

は16.3%、5log以上では19.0%であった(図3)。また、3クラス耐性での治療成功率は26%、死亡率も26%であった(図4)。

更に現在の治療メニューを5群(標準治療^{注1)}、旧標準治療^{注2)}、サルベージ^{注3)}、2剤治療、治療なし)に分類し解析した。耐性クラス別では、全群においてサルベージ、標準治療症例ともに多く存在した。「2剤治療」「治療なし」症例は13例(13.4%)で1クラス・2クラス群に多かった。HIV-RNA量(VL)別では、標準治療でVL<50コピー/mLが45例

(37.8%)、サルベージでVL<50コピー/mLとなった症例が17例(14.3%)であった。VL>10,000コピー/mLのうち10例(8.4%)が「2剤治療」や「治療なし」であった(表1)。

注1) 2008年2月時点のDHHSガイドラインで、初回治療で第一推奨・第二推奨となっている組み合わせ。

注2) 以前は推奨されていたが、現在は推奨されていないメニュー。例としてd4T+3TC+NFVやIDVを含む組み合わせなど。

注3) 新規承認薬剤のほか、ダブルプロテアーゼや、3クラス投与などを含む組み合わせなど。

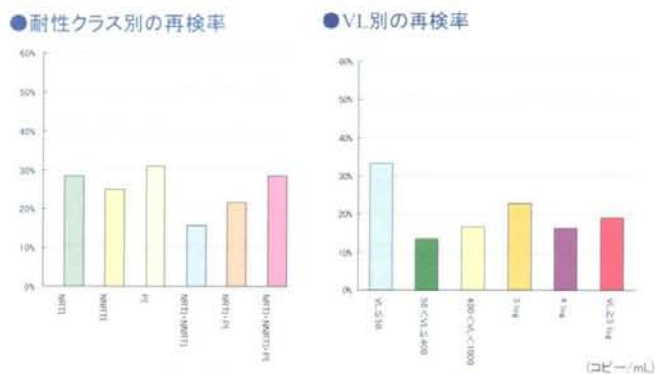


図3 調査(c) 薬剤耐性診断症例の再検査率

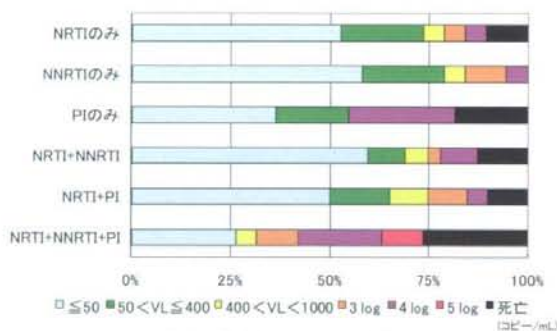


図4 調査(c) 薬剤耐性診断症例の転帰

表1 調査(c) 現在の治療メニュー

●耐性クラスから見た治療メニュー

	n	標準治療	旧標準	サルベージ	2剤治療	治療なし
NRTI	17	9	2	4	1	1
NNRTI	33	22	3	2	0	6
PI	9	4	1	1	0	3
NRTI+NNRTI	28	15	5	6	0	2
NRTI+PI	18	5	3	8	1	1
NRTI+NNRTI+PI	14	5	0	8	1	0

●現在のVL別に見た治療メニュー

	n	標準治療	旧標準	サルベージ	2剤治療	治療なし
VL<50	68	45	6	17	0	0
50<VL<400	15	8	2	4	0	1
400<VL<1000	10	2	2	2	2	2
3 log	9	4	3	1	0	1
4 log	15	1	1	3	1	9
VL≥5 log	2	0	0	2	0	0

(コピー/mL)

D. 考察

耐性度の低い変異の集積は、近年登場した強力な抗HIV薬でマスキングされ表出されていない場合がある。しかし、いずれ多剤耐性が顕在化する可能性があり現段階から正確な状況を把握することが重要と考えられた。

また、調査後の本年後半から来年1月にかけて、新規抗HIV薬剤が続々と承認されており、現状は刻々と変わってきている。そのため来年度へかけて更に大規模な調査を行う必要があると考えられる。

E. 結論

今回の調査により薬剤耐性の獲得が治療のvirological failureの大きな要因であることが改めて確認されるとともに、HAART以前に治療を開始した感染者において多剤耐性が深刻な状況にあることが示された。ウイルス学的失敗を回避するためにも、耐性検査の実施により、早い段階で耐性状況を正確に把握しておくことが重要となる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Hou W, Aoki C, Yu L, Wen X, Xue Y, Gao B, Liu W, Gao GF, Iwamoto A, Kitamura Y. A recombinant replication-competent hepatitis C virus expressing Azami-Green, a bright green-emitting fluorescent protein, suitable for visualization of infected cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008 Dec 5;377(1):7-11.
- Hosoya N, Miura T, Kawana-Tachikawa A, Koibuchi T, Shioda T, Odawara T, Nakamura T, Kitamura Y, Kano M, Kato A, Hasegawa M, Nagai Y, Iwamoto A. Comparison between Sendai virus and adenovirus vectors to transduce HIV-1 genes into human dendritic cells. *J Med Virol*. 2008 Mar;80(3):373-82.
- 宮崎菜穂子, 岩本愛吉: HIV感染症/エイズ; *Pharmavision* 12(6):p2-12,2008.
- 宮崎菜穂子, 薬剤師の役割; *治療学* 42:512-518,2008.
- 藤井毅, ニューモシスチス肺炎の3例; *治療学* 42:603-606,2008.
- 吉田文, 宮崎菜穂子, 黒川陽介, 内服困難者に対する抗HIV薬の投与; *治療学* 42:616-619,2008.
- 岩本愛吉, 藤井毅, 臨床医学の展望-感染症および化学療法; *日本医事新報* 4379号, 53-58, 2008.
- 藤井毅, ニューモシスチス肺炎; *日本臨床* 66:2367-2372,2008

2. 学会発表

- 宮崎菜穂子, 松下修三, 藤井毅, 岩本愛吉, 杉浦互: 既治療患者における耐性HIV(多剤耐性)調査報告:第22回日本エイズ学会学術集会, 2008.11 大阪
- 杉浦互, 湯永博之, 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, 藤井毅, 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, 浜口元洋, 上田幹夫, 大家正義, 田邊嘉也, 渡辺香奈子, 白飯琢磨, 柴原健, 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: 2003-2007年の新規HIV-1感染者における薬剤耐性頻度の動向:第22回日本エイズ学会学術集会, 2008.11 大阪
- 中村仁美, 宮崎菜穂子, 藤井毅, 小田原隆, 岩本愛吉: 超多剤耐性患者における新規抗HIV薬 Etravirin, Darunavir, Raltegravir の併用効果:第22回日本エイズ学会学術集会, 2008.11 大阪
- 古賀道子, 宮崎菜穂子, 前田卓哉, 中村仁美, 鯉淵智彦, 遠藤宗臣, 藤井毅, 小田原隆, 岩本愛吉: HAARTによるHIVウイルス量抑制力の時代の変遷について:第22回日本エイズ学会学術集会, 2008.11 大阪
- 菊地正, 鯉淵智彦, 片寄智規, 小柳津直樹, 前田卓哉, 遠藤宗臣, 藤井毅, 小田原隆, 岩本愛吉: 特異な経過を辿った結核による免疫再構築症候群の一例:第22回日本エイズ学会学術集会, 2008.11 大阪
- 鯉淵智彦, 中村仁美, 菊地正, 前田卓哉, 遠藤宗臣, 藤井毅, 小田原隆, 岩本愛吉: HAART導入後に急性肝障害を生じ、1ヶ月後にHBe抗体陽性となったHBVキャリアの1例:第22回日本エイズ学会学術集会, 2008.11 大阪
- 鯉淵智彦, 中村仁美, 菊地正, 前田卓哉, 遠藤宗臣, 藤井毅, 小田原隆, 岩本愛吉: HAART施行したHIV/HBV重複感染者13例の解析:第22回日本エイズ学会学術集会 2008.11 大阪
- 吉田文, 宮崎菜穂子, 黒川陽介: 内服困難者に対する抗HIV薬の投与方法についての検討:日本医療薬学会年会, 2008.9 札幌
- 藤井毅: 真菌症の予防対策-HIV感染者におけるポイント:第23回日本環境感染学会総会, 2008.2 長崎
- 藤井毅: HIVと真菌感染:第52回日本医真菌学会総会, 2008.9 長崎

