

厚生労働科学研究費補助金 エイズ対策研究事業

「薬剤耐性 HIV 発生動向把握のための検査方法

・調査体制確立に関する研究」

平成 16 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 杉浦 亙 平成 17 年 3 月

# 目 次

## I. 総括研究報告書

- 薬剤耐性 HIV 発生動向把握のための検査方法・調査体制確立に関する研究..... 1  
国立感染症研究所 エイズ研究センター 杉浦 互

## II. 分担研究報告書

1. 薬剤耐性 HIV 発生動向把握のための検査方法・調査体制確立に関する研究..... 7  
国立感染症研究所 エイズ研究センター 杉浦 互
2. 薬剤耐性遺伝子検査のヴァリデーションに関する研究..... 24  
独立行政法人 国立病院機構 仙台医療センター 臨床検査科 浅黄 司
3. 新規感染者に認めた薬剤耐性 HIV-1 のウイルス学的解析研究..... 42  
独立行政法人 国立病院機構 名古屋医療センター 臨床研究センター 金田次弘
4. HAART 療法を受けている患者の PBMC における細胞内薬剤濃度と  
治療効果及び副作用との関連..... 48  
慶應義塾大学医学部微生物免疫学教室 加藤真吾
5. 薬剤耐性検査の臨床応用に関する研究..... 53  
国立国際医療センター エイズ治療・研究開発センター 潟永博之
6. 抗 HIV 薬の血中濃度に関する臨床研究..... 58  
独立行政法人 国立病院機構 宇多野病院 薬剤科 栗原 健
7. 逆転写酵素 d4T の薬剤耐性機序の解明..... 79  
京都大学ウイルス研究所附属エイズ研究施設感染免疫研究領域 児玉栄一
8. 薬剤耐性ウイルスの Genophenotyping 実験系の確立..... 83  
国立感染症研究所 エイズ研究センター 巽 正志
9. 薬剤耐性ウイルスの Genotype と薬剤耐性 RT Phenotype  
および RT Structural Type との相関解析..... 88  
国立感染症研究所 エイズ研究センター 仲宗根 正
10. HAART の最適化のための研究（治療のモニタリングと適正処方の研究）..... 92  
熊本大学エイズ学研究センター 松下修三

11. 細胞膜融合を標的にした薬剤の耐性機序 .....	95
国立感染症研究所 エイズ研究センター	松田善衛
12. HIV 薬剤耐性変異の解析とデータベースの構築 .....	102
産業技術総合研究所生物情報解析センター	山口由美
13. 北陸地区における薬剤耐性 HIV-1 調査耐性確立のための研究 .....	106
石川県立中央病院 血液病治療部	上田幹夫
14. 関東甲信越地区における薬剤耐性 HIV-1 調査耐性確立のための研究 .....	113
新潟大学医歯学総合病院 第2内科	下条文武
15. 北海道地区における薬剤耐性 HIV-1 調査耐性確立のための研究 .....	114
北海道大学大学院医学研究科病態制御学講座	小池隆夫
16. 九州地区における薬剤耐性 HIV-1 調査耐性確立のための研究 .....	116
独立行政法人 国立病院機構 九州医療センター感染症対策室	山本政弘
17. 近畿地区における薬剤耐性検査耐性確立のための研究 .....	118
独立行政法人 国立病院機構 大阪医療センターHIV/AIDS 先端医療開発センター	山本善彦
//	白阪琢磨

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 .....	125
---------------------------	-----

# I. 総括研究報告書

## 厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）

### 総括研究報告書

研究課題：薬剤耐性HIV発生動向把握のための検査方法・調査体制確立に関する研究

主任研究者：杉浦 亘（国立感染症研究所エイズ研究センター 第2研究グループ長）

#### 研究要旨

この研究班では薬剤耐性 HIV-1 の発生動向を把握し、その増加を抑制するための有効な対策を打ち出すことを目的とする。この目的を達成するために分担研究者を①疫学調査研究、②治療最適化研究そして③薬剤耐性基礎研究という3つのグループに分けて研究を進めた。疫学調査研究では全国各ブロックの拠点病院、衛生研究所等 HIV-1 感染症治療と薬剤耐性検査に携わっている施設の協力を得て調査プロトコルを作成し、それに基づき、我が国における薬剤耐性 HIV-1 の発生動向調査を行った。治療最適化研究では個々の薬剤耐性症例に最も適した治療を探るために治療薬剤の血中濃度測定を行った。各症例の治療効果を合わせて評価することにより薬剤耐性レベルの臨床的閾値を明らかにしていく。薬剤耐性基礎研究では薬剤耐性を獲得した臨床株の回収法の開発、薬剤の標的である逆転写酵素とプロテアーゼの酵素学的な解析と耐性獲得機序の解明、新規導入が見込まれている薬剤に対する耐性変異の解析、新たな薬剤耐性検査方法の開発など薬剤耐性の病態を理解するうえで必要な様々な基礎的研究を行った。

