

- における早期医療機関受診に向けての基礎調査. 第 21 回日本エイズ学会学術集会・総会 (広島) (平成 19 年 11 月)
- 4) 菊池恵美子、内海眞、濱口元洋. 名古屋医療センターにおける 2006 年新規 HIV 陽性 MSM 患者動向. 第 21 回日本エイズ学会学術集会・総会 (広島) (平成 19 年 11 月)
- 5) 久高祐一、高橋昌明、奥村直哉、平野淳、寺畑奈美、坂野和英、横幕能行、間宮均人、濱口元洋、金田次弘. 日本人 HIV-1 感染患者におけるテノホビル血中濃度の腎機能に及ぼす影響. 第 21 回日本エイズ学会学術集会・総会 (広島) (平成 19 年 11 月)
- 6) 金田次弘、藤崎誠一郎、藤崎彩恵子、伊部史朗、服部純子、清水香代子、中村和代、横幕能行、間宮均人、濱口元洋. ウイルス増殖を抑制しているにも拘わらず、CD4 陽性 T リンパ球の回復が不十分な症例の原因の探索. 第 21 回日本エイズ学会学術集会・総会 (広島) (平成 19 年 11 月)
- 7) 寺畑奈美、奥村直哉、久高祐一、平野淳、高橋昌明、横幕能行、間宮均人、安岡彰、濱口元洋. 結核性胸膜炎患者に RFP と EFV を併用した 1 症例. 第 21 回日本エイズ学会学術集会・総会 (広島) (平成 19 年 11 月)
- 8) 野口明子、山田由美子、平野淳、横幕能行、菊池恵美子、間宮均人、濱口元洋. 地域医療従事者との連携により在宅療養が継続できている 2 症例. 第 21 回日本エイズ学会学術集会・総会 (広島) (平成 19 年 11 月)
- 9) 服部純子、重見麗、伊部史朗、奥村直哉、一三武二郎、横幕能行、間宮均人、濱口元洋、金田次弘. 薬剤耐性 HIV-1 の出現と伝播. 第 21 回日本エイズ学会学術集会・総会 (広島) (平成 19 年 11 月)
- 10) 横幕能行、間宮均人、濱口元洋、野口明子、山田由美子、奥村直哉、平野淳、久高祐一. 悪性リンパ腫合併が考慮された結核性胸膜炎発症 HIV 急性感染症の一例と名古屋医療センター受診 HIV 感染者の抗酸菌感染症合併例の概略. 第 21 回日本エイズ学会学術集会・総会 (広島) (平成 19 年 11 月)
- 11) 伊部史朗、藤崎誠一郎、清水香代子、中村和代、服部純子、重見麗、藤崎彩恵子、横幕能行、間宮均人、濱口元洋、金田次弘. 名古屋地区の未治療患者に検出された HIV-1 の分子疫学解析. 第 21 回日本エイズ学会学術集会・総会 (広島) (平成 19 年 11 月)
- 12) 藤崎誠一郎、椎野禎一郎、清水香代子、中村和代、伊部史朗、服部純子、重見麗、藤崎彩恵子、横幕能行、間宮均人、濱口元洋、金田次弘. 名古屋で検出されたユニークサブタイプ B HIV-1. 第 21 回日本エイズ学会学術集会・総会 (広島) (平成 19 年 11 月)
- 13) 大出裕高、横幕能行、松山翔、伊部史朗、藤崎誠一郎、間宮均人、濱口元洋、金田次弘、星野忠次. コンピュータ・シミュレーションで薬剤耐性 HIV-1 に対する薬効の予測は可能か?. 第 21 回日本エイズ学会学術集会・総会 (広島) (平成 19 年 11 月)
- 14) 杉浦互、瀧永博之、吉田繁、千葉仁志、小池隆夫、伊藤俊広、原孝、佐藤武幸、石ヶ坪良明、上田敦久、近藤真規子、今井光信、貞升健志、長島真

美、福武勝幸、山元泰之、田中理恵、
加藤信吾、宮崎菜穂子、岩本愛吉、藤
野真之、仲宗根正、巽正志、椎野禎一
郎、岡慎一、林田庸総、服部純子、伊
部史朗、藤崎誠一郎、金田次弘、濱口
元洋、上田幹夫、正兼亜季、大家正義、
下条文武、田邊嘉也、渡辺香奈子、白
阪琢磨、栞原健、森治代、小島洋子、
中桐逸博、高田昇、木村昭郎、南留美、
山本政弘、松下修三、健山正男、藤田
次郎。2003-2006年の新規 HIV-1 感染
者における薬剤耐性頻度の動向。第 21
回日本エイズ学会学術集会・総会（広
島）（平成 19 年 11 月）

HAART 著効患者における末梢 CD4 陽性 T リンパ球中に残存するプロウイルスコピー数と全長 HIV-1 mRNA の検討

分担研究者: 鈴木康弘 東北大学大学院医学系研究科・感染症病態学分野 講師

研究協力者 立川夏夫 国立国際医療センター・治療研究センター 医療情報室室長

研究要旨

HAART 治療へのコンセンサスは現在“一生継続”であり、これは潜伏感染細胞 HIV-1 プロウイルスの減衰シミュレーションの結果に基づいている。本研究班では HAART 著効患者を対象にして末梢 CD4 陽性 T リンパ球中に残存するプロウイルスコピー数と全長 HIV-1 mRNA を定量し、1 コピー当りのプロウイルスの HIV-1 mRNA 転写能(活動指数)を算出し、活動指数と残存プロウイルス量が HAART 中断のエビデンスになるかを検討している。本年度は、本班の研究遂行のための倫理委員会書類を準備、提出し受理された。その後、本研究班の患者抽出クライテリアに基づき患者の抽出を終えた後に、10 名ほどの患者にサンプルについては実際に測定を終えたので、その結果を報告する。

A. 研究目的

HAART 治療へのコンセンサスは現在“一生継続”であり、これは潜伏感染細胞 HIV-1 プロウイルスの減衰シミュレーションの結果に基づいている。本研究班では HAART 著効患者を対象にして末梢 CD4 陽性 T リンパ球中に残存するプロウイルスコピー数と全長 HIV-1 mRNA を定量し、1 コピー当りのプロウイルスの HIV-1 mRNA 転写能(活動指数)を算出し、活動指数と残存プロウイルス量が HAART 中断のエビデンスになるかを検討している。

B. 材料・方法

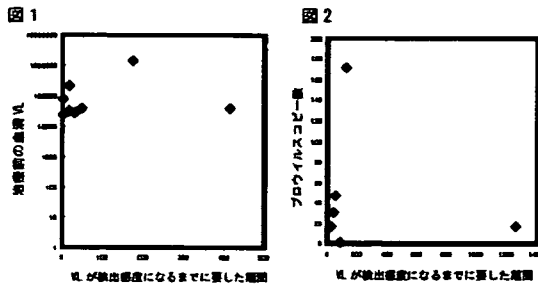
HAART 著効患者は国立国際医療センター、治療研究センターのデータベースをもとに選択 50 名、抽出し、そのうちインフォームドコンセントの上で同意が得られた患者 9 名の末梢血サンプルを解析した。患者サンプル末梢血から buffy coat を採取し、CD4 陽性 T リンパ球を単離し、半数の細胞から DNA を抽出し、HIV-1 プロウイルスをリアルタイム PCR 法にて定量した。残りの半数の細胞からは RNA を抽出し、

