



研究要旨

東京および近郊における薬剤耐性HIVの調査研究

2008年に東京都内保健所等検査で検出されたHIV-1のProteaseおよびReverse Transcriptase遺伝子の解析

研究分担者 貞升 健志 東京都健康安全研究センター 微生物部 副参事
 研究協力者 長島 真美、新聞 敬行、尾形 和恵、仲真 晶子、矢野 一好
 東京都健康安全研究センター

東京都における新規HIV感染者数は年々増加傾向にあり、保健所等における検査陽性例についても同様の傾向が認められている。HAARTに代表されるHIV感染症治療の効果があがっている反面、薬剤耐性HIVの出現が懸念されている。

都内で流行しているHIV株を遺伝子学的に調査する目的で、保健所等の検査陽性例より検出されたHIVのサブタイプ型別並びにProtease (PR) およびReverse transcriptase (RT) 領域における薬剤耐性変異の有無を検索した。2008年のHIV検査陽性例129例について調査した結果、検出されたHIVの96.9%がサブタイプBであり、薬剤耐性変異についてはPR領域でM46Lの変異が4例(3.1%)、RT領域においてはV108Iが1例(0.8%)、T215-revertant変異が6例(4.7%)で認められた。

A. 研究目的

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

B. 研究方法

1. 塩基配列の決定

2008年に都内保健所等のHIV検査で陽性となった検体(血清)129例を供試した。各検体200 μ Lよりウイルス核酸RNAを抽出後、RT-nested PCR法によりProtease (PR) およびReverse transcriptase (RT) 領域を増幅し、特異バンドの精製を行い、精製DNAを得た。Dye-terminator-cycle-sequencing法を用いたDirect-Sequencing法により精製DNAの塩基配列を決定し、IAS-USA panel等を基に、得られたアミノ酸配列の薬剤耐性変異の有無を検索した。

2. PRおよびRT領域の解析

サブタイプ型別は、得られたRT領域の塩基配列を基に、遺伝子解析ソフトMEGA4を用いて系統樹

を作成し決定した。薬剤耐性変異の有無についてはIAS-USAおよびShaferの報告に基づき、PR領域については1~90番目のアミノ酸変異を、RT領域では41~236番目のアミノ酸変異の有無により判定した。また、T215についてはrevertant変異についても調査を行った。

3. BED assayによる感染時期の推定

血清を101倍に希釈し、AWARE™ BED™ EIA TEST (Calypte社)を用いて検査を実施し、ODn値 \leq 0.8となったものを、感染初期(15日以内)と判定した。なお、検査の実施手順はキットの取り扱い説明書に準じた。

(倫理面の配慮)

本研究はヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針等の倫理規定に準拠して実施した。本研究は個人が特定できるようなデータを含まない、連結不可能匿名化されている検体から抽出したHIV遺伝子の解析を目的とした調査研究であり、東京都健康安全研究センター研究調整委員会において倫理審査委員会への付議に当たらないと決定された。

C. 研究結果

1. サブタイプ別

都内保健所等のHIV検査でHIV-1陽性となった129例のRT領域の分子系統樹解析を実施した結果、125例(96.9%)がサブタイプBで、3例(2.3%)がサブタイプAE、1例(0.8%)がサブタイプCに分類された(表1)。

2. PR領域の薬剤耐性変異

PR領域について遺伝子解析を実施した結果(表2)、129例中4例(3.1%)でプロテアーゼ阻害薬(PI)の薬剤耐性変異であるM46Lの薬剤耐性変異が単独で認められた。

3. RT領域の薬剤耐性変異

RT領域の薬剤耐性変異を検索した結果(表2)、129例中1例(0.8%)で非核酸系逆転写阻害薬(NNRTI)の薬剤耐性変異であるV108Iが認められた。T215-revertantについては6例(4.6%)で認められ、T215Eが4例、T215C、T215Dが各1例であった。

129例中PRまたはRT領域で薬剤耐性に起因するアミノ酸変異を認めた例は5例(3.9%)であり、T215-revertant変異は4.6%で確認された。

4. 薬剤耐性変異例の分子系統樹解析

RT領域の分子系統樹解析を実施し、薬剤耐性変異を認めた例の系統樹における位置関係を検討した結果(図1)、今回PR領域でM46Lの変異が認められた4例は過去に東京都内で検出されていたM46L群に含まれ、RT領域でT215D/Eの変異を認めた5例についても過去に同様の変異を認めた例と明確なクラスターを形成した。

5. BED assayによる感染時期の推定

BED assayにより血清学的に感染初期(ODn値 \leq 0.8)と判定された例は、59例(45.7%)であった。59例中薬剤耐性変異が認められたものは3例(5.1%)であり、全体の薬剤耐性変異の3.9%に比べ、新規HIV感染者の中でも感染初期例の方が薬剤耐性の出現頻度がやや高い傾向にあることが判明した。

D. 考察

薬剤治療を受けているHIV患者数の増加に伴い、新規HIV感染者における薬剤耐性変異を有するHIVの出現が懸念されている。

2008年に都内保健所等のHIV検査で陽性となった129症例より検出されたHIV-1のPR領域およびRT領域の遺伝子解析を実施した結果、5例(3.9%)に薬剤耐性変異を認めた。これらはすべて単独のアミノ酸変異のみを示した。

また、T215D/EおよびM46Lは数年前より東京都においても検出されてきたが、過去の例を含めた系統樹解析ではどちらもクラスターを形成し、東京都内で特殊なタイプとして存在することが示されたため、これらの動向を今後も継続して調査していく必要がある。

