

表 6) 表 5 の項目以外に感染症に関する各国独自の確認事項

BE	問診票	熱帯地方の国家への滞在経験確認
CA	問診票	1977 年～ カメルーン、中央アフリカ共和国、チャド、コンゴ、赤道ギニア、ガボン、ニジェール、ナイジェリアでの滞在歴、滞在中の輸血・血液製剤使用経験、滞在経験者との性交渉経験 拘留または投獄経験（12 ヶ月内）、HIV 検査経験 UK での輸血・血液製剤使用経験
EN	問診票	アフリカ全体（モロッコ、アルジェリア、リビア、チュニジア、エジプトを除く）での性交渉経験 マラリア好発地域への旅行→帰国後 12 ヶ月の献血拒否 献血除外勧告を受けた経験、HIV・肝炎感染リスクの思い当たりを確認
	情報シート	アメリカ中南部での滞在歴→面接で詳細を確認
SE	情報シート	HIV 好発地域（アフリカ、特に赤道周辺の国々、Karibiska 諸島、アメリカ南部～中部の一部地域、インド、タイ）での長期滞在、長期滞在者との性交渉 マラリア好発地域への旅行かつ 6 ヶ月以内の発熱
	問診票	過去 6 ヶ月内の欧外旅行、欧外での 3 年以上滞在歴確認 出身国（欧外）確認
CH	問診票	マラリア好発地域（アジア、中央アフリカ、南アメリカ、アフリカ、オセアニア）への旅行→帰国後 6 ヶ月の献血拒否 ボレリア回帰熱、ブルセラ症、トキソプラズマ症感染確認
JP	問診票	はしか、風疹、おたふくかぜ、帯状疱疹、水痘、発熱を伴う食中毒様の激しい下痢、伝染性単核球症、家族の A 型肝炎または伝染性紅斑
	面接時	フランス、ドイツ、アイルランド、スイス、ポルトガル、スペイン、イタリア、ベルギー、オランダへの 1980 年以降累計 6 ヶ月以上の滞在を伴う渡航歴（vCJD 対策） マラリア、シャーガス病、アフリカトリパノソーマ症

表 7) HIV/AIDS 教育 (○ = 規定・実施あり、— = 規定・実施なし)

	JP	BE	CA	CH	EN	SE
手段	情報シート・パンフレット等の事前提示、パネル表示(JP)、問診票の一部(BE、SE)、血液使用辞退申告シート(JP)などを利用。					
内容	量的な差はあるが各国ほぼ同内容。HIV/AIDS 基礎知識・ウィンドウ期について・感染リスクを高める行為について言及					
情報提示	○	○	○	○	○	○
情報通読/ 理解義務 (献血者側)	署名	署名	署名	署名	署名	署名
理解確認 義務 (面接者側)	○ 口頭	○ 口頭 法で規定	○ 口頭 毎回確認	○ 口頭	○ 口頭、面接 者の署名 要	○ 口頭

表 8) HIV 陽性者に対するフォローアップ (○=規定・実施あり、—=規定・実施なし)

	JP	BE	CA	CH	EN	SE
結果通知	一切行わず	○ 血液センターで直接伝達、またはホームドクターを経由				
血液セン ターでの 再検査	—	○ 陽性の場 合本人、家 族とも献 血から除 外	— 検査施設で の検査を推 奨(以降 CBS は関与せず)	○	○ 偽陽性に ついて教 育を行っ た後に再 検査	○
専門医へ の紹介	—	○	—	○	○	○

表 9) HIV 検査施設・検査費用負担状況

	検査対応施設	費用負担状況
JP	特定の保健所、一部 STD クリニック、拠点病院 匿名で検査可	無料(保健所以外 利用や別検査希望 の場合一部自己負 担)
BE	ホームドクターが指示→検査施設へ、または希望者が 直接に HIV 専門治療センターへ赴いての検査も可	無料 (Social Security)
CA	開業医が採血→検査施設へ送付、Health Centre	無料(保険、政府負 担)
CH	開業医が採血→検査施設へ送付	無料(被検査者の 一時負担→全額償 却)
EN	各病院(泌尿生殖器科/婦人科)にて検査実施	無料(NHS 負担)
SE	開業医が採血→検査施設へ送付 無記名検査が可能(確認のため個人番号の一部を要求)	無料 (国民保険適用)

別添 1. 調査書 (以下 3 枚)

February 8, 2001

**Letter of request for providing us with relevant information on the donor
select policy for safe blood transfusion from HIV**

Dear Madam/Sir

It would be greatly appreciated if you could send to us the information referred above by the end of February 2001. I am one of the investigators of the research project funded by the Ministry of Health, Labor and Welfare focusing on "development of testing methods and testing system for HIV/AIDS in Japan". For that purpose we need as many available official documents related to this issue as possible listed in the attached request sheet.

In Japan, the reported number of people living with HIV/AIDS has been increasing dramatically during the last couple of years although a total number is still low as compared to other countries: 7729 in 2000.

We have experienced a tragedy of HIV infection among hemophiliacs by contaminated coagulation factors. Now that the heat treatment and domestic-supporting system are established, the coagulation factors are free from HIV.

However, it is impossible to exclude HIV-contaminated blood even with the most sophisticated methods such as Nucleic Acid Amplification Techniques (NAT). Actually, several people in Japan have been infected through the transfusion of HIV contaminated blood.

Our research aims at reviewing the measures for the exclusion of possible HIV infected people from blood donation in other countries in order to ensure safety blood transfusion.

I express my sincere appreciation for your cooperation in advance and am looking forward to hearing from you soon.

