

ってはHIV/AIDSにまつわるスティグマよりセクシュアリティに関するスティグマがそのHIV感染予防情報への拒否的態度を生み出すより大きな要因となっているとの示唆が得られた。

調査2-1 (分担2)

商業施設、情報媒体の利用と性行動の関連が示唆されるとともに、日常生活とセックスライフの「距離感」に注目する必要があるとの示唆を得た。この「距離感」はさらに「ゲイ自認」や「コミュニティへの帰属意識」との関連が見られた。その結果、次の知見を得た。

1. ゲイコミュニティに対する帰属意識を持たないMSMが多数存在する。
2. ゲイ産業集積地であるゲイタウンに出入りするMSMすべてが必ずしもゲイコミュニティに対する帰属意識を有していない。
3. ゲイ産業のサービス利用者が必ずしもゲイ自認(男性同性愛者であるという自覚)を有していない。
4. 聴覚障害者、既婚者、アルコール依存症、薬物依存症、家族関係に問題を抱えた者、路上生活者、精神疾患を有する者など、性行動に影響を与える副次的特性を有する多様なMSMの存在が確認された。

考察

分担2の調査結果からMSMの共通項が性的指向のみであり、多様な行動特性をもった者が存在することが確認できた。そして日常生活とセックスライフの「距離感」が「ゲイ自認」や「コミュニティへの帰属意識」に影響を与え、MSMの行動パターンを決定している可能性が示唆された。これは、分担1における保健行動阻害要因と目され、スティグマとの相関も考えられる。

本研究によって得られた行動関連のキーワードの分析・進め、これに基づく実証的調査によってその類型化を進める必要がある。

分担1の調査過程において保健行動を阻害する要因としてのスティグマにはHIV/AIDSに関するものと、自らの性的指向に関するものがあることが分かった。前者については「知識」「情報」「コミュニケーション」をキーワードにその低減の可能性が見出せる。さらにこれを予防メッセージの形成、保健サービスのシステムの問題と関連することで、予防へのアクセスは大きく向上すると考えらる。

5. 自己評価

1) 達成度について

調査に関しては当初予定していた対象者数よりやや少なかったが来年度予定していたFGIを前倒しで実施するなど、計画していた研究以上の進捗が見られた。さらに、当研究の過程で分担2のMSMの行動類型化においても、分担1の研究課題であるスティグマを考慮する必要性が示唆されるなど、大きな発見があった。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

当研究は最終的に個別施策層対策全般の効果向上と効率化を目指すものであり、そのためにそれぞれの施策層の社会的脆弱性に着目、配慮し介入手法を開発、選択すべきことが確認できた。さらに、当研究の研究成果は社会構造や文化の点で多くの共通点が見られ、セックスネットワークのつながりが確認されているアジア諸国、とりわけ北東アジアの近隣諸国と連動した予防対策においても効果を期待できるものである。

3) 今後の展望について

分担1、分担2の実証的研究を拡大するいっぽうで、それぞれの研究の相関を整理し、調査設計において将来の介入手法形成や個別施策層対策の提言に反映できる結果が期待できるものにする必要がある。

特に本年度の分担1の研究によって導き出された、社会的に脆弱な対象層に対する施策においては、予防情報などのメッセージの内容や検査、相談、医療機関など保健サービス提供の場でのサービスの受け手に対する対応の倫理的妥当性ととも、保健サービスの提供者と対象者との十分なコミュニケーションの場を確保という倫理上の課題に取り組む。

6. 結論

MSMの保健行動、性行動に関してともにエイズに関するスティグマが深く影響していることが確認できた。

エイズ問題が浮上して以来、常に差別・偏見の解消が唱えられてきたが、その解消のための施策は広報的手法に終始しており、その実効性に関しては十分に検証されていない。一般対策としての差別・偏見の解消が進まない以上、個別施策層対策においてこれを低減することは、効果的施策を実施する上で必要不可欠のものである。

7. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

特になし。

研究発表

主任研究者

服部健司

原著論文による発表

和文

- 1) 服部健司「医療における倫理原則」. = = 梶子編『看護ケアの倫理学』医学書院所収(印刷中).
- 2) 服部健司「医療倫理学と看護倫理学」. = = 梶子編『看護ケアの倫理学』医学書院所収(印刷中).

学会発表

海外

- 1) HATTORI Kenji, "Clinical case study mediates between ethics and literature"
Seventh Losinj Days of Bioethics (Croatia), 11. July 2008.
- 2) HATTORI Kenji, "On methodology of clinical case study." European Assoc Centre Med Ethics conference (Prague), 26. Sep. 2008.
- 3) HATTORI Kenji, "Teaching Medical Ethics through Video Dramas." Ninth Asian Bioethics Conference (Yogyakarta), 2. Nov. 2008.
- 4) HATTORI Kenji, "Medical ethics, philosophy and literature." 2008 Winter Course in Clinical Bioethics at Taiwan National University, 18. Dec. 2008.
- 5) HATTORI Kenji, "Why do we use dramatised cases in medical ethics classes?" International Conference in Medical Ethics Education (Taopei), 20. Dec. 2008.

国内

- 1) 服部健司「臨床医療倫理学と文学」日本医学哲学・倫理学会(札幌)2008年10月26日
- 2) 服部健司「医療倫理学ケースの物語論」第20回日本生命倫理学会年次大会(福岡) 2008年11月30日

研究課題：HIV 感染症の医療体制の整備に関する研究

課題番号：H20-エイズ-指定-010

主任研究者：濱口 元洋（国立病院機構名古屋医療センター、エイズ・感染症診療部長）

分担研究者：岡 慎一（国立国際医療センター戸山病院、エイズ開発治療センター長）、小池 隆夫（北海道大学大学院医学研究科、病態内科学講座教授）、伊藤 俊広（国立病院機構仙台医療センター、内科医長）、田邊 嘉也（新潟大学歯学総合病院、第二内科助教）、上田 幹夫（石川県立総合病院、血液免疫内科診療部長）、白阪 琢磨（国立病院機構大阪医療センター、HIV/AIDS 先端医療センター長）、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）、木村 昭郎（広島大学医学部、血液内科研究分野教授）、山本 政弘（国立病院機構九州医療センター、感染対策室長）、前田 憲昭（医療法人社団皓歯会、理事長）、島田 恵（国立国際医療センター戸山病院、エイズ治療開発センター看護支援調整官）、山中 京子（大阪府立大学、人間社会学部准教授）、湯永 博之（国立国際医療センター戸山病院、エイズ治療開発センター治療開発室長）、田中 千枝子（日本福祉大学、社会福祉学部教授）、溝屋 裕明（熊本大学大学院医学薬学研究部血液内科学分野、教授）、杉浦 互（国立感染症研究所、研究員）

1. 研究目的

HIV 感染症患者はますます増え続けており、我が国では、血液製剤による薬害 HIV 感染以外で 15,000 人を越えた。さらに“いきなりエイズ”で病院を受診する患者も増えている。我々はそういった患者に良質の医療を提供するとともに、一方で新規 HIV 感染症患者の発生を予防しなければならない。本研究班は、今までも全国の HIV 医療体制の整備を目的とした指定研究として、事業的側面の強い研究班である。全国 8 ブロックにおけるブロック拠点病院を中心とし、昨年度に選定された各県の中核拠点病院との連携を深め、HIV 感染症患者の診療水準の均てん化を目的とする。また、これを補助する研究として、HIV/AIDS 感染症患者が合併する重篤な疾患の全身管理の情報提供、HIV 感染症に係る医療費の医療経営学的分析と長期療養患者の実態把握、歯科診療の均てん化、包括ケアの均てん化、臨床試験の基盤整備などを目指し、薬剤耐性検査の検査適応のガイドラインを整備する。

2. 研究方法

政策提言のための基礎資料収集として、各ブロック拠点病院、中核拠点病院における平成 19 年度の実態に関し調査を行った。均てん化に関しては、ACC-ブロック拠点病院による数多くの研修会を今まで実施してきたが、平成 20 年度より各ブロック拠点病院が中心となり、ブロック内の中核拠点病院・拠点病院に対し、研修会・連携会議を実施する方向とした。歯科は、均てん化に向け中核拠点病院のネットワーク構築への助言・応援のため、都道府県単位で活動支援を行い、HIV 感染者の歯科診療の実態調査を実施した。医療経済については、HIV 診療の入院・外来の原価計算方法を開発し、実際の原価を計算した。HIV 感染症患者の全身管理のためには、院内他科との連携が不可欠であり、全国の中核拠点病院の他科連携状態あるいは準備状況について調査した。包括ケア班では、コーディネ

ーターナース、カウンセラー、ソーシャルワーカーによるグループで研修を行い、また、患者の就労支援についても調査した。共同研究基盤では、実際に多施設共同研究を実施し、その際臨床試験が適切に推進されるよう、すべての試験の効果安全委員長となり臨床試験の補助となった。薬剤耐性班では、新規に認可されたインテグラーゼ阻害剤耐性に関する情報を鑑み、適宜ガイドラインの改定作業を実施する。

