

の変異が 50%以上に検出され (表 2)、これらの変異はサブタイプに依存する多型の可能性が考えられた。

major 変異の認められなかった 48 名はスタンフォード大学データベース解析において、8 種類の PRI (ATV, DRV, FPV, IDV, LPV, NFV, SQV, TPV) に感受性と判定された。

RT 領域については、50 名中 1 名から NRTI である AZT および d4T の耐性変異 M41L と T215C を持つ症例が 1 例検出された (表 1)。この症例のスタンフォード大学データベースでの耐性度は、AZT、d4T に対して intermediate resistance、ddI、ABC、TDF に対して low-level resistance と判定された。

50 名のサブタイプおよび感染経路を表 3 に示した。サブタイプの内訳は、サブタイプ B が 36 名と最も多く、次いでサブタイプ AE が 10 名、C が 2 名、A、D が各 1 名ずつであった。

感染経路および国籍別では、男性同性間性行為感染が 22 名 (日本人 20 名、外国籍 2 名)、異性間性行為感染が 22 名 (日本人 16 名、外国籍 6 名)、針治療および母児感染が 1 名ずつ、不明が 4 名 (日本人) であった。

PRI である TPV の major 変異 L33F が検出された 2 名はいずれもタイ国籍の男性、異性間性行為による感染であった。系統樹解析の結果、これら 2 株ともにサブタイプ AE であったが、HIV-1 遺伝子に特別な関連性は認められなかった。RT 領域に M41L と T215C の変異の認められた 1 名は日本人男性、サブタイプ B、同性間性行為感染であった。

D. 考察

2006 年の 1 年間に神奈川県内の医療機関に来院した新規 HIV-1 感染者 50 名について薬剤耐性変異を解析した。その結果、PRI である TPV の major 変異 L33F が 2 名に認められたが、日本では TPV は認可前であり、TPV を使用している医療機関はほとんど無いと思われる。また、これら 2 名はタイ国籍で、タイでの感染も疑われるが、タイにおいても TPV の使用はほとんど無い。また Shafer らは、L33F 変異はサブタイプ AE の未治療感染者において、1%以上認められることから、新規感染者における薬剤耐性株伝播の調査・研究において、L33F 変異を除外することを提案している。以上のことから、これらの症例は薬剤耐性株の感染ではなく、L33F の変異はサブタイプ AE の多型の一つである可能性が考えられた。しかしながら、L33F 変異が認められる症例において、TPV 投与後早期に耐性を獲得する可能性は否定できず、薬剤の選択の際には考慮する必要があると考えられ

た。

RT 領域に AZT および d4T の耐性関連変異である M41L と T215C を持つ症例が 1 例検出された。T215C は AZT の耐性変異 T215Y のリバータントと考えられ、この症例は AZT 投与歴のある症例からの感染の可能性が考えられた。

RT 領域に K238T 変異を持つ症例が 1 例認められた。この変異は IAS-USA (2006) リストには登録されていないが、スタンフォード大学データベースでは NNRTI の耐性変異として登録されている。この症例の耐性度は NNRTI の DLV、NVP に対して intermediate resistance と判定された。解析に用いるデータベースにより判定が異なる場合があり、薬剤を選択する際には患者の病態や血中ウイルス量等のパラメータを考慮する必要もあると考えられた。

E. 結論

2006 年の 1 年間に神奈川県内の医療機関に来院した新規 HIV 感染者 50 名について薬剤耐性変異を解析した。IAS-USA (2006) リストに基づき薬剤耐性変異の解析を行った結果、RT 領域において NRTI である AZT の耐性変異 M41L と T215Y のリバータント T215C を持つ症例が 1 例検出され、薬剤耐性変異の出現頻度は 2.0% であった。

プロテアーゼ領域に PRI である TPV の major 変異、L33F が 2 名 (タイ国籍、サブタイプ AE) に認められたが、日本やタイで TPV の使用はほとんど無く、L33F はサブタイプ AE の多型の一つである可能性が高い。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 宇宿秀三、野口有三、坂本光男、足立拓也、相楽裕子、須藤弘二、西澤雅子、近藤真規子、柄久保修、今井光信 : 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)

2) 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).

2. 学会発表

1) 近藤真規子、須藤弘二、田中理恵、嶋貴子、相楽裕子、岩室紳也、加藤真吾、今井光信 : A quantification of HIV-1 group M proviral DNA using a TaqMan real-time PCR, XVI International AIDS Conference, 13-18 Aug. 2006, Toronto.

2) 嶋貴子、近藤真規子、今井光信ほか : Implementation and Effectiveness of Rapid HIV Testing at Publicly Funded Voluntary HIV

Counseling and Testing (VCT) Sites in Japan, XVI International AIDS Conference, 13-18 Aug. 2006, Toronto.

3) 近藤真規子、須藤弘二、嶋貴子、高橋華子、相楽裕子、武部豊、今井光信ほか：日本で検出された CRF01_AE/B リコンビナント HIV-1 の解析、第 20 回日本エイズ学会学術集会・総会（2006 年 11 月 30～12 月 2 日、東京）。

4) 嶋貴子、近藤真規子、須藤弘二、相楽裕子、今井光信：新しい HIV 迅速抗体検査キットの検討、第 20 回日本エイズ学会学術集会・総会（2006 年 11 月 30～12 月 2 日、東京）。

5) 須藤弘二、田中理恵、近藤真規子、今井光信、加藤真吾：HIV 感染者 PBMC 中プロウイルスの multiplex nested PCR による構造解析、第 20 回日本エイズ学会学術集会・総会（2006 年 11 月 30～12 月 2 日、東京）。

6) 木内英、岩室紳也、近藤真規子、今井光信、花房秀次、加藤真吾：母児感染予防における AZT 血中濃度、第 20 回日本エイズ学会学術集会・総会（2006 年 11 月 30～12 月 2 日、東京）。

G. 知的財産権の出願・登録

1. 特許出願

1) 発明の名称：「HIV-1 プロウイルス定量法」、発明者：近藤真規子、加藤真吾、出願年月日：平成 18 年 5 月 2 日、出願番号：特願 2006-128565

2) 発明の名称：「弱毒型 HIV-1 塩基配列」、発明者：近藤真規子、今井光信、武部豊、公開年月日：平成 18 年 7 月 27 日、公開番号：特開 2006-191891

表1 新規HIV感染者124名の感染経路(2003-2006)

感染経路	未治療感染者解析数				合計
	2003	2004	2005	2006	
男性同性間	1	18	14(2)	22(2)	55(4)
異性間 男性	5(1)	9(4)	9(3)	17(3)	40(11)
異性間 女性	5(3)	4(3)	3(3)	5(3)	17(12)
その他 女性				2(1)	2(1)
不明 男性			5	4	9
不明 女性		1			1
合計	11(4)	32(7)	31(8)	50(10)	124(29)

()は外国籍

表2 新規HIV感染者124名のプロテアーゼ領域の変異(2003-2006)
 -MSM 55(B53、E2)、異性間 57(B21、E26、A3、他7)、その他 12(B9、E2、D1) -