E. 結論

2008年に都内保健所等の検診で検査陽性例から検出されたHIVの薬剤耐性変異の出現頻度は、アミノ酸の単独変異の認められる例では3.9%、T215-revertant変異が認められた例(4.7%)を加えると8.5%であった。

表1 2008年検査陽性例のsubtype別

n=129	subtype		
	B	CRF01_AE	C
	125	3	1

表2 2008年検査陽性例の薬剤耐性変異

薬剤耐性変異	n=129
NRTI	-
NNRTI	V108I 1
PI	M46L 4
T215X	T215D 4
	T215E 1
	T215C 1

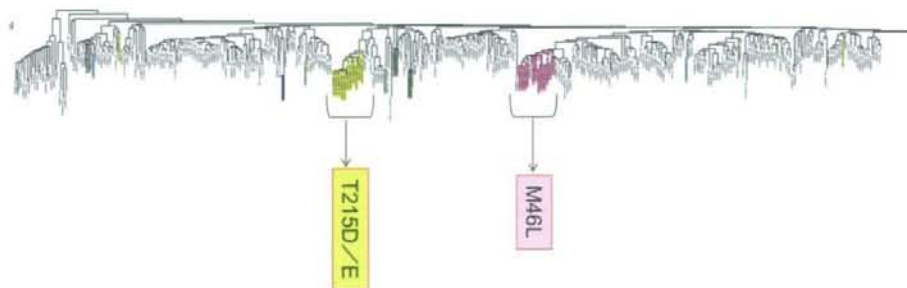


図1 RT領域の分子系統樹によるM46LおよびT215D/Eの解析

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 貞升健志、長島真美、新開敬行、尾形和恵、仲真晶子、矢野一好：東京都における2007年HIV検査陽性例の遺伝子学的、血清学的解析、日本エイズ学会誌（投稿中）
2. 貞升健志、長島真美、新開敬行、尾形和恵、吉田靖子、矢野一好：ヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染症：東京都における検査と解析、東京都健康安全研究センター年報、58、27-36、2007
3. 貞升健志：HIVジェノタイプ薬剤耐性検査、医学書院、臨床検査データブック2007-2008、547-549、2007

2. 学会発表

1. 貞升健志、長島真美、新開敬行、尾形和恵、原田幸子、仲真晶子、矢野一好：2005-2008年の東京都内保健所等HIV検査陽性例の薬剤耐性変異の解析、第22回日本エイズ学会学術集会・総会、大阪(2008.11)
2. 長島真美、新開敬行、尾形和恵、原田幸子、貞升健志、仲真晶子、矢野一好：BED assayを使用した東京都内保健所等におけるHIV検査陽性例の血清学的解析、第22回日本エイズ学会学術集会・総会、大阪(2008.11)
3. 貞升健志、長島真美、新開敬行、尾形和恵、吉田靖子、矢野一好：東京都内保健所等のHIV検査陽性例の血清学的、遺伝子学的解析、第21回日本エイズ学会学術集会・総会、広島(2007.11)
4. 長島真美、貞升健志、新開敬行、尾形和恵、吉田靖子、矢野一好：イムノクロマト法における陽性例と偽陽性例の判定ライン出現時間の比較、第21回日本エイズ学会学術集会・総会、広島(2007.11)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



研究要旨

多剤耐性HIV治療の最適化研究

研究分担者 松下修三 熊本大学エイズ学研究センター 教授

薬剤耐性や不耐用の症例に有効な新規インテグラーゼ阻害剤 (Raltegravir;RAL) は、わが国でも2008年7月より使用可能となった。RALは、米国での臨床試験において、多くの治療失敗例が報告され、耐性変異に対する genetic barrierが低いのではないかとされている。しかし、これまでの臨床試験例における、耐性関連変異は報告されたものの、*in vitro*耐性誘導による詳細な解析の報告はない。そこで、我々は、新たに樹立した3つの臨床分離株 (UUN, IKA, YANA) および研究室株89.6を用いて、RALに対する*in vitro*耐性誘導を行い、耐性機序の検討を行った。現在のところ、8継代目 (IC₅₀の20倍濃度)以降でのウイルスの増殖が不十分であり、インテグラーゼにも耐性変異導入は認めていないが、UUNの8継代目において、V3領域にT297Iが検出された。この部位は標的細胞レセプターとの相互作用に関与する領域であり、T297I置換は、薬剤 (RAL) 存在下でウイルスの増殖能を補う変異である可能性が考えられる。すなわち、直接 pol領域に耐性変異が生じる前に、増殖能を補う変異が env領域に生じ、阻害剤存在下の増殖性が増して、pol領域に耐性変異を獲得する可能性が考えられた。

A. 研究目的

現在のHIV感染症に対する治療は、逆転写酵素阻害剤 (RTIs) とプロテアーゼ阻害剤 (PIs) による多剤併用療法 (HAART) が主体となり、臨床的に大きな効果を上げているが、一方でHIVがRTIsとPIsの両剤に対して耐性を獲得し、その多くが交叉耐性を示し、治療失敗をもたらすという問題は、臨床・基礎医学の研究分野で、避けて通ることのできない重要課題となっている。この課題を解決するためには、HIV-1が耐性を発現しにくい、あるいは発現しても他薬剤との交差耐性を有しない新規のRTIsおよびPIs、更に全く新たな作用機序を有する抗HIV剤の開発など、新しい治療法についての研究が必要である。

新たな作用機序を有する抗HIV剤に関しては、2007年に二つの新規系統の新薬がFDAで承認された。初のインテグラーゼ阻害薬ラルテグラビル (Raltegravir, RAL) と初のCCR5拮抗薬マラビロック (Maraviroc, MVC) であり、国内においても投与が行

