

## 厚生労働科学研究費補助金(エイズ研究事業)

### 分担研究報告書

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

分担研究者 山本 政弘、国立病院機構九州医療センター

研究協力者 南 留美、堀田 飛香 国立病院機構九州医療センター

健山 正男

琉球大学医学部第一内科

**研究要旨** HAART によりエイズへの進行阻止が可能となった。一方で薬剤耐性ウイルスを持つ患者が増加し新規感染者のなかにも耐性ウイルスを持つ症例が認められるようになった。今回、九州地区の新規感染患者における薬剤耐性変異の頻度を評価するため当院での新規感染患者の薬剤耐性変異の評価を行った。副次変異においては 2002 年までに比べて頻度の増加は認めなかったが 2003 年以降、有意な耐性変異をもつ新規感染患者が認められるようになった。

#### A. 研究目的

九州地区における急性 HIV-1 感染者および未治療慢性 HIV-1 感染者における薬剤耐性変異の頻度を調査し、薬剤耐性 HIV-1 伝播の疫学的動向を明らかにする。また、近年、急増している沖縄地区での HIV-1 感染者においても琉球大学と協力し同様の調査を行い、沖縄での HIV-1 伝播の疫学的動向を明らかにする

#### B. 研究方法

2003 年および 2004 年に当院免疫感染症科を受診した未治療慢性 HIV-1 感染患者および急性 HIV-1 感染患者を対象に、informed consent のもとに採血を行い、血清中 HIV-1 の protease 領域、逆転写領域の薬剤耐性遺伝子解析を行った。薬剤耐性変異の評価は IAS-USA2003 年度版を参考にした。同時に EnvC2V3 領域、Gag p17 領域の遺伝子解析を行い、サブタイピングも施行した。なお、この研究は、当院倫理委員会の承認を得ている。

#### C. 研究結果

新規未治療患者数は 2003 年は、急性感染者 1 名を含む 9 名、2004 年は 12 名であった。耐

性変異の内訳は、2003 年は副次変異のみが 3 名、逆転写領域の M46, A62, L210, T215 に変異を持つ患者 1 名、変異なしが 5 名であった。2004 年は副次変異のみが 9 名、変異なしが 3 名であった。サブタイプはタイで感染したと考えられる 2 名はサブタイプ E で、それ以外はサブタイプ B であった。サブタイプ E の 2 名にはともに M36I が認められた。沖縄地区に関しては新規感染者は 11 名であったが耐性変異はまだ解析出来ていない (サンプルの保存はあり)。

#### D. 考察

当院における 2003 年までの調査では未治療患者の耐性変異は副次変異のみで 76%であった。今回の調査にて副次変異の頻度は 57%であり、変異の頻度が増えているとは言えない。しかし、2003 年に当院で始めて有意な耐性変異をもつ未治療患者が認められた。その症例の感染時期および感染場所は不明であるが、今後、九州でも耐性変異をもつ患者が増加する可能

性がある。正確な評価のためにも沖縄を含め出来るだけ多くの施設の多くの症例での解析が必要と思われる。

## **E. 結論**

2003年までは副次変異のみであったが2003年以降、有意な耐性変異をもつ新規感染患者が認められるようになった。

## **F. 健康危険情報**

特記事項なし

## **G. 研究発表**

### **1. 論文発表**

中尾隆介、山本政弘、堀田飛香

HIV治療遂行のためのモニタリングシステムの進展 HIV-1逆転写酵素活性測定系確立の試み  
医療58巻2号 Page94-95, 2004年

### **2. 学会発表**

(1) Elevated serum levels of RCAS1 are associated with immunological prognosis in HIV-1 infected patients

Minami R, Yamamoto M, Miyamura T, Izutsu K, Suematsu E

XV International AIDS Conference (Bangkok, 11-16 July 2004)

(2) HIV感染患者における血清RCAS1濃度測定  
の臨床的意義の検討 南留美、山本政弘  
第18回日本エイズ学会

## **H. 知的財産権の出願、登録状況**

### **1. 特許取得**

なし

### **2. 実用新案登録**

なし

厚生労働科学研究費補助金（エイズ研究事業）  
分担研究報告書

近畿ブロックにおける薬剤耐性検査に関する研究

分担研究者 山本善彦 国立病院機構大阪医療センター 臨床研究部 免疫感染研究室員  
研究協力者 白阪琢磨 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長

