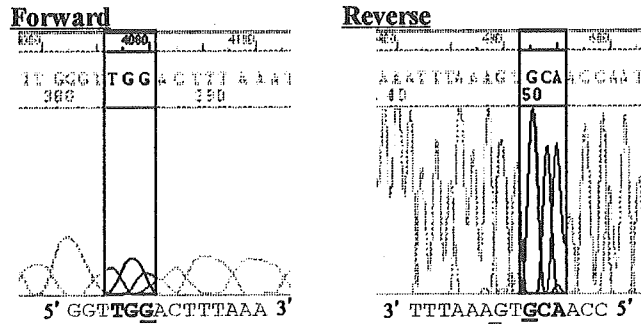


図3D シーケンス波形データ解析時のミス(3)

HIV-1クローン#1 PR領域: 本来は存在しないアミノ酸変異
C95Wを検出(施設F)



↓ 相補鎖の配列に直すと

5' GGTTGCACTTTAAA 3'

本来の塩基配列	GGT <u>TGC</u> ACTTTAAA	報告された塩基配列	GGT <u>TGG</u> ACTTTAAA
アミノ酸	G C T L	アミノ酸	G W T L
	95 a.a.		95 a.a.

乱れたシーケンスの波形から塩基を解析

➡ 存在していないアミノ酸変異C95Wを報告

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

「国立感染症研究所における薬剤耐性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 互（国立感染症研究所エイズ研究センター・グループ長）

研究要旨

我が国における薬剤耐性 HIV-1 の拡散の状況を把握するために、2003 年から 2005 年にかけて国立感染症研究所エイズ研究センターに送られてきた新規 HIV/AIDS 診断症例 213 例について薬剤耐性 HIV-1 の頻度を調査した。解析の結果耐性ウイルス検出頻度は 2003 年：1.6%、2004 年：5.4%、そして 2005 年：2.5%であった。サブタイプは B が最も頻度が高く全体の 81.2%をしめていた。今回の 3 年間の頻度の推移を見る限り、耐性ウイルスの明らかな増減の傾向は認められなかった。しかし我が国では引き続き HIV 感染症例が増加しており、今後とも十分な監視が必要と考えられた。

A.研究目的

我が国における薬剤耐性 HIV-1 の拡散の状況を把握するために、国立感染症研究所エイズ研究センターに送られてきた HIV/AIDS 感染者検体のうち新規診断症例に該当するものについて薬剤耐性 HIV-1 の頻度を調査した。

B.研究方法

2003 年 1 月から 12 月、2004 年 1 月から 12 月、2005 年 1 月から 10 月末までに陽転もしくは陽転日不明で当該期間内に新規登録した症例について以下に示す方法によってプロテアーゼ（PR）および逆転写酵素（RT）領域の遺伝子配列解析を行った（図 1）。

スピンカラムを用いて新規 HIV-1 感染者の血漿 250 μ l からウイルス RNA を精製し、遺伝子増幅の鋳型とした。

配列特異的プライマーを用いた逆転写反応による cDNA 合成と PCR による一次増幅を one step RT-PCR で行った。遺伝子増幅の特異性と感度を高めるため、その産物の一部を用いてさ

らに nested-PCR をかけ、PR 全域を含む 0.5kb、RT 前半部 0.9kb そして Env C2V3 0.4Kb をそれぞれ増幅した。

ダイターミネータ法によるダイレクトシーケンスで塩基配列を決定し、解析した配列をアミノ酸配列へ置換し、薬剤耐性関連変異の有無を IAS-USA の薬剤耐性チャートに基づき判定した。

C.研究結果

2003 年は 59 例、2004 年は 74 例、2005 年は 80 例の新規診断症例が送付された。2003 年の 59 例は全例で遺伝子解析ができた。2004 年には RT 領域の遺伝子増幅が困難な症例が 1 例解析不可となった。2005 年では PR で 1 例、RT で 2 例の解析不可症例があった。これらはいずれも血中ウイルス量が 400 コピー/ml 以下だった。

PR は多様性が高いため、HXB2 レファレンスと比較した際に何らかの変異を持つ例が 2003 年で 54/59(91.5%)、2004 年で 71/74(95.9%)、

2005 年で 78/79(98.7%)に達したが、認められた変異のほとんどが 2 次変異であり、耐性変異および耐性関連変異の伝播とは考えられなかった (表 1)。

RT では PR とは対照的に 2003 年で 21/59(35.6%)、2004 年で 31/73(42.5%)、2005 年で 23/78(29.5%)と過半数の症例は変異を認めなかった (表 2)。

治療を行う上で注意が必要な薬剤耐性獲得例は全解析期間を通して PR には見つかっていない。しかし RT では 2003 年に 1 例 (1.6%) (case1:M184V)あり、2004 年に 4 例(5.4%) (case2: M41L, case 3: V179VDE/M184MIV case 4: M41L/D67N/V118I/M184V/L210W/T215D)あり、2005 年に 2 例(2.5%) (case 5:M184V, case 6:K103N/V108I)あった。

サブタイプは 2003 年が CRF01_AE:8 例、B:49 例、C:1 例、G:1 例、2004 年が A:3 例、CRF01_AE:12 例、B :58 例、D:1 例、2005 年が A:1 例、CRF01_AE:10 例、CRF02_AG:2 例、B:66 例だった。

D. 考察

プロテアーゼ領域は元々多様性が高い領域であることもあり逆転写酵素領域に比べ変異出現率が高かったが、耐性に寄与するものはほとんど無く、その多くが自然多型の範疇にあると考えられた。あるいは耐性変異に付随をしていた変異が、薬剤中断あるいは変更などにより耐性変異が消失した後も残存し、による選択圧がない環境でよりよく増殖するために感受性に逆戻りした痕跡であろうと考えられる。今後 PI を含む治療を行った際に、速やかに耐性株が出現する可能性は否定できない。また RT については、明らかに耐性株の伝播が示唆される変異

株が毎年散見されていることから、新規感染症例においても薬剤耐性検査を行うことが HIV-1 の疫学状況を把握する上で重要であると思われた。さらに治療開始時には薬剤の選択を行うことが望ましいと考えられる。しかし今回 RT に多く検出された M184 位の変異は 3TC によって誘導されるが、この薬剤は抗 HIV-1 薬としてだけでなく、ウイルス性肝炎の治療にも用いられるものである。これらの症例のウイルス性肝炎の罹患率や治療歴は不明だが、このように他疾患での治療内容にも十分な注意を払う必要がある。

