

(5'-tgtcttatgtccagaatgct-3'), were used for the nested-PCR. PCR products of 615 bp were labeled with an ABI Prism dye terminator sequencing kit and were directly sequenced using an ABI Prism 310 genetic analyzer (Applied Biosystems, Tokyo, Japan).

The nucleotide sequences of subtype B HIV-1 from eight patients undergoing HAART were determined and deposited in DDBJ Genbank under accession numbers AB112051 to AB112058. The forward primer GF4 (5'-atggtacatcaggccatcaccta-3') and the reverse primer GR4 (5'-tgctatgtcacttccccttggt-3') for pre-quantitation PCR were designed to have a melting temperature of approximately 50 °C in the highly conserved region.

### 2.1.2. Nested real-time PCR

The pre-quantitation PCR mixture (200 µl total volume) contained 10 mM Tris-HCl, pH 8.3, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 50 mM KCl, 200 nM of each 4dNTP, 500 nM each of GF4 and GR4 primers, 2.5 Units of Taq DNA polymerase (Roche Diagnostics, Tokyo, Japan), and 50 µl of purified total cellular DNA. To perform a precise quantitation, it is essential to use the total volume of DNA extract rather than aliquot (see Section 2.1.4). The thermal cycler (MiniCycler; MJ Japan, Tokyo, Japan) was programmed to perform denaturation at 94 °C for 1 min, followed by 20 cycles of denaturation at 94 °C for 30 s, annealing at 55 °C for 30 s, and extension at 70 °C for 1 min.

Conventional real-time PCR was successively performed using a LC fast start DNA master mix hybridization probe kit (Roche Diagnostics, Tokyo, Japan) according to the manufacturer's instructions. The conditions were as follows: denaturation at 95 °C for 10 min, followed by 45 cycles of denaturation at 95 °C for 10 s and annealing and extension at 60 °C for 30 s. Each PCR mixture (20 µl total volume) contained 2 µl of 10× DNA master mix, 4 mM MgCl<sub>2</sub>, 500 nM each of HIV-1 Gag1 and Gag2 primers, and 400 nM TaqMan probe. Amplification, data acquisition, and analysis were performed using the LightCycler system. The specificities of Gag1, Gag2, and the TaqMan probe (Gag86T) were fully described in our previous report (Wada et al., 2004).

### 2.1.3. Preparation of the standard plasmid

The HIV-1 standard plasmid (pUC-IIIIB) was constructed by inserting HIV-1 IIIIB DNA without LTR into the pUC-118 vector (TaKaRa, Shiga, Japan). The β2M standard plasmid (pGEM-β2M) was constructed by inserting the β2M exon2 whole sequence into the pGEM-T vector (Invitrogen, Tokyo, Japan). The concentration of these standard plasmids was determined by absorbance at 260 nm.

### 2.1.4. DNA extraction and determination of cell number

DNA extraction was performed using the QIAamp DNA blood mini kit (Qiagen, Tokyo, Japan) according to the manufacturer's instructions. DNA was recovered in 50 µl of

diethylpyrocarbonate-treated water. The DNA concentration was determined by absorbance at 260 nm. Cell numbers in the assayed samples were calculated by determining the β2M copy numbers based on the fact that one cell contains two copies of the β2M gene and that there are no pseudogenes (Beillard et al., 2002). In addition, we verified this point by comparing the DNA concentration to the β2M copy numbers assuming that one cell contains 6 pg DNA. Quantitation of β2M was carried out under the same conditions as HIV-1 quantitation and using the forward primer β2M-F2 (5'-cagcaaggactggtcttctatct-3'), the reverse primer β2M-R (5'-accccacttaactatcttgg-3'), and a TaqMan β2M probe (5'-FAM-cactgaaaagatgagatgcctgcccgtg-TAMRA-3'). The primers and TaqMan probe were designed to correspond to exon2 of the β2M gene.

### 2.2. Cell lines

MOLT4 and ACH2 cells were used as negative and positive controls, respectively. ACH2 cells are known to possess one HIV-1 provirus per cell (Folks et al., 1989). ACH2 and MOLT4 cells were cultured in RPMI-1640 medium supplemented with 10% fetal calf serum in a 5% CO<sub>2</sub> incubator at 37 °C.

### 2.3. Patients

Thirty patients receiving HAART were enrolled in this study. HIV-1 DNA was quantified after obtaining informed consent.

#### 2.3.1. Quantitation of plasma HIV-1 RNA

Plasma HIV-1 RNA load was measured by an Amplicor HIV-1 Monitor, version 1.5 (Roche Diagnostics Systems, Tokyo, Japan).

#### 2.3.2. Purification of CD4-positive T lymphocytes

CD4-positive T lymphocytes were purified from whole blood by StemSep column chromatography (Stem Cell technologies, Vancouver, BC, Canada). Collected cells were washed and then resuspended in phosphate-buffered saline (pH 7.4). The CD4-positive T lymphocytes were more than 98% pure as estimated by flow-cytometry, and 1–5 × 10<sup>5</sup> cells were usually used for subsequent DNA purification.

## 3. Results

### 3.1. Determination of the optimum cycle number for pre-quantitation PCR

Pre-quantitation PCR should be performed under conditions where there is a linear relationship between the amount of PCR product and the number of PCR cycles because the

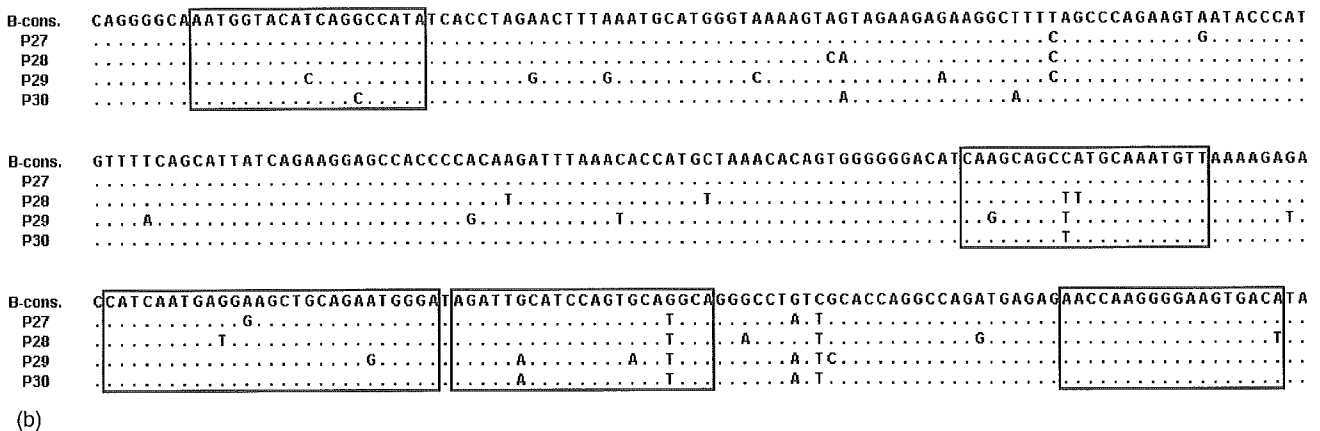
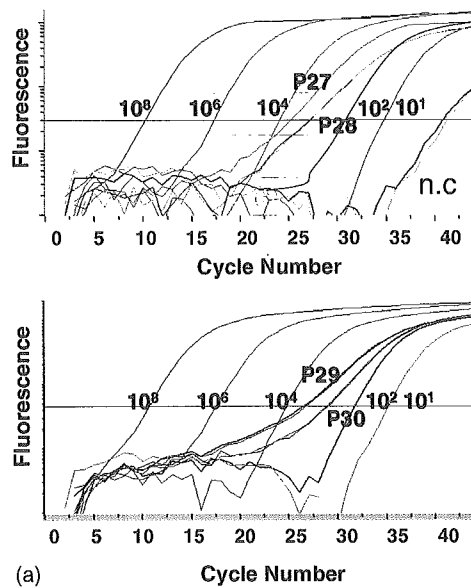


Fig. 3. Analysis of ultra-low levels of HIV-1 DNA in samples P27, P28, P29, and P30. (a) Fluorograms of real-time PCR in these samples. (b) Nucleotide sequences including the region flanking the primer sites used in the pre-quantitation PCR. B-cons, base sequence of HXB2 used as a mother sequence.

amplification rate determined in this step is used to the calculate HIV-1 copy number. We found that the generation of products increased linearly for up to 30 cycles of PCR when 10–10<sup>4</sup> equivalent copies of ACH2 HIV-1 DNA were used. When we used 10<sup>6</sup> copies, the generation of products increased linearly for up to 20 cycles, but, thereafter, there was a decreased rate of PCR product synthesis (data not shown). For this reason, we adopted 20 cycles for the pre-quantitation PCR.

3.1.1. Validation of method 1

To validate our method for low HIV-1 DNA concentrations, we prepared authentic samples by mixing a quantity of ACH2 DNA equivalent to 100, 50, 10, or 5 cells with an amount of MOLT4 DNA equivalent to 10<sup>6</sup> cells (Table 1). Cell numbers were estimated from the β2M copy number and the assumption that two β2M genes correspond to one cell. For samples includ-

ing 100, 50, 10, and 5 copies of HIV-1 DNA, the average inter-assay copy numbers (average ± S.D.) were 98 ± 13 (CV = 13.0%), 44 ± 6 (CV = 12.8%), 9 ± 0.7 (CV = 7.8%), and 4 ± 0.4 (CV = 11.4%), respectively (Table 1). The accuracies (%) of the corresponding experiments were 97.7 ± 12.7, 88.3 ± 11.3, 87.2 ± 6.8, and 72.4 ± 8.3%, respectively. Similar results were obtained comparing the inter-assay variability (Table 1).

3.1.2. Validation of method 2

For samples including 100, 50, 10, or 5 copies of HIV-1 DNA, the average intra-assay copy numbers (average ± S.D.) were 99 ± 5 (CV = 5.3%), 48 ± 3 (CV = 6.6%), 9 ± 1.2 (CV = 12.9%), and 5 ± 0.5 copies (CV = 11.4%), respectively. The accuracies (%) of the corresponding experiments were 98.7 ± 5.2, 95.7 ± 6.3, 92.3 ± 11.9, and 93.9 ± 10.7%, respectively. Method 2 has the benefit that determination of the amplification rate is not necessary.

Table 1  
The validation of the highly sensitive real-time PCR method

	HIV-1 DNA					
	Intra-assay (n = 5)			Inter-assay (n = 15)		
	Average ± S.D.	CV (%)	Accuracy (%)	Average ± S.D.	CV (%)	Accuracy (%)
Method 1 <sup>a</sup> ACH2 (cells/assay)						
100	98 ± 12.7	13.0	97.7 ± 12.7	97 ± 12.9	13.2	97.4 ± 12.9
50	44 ± 5.7	12.8	88.3 ± 11.3	46 ± 6.3	13.7	91.7 ± 12.6
10	9 ± 0.7	7.8	87.2 ± 6.8	9 ± 1.0	11.0	86.6 ± 9.5
5	4 ± 0.4	11.4	72.4 ± 8.3	4 ± 0.7	16.9	80.7 ± 13.6
Method 2 <sup>b</sup> ACH2 (cells/assay)						
100	99 ± 5	5.3	98.7 ± 5.2	96 ± 6.5	6.8	96.3 ± 6.5
50	48 ± 3	6.6	95.7 ± 6.3	47 ± 3.6	7.6	94.8 ± 7.2
10	9 ± 1.2	12.9	92.3 ± 11.9	9 ± 1.3	14.0	90.3 ± 12.6
5	5 ± 0.5	11.4	93.9 ± 10.7	5 ± 0.7	16.0	91.5 ± 14.7

<sup>a</sup> Gene amplification rate during pre-quantitation PCR.

