

分担研究者 山本政弘 (国立病院機構九州医療センター 感染症対策室 医長)

研究協力者 南 留美、堀田飛香 (国立病院機構九州医療センター)

研究要旨

HAART により HIV-1 の抑制が可能になったが、一方で不十分な服薬により薬剤耐性ウイルスを持つ患者が増加し新規感染者のなかにも耐性ウイルスを持つ症例が認められるようになった。九州地区の新規感染患者における薬剤耐性変異の頻度を評価するため当院での新規感染患者の薬剤耐性変異の評価を 2003 年以降、行っている。今年度は急性感染者が多く認められたため、耐性変異について、慢性感染者との比較を行った。慢性感染者ではプロテアーゼ領域の変異(副次変異)は多岐に及んだが、急性感染者では比較的、限られた部位に変異が認められた。

A. 研究目的

九州地区における急性 HIV-1 感染者および未治療慢性 HIV-1 感染者における薬剤耐性変異の頻度を調査し、薬剤耐性 HIV-1 伝播の疫学的動向を明らかにする。同時にウイルスサブタイプの解析を行い九州におけるサブタイプの頻度について考察する。また、今年度は急性感染者が多く認められたため、耐性変異について、慢性感染者との比較を行う。

B. 研究方法

2006 年に当院免疫感染症科を受診した未治療慢性 HIV-1 感染患者および急性 HIV-1 感染患者を対象に、informed consent のもとに採血を行い、血清中 HIV-1 のプロテアーゼ(PR)領域、逆転写(RT)領域の薬剤耐性遺伝子解析を行った。薬剤耐性変異の評価は IAS-USA (Fall 2006) および Shafer's criteria を参考にした。同時に EnvC2V3 領域、Gag p17 領域、Pol protease、RT 領域の遺伝子解析を行い、サブタイピングも施行した。なお、この研究は、当院倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

2006 年における新規未治療患者数は 26 名であった。同時期の九州ブロック内(沖縄は除く)での新規感染者数(エイズ発生動向委員会報告による)の約 6 割強に相当した。今年度は急性感染者が 8 名(31%)と増加した。耐性変異の頻度は、RT 領域では慢性感染者 4 例(22.2%)、急性感染者 0%であった。PR 領域では副次変異も含めると慢性感染者 17 例(94.4%)、急性感染者 6 例(75%)であった。今年度の耐性変異の内訳は RT 領域では T69A が 1 例、K101R が 1 例、revertant である T215S が 2 例であった。PR 領域に関しては慢性感染では、多岐にわたる変異が認められたが、急性感染では L63、V77、L93 の部位に変異が多くみられた。今年度は major 変異は認められなかった。サブタイプは解析した 26 例のうち B が 23 名、AE が 2 名、AG が 1 名だった。EnvC2V3 領域、Gag p17 領域において 2003 年以降、当院を受診した新規感染者の系統樹解析を行ったが、急性感染者が、cluster を形成することはなかった。

D. 考察

急性感染者における薬剤耐性変異は、現時点で

蔓延している薬剤耐性ウイルスをある程度反映していると考えられる。症例数が少ないため正確な評価は出来ないが、今年度の急性感染者における耐性変異は、L63, V77, L93 に多く認められた。これらの変異はATV/rに関与する耐性変異であり、急性感染者における耐性変異は治療方法の変遷も反映していると考えられる。今後、慢性感染者においてこの部位の変異が増加していくかの評価を行い、急性感染者における耐性変異が、今後の慢性感染者における耐性変異を予測する指標となり得るかを検討していく予定である。また、海外では、急性感染者における耐性変異の頻度は比較的低いと報告されているが、頻度の経時的変化は、地域によって様々である。九州地区においても急性感染者の耐性変異の頻度を今後、継続的に検討していく予定である。

正確な評価のためにも出来るだけ多くの施設の多くの症例での解析が必要と考え、協力を依頼する手紙をブロック内の拠点病院に郵送したが、2006年4月から薬剤耐性検査が保険収載となったため、他施設での症例を当院で検査することが困難になった。しかし今年度は、福岡県内での新規HIV-1感染者が多かったこと、保健所でのHIV-1陽性例が比較的多く当院へ紹介される症例が多かったことなどより捕捉率が比較的高かった。他施設での新規感染者の耐性検査については、今後の検討課題である。