E. 結論

2003 年から 2005 年にかけての新規 HIV-1 診断症例における薬剤耐性変異の有無をスクリーニングした結果、薬剤耐性 HIV-1 の伝播が疑われる症例の頻度は 2.5~5.4%であった。3 年間の頻度の推移を見る限り、明らかな増減の傾向は認められなかった。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

(1)論文発表

- 1) Joke Snoeck, Rami Kantor, Robert W. Shafer, Kristel Van Laethem, Koen Deforche, Ana Patricia Carvalho, Brian Wynhoven, Marcel A. Soares, Patricia Cane, John Clarke, Candice Pillay, Sunee Sirivichayakul, Koya Ariyoshi, Africa Holguin , Hagit Rudich, Rosangela Rodrigues, Maria Belen Bouzas, Françoise Brun ·Vezinet, Caroline Reid, Pedro Cahn, Luis Fernando Brigido,

- Zehava Grossman, Vincent Soriano, Wataru Sugiura, Praphan Phanuphak, Lynn Morris, Jonathan Weber, Deenan Pillay, Amilcar Tanuri, Richard P.Harrigan, Ricardo Camacho, Jonathan M.Schapiro, David Katzenstein, and Anne-Mieke Vandamme: Discordances between Interpretation Algorithms for Genotypic of Human Immunodeficiency Virus Are Subtype Dependent. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Vol.50(2): 694-701,2006
- 2) Hua Yan, Tomoko Chiba Mizutani, Nobuhiko Nomura, Tadakazu Takakura, Yoshihiro Kitamura, Hideka Miura, Masako Nishizawa, Masashi Tatsumi, Naoki Yamamoto, Wataru Sugiura: A novel small molecular weight compound with a carbazole structure that demonstrates potent human immunodeficiency virus type-1 integrase inhibitory activity. *Antiviral Chemistry & Chemotherapy*. Vol.16: 363-373, 2005
 - 3) T Ueda, L Myint, M Nishizawa, M Matsuda, W Sugiura: Analysis of interference and co-evolution between protease inhibitor resistant mutations and gag mutations. *Antiviral Therapy*. Vol.10:s116, 2005
 - 4) N Hasegawa, W Sugiura, M Matsuda, K Mogushi, H Tanaka, F Ren: Inference of evolutionary forces driving HIV-1 drug-resistance acquisition under HAART using longitudinal HIV-1 protease gene samples. *Antiviral Therapy*. Vol.10:s114, 2005
 - 5) 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.* Vol.58: 65-68, 2005
 - 6) Hirotaka 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*. Vol.109: 564-574, 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*. Vol 79,4720-4729, 2005
 - 8) Rami Kantor, David A. Katzenstein, Brad Efron, Ana Patricia Carvalho, Brian Wynhoven, Patricia Cane, John Clarke, Sunee Sirivichayakul, Marcelo A. Soares, Joke Snoeck, Candice Pillay, Hagit Rudich, Rosangela Rodrigues, Africa Holguin, Koya Ariyoshi, Maria Belen Bouzas, Pedro Cahn, Wataru Sugiura, Vincent Soriano, Luis F. Brigido, Zehava Grossman, Lynn Morris, Anne-Mieke Vandamme, Amilcar Tanuri, Praphan Phanuphak, Jonathan N. Weber, Deenan Pillay, P. Richard Harrigan, Ricardo Camacho, Jonathan M. Schapiro, Robert W. Shafer. Impact of HIV-1

- Subtype and Antiretroviral Therapy on Protease and Reverse Transcriptase Genotype : Results of a Global Collaboration. PLoS Medicine. Vol. 2: 325-337, 2005
- 9) 杉浦 互 : 抗 HIV-1 薬剤の現状と薬剤開発の新たな展開. ウイルス第 55: 85-94, 2005
- 10) 西澤雅子, 杉浦 互 : HIV-1 の薬剤耐性についての知見 . BIO Clinica. Vol.20:51-57, 2005
- 11) 杉浦 互: 新規感染者における薬剤耐性 HIV 拡散の危機~Alert for Outbreak of Drug Resisitance HIV-1 Newly Infected Population~ 日本エイズ学会誌 Vol. 7: 117-120, 2005
- 12) 杉浦 互、瀧永博之、田宮貞宏、松田昌和、松見信太郎、蜂谷敦子、John Coffin、満屋裕明: シンポジウム 7. 「薬剤耐性の知見、基礎から臨床へ」を終えて. 日本エイズ学会誌. 7(3), 2005
- (2)学会発表
- 1) Kato Shingo, Tsuji Kenji, Tanaka Rie, Kinai Ei, Hanabusa Hideji, Negishi Masayoshi, Sugiura Wataru: Quantitation of Antiretroviral Drugs in Hair with LC/MS/MS for Assessment of Medication Adherence. 7th International Congress on AIDS in Asia and the Pacific. July 1-5. 2005, Kobe.
- 2) Saeng-aroon Siriphan, Myint Lay, Pathipvanich Panita, BAriyoshi Koya, Wichukchinda Nuanjun, Rojanawiwat Archawin, Matsuda Masakazu, Sawanpanyalert Pathom, Sugiura Wataru, Auwanit Wattana: Mutagenically-Separated PCR as a Tool for Monitoring Lamivudine (GPOvir) Resistant CRF01_AE in Thailand(GPOvir). 7th International Congress on AIDS in Asia and the Pacific. July 1-5. 2005, Kobe.
- 3) N Hasegawa, W Sugiura, M Matsuda, K Mogushi, H Tanaka, F Ren: Inference of evolutionary forces driving HIV-1 drug-resistance acquisition under HAART using longitudinal HIV-1 protease gene samples. 14th International HIV Drug Resistance Workshop. June 7-11. 2005, Quebec, Canada.
- 4) T Ueda, L Myint, M Nishizawa, M Matsuda, W Sugiura: Analysis of interference and co-evolution between protease inhibitor resistant mutations and gag mutations. 14th Internatioal HIV Drug Resistance Workshop. June 7-11. 2005, Quebec, Canada.
- 5) Wataru Sugiura, Masakazu Matsuda, Junko Kakizawa, Hideka Miura, Satoshi Takeda, Masayuki Fujino, Masako Nishizawa, Naoki Yamamoto: Changes in Prevalence and Patterns of Drug Resistant Mutations in JAPAN-Summary of Nine Years Nationwide HIV-1 Drug Resistance Monitoring Study (1996-2004). 6th Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance. Nov.13-16, 2005, Virginia
- 6) Wataru Sugiura: Virological and Statistical Analyses of Interference between Protease Inhibitor Resistant Mutations and Gag Mutations. 13th Conference on Retroviruses and