Pro領域の変異	変異出現頻度		サブタイプ別変異出現頻度			
	B	non B	B	non B		
L33F**	1.6 %	(2/124)	0 %	(0/83)	4.9%	(2/41)
M36I L	39.5%	(49/124)	14.5%	(12/83)	90.2%	(37/41)
L63P	36.3%	(45/124)	43.4%	(36/83)	22.0%	(9/41)
V77I	32.3%	(40/124)	41.0%	(34/83)	14.6%	(6/41)
K20I R	12.1%	(15/124)	1.2%	(1/83)	34.1%	(14/41)
L10I V	12.1%	(15/124)	9.6%	(8/83)	17.1%	(7/41)
A71V	14.5%	(18/124)	21.7%	(18/83)	0%	(0/14)
*I13V	28.0%	(14/ 50)	5.6%	(2/36)	78.6%	(11/14)
G16E	14.0%	(7/ 50)	13.9%	(5/36)	14.3%	(2/14)
D60E	2.0%	(1/ 50)	2.8%	(1/36)	0%	(0/14)
I62V	22.0%	(11/ 50)	27.8%	(10/36)	7.1%	(1/14)
I64V	8.0%	(4/ 50)	2.8%	(1/36)	21.4%	(3/14)
H69K	38.0%	(19/ 50)	16.7%	(6/36)	92.9%	(13/14)
I93L	48.0%	(24/ 50)	61.1%	(22/36)	14.3%	(2/14)

*下段の6アミノ酸はIAS-USA(2006)リストに新たに加わったminor変異
 2005年まではIAS-USA(2005)リストで、2006年は(2006)リストに従い解析
 **M33FはTipranavirのmajor変異

表3 薬剤耐性変異の認められた6例の詳細(2003-2006)

サンプル 採血年	国籍	性別	感染経路	サブ タイプ	薬剤耐性変異	
					Pro領域*	RT領域
2004	日本	男性	同性間	B	L10I, M36I	K219Q
	日本	男性	同性間	B	—	T215D
2005	日本	男性	同性間	B	V77I	T215D
2006	日本	男性	同性間	B	L63P, A71T, I93L	M41L, T215C
	タイ	男性	異性間	E	I13V, L33F, L63P, H69K	—
	タイ	男性	異性間	E	L10LV, I13V, L33F, M36I, L63P, H69K, I93V	—

IAS-USA(2006)リストにより解析

*major変異にアンダーラインを印した。

表4 新規HIV感染者124名の感染経路とサブタイプ(2003-2006)

感染経路	サブタイプ(C2V3)						
	合計	B	E	A	C	D	F ?
男性同性間 日本	51	49	2				
男性同性間 外国	4	4					
異性間 男性 日本	29	17	11	1			
異性間 男性 外国	11	3	5		2		1
異性間 女性 日本	5	2	2	1			
異性間 女性 外国	12	1	8	1	1		1
その他 女性	2	1				1	
不明 男性	9	8	1				
不明 女性	1		1				
合計	124	83	30	4	4	1	1

表5 新規HIV感染者124名から検出された耐性関連変異
 -MSM 55(B53、E2)、異性間 57(B21、E26、他10)、その他 12(B9、E2、他1)-

採血年	解析数 (人)	耐性変異 出現数(人)	薬剤耐性関連変異	
			Pro	RT
2003年	11	0		
2004年	32	1	-	T215D
		1	-	K219Q
2005年	31	1	-	T215D
2006年	50	(2)	L33F	-
		1	-	M41L & T215C
合計(人)	124	4 (3.2%)		

「東京都における薬剤耐性 HIV-1 調査体制確立のための研究」
～2004～2006年に東京都内で検出された HIV-1 の Protease および
Reverse Transcriptase の遺伝子解析～

分担研究者 貞升健志（東京都健康安全研究センター 微生物部 主任研究員）
研究協力者 長島真美，新開敬行，吉田靖子，山田澄夫
（東京都健康安全研究センター）

研究概要

HAARTに代表されるHIVの薬剤治療が効果を上げている反面，薬剤治療患者数の増大に伴い，薬剤耐性変異を有するHIVの新たな出現が問題となりつつある．東京都においても感染者数が増加する傾向が続いており，薬剤耐性HIVの蔓延が懸念されている．

東京都の保健所等におけるHIV検査陽性例を材料とし，都内における新規HIV感染者で流行しているHIVの遺伝子学的な調査を実施した．2004年～2006年の保健所等のHIV検査陽性226例より検出されたHIVのサブタイプおよびReverse transcriptase(RT)およびProtease(Pro)領域における薬剤耐性変異を検索した結果，検出されたHIVの94.7%がサブタイプBで，RT領域においてはV108I，T215D変異がそれぞれ1例で認められ，Pro領域ではMajor mutation M46Lの変異が2例で認められた．

A. 研究目的

薬剤治療を受けている HIV 患者数の増大に伴い，薬剤耐性変異を有する HIV の新規感染が大きな問題となりつつある．都内保健所等の HIV 検査陽性例を対象とし，都内における新規感染者における薬剤耐性ウイルスの出現状況を調査することを本研究の目的とする．

（倫理面の配慮）

なお，本研究の実施前に，東京都健康安全研究センター倫理委員会で，本研究に倫理的な問題のないことが承認された．

B. 研究方法

1. 塩基配列の決定

都内保健所等の HIV 検査で陽性となった検体（血清）226 例を供試した．

各検体 400 μ l よりウイルス核酸 RNA を抽出後，nested PCR 法により Protease(Pro) および Reverse transcriptase(RT)領域を増幅し，特異バンドの精製を行い，精製 DNA を得た．Dye-terminator-cycle-sequencing 法を用いた Direct-Sequencing 法により精製 DNA の塩基配列を決定し，IAS-USA panel を基に，得られたアミノ酸配列の薬剤耐性変異の有無を検索した．

2. RT 領域の解析

使用したプライマーは DRRT1L(ATGATAGGGGGAATTGGAGGTTT) , DRRT4L(TACTTCTGTTAGTGCTTTGGGTTCC) , DRRT7L(GACCTACACCTGTCAACATAATTGG) および POL4(CCACTAACTTCTGTATGTCATT) である。逆転写反作用プライマーとして、DRRT4L を使用し cDNA 作成後、DRRT1L を加え 1st-PCR を実施した。さらに DRRT7L および POL4 を用いて、2nd-PCR を実施した。

得られた塩基配列を基に、遺伝子解析ソフト MEGA3 (フリーソフトウェア、<http://www.megasoftware.net/>) を用いて系統樹を作成し、サブタイプを決定するとともに、IAS-USA および Shaffer の報告に基づき、RT 領域 41~236 番目のアミノ酸の薬剤耐性変異の有無を調べた。

3. Pro 領域の解析

Pro 領域の増幅には、国立感染症研究所で開発された DRPR プライマーを使用した。すなわち、1st-PCR には DRPR05 および DRPR02L を、2nd-PCR には DRPR01M および DRPR06 を使用し、Pro 領域の 1~93 番目のアミノ酸を解析した。得られた塩基配列については、IAS-USA および Shaffer の報告に基づき、Pro 領域 1~90 番目のアミノ酸の薬剤耐性変異の有無を調べた。

