

200500703A

厚生労働科学研究研究費補助金

エイズ対策研究事業

非サブタイプB型HIVにおける薬剤耐性ジェノタイプ解析
アルゴリズムに関する研究

平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 山本 直彦

平成18(2006)年

目次

I. 総括研究報告書	
非サブタイプ B 型 HIV における薬剤耐性ジェノタイプ解析アルゴリズムに 関する研究 山本直彦	1
II. 分担研究報告書	
1. ケニアの小児における非サブタイプ B 型 HIV 薬剤耐性関連遺伝子に関する研究 市村 宏	5
2. アフリカ・ケニアのスラム地区における HIV/AIDS 流行に関する研究 森下 高行	13
3. ケニアにおける未治療非サブタイプ B 型 HIV 感染者の薬剤耐性に関する研究 山本 直彦	16
4. インド・パキスタンにおける非サブタイプ B 型 HIV 感染者の薬剤耐性に関する研究 磯村 思无	19
5. 非サブタイプ B 型 HIV 薬剤耐性関連遺伝子に関する研究（名古屋地域） 金田 次弘	22
6. 非サブタイプ B 型 HIV 薬剤耐性関連遺伝子に関する研究（大阪地域） 大竹 徹	24
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	27
IV. 研究成果の刊行物・別冊	29

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

非サブタイプB型HIVにおける薬剤耐性ジェノタイプ解析アルゴリズムに関する研究

主任研究者 山本 直彦 名古屋大学大学院医学研究科助教授

研究要旨

本研究の目的は、非サブタイプBのデータから導かれたジェノタイプ解析アルゴリズムの必要性が急務と考え、非サブタイプBを中心に、薬剤耐性HIVの遺伝学的特徴 (genotype) と感染性 (phenotype) との関連を構築し、開発途上国における将来の薬物治療など、AID対策に重要な基礎的および臨床的データを提供する事を目的とする。

今年度は以下の解析を行なった。すなわち、ケニアのNyumbani 孤児院 (ナイロビ市) において抗エイズ療法を受けているHIV感染小児12例から、RTI耐性関連アミノ酸変異の有無を解析し、M184V, M41L, L210W, T215Y, D67N, K70R, K219Qがみられた。また、ケニアの未治療HIV感染者48検体のうち、薬剤耐性関連遺伝子は3例見られ、うち1例はPR領域に見られ、従来のサブタイプB型には報告されていないV82Iであった。残り2例はRT領域に見られ、いずれもサブタイプB型に報告されているG190A, V118Iと同じであった。インドにおいて今年度中に収集した治療中のサブタイプC型HIV感染者27検体を解析した結果、11検体 (41%) に薬剤耐性関連遺伝子が見られ、うち1例は従来のサブタイプB型には報告されていないV118C, L210Sがみられた。パキスタンにおける未治療HIV感染者58例中、6例 (10%) に薬剤耐性関連遺伝子が見られ、うち4例はPR領域に見られ、従来のサブタイプB型には報告されていないV82Iであった。国内において、抗AIDS薬治療中のサブタイプAEの症例で、逆転写酵素領域においてI135Tが、プロテアーゼ領域において、K20T, V82I、さらに新しい部位として、L23IとM89Iが見られた。

分担研究者

市村 宏 (金沢大学大学院医学系研究科 教授)

大竹 徹 (大阪府立公衆衛生研究所 ウイルス課
課長)

金田 次弘 (名古屋医療センター 臨床研究センター
部長)

森下 高行 (愛知県食品衛生検査所 微生物課
主任研究員)

磯村 思无 (名古屋女子大学家政学部 教授)

A. 研究目的

近年、HAART療法が導入されて以来、薬剤耐性HIVに対する対策が大きな課題となっている。アジアやアフリカの開発途上国においては十分な服用指導が行なわれないまま、抗AIDS薬を安価に提供したり、また、ある地域では中身が不確かな製剤が広まっております、その事がいっそう薬剤耐性HIVの出現を助長しているのが現状である。一方で、現在広く利用されている薬剤耐性に関するデータはサブタイプBにおけるものであり、開発途上国に多いサブタイプ

A や C、日本の性的接触による感染に多いサブタイプ AE などいわゆる non-B 型の HIV におけるデータに乏しいのが現状である。本研究の目的は、非サブタイプ B のデータから導かれたジェノタイプ解析アルゴリズムの必要性が急務と考え、永年我々と研究協力関係にあるインド、パキスタン、およびアフリカ・ケニアの政府関係者、病院、大学の医師らと協力し、これらの地域に多く流行する非サブタイプ B を中心に、薬剤耐性 HIV の遺伝学的特徴 (genotype) と感染性 (phenotype) との関連を構築し、開発途上国における将来の薬物治療など、AID 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。

B. 研究方法

アフリカ・ケニアにおいてはナイロビ市にあるエイズ孤児院 (Nyumbani) において抗エイズ療法を受けている HIV 感染小児 12 名から、ナイロビ郊外のスラム地区においては Pumwani village の Alifaman 氏、Columbia 大学の稲田頼太郎博士、インドにおいては Sanjay Gandhi Postgraduate Institute Medical Sciences の Dhole 博士、パキスタンにおいてはカラチ AWAN Hospital の Rafiq 博士の協力を得て、また、国内においては非サブタイプ B として流行しているサブタイプ AE を中心に、患者血清を採取し、逆転写酵素およびプロテアーゼ領域の変異部位を解析した。その結果と、関連する臨床的データおよびサブタイプ B を基にした薬剤耐性のデータと比較検討し、新たに得られた逆転写酵素あるいはプロテアーゼ領域の変異部位における genotype を検討した。