- Opportunistic Infections. Feb. 5-9. 2006, Denver, USA
- 7) Wataru Sugiura: Multi-Center Nationwide Survey of Drug Resistant HIV-1 in Newly Diagnosed HIV/AIDS Patients in Japan from 2003 to 2004. 13th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Feb 5-9. 2006, Denver, USA
- 8) 杉浦 互: 日本における薬剤耐性 HIV-1 の動向と対策. 第 62 回岡山 HIV 診療ネットワーク 2005 年 5 月 31 日 岡山
- 9) Wataru Sugiura, Masakazu Matsuda, Junko Kakizawa, Hideka Miura, Satoshi Takeda, Masayuki Fujino, Masako Nishizawa and Naoki Yamamoto: Changes in Prevalence and Patterns of Drug Resistant Mutations in Japan - Summary of Nine Years Nationwide HIV-1 Drug Resistance Monitoring Study from 1996 to 2004. 第 1 回日独エイズ公開シンポジウム. 2005 年 11 月 9 日 名古屋
- 10) 杉浦 互: HIV-1 CRF01_AE における Nelfinavir 耐性変異 N88S の耐性化機序の解析. 第 53 回日本ウイルス学会学術集会. 2005 年 11 月 20 日~22 日, 横浜
- 11) Myint Lay, 植田知幸, 西澤雅子, 松田昌和, 三浦秀佳, 杉浦 互: プロテアーゼ阻害剤耐性変異と Gag 変異間に見る相互干渉と共進化の解析. 第 53 回日本ウイルス学会学術集会. 2005 年 11 月 20 日~22 日, 横浜
- 12) 杉浦 互: 薬剤耐性の獲得に見る Gag と Protease の共進化. 第 7 回白馬シンポジウム. 2005 年 11 月 3 日~4 日, 鹿児島
- 13) 小池 満, 三好 洋, 井上靖之, 高橋正知, 山口洋子, 奥瀬千晃, 杉浦 互, 中島秀喜: HIV/HIB Coinfection における HBV 耐性の検討. 第 19 回日本エイズ学会学術集会. 2005 年 12 月 1 日~3 日, 熊本
- 14) 浅黄 司, 金田次弘, 伊部史朗, 松田昌和, 吉田 繁, 津畑千佳子, 大家正泰, 近藤真規子, 貞升健志, 潟永博之, 正兼亜季, 佐藤克彦, 奏 眞美, 溝上康司, 森 治代, 南 留美, 渡邊香奈子, 岡田清美, 杉浦 互: HIV-1 薬剤耐性遺伝子検査法に関するアンケート調査. 第 19 回日本エイズ学会学術集会. 2005 年 12 月 1 日~3 日, 熊本
- 15) 西澤雅子, Urvi Parikh, 藤野真之, 松田昌和, 三浦秀佳, 加藤真吾, 山本直樹, 杉浦 互: ヒト末梢血単核球を用いた K65R 獲得 HIV-1 の逆転写酵素阻害剤に対する感受性の解析. 第 19 回日本エイズ学会学術集会. 2005 年 12 月 1 日~3 日, 熊本
- 16) 石川暢恒, 高田 昇, 河部康子, 喜花伸子, 大江昌恵, 大下由美, 畝井浩子, 藤井輝久, 木村昭郎, 杉浦 互: 半年以内に感染したと推定される HIV 感染症の 9 例. 第 19 回日本エイズ学会学術集会. 2005 年 12 月 1 日~3 日, 熊本
- 17) 杉浦 互, 潟永博之, 吉田 繁, 千葉仁志, 浅黄 司, 松田昌和, 岡 慎一, 近藤真規子, 今井光信, 貞升健志, 長島眞美, 伊部史朗, 金田次弘, 浜口元洋, 上田幹夫, 正兼亜季, 大家正義, 渡邊香奈子, 白阪琢磨, 山本善彦, 森 治代, 小島洋子, 中桐逸博, 高田 昇, 木村昭郎, 南 留美, 山本政弘, 健山正男, 藤田次郎: 新規 HIV-1 感染者における薬剤耐性の頻度に関する全国疫学調査 - 2003 年から 2004 年にかけての報告 -. 第 19 回日本エイズ学会学術集会. 2005 年 12 月 1 日~3 日, 熊本
- 18) 大出裕高, 杉浦 互, 星野忠次: コンピュー

ター・シミュレーションによる CRF01_AE NH1 N88S HIV-1 PR の NFV 耐性機構の
解明. 第 19 回日本エイズ学会学術集会.
2005 年 12 月 1 日～3 日, 熊本

19) 仲宗根 正、高松純樹、杉浦 互、佐藤裕徳、
山本伸二、Heneine Walid、山本直樹:
HIV-RT 薬剤感受性迅速試験法 (半日) の
開発. 第 19 回日本エイズ学会学術集会.
2005 年 12 月 1 日～3 日, 熊本

20) 駒野 淳、宮内浩典、Lay Myint、二橋悠子、
浦野恵美子、松田善衛、千葉智子、三浦秀
佳、杉浦 互、山本直樹: Rapid propagation
of low-fitness drug resistant mutants of
HIV-1 by a-1 frameshift enhancer
sparsomycin. 第 19 回日本エイズ学会学術
集会. 2005 年 12 月 1 日～3 日, 熊本

21) 加藤真吾、田中理恵、根岸昌功、杉浦 互:
AZT は血漿中及び細胞内において確かに
d4T に変換される. 第 19 回日本エイズ学会
学術集会. 2005 年 12 月 1 日～3 日, 熊本

22) 小池 満、鈴木貴雄、井上靖之、山口洋子、
小池淳樹、杉浦 互、高橋正知: HIV 関連リ
ンパ腫における自己造血幹細胞採取の経験.
第 19 回日本エイズ学会学術集会. 2005 年
12 月 1 日～3 日, 熊本

23) 小池 満、高橋正知、井上靖之、山口洋子、
杉浦 互、中島秀喜: 当院における新規受診
者の検討. 第 19 回日本エイズ学会学術集会.
2005 年 12 月 1 日～3 日, 熊本

24) 山元泰之、山中 晃、内田泰斗、尾形享一、
福武勝幸、杉浦 互: 判定保留 HIV-1 抗体確
認検査で確定し得ないとき. 第 19 回日本エ
イズ学会学術集会. 2005 年 12 月 1 日～3 日,
熊本