C. 研究結果

1. サブタイプ型別

都内保健所等の HIV 検査で陽性となっ

た HIV-1 226 例の RT 領域の分子系統樹解析を実施した結果、214 例がサブタイプ B で、10 例がサブタイプ AE、2 例がサブタイプ C に分類された。

2. RT 領域の薬剤耐性変異

RT 領域の薬剤耐性変異を検索した結果 (図 1) , T215D/E が 6 例 (2.7%) , V108I が 1 例 (0.4%) に認められ、耐性変異部位で薬剤耐性変異ではないが、wildtype と異なる変異である K101Q/R が 5 例、K103R が 2 例、V106I が 4 例、Q151P/R が 2 例、L210F/M が 16 例、P225R が 1 例、M230V が 1 例で認められた。

3. Pro 領域の薬剤耐性変異

Pro 領域について遺伝子解析を実施した結果 (図 1) , Major mutation では、M46L が 2 例 (0.9%) で認められた。

Minor mutation では、L10I/V が 17 例、V11I/G が 2 例、I13V が 23 例、G16E が 13 例、K20R/T が 6 例、L24I が 1 例、E35D が 39 例、M36I が 43 例、K43R が 2 例、D60E が 9 例、I62V が 55 例、L63X が 177 例、I64L/V が 19 例、H69K/Q/Y/N/R が 45 例、A71V/T が 25 例、T74A/E が 11 例、V77I が 57 例、I93L が 100 例で認められた。

4. 分子系統樹解析

RT 領域の分子系統樹解析を行い、T215D/E (RT 領域) および M46L (Pro 領域) の変異が認められた事例をプロットした。その結果、T215D/E は同じ部位にクラスタリングされ、M46L についても、2003年に検出された M46L 変異と同部位

にクラスタリングされた（図 2）。

D. 考察

薬剤治療を受けている HIV 患者数の増大に伴い、薬剤耐性変異を有する HIV の出現が懸念されている。都内保健所等の HIV 検査陽性例を対象とし、都内における新規感染者における薬剤耐性ウイルスの出現状況の調査を実施した。

東京都の感染症発生動向調査で報告される新規 HIV 感染者総数における保健所等の HIV 感染者の占める割合は、2002 年以降 40%を超えている（図 3）。

2006 年より薬剤耐性検査が保険適用となり、疫学的なデータが得られにくい状況になってきている。一方、保健所等の HIV 検査陽性例を新規感染者の薬剤耐性変異の調査に使用することは、陽性例のバックグラウンドデータは得られにくい欠点はあるものの、検査目的で保健所等を来所していることもあり、新規感染者の疫学調査の材料として適していると考えられる。

2004～2006 年に都内保健所等の HIV 検査で陽性となった症例より検出された HIV-1 226 例の RT 領域の遺伝子解析を実施した結果、214 例(94.7%)がサブタイプ B に分類され、年ごとにサブタイプの検出状況の変化は認められていない。

RT 領域の薬剤耐性変異を検索した結果、T215D/E が 6 例（2.7%）、V108I が 1 例（0.4%）に認められ、Pro 領域では Major mutation M46L が 2 例（0.9%）に認められた。従って、保健所等の HIV 検査陽性例における薬剤耐性ウイルスの出現率は、4.0%と算出された。

分子系統樹解析では、T215D/E および M46L 共に、同変異が検出された事例が

極めて近縁にクラスタリングされたことから、このようなウイルスがある特定集団でのみ、蔓延していることが推察された。

E. 結論

2004～2006 年に都内保健所等の HIV 検査陽性例から検出された HIV における薬剤耐性変異の出現頻度は、PR 領域では 0.9%、RT 領域では 3.1%であった。

分子系統樹解析では、T215D/E および M46L 共に、同変異が検出された事例が極めて近縁にクラスタリングされた。

F. 健康危機管理情報

該当無し

G. 研究発表

1. 論文発表

(1)長島真美，貞升健志，新開敬行，秋場哲哉，吉田 勲，吉田靖子，矢野一好，甲斐明美，諸角 聖，東京都における HIV 検査成績（1999 年-2004 年），東京都健康安全研究センター年報，56，41-44，2005

2. 学会発表

(1)貞升健志，秋場哲哉，新開敬行，長島真美，吉田 勲，吉田靖子，甲斐明美，諸角 聖，東京都における HIV 検査の現状，衛生微生物技術協議会第 26 回研究会，福井，2005

(2)貞升健志，長島真美，新開敬行，秋場哲哉，甲斐明美，諸角 聖，東京都内で検出された HIV-1 の Protease および Reverse Transcriptase 遺伝子の解析 第 19 回日本エイズ学会学術集会・総会，熊本，2005

(3)貞升健志，長島真美，新開敬行，甲斐明美，諸角 聖，山口 剛，イムノクロ

マト法で陰性を示した HIV 検査陽性の 2 症例について, 第 80 回日本感染症学会総会, 東京, 2006

(4) 貞升健志, 長島真美, 新開敬行, 吉田靖子, 山田澄夫, 東京都内で検出された HIV-1 の Protease 遺伝子の解析, 第 20 回日本エイズ学会学術集会・総会, 東京, 2006

(5) 長島真美, 貞升健志, 新開敬行, 吉田靖子, 山田澄夫, イムノクロマト法のロット間差に関する検討, 第 20 回日本エイズ学会学術集会・総会, 東京, 2006

(6) 新開敬行, 貞升健志, 長島真美, 吉田靖子, 山田澄夫, 東京都の HIV 検査におけるイムノクロマト法偽陰性例について, 第 20 回日本エイズ学会学術集会・総会, 東京, 2006

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当無し

図1. 新規HIV感染者において検出された薬剤耐性変異(2004~2006年)

