

死亡に関する hazard ratio は、抗 HIV 薬無治療群に対して 0.60、また抗 HIV 薬 2 剤療法 (AZT・DDI または AZT・DDC) のそれは、0.37 であった。加えて Kaplan - Meier 生存曲線により、初期 CD4 値が 200 以上の群と 200 未満の群とで、抗 HIV 薬の生存曲線に対する影響を見た (図 1)。

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 7 月 6 日から徐々にリクルートを開始し、2002 年 12 月 27 日の時点で、計 680 名の感染者およびその配偶者がリクルートされた。3 ヶ月毎の新規参加者数を図 2 に示した。内双方の配偶者が HIV 陽性の夫婦 (concordant couple) が、89 カップル、片方が HIV 陰性の夫婦 (discordant couple) が 56 カップル参加した。夫が HIV 感染により死亡した抗 HIV 抗体陰性の未亡人が、32 名参加者 HIV 感染した配偶者を持つ抗 HIV 抗体陰性配偶者の総数は 88 名となった。積極的追跡を行った患者および配偶者の 3 ヶ月毎の累積数、追跡不能また死亡した参加者の累積数を図 3 に示した。積極的追跡を行った患者およびその配偶者 439 名の追跡率は 6 ヶ月で 337/394(95.4%)、12 ヶ月時点で 251/272(92.3%) であった。

2001 年 7 月 12 日までに参加したコホート患者の基礎情報を表 2 に示した。1995 年から 99 年までのデイケア - センター受診者と同様に、感染経路の殆どが異性間性的接触によるものであるが、今回のコホートに参加した感染者は、女性の割合が多く、HIV 関連症状がなく CD4 が比較的高い無症候キャリアー感染者の割合が多いのが特徴である。抗 HIV 薬治療歴のある感染者の割合は、99 年前と大差ない。現在抗 HIV 薬治療中 73 症例全例が 2 剤以上の投与を受けており、このうち 3 剤療法を受けているのは 5 症例にとどまっている。HIV 関連症状歴があった 231 症例のうち頻度の高いものをあげると、口腔内カンジダ 81 症例 (35.1%)、帯状疱疹 66 症例 (28.6%) がある。CDC1993 年分類カテゴリー C に含まれる疾患では、クリプトコッカス髄膜炎 35 症例 (15.2%)、カリニ肺炎 39 症例 (16.9%)、肺結核 29 症例 (12.6%) の頻度が高い。その他の疾患としては、肺外結核 15 症例 (6.5%)、トクゾプラズマ 11 症例 (4.8%)、CMV11 症例 (4.8%)、食道カンジダ炎 7 症例 (3%)、また北タイのエイズ感染者に多いとされているペニシリオーシスは、17

症例 (7.4%) であった。カポジ肉腫、リンパ肉腫はなかった。

既婚感染者 460 名のうち、配偶者の HIV 感染有無についてわかっている症例は 397 例、うち 59 症例 (14.9%) の配偶者は抗 HIV 抗体陰性であった。配偶者が抗 HIV 抗体陰性群と陽性群とで血中ウイルス量の mean log RNA copies/ml を比較したところ、Index case が男性の場合、それぞれ 5.192 vs 5.184、Index case が女性の場合、それぞれ 4.782 vs 4.758 で、差は認められなかった。また、夫婦間の性行動についても配偶者が抗 HIV 抗体陰性群と陽性群とで、月あたりの性的接触回数中央値 (IQR) が、Index case が男性の場合、それぞれ 6.0 (3.5-10)、6.0 (4.0 - 10)回、Index case が女性の場合、それぞれ 8.0 (5.25-15.0)、6.0 (3.0 - 10)回で、差は認められなかった。HIV 感染について配偶者に伝える前のコンドーム使用頻度は、全く使用しなかった (0%) と答えたのが 92%、常に使用していた (100%) と答えた感染者はわずか 2.6% であった。HIV 感染について配偶者に伝えた後のコンドーム使用頻度は、0% が全体の 19% になり、100% 使用が 54.2% にまで上昇した。また、月あたりの性的接触回数中央値 (IQR) も、6(3.5-10)から 2(1.5-6)回へと減少した。