25) Wataru Sugiura: Changes in prevalence
and patterns of drug resistant mutations

in Japan-Summary of nationwide HIV-1
drug resistance monitoring study
(1996-2004) in Japan. 第 19 回日本エイ
ズ学会学術集会. 2005 年 12 月 1 日～3 日,
熊本

26) 杉浦 互、瀧永博之、田宮貞宏、松田昌和、
松見信太郎、蜂谷敦子、John Coffin、満屋
裕明: シンポジウム 7. 「薬剤耐性の新知見、
基礎から臨床へ」を終えて. 第 19 回日本エ
イズ学会学術集会. 2005 年 12 月 1 日～3 日,
熊本

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

図1: 遺伝子検査プロトコルと解析領域

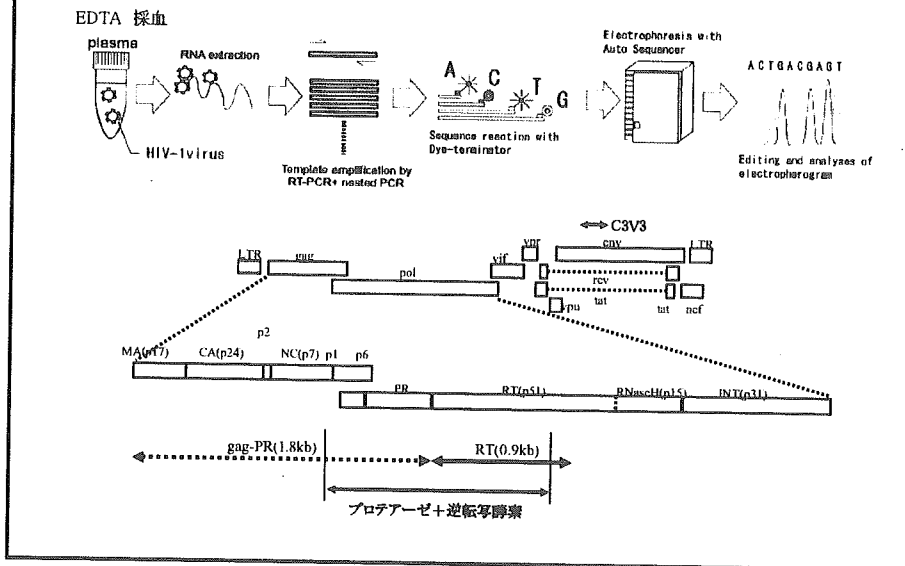


図2: 薬剤耐性ウイルスによる感染が疑われた症例

2003年 59例中1例(1.6%)
case 1: M184V

2004年 74例中3例

case 2: M41L

case 3: V179VDE/M184MIV

case 4: M41L/D67N/V118I/M184V/L210W/T215D

2005年 80例中2例(2.5%)

case 5: M184V

case 6: K103N/V108I

表1: 2003-2005年の新規診断症例にみるプロテアーゼ変異のパターン

	2003	2004	2005(1-10月末)
N	59	74	79
Any	54 (91.5%)	71 (95.9%)	78 (98.7%)
L10	9 (15.3%)	9 (12.2%)	12 (15.2%)
K20	2 (3.4%)	8 (10.8%)	8 (10.1%)
L24	0 (0.0%)	1 (1.4%)	0 (0.0%)
L33	0 (0.0%)	1 (1.4%)	2 (2.5%)
M36	18 (30.5%)	27 (36.5%)	24 (30.4%)
L63	43 (72.9%)	58 (78.4%)	63 (79.7%)
A71	13 (22.0%)	6 (8.1%)	15 (19.0%)
V77	22 (37.3%)	20 (27.0%)	22 (27.8%)
V82I	3 (5.1%)	4 (5.4%)	3 (3.8%)

表2: 2003-2005年の新規診断症例にみる逆転写酵素領域変異のパターン

	2003	2004	2005(1-10月末)
N	59	73	78
Any	21 (35.6%)	31 (42.5%)	23 (29.5%)
M41L	0 (0.0%)	2 (2.7%)	1 (1.3%)
D67N	0 (0.0%)	1 (1.4%)	0 (0.0%)
T69D	1 (1.7%)	0 (0.0%)	1 (1.3%)
T69NS	0 (0.0%)	2 (2.7%)	0 (0.0%)
V75L	1 (1.7%)	1 (1.4%)	0 (0.0%)
K101RQ	3 (5.1%)	1 (1.4%)	2 (2.6%)
K103TR	0 (0.0%)	3 (4.1%)	2 (2.6%)
V106I	1 (1.7%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
V108I	0 (0.0%)	1 (1.4%)	1 (1.3%)
V118I	2 (3.4%)	4 (5.5%)	2 (2.6%)
V179ADE	9 (15.3%)	19 (26.0%)	11 (14.1%)
M184V	1 (1.7%)	2 (2.7%)	1 (1.3%)
L210FM	5 (8.5%)	3 (4.1%)	3 (3.8%)
T215E	1 (1.7%)	3 (4.1%)	1 (1.3%)

研究要旨

多剤併用療法 (HAART) を行うことにより HIV 感染症の予後は改善されているが、当初より予想されている耐性ウイルスの出現頻度増加が懸念されている。今回「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」の分担研究として東北地方における新規 HIV 感染者における薬剤耐性 HIV の現状を調査した。その結果、経験された新規感染者 17 症例の内 16 例に RT もしくは PI 領域に複数個の耐性と考えられる変異が検出された。現時点で初期治療の薬剤選択に混乱はないが、今後 HIV 感染者の増加に伴い、新規感染者における薬剤耐性ウイルスの検査の重要性が増すものと考えられる。

A. 研究目的

1990 年代後半から始まった核酸系逆転写酵素阻害剤 (NRTI) とプロテアーゼ阻害剤 (PI) もしくは非核酸系逆転写酵素阻害剤 (NNRTI) を組み合わせた HIV に対する多剤併用療法 (HAART) は非常に有用であり、HIV 感染症の予後を確実に改善させたが、HIV それ自体が持つ易変異性による薬剤耐性ウイルスの出現が当初より大きな問題である。またウイルスのサブタイプも種々検出されており、感染地域の拡大が示唆されるとともに現在研究の主流となっているサブタイプ B に対する治療戦略がそのままでは通用しない可能性もある。薬剤耐性 HIV の発生動向を把握するため、検査方法と調査体制を確立するための分担研究として東北地方における新規 HIV 感染者における薬剤耐性 HIV の現状について調査した。本研究の目的は、臨床サイドで分離されるこれらウイルスの耐性遺伝子部位の変化を調べることにより、ウイルスの持つ性格を知り、今後期待される新規薬剤に対する評価や基礎研究に役立てられるよう検査方法・調査体制を確立することである。