Yours faithfully,

Kazuko Kimura, Prof., Ph.D.,
Division of Pharmacy and Health Science, Department of Natural Science and
Technology,
Graduate School of Kanazawa University

◀Requesting Sheet▶

Documents including the following:

- (1) The system of blood collection
- (2) Form of record of donation
- (3) The qualified donor standard
- (4) The ratio of HIV positive among donated blood and examination methods
- (5) Measures to select donors for HIV safe blood collection
(e.g.)
—Rigorous interview by trained personnel
- (6) Follow-up measures to people who are found HIV positive on donation
- (7) Institutions where suspected HIV positive people go for testing
(Are there any other institutions for suspected HIV positive people to get tested?
If so, are they well utilized?)

別添 2. 調査書送付先一覧

国名	氏名	役職、所属機関、調査書送付先
USA		Centers for Disease Control and Prevention 1600 Clinton Rd. Atlanta, GA 30333 U.S.A Tel (404) 639-3311 hivmail@cdc.gov
Australia	Jacqui Strapps	Red Cross Canaberra, Australian Capital Territory (ACT) Tel:(02) 62066019 jstrapps@arcbs.redcross.aug.au
	Dr. Anthony Keller	Chair of the National Donor and Product Safety Committee of the Australian Red Cross Blood Service ARCBS-North West Region, 290 Wellington Street, PERTH WA 6000, AUSTRALIA akeller@arcbs.redcross.org.au
Belgium	Prof. D. SONDAG	Director, Service du Sang Rue Edmond Picard 16 1050 BRUSSELS-BELGIUM Tel:+32(0)23495320 Fax:+32(0)23495344 direction.sec@redcross.be
Canada	Dr Graham D Sher, MB BCh, PhD, FRCPC	Vice President, Medical Scientific and Clinical Management, Canadian Blood Services 1800 Alta Vista Drive, Ottawa, K1G 4J5, Canada Fax:(613) 739-2099 graham.sher@bloodservices.ca
England	National Blood Service	http://www.bloodnet.nbs.nhs.uk/
	Dr. Angela Robinson	Medical Director, the National Blood Authority Oak House, Reeds Crescent, Watford, Hertfordshire WD1 1H, England Tel: 44-01923-486800 Fax:44-01923-486801 nbs.nhs.org.uk
Germany	Mr. Peter Heimer	Deutsches Rotes Kreuz Friedrich-Ebert-Allee 71 53113 Bonn Tel:+49 228 541 2360 Fax:+49 228 541 2364 heimerp@rotkreuz.de
	Freidger von Auer	Federal Ministry for Health Fax:0049/228/941-4927 vonauer@bmg.bund.de
Italy	Dr. M. Orlando	Instituto Superiore di Santia , Lab. Biochimica Clinica Viale Regina Elena 299-00161 ROMA Tel:06/49902859 Fax:06/49387137 morlando@iss.it
Sweden	Peet J. Tüll M.D.	Medical Director, Division of Communicable Diseases Control, The National Board of Health and Welfare SE-106 30 Stockholm Visits Rålambsvägen 3 Tel +46 8 555 530 00 Fax +46 8 555 535 55 peet.tull@sos.se

	Olof Åkerblom, MD, Ph.D.	Associate Professor, Blood Centre University Hospital SE-751 85 Uppsala, Sweden Tel +46 18 611 4173 Fax +46 18 53 82 80 Olof.Akerblom@clm.uas.lul.se
Switzerland	Dr Guy Lévy	Artzlicher Leiter, Blutspendedienst SRK Gutenbergstrasse 14, Postfach 5510, 3001 Bern Tel:+41 31 380 81 86 Fax:+41 31 380 81 80 guy.levy@redcross.ch
	Dr. Christian Scharer	labile blood products and inspections of transfusion centers christian.schaerer@bag.admin.ch
	Dr. Colette Rogivue	stable blood products colette.rogivue@bag.admin.ch

別添 3. 主な収集資料リスト

Belgium	<ol style="list-style-type: none"> 1) Blood transfusion in Flanders 2) Confidentiel Premier Don 3) Fiche medicale provisoire (A premlir lisiblement en caracteres majuscules) 4) Belgisch staatsblad – 08.10.1994 – Moniteur Belge 5) Moniteur Belge – 16.10.1997 – Belgisch staatsblad 6) Belgisch staatsblad – 24.10.1998 – Moniteur Belge 7) Convocation – Aux collectes de sang – (Croix-rouge de Belgique) 8) Centre de transfusion Brabant-Hainaut (Croix-rouge de Belgique) 9) Krant UZA (Information Universitair Ziekenhuis Antwerpen) December 2000 Nr. 44 10) Le don de sang au temps du SIDA (Croix-rouge de Belgique)
Canada	<ol style="list-style-type: none"> 1) The Canadian Strategy on HIV/AIDS – Background Information – 2) Blood-borne HIV and hepatitis: optimizing the donor selection process 3) A report to Canadians 2000/2001 4) Record of Donation
England	<ol style="list-style-type: none"> 1) Blood Matters –Quarterly information for hospitals served by National Blood Service- 2) Confidential donor profile 3) File progress sheet 4) MAD Guidelines 5) National policy for the management of donors with confirmed positive microbiological markers 6) Recommendations for national minimum standards of good practice for the management of donors with false positive and indeterminate microbiological markers 7) Questionnaire sheet 8) Six monthly infection surveillance report-No.11 (October 1995 – December 1999) 9) Annual Report 2000 (NHS) 10) DO NOT GIVE BLOOD without reading this leaflet

