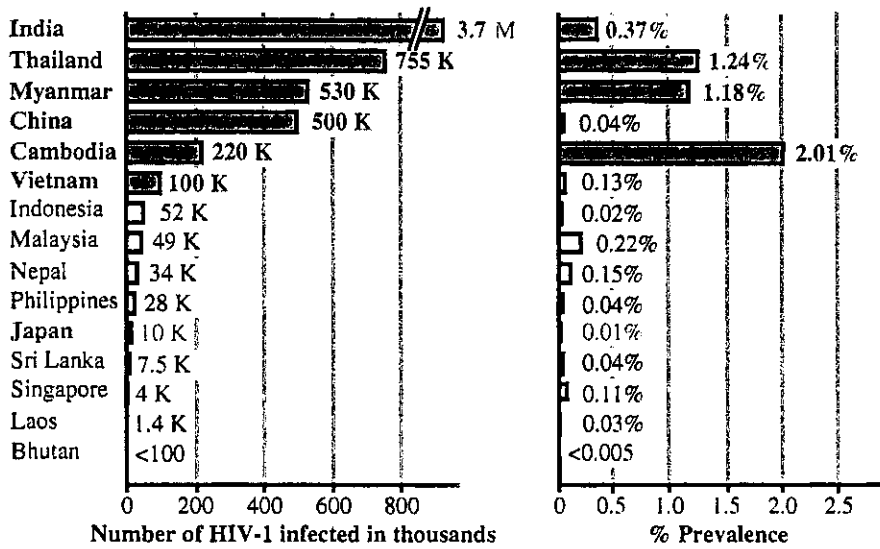
2) 海外

口頭発表 4件
 原著論文による発表 10件
 それ以外 (レビュー等) の発表 0件

そのうち主な論文発表

1. Motomura, K., & Takebe, Y., et al (2000). Emergence of new forms of human immunodeficiency virus type 1 intersubtype recombinants in Central Myanmar. AIDS Research and Human Retroviruses 16: 1831-1843.
2. Kato, K., & Takebe, Y., et al. (2001). Closely Related HIV-1 CRF01_AE Variants among Injecting Drug Users in Northern Vietnam: Evidence of HIV Spread across the Vietnam-China Border. AIDS Research and Human Retroviruses 17: 113-123.
3. Kusagawa, S., & Takebe, Y., & Tatsumi, M. et al. (2001). Isolation and characterization of full-length molecular DNA clones of Ghanaian HIV-1 intersubtype A/G recombinant (CRF02_AG) which is replication-competent in restricted host-range. AIDS Res and Human Retroviruses (in press).
4. Shiino, T., & Takebe, Y., & Sato, H. et al. (2000). A group of V3 sequences of human immunodeficiency virus type 1 subtype E nonsyncytium-inducing, CCR-using variants are resistant to positive selection pressure. J. Virol. 74: 1069-1078.
5. Sato, H., & Takebe, Y. (2000). Convergent evolution of reverse transcriptase (RT) genes between human immunodeficiency virus type 1 subtypes E and B following nucleoside analogue RT inhibitor therapies. J. Virol. 74: 5357-5362.
6. Nakayama, E., & Takebe, Y., & Shioda, T. et al. (2000). Polymorphism in the Interleukin-4 promoter affects acquisition of human immunodeficiency virus type 1 syncytium-inducing phenotype. J. Virol. 74: 5452-5459.
7. Toda, M., & Takebe, Y., & Sakaguchi, M. (2000). Inhibition of Immunoglobulin E response to Japanese cedar pollen allergen (Cry j 1) in mice by DNA immunization: Different outcomes dependent on the plasmid DNA inoculation method. Immunol. 99: 179-186.
8. Uno-Furuta, S., & Takebe, Y., & Yasutomi, Y. et al. (2001). Induction of virus-specific cytotoxic T lymphocytes by *in vivo* electric administration of peptides. Vaccine (in press).
9. Ariyoshi, K. and Whittle, H. (2000). HIV-1 viral load and scrub typhus. Lancet 356: 1776.
10. Berry, N., & Ariyoshi, K., & Whittle H. (2001). Sequence specificity of the human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) long terminal repeat U3 region *in vivo* allows subtyping of the principal HIV-2 viral

図1. HIV-1 infection in Asia (estimated at the end of 1999)



(Source: <http://www.unaids.org> Epidemiological fact sheet on HIV/AIDS and sexually transmitted infections. UNAIDS, 2000)

図2. 東南アジアにおけるHIV-1サブタイプ分布

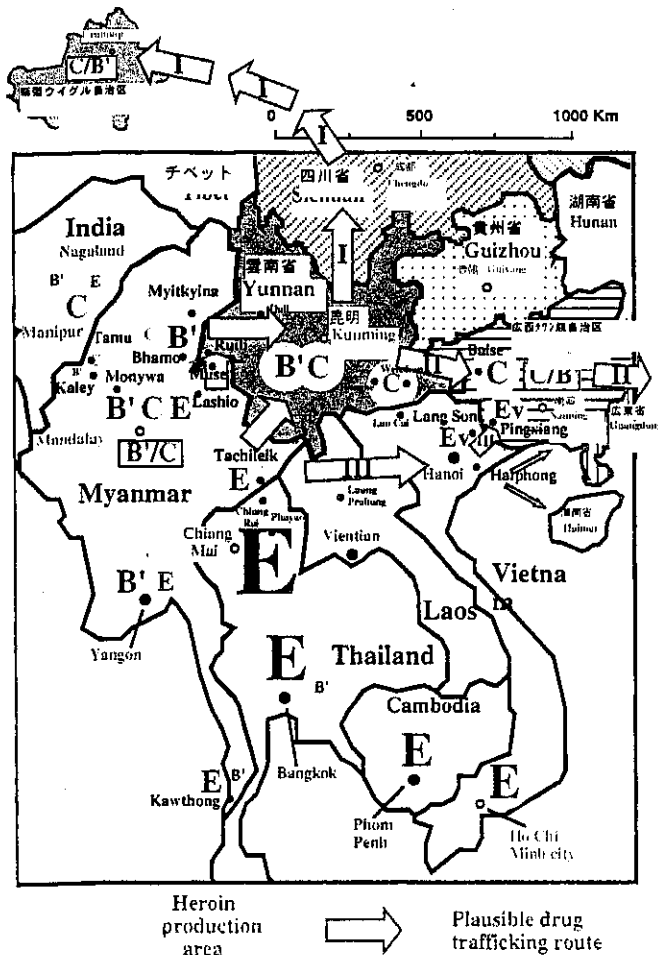


図3. ランバン県病院 Day care center におけるプロスペクティブコホート研究

(1) Unselected cohort

- ・2000年7月より患者のリクルートを開始。夫婦間のHIV伝播について研究する機会を得るために、その配偶者も対象に。
- ・インフォームドコンセント
- ・インタビューによる質問票記入、臨床的診察
- EDTA血液サンプル (5ml) - 血算・CD4値検査用
- EDTA血液サンプル (7ml) - ウイルス量測定用
- 遺伝因子解析のためのバッフィーコート保存。