(倫理面への配慮)

調査研究実施国の実情にあわせ、その国の方針を尊重しつつ、原則としてわが国の基準すなわち「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 (平成

13年3月29日文科科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)」を遵守して研究を遂行する。すなわち、検体収集にあたっては、現地側共同研究者によるインフォームドコンセントを確認後、被検者に遺伝子解析の研究目的であり、被検者のプライバシーの守秘義務に十分配慮する旨、説明し同意を得た上で血液を採取する。論文作成にあたっては被検者の氏名や年齢等、個人が同定できるような記載を避け、個人情報とは全て現地側共同研究者の管理とする。得られた検体は日本に持ち帰り、遺伝子解析で得られたデータは全て現地側共同研究者に提供する。

C. 研究結果

ケニアの Nyumbani 孤児院 (ナイロビ市) において抗エイズ療法を受けている HIV 感染小児 12 例のサブタイプは、A1 (8 例)、C (1 例)、D (2 例) と CRF02_AG (1 例) であった。NRTI 耐性関連アミノ酸変異で最もよく見られたものは、M184V であり、7 例の児にみられ、ほとんどがチミジン類似体に関連した変異 (TAM) を伴っていた。5 例では、TAM だけが誘導され、その中の 3 例は異なる系列の TAM (M41L, L210W, T215Y と D67N, K70R, K219Q) の共存が認められた。3 例の児では、NNRTI 耐性関連アミノ酸変異で最もよく見られる K103N が治療前から存在しており、治療後も持続して存在した。1 人の児では、Y181C が治療前に認められたが、治療開始後に消失した。T215F/Y、M41L、D67N、K70R、と K103N の変異を持つウイルス株がマイナー集団として出現し、その後、メジャー集団になるのが観察された。

ケニアのナイロビにあるスラム地区に住む未治療感染者から、今年度中に採血し得た検体は 237 サンプルで、HIV 陽性者は 48 サンプル (20%) であった。サブタイプは、A 型が 35 例、B 型が 2 例、C 型が 7 例、D 型が 4 例であった。そのうち、薬剤耐性関連遺伝子

は3例見られ、うち1例はPR領域に見られ、従来のサブタイプB型には報告されていないV82Iであった(サブタイプB型ではV82A/F/T/S)。残り2例はRT領域に見られ、いずれもサブタイプB型に報告されているG190A、V118Iと同じであった。

インドのサンジャイ・ガンジー医科学研究所において今年度中に収集した治療中のサブタイプC型HIV感染者27検体を解析した結果、11検体(41%)に薬剤耐性関連遺伝子が見られ、うち1例はPR領域にも見られた(V82I)。この検体はRT領域に薬剤耐性遺伝子がみられていた。RT領域にみられた薬剤耐性遺伝子のうち、1例は従来のサブタイプB型には報告されていないV118C、L210S(サブタイプB型ではそれぞれV118I、L210W)がみられた。

パキスタンのAWAN Hospitalにおいて収集された未治療HIV感染者58例中、6例(10%)に薬剤耐性関連遺伝子が見られ、うち4例はPR領域に見られ、従来のサブタイプB型には報告されていないV82Iであった(サブタイプB型ではV82A/F/T/S)。RT領域には3例に薬剤耐性関連遺伝子が見られた(V108I、T69S、L100I)。このうち1例はPR領域にも薬剤耐性関連遺伝子が見られていた。

国内において、逆転写酵素阻害剤 ddI、d4T およびプロテアーゼ阻害剤 NFV の治療経過中、ウイルス量が上昇してきたサブタイプ AE の症例について解析したところ、逆転写酵素領域において、M41L、T215F が出現し、さらにサブタイプ B には報告されていない新しい変異として I135T が見られた。また、プロテアーゼ領域において、A71T、M36I、K20T (サブタイプ B では K20M/R/I)、V82I (サブタイプ B では V82A/F/L/T/S)、さらにサブタイプ B には報告されていない新しい変異として L23I と M89I が見られた。

D. 考察

ケニアの Nyumbani 孤児院で抗エイズ療法を受けている HIV 感染小児における解析から、非サブタイプ B 型 HIV-1 では、B 型 HIV-1 とは異なる RTI 耐性関連アミノ酸変異の出現パターンをとる場合があること、母子感染したと考えられる RTI 耐性関連変異 (K103N と Y181C) を持ったウイルス株が RTI 未使用下でも長期間存在すること、そして RTI による治療の予後を知るうえで、血中ウイルスのマイナー集団の検討が必要であることが示唆された。

スラム地区における未治療 HIV 感染者における今年度の解析では、薬剤耐性変異の陽性率が過去三年間に比べて減少したが、近年、国による積極的な予防キャンペーンや NGO による VCT (Voluntary Counseling and Testing) プロジェクトの活動が効果を奏した可能性もあるが、今後慎重に経緯を見ていく必要がある。

インドにおいては治療中の HIV 感染者の 41% と高率に薬剤耐性関連遺伝子が見られており、服薬指導を含めたアドヘレンスの悪さが推察される。一方、パキスタンの未治療 HIV 感染者においては、薬剤耐性関連遺伝子の陽性率は約 10% で、当研究グループのケニアのスラム地区の陽性率 (約 20%) と比較して低率であった。