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



研究要旨

近畿ブロックにおける薬剤耐性HIVの調査研究

研究分担者 白阪 琢磨 国立病院機構大阪医療センター 臨床研究センター
エイズ先端医療研究部長

研究協力者 渡邊 大¹、山本 信夫²、新田 幸一²、管尾 龍彦²、佐子 肇²、
常松 裕子²、溝上 泰司²、松永加奈江²、真能 正幸²、吉野 宗宏³

¹大阪医療センター・HIV感染制御研究室、²大阪医療センター・臨床検査科、

³大阪医療センター・薬剤科

薬剤耐性HIV変異株の出現はHIV感染症の临床上重要な課題となっており、近畿ブロックでの薬剤耐性検査の実施とその結果を臨床に反映するシステム構築が必要とされる。今年度も昨年度に引き続き、新規HIV感染者における薬剤耐性変異の有無の頻度について調査した。平成20年に当院を受診した初診患者のうち78名が対象となった。3症例に抗HIV薬の選択に直接関わる変異を認め、M184V単独の症例のほか、PR領域にN88S、RT領域にD67GとM184Vを持つ症例、K219EとY181Cを持つ症例を認めた。また、多剤耐性の6症例に対してインテグラーゼ阻害剤Raltegravirを使用した。いずれも良好な抗ウイルス効果が得られた。薬剤耐性検査は临床上重要であり、インテグラーゼ領域に関しても解析のシステム構築が必要とされる。

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ような薬剤耐性検査システムを構築することである。今年度は当院での新規HIV感染者における薬剤耐性変異の頻度を調査した。また、今年度から新規クラスの抗HIV薬であるインテグラーゼ阻害剤が保険収録された。Raltegravirの当院における使用例について報告する。

B. 研究方法

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を抽出した。その後特定

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プロテアーゼ領域を増幅した。一部の症例ではインテグラーゼ領域についても増幅を行った。増幅されたDNAをDirect sequencing法にて決定した。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た。平成20年度に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）で薬剤耐性検査を実施した症例のうち、平成20年度に始めて感染が確認されたものを対象とし、カルテから情報を収集し検討を行った。また、インテグラーゼ阻害剤であるRaltegravirを用いた6例について、診療記録から経過について情報を収集した。

（倫理面への配慮）

研究の遂行に関しては、当院の倫理委員会に相当する受託研究審査委員会で承認を得た方法を用いた。いずれも個人情報の取り扱いについては厳重に行った。日本未承認薬（RaltegravirとEtravirine）に関しては、当院の倫理委員会にて審査・承認をうけたのち、患者に投与を行った。

に多くの耐性を認めていた。サルベージ療法を検討した時点ではRALは国内未承認薬であったため、当院の倫理委員会承認後RALを追加した。症例3も内服率の重要性について説明を受けていなかった症例であり、平成20年6月に当院に紹介となっていた。PR領域にも多くの耐性変異を認め、DRV/rに加えて新規の薬剤が2剤必要と考えた。従いNVP+DRV/r+RALに変更し、抗ウイルス効果は良好であったが、NVPの薬疹が出現し、神経系の副作用のためEFVが使用できなかった。倫理委員会の承認後にEtravirineを追加し副作用を認めず、抗ウイルス効果も良好であった。症例4は副作用のため、dual PI (LPV/r+FPV)からRAL投与となった症例である。変更後は血液検査での明らかな改善は認めないものの、内服に必要な錠数は大きく減少し、患者にとって薬剤変更は有益であった。症例5(図6)もアドヒアランスの維持の必要性に関して説明をうけておらず多剤耐性となった症例で、平成20年4月に当院に紹介があった。経過は長く、平成18年にはATVによると考えられる耐性変異、平成20年にはLPV/rによると

考えられる変異を認めていた。当院の倫理委員会承認後にDRV/r+RAL+Etravirineに変更し、速やかにウイルス量は低下した。症例6は血友病の症例で、3TC+ddI+NFVでは抗ウイルス効果は不十分な多剤耐性症例である。ABC/3TC+RAL+Etravirineに変更後し、数百前後で推移していたウイルス量はすぐに感度未満に達した。以上の6症例の経過を図7に示した。

D. 考察

今年度は新規診断患者78例の解析を行った。昨年同様M184Vの変異を認めたとほかに、NFVによって誘導されたと思われるL10V・E35G・N88Sの変異を有した症例を認めた(症例13)。StanfordのHIV db programのmutation scoring結果ではATVが65で、NFVが67とこの両者に対して高度耐性が予想された。この症例はRT領域にもD67GとM184Vを有していた。症例13のほか、症例2にNNRTIに関わるもの、症例30にM184Vを認め、本年度は78症例中3症例に抗HIV薬の選択にかかわる変異を認めるという結果になった。

年齢 (歳代)	NRTI NNRTI PI	HIV耐性変異	感染経路	変更前 CD4(/mm ³) VL(cp/ml)	薬剤変更理由
① 30	M184V, T69A, K103N, P225H, L63A		同性間	7 250000	多剤耐性
② 30	T215Y, M184V, V75A, V118I, V106L, V179I, Y184C, L101L, L63Q, V77I, L90M, I93L, I84V		血液製剤	162 280000	多剤耐性
③ 70	D67N, K70R, T215F, K219Q, M184V, T69TA, V75M, L10L, K20M, M36V, M71J, I54V, I63T, V82A, L90M, G16E, L76V, L74S		血液製剤	340 18500	多剤耐性
④ 40	M41L, D67G, L210W, T215Y, Q151M, K20M, M36L, M46L, J47I, I54V, I63P, A71V, V82A, L90M		同性間	712 <40	高脂血症、多剤耐性
⑤ 30	D67N, K70R, M184V, K219Q, K101L, G130A, L10V, I13V, K20R, L33F, M46L, Q58E, V82F, I84V		異性間	188 25900	多剤耐性
⑥ 50	M41L, D67N, K70R, T215F, K219Q, M184V, L74L, T69TA, V118I, L10L, K20M, M36L, G48V, J47I, I54V, L63P, A71V, V82C, I93L, I13V, I61V, L74S		血液製剤	76 113	抗ウイルス効果不良 多剤耐性

図5 当院のインテグラーゼ阻害剤使用例

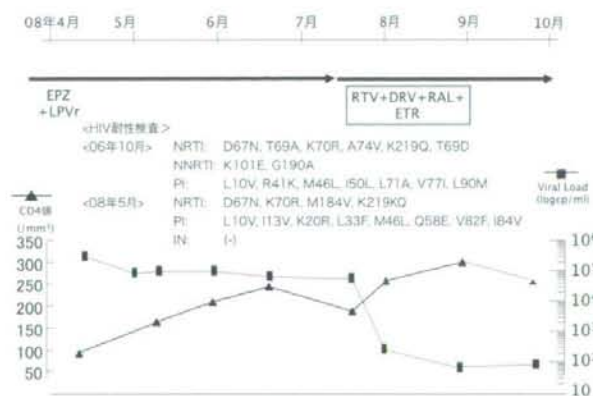


図6 症例5治療経過

インテグラーゼ阻害剤であるRaltegravirは新規のクラスの抗HIV薬である。平成20年7月から国内においても使用可能となっている。当院では海外輸入により平成20年5月から2症例に投与を行い、以降も併せて平成20年12月の段階で6症例に投与を行った。すでに報告されているように、抗ウイルス効果は良好であり、多剤耐性症例にも関わらず全例において良好な血中ウイルス量の減少を認めた。また、特記すべき副作用もなく、atazanavirと併用時のみ血中濃度が上昇する程度で薬剤相互作用の問題もほとんど知られていない。従い、多剤耐性症例のみではなく、副作用が許容できない症例においても今後広く使われる可能性が高いと思われる。現時点ではNRTI剤との組み合わせによって長期間ウイルスを抑制できるかどうかについては明らかではないが、良好な抗ウイルス効果や良好な忍容性からfirst lineとしても考慮すべき薬剤と考えられ、広く使用されると共に新規診断患者におけるインテグラーゼ領域の耐性変異の有無についても重要性が高まると考えられる。