（倫理面への配慮）

研修会のデータ解析や症例提示においては、患者個人が特定されないなどの配慮を行った。倫理面の配慮はヘルシンキ宣言に則り、必要に応じて倫理委員会の承認を得た。

3. 研究結果

1) ブロック拠点病院、中核拠点病院ならびに各 HIV 診療拠点病院に対するアンケート調査

アンケートは Web 回答群と郵送群に分かれるものの、回答率が年々減少し、郵送群における回答率は極めて低い。診療拠点病院とはいっても診療担当医が明らかでなく、拠点病院発足よりまったく HIV 感染患者を診療していない施設も存在し、患者が集中する施設との二極化が一段と進んでいる。

2) 均てん化に向けた取組み

ブロック拠点病院の活動は目覚しく、平成 20 年度より各ブロック拠点病院が中心となり、ブロック内の中核拠点病院・拠点病院に対し、研修会・連携会議を実施する方向としたが、H20 年度における 8 ブロック拠点病院にて主催された HIV に関する講演会ならびに研修会は、全国で 95 回にも及んだ。HIV 感染患者の少ない拠点病院の診療経験の浅い医師・看護師・薬剤師において研修の満足度が高く、HIV 診療の底上げが期待できた。ACC のホームページに e-ラーニングを開設し、知識・情報の提供を行っているが、アクセス数も増加し、新たなデータ・情報のアップデート

を行った。

3) 均てん化を補助する研究

医療経済の研究から原価は入院外来共に請求額を下回っていた。ただし、入院の包括症例では薬剤および検査等に関連した原価が資料から把握できなかったため、今回算定した以上に原価がかかっていることが予想された。外来における薬剤費率も高く、薬剤費に注目した原価の把握が必要である。無症候性キャリアと比較して AIDS 期の原価率の方が高かった。全身管理の研究では C 型肝炎研究においてポリメラーゼ領域のみならず、プロテアーゼ領域のシークエンス解析を可能にすることにより、将来の C 型肝炎薬剤耐性検査体制の基盤となることが期待された。他科連携については、HIV 診療を当該科のみで行うのは不可能であることが明らかであり、他科との連携が不可欠であることが明らかとなった。メンタルヘルスについては、就労状況が比較的客観的な目安となり、精神疾患による非就労は、内科疾患による非就労よりも長期化しやすいことが明らかになった。HIV 感染告知後も、ほとんどが就労を継続した。臨床研究の基盤整備では、ET study の症例の組み入れがスムーズにいくよう事務局に対し定期的に組み入れ状況を参加全施設に公開する事を指示している。また、海外の安全性情報にも注意を払い、関連する事象がおこったときには、臨床試験に参加している患者の安全を第一優先に迅速な対応ができるよう委員会を開催した。今年度は、この試験に関連した 2 つの情報 (ACTG5202 試験で高ウイルス量ではエブジコムはツルバダに劣るという情報、DAD 試験でエブジコムの成分であるアパカビルを含む治療を受けている患者の心血管障害の有病率が高い) を海外から入手することができ、本試験の継続実施に関する委員長コメントを出した。

4. 考察

HIV 医療体制把握のためのデータ収集からいろいろな問題点が見えてくる。HIV 感染症は外来を中心とした診療を行う慢性疾患になったという理解に基づいた政策が必要であり、医療連携を強力に進めていくための仕組みを構築することである。各ブロック拠点病院に患者がますます集中し、まったく診療していない拠点病院との二極が顕著となった。均てん化に向けブロック拠点病院は年間 95 回にも達する研修会を実施し、我が国における HIV 診療の医療体制を築き上げてきた活動と考えられる。今後、ブロック拠点病院は中核拠点病院の診療レベルを上げ、中核拠点病院は拠点病院に対する研修を行い、診療レベルを上げるという仕組みで、さらなる均てん化を目指す。しかし、拠点病院の存続を望まない病院や病院全体として HIV 診療に対する理解が得られていない場合も判明してきてい

る。粘り強い努力が重要である。

5. 自己評価

1) 達成度について

当初の目的は概ね達成できている。平成 20 年度より各ブロック拠点病院が中心となり、ブロック内の中核拠点病院・拠点病院に対し、研修会・連携会議を実施する方向とした。H20 年度における 8 ブロック拠点病院にて主催された HIV に関する講演会ならびに研修会は、全国で 95 回にも及んだ。HIV 感染患者の少ない拠点病院の診療経験の浅い医師・看護師・薬剤師において研修の満足度が高く、HIV 診療の底上げが期待できる。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

全国の医療機関へのエイズ治療の均てん化へ向けた取り組みは、診療レベルの向上による患者への貢献をもたらす、非常に重要な点であると考えられる。病病、病診連携の活性化がさらに進めば患者の通院の利便性等さらに社会的な意義は増すと考えられる。

3) 今後の展望について

今後も確実に増加してゆく患者対応など多くの問題が山積しており、今後もさらなる研究が必要である。ブロック拠点病院におけるマンパワー不足、長期療養者の問題は、どこの病院でも検討事項としてあがっており、全体として取り組むことが望まれる。中核拠点病院連絡会議での情報交換を積極的に行い、連携を深めていく。そこで各県の事情にあわせた活動の中からお互いに活用しあい、新たな医療体制を構築する。これまで行ってきた研修会、講演会等も引き続き継続し診療レベルの維持、向上に寄与していく。その他 HIV/AIDS 診療体制を構築していく一助となる活動を新たに考案する。

6. 結論

HIV 診療の均てん化のためにいろいろな角度からの活動を行った。このような活動は継続的に行う必要がある。

7. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

なし。

研究発表

主任研究者

濱口元洋

- 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-naïve patients in Nagoya, Japan: An 8-year surveillance from 1999 to 2006. *AIDS Res Human Retroviruses* 24: 7-14, 2008.
- 2) Gatanaga H, Hayashida T, Tsuchiya K, Yoshino M, Kuwahara T, Tsukada H, Fujimoto K, Sato I, Ueda M, Horibe M, Hamaguchi M, Yamamoto M, Takata N, Kimura A, Koike T, Gejyo F, Matsushita S, Shirasaka T, Kimura S, Oka S: Successful efavirenz dose reduction in HIV type-1-infected individuals with cytochrome P450 2B6*6 and *26. *Clin Infect Disease* 45: 1230-1237, 2007.
- 3) 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 type 1-infected patients treated with EFV containing HAART. *AIDS Res Human Retroviruses* 23: 983-987, 2007.
- 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* 75: 75-82, 2007.
- 5) Hattori J, Okumura N, Yamazaki Y, Uchiyama M, Hamaguchi M, Nishiyama Y, Kaneda K: Beneficial effect of GB virus C co-infection in human immunodeficiency virus type-1-infected individuals. *Microbiol Immunol* 51: 193-200, 2007.

分担研究者

岡慎一、湯永博之

1. Fujiwara M, Tanuma J, Koizumi H, Kawashima Y, Honda K, Matsuoka AS, Dohki S, Oka S, and Takiguchi M. Accumulation of HIV-1 escape mutant by different responses of escape mutant-specific cytotoxic T cells to escape mutant and wild-type HIV-1 in new hosts. *J Virol* 82: 138-147, 2008.
2. Hayashida T, Gatanaga H, Tanuma J, and Oka S. Effect of low HIV-1 load and antiretroviral treatment on IgG-capture BED-enzyme immunoassay. *AIDS Res Hum Retrovirus* 24: 495-498, 2008.
3. Ueno T, Motozono C, Douki S, Mwimanzu, Rauch S, Fackler OT, Oka S, and Takiguchi M. Cytotoxic T lymphocyte-mediated selective pressure influences dynamic evolution and pathogenic functions of HIV-1 Nef. *J Immunol* 180: 1107-16, 2008
4. Kawashima Y, Satoh M, Oka S, Shirasaka T, and Takiguchi M. Different immunodominance of HIV-1-specific CTL epitopes among 3 subtypes of HLA-A*26 associated with slow progression to AIDS. *Biochem Biophys Res Commun* 366: 612-616, 2008.
5. Gatanaga H, Honda H, and Oka S. Pharmacogenetic information derived from analysis of HLA alleles. *Pharmacogenomics* (review) 9: 207-214, 2008.
6. Gatanaga H and Oka S. Successful genotype-tailored treatment with small-dose efavirenz. *AIDS* (correspondence) (in press)
7. Gatanaga H, Honda H, Tsukada K, Tanuma J, Yazaki H, Honda M, Teruya K, Kikuchi Y, and Oka S. Detection of HIV-1 load by the Roche COBAS TaqMan assay in patients with previously undetectable load by the Roche COBAS Amplicor Monitor. *Clin Infect Dis* (correspondence) (in press)

小池隆夫

- 1) Yoshida, S., Hige, S., Yoshida, M., Yamashita, N., Fujisawa, S., Sato, K., Kitamura, T., Nishimura, M., Chuma, M., Asaka, M. and Chiba, H. Quantification of lamivudine-resistant HBV mutants by type-specific TaqMan minor groove binder probe assay in patients with chronic hepatitis B. *Annal. Clin. Biochem.*, 6 : 59-64, 2008.