国内において、今年度、抗 AIDS 薬治療中のサブタイプ AE の症例において、サブタイプ B には報告されていない新しい薬剤耐性変異がいくつか見られたが、このうち、M89I については、phenotype の解析によってサブタイプ C、F、G において NFV 耐性に関与しているという報告が AIDS 19:1799-1806、2005 に見られた。

以上、サブタイプ B 型として報告されている耐性変異のデータのみでは、サブタイプによっては見逃される可能性があり、非サブタイプ B 型に特

微的な耐性変異のデータの蓄積が急務である。今後、さらに症例数を重ねると共に、こうした非サブタイプ B にみられる新たな変異がどの程度耐性に関与しているか、その phenotype について検討していく予定である。

E. 結論

ケニアの Nyumbani 孤児院 (ナイロビ市) において抗エイズ療法を受けている HIV 感染小児 12 例から、RTI 耐性関連アミノ酸変異の有無を解析し、M184V, M41L, L210W, T215Y, D67N, K70R, K219Q がみられた。また、ケニアの未治療 HIV 感染者 48 検体のうち、薬剤耐性関連遺伝子は 3 例見られ、うち 1 例は PR 領域に見られ、従来のサブタイプ B 型には報告されていない V82I であった。インドにおいて治療中のサブタイプ C 型 HIV 感染者 27 検体を解析した結果、11 検体 (41%) に薬剤耐性関連遺伝子が見られ、うち 1 例は従

来のサブタイプ B 型には報告されていない V118C, L210S がみられた。パキスタンにおいて未治療 HIV 感染者 58 例中、6 例 (10%) に薬剤耐性関連遺伝子が見られ、うち 4 例は PR 領域に見られ、従来のサブタイプ B 型には報告されていない V82I であった。国内において、抗 AIDS 薬治療中のサブタイプ AE の症例で、逆転写酵素領域において I135T が、プロテアーゼ領域において、K20T, V82I、さらに新しい部位として、L23I と M89I がみられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

研究成果の刊行に関する一覧表参照

H. 知的所有権の出願・登録状況

特になし。

ケニアの小児における非サブタイプB型HIV 薬剤耐性関連遺伝子に関する研究

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分野 教授

研究協力者 R. ルエンベ

同上

大学院生

研究要旨

非サブタイプB型HIVに感染しており、逆転写酵素阻害剤（RTI）による治療に抵抗性を示したケニアのエイズ孤児から分離されたウイルスのRTI耐性関連アミノ酸変異の出現パターンを明らかにすることを目的とした。ケニアのNyumbani孤児院（ナイロビ市）において抗エイズ療法を受けているHIV感染小児12例から経時的に採取された血漿中のウイルス遺伝子をRT-PCRで増幅し、クローニングした後、塩基配列を決定し、RTI耐性関連アミノ酸変異の有無ならびにサブタイピングを行った。児に感染しているHIVのサブタイプは、A1（8例）、C（1例）、D（2例）とCRF02_AG（1例）であった。NRTI耐性関連アミノ酸変異で最もよく見られたものは、M184Vであり、7例の児にみられ、ほとんどがチミジン類似体に関連した変異（TAM）を伴っていた。5例では、TAMだけが誘導され、その中の3例は異なる系列のTAM（M41L、L210W、T215YとD67N、K70R、K219Q）の共存が認められた。3例の児では、NNRTI耐性関連アミノ酸変異で最もよく見られるK103Nが治療前から存在しており、治療後も持続して存在した。1人の児では、Y181Cが治療前に認められたが、治療開始後に消失した。T215F/Y、M41L、D67N、K70R、とK103Nの変異を持つウイルス株がマイナー集団として出現し、その後、メジャー集団になるのが観察された。以上の結果より、非サブタイプB型HIVでは、B型HIVとは異なるRTI耐性関連アミノ酸変異の出現パターンをとる場合があること、母子感染したと考えられるRTI耐性関連変異（K103NとY181C）を持ったウイルス株がRTI未使用下でも長期間存在すること、そしてRTIによる治療の予後を知るうえで、血中ウイルスのマイナー集団の検討が必要であることが示唆された。

A. 研究目的

アフリカに広く流行する非サブタイプB型HIVに感染し、抗HIV療法を受けている小児を対象に、薬剤耐性関連遺伝子変異（genotype）と薬剤感受性（phenotype）との関連を構築し、non-B型HIVのエイズ治療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した。

B. 研究方法

ケニアのナイロビ市にあるエイズ孤児院（Nyumbani）において抗エイズ療法を受けているHIV感染小児12名（男/女：8名/4名、平均年齢7.6±2.9歳）（表1）から2001年から経時的に血漿を採取し、逆転写酵素領域（*pol*-RT）の塩基配列およびアミノ酸配列を解析し、これらの領域における変異部位と関連する臨床的データおよびサブタイプBを基にした薬剤耐性のデータと比較検討した。

(倫理面への配慮)

本研究のプロポーザルはケニア中央医学研究所 (KEMRI, Kenya Medical Research Institute) の Scientific Committee および Ethical Committee と 金沢大学医学部の倫理委員会の承認を受けている。