われ始めた。この2つの新規阻害薬は、HIV-1感染症治療に対し極めて有望であることが期待されるが、ウイルスがこれらに対して耐性を獲得することも当然予測される。そこで、これらの阻害薬を用いた効率的な治療法の確立、および第二世代のインテグラーゼ阻害薬またはCCR5拮抗薬の開発のために、これら第一世代の阻害薬のprimary変異、耐性の程度、二次変異および補償変異の同定が、重要となる。しかしながら、これら阻害剤に対する*in vitro*耐性誘導の知見はほとんどなく、RALに関しては未だ報告されていない。現在遂行中の薬剤耐性HIVの動向把握のこれからの研究のためには、新薬の耐性変異についての研究は必要不可欠である。そこで、本研究では、複数の患者から分離した臨床分離株を用いて、RALに対する*in vitro*耐性誘導を行い、primary変異の出現をはじめとする耐性機序についてウイルス学的な検討を行った。

B. 研究方法

感染者体内では様々な polymorphism を持った亜種ウイルスが存在していることから、*in vivo*でのRAL耐性獲得メカニズムを知るためには、多様な変異を持った臨床分離株を使ってRAL耐性ウイルスを誘導して解析する必要がある。そこで本研究では、今回、RAL使用例を含む3名の患者から、新たに分離した臨床分離株 (UUN, IKA, YANA) および研究室株89.6を用いて、PM1/CCR5細胞を標的細胞とし、RAL濃度をIC₅₀濃度から徐々に上昇させながら*in vitro*耐性誘導実験を行った。PM1/CCR5細胞に馴化する過程で現れる変異と耐性変異を区別するために、継代コントロールとしてRAL非存在下における各ウイルスの継代も併せて行った。

今回分離した臨床分離株はいずれも無治療の患者から単離してきたウイルスである。UUNはCXCR4指向性ウイルスであり、他2つはCXCR4指向性ウイルスおよびCCR5指向性ウイルスが混在している。89.6は世界中で広く使用されている研究室株でCCR5とCXCR4の2重指向性 (dual tropic) ウイルスである。

(倫理面への配慮)

本研究を行うに当たり該当症例には研究の概要を説明し同意を得た上で採血し、解析した。なお本研究の倫理的・科学的妥当性は熊本大学病院の先進医療審査委員会にて審査され、了承されている。

C. 研究結果

新規インテグラーゼ阻害剤 (RAL) は、わが国でも2008年7月に承認され、9月頃より正式に使用可能となった。我々も、使用可能となって4ヶ月で8例の症例にサルベージ療法の併用薬の一つとして用いている。RALの適応と考えられた症例としては、多

剤耐性症例ばかりでなく、耐性と慢性毒性による不耐用などのいくつかの要因が組み合わさった症例が多い。一方、RALは臨床試験において、多くの治療失敗例が報告され、耐性変異に対するgenetic barrierが低いのではないとも言われている。昨年ICAACでの報告では(i) N155H、(ii) Q148K/H/R、および(iii) Y143C/Rをprimary変異とした3つのRAL耐性変異経路が報告された (Witmer et.al., ICAAC, 2008) が、これらは臨床試験での治療失敗例から同定された耐性変異であり、*in vitro*耐性誘導による解析は未だ報告されていない。他方、異なるインテグラーゼ阻害剤であるエルビテグラビル (elvitegravir, EVG) に対しては*in vitro*耐性誘導について2つの報告があるが、いずれも研究室株を用いた実験であり、また、先に挙げたprimary変異の誘導はできていない。そこで本研究では、3つの臨床分離株 (UUN, IKA, YANA) および研究室株89.6を用いて、RALに対する*in vitro*耐性誘導を行い、耐性機序の検討を行った。

最初に、各ウイルスのRAL感受性を調べるために薬剤感受性試験を行った。その結果、RALに対するIC₅₀は、UUN, IKA, YANA、および89.6で各々、2.1, 6.9, 4.0、および1.2 nMであり、いずれもRAL感受性であることが示された (表1)。これら耐性誘導前のウイルスのインテグラーゼ領域のアミノ酸配列を解析したところ、これまでに報告されているRAL耐性変異および補償変異のいずれも検出されなかった (data not shown)。

次に、これらRAL感受性のウイルスを用いてRALに対する*in vitro*耐性誘導実験を行った。各ウイルスいずれもIC₅₀濃度の10-20倍の濃度付近で感染力の鈍化が見られた (図1)。しかし、それらの中でも、継代が先行しているUUNに関して、興味深い結果が示された。すなわち、UUNの8継代目 (RAL

表1 Sensitivities of HIV-1 isolates to RAL and MVC

	CoRc Usage	Subtype	V3 Tip	IC ₅₀ (nM)	
				RAL	MVC
laboratory isolates					
89.6	Dual	B	GPGR	1.2	>100
SF-162	R5	B	GPGR	2.8	2.4
primary isolates					
UUN	X4	AE	GQGG/GPCQ	2.1	>100
YANA	MIX	B + CRF03	GPQY/GPGR	4.0	54
IKA	MIX	B + CRF03	GPGR	6.9	>100
MNA	R5	B + CRF03 +D	GPGR	3.0	3.3
MOKW	R5	B	GPGR	32	8.7
HSA	R5	B + CRF03	GPQY	8.1	9.2
HTA	R5	B + CRF03	GPCQ	5.1	4.5