<sup>b</sup> The standard curve between HIV-1 standard plasmid and PCR crossing points was used to calculate the HIV-1 DNA copy numbers as described in Section 2.

Table 2  
Application 1: amounts of HIV-1 DNA in CD4-positive T lymphocytes from patients responding well to HAART

No.	HIV-1 DNA copies/10 <sup>6</sup> CD4		Sex	CD4 (cells/μl)	Months <sup>c</sup>	Months <sup>d</sup>
	Conventional <sup>a</sup>	HS <sup>b</sup>				
1	5960		M	333	43	26
2	3400		M	219	17	7
3	2950		M	280	63	12
4	1510		M	838	17	1
5	1490		M	956	45	6
6	1350		M	1142	21	15
7	1230		M	219	26	23
8	1210		M	280	63	12
9	960		F	283	63	1
10	940		M	602	37	12
11	920		M	383	22	1
12	890		M	1273	48	27
13	830		M	857	26	24
14	770		M	496	27	25
15	750		M	369	10	6
16	640		M	596	39	28
17	630		M	891	47	20
18	560		F	373	43	43
19	<dl <sup>e</sup>	487	M	354	14	7
20	<dl	412	M	171	3	2
21	<dl	224	M	570	51	42
22	<dl	109	M	547	10	3
23	<dl	46	M	847	24	24
24	<dl	28	M	260	51	42
25	<dl	28	F	233	63	1
26	<dl	7	M	505	48	4
27	<dl	4	M	216	7	3
28	<dl	3	M	1260	76	43
29	<dl	3	M	1090	61	27
30	<dl	2	M	398	27	10

<sup>a</sup> Conventional real-time PCR.

<sup>b</sup> Highly sensitive real-time PCR.

<sup>c</sup> Duration after the first examination.

<sup>d</sup> Duration after VL was suppressed below the detection limit.

<sup>e</sup> Less than detection limit (500 copies/10<sup>6</sup> cells).

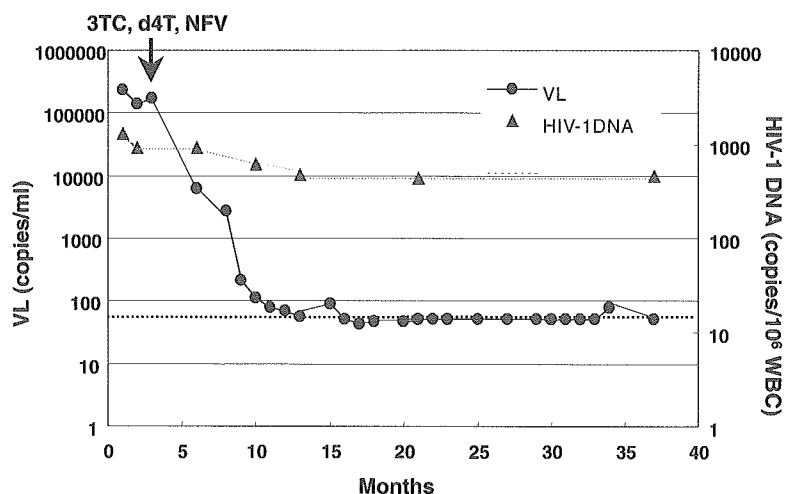


Fig. 4. Changes in the HIV-1 DNA levels in WBC and the plasma viral load after the onset of HAART. Nucleoside reverse transcriptase inhibitors (3TC and d4T) and the protease inhibitor (NFV) were administered for HAART. The red dotted line represents the detection limit (50 copies/ml) of HIV-1 RNA.

### 3.1.3. Application 1: determination of the amount of HIV-1 DNA in CD4-positive T lymphocytes from patients responding well to HAART

Table 2 shows the amounts of HIV-1 DNA in CD4-positive T lymphocytes determined for 30 patients responding well to HAART. Method 1 was used to estimate HIV-1 DNA copy numbers. The amounts of HIV-1 DNA in 18 of 30 patients (60%) could be estimated by conventional real-time PCR, and they varied from 560 to 5960 copies/ $10^6$  cells. Because the HIV-1 DNA copy numbers of the remaining 12 patients were under the detection level of the conventional real-time PCR (<500 copies/ $10^6$  cells), they were subsequently measured using our highly sensitive assay. The HIV-1 DNA copy number from all patients could be quantified, and they ranged from 2 to 487 copies/ $10^6$  cells. We were concerned that the copy numbers found in patients 27, 28, 29, and 30 were artificially low, although the fluorograms obtained from real-time PCR showed good sigmoidal curves (Fig. 3a). To eliminate the possibility that mismatches of primers or TaqMan probe occurred in these cases, the HIV-1 DNA region used for real-time PCR was amplified and sequenced. As shown in Fig. 3b,

there were no significant mutations that would interfere with real-time PCR, suggesting that the results of the real-time PCR were not artificial. Finally, all 30 cases were positive for HIV-1 DNA. The amount of HIV-1 DNA could be quantified in all cases by using highly sensitive real-time PCR, and they ranged from 2 to as many as 5960 copies/ $10^6$  cells with a median of 830 copies/ $10^6$  cells. There was no correlation between HIV-1 DNA levels and CD4-positive T lymphocyte counts, duration after the first examination, or duration after viral load (VL) suppression (Table 2).

### 3.1.4. Application 2: HIV-1 DNA levels in whole blood samples

HIV-1 DNA was quantified using two different volumes of whole blood from five patients receiving HAART. Although HIV-1 DNA could not be quantified by conventional real-time PCR, HIV-1 DNA was successfully quantified in 100  $\mu$ l of whole blood using our highly sensitive method, even in a sample containing less than 10 copies/ $10^6$  white blood cells (WBC) (Table 3). Finally, very similar results were obtained using methods 1 and 2.

Table 3  
Application 2: amounts of HIV-1 DNA in whole blood

Patient	Copies/ $10^6$ WBC <sup>a</sup>		Copies/ $10^6$ WBC <sup>b</sup>			
	Conventional	Highly sensitive		Conventional	Highly sensitive	
		Method 1	Method 2		Method 1	Method 2
1	<dl <sup>c</sup>	8	7	<dl	<dl <sup>d</sup>	<dl
2	<dl	262	280	<dl	241	249
3	<dl	54	57	<dl	42	48
4	<dl	9	12	<dl	<dl	<dl
5	<dl	133	139	<dl	93	107

<sup>a</sup> DNA extracted from 100  $\mu$ l volume of whole blood.

<sup>b</sup> DNA extracted from 50  $\mu$ l volume of whole blood.

<sup>c</sup> Detection limit of conventional real-time PCR was 500 copies/ $10^6$  cells.

<sup>d</sup> Detection limit of highly sensitive real-time PCR was 5 copies/ $10^6$  cells.

### 3.1.5. Application 3: retrospective analysis of HIV-1 DNA levels during HAART

Fig. 4 shows a retrospective analysis of intracellular HIV-1 DNA levels in patient samples collected during 3 years of HAART. Buffy coat samples that had been frozen for more than 3 years at  $-80^{\circ}\text{C}$  were analyzed by highly sensitive real-time PCR using method 1. The VL and amounts of HIV-1 DNA before the start of HAART were 230,000 copies/ml and 1310 copies/ $10^6$  WBC, respectively. WBC numbers in buffy coat cells were estimated using the  $\beta 2\text{M}$  copy number. Eight months after HAART, the viral load decreased below detection levels ( $<50$  copies/ml), and the levels of HIV-1 DNA decreased to 478 copies/ $10^6$  cells. Although the viral load was consistently under the detection level for the next 2 years of HAART, the levels of HIV-1 DNA remained at 450 copies/ $10^6$  cells.

## 4. Discussion

In this study, we developed a new estimation method for quantifying intracellular HIV-1 DNA by introducing a pre-quantitation PCR prior to conventional real-time PCR. We developed two methods to quantify HIV-1 DNA with this technique: method 1 utilizes the rate of  $\beta 2\text{M}$  gene amplification during the pre-quantitation PCR; and method 2 utilizes a calibration curve based on the crossing point of real-time PCR and standard HIV-1 plasmid concentrations as described previously (O'Doherty et al., 2002). Using either method, we could reproducibly and accurately measure as few as two copies of HIV-1 DNA/ $10^6$  cells of HIV-1 DNA. We applied these methods to three trials: (1) quantitation of HIV-1 DNA levels in purified CD4-positive T lymphocytes from patients responding well to HAART; (2) determination of the necessary amount of whole blood needed to quantify HIV-1 DNA; and (3) longitudinal analysis of HIV-1 DNA levels during HAART using frozen buffy coat samples.

In the first of these applications, we measured the level of HIV-1 DNA in the peripheral CD4-positive T lymphocytes of 30 patients responding well to HAART. In all 30 cases, the cells were positive for HIV-1 DNA. There was a wide distribution of HIV-1 DNA copy number, from 2 to 5960 copies/ $10^6$  cells. This distribution was quite similar to previous reports (Andreoni et al., 2000; Chun et al., 1997, 2003; Désiré et al., 2001). In four patients (27, 28, 29, and 30), the level of HIV-1 DNA was quite low. However, based on nested-PCR sequencing and real-time PCR fluorograms, these were clearly not artificially low. In this study, HIV-1 DNA could be quantified in all of the samples using our highly sensitive method, whereas the conventional method could quantify HIV-1 DNA levels in 60% of the samples. Thus, our highly sensitive method using the new estimation technique is an improvement over the conventional method.

In the second application, we determined the amount of whole blood needed to quantify HIV-1 DNA using our highly

sensitive method. We found that 100  $\mu\text{l}$  whole blood is sufficient.

In the third application, we retrospectively examined the change in intracellular HIV-1 DNA levels during 3 years of HAART by using frozen buffy coat samples. The level of HIV-1 DNA before HAART was 1310 copies/ $10^6$  WBC. After 8 months of HAART, when the plasma viral load was suppressed below the detection levels (50 copies/ml), the HIV-1 DNA level was 478 copies/ $10^6$  WBC. During the next 2 years of HAART, the viral load was maintained under the detection level, and the HIV-1 DNA level remained close to 450 copies/ $10^6$  WBC. The decline of HIV-1 DNA in the first phase was 0.45 log. Although this was much less than the decline in plasma viral load, this result was similar to previous reports (Désiré et al., 2001; Ibanez et al., 1999; Izopet et al., 1998; Ngo-Giang-Huong et al., 2001; Perelson et al., 1997; Riva et al., 2001). Finally, we were able to determine the level as copy numbers of HIV-1 DNA/ $10^6$  WBC by simultaneously measuring the  $\beta 2\text{M}$  copy numbers in the measured samples. Taken together, the new estimation method for highly sensitive quantitation of HIV-1 DNA developed here is useful for estimating the HIV-1 reservoirs in peripheral CD4-positive T lymphocytes of patients responding well to HAART.

## Acknowledgements

This study was supported in part by Health Science Research Grants for HIV/AIDS (H15-AIDS-015 to T.K.) and Grants for Collaborative Study of the National Hospital for AIDS Treatment (Pub 12-2 and Pub14-1 to TK). H. Nagai is a research resident of the Japanese Foundation for AIDS Prevention.