C. 研究結果

今回対象にした児 12 名の検査結果を Table 1 にまとめた。

1. サブタイプ

児に感染している HIV-1 のサブタイプは、A1 (8 例)、C (1 例)、D (2 例) と CRF02_AG (1 例) であった。

2. NRTI 耐性関連変異の出現パターン (Table 2)

NRTI 耐性関連アミノ酸変異で最もよく見られたものは、M184V であり、7 例の児にみられ、ほとんどがチミジン類似体に関連した変異 (TAM) を伴っていた。5 例の児では、TAM だけが誘導され、その中の 3 例は異なる系列の TAM (M41L, L210W, T215Y と D67N, K70R, K219Q) の共存が認められた。

3. NNRTI 耐性関連変異の出現パターン (Table 3、Fig. 1)

3 例の児では、NNRTI 耐性関連遺伝子変異で最もよく見られる K103N が治療前から存在しており、治療後も持続して存在した。1 人の児では、Y181C が治療前に認められたが、治療開始後に消失した。

4. マイナーウイルス株の推移 (Table 4)

T215F/Y (1/9 クローン)、M41L (1/5 クローン)、D67N (1/5 クローン)、K70R (1/5 クローン)、と K103N (1/5 クローン) の変異を持つウイルス株がマイナー集団として出現し、その後、メジャー集団になるのが観察された。

D. 考察

非サブタイプ B 型 HIV-1 では、B 型 HIV-1 とは

異なる RTI 耐性関連アミノ酸変異の出現パターンをとる場合があること、母子感染したと考えられる RTI 耐性関連変異 (K103N と Y181C) を持ったウイルス株が RTI 未使用下でも長期間存在すること、そして RTI による治療の予後を知るうえで、血中ウイルスのマイナー集団の検討が必要であることが示唆された。

E. 健康危険情報

特になし

F. 研究発表

1. 論文発表

- Khanadi SA, Ichimura H, et al.: HIV-1 subtypes in circulation in Northern Kenya. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* (2005), 21(9):810-4.
- Agdamag DM, Ichimura H, et al.: Rapidly spreading HCV infections from limited sources simulating an AIDS outbreak in the Philippines. *J Med Virol* (2005), 77:221-226.
- Kurbanov F, Ichimura H, et al.: A New Subtype (Subgenotype) Ac (A3) of Hepatitis B Virus and Recombination between Genotypes A and E in Cameroon. *J Gen Virol* (2005), 86:2047-2056.
- Takemura T, Ichimura H, et al.: A novel SIV from black mangabey (*Lophocebus aterrimus*) in Democratic Republic of Congo. *J Gen Virol* (2005), 86:1967-1971.

2. 学会発表

- フィリピンにおいて急速に伝播している HCV の解析 (2002 年- 2005 年). 景山誠二, 市村宏. 第 53 回日本ウイルス学会学術集会. 2005. 11, 横浜.

- ・血友病患者のHIV/AIDS病態進行に関する宿主因子の影響. 小泉祐介、景山誠二、宮下宙子、Lwembe R、塩田達雄、藤山佳秀、市村宏. 第53回日本ウイルス学会学術集会. 2005. 11, 横浜.
- ・HIV-1 subtypes in the northern border region of Kenya. Lwembe R、市村宏、他. 第18回日本エイズ学会学術集会・総会, 2004, 12, 静岡.
- ・カメルーン北西部における HIV-1 サブタイプ分布と未治療群内の薬剤耐性株頻度の解析. 小泉祐介、宮下宙子、Lwembe RW、Nicaise N、景山誠二、藤山佳秀、市村宏. 第19回日本エイズ学会学術集会・総会, 2005, 12, 熊本.

- ・ REVERSE TRANSCRIPTASE RESISTANCE MUTATIONS IN HIV-1 NON-B STRAINS INFECTING TREATED CHILDREN IN KENYA. R. Lwembe, E. M. Songok, M. Miyashita, Y. Koizumi, S. Kageyama, H. Ichimura. 第19回日本エイズ学会学術集会・総会, 2005, 12, 熊本.

G. 知的所有権の出願・登録状況

特になし。

なお、本研究は、Mr. W. Ochieng, Dr. M. Songok (KEMRI), Dr. R. Musoke (Nairobi Uni), Nyumbani 孤児院と山本直彦博士 (名古屋大学・院・医) との共同研究である。