濃度=40 nM, IC₅₀の20倍濃度)のパスセージウイルスのRAL感受性を解析したところ、IC₅₀値は耐性誘導前と殆ど同じであったし、インテグラーゼ領域のアミノ酸配列も、これまでに報告されているRAL耐性変異および補償変異のいずれも検出されなかった。しかしながら、gp120 V3領域のアミノ酸配列を解析したところ、V3基部である297残基にThrからIleの置換が認められた(T297I)(表2)。RAL存在下の継代ウイルスでは10クローンのすべてがT297Iであった。一方、コントロールとしてRAL非存在下に継代培養しているウイルスにはこのような変化は検出されなかった(13クローン中0)。今後、さらに、継代を続けるとともに、他のウイルスに関しても同様の解析を行っている。

D. 考察

今回、UUNの8継代目(RAL濃度=40 nM)において、V3領域にT297Iが検出された。この部位周辺は標的細胞レセプターとの相互作用に関与する領域と考えられることから、T297I置換は、薬剤(RAL)存

在下で増殖能が低下するウイルスの、増殖能を補う変異である可能性が考えられる。すなわち、これまで報告されたことはない新たなpol系阻害剤に対する耐性(逃避)メカニズムとして、直接pol領域に耐性に関与する変異が生じる前に、まず増殖能を補う変異がenv領域に生じて、一時的に増殖能により阻害剤から逃避した後、徐々にpol領域に耐性変異を獲得していくメカニズムの可能性が考えられた。今後は、さらなる継代の継続、UUN以外のウイルスの解析、およびT297I変異を含めた詳細なウイルス学的解析を行う予定である。

E. 結論

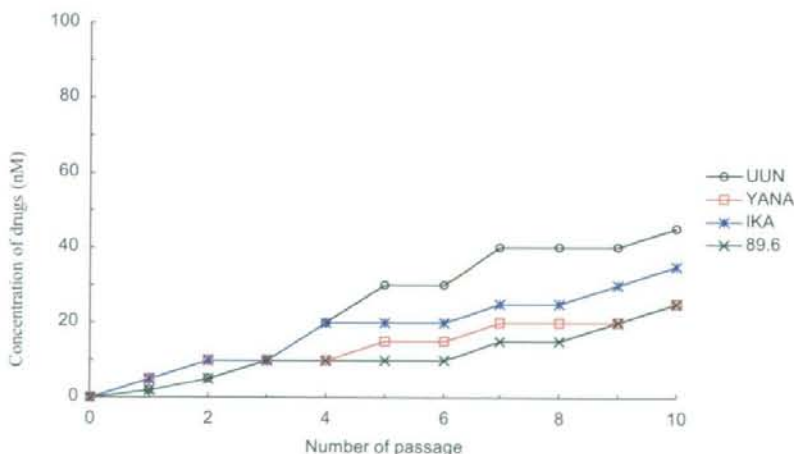
現在の抗HIV療法における問題点である耐性ウイルスの出現に対する解決法として、今回は、最近承認された初のインテグラーゼ阻害薬ラルテグラビルに対する複数の臨床分離株を用いた*in vitro*耐性誘導による耐性機序の検討を行った。新規標的に対する薬剤に対するウイルスの耐性獲得機序は不明な点が多く、研究の継続が重要である。

表2 Sequence analysis of the V3 region of HIV-1 UUN

UUN_RP(-)_8/13																				
UUN_RP(-)_3/13	Q275K																			
UUN_RP(-)_1/13							N334D	R241R												
UUN_RP(+)_1/13	R274G																			
UUN_RP(-)_3/13						Q328R														
UUN_RP(+)_1/13									Q352T	F353deI	N356deI	K357deI								
UUN_RP(+)_8/13						T297I														
UUN_RP(+)_1/13						T297I	T319G													R274R
UUN_RP(+)_1/13						T297I														C274R

図1 In vitro selection of HIV-1 isolate to RAL

In vitro selection of HIV-1 isolates to RAL



標的細胞 (PM1/CCR5) に各濃度の抗ウイルス薬存在下に各ウイルス(臨床分離株UUN, YANA, IKA及び実験室株89.6)に感染させ増殖させる。6~7日を1パスセージとして、徐々に薬剤濃度を上げ、ウイルスを継代培養する。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ryo, A., Tsurutani, N., Ohba, K., Kimura, R., Komano, J., Nishi, M., Soeda, H., Hattori, S., Perrem, K., Yamamoto, M., Chiba, J., Mimaya, J., Yoshimura, K., Matsushita, S., Honda, M., Yoshimura, A., Sawasaki, T., Aoki, I., Morikawa, Y., and Yamamoto, N. SOCS1 is an inducible host factor during HIV-1 infection the intracellular trafficking and stability of HIV-1 Gag. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 105:294-299, 2008.
2. Ikeda, T., Ohsugi, T., Kimura, T., Matsushita, S., Maeda, Y., Harada, S., Koito, A. The anti-retroviral potency of APOBEC1 deaminase from small animal species. *Nucleic Acids Research*, 36(21): 6859-6871, 2008.