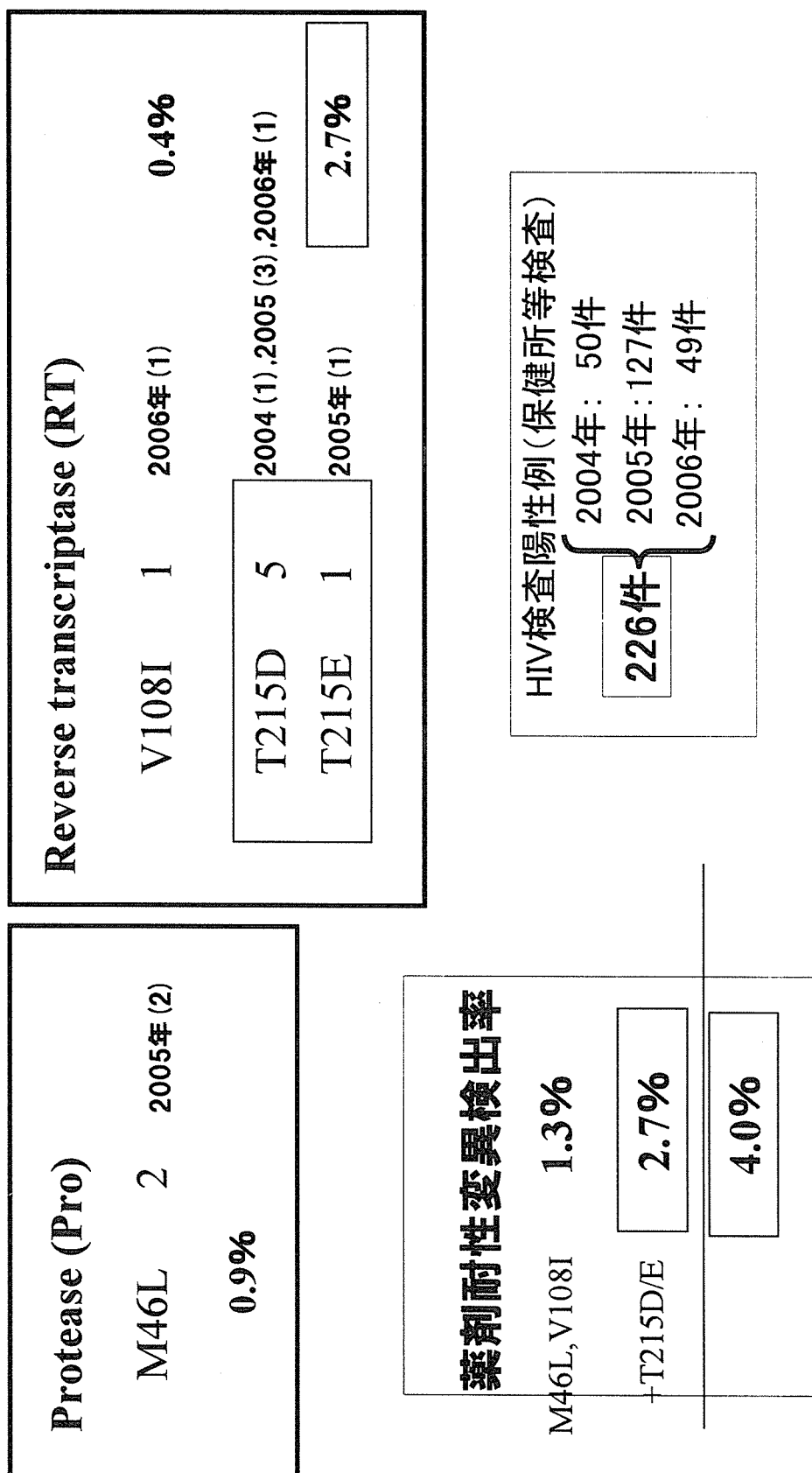


圖2. 分子系統樹解析(RT領域)

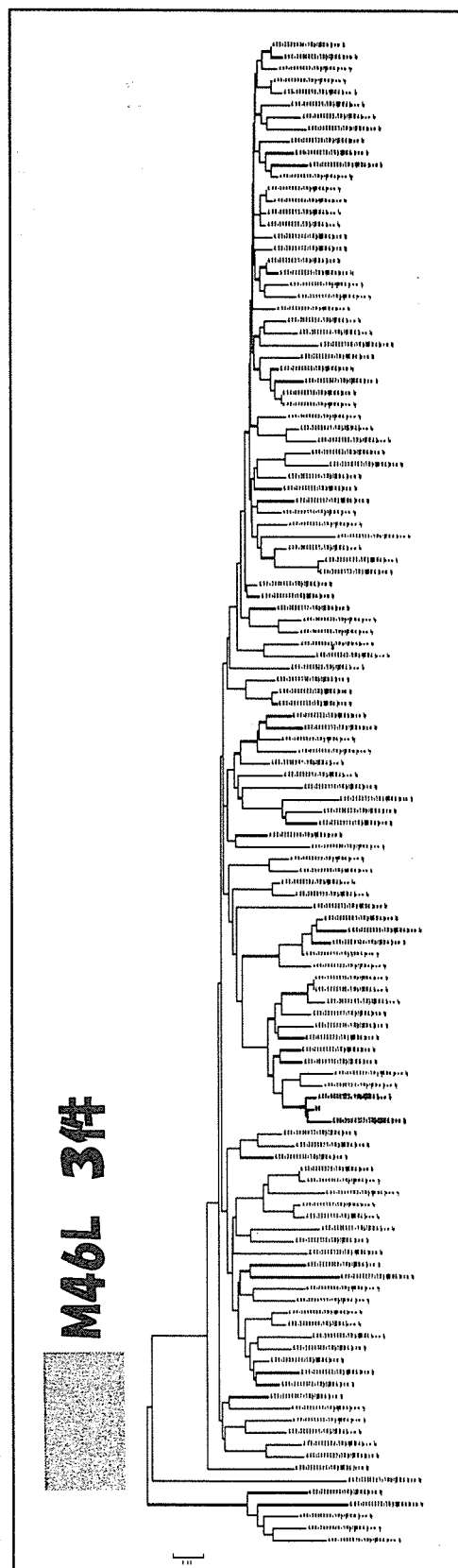
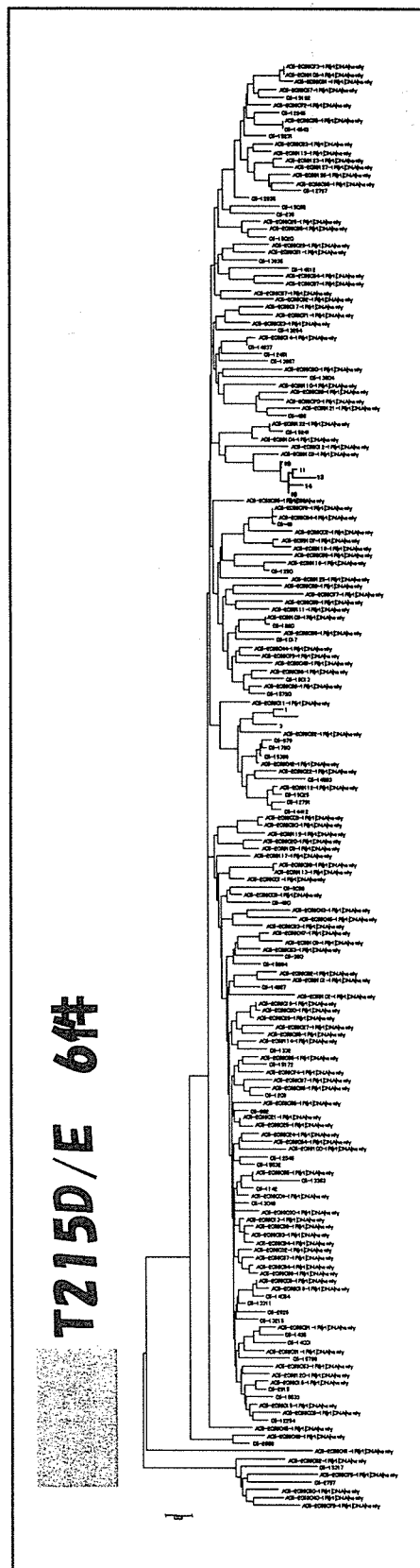
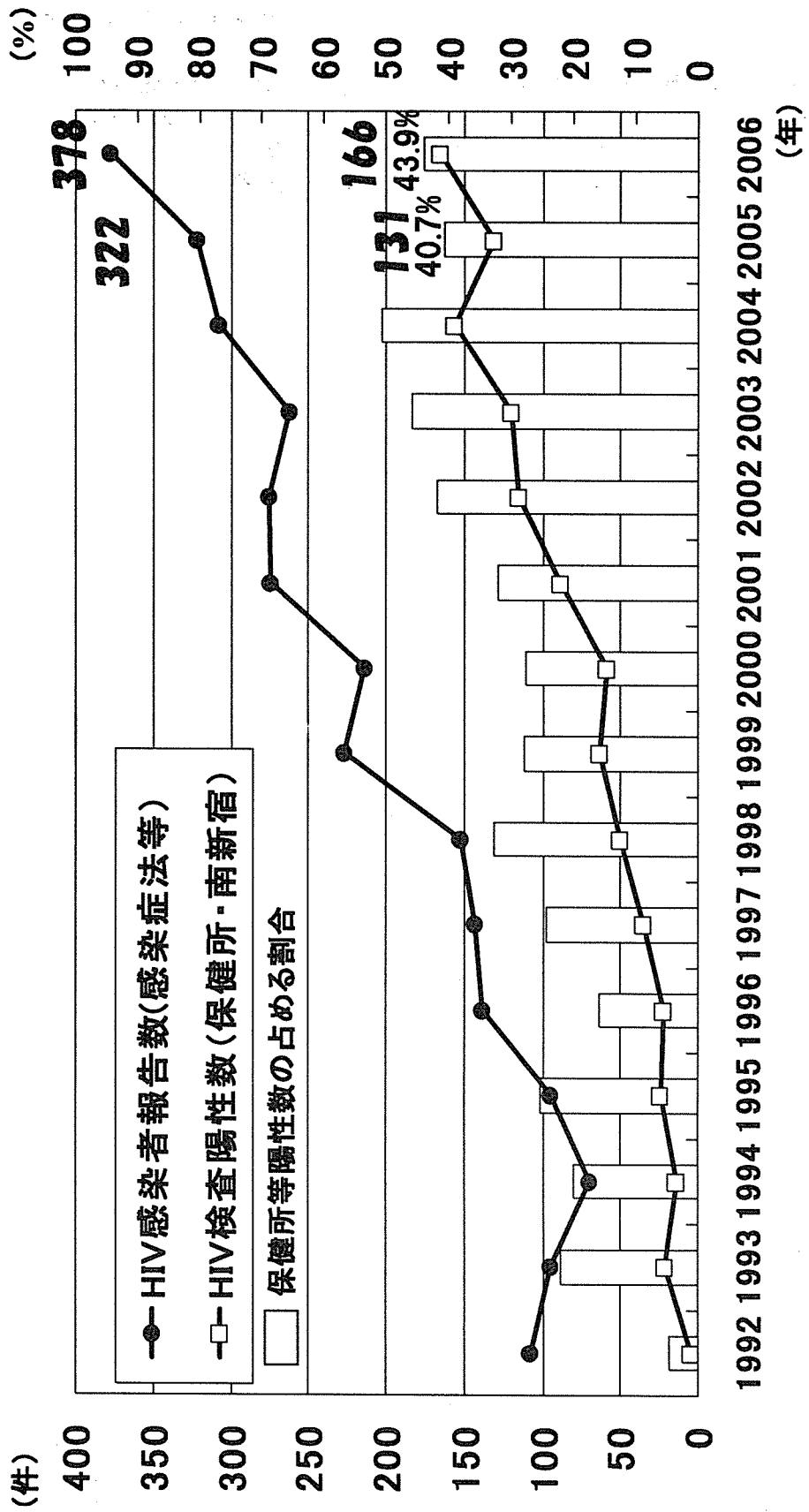