c) HIV エピト - プ特異的 CTL による野外株 Gag タンパクの認識効率に関する研究

図 4 に、実験に用いた 7 クロウンの p17A*0201 拘束性 CTL エピト - プ領域およびその周辺領域のシーケンスを示す。その結果、このエピト - プ領域には、野生株 SLYNTVAIL の他に、SLYNLVAIL, SLYNTIATL, SYNTVAIL, SLENTVAVL の 4 つの変異パターンがあることが判明した。また、YAH-29 は、エピト - プ領域のシーケンスが野生株と同一であったが、周辺領域に 3 つのアミノ酸変異が認められた。これら変異シーケンスを有するクロンを発現する標的細胞を組換え HIV-1 ベクターへ組み込み作製した。これらの標的細胞と、エピト - プ領域のシーケンスに相応する合成ペプチドを外部からパルスすることによって作製した標的細胞との CTL 認識を比較検討した 51Crelease 実験結果を図 5 に示す。野外株と同一のシーケンスを有する YAH-29 クロンの発現細胞は、エピト - プ周辺領域の変異にもかかわらず CTL によって強く認識された。SLYNTIATL 変異は、ペプチドとクロンの双方が強く認識

され、CTL ラインによってクロス認識されることが判明した。逆に SLYNLVATL 変異は、ペプチドとクローンの双方で認識されず、この変異が CTL TCR 認識からエスケープしていることが判明した。興味あるのは、SYNYNTVATL と SLENTVAVL のふたつの変異で、これら変異に相応するペプチドは、CTL ラインによってクロス認識されているにもかかわらず、このエピト-プを有するクローンを細胞内発現させた標的細胞は、同じ CTL ラインによって全く認識されなかった。

D 考察

今回のレトロスペクティブ生存解析により、北タイにおける HIV 感染者の死亡率が明らかになり、今後コホート研究を行うにあたって有用な情報が得られた。CD4 値のない感染者群の死亡率が最も高いのは、この群の感染者は、臨床的に病期の進行が著しかった為 CD4 値を測定しなかった為と考えられる。ランパン病院デイケア-センターを受診する感染者の殆どは、異性間性的接触によって CRF01_AE(サブタイプ E)ウイルスに感染したと考えられるが、抗 HIV 薬の CRF01_AE 感染者に対する影響を定量的に調べた研究は他に例がない。今回の解析結果から、抗 HIV 薬 1 剤療法は、無治療に比べて 40%、2 剤療法は無治療に比べ 63%死亡率を低下させるという結果が得られたが、これらの結果は、欧米で行われたサブタイプ B 感染患者の 2 剤療法による効果とほぼ同じである。我々の結果は、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重要な情報を提供した。99 年以降の登録が独立した因子として死亡と関連があったのは興味深い。この理由については、さらなる検討を必要とする。

コホート研究では、出来るだけ患者選択にバイアスを加えない為に、デイケア-センター受診感染者すべてを対象とした。しかし、今回のコホート参加感染者は、99 年以前の同センター受診感染者に比べ、女性と無症候キャリアの割合が多い点で大きく異なる。これは、患者団体の協力を得て特に夫婦の参加を積極的に促した為、まだ症状を呈さない状態からセンターを受診することになった感染者が増えたことがその一因と考えられる。またデイケア-センターを受診する患者のなかに女性の割合が増える傾向は、99 年以前から認められ、これらは、女性感染者の増加が男性感染者に比べて時間的に遅れたタイにおける

HIV・エイズ流行パターンと一致する。病期がまだ進行していない感染者が、全体の約 5 割を占めていることは、今後免疫学的・遺伝学的な因子と病期進行との関連を調べるに際しより有利なコホート患者群である。本年度から、積極的追跡を行ったコホート参加者の追跡率を割り出すことが可能になった。これまでのところ、90%以上の高い追跡率を維持している。

異性間性的接触による HIV 伝播リスク因子として、Index case のウイルス量や CD4 値また臨床状態が重要視されているが、我々のコホート参加者のうち配偶者が抗 HIV 抗体陽性と陰性群で比較検討したところ、いずれのリスク因子も有意な差がなかった。また、Index case の性病歴についても調べたが、過去に性病歴を持つものは患者全体の 70 症例 (15%) で、そのうち過去 5 年間に性病歴があったものはわずか 5 症例であった。今後 HIV 非伝播の他の機序として、抗 HIV 抗体陰性配偶者のホスト遺伝因子などの検討を加えてゆく予定である。