2. 学会発表誌名・巻号・頁・発行年等も記入

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

2. 実用新案登録

3. その他



研究要旨

大阪府および近郊における薬剤耐性HIVの調査研究

研究分担者 森 治代 大阪府立公衆衛生研究所ウイルス課 主任研究員

研究協力者 小島 洋子、川畑 拓也

大阪府立公衆衛生研究所ウイルス課 主任研究員

2008年にHIV-1感染が判明し医療機関を受診した新規感染者14例、およびHIV抗体検査で陽性が確認された120例中72例について、薬剤耐性遺伝子検査を実施した。その結果、医療機関受診症例1例および抗体確認検査の陽性検体9例においてmajorな薬剤耐性変異が検出された。医療機関受診症例では逆転写酵素領域のV108Iが、また確認検査陽性検体ではプロテアーゼ領域のM46I、逆転写酵素領域のV108I、V108I+M184V+Y181Cがそれぞれ1例ずつ、さらにT215リバータント変異(D/E/L/S)が6例において認められた。

A. 研究目的

新規感染者における薬剤耐性HIV-1の出現頻度の動向について全国規模での疫学調査を実施するにあたり、近畿ブロック(主に大阪地域)として調査に参加し、大阪府内の新規HIV-1感染者における薬剤耐性変異保有状況を調査することを目的とする。

B. 研究方法

2008年に感染が判明し医療機関を受診した未治療新規HIV-1感染者14例について、本人から同意を得た上で血液を採取し、薬剤耐性遺伝子検査を実施した。

血漿中のウイルスRNAを鋳型にして治療薬が標的とするプロテアーゼ(PR)領域および逆転写酵素(RT)領域をRT-PCRにより増幅し、ダイレクトシーケンシングにより塩基配列を決定した後、IAS-USAパネル2008年版に基づいて薬剤耐性アミノ酸変異の有無を判定した。また、HIV抗体確認検査の陽性検体120例中72例についても同様に薬剤耐性遺伝子検査を実施した。一部の検体については、インテグラーゼ(IN)領域における薬剤耐性変異も調べた。

さらに、感染時期(感染後半年以内/慢性期)を推定する目的で、医療機関受診症例14例および確認検査陽性検体119例についてCalypte HIV-1

BED Incidence EIAアッセイ(CALYPTE BIO-MEDICAL Co., OR USA)を添付のマニュアルに従って実施した。

(倫理面への配慮)

医療機関において主治医より研究内容について説明し、本人の同意を得た上で採血を行っている。また、確認検査検体については、連結不可能な匿名検査である。本研究は、大阪府立公衆衛生研究所の倫理委員会の承認を受けている。

C. 研究結果

医療機関受診症例14例の感染リスクは、同性間性的接触が10例(サブタイプBが9例、CRF01_AEが1例)、異性間性的接触が3例(サブタイプBが1例、サブタイプCが2例)、薬物静注が1例(サブタイプB)であった。そのうちサブタイプCの2例はネパール人の男女で、その他は全て日本人男性であった。薬剤耐性遺伝子検査の結果、1例においてRT領域のV108I変異(非核酸系RT阻害剤に対するmajor mutation)が検出された。PR領域およびIN領域には、polymorphismと考えられるminor mutationが多数見られたが、薬剤耐性に関連するとされるmajor muta-

tionは認められなかった。

次に、確認検査陽性検体120例のうち遺伝子検査が可能であった72例についてサブタイプを調べたところ、Bが67例、AEが3例、Cが2例であった。薬剤耐性に関連するmajor mutationが9例(12.5%)に認められ、その内訳はプロテアーゼ(PR)領域のM46Iが1例、RT領域のV108Iが1例、V108IV+M184MV+Y181CYが1例、T215リバータント変異(D/E/L/S)が6例であった。

2008年の新規HIV-1感染者について、Calypte HIV-1 BED Incidence EIA kit (BEDアッセイ)を用いておおよその感染時期を推定したところ、医療機関受診症例14例中1例(7.1%)、確認検査陽性検体119例中36例(30.3%)が感染初期(ODn<0.8、感染後155日以内)と推定された。感染初期例の中には、薬剤耐性変異を有する3例(T215E、T215L、V108IV+M184MV+Y181CY)が含まれていた。薬剤耐性変異の検出頻度を感染初期群と慢性感染群とで比較すると、前者は10.7%(3/28例)、後者は13.6%(6/44例)となり、慢性感染群の方がやや高い頻度であった。

D. 考察

2008年にHIV-1感染が判明した新規感染者について薬剤耐性遺伝子検査を実施したところ、医療機関受診症例では1例(7.1%)のみに、また確認検査陽性検体では9例(12.5%)に薬剤耐性major変異が検出され、検出数・頻度共に2007年の5例(6.7%)から大幅に上昇した。BEDアッセイにより推定される確認検査陽性検体中の感染初期例は30.3%で、昨年の35.2%に比べると若干減少したが、抗体検査から推定される感染初期例(ウェスタンブロット法で陰性または判定保留、かつ核酸増幅検査で陽性のもの)は昨年の5.7%(5/88例)から6.7%(8/120例)と増加しており、HIV感染が拡大しつつある現状が示された。

薬剤耐性変異の検出頻度は感染初期群に比べると慢性感染群の方がやや高いものの、耐性変異検出群のみに着目すると、その33.3%(3/9例)が感染初期で見ついている。中でも、V108IV+M184MV+Y181CYの変異が検出された1例は、これら3カ所の他にもV179VI、H221HY等のminor mutationが認められているが、major、minor共に耐性変異アミノ酸と野生型アミノ酸が混在しており、感染した薬剤耐性ウイルスが薬剤非存在下で野生型に戻りつつある状況と推察される。本検体はBEDアッセイの結果からも感染初期と推定されていることから、感染早期における薬剤耐性検査の重要性が示唆された。

また、近年高い頻度で検出されているT215リバータント変異は2008年にも6例が見つかり、うち2例がBEDアッセイで感染初期と推定されることから、これらT215X変異を有するHIV-1株の感染が引き続き新規感染者に広がっていることが示唆された。