#### 分担研究者

浅黄 司（独立行政法人国立病院機構  
仙台医療センター）

金田次弘（独立行政法人国立病院機構  
名古屋医療センター）

加藤真吾（慶応義塾大学医学部微生物学  
免疫学教室）

湯永博之（国立国際医療センター  
エイズ治療・研究開発センター）

栗原 健（独立行政法人国立病院機構  
宇多野病院）

児玉栄一（京都大学ウイルス研究所  
附属エイズ研究施設）

巽 正志（国立感染症研究所  
エイズ研究センター）

仲宗根 正（国立感染症研究所  
エイズ研究センター）

松下修三（熊本大学エイズ学研究センター）

松田善衛（国立感染症研究所  
エイズ研究センター）

山口由美（産業技術総合研究所  
生物情報解析研究センター）

上田幹夫（石川県立中央病院血液病治療部）

下条文武（新潟大学医歯学総合病院・第二内科）

小池隆夫（北海道大学大学院医学研究科）

山本政弘（独立行政法人国立病院機構

九州医療センター）

山本善彦（独立行政法人国立病院機構

大阪医療センター）

#### A.研究目的

我が国における薬剤耐性 HIV-1 の発生・伝播動向を把握する調査体制の確立と、薬剤耐性 HIV-1 症例の増加を抑制する有効な対策を提案することを目的とする。

#### B.研究方法

目的を達成するために下記3つの研究グループに分かれて研究を進めていく。

疫学調査研究グループ: 新規 HIV-1 感染者の捕捉と薬剤耐性検査体制と調査体制の確立を行う。全国のプロック拠点病院あるいは地方衛生研究所等において薬剤耐性検査を担当している研究者に、分担もしくは協力研究者として参加してもらい、調査プロトコルの作成、薬剤耐性検査の実施、データの整理・収集などを行

う。調査により集積した HIV-1 遺伝子情報を元にわが国における薬剤耐性 HIV-1 の動向を把握し、薬剤耐性 HIV-1 が拡散する背景を推測し、対策を提案する。

治療最適化研究グループ: 抗 HIV-1 薬剤血中濃度維持のために、薬剤血中濃度モニタリング研究に取り組む。ホームページを介しての治療薬剤の情報発信と血中濃度測定検査の受付を行っていく。また、薬剤耐性 HIV-1 症例の増加抑制を目標に、薬剤耐性検査、薬剤血中濃度モニタリング、細胞内薬剤濃度の測定などの検査を組み合わせながら至適治療法について研究を進めていく。

薬剤耐性基礎研究グループ: 薬剤耐性 HIV-1 の増加を押さえ込み、治療脱落症例の数を減らすためには薬剤耐性 HIV-1 のウイルス学的基礎研究を進め、その耐性化機序と病態を理解することが極めて重要である。この研究では薬剤耐性変異を獲得した HIV-1 の感染性クローンの樹立、未だ明らかになっていない逆転写酵素阻害剤 d4T の耐性機序、非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤の耐性化機序の解析、すでに米国では実用化された接着・進入阻害剤の耐性化機序の解析を進めていく。今日分子生物学的研究手法は急速に進歩しており、薬剤耐性 HIV-1 の検査方法も技術革新に応じて改良、新規開発していく努力が必要である。この研究では薬剤耐性 HIV-1 を同定する新たな検査法についても開発を試みていく。

#### 倫理面への配慮

この研究を進めるには患者の協力が必要であり、研究の必要性和意義について十分に説明し、理解と協力を得ることが欠かせない。この研究は国立感染症研究所医学研究倫理審査の結果承認されている（平成 16 年 10 月 21 日付け、第 48 号）。参加医療機関についても各機関の倫理規定に従い同意を得る。その際には自筆のサインを記入してもらう。サインをした同意書原本は主治医あるいは各施設の担当者のもとで厳重に保管することを義務づける。

## C.研究成果

### 疫学調査研究:

(1)北海道、東北、関東甲信越、北陸上越、東海、近畿、中国四国、九州ブロックおよび東京都、神奈川県、千葉県の薬剤耐性検査状況把握のための視察を実施。各ブロック拠点病院あるいは拠点病院を訪問し、新規感染者の状況、薬剤耐性検査状況についての説明を受けるとともに研究班の趣旨説明と協力を求めた(杉浦)。

(2)感染症研究所の研究倫理委員会でこの研究班の調査研究の承認を受けた後、薬剤耐性検査を担当している各ブロックの検査技師および医師を招集しての薬剤耐性ワーキンググループ会議を 10 月 1 日名古屋に於いて開催し、調査プロトコルを作成した。そのプロトコルに従い、新規感染者におけるデーターの収集を開始した。平成 16 年 10 月の時点で各ブロック拠点より 2003 -2004 年にかけての 313 例の新規登録者のデーターが提出された(小池、浅黄、渦永、下条、上田、金田、山本(善)、山本(政)、杉浦)。

(3)新規感染者の調査はマルチセンターで実施されるため、解析結果の施設間差を評価するヴァリデーションを計画し、その前段階として検査法のアンケートによる事前調査を実施した(浅黄、金田)。

### 治療最適化研究:

(1)血中濃度測定研究に関してはホームページを立ち上げて検査の紹介、受付そして抗 HIV-1 薬の薬物動態に関する情報を提供しており、平成 16 年度はアクセス件数 1989 件、パスワード取得者 94 名、そして測定検体 297 検体を達成した(桑原)。

(2)LC-MS/MS を用いて細胞内 AZT, AZT-MP, AZT-DP, AZT-TP の定量を試みた。その結果 AZT-MP は細胞外の AZT 濃度に依存して増加するのに対して、-DP と-TP は細胞外濃度が 100nM 以上の領域では plateau に達することが明らかになった。服薬アドヒアランスを客観的にモニタリングする方法として毛髪からの薬剤検出を試みた。LPV、NFV を服用している患者からの毛髪を用いて測定した結果、2mm 程の長さの毛髪より極めて高い感度で LFV, NFV を検出し定量することに成

功した(加藤)。

(3) 治療最適化における血中濃度測定の有効性を10名のSQV+RTV併用療法を受けている患者の追跡から立証した。抗HIV-1薬剤血中濃度とそれをコントロールすると考えられている宿主遺伝子ABCB1とABCC4の解析を行い、宿主遺伝子解析の有用性について検討を加えた(松下)。