研究要旨

HIV 感染症の治療の進歩によって HIV 感染症は慢性疾患ととらえられるようになったが、副作用の出現や長期に適切な服薬の実施な種々の理由で困難となり、ウイルス学的失敗やウイルス量の再上昇を来し薬剤耐性変異が出現する場合がある。本研究では国立大阪医療センターで平成 16 年度に実施した薬剤耐性検査の実状を調査し、検査の臨床的意義につき検討を行った。来年度は症例を増やし詳細な検討を行い、特に、初期感染例や未治療例での薬剤耐性変異株の検討を行い、近畿ブロックでの耐性検査体制の構築を目指す。

A. 研究目的

HIV 感染症は抗 HIV 療法の進歩によって慢性疾患になったと捉えられているが、実際には種々の理由から適切な服薬を継続できずにウイルス学的治療失敗となり、その結果、投与薬剤に耐性な HIV 変異株が出現する事が知られている。この薬剤耐性 HIV 変異株は他剤にも交叉耐性を示すことが、しばしばある事が明らかとされ、临床上重要な課題となっている。本研究の最終目標は、近畿ブロックの HIV 感染者、AIDS 患者を対象に必要な患者に薬剤耐性検査を実施でき、かつ、その検査結果を臨床に反映できる様な薬剤耐性検査システムを構築することである。この最終目的を達成するために薬剤耐性検査の適応を明らかにし、次に、結果とその解釈を臨床にフィードバックする手段を開発することを本研究の目的とする。最近、米国などで提唱されている HIV 感染症治療のガイドラインでは、薬剤耐性検査の対象に急性感染が加えられている。本邦でも未治療者での薬剤耐性変異の保有率が約 1 割との報告もあるが、急性感染例での詳細な報告は少ない。本研究では、さらに急性感染における薬剤耐性検査の意義につき明らかにする。

B. 研究方法

近畿ブロックでのシステム構築の前に、まず独立行政法人国立病院機構大阪医療センター（以下、国立大阪医療センター）での薬剤耐性検査の実施状況を調査した。平成 16 年度に国立大阪医療センターで薬剤耐性検査を実施した症例につきカルテから

情報を収集し、適応につき検討した。急性感染例については、国立大阪医療センターのカルテから急性感染と考えられた症例をピックアップした。一部では薬剤耐性検査を実施した。いずれも個人情報取り扱いについては厳重に行い、報告では個人を同定できない様に厳重に注意した。

C. 研究結果

①患者数の推移

国立大阪医療センターを受診した患者数の推移と今後の予測を示した（図-1、図-2）。新規受診患者数は平成 15 年度に 130 名、平成 16 年度（4 月から 12 月末日まで）は 107 名であった。累積患者数は 657 名であった。内訳では、男性 602 名（91.6%）。女性 55 名（8.4%）。年齢別では 30 代が最多の 289 名（44.4%）、40 代が 147 名（22.6%）、20 代が 118 名（17.3%）であり、これらの年齢層が全体の 84.3%を占めた（図-3）。問診からの感染経路では性的接触が 584 名（88.8%）であった。薬物使用での針の廻し打ちによる感染が疑われる症例もあったが明らかではない。性的接触は多くが同性間性的接触によると考えられた。

②患者の紹介元施設等の内訳

保健所等からが 85 名、拠点病院からが 168 名、診療所および病院からが 279 名日赤の血液センターが 18 名、NGO 等を通じてが 65 名、他ブロックや ACC からが 35 名、その他が 7 名であった（図-4）。初診時の居住地域では、大阪府が 452 名（大阪市 275 名を含む）、滋賀県 5 名、京都府 43 名、兵庫県 96 名、奈良県 14 名、和歌山県