## References

- Andreoni, M., Parisi, S.G., Sarmati, L., Nicastrì, E., Ercoli, L., Mancino, G., Sotgiu, G., Mannazzu, M., Trevenzoli, M., Tridente, G., Concia, E., Aceti, A., 2000. Cellular proviral HIV-1 DNA decline and viral isolation in naïve subjects with  $<5000$  copies/ml of HIV-1 RNA and  $<500 \times 10^6/l$  CD4 cells treated with highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 14, 23–29.
- Beillard, E., Pallisgaard, N., van der Velden, V.H., Bi, W., Dee, R., van der Schoot, E., Delabesse, E., Macintyre, E., Gottardi, E., Saglio, G., Watzinger, F., Lion, T., van Dongen, J.J., Hokland, P., Gabert, J., 2002. Evaluation of candidate control genes for diagnosis and residual disease detection in leukemic patients using 'real-time' quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RQ-PCR)—a Europe against cancer program. *Leukemia* 17, 2474–2486.
- Chun, T.W., Stuyver, L., Mizell, S.B., Ehler, L.A., Mican, J.A.M., Baseler, M., Lloyd, A.L., Nowak, M.A., Fauci, A.S., 1997. Presence of an inducible HIV-1 latent reservoir during highly active antiretroviral therapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94, 13193–13197.
- Chun, T.W., Justement, J.S., Lempicki, R.A., Yang, J., Dennis Jr., G., Hallahan, C.W., Sanford, C., Pandya, P., Liu, S., McLaughlin, M., Ehler, L.A., Moir, S., Fauci, A.S., 2003. Gene expression and viral production in latently infected, resting CD4+ T cells in viremic versus

- aviremic HIV-1 infected individuals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100 (4), 1908–1913.
- Damond, F., Descamps, D., Farfara, I., Telles, J.N., Campa, P., Lepretre, A., Metheron, S., Brun-Vezinet, F., Simon, F., 2001. Quantification of proviral load of human immunodeficiency virus type 2 subtype A and B using real-time PCR. *J. Clin. Microbiol.* 39, 4264–4268.
- Désiré, N., Dehee, A., Schneider, V., Jacomet, C., Goujon, C., Girard, P.M., Rozenbaum, W., Nicolas, J.C., 2001. Quantification of human immunodeficiency virus type 1 proviral load by a TaqMan real-time PCR. *J. Clin. Microbiol.* 39, 1303–1310.
- Folks, T.M., Clouse, K.A., Justement, J., Rabson, A., Duh, E., Kehrl, J.H., Fauci, A.S., 1989. Tumor necrosis factor alpha induces expression of human immunodeficiency virus in a chronically infected T-cell clone. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 86, 2365–2368.
- Ibanez, A., Puig, T., Elias, J., Clotet, B., Lidia, R., Martinez, M.A., 1999. Quantification of integrated and total HIV-1 DNA after long-term highly active antiretroviral therapy in HIV-1-infected patients. *AIDS* 13, 1045–1049.
- Izopet, J., Salama, G., Pasquier, C., Sandres, K., Marchou, B., Massip, P., Puel, J., 1998. Decay of HIV-1 DNA in patients receiving suppressive antiretroviral therapy. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.* 19, 478–483.
- Mellors, J.W., Rinaldo Jr., C.R., Gupta, P., White, R.M., Todd, J.A., Kigsley, L.A., 1996. Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. *Science* 272, 1167–1170.
- Ngo-Giang-Huong, N., Deveau, C., Da Silva, I., Pellegrin, I., Venet, A., Harzic, M., Sinet, M., Delfraissy, J-F, Meyer, L., Goujard, C., Rouzioux, C., 2001. Proviral HIV-1 DNA in subjects followed since primary HIV-1 infection who suppress plasma viral load after one year of highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 15, 665–673.
- O'Doherty, U., Swiggard, W.J., Jeyakumar, D., McGain, D., Malim, M.H., 2002. A sensitive, quantitative assay for human immunodeficiency virus type 1 integration. *J. Virol.* 76, 10942–10950.
- Perelson, A.S., Essunger, P., Cao, Y., Vesanen, M., Hurley, A., Saksela, K., Markowitz, M., Ho, D., 1997. Decay characteristics of HIV-1-infected compartments during combination therapy. *Nature* 387, 188–191.
- Rasmussen, R., 2001. Quantification on the LightCycler. In: Meuer, S., Wittwer, C., Nakagawara, K. (Eds.), *Rapid Cycle Real-Time PCR: Methods and Applications*. Springer, Berlin, pp. 21–34.
- Riva, E., Pistello, M., Narciso, P., D'Offizi, G., Isola, P., Galati, V., Turriziani, O., Tozzi, V., Vincenzi, L., Antonelli, G., 2001. Decay of HIV type 1 DNA and development of drug-resistant mutants in patients with primary HIV type 1 infection receiving highly active antiretroviral therapy. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 17, 1599–1604.
- Riva, E., Antonelli, G., Scagnolari, D., Pistello, M., Capobianchi, M.R., Monforte, A., Pezzotti, P., Dianzani, F., 2003. Human immunodeficiency virus (HIV) DNA load and level of immunosuppression in treatment-naïve HIV-1-infected patients. *J. Infect. Dis.* 187, 1826–1828.
- Sharkey, M.E., Teo, I., Greenough, T., Sharova, N., Luzuriaga, K., Sullivan, J.L., Bucy, R.P., Kostrikis, L.G., Haase, A., Veryard, C., Davaro, R.E., Cheeseman, S.H., Daly, J.S., Bova, C., Ellison 3rd, R.T., Mady, B., Lai, K.K., Moyle, G., Nelson, M., Gazzard, B., Shaunak, S., Stevenson, M., 2000. Persistence of episomal HIV-1 infection intermediates in patients on highly active anti-retroviral therapy. *Nat. Med.* 6, 76–81.
- Wada, K., Nagai, H., Hagiwara, T., Ibe, S., Utsumi, M., Kaneda, T., 2004. Delayed HIV-1 infection to CD4+ T lymphocytes was demonstrated by quantifying viral copy numbers in cells from therapy-naïve patients. *Microbiol. Immunol.* 48, 767–772.
- Walker, N.J., 2002. A technique whose time has come. *Science* 296, 557–558.
- Yerly, S., Pernger, T.V., Vora, S., Hirschel, B., Perrin, L., 2000. Decay of cell-associated HIV-1 DNA correlates with residual replication in patients treated during acute HIV-1 infection. *AIDS* 14, 2805–2812.
- Zhao, Y., Yu, M., Miller, J.W., Chen, M., Bremer, E.G., Kabat, W., Yorgev, R., 2002. Quantification of human immunodeficiency virus type 1 proviral DNA by Using TaqMan Technology. *J. Clin. Microbiol.* 40, 675–678.

# HPLCによるプロテアーゼ阻害剤アタザナビルの 血中濃度測定法の開発

高橋昌明\*<sup>1,2</sup>, 吉田昌生<sup>1</sup>, 大木 剛<sup>1</sup>, 奥村直哉<sup>1</sup>, 鈴木達男<sup>1</sup>, 金田次弘<sup>2</sup>

独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター薬剤科<sup>1</sup>, 臨床研究センター<sup>2</sup>

## Determining the Concentration of a New HIV Protease Inhibitor Atazanavir in Plasma Using High-performance Liquid Chromatography

Masaaki Takahashi\*<sup>1,2</sup>, Masao Yoshida<sup>1</sup>, Tsuyoshi Oki<sup>1</sup>,  
Naoya Okumura<sup>1</sup>, Tatsuo Suzuki<sup>1</sup>, Tsuguhiro Kaneda<sup>2</sup>

Department of Pharmacy<sup>1</sup>, Clinical Research Center<sup>2</sup>, National Hospital Organization Nagoya Medical Center

〔受付：2005年2月15日 受理：2005年3月30日〕

高速液体クロマトグラフィー（以下、HPLC）を用いた新しいHIVプロテアーゼ阻害剤アタザナビル（以下、ATV）の簡便な血漿中濃度測定法を開発した。0.1, 0.5, 1.0, 4.0, 10.0 $\mu$ g/mLの各ATV標準スパイク血漿を作製し、HPLCにて測定した。各標準血漿における、日内変動係数（CV%）はそれぞれ10.8, 1.9, 1.1, 0.9, 1.8であり、日間変動係数（CV%）は10.5, 2.3, 1.6, 0.8, 1.4であった。正確性については日内、日間アッセイ合わせて99~104%の範囲内であった。また、0.1~10.0 $\mu$ g/mLの範囲において濃度とピーク面積比との間に相関係数1.00と良好な直線関係が得られた。次にHIV感染患者血漿3検体を用いてHPLCにて測定したが、その結果は液体クロマトグラフ・質量分析計（以下、LC-MS）で測定した結果と非常によく一致した。ATVの測定にはHPLCより感度の高いLC-MSの使用が必須といわれていたが、通常HPLCを用いても再現性および正確性の高い測定系を確立することができた。

**キーワード**—プロテアーゼ阻害剤, アタザナビル, HPLC, 血中濃度

### 緒言

平成9年に独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター（以下、当センター）は東海地区におけるエイズ治療ブロック拠点病院の指定を受け、それ以降多数のHIV感染患者の治療を行っている。HIV感染症の治療は、プロテアーゼ阻害剤（以下、PI）と逆転写酵素阻害剤による多剤併用療法（以下、HAART：highly active antiretroviral therapy）が主流となっているが、これら薬剤のうち、とりわけPIは食事その他併用薬によりその吸収率に大きな影響を受けることが知られている<sup>1-3)</sup>。HIVの増殖を完全に抑制し、耐性獲得を防止するうえでもPIは高い血中濃度を維持することが望ましい。しかしながら、下痢、嘔気・嘔吐、発疹、高脂血症等の副作用も高頻度に発現することから、PIの血中濃度測定を行い、個々の

患者に最適な投与量を決定することが重要である。当センターでは平成10年よりサキナビル、リトナビル、ネルフィナビル、インジナビルの各PIの血中濃度測定を高速液体クロマトグラフィー（以下、HPLC）により日常業務として行っている<sup>4)</sup>。また、平成15年にはロピナビル、リトナビル、エファビレンツの3剤同時測定法<sup>5)</sup>を開発し、現在臨床に応用している。今回、新しいPIであるアタザナビル（以下、ATV）についてHPLCによる簡便な血漿中濃度測定法を開発したので報告する。

### 方法

#### 1. 血漿前処理

0.1, 0.5, 1.0, 4.0, 10.0 $\mu$ g/mLのATV標準スパイク血漿を作製し、これらの血漿0.5mLに内部標準物質（以下、IS）を含む酢酸エチル、n-ヘキサン1対1溶液2

†愛知県名古屋市中区三の丸4-1-1；4-1-1 Sannomaru, Naka-ku, Nagoya-shi, Aichi, 460-0001 Japan

mL, および0.5mol/L炭酸ナトリウム溶液1 mLを加え混和後, 遠心分離し有機層をドライアップした後, 移動相0.1mLに再溶解し25 $\mu$ LをHPLCに注入して測定した。

ISには, (5S, 8S, 10S, 11S)-9-hydroxy-2-cyclopropyl-5-(1-methylethyl)-1-[2-(1-methylethyl)-4-thiazoyl]-3, 6-dioxo-8, 11-bis(phenyl-methyl)-2, 4, 7, 12-tetraazatridecan-13-oic acid, 5-thiazolylmethyl esterを用いた。

## 2. HPLC条件

ポンプ: Waters 515 HPLC Pump

検出器: Waters 2487 Dual  $\lambda$  Absorbance Detector

カラム: Waters Radial-Pak™ Cartridge type 8NVC18 4 $\mu$

流速: 1.8mL/min

カラム温度: 30°C

検出波長: 205nm

移動相: CH<sub>3</sub>CN : CH<sub>3</sub>OH : 0.025mol/L Phosphate Buffer (pH3.0) = (45:10:50 v/v/v)