E. 結論

新規患者におけるHIVの薬剤耐性遺伝子の検索を78名に対して行った。3症例で抗HIV薬の選択に直接関わる耐性変異を認めた。多剤耐性症例6例に対してインテグラーゼ阻害剤の投与を行い、良好な抗ウイルス効果を得た。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

口頭発表

国内

1. 上平朝子、大谷成人、富成伸次郎、坂東裕基、谷口智宏、矢嶋敬史郎、小川吉彦、矢倉裕輝、吉野宗宏、渡邊大、白阪琢磨：新規抗HIV薬（Darunavir,Raltegravir,Etravirine）の使用経験。第22回日本エイズ学会学術集会・総会、大阪、2008年11月

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし。

年齢 (歳代)	レジメン	CD4/(mm ³) VL(copies/ml)				
		治療開始前	4W	8W		
① 30	ABC/3TC +RTV+DRV+RAL	7 250000	85 49000	118 3400	124 64 (19W)	
② 30	TDF/FTC +LPVr+RAL	162 280000	270 3500	290 <40	403 <40 (28W)	他院からの紹介
③ 70	RTV+DRV +RAL+ETR	340 18500	301 201	456 184	479 <40 (19W)	他院からの紹介
④ 40	EFV+LPVr+RAL	712 <40	433 <40	469 <40	-	
⑤ 30	RTV+DRV +RAL+ETR	188 25900	256 304 (2W)	234 86	231 <40 (21W)	他院からの紹介
⑥ 50	ABC/3TC +RAL+EFR	76 113	80 <40 (2W)	106 <40	-	

図7 当院のインテグラーゼ阻害剤の投与例のまとめ



研究要旨

東京医大における薬剤耐性HIVの調査研究

HIV-1 RNA測定法のリアルタイムPCR法への変更に伴う問題点

研究分担者 **福武勝幸** 東京医科大学 臨床検査医学講座 主任教授
 研究協力者 **四本美保子、山元泰之、清田育男、大瀧 学、藤田 進、鈴木隆史、天野景裕、香川和彦**
 東京医科大学 臨床検査医学講座

[目的] 2007年末より、HIV-1 RNA測定法に新しいリアルタイムPCR法（TaqMan法）が導入され変更が進んでいる。新法変更後に検査値が従来法と比べ高値を示したり、変動する症例が経験されているので検討した。

[方法] 当院外来通院患者からICを得られた連続128症例について、従来法のアンプリコアモニター法と新法を同時に測定した。2008年6月現在の抗HIV薬服用者451名のうち、従来法で5回連続50コピー/ml未満で推移し、リアルタイムPCR法に変更後3ポイントの測定が可能であり、かつ抗HIV療法に変更のない200例を対象として解析を行った。

[結果] 同時測定では従来法で50コピー未満を示した58例のうち、新法で50コピー未満を示したのは31症例（53%）であった。リアルタイムPCR法に変更後、3ポイント中いずれかのポイントにおいて、50コピー/ml以上を呈した症例は106例、200コピー/ml以上を呈した症例は50例であった。3ポイントが継続的に50コピー/ml以上を呈した症例は32例みられたが、全体を通じて測定値の変動が大きく、数値の変化で病態を解釈することを困難にしている。

[考察] 現時点では、測定値が変動した症例に特有な治療薬の分布や病態の特徴は明らかでなく、連続的にRNA量の増加傾向が続かない限り、処方の変更を検討するべきではないと考えられた。引き続き、検査法の安定性や病態との関連について検討を進める必要がある。

A. 研究目的

患者の末梢血液中に存在するHIV-1ウイルス量の測定は、本研究の基本情報となる重要な指標である。従来、HIV-1ウイルス量はRT-PCR法によりHIV-1 RNAを変換・増幅し、測定してきた。2007年末より、HIV-1 RNA測定法に新しいリアルタイムPCR法（TaqMan法）が導入され変更が進んでいる。新法変更後に検査値が従来法と比べ高値を示したり、変動する症例が経験されているので検討した。

B. 研究方法

(1) 従来法とリアルタイムPCR法の比較

東京医科大学病院臨床検査医学科にて診療中のHIV-1感染患者からインフォームド・コンセントを得られた128例について、従来法（アンプリコア法）

と新法（リアルタイムPCR法）のそれぞれ定められた方法により、同時に採血した血液を用いて血清検体を調整し測定した。

(2) リアルタイムPCR法に変更後のHIV-1RNA量とCD4細胞数の解析

東京医科大学病院臨床検査医学科にて2008年6月現在診療中の抗HIV薬服用者451名のうち、従来法にて5回連続常に50コピー未満で推移していた症例で、2007年12月以降リアルタイムPCR法に変更後3回の測定が行われ、かつ抗HIV療法が変更されなかった199例を対象として解析を行い、リアルタイムPCR法に変更後のHIV-1RNA量の変化、特定の薬剤との関連の有無、およびCD4値の変化について検討した。

(倫理面の配慮)

本研究は、世界医師会によるヘルシンキ宣言に示された倫理規範を踏まえ、また、「疫学研究に関する倫理指針（平成14年6月17日）平成19年8月16日全部改定」を遵守して実施した。(1)従来法とリアルタイムPCR法の比較は東京医科大学病院臨床検査医学科にて診療中のHIV-1感染患者からインフォームド・コンセントを受けて実施した。(2)リアルタイムPCR法に変更後のHIV-1RNA量とCD4細胞数の解析は診断・治療等の医療行為について、当該方法の有効性・安全性を評価するため、診療録等から、連結不可能匿名化された診療情報を収集・集計して行う観察研究と位置づけて実施するため、調査対象者からインフォームドコンセントを受けないが、本研究の実施に当たっては、東京医科大学臨床検査医学講座のインターネットホームページ上に研究計画を掲載して周知を図ることとした。本研究は東京医科大学医学倫理委員会の審査を経て、受付番号997として学長の許可を得て行われた。

C. 研究結果

(1) 従来法（アンプリコア法）とリアルタイムPCR法の比較

同時採血した128検体中、アンプリコア法の高感度法で50コピー未満を示したのは58検体であった。アンプリコア高感度法で50コピー未満であった58検体のうち、リアルタイムPCR法では47%が50コピー以上を示した。50から99コピーが21%、100から199コピーが17%、200から299コピーが9%というわけであった（図1）。