B. 研究方法

平成 17 年 1 月～12 月、仙台医療センターにお

ける新規 HIV 感染者から分離された臨床株 (HIV) を用い、これらウイルスが持つ性質の一つである薬剤耐性遺伝子変異について検討した。方法: nested double touch down PCR 法を用いた。すなわち、cDNA 合成を 50°C、30 分間行い、95°C、5 分間 RNase の不活化と DNA 変性を行う。1st タッチダウン反応では、変性反応を 94°C で 50 秒間、アニーリング反応を 55°C、30 秒間、伸長反応を 72°C、30 秒間一行程として、2 サイクル行った後、アニーリング温度のみを 1°C 降下させ、変性と伸張反応は同一として、50°C まで 6 段階のタッチダウン反応をする。更に PCR 反応として 94°C、50°C 30 秒間の反応を 28 サイクル行った後、最終伸張反応として 72°C、7 分間行う。Nested 法でも touch down PCR 反応は 1st touch down PCR と同様に行った。

(倫理面への配慮)

耐性遺伝子変異データの集計においては個人名、個人情報の同定は不可能であり、HIV 関連遺伝子以外の遺伝学的研究には用いない。

C. 研究結果

平成 7 年に当院で HIV 感染症の診療を開始して以来、平成 17 年 12 月末日までの間で

HIV/AIDS 感染者の累計は 129 名であり、全国傾向と同様で新規の受診者は年々増加している。

平成 17 年 1 月～12 月の期間に当院を受診した HIV 感染者は 20 例（男性 19 例、女性 1 例）で、すべて性的接触による感染であり、この内、治療歴のない新規の HIV 感染者で本研究の対象となった症例は 17 例（男性 16 例、女性 1 例）であった。初診時すでに AIDS を発症していたものは 3 例である。女性 1 例を含む 16 例は日本国籍（日本人）で、韓国国籍 1 例であった。年齢は 27 歳から 64 歳まで分布し、20 歳代：3 例、30 歳代：7 例、40 歳代：2 例、50 歳代：3 例（女性 1 例）、60 歳代：2 例であった。感染経路別では同性間：11 例、異性間 6 例である。HIV のサブタイプは A が 2 例、AE が 1 例、B が 14 例であった。薬剤耐性変異は RT 領域では 3 例で検出された。すなわち、L210S が 1 例、T215D が 1 例、V118I が 1 例であり、PI 領域では 16 例で検出され 1 症例で複数個の変異がみられることから全体では 28 個の変異を検出した。すなわち、L63P：7 例、L63N：1 例、L63T：2 例、L63A：1 例、L63S：1 例、K20R：2 例、K20M：1 例、M38I：1 例、M36I：3 例、G48R：1 例、V77I：3 例、L10V：2 例、A71T：2 例、A71V：1 例であった。

D. 考察

東北においても全国と同様に HIV 感染者は同性間の性的接触（MSM）を中心に増加傾向にある。NRTI、NNRTI、PI を用いた多剤併用療法は HIV の診療の上で多大な貢献をしたが、一方で薬剤耐性ウイルスの出現は当初より懸念されていた。東北ブロック拠点病院という限られた領域で経験された 17 例の新規感染者において、治療前すでに多くに症例で耐性と思われる変異が観察されたことは今後の HIV 診療上、重要な問題である。現時点において実際の診療上、抗 HIV 療法の薬剤選択に大きな混乱は生じていないので検出された変異の解釈上ポリモルフィズムについて考慮する必要があるが、複数の変異の関連からも薬剤耐性が生じることを考えれば、今後、初

期治療における耐性変異の検査は薬剤選択上、重要なものになると考えられる。耐性ウイルスの検査方法・体制の確立が急がれる。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願

なし

2. 実用新案特許

なし

3. その他

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

北陸地区における薬剤耐性 HIV-1 調査体制確立のための研究

分担研究者 上田 幹夫 石川県立中央病院 血液免疫内科診療部長
研究協力者 正兼 亜季 財団法人エイズ予防財団 リサーチレジデント
山田三枝子 財団法人エイズ予防財団 リサーチレジデント
辻 典子 財団法人エイズ予防財団 リサーチレジデント
小谷 岳春 石川県立中央病院 血液免疫内科医長

研究要旨

北陸地方における新規感染者の薬剤耐性 HIV-1 伝播の現状を調査するために、北陸ブロック内の拠点病院に通知案内し、耐性検査を実施できる体制を整えた。

2005 年には新規にエントリーした慢性未治療患者 6 名を検査し、全ての検体で耐性に関与する部位に変異を確認したが、ほとんどは polymorphism や minor mutation であった。1 名には逆転写酵素部位に T215S を検出した。

サブタイプ解析の結果、6 名は全員サブタイプ B であった。

A. 研究目的

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（主任研究者 杉浦 互）」のもと、北陸ブロックにおける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、耐性 HIV-1 伝播の疫学的動向を明らかにするとともに、北陸ブロックでの拠点病院間の連携を構築する。

同時にサブタイプ解析を行い、北陸ブロックにおける新規診断感染者の HIV-1 サブタイプの頻度について調査する。

B. 研究方法

「新規感染者耐性 HIV-1 サーベイランス プロトコル ver2.0」に従い研究を行う。同意取得後、保存血漿より、HIV-1-RNA を抽出し、RT-PCR 法にて DNA に変換後増幅する。増幅した cDNA を用いて遺伝子配列を決定し変異を解析する。また同時に env 領域を用いてサブタイプ解析を行う。北陸ブロック内拠点病院からの耐性検査依頼があった場合は、各施設において同意取得後検体を

送付してもらい、後日結果を郵送する。

倫理的問題については、石川県立中央病院倫理委員会にて承認されている。

C. 研究結果

2005 年 6 月 24 日には国立感染症研究所で行なわれた第 1 回班会議に検査担当者が出席した。また、12 月 15 日に国立感染症研究所で行なわれた班会議に分担研究者が出席し、現状を報告した。

2005 年に新規にエントリーしたのは 6 名で、新規急性感染者の定義にあてはまる患者はおらず、全ての患者が慢性未治療患者であった。

この 6 名に対し耐性検査を行った結果、全員に耐性に関与する変異が確認された。変異の詳細は、プロテアーゼ領域には、L63P (1 名)、A (1 名)、A/P (1 名)、S (1 名)、N (2 名)、A71I (1 名)、V77I (1 名) が確認された。逆転写酵素領域には T215S が 1 名に確認された。2004 年に診断され、今回服薬を開始する 1 名には、初診時と同様の変異（プロテアーゼ領域；M36I、逆転写領域；V179I）が確認された。サブタイプ解析では、新規にエントリーされた 6 名全員がサブタイプ B であった。