	<ul style="list-style-type: none"> 11) Do something amazing 12) Do something amazing today 13) Important Information About Your Test Results 14~16) "Malaria" "Low Haemoglobin" "Occasional Bruising" 17) Murex HIV-1.2.0 (ABBOT) 18) Receiving a Blood Transfusion (NHS) 19) The Donor –winter 2000- 20) What happens when I give blood? 21) We welcome you as a blood donor
Germany	<ul style="list-style-type: none"> 1) Act Regulating Transfusion Practice (Transfusion Act) of July 1998 2) Blood transfusion system in the Federal Republic of Germany Activities of the GRC Blood Transfusion Services 1999 3) Bundesgesundheitsblatt – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz 7·2000 4) Bundesministerium für gesundheit
Sweden	<ul style="list-style-type: none"> 1) Frågor at besvara fore varje blod-eller plasmagiving (reverse side: Information om blodsmitta –särskilt gulsot, HIV/AIDS och HTLV-1/2) 2) Hälsodeklaration för nya blodgivare och för blodgivare som inte har givit blod senaste 5 åren 3) Positivt resultat I bekräftande test 1999 4) Registerkort för blodegivare (Stockholms läns landsting) 5) Viktig information om blodsmitta, särskilt om gulsotsvirus och HIV/aids 6) Directive of the European parliament and of the council (Commission of the European communities Brussels, 13.12.2000 COM (2000)816 final)
Switzerland	<ul style="list-style-type: none"> 1) Assessment of Needs for Plasma for Fractionation in Europe 2) Häufigkeit der Infektionmarker BSD SRK 3) Rapport annuel 1999 (Service de transfusion sanguine CRS) 4~9) Prescriptions STS CRS Chapitre 6: Accueil des donneurs Chapitre 7: Don de sang Annexe A no 16 A): Critères décisionnels classes par ordre alphabétique Annexe A no 16 A): Critères décisionnels classés dans l'ordre des questions Anhang A Nr.16 A): Medizinischer Fragebogen/Merkblatt für Blutspenderinnen über Infektionskrankheiten (französisch)

別添 4. 海外訪問面接先および訪問日程一覧

国名 (日程)	氏名	役職、所属機関、住所
Sweden 2001/03/22	Peet J. Tüll M.D.	Medical Director, Division of Communicable Diseases Control, The National Board of Health and Welfare SE-106 30 Stockholm Visits Rålambsvägen 3 Tel +46 8 555 530 00 Fax +46 8 555 535 55 peet.tull@sos.se
	Olof Åkerblom, MD, Ph.D.	Associate Professor, Blood Centre University Hospital SE-751 85 Uppsala, Sweden Tel +46 18 611 4173 Fax +46 18 53 82 80 Olof.Akerblom@clm.uas.lul.se
	Joachim Lundahl MD	Department Of Clinical Immunology and transfusion Medicine, Karolinska Hospital S-171 76 Stockholm, Sweden Tel +46 8 517 759 32 Fax +45 8 30 48 87 joachim.lundahl@mb.ks.se
		Kungstappen (Blood center) S:t Eriksgatan 40 112 34 Stockholm Tel +46 08 517 79 400 www.geblod.nu
England 2001/03/23	Dr. Thomas A. M. Crusz	South Thames Center, National Blood Service 75 Cranmer Terrace, Tooting, London, SW17 0RB Tel 020 8258 8310/8399 Fax 020 8258 8491 tom.crusz@nbs.nhs.uk
Belgium 2001/03/26	Mrs. Mietteline Lambermont	Blood Transfusion Centre, Erasm Hospital 808 route, Linnik, Brussels Tel +32 02 555 4600 Fax +32 02 555 4600 mlamberm@ulb.ac.be
Switzerland 2001/03/29	Dr. Guy Lévy	Directeur Medical, Sevice de transfusion sanguine CRS Gutenbergstrasse 14, Postfach 5510, 3001 Bern Tel +41 031 380 81 81 Fax 031 380 81 80 guy.levy@redcross.ch
	Dr. phil. nat. Christoph Niederhauser	Head of Laboratory diagnostics, Blutspendedienst SRK Bern AG CH-3008 Bern, Murtenstrasse 133 Tel ++41 31 384 23 00 Fax ++41 31 384 23 24 christoph.niederhauser@bsd.be.ch
Canada 2001/12/04	Dr. Graham D. Sher	Chief Executive Officer, Canadian Blood Services 1800 Alta Vista Drive Ottawa, ON K1G 4J5 Tel (613) 739-2001 Fax (613) 739-2009 graham.sher@bloodservices.ca
Canada 2001/12/05	Ms. Michelle van Vliet	Communications Specialist, Canadian Blood Services Ottawa Centre 85 Plymouth Street Ottawa, Ontario K1S 3E2 Tel (613) 560-7219 Fax (613) 560-7226 michelle.vanvliet@bloodservices.ca
	Ms. Pat Peterson	Centre Implementation Manager, Canadian Blood Services Ottawa Centre Tel (613) 560-7440 Fax (613) 560-7226 pat.Peterson@bloodservices.ca

6. HIV サブタイプと HIV 検査に関する研究

6-1. コンゴ共和国ピグミー族の HIV 検査

研究協力者 速水正憲（京都大学ウイルス研究所）

研究概要

アフリカの少数民族ピグミー族について、HIV の起源ウイルスの探索もしくはそうした隔絶された民族へのエイズ感染拡大の有無、2つの可能性を明らかにするため、コンゴ共和国北方のジャングルに居住するピグミー族約 180 人に対して HIV のスクリーニング検査を行った。これまでの解析では同一地区に居住するバンツ系住民からは HIV 陽性者が見つかったもののピグミー族からは検出されておらず、まだ同民族へのウイルスの浸淫は起こっていないものと思われた。しかし、ウェスタンブロット法などでは微弱に反応するバンドが見られることが多く、未知の類似ウイルス存在の可能性を否定できなかった。