田邊嘉也

- 1) Gamero AM, Potla R, Wegrzyn J, Szelag M, Edling AE, Shimoda K, Link DC, Dulak J, Baker DP, Tanabe Y, Grayson JM, Larner AC. Activation of Tyk2 and Stat3 is required for the apoptotic actions of interferon-beta in primary pro-B cells. *J Biol Chem.* 2006 Jun 16;281(24):16238-44. Epub 2006 Apr 6.

白阪琢磨、上平朝子

- 1) HIDAKA Y, OPERARIO D, TAKENAKA M, OMORI S, ICHIKAWA S, SHIRASAKA T. Attempted suicide and associated risk factors among youth in urban Japan, *Soc Psychiatr Psychiatr Epidemiol* 2008.
- 2) SASAKAWA A, YAMAMOTO Y, YAZIMA K, SAKAI M, UEHIRA T, SIRASAKA T, MAKIE T. Liposomal amphotericin B for a case of intractable cryptococcal meningoencephalitis and immune reconstitution syndrome, *The Journal of Medical Investigation* 55(3,4):292-296, 2008.

山本政弘

- 1) Minami R, Takahama S, Ando H, Miyamura T, Suematsu E, and Yamamoto M. Human herpesvirus 8 DNA load in the leukocytes correlates with thrombocytopenia in HIV-1 infected individuals." which you submitted to *AIDS Res Hum Retroviruses*. (in press)

満屋裕明

- 1) Koh Y, Das D, Leschenko S, Nakata H, Ogata-Aoki H, Amano M, Nakayama M, Ghosh AK and Mitsuva H. GRL-02031: A Novel Nonpeptidic Protease Inhibitor (PI) Containing A Stereochemically Defined Fused Cyclopentanyltetrahydrofuran (Cp-THF) Potent Against Multi-PI-Resistant HIV-1 In Vitro. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008 accepted for publication.
- 2) Ghosh AK, Chapsal BD, Baldrige A, Ide K, Koh Y and Mitsuva H. Design and Synthesis of Stereochemically Defined Novel Spirocyclic P2-Ligands for HIV-1 Protease Inhibitors. *Org Lett.* 10: 5135-8, 2008.
- 3) Ghosh AK, Gemma S, Takayama J, Baldrige A, Leshchenko-Yashchuk S, Miller HB, Wang YF, Kovalevsky AY, Koh Y, Weber IT and Mitsuva H. Potent HIV-1 protease inhibitors incorporating meso-bicyclic urethanes as P2-ligands: structure-based design, synthesis, biological evaluation and protein-ligand X-ray studies. *Org Biomol Chem.* 6: 3703-13, 2008.

杉浦互

- 1) Furuya K, Omura M, Kudo S, Sugiura W, Azuma H.: Recognition profiles of microsporidian Encephalitozoon cuniculi polar tube protein 1 with human immunoglobulin M antibodies. *Parasite Immunol.* 2008 Jan;30(1):13-21.
- 2) S Yoshida, H Gatanaga, T Itoh, M Fujino, M Kondo, K Sadamasu, T Kaneda, F Gejyo, T Shirasaka, H Mori, M Ueda, N Takata, R Minami, W Suigura and the Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network.: Prevalence of drug resistance associated mutations in newly diagnosed HIV/AIDS patients in Japan from 2003-2007. *Antiviral Therapy.* 13(3):A162, 2008
- 3) Okuma K, Tanaka R, Ogura T, Ito M, Kumakura S, Yanaka M, Nishizawa M, Sugiura W, Yamamoto N, Tanaka Y. : Interleukin-4-Transgenic hu-PBL-SCID Mice: A Model for the Screening of Antiviral Drugs and Immunotherapeutic Agents against X4 HIV-1 Viruses. *J Infect Dis.* Jan 1;197(1):134-41, 2008

研究課題：HIV診療支援ネットワークを活用した診療連携の利活用に関する研究

課題番号：H20-エイズ-指定-011

研究代表者：菊池 嘉（国立国際医療センター戸山病院エイズ治療・研究開発センター 臨床研究開発部長）

研究分担者：山本隆一（東京大学大学院情報学環 准教授）

木内貴弘（東京大学医学部付属病院医療情報ネットワーク研究センター 教授）

岩本愛吉（東京大学医科学研究所先端医療研究センター 教授）

岡村牧男（特定非営利活動法人ネットワーク医療と人権 理事）

佐藤典宏（北海道大学病院高度先進医療支援センター 副センター長）

伊藤俊広（独立行政法人国立病院機構仙台医療センター 内科医長）

田邊嘉也（新潟大学大学院医歯学総合研究科 助教）

横幕能行（独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター 医師）

上田幹夫（石川県立中央病院血液免疫内科 診療部長）

渡邊 大（独立行政法人国立病院機構大阪医療センター 医員）

藤井輝久（広島大学病院輸血部 講師）

南 留美（独立行政法人国立病院機構九州医療センター 医師）

宮城島拓人（独立行政法人勤労者福祉機構釧路労災病院 副院長）

健山正男（琉球大学医学部 准教授）

1. 研究目的

ブロック拠点病院等のある程度 HIV 患者の集まる病院を核として、原則として通院患者すべての参加を目指し、CD4、HIV-RNA 量、処方内容、指標疾患の有無、予後などの臨床情報に限定して収集し、疫学的な情報発信をすることと目的とする。診療支援ネットワーク（以下 A-net）は、原告団と国とが協議し、「患者さんが受診される病院相互で診療情報を共有し、HIV 診療を円滑にし、かつ患者さんの地元で質の高い診療を可能にすること」を目指して整備された。後半部分にあるような、HIV 診療を円滑にしかつ地元で質の高い診療は、医療体制整備班その他の尽力により、ブロック拠点病院等の診療レベルが均質化し、各施設で質の高い医療が提供されるようになった。残されている課題は、目標の前半部分「患者さんが受診される病院相互で診療情報を共有し」という疫学的な部分である。現行の A-net では、データ入力は勝手に頼らざるをえず、最近では入力データが減り疫学的な結果をもたらすほどにはいっておらず、複数の医療機関での HAART 導入症例の実際の CD4 数の推移や、服薬内容、HAART 導入後の予後などといった、疫学情報の共有をするために、新たなデータベース構築を目標とする。

2. 研究方法

●全国8箇所のブロック拠点病院および3箇所の拠点病院（遠隔地で情報を必要としている本邦の北限と南限近くに存在する2中核拠点病院と都内の拠点病院1施設）と国立国際医療センターに於いて、下記①の個人情報をもとに基本情報として、それぞれの施設にて保管する。その個人の受診日ごとのデータ②を20年3月31日までのものを経時的に記録する。各施設からは、連結不可能匿名化し、国立国際医療センターの情報管理担当者へ送付され、各施設からの記号を削除し新たな記号ないし番号を付与して、研究代表者へ渡す。

- ① 患者基本情報 生年月日 性別 血友病の有無 受診医療機関
- ② 受診日、CD4数とHIV-RNA量、処方内容、受診日のエイズ指標疾患の有無。

連結不可能匿名化されたデータを元に、治療中の患者の予後を統計的に解析する。

●ネットワーク構築のための基盤研究として、将来の患

者データの Web 上での入力の基盤を築くため、ネットワーク会社であるネットワンシステムズに委託し、セキュリティ対策を施したクライアント端末から、インターネット上に暗号化されたネットワークを構築し WEB サーバ上で入力を行うシステムの開発を行う。この検討では、実際の患者データは今年度は扱わない。

（倫理面への配慮）

ヘルシンキ宣言、および疫学研究に関する倫理指針に準拠し、生年月、性別、血友病の有無、受診医療機関の4つの基本情報を収集し、連結不可能匿名化し、中央で個別のIDを付与した形で登録し、個人情報の流出に十分注意し、研究を遂行する。

3. 研究結果

●データ収集をする範囲をどこまでにするか、という観点で、臨床系の研究分担者は研究方法に記載したデータの中で、初年度は、受診日、CD4数、HIV-RNA量、内服中の HAART の内容、エイズ指標疾患合併の有無を各施設内で、それぞれのデータベース構築を開始した。

秋に開かれた、A-net 部会で、原告団から、副作用（肝機能障害、肝炎合併の有無、腎機能障害など）の追跡も行って欲しいという要望が寄せられたが、初年度は HIV の長期予後の指標となる CD4 数と HIV-RNA 量と HAART の内容を中心に収集し、次年度以降随時データを追加していく方向で対応することとした。後方研究であるが、HIV 患者のデータを扱うため各施設での倫理審査を行った。（抄録提出時点では各施設の審査は揃っていない）。各施設でのデータベース構築は骨格が整った。