図3. 新規HIV感染者報告数と保健所等におけるHIV検査陽性数の推移(東京都)



「近畿地区における薬剤耐性検査体制確立のための研究」

分担研究者 白阪琢磨 国立病院機構大阪医療センター HIV/AIDS 先端医療開発センター長
研究協力者 椎木創一（大阪医療センター 免疫感染症科）、山本信夫、管尾龍彦、佐子肇、常松裕子、溝上泰司、松永加奈江、真能正幸（大阪医療センター 臨床検査科）、古金秀樹（大阪医療センター HIV/AIDS 先端医療開発センター）、吉野宗弘（大阪医療センター 薬剤科）

研究要旨

HIV 感染症の治療の進歩によって HIV 感染症は慢性疾患ととらえられる様になったが、副作用の出現や長期に適切な服薬の実施な種々の理由で困難となり、ウイルス学的失敗やウイルス量の再上昇を来し薬剤耐性変異が出現する場合がある。一方で、未治療患者から薬剤耐性変異株が分離されたとの報告があり薬剤耐性変異株の伝搬が問題となっている。本研究では国立大阪医療センターで平成 17 年度および 18 年度に実施した薬剤耐性検査の実状を調査し、検査の臨床的意義につき検討を行った。治療歴のない患者でも抗 HIV 薬に高度に耐性となる変異が観察された例もあり、治療開始前に薬剤耐性検査の実施は有意義であると示唆された。平成 18 年 4 月に薬剤耐性検査が診療報酬の対象となったが保険適応の有無を巡って臨床現場では混乱もあった。今後も症例を蓄積し、未治療例での薬剤耐性変異株の検討を行い、近畿ブロックでの耐性検査の支援体制の構築を目指す。

A. 研究目的

HIV 感染症は抗 HIV 療法の進歩によって慢性疾患になったと捉えられているが、実際には種々の理由から適切な服薬を継続できずにウイルス学的治療失敗となり、その結果、投与薬剤に耐性な HIV 変異株が出現する事が知られている。この薬剤耐性 HIV 変異株は他剤にも交叉耐性を示すことも、しばしばであり、薬剤耐性 HIV 変異株の出現は临床上重要な課題となっている。本研究の最終目標は近畿ブロックで、薬剤耐性検査が必要な HIV 感染症患者に薬剤耐性検査を実施でき、かつ、その検査結果を臨床に反映できる様な薬剤耐性検査システムを構築することである。昨年度、薬剤耐性検査の適応につき検討を行った。今年度も、近年、未治療患者で問題となっている薬剤耐性変異 HIV 感染の検討も含めて、薬剤耐性検査につき検討を行う。