(2) Selected cohort

- ・細胞性免疫に関する因子を経過観察する目的でCD4値の比較的高い感染者を選抜
- ・3ヶ月毎にインタビューによる質問票記入と臨床的診察
- ・6ヶ月毎にCPT (Cell Preparation Tube) チューブ2本 (各7~10ml) 分の血液サンプルを採取
- 血漿・リンパ細胞を分離・凍結保存。

・コホート患者のリクルートは、2001年12月まで行い、2004年3月まで追跡の予定。

現時点 339例をリクルート (7/6/00-1/10/01)
21 discordant cases

subtypes A and B. AIDS Res Hum Retroviruses 17:
263-267.

7) 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

1. 「(SeV用途) センダイウイルスベクターを用いたワクチンおよびワクチンタンパク」 (永井美之、加藤篤、塩田達雄博士らとの共同出願)
2. 「リボザイム発現系」 (平成13年3月出願)
(大川淳博士および国と共同出願)
3. 「ワクチン増強強化をもたらすBCG α 抗原DNAの利用」 (三重大学医学部 保富康宏, JST 松尾和浩と出願準備中)

[添付資料]

図 1 . アジア地域における HIV 感染者および prevalence rate の推計値 (UNAIDS 1999 年末)

図 2 . アジアにおける HIV 流行に関する分子疫学的研究の成果の最新のまとめ (武部 原図)

図 3 . タイ・ランパンにおけるコホート研究のデザイン (有吉 研究報告書より作成)

分担研究課題：ミャンマーにおけるHIV流行の分子疫学：
HIV-1サブタイプ間 組換えウイルスの出現

班員（主任研究者）： 武部 豊（国立感染症研究所エイズ研究センター）
研究協力者： 本村和嗣，草川 茂，楊 栄閣，加藤佳代子，納富香子
（国立予防衛生研究所 エイズ研究センター）
Hla Htut Lwin, Myint Zaw
（ミャンマー保健省 AIDS 予防対策プログラム）

研究要旨 ミャンマー中部の都市マンダレーに分布するHIV-1サブタイプを分析し、その結果、先に同定されていたタイに由来すると考えられる2種のHIV-1サブタイプ—サブタイプE（CRF01_AE，タイA型ウイルス）とサブタイプB'（タイB型ウイルス）—に加え、この地域に、サブタイプCが約20%の割合で分布していることを明らかにした。またgag(p17)とenv(C2/V3)領域でサブタイプ帰属に不一致（discordance）があるものが6検体（24%）に見い出された。gag(p24)およびアクセサリ—遺伝子領域（vif-vpu）の解析によって、うち4検体にサブタイプB', C間あるいはサブタイプC, B', E間の組換え点が検出されることを確認した。これらの知見は、ミャンマー中部地域には複数のサブタイプのウイルス株がco-circulateしており、またこの地域の世界にも例を見ない高い感染率を背景として、様々な新しいタイプの組換えウイルスが発生していることを示唆する。これらの知見は、この地域を標的とする将来のワクチン戦略立案に重要な基礎情報を与えるものと考えられる。

A. 研究目的とその背景

われわれは、先の研究によって、ミャンマー中部・東北部に、HIV-1サブタイプE（CRF01_AE）とサブタイプB'の他に、未同定のウイルス株が存在する可能性を示唆する結果を得た（Kusagawa et al. AIDS Res. Hum. Retro. 14: 1379-1385, 1998）。そこで、われわれは、ハイリスク集団における感染率が世界的にも例を見ない極めて高いレベルにあるミャンマー中部の都市マンダレーに焦点を当て、分布するウイルスの分子疫学的解析を行い、流行ウイルス株の構造的特徴を明らかにすると共に、アジアにおけるHIV流行の形成のメカニズムの全容を解明したいと考える。

B. 研究方法

- (1) ミャンマー保健省AIDS予防対策プログラムの協力のもとに感染者血液検体を収集。解析対象は、ハイリスク集団としては注射薬物乱用者（IDU）、売春婦（CSW）、STD患者、また一般集団の指標となる妊産婦および献血者である。
- (2) 感染者血清、PBMCあるいはウイルス分離株を用いて、HIV-1 gag(p17)およびenv C2/V3領域の塩基配列をcycle sequencing法によって決定。得られた塩基配列と標準株の塩基配列とのアライメントをもとに、近隣結合法による系統樹を作成し、サブタイプ帰属を決定した。
- (3) サブタイプ帰属に不一致のある検体については、他領域（gag(p24)およびアクセサリ—遺伝子（vif-vpu）領域の塩基配列の解析を加え、recombination breakpointsをSimplot programを用いてdiversity plotおよび、bootscanning法によって検索した。
- (4) ウイルス分離株に関しては、ほぼ完全長の分子クローンの分離の後、全塩基配列を決定し、サブタイプ帰属、組換え点の検索を行った。

（倫理面への配慮）

研究はすべてunlinked anonymousの手法によっ

て行われる。研究方法による研究対象者に対する不利益について充分の説明を加え、起こりえる危険性の排除に可能なかぎりの方策をとる。またアジア各国エイズ研究機関との共同研究に関しては各国政府所轄機関の指示する倫理規程に従って遂行された。