●ネットワークシステム構築に関する結果
将来的にはデータを Web 上で入力することを想定した基盤の整備として、セキュリティ対策を施したクライアント端末から、インターネット上に暗号化されたネットワークを構築し WEB サーバ上で入力テスト環境を整えた。一般的なインターネットサービスとは異なり WEB サーバはインターネットに直接公開されず、SSL-VPN による経路の暗号化、VPN 装置によるユーザ認証、クライアント証明書による端末認証を行い特定ユーザのみが WEB サーバのあるネットワークに接続できるようにした。仮想情報網を確保した後に、一般的なインターネットサービスのように WEB サーバにログイン作業を行った。クライアント端末にはウ

ウイルス対策、盗難対策のためにHDD暗号化した。ネットワーク経路の改竄、盗聴、成りすまし防止のための機能、不正進入の防止を強化した。

4. 考察

データ収集を進めていくと、多種類のデータを収集したくなる方向へ臨床医は動きがちであるが、データの精度を高めるためには、骨格となるデータの粒が揃うことが何よりも大切であり、骨格となるデータを整えた後に、付随するデータを追加していく工夫がこの先必要と考えられた。各施設で標準化されたデータ類を、機械的に吸い上げるシステムがこの先確実に疫学的な結果を供するようになるためには、絶対に必要であると思われる。

機械的なネットワークシステムを今年度ほぼ構築できたので、次年度はセキュリティー対策として、国で策定されているセキュリティーガイドラインを満たすかどうかを、JIS企画等に基づいた手法で次年度以降検証し、その強度が確認できたところで、参加施設をブロック拠点病院から、拠点病院へ広げて、より多くの施設参加を呼びかけていきたい。

5. 自己評価

1) 達成度について

初年度に収集するデータなどの点で、臨床医からの意見を聞き、ある程度の骨子が固まった。予後を見極める、CD4、HIV-RNA量、内服薬剤などに絞ることで、基本骨格を整えて、次年度以降に項目を増やして肉付けしていくこととした。患者数の多い施設では多項目のデータを収集することは容易でなく、初年度は基本項目に限ることで達成度には物足りなさが残った。しかしながら、12の臨床施設からの集まりで、ある程度の合意が得られて、データベースの構築が始まったことは意義深い。

また、コンピュータの新技术を導入して、ネットワークを構築する基盤を築いたことは初年度としては予定よりも進んでいる状態であり、今後はデータの自動収集へ向けて邁進していきたい。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

HIVは各国においても、コントロールすべき疾患として、癌登録とともに実践されているが、多くの患者層を経年的に追えているデータベースはほとんど無く、国レベルで実施できているところは皆無に近い。本邦のHIV感染者はエイズ同行委員会の速報値で、1万5千強である。本研究に参加する12の医療施設で登録患者数を増やし、データベースが構築できれば、質の高い疫学研究のシステムへ発展する足掛かりとなり、世界的にもその意義は非常に大きいと考える。

3) 今後の展望について

過去のデータを集める本年度の方式では、新しい知見を生む可能性は低く、HIVの治療を受けている患者、この先治療を受ける患者を対象として、前向きにデータを収集するシステムを今後は構築必要性がある。そのためには、患者同意を得る必要があり、多忙な臨床現場では厳しい状況が予想される。しかし、患者側からも、自身のデータがセキュリティーを保った形で閲覧できるようになったり、全国での内服状況などの現状が明らかにされるようになれば、内服をする意欲、闘病していく意欲の支えともなり、患者支援のツールともなりうると思う。また、副作用項目も将来的には増やして、オンタイムに患者支援が行える

ようなシステムへの発展が今後の課題である。

6. 結論

抄録作成時点では、疫学情報の収集は充分に行えておらず、結論的なことはまだ出せていない。

ネットワークシステムの構築に関しては、国が策定するセキュリティー項目を満たすようなシステムの概略が構築できた。

7. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

将来的に、カルテシステムを構築した際には、知的所有権を出願する可能性がある。

研究発表

研究代表者

菊池 嘉

原著論文による発表

英文

1. Koike K, Kikuchi Y, Kato M, Takamatsu J, Shintani Y, Tsutsumi T, Fujie H, Miyoshi H, Moriya K, Yotsuyanagi H. Prevalence of hepatitis B virus infection in Japanese patients with HIV. *Hepatol Res.* 2008; 38 (3):310-4.
2. Honda M, Yogi A, Ishizuka N, Genka I, Gatanaga H, Teruya K, Tachikawa N, Kikuchi Y, Oka S. Effectiveness of subcutaneous growth hormone in HIV-1 patients with moderate to severe facial lipodystrophy. *Intern Med.* 2007; 46 (7):359-62.
3. Koike K, Tsukada K, Yotsuyanagi H, Moriya K, Kikuchi Y, Oka S, Kimura S. Prevalence of coinfection with human immunodeficiency virus and hepatitis C virus in Japan. *Hepatol Res.* 2007; 37 (1):2-5.
4. Gatanaga H, Yazaki H, Tanuma J, Honda M, Genka I, Teruya K, Tachikawa N, Kikuchi Y, Oka S. HLA-Cw8 primarily associated with hypersensitivity to nevirapine. *AIDS.* 2007; 21 (2):264-5.
5. 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 Res Hum Retroviruses.* 2006; 22 (8):744-8.
6. Masaki N, Imamura M, Kikuchi Y, Oka S. Usefulness of elastometry in evaluating the extents of liver fibrosis in hemophiliacs coinfecting with hepatitis C virus and human immunodeficiency virus. *Hepatol Res.* 2006; 35 (2):135-9.
7. Hishima T, Oyaizu N, Fujii T, Tachikawa N, Ajisawa A, Negishi M, Nakamura T, Iwamoto A, Hayashi Y, Matsubara D, Sasao Y, Kimura S, Kikuchi Y, Teruya K, Yasuoka A, Oka S, Saito K, Mori S, Funata N, Sata T, Katano H. Decrease in Epstein-Barr virus-positive AIDS-related lymphoma in the era of highly active antiretroviral therapy. *Microbes Infect.* 2006; 8 (5):1301-7.

研究分担者

木内貴弘

原著論文による発表

英文

1. Aoki N, Uda K, Ohta S, Kiuchi T, Fukui T. Impact of miscommunication in medical dispute cases in Japan. *International Journal for Quality in Health Care.* 20 (5):358-62. 2008

和文

1. 西内啓, 青木則明, 木内貴弘, わが国における臨床試験登録の現状と今後. *循環器科* 64 (3):271-277. 2008
2. 木内貴弘, 第9章 今後の治験IT化に向けた動きとEDC. EDCを使用した臨床試験の進め方165-182. 情報儀技術協会. 2008

佐藤典宏

原著論文による発表

英文

1. Hashimoto T, Nishio M, Sakai T, Fujimoto K, Sato N, Endo T, Koike : Acute schizophrenic symptoms as the initial manifestation of HIV infection which respond to highly active antiretroviral therapy. *T. Clin Infect Dis* 42:1653-5. 2006

伊藤俊広

原著論文による発表

英文

1. Seiichiro F., Saeko F., Shiro I., Tsukasa A., Toshihiro I., Shigeru Y., Takao K., Masayasu O., Makiko K., Kenji S., Mami N., Hiroyuki G., Masakazu M., Mikio U., Aki M., Mami H., Yasushi M., Haruyo M., Rumi M., Kiyomi O., Kanako W., Takuma S., Shinichi O., Wataru S. and Tsuguhiro K. : Performance and quality assurance of genotypic drug resistance test 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., Hamaguchi M., Shirasaka T., et al. : Drug-resistant HIV-1 prevalence in patients newly diagnosed with HIV/AIDS in Japan. *Antiviral Res.* 75 (1):75-82. 2007

田邊嘉也

原著論文による発表

英文

1. Satoh R, Tsukada H, Tanabe Y, Tamura Y, Yamamoto T, Takano M, Ozaki K, Tamura T, Gejyo F. An outbreak and isolation of drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* at Niigata University Hospital. *Japan. J Infect Chemother.*

14(4):325-9 2008.

2. Dohmae S, Okubo T, Higuchi W, Takano T, Isobe H, Baranovich T, Kobayashi S, Uchiyama M, Tanabe Y, Itoh M, Yamamoto T. Bacillus cereus nosocomial infection from reused towels in Japan. J. Hosp Infect 69, 361-367 2008
3. Ota K, Maruyama H, Iino N, Nakamura G, Shimotori M, Tanabe Y, Tsukada H, Gejyo F. Rapid detection of causative pathogen of peritonitis using in-situ hybridization in a patient with continuous ambulatory peritoneal dialysis J. infect Chemother 13:273-275 2007
4. Gamero AM, Potla R, Wegrzyn J, Szelag M, Edling AE, Shimoda K, Link DC, Dulak J, Baker DP, Tanabe Y, Grayson JM, Larner AC. Activation of Tyk2 and Stat3 is required for the apoptotic actions of interferon-beta in primary pro-B cells. J Biol Chem. 2006 Jun 16;281(24):16238-44. Epub 2006 Apr 6.