逆転写反応させ cDNA を合成した後、HIV-1 DNA をリアルタイム PCR 法にて定量した。

C. 研究結果・考察

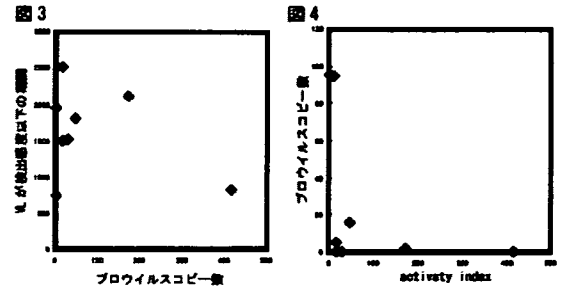
HAART 著効患者は ACC のデータベースをもとに選択 50 名、抽出したが、そのうちインフォームドコンセントの上で同意が得られた、患者 9 名の末梢血サンプルを解析した(うち一名は急性感染症後の STI 症例)。

患者 8 名の症例の HAART 後のウイルス検出感度以下の日数は 4.4 ± 1.55 年であった。現時点ではサンプル数が少なくて明らかなことは言えないがいくつかの傾向が示された。図 1 に示すように HAART 開始直前の VL 数と末梢 CD4 陽性 T リンパ球中に残存するプロウイルスコピー数との間に明らかな相関関係は認められないように思われた。また、HAART 開始し血清中の VL が検出感度以下になるまでにかかった日数と末梢 CD4 陽性 T リンパ球中に残存するプロウイルスコピー数との間にも明らかな相関関係は認められないように思われた(図 2)。これに対し



て、HAART 開始し血清中の VL が検出感度以下に抑えられている期間が長いほど末梢 CD4 陽性 T リンパ球中に残存するプロウイルスコピー数が少ない傾向が認められる様に思われた(図 3)。この点については以前に報告されたレポートでは、潜伏感染細胞 HIV-1 プロウイルスの減衰は極めてゆっくりとしているという事が示されており、現在まで多くの追試がなされている。今回、我々が検出したプロウイルスコピーでは実際には、細胞内にあるウイルス DNA コピー数を全て測定しているの、この検査ではプロウイルス以外にも細胞に侵入し宿主遺伝子に組み込まれる以前のウイルス DNA 数も含まれているという点には注意しなければならない。しかし、細胞あたりの転写活性を示す activity index と我々が測定したプロウイルスコピーには明らかな相関が認められないように思われたが(図 4)、この結果より、少なくとも CD4 陽性 T リンパ球で HIV-1 ウイルスが大量に産生されてそれが再感染し、細胞質にとどまっている可能性は低いと考えられる。ただし、CD4 陽性 T リンパ球以外の細胞で HIV-1 が作られて、それが、CD4 陽性 T リンパ球に感染してウイルス DNA コピー数を増加させている可能性は完全には否定できない。ゲノムに組み込まれたプロウイルスコピーのみの測定は実際には非常に難しく、測定も極めて煩雑なので、ウイルスが強く抑制されている条件では、我々の測定法のほうが高い再現性で、実際の“プロウイルスコ

ピー”に近い値を測定している可能性もある。CD4 陽性 T リンパ球以外の細胞で HIV-1 産生の可能性を否定する事ができれば、一般に考えられているより速い速度で、HIV-1 潜伏感染細胞の減衰が起きている事を証明することが出来るかもしれない。



最後に activation index と末梢 CD4 陽性 T リンパ球中に残存するプロウイルスコピー数の関係を調べると、2 例ではあるがプロウイルスコピー数が高いのに activation index が低い症例があるのは注目に値する。これは、細胞内にウイルスがあるにもかかわらず転写が十分に起きていない可能性を示唆しており、①integrate される前に状態で細胞質内に HIV-1 genome がとどまっている、②integrate された virus が defective となっている、③ウイルスの転写が抑制されている、以上のいずれかの可能性を示唆していると思われた。以前の報告で HIV-1 感染後、時間が経つにつれ、A-T 変異がプロウイルス DNA に蓄積する事が報告されている。この現象は APOBC-G とその family member によりもたらされていると今日では考えられているが、今回の case でもそのような変異が蓄積しているかどうか検討する必要がある。一方 activity index が高いにも関わらずプロウイルスコピー数が低い症例が2例存在し、これは何らかの機序で末梢 CD4 陽性 T リンパ球の転写が活発に引き起こされている可能性が考えられ、重複する感染症等何らかの病態が存在しないか検討に値する。

いずれにしても現時点では症例数が十分でなく、今後、さらに症例を増やして詳細に検討していきたい。

D. 自己評価

本年度は予想されるほど症例サンプルを集める事が出来なかった来年度以降にしっかりとした症例数を確保していきたい。

E. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

特になし。

F. 研究発表

学会報告等

1. Bi, X., Suzuki, Y., Oka, S. High Frequency of Effector Memory Regulatory T Cells in Advanced HIV-1 Patients Is Probably Due to Their High Proliferation. CROI 2007 abstract #412
2. 鈴木康弘. 南アフリカ植物からの抗 HIV 活性成分の単離。BioExpo2007, Tokyo, June 20-22.
3. T Hattori, X Peng, O Usami, H Ling, M Zhuang, Y Suzuki. Isolation of CD4-independent HIV-1 from a patient with Pneumocystis pneumonia that can efficiently enter and replicate in primary cultured human hepatocytes through CXCR4. 4th IAS Conference, Austrakia
4. Andros Theo, 鈴木康弘、菊地 晴久、今村 淳治、大島 吉輝、服部俊夫. 南アフリカの薬用植物からの抗 HIV 成分の単離. 日本エイズ学会、広島、11月28日
5. 今村淳治、鈴木康弘、肖、宇佐美、Promjunyakul Warunya、服部俊. HIV-1 臨床分離株 SDA-1 は CD4 非依存性に初代培養肝細胞および B 細胞に感染増殖する. 日本エイズ学会、広島、11月28日
6. 鈴木康弘、横山 勝、佐藤裕徳、Promjunyakul Warunya、今村淳治、服部俊. CD4 非依存性 HIV-1 臨床分離株 SDA-1 の責任領域のコンピューター及び分子生物学的な解析. 日本エイズ学会、広島、11月28日

プロウイルス量測定 of 臨床的意義についての検討

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 渡邊 大 国立病院機構大阪医療センター 免疫感染症科
上平朝子 国立病院機構大阪医療センター 免疫感染症科医長