薬物濃度は内部標準物質に対するピーク面積比から求めた。

## 結果

図1に(a)ATVスパイク標準血漿, (b)コントロール血漿と(c)HIV感染患者血漿のクロマトグラムを示した。ATVは保持時間が約12分, ISは約29分で溶出した。ATVスパイク標準血漿, HIV感染患者血漿を用いた測定で, ATVのピークは一峰性を示した。一方, コントロール血漿の測定ではATVやISの溶出ピークに相当する保持時間の近傍に夾雑するピークは認められなかった。0.1, 0.5, 1.0, 4.0, 10.0 $\mu$ g/mLの各ATVスパイク標準血漿を用いた測定で, 日内変動係数 (CV%) はそれぞれ10.8, 1.9, 1.1, 0.9, 1.8, 日間変動係数 (CV%) はそれぞれ10.5, 2.3, 1.6, 0.8, 1.4であった(表1)。また, 正確性については日内アッセイで100~104%, 日間アッセイで99~102%の範囲内であった。0.1~10.0 $\mu$ g/mLの濃度範囲におけるATVの検量線については相関係数1.00で良好な直線が得られた(図2)。次にHIV感染患者血漿3検体についてHPLCにて測定したところ, 服用直前で0.79 $\mu$ g/mL, 服用後2時間で3.08 $\mu$ g/mL, 5時間で3.13 $\mu$ g/mLの値が得られた。これらの値は液体クロマトグラフ・質量分

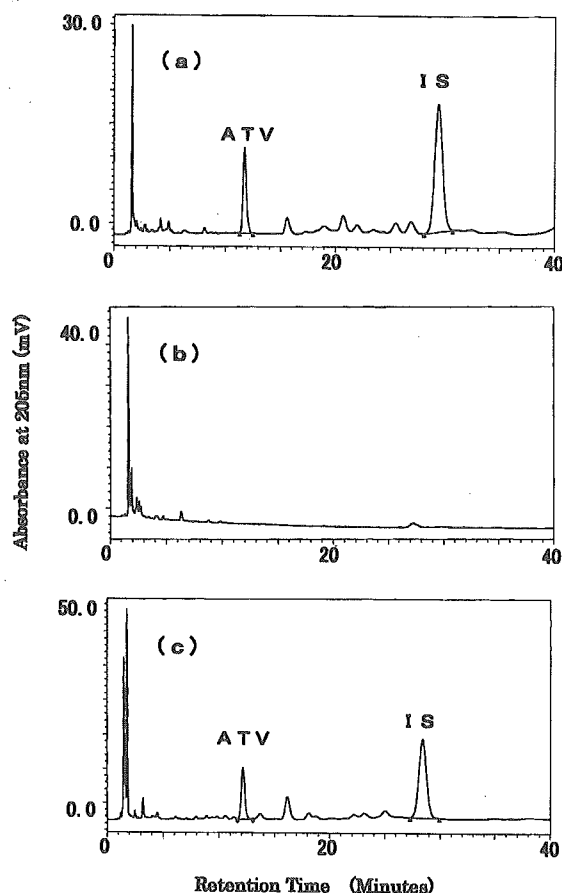


図1 (a)ATV標準スパイク血漿, (b)コントロール血漿, (c) HIV-1感染患者血漿のHPLCクロマトグラム

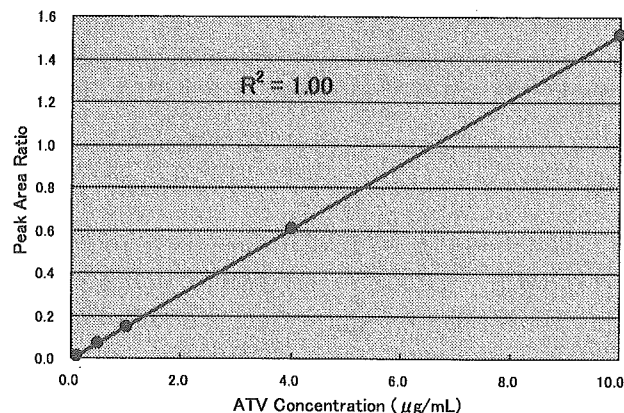


図2 0.1~10.0 $\mu$ g/mLの濃度範囲におけるアタザナビル検量線

表1 アタザナビル測定の日内および日間変動と正確性

アタザナビル Expected ( $\mu$ g/mL)	Intraday assay (n = 5)			Interday assay (n = 15)		
	Measured ( $\mu$ g/mL)	CV (%)	Accuracy (%)	Measured ( $\mu$ g/mL)	CV (%)	Accuracy (%)
0.1	0.10 $\pm$ 0.01	10.8	104.2 $\pm$ 11.3	0.10 $\pm$ 0.01	10.5	99.8 $\pm$ 10.5
0.5	0.50 $\pm$ 0.01	1.9	100.1 $\pm$ 1.9	0.50 $\pm$ 0.01	2.3	100.5 $\pm$ 2.3
1.0	1.03 $\pm$ 0.01	1.1	102.6 $\pm$ 1.1	1.02 $\pm$ 0.02	1.6	101.6 $\pm$ 1.7
4.0	4.02 $\pm$ 0.04	0.9	100.5 $\pm$ 0.9	4.01 $\pm$ 0.03	0.8	100.3 $\pm$ 0.8
10.0	10.03 $\pm$ 0.18	1.8	100.3 $\pm$ 1.8	9.94 $\pm$ 0.14	1.4	99.4 $\pm$ 1.4



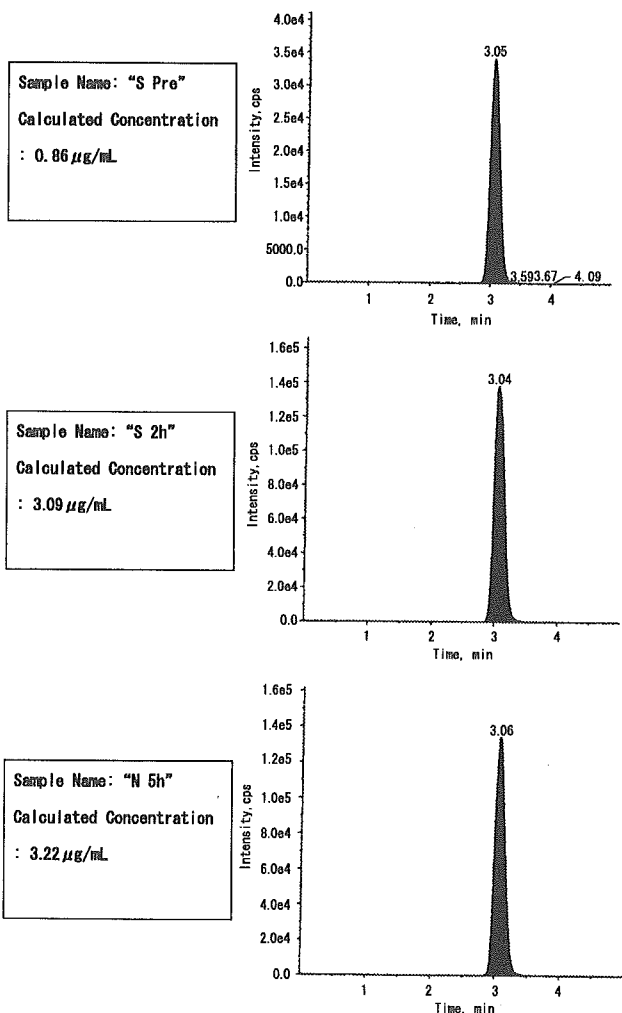


図3 HIV感染患者血漿3検体のLC-MSデータ

析計(以下, LC-MS)にて同一検体を測定した結果と非常によく一致した(図3, 表2)。現在までにATVの血漿中濃度を測定したHIV感染患者のうち, ATV300mg+リトナビル100mgを投与されたブースト症例26例とPIとしてATV400mgを単独投与された症例8例について薬剤服用後の採血時間と血漿中濃度との関係を図4のグラフに示した。服用後3~8時間の測定結果をみると, リトナビルによるATVのブースト効果を定性的ではあるが確認できた。

### 考察

ATVは日本国内において2004年1月6日に市販された最も新しいHIVプロテアーゼ阻害剤であり, 1日1回投与を最大の特徴としている。そのため, 他のPIに比べて高いアドヒアランスが期待され, HIV感染症の治療法であるHAARTの選択枝の1つとして推奨されている<sup>1-3)</sup>。副作用に関しては, 脂質代謝に対する影響が少ないことが海外の臨床試験で示されている<sup>7)</sup>が, PIに特有

表2 HPLCとLC-MSとのデータの比較

検体名	服用時間 (h)	ATV濃度 (µg/mL)	
		LC-MS	HPLC
S Pre	0	0.86	0.79
S 2h	2	3.09	3.08
N 5h	5	3.22	3.13

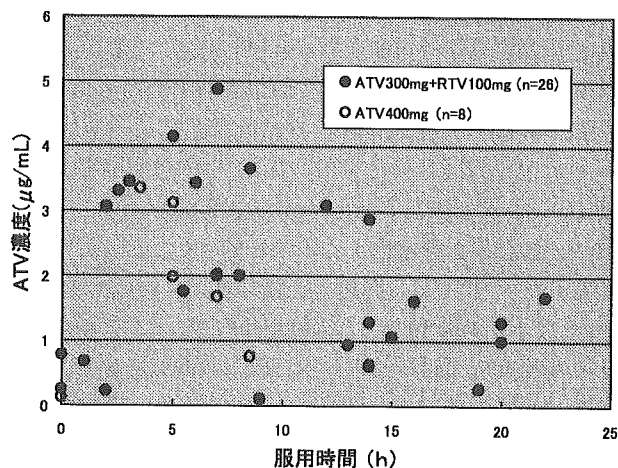


図4 アタザナビル300mg+リトナビル100mg投与患者(●)とアタザナビル400mg投与患者(○)の薬剤服用後の採血時間と血漿中濃度との関係

な肝機能障害, 高血糖等の副作用は報告されている。ATVの血中濃度を測定することは, ウィルスの増殖を効果的に抑制し薬剤耐性獲得を防ぎつつ, これらの副作用の出現を予防する上で重要である。

一般的にPIは水にほとんど溶けないため, 非常に吸収率が悪い。この化学的性質が食事に含まれる脂肪分やその他併用薬などにより吸収率に大きな影響を受け, 患者個々で血中濃度に大きなバラツキが出る1つの要因となっている。この点を改善するためATVは硫酸塩とすることで溶解性を上げるよう工夫されている<sup>6)</sup>。今回ATVのHPLC測定条件を確立するにあたって, ロピナビル, リトナビル, エファビレンツの3剤同時測定法<sup>5)</sup>と同じ移動相CH<sub>3</sub>CN:CH<sub>3</sub>OH:0.02mol/L tetramethyl-ammonium perchlorate in 0.2% trifluoroacetic acid=(45:5:50 v/v/v)を用いて測定したところ, ATVはC18カラムにほとんど保持されなかった。そのため, 移動相のみをメシル酸塩であるネルフィナビル用の移動相CH<sub>3</sub>CN:CH<sub>3</sub>OH:0.025mol/L Phosphate Buffer (pH3.0)=(45:10:50 v/v/v)<sup>4)</sup>に変更した。その結果, ATVとISはC18カラムに保持され, ATVは約12分, ISは約29分で溶出された。また, コントロール血漿測定で示されたようにATV, ISの溶出時間付近に夾雑するピークが検出されなかったことから, 血漿中の種々の物質による測定

系へのかく乱効果はほぼないものと評価し、今回この条件をATVのHPLC測定条件として確定した。

ATVの血中濃度は、外国人HIV感染患者を対象とした薬物動態において平均値でCmaxが $3.15 \pm 2.23 \mu\text{g/mL}$ 、Cminが $0.27 \pm 0.30 \mu\text{g/mL}$ と報告されている。今回、我々の測定では $0.1 \sim 10.0 \mu\text{g/mL}$ の濃度範囲において再現性および正確性がともに高く、また相関係数も1.00と良好な直線が得られていることから、HPLCによるATVの血中濃度測定は十分可能であると思われる。実際、HIV感染患者血漿の3検体において服用直前で $0.79 \mu\text{g/mL}$ 、服用後2時間で $3.08 \mu\text{g/mL}$ 、5時間で $3.13 \mu\text{g/mL}$ の値が得られ、一方同じ検体を用いたLC-MSのデータはそれぞれ $0.86 \mu\text{g/mL}$ 、 $3.09 \mu\text{g/mL}$ 、 $3.22 \mu\text{g/mL}$ であり、HPLCの結果と非常によく一致していた。