Table 1 : general characteristics of non-B HIV-1 infected study children

Sample ID (subtype)	Age (years)	Sex	Study point Month, year	ARV (Therapy-start)	CD4 (Cells/ml)	Plasma VL (copies/ml)	NRTI resistance mutations	NNRTI resistance Mutations
030 (A1)	11	Female	Jul 02 Mar 03 Jan 04	AZT, ddi, EFV Jun 01	456 475 267	<400 24,857 89,063	D67N+ K70R+ K219Q	L1001
044 (A1)	9	Male	Feb 02 Mar 03 Dec 03	AZT, ddi, EFV May 02	208 370 474	1,017,931 71,895 150,549	D67N+K70R+T215F+ K219Q D67N+K70R+T215F+K219Q M41L+V75M	K103N K103N+G190A K103N+G190A
062 (A1)	8	Male	Dec 01 Sep 02 Mar 03 May 04 Mar 03 May 04	AZT, ddi, NVP Mar 02	589 828 568 192 400	239,644 2,838 6,901 227,176 113,868	D67N+K70R D67N+K70R+T215F+K219E D67N+K70R+T215F+K219E	G190A G190A Y181C+G190A K103N K103N
069 (A1)	6	Male	Mar 03 May 04	AZT, 3TC, NVP Jul 03	718	700,563	M184V	K103N
070 (D)	7	Male	Sep 02 Jun 03 Dec 03	AZT, 3TC, NVP Jul 03	169 502	1,323,431 188,059	K70R+M184V	K103N K103N K103N
083 (A1)	5	Male	May 01 Jul 02 Apr 03 Aug 04	AZT, 3TC, NVP Jun 01	876 946 1138 1125	634,644 50,570 74,437 197,301	M184V M184V M184V M184V+T215Y	K103N K103N K103N K103N
085 (CRF02_AG)	5	Female	Feb 03 Dec 03 Apr 04 Apr 03	AZT, 3TC, NVP Apr 03	178 1214 1148 6	30,690 3,264 79,080 523,950	D67+M184V D67N+M184V	K103N K103N Y181C
090 (D)	2	Female	Jan 04 Mar 04	AZT, 3TC, NVP Apr 03	399 373	55,679 155,191	M184V	K103N
033 (A1)	11	Female	Jul 02 Mar 03 Feb 04	AZT, ddi, EFV Apr 01	549 556 690	3,449 122,419 6,457	K219Q D218E+K219Q	K101Q K101Q
036 (D)	11	Male	Oct 01 May 02 Aug 02 Apr 03 Feb 04	ddi,d4T,EFV Apr 01	309 321 279 458	114,754 880,405 81,870 607,224 393,420	M184V+T215F M184V+T215F M184V+T215F T215F T215F	1178M G190A G190A G190A
079 (A1)	6	Male	Feb 03 Feb 04 Jun 04 Mar 03 Dec 03 Feb 04 Aug 04	ddi,3TC,EFV Apr 03	70 551 347 388 188 157 149	159,826 244,506 472,203 38,459 60,695 38,211	V75M+M184V V75M+ M184V D67N D67N+K70R+L210W+K219E D67N+K70R+L210W+K219E D67N+K70R+L210W+D218E+K219E	K101E+G190A K101E+G190A+Y181C
038 (C)	10	Male	Mar 03 Dec 03 Feb 04 Aug 04	ddi,3TC,EFV Sep 02	388 188 157 149	38,459 60,695 38,211		

Table 2. Patterns of NRTI resistance mutations in non-B HIV-1 infected children according to treatment

Treatment	(n)	Study point				
		1 st (mo. pt)	2 nd (mo. Pt)	3 rd (mo. Pt)	4 th (mo. Pt)	5 th (mo. Pt)
zidovudine/lamivudine	2	M184V(10, 9)				
	1	M184V(13)	M184V (22)	M184V+1TAM (38)		
	2	M184V+1TAM (6,9)	M184V+1TAM (12)			
zidovudine/didanosine	1	M184V+1TAM(6)	M184V + 1TAM(13)	M184V+1TAM(18)	1TAM (24)	1 TAM (34)

zidovudine/ didanosine	1	2 TAMs (6)	4 TAMs (12)	4 TAMs (22)		
	1	4 TAMs (11)	V75M + 5 TAMs (19)			
	1	none (14)	1 TAM (23)	2 TAMs (34)		
	1	none (11)	none (29)	3 TAMs(31)		
lamivudine/didanosine	1	1 TAM(8)	4 TAMs (15)	4 TAMs(17)	5 TAMs (23)	

lamivudine/ didanosine	1	M184V+V75M(10)	M184V+V75M (13)			

TAM-thymidine analogue-associated resistance mutation: (mo. pt)=months post treatment initiation, n=number of children with the mutation pattern.

Table 3: patterns of NNR₁ resistance mutations among non-B HIV-1 infected children according to therapy

Treatment (n)	Study point						
	0 (mo. bt)	1 st (mo. pt)	2 nd (mo. pt)	3 rd (mo. pt)	4 th (mo. Pt)	5 th (mo. pt)	
nevirapine	1	0 (mo. bt) K103N (1)	1 st (mo. pt) K103N (6)	2 nd (mo. pt)	3 rd (mo. pt)	4 th (mo. Pt)	5 th (mo. pt)
	1	K103N (4)	K103N (11)				
	1		K103N (12)	K103N(22)	K103N (38)		
	1		K103N (9)	K103N (12)			
	1	Y181C (0.25)	G190A (6)	G190A (12)	G190A+Y181C (26)		
1		none	K103N (11)				
efavirenz	1		none	none	L100I (31)		
	1	K103N (3)	K103N + G190A(10)	K103N+G190A(18)			
	1		none	K101Q (11)	K101Q(34)		
	1		none	I178M (13)	G190A(16)	G190A(24)	G190A (34)
	1		K101E+G190A(10)	K101E+G190A+Y181C(14)			
1		none	none	none	none	none	

blank: no sample available, none: no mutation detected, 0(mo. bt): follow-up before therapy, (mo. Pt): months post therapy

Fig. 1. NNRTI resistance mutations detected before and during treatment in non-B HIV infected children