また、同時に採血した検体の測定結果を相関図（図2）で示す。相関直線の傾きから、リアルタイムPCR法はアンプリコア法と比較して約2.88倍の高値を示した。

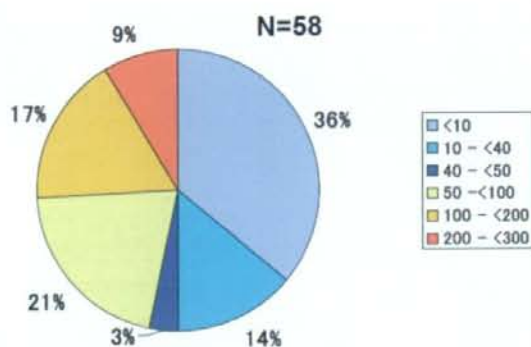


図1 同時測定でアンプリコア（高感度）法50コピー/ml未満を示した症例のTaqManの測定結果（コピー/ml）

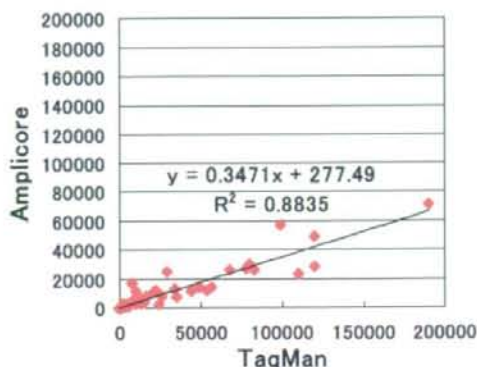


図2 HIV-1 RNA アンプリコア法とリアルタイムPCR法の同時採血検体の測定結果

(2) リアルタイムPCR法に変更後のHIV-1RNA量とCD4細胞数の解析

1. リアルタイムPCR法に変更後3回の検査のHIV-1RNA量

リアルタイムPCR法に変更後、3回とも50コピー未満を維持した症例は94例であった。3回中いずれかの検査において50コピー以上を呈した症例が105例、うち、200コピー以上が52例であった。3回が継続的に50コピー以上を呈した症例は31例であった(図3)。

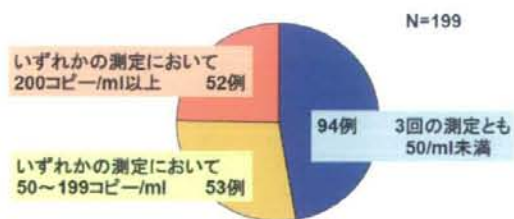


図3 リアルタイムPCR法に変更後3回の測定のHIV-1 RNA量

2. リアルタイムPCR法に変更後、3回の検査中いずれかにおいて50~199コピーを呈した53例についてその後のウイルス量の経時間的变化
過去のアンプリコア法の測定値と比較して高値を示すほか、値の変動が大きい傾向であった。これらのアンプリコア法との乖離があった症例において、経時的にウイルス量が持続して増加する傾向は認められなかった(図4)。

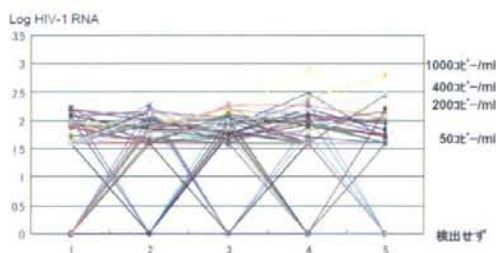


図4 リアルタイムPCR法に変更後、3回の測定中いずれかのポイントにおいて50~199コピー以上/mlを呈した症例におけるHIV-1RNA量の経時変化

3. リアルタイムPCR法に変更後、3回の検査中いずれかにおいて200コピー以上を呈した52例について、その後のウイルス量の経時間的变化
200コピー未満の症例と比較するとばらつきは少ない傾向であった。検出感度未満の後1000コピー以上を呈した症例があったが、持続的にウイルス量が増加することはなかった。

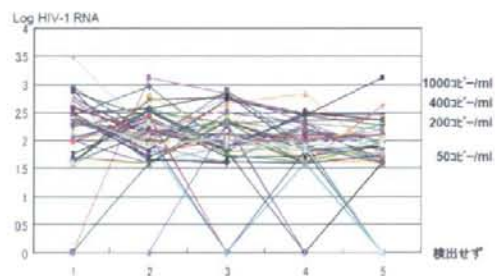


図5 リアルタイムPCR法に変更後、3回の測定中、いずれかのポイントにおいて200コピー以上/mlを呈した症例におけるHIV-1RNA量の経時変化

4. リアルタイムPCR法に変更後3回の検査が継続的に50コピー以上を呈した31例についてその後のHIV-1RNA量の経時間的变化
3回の検査中いずれかにおいて200コピー以上を呈した症例のうち、1例が、直近の値として1000コピー以上を呈しており、今後の注意深い観察が必要と考えられた。

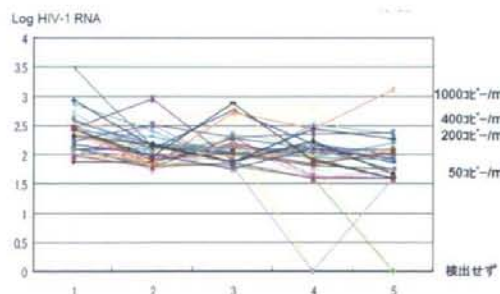


図6 リアルタイムPCR法に変更後3回の測定が継続的に常に50コピー以上/mlを呈した症例におけるHIV-1RNA量の経時変化

5. CD4細胞数の解析

検査法変更前後5回ずつのCD4陽性リンパ球数の平均を、対応のあるt検定で比較した。リアルタイムPCR法にて50コピー未満を維持した群においても、50コピー以上検出した群においても有意差は認められず、リアルタイムPCR法で50コピー以上HIV-1RNAを検出する群においてもCD4陽性リンパ球数の有意な変化は認められなかった。

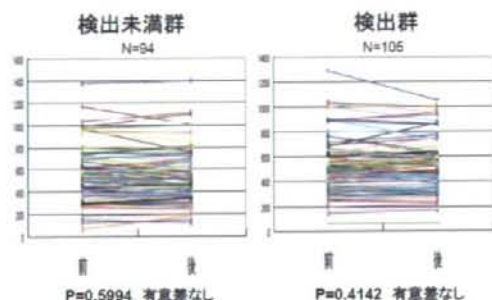


図7 検査法変更前後のCD4 平均の変化

D. 考察

アンプリコアモニター法とリアルタイムPCR法の同時採血検体の測定ではアンプリコア法で、50コピー未満であった症例の47%が50コピー以上を呈した。相関直線からはリアルタイムPCR法はアンプリコア法より約2.88倍の高値を示すと考えられた。アンプリコア法で50コピー/ml未満を維持していた症例のうちリアルタイムPCR法に変更後、50コピー未満を維持したのは47.2%であった。アンプリコア法とリアルタイムPCR法との乖離があった症例においても、経時的にHIV-1RNAが持続して増加することはなかった。検査法変更前後の5回の測定についてCD4陽性リンパ球数の平均値を比較したところ、リアルタイムPCR法で50コピー以上のHIV-1RNAを検出した群においてもCD4陽性リンパ球数の有意な低下は認められなかった。リアルタイムPCR法によりHIV-1 RNAを測定する場合、検査室と臨床現場においては、本法の性質として再現性があまり良くない事を念頭に置く必要がある。今後、改善へ向けての検討が必要である。

E. 結論

臨床現場における治療効果判定には使用しにくい検査であると考えられた。測定値が変動した症例に特有な治療薬の分布や病態の特徴は明らかでなく、連続的にRNA量の増加傾向が続かない限り、処方の変更を検討するべきではないと考えられた。引き続き、検査法の安定性や病態との関連について検討を進める必要がある。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。



研究要旨

北陸ブロックにおける薬剤耐性HIVの調査研究

研究分担者 上田 幹夫 石川県立中央病院 血液免疫内科 診療部長

研究協力者 金田 智子 財団法人エイズ予防財団

北陸地区における新規感染者の薬剤耐性HIV-1伝播の現状を把握するために、平成20年に新規に診断された8例のHIV感染者に対して薬剤耐性検査を行った。その結果、プロテアーゼ領域ではmajor mutationは認められず、逆転写酵素領域でもIAS-USAで定義されている変異は認められなかった。しかし、プロテアーゼ領域のminor mutationは8例全員で検出され、逆転写酵素領域ではV106I、V179E、T215Lの変異が検出された。抗HIV療法中の人が増加している中、新規にHIV感染が診断される人も増えており、新たな耐性HIVの出現やその伝播が危惧される。