C. 研究結果

- ①注射薬物乱用者（IDU）17検体のうち、nested PCR法によってenv(C2/V3)領域の増幅が確認できた12検体では、サブタイプB'が6検体、サブタイプCが4検体、CRF01_AEが2検体であった。一方、性的ルートによる感染者17検体のうち、増幅した13検体についてみると、サブタイプB'が3検体、サブタイプCが2検体、CRF01_AEが8検体であり、前者でサブタイプB'が、後者でCRF01_AEが多いというタイプと類似した傾向が認められた。
- ②gag(p17)およびenv(C2/V3)領域が共にサブタイプC可能であった25検体のうち、CRF01_AEは10(40%)、サブタイプB'は4(16%)、サブタイプCは5(20%)であり、サブタイプCがこの地域に流布する主要なウイルスサブタイプの一つであることが確認された（図1）。
- ③またこの地域に分布するサブタイプCの多くは、隣接する雲南省に分布するウイルスと塩基配列上最も近縁性が高い（図2）。
- ④興味深いことに、IDUの4検体、性感染者の2検体、計6検体（24%）では、gagおよびenvのサブタイプに不一致（Discordance）が認められ（図1）、組換えウイルスの存在が示唆された。
- ④アクセサリ—遺伝子領域の塩基配列の解析から、これらのうち、2検体がC/B'、1検体はB'/C、1検体はC/B'/Eという、サブタイプ間の様々なタイプの組み換えゲノムを有していることを明らかにした（図3）。

D. 考察

本研究によってはじめて、他の東南アジア諸国で報告されていないサブタイプCの流行が確認された。その多くは、塩基配列上、特に中国雲南省に分布す

るものと近縁であることから、この地域の流行が隣接する中国における流行と密接な関係があることを裏付けるデータと考えられる。

ミャンマーにおいて多様な組換えウイルス株が発生している事実は、世界的にも特異な知見である。その背景には、この地域のハイリスク集団の、世界にも例を見ない高い感染率（IDUが85%、CSWが20%前後）に加え、複数のサブタイプ（B', E, C）のウイルスがco-circulateしている状況があり、多様な組換えウイルスが、on-goingに新生している可能性を示唆する。

このことは、また異なるウイルス間のsuper-infectionを防ぐ免疫学的メカニズム（いわゆるsuperinfection immunity）が十分に作動しないことを示唆しており、ワクチン開発の困難さを改めて浮きぼりにするものと考えられる。

E. 結論／今後の展望

ミャンマー北中部地域にHIV-1サブタイプB', E, Cがco-circulateしており、これらサブタイプ間の複雑な組み換えウイルスが発生している。また、ミャンマーの流行が隣接するタイ、中国（インド）の流行と密接な相互関係があることが裏づけられた。図4に、これまでに得られた知見を総合したミャンマーにおけるサブタイプ分布をまとめる。

これらの知見は、これら地域を対象とするワクチン開発に向けた研究のベースとなるものと考えられる。

F. 研究発表（2000-2001年度）

1) 国内誌

1. 武部 豊 (2001). HIV-1 分類・命名法の新ガイドラインとサブタイプ分類を巡る諸問題. ウイルス 50: 123-138 (日本ウイルス学会).
2. 武部 豊 (2000). 感染症の話「エイズ（ヒト後天性免疫不全症候群）」. 感染症週報 (Japan IDWR [Infectious Diseases Weekly Report]) (厚生省ホームページ [http://www.mhw.go.jp]).

2) 海外誌

1. Motomura, K., & Takebe, Y. et al (2000). Emergence of new forms of human immunodeficiency virus type 1 intersubtype recombinants in Central Myanmar. AIDS Research and Human Retroviruses 16: 1831-1843.
2. Shiino, T., & Takebe, Y., & Sato, H. et al. (2000). A group of V3 sequences of human immunodeficiency virus type 1 subtype E nonsyncytium-inducing, CCR-using variants are resistant to positive selection pressure. J. Virol. 74: 1069-1078.
3. Sato, H., & Takebe, Y. (2000). Convergent evolution of reverse transcriptase (RT) genes between human immunodeficiency virus type 1 subtypes E and B following nucleoside analogue RT inhibitor therapies. J. Virol. 74: 5357-5362.
4. Nakayama, E., & Takebe, Y., & Shioda, T. et al. (2000). Polymorphism in the Interleukin-4 promoter affects acquisition of human immunodeficiency virus type 1 syncytium-inducing phenotype. J. Virol. 74: 5452-5459.

5. Toda, M., & Takebe, Y., & Sakaguchi, M. (2000). Inhibition of Immunoglobulin E response to Japanese cedar pollen allergen (Cry j 1) in mice by DNA immunization: Different outcomes dependent on the plasmid DNA inoculation method. Immunol. 99: 179-186.
6. Kato, K., & Takebe, Y. et al. (2001). Closely Related HIV-1 CRF01_AE Variants among Injecting Drug Users in Northern Vietnam: Evidence of HIV Spread across the Vietnam-China Border. AIDS Research and Human Retroviruses 17: 113-123.8. Uno-Furuta, S., & Takebe, Y., & Yasutomi, Y. et al. (2001). Induction of virus-specific cytotoxic T lymphocytes by *in vivo* electric administration of peptides. Vaccine 19: 2190-2196.
7. Kusagawa, S., Takebe, Y., & Tatsumi, M. et al. (2001). Isolation and characterization of full-length molecular DNA clones of Ghanaian HIV-1 intersubtype A/G recombinant (CRF02_AG) which is replication-competent in restricted host-range. AIDS Research and Human Retroviruses 17 (7): 649-655 (2001).
8. Sato, H., & Takebe, Y. et al. (2001). Novel adaptive changes of human immunodeficiency virus type 1 that involve a 3-nucleotide insertion mutation in an enzyme gene and forward multiple nucleoside resistance. J. Virol. (accepted).