ATVについては、外国人の投与結果において1日300mgとリトナビル100mgとの併用投与で、ブースト効果により単剤400mg投与時と比べAUCが238%増加し、トラフレベルも10倍近く上昇すると報告されている<sup>3,8)</sup>。そこで現在までの測定結果のなかで、ATV300mg+リトナビル100mgのブースト症例26例とATV400mgの投与例8例について服用時間と血中濃度との関係を検索した。ATV400mgを投与した場合に比べ、ブースト症例ではピークレベルの血中濃度が高くでる傾向がみられ、ブーストによる効果が確認できた。しかしながら外国人HIV感染患者におけるブースト症例の薬物動態データ<sup>9)</sup>と比較するとピークレベルはほぼ同じであるが、トラフレベルについては日本人症例では $1 \mu\text{g/mL}$ を下回る患者が多くみられた。残念ながら、まだ測定検体数も少なく正確に議論することはできないため、今後さらに測定数を増やしていくとともに患者個々における薬物動態を解析していく必要があると考える。

現在までのところ、ATVについてはその承認の経緯から国内における臨床成績は得られておらず、日本人に関する薬物動学的パラメータ、有効治療濃度域等のデータなどない状態である。今後、血中濃度、ウィルス量、薬剤耐性出現、副作用等をモニタリングしてこれらのデータを総合的に蓄積し、ATVをベースに用いた有効で安全な治療方法を確立していくことが重要な課題であると考えられる。

## 謝 辞

LC-MS測定をしていただいたBristol-Myers Squibb社、第一化学薬品薬物動態研究所および内部標準物質を提供していただいたAbbott社に厚く御礼申し上げます。

## 引用文献

- 1) HIV感染症治療研究会：HIV感染症「治療の手引き」第8版、HIV感染症治療研究会事務局、大阪、2004、pp.10-17.
- 2) S. F. Anthony, G. B. John *et al.* : Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents, Developed by the Panel on Clinical Practices for Treatment of HIV Infection convened by the Department of Health and Human Services (DHHS), 2004, pp. 73.
- 3) G. B. John, E. G. Joel : Medical Management of HIV Infection, 2004 Edition, Johns Hopkins Medicine Health Publishing Business Group, Maryland, 2004, pp. 268-271.
- 4) 高橋昌明, 伊藤洋貴ほか：HIVプロテアーゼ阻害剤の血中濃度測定の意義, 日本病院薬剤師会雑誌, **35**, 943-946 (1999).
- 5) Y. Usami, T. Oki *et al.* : A simple HPLC method for simultaneous determination of lopinavir, ritonavir and efavirenz, *Chem. Pharm. Bull.*, **51**, 715-718 (2003).
- 6) A. Schuster, S. Burzawa *et al.* : Quantitative determination of the HIV protease inhibitor atazanavir (BMS-232632) in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry following automated solid-phase extraction, *J. Chromatogr. B.*, **788**, 377-386 (2003).
- 7) S. Kathleen, L. Adriano *et al.* : Comparison of once-daily atazanavir with efavirenz, each in combination with fixed-dose zidovudine and lamivudine, as initial therapy for patients infected with HIV, *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.*, **36**, 1011-1019 (2004).
- 8) C. Zala, A. Lazzarin *et al.* : Virologic determinants of 24-week efficacy of atazanavir with or without ritonavir in patients with prior failure on a protease inhibitor, 11th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infection, San Francisco, 2004, pp. 8-11.
- 9) T. Anne-Marie, P. Christophe *et al.* : Interactions between Atazanavir-Ritonavir and Tenofovir in heavily pretreated human immunodeficiency virus-infected patients, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **48**, 2091-2096 (2004).

# カレトラ™投与外来HIV感染患者における 脂質異常とロピナビル血中濃度の評価

高橋昌明\*<sup>1,2</sup>, 吉田昌生<sup>1</sup>, 大木 剛<sup>1</sup>, 奥村直哉<sup>1</sup>, 鈴木達男<sup>1</sup>, 金田次弘<sup>2</sup>

独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター薬剤科<sup>1</sup>, 臨床研究センター<sup>2</sup>

## Evaluation of the Lopinavir Plasma Concentrations and Lipid Levels in HIV-1-infected Patients Treated by the KALETRA™-Containing Regimens

Masaaki Takahashi\*<sup>1,2</sup>, Masao Yoshida<sup>1</sup>, Tsuyoshi Oki<sup>1</sup>, Naoya Okumura<sup>1</sup>,  
Tatsuo Suzuki<sup>1</sup>, Tsuguhiro Kaneda<sup>2</sup>

Department of Pharmacy<sup>1</sup>, Clinical Research Center<sup>2</sup>, National Hospital Organization Nagoya Medical Center

(受付: 2005年2月8日 受理: 2005年4月19日)

HIV感染症治療薬であるプロテアーゼ阻害剤カレトラ™は、ロピナビル(以下、LPV)／リトナビルの配合剤で、抗HIV活性が強い反面、食事の影響を受けやすく、副作用として高脂血症を起こしやすい。今回、独立行政法人国立病院機構名古屋医療センターでカレトラ™を投与されているHIV感染患者を対象に、LPVによる血液中の脂質の変化とその血中濃度の評価について検討した。総コレステロール値は投与4～8週後で約1.1倍上昇したが、その後48週までほぼ正常値の範囲内で推移した。一方、トリグリセライド値は投与4～8週後には約1.6倍に上昇し、その後12～32週は1.2～1.4倍へと減少したが、36週で再び1.6倍、48週で1.7倍へと上昇した。また、HIV感染患者20例のLPV平均血中濃度値は $7.91 \pm 3.42 \mu\text{g/mL}$ であった。外来においてLPVの血中濃度を測定することは、アドヒアランスの確認と高脂血症等の副作用予防という観点から有益である。

**キーワード**—HIV, ロピナビル, トリグリセライド, コレステロール, 血中濃度

### 緒言

HIV感染症の治療は、抗HIV薬の開発とそれらの薬剤による多剤併用療法(以下、HAART: highly active antiretroviral therapy)によって大きな進歩を遂げている。実際、早期から強力な治療でウイルスの増殖と免疫担当細胞(CD4陽性リンパ球)の破壊を抑制することにより、AIDS関連日和見感染症発症の頻度は著しく減少し、それに伴いAIDSによる死亡数も激減してきている。その反面、HAARTの長期的実施による副作用や耐性ウイルスの出現が最近問題となってきている。なかでもプロテアーゼ阻害剤(以下、PI)は食事等によって吸収率に影響を受けやすく、また肝機能障害、高脂血症、高血糖等の副作用も高頻度に発現することが知られている<sup>1-4)</sup>。現在、HAARTの推奨PIであるカレトラ™はロピナビル(以下、LPV)／リトナビルの配合剤で、抗HIV活性が強

い反面、食事の影響を受けやすく、副作用として特に高脂血症を起こしやすいとされている。そこで今回、独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター(以下、当センター)でカレトラ™を投与されている外来HIV感染患者を対象に、LPVによる血液中の脂質の変化を追跡調査するとともに、LPV血中濃度の評価について検討したので報告する。

### 対象および方法

2003年9月～2004年12月に当センター外来を受診し、カレトラ™を投与されたHIV-1感染患者のうち、投与開始前後の生化学検査値のある31例を対象に脂質の経時的変化(トリグリセライド、総コレステロール)について調査した。対象となった31例の患者背景を表1に示した。平均年齢は37.1歳、うち男性が24例であった。治療開始時のCD4細胞数は平均 $213.2 \pm 239.7 \text{ cells/mm}^3$ 、HIV

†愛知県名古屋市中区三の丸4-1-1; 4-1-1 Sannomaru, Naka-ku, Nagoya-shi, Aichi, 460-0001 Japan

表1 患者背景 (n=31)

年齢 (年)	37.1±9.8 (23~59)
男性 (%)	77.4 (n=24)
CD4細胞数 (cells/mm <sup>3</sup> )	213.2±239.7 (12~1,078)
HIV RNA (copies/mL plasma)	264,428±494,240 (50以下~2.3×10 <sup>6</sup> )
総コレステロール (mg/dL)	174.3±31.9 (119~249)
>220mg/dLの患者数[n(%)]	2 (6.4)
トリグリセライド (mg/dL)	163.5±79.5 (73~434)
>150mg/dLの患者数[n(%)]	16 (51.6)
抗HIV薬の組み合わせ (HAART)	
+AZT+3TCn [(%)]	10 (32.3)
+AZT+ddin [(%)]	1 (3.2)
+ddi+ABCn [(%)]	2 (6.5)
+ddi+TDF [n(%)]	1 (3.2)
+ABC+TD [Fn(%)]	1 (3.2)
+3TC+d4T [n(%)]	6 (19.4)
+ddi+NVP [n(%)]	1 (3.2)
+3TC+TDF [n(%)]	1 (3.2)
+AZT+TDF [n(%)]	1 (3.2)
+d4T+NVP [n(%)]	1 (3.2)
+d4T+TDF+EFV [n(%)]	1 (3.2)
+AZT+3TC+ddi [n(%)]	1 (3.2)
+AZT+3TC+ABC [n(%)]	1 (3.2)
+3TC+ABC+TDF [n(%)]	1 (3.2)
+AZT+3TC+EFV [n(%)]	1 (3.2)
+なし [n(%)]	1 (3.2)

データは平均値±SD, ( ) は, 範囲, %, 症例数を示す  
 AZT: ジドブジン, 3TC: ラミブジン, ddi: ジダノシン  
 ABC: アバカビル, TDF: テノホビル, d4T: サニルブジン  
 EFV: エファビレンツ, NVP: ネビラピン

RNAは平均264,428±494,240copies/mL plasmaであった。総コレステロール値は平均174.3±31.9 mg/dLで、31例中2例が正常範囲内の220mg/dLを超えていた。また、トリグリセライド値は平均163.5±79.5mg/dLで、31例中16例が正常値の上限である150mg/dLを超えていた。HAARTについては、1例を除く30例が表1に示した2~3種類の逆転写酵素阻害剤をカレトラ™と組み合わせで投与されていた。

次に、この31例のうち患者の同意を得られた22例について、LPVの血中濃度を測定した。なお、LPVの血中濃度測定は宇佐美らの方法<sup>5)</sup>にて行った。

## 結果

血液中の脂質の経時的変化の指標として、対象となる31例について、カレトラ™の投与開始から48週までの総コレステロール、トリグリセライドの値を調査した(図1)。総コレステロール値は投与4~8週後で開始前の値と比べて約1.1倍に上昇したが、48週までほぼ正常値(120~220mg/dL)の範囲内で推移した。一方、トリグリセライド値(正常値35~150mg/dL)は投与4~8週後には開始前の値と比べて約1.6倍にまで上昇し、その後12~32週は1.2~1.4倍へと減少したが、36週で再び1.6倍、48週で1.7倍へと上昇した。次に、血中濃度測定の同意が

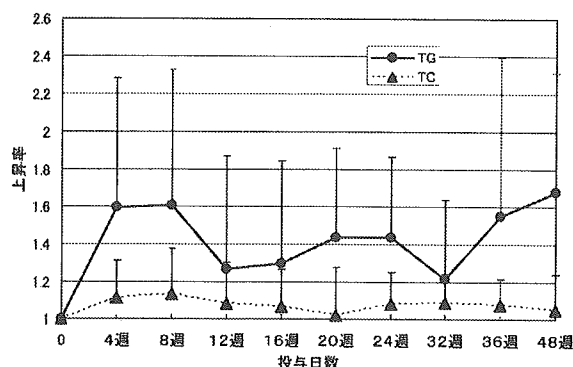


図1 トリグリセライド(TG)と総コレステロール(TC)の経時変化 (n=31)