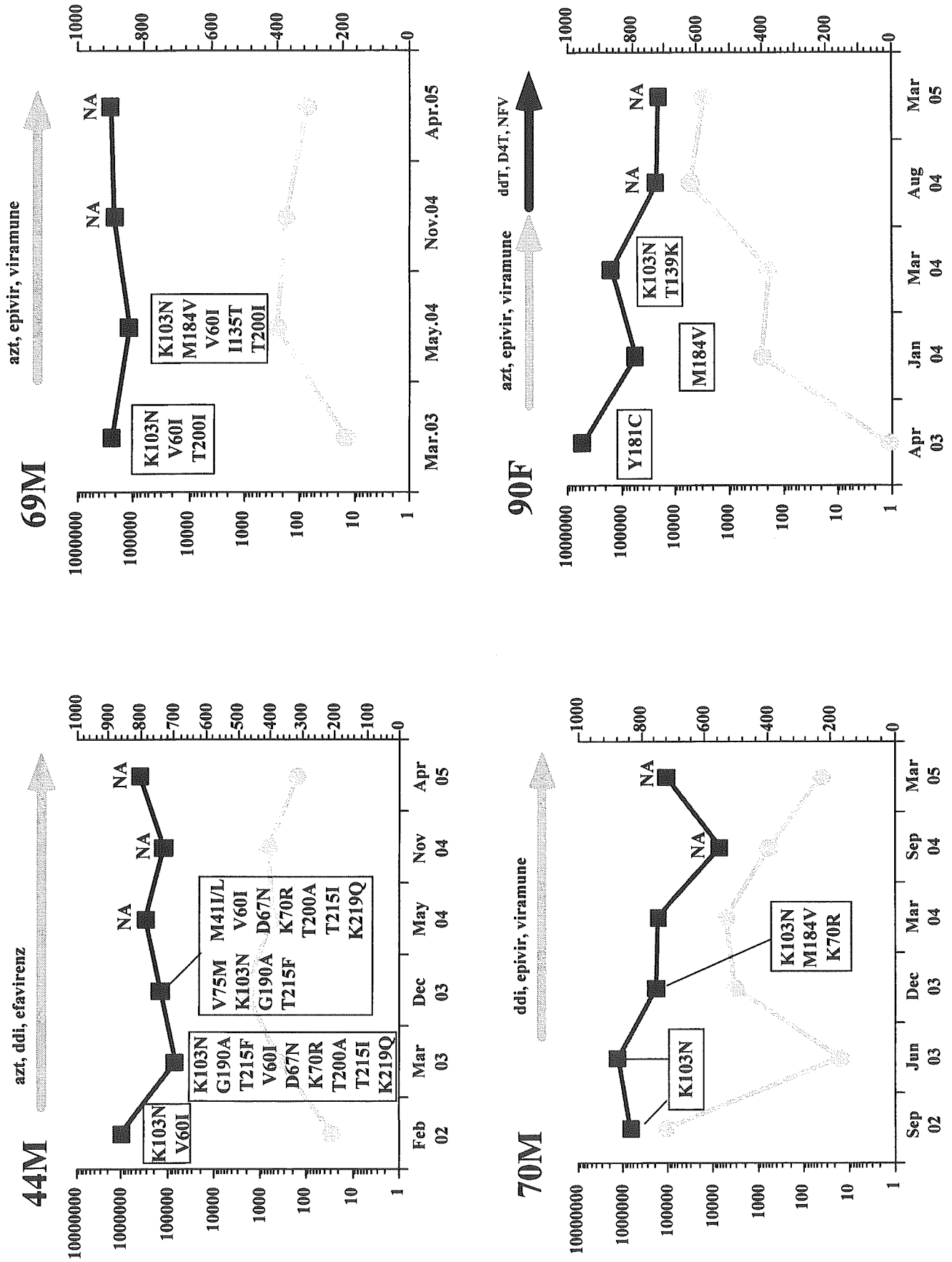


Table 4: Growth of mutant HIV-1 strains from minor populations to major populations among non-B HIV-1 infected children on ART

Sample ID	Study point (Month)	ARV COMBINATION	Plasma VL (copies/ml)	NRTI resistance mutations	NNRTI resistance mutations
036	0				
	1 st (6 months)		114,754	T215F (1/9) + M184V (6/8)	
	2 nd (13 months)	ddl, d4t, EFV	880,405	T215F (1/8) + M184V (2/8)	I178M (6/8)
	3 rd (18 months)		81,870	T215F (9/9) + M184V (8/9)	G190A (8/9)
	4 th (24 months)		607,224	T215F (2/2)	G190A (2/2)
044	5 th (34 months)		393,420	T215F (7/7)	G190A (7/7)
	0		1,017,931		K103N (5/5)
	1 st (10 months)	AZT, ddl, EFV (May 02)	71,895	D67N (4/4) + K70R (4/4) + T215F (1/4) + K219Q (4/4)	K103N (4/4)+G190A (4/4)
	2 nd (17 months)		150,549	D67N (5/5) + K70R (5/5) + T215F (5/5) + K219Q (5/5) + M41L (1/5) + V75M (3/5)	K103N (5/5)+G190A (5/5)
	0		239,644		
062	1 st (6 months)	AZT, ddl, NVP (Mar 02)	2,838	D67N (1/5) + K70R (1/5)	G190A (5/5)
	2 nd (12 months)			D67N (4/4) + K70R (4/4) + T215F (2/4) + K219E (4/4)	G190A (5/5)
	3 rd (26 months)		6,901	D67N (3/3) + K70R (3/3) + T215F (1/3) + K219E (3/3)	Y181C (2/3) + G190A (3/3)
069	0		227,176		K103N (1/5)
	1 st (10 months)	AZT, 3TC, NVP (Jul 03)	113,868	M184V (7/7)	K103N (7/7)
033	0				
	1 st (15 months)		3,449		
	2 nd (23 months)	AZT, d4t, EFV (Apr 01)	122,419	K219Q (4/11)	K101Q (6/11)
	3 rd (34 months)		6,457	K219Q (14/14) + D218E (14/14)	K101Q (14/14)