#### 薬剤耐性基礎研究:

薬剤耐性機序の理解を深め検査結果を正しく評価するために、分担研究者が基礎研究に取り組み以下の研究成果を得た。

(1)d4Tの耐性変異責任領域の探索を行った。逆転写酵素領域には有意の変異を認めなかった。3TCを除く既存のNRTI新規RT阻害剤4'-EfdAを同定した。NP-2細胞を元に感受性検査のための新たな細胞株NCK45を樹立した(児玉)。

(2)塩基ラベリングによるSNP検出法を用いた競合培養法を作成し、その解析精度について評価を行った(金田)

(3)新たなNNRTI耐性変異K238Sを見出した。NNRTI耐性変異のK103Nの獲得機序について解析を行いK103Rの重要性を明らかにした(湯永)。

(4)T7RNAポリメラーゼトランスファーを介した膜融合の定量評価系を作成した。またenvelopeの膜貫通部分の変異が膜融合に影響を与えることが明らかになった(松田)。

(5)MAGIC5細胞を用いたCRF01\_AE薬剤耐性感染性クローンを樹立した(巽)。

(6)超高感度RT活性測定法RT2を確立した。この方法による測定値はSHIVではRNAコピー数と高い相関を示した。しかしHIV-1では一部のサンプルで相関が認められなかった。またこの方法を用いることによりAZT-TPとd4T-TP耐性の検出が可能であった(仲宗根)。

(7)感染症研究所のデータベースを基に遺伝子配列とタンパクの構造に関する検討を行った(山口)。

#### D. 考察

治療薬剤に対する耐性の出現と拡散を如何に抑え込むかという命題はHIV-1に特有の問題ではなく、結核、マラリアなど様々な感染症においても立ちはだかっている、不可避な感染症克服への険しい道りである。統計学的に薬剤耐性症例の比率が感染者総数の5-10%に達すると、新規感染者への薬剤耐性ウイルスの感染リスクが高まると言われている。欧米各国では薬剤耐性HIV-1の状況はこの閾値を遥かに超えており、1998年以降に行われた新規感染者の疫学調査では薬剤耐性が検出されている。その頻度は、調査が行われた国、時期、そして解析方法等により幅があるが、概して10%以上と高く、初回治療の薬剤の選択に大きな障害となりつつある。一方、わが国の状況を見てみると、既治療感染者のモニタリング調査(杉浦)では薬剤耐性症例の頻度は20-30%に達しており、欧米同様に新規感染者への耐性拡散の危険水準に達していると考えられる。2003年度に報告されたクロスセクショナルな2つの調査報告ではそれぞれ5%、17%の耐性症例が新規感染者に認められたとしている。このように2つの報告では耐性出現頻度が大きく隔たっているが、これは薬剤耐性の拡散が調査対象に大きく左右される、つまり特定の集団に偏っていることを示唆している。この研究班では全国に調査の網を広げることにより、疫学的に偏りの無い新規感染症例における薬剤耐性の検出頻度を明らかにすることが出来ると考えている。また感染経路や地域における薬剤耐性の検出頻度を比較検討することにより、耐性拡散のhot spotを明らかにすることができれば、有効な対策も可能であると考えている。

初年度、調査を進めて来た結果、ブロックにより調査対象症例数に大きな差があり、当該地域を担当する分担研究者の負担が大きく、今後どのように負担を軽減できるかが調査の効率と継続性に重要であると思われる。

新規感染者の調査と合わせて取り組んでいる治療最適化研究と薬剤耐性基礎研究は薬剤耐性症例の増加を抑制する上で重要な研究課題であり、こ

これらの研究成果が新規感染者への薬剤耐性拡散の抑制に繋がっていくことが期待される。

#### **E.結論**

疫学調査研究ではワーキンググループの設立、調査プロトコルの策定、各施設における倫理委員会の承認等の新規感染者調査の基盤構築を行った。治療最適化研究では血中濃度モニタリングの情報発信と検査を提供した。また血中濃度測定の臨床的有効性について立証した。基礎研究では薬剤耐性化機序の解析と新たな検査技術開発に取り組んだ。

次年度以降は今年度の成果を踏まえて下記研究を計画している。

疫学調査研究:平成 16 年度にワーキンググループで作成したタイムテーブルに従って新規感染者の薬剤耐性検査を進めていく。新規感染症例の捕捉率を高めることを目指して、新たに東京、神奈川、大阪、沖縄、広島地域を担当する研究者に新たに研究班に参加してもらおう。また、研究班のホームページの立ち上げと検査情報などの情報発信を積極的に行い、調査の趣旨と必要性をアピールしていく事を計画している。

治療最適化研究:血中濃度測定に関しては引き続きホームページを介しての情報発信と検査受付を行う。アドヒアランスが良好であるにもかかわらず治

療効果が不十分な症例について血中濃度、細胞内濃度の測定を行い、有効症例との差について検討を行う。疫学調査研究のワーキンググループを基盤として治療に関する調査を提案していく。

#### 薬剤耐性研究:

既存および新規薬剤の薬剤耐性化機序について分子生物学的、生物情報学的な解析を進める。臨床症例からの薬剤耐性感染性クローンの樹立と感受性検査を行いその結果を臨床に還元していく。超高感度逆転写酵素活性測定法、細胞内濃度測定法等の新たな検査測定法については臨床検体での解析と実用化を目指す。