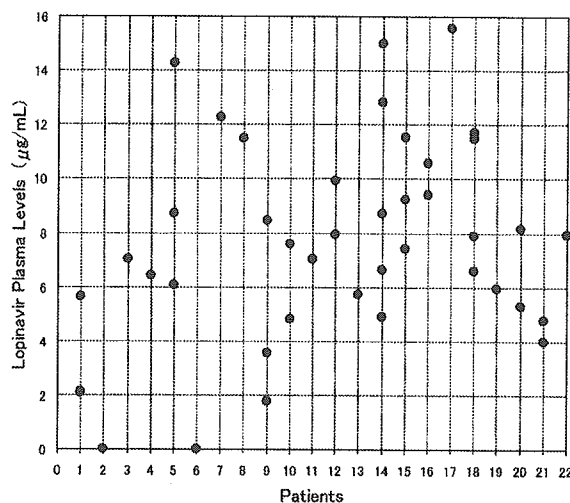


図2 カレトラ™服用HIV感染患者のロピナビル血中濃度測定値 (n=22)

得られた22例の患者のLPVの血中濃度値の分布を図2に示した。横軸は22例個々の患者ナンバー、縦軸はLPVの血中濃度値である。測定値が複数ある患者は、対象期間中に複数回、血中濃度を測定したことを示している。2番と6番の患者の血中濃度値は測定限界以下でほぼ0であった。また、2番と6番を除く20例のLPV平均血中濃度値は7.91±3.42(1.79~15.57)µg/mLであった。

## 考察

現在まで、PIの投与に伴う代謝異常すなわち、リポジストロフィー、高脂血症、高血糖などといった副作用のメカニズムはよくわかっていない。とりわけ、PIによる高脂血症は心血管病のリスクを増大させる可能性があり注意が必要であると言われている<sup>1-3)</sup>。現在HAARTで使用されているPIのなかで、カレトラ™は特に高脂血症を起こしやすいことが知られており、海外の報告<sup>2)</sup>において、投与開始4週で開始前の値と比べて総コレステロールが約1.1倍、トリグリセライドが約1.7倍と特にトリグリセライドの急激な上昇が認められている。今回、当セ

ンターでもほぼ同様の結果が得られ、カレトラ™の投与開始4～8週後で、総コレステロールと比較して特にトリグリセライドの急激な上昇が認められた。これらの値を経時的にみた海外の報告<sup>2-4)</sup>においても、投与開始12週でトリグリセライドが約1.4～1.6倍、48週時点でも1.1～1.3倍上昇するとされており、当センターでの結果とほぼ一致している。従って日本人HIV感染患者に対しても外国人と同様、カレトラ™投与開始時には脂質異常、特にトリグリセライドの上昇に対して定期的な検査を行うなどの注意が必要と考える。しかしながら、調査期間は海外でも48週までとなっており、今後、更なる長期的な脂質レベルの調査が必要である。

現在までのところ、HAARTに起因する高脂血症による冠動脈疾患や動脈硬化の報告はほとんどなく、わずかにDAD Study Group<sup>9)</sup>により、HAARTにより心臓発作やバイパス手術のリスクが26%上昇すると報告されているのみである。HAARTが始まってからまだ10年も経っていないことや対象患者が全般的に若いことから、今後HAARTに起因する高脂血症等の代謝性疾患のコントロールが重要となってくる可能性が高いと考えられる。

現在、外来通院しているHIV感染患者は、当センターを午後を受診し採血を行っている。カレトラ™の服用時期は1日2回、朝・夕食後経口投与となっており、当センターの外来患者の血中濃度の採血ポイントは薬剤服用5～6時間後と推定される。大木ら<sup>7)</sup>の健常日本人ボランティアによるLPVの薬物動態のデータでは、Tmax(h)=5.6±2.0と報告されており、米国でも5.6±1.4とほぼ同様の結果が得られていることから、外来患者の採血時のLPVの血中濃度はピーク値にほぼ近いと考えられる。インタビューフォームによるとカレトラ™を1日2回、3～4週間にわたり投与した場合のHIV感染患者のLPV血中濃度は、Cmax=9.58±4.41μg/mL、Cmin=3.83±3.44μg/mLであり、治療に必要な最低血中濃度は約0.9μg/mL以上と推定されている。そこで図2の22例の患者のLPV血中濃度測定値の分布をみると、2番と6番の患者はLPVの血中濃度がピークレベルながらほぼ0であり、治療に必要な血中濃度が確保されていないことがわかる。このことから、この患者らはLPVを服薬していない、すなわちアドヒアランスが低い可能性が示唆される。このような患者に対しては、外来での服薬指導を徹底することが重要と思われる。2、6番以外の20例のLPV血中濃度値は平均7.91±3.42(1.79～15.57)μg/mLであった。しかしながら、採血ポイントはあくまでもピークレベルであり、トラフレベルにおいて治療に必要な0.9μg/mLを超えているかどうかは不明である。また、

ウィルスの変異を抑制するのに必要なトラフレベルは臨床5.7μg/mL以上とする海外の報告<sup>9)</sup>もあり、ウィルスの耐性獲得を予防するうえでもトラフレベルでの血中濃度の確認が最も重要と考える。しかし、実際に外来患者においてピークとトラフの両方を測定することは現状では難しい。この点の克服が外来においてHIV感染患者の治療や服薬指導に血中濃度を1つの指標とする場合の課題であるといえる。また、LPVは食事等の影響を受けやすくトラフ値のバラツキが大きいたことが知られている<sup>9)</sup>。今回、当センターでの測定においてもピークレベルながら、その血中濃度値は個人間のバラツキが大きく、同一人であっても測定日によって値がかなり異なっていた。また、LPVの血中濃度と高脂血症との間には相関があるという報告<sup>2,9)</sup>もあるが、残念ながら我々のピークレベルでのデータではバラツキが大きく、血中濃度とトリグリセライドや総コレステロール値との間に相関は認められなかった。

現在までのところ、外来での1ポイント採血での血中濃度値だけでは、ピーク値に近いというだけで、高脂血症等の副作用予防とアドヒアランスの確認という指標にしかならない。外来での血中濃度測定値を臨床的に評価するには、治療に有効な最低血中濃度を確保するうえでトラフ値での測定が重要であり、加えてバラツキを補正するため食事等を含めた一定条件下での採血等を考慮していくことが今後の課題と考える。

## 謝 辞

LPVの原末および内部標準物質を提供していただいたAbbott社に厚く御礼申し上げます。

## 引用文献

- 1) HIV感染症治療研究会：HIV感染症「治療の手引き」第8版，HIV感染症治療研究会事務局，2004，pp.10-17.
- 2) F. Gutierrez, S. Padilla *et al.* : Lopinavir plasma concentrations and changes in lipid levels during salvage therapy with lopinavir/ritonavir-containing regimens, *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.*, **33**, 594-600 (2003).
- 3) D.G. DE Requena, F. Blanco *et al.* : Correlation between lopinavir plasma levels and lipid abnormalities in patients taking lopinavir/ritonavir, *AIDS PATIENT CARE and STDs*, **17**, 443-445 (2003).
- 4) E. DeJesus, B. Grinsztejn *et al.* : Efficacy and safety of atazanavir with ritonavir or saquinavir vs lopinavir/ritonavir in patients who have experienced virologic failure on multiple HAART regimens, 11<sup>th</sup> Conference on Retrovirus and Opportunistic Infection, San Francisco, CA February, 2004, pp. 8-11.

- 5) Y. Usami, T. Oki *et al.*: A simple HPLC method for simultaneous determination of lopinavir, ritonavir and efavirenz, *Chem. Pharm. Bull.*, **51**, 715-718 (2003).
- 6) DAD Study Group: Combination antiretroviral therapy and the risk of myocardial infarction, *N. Engl. J. Med.*, **349**, 1993-2003 (2003).
- 7) T. Oki, Y. Usami *et al.*: Pharmacokinetics of lopinavir after administration of Kaletra in healthy Japanese volunteers, *Biol. Pharm. Bull.*, **27**, 261-265 (2004).
- 8) M. Boffito, I. Arnaudo *et al.*: Clinical use of lopinavir /ritonavir in a salvage therapy setting: pharmacokinetics and pharmacodynamics, *AIDS*, **16**, 2081-2083 (2002).
- 9) M. Boffito, D. J. Back *et al.*: Intra-individual variability in lopinavir plasma trough concentrations supports therapeutic drug monitoring, *AIDS*, **17**, 1107-1108 (2003).

## HIV感染者の社会福祉施設利用受け入れに 影響するサービス提供者側の要因について

コニシ カホル  
小西 加保留\*

**目的** HIV感染者が社会福祉施設サービスを利用しようとするときに、サービス提供者側が抱える不安や課題となる要因を明らかにするとともに、どのような要因がサービス提供や受け入れ意向に影響を及ぼしているかを分析することを目的とした。

**方法** 調査対象は、重度身体障害者更生援護施設、身体障害者療護施設、知的障害者更生施設、児童養護施設、精神障害者生活訓練施設の全数(計2,377)で、調査方法は自記式質問紙を用いた郵送法、調査期間は2003年10～11月とした。調査項目は、①基本属性、②環境要因、③HIV感染者の受け入れに関連する83項目、④受け入れ意向にかかわる2項目であり、分析は、単純集計、因子分析、一元配置分散分析、重回帰分析により行った。

**結果** (1)22施設においてHIV感染者の受け入れ経験があった。(2)受け入れに関連する因子として、抗体検査実施義務、性への陽性価値観、他者への対応困難感、感染対応理解困難、医療体制、性への対応困難感、性支援システム、法的責任、感染発生時不安、健康管理、自慰行為容認、コスト保障の12因子が抽出された。(3)各因子のうち、性への陽性価値観、感染対応理解困難、医療体制は、施設間で有意な差がみられなかった。(4)受け入れに際して阻害要因となりうる因子は、他者への対応困難感、感染発生時不安、感染対応理解困難、抗体検査実施義務、コスト保障、健康管理であり、促進要因となりうる因子は、性への陽性価値観、性支援システム、自慰行為容認であった。(5)受け入れ意向に影響を与えている因子は、施設間で差がみられた。

**結論** 今後のHIV感染者の受け入れを促進するには、マイナス要因を解決し、プラス要因を促進するような働きかけが重要である。例えば、「性に関する価値観や支援システム」に関する学習の機会の提供、「感染発生時の不安」に対する的確な知識の提供、「他者への対応困難感」に関する具体的な場面を想定した理解や組織のリーダーシップのあり方の検討、福祉・医療の制度全体にかかわる課題としての「コスト」の問題の考察などである。また、利用者の特性や対応への不安の程度など、施設種別による個別の課題への方策の必要性も示された。

**キーワード** HIV感染者、社会福祉施設、サービス利用、受け入れ意向、阻害要因、促進要因

### I はじめに

日本におけるHIV(ヒト免疫不全ウイルス)感染者・患者数は漸増傾向にあり、年齢層も若年者から高齢者に至るまで幅広く報告されている<sup>1)</sup>。またHIV医療技術の進歩により、感染者の

長期生存が可能となる一方で、薬による副作用や合併症、あるいは加齢などにより様々な障害を伴ったり要介護状態に陥る可能性も生まれることになった。こうした状態にある感染者の中には、入通所にかかわらず社会福祉施設サービスを利用する可能性があることが予測される。その際、入院治療が必要な症状がある場合を除いてHIV感染症であること自体のためにサービス