E. 結論

本年度は有意な耐性変異をもつ新規感染患者が認められなかった。PR領域に関しては慢性感染では、多岐にわたる変異が認められたが、急性感染ではL63, V77, L93の部位に変異が多くみられた。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Rumi Minami, Masahiro Yamamoto. Elevated serum levels of RCAS1 are associated with Poor recovery of CD4+T cell count after ART in HIV-1-infected patients. *Journal of AIDS Research* 8:25-27, 2006
- 2) Rumi Minami, Masahiro Yamamoto, Soichiro Takahama, Tomoya Miyamura, Hideyuki Watanabe, Eiichi Suematsu. RCAS1 induced by HIV-Tat is involved in the apoptosis of HIV-1 infected and uninfected CD4+ T cells. *Cellular Immunology* (in press)
- 3) 南 留美、山本 政弘 高熱、リンパ節腫脹を繰り返したのち発症した HIV-1 陽性 HHV-8 関連 Castleman 病の 1 例 *感染症学雑誌* 80(4): 423-427, 2006

2. 学会発表

- 1) HIV-Tat protein increased the expression of apoptosis-associated protein RCAS1 in CD4+ cells and monocytes. Rumi Minami, Masahiro Yamamoto. XVI International AIDS Conference in Toronto, Canada, 13-18 August 2006. (誌上発表)
- 2) HIV-1 感染症における HHV-8 DNA 測定の臨床的意義の検討 南 留美、高濱 宗一郎、山本政弘 第 20 回日本エイズ学会総会 2006 年 11 月 30 日-12 月 2 日 東京

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

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tomoko Chiba・Mizutani, Hideka Miura, Masakazu Matsuda, Zene Matsuda, Yoshiyuki Yokomaku, Kosuke Miyauchi, Masako Nishizawa, Naoki Yamamoto, Wataru Sugiura.	New T-Cell-Based Lines with Two Luciferases for Accurately Evaluating Susceptibility to HIV-1 Drugs.	J Clinical Microbiology.	45(2)	477-487	2007
Hiroyuki Gatanaga, Shiro Ibe, Masakazu Matsuda, Shigeru Yoshida, Tsukasa Asagi, Makiko Kondo, Kenji Sadamasu, Hiroki Tsukada, Aki Masakane, Haruyo Mori, Noboru Takata, Itsuhiro Nakagiri, Rumi Minami, Masao Tateyama, Takao Koike, Toshihiro Itoh, Mitsunobu Imai, Fumitake Gejyo, Mikio Ueda, Motohiro Hamaguchi, Yoko Kojima, Takuma Shirasaka, Akiro Kimura, Masahiro Yamamoto, Jiro Fujita, Shinichi Oka and Wataru Sugiura.	Nationwide Survey of Drug-Resistant HIV-1 Prevalence in Patients Newly Diagnosed with HIV/AIDS in Japan.	Antiviral Research.			In press.
Afework Kassu, Masayuki Fujino, Masakazu Matsuda, Masako Nishizawa, Fusao Ota, Wataru Sugiura..	Molecular Epidemiology of HIV-1 in Treatment Naive Patients in North Ethiopia.	AIDS Research and Human Retroviruses.			In press.
Kosuke Miyauchi, Jun Komano, Lay Myint, Yuko Futahashi, Emiko Urano, Zene Matsuda, Tomoko Chiba, Hideka Miura, Wataru Sugiura and Naoki Yamamoto.	Rapid propagation of low-fitness drug-resistant mutants of human immunodeficiency virus type 1 by a streptococcal metaboite sparsomycin.	Antiviral Chemistry & Chemotherapy.	17	167-174	2006
T Ueda, M Itaya, K Tusge, K Fujita, M Matsuda, M Nishizawa, W Sugiura.	Reconstruction of HIV-1 full genome clones with Bacillus subtilis.	Antiviral Therapy.	11	S192	2006
Hiroataka Ode, Saburo Neya, Masayuki Hata, Wataru Sugiura, Tyuji Hoshino.	Computational Simulations of HIV-1 Proteases Multi-drug Resistance Due to Nonactive Site Mutation L90M.	J. AM. Chem. Soc.	128	7887-7895	2006