研究要旨

抗HIV療法（ART）を継続し血漿中HIV-RNA量（VL）が検出感度未満であるHIV-1感染症患者44名から研究参加の同意を得て、67検体に関して末梢CD4陽性Tリンパ球中のプロウイルス（HIV-DNA）量と同細胞内HIV-RNA量を測定した。HIV-DNA量は複数の測定においても再現性は良好であったが、HIV-RNA量は変動がみられた。HIV-DNA量はART導入前のCD4陽性リンパ球数や治療期間と逆相関を示した。またHIV-RNA量が感度未満となった症例を20症例認め、そのうち17症例はHIV-DNA量も低値（100コピー以下）であった。特に急性感染期にARTを導入した2症例はいずれもHIV-DNA量が感度未満を示した。以上のことからHIV-DNA量の測定はHIV感染症の経過のモニタリングに有用である可能性が示唆された。

A. 研究目的

抗HIV療法（ART）の開発によってHIV感染者の血漿中ウイルス量（VL）は検出感度を下回るまで抑制されるようになった。長期の抗HIV薬服用による毒性の蓄積や、薬剤耐性変異株の出現などの課題が残されているものの、HIV感染症はコントロール可能な慢性疾患になったと言える。HIV感染細胞の半減期に関する研究からは感染細胞をすべて駆逐するには平均73.4年の内服期間が必要とされ、生涯の抗HIV薬の服用の根拠とされている。しかし、それらの研究でも半減期には幅があり、個々の患者の感染細胞数の違いもあるため、感染細胞の存続期間も一律でよいのかは十分な議論がされていないのが実状である。すなわち潜伏感染として感染している細胞数が少ない症例などは73.4年を待たずに治癒されるはずである。今回、金田らによって開発された高感度定量法を用いて感染細胞の染色体に組み込まれたプロウイルス

スDNA（HIV-DNA量）と細胞質内のフリーのRNA（HIV-RNA量）の測定し、個々の病状と比較検討した。

B. 研究方法

当院免疫感染症科を受診中のHIV-1感染者のうち血漿中HIV-RNA量（VL）が検出感度（50copies/ml）未満で持続している患者を対象に、informed consentのもとに採血を行い、末梢CD4陽性Tリンパ球中のHIV-DNA量とHIV-RNA量を測定した。検体は感染性物質としてシーリングなどの防御を行ったうえで名古屋医療センターまで空輸した。名古屋医療センターで血液検体からCD4陽性Tリンパ球を分離し、細胞内のDNAおよびRNAを精製した。精製した核酸から、HIV-DNA量とHIV-RNA量を金田らによって開発された高感度のrealtime PCR法にて決定した。HIV-DNA量およびHIV-RNA量はCD4陽性Tリンパ球10の6乗個に含まれるコピー数と

して算出した。活動性指数 (A. I.) は HIV-RNA 量/HIV-DNA 量で算出した。これらと臨床情報 (VL 感度未満の持続期間, ART 導入前の CD4 陽性リンパ球数, ART 導入前の VL) との関連について統計学的な解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は疫学研究に相当し, 院内の倫理委員会に相当する受託研究審査委員会に研究課題「HAART 著効例における末梢 CD4 陽性 T リンパ球中の残存プロウイルス量とその転写活性の把握」を提出し承認を取得した。この審査委員会で審査・受理された方法で研究を遂行し, 具体的には文書での同意の取得や, 検体処理やデータ管理の際の匿名化などを行った。

C. 研究結果

ART を継続し, 長期間血中 VL が検出感度未満である HIV-1 感染症患者 44 名から研究参加の同意を得て, 67 検体に関して末梢 CD4 陽性 T リンパ球中の HIV-DNA 量, HIV-RNA 量と活動性指数を測定した。

短期間で複数回測定が可能であった 6 症例について, まず再現性と変動について検討した。HIV-DNA 量は数倍までの変動であり, realtime PCR 法を用いるという測定方法を考慮すると妥当な範囲と考えられた (表 1)。一方 HIV-RNA 量は 6 例中 4 例で 10 倍以上の変動を認めた。

次にデータの相関関係について検討した。HIV-DNA 量と HIV-RNA 量には正の相関を認め (図 1 ; Spearman's rank test, $\rho=0.5216$, $p=0.0003$), A. I. は大多数の症例で潜伏感染を示唆する 2.2 を下回った (図 2)。HIV-RNA 量は変動が大きく, A. I. は低値を呈することが多いため, 臨床情報との相関については HIV-DNA 量のみ検討した。HIV-DNA 量と ART 導入前の CD4 陽性リンパ球数は統計学的有意な逆相関を示した (図 3 ; Spearman's rank test, $\rho=-0.5690$, $p=0.0004$)。一方, ART 導入前の VL との相関は認めなかった (図は略)。次に VL 感度未満の持続期間との相関関係について検討した。ウイルス

学的治療失敗歴のある症例に関しては治療期間を決定することが困難なため解析から除外した。図 4 (Spearman's rank test, $\rho=-0.336$, $p=0.0452$) に示されるように弱いながらも有意な逆相関を認めた。

最後に測定値が感度未満である症例について検討した。HIV-RNA 量が感度未満となった症例を 20 症例認め, そのうち 17 症例は HIV-DNA 量が 100 コピー以下となった。HIV-DNA 量, HIV-RNA 量とも測定感度未満の症例を 3 症例認めた。急性感染期に ART を開始した症例は本研究に 2 例登録されているが, その 2 例とも HIV-DNA 量・RNA 量とも測定感度未満を示した。

D. 考察

金田らによって開発された方法を用いて末梢 CD4 陽性 T リンパ球中の HIV-DNA 量と HIV-RNA 量の測定を HAART 著効例に対して行った。HIV-RNA 量は変動が大きく, データ解析が困難であったが, HIV-DNA は再現性が良好であった。両者とも最終的には realtime PCR 法にて定量化を行うが, HIV-DNA 量の再現性が問題ないため, HIV-RNA 量の測定のみで変動を有する理由としては, 体内での変動・輸送時の RNA の安定性・cDNA 合成の効率の変化などが考えられる。HIV-RNA 量の解釈には採血条件などの設定も含め, 変動の要因を明らかにする必要があると思われる。

再現性が良好であった HIV-DNA 量は統計学的有意差をもって ART 導入前の CD4 陽性リンパ球数と VL 感度未満の持続期間に逆相関していた。回帰分析では図 3 および図 4 で示される数式となる。すなわち, CD4 陽性リンパ球数が約 78 個減少すればプロウイルス量は 2 倍に増加し, HAART を約 3.1 年内服すればプロウイルス量は半分に減少することを意味している。急性感染期で ART を導入した症例で HIV-DNA 量が特に低かったという観察もこの結果と合致している。単一の症例を長期間測定したデータがないため最終的な結論を出すことは不可能であるが,

今回得られた結果からはプロウイルス量の測定はHIV感染症の病期の進行や治療効果の判定にも有効である可能性を示していることになる。VLが感度未満に到達した症例においては抗ウイルス効果をモニタリングする方法がなく、この方法は治療中断の指標のみならずそれ以前の治療効果にも有用であると思われる。

E. 結論

末梢CD4陽性Tリンパ球数の残存プロウイルス量はART導入前のCD4陽性リンパ球数や治療期間と関連し、CD4陽性リンパ球やVLにとってかわるものではないが、HIV感染症のモニタリングに有用な第3の検査となりうる可能性が示唆され、さらに症例を増やしてその有効性や意義を明らかにしたい。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