D. 考察

2003年から2005年までに11名(13検体)に対し耐性検査を行った。その結果、逆転写酵素領域では3名(27%)に耐性に関与する部位に wild type とは異なるアミノ酸が検出されたが、2名の変異は polymorphism とされているものであった。1名には AZT や d4T など中等度の耐性をもたらす T215Y/F の前段階であると言われている T215S が検出された。プロテアーゼ領域には9名(82%)に耐性に関与する変異が検出されたが、全て minor mutation であった。サブタイプ解析では、11名中9名がサブタイプ B (82%)、2名(18%)が CRF01_AE であった。

エイズ動向委員会の報告によると、北陸ブロックにおいて2005年1月から2005年10月までに新規に HIV 感染を診断されたのは28名である。補足率は現在のところ39%と低い。これまで講演会を含めて6回程度検体送付の案内依頼をしたが、今後も案内を継続したい。輸送方法を再検討するなど環境を整備し捕捉率を上げることが今後の課題である。また、国立感染症研究所で測定されている例も含めて、より正確な捕捉率を求める必要がある。

E. 結論

2005年には6名に対して耐性検査を行った。その結果、全員に耐性に関与する部位に変異が検出された。逆転写酵素領域には1名に T215S が確認され、プロテアーゼ領域では、全て minor mutation であった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

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

3. その他

なし

【研究要旨】

1997 年以來、広島大学病院における HIV 感染者の薬剤耐性 HIV の発生動向を継続的に調査している。累計 78 人の患者に 388 回の検査を実施した。このうち、未治療の感染者は 42 人であった。最近は男性同士の性行為感染の患者で急性感染あるいは最近の感染例が目立ってきた。これらの患者での耐性変異については M184V と K103T がそれぞれ観察された。その他は二次変異あるいは自然多型と解釈されるものであった。本院での新規の未治療感染者に、明かな薬剤耐性感染者の増加は認められなかった。

A. 研究目的

広島大学病院の HIV 感染者の抗 HIV 薬遺伝子型耐性検査の年次推移について検討すること。特に未治療感染者の変異とその後の推移について検討すること。

B. 研究方法

広島大学病院に受診中の HIV 感染者から、本人に文書による説明で同意を得たものについて採血を行い、国立感染症研究所エイズ研究センター杉浦研究室に送付した。血漿から別に述べた方法によって HIV の遺伝子配列から逆転写酵素領域と、プロテアーゼ領域のアミノ酸変異を同定した。検討した期間は 1997 年から 2005 年末までとした。

倫理面への配慮

検体は研究協力者ですべて記号化を行い、患者のプライバシーに触れることがないように配慮した。

C. 研究結果

1. 患者背景について

研究期間の 1997 年から 2005 年までに広島大学病院で診療した HIV 感染者数、薬剤耐性遺伝子検査を実施した患者数、検査回数の推移を【表 1】に示した。

1997 年には 25 人の診療を行い、このうち 15 人に 19 回検査を実施したが、2005 年には

63 人を診療し、このうち 35 人に 40 回検査を行った。累計では 9 年間に 78 人（血液製剤 22 人、同性間男 40 人、異性間女 7 人、異性間男 9 人）から 388 回の検査を行った。

検査のタイミングは、年に 1 回の検査を心がけた。未治療の患者、治療で HIV RNA が検出限界以下の患者については、年に 1 回の検査とした。治療変更を検討するとき、薬剤中断の後には検査を繰り返したので、年に 4 回検査した事例もあった。

2. 年度別感染経路別の検査件数

年度別で感染経路別の検査件数を【表 2】に示した。2001 年以降は観察患者数が増加しているのにも拘わらず、検査件数が減少している。これは抗 HIV 薬によって HIV RNA が検出限界以下になる患者数が増えて、検査提出回数が減ったことが原因と思われる。一方、2003 年以後は男性同士の性行為感染 (MSM) の増加で検査件数が増加した。

3. 治療未経験感染者の薬剤耐性変異

抗 HIV 薬による治療経験をもたない患者の検査件数を、年度別、感染経路別に示した【表 3】。さらにその内訳を個人別に【表 4-1】と【表 4-2】に示した。

ここで血液製剤による感染者の 6 人は、いわゆる長期非進行者である。症例 5 はウイルス量が多く CD4 細胞数も低い。また帯状疱疹の既往があり、進行期にある。この患者群で

は逆転写酵素(RT)領域の変異は検出されなかった。プロテアーゼ(Pr)領域ではいくつかの変異がみられたが多型のうちと考えられた。

異性間性行為感染の女性 4 人では、症例 9 が初診時エイズ発症していた。この症例と異性間性行為乾性の男性の症例 13 は夫婦であり、夫もエイズ発症しており、サブタイプは A であった。病歴上は夫からの感染と推定された。この夫婦例では K20I と M36I が共通して検出された。

異性間性行為男性の 4 人中 3 人がエイズ発症で発見された。もう 1 例は献血で HIV 感染が判明した例である。

同性間性行為の男性(MSM)で未治療感染者のものを【表 4-2】に示している。この患者群では近年、急性感染症あるいは半年以内の感染と推定できる患者が増加している。表中では「Acute」で示した。この患者群では RT 領域の変異も観察された。症例 17 は急性感染例で、「M184V」が観察され、その後の経過で「消失」した。また症例 26 の「K103T」は Stanford University のサイトでは耐性に分類されていた。この他では一次変異と考えられる変異はみられなかった。

D. 考察

1 医療施設での遺伝子型検査による HIV 薬剤耐性変異の観察は、患者背景の変化を考える必要がある。すなわち血液製剤による感染から、同性間の性行為感染、そして東南アジアやアフリカなどに起源がある感染に広がっている。サブタイプ B を基準とすれば、これらには自然耐性の多型がみられるのは当然で、必ずしも薬剤で誘導されたものではないかもしれない。

急性感染者の RT 領域では、無治療で経過を観察していると消失したように見えるものがある。無治療下ではむしろフィットネスの低下で、マイナーな存在になったのか、あるいは野生型への転換が発生したためなのかもしれない。