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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, Francoise 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.	<i>Discordances between Interpretation Algorithms for Genotypic of Human Immunodeficiency Virus Are Subtype Dependent.</i>	<i>Antimicrobial Agents and Chemotherapy.</i>	50(2)	694-701	2006
Deforche K, Camacho R, Grossman Z, Silander T, Soares MA, Moreau Y, Shafer RW, Van Laethem K, Carvalho AP, Wynhoven B, Cane P, Snoeck J, Clarke J, Sirivichayakul S, Ariyoshi K, Holguin A, Rudich H, Rodrigues R, Bouzas MB, Cahn P, Brigido LF, Soriano V, Sugiura W, Phanuphak P, Morris L, Weber J, Pillay D, Tanuri A, Harrigan PR, Shapiro JM, Katzenstein DA,	<i>Bayesian network analysis of resistance pathways against protease inhibitors.</i>	<i>Infect Genet Evol.</i>	Nov 24		2006
Ichiro Koga, Takashi Odawara, Masakazu Matsuda, Wataru Sugiura, Mieko Goto, Tetsuya Nakamura, Aikichi Iwamoto.	<i>Analysis of HIV-1 sequences before and after co-infecting syphilis.</i>	<i>Microbes and Infection.</i>	8	2872-2879	2006
Mako Omura, Koji Furuya, Shinichi Kudo, Wataru Sugiura, Hiroshi Azuma.	<i>Detecting Immunoglobulin M Antibodies against Microsporidian Encephalitozoon cuniculi Polar Tubes in Sera from Healthy and Human Immunodeficiency Virus - Infected Persons in Japan.</i>	<i>Clinical and Vaccine Immunology.</i>	14(2)	168-172	2007
西澤雅子, 柴田潤子, 杉浦 互	ウイルス感染制御における ncRNA の役割.	実験医学.	24(6)	805-809	2006

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
S. Fujisaki, S. Fujisaki, S. Ibe, T. Asagi, T. Ito, S. Yoshida, T. Koike, M. Oie, M. Kondo, K. Sadamasu, M. Nagashima, H. Gatanaga, M. Matsuda, M. Ueda, A. Masakane, M. Hata, Y. Mizogami, H. Mori, R. Minami, K. Okada, K. Watanabe, T. Shirasaka, S. Oka, W. Sugiura and T. Kaneda.	Performance and Quality Assurance of Genotypic Drug-Resistance Testing for Human Immunodeficiency Virus Type 1 in Japan.	Japanese Journal of Infectious Diseases.			In press.
S. Ibe, S. Fujisaki, S. Fujisaki, T. Morishita and T. Kaneda.	Quantitative SNP-Detection Method for Estimating HIV-1 Replicative Fitness: Application to Protease Inhibitor-Resistant Viruses.	Microbiology and Immunology.	50(10)	765-772	2006
Kato, S., Hanabusa, H., Kaneko, S., Takakuwa, K., Suzuki, M., Kuji, N., Jinno, M., Tanaka, R., Kojima, K., Iwashita, M., Yoshimura, Y., and Tanaka, K.	Complete removal of HIV-1 RNA and proviral DNA from semen by the swim-up method: Assisted reproduction technique using spermatozoa free from HIV-1.	AIDS.	20(7)	967-973	2006
Hamatake, M., Nishizawa, M., Yamamoto, N., Kato, S., and Sugiura, W.	A simple competitive RT-PCR assay for quantitation of HIV-1 subtype B and non-B RNA in plasma.	J. Virol. Methods.			In press.
Matsuoka Aizawa S, Gatanaga H, Sato H, Koike K, Kimura S, Oka S.	Cooperative contribution of gag substitutions to nelfinavir-dependent enhancement of precursor cleavage and replication of human immunodeficiency virus type-1.	Antiviral Research.	70 (2)	51-59	2006
Gatanaga H, Tachikawa N, Kikuchi Y, Teruya K, Genka I, Honda M, Tanuma J, Yazaki H, Ueda A, Kimura S, Oka S.	Urinary beta2-microglobulin as a possible sensitive marker for renal injury caused by tenofovir disoproxil fumarate.	AIDS Research and Human Retroviruses.	22 (8)	744-788	2006
Ghosh AK, Sridhar PR, Leshchenko S, Hussain AK, Li J, Kovalevsky AY, Walters DE, Wedekind JE, Grum-Tokars V, Das D, Koh Y, Maeda K, Gatanaga H, Weber IT, Mitsuya H.	Structure-based design of novel HIV-1 protease inhibitors to combat drug resistance.	Journal of Medical Chemistry.	49(17)	5252-5261	2006
Abe Y, Matsubara D, Gatanaga H, Oka S, Kimura S, Sasao Y, Sautoh K, Fujii T, Sato Y, Sata T, Katano H.	Distinct expression of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-encoded proteins in Kaposi's sarcoma and multicentric Castlemans disease.	Pathology International.	56(10)	617-624	2006
Gatanaga H, Yazaki H, Tanuma J, Honda M, Genka I, Teruya K, Tachikawa N, Kikuchi Y, Oka S.	HLA-Cw8 primarily associated with hypersensitivities to nevirapine.	AIDS.	21(2)	264-265	2007