該当なし。

H. 知的財産権の出現・登録状況

該当なし。

表1 HIV-DNA量とHIV-RNA量の変動

症例	回数	HIV-DNA	HIV-RNA
#1	1	32	34
	2	10	nd
#2	1	334	65
	2	195	265
#3	1	115	37
	2	88	3
#4	1	437	229
	2	707	9
	3	523	206
#5	1	nd	363
	2	nd	nd
#6	1	126	434
	2	175	nd

nd: 検出感度未満

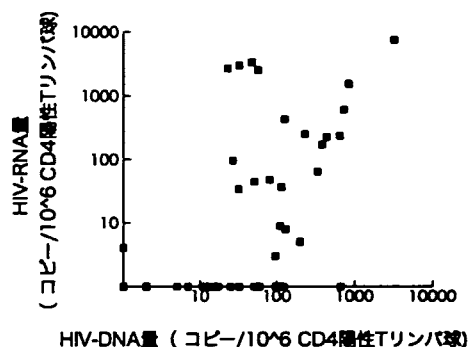


図1 HIV-DNA量とHIV-RNA量の相関

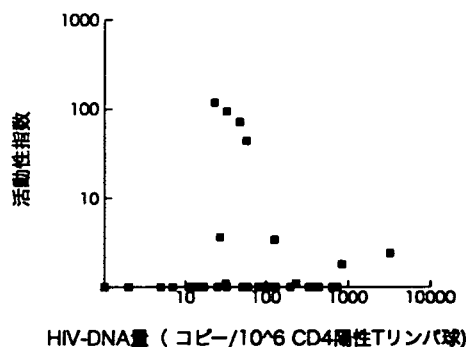


図2 HIV-DNA量と活動性指数

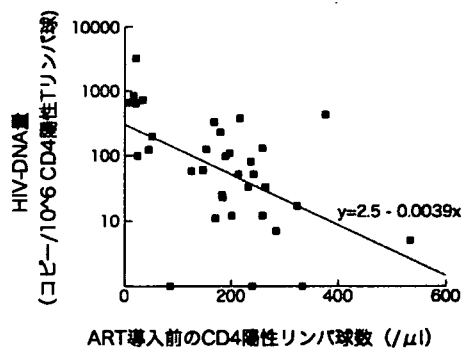


図3 ART導入前のCD4数との相関

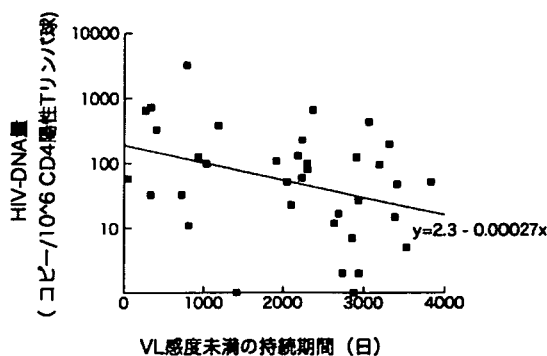


図4 VL感度未満の持続期間との相関

末梢 CD4 陽性 Tリンパ球中の残存プロウイルス量とその活動指数は
治療中断の指標となりうるかを明らかにする研究

分担研究者 南 留美、国立病院機構九州医療センター 医師

研究要旨

本研究は、HAART 著効患者の HIV-1 残存プロウイルス量(HIV-DNA)とその転写活性能(HIV-mRNA)から患者の HIV 感染病態を把握し、これらのパラメーターが治療中断のエビデンスとして利用できるかを検討することを目的とする。今年度は HAART 反応良好群 23 名について解析を行い、HIV-DNA 低値(<2 コピー/ 10^6 cells)、activity index 低値(very low)の症例は 2 例、認められた。経時的変化の検討では HIV-DNA は経時的に減少する傾向があったが、HIV-mRNA, activity index は症例により経時変化は様々であり、一定の傾向は認められなかった。急性期に HAART を開始した症例(2 名)は、2 年以内に HIV-RNA, activity index とともに感度以下になっていた。これらの値は個人内での変動もあり、正確な評価のためには、複数回の測定が必要だと考えられた。

A. 研究目的

多剤併用療法(HAART)により HIV-1 感染者の予後は大きく改善された。現在「HAART は一生継続」がコンセンサスになっているが、長期内服に伴う副作用や、薬剤耐性が問題になってきており、抗 HIV 薬を一生にわたり服用することは、患者および社会へ大きな負担をかけることになる。この視点からも、治療経過が良好な患者で HAART 中断を判定できるエビデンスの開発と実用化が待たれている。本研究は、HAART 著効患者の HIV-1 残存リザーブサイズ(HIV-DNA)とその転写活性能(HIV-mRNA)から患者の HIV 感染病態を把握し、これらのパラメーターが治療中断のエビデンスとして利用できるかを検討することを最終的な目的とする。今年度は、治療経過良好な症例で HIV-DNA および HIV-mRNA を測定し、解析、検討を行った。

B. 研究方法

対象は当院免疫感染症科を受診中で、抗 HIV 療法施行中の HIV-1 感染者のうち血中 HIV-1 RNA 量

が検出限度(50copies/ml)以下を維持している患者。informed consent のもとに採血を行い、HIV-1 プロウイルス(HIV-DNA)と HIV-1 mRNA の定量および塩基配列の決定を行う。測定は名古屋医療センターにて行うため検体をクール便にて名古屋医療センターに送付する。なお、この研究は、当院倫理委員会の承認を得ている(平成 18 年 7 月)。

C. 研究結果

1. 「末梢 CD4 陽性 Tリンパ球中の残存プロウイルス量とその活動指数」測定対象症例

治療経過良好な症例として 23 名を抽出し(うち 2 名は急性感染時期に治療開始)、HIV-DNA, HIV-mRNA の測定を行った。症例の内訳は、男性 19 名、女性 4 名、血友病 3 名、性感染 10 名、平均年齢 39.4 歳(25-63 歳)、平均 CD4 陽性 T 細胞数 $681/\mu\text{l}$ ($382-1215/\mu\text{l}$)、HIV-RNA 感度以下を持続している期間 4.2 年(0.3-8.4 年)であった。HIV-DNA 量は、平均 271 コピー/ 10^6 cells($2-1720/\mu\text{l}$)、HIV-mRNA は、平均 650 コピー/ 10^6 cells($0-738/10^6$ cells)、activity

index (HIV-DNA/HIV-mRNA) は 10.4 (very low-142) と症例により様々な値を示した。治療期間、性別、HIV-RNA が感度以下を継続している期間と HIV-DNA, HIV-mRNA, activity Index の間に有意な相関は認められなかった。急性期に HAART を開始した 2 例は、ともに治療開始後 1 年未満であり、HIV-mRNA, activity Index は高値 (HIV-mRNA: 318 コピー/ 10^6 cells, 1707 コピー/ 10^6 cells, activity Index: 16.8, 46.9) であったが、HIV-DNA は低い傾向があった (19 コピー/ 10^6 cells, 36 コピー/ 10^6 cells)。対照として HAART 開始後、CD4 陽性 T 細胞数の回復が不良な症例 6 例にて HIV-DNA, HIV-mRNA, activity Index を測定し比較したが、治療反応良好群との間に有意な差は認められなかった。なお、治療中断対象症例になり得る HIV-DNA 低値 (<2 コピー/ 10^6 cells)、activity index 低値 (very low) の症例は、今回の検討では 2 例、認められた。