抗 HIV 薬の選択・変更薬剤耐性検査の利用が有用であることが示されているが、今回の検討には含めなかった。また薬剤中止によ

って起こる耐性変異のパターン変化も観察しているが、同様である。

E. 結論

遺伝子型検査による薬剤耐性検査は、薬物療法上で有益な情報を提供している。一方、変異の中には安定した多型とよばれるものがあり、たまたまある種の薬剤に耐性を示すものもある。長い目で見ると HIV というウイルスの進化を観察しているのかもしれない。

F. 健康危険情報

特がない。

G. 研究発表

2. 学会発表

2. 石川暢恒、高田 昇、河部康子、喜花伸子、大江昌恵、大下由美、畝井浩子、藤井輝久、木村昭郎、杉浦 互：半年以内に感染したと推定される HIV 感染症の 9 例、第 19 回日本エイズ学会総会、2005 年 12 月 1-3 日、熊本

3. 杉浦 互、湯永博之、吉田 繁、千葉仁志、浅黄 司、松田昌和、岡 慎一、近藤真規子、今井光信、貞升健志、長島真美、伊部史朗、金田次弘、浜口元洋、上田幹夫、正兼亜季、大家昌義、渡辺香奈子、白阪琢磨、山本善彦、森 治代、小島洋子、中桐逸博、高田 昇、木村昭郎、南 留美、山本政弘、健山正男、藤田次郎：新規 HIV 感染者における薬剤耐性の頻度に関する全国疫学調査—2003 年から 2004 年にかけての報告、第 19 回日本エイズ学会総会、2005 年 12 月 1-3 日、熊本

H. 知的財産権の出願・登録状況

特がない。

【表1】対象期間中の受診人数・検査人数・検査回数

年度	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	件数
外来人数	25	31	29	33	37	35	38	53	63	
検査人数	15	24	26	29	22	24	32	42	35	249
検査回数	19	58	57	50	33	37	39	55	40	388

【表2】年度別感染経路別の検査件数

年度	血液製剤	同性間男	異性間女	異性間男	合計
1997	14	2	1	2	19
1998	31	10	8	9	58
1999	28	16	6	7	57
2000	27	11	5	7	50
2001	11	11	5	6	33
2002	12	11	8	6	37
2003	13	16	5	5	39
2004	16	30	3	6	55
2005	7	24	4	5	40
合計	159	131	45	53	388

【表3】年度別感染経路別の未治療患者検査件数

年度	血液製剤	同性間男	異性間女	異性間男	件数
1998	0	1	1	0	2
1999	1	1	0	0	2
2000	0	2	0	0	2
2001	0	1	0	1	2
2002	2	1	1	0	4
2003	1	3	0	1	5
2004	2	14	0	0	16
2005	0	5	2	2	9
合計	6	28	4	4	42

【表4-1】未治療感染者の薬剤耐性変異(MSM以外)

感染経路	症例	年度	病期	CD4	RNA	逆転写酵素領域	プロテアーゼ領域
血液製剤	1	1999	AC	353	7000	-	-
	2	2002	AC	603	303	-	ND
	3	2002	AC	856	503	-	-
	4	2003	AC	660	3200	-	L63L/F
	5	2004	ARC	277	28000	-	K20K/M
	6	2004	AC	488	1400	-	M36I, L63C
異性間女	7	1998	AC	372	2700	ND	ND
	8	2002	AC	274	23000	-	L63P
	9	2005	AIDS	29	930000	-	K20I, M36I
	10	2005	AC	313	4900	-	M36I, L63L/P
異性間男	11	2001	AIDS	16	106200	-	-
	12	2003	AC	1173	2300	-	-
	13	2005	AIDS	183	250000	-	L10I, K20I, M36I, L63L/P
	14	2005	AIDS	36	67000	-	Pr:L63P, A71T

【表4-2】未治療感染者の薬剤耐性変異(MSM)

症例	年度	病期	CD4	RNA	逆転写酵素領域	プロテアーゼ領域
15	1998	AC	342	58000	-	-
16	1999	AC	362	9600	-	L63P
17	2000	Acute	299	25000	T69T/D, M184M/V	L63P
18	2000	AC	391	25900	-	L10L/I, L63P
19	2001	AC	529	59700	-	L10L/I, L63P
20	2002	AC	142	35000	-	L63A
21	2003	Acute	915	870000	L210F	L63A, A71V
22	2003	AC	291	68000	V179D/V	L63P, A71V
23	2003	AC	564	4800	-	-
24	2004	AC	1056	766	-	L63A
25	2004	AC	379	58000	-	L10L/I, L63P, A71A/V
26	2004	Acute	516	1600	K103T, V179D	L63A
27	2004	AC	636	5700	-	L63A
28	2004	Acute	975	38000	V179V/I	L63A, A71V
29	2004	AC	310	34000	-	L63L/R, V77V/I
30	2004	AIDS	300	21000	V118I	L10I, M36I, L63P
31	2004	AC	561	3000	-	L10V, L63P, A71T, V77I
32	2004	AC	783	17000	-	-
33	2004	AIDS	26	110000	-	-
34	2004	AIDS	82	170000	-	L63A
35	2004	AIDS	50	300000	-	-
36	2004	AC	646	4400	-	M36M/I
37	2004	Acute	271	74000	-	:L63T, V77I
38	2005	AC	193	200000	V179E	L63P, A71T
39	2005	AIDS	36	73500	-	V77I
40	2005	AC	63	14000	-	L63P, A71A/T, V77I
41	2005	Acute	698	74000	-	-
42	2005	AC	102	55000	-	L63P, V77I

関東甲信越地区における薬剤耐性 HIV-1 調査体制確立のための研究

分担研究者 下条文武 新潟大学大学院医歯学総合研究科臨床感染制御学分野

研究要旨

新潟、長野、茨城各県の医療機関を受診した 2005 年度 HIV 新規登録感染者 12 名 (男性 9 名, 女性 3 名) について, 感染ウイルスの RNA 塩基配列を解析した. 検査対象のうち 10 名は異性間の性行為で感染しており, ウイルスのサブタイプ別では CRF01_AE が 7 例, B が 5 例で, CRF01_AE が多数を占めた. 検査したウイルスで, 薬剤感受性に重大な影響を与える変異は見出されなかった.

A. 研究目的

抗 HIV 薬多剤併用療法によってエイズ死亡は顕著に減少し, 患者の延命がもたらされている一方, 長期にわたる薬剤使用は必然的に耐性ウイルスの増加を招いており, ひいては今後のエイズ治療を困難にする恐れが指摘されている. われわれは新潟県エイズ対策事業への協力の一環として, 県内医療機関で採血された HIV サンプルに含まれるウイルス RNA のシーケンシングをおこなって, 薬剤耐性変異の蓄積状態を通知しており, このうち新規登録患者分のデータを本研究班の国内 HIV 感染データベースの作成に提供している. 今年度より県外の検体も受け入れて, より多くのデータの集積に協力することとし, 年度内に県内分 5 件に加えて県外医療機関から送られた 7 件のサンプルについても解析をおこなった. 以下にその結果を述べる.