横幕能行

原著論文による発表

欧文

1. Ibe S, Shigemi U, Sawaki K, Fujisaki S, Hattori J, Yokomaku Y, Mamiya N, Hamaguchi M, Kaneda T. Analysis of near full-length genomic sequences of drug-resistant HIV-1 spreading among therapy-naive individuals in Nagoya, Japan: amino acid mutations associated with viral replication activity. AIDS Res Hum Retroviruses. 2008 Aug;24(8):1121-5.
2. 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 Jan;24(1):7-14.

和文

1. Clinical features and course of 5 cases with HIV encephalopathy Hashimoto R, Mukai E, Yokomaku Y, Mamiya N, Hamaguchi M. Rinsho Shinkeigaku. 2008 Mar;48(3):173-8.

渡邊 大

原著論文による発表

和文

1. 内科臨床医のためのHIV感染症の知識. 大阪府内科医会誌17(2), p131-137, 2008

南 留美

原著論文による発表

欧文

1. Minami R, Takahama S, Ando H, Miyamura T, Suematsu E, and Yamamoto M. Human herpesvirus 8 DNA load in the leukocytes correlates with thrombocytopenia in HIV-1 infected individuals.' which you submitted to AIDS Res Hum Retroviruses. (in press)
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. 2007, 75(1), 75-82
3. 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, 2006, 243:41-47
4. Rumi Minami, Masahiro Yamamoto. Elevated serum levels of RCAS 1 are associated with Poor recovery of CD4+T cell count after ART in HIV-1 infected patients. Journal of AIDS Research, 2006, 8:25-27

和文

1. 南 留美. ほか:目でみるトレーニング 認定内科医・認定内科専門医受験のための151題. Medicina編集委員会監修, 第1版, 医学書院, 311-314, 2008

健山正男

原著論文による発表

欧文

1. Hideta Nakamura¹⁾, Masao Tateyama, Daisuke Tasato, Syusaku Haranaga, Satomi Yara, Futoshi Higa, Yuji Ohtsuki, Jiro Fujita. Clinical utility of serum β -D-glucan and KL-6 levels in *Pneumocystis jirovecii* pneumonia. Internal Medicine. 2009. 48
2. Satoshi Toma¹, Tsuyoshi Yamashiro^{2*}, Shingo Arakaki¹, Joji Shiroma¹, Tatsuji Maeshiro¹, Kenji Hibiya¹, Naoya Sakamoto³, Fukunori Kinjo⁴, Masao Tateyama¹, and Jiro Fujita¹. Inhibition of intracellular hepatitis C virus replication by nelfinavir and synergistic effect with interferon- α . Journal of Viral Hepatitis. 2009. in press

研究課題：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

課題番号：H18-エイズ-一般-010

研究代表者：金田 次弘（独立行政法人国立病院機構・名古屋医療センター・臨床研究センター 客員研究員）

研究分担者：伊藤 俊広（独立行政法人国立病院機構・仙台医療センター 内科医長）、鈴木 康弘（東北大学大学院医学系研究科 講師）、立川 夏人（横浜市立市民病院・感染症部 部長）、濱口 元洋（独立行政法人国立病院機構・名古屋医療センター・エイズ・感染症診療部長）、白阪 琢磨（独立行政法人国立病院機構・大阪医療センター HIV/AIDS 先端医療開発センター長）、南 留美（独立行政法人国立病院機構・九州医療センター 医師）、

1. 研究目的

多剤併用療法（HAART）が開始されてから HIV-1 感染者の予後は大きく改善され、その結果エイズによる死亡症例は減少した。しかし、末梢 CD4 陽性 T リンパ球中の HIV-1 プロウイルスの経時的測定研究によると感染細胞の駆逐には数十年の歳月を要し、感染患者は一生抗 HIV 薬を服用し続けなければならないという結果が報告され、それ以後“HAART は一生継続”がコンセンサスになっている。本当に HAART を一生継続しなければならないとすると、患者の精神的、肉体的、経済的負担は多大であることは論を待たないが、社会的負担も大きい。その意味で、ある一定の条件を満たしたとき HAART を中断できるという根拠を提供できるエビデンスの開発、実用化が待たれている。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。

2. 研究方法

研究対象：HAART により血漿ウイルス量（VL）が検出感度以下に抑制され、かつ末梢 CD4 陽性 T リンパ球数の回復が目覚しい HAART 著効例である。これに加えて様々な経緯で治療中断を行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 を用い精製した。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・精製した。RNA はトリゾールにて抽出した。リアルタイム PCR 法による定量：研究代表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/10⁶ 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-1 mRNA コピー数/プロウイルスコピー数）で表現した。

（倫理面への配慮）

名古屋医療センターで、研究課題名「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能の把握」の倫理審査申請を行い、承認を受けた。引き続き、国立国際医療センター、大阪医療センター、九州医療センターで承認が得られた。治療中断臨床試験に関しては名古屋医療センター・臨床研究審査委員会審査後、承認を得た。

3. 研究結果

① プロウイルス量と全長 HIV-1 mRNA の定量：3 年度には 57 例の登録ができ、現在までに 180 症例 282 検体について、プロウイルス量と全長 HIV-1 mRNA の定量を行なうことができた。このうち転写活性が低値（mRNA 量が検出感度以下）を示す症例は 71 例存在し、かつ残存プロウイルス量が 100 コピー/10⁶ 細胞以下の症例は 59 例存在した。

② 一般検査化への技術改良：プロウイルスの定量法：nested リアルタイム PCR 法から通常リアルタイム PCR 法に切り替えることができた（Cv 値 5% 以下の精度で 5 コピーを検出）。この方法で全血を用い、末梢白血球中のプロウイルスの定量は委託測定できるようになった。HIV-1 mRNA 定量の簡便化については見通しが立っていない。

② 治療中断臨床試験:治療中断臨床試験のコンセプトの基本は以下の通りである:長期にわたり(3年以上)HAARTが奏功し残存プロウイルス量が微少 (<100コピー/10⁶細胞)で、かつプロウイルスの活動指数が低値(<2.0)を示し、CD4リンパ球数が500/μl以上を確保できている症例に対して患者の同意の下に治療を中断する。このコンセプトに基づき、まず名古屋医療センターで先行実施した。完全実施できた3例の結果であるが、3例ともに治療中断後21日目から54日目の期間内に血中HIV-1ウイルスのリバウンドが観察され、治療再開の経緯をたどった。症例1. 33歳、男性。5年間の抗HIV療法 (COM/EFV、TDF/FTC/EFV)。治療中断後21日目のHIV-RNA=5.5x10³と上昇したため (CD4=531)、治療中断28日目よりTDF/FTC/EFVで治療再開とした。症例2. 37歳、女性。10年間の抗HIV療法 (AZT/3TC/RTV、AZT/3TC/ATVr)。治療中断後22日目はHIV-RNA=40>、しかし、54日目HIV-RNA=3.5x10⁴と上昇 (CD4=471) したため、57日目から治療を再開した (AZT/3TC/ATVr)。症例3. 58歳、男性。8年間の抗HIV療法 (AZT/3TC/NVP)。治療中断30日目にHIV-RNAが3.9x10⁸ (CD4=681) となり、32日目から治療を再開した (AZT/3TC/NVP)。

4. 考察

3例の治療中断候補症例に対する中断試験の結果は、治療中断後速やかな血中ウイルス量の増加が観察され、治療再開の経緯をたどった。10年以上 HAART により効果的に治療を継続していた、プロウイルス量が 100 コピー/10⁶細胞以下、細胞内 mRNA が検出感度以下という症例であってもリバウンドを見たことから末梢血 CD4 陽性 T リンパ球中のプロウイルス量とその活動度だけでは治療中断の指標たりえないという結果であった。この結果は SMART 研究の結果からある程度の予測はできたとはいえ残念な結果であった。今回の研究は HIV-1 感染マクロファージリザーバーを考慮していなかったがこの点を考慮に入れた再検討は重要と思われる。

5. 自己評価

1) 達成度について

HAART 著効例 180 症例、282 検体を対象にして、HIV-1 プロウイルスと全長 HIV-1 mRNA 定量研究を実施し、これらのパラメーターから見た HAART 著効例の特徴づけができた。この中から治療中断候補症例を抽出し、治療中断臨床試験実施まで到達できた。その結果、“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”という問いに対して、“治療中断の指標にはならない”という解答を得ることができた。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