2. 経時的変化の検討

2004 年以降、HIV-DNA, HIV-mRNA, activity Index を複数回、測定した症例が 10 例あった。HIV-DNA は 10 例中 9 例において経時的に減少する傾向があったが、HIV-mRNA, activity Index は症例により経時変化は様々であり、一定の傾向は認められなかった。急性期に HAART を開始した 2 例においては、初回測定から数ヶ月後の測定にて HIV-DNA, HIV-mRNA, activity Index すべてが低下していた (測定感度以下)。

D. 考察

今回の検討では、治療反応良好群にて測定を行ったが、HIV-DNA, HIV-mRNA, activity Index は、症例により様々な値をとり、一定の傾向は認められなかった。また、HAART による CD4 陽性 T 細胞数の回復が不良な群との比較でも有意な所見は得られなかった。しかし、同一症例内で経時的に測定すると治療の経過とともに HIV-DNA は低下する傾向があった。また、昨年施行した治療中断例での検討においては、成功例では HIV-DNA は低値であった。これらのことより末梢 CD4 陽性 T リン

パ球中の HIV-DNA は治療中断の指標となる可能性がある。HIV-mRNA, activity Index は、個人内での変動もあり、正確な評価のためには、複数回の測定が必要だと考えられた。急性期に HAART を開始した症例では HIV-DNA は低値であり HIV の DNA 内への組み込みがまだ行われていないためと考えられた。今回測定した 2 症例とも HAART 開始後、2 年以内に HIV-RNA, activity index とともに感度以下になっており、急性期に HAART を開始した症例も治療中断対象症例になり得ると考えられた。今後、症例数を増やし検討していく必要がある。

E. 結論

- 末梢 CD4 陽性 T リンパ球中の HIV-DNA は治療中断の指標となる可能性がある。
- HIV-DNA, HIV-mRNA, activity Index は個人内でも変動があるため、複数回の測定が重要である。
- 当院通院中の HIV 感染者 23 名において検討を行った結果、2 名が HIV-DNA 低値、activity Index 低値であり、治療中断対象症例になり得る。
- 急性期に HAART を開始した症例も治療中断対象症例になり得る。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Fujisaki S., Fujisaki S., Ibe S., Asagi T., Ito T., Yoshida S., Koike T., Oie M., Kondo M., Sadamasu K., Nagashima M., Gatanaga H., Matsuda M., Ueda M., Masakane A., Hata M., Mizogami Y., Mori H., Minami R., Okada K., Watanabe K., Shirasaka T., Oka S., Sugiura W. and Kaneda T., Performance and Quality Assurance of Genotypic Drug-Resistance Testing for Human Immunodeficiency Virus Type 1 in Japan., Japanese Journal of Infectious Diseases, 60,113-117, 2007
2. 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 Res.*, 75(1), 75-82, 2007

- 藤崎誠一郎, 藤崎彩恵子, 伊部史朗, 浅黄司, 伊藤俊広, 吉田繁, 小池隆夫, 大家正泰, 渡邊香奈子, 正兼亜季, 上田幹夫, 潟永博之, 松田昌和, 貞升健志, 長島真美, 岡田清美, 近藤真規子, 秦真美, 溝上泰司, 森治代, 南留美, 白阪琢磨, 岡慎一, 杉浦互, 金田次弘
日本における HIV-1 遺伝子型薬剤耐性検査のコントロールサーベイ、日本エイズ学会誌, 9(2)136-146, 2007

2. 学会発表

- Human herpesvirus 8 DNA load in leukocytes of HIV-1 infected patients: Correlations with thrombocytopenia. Rumi Minami, Soichiro Takahama, Hisashi Ando, Masahiro Yamamoto, 8th International Congress on AIDS in Asia and the Pacific, Aug 19-23, 2007, Colombo
- Westren blot 法にて長期間陰性が持続している HIV-1 陽性者の 1 例, 南留美, 高濱宗一郎, 安藤 仁, 山本政弘, 第 19 回日本エイズ学会, 11 月 28-30 日、広島
- HAART による脂質代謝異常と高分子アディポネクチンの関連, 南留美, 安藤 仁, 高濱宗一郎, 山本政弘, 第 19 回日本エイズ学会, 2007 年 11 月 28-30 日、広島
- 当院における HAART 導入患者での骨粗鬆症の評価, 高濱宗一郎, 山本政弘, 南留美, 安藤 仁, 城崎真弓, 長与由紀子, 第 19 回日本エイズ学会, 2007 年 11 月 28-30 日、広島
- 腹部超音波による脂肪肝の有無と抗 HIV 療法に関する検討, 安藤 仁, 山本政弘, 南留美, 高濱宗一郎, 城崎真弓, 長与由紀子, 第 19 回日本エイズ学会, 2007 年 11 月 28-30 日、広島
- 当院での HIV 感染症患者におけるメンタルヘルスについて, 辻 麻理子, 城崎真弓, 長与由紀子, 南留美, 高濱宗一郎, 安藤 仁, 井上 緑, 山本政弘, 第 19 回日本エイズ学会, 2007 年 11 月 28-30 日、広島
- 2003-2006 年の新規 HIV-1 感染者における薬剤耐性頻度の動向, 杉浦 互, 潟永博之, 吉田繁,

南留美, 山本政弘ら, 第 19 回日本エイズ学会, 2007 年 11 月 28-30 日、広島

- 当院における HIV-1 急性感染患者 8 例の検討, 高濱宗一郎, 南留美, 山本政弘, 渡邊秀之, 宮村知也, 末松栄一, 第 276 回九州地方会, 1 月 13 日、福岡

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

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

末梢 CD4 陽性 T リンパ球中の残存プロウイルス量とその活動指数は治療中断の
指標となりうるかを明らかにする研究

分担研究者 伊藤 俊広 仙台医療センター血液内科医長
研究協力者 佐々木 悟 仙台医療センター 検査科技師

研究要旨

対象患者の選定にあたり、ウイルス抑制期間 3 年以上、CD4 陽性細胞数：500/ μ l 以上を基準にしたところ 7 例の症例が対象例として選択された。この基準は当施設における HAART 施行中の患者を対象に CD4 細胞数とウイルス抑制期間の関連性の検討結果を踏まえたものであるが、本研究における対象例の選択にあたり、一時点でのウイルス量・CD4 細胞数だけでなく期間についても考慮すべきことが示唆された。HAART 中断による患者のメリットは大きい、指標がないため、積極的な HAART 中断は難しい。今後臨床的前向き検討をおこなっていくにあたり、残存プロウイルス量とその活動指数についての基礎的検討を十分に行っていく必要がある。