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Gatanaga H, Ibe S, Matsuda M, Yoshida S, Asagi T, Kondo M, Sadamasu K, Tsukada H, Masakane A, Mori H, Takata N, Minami R, Tateyama M, Koike T, Itoh T, Imai M, Nagashima M, Gejyo F, Ueda M, Hamaguchi M, Kojima Y, Shirasaka T, Kimura A, Yamamoto M, Fujita J, Oka S, Sugiura W.	Drug-resistant HIV-1 prevalence in patients newly diagnosed with HIV/AIDS in Japan.	Antiviral Research.			In press.
Yamanaka H, Gatanaga H, Kosalaraksa P, Matsuoka Aizawa S, Takahashi T, Kimura S, Oka S.	Novel mutation of human DNA polymerase gamma associated with mitochondrial toxicity induced by anti-human immunodeficiency virus treatment.	Journal of Infectious Diseases.			In press.
Kajiwara K, Kodama E, Matsuoka M.	A novel colorimetric assay for CXCR4 and CCR5 tropic human immunodeficiency viruses.	Antivir Chem Chemother.	17	215-223	2006
Saita Y, Kodama E, Orita M, Kondo M, Miyazaki T, Sudo K, Kajiwara K, Matsuoka M, Shimizu Y.	Structural Basis for the Interaction of CCR5 with a Small Molecule, Functionally Selective CCR5 Agonist.	J Immunol.	177	3116-3122	2006
Sato M, Motomura T, Aramaki H, Matsuda T, Yamashita M, Ito Y, Kawakami H, Matsuzaki Y, Watanabe W, Yamataka K, Ikeda S, Kodama E, Matsuoka M, Shinkai H.	Novel HIV-1 integrase inhibitors derived from quinolone antibiotics.	J Med Chem.	49	1506-1508	2006
Ohruai H, Kohgo S, Hayakawa H, Kodama E, Matsuoka M, Nakata T, Mitsuya H.	2'-Deoxy-4'-C-ethynyl-2-fluoroadenosine: a nucleoside reverse transcriptase inhibitor with highly potent activity against all HIV-1 strains, favorable toxic profiles and stability in plasma.	Nucleic Acids Symp Series.	50	1-2	2006
M.A. Rodriguez, Y Chen, J K. Craig, R Chatterjee, D Ratner, M Tatsumi, P Roy, D Neogi and P Gupta.	Construction and characterization of an infectious molecular clone of HIV-1 subtype A of Indian origin.	Virology.	345	328-336	2006
Misumi S, Nakayama D, Kusaba M, Iiboshi T, Mukai R, Tachibana K, Nakasone T, Umeda M, Shibata H, Endo M, Takamune N, Shoji S.	Effects of immunization with CCR5-based cycloimmunogen on simian/HIVSF162P3 challenge.	J Immunol.	176	463-471	2006
Ono S, Kurotaki T, Nakasone T, Honda M, Boon-Long J, Sawanpanyalert P, Kimura K.	Cost-effectiveness analysis of antiretroviral drug treatment and HIV-1 vaccination in Thailand.	Jpn J Infect Dis.	59	168-173	2006
Someya K, Ami Y, Nakasone T, Izumi Y, Matsuo K, Horibata S, Xin KQ, Yamamoto H, Okuda K, Yamamoto N, Honda M.	Induction of positive cellular and humoral immune responses by a prime-boost vaccine encoded with simian immunodeficiency virus gag/pol.	J Immunol.	176	1784-1795	2006