前年度に確立した HIV-1 ベクターを用いた CTL 標的細胞作製系を用いて、本年度は臨床株由来の 4 つの変異株を調べた。その結果、2 つの変異については、外部から加えたペプチド認識と細胞内で gag クローンを発現させた場合とで、CTL ラインによる細胞認識に大きな差が認められなかったが、残り 2 つの変異については、ペプチドがクロス認識されているにもかかわらず、細胞内で発現された変異株由来の Gag タンパクが認識されないという結果の乖離が認められた。このことは、変異株 A*0201CTL エピト-プが、変異株由来の Gag タンパク発現から細胞内プロテオームによるタンパク分解、TAP によるペプチド輸送、小胞体内での HLA 分子との結合など、エピト-プが HLA 分子に乗って細胞表面上へ抗原提示されるまでのプロセッシングの過程において何らかのエスケープ機構が働いたものと考えられる。今後 CRF01_AE を含めたさらに多くの臨床株の細胞内発現を行い、他の CTL エピト-プの細胞表面上抗原発現効率について調べて行く予定である。

E 結論

- 1) CRF01_AE 感染者においても、抗 HIV 薬 1 剤療法 (AZT) および 2 剤療

法 (AZT・DDI または AZT・DDC) は、サブタイプ B 感染者と同程度の死亡率低下効果がある。

- 2) ランバン県病院デイケア - センター受診患者およびその配偶者を対象として高い追跡率を維持したコホート研究の遂行が可能である。
- 3) CTL エピト - プ変異株の間で CTL エピト - プ細胞表面上抗原提示効率に顕著な差がある。従って、それぞれの CTL エピト - プの意義を評価する際、抗原提示効率を念頭に検討する必要がある。

F 健康危険情報

該当する情報なし

G 研究発表

1) 論文発表

Frater AJ, Beardall A, Ariyoshi K, Churchill D, Galpin S, Clarke JR, Weber JN, McClure MO. Impact of baseline polymorphisms in RT and protease on outcome of highly active antiretroviral therapy in HIV-1-infected African patients. *AIDS* 2001; 15: 1493-502

Van der Loeff MFS, Aaby P, Ariyoshi K, Vincent T, Awasana AA, Da Costa C, Pembedy L, Dias F, Harding E, Weiss HA, Whittle HC. HIV-2 does not protect against HIV-1 infection in a rural community in Guinea-Bissau. *AIDS* 2001; 15: 2303-10

2) 学会発表

三浦秀佳、横幕能行、建石幸子、後藤美江

子、立川愛、岩本愛吉、小島朝人、有吉紅也「HIV 特異的細胞障害性 T 細胞(CTL)による臨床株 Gag タンパクの認識効率に関する研究」第 49 回日本ウイルス学会 (2001 年大阪市)

P Pathipvanich, K Ariyoshi, A Rojanawiwat, S Wongchoosie, P Yingsaree, P Warachit, P Sawanpanyalert. The influence of anti-retroviral drug therapy on the mortality of HIV-1 infected patients attending a single clinic in northern Thailand. Sixth International Conference on AIDS in Asia and the Pacific. October 5-10, 2001.

L Myint, K Ariyoshi, AJ Frater, M Matsuda, A Okano, T Chiba, H Abumi, K Yamada, W Auwanit, P Pathipvanich, W Sugiura. Detection of M41L and K70R AZT resistant mutations in subtype E HIV-1 by Mutagenically Separated PCR. Sixth International Conference on AIDS in Asia and the Pacific. October 5-10, 2001.

W Sugiura, M Matsuda, H Miura, K Yamada, K Ariyoshi. Genotypes related to nelfinavir resistance in subtype E infection differ from subtype B in Japan. Sixth International Conference on AIDS in Asia and the Pacific. October 5-10, 2001.