A. 目的

本研究室では、HIV や SIV 等エイズ関連ウイルスの遺伝子解析から、当該ウイルスの起源と進化を明らかにすることを最終目標として、その起源地と目される中央アフリカを対象に毎年調査を行なっている。今回は、これまでの調査により遺伝的多様性の最も高い国の一つコンゴ共和国について少数民族のピグミー族の調査を行うことにより、HIV の起源ウイルスの探索もしくはそうした隔絶された民族へのエイズ感染拡大の有無、2つの可能性を明らかにすることを目的とした。

B. 方法

コンゴ共和国の北方、カメルーンと中央アフリカ共和国との国境付近の町 Ouessou 市をベースとして周辺約 100 km のジャングル内に散在して生活するピグミー族の成人 180 人より本人の同意を得て採血した。スクリーニングは Genedia HIV-1/2 と Serodia HIV-1/2 の

PA キットにより行い、LAV BLOT 1 and 2 を用いたウェスタンブロット法により確認試験を行った。陽性と思われる検体については PCR を env の C2V3 領域 (550bp) と pol の integrase 領域 (388 bp) について行い、分子系統解析により HIV の系統関係を明らかにした。

C. 結果と考察

今回の検体採集は専らバンツ系の人々との接触が極めて少ないピグミー族だけを対象に行ったつもりであったが、現実には採集に際して同じ村落に生活もしくは出入りしていた 10 数名のバンツ系住民からの検体が含まれていた。スクリーニングの結果は 2 名 (CG1564 と CG1596) のみ陽性と判定され、これらの検体について遺伝子解析を行ったので、その系統樹を図 1 (A と B) に示す。env の C2V3 領域における解析 (A) では、2 つともサブタイプ A であることが、そして pol の

integrase 領域(B)では CG1564 はサブタイプ Aにかなり近いがその外側に位置することが判った。[pol では CG1564 のみ PCR で positive band が得られたので1つしか結果が示されていない。なお CG1596 で band が得られなかった理由は不明。] サブタイプ Aはこの国に広がっている HIV-1 のサブタイプの中で最も頻度の高い(約40%)のものであり、その意味で不思議はない。実は後の追跡調査によりこれら2名の陽性者はピグミー族と同一地区に居住するバンツ系住民からの検体であることが判明し、2001年の時点では同国のピグミー族からの HIV-1 遺伝子解析例はないことになる。則ちまだ当該少数民族に対するウイルスの浸淫は起こっていないものと思われた。これまでに周辺諸国を含めてピグミー族からの HIV-1 感染についてはごく少数の血清学的検査報告しかなく、この民族には何らかのエイズウイルス感染に自然抵抗性が備わっている可能性も考えられた。しかし、ここで特に指摘しておきたいことは、ピグミー族の場合 LAV BLOT 1 and 2 を用いたウェスタンブロット法において P18(Gag) または P25(Gag) の band が比較的明瞭に反応する例が多かったことで、現在世界で広がっている HIV とは異なる未知の類似ウイルスが存在する可能性を否定しきれないと考えている。もしそうしたウイルスが存在するとすれば、現行の検査法はかなり見直さなければならないであろう。今後そうしたウイルスを求めて、さらに HIV の起源ウイルスの探索を続けていきたいと思っている。

D. 発表論文

Takehisa, J., Harada, Y., Ndembu, N., Mboudjeka, I., Taniguchi, Y., Ngansop, C., Kuate, S., Zekeng, L., Ibuki, K., Shimada, T., Bikandou, B., Yamaguchi-Kabata, Y., Miura, T., Ikeda, M., Ichimura, H., Kaptue,

L., Hayami, M.: Natural infection of wild-born mandrills (*Mandrillus sphinx*) with two different types of simian immunodeficiency virus. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 17:1143-1154, 2001.

Taniguchi, Y., Takehisa, J., Bikandou, B., Mboudjeka, I., N' Doundou-N' Kodja, M. Y., Obengui, M' Pandi, M., M' Pele, P., Harada, Y., Ido, E., Hayami, M., Ichimura, H., Parra, H. J.: Genetic subtypes of HIV type 1 based on the vpu/env sequences in the Republic of Congo. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 18:79-83, 2002.

原田陽介、三浦智行、速水正憲: HIV と SIV の起源と進化, *カレントセラピー*, 19:103-108, 2001.

E. 学会発表

Takemura, T., Yamashita, M., Shimada, M., Shotake, T., Miura, T., Hayami, M.: Natural infection with the third type of STLV among wild baboons in Ethiopia. Tenth International Conference on Human Retrovirology: HTLV and related viruses, Dublin, Ireland, June 25-29, 2001.

武久 盾、谷口裕子、原田陽介、Kibaya, R. M.、三浦智行、速水正憲、市村 宏: HIV-1 重感染患者におけるウイルス集団の個体内進化。第49回日本ウイルス学会、大阪、11月18-20日、2001.