E. 結論

2008年のHIV確認検査にて陽性が判明した検体について薬剤耐性遺伝子検査を実施した結果、薬剤耐性HIV-1の検出頻度は12.5%であり、2007年の6.7%から大幅に上昇した。耐性変異検出例のうち33.3%がBEDアッセイにより感染初期と判定された。今回インテグラーゼ阻害剤に対するmajor耐性変異は検出されなかったが、今後使用頻度が高まるとともに耐性ウイルスの出現が予想される。また、新規治療薬であるCCR5阻害剤が認可されたことから、今後はenv領域についても調査が必要となると思われる。

F. 健康危険情報

なし

表1 新規HIV-1感染者に認められた薬剤耐性関連アミノ酸変異

性別	国籍	感染リスク	薬剤耐性アミノ酸変異			サブタイプ (pol)	BEDアッセイ	
			PR	RT	IN			
● 医療機関受診症例								
1	男性	日本	同性間	I62IV, V77I, I93L	V108I, V179D	-	B	Long-term
● 確認検査陽性検体								
1	男性	不明	不明	I62V, A71V	V179IV, T215S	-	B	Long-term
2	男性	日本	同性間	I62IV, V77I, I93L	V108I, V179D	-	B	Long-term
3	男性	不明	不明	V82I	V179I, T215D	-	B	Long-term
4	男性	日本	不明	M36I, M46I, I62V, I64V, I93L	-	-	B	Long-term
5	男性	日本	同性間	V82I, I93L	T215E	-	B	Recent
6	男性	日本	不明	I62V	T215D	-	B	Long-term
7	不明	不明	不明	I13V, V77I	V179I, T215E	-	B	Long-term
8	不明	不明	不明	L10I, I13V, D60E, L63P	V108IV, V179VI, Y181CY, M184MV, H221HY	-	B	Recent
9	男性	不明	同性間	M36I, I62V	T215L	-	B	Recent

G. 研究発表

1. 論文発表

1. YOKO KOJIMA, TAKUYA KAWAHATA, HARUYO MORI, ISAO OISHI, TORU OTAKE. Recent Diversity of HIV-1 in Individuals who visited STI-related clinics in Osaka, Japan, Journal of Infection and Chemotherapy, 14:51-55, 2008
2. 森 治代、小島洋子、川畑拓也、後藤哲志. 未治療HIV-1感染者に検出されたV108I変異がefavirenz耐性誘導に及ぼす影響、日本エイズ学会誌、10:184-190、2008

2. 学会発表

1. 森 治代、小島洋子、川畑拓也、大國 剛、Mismatched primers detected covert drug-resistant mutations in a patient of HIV-1 dual infection (HIV-1重感染の患者においてミスマッチのプライマーが隠れた薬剤耐性変異を検出した)、XVII INTERNATIONAL AIDS CONFERENCE. 3-8 August 2008, Mexico City (第17回国際エイズ会議、2008年8月3-8日、メキシコシティ)
2. 森 治代、小島洋子、川畑拓也、大國 剛、Mismatched primers detected covert drug-resistant mutations in a patient of HIV-1 dual infection (HIV-1重感染の患者においてミスマッチのプライマーが隠れた薬剤耐性変異を検出した)、3rd International Workshop on HIV Transmission, 2008, Mexico City (第3回国際HIV伝播ワークショップ、メキシコシティ)
3. 小島洋子、川畑拓也、森 治代、大國 剛、大阪府内の性病科・泌尿器科・婦人科を定点としたHIV-1の疫学調査、第22回近畿エイズ研究会学術集会、奈良、2008
4. 小島洋子、川畑拓也、森 治代、大阪府のHIV/HBV重感染例におけるHBV遺伝子型別、小島洋子、川畑拓也、森 治代、第22回日本エイズ学会学術集会、大阪、2008

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



研究要旨

神奈川県における薬剤耐性HIVの調査研究

研究分担者 近藤真規子 神奈川県衛生研究所 微生物部 主任研究員
 研究協力者 倉井華子¹、立川夏夫¹、相楽裕子¹、岩室紳也²、
 井戸田一朗³、今井光信⁴

¹横浜市立市民病院、²厚木市立病院、³しらかば診療所、

⁴神奈川県衛生研究所

新規HIV-1感染者における薬剤耐性HIV-1の出現状況を調査するため、2007年12月から2008年9月に主として神奈川県内の医療機関に来院した新規HIV感染者44名について薬剤耐性変異の解析を行った。IAS-USA(2008)リスト、Shafer's criteria、スタンフォードデータベースに基づき薬剤耐性変異の有無を調べた結果、薬剤耐性関連変異を有する症例が4例(RT領域3例、PR領域1例)検出され、薬剤耐性変異の出現頻度は9.1%であった。

4例の内2例からは核酸系逆転写酵素阻害剤(NRTI)の耐性変異D67DNと、AZT耐性変異215YFのリバタントT215Dが検出され、これらはスタンフォードデータベース解析において、NRTIに低レベルの耐性と判定された。しかし、非核酸系逆転写酵素阻害剤(NNRTI)の耐性変異K103Nおよびプロテアーゼ阻害剤(PRI)NFVの耐性変異D30Nが検出された2例は、それぞれの薬剤に対し高度耐性と判定された。薬剤耐性変異の出現頻度は年々増加傾向にあること、また2008年には高度耐性変異株も検出されたことから、今後、薬剤耐性株の動向把握と蔓延防止の対策はますます重要になると考えられる。