7) 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

1. 「(SeV用途) センダイウイルスベクターを用いたワクチンおよびワクチンタンパク」(永井美之、加藤篤、塩田達雄博士らとの共同出願)
2. 「リボザイム発現系」(平成13年3月出願)(大川淳博士および国と共同出願)
3. 「ワクチン増強強化をもたらすBCG α 抗原DNAの利用」(三重大学医学部 保富康宏, JST 松尾和浩と出願準備中)

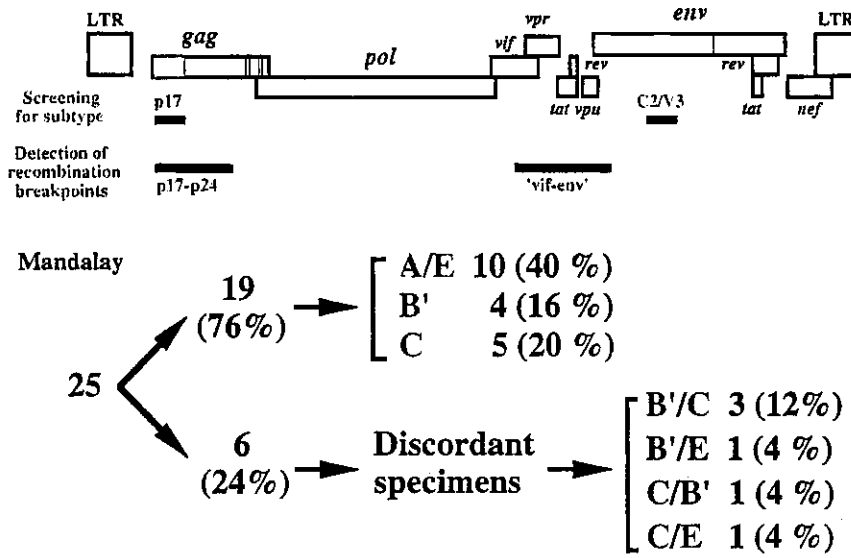


図1. ミャンマー中部の都市マンダレーに分布するHIV-1の*gag* (p17)と*env* (C2/V3) 領域の塩基配列に基づくサブタイプ帰属

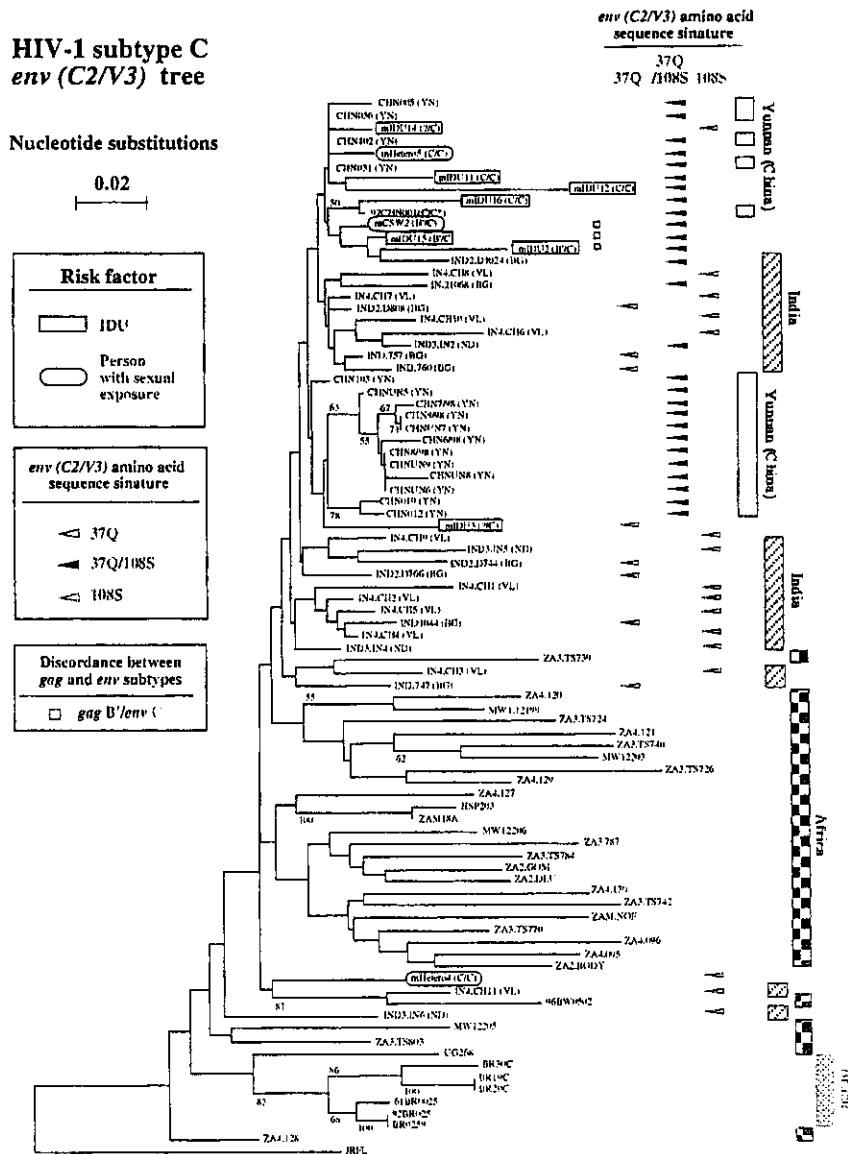


図2. HIV-1サブタイプCの系統関係. *env* (C2/V3)領域の塩基配列に基づく近隣結合法による系統樹

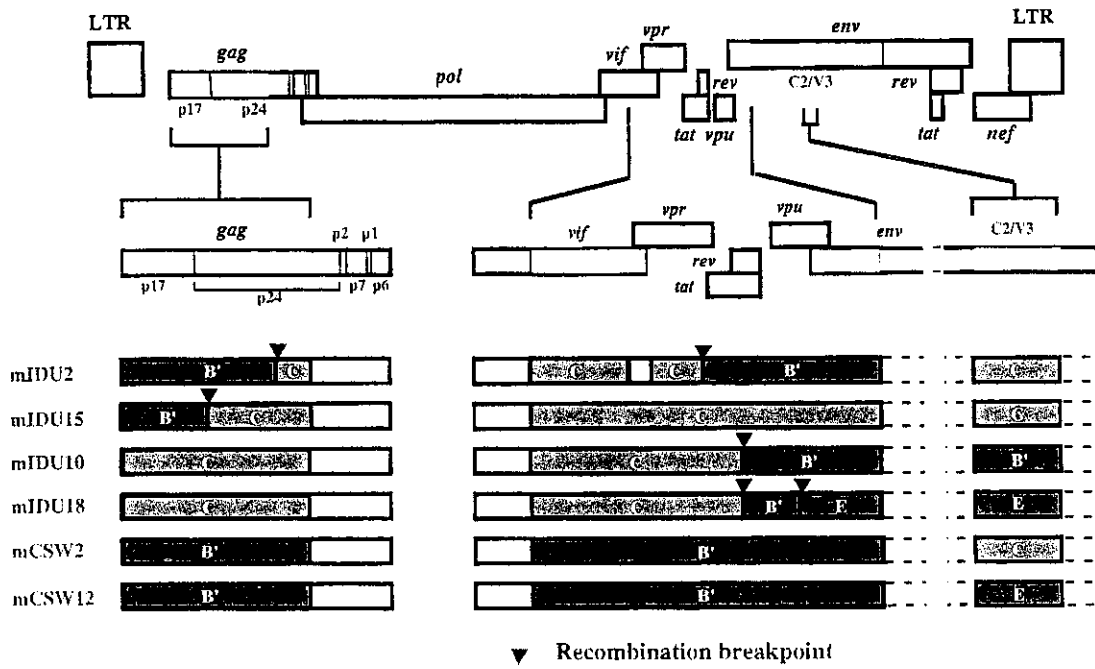


図3. HIV-1ゲノム上の組換え点 (模式図)

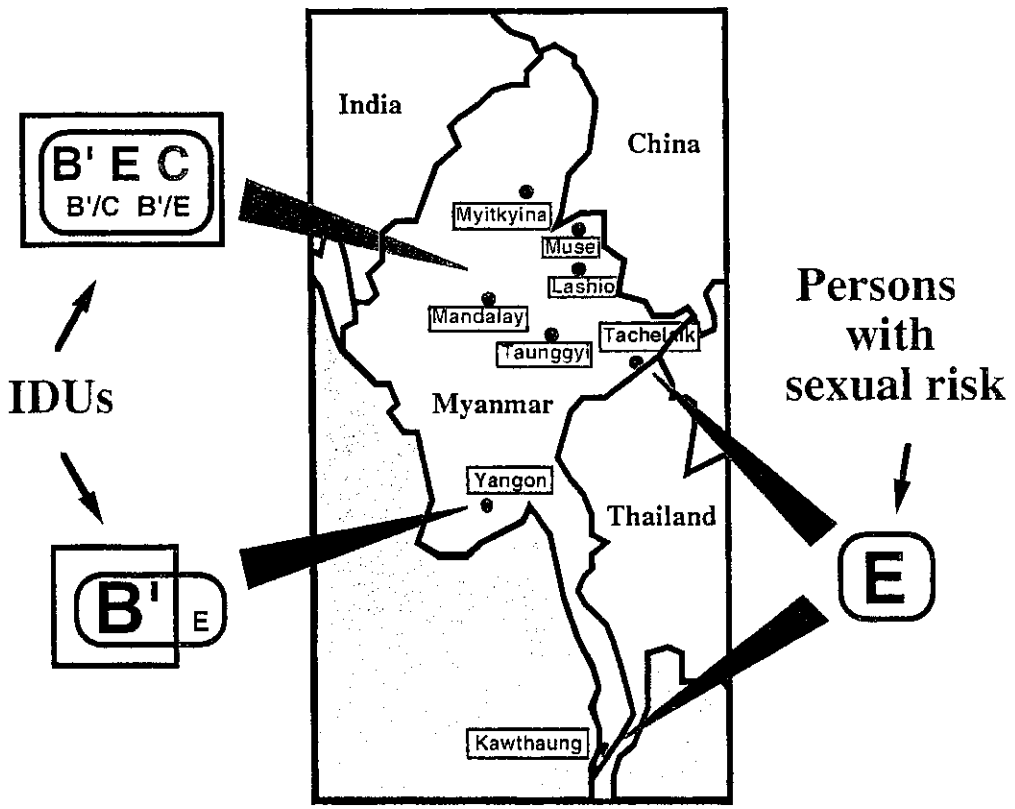


図4. ミャンマーにおけるHIV-1サブタイプ分布：新しいタイプの組換えウイルスの出現

厚生科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）

分担研究報告書

HIV 免疫学・遺伝学的研究に応用可能なコホート研究の開発

分担研究者 有吉 紅也 国立感染症研究所 エイズ研究センター

協力研究者：

Pathom Sanwanwalert（タイ国立衛生研究所所長）