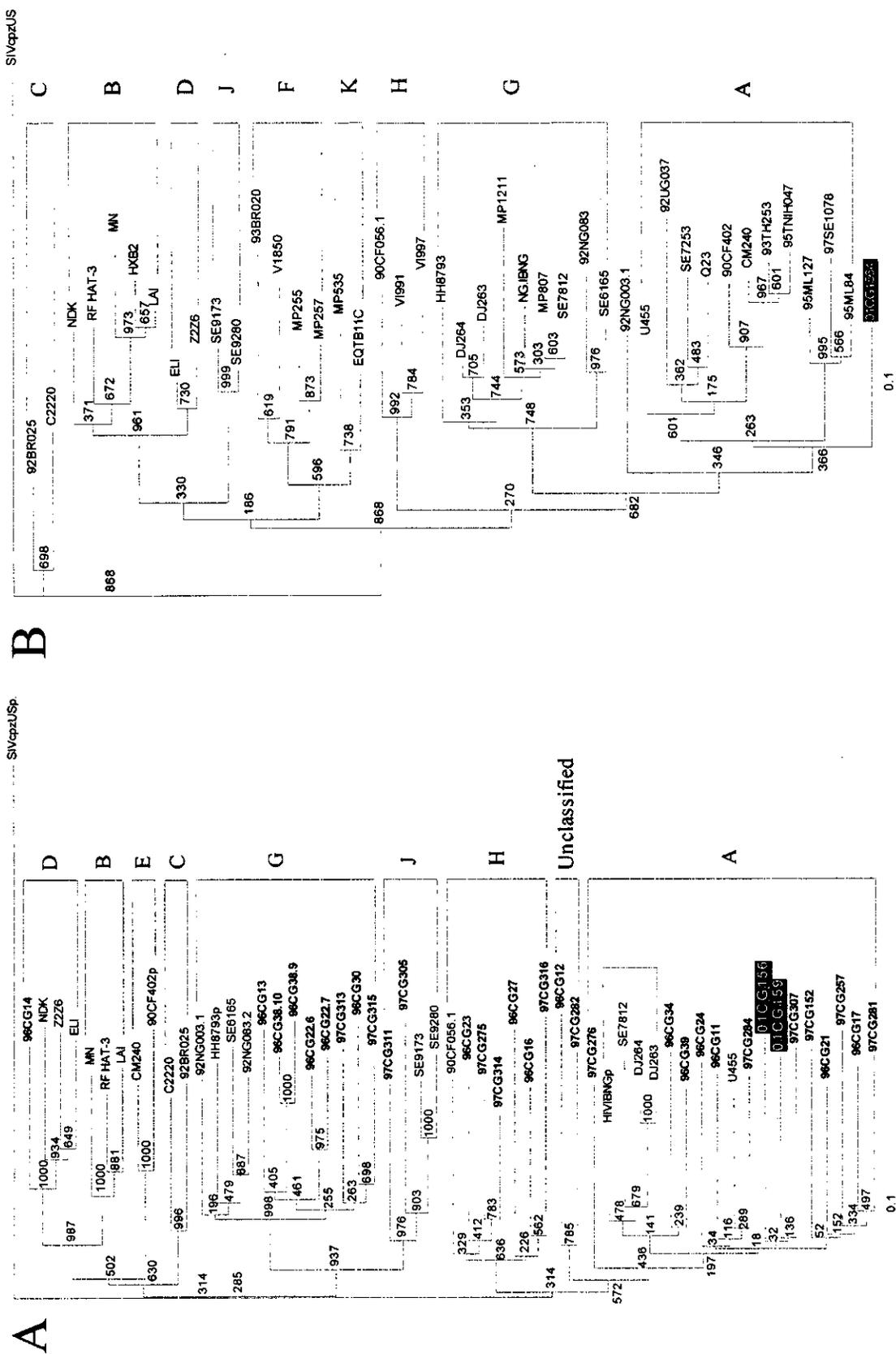


図1. コンゴ共和国北方のジャングルに居住する住民から分離されたHIV-1の遺伝子系統解析. A) env C2 V3領域 (550 bp) B) pol integrase領域 (388 bp)

6-2. HIV-1 重感染患者におけるウイルス集団の個体内進化

分担研究者 市村 宏 金沢大学大学院医学系研究科ウイルス感染症制御学
研究協力者 武久 盾 金沢大学大学院医学系研究科ウイルス感染症制御学

研究要旨

複数のウイルスに重感染している症例において、通常用いられている *env* 遺伝子の PCR の系ではサブタイプ特異的な定量は困難である。今回、三重感染個体内のウイルス集団の経時的なウイルスコピー数の定量と分子進化学的解析を行うため、3種類のサブタイプ/グループを識別して増幅できる PCR の系を確立した。複数のウイルスに重感染している症例において、ウイルスコピー数と分子系統解析から、発症に関与したサブタイプが示唆され、HIV-1 のサブタイプ/グループ間の病原性の違いを明らかにすることができるものと考えられた。

A. 研究目的

われわれはこれまでに、HIV-1 多重感染患者において各ウイルスのコピー数を定量し、特定のウイルス集団が AIDS 発症に関与する可能性を明らかにしてきた。今回、AIDS 発症過程におけるウイルスコピー数の変動と個体内進化のパターンとの間の相関性を明らかにするために、各ウイルス集団の推移を分子進化学的に検討した。

B. 研究方法

CRF02_IbNG、サブタイプ D、グループ 0 の 3 種類の HIV-1 に三重感染したカメルーン人女性から、1994、95、96、98 年に継時的に得られた末梢血単核球 (PBN) 中の DNA 及び血漿中の RNA を用いた。感染個体内における 3 種類のウイルスを区別して増幅できるサブタイプ特異的プライマーを設定した。PBN 中のプロウイルス DNA と血漿ウイルス RNA の *env* V3 領域において、段階稀釈法で PCR を行い、クローニングした。分子系統樹は近隣結合法で作成した。また、V3 領域の同義置換数・非同義置換数を算出した。

C. 研究結果

それぞれのサブタイプ特異的プライマーでは他の 2 種類のウイルスは増幅されなかった。分子系統樹上、CRF02 型は極めて均質なウイルス集団から成る主要な集団が各年にあり、年次毎に推移していく過程をとった (図 1A)。一方、サブタイプ D とグループ 0 は主要なウイルス集団を形成せず、系統樹の根元もしくは放射状に存在した (図 1B、C)。PBMC 中と血漿中のウイルス集団は必ずしも一致しなかった。3つのウイルス共に、血漿中のウイルス集団は極めて均質であった。V3 領域の同義置換数・非同義置換数を調べたところ、サブタイプ D とグループ 0 は年次ごとに塩基置換数が蓄積するもの、CRF02 型は蓄積していなかった。3つのウイルスともに顕著な正の淘汰は見られなかった。