13名で、遠隔地からの転居などに伴うものとして、北海道ブロック0名、東北ブロック1名、関東甲信越ブロック14名、北陸ブロック3名、東海ブロック6名、中国・四国ブロック7名、九州ブロック2名、海外1名であった(図-5)。

#### ③抗 HIV 薬剤の使用状況

毎年のように新薬が登場し HIV 治療ガイドラインも改訂されてきた。国立大阪医療センターでも使用薬剤と組み合わせは、年々変化してきた。抗 HIV 薬を同センターで処方された人数は平成10年は69人、平成11年109人、平成12年130人、平成13年171人、平成14年208人、平成15年248人、平成16年(12月末まで)288人であった。平成16年の組み合わせは45通りであった。各薬剤の使用頻度の推移を示した(図-6、図-7)。

#### ④薬剤耐性検査の実施状況

平成9年度から平成16年度(2月末)まで475件の薬剤耐性検査を実施した(図-8)。平成16年4月1日から2月末日までで合計52件(院内43件、院外9件)の検査を実施した。院内は32人で実施し、一人で1回ないし3回(平均1.3回/人)で、月あたり3件から7件であった。院外の9件は和歌山県、大阪府、滋賀県の拠点病院からであった。32例での検査理由については、ウイルス学的治療失敗(ウイルス量の低下不良を含む)が12例、治療中の一過性のウイルス量増加が5例、治療開始前が6例、中断後が6例、希望が3例であった(図-9)。

#### ⑤薬剤耐性検査結果

開始前の6例では明らかな薬剤関連耐性変異は見いだせなかった。治療中の一過性のウイルス量増加5例では、いずれも明らかな薬剤関連耐性変異を見いだせなかったが、3例はプロテアーゼ領域がPCRで増幅できなかった。これら5例は一過性に血中ウイルス量の上昇を認めたが、抗 HIV 薬を変更しなくとも再び検出感度未満となった。ウイルス学的失敗例では12例中2例は血液製剤による感染者で服薬歴も長く耐性変異も多く認められた。残りの10例中でEFVを含む多剤併用療法でのウイルス学的失敗となった4例ではすべてRTのコドン103の変異を有し、1例にコドン188の変異を認めた。低下不良の6例中では耐性検査で明らかな変異を認めず、やがてウイルス量が検出感度未満にまで低下した例が3例

あった。残りの例では明らかな薬剤関連耐性変異は認められなかったが薬剤変更でウイルス量の低下を認めた例やアドヒアランス不良が強く疑われる例があった。

#### D. 考察

今年度は国立大阪医療センターでの平成16年度の薬剤耐性検査(遺伝子型)の実状を調査した。同センターは平成9年に近畿ブロックのブロック拠点病院に選定され、患者数の年々増加に伴い薬剤耐性検査件数も増加したが、近年むしろ減少傾向となった。原因として、外来での服薬指導や療養支援によってアドヒアランスが向上した事、薬剤開発によって服用が以前に比べ容易になった事、ウイルス効果の優れた抗 HIV 薬が開発された事などが推定される。ウイルス学的失敗例では薬剤耐性検査は薬剤変更の参考となった。一過性のウイルス量再上昇例では明らかな薬剤耐性変異を見いだし得なかった。未治療例では、例数がまだ少ないが明らかな薬剤耐性変異を認めなかった。初期感染については今後検討予定である。

#### E. 結論

国立大阪医療センターで平成16年度(4月12月)に実施した院内症例43例につき実施理由と結果を検討した。ウイルス学的失敗例では薬剤耐性検査が薬剤変更の上で有意義な情報を提供した。初期感染例や未治療例については症例数を増やし検討を加える必要があると考えた。院外からの依頼は9件であったが、今後、近畿圏内でも患者数増加が予想され、HIV 診療施設のニーズに応じた薬剤耐性検査体制を構築していく必要があると考えた。