\* 桃山学院大学社会学部社会福祉学科教授

利用が妨げられることがあってはならないが、現実には様々な課題が生じている。

これまで、知的障害者施設、児童養護施設、身体障害者療護施設などにおいて、通所を含む施設サービスを希望した感染者がHIV抗体陽性の場合には受け入れを拒否するとしたケースや、入所中の障害者が外出後にHIV抗体の証明を求めるといった報告例がある<sup>2)</sup>。また本人は感染していないにもかかわらず、両親がHIV感染者であるということだけで保育所入所を拒否された例も報道されている<sup>3)</sup>。さらに、筆者が2002年度厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業「HIV感染症の医療体制に関する研究」(主任研究者 白坂琢磨)の分担研究を実施した際、要介護状態の感染者が適切に施設サービスを利用できず、複数の病院でいわば社会的入院を繰り返している例や緩和ケア病棟に長期入院している例なども散見されている<sup>4)</sup>。水面下での利用拒否や利用者側のあきらめなどが潜在的に存在する可能性や、現にサービス利用をしている利用者の中にも必要な医療を受けていない抗体陽性者がいる可能性もある。

HIV感染者は、日本では1998年からHIV感染症という疾病による免疫機能「障害者」として認定されているが、HIV感染症に限らず、ハンセン病や精神障害など様々な難病といわれる疾病は一定の「障害」を伴い、偏見やスティグマ(汚名・恥辱)を背負ってきた歴史がある。HIV感染症においても多様な「差別」の現実があったが、記述されたものとしては、血友病患者の薬害被害者としての、医療機関、職場、学校、地域などにおける差別の報告例<sup>5)-7)</sup>などはあるものの、施設サービス利用について直接取り扱った記録や先行文献は見当たらない。

その意味で、本調査は探索的な研究であるが、

HIV感染者の施設サービス利用についてサービス提供者側が抱える不安や課題を明らかにすることにより、施設側に対して適切な対応への方向性を提示するとともに、HIV感染者の円滑な施設サービス利用に貢献することを目的としている。

## II 研究方法

### (1) 調査の対象・方法・内容

平成11年社会福祉施設等名簿(厚生省大臣官房統計情報部編)により、重度身体障害者更生援護施設(以下「身体更生」)、身体障害者療護施設(以下「身体療護」)、知的障害者更生施設(以下「知的更生」)、児童養護施設(以下「児童養護」)、精神障害者生活訓練施設(以下「精神」)の全数(合計2,377)を対象とした。施設選択の理由は、施設数の種別ごとの顕著な差、地域別配置数の格差、調査内容から予想される低回収率、予算枠の観点から、回収率の向上を図るため、上記5種類の全施設とした。調査票は各施設について3部とし、施設長1名、生活・児童指導員(支援員)1名、介護職員、精神保健福祉士、事務長、看護師、入所を決定する立場の者のうち1名、の計3名に記入を依頼した。調査対象数と回収率を表1に示す。調査方法は、質問紙を用いた郵送法で、調査期間は2003年10~11月である。調査項目は、①基本属性、②環境要因、③HIV感染者の受け入れに関連すると思われる83項目、④受け入れ意向にかかわる2つの項目(質問80「利用者にHIV感染の事実があったとしても受け入れを前提として努力したい」と質問81「HIV感染者のサービス利用はできれば受け入れたくない」)であり、③と④の回答は「該当なし」を含む5件法とした。

表1 調査対象数と回収率

	施設数 (回収率(%))	調査票数 (回収率(%))
総数	999/2377 (42.0)	2843/7131 (39.9)
重度身体障害者更生援護施設	31/ 73 (42.5)	89/ 219 (40.6)
身体障害者療護施設	170/ 341 (49.9)	486/1023 (47.5)
知的障害者更生施設	555/1231 (45.1)	1574/3693 (42.6)
児童養護施設	170/ 552 (30.8)	481/1656 (29.0)
精神障害者生活訓練施設	73/ 180 (40.6)	213/ 540 (39.4)

### (2) 分析方法

#### 1) 単純集計

回答施設、回答者性別、職種、施設別受け入れ経験、HIV感染者の受け入れ意向



2) HIV感染者の受け入れに関連する83項目に対する因子分析  
「該当なし」の回答は分析には用いず、「そう

思う」「どちらかというと思う」「どちらかというと思う」「そう思わない」「そう思わない」の回答に対して各々4～1点を与えて得点化を行った。

表2 抽出された12因子の構成

因子1 抗体検査 実施義務	83. サービス申し込み時にHIV抗体検査は義務づけた方がよい 31. サービス利用中の健康管理のための検査項目にHIV抗体を入れるべきである 35. 職員からの感染を防ぐため、職員のHIV検査を行うべきである 85. サービス利用に関して特にHIV感染の問題を取り上げる必要を感じない 41. HIV感染が施設内で成立した場合に備えて、損害保険に加入する必要がある 84. サービス申し込み時にHIV感染の有無について施設側に告知した方がよい
因子2 性への陽 性価値観	53. 性にかかわる生活を楽しむ権利は大切である 56. 高齢者にとっても性は大変重要な課題である 54. 性に関する正しい情報は積極的に知るべきである 57. 個人の性的志向(同性愛等含む)を尊重したい 60. 性の問題について施設内で話せる雰囲気大切である
因子3 他者への 対応困難感	78. HIV感染者の受け入れに関して地域の理解を求めることが困難である 77. HIV感染者の人を受け入れると地域の施設に対するイメージダウンにつながる 79. サービス利用者のHIV感染を知ったときの他の利用者の混乱や不安に対して適切に対応することが難しい 82. サービス利用者であってもHIV感染がわかった場合は、現状では退所もやむを得ない 76. HIV感染について、他の保護者や家族への理解を求めることが困難である
因子4 感染対応 理解困難	11. HIV感染している利用者から感染する可能性にはどのような場合があるか十分に理解している 10. HIV感染症に対する具体的で適切な対応の仕方について分からないことが多い 28. HIVに感染する可能性のある事故が発生した場合、感染の確率を下げるための処置について理解している
因子5 医療体制	13. HIV感染症への対応には医師の常駐が必要である 14. HIV感染症への対応には看護師の常駐が必要である
因子6 性への対 応困難感	63. 利用者の性的欲求への対応に自信がない 66. 人を好きになる気持ちを尊重したいが、トラブルになった場合の対応に困難を感じる 61. 性に関する利用者への対応について、施設職員全体の共通認識に至るのは難しい 69. 性に関することを利用者が理解するのは難しいことが多い
因子7 性支援 システム	73. 性教育にはピアカウンセリング(同世代、同じ障害など同じ立場にある人同士によるカウンセリング)の活用が重要である 74. 障害を持つ人たちの結婚や性、出産に関する事柄をサポートするようなシステムが重要である 72. 避妊教育は重要である
因子8 法的責任	38. 入所者同士で感染が成立した場合、サービス提供者側に法的責任が生じる場合がある 39. 感染しているサービス利用者から職員が感染した場合、施設側は職員に対し責任が問われる場合がある 40. 入所中のサービス利用者が外出中時にHIV感染した場合、施設側に責任が生じる場合がある
因子9 感染発生 時不安	25. HIV感染症の疑いのある利用者の生理時の対応に不安がある 26. HIV感染が疑われる事故が発生した場合の事後対策に不安がある
因子10 健康管理	32. 利用者HIV感染の疑いがあれば、体調が悪くなくてもすぐに医療機関を受診する必要がある 33. HIV感染している利用者がある場合、体調が良くても定期的に受診する必要がある
因子11 自慰行為 容認	70. 施設内での自慰行為は認められるべきである 71. 施設内で自慰行為ができる場所が必要である
因子12 コスト保障	17. 医療的に対応が必要な人を受け入れても特典がないことは疑問である 16. 感染症の対応を福祉施設で行うにはコスト面での保障が重要である

主因子法を用いた因子分析(バリマックス回転, 固有値1以上)を繰り返した結果, 最終的に39項目について因子数を12に確定した上で分析を行った。

3) 一元配置分散分析(ボンフェローニ検定による多重比較, 1%水準)  
施設種別による12因子における差と受け入れ意向の違い

4) 重回帰分析(ステップワイズ法, 1%水準)  
因子分析で抽出された12の因子と受け入れ意向の関連について, 全体については, 独立変数として12因子の因子得点を用い, 従属変数(受け入れ意向)は, 質問80(受け入れ努力)と質問81(受け入れ拒否)とした。施設種別による分析には, 独立変数として12因子の合計得点を用いた。

上記の分析には, 統計解析ソフトSPSS11.0を用いた。

### III 結 果

#### (1) 回答施設および回答者の属性

回答施設のうち56%が知的更生で, 身体療護と児童養護が各17%, 精神は7%, 身体更生は3%であった。回答者は, 性別では男性56

% (1,590名), 女性44% (1,233名) (無回答20名を除く), 職種では, 全体の34%が生活相談員で, 施設長30%, 看護師18%, 事務長7%, その他6%, 介護職員4%などであった。

(2) HIV感染者の受け入れ経験と受け入れ意向  
施設単位では, 22施設 (知的更生11, 身体療護10, 児童養護1) が受け入れ経験ありと回答した。今後のHIV感染者の受け入れについては, 全回答者の64%は「HIV感染者の受け入れに努力したい」(「そう思う」「どちらかというと思う」の合計。以下同じ) としたが, 「でき

れば受け入れたくない」も60%であった。利用者のHIV感染がわかった場合は, 42.3%が「退所もやむを得ない」と回答した。また, 受け入れ経験の有無によって受け入れ意向に差はみられなかった。全回答者の所属施設ごとでは, 「受け入れ努力」「受け入れ拒否」ともに, 身体療護は, 知的更生や児童養護に比べて受け入れの姿勢が高かった。「退所」については, 児童養護が知的更生に比べて有意にやむをえないと回答した。施設長のみ(回答のない場合は生活相談員)の回答により比較すると, 「受け入れ努力」は, 施設別に有意差がなかったが, 「受け入れ拒否」

表3 因子分析結果 (n=1,428)