D. 考察

現在、血漿中ウイルス量の検査には、市販のキットが広く用いられているが、これらのキットでは重感染個体内における各々のウイルス量の測定は不可能である。今回、我々は

サブタイプ/グループ毎にリアルタイム PCR 法でウイルスコピー数を定量する系を作成した。

本重感染症例において、AIDS 発症過程における3種類のウイルス集団の推移が分子系統樹から明らかにできた。*env* 領域に CRF02 (IbNG) を持つウイルスの血漿中の RNA コピー数が、感染個体内の 90-99% を占めていたことから CRF02 が発症に関与していることが示唆された。HIV-1 サブタイプ/グループ間の病原性の違いは十分に明らかにされていないが、少なくともこの重感染例においては、CRF02 がサブタイプ D/グループ O 株に比べて、AIDS 発症により重要な役割を果たしたと考えられる。CRF02 は近年アフリカで爆発的に浸淫していることも考慮すると、CRF02 は他のサブタイプ/グループよりも病原性が強いかもしれない。

E. 結論

本症例で AIDS 発症に関与したと考えられる CRF02 型の活発なウイルス複製と排除が感染個体内で繰り返されていたことが分子系統樹から示唆された。ウイルス量の極めて少ないグループ O とサブタイプ D のウイルスに対しての免疫による選択圧は強くないと思われた。複数のウイルスに重感染している症例において、ウイルスコピー数の動態と分子系統解析から HIV-1 のサブタイプ/グループ間の病原性の違いを明らかにすることができる可能性が示唆された。

F. 研究発表

論文発表

1. Takehisa J, Harada Y, Ndambi N, Mboudjeka I, Taniguchi Y, Ngansop C, Kuete S, Zekeng Z, Ibuki K, Shimada T, Bikandou B, Yamaguchi-Kabata Y, Miura T, Ikeda M, Ichimura H, Kaptue L, Hayami M: Natural infection of wild-born mandrills

(*Mandrillus sphinx*) with two different types of simian immunodeficiency virus. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 2000. 17(12): 1143-54.

2. Songok EM, Kakimoto K, Genga I, Okello C, Makokha E, Kageyama S, Kobayashi N, Fujiyama Y, Ichimura H: Prenatal short-course Zidovudine reduces mortality in children born to HIV-positive mothers in rural Kenya. *J Infect Dis*, 2001. 183(10):1540-2

3. Taniguchi Y, Takehisa J, Bikandou B, Mboudjeka I, N' Doundou-N' Kodja MY, Obengui, M' Pandi M, M' Pele P, Harada Y, Ido E, Hayami M, Ichimura H, Parra HJ: Genetic Subtypes of HIV Type 1 Based on the *vpu/env* Sequences in the Republic of Congo. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2002. 18(1):79-83.

4. 武久 盾、市村 宏: HIV-1 とリコンビネーション-サブタイプ E はリコンビナントか? *治療学*, 2001. 35(2). 184

学会発表

5. 武久 盾、谷口裕子、原田陽介、Rukia M. Kibaya、三浦智行、速水正憲、市村 宏: HIV-1 重感染患者におけるウイルス集団の個体内進化、第 49 回日本ウイルス学会総会、大阪、2001 年 11 月 18-20 日。

6. Kibaya R, Takehisa J, Songok EM, Kobayashi C, Agoh Y, Agoh M, Ichimura H: The effect of short-term zidovudine treatment on the selection of HIV-1 during vertical transmission、第 49 回日本ウイルス学会総会、大阪、2001 年 11 月 18-20 日。

7. Songok EM, Fujiyama Y, Kobayashi

N, Kibaya R, Takehisa J, Kakimoto K,
Kageyama S, Sugiura Y, Kurimura T,
Ichimura H: Short course Zidovudine to
prevent vertical transmission of HIV in
rural Kenya、第15回日本エイズ学会総会、
東京、2001年11月29日-12月1日。

8. Takehisa J, Hayami M, Kaptue L, Ichimura
H: Evolution of envelope sequences from a
patient infected with three different
HIV-1, 第14回日米医学協力部会、Seattle,
2002年3月19-21日。