A. 研究目的

日本における薬剤耐性HIV-1伝播の状況を把握する研究の分担として、北陸地区における新規あるいは未治療慢性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の発生動向を把握する。同時にサブタイプ解析を行い、新規診断感染者のHIV-1サブタイプの頻度について調査する。

B. 研究方法

「薬剤耐性HIV-1サーベイランスプロトコル」に従い、新規にHIV感染が診断された患者に対し、初診時または服薬開始前の検体について耐性検査を行った。同意を取得後、保存しておいた血漿よりHIV-1-RNAを抽出し、RT-PCR法にてcDNAを合成・増幅し、PCR産物を用いてダイレクトシーケンシング法で遺伝子配列を決定し、アミノ酸配列へ転換後、HXB2株と比較し変異を判定した。耐性変異箇所はIAS-USAとShafer's criteriaに従った。

またenv領域についても同様に遺伝子配列を決定し、プロテアーゼ・逆転写酵素領域とenv領域についてサブタイプ解析を行った。

(倫理面の配慮)

患者には担当医から文書で研究の説明を行い、同

意書に署名を得た後、検査を行った。また、サンプルの患者情報は記号化し、プライバシーの保護に配慮した。なお、本研究は石川県立中央病院倫理委員会で承認されている。

C. 研究結果

北陸地区の平成20年1月から9月末までのHIV感染者・AIDS患者での新規報告数は14人(エイズ動向委員会報告)で、全国と同様に増加傾向にある。平成20年に耐性検査を行った症例は8症例で、データからは感染初期とは認められなかった。

耐性検査の結果、プロテアーゼ領域では8人全員に耐性に関与する部位に変異が確認されたが、全てminor mutationであった(表1)。逆転写酵素領域ではV106I、V179E、T215Lがそれぞれ1例に確認された。

サブタイプ解析では、6例がサブタイプBで1例がCRF01_AEであり、1例がCRF02_AGであった。

D. 考察

北陸ブロックのHIV/AIDS新規登録者数は全国と同様に増加傾向にある。平成20年新規にエントリーしたのは8人であった。逆転写酵素領域には耐性をもたず変異は確認されず、プロテアーゼ領域でもmajor mutationは無かったことから、北陸地区での薬

表1 薬剤耐性変異とサブタイプの解析結果 (2008年)

No.	RT	Pro	Subtype
1	T215L L63A		B
2	V106I L63A, A71T, I93L		B
3	— L63A, A71T		B
4	— L63P, H69K, A71T, V77I, I93L		B
5	— L10I, I13A, K20I, M36I		CRF02-AG
6	— E35D, L63P, I93L		B
7	— I93L		B
8	V179E L33F		CRF01-AE

剤耐性HIVの検出頻度は0%であった。ただし、V106I、V179E、T215Lやプロテアーゼ領域のminor mutationは種々検出されているため、今後耐性HIVの出現が危惧される。

E. 結論

- 平成20年度新規にHIV感染が診断され登録された14例のうち8例に対して耐性検査を行い、プロテアーゼ領域ではmajor mutationは0例、minor mutationは8例に変異を認めた。逆転写酵素領域では高度耐性変異ではないがV106I、V179E、T215Lをそれぞれ1例ずつに認めた。
- 新規登録8例のHIVはサブタイプBが6例、CRF01_AEとCRF02_AGがそれぞれ1例であった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 下川千賀子、森正昭、辻典子、山田三枝子、上田幹夫：針刺し（曝露）事故時のHIV感染症に関する対応についてのアンケート調査結果と対策。石川県立中央病院医学誌30：9-12, 2008

2. 学会発表

- 小谷岳春、青木剛、上田幹夫、山田三枝子：HAART開始に伴うネオプテリンを含めた免疫活性化マーカーの推移。日本エイズ学会誌10：425, 2008
- 北志保里、山下美津江、浅井いづみ、上田幹夫：石川県立中央病院におけるカウンセリングの現状報告と今後の課題。日本エイズ学会誌10：444, 2008
- 小谷岳春、青木剛、上田幹夫、山田三枝子：B型肝炎急性増悪に対し、TVD/EFVによる

HAARTが奏功したHIV/HBV重複感染の一例。日本エイズ学会誌10：520, 2008

- 杉浦互、湯永博之、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、藤井毅、岩本愛吉、藤野真之、仲宗根正、巽正志、椎野慎一郎、岡慎一、林田庸総、服部純子、伊部史朗、藤崎誠一郎、金田次弘、浜口元洋、上田幹夫、大家正義、田邊嘉也、渡辺香奈子、渡邊大、白阪琢磨、柴原健、森治代、小島洋子、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：2003-2007年の新規HIV-1感染者における薬剤耐性頻度の動向。日本エイズ学会誌10：545, 2008
- 山本裕佳、宮田勝、高木純一郎、能島初美、山田三枝子、辻典子、上田幹夫、池田正一、前田憲昭：北陸ブロック拠点病院における11年のHIV歯科医療体制の取り組みと今後の課題。日本エイズ学会誌10：550, 2008

II. 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



研究要旨

九州ブロックにおける薬剤耐性HIVの調査研究

研究分担者 南 留美 国立病院機構九州医療センター 免疫感染症科 医師
山本 政弘 国立病院機構九州医療センター 感染対策室長

抗HIV薬によりHIV-1の抑制が可能になり、HIV陽性者の予後は改善したが、一方で薬剤耐性ウイルスを持つ患者が存在する。多剤耐性ウイルスにも奏効する抗HIV薬が開発されているが、それでもなおかつ、薬剤耐性は、HIV感染症の治療を続けていく上で大きな問題となっている。近年、未治療の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。2003年以降、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解析を行っている。今年度はRT領域、PR領域に加え、インテグラーゼ領域の解析も行った。RT、PR領域ともにminor mutationのみでインテグラーゼ領域にも耐性変異を認めなかった。耐性変異ウイルス感染(副次変異も含む)の頻度は年度によって変動はあるが、全体として変化はない。2006年以降、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。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。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、徐々に限局化されている。なお、今年度は急性感染/慢性感染の鑑別のためにBED assayを行った。

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、双方を比較するとともに、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。

B. 研究方法

2008年にHIV感染が判明し当院免疫感染症科、もしくは九州ブロック内の多施設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、インテグラーゼ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(Spring:2008)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。BED

assayに関してはCalypse® HIV-1 BED Incidence EIA (IgG-Capture HIV-EIA)を用いた。解析結果は、九州医療センターにて連結可能匿名化したデータとして、そのデータを研究代表施設に集約し、解析を行うので、個人の人権を侵害することは無く、個人の人権は確実に守られる。

C. 研究結果

2008年において検討した新規未治療患者数は38名であり、そのうち5名は2007年以前にHIV陽性が判明しているため、2007年の新規登録者は33名であった。この数は同時期の九州ブロック内(沖縄は除く)での新規感染者数(エイズ発生动向委員会報告による)の約40%に相当し、昨年と同程度の割合であった。解析症例数は年々増加している。(2003年:10人、2004年:12人、2005年:25人、2006年:26人、2007年29人)。2006年以降、急性感染者の割合が増加しており、今年度は33名中11名(33.3%)が急性感染(BED assayにて評価)であった。急性感染のうち