B. 研究方法

独立行政法人国立病院機構大阪医療センター（以下、国立大阪医療センター）での薬剤耐性検査の実施状況を調査した。薬剤耐性検査方法は、患者から採血後直ちに血漿を分離し、ウイルス RNA を抽出後、特定のプライマーを用いて RT-PCR 法で HIV-1（以下 HIV）の逆転写酵素および HIV のプロテアーゼを支配する遺伝子を増幅し、増幅された DNA の塩基配列をサンガーの方法を用いて Direct sequencing 法によって決定した。決定された塩基配列を既報告の薬剤耐性に関連する変異と照合し、耐性変異の有無につき主治医に報告した。PCR に用いるプライマ

一の塩基配列は HIV のコンセンサス塩基配列に基づいた逆転写酵素、プロテアーゼの支配領域から決定されたものを用いた。平成 17 年度に国立大阪医療センターで薬剤耐性検査を実施した症例につきカルテから情報を収集し検討した。いずれも個人情報取り扱いについては厳重に行った。

C. 研究結果

①患者数の推移

国立大阪医療センターを受診した累積患者数の推移を示した（図-1）。新規受診患者数は平成 15 年度に 130 名、平成 16 年度に 144 名、平成 17 年度は 181 名、平成 18 年度は 135 名（12 月末日まで）であった。平成 18 年 12 月末日の累積患者数は 1010 名であった。

内訳では、男性 946 名（93.7%）。女性 64 名（6.3%）。年齢別では 30 代が最多の 461 名（45.6%）、40 代が 233 名（23.1%）、20 代が 156 名（15.4%）であり、これらの年齢層が全体の 84.1%を占めた。初診時年齢別では 30 歳台が 401 名（39.7%）、20 歳台が 308 名（30.5%）で 7 割を占めていた。問診からの感染経路では性的接触が 876 名（86.7%）であった。中には薬物使用例があった。感染経路が性的接触の場合は、同性間が 69.2%、異性間が 17.5%であった（図-2 は平成 18 年 11 月末日現在）。

②患者の初診時居住地域、紹介元施設等の内訳

初診時の居住地域は大阪府が 708 名（70.1%）（この内で大阪市内が 431 名）、近畿ブロックの他府県からが 257 名（25.7%）、他のブロック等からが 45 名（4.5%）であった。紹介元別では保健所等からが

149名、拠点病院からが240名、診療所および病院からが434名、他ブロックやACCからが46名などであった(図-3、-4は平成18年11月末日現在)。

③抗HIV薬剤の使用状況

毎年のように新薬が登場しHIV治療ガイドラインも改訂されてきた。国立大阪医療センターでも使用薬剤と組み合わせは、年々変化してきた(図-5、図-6)。抗HIV薬を同センターで処方された人数は平成10年は69人、平成11年109人、平成12年130人、平成13年171人、平成14年208人、平成15年248人、平成16年288人であった。年次組み合わせ数は、それぞれ、21通り、35通り、38通り、45通り、52通り、48通り、46通りであった。平成17年、平成18年の処方数は379人、479人であり。初回療法はそれぞれ73人、95人で実施された。平成17年に引き続き平成18年の組み合わせの上位には1日1回処方の組み合わせが増加した(図-7)。

④薬剤耐性検査の実施状況

平成17年4月1日から平成18年11月30日までの期間内に144件のHIV耐性検査を行った。診療録によると耐性検査の実施は未治療が142件であった。その中で、初診時が133件、未治療での経過観察中が1件、治療前が5件、治療開始時が3件であった。治療開始後の実施が2件であった。

⑤薬剤耐性検査結果

1) PCRの増幅結果 耐性検査を行った144件の中で逆転写酵素、プロテアーゼ、両領域の少なくとも一部が増幅不良であったのが、それぞれ、2件、5件、1件であった。薬剤耐性検査実施時のHIV-1-RNA量が1000コピー/mL未満であったのが、7件あり、その内の6件で逆転写酵素あるいはプロテアーゼの領域のいずれかで増幅できなかった。また、HIV-1-RNA量が1000コピー/mL以上では全例で増幅ができていた。

2) 変異 初診時に薬剤耐性検査を実施した133件において次の変異を認めた。逆転写酵素領域で22アミノ酸(コドン36、62、65、67、69、70、74、75、98、100、101、103、106、108、115、179、181、184、190、210、215、219)、プロテアーゼ酵素領域では18アミノ酸(コドン10、13、16、33、35、36、43、60、62、63、64、69、71、74、77、82、93)で認められた。結果を図-8に示した。逆転写酵素領域ではコドン74、181、184、215などの変異が散見された。コドン215ではAZT耐性変異ではないrevertantと思われる変異が多かった。プロテアーゼ領域では前年度に較べコドンも変異数も多くなっていた。

D. 考察

今年度は国立大阪医療センターでの平成17年4月から平成18年11月末日までの薬剤耐性検査(遺伝子型)の実状を調査した。本センターは平成9年に近畿ブロックのブロック拠点病院に選定され、患者

数の年々増加に伴い薬剤耐性検査件数も増加したが、近年むしろ減少傾向となった。原因として、ウイルス効果の優れた抗HIV薬が開発された事、薬剤開発によって服用が以前に比べ容易になった事、外来での服薬指導や療養支援によってアドヒアランスが向上した事などによってウイルス学的治療失敗率が減少したためと推定された。これまでの研究から、ウイルス学的失敗例における薬剤耐性検査結果は薬剤変更の参考となる事、ウイルス量が低値(<500)で一過性の上昇例(blip)で検討できた例では、明らかな薬剤耐性変異を見いだせ無かった事を示した。昨年度より検討を開始した初診症例(診療録上の未治療)の検討では、今年度も昨年度と同様に薬剤耐性変異を認め、頻度が増加傾向にあり、さらに薬剤耐性変異箇所も増加傾向が伺われた。今回、初診未治療133件で逆転写酵素あるいはプロテアーゼ領域に多くの変異が観察された。その中には、既に薬剤耐性と報告されている変異も含まれており、治療前に薬剤耐性検査を実施する重要性が示唆された。今回の検討は133例と少数であるので、今後も症例を増やしさらなる検討が必要と考える。なお、今年度の4月に診療報酬改定で薬剤耐性検査(遺伝子型)が保険収載された。適応についての現場の混乱から薬剤耐性検査実施に影響があった可能性がある。

E. 結論

国立大阪医療センターで平成17年4月から平成18年11月末日までに実施した144件で薬剤耐性検査を実施した。ウイルス量が1000コピー/mL未満症例では高率に増幅不良領域を認めたが、それ以外は良好であった。初診時に(診療録から)未治療症例でも薬剤耐性関連変異が少なからず観察され、薬剤耐性変異を有する変異株の伝搬が想定された。今後は治療開始前に薬剤耐性検査の実施が必要であると考えられた。近畿圏内で患者数の更なる増加が予想されている。

薬剤耐性検査が保険適応となったが、適応に付き混乱があった。初診時の薬剤耐性検査は保険適応が無い場合が多いが、薬剤耐性変異株の伝搬の様子を知るのに重要なデータであり、研究の意義が高いと考えられる。今後も、初診患者の薬剤耐性変異の推移についての研究を実施していく必要があると考える。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