Panita Pavatit（ランバン県病院院長補佐）

三浦秀佳、横幕能行（国立感染症研究所）

研究要旨

HIV・エイズの病原性を探求する上で、宿主・病原体の相互関係を解明することは不可欠である。タイ国立衛生研究所（NIH）とランバン県病院との共同で免疫学・遺伝学的研究に応用可能なコホート研究の開発を行った。プロスペクティブなコホート研究の開始に先立って、コホートサイトであるランバン県病院エイズ専門外来（デイ・ケア・センター）受診患者のレトロスペクティブ調査を行った。また本邦においては、免疫学的研究のなかでも特に細胞障害性 T-リンパ細胞（CTL）に焦点を絞り、野外株 HIV Gag タンパクの CTL エピトープ抗原提示効率の新しい評価実験系を確立した。

1 研究目的

HIV・エイズの病原性を探求する上で、特に免疫不全の進行速度の個体差がどのようなメカニズムで生じるかを探る上で、宿主・病原体の相互関係を解明することは不可欠である。この場合、ホスト側の重要な因子として感染者自身の抗 HIV 免疫や感染者の遺伝的因子が挙げられるが、それぞれの免疫学的あるいは遺伝学的因子と免疫不全の進行速度との関連を探る際、対象患者の選択方法、対象患者の人口統計学的・臨床的背景情報が明確な、しかも追跡率の高いコホート研究が必須である。

タイ国立衛生研究所（NIH）の研究機能向上を目的とする JICA プロジェクト方式技術協力の一環として北部タイに位置する

ランバン県病院内にフィールドオフィスならびにフィールドラボラトリーが完成した。この設備を活用したプロスペクティブコホート研究に先立って、本分担研究者の指導のもと、タイ NIH との共同研究として、ランバン県病院 HIV・エイズ外来通院者を対象にレトロスペクティブな調査活動を行った。