#### **F.健康危険情報**

該当なし

#### **G.研究発表**

各分担研究者の項参照

#### **H.知的財産権の出願・登録状況**

該当なし



図1 研究班の構成

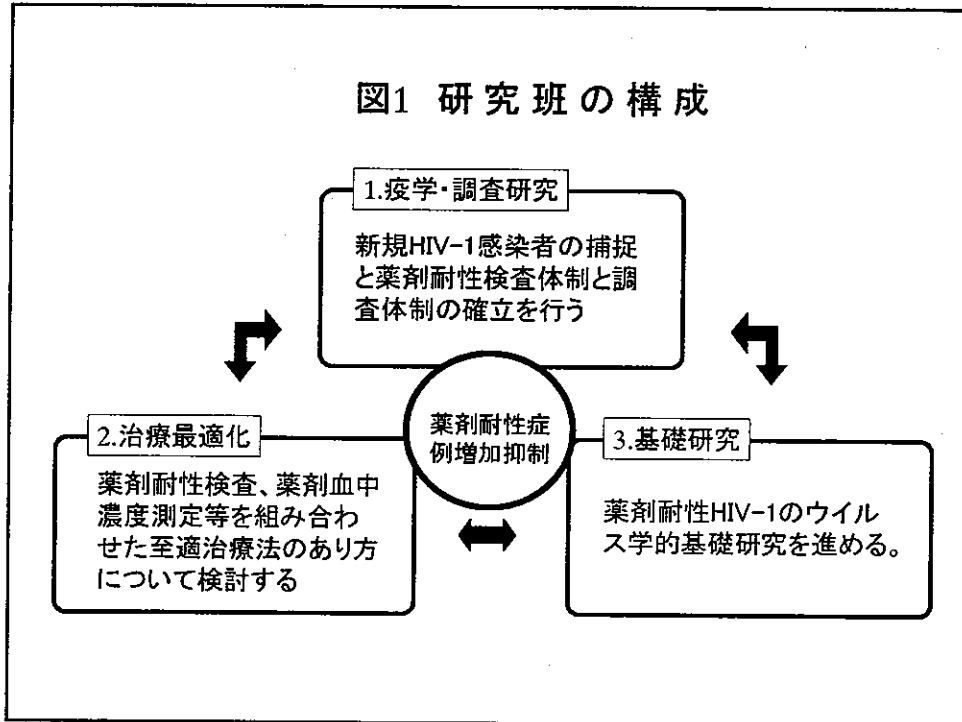


図2 疫学・調査研究グループ

新規HIV-1感染者の捕捉と薬剤耐性検査体制と調査体制の確立に取り組む。研究は多施設間の共同作業となるため下記の作業にとりくむ

1. ワークグループの設立
2. 調査プロトコルの作成
3. 薬剤耐性検査の実施
4. データの整理・収集
5. 外部精度管理

分担研究者

小池隆夫(北海道大学大学院医学研究科)：北海道ブロック  
 浅賀 司(独立行政法人仙台医療センター)：東北ブロック  
 湯永博之(国立国際医療センター・エイズ治療研究開発センター)  
 下条文武(新潟大学医学総合病院)：関東甲信越ブロック  
 金田次弘(独立行政法人名古屋医療センター)：東海ブロック  
 上田幹夫(石川県立中央病院血液病治療部)：北陸ブロック  
 山本善彦(独立行政法人大阪医療センター)：近畿ブロック  
 山本政弘(独立行政法人九州医療センター)九州沖縄ブロック

研究協力者

高田昇(広島大学医学部)：中国四国ブロック  
 今井光信、近藤真規子(神奈川県衛生研究所)  
 貞升健志(東京都衛生研究所)  
 佐藤武幸(千葉大学医学部)  
 森治代(大阪府立公衆衛生研究所)  
 健山正男(琉球大学医学部)：九州沖縄ブロック  
 薬剤耐性モニタリング研究グループ(医薬品機構プロジェクト)参加施設

### 図3 治療最適化

#### 1. 薬剤血中濃度モニタリング

ホームページを介しての治療薬剤の情報発信(薬原 健 宇多野病院)

血中濃度測定検査の実施(薬原 健 宇多野病院)

細胞内薬剤濃度の測定(加藤真吾 慶応大学)

#### 2. 至適治療に関する研究 (松下修三 熊本大学)

薬剤耐性検査、薬剤血中濃度モニタリング等の検査を  
組み合わせた治療のあり方とその有効性の検討を行う

薬剤耐性症例に対する新薬の治療効果に関する臨床 研究

### 図4 薬剤耐性基礎研究

薬剤耐性HIV-1の増加を押さえ込み、治療脱落症例の数を減らすためには薬剤耐性HIV-1のウイルス学的基礎研究を進め、その耐性化機序と病態を理解することが極めて重要である。  
この研究では以下の研究について実施情報の臨床への還元をすすめる

1. 薬剤耐性ウイルスのGenophenotyping実験系の確立(巽正志 感染研エイズ研究センター)  
薬剤耐性変異を獲得したHIV-1の感染性クローンの樹立
2. 逆転写酵素d4Tの薬剤耐性機序の解明 (児玉栄一 京都大学ウイルス研)  
未だ明らかになっていない逆転写酵素阻害剤d4Tの耐性機序
3. 薬剤耐性検査の臨床応用に関する研究(湯永 国立国際医療センター ACC)  
非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤の耐性化機序の解析
4. 細胞膜融合を標的にした薬剤の耐性機序(松田善衛 感染研エイズ研究センター)  
すでに米国では実用化された接着・進入阻害剤の耐性化機序の解析を進めていく。
5. HIV Genotypeと、薬剤耐性RT PhenotypeおよびRT Structural Typeとの相関解析  
(仲宗根正 感染研エイズ研究センター)
6. HIV薬剤耐性の変異の解析とデータベース構築  
(山口由美 産業技術総合研究所)