B. 研究方法

医療機関から送付された EDTA 添加患者血液 (~7ml) を到着後直ちに遠心分離し (3,000rpm × 10min), 血漿を分離した. 血漿 0.2 ml から High Pure Viral RNA kit® (Roche, 1858-882) を用いて RNA を抽出し, 50µl の溶出バッファーに回収して -90°C で保存した.

ウイルス RNA の塩基配列の決定は RT, protease, env (C2/V3), gag (p17) の各領域についておこなった. RNA サンプル 5~10 µl を RT-PCR 法で増幅した後 (One-step RNA PCR Kit®, TaKaRa RR024A), 反応液の一部 (5µl) を nested

PCR により再増幅して, シークエンシングに供した. PCR 反応に用いたプライマーは, RT 領域: 5'-ATGATAGG
GGGAATTGGAGGTTT-3'/5'-TACTTCTGTTAGTGCTTTGG
TTC-3' (1st, nt2388-3425), および 5'-GACCTA
CACCTGTCAACATAAT-3'/5'-TAATCCCTGCATAAATCTG
ACT-3' (2nd, nt2485-3372), protease 領域:
5'-AGACAGGYTAATTTTTAGGGA-3'/5'-TATGGATTTT
CAGGCCCAATTTT-3' (1st, nt2074-2716), および
5'-AGAGCCAACAGCCCCACCAG-3'/5'-ACTTTTGGGCCA
TCCATTCC-3' (2nd, nt2148-2611), C2/V3 領域:
5'-CATACATTATTGTGCCCCGGCTGG-3'/ 5'-AGAAAA
TTCCCCTCTACAATTAA-3' (1st, nt6866-7374), お
よび 5'-AATGTCAGCTCAGTACAATGCACAC-3'/5'-ATT
TCTGGTCCCCTCCTGAGG-3' (2nd, nt6945-7336),
p17 領域: 5'-ATCTCTAGCAGTGGCGCCGAACAG-3'/
5'-CTGATAATGCTGAAAACATGGGTAT-3' (1st, nt625-
1318), および 5'-CTCTCGACGCAGGACTCGGCTTGCT
-3'/5'-CCCATGCATTCAAAGTTCTAGGTGA-3' (2nd, nt
683-1255) である. シークエンシング反応は
BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit
(Applied Biosystems) を用いておこない, ABI
PRISM®310 Genetic Analyzer により解析した.

薬剤耐性変異は被検配列を参照配列 (HXB2) と比較した上, International AIDS Society (IAS)-USA 2005 の基準に基づいて同定した. ウイルスのサブタイプの同定はおもに C2V3 領域の BLAST によるホモロジー検索によりおこなった.

(倫理面への配慮)

血液サンプル受け入れの際、医療機関には疫学的研究に必要な患者に関する情報を、本人の同意の下に通知することを求めているが、これらには氏名、住所などただちに本人の特定に結びつく項目は含まれない。文書で通知された内容は直ちにデジタル化した後、元書類をシュレッダーで切断廃棄しており、転記したファイルは暗号化して保存するなど、個人情報の漏洩により患者が不利益を蒙る恐れを最小にとどめるよう配慮している。

C. 研究結果

解析したサンプル 解析したウイルス RNA は、新潟大学医歯学総合病院 (5 件)、信州大学附属病院 (3 件)、および筑波大学附属病院 (4 件) でそれぞれ採取された HIV 新規登録患者 12 名の血液に含まれていたものである。患者の性別は男性 9 名、女性 3 名。年齢は 20 歳代 5 名、30 歳代 3 名、40 歳代 1 名、50 歳代 1 名、不明 2 名となっている。国籍は日本 11、外国籍 1。外国籍の一人を除き、感染地は国内である。感染経路は同性間感染が 2 名、異性間のものが 10 名であった。採血は初診時 (5 件)、または薬剤治療開始時 (7 件) におこなわれているが、感染時期が推定されているものは半数で、1 例 (~1 ヶ月) を除き、感染後 5 年以上 (最長 14 年) 経過したと思われる時点での解析となっている。シーケンシングの結果判明した感染ウイルスのサブタイプは B が 5 例、CRF01_AE が 7 例で、全国的傾向と異なり、サブタイプ B がむしろ少数であった。表 1 に地域別、感染経路別に各サブタイプの検出数を示す。

表 1. 解析した配列のサブタイプ
薬剤耐性変異 解析した塩基配列全例について、protease 阻害剤の耐性に関わる major 変異を認めなかった一方、それぞれ 1~4 の minor 変異を含むことがわかった (表 2)。もっとも頻繁に見出された変異は M36I で、次いで L63P, V77I の頻度が高かった。逆転写酵素

阻害剤に対する耐性変異については、ヌクレオ

医療機関所在地	感染経路	サブタイプ	例数
新潟県	同性間	B	1
		CRF01_AE	1
	異性間 (M)	B	2
		CRF01_AE	0
		(F) B	0
	CRF01_AE	1	
長野県	同性間		-
	異性間 (M)	B	1
		CRF01_AE	2
(F)		-	
茨城県	同性間		-
	異性間 (M)	B	0
		CRF01_AE	2
	(F)	B	1
		CRF01_AE	1

シド系,

表 2. 解析した配列に含まれる薬剤変異

阻害剤	耐性変異 (例数)
PI major	none
minor	L10I(1), K20R(1), M36I(5), L63P(4), A71ITV(1), V77I(4)
NRTI	T215E(1)
NNRTI	none

非ヌクレオシド系阻害剤のいずれに対しても ISA-USA パネルに記載された変異は含まれなかった。ただし、1 例の配列に検出された T215E は一部のヌクレオシド系阻害剤に弱い耐性を付与する変異として、Stanford 大の HIV Drug Resistance Database に記載されている。

解析した配列間の類縁関係 今回解析した検体の同一サブタイプ間で配列を比較すると、C2V3 領域で 5~17% の塩基に違いが見られた。また protease, RT 領域の比較においても少なくとも 2% の違いが存在する。したがって、それぞれの患者について、過去の近い時点で感染系列がつながる可能性は低いと思われる。これまでに得ている薬剤治療中の患者の配列との