#### F. 健康危険情報

該当なし

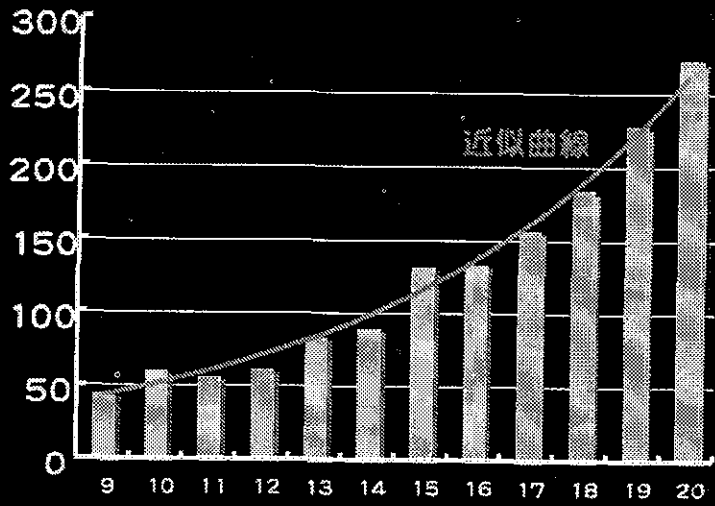
#### G. 研究発表

学会発表

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

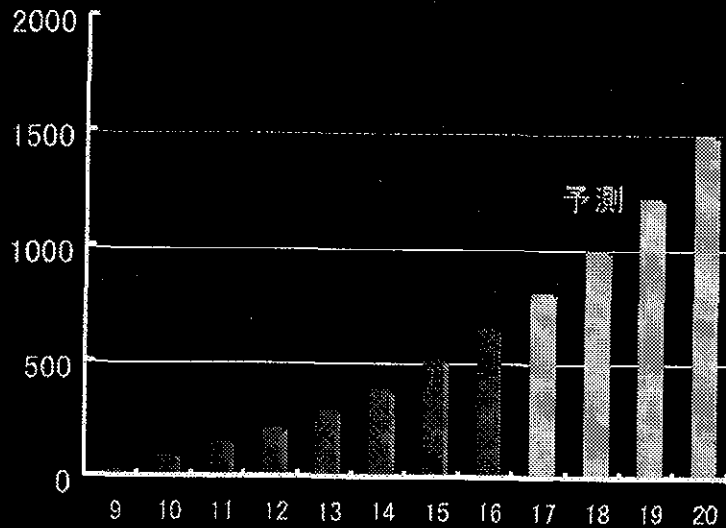
該当なし

図-1 年間新規受診患者数の推移と予測



国立大附医療センター

図-2 累積患者数の推移と予測



国立大附医療センター

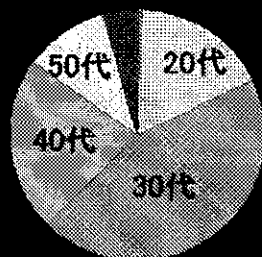
### 図-3 外来受診状況

(平成9～16年12月末、計657名)

性別	人数 (%)	年齢別	人数 (%)
男性	602(91.6)	10代	3 (0.5)
女性	55(8.4)	20代	118 (17.3)
		30代	289 (44.4)
		40代	147 (22.6)
		50代	71 (10.8)
		60代～	29 (4.4)

薬剤別	人数 (%)
血液製剤	73(11.2)
その他	584(88.8)



### 図-4 紹介元施設の内訳

#### 内訳

保健所	85名
拠点病院	168名
一般医療機関	279名
献血	18名
NGO・その他	65名
ブロック拠点病院・ACC	35名

図-5 初診時居住地

大阪府	452	北海道	0
(大阪市内)	275)	東北	1
滋賀県	5	関東甲信越	14
京都府	43	北陸	3
兵庫県	96	東海	6
奈良県	14	中四国	7
和歌山県	13	九州	2
		海外	1

(平成16年12月末日現在、657名)

図-6 NRTIの使用頻度の推移

(国立病院機構 大阪医療センター)