## II. 分担研究報告書

# 厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）

## 分担研究報告書

### 薬剤耐性HIV発生動向把握のための検査方法・調査体制確立に関する研究

分担研究者：杉浦 亙（国立感染症研究所エイズ研究センター 第2研究グループ長）

#### 研究要旨

研究班の目的である新規 HIV-1 感染者における薬剤耐性変異の発生動向を把握し、その増加を抑制するための有効な対策を打ち出すために、平成 16 年度は全国各ブロックにおける耐性検査と新規感染者の状況把握を行うとともに HIV-1 診療に携わる医療機関に調査への協力を依頼した。薬剤耐性実務担当者を中心に会議を招集し、薬剤耐性調査ワーキンググループを立ち上げ、調査プロトコルの策定を行った。作成したプロトコルに従い新規登録感染者のデータの収集を開始した。平成 16 年度活動より首都圏及び大阪の 2 大都市圏への極端な感染者の集中が確認されたため、平成 17 年度に向け両地域における観測地点となる協力機関を増やすこととした。

#### A.研究目的

我が国における薬剤耐性 HIV-1 の発生・伝播動向を把握する調査体制の確立と、薬剤耐性 HIV-1 症例の増加を抑制する有効な対策を提案することを目的とする。

#### B.研究方法

新規 HIV-1 感染者の捕捉と薬剤耐性検査体制と調査体制の確立を行うために平成 16 年度は次の活動を行った。

##### (1) 全国各ブロックにおける耐性検査実施状況の視察

研究班に分担研究者として参加している研究者の施設を訪問し、新規感染者の動向および薬剤耐性検査状況について視察する。

(2) 新規感染者調査プロトコル作成  
薬剤耐性検査を担当している、医師、検査技師に参加してもらい新規感染者における薬剤耐性を調査するワーキンググループを立ち上げ、プロトコルの作成を行う。

(3) データー集計と解析  
ワーキンググループで作成したプロトコルに則り遺伝子配列データの収集・解析を行う  
倫理面への配慮

この研究を進めるには患者の協力が必要であり、研究の必要性と意義について十分に説明し、

理解と協力を得ることが欠かせない。この研究は国立感染症研究所医学研究倫理審査の結果承認されている（平成 16 年 10 月 21 日付、第 48 号）。

#### C.研究成果

新規 HIV-1 感染者の捕捉と薬剤耐性検査体制と調査体制の確立を行うために平成 16 年度は次の活動を行った。

(1) 全国各ブロックにおける耐性検査実施状況の視察薬剤耐性検査状況把握のための視察を実施。各ブロック拠点病院あるいは拠点病院を訪問し、新規感染者の状況、薬剤耐性検査状況についての説明を受けるとともに本研究班の趣旨説明と新規感染者の調査協力を求めた。

平成 16 年 8 月 6 日 北海道大学医学部  
(北海道ブロック)、

平成 16 年 6 月 15 日 仙台医療センター  
(東北ブロック)、

平成 16 年 9 月 14・15 日 新潟大学（関東甲信越ブロック）、

平成 16 年 9 月 25 日 北陸 HIV 臨床談話会  
(北陸上信越ブロック)

平成 16 年 10 月 1 日 名古屋医療センター  
(東海ブロック)

平成 16 年 8 月 18 日 大阪医療センター

(近畿ブロック)、  
平成 17 年 3 月 8 日 予定 広島大学医学部 (中国四国ブロック)  
平成 16 年 11 月 5 日 九州医療センター (九州沖縄ブロック)  
平成 16 年 8 月 19 日 神奈川県衛生研究所 (神奈川県)  
平成 16 年 9 月 10 日 千葉大学医学部 (千葉県)

## (2) 新規感染者調査プロトコル作成

感染症研究所の研究倫理委員会でこの研究班の調査研究の承認を受けた後、薬剤耐性検査を担当している各ブロックの検査技師および医師を招集しての薬剤耐性ワーキンググループ会議を 10 月 1 日名古屋に於いて開催し、調査プロトコルを作成した (別添資料参照)。

## (3) データー集計と解析

プロトコルに則り調査とデーター収集を行った。平成 16 年 1 月～10 月時点までのデーターとして合計 194 検体について集積した(表 1)。表に見るように関東甲信越ブロックおよび近畿ブロックへの新規登録感染者の集中が認められ、捕捉率も平成 16 年度の体制では 10% 切っており、この二つの地域の捕捉率を高めることが次年度の緊急の課題であると考えられる。平成 17 年度は首都圏では東京都衛生研究所、神奈川県衛生研究所の 2 施設を、近畿では大阪府立公衆衛生研究所の 2 施設に新たに調査研究班への参加協力を依頼した。

## D. 考察

一般に薬剤耐性症例の比率が感染者総数の 5-10% に達すると、新規感染者への薬剤耐性ウイルスの感染リスクが高まると言われている。欧米各国では薬剤耐性 HIV-1 の状況はこの閾値を遥かに超えており、1998 年以降に行われた新規感染者の疫学調査では薬剤耐性が検出されている。その頻度は、調査が行われた国、

時期、そして解析方法等により幅があるが、概して 10% 以上と高く、初回治療の薬剤の選択に大きな障害となりつつある。一方、わが国の状況を見てみると、既治療感染者のモニタリング調査では薬剤耐性症例の頻度は 20-30% に達しており、欧米同様に新規感染者への耐性拡散の危険水準に達していると考えられる。2003 年度に報告されたクロスセクショナルな 2 つの調査報告ではそれぞれ 5%、17% の耐性症例が新規感染者に認められたとしている。このように 2 つの報告では耐性出現頻度が大きく隔たっているが、これは新規感染者における薬剤耐性の拡散が調査対象に大きく左右される、つまり特定の集団に偏っていることを示唆している。この研究班では全国に調査の網を広げることにより、疫学的に偏りの無い新規感染症例における薬剤耐性の頻度を明らかにすることが出来ると考えている。また感染経路や地域における薬剤耐性の検出頻度を比較検討することにより、耐性拡散の hot spot を明らかにすることができれば、有効な対策も可能であると考えている。