A. 研究目的

1990 年代後半から始まった核酸系逆転写酵素阻害剤 (NRTI) とプロテアーゼ阻害剤 (PI) もしくは非核酸系逆転写酵素阻害剤 (NNRTI) を組み合わせた HIV に対する多剤併用療法 (HAART) は非常に有用であり、HIV 感染症は予後が確実に改善し、慢性疾患としてとらえられるようになった。HAART により HIV の増殖をほぼ完全に抑え続けても、生体内から HIV を駆逐するためには数十年かかるといわれており治療に導くには HAART を一生涯継続する必要性が強調されている。他方 HAART の長期服用による弊害として代謝性副作用や服用疲れによるアドヒアランスの低下、それに由来する耐性ウイルスの出現などが問題になっており、もし薬剤中断についての安全性を示す証拠が得られれば、感染者の負担 (精神的、肉体的、社会的) の軽減に大いに寄与するに違いない。

本研究の目的は HAART 著効患者を対象にして末梢 CD4 陽性 T リンパ球中に残存しているプロウイルスコピー数と全長 HIV-1 mRNA を定量し、1 コピー当りのプロウイルスの HIV-1 mRNA 転写能 (活動指数) を算出し活動

指数と残存プロウイルス量が HAART 中断のエビデンスになるかを検討することである。平成 19 年度は昨年度同様、本研究の対象となりうる患者の選定のため調査・検討を行った。

B. 研究方法

研究対象: HAART により血漿 HIV ウイルス量 (VL) が測定限界以下に抑制され、かつ CD4 リンパ球数の回復が目覚しい HAART 著効例である。これに加え、様々な経緯で治療中断を行なった成功例と失敗例も対象とする。CD4 陽性細胞の精製: EDTA 加末梢血より StemSep14052 を用い精製。DNA と RNA の抽出および精製: DNA はキアゲン Blood mini kit を用いて抽出・精製する。RNA はトリゾールにて抽出する。リアルタイム PCR 法による定量: 主任研究者らにより開発された高感度リアルタイム PCR 法の検出限界は 2 コピー/ 10^6 細胞である。この方法により、末梢 CD4 陽性 T リンパ球中に残存している HIV-1 プロウイルスコピー数と全長 HIV-1 mRNA のコピー数を高感度で定量する。プロウイルスの活動度: 残存プロウイルス 1 コピー当りの HIV-1 mRNA

転写活性を活動指数(全長 HIV-1mRNA コピー数/プロウイルスコピー数)で表現する。塩基配列の決定：プライマーやプローブとのミスマッチにより定量値が過小評価される可能性があるのでプライマー、プローブ領域の塩基配列を決定した上で定量値の妥当性を評価する。必要に応じてプロウイルスの全長塩基配列を決定する。

(倫理面への配慮)

本研究を進める上で患者の協力は不可欠である。研究の必要性と意義を十分説明し理解と協力を得ることを前提とする。施設倫理委員会に研究計画書を提出し、審査・承認を得た上で研究を開始する。研究参加同意書には患者の自筆でサインをお願いし、同意書原本は主治医もしくは施設担当責任者の下で保管することを義務とする。検査結果は個人情報保護の観点から漏出しないよう厳重に管理する。

研究結果

対象例の条件として、血漿 HIV ウイルス量が測定限界以下 (VL<50 copies/ml) である期間が3年以上で、CD4 陽性リンパ球数>500/ μ lを1年以上維持している症例とした場合、7症例が選択された。すべて男性であった。感染経路、初診時病期、初診時年齢(y)、治療開始時 CD4 陽性細胞数 (μ l)、治療開始時 HIV-1 ウイルス量 (コピー/ml)、平成19年6月時点(本調査時点)における直近の CD4 陽性細胞数 (μ l)、HIV-1 ウイルス量<50 コピー/ml 到達後から調査時までの期間 (Mo) の順に記載する。

症例1：血液製剤、無症候性キャリアー、37、411、1000、730、74。

症例2：血液製剤、無症候性キャリアー、43、不明、30000、748、72。

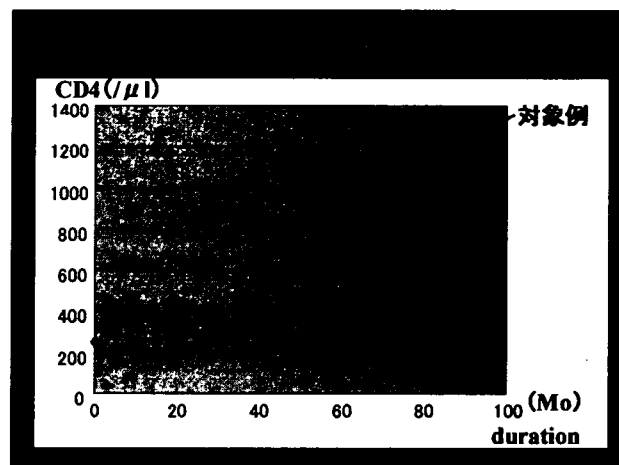
症例3：血液製剤、無症候性キャリアー、28、354、27000、1030、76。

症例4：血液製剤、無症候性キャリアー、33、206、76000、533、76。

症例5：男性同性間性交渉、無症候性キャリアー、30、390、不明、521、52。

症例6：男性同性間性交渉、無症候性キャリアー、25、181、40000、618、55。

症例7：男性同性間性交渉、AIDS、42、11、470000、739、50。



また、図に示すごとくウイルス量が測定限界以下 (<50 コピー以下) に抑制されてからの期間が長いほど CD4 陽性細胞数は高値を呈した。

C. 考察

現在 HIV 感染症の治療コンセンサスは HAART 開始後はアドヒアランスを保持し、中断せず服用し続けることとなっている。が、数ある臨床例の中には、すこぶる良好にコントロールされ中断可能ではないかと思わせる症例や、何らかの理由で治療中止後も VL の著明な増加をきたさず CD4 の低下もきたさないものが存在しているのは確かであり、もし HAART 中断が可能であれば患者の受けるメリットは非常に大きい。しかしながら、現在治療中断にあたっての指標はないため、積極的な HAART 中断は困難である。HIV プロウイルスの活動指数が中断の指標となりうるかどうかの検討は最終的には対象例に対するインフォームドコンセントを得た上での臨床治験となるので、そこにいたるまでの基礎的検討を充分に行う必要がある。

本年度は昨年度より対象の選択条件をきびしくした(ウイルス量抑制期間>3年、CD4細

胞数 $>500/\mu l$) が、それでも7例の症例が選択された。我々の検討ではウイルス抑制期間が長いほどCD4細胞数が高い傾向にあることから症例選択にあたってはHAARTの期間やウイルス測定限界以下の期間なども考慮すべきことが示唆された。今後臨床的前方向的な研究の基礎的検討のために対象例についてのHIVプロウイルス活動指数を積極的に測定していく予定である。