	因子1	因子2	因子3	因子4	因子5	因子6	因子7	因子8	因子9	因子10	因子11	因子12	
因子1	質問83	0.788	-0.074	0.135	-0.050	-0.002	0.086	-0.015	0.001	0.019	0.049	0.001	0.017
	質問31	0.641	0.037	-0.015	0.021	0.059	0.025	0.048	0.036	0.095	0.080	0.027	0.053
	質問35	0.596	0.035	0.037	0.145	0.116	0.031	-0.005	0.048	0.054	0.053	0.007	0.013
	質問85	-0.442	-0.051	-0.085	-0.009	0.000	0.011	-0.110	-0.016	-0.004	-0.058	-0.022	-0.068
	質問41	0.384	-0.000	0.082	0.060	0.105	0.031	0.092	0.231	0.081	-0.010	0.068	0.137
因子2	質問84	0.366	0.039	0.094	-0.073	-0.054	0.051	0.073	0.017	0.040	0.221	0.014	0.059
	質問53	0.007	0.682	-0.034	-0.006	-0.032	0.034	0.115	0.005	0.009	-0.008	0.048	0.003
	質問56	0.004	0.647	0.021	-0.016	-0.025	-0.019	0.130	0.089	0.024	0.024	0.104	0.071
	質問54	0.049	0.604	-0.002	-0.063	0.001	0.014	0.170	0.025	0.025	0.097	-0.003	0.020
	質問57	-0.002	0.532	-0.090	-0.011	-0.005	0.005	0.127	0.026	-0.067	0.040	0.176	-0.028
因子3	質問60	0.055	0.355	-0.038	-0.014	-0.025	-0.052	0.300	-0.001	0.009	0.098	0.153	-0.015
	質問78	0.069	-0.014	0.763	0.035	0.040	0.168	0.030	-0.021	0.048	0.044	0.008	0.012
	質問77	0.111	-0.073	0.598	0.089	0.054	0.055	-0.074	0.010	0.008	-0.018	-0.027	0.142
	質問79	0.097	0.029	0.549	0.105	0.063	0.261	0.045	0.043	0.186	0.026	-0.065	0.022
	質問82	0.138	-0.143	0.476	0.124	0.095	0.036	-0.117	-0.008	0.164	0.047	-0.103	0.045
因子4	質問76	0.030	0.047	0.415	0.082	0.011	0.293	0.069	0.054	0.026	0.061	0.049	0.030
	質問11	-0.032	0.033	-0.060	-0.736	-0.050	-0.030	0.006	-0.033	-0.033	0.053	0.006	0.026
	質問10	0.043	-0.049	0.127	0.634	0.091	0.055	-0.009	-0.009	0.114	0.045	-0.025	0.030
	質問28	-0.011	0.016	-0.098	-0.565	-0.033	-0.075	0.013	-0.023	-0.095	0.031	0.002	-0.004
	質問13	0.085	-0.047	0.132	0.118	0.891	0.023	-0.016	0.010	0.061	-0.006	-0.051	0.063
因子5	質問14	0.097	-0.034	0.078	0.087	0.761	0.040	0.035	0.049	0.074	0.064	0.008	0.112
	質問63	0.019	0.017	0.054	0.125	0.018	0.652	-0.004	-0.010	0.036	-0.030	0.035	0.021
	質問66	0.064	-0.013	0.152	0.041	0.020	0.567	0.017	0.040	0.072	0.091	-0.009	0.020
	質問61	-0.014	0.058	0.128	0.055	0.015	0.505	-0.001	0.048	0.054	-0.065	-0.031	0.049
	質問69	0.092	-0.090	0.128	-0.096	0.000	0.389	0.014	0.084	0.050	0.140	0.071	0.041
因子6	質問73	0.100	0.194	-0.014	-0.021	0.049	0.062	0.661	0.046	0.021	0.013	0.026	0.037
	質問74	0.060	0.269	-0.050	0.015	-0.011	0.006	0.601	0.079	0.041	0.066	0.144	0.023
	質問72	0.106	0.246	0.027	-0.019	-0.009	-0.009	0.523	0.063	-0.012	0.053	0.117	0.021
	質問38	0.049	0.059	-0.005	0.015	-0.030	0.033	0.039	0.705	0.001	0.072	0.007	0.038
	質問39	0.083	0.144	0.067	0.055	0.008	0.052	0.067	0.524	0.053	-0.003	0.005	0.100
因子7	質問40	0.032	-0.051	-0.021	-0.021	0.055	0.055	0.028	0.484	0.023	0.020	0.126	-0.052
	質問25	0.181	-0.043	0.181	0.168	0.100	0.145	0.026	0.063	0.703	0.068	0.052	0.082
	質問26	0.131	0.052	0.215	0.232	0.071	0.186	0.037	0.070	0.604	0.091	-0.016	0.110
	質問32	0.185	0.078	0.052	0.020	0.010	0.007	0.039	0.025	0.060	0.641	-0.010	0.063
	質問33	0.115	0.089	0.027	-0.043	0.050	0.071	0.070	0.055	0.034	0.586	0.018	0.053
因子8	質問70	0.036	0.252	-0.059	-0.034	-0.039	0.022	0.086	0.071	0.022	0.003	0.594	0.018
	質問71	0.070	0.170	-0.032	0.001	0.004	0.041	0.223	0.124	0.005	0.007	0.578	0.014
	質問17	0.150	-0.020	0.099	-0.053	0.035	0.087	-0.020	0.028	0.048	0.014	-0.009	0.670
	質問16	0.102	0.077	0.087	0.062	0.129	0.045	0.087	0.057	0.081	0.132	0.035	0.511
	因子寄与	2.120	2.031	1.918	1.491	1.481	1.452	1.374	1.143	1.013	0.935	0.845	0.836
因子寄与率(%)	5.436	5.208	4.918	3.823	3.797	3.722	3.522	2.931	2.598	2.396	2.167	2.144	
累積寄与率(%)	5.436	10.644	15.563	19.386	23.183	26.905	30.428	33.359	35.957	38.353	40.520	42.664	

注 罫線で囲んだ部分は, 質問項目が相互に関連し合っている潜在的な要因のかたまりを示す。

表4 12因子の施設種別による差

		身体更生 (+)	身体療護 (+)	知的更生 (+)	児童養護 (+)	精神 (+)
因子1 抗体検査 実施義務	精神(-)		*	*	*	
因子3 他者への 対応困難感	身体更生(-) 身体療護(-) 知的更生(-) 精神(-)		*		*	*
因子6 性への対 応困難感	身体療護(-) 児童養護(-) 精神(-)	*	*	*		
因子7 性支援シ ステム	身体療護(-) 知的更生(-)				*	*
因子8 法的責任	身体療護(-) 精神(-)			*	*	
因子9 感染発生 時不安	身体療護(-)			*	*	
因子10 健康管理	身体療護(-)			*	*	
因子11 自慰行為 容認	身体療護(-) 児童養護(-) 精神(-)			*	*	*
因子12 コスト保 障	精神(-)	*		*	*	

注 1) \*p<0.01  
2) \*がついたセルで交差する2つの施設種別間で、(+ )のつ  
いた施設の方が(-)のついた施設よりも有意に高い数値であるこ  
とを示す。

については、知的更生と児童養護は、身体療護  
に比べて有意に受け入れたくないと回答してい  
た。

(3) HIV感染者の受け入れに影響を与える要因  
に関する因子分析

分析方法で示した因子分析の結果、表2に示  
す12因子が抽出された。累積寄与率は42.664%、  
各因子の因子負荷は表3のとおりで、クローン  
バツハα係数は0.8404から0.4646の間であった。

(4) 施設種別による12因子の差

施設種別による12因子の差について検定し、  
有意差のあった結果を表4に示す。「性への陽性  
価値観」「感染対応理解困難」「医療体制」の3  
因子については、施設間に有意差がみられな  
かった。差がみられたものでは、おおむね「他者  
への対応困難感」「性支援システム」は児童養護

表5 受け入れ努力の重回帰分析結果

モデル	平方和	自由度	平均平方	F値	有意確率
回帰	248.298	8	31.037	60.73	0.000
残差	716.419	1402	0.511		
全体	964.717	1410			

モデル	非標準化係数		標準化係数	t	有意確率
	B	標準誤差	ベータ		
(定数)	2.706	0.014		189.637	0.000
他者対応	-0.358	0.023	-0.358	-15.474	0.000
性価値観	0.180	0.024	0.177	7.523	0.000
感染不安	-0.145	0.025	-0.136	-5.855	0.000
性支援	0.146	0.026	0.133	5.627	0.000
感染対応	-0.129	0.024	-0.125	-5.379	0.000
検査実施	-0.085	0.023	-0.087	-3.768	0.000
自慰容認	0.095	0.030	0.073	3.129	0.002
コスト	-0.069	0.026	-0.061	-2.654	0.008

表6 受け入れ拒否の重回帰分析結果

モデル	平方和	自由度	平均平方	F値	有意確率
回帰	284.268	7	40.610	62.50	0.000
残差	917.406	1412	0.650		
全体	1201.674	1419			

モデル	非標準化係数		標準化係数	t	有意確率
	B	標準誤差	ベータ		
(定数)	2.703	0.016		168.558	0.000
他者対応	0.416	0.026	0.373	15.987	0.000
感染不安	0.223	0.028	0.190	8.105	0.000
性支援	-0.162	0.029	-0.133	-5.623	0.000
検査実施	0.106	0.025	0.097	4.157	0.000
性価値観	-0.090	0.027	-0.079	-3.351	0.001
コスト	0.083	0.029	0.067	2.847	0.004
健康管理	0.078	0.028	0.065	2.759	0.006

が高く、「性への対応困難感」「法的責任」「自慰  
行為容認」は知的更生が高く、「感染発生時不安」  
「健康管理」は児童養護と知的更生がともに高  
かった。「抗体検査実施義務」「コスト保障」は  
精神で低かった。

(5) 抽出された12因子と受け入れ意向の関連

受け入れ努力には、8個の因子が、他者への  
対応困難感(-)、性への陽性価値観(+)、感染発生  
時不安(-)、性支援システム(+)、感染対応理解(-)、  
抗体検査実施義務(-)、自慰行為容認(+)、コスト  
保障(-)の順に影響を与えていることが示された  
(説明率25.7%) (表5)。受け入れ拒否には、  
7個の因子が、他者への対応困難感(+)、感染発

生時不安(+), 性支援システム(-), 抗体検査実施義務(+), 性への陽性価値観(-), コスト保障(+), 健康管理(+))の順に影響を与えていることが示された(説明率23.7%) (表6)。

施設種別では, 有意差のみられた項目について整理すると表7, 表8のようになる。

#### IV 考 察

##### (1) HIV感染者の受け入れの実態

22施設がHIV感染者の受け入れを経験していたことは, 予想を上回る結果であった。受け入れ意向については, 受け入れに努力したい気持ちと拒否感が同居しており, 思いと実際, 本音と現実が相いれないことを示している可能性がある。また, 受け入れ経験の有無によって受け入れ意向に差がなかったことは, 単に経験があるだけでは困難な問題や未解決な課題があることを示しているといえる。

##### (2) 受け入れへのマイナス要因の解決とプラス要因の促進

12の因子と受け入れ意向の関連については, 受け入れ努力と受け入れ拒否に影響している因子を整理し, 受け入れ阻害因子と受け入れ促進因子に分けると表9のようになる。

阻害因子を軽減し, 促進因子を高めるための方策についての検討が必要である。すべての施設でほぼ共通して「他者への対応困難感」が最も大きく(-)に影響し, 「性への陽性価値観」が(+に)影響していた。前者については, 具体的な対応場面を想定した理解を深めるための場が求められるが, それだけにとどまらず, サービス提供者側の個人的また組織側の種々な要因を含めて, 組織のリーダーシップのあり方や地域への働きかけの方法などにおいて, 「施設コンフリク

表7 受け入れ努力に影響している因子

施設種別	説明率 (%)	影響を与えている因子
身体療護	23.8	他者への対応困難感(-)>性への陽性価値観(+)>性への対応困難感(+)>感染発生時不安(-)
知的更生	25.3	他者への対応困難感(-)>性への陽性価値観(+)>感染対応理解困難(-)>性支援システム(+)>感染発生時不安(-)>性への対応困難感(+)
児童養護	27.1	他者への対応困難感(-)>性への陽性価値観(+)>性への対応困難感(+)
精神	36.5	他者への対応困難感(-)>性への陽性価値観(+)

表8 受け入れ拒否に影響している因子

施設種別	説明率 (%)	影響を与えている因子
身体更生	13.5	他者への対応困難感(+)
身体療護	24.8	他者への対応困難感(+)
知的更生	22.4	他者への対応困難感(+)>感染発生時不安(+)>性支援システム(-)
児童養護	25.8	他者への対応困難感(+)
精神	27.8	他者への対応困難感(+)>性への対応困難感(+)>抗体検査実施義務(+)

表9 受け入れ阻害因子・促進因子

＜受け入れ阻害因子＞	＜受け入れ促進因子＞
他者への対応困難感 感染発生時の不安 感染対応の理解困難 抗体検査実施義務 コスト保障 健康管理	性への陽性価値観 性支援システム認識 自慰行為容認

ト」<sup>2)</sup>の考え方を活用するなどの方策が求められるであろう。後者については, 価値観という, サービス提供者が自らに向き合う形での取り組みの重要性が示され, 単に知識や情報提供にとどまらない, 各人の参加度の高い学習の機会が必要となると考えられる。一方で, 感染発生時の不安や事後対応への理解に関する課題も大きく, 現場に即した的確な知識・情報の提供が優先課題と考えられる。コストの問題は福祉・医療制度, システム全体にかかわる課題である。抗体検査の実施や健康管理については, 意思決定への支援やプライバシー, ユニバーサルソリューション (患者があらゆる病原体を持っていても対応できる標準的感染症対策), コストなど複数の要因を統合して考察する必要があるといえる。