CD4 陽性 T リンパ球プロウイルス転写能の解析研究としては、国際的に見ても新規性と創造性は高い。残念ながら、残存プロウイルス量とその転写活性能が HAART 中断の指標になるとの結論を得ることはできず、逆転写酵素とプロテアーゼを標的にした治療は一生継続せざるを得ないという、先行研究の結論を支持する結果となった。

3) 今後の展望について

今回の研究は HIV-1 感染マクロファージリザーバーを考慮していなかったがこの点を考慮に入れた再検討が望まれる。又、服薬中断後 4 年間有意の血中ウイルス量のリバウンドが観察されなかった服薬中断 2 症例が名古屋医療センターに存在しているが、これらの症例と治療中断臨床試験の中断失敗症例との違いを明らかにする研究を行うことも重要と思われる。

6. 結論

10 年以上 HAART により効果的に治療を継続していた、プロウイルス量が 100 コピー/10⁶細胞以下、細胞内 mRNA が検出感度以下という症例であってもリバウンドを見たことから末梢血 CD4 陽性 T リンパ球中のプロウイルス量とその活動度だけでは治療中断の指標たりえないとの結論を得た。

7. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

特許出願: 特願 2005-327417 発明の名称: 人免疫不全ウイルス-1 遺伝子検出又は定量用材料、検出又は定量方法、治療用遺伝子断片、および治療方法 発明者: 金田次弘、永井裕美、水野善文、 出願人: 財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

研究発表

欧文

研究代表者 金田次弘

- 1) M. Takahashi, M. Konishi, Y. Kudaka, N. Okumura, A. Hirano, N. Terahata, K. Banno and T. Kaneda. A Conventional LC-MS Method for the Determination of Plasma Raltegravir Concentrations. *Biol. Pharm. Bull.*, **31**, 1601-1604, 2008.
- 2) S. Ibe, U. Shigemi, K. Sawaki, S. Hujisaki, J. Hattori, Y. Yokomaku, N. Mamiya, M. Hamaguchi and T. Kaneda. Analysis of Near Full-Length Genomic Sequences of Drug-Resistant HIV-1 Spreading among Therapy-Naïve Individuals in Nagoya, Japan: Amino Acid Mutations Associated with Viral Replication Activity. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, **24**, 1121-1125, 2008.
- 3) S. Ibe, J. Hattori, S. Fujisaki, U. Shigemi, S. Fujisaki, K. Shimizu, K. Nakamura, T. Kazumi, Y. Yokomaku, N. Mamiya, M. Hamaguchi and T. Kaneda. Trend of Drug-Resistant HIV-1 Emergence among Therapy-Naïve Patients in Nagoya, Japan: an 8-Year Surveillance from 1999 to 2006. *AIDS Research and Human Retroviruses* **24**, 7-14, 2008.
- 4) M. Takahashi, Y. Kudaka, N. Okumura, A. Hirano, K. Banno and T. Kaneda. Pharmacokinetic parameters of lopinavir determined by moment analysis in Japanese HIV-1-infected patients. *AIDS Research and Human Retroviruses* **24**, 114-115, 2008.

研究分担者

鈴木康弘

- 1) Xiao, P., Usami, O., Suzuki, Y., Ling, H., Shimizu, N., Hoshino, H., Zhuang, M., Ashino, Y., Gu, H., Hattori T. Characterization of a CD4-independent clinical HIV-1 that can efficiently infect human hepatocytes through chemokine (C-X-C motif) receptor 4. *AIDS*. **22**:1749-1757. 2008.
- 2) Bi, X., Suzuki, Y., Gatanaga, H., Oka, S. High Frequency and Proliferation of CD4⁺FOXP3⁺ Regulatory T Cells in HIV-1 Infected Patients with Low CD4 Count. *Eur. J. Immunol.* (in press).

立川夏夫

- 1) Tanuma J, Fujiwara M, Toruya K, Matsuoka S, Yamanaka H, Gatanaga H, Tachikawa N, Kikuchi Y, Takiguchi M, Oka S. HLA-A*2402-restricted HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes and escape mutation after ART with structured treatment interruptions. *Microbes Infect.* 2008 May;10(6):689-98. Epub 2008 Mar 29.

濱口元洋

- 1) S. Ibe, U. Shigemi, K. Sawaki, S. Hujisaki, J. Hattori, Y. Yokomaku, N. Mamiya, M. Hamaguchi and T. Kaneda. Analysis of Near Full-Length Genomic Sequences of Drug-Resistant HIV-1 Spreading among Therapy-Naïve Individuals in Nagoya, Japan: Amino Acid Mutations Associated with Viral Replication Activity. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, **24**, 1121-1125, 2008.
- 2) S. Ibe, J. Hattori, S. Fujisaki, U. Shigemi, S. Fujisaki, K. Shimizu, K. Nakamura, T. Kazumi, Y. Yokomaku, N. Mamiya, M. Hamaguchi and T. Kaneda. Trend of Drug-Resistant HIV-1 Emergence among Therapy-Naïve Patients in Nagoya, Japan: an 8-Year Surveillance from 1999 to 2006. *AIDS Research and Human Retroviruses* **24**, 7-14, 2008.

白坂琢磨

- 1) KAWASHIMA Y, SATOH M, OKA S, SHIRASAKA T, TAKIGUCHI M. Different immunodominance of HIV-1-specific CTL epitopes among three subtypes of HLA-A 26 associated with slow progression to AIDS, *BBRC* 366:612-616, 2008.
- 2) KUWAHARA T, MAKIE T, YAMAMOTO Y, YOSHINO M, YAGURA H, SANO T, KOJIMA K, HIGASA S, SHIRASAKA T. Burden on AIDS-specialist Hospitals in Japan, Based on the Number of Patients Taking Anti-HIV Drugs, *Pharmaceutical Regulatory Science* 39(7):421-426, 2008.
- 3) SASAKAWA A, YAMAMOTO Y, YAZIMA K, SAKAI M, UEHIRA T, SHIRASAKA T, MAKIE T, Liposomal amphotericin B for a case of intractable cryptococcal meningoencephalitis and immune reconstitution syndrome, *The Journal of Medical Investigation* 55(3,4):292-296, 2008.

南 留美

- 1) Minami R, Takahama S, Ando H, Miyamura T, Suematsu E, and Yamamoto M. Human herpesvirus 8 DNA load in the leukocytes correlates with thrombocytopenia in HIV-1 infected individuals." *AIDS Res Hum Retroviruses* (in press).

和文

研究分担者

鈴木康弘

- 1) Gp120 から見た抗 HIV-1 免疫機構の複雑性について。鈴木康弘 *血液フロンティア* 18:709-715, 2008.

濱口元洋

- 1) 橋本里奈, 向井栄一郎, 横幕能行, 間宮均人, 濱口元洋: HIV 脳症 5 例の臨床的特徴と経過. *臨床神経* 48: 173-178, 2008.

立川夏夫

- 1) 立川夏夫 HIV 抗体検査と告知について, *医薬の門* 2008;48(1): 15-22.
- 2) 立川夏夫 HIV/AIDS 治療の現状と課題 *公衆衛生* 2008;72(6): 456-460.

国際学会

研究代表者 金田次弘

- 1) Fujisaki S., Ibe S., Hattori J., Shigemi U., Fujisaki S., Shimizu K., Ito K., Yokomaku Y., Mamiya N., Utsumi M., Hamaguchi M., Kaneda T. An 11-year surveillance of HIV-1 subtypes in Nagoya, Japan. XVII International AIDS Conference, Aug 3-8, 2008, Mexico City.

研究分担者 南 留美

- 1) Minami R, Takahama S., Ando H., Yamamoto M. High molecular weight form of adiponectin in antiretroviral drug-induced dyslipidemia based on in vivo and in vitro analyses. XVII International AIDS Conference, August 3-8, 2008, Mexico City.