0: study point before therapy initiation, 1st, 2nd, 3rd, 4th, 5th: subsequent study points after therapy initiation

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

アフリカ・ケニアのスラム地区における HIV/AIDS 流行に関する研究

分担研究者 森下 高行 愛知県食品衛生検査所 主任研究員

研究要旨

アフリカ・ケニアのナイロビにあるスラム地区に住む未治療感染者から、今年度中に採血し得た検体は237サンプルで、うち男性は101サンプル、女性は136サンプルであった。HIV 陽性者は48サンプル(20%)で、昨年より低率であった。性別では、男性21サンプル(21%)、女性27サンプル(20%)で、男性は20歳以下の若年者層に多く(36%)、女性では30～39歳の年齢層に多かった(36%)。今年度は男女の陽性率に差はみられなかった。

A. 研究目的

アフリカ・ケニアのスラム地区における HIV/AIDS の流行状況を調査し、非サブタイプ B 型 HIV の薬剤耐性関連遺伝子(genotype) と感染性(phenotype)との関連を構築し、non-B subtype の AID 治療に重要な基礎的および臨床的データを提供する事を目的とする。

文作成にあたっては被検者の氏名や年齢等、個人が同定できるような記載を避け、個人情報は全て現地側共同研究者の管理とする。得られた検体は日本に持ち帰り、遺伝子解析で得られたデータは全て現地側共同研究者に提供する。

B. 研究方法

ケニアのナイロビにあるスラム地区に住む住民から、インフォームドコンセントの下に、血液を採取し、Particle Agglutination (PA) test (Fuji Rebio)により、HIV-1 の抗体を測定した。

(倫理面への配慮)

調査研究実施国の実情にあわせ、その国の方針を尊重しつつ、原則としてわが国の基準すなわち「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成13年3月29日文科科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)」を遵守して研究を遂行する。すなわち、検体収集にあたっては、現地側共同研究者によるインフォームドコンセントを確認後、被検者に遺伝子解析の研究目的であり、被検者のプライバシーの守秘義務に十分配慮する旨、説明し同意を得た上で血液を採取する。論

C. 研究結果

今年度中に採血し得た検体は237サンプルで、うち男性は101サンプル、女性は136サンプルであった。HIV 陽性者は48サンプル(20%)であった。性別では、男性21サンプル(21%)、女性27サンプル(20%)で、男性は20歳以下の若年者層に多く(36%)、女性では30～39歳の年齢層に多かった(36%) (対象表)。

D. 考察

ケニアのスラム地区 Pumwani village に住む HIV 感染者の陽性率は、われわれの過去6年間の調査では15%～25%の間を推移している。年によって増減がみられ、今年度は昨年の25%より低率であった。性別では男性は12%～25%を推移し、女性は22%～36%の間を推移し、例年男性よりも女性の方が陽性率は高い。今年度は男女の差はあまりみられなかった。

E. 結論

今年度採血した237検体のうち、HIV 陽性者は48検体(20%)で、昨年より減少していた。性別では、男性は21%、女性20%で、男女の差はみられなかった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

研究成果の刊行に関する一覧表参照

H. 知的所有権の出願・登録状況

特になし。

ケニアにおける未治療感染者の HIV 陽性率

年齢	検査者数		陽性者数		陽性率	
	HIV		HIV		HIV	
	男	女	男	女	男	女
<20	11	15	4	2	36%	13%
20-29	21	44	2	9	10%	20%
30-39	27	39	7	14	26%	36%
40-49	28	24	5	1	18%	4%
50<	14	14	3	1	21%	7%
計	101	136	21	27	21%	20%

ケニアにおける未治療非サブタイプ B 型 HIV 感染者の薬剤耐性に関する研究

主任研究者 山本 直彦 名古屋大学大学院医学研究科助教授

研究要旨

ケニアにおいて今年度中に収集した未治療 HIV 感染者48検体のサブタイプは、A 型が35例、B 型が2例、C 型が7例、D 型が4例であった。そのうち、薬剤耐性関連遺伝子は3例見られ、うち1例は PR 領域に見られ、従来のサブタイプ B 型には報告されていない V82I であった(サブタイプ B 型では V82A/F/T/S)。残り2例は RT 領域に見られ、いずれもサブタイプ B 型に報告されている G190A、V118I と同じであった。

昨年度中に収集した検体の解析も今年度中にすべて終了し、その結果、耐性変異を持った症例の陽性率は、サブタイプ B 型の genotype を基にした解析では、8% (74 例中 6 例) であったが、non-B 型 HIV に特徴的と思われる薬剤耐性変異も含めた解析では 19% (74 例中 14 例) となった。2002 年からの経緯をみると、サブタイプ B 型の genotype を基にした解析では、2002 年:0% (63 例中 0 例)、2003 年:3% (65 例中 2 例)、non-B 型 HIV に特徴的と思われる薬剤耐性変異も含めた解析では、2002 年:3% (63 例中 2 例)、2003 年:14% (65 例中 9 例) と、過去3年間に於いて陽性率の増加が見られている。