初年度、調査を進めて来た結果、ブロックにより調査対象症例数に大きな隔たりがあり、新規感染者の数の多い地域 (関東甲信越、近畿) を担当する分担研究者の負担が大きく、今後どのように負担を軽減できるかが調査の効率と継続に重要であると思われる。

尚、新規感染者における薬剤耐性の調査は多施設で実施されるため、解析結果の施設間差を評価するヴァリデーションを計画し、その前段階として検査法のアンケートによる事前調査を実施した (浅黄、金田)。

## E. 結論

研究班初年度の今年度は平成 16 年度新規 HIV 感染者における薬剤耐性を調査するためのワーキンググループの設立、調査プロトコルの策定、各施設における倫理委員会承認等の新規感染者調査の基盤構築を行った。平成 17 年度以

降は作成したタイムテーブル（表 2）に従って新規感染者の薬剤耐性検査を進めていく。各地を訪問し実体を調査した結果、新規感染症例の捕捉率を高めることを目指して、新たに東京、神奈川、大阪、沖縄、広島地域を担当する研究者に新たに研究班に参加してもらうこととした。また、研究班のホームページの立ち上げと検査情報などの情報発信を積極的に行い、調査の趣旨と必要性をアピールしていく事を計画している。

## F.健康危険情報

平成 17 年 2 月 11 日に米国ニューヨークの保険局より薬剤耐性かつ潜伏期が極端に短い HIV 感染症例が報告された。病原性の高い新たな HIV 亜株の可能性もあり、今後十分に注意をして経緯を見極める必要がある。

## G.研究発表

### 1.論文発表

- 1) Saeng – Aroon S, Wichukchinda N, Myint L, Pathipvanich P, Ariyoshi K, Rojanawiwat A, Matsuda M, Sawanpanyalert P, Sugiura W, Auwanit W: Study of Antiretroviral Drug Resistant HIV-1 Genotypes in Northern Thailand: Role of Mutagenically Separated Polymerase Chain Reaction as a Tool for Monitoring Zidovudine – Resistant HIV-1 in Resource – Limited Settings. J Acquir Immune Defic Syndr. Aug 15;36 (5):1051-1056, 2004
- 2) Hua Yan, Tohko Miyagi, Eigo Satoh, Wataru Sugiura, Noki Yamamoto, Hiromitsu Kimura.: Phenotype and function of GM-CSF independent dendritic cells generated by long-term propagation of rat bone marrow cells. Cellular Immunology. Vol.229, No2, pp.117-129, 2004
- 3) Hirotaka Ota, Masami Ota, Saburo Neya, Msayuki Hata, Wataru Sugiura, and

Tyuji Hoshino: Resistant Mechanism against Nelfinavir of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Proteases.

American Chemical Society. 2004

- 4) H Yan, T Chiba, Y Kitamura, M Nishizawa, M Fujino, N Yamamoto and W Sugiura: Novel Small – Molecule Compounds which inhibit strand transfer activity of HIV-1 integrase. Antiviral Therapy. 9:S6, 2004
  - 5) W Sugiura, M Matsuda, T Chiba, J Kakizawa, M Nishizawa, H Miura, M Hamatakem, T Ueda, M Fujino, K Yamamda and N Yamamoto: Changes in Prevalence and Patterns of Drug Resistant Mutations in Japan-Summary of Nationwide HIV-1 Drug Resistance Surveillance Study (1996 to 2003) in Japan. Antiviral Therapy. 9:S6, 2004
  - 6) K. Shiomi, R. Matsui, M. Isozaki, H. Chiba, T. Sugai, Y. Yamaguchi, R. Masuma, H. Tomoda, T. Chiba, H. Yan, Y. Kitamura, W. Sugiura, S. Omura, H. Tanaka: Fungal phenalenones inhibit HIV-1 integrase. J. Antibiot. 58 (No. 1), in press (2005).
  - 7) Miyauchi K, Komano J, Yokomaku Y, Sugiura W, Yamamoto N, Matsuda Z: Role of the specific amino acid sequence of the membrane-spanning domain of human immunodeficiency virus type 1 in membrane fusion. J Virol. (in press)
- ### 2.学会発表
- 8) H Yan, T Chiba, Y Kitamura, M Nishizawa, M Fujino, N Yamamoto and W Sugiura: Novel Small – Molecule Compounds which inhibit strand transfer activity of HIV-1 integrase. 13th International HIV Drug Resistance Workshop. Tenerife, Canary Islands, Spain. 2004.6.8-6.12
  - 9) W Sugiura, M Matsuda, T Chiba, J