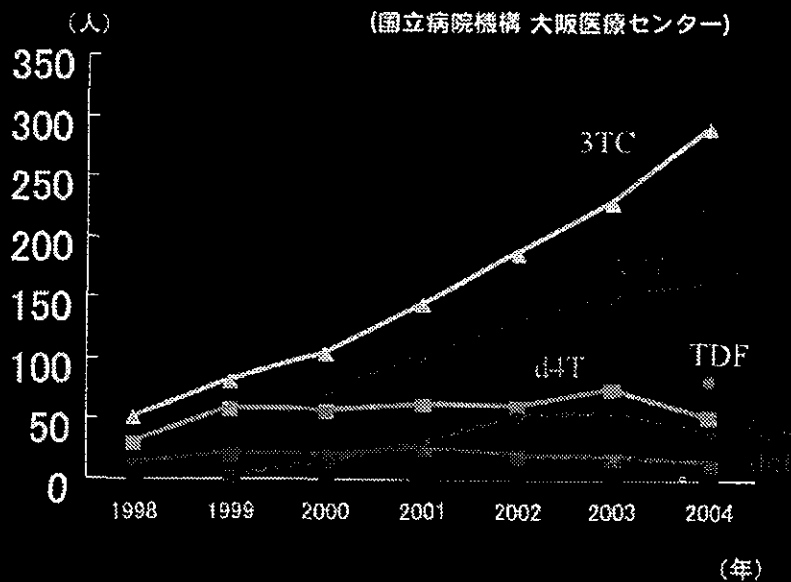


図-7 NNRTI/PIの使用頻度の推移

(国立病院機構 大阪医療センター)

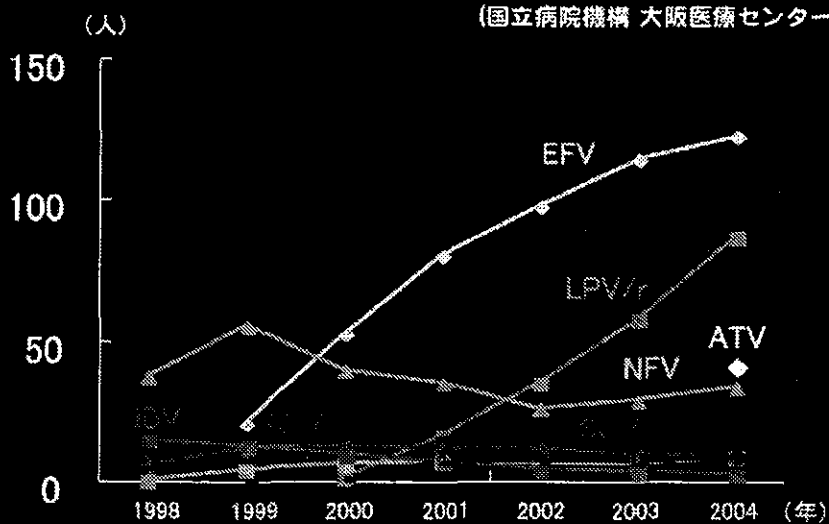


図-8 HIV薬剤耐性検査件数

年度	院内	院外	合計
平成9年	25	2	27
平成10年	60	11	71
平成11年	73	12	85
平成12年	67	16	83
平成13年	55	6	61
平成14年	28	9	37
平成15年	49	10	59
平成16年*	43	9	52
合計	400	75	475

\*平成16年度は2月末日まで



図-9 HIV薬剤耐性検査：理由と結果

検査理由		耐性関連変異*	
		あり	なし
ウイルス学的失敗	12(例)	9	3
治療中の一過性上昇	5	0	5
治療開始前	6	0	6
治療中断後再開前	6	2	4
検査希望	3	—	—**

変異\*：既知薬剤耐性関連変異の有無。—\*\*：検出限界未滿

### III. 研究成果の刊行に関する一覧表

## 研究成果の刊行に関する一覧表

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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	36	1051-1056	2004
Hua Yan, Tohko Miyagi, Eigo Satoh, Wataru Sugiura, Naoki Yamamoto, Hiromitsu Kimura.	Phenotype and function of GM-CSF independent dendritic cells generated by long-term propagation of rat bone marrow cells.	Cellular Immunology	229(2)	117-129	2004
Zhu D, Taguchi-Nakamura H, Goto M, Odawara T, Nakamura T, Yamada H, Kotaki H, Sugiura W, Iwamoto A and Kitamura Y.	Influence of single-nu cleotide polymorphis ms in the multidrug resistance-1 gene on the cellular export of nelfinavir and its cli nical implication for highly-active antiretr oviral therapy.	Antiviral Ther apy	S9	929-935	2004