1例は、HIV-RNA量が50コピー/ml以下であり遺伝子解析ができなかったため、解析は急性感染者10名、慢性感染者22名、計32名で行った。耐性変異の頻度は、RT領域では6.25%と頻度は比較的低く、経時的にも一定の傾向はなかった(2003年:11%、2004年:0%、2005年:8%、2006年:15.4%、2007年:7.1%)。PR領域では副次変異も含めると93.7%に陽性であり、2003年:44%、2004年:91.7%、2005年:80%、2006年:88.5%、2007年:82.1%と2004年以降は高頻度で経過している。副次変異以外のmajor変異に関しては2005年にD30Nをもつnelfinavir耐性ウイルスが検出された以降は、認められておらず、今年度も副次変異のみであった。RT領域、PR領域ともに変異を認めない症例は2例(6.25%)であった。耐性変異の内訳はRT領域ではV179Dが2例であった。PR領域に関しては、急性感染ではL93の部位に変異が集中していた(70%)。その他、20%にI13V、G16E、H69Kを認め、変異の部位は局限していた。慢性感染では、多岐にわたる変異が認められたが、急性感染と同様、I13V、G16E、H69K、L93の部位にも変異が多くみられた。ATVのみに関連した耐性変異(G16E、K20L、L33I、M36L、D60E、I64V、V82I、I93L)をもつ患者が急性感染者7名(70%)、慢性感染者10名(45.4%)、計17名(53.1%)と多く認められた。これらの変異は2005年12%(全例慢性感染者)、2006年50%(急性感染者50%、慢性感染者50%)、2007年50%(急性感染者57.1%、慢性感染者47.6%)に認められ、2006年以降、一定レベルであったが、今年度は急性感染者に、より多く見られた。サブタイプに

関しては、感染地域不明の1例がAGで残りは全例Bであった。BED assayによる感染時期の推定では、11名がrecent infectionであったが、WBによる結果から判定した場合、recent infectionは5名であった(CD4<10/μlと免疫不全が進行している症例では、BED assayのtiterが低くても、chronic infectionと判定した)。WB法による判定と不一致の症例はBED assay値が、高い傾向があった。

D. 考察

1. 耐性変異について

2006年以降、新規感染者の中に急性感染者の占める割合が増加し、九州地区では30%前後である。症例数が少なく観察期間も短いため、正確な評価は出来ないが、急性感染者と慢性感染者において比較を行った。2006年の急性感染者において耐性変異はL63P、V77I、I93Lに多く認められ、その変異ウイルスの保持率は、慢性感染者よりも高かった。一方、慢性感染者では多岐にわたる変異が認められた。2007年度も急性感染者においてはL63P、V77I、I93Lが主な耐性変異であったが、2008年度はV77Iの保持率が低下している。慢性感染者では、2007年、2008年と時間の経過とともに変異部位が局限化する傾向にあり、2006年の急性感染者に認められたようなL63P、V77I、I93Lが主な変異となっている。このことは、急性感染者の耐性変異がより早期に慢性感染者の耐性変異を反映しうることを示唆する。なお、2006年以降、ATV関連耐性変異をもつウイルスが増加しているが、今年度も約50%に認められ、特に

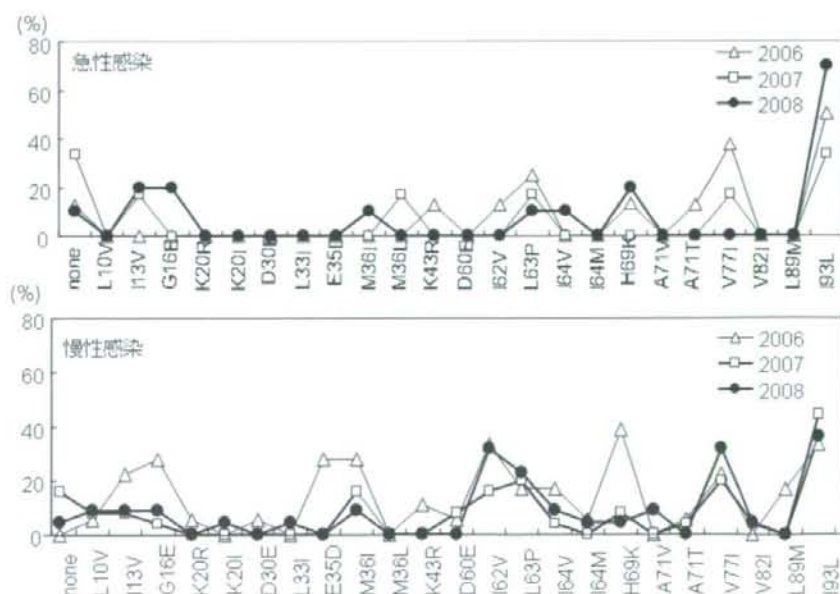


図1 急性感染、慢性感染者における耐性変異の比較 (PR領域)

急性感染者に限局すると70%であった。これは治療薬としてATVの使用頻度が増加したことを反映していると考えられる。今後、インテグラーゼ阻害剤など、新しい治療薬の普及とともに耐性変異がどのように変遷していくのか検討が必要である。

2. BED assayについて

今年度より急性感染(recent)と慢性感染(not recent)の鑑別にBED assayを用いた。WB法で区別する従来の方法に比べ、recentと判断される割合が高かった。CD4が低下した極度の免疫不全状態ではHIV抗体が低下するためtiterが低下しrecentと診断される危険性がある。またtiterがcut off値前後である場合にも、recentと判断される可能性があるため注意が必要である。

E. 結論

今年度解析した32症例では、RT領域にV179Dを2例認めた。PR領域は副次変異のみ、インテグラーゼ領域には耐性変異を認めなかった。2006年以降、ATVに関連した耐性変異が増加している。また、慢性感染者も急性感染者同様、耐性変異部位が限局化される傾向があった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

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)
2. 南留美, 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、Focus on HIV/AIDS, 2008

2. 学会

1. High molecular weight form of adiponectin in anti-retroviral drug-induced dyslipidemia based on *in vivo* and *in vitro* analyses. Minami R, Takahama S, Ando H, Yamamoto M, XVII International AIDS Conference, 3-8 August, 2008, Mexico City
2. 抗HIV剤の肝細胞、HCV感染肝細胞における脂質代謝への影響、南留美、高濱宗一郎、安藤仁、山本政弘、第20回日本エイズ学会、11月26-28日、大阪
3. プロテアーゼ阻害剤が骨代謝に及ぼす影響、高濱宗一郎、南留美、安藤仁、山本政弘、第20回日本エイズ学会、11月26-28日、大阪

4. 社会的背景の複雑な患者の退院調整を振り返って—発達遅滞の患者の一事例を通じて—、長与由紀子、城崎真弓、辻麻理子、本松由紀、首藤美奈子、安藤仁、南留美、山本政弘、第20回日本エイズ学会、11月26-28日、大阪
5. 2003-2007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、湯永博之、吉田繁、南留美、山本政弘ら、第20回日本エイズ学会、11月26-28日、大阪
6. サルモネラ菌血症による感染性腹部大動脈瘤を合併したHIV感染症の一例、安藤仁、南留美、高濱宗一郎、山本政弘、第82回日本感染症学会総会、2008年4月18-19日、松江

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



研究要旨

関東甲信越ブロックにおける薬剤耐性HIVの調査研究 新潟県および隣接地域における薬剤耐性発生の状況

研究分担者 田邊 嘉也 新潟大学医歯学総合病院 助教

研究協力者 大家 正泰 新潟大学・大学院医歯学総合研究科 地域疾病制御医学専攻・
国際感染医学講座 ウイルス学分野 助教

平成20年中に新規感染者4名のウイルスRNAの解析をおこなった。感染者の内訳は、男性3名(異性間感染2名、凝固因子製剤1名)、女性1名(性感染)で、受診医療機関の所在地はすべて新潟県内である。また感染ウイルスは2例がサブタイプB、2例がCRF01_AEであった。プロテアーゼ領域のminor変異を除き、これらのウイルスに耐性変異はみだされなかったが、薬剤感受性に関わる部位に定型的な耐性変異とは異なるアミノ酸置換をもつものが2例存在した。なお、ラルテグラビル製剤の使用承認に合わせ、本年度よりインテグラーゼ領域の薬剤耐性変異の解析を始めている。従前の結果と合わせ、新潟県を中心とする地域における薬剤耐性ウイルスの浸淫度は全国的な水準より明らかに低いレベルにある。ただし、われわれが解析してきたサンプルのほとんどは感染後数年を経た感染者のもので、薬剤治療にさらされない期間中にfitnessの低い変異ウイルスが失われた可能性は否定できない。最近になって目立ってきた非定型的変異の検出が、耐性ウイルスからの復帰変異を意味するならば、警戒すべき事象といえる。これらの結果をもとに、新潟県におけるHIVの感染動向についても考察した。