- Kakizawa, M Nishizawa, H Miura, M Hamatakem, T Ueda, M Fujino, K Yamamda and N Yamamoto: Changes in Prevalence and Patterns of Drug Resistant Mutations in Japan-Summary of Nationwide HIV-1 Drug Resistance Surveillance Study (1996 to 2003) in Japan. 13th Internatioal HIV Drug Resistance Workshop. Tenerife, Canary Islands, Spain. 2004.6.8-6.12
- 10) R Kantor, D Katzenstein, S Y Rhee, A P Carvalho, B Wynhoven, M A Soares, P Cane, J Clarke, J Snoeck, S Ssirivichayakaul, K Ariyoshi, A Holguin, C Pillay, H Rudich, R Rodrigues, M B Bouzas, P Cahn, L Brigido, Z Grossman, L Morris, V Soriano, W Sugiura, P Phanuphak, A M Vandamme, J Weber, D Pillay, A Tanuri, P R Harrigan, R Camacho, J M Schapiro, R W Shafer: HIV-1 Protease and RT mutations according to subtype and antiretroviral therapy : A watch list for epidemiologic studies using a web - based application. 15th International AIDS Conference. Bangkok, THAILAND. 2004.7.11-7.16
- 11) W Sugiura, M Matsuda, T Chiba, M Nishizawa, J Kakizawa, T Ueda, M Hamatake, M Fujino, K Yamamda, N Yamamoto: Changes in Prevalence and Patterns of Drug Resistant Mutations in Japan-Summary of Nationwide HIV-1 Drug Resistance Surveillance Study (1996 to 2002) in Japan. 15th International AIDS Conference. Bangkok, THAILAND. 2004.7.11-7.16
- 12) H Yan, T Chiba, M Nishizawa, Y Kitamura, N Yamamoto, W Sugiura: Inhibition of HIV-1 integrase strand transfer activity by Carbazole derivatives. 15th International AIDS Conference. Bangkok, THAILAND. 2004.7.11-7.16
- 13) T Chiba, M Takizawa, M Matsuda, M Honda, M Nishizawa, Z Matsuda, N Yamamoto, W Sugiura: A novel HIV-1 reporter cell line for rapid and accurate drug resistance phenotyping. 15th International AIDS Conference. Bangkok, THAILAND. 2004.7.11-7.16
- 14) M Nishizawa, S Kato, H Miura, M Fujino, Y Yamamoto, W Sugiura: Comparison of Intracellular Protease Inhibitor Concentration and Kinetics in Different Cell Types. Fifth HIV DRP Symposium Antiviral Drug Resistance. Virginia, USA. 2004.11.14 - 11.17
- 15) D Zhu, H Taguchi - Nakamura, M Goto, T Odawara, T Nakamura, H Yamada, H Kotaki, W Sugiura, A Iwamoto, and Y Kitamura: Influence of Single - Nucleotide, Polymorphisms in the Multidrug Resistance - 1 Gene on the Cellular Export of Nelfinavir and its Clinical Implication For Highly - Active Antiretroviral Therapy. Fifth HIV DRP Symposium Antiviral Drug Resistance. Virginia, USA. 2004.11.14 - 11.17
- 16) 三浦秀佳、千葉智子、滝澤万里、松田善衛、松田昌和、本多三男、杉浦 互: ヒト細胞由来の新たなレポーター細胞による HIV-1 薬剤感受性検査法の確立. 第 52 回ウイルス学会学術集会. 2004.11.21-11.23. 神奈川県横浜市
- 17) 任 鳳蓉、杉浦 互、田中 博、長谷川直樹: 抗レトロウイルス治療下の HIV-1 の宿主内進化と薬剤耐性予測 1. 第 52 回ウイルス学会学術集会. 2004.11.21-11.23. 神奈川県横浜市
- 18) 駒野 淳、宮内浩典、二橋悠子、浦野恵美子、松田善衛、千葉智子、三浦秀佳、Lay Myint、杉浦 互、山本直樹: ヒト免疫不全ウイルス (HIV-1) 複製を特異的に増強する小分子化合物 sparsomycin 1. 第 52 回ウイルス学会学術集会. 2004.11.21-11.23. 神奈川県横浜市
- 19) 杉浦 互

本邦における薬剤耐性 HIV-1 の現状と今後の課題.第 18 回 日本エイズ学会学術集会. 2004.12.9-12-11. 静岡県静岡市

患者における毛髪内 PI 定量法の検討.第 18 回 日本エイズ学会学術集会. 2004.12.9-12-11. 静岡県静岡市

20) 奈良妙美、西尾信博、高嶋能文、堀越泰雄、三間屋純一、杉浦 互: 抗 HIV 薬による様々な副作用を呈し、多剤耐性を獲得した HIV 感染血友病患者の 1 例.第 18 回 日本エイズ学会学術集会. 2004.12.9-12-11. 静岡県静岡市

25) 加藤真吾、田中理恵、杉浦 互: LC-MS/MS による AZT の細胞内薬物動態の解析. 第 18 回 日本エイズ学会学術集会. 2004.12.9-12-11. 静岡県静岡市

21) 植田知幸、有吉紅也、三浦秀佳、松田昌和、千葉智子、巖馬華、Lay Myint、柿澤淳子、濱武牧子、西澤雅子、杉浦 互: プロテアーゼ阻害剤耐性変異と Gag 基質領域の相互干渉に関する解析.第 18 回 日本エイズ学会学術集会. 2004.12.9-12-11. 静岡県静岡市

26) 巖馬華、千葉智子、三浦秀佳、西澤雅子、野村伸彦、北村義浩、山本直樹、杉浦 互: 新規化合物カルバゾール誘導体による HIV-1 インテグラーゼ活性抑制機序の解析. 第 18 回 日本エイズ学会学術集会. 2004.12.9-12-11. 静岡県静岡市

22) 任鳳蓉、松田昌和、長谷川直樹、杉浦 互、田中 博: HAART 治療下の HIV pol 遺伝子の宿主内進化と薬剤耐性予測.第 18 回 日本エイズ学会学術集会. 2004.12.9-12-11. 静岡県静岡市