研究課題：エイズ多剤併用療法中のリザーバーの特定および選択的障害に関する研究

課題番号：H20-エイズ-20270201

主任研究者：五十嵐 樹彦（京都大学ウイルス研究所 教授）

分担研究者：なし

1. 研究目的

多剤併用療法は感染者からウイルスを完全に排除する事が出来ない。本研究計画では多剤併用療法中に温存されるリザーバーを特定、そのリザーバーを選択的に傷害する方法の開発を最終目的とする。リザーバーの全身レベル検索を行う為、SIVmac/アカゲザル実験系を用いたが、この実験系において強力な化学療法が存在しないので、今年度は SIVmac/アカゲザル実験系における多剤併用療法の確立を目標として薬剤の選択および投与方法を検討した。

2. 研究方法

多剤併用療法として抗 SIV 効果が知られているジドブジン(AZI)、ラミブジン (3TC)、テノフォビル (TDF) を逆転写阻害剤として選択した。プロテアーゼ阻害剤は抗 SIV 効果が不明のため、代表的な3剤、サキナビル(SQV)、ロピナビル(LPV)、アタザナビル (ATV) に関し MT-4 細胞を用い、ウイルス感染による細胞死の阻止試験により検索した。投薬は選択した抗ウイルス剤（市販、成人感染者推奨服薬量の半量）を粉砕、同じく粉砕したサル飼料 30 グラム、バナナ 75 グラムと混合したものを 1 日 2 回 (TDF のみ 1 日 1 回)、10 時間および 14 時間間隔で自由摂食させた。ウイルスは病原性 SIVmac239 を 2000TCID₅₀ 静脈内接種した。サルは中国産アカゲザル3頭を用い、1 頭は非治療対照とし、2 頭に多剤併用療法を感染 8 週後から 10 週間適用した。ウイルス接種前から経時的に末梢血および肺胞洗浄液中のリンパ球サブセットを解析した。ウイルス接種後、血漿中ウイルス RNA 量を PCR により経時的に定量した。

（倫理面への配慮）

実験は「研究機関等における動物実験等の実施に関する基

本指針」に基づく「京都大学における動物実験の実施に関する規定」を遵守し行った。

3. 研究結果

検索したプロテアーゼ阻害剤3剤はそれぞれ異なる IC₅₀ で SIV の複製を抑制した。同じ実験で HIV-1 と SIV を比較すると、SQV は SIV を、ATV は HIV-1 をより低濃度で、LPV はどちらもほぼ同じ濃度で抑制した。IC₅₀ とヒトにおけるそれぞれの薬剤の血中半減期を勘案し、LPV/リトナビルを選択した。薬剤と飼料を混合したものを通常の飼料に代えたため、実験に用いた2頭のサルは投薬後1週間以内に摂食率が90%に達し、その後安定して摂食した。投薬14時間後の薬物血中濃度を測定した所、10 μ M以上であったので、投薬量は十分と判断した。SIV 感染サルの血中ウイルス量は HAART を開始した接種8週後は 10⁵ RNA コピー/ml だった。投薬開始後4週間以内に治療群2頭でウイルス量は検出限界の200 RNA コピー/ml 以下に低下、治療期間中2回、数百コピー/ml の「ブリップ」を経験したがそれ以外は検出限界以下だった。末梢血中の CD4 陽性リンパ球は治療の有無に関わらず大きな変動はなかったが、肺胞洗浄液中の CD4 陽性リンパ球はウイルス接種後4週以内に45%から5%程度に著減し、その後漸増した。この細胞は治療群2頭で治療期間中にウイルス接種前のレベルに戻ったが、非治療のサルでは接種前の70%程度に留まった。接種18週後に投薬を止めた所、治療群の血中ウイルス量は2週間以内に非治療サルと同じレベルになり、回復した肺胞洗浄液中の CD4 陽性リンパ球は投薬中止3週後から減少に転じた。

4. 考察

以下の理由から今年度目標としたサルエイズモデルにおける多剤併用療法を確立したと考える。1) サルに安定して投薬可能である、2) 感染者と同レベルの血中ウイルス量を4週間以内に検出限界以下に抑制した、3) 投薬中は血中ウイルス量を安定して検出限界以下に抑制した。また、今回の結果から SIV 感染においても多剤併用療法の中止によって血中ウイルス量が速やかに上昇し、一端回復した CD4 陽性リンパ球が再び減少する事が確認された事から、療法中のリザーバーの検索に SIV/アカゲザルモデルが利用可能と考えられた。投薬量が多すぎる可能性は否めないが、10 週間の投薬後の血清生化学検査では腎機能の異常を示唆するような結果は得られなかった。治療中に観察された「ブリップ」に関してはインテグラーゼ阻害剤のような作用点の異なる抗ウイルス剤を更に加える事も考えられるが、併用療法が成功している感染者でも見られる現象であるので、当面、今年度確立した療法を用いてリザーバーの検索に進みたい。

5. 自己評価

1) 達成度について

今年度の目標は多剤併用療法の確立であったが、薬剤の選定、投薬方法の確立、感染サルへの応用、治療効果と服薬中止によるウイルスパラメータおよび CD4 陽性リンパ球の変動を確認出来、当初の目標を達成したと考える。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

多剤併用療法は既に 12 年の歴史を持ち、その効果は広く認められているため、今更サルで同様の効果を再現した事を以て社会的意義があるとは言えない。従って、今年度の研究成果は一見地味ではあるが、サルエイズモデルにおいて国際的にも今迄達成されていなかったものである。そのため、ステージセッティングとしての学術的・国際的意義があると考えられる。

3) 今後の展望について

今後は今年度確立した多剤併用療法を新しいサルを用

いて更に長期間適用、安楽殺後に全身組織を採材し、分画細胞を用いた PCR および組織化学的検索を通してリザーバーの特定を行う。

6. 結論

HIV-1 感染者で行われているのと同等のウイルス抑制効果のある多剤併用療法をサルエイズモデルにおいて確立した。

7. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

なし。

研究課題：重篤な日和見感染症の早期発見と最適治療に関する研究

課題番号：H18-エイズ一般-008

主任研究者：安岡 彰（長崎大学医学部・歯学部附属病院 教授）

分担研究者：照屋 勝治（国立国際医療センター 医長）、片野 晴隆（国立感染症研究所感染病理部 室長）、竹内 勤（慶応大学医学部 教授）、古西 満（奈良県立医科大学 准教授）、山崎 善隆（信州大学医学部附属病院 助教）、永井 英明（国立病院機構東京病院 医長）、堀場 昌英（国立病院機構東埼玉病院 医長）

1. 研究目的

日本では新規患者の増加に伴って HIV の日和見感染症も増加しており、予後の改善のためには適切な診断と治療が必須である。これに対応するため 1) HIV 合併日和見感染症の早期発見、2) 日和見感染症の適切な治療についての標準化、診断マーカーや新しい治療薬についての研究、3) 免疫再構築症候群の病態把握とその回避や対処法、について研究を行うとともに、一般病院への情報提供を行うことが重要となっている。本研究は、日和見感染症の動向を継続して調査するとともに、重要な日和見感染症の早期発見の方法を確立し、免疫再構築症候群を考慮に入れた適切な治療を確立し、その情報発信も最終目標とした。

2. 研究方法

本研究では重点項目として以下の点を中心に検討した。

1) 日和見感染症の動向と頻度の調査：1995 年以降の日和見感染症の全国動向データの集積に、本年度もさらにデータを積み重ねた。また HIV 感染者の悪性腫瘍の動向も解析した。（安岡）

2) HIV 合併日和見感染症の早期発見：

a) 結核：結核の早期診断に用いられる結核特異的インターフェロン γ 産生能検査(Quontiferon TB-2G; QFT)が、細胞性免疫不全である HIV 感染者での有用性について検討した。（永井）

また、治療に用いられる RFB の血中濃度、結核症の治療薬耐容性についても検討した。（照屋）

b) 進行性多巣性白質脳症(PML)：治療法がなく、HAART によっても機能予後が悪い PML の予後改善法について検討した。（照屋）

c) 悪性リンパ腫：増加しつつある EB ウイルス非関連リンパ腫について、それ以外のウイルス感染との関連を検討した。（片野）

d) 原虫症：クリプトスポリジウム、トキソプラズマの病原体の同定、遺伝子定量法について検討した。（竹内）

3) 日和見感染症の治療法・免疫再構築症候群への対処に関する研究：

a) 免疫再構築症候群：免疫再構築症候群の発症因子を明らかにするため、発症群と非発症群の臨床的背景の差を比較し、その成果をもとに診療のポイントを作成した。（古西）

b) ニューモシスチス肺炎(PCP)：PCP の治療成績と治療薬の効果、副作用、予後因子などについて検討した。（堀場）

c) 非結核抗酸菌症：抗酸菌を気管支上皮細胞内で増殖させる系を確立し比較的低濃度のクラリスロマイシンによる細胞内殺菌、単球・好中球の遊走抑制の効果を検討した。（山崎）

d) 原虫症：トキソプラズマの治療標的となる NTPase の結晶解析、抗クリプトスポリジウム効果のある物質の特定をおこなった。（竹内）

4) 成果の公表：エイズ予防財団の成果発表事業を活用し、研究成果の一般への公表・普及を行った。（倫理面への配慮）

HIV 感染症では特にプライバシーの問題が大きいことから特段の注意を払った。日和見感染症の全国調査では、予め長崎大学医学部・歯学部附属病院の倫理審査に諮り、承認を得て研究を行った。このほかにも臨床研究や臨床検体の採取と利用、患者個人へのアンケートなどを行う際には各倫理指針に従い、必要な場合は各施設で倫理委員会に諮って承認を得た上、文書及び口頭で患者に対して十分説明を行い任意の参加を得るよう徹底した。