本分担研究では、このレトロスペクティブな調査活動によって得られたデータを解析し同外来受診者の全体像を把握すると共に、この外来受診者を対象にした免疫学・遺伝学的研究に応用可能なプロスペクティブコホート研究へと発展させることを目的とした。さらに本邦においては、免疫学的研究のなかでも特に細胞障害性 T-リンパ細

胞 (CTL) に焦点を絞り、タイにおける野外株 HIV Gag タンパクの CTL エピトープ抗原提示効率を評価する実験系を確立させ、将来的にコホート患者の宿主・ウイルス相互関係の解明に役立てることを目的とした。

尚タイ国におけるコホート研究の目的・概要については 1999 年 11 月にタイ国立衛生研究所より申請、1999 年 12 月にタイ政府保健省医学研究倫理委員会にて協議され、2000 年 1 月に承認された。

2 研究方法

a) ランバン県病院デイ・ケアセンターにおけるレトロスペクティブ研究

北タイに位置するランバン県病院は、病床数約 800、1 日外来患者総数約 1,400、約 80 名の医師と 600 名の看護婦を擁する、この地域の中核をなす総合病院である。この病院の一角に HIV 感染者のケアを目的にデイ・ケア・センターが 1995 年 10 月 2 日に設置された。今回のレトロスペクティブ調査では、タイ NIH からの研究員 (1 名)、臨時雇用したデータマネージャー (1 名)、および同センター専属ナース (2 名) の協力を得て、このデイ・ケア・センターを 1999 年 10 月 31 日までに受診した HIV 感染者を対象に、同センター内に保存されていた登録カード、病院カルテから初診時の感染者の人口統計学的データおよび臨床データを調査票に収集、Double Coding, Double Entry により、Epi Info6 (version 6.03) プログラムへ入力後、初期的解析を行った。加えて同感染者の 1999 年 10 月 31 日時点における生存データを得るため、病院カルテの検索、2000 年 2 月に

簡単な調査票を郵送、加えてランバン県保健局の死亡登録データ検索を行った。

b) ランバン県病院デイ・ケア・センターにおけるプロスペクティブコホート研究

2000 年 6 月にランバン病院検査部にバイオ・セーフティー・キャビネット、遠心機、超低温冷蔵庫、液体窒素冷蔵庫を有するフィールドラボラトリーが完成し、同病院検査部検査技師 (4 名) の協力により、血漿・リンパ細胞分離および凍結保存、また遺伝因子研究用 DNA としてバッフィーコートの凍結保存がルーチンで行えるようになった。この設備を活用して 2000 年 7 月 6 日より試験的運営を開始し、リクルート時および再診時の質問票ならびに各検体についての調査票を含むワーキングマニュアルを作成し、同年 8 月より本格的な患者リクルートを開始した。

本コホート研究は、出来るだけ患者選択のバイアスを無くするために本センターを受診する感染者全員を対象に行った。また夫婦間の HIV 伝播について研究する機会を得るために、HIV 感染の有無にかかわらずその配偶者も対象にした。すべての患者およびその配偶者に本研究への参加を呼びかけ、同意した者に対し研究の目的・概要を説明、インフォームドコンセントフォームへの署名を得た後、スタディ調整員のインタビューによる詳細な質問票記入、スタディ臨床医 (2 名) による臨床的診察を行い、EDTA 血液サンプル (5ml) を血算・CD4 値検査用、また EDTA 血液サンプル (7ml) をウイルス量測定用の血漿保存ならびに遺伝因子解析のためのバッフィーコート保存の為に採取、その後の生存を追跡する。加えて将来細胞性免疫に関する因子

を詳細に経過観察する目的で CD4 値の比較的高い感染者を選抜し、これらの患者については 3 ヶ月毎にインタビューによる質問票記入と臨床的診察、6 ヶ月毎にさらに CPT (Cell Preparation Tube) チューブ 2 本 (各 7~10ml) 分の血液サンプルを採取、血漿・リンパ細胞を分離・凍結保存を行う。コホート患者のリクルートは、2001 年 12 月まで行い、詳細な追跡は少なくとも 2004 年 3 月まで続ける予定である。これらプロスペクティブ・コホート研究の運営は、本分担研究者の指揮のもと、ランバン県病院 デイ・ケア・センター (医師 1 名、看護婦 2 名)、検査部 (検査技師 4 名)、タイ NIH からの派遣医師 (1 名)、臨時雇用者したスタディ調整員 (1 名) で開始された。

c) 野外株 HIVGag タンパクの CTL エピトープ抗原提示効率評価系の確立

国立感染症研究所では、サブタイプ E ウイルスも含めた野外株 HIVGag タンパクの CTL 認識エピトープ抗原提示効率を研究する為に、野外株 gag 領域を効率的にクローニング、発現できる HIV-1 ベクターを構築し、野外株 HIVGag タンパクを標的とした CTL の細胞障害活性測定のための標的細胞樹立系の確立を試みた。

(c1) ベクターの構築

HXB2 をもとに作製、gag 領域を組み換えることができるようにいくつかの制限酵素部位を両側に導入し、VSV-G タンパク質を用いた pseudotype 形成と安全性の確保を目的として、env 領域を欠損させた。さらに、標的マーカーとして puromycin N-acetyl-transferase(pac)遺伝子を nef 領域に組み込んだ。

(c2) 標的細胞の作製

組み換え HIV-1 ベクターと VSV-G 発現ベクターを COS7 細胞に同時形質導入 (cotransfect) し、VSV pseudotyped HIV-1 を含む培養上清を回収した。これを、患者由来の EB virus transformed B 細胞に感染させ puromycin を含む培養液中で培養した。

(c3) CTL ラインの作製

今回の目的は、CTL エピトープ抗原発現効率を調べることにあるので、既知の HIVGag エピトープを特異的に認識する CTL ラインを作成し、抗原発現効率の評価の際にプローブとして用いた。既知の Gag CTL エピトープとして用いた領域は p17 領域の SLYNAVATL (HLA-A*0201 拘束性) および KYKLVKLVW (HLA-A24 拘束性) で、相応する合成ペプチドを用いて HIV-1 感染者から分離した末梢血リンパ細胞 (PBMC) を 96 穴プレート上で特異的に刺激し、IL-2 の存在下で 2 週間以上培養し、HIVGag ペプチド特異的な CTL を誘導した。