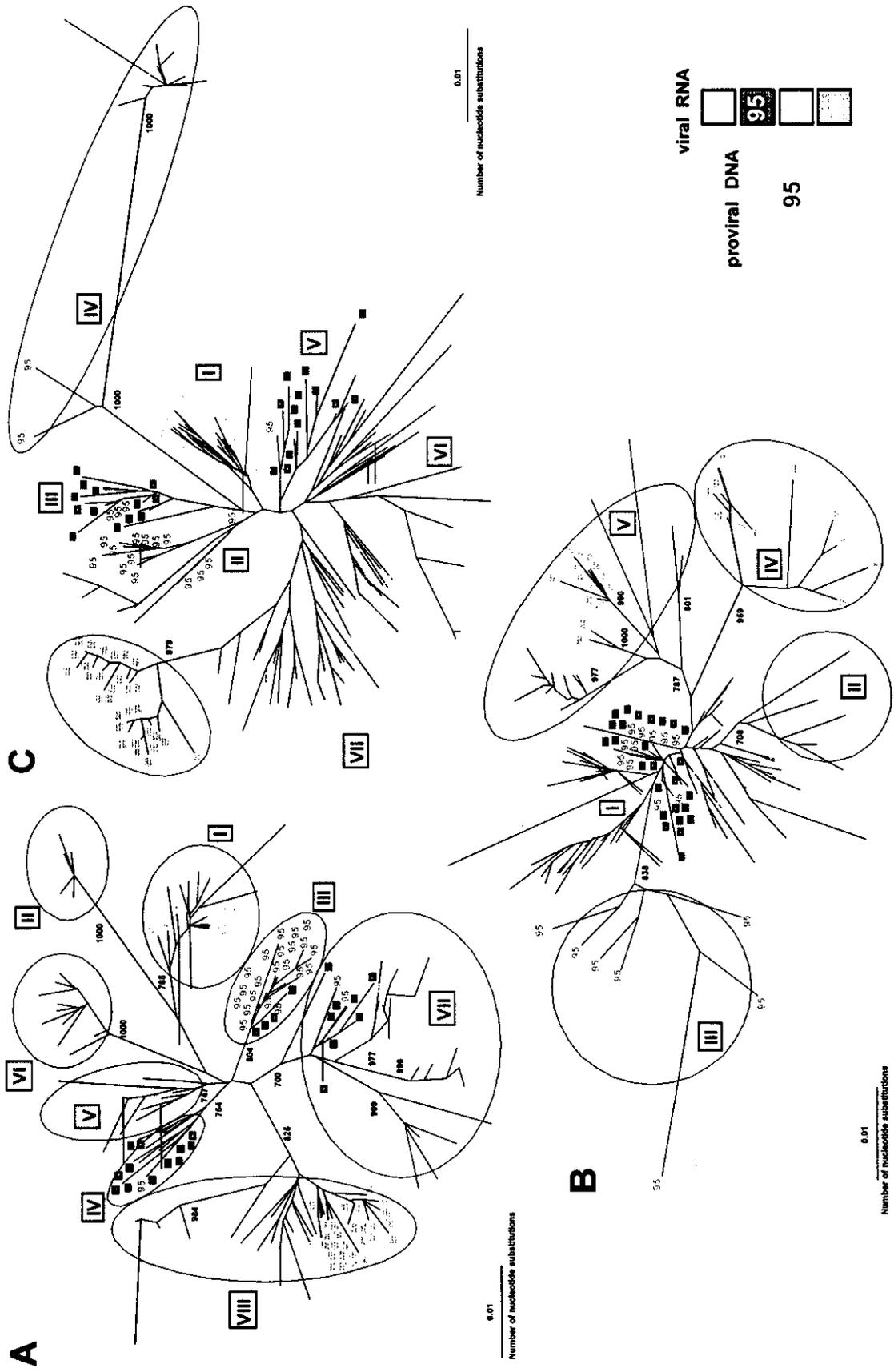


図1. *env* 遺伝子に基づく分子系統樹 (A)、サブタイプD (B)、グループ0 (C) の塩基置換数を示すスケールは3系統樹で同一である。

6-3. アジア途上国における初感染、未治療者の HIV 薬剤耐性 HIV の浸淫状況

研究協力者 山本直彦（名古屋大学大学院医学研究科）
森下高行、佐藤克彦、（愛知県衛生研究所）
金田次広、伊部史朗、内海 真（国立名古屋病院）

研究概要

最近、インドで採取された初感染、未治療患者17例について薬剤耐性に関与する遺伝子を解析したところ、プロテアーゼ阻害剤に対する耐性に大きく影響を及ぼすと考えられている1次置換が2例（12%）にみられ、これらはHIV感染当初すでに、サキナビル、インジナビル、リトナビルに対する多剤耐性を意味するものであった。ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤に対する耐性変異は見られなかったが、非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤であるネビラピン及びデラビジンに対する弱い耐性を示す変異を5例（29%）に認めた。

（目的）

最近、欧米ではAZTをはじめとする強力な薬物療法の中断等より、HIV初感染、未治療者における薬剤耐性ウイルスの存在が問題となっている。本研究は、アジアの中でも特に、推定HIV感染者数が世界最大とされているインドと、その隣国にあつて未だHIVの浸淫状況の情報に乏しいイスラム国パキスタン、および日本と経済的、文化的交流の盛んなベトナムにおいて、HIV初感染、未治療者におけるHIV薬剤耐性ウイルスの浸淫状況を調査し、これらウイルスの遺伝学的特徴（genotype）と感染性（phenotype）および種々の薬剤に対する感受性を解析し、発展途上国における将来の薬物治療などのAIDS対策に重要な基礎的および臨床的データを提供することを目的とする。

（結果）

現在までに、インドで採取された異性間性的

接触により感染した初感染、未治療患者17例について解析し得た。注目すべき所見として、プロテアーゼ阻害剤に対する耐性に大きく影響を及ぼすと考えられている1次置換（48番目のグリシンがバリンに、82番目のバリンがアラニンに）が2例（12%）にみられ、これらはHIV感染当初すでに、サキナビル、インジナビル、リトナビルに対する多剤耐性を意味するものである。臨床的にサキナビルの単剤大量投与を受けた患者では、高頻度にG48V変異がみられ、引き続きV82Aの変異が起こる事が知られており、この2例のケースはこのようなエピソードを持った患者から伝搬された可能性がある。ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤に対する耐性変異は見られなかったが、非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤であるネビラピン及びデラビジンに対する弱い耐性を示す変異（135番目のイソロイシンがチロシンまたはバリンに）を5例（29%）に認めた。これらの変異は非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤が

米国で認可されて間もない1996年に採取された検体からも高頻度にみられることから、自然多型と考えられる。

現在、パキスタンおよびベトナムにおける、耐性変異の状況を解析中である。

発表論文

M. Rafiq, S. Isomura, N. Yamamoto,
S. A. Rasool, A. Asim, G. N. Memon, and A. Amir.
HIV-I Subtype (Clades) in Pakistan.
Mamdar Medicus, Vol. XLIV, No. 1, 48-54
(2001)