A. 研究目的

抗HIV薬3剤の併用によるHAART法の普及はめざましいエイズ死亡の減少をもたらしたが、現行薬剤はいずれも体内に潜伏するウイルスを排除する効果はなく、長期使用による耐性ウイルスの増加を一方で招いている。多剤耐性ウイルスに対して治療効果がある新たな薬剤の開発および導入は逐次行われているものの、耐性を獲得したウイルスの出現により治療が著しく困難となる症例は増加しつつあり、耐性ウイルスの治療集団外への漏出がエイズ治療の今後に大きな障害となってくることが懸念されている。われわれは厚生労働省「薬剤耐性HIVの動向把握のための調査体制確立およびその対策に関する研究」班の調査・研究活動の一環として、2004年から新潟県内の医療機関であらたにHIV感染が確認された全例について、血液の提供を受けてウイルスRNAのシーケンシングをおこなっており、また関東甲信越地域の他県病院からの依頼分についても解析している。RNA配列は薬剤耐性に関わる逆転写酵素

(*rt*)、プロテアーゼ(*pro*)、インテグラーゼ領域のほか、変異頻度の高い*gag p17*、および*env* (C2V3)領域についても決定しており、その結果から感染事例中の耐性ウイルスの割合に関するデータの取得に加えて、ウイルス間相互の類縁関係についての推定もおこなっている。これらのデータは現在構築中の国内HIVのシーケンシングデータベースに統合され、その整備によって薬剤耐性ウイルスの浸淫状況や感染拡大の時系列的なトレースなど、HIVの感染動態のより詳細な解明に生かすことが期待される。

B. 研究方法

医療機関から送付されたEDTA添加患者血液(～7mL)を到着後直ちに遠心分離(3,000rpm×10min)、血漿を分離した。血漿0.2mLからHigh Pure Viral RNA kit[®] (Roche, 1858-882)を用いてRNAを抽出し、50μLの溶出バッファーに回収して-90℃で保存した。ウイルスRNAの塩基配列の決定はRT、protease, *env* (C2/V3), *gag* (p17)の各領域についておこなった。

RNAサンプル5~10 µLをRT-PCR法で増幅した後(One-step RNA PCR Kit®, TaKaRa RR024A)、反応液の一部(5µL)をnested PCRにより再増幅して、シーケンシングに供した。PCR反応に用いたプライマーは、RT領域: 5'-ATGATAGGGGAATTGGAG-GTTT-3'/5'-TACTTC

TGTTAGTGCTTTGGTTC-3' (1st, nt2388-3425)、および5'-GACCTACACCTGTCAACATAAT-3'/5'-TAATCCCTGCATAAATCTGACT-3' (2nd, nt2485-3372)、プロテアーゼ領域: 5'-AGACAGGY-TAATTTTTAGGGA-3'/5'-TATGGATTTTCAGGCC-CAATTTT-3' (1st, nt2074-2716)、および5'-AGAGC-CAACAGCCCCACCAG-3'/5'-ACTTTTGGGCCATC-CATTCC-3' (2nd, nt2148-2611)、インテグラーゼ領域: 5'-CAGACTACAATATGCATTAGG-3'/5'-CCT-GTATGCAGACCCCAATATG-3' (1st, nt2074-2716)、および5'-CTGGCATGGGTACCAGCACACAA-3'/5'-CCTAGTGGGATGTGTACTTCTGAACCTTA-3' (2nd, nt2148-2611)、env C2/V3領域: 5'-CATACT-TATTGTGCCCGCTGG-3'/5'-AGAAAAATTTCC-CTCTACAATTAA-3' (1st, nt6866-7374)、および5'-AATGTCAGCTCAGTACAATGCACAC-3'/5'-ATTTCTGGGTCCTCTGAGG-3' (2nd, nt6945-7336)、p17領域: 5'-ATCTCTAGCAGTGGCGCC-GAACAG-3'/5'-CTGATAATGCTGAAAA-CATGGGTAT-3' (1st, nt625-1318)、および5'-CTTC-GACGCAGGACTCGGCTTGCT-3'/5'-CCCATG-CATTCAAAGTTCTAGGTGA-3' (2nd, nt 683-1255)である。シーケンシング反応はBigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems)を用いておこない、ABI PRISM®310 Genetic Analyzerにより解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は新潟大学医学部遺伝子倫理審査委員会の承認のもとに行っている。用いた血液サンプルの解析結果のうち薬剤耐性に関する情報は提供先医療機関に通知しており、治療薬剤の選択の目安として患者本人の利益に還元されるため、単なる調査研究の目的のみの利用とは性格をことにする。サンプル受け入れの際、患者の生年月日、性別、感染時期、感染ルートなど疫学研究に必要な情報の提供を求めて

いるが、氏名、住所などただちに個人の特定に結びつく項目は含まれない。また文書で通知された内容は直ちにデジタル化した後、元書類をシュレッダーで切断廃棄しており、転記したファイルは暗号化して保存するなど、情報漏洩により患者が不利益を蒙る恐れを最小にとどめるよう配慮している。

C. 研究結果

1. 解析したサンプル

平成20年中に4件の新規検体を解析した。いずれも新潟県内の医療機関(新潟大学医学部総合病院)を受診した患者からえられたものである(表1)。患者の内訳は男性3名、女性1名。男性はすべて日本人、女性はタイ国籍である。年齢は30歳台2名、40歳台1名、50歳台1名となっている。男性のうち1名は、血友病治療の過程で被ったウイルス汚染凝固因子製剤による感染が幼小児期から知られていた患者で、長期未発症の状態にあったものである。検査時のviral loadは12,000 コピー/mlと高値であるが、CD4数は未だ1 µlあたり300以上のレベルを保っていた。その他の患者の感染ルートは異性間の性的感染によるものである。感染ウイルスのサブタイプはサブタイプBが2例(男性)、CRF01_AE(AE)が2例(男性1、女性1)であった。全国データに比してAEの頻度が高く、特に女性にこの傾向が著しい点はこれまでの傾向と一致している。

2. 薬剤耐性変異

新規サンプルに検出された薬剤耐性にかかわる突然変異の解析結果を表2に示した。表中カッコつきで示したのは、IAS-USA 2008に記載されない(V118I)あるいは異なった種類のアミノ酸置換(K103N)によって薬剤耐性が生じるとされるものである。Stanford大学提供の判定プログラムによれば、いずれもほとんどの種類のヌクレオチド系逆転写酵素阻害薬(V118I)、または非ヌクレオチド系阻害薬(K103R)に弱い耐性を与えると判定される。

これらの非定型的な変異をのぞくと、逆転写酵素に対する体制変異を有するウイルスは検出されなかった。また本年より開始したインテグラーゼ領域の解析でも、既知の耐性変異をもつウイルスは見つかっていない。

表1 平成20年新規登録感染者

Case No.	性別	年齢	感染ルート	国籍	推定感染地	推定感染時期	ウイルスサブタイプ	医療機関所在地	サンプリング
1	女	32	異性間	タイ	不明	不明	CRF01_AE	新潟県	治療開始前
2	男	37	凝固因子	日本	国内	~1987	B	新潟県	未治療
3	男	45	異性間	日本	国内	1998頃	B	新潟県	治療開始前
4	男	59	異性間	日本	タイ?	~2005	CRF01_AE	新潟県	治療開始前

プロテアーゼ阻害薬の耐性に関する変異はすべてのウイルスに複数の minor 変異が見られたが、単独で明確な耐性を誘導する major 変異は認められなかった。平成14年以降われわれが取り扱った未治療症例30例のうちIAS-USAの定義に合致する耐性変異をもったウイルスが検出されたのは1件に過ぎず(表3)、またこの変異(V108I)にしても、付与される薬剤耐性の程度は比較的軽度のもので、単独で出現するものか疑問の余地がある。薬剤治療と無関係な polymorphism の可能性もいわれており、本例もあるいはそうしたものかもしれない。本年の解析結果もこれまでと同様、新潟県および周辺地域で採取されたHIVについては、薬剤耐性ウイルスの浸淫度はなお低い水準にあることを示しているといえる。