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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
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
Hirota Ode, Masami Ota, Saburo Neya, Msayuki Hata, Wataru Sugiura, and Tyuji Hoshino	Resistant Mechanism against Nelfinavir of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Proteases.	J phys Chem B	109	564-574	2005
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(1)	65-68	2005
伊部史朗、金田次弘	未治療 HIV-1 感染者における薬剤耐性ウイルスの検出頻度とその特徴	現代医療	36(11)	65-72	2004
Miyake, A., Enose, Y., Ohkura, S., Suzuki, H., Kuwata, T., Shimada, T., Kato, S., Narayan, O., and Hayami, M	The quantity and diversity of infectious viruses in various tissues of SHIV-induced monkeys at the early and AIDS stages.	Arch Virol	149	943-955	2004
Takakuwa, K., Kashima, K., Suzuki, M., Fujita, K., Tamura, M., Kaneko, S., Kato, S., Hanabusa, H., and Tanaka, K	Studies on the IVF-E T for discordant couples where the man is HIV positive and the woman is negative using sperm washing technique and highly sensitive PCR method.	International Proceedings of IX International Congress of Reproductive Immunology		11-15	2004

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tsuchiya K, Gatanaga H, Tachikawa N, Teruya K, Kikuchi Y, Yoshino M, Kuwahara T, Kimura S, Oka S	Homozygous CYP2B6*6 (Q172H and K262R) correlates with high plasma efavirenz concentrations in HIV-1 patients treated with standard efavirenz-containing	Biochem Biophys Res Commun	319	1322-6	2004
Hachiya A, Gatanaga H, Kodama E, Ikeuchi M, Matsuoka M, Harada S, Mitsuya H, Kimura S, Oka S	Novel patterns of nevirapine-resistance-associated mutations of human immunodeficiency virus type 1 in treatment-naïve patients.	Virology	327	215-224	2004
Bi X, Gatanaga H, Tanaka M, Honda M, Ida S, Kimura S, Oka S	Modified Dynabeads method for enumerating CD4+ T-lymphocyte count for widespread use in resource-limited situations.	J Acquir Immune Defic Syndr	38	1-4	2005
Kitano K, Kohgo S, Yamada K, Sakata S, Ashida N, Hayakawa H, Nameki D, Kodama E, et al.	Attempt to reduce cytotoxicity by synthesizing the L-enantiomer of 4'-C-ethynyl-2'-deoxyuridine nucleosides as antiviral agents against HIV and HBV.	Antiviral Chemistry and Chemotherapy	14	161-167	2004
Kohgo S, Yamada K, Kitano K, Iwai Y, Sakata S, Ashida N, Hayakawa H, Nameki D, Kodama E, et al.	Design, efficient synthesis, and anti-HIV activity of 4'-C-cyano- and 4'-C-ethynyl-2'-deoxy purine nucleosides.	Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids	23	671-690	2004
Masuda N, Yamamoto O, Fujii M, Ohgami T, Fujiyasu J, Kontani T, Moritomo A, Orita M, Kurihara H, Koga H, Nakahara H, Kageyama S, Ohta	Studies of nonnucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. Part 1: Design and synthesis of thiazolidenebenzenesulfonamides.	Bioorg Med Chem	12	6171-6182	2004
Hayakawa H, Kohgo S, Kitano K, Ashida N, Kodama E, et al.	Potential of 4'-C-substituted nucleosides for the treatment of HIV-1.	Antiviral Chemistry and Chemotherapy	15	169-187	2004