学会発表

「アジア発展途上国：インドにおける未治療患者に見られた薬剤耐性 HIV の出現」

山本直彦、森下高行、佐藤克彦、金田次広、
伊部史朗、内海真

(第15回 日本エイズ学会)

7. 薬剤耐性変異の解析法の開発改良実用化と技術研修に関する研究

分担研究者 杉浦 互 国立感染症研究所エイズ研究センター

研究概要

変異と薬剤耐性との関連に関する膨大なデータを用い、コンピューターによるデータ処理を行うことにより、HIVの塩基配列からそのHIVの各薬剤に対する耐性の度合いを推定するシステムがスタンフォード大学メディカルセンターで開発され、インターネット上に公開されている。このシステムは、ホームページを通して誰でも無料で利用できるシステムであり、ジェノタイプの薬剤耐性検査への活用が期待される。今回その有用性を検討するため、Virco社で行っているバーチャルフェノタイプやフェノタイプとの比較検討を行った。フェノタイプを調べた12例の臨床分離株についてpol領域の塩基配列を決定し、スタンフォード大の耐性度解析を行う一方で、Virco社のバーチャルフェノタイプを行い、3者の結果について比較検討した。薬剤耐性関連の変異のほとんどない4例では3者の結果は全ての薬剤に対して感受性で一致し、耐性変異を有する8例では、高度の耐性に関しては概ね一致していたが、中程度以下の耐性に関しては、結果に違いがみられた。今後さらに多くの検体で、比較検討することにより各検査法の特長や利用上の注意点等を明らかにしてゆきたい。

A. 研究目的

遺伝子検査による薬剤耐性 HIV-1 解析と薬剤感受性検査法の開発改良を行う。さらに開発した検査手技を講習会を通じて地方衛生研究所に移植し、より多くの患者が検査の恩恵にあずかることができる検査体制を構築することを目的とする。

B. 研究方法

遺伝子検査手技は完成しており、図1のようなプロトコルを用いている。研究班では技術講習会を計画しており、この講習会を通じて薬剤耐性検査技術の公開、サポートを実施していく。感受性検査の解析方法は、遺伝子組み換え技術を用いて再構築したウイルスを使用する。検査プロトコルの概略を図3に示す。

(倫理面への配慮)

患者の血液検体を取り扱う際には検査の目的、必要性を十分に説明し、同意書を作成する。

C. 研究成果

1) 遺伝子検査

感染症研究所エイズ研究センターでは平成13年度は32施設の医療機関を対象に総計634検体の遺伝子検査を実施した(4月から12月末まで)。検査は図2に示すタイムテーブルに沿って実施されており、2-3週間で結果を主治医に返送している。ただし医療機関側から至急の依頼があった場合は2-3日での返送が可能である。

2) 薬剤耐性遺伝子検査技術の公開

薬剤耐性遺伝子検査技術を地方衛生研究所に移管するために平成14年1月9日から11日の3日間にわたり遺伝子検査技術講習会を開催した。講習会には表1の12施設から参加があった。実習はRNAの抽出から、遺伝子配列を解析し、結果の評価を行うまでの全行程を行った。またHIV-1に関する基本的な知識についても講義を行った(表1)

3) 感受性検査

薬剤感受性検査は平成13年度に完成しており、実際に運用しながら改良をしていく段階に達している。我々はこのシステムを立ち上げるに際して相同組替え用ウイルス発現ベクターと感受性測定のためのレポーター細胞を独自に開発している。検査のタイムテーブルを図4に示す。現状では10-20検体の検査が限界である。表2に我々の方法を用いて感受性を測定した標準野生株を、表3には患者検体10例の測定結果を示す。

D. 考察および結論

過去数年間に及ぶ運用と改良を経て我々の遺伝子検査手技は市販されている検査キット以上の完成度と簡便性を実現している。ランニングコストも1検体あたり一万円を切っておりルーチンの臨床検査としての使用を検討可能なコストと思われる。

感受性検査に関しては運用開始してから改善すべき点は何箇所か見つかっており、現在これらの点を改良中である。感受性検査は遺伝子検査に比較して費用と時間がかかることから全ての症例に適応することは困難である。現時点では新規感染者と多剤耐性症例を中心に解析を行っている。

E. 研究発表

1. 論文発表

杉浦 互

HIVの薬剤耐性

BIO Clinica Vol.16(13) pp.47-51. 2001

2. 守谷研二、杉浦 互

抗HIV薬剤耐性検査の方法と解釈

Modern Physician 2001

3. Earl PL; Sugiura W; Montefiori DC; Broder CC; Lee SA; Wild C; Lifson; J Moss B

Immunogenicity and protective efficacy of oligomeric human immunodeficiency virus type 1 gp 140

J Virol. Vol.75 :645-653. 2001

4. L Myint, Z Matsuda, Y Yokomaku, K Matsuo, T Iwasaki, K Yamada and W Sugiura

Contribution of accumulated Gag and protease mutations towards recovery of the fitness and the virus particle formation in the protease inhibitor - resistant HIV-1 with D30N and L90M.

Antiviral Therapy Vol.6 s-1 :55. 2001

5. Y Yokomaku, Z Matsuda, W Sugiura, M Matsuda, K Sakai, and Y Nagai

Phenotypic analysis of HIV-1 protease by virus - like particle ELISA.

Antiviral Therapy Vol.6 s-1 :13. 2001

6. Wataru Sugiura

Effect of introduction of highly active antiretroviral treatment and the changes in patterns of drug -resistant HIV-1 in Japan.

J Infect Chemother Vol.7 :127-132. 2001

7. Wataru Sugiura, Zene Matsuda, Yoshiyuki Yokomaku, Kurt Hertogs, Brendan Larder, Tsuyoshi Oishi, Aiko Okano, Teichirou Shiino, Masashi Tatsumi, Masakazu Matsuda,