A. 研究目的

HIV-1感染者の治療は多剤併用療法(HAART)の普及により飛躍的に進歩し、HIV-1感染者の病態の進行をコントロールすることが可能となった。その一方で、薬剤の長期投与に伴い薬剤耐性HIV-1株を保有する感染者が増加し、新規感染者が薬剤耐性株に感染している症例も見つかってきている。欧米では薬剤耐性ウイルスによる感染が広がりつつあり、新規感染者の数%から十数%が何らかの抗HIV薬に対する耐性変異が認められると報告されている。日本においては2004年から調査が開始され、2003年から2005年の調査で新規HIV感染者の約5%に薬剤耐性変異が認められることが明らかとなった。日本でのこの数字は欧米に比べまだ低いものの、薬剤耐性ウイルスの蔓延を制御するためにも継続した調査は重要である。

我々は、薬剤耐性HIVの発生動向把握とその増加を抑制するため全国規模での調査に参加し、主とし

て神奈川県内の医療機関を受診したHIV感染者について薬剤耐性変異の解析を行った。

B. 研究方法

1. 調査対象

2007年12月～2008年9月に主として神奈川県内の医療機関に来院した未治療のHIV感染者44名。

2. HIV-1薬剤耐性変異の解析

患者血漿よりHIV-1遺伝子を抽出(ハイピュア Viral RNA抽出キット：ロシユ・ダイアグノスティックス)し、RT nested PCR法(One step RNA PCRキット：タカラバイオ)によりプロテアーゼ(PR)および逆転写酵素(RT)領域を増幅後、ダイレクトシーケンシング法(BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit：アプライドバイオシステムズ)により塩基配列を決定した。PCRプライマーおよびPCR条件は国立感染症研究所の方法に従った。

IAS-USA (2008)リスト、Shafer's criteria、スタンフォードデータベースを基にプロテアーゼ阻害剤 (PRI: IDV, LPV, RTV, SQV, NFV, FPV, ATV, DRV, TPV)、核酸系逆転写酵素阻害剤 (NRTI: AZT, d4T, ddI, 3TC, ABC, TDF, FTC)、非核酸系逆転写酵素阻害剤 (NNRTI: DLF, EFV, NVP) に関与する薬剤耐性変異について解析した。

また、同時にスタンフォードデータベース (インターネット上で公開) を用い各種抗HIV薬に対する耐性度の判定とPR、RT領域のサブタイプ型別を行った。スタンフォードデータベースの耐性度はsusceptible、potential low-level resistance、low-level resistance、intermediate resistance、resistanceの5段階評価で示される。

env C2V3領域については塩基配列決定後、neighbor-joining法による系統樹を作成しサブタイプを決定した。

(倫理面への配慮)

主治医から患者に研究内容について説明を行い、研究への同意の得られた症例について研究を実施した。患者名はすべて記号化して扱っており、プライバシーの流出防止など患者の人権保護に十分配慮した。尚、本研究は当研究所の倫理委員会で承認されている。

C. 研究結果

IAS-USA (2008)リスト、Shafer's criteria、スタンフォードデータベースに基づき44名のHIV-1pol領域のアミノ酸について解析した結果、PR領域に1例、RT領域に3例、計4例に薬剤耐性関連変異が認められ、耐性検出頻度は9.1%であった(表1)。耐性関連変異の認められた4例は全て男性、サブタイプBで、感染経路は同性間と不明が2例ずつ、感染経路不明の内1例は外国人であった(表2)。

PR領域にMajor耐性変異であるD30Nの見られた1例は、同時に複数のMinor変異も有しており、スタンフォードデータベースによりPRIに対する耐性度はNFVにHigh-level resistance (5段階評価の1番目)、ATV、SQVにPotential low-level resistance (5段階評価の4番目)と判定された。

RT領域に耐性関連変異の認められた3例の内2例はNRTIに対する耐性変異を有しており、1例にTAMの一つであるD67DNが、もう1例に215YFのリバータント変異である215Dが検出された。また、NNRTIに対する耐性変異K103Nを持つ症例が1例検出され、スタンフォードデータベースにより、DLV、EFV、NFVにHigh-level resistanceと判定された。

44例のサブタイプおよび感染経路を表3に示した。サブタイプの内訳は、サブタイプBが39例(88.6%)と最も多く、CRF01_AE 3例、CRF02_AG 1例、サブタイプDが1例であった。

表1 新規HIV感染者44名から検出された薬剤耐性関連変異検出頻度 (2007.12-2008.9)

陽性判明年	解析数 (人)	耐性変異 出現人数*	薬剤耐性関連変異	
			Pro	RT
2007年		1:同性間	—	D67DN
2008年		1:同性間	D30N	
		1:不明	—	T215D
		1:不明	—	K103N
合計(人)	44	4(9.1%)		

表2 薬剤耐性変異の認められた4例の詳細 (2007.12-2008.9)

陽性判明年	国籍	性別	感染経路	サブタイプ*	薬剤耐性変異*	
					Pro領域	RT領域
2007	日本	男性	同性間	B	G16E, I62V, L63T, I64M, V77, I93L	M41MR, D67DN, V75ELT215AT, A98S
2008	日本	男性	同性間	B	D30N, N88D, I62V, L63P, A71T, V77I	—
	日本	男性	不明	B	L63A, V82I, I93L	T215D
	USA	男性	不明	B	L10V, L63P, I64V, I71AT, V77I, I93L	K103N, A98S

感染経路別では、男性同性間性行為感染が22例（日本人21例、外国籍1例）、異性間が7例（日本人4例、外国籍3例）、その他1例、不明11例であった。

本調査研究を開始した2004年から現在までの耐性関連変異出現頻度を表4に示した。薬剤耐性関連変異の検出率は2004年では4.7%であったが、年々増加傾向にあり、2008年は7.1%となった。耐性関連変異が認められた12例の内11例は男性、サブタイプBで、8例が同性間性行為感染、異性間が1例、不明が2例であった。また、2007年には異性間感染によりサブタイプAに感染した女性からも薬剤耐性変異（PR領域、M46I）が検出された。