H 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

図1 各抗 HIV 薬治療群の生存曲線比較

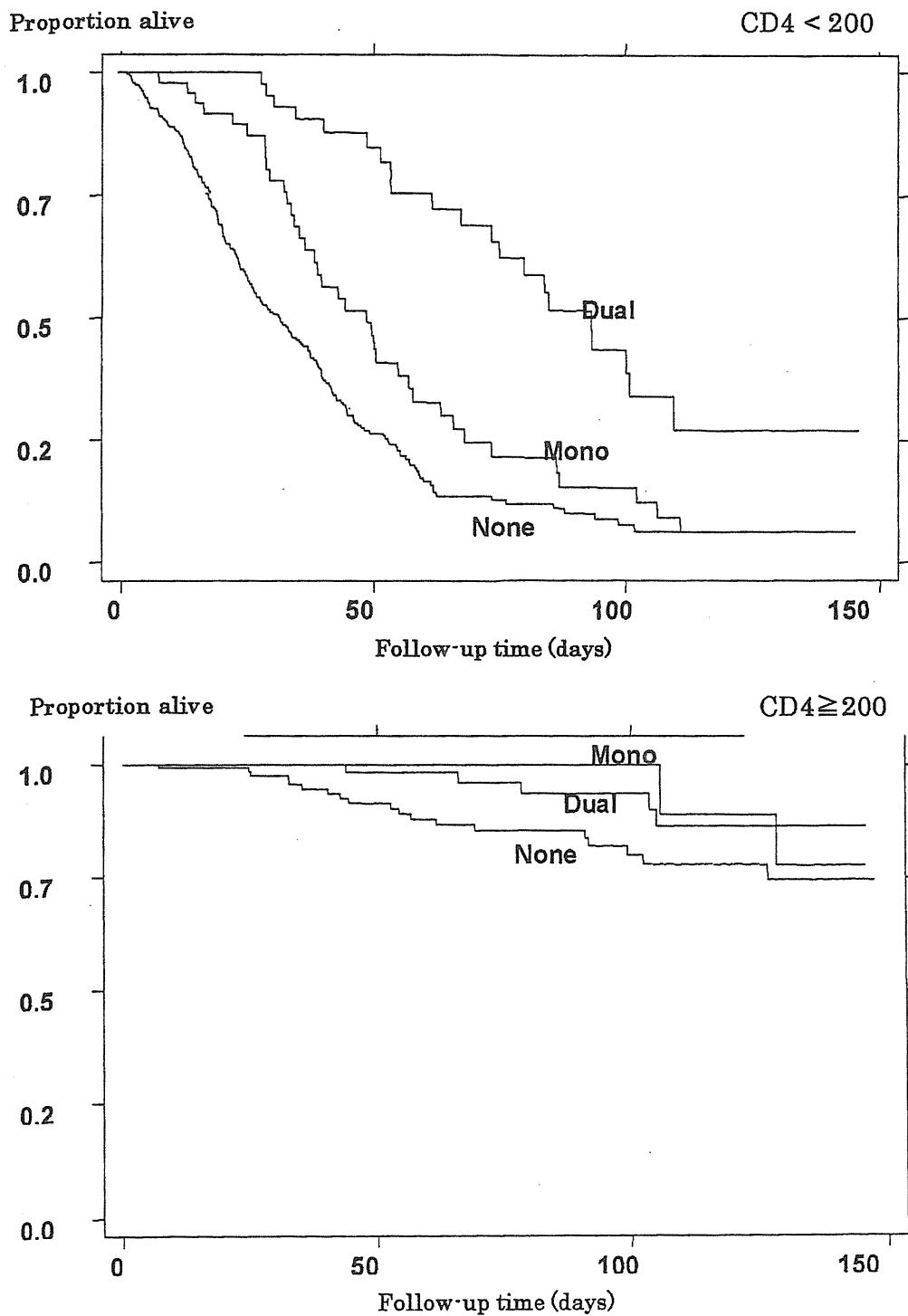


図2 3ヶ月毎のコホート新規参加者数

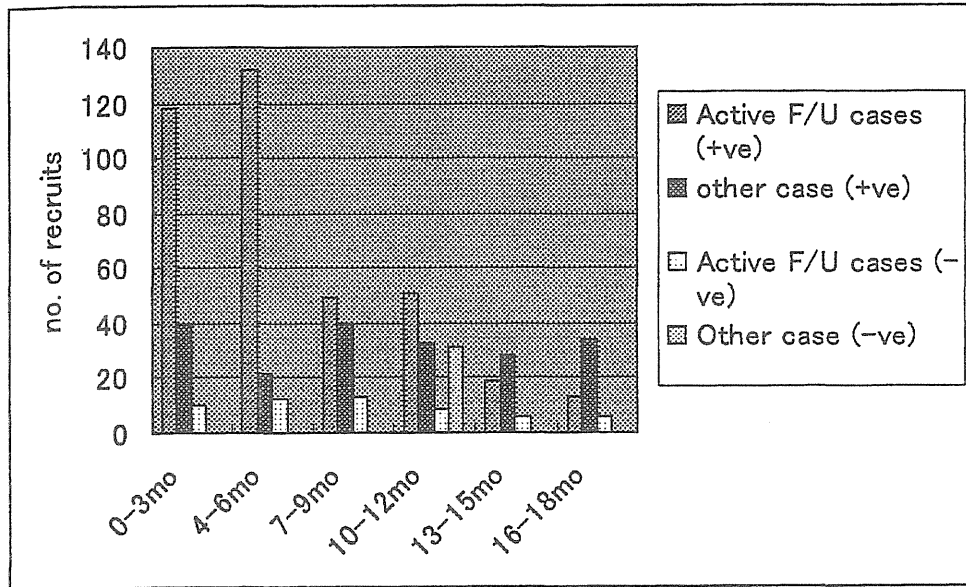


図3 積極的追跡を行ったコホート感染者、追跡不明者、死亡症例の累積数

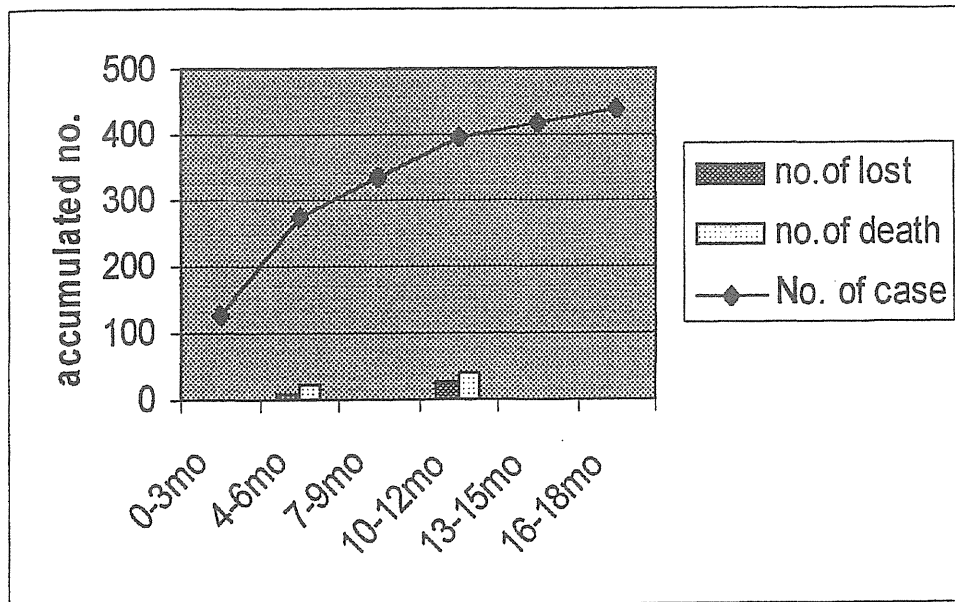


図4 各クローン間の p17A*0201 拘束性 CTL エピト - プ領域およびその周辺領域のアミノ酸配列比較

HXB2	GQLQPSLQTGSEELR	SLYNTIVATL	LYCVHQRIEIKDTKEA
SAC-5	E-----	-----L-----	-----K--VR-----
SAC-7	E-----	-----L-----	-----K--VR-----
YAH-28	E----A-----	-----I-----	-----V-----
YAH-29	E----A-----	-----	-----V-----
NAS-11	A--H-A-K-----	-V-----	-----
OKY-24	-----A-----	--F-----V-	-----K--V-----
SUH-3	-----A-----	-----	-----V-----