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Eda Y, Murakami T, Ami Y, Nakasone T, Takizawa M, Someya K, Kaizu M, Izumi Y, Yoshino N, Matsushita S, Higuchi H, Matsui H, Shinohara K, Takeuchi H, Koyanagi Y, Yamamoto N, Honda M.	Anti-V3 humanized antibody KD-247 effectively suppresses ex vivo generation of human immunodeficiency virus type 1 and affords sterile protection of monkeys against a heterologous simian/human immunodeficiency virus infection.	J Virol.	80	5563-5570	2006
Motohara M, Ibuki K, Miyake A, Fukazawa Y, Inaba K, Suzuki H, Masuda K, Minato N, Kawamoto H, Nakasone T, Honda M, Hayami M, Miura T.	Impaired T-cell differentiation in the thymus at the early stages of acute pathogenic chimeric simian-human immunodeficiency virus (SHIV) infection in contrast to less pathogenic SHIV infection.	Microbes & Infection.	8	1539-1549	2006
Miyake A, Ibuki K, Enose Y, Suzuki H, Horiuchi R, Motohara M, Saito N, Nakasone T, Honda M, Watanabe T, Miura T, Hayami M.	Rapid dissemination of a pathogenic simian/human immunodeficiency virus to systemic organs and active replication in lymphoid tissues following intrarectal infection.	J. Gen. Virol.	87	1311-1320	2006
Dewan MZ, Terunuma H, Toi M, Tanaka Y, Katano H, Deng X, Abe H, Nakasone T, Mori N, Sata T, Yamamoto N.	Potential role of natural killer cells in controlling growth and infiltration of AIDS-associated primary effusion lymphoma cells.	Cancer Sci.	97	1381-1387	2006
Eda, Y., Takizawa, M., Murakami, T., Maeda, H., Kimachi, K., Yonemura, H., Koyanagi, S., Shiosaki, K., Higuchi, H., Makizumi, K., Nakashima, T., Osatomi, K., Tokiyoshi, S., Matsushita, S., Yamamoto, N., Honda, M.	Sequential immunization with V3 peptides from primary HIV-1 produces cross-neutralizing antibodies against primary isolates with matching narrow neutralization sequence motif.	J. Virol.	80	5552-5562	2006
Eda, Y., Murakami, T., Ami, Y., Nakasone, T., Takizawa, M., Someya, K., Kaizu, M., Izumi, Y., Yoshino, N., Matsushita, S., Higuchi, H., Matsui, H., Shinohara, K., Takeuchi, H., Koyanagi, S., Yamamoto, N., Honda M.	Anti-V3 humanized antibody KD-247 effectively suppresses ex vivo generation of human immunodeficiency virus type 1 and affords sterile protection of monkeys against a heterologous simian/human immunodeficiency virus infection.	J. Virol.	80	5563-5570	2006
Yoshimura, K., Shibata, J., Kimura, T., Honda, A., Maeda, Y., Koito, A., Murakami, T., Mitsuya, H., Matsushita, S.	Resistance profile of a novel broadly neutralizing anti-HIV monoclonal antibody, KD-247, that shows favorable synergism with anti-CCR5 inhibitors in vitro.	AIDS.	20	2065-2073	2006
Ikeda, T., Shibata, J., Yoshimura, K., Koito, K., Matsushita, S.	Recurrent HIV-1 integration at the BACH2 locus in resting CD4+ T cell populations during effective HAART.	J. Infect. Dis.			In press.
Shibata, J., Yoshimura, K., Honda, A., Koito, A., Murakami, T. and Matsushita, S.	Impact of V2 mutations for escape from a potent neutralizing anti-V3 monoclonal antibody during in vitro selection of a primary HIV-1 isolate.	J. Virol.			In press.
松下修三	抗ウイルス薬血中濃度測定的重要性.	治療.	88	2916-2925	2006

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
清原万紀子、吉村和久、松下修三	新しい抗 HIV 薬の開発動向と期待される臨床効果	薬局.	57	2959-2966	2006
Usuku Shuzo, Noguchi Yuzo, Sakamoto Mitsuo, Adachi Takuya, Sagara Hiroko, Sudo Koji, Nishizawa Masako, Kondo Makiko, Tochikubo Osamu, Mitsunobu Imai.	Analysis of a long term discrepancy in drug-targeted genes in plasma HIV-1 RNA and PBMC HIV-1 DNA in the same patient.	Jpn. J. Infect. Dis.	59	122-125	2006
嶋貴子、一色ミユキ、近藤真規子、塚田三夫、潮見重毅、今井光信	保健所における HIV-1 即日検査導入の試みとその効果.	日本公衆衛生雑誌.	53	167-177	2006
須藤弘二、嶋貴子、近藤真規子、加藤真吾、今井光信	Real-time PCR を用いた HIV-1 RNA 測定キットの基礎的研究	感染症学雑誌.	81	1-5	2007
川畑拓也、小島洋子、森 治代、大竹 徹、大國 剛	当所にて HIV 感染を確認した、2 例のイムノクロマトグラフィー法陰性の感染初期例.	感染症学雑誌.	81	76-77	2007
南 留美、山本政弘	Elevated serum levels of RCAS1 are associated with Poor recovery of CD4+T cell count after ART in HIV-1-infected patients.	日本エイズ学会誌.	8	25-27	2006
Rumi Minami, Soichiro Takahama, Masahiro Yamamoto.	RCAS1 induced by HIV-Tat is involved in the apoptosis of HIV-1 infected and uninfected CD4+ T cells.	Cellular Immunology.			In press.
南 留美、高濱宗一郎、山本政弘	高熱、リンパ節腫脹を繰り返したのち発症した HIV-1 陽性 HHV-8 関連 Castleman 病の 1 例.	感染症学雑誌.	80(4)	423-427	2006