(c4) CTL ラインを用いた抗原提示効率の評価法

B 細胞に飽和レベル (10 μ M) のペプチドパルスによって作製した細胞と、本法で作製した HIVGag を発現する B 細胞を標的細胞として用いた。その際上記 CTL ラインを Effector 細胞として ⁵¹Cr release 法により ⁵¹Cr の放出即ち specific lysis (%) を測定することにより抗原提示効率を比較検討した。

(c5) 野外株 Gag を発現する CTL 標的細胞の作成

さらに野外株の gag 発現を試すために、岩本愛吉博士の協力を得て、サブタイプ B に感染した東大医科学研究所付属病院通院感染者から採取された PBMC より全 gag 領域を PCR 増幅、クローニングした後、シー

ケンスによりストップコドンのないクローンを選択、今回確立した HIV ベクターへ組み入れた。また、国立感染症研究所感染病理の小島朝人博士の協力を得て同野外株 Gag クロオンが組み入れられたりコンビナントワクシニアを作製し、野外株 Gag を発現する CTL 標的細胞作製系として比較検討した。

3 研究結果

a) ランバン県病院デイ・ケア・センターにおけるレトロスペクティブ研究

レトロスペクティブな調査の結果、1995年10月2日より1999年10月31日までに、同センターを受診した感染者の総数は、1,115名であった。内782名について1999年10月31日時点での生死が同センター内の登録カードおよび同病院内のカルテから確認された。残りのうち304名については、2000年2月に質問票を郵送し82名から返答があり、生存の有無が確認された。また同年3月にランバン県保健局の死亡登録を検索し、新たに99名の死亡が確認された。以上の結果、計963名(86.4%)の生存に関する情報が得られた。感染者の基礎情報を表1に示す。平均年齢は、31.1歳、65.7%が男性で、70%が初診時に HIV 関連症状(この場合結核、クリプトコッカス髄膜炎、カリニ肺炎、ペニシローシス、口内カンジダ、帯状疱疹、単純ヘルペス、トキソプラズマ、リンフォーマのいずれか)の現病歴あるいは既往があった。感染ルートは、異性間性的接触による患者が大部分(96.9%)を占めた。初期 CD4 値検査結果を、表2に示した。691名の感染者で CD4 値が測定されており、Median が90と低く、

半数以上(62.8%)が CD4 値 200 以下であった。また半数以上の感染者で貧血が認められた。

死亡率について初期的解析を行ったところ、全体の死亡率は 62.81 / 100 Person-Year-Observation (PYO)であった。死亡率は、初期 CD4 値と特に関連が強く CD4 値が 200 以下のグループでは、71.90 / 100PYO であったのに対し、CD4 値が 200-499、あるいは 500 以上のグループではそれぞれ 16.98 / 100PYO、10.43 / 100PYO であった(図1)。また初診時の HIV 関連症状の有無と死亡率との関連も強く、症状有りのグループでは、100.6 / 100 PYO であったのに対し、症状無しグループでは、20.84 / 100 PYO であった。

抗エイズ薬投与を受けた感染者は 256 (25.1%) であった。244 名は AZT 投与を受けており、内 80 名については AZT と DDI の 2 剤併用療法、115 名については AZT と DDC の 2 剤併用療法を受けている。プロテアーゼ阻害剤を含めた 3 剤併用療法を受けたものは、19 名のみである。

b) ランバン県病院デイ・ケア・センターにおけるプロスペクティブ・コホート研究

2000年7月6日から徐々にリクルートを開始し、2001年1月10日の時点で、計339名の感染者がリクルートされた。その内訳は、既婚者が332名(95%)、未婚者が17名(5%)。既婚者のうち21名は HIV 感染した配偶者を持つ HIV 抗体陰性の妻9名、夫13名であった。残り310名の既婚者のうち30名は配偶者が HIV 抗体陰性の夫17名、妻13名であり、237名は配偶者

が抗体陽性の妻 179 名、夫 58 名であった。33 名の HIV 感染者については、配偶者の抗 HIV 抗体結果が不明であった。また CD4 値では、全体の 136 名 (41%) が 200 以下、うち 94 名 (28%) は 100 以下であった。

c) 野外株 HIVGag タンパクの CTL エピトープ抗原提示効率評価系の確立

まず HIV(HIB)由来の gag を有するベクターを用いて pseudovirion を作製、B 細胞へ形質導入させたところ、約 2 週間で 1×10^7 以上の HIV-1Gag 発現する B 細胞を得ることができた。増殖能は非感染細胞と変わらず、 ^{51}Cr の自然放出量にも差を認めなかった。また、1 ヶ月以上培養を継続させた後も p24 の高発現を認めた。同細胞を標的細胞とし HLA-A24 拘束性 Gag エピトープに相応する合成ペプチドにより刺激誘導された CTL ラインによる細胞障害活性を測定したところ、飽和レベルのペプチドパルスによって作製された標的細胞と同等の ^{51}Cr の放出即ち CTL エピトープの抗原提示が認められた (図 2)。今回作製した細胞は凍結融解後にも同様の結果を示した。

加えて、野外株 Gag クローン SUH を同 HIV ベクターにより発現させた B 細胞を作製、同クローンをワクチニアウイルスによって B 細胞に発現させた標的細胞と比較検討した。この実験では HLA-A*0201 拘束性 Gag エピトープ合成ペプチドによって刺激誘導された CTL ラインを用いた。その結果、HLA-A*0201 拘束性 CTL エピトープも HLA-A24 拘束性 GagCTL エピトープと同様に飽和レベルの合成ペプチドパルスによって作製された標的細胞とほぼ同等のエピトープ抗原提示が認められた。しかしワクチニアによって発現された標的細胞は、

ペプチドパルスに比べ 6 割程度の認識にとどまり、しかも CD4 分子発現ワクチニアが感染したコントロール標的細胞が比較的高い ^{51}Cr の放出を示した (図 3)。