学会発表なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

図-1 累積患者数の推移

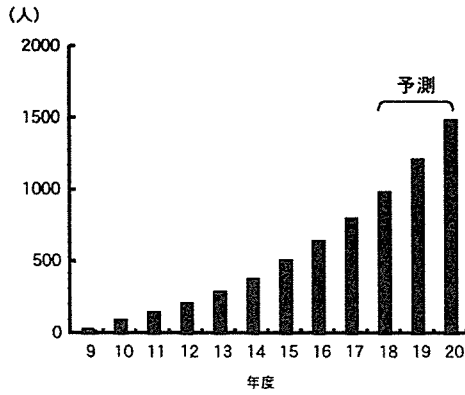


図-2 外来受診患者の内訳

(平成18年11月末日現在、1000名)

性別	人数 (%)	年齢別	人数 (%)
男性	936(93.6)	10代	4 (0.4)
女性	64 (6.4)	20代	153 (15.3)
		30代	457 (45.7)
感染経路別		40代	231 (23.1)
血液製剤	77 (7.7)	50代	104 (10.4)
その他	923 (92.3)	60代~	51 (5.1)
初診時病期		初診時年齢別	人数 (%)
HIV	758(75.8)	0-19	19 (1.9)
AIDS	242 (24.2)	20-29	305 (30.5)
		30-39	397 (39.7)
		40-49	173 (17.3)
		50-59	77 (7.7)
		60~	29 (2.9)

図-3 外来患者の紹介元

保健所	147名
拠点病院	236名
一般医療機関	431名
献血	26名
NGO・その他	114名
ブロック拠点病院・ACC	46名

図-4 初診時居住地

大阪府	699	北海道	0
(大阪市内426)		東北	1
滋賀県	10	関東甲信越	16
京都府	76	北陸	4
兵庫県	129	東海	9
奈良県	26	中四国	12
和歌山県	15	九州	2
		海外	1

図-5 初回療法における NRTI 使用状況

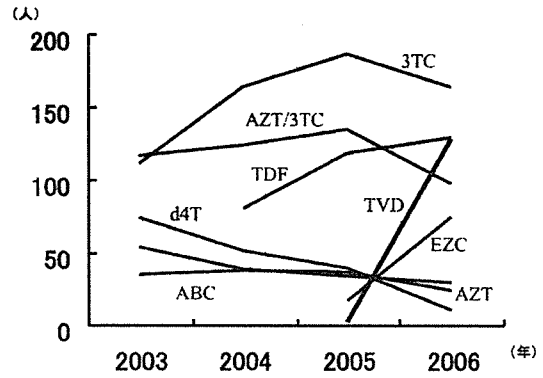


図-6 初回療法における PI および NRTI 使用状況

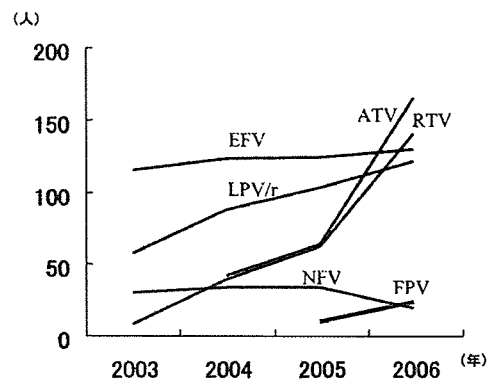


図-7 年度別処方組み合わせ上位の推移

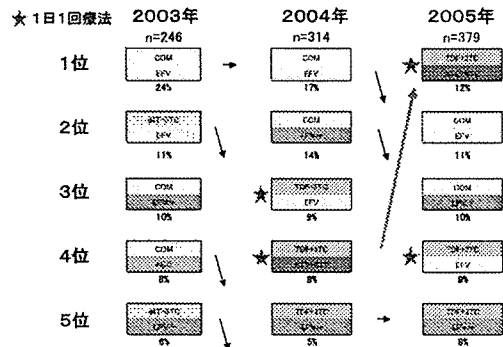


図-8 初診患者における薬剤耐性変異

プロテアーゼ

コドン	10	13	16	20	33	35	36	43	60
変異数	29	13	6	1	8	21	35	2	4
%	21.8	9.8	4.5	0.8	6.0	15.8	26.3	1.5	3.0
コドン	62	63	64	69	71	74	77	82	93
変異数	28	121	7	14	20	2	48	3	72
%	21.1	91.0	5.3	10.5	15.0	1.5	36.1	2.3	54.1

逆転写酵素

コドン	36	62	65	67	69	70	74	75	98	100	101
変異数	1	1	1	1	10	1	2	1	7	1	2
%	0.8	0.8	0.8	0.8	7.5	0.8	1.5	0.8	5.3	0.8	1.5
コドン	103	108	108	115	179	181	184	190	210	215	219
変異数	1	14	3	1	21	1	2	2	3	7	1
%	0.8	10.5	2.3	0.8	15.8	0.8	1.5	1.5	2.3	5.3	0.8

分担研究者 健山正男（琉球大学大学院医学研究科 感染症態制御学講座

分子病態感染症学分野 助教授）

研究協力者 比嘉 太、原永修作、仲村秀太、宮城一也、那覇 唯、仲宗根 力、赤嶺盛和、
玉寄真紀、上江洲香織、前城達次、藤田次郎

研究要旨

今回、我々は沖縄県における薬剤耐性の現状を把握するため、新規感染者における薬剤耐性サーベイランスを実施した。対象期間は2004年10月1日～2007年1月31日までで、同期間に27人が当院にHIV/AIDS患者として初診外来受診した。その内、新規感染者の定義を満たすのは19人であった。14人に薬剤耐性HIV-1検査を施行した。検査結果として4人に耐性関連変異は認められたが薬剤耐性HIV-1は検出されなかった。琉球大学附属病院はエイズ拠点病院として県内の患者の70%を診療しており当院における検査結果は県内の状況を反映していると考えられ、沖縄県は今回の検査結果からは薬剤耐性HIV-1の未浸淫地域と推定された。

A.研究目的

新規 HIV 感染者における薬剤耐性変異の頻度を調査し、当院の HIV 感染者/AIDS 患者における HIV 伝搬の疫学的傾向を明らかにする。

B.研究方法

1. 当院を日本薬剤耐性 HIV-1 調査研究グループとして登録した。
2. 新規登録患者の定義：対象期間内（2004年10月1日以降2007年1月31日）に初めて感染が確認された者。
3. 検体のサンプリングポイント。
 - a). 初診時
 - b). 治療開始時
4. 新規登録患者において、本調査の参加の同意を文書にて取得した。
5. 3. a)または b)のポイントで採血し国立感染症研究所エイズ研究センター第2研究グループにて薬剤耐性 HIV-1 検査を行った。

6.倫理面での配慮

1) 個人情報の取得について

利用目的を明確にしたうえで、必要とする範囲内に限り、適法かつ公正な手段によって、個人情報を取得した。

2) 個人情報の利用について

個人情報を取得する際に示した本研究の範囲内で、研究の遂行上、必要な限りにおいて利用した。

3) 個人情報の第三者提供について

取得した個人情報は、適切に管理し、個人情報保護法に定める例外事項を除き、本人の同意を得ることなく、第三者に提供、開示しなかった。

4) 個人情報の開示・訂正・削除・利用停止について

本人から自己の個人情報について、開示・訂正・削除・利用停止などの申し出を受けた場合は、すみやかに必要な措置をとる旨説明したが、研究の全期間を通して申し出はなかった。