27) 松田昌和、Yan Hua、植田知幸、Urivi Parikh、柿澤淳子、西澤雅子、濱武牧子、藤野真之、三浦秀佳、Lay Myint、山本直樹、杉浦 互: 本邦における薬剤耐性 HIV-1 の動向と変遷に関する考察.第 18 回 日本エイズ学会学術集会. 2004.12.9-12-11. 静岡県静岡市

23) 太田雅美、簾貴士、大出裕高、畑 晶之、佐藤武幸、横幕能行、布施 晃、杉浦 互、星野忠次: 臨床応用に向けたコンピューターによるエイズ治療薬の適正予測. 第 18 回 日本エイズ学会学術集会. 2004.12.9-12-11. 静岡県静岡市

24) 築地謙治、根岸昌功、長谷川直樹、木内 英、花房秀次、杉浦 互、加藤真吾: PI 服用

#### H.知的財産権の出願・登録状況

該当なし



表1 平成16年度10月の時点までの補足数と補足率

ブロック名	HIV感染者	AIDS	合計	捕捉数	補足率
北海道	6	4	10	8	80%
東北	10	11	21	7	33%
関東・甲信越	337	169	506	33	7%
北陸	2	1	3	2	67%
東海	55	31	86	33	38%
近畿	102	33	135	11	8%
中国・四国	18	15	33	11	33%
九州・沖縄	28	9	37	21	57%
NIID/AIDS				68	
合計	558	273	831	194	23%

表2 疫学・調査研究グループ活動予定

		活動内容	
平成16年	4		
	5		
	6		
	7		
	8		
	9		
	10	ワーキンググループ召集。プロトコル策定	
	11		
	12	研究班総会(調査研究、治療最適研究、基礎研究)	
	1		
	2		
	3	3月下旬までに平成16年1-12月分データ収集	分析・集計
平成17年	4		
	5		
	6	班会議(治療最適研究、基礎研究)	←
	7	調査研究研究およびワーキンググループ会議	←
	8		
	9		
	10		
	11		
	12	研究班総会(調査研究、治療最適研究、基礎研究)	
	1		
	2		
	3	3月下旬までに平成17年1-12月分データ収集	分析・集計
平成18年	4		
	5		
	6	班会議(治療最適研究、基礎研究)	←
	7	調査研究研究およびワーキンググループ会議	←
	8		
	9		
	10		
	11		
	12	総会・3年間の総括	
	1	1月下旬までに平成18年1-12月分データ収集	分析・集計
	2	平成16年～18年、3年間の総まとめ	←
	3		

# 新規感染者薬剤耐性 HIV-1 サーベイランス

プロトコル ver1.3

(平成16年12月16日)

## I. 研究題名

未治療 HIV-1 感染者における薬剤耐性変異の調査研究

Nation Wide Resistance Transmission Surveillance Study in Acutely and Chronically infected HIV-1 patient in Japan.

## II. 研究の背景

HIV-1 感染症治療は 1995 年のプロテアーゼ阻害剤の登場により大きく変わった。それまでの逆転写酵素阻害剤による単剤あるいは 2 剤併用療法に取って代わり、逆転写酵素阻害剤 2 剤とプロテアーゼ阻害剤 1 剤を組み合わせた強力な多剤併用療法が標準的な治療法として行われるようになった。多剤併用療法は優れた治療効果を上げ、先進諸国では多剤併用療法以降 AIDS による死亡率が劇的に低下した。その一方で積極的な薬剤の使用は薬剤耐性に陥る症例数の頻度も押し上げることとなり、いまや治療を進める上で解決すべき深刻な障害となっている。最近では新規感染者の中にも耐性変異を持つ症例が確認されており、治療感染者からの薬剤耐性 HIV-1 の感染拡大が危惧されている。

新規感染者における薬剤耐性 HIV-1 の出現頻度の疫学的調査研究は欧米各国で行われており、報告されている頻度は数～26%とされている。データの幅が広いのは、欧米では新規感染者総数が多いため、それぞれの調査対象集団が一部の cohorts 群、あるいは特定の地域に限定されているためと思われる。これに対して我が国では近年感染者の増加が危惧されているが、現時点では新規感染者数は年間 900 名程度とまだ他国に比べて少なく、全数の把握が不可能な状況ではない。薬剤耐性 HIV-1 の拡散を押しさえ込むための適切な対策を行うためには新規感染者における薬剤耐性の正確な実態把握が不可欠である。

## III. 主目的

新規あるいは未治療慢性 HIV-1 感染者における薬剤耐性変異の頻度を調査し、わが国における薬剤耐性 HIV-1 伝播の疫学的動向を明らかにする。

また、この研究を通して薬剤耐性 HIV 検査に従事する研究者間のネットワークを作り、情報交換など相互交流を活性化させる。これにより質の高い検査と治療支援を実現させる。

## IV. 副目的

新規感染者におけるウイルスサブタイプの解析を行い、現在の日本におけるサブタイプの頻度について考察する。

## V. 方法

### 1. 研究グループの設立

調査を進めるにあたり調査研究グループを設立する。

名称

和名: 日本薬剤耐性 HIV-1 調査研究グループ  
英名: Japanese Drug Resistance HIV-1 surveillance Network

参加資格者は HIV-1 感染者治療に携わる医師  
薬剤耐性検査を担当する研究者、検査技師など

### 2. 規登録感染者、新規急性感染者の定義

#### a. yyyy 年新規登録感染者

yyyy 年以内に初めて感染が確認された症例

#### b. yyyy 年(陽性を確認した年)新規急性感染者の定義

- ①感染確認 1 年以内にウェスタンブロットでバンドが増加もしくは増強した症例で未治療の症例
- ②感染確認 1 年以内に検査陰性もしくは判定保留が陽性になった未治療の症例