D. 健康危険情報

なし

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Seiichiro F., Saeko F., Shiro I., Tsukasa A., Toshihiro I., et al. : Performance and quality assurance of genotypic drug resistance testing for human immunodeficiency virus type 1 in Japan Jpn.J.Infect.Dis., 60. 113-117, 2007
- 2) Gatanaga H., Ibe S., Minami R., Itoh T., et al. : Drug-resistant HIV-1 prevalence in patients newly diagnosed with HIV/AIDS in Japan. Antiviral Res. 75(1):75-82.2007
- 3) 藤崎誠一郎、藤崎彩恵子、伊部史郎、浅黄 司、伊藤俊広、他：日本におけるHIV-1遺伝子型薬剤耐性検査のコントロールサーベイ、日本エイズ学会誌 9、136-146、2007

2. 学会発表

- 1) 平野泰三、小池 彩、伊藤俊広、他：ITP経過中にクリプトコッカス髄膜炎を合併した1例：第183回日本内科学会東北地方会 青森 2007年9月1日
- 2) 小住好子、佐藤ともみ、伊藤俊広、他：当院における抗HIV療法(HAART)の変遷・実態・服薬援助：第46回日本薬学会東北支部大会 仙台 平成19年10月28日
- 3) 佐藤麻希、小住好子、佐藤ともみ、伊藤俊広、他：保険薬局における抗HIV療法/抗HIV薬についての意識調査

第61会 国立病院総合医学会 名古屋平成19年11月17日

- 4) 鈴木博義、清水 愛、伊藤俊広、他：AIDSに合併した原因不明の髄膜炎の1剖検例：第14回東北神経病理研究会 弘前大学医学部コミュニケーションセンター(弘前) 2007.10.6
- 5) 杉浦互、瀧永博之、伊藤俊広、他：2003-2006年の新規HIV-1感染者における薬剤耐性頻度の動向：第21回日本AIDS学会総会 広島 2007.11.30

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願

なし

2. 実用新案特許

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）

分担研究報告書

プロウイルス活動指数測定法の一般検査化のための基礎検討

研究協力者 伊部史朗 名古屋医療センター 臨床研究センター 血液免疫研究部 研究員
研究協力者 近藤恭子 名古屋医療センター 臨床研究センター 血液免疫研究部 研究員
研究協力者 加堂真由 名古屋医療センター 臨床研究センター 血液免疫研究部 研究員
研究協力者 和山行正 北里大塚バイオメディカルアッセイ研究所 ウイルス感染症解析
センター 検査部長・センター長
研究協力者 岡田清美 北里大塚バイオメディカルアッセイ研究所 検査部 感染特殊検査
室 課長
研究協力者 廣部雅美 北里大塚バイオメディカルアッセイ研究所 検査部 感染特殊検査
室 検査員
研究協力者 魚住利樹 北里大塚バイオメディカルアッセイ研究所 ウイルス感染症解析
センター 研究員

研究要旨

プロウイルス活動指数測定法を一般検査化するための基礎検討を行った。第一の課題として、Real-Time PCR 自体の感度を高めることにより、定量前 PCR を省略できるかどうかを検討した。その結果、HIV-1 DNA 及び human B2M コピー数を 5 コピー/tube まで高精度 (CV < 5%) に測定することが可能となり、現法の定量前 PCR の省略が可能になったと考える。第二の課題として、細胞から mRNA を精製して直接、ワンステップ RT Real-Time PCR を実施する HIV-1 mRNA 定量系の構築が可能かどうかを検討した。そのために、まず種々のワンステップ RT Real-Time PCR 試薬を用い検量線の作成を試みたが、いずれの試薬も 1000 コピー/tube 以下では安定したシグナルが得られなかった。ワンステップ RT Real-Time PCR による HIV-1 mRNA 定量系の構築においては、感度向上のために更なる検討が必要である。

A. 研究目的

我々は血中 HIV-1 RNA 量(viral load)が検出限度以下となった HAART 著効例を対象に CD4 陽性 T 細胞内の HIV-1 DNA 量と HIV-1 mRNA 量を定量し、プロウイルスの活動指数 (HIV-1 mRNA 量/HIV-1 DNA 量)が治療中断の指標として利用できるか否かを明らかにする研究を行っている。今回、このプロウ

イルス活動指数測定法を一般検査化するための基礎検討を行った。

B. 研究方法

現法の HIV-1 DNA 定量系では、定量前に 20 サイクルの PCR (定量前 PCR) を行うことにより、高い感度を確保している。第一の課題として、Real-Time PCR 自体の感度を

高めることにより、定量前 PCR を省略できるかどうかを検討した。この検討には、ABI PRISM 7700 (Applied Biosystems) を使用した。第二の課題として、細胞から mRNA を精製して直接、ワンステップ RT Real-Time PCR を実施することで、簡略化され且つ逆転写効率を加味した HIV-1 mRNA 定量系の構築が可能かどうかを検討した。本年度は、標準 RNA 物質と 4 社から販売されているワンステップ RT Real-Time PCR 試薬 (QuantiTect Probe RT-PCR, QIAGEN; One Step PrimeScript RT-PCR, Takara; TaqMan One-Step RT-PCR Master Mix, Applied Biosystems; RNA Amplification Kit, Roche) を用いて、良好な検量線が作成できるかどうかを検討した。

C. 研究結果

第一の課題に関し、Real-Time PCR の最適化を行った結果、HIV-1 DNA 及び human B2M コピー数を 5 コピー/tube まで高精度 ($CV < 5\%$) に測定することが可能となった (図 1)。第二の課題として、4 種のワンステップ RT Real-Time PCR 試薬を用い、標準 RNA 物質を用いて検量線を作成したが、いずれの試薬も 1000 コピー/tube 以下では安定したシグナルが得られなかった (図 2)。

D. 考察

Real-Time PCR の最適化を行うことにより、HIV-1 DNA 及び human B2M コピー数を 5 コピー/tube まで高精度 ($CV < 5\%$) に測定することが可能となった。これは、現法の最小検出感度 (2 コピー) とほぼ同等の感度であり、現法の定量前 PCR の省略が可能になったと考えられる。HIV-1 DNA 測定系に関

しては、一般検査化に向けて大きく前進したと言える。一方、HIV-1 RNA 測定系に関する検討では、4 種のワンステップ RT Real-Time PCR 試薬を用いて検量線の作成を試みたが、いずれの試薬でも我々が求めるような高い感度を得ることができなかった。ワンステップ RT Real-Time PCR の感度を向上させるための更なる検討が必要と考えられる。

E. 結論

本年度の検討により、HIV-1 DNA 定量系の高い感度を維持したまま、実験系を簡略化することに成功した。一方、ワンステップ RT Real-Time PCR による HIV-1 mRNA 定量系の構築においては、感度向上のために更なる検討が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ibe S, Hattori J, Fujisaki S, Shigemi U, Fujisaki S, Shimizu K, Nakamura K, Kazumi T, Yokomaku Y, Mamiya N, Hamaguchi M, Kaneda T. Trend of Drug-Resistant HIV Type 1 Emergence among Therapy-Naive Patients in Nagoya, Japan: An 8-Year Surveillance from 1999 to 2006. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 2008, 24:7-14.
- 2) Takahashi M, Ibe S, Kudaka U, Okumura N, Hirano A, Suzuki T, Mamiya N, Hamaguchi M, Kaneda T.