5) 個人情報の管理について

個人情報の紛失、流出、改ざんおよび漏洩などを防ぐため、個人情報を保有するのは研究代表者のみとし、情報管理上問題は発生しなかった。

6) 法令等の順守について

個人情報保護に関して適用される法令、国のガイドラインを熟読し順守した。

C.研究結果

対象期間内に当院外来を受診した HIV/AIDS 患者は 27 人であった。その内、新規登録患者の定義を満たした 19 人中、14 人を今回の調査に登録し検査を施行した。

検体のサンプリングポイントは、全員、治療開始前に設定した。

薬剤耐性 HIV-1 検査を施行した 14 人の背景

と結果を表に示した。性別では全員が男性で平均年齢は 38.9 歳であった。感染経路は 13 人が同性間、1 人が異性間感染であった。病期は HIV キャリアーが 8 人、AIDS が 6 人であった。CD4 数の平均値は $231.6/\mu\text{l}$ 、一方 HIV-RNA 定量の平均値は 4.9×10^4 コピー/ml であった。また HIV-1 薬剤耐性検査では 4 人に耐性関連変異は認められたが、全員に薬剤耐性は認めなかった。HBV との重複感染は 1 人に認めた。

D. 考察

沖縄県における HIV 感染者の増加は 1999 年より顕著となり、2006 年までの人口 10 万人あたりの患者数は HIV は 3.53 人、AIDS は 2.72 人と前者で全国 16 番目、後者で 10 番目と高い（平成 17 年エイズ発生動向年報：厚生労働省エイズ動向委員会）。特に AIDS 患者では西日本で最も高い発生率となっている。

琉球大学附属病院はエイズ拠点病院として県内の患者の 70% 以上を診療しており当院における検査結果は県内の状況を反映していると思われるので、今回の検査結果から沖縄県は現時点において薬剤耐性 HIV-1 の未浸淫地域と推定された。しかしながら、本研究は 2004 年 10 月 1 日～2006 年 1 月 31 日と 2006 年 2 月 1 日～2007 年 1 月 31 日の 2 回の期間に分けて行ったが、後期では薬剤耐性と判定された HIV-1 は検出されなかったが耐性関連変異は 5 人中 4 人に認められた。当院の初診患者の届出地は 21% が県外であり、沖縄県全体では 30% を占めている。本県は観光地でもあり国内、国外からの人の入域が活発であり、薬剤耐性 HIV-1 が持ち込まれる可能性が危惧されている。引き続き新規登録患者の薬剤耐性調査を行うことが必要と思われた。今後は県内における拠点病院、保健所をネットワーク化して本調査に組み込み、県内における全ての新規登録患者の調査を行うことが必要と思われた。

E. 結論

新規患者における HIV-1 薬剤耐性検査を施行した 14 人では薬剤耐性 HIV は検出されなかった。沖縄県は現時点（2007 年 1 月 31 日現在）において薬剤耐性 HIV-1 の未浸淫地域と推定された。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

1. 論文発表
無し

2. 学会発表

- a) 原永修作、曾木美佐、當山真人、新里 敬、比嘉 太、健山正男、斎藤 厚。上腸間膜静脈および門脈血栓症をきたした AIDS 症例の 1 例。感染症誌、79：217-218、2005。
- b) 原永修作、古堅 誠、城間留奈、當山真人、新里 敬、比嘉 太、健山正男、斎藤 厚。当院における肺限局の免疫再構築症候群の検討。日呼吸会誌、43：250、2005。
- c) 比嘉 太、原永修作、屋良さとみ、古堅 誠、城間留奈、當山真人、東 正人、新里 敬、仲村浩明、健山正男、兼島 洋、斎藤 厚。ニューモシスチス肺炎における気管支内視鏡診断。気管支学。27：201、2005。
- d) 原永修作、健山正男。HAART 開始後に二度の免疫再構築症候群をきたしたと考えられる肺 MAC 症の 1 例。日本エイズ会誌。7:316、2005。
- e) 仲村秀太、那覇、宮城一也、原永修作、比嘉太、健山正男、藤田次郎。Tenofovir(TDF) 過量内服にて急性腎不全を呈し血液透析にて改善した 1 例。日本エイズ会誌。8:350、2006。
- f) 那覇唯、原永修作、仲村秀太、宮城一也、比嘉太、健山正男、藤田次郎。免疫再構築症候群を呈した AIDS 合併 Kaposi 肉腫の 1 例。日本エイズ会誌。8:367、2006。
- g) 藤野真之他。：2003-2005 年の新規 HIV-1 感染者における薬剤耐性頻度の動向。日本エイズ会誌。8:409、2006。
- h) 宮城京子、健山正男、当真美奈子他。：当院における HIV/AIDS 看護の意識調査。日本エイズ会誌。8:387、2006。
- i) 宮城一也、原永修作、仲村秀太、比嘉太、健山正男、藤田次郎。CHOP 療法が奏功した AIDS 合併 anaplastic T cell Lymphoma の 1 例。日本エイズ会誌。8:379、2006。
- j) 辻真理子、山本政弘、城崎真弓、井上緑、健山正男。ブロック拠点病院、拠点病院、行政間の連携における出張研修の効果。日本エイズ会誌。8:334、2006。

H. 知的財産権の出願・登録状況

無し

1. 特許取得
無し
2. 実用新案登録
無し
3. その他
無し

表. 新規登録患者の背景と HIV 薬剤耐性結果

No	性別	年齢	感染経路	stage	CD 4 数/ μ l	HIV RNA 定量 (コピー/ml)	耐性関連変異	薬剤感受性判定
1	男	43	同性間	carrier	313	3.3×10^4	無し	無し
2	男	23	同性間	carrier	269	1.1×10^4	無し	無し
3	男	41	同性間	carrier	280	7.2×10^3	無し	無し
4	男	45	同性間	carrier	964	1.2×10^4	無し	無し
5	男	26	同性間	carrier	261	5.1×10^3	無し	無し
6	男	41	同性間	carrier	133	1.5×10^3	無し	無し
7	男	48	同性間	AIDS	66	4.1×10^4	無し	無し
8	男	38	同性間	AIDS	113	3.1×10^4	無し	無し
9	男	51	同性間	AIDS	76	7.0×10^4	無し	無し
10	男	36	同性間	AIDS	6.6	3.1×10^5	R41K	無し
11	男	34	同性間	AIDS	39.3	1.2×10^4	L63P, V77I	無し
12	男	34	同性間	carrier	279	1.2×10^3	無し	無し
13	男	29	同性間	carrier	359	9.5×10^3	L63P, V77I	無し
14	男	56	異性間	AIDS	84	1.5×10^5	L10I, M36I	無し