4 考察

今回のレトロスペクティブな調査研究により、今後プロスペクティブコホート研究を行うにあたって有用な感染者の全体像が把握できた。同時に、ランパン県病院デイ・ケア・センターを受診した感染者については、あらかじめ追跡準備をした研究調査ではなかったにもかかわらず、少なくとも生存に関しては 85% 以上の高い追跡率を得ることができたことは、今後コホート研究を通じて患者追跡してゆく上で朗報である。サブタイプ E に感染した患者群で、抗エイズ薬の生存におよぼす影響を定量した研究は例を見ない。抗エイズ薬の延命効果を明らかにすることは、医療財政に制約のある国々における抗エイズ薬剤使用指針を考える上で非常に重要な課題であり、今後感染者を CD4 値でグループに分け、HIV 関連症状、性別、年齢、CD4 値を補正して、multivariate analysis と Cox regression model を解析に加え、さらに詳しく延命効果について考察を加える予定である。

プロスペクティブコホートでは、患者選択に出来るだけバイアスを加えない為に同病院の唯一の HIV 感染者専門外来であるデイ・ケア・センターを受診する感染者すべてを対象とした。しかし、同病院において診断された HIV 感染者すべてがデイ・ケア・センターを受診しているわけではない。新規に診断された HIV 感染者のなかに、HIV 感染した事実を心理的に受

け入れられるまでに相当の時間を要する患者や、北タイ社会のなかに未だに感染者に対する社会的差別意識が根強く存在する故に専門外来の受診を拒否する例が相当の割合存在することが考えられる。その客観的な割合については現在検討を加える必要がある。しかし感染者からの同意を得てコホート追跡を行う場合、感染したことを心理的にも社会的にも受け入れられた患者群に対象が偏ることは避け難いと思われる。

今回はじめて、HIV をベクターとして CTL の標的細胞作製系が確立した。これは、従来のワクチンウイルスを用いた CTL 標的細胞と比較し、HIV 以外（この場合ワクチンウイルスタンパク）のタンパク発現によるバックグラウンドがないことや、その結果目的とする HIV 特異的 CTL エピトープ抗原がより効率的に発現され HLA 分子上に抗原提示されることから、CTL 標的細胞の作製系としては、より優れていることが示された。CTL の標的細胞としては、他に合成ペプチドを細胞外からパルスする方法があるが、この方法は目的の抗原ペプチドを HLA 分子上に提示する目的としては高い効率を得られるが、各ペプチドの細胞内でのプロセッシングを反映せず、非自然的である。CTL エピトープ抗原が細胞内でプロセッシングされるには、まずは標的タンパクが細胞内で作られ、プロテオゾームによるタンパク分解を受けた後さらにアミノペプチダーゼによるペプチド分解、TAP タンパクによるペプチドの ER への輸送、他の HLA アリール分子と競合するなかで目的の HLA アリール分子へ結合する過程を経る。それぞれの過程で、CTL エピトープ領域のみならずその周辺領域のア

ミノ酸配列の影響を受けることから、各々の HIV CTL エピトープがどの効率でプロセッシングを受け HLA 分子上に抗原提示しているかを調べるには、細胞内で HIV 遺伝子を発現させる系が必要であった。しかも宿主-ウイルス相互関係を調べる実験に用いる為には、実験株ではなくて、感染者由来の野外株の発現が必要であった。その意味で、今回はじめて、この HIV ベクター系を用いて、殆ど非 HIV タンパクを発現することなく感染者由来の野外株を CTL 標的細胞に発現させ CTL 活性測定が出来たことは画期的である。今後さらに多くの感染者由来野外株 Gag タンパクの発現を行い、既知の CTL エピトープの抗原提示効率について調べて行き、さらにはタイでの感染患者由来のサブタイプ E の発現を行う予定である。

6 研究発表

1) 論文発表

Ariyoshi K and Whittle H. HIV-1 viral load and scrub typhus. Lancet 2000, 356: 1776

2) 学会発表

三浦秀佳、建石幸子、川名愛、岩本愛吉、有吉紅也「Gag タンパクに対する HIV 特異的細胞障害性 T 細胞(CTL)とその CTL エピトープ領域アミノ酸配列との比較検討」第 48 回日本ウイルス学会 (2000 年 10 月 12~14 日三重県津市)

横幕能行、有吉紅也、三浦秀佳、立川愛、岩本愛吉、杉浦互、永井美之、松田善衛「VSV pseudotyped HIV-1 を用いた CTL アッセイ標的細胞の作製」第 48 回日本ウイルス

学会 (2000年10月12~14日三重県津市)

三浦秀佳、建石幸子、横幕能行、川名愛、岩本愛吉、有吉紅也

「本邦 HIV 感染者の HLA A0201、A24、B51 拘束性 HIV-1 Gag CTL 活性とそのエピトープ領域アミノ酸配列の解析」第14回日本エイズ学会 (2000年11月28~30日京

都)
横幕能行、有吉紅也、三浦秀佳、立川愛、岩本愛吉、杉浦瓦、永井美之、松田善衛
「GENERATION OF TAILORED CTL TARGETS WITH VSV-PSEUDOTYPED HIV-1」第14回日本エイズ学会 (2000年11月28~30日京都)

表 1 感染者の基礎情報

Characteristic	Total	Percent
Age	1101	100
Mean(SD)	31.1(6.9)	
<25	168	15.3
25-29	315	28.6
30-34	337	30.6
≥35	281	25.5
Sex	1101	100
Male	723	65.7
Female	378	34.3
Mode of transmission	1101	100
Intravenous drug use	11	1.0
Homosexual	18	1.6
Heterosexual	1067	96.9
Unknown	5	0.5
Clinical	1101	100
Symptomatic	771	70.0
Asymptomatic	330	30.0
Anti-retroviral drug use	1020	100
Yes	256	25.1
No	764	74.9

表 2 初診時検査結果

Laboratory	Total	Percent
CD4 counts	691	100
Median(range)	90(0-1354)	
<50	262	37.9
50-99	92	13.3
100-199	80	11.6
200-499	195	28.2
≥500	62	9.0
WBC	866	100
<5,000	301	34.8
≥5,000	565	65.2
Hb	866	100
<12.0	489	56.5
≥12.0	377	43.5
Hct	866	100
<36.0	480	55.4
≥36.0	386	44.6

図 1 初期 CD4 値各グループの Kaplan-Meier 生存曲線