図5 ペプチドパルス法による標的細胞と HIV-1 ベクターによって作製された標的細胞との p17A*0201 拘束性 CTL エピト - プ認識の比較

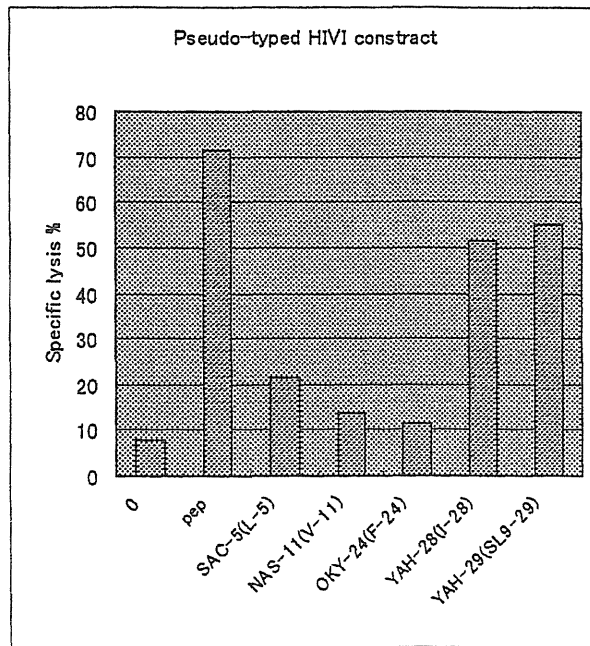
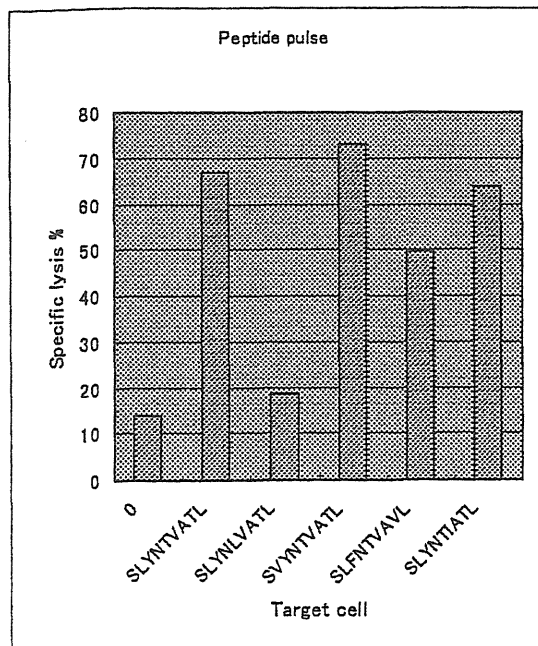


表1 各リスク因子と死亡率との関係

Table

Group	No. of patients	Deaths / Person-Year-Observation (PYO)	Mortality rate per 100 PYO (95% CI)	Adjusted hazard ratio (95% CI)	P-value for variable from multivariate (univariate) analysis
Sex					
Male	705	483 / 680	71.0 (64.7, 77.3)	1.0	
Female	376	124 / 571	21.7 (17.9, 25.5)	0.82 (0.66, 1.01)	0.073 (0.000)
Age group					
<25 years old	167	79 / 236	33.5 (26.1, 40.9)	1.0	
≥25 years old	914	528 / 1015	52.0 (47.6, 56.4)	1.19 (0.93, 1.53)	0.166 (0.001)
Registered year					
1995-1998	943	588 / 1201	49.0 (45.0, 52.9)	1.0	
1999	138	19 / 49.5	38.4 (21.1, 55.6)	0.57 (0.36, 0.91)	0.019 (0.028)
Clinical status					
Asymptomatic	324	54 / 601	9.0 (6.6, 11.4)	1.0	
Symptomatic	757	553 / 650	85.1 (78.0, 92.2)	3.84 (2.77, 5.32)	0.000 (0.000)
CD4 group					
≥500	60	2 / 114	1.8 (0, 4.2)	1.0	
200-499	192	26 / 386	6.7 (4.1, 9.3)	4.61 (1.09, 19.4)	0.038 (0.071)
100-199	77	27 / 131	20.6 (12.8, 28.4)	6.74 (1.58, 28.7)	0.01 (0.001)
0-99	345	252 / 327	77.1 (67.5, 86.6)	16.70 (4.07, 68.4)	0.000 (0.000)
Not available	392	293 / 256	114.5 (101.3, 127.6)	26.89 (6.58, 109.7)	0.000 (0.000)
Antiretroviral drug					
None	828	501 / 748	67.0 (61.1, 72.8)	1.0	
Mono	78	52 / 132	39.4 (28.7, 50.1)	0.60 (0.45, 0.80)	0.001 (0.001)
Dual	129	31 / 274	11.3 (7.3, 15.3)	0.37 (0.25, 0.54)	0.000 (0.000)