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Futaki S, Nakase I, Suzuki T Nameki D, Kodama E, et al.	RNase S complex bearing arginine-rich peptide and anti-HIV activity.	J Mol Recogn	in press		
Nameki D, Kodama E, et al.	Mutations Conferring Resistance to HIV-1 Fusion Inhibitors are Restricted by gp41 and Rev Responsive Element Functions.	J Virol	79	764-770	2005
Harada T, Tatsumi M, Takahashi H, Sata T, Kurata T and Kojima A	Specific reactions between purified HIV-1 particles and CD4+ cell membrane fragments in a cell-free system of virus fusion or entry.	Microbes Infect	6	421-428	2004
Kuroyama H, Ikeda T, Kasai M, Yamasaki S, Tatsumi M, Utsuyama M, Saito T, Hirokawa K	Identification of a novel isoform of ZAP-70, truncated ZAP kinase.	Biochem Biophys Res Commun	315	935 -941	2004
Suzuki J, Ikeda T, Kuroyama H, Seki S, Kasai M, Utsuyama M, Tatsumi M, Uematsu H, Hirokawa K	Regulation of osteoclastogenesis by three human RANKL isoforms expressed in NIH3T3 cells.	Biochem Biophys Res Commun	314	1021 - 1027	2004
Someya K, Cecilia D, Ami Y, Nakasone T, Matsuo K, Burda S, Yamamoto H, Yoshino N, Kaizu M, Ando S, Okuda K, Zolla-Pazner S, Yamazaki S, Yamamoto N, Honda M	Vaccination of rhesus macaques with recombinant Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guerin Env V3 elicits neutralizing antibody-mediated protection against simian-human immunodeficiency virus with a homologous but not a heterologous V3 motif.	J Virol	Feb;79(3)	1452-62	2005
Usami O, Xiao P, Ling H, Liu Y, Nakasone T, Hattori T	Properties of anti-gp41 core structure antibodies, which compete with sera of HIV-1 infected patients.	Microbes & Infection	in press		
Nakasone T, Hara T, Yoshino N, and Honda M	Update on HIV/AIDS in Japan, 2003. Eds. Lu, Y., and Essex, M. HIV in Asia.	Kluwer Academic Publishers		72-78	2004

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yamakami K, Honda M, Takei M, Ami Y, Nakasone T, Kitamura N, Nishinarita S, Sawada S, Horie T	Early bone marrow hematopoietic defect in simian/human immunodeficiency virus C2/1-infected macaques and relevance to advance of disease.	J Virol	78	10906-10	2004
仲宗根正、原敬志、染谷健二、池尾一穂、五條堀孝、山本直樹、本多三男	HIV 感染症統合データベースの開発.	日本エイズ学会誌	6	42-9	2004
仲宗根正、山本直樹	ワクチンはまだか！	感染・炎症・免疫	in press		
Matsushita, S., Yoshimura, K., Kimura T., Kamihira, A., Takano, M., Eto, K., Shirasaka, T., Mitsuya, H., Oka, S	Spontaneous recovery of hemoglobin and neutrophil levels in Japanese patients on a long-term Combivir <sup>®</sup> containing regimen.	J Clin Virol	in press		
Sakaguchi, N., Kimura, T., Matsushita, S., Fujimura S., Shibata J., Araki, M., Sakamoto, T., Minoda, S., Kuwahara, K	Generation of high-affinity antibody against T cell-dependent antigen in <i>ganp</i> gene transgenic mouse.	J Immunol	in press		
Komano J, Miyauchi K, Matsuda Z, Yamamoto N	Inhibiting the Arp2/3 Complex Limits Infection of Both Intracellular Mature Vaccinia Virus and Primate Lentiviruses.	Mol Biol Cell	in press		
Miyauchi K, Komano J, Yokomaku Y, Sugiura W, Yamamoto N and 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		
Yamaguchi, Yamashita, Ohkura, Hayami, Miura	Linkage of amino acid variation and evolution of human immunodeficiency virus type 1 gp120 envelope glycoprotein (subtype B) with usage of the second receptor.	J Mol Evol	Mar:58(3)	333-40	2004

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
山口由美	HIVの遺伝的多様性とバイオインフォマティクス	ウイルス	54(1)	33-38	2004
中尾隆介、山本政弘、堀田飛香	HIV治療遂行のためのモニタリングシステムの進展 HIV-1逆転写酵素活性測定系確立の試み	医療	58(2)	94-95	2004