2005 年は薬剤耐性変異の陽性率が過去3年間に比べて減少したが、近年、国による積極的な予防キャンペーンや NGO による VCT (Voluntary Counseling and Testing) プロジェクトの活動が効果を奏した可能性もあるが、今後慎重に経緯を見ていく必要がある

A. 研究目的

アフリカ・ケニアにおける未治療非サブタイプ B 型 HIV 感染者の薬剤耐性関連遺伝子(genotype) と感染性(phenotype)との関連を構築し、non-B subtype の AID 治療に重要な基礎的および臨床的データを提供する事を目的とする。

B. 研究方法

アフリカ・ケニアのスラム地区 Pumwani village の患者血清をインフォームドコンセントの下に採取し、逆転写酵素およびプロテアーゼ領域の変異部位を解析した。その結果と、関連する臨床的データおよびサブタイプ B を基にした薬剤耐性のデータと比較検討し、新たに得

られた逆転写酵素あるいはプロテアーゼ領域の変異部位における genotype を検討した。

(倫理面への配慮)

調査研究実施国の実情にあわせ、その国の方針を尊重しつつ、原則としてわが国の基準すなわち「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成13年3月29日文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)」を遵守して研究を遂行する。すなわち、検体収集にあたっては、現地側共同研究者によるインフォームドコンセントを確認後、被検者に遺伝子解析の研究目的であり、被検者のプライバシーの守秘義務に十分配慮する旨、説明し同意を得た上で血液を採取する。論文作成にあたっては被検者の氏名や年齢等、個人が

同定できるような記載を避け、個人情報は全て現地側共同研究者の管理とする。得られた検体は日本に持ち帰り、遺伝子解析で得られたデータは全て現地側共同研究者に提供する。

C. 研究結果

ケニアのスラム街、Pumwani村において2005年度中に収集した未治療 HIV 感染者48検体のサブタイプは、A型が35例、B型が2例、C型が7例、D型が4例であった(表1)。そのうち、薬剤耐性関連遺伝子は3例見られ、うち1例はPR領域に見られ、従来のサブタイプB型には報告されていないV82Iであった(サブタイプB型ではV82A/F/T/S)。残り2例はRT領域に見られ、いずれもサブタイプB型に報告されているG190A、V118Iと同じであった(表2)。

2004年度中に収集した検体の解析も2005年度中にすべて終了し、その結果、耐性変異を持った症例の陽性率は、サブタイプB型の genotype を基にした解析では、8%(74例中6例)であったが、non-B型HIVに特徴的と思われる薬剤耐性変異も含めた解析では19%(74例中14例)となった。2002年からの経緯をみると、サブタイプB型の genotype を基にした解析では、2002年:0%(63例中0例)、2003年:3%(65例中2例)、non-B型HIVに特徴的と思われる薬剤耐性変異も含めた解析では、2002年:3%(63例中2例)、2003年:14%(65例中9例)と、過去3年間において陽性率の増加が見られている。

D. 考察

2005年は薬剤耐性変異の陽性率が過去3年間に比べて減少したが、近年、国による積極的な予防キャンペーンやNGOによるVCT(Voluntary Counseling and Testing)プロジェクトの活動が効を奏した可能性もあるが、今後慎重に経緯を見ていく必要がある。

サブタイプB型として報告されている耐性変異のデータのみでは、サブタイプによっては見逃される可能性があり、非サブタイプB型に特徴的な耐性変異のデータの蓄積が急務である。

E. 結論

ケニアにおいて2005年度中に収集した未治療HIV感染者48検体のうち、薬剤耐性関連遺伝子は3例見られ、うち1例はPR領域に見られ、従来のサブタイプB型には報告されていないV82Iであった(サブタイプB型ではV82A/F/T/S)。残り2例はRT領域に見られ、いずれもサブタイプB型に報告されているG190A、V118Iと同じであった。

2004年度中に収集した検体の解析も2005年度中にすべて終了し、2002年からの経緯をみると、過去3年間において陽性率の増加が見られている。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

研究成果の刊行に関する一覧表参照

H. 知的所有権の出願・登録状況

特になし。

サブタイプおよび薬剤耐性遺伝子

表1

サブタイプ(pol領域)

サブタイプ	男	女
A	16人	19人
B	1人	1人
C	2人	5人
D	2人	2人
計	21人	27人

表1: サブタイプはA型が35例、B型が2例、C型が7例、D型が4例であった。

表2: 薬剤耐性関連遺伝子は3例見られた。

1例はプロテアーゼ(PR)領域に見られ、従来のサブタイプB型には報告されていないV82Iであった(サブタイプB型ではV82A/F/T/S)。

2例は逆転写(RT)領域に見られ、いずれもサブタイプB型に報告されているG190A、V118Iと同じであった。

表2 薬剤耐性関連遺伝子

年齢/性別	サブタイプ (Pol)	RT変異	PR変異	塩基配列 (アミノ酸)	サブタイプB における変異	耐性薬剤
35/F	C		V82I	GTC(V) → ATC(I)	V82A/F/T/S	MPIR*
49/M	A	G190A		GGA(G) → GCA(A)	G190A	NVP, EFV**
33/M	C	V118I		GTC(V) → ATT(I)	V118I	AZT, d4T***

* MPIR: 多剤プロテアーゼ阻害薬 ** NNRTI: 非核酸系逆転写酵素阻害薬 *** NRTI: 核酸系逆転写酵素阻害薬
(NVP: ネビラピン、EFV: エファビレンツ) (AZT: ジドブジン、d4T: サニルブジン)