3. 研究成果

1) 日和見感染症の動向と頻度の調査：初発疾患としてのニューモシスチス肺炎や結核、数ヶ月経過後の CMV 感染症や MAC 症の重要性が明らかとなった。また悪性リンパ腫やカボジ肉腫といった悪性腫瘍が急増していた。指標疾患以外の悪性腫瘍では日本人の年齢調整罹患率が人口 10 万対 304 に対し、HIV 感染者では 420 とやや高く、疾患では肝癌、白血病、肺癌が相対的に高率であった。

2) HIV 合併日和見感染症の早期発見：

a) 結核：QFT は HIV 感染者の結核でも陽性となることが明らかとなり、これまでのツベルクリン反応などより有用性が高かった。また非結核 HIV

患者での QFT 陽性コントロールが陰性となる例はなく QFT は HIV 感染者でも結核の診断に使用できることが確認された。また ELISPOT 法ではさらに高感度な方法であった。

RFB の血中濃度は 7 例で測定した。結核治療では重篤な肝障害などの頻度が高く、初回治療の 23.6% で副作用による治療中断・変更が必要であった。

b) 進行性多巣性白質脳症 (PML) : PML 発症時点から HAART とともにプレドニゾロンを漸減しながら投与したところ、神経機能の悪化を来さず治療できた症例を経験した。この方法は今後 PML 治療を変える可能性を秘めていると思われた。

c) 悪性リンパ腫 : 悪性リンパ腫組織から EBV が 90% で検出され、HIV も 30% で検出された。このほか CMV, HBV, HHV-6, HSV, TTV などのウイルスが検出された。

d) 原虫症 : トキソプラズマの rDNA を標的とした PCR の確立および糞便検体からのクリプトスポリジウム遺伝子の PCR 検出を一般検査室で簡便に施行可能であることを確認した。

3) 日和見感染症の治療法・免疫再構築症候群への対処に関する研究:

a) 免疫再構築症候群 : 非発症 AIDS 群と比較して免疫再構築症候群を発症した群では多変量解析で、CD4 数 $50 / \mu\text{L}$ 未満とウイルス量 1.0×10^5 コピー以上が有意な発症リスクであった。これまでの成果を「診療のポイント Ver2」としてまとめた。

b) ニューモシスチス肺炎 (PCP) : 画像診断では PCP のみでカリニ肺炎を疑うことは困難で、 β -D-glucan 測定が有用であった。治療は全例有効であったが、合併感染症 (CMV など) での死亡が見られた。BALF の細胞分画や死亡要因についても分析した。

c) 非結核抗酸菌症 : $1/4\text{MIC}$ と比較的低濃度のクラリスロマイシンによっても細胞内殺菌が亢進され、サイトカイン・ケモカインの産生が抑制されていた。それによる単球・好中球の遊走も抑制していた。クラリスロマイシン予防投薬により免疫再構築症候群が抑制される可能性が示唆された。

d) 原虫症 : NTPase の結晶解析が可能となった。鉄代謝関連物質による抗クリプトスポリジウム効果が見いだされた。

4) 成果の公表 : エイズ予防財団の成果発表事業により、大阪 (10 月 18 日)、東京 (11 月 1 日)、沖縄 (12 月 13 日) に日和見感染症の解説と研究成果の発表を行い、参加者から有意義であったとの評価を得た。

4. 考察

日和見感染症の動向は、増加傾向や発症時期による日和見感染症の違いが明らかになるとともに、疾患様相が年々変化していることも明らかとなり、我が国唯一の疫学データとして貴重な成果が得られた。また HIV 患者の発症についても初めてのデータが得られた。診断では結核症に対する新しいマーカーである QFT が日本の HIV 感染者にも用いることができることが明らかとなり、また悪性リンパ腫発症に様々なウイルスが関与する可能性が示唆されるなど貴重な成績が得られた。

免疫再構築症候群の発症に要因を抽出することができ、発症予防のための非結核抗酸菌症に対するクラリスロマイシン、PML に対するステロイドの投与方法など今後の治療に対して示唆に富む結果が得られた。

5. 自己評価

1) 達成度について

日和見感染症の早期発見、新しい診断法や治療法の開発、免疫再構築症候群への対処など、成果が明らかとなっており、またその成果発表も行い、当初計画した目標をほぼ達成したと考えている。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

欧米諸国とは異なる、日本の HIV 感染症に伴う日和見合併症の動向や、問題点について全国集計、アンケート、その他の検討によってデータを集積しており、国内では他で得られない貴重なデータが集積されたと考えている。

3) 今後の展望について

今後の日和見感染症や悪性腫瘍の動向については継続調査が必要と考えられる。AIDS 関連悪性腫瘍や非結核抗酸菌症の予防法、HIV 合併結核の診断、PML への対処や免疫再構築症候群についても今後のデータの集積が必要である。

6. 結論

重篤な日和見感染症の早期発見と最適治療に関して、現在問題となっている疾患や症候群に対する病態の解析や対処法について明らかにし、その成果を公表した。

7. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

特記事項なし。

研究発表

主任研究者

安岡 彰

- 1.安岡 彰. 内科必携画像診断 ニューモシスチス肺炎. 内科. 2008. 101:1395-1397.
- 安岡 彰. 第Ⅱ部臓器別のアプローチ-感染症 7届出が必要な感染症. 臨床透析. 2008. 24:1002-1004.
- 2.安岡 彰. HIV(ヒト免疫不全ウイルス). ウイルスハンドブック. 2008. 76-77.
- 3.安岡 彰. ウイルス性肺炎・ニューモシスチス肺炎. 総合臨床. 2008. 57:888-891.
- 4.安岡 彰. 日和見感染症としての抗酸菌感染症. 呼吸器科. 2008. 13:13-17.

分担研究者

照屋勝治

- 1.Teruya K, Oka S, Fukutake K, Amano K, Furutani S, Hayashi K, Masaki Y, Kimura S. Evaluation of the COBAS ampliprep/COBAS TaqMan system for quantification of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) RNA by real-time PCR. *Kansenshogaku Zasshi*. 2008 Jan;82(1):20-5.
- 2.Tanuma J, Fujiwara M, Teruya K, Matsuo S, Yamanaka H, Gatanaga H, Tachikawa N, Kikuchi Y, Takiguchi M, Oka S. HLA-A*2402-restricted HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes and escape mutation after ART with structured treatment interruptions. *Microbes Infect*. 2008 May;10(6):689-98.

片野晴隆

- 1.Dewan MZ, Tomita M, Katano H, Yamamoto N, Ahmed S, Yamamoto M, Sata T, Mori N, and Yamamoto N. An HIV protease inhibitor, ritonavir targets the nuclear factor-kappaB and inhibits the tumor growth and infiltration of EBV-positive lymphoblastoid B cells. *Int J Cancer* 2009 124: 622-9.
- 2.Nozawa N, Yamamoto Y, Fukui Y, Katano H, Tsutsui Y, Sato Y, Yamada S, Inami Y, Nakamura K, Yokoi M, Kurane I, and Inoue N. Identification of a 1.6 kb genome locus of guinea pig cytomegalovirus required for efficient viral growth in animals but not in cell culture. *Virology* 2008 379: 45-54.
- 3.Liem NT, Nakajima N, Phat LP, Sato Y, Thach HN, Hung PV, San LT, Katano H, Kumasaka T, Oka T, Kawachi S, Matsushita T, Sata T, Kudo K, and Suzuki K. H5N1-Infected Cells in Lung with Diffuse Alveolar Damage in Exudative Phase from a Fatal Case in Vietnam. *Jpn J Infect Dis* 2008 61: 157-60.
- 4.Dewan MZ, Takamatsu N, Hidaka T, Hatakeyama K, Nakahata S, Fujisawa J, Katano H, Yamamoto N, and Morishita K. Critical role for TSLC1 expression in the growth and organ infiltration of adult T-cell leukemia cells in vivo. *J Virol* 2008 82: 11958-63.

竹内 勤

- 1.Saito T, Maeda T, Nishi M, Hashimoto H, Wu B, Roos DS, Takeuchi T, Asai T. A Novel GDP-dependent pyruvate kinase isozyme from *Toxoplasma gondii* is targeted to both the mitochondrion and the apicoplast. *J. Biol. Chem.*, 2008 (in press)
- 2.Makioka A, Kumagai M, Kobayashi S, Takeuchi T. Differences in protein profiles of the isolates of *Entamoeba histolytica* and *E. dispar* by surface-enhanced laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (SELDI-TOF MS) ProteinChip assays. *Parasitol Res*, 2007, 102, 103-110.

古西 満

- 1.Masaaki Takahashi, Mitsuru Konishi, Yuichi Kudaka, Naoya Okumura, Atsushi Hirano, Nami Terahata, Kazuhide Banno, Tsuguhiro Kaneda: A conventional LC-MS method developed for the determination of plasma raltegravir concentrations. *Biol Pharm Bull*, 2008. 31: 1601 - 1604.