表2 コホート参加感染者の基礎情報

	Male (N=188)	Female (N=301)	P value
Age (years old)	34 (31, 38)	31 (28, 36)	<0.0001
Marital status			
Never married	27	2	
Ever married	161 (85.6%)	299 (99.3%)	
HIV Status of spouse			
Negative	33	26	
Positive	94	244	
Not known	34	29	
Mode of transmission			
Intravenous drug use	3	0	
Homosexual	9	0	
Heterosexual	165 (87.8%)	297 (98.7%)	
Blood transfusion	2	0	
Unknown	9	4	
Clinical status			
Asympt.	69	189	
Sympt.	119 (63.3%)	112 (37.2%)	<0.0001
Anti-retroviral drug use			
Ever taken ARV	41 (21.8%)	106 (35.2%)	
Currently taking	25 (13.3%)	48 (15.9%)	
CD4 count			
	63.5 (15, 258)	264 (94, 418)	<0.0001
CD4 group			
<200	129	120	
200-500	42	131	
>500	15	47	
Viral load			
(Copies/ml)	199,252 (80,660, 560,670)	89,639 (16,357, 321,192)	<0.0001
Hb (g/dl)			
	12.4 (10.3, 13.8)	12.0 (10.8, 12.9)	
Lymocyte count (cell/ μ l)			
	131,600 (79,200, 189,000)	174,000 (121,900, 224,900)	<0.0001

Median (Inter-quartile range) is shown.

研究成果の刊行に関する一覧表

論文発表（欧文誌）

（武部班員）

1. Kato, K., Kusagawa, S., Motomura, K., Yang, R., Shiino, T., Nohtomi, K., Sato, H., Shibamura, K., Hien, N. T., Chi, P. K., Thang, P. H., Thang, D. C., Quoc, N. C., Thang, B. D., Long, H. T., Yamazaki, S., Nagai, Y., and Takebe, Y. (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 Res and Human Retroviruses* **17**: 113-123.
2. Uno-Furuta, S., Tamaki, S. Takebe, Y., Takamura, S., Kamei, A., Kim, G., Kuromatsu, I., Kaito, M., Adachi, Y., and Yasutomi, Y. (2001). Induction of virus-specific cytotoxic T lymphocytes by in vivo electric administration of peptides. *Vaccine* **19**: 2190-2196.
3. Kusagawa, S., Takebe, Y., Yang, R., Motomura, K., Ampofo, W., Brandful, J., Koyanagi, Y., Yamamoto, N., Ishikawa, K., Sata, T., Nagai, Y., and Tatsumi, M. (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).
4. Sato, H., Tomita, Y., Ebisawa, K., Hachiya, A., Shibamura, K., Shiino, T., Yang, R., Tatsumi, M., Gushi, K., Umeyama, H., Oka, S., Takebe, Y., and Nagai, Y. (2001). Augmentation of human immunodeficiency virus type 1 subtype E (CRF01_AE) multiple-drug resistance by insertion of a foreign 11-amino-acid fragment into the reverse transcriptase. *J. Virol.* **75** (12): 5604-5613.
5. Kuromatsu, I., Matsuo, K., Takamura, S., Kim, G., Takebe, Y., Kawamura, J., and Yasutomi, Y. (2001). Induction of effective antitumor immune responses in a mouse bladder tumor model by using DNA of an antigen from mycobacteria. *Cancer Gene Therapy* **8**: 483-490 (2001).
6. The Members of WHO-UNAIDS Vaccine Advisory Committee (2001). Approaches to the development of broadly protective HIV vaccines: Challenges posed by genetic, biological and antigenic variability of HIV-1. *AIDS* **15**: W1-W25.
7. Kusagawa, S., Sato, H., Tomita, Y., Tatsumi, M., Kato, K., Motomura, K., Yang, R., Nohtomi, K., and Takebe, Y. (2002). Isolation and characterization of replication-competent molecular DNA clone of CRF01_AE with different coreceptor usages. *AIDS Res and Human Retroviruses* **18** (2): 115-122.
8. Louisirirochanakul, S., Liu, H., Roongpisuthipong, A., Nakayama, E. E., Chaiyakool, P., Sangsung, S., Takebe, Y., Shioda, T., and Wasi, C. (2001). Genetic analysis of HIV-1 discordant couples in Thailand: CCR2 64I homozygosity is associated with HIV-1 negative status. *AIDS* (in press).
9. Zhang, C., Yang, R., Xia, X., Tan, S., Dai, J., Zhang, Z., Peng, Z., Wei, T., Liu, H., Pu, D., Luo, J., Takebe, Y., and Ben, K. (2002). High prevalence of HIV-1 and HCV coinfection among injecting drug users in the southeast region of Yunnan, China. *J. AIDS* (in press).
10. Fukuda, K., Tomiyama, H., Wasi, C., Matsuda, T., Kusagawa, S., Sato, H., Oka, S., Takebe, Y., and Takiguchi, M. (2002). Cytotoxic T cell recognition of HIV-1 cross-clade and clade-specific epitopes in HIV-1-infected Thais and Japanese patients. *AIDS* (in press).
11. Murakami, Y., Fukasawa, H., Kobatake, T., Takebe, Y., Tobiume, M., Matsuda, M., and Uehara, Y. (2002). An *in vivo* high-throughput screening system for inhibitors of interaction between Nef and Hck. *Antiviral Research* (in press).
12. Yang, R., Xia, X., Kusagawa, S., Zhang, C., Ben, K., and Takebe, Y. (2002). On-going generation of multiple forms of HIV-1 intersubtype recombinants in Yunnan province of China. *AIDS* (accepted).