No observable correlation between central nervous system side effects and EFV plasma concentrations in Japanese HIV-1 infected patients treated with EFV containing HAART. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 2007, 23:983-987.

- 3) Fujisaki S, Fujisaki S, Ibe S, Asagi T, Itoh T, Yoshida S, Koike T, Oie M, Kondo M, Sadamasu K, Nagashima M, Gatanaga H, Matsuda M, Ueda M, Masakane A, Hata M, Mizogami Y, Mori H, Minami R, Okada K, Watanabe K, Shirasaka T, Oka S, Sugiura W, Kaneda T.

Performance and quality assurance of genotypic drug-resistance testing for human immunodeficiency virus type 1 in Japan.

Jpn J Infect Dis., 2007, 60:113-117

- 4) 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 Res., 2007, 75:75-82.

- 5) 小柏 均、永井裕美、近藤蒸子、加堂真由、伊部史朗、一三武二郎、玉村和規、間宮均人、金田次弘

リアルタイム PCR 法による *Pneumocystis jirovecii* 迅速定量法の確立

医学検査, 2007, 56:1527-1534

- 6) 藤崎誠一郎、藤崎彩恵子、伊部史朗、浅黄司、伊藤俊広、吉田繁、小池隆夫、大家正泰、渡邊香奈子、正兼亜季、上田幹夫、瀧永博之、松田昌和、貞升健志、長島真美、岡田清美、近藤真規子、秦 眞美、溝上泰司、森 治代、南 留美、白阪琢磨、岡慎一、杉浦 互、金田次弘

日本における HIV-1 遺伝子型薬剤耐性検査のコントロールサーベイ

日本エイズ学会誌, 2007, 9:136-146

- 6) 高橋昌明、藤崎誠一郎、伊部史朗、久高祐一、奥村直哉、平野 淳、鈴木達男、横幕能行、間宮均人、濱口元洋、金田次弘

HIV・HCV 重複感染に対するリバビリン併用ペグ・インターフェロン療法により CD4, CD8 陽性リンパ球数が減少した 1 症例

新薬と臨床, 2007, 56:112-115

2. 学会発表

- 1) Takahashi M, Ibe S, Kudaka Y, Okumura N, Hirano A, Suzuki T, Mamiya N, Hamaguchi M, Kaneda T.

No observable correlation between central nervous system side effects and EFV plasma concentrations in Japanese HIV-1 infected patients treated with EFV containing HAART.

4th International AIDS Society Conference, 2007, #MOPEB013, Sydney,

Australia.

- 2) Kaneda T, Fujisaki S, Shiino T, Shimizu K, Nakamura K, Hattori J, Fujisaki S, Ibe S, Shigemi U, Hamaguchi M, Mamiya N, Yokomaku Y.

Identification of a unique form of subtype B HIV-1 in Nagoya, Japan.

4th International AIDS Society Conference, 2007, #WEPEA054, Sydney, Australia.

- 3) 伊部史朗、岡田清美、近藤恭子、廣部雅美、魚住利樹、加堂真由、和山行正、金田次弘.

プロウイルス活動指数測定法の一般検査化のための基礎検討

第21回 日本エイズ学会学術集会, 2007年11月, 広島.

- 4) 小柏 均、近藤恭子、加堂真由、伊部史朗、一三武二郎、玉村和規、間宮均人、金田次弘

MSG gene を用いた Real-time PCR 法による *Pneumocystis jirovecii* 迅速定量法の確立

第61回 国立病院総合医学会, 2007年11月, 名古屋.

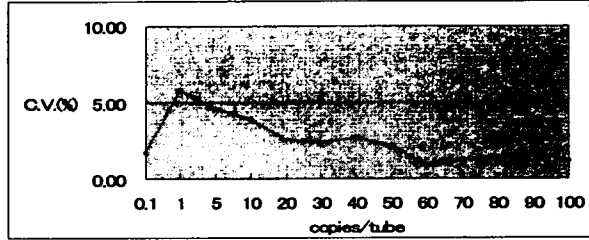
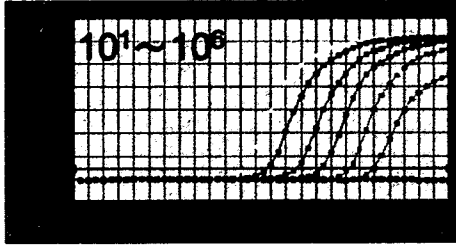
H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図1 HIV-1 DNA定量法の最適化

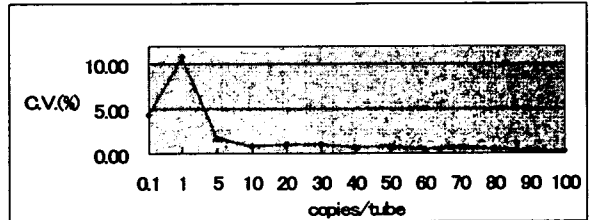
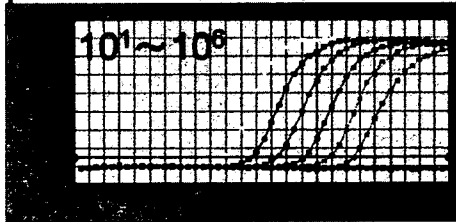
HIV-1 DNA定量系

各 n=12



β 2M DNA定量系

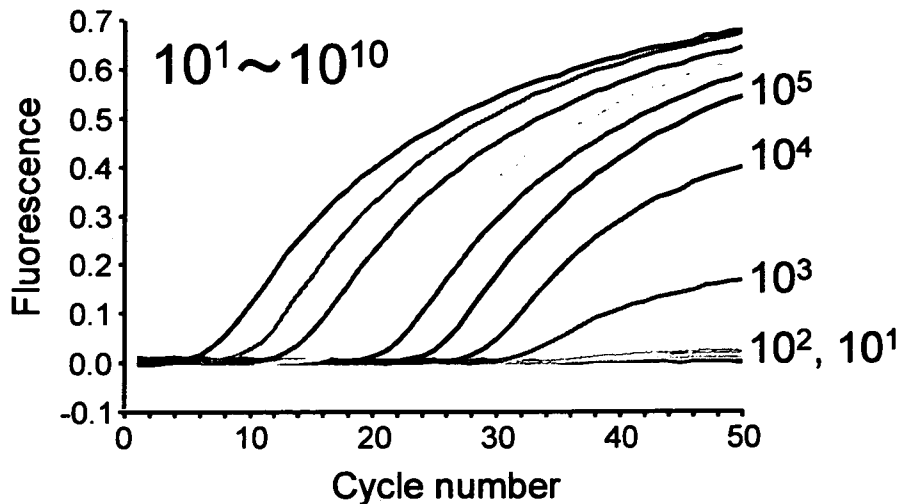
各 n=12



検討法は、HIV-1 DNA 及び β 2M DNA を共に
5コピーまで高精度(CV<5%)で測定できた。

図2 RT-Real-Time PCR

LightCycler
RNA Amplification kit (Roche)



Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表