D. 考察

本研究班の活動により、国内で新規に発生しているHIV感染/エイズ発症者から検出されるウイルスのうち何らかの薬剤耐性変異をもつものの割合が年ごとに増加していることが明らかになってきた。その比率は今や10%に届こうとしている。しかしながら、新潟県を中心とした地域の医療機関から検体の提供を受けおこなっているわれわれの解析では、新規感染/発症例における耐性ウイルスの検出頻度はきわめて低く、今年取り扱った検体についてもこの傾向に変化は見られなかった。この違いの意味につ

いて考えてみたい。

これまでの報告でしばしば述べたように、新潟県におけるHIV感染を他地域と比較すると2点大きな違いがある。図1は、薬剤治療開始後に解析した症例を含め、これまでにわれわれが把握した県内HIV感染の累積数を、年次別、感染経路別に区分して示したものであるが、全国的には男性同性間の感染が全体の約7割を占め、その比率はさらに増加傾向にあるのに対して、新潟県においてはその割合は全体の1/3にとどまり、今のところ急増する気配は見えていない。第2は、検出されたウイルスのクレイド比率の特徴で、全国のデータと比較してCRF01_AEの割合が男女とも4倍程度高い(図2)。このクレイドのウイルスが異性間感染に多いことを考えれば、二つの特徴は相互に関連したものといえる。新規感染/発症例で検出される耐性ウイルスの少なくとも大部分は薬剤治療中の患者からうつされたものであるはずで、こうしたウイルスが検出される割合は感染ルートによって大きく異なることが考えられる。MSMと異性愛者の性行動の違いが、同性間感染の少ない新潟において薬剤耐性ウイルスの検出頻度が低い理由の一つとなっている可能性がある。

薬剤耐性ウイルスの検出頻度が低いという現象自体はむしろ歓迎すべきことであるが、これを現時点のHIV感染にまで敷衍しうるかについては疑問の余地がある。エイズ動向委員会報告によれば、新潟県

表2 新規登録感染者の薬剤耐性変異保有状況

Case No	薬剤耐性変異				
	NRTI	NNRTI	PI major	PI minor	Raltegravir
1	(V118I)	-	-	L101, I13V, G16E, M36I, H69K	-
2	-	-	-	L101, I13V, M36I, L63P, H69K	-
3	-	(K103R)	-	L63P, H69K, A71T, V77I, I93L	-
4	-	-	-	L101, I13V, M36I, L63A, H69K	-

注 薬剤耐性変異の定義は International AIDS Society-USA 2007 による。() 内の変異は定義部位に検出された非定型的なアミノ酸置換を示す。

表3 薬剤耐性変異の検出頻度

	未治療群 (N=30)		治療群 (N=27)		未治療群	治療群
	未治療群	治療群	未治療群	治療群		
<u>NRTI</u>			<u>V108I</u>	i	1	<u>PI minor</u>
M41L	0	4	V179DF	(1) _a	0	L10FIRV
D67L	0	3	Y188CLH	0	1	I13V
T69_ins	(2) _{ab}	(1) _b	P236L	0	1	G16E
K70R	0	2				K20MRITV
L74V	0	2	<u>PI major</u>			L33IV
M184VI	0	11	D30N	0	1	M36ILV
L210W	(1) _c	2	M46IL	0	4	F53L
T215VF	(1) _d	3	I54ML	0	1	I62V
K219QE	0	2	V82AFLS	0	1	L63P
			I84V	0	1	H69K
<u>NNRTI</u>			N88S	0	2	A71VTIL
K103N	(2) _e	5	L90M	0	2	V77I
V106AM	(1) _f	0				I93LM
						11
						7

注 カッコ内の数字は非定型的なアミノ酸置換が認められたケースの数を示す。a: T69A, b: T69N, c: L210F, d: T215E, e: K103R, f: N106I, g: V179A。

では1990年代後半に感染・発症報告数が急増したのち、2000年以降減少し、今日まで発生数が低い水準を保っている(図3)。この統計に表れた数値は実際に感染が生じた時間的経緯とは一致しない。これまで新潟県では保健所の血液検査で感染が告知されたケースは極めてまれで、感染者のほとんどはエイズ症状。あるいはそれに近い免疫機能の低下が明らかになって医療機関を受診した後に初めて診断が下されている。このため、感染時期が推定されているケースでは診断までに5年以上経過しているのが大半で、1990年代後半に観察された感染報告数のピークは実際にはさらに5年以上遡った時点での感染による可能性が高い。われわれは保健所で行われた血液検査のデータ(図4)から感染のピークは1992~3年とみており、これが正しければ解析時点でみている感染の様相は平均7年程度遡った時点のものともみることがある。その後の耐性ウイルスの広がりを考えれば、今現在も新潟県とその周辺で問題が深刻化していないといえるか、確言はできないとみるべきかもしれない。

薬剤耐性をもつウイルスはおおむねfitnessが低下するため、感染後長期間薬剤にさらされなかった場合、野生型の表現型をもつウイルスに置き換わっていく傾向があることも、われわれの解析した検体中に耐性変異がほとんど検出されない理由の一つかもしれない。これに関連して、2007年以降薬剤耐性関

連部位にIAS-USAの定義とは異なったアミノ酸に置換された変異がしばしば検出されてきていることも気がかりな事象である。これらが単なる polymorphismか、耐性変異からの復帰を意味するかにについては容易に結論できないが、全国のデータの比較とあわせ、なお今後の推移を見ていきたい。

E. 結論

新潟県の医療機関から提供されるサンプルを中心とするわれわれの解析では、薬剤耐性をもったHIVの蔓延の程度は依然低いといえる。しかしながら、非定型変異を伴ったウイルスの増加など、懸念されるデータも一方で増えつつある。

F. 健康危険情報

特段の事項なし

G. 研究発表

1. 口頭発表

1. 手塚貴文、張仁美、和田真一、田邊嘉也、亀田茂美、竹田徹朗、西慎一、下条文武：HIV関連腎症の一例検例(第22回日本エイズ学会学術集会・総会2008.11.26~28)

H. 知的財産権の出願・登録状況

予定なし。

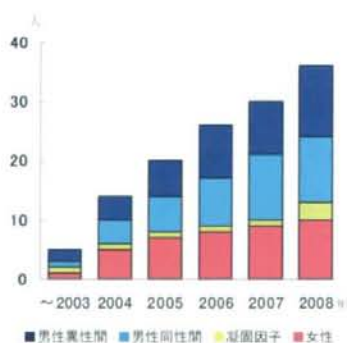


図1 本研究で把握された症例の性別・感染ルート別県内累積患者数の推移



図2 新潟県で検出されたHIVのクレイツフェルト病比率

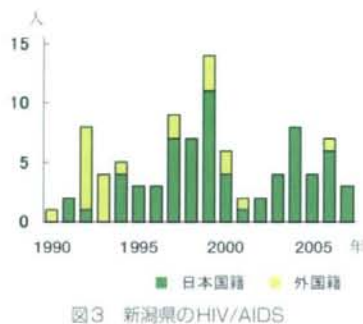


図3 新潟県のHIV/AIDS

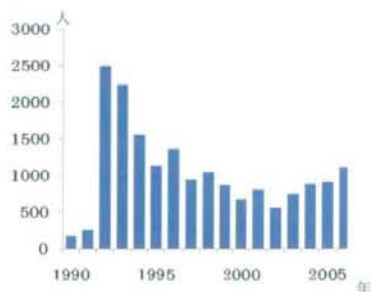


図4 新潟県の保健所におけるHIV血液検査数の推移