(有吉班員)

1. Frater AJ, Beardall A, Ariyoshi K, Chrchill D, Galpin S, Clarke JR, Weber JN, McClure MO. Impact of baselyne polymorphisms in RT and protease on outcome of highly active antiretroviral therapy in HIV-1-infected African patients. AIDS 2001; 15: 1493-502
2. Van der Loeff MFS, Aaby P, Ariyoshi K, Vincent T, Awasana AA, Da Costa C, Pembedy L, Dias F, Harding E, Weiss HA, Whittle HC. HIV-2 does not protect against HIV-1 infection in a rural comm.unity in Guinea-Bissau. AIDS 2001; 15: 2303-10

論文発表 (邦文誌)

(武部班員)

1. 武部 豊. 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 (2): 123-138. 日本ウイルス学会. 東京 (2001).
2. 武部 豊・本村和嗣. 「HIV のサブタイプとその分布」 特別企画「エイズと HIV 感染症の現状と今後の展望」(木村哲編集 総 126 頁) 10. HIV の起源とタイプ. 「カレントセラピー」19 (2): 109-115. カレントセラピー社. 東京 (2001).
3. 武部 豊. トピックス「エイズ流行:世界の動向とその将来」. 病原微生物検出情報 Infectious Agents Surveillance Report (IASR) [<http://idsc.nih.go.jp/iasr/index-j.html>]
4. 武部 豊 (2001). HIV-1 サブタイプの世界分布:世界流行形成のメカニズム. 日本エイズ学会雑誌 (The Journal of AIDS Research). 3 (3): 140-154. 日本エイズ学会. 東京.
5. 武部 豊. HIV のゲノム多様性:メカニズムとその生物学的意義. 総説. ウイルス 51 (2): 123-133 日本ウイルス学会. 東京. (2001).
6. 佐藤裕徳, 武部 豊 (2001). HIV の変異 (総説)「ヒトレトロウイルス研究の最前線」(山本直樹編集) HIV の変異 (総説). シュプリンガー・フェアラーク. 東京. (in press)
7. 武部 豊 (2001). HIV 感染症の分子疫学:原理とその応用. 特集「HIV/AIDS 研究の進歩」. 60 (4): 652-661. 日本臨床社. 東京.
8. 武部 豊. (2001). HIV のゲノム多様性:メカニズムとその生物学的意義. ウイルス 51 (2): 123-133. 日本ウイルス学会. 東京.

200100744A

以降は 雑誌/図書等に掲載された論文となりますので P.24～P.25 の
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。