2006年以降、耐性変異の種類が増加しており、2008年にはPR1のNFVに高レベル耐性変異D30N、NNRTIに高レベル耐性変異K103Nも検出された。

D. 考察

我々は、薬剤耐性HIVの発生動向を把握するため、2004年より全国規模での調査に参加し、主として神奈川県内の医療機関に来院した新規HIV-1感染者について薬剤耐性変異の解析を行っている。2007年12月から2008年9月に医療機関に来院したHIV-1感染者の調査において、薬剤耐性変異が4例確認され、この内1例はAZT耐性変異である215YFのリバータント215Dを有していた。リバータント215Xは、昨年までの神奈川での調査において8例中5例と高率に検出され、また東京、大阪、名古屋等でも検出されており、日本において比較的頻度の高い耐性関連変異であると考えられた。

RT領域にK103N変異を、PR領域にD30N変異を持つ症例がそれぞれ1例ずつ認められた。これらの変異はIAS-USA(2008)リスト、Shafer's criteria、スタ

表3 44名(2007.12~2008.9)の感染経路とサブタイプ

感染経路	合計	サブタイプ(<i>envC2V3, pol</i>)			
		B	E	AG	(D)*
男性同性間	21	21			
日本	21				
外国	1		1		
異性間 男性	5	3	1	1	
日本	5	3	1	1	
外国	1	1			
異性間 女性	2	1	1		
日本	2	1	1		
外国	2	2			
不明 男性	11	11			
その他 女性	1				1
合計	44	39	3	1	1

*プロテアーゼのみの結果、*envI*は検討中

表4 新規HIV感染者215名から検出された薬剤耐性関連変異検出頻度(2003-2008年)

陽性判明年	解析数 (人)	耐性変異 出現人数	感染経路 サブタイプ*	薬剤耐性関連変異	
				Pro	RT
2004年	43	2(4.7%)	同性間 B	-	K219Q
			同性間 B	-	T215D
2005年	31	1(3.2%)	同性間 B	-	T215D
2006年	56	3(5.4%)	同性間 B	-	M41L, T215C
			同性間 B*	M46I	-
			異性間 B	-	T215S
2007年	43	3(7.0%)	同性間 B	-	T215D
			異性間 A#	M46I	-
			同性間 B	-	D67DN
2008年	42	3(7.1%)	同性間 B	D30N	-
			不明 B	-	T215D
			不明 B*	-	K103N
合計	215	12(5.6%)			

*USA, #日本女性、他すべて日本男性

ンフォードの3つのデータベースでそれぞれNNRTI耐性変異、NFV耐性変異として登録されており、スタンフォードデータベース解析により、NNRTI、あるいはNFVに対し高度耐性であると判定された。これらは薬剤投与歴のある症例からの感染の可能性が大きく、耐性株の蔓延が危惧される。

今回、薬剤耐性関連変異の認められた4例はすべてサブタイプBで、日本人男性が3例、同性間が2例で、これまでとほぼ同様に傾向にあった。しかし、薬剤耐性変異の出現頻度は年々増加傾向にあり、2006年から2007年には異性間でも耐性関連変異が検出された。また、変異の種類も増加し、B以外のサブタイプや高レベル耐性を獲得した株も認められた。今後、薬剤耐性株の動向把握と蔓延防止の対策がますます重要になると考えられる。

E. 結論

2007年12月から2008年9月に主として神奈川県内の医療機関に来院した新規HIV感染者44名について薬剤耐性変異を解析した結果、薬剤耐性関連変異を有する症例が4例(RT領域3例、PR領域1例)検出され、耐性変異の出現率は9.1%であった。薬剤耐性関連変異の出現頻度は年々増加傾向にあり、2008年の調査では高度耐性変異株も検出された。今後は、薬剤耐性株の実態把握とともに耐性株の蔓延防御対策が重要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Kondo M, Sudo K, Tanaka R, Sano T, Sagara H, Iwamuro S, Takebe Y, Imai M, Kato S: Quantitation of HIV-1 group M proviral DNA using TaqMan MGB real-time PCR, J. V. Meth, in press.

2. 学会発表

1. Kondo M, Sudo K, Sano T, Sagara H, Iwamuro S, Imai: The genetic diversity of HIV-1 subtype B in Tokyo and Yokohama area, Japan. XVII International AIDS Conference Mexico City, 3-8 August 2008, CDC0076.
2. 近藤真規子、田中理恵、須藤弘二、佐野貴子、岩室神也、倉井華子、立川夏夫、相楽裕子、加藤真吾、今井光信：汎用リアルタイムPCR装置を用いたHIV-1 RNA定量法の検討、第22回日本エイズ学会学術集会・総会(2008年11月26～11月28日、大阪)。
3. 木内英、岩室神也、相楽裕子、大木茂、元重京子、近藤真規子、今井光信、花房秀次、加藤真吾：母児感染予防における出生児のAZT薬物動態と副作用、第22回日本エイズ学会学術集会・総会(2008年11月26～11月28日、大阪)

4. 佐野貴子、山中晃、金子恵、井戸田一朗、平井由見、岩室神也、須藤弘二、近藤真規子、今井光信：唾液中で検査可能なHIV迅速検査試薬の検討、第22回日本エイズ学会学術集会・総会(2008年11月26～11月28日、大阪)
5. 須藤弘二、佐野貴子、近藤真規子、加藤真吾、今井光信：HIV郵送検査に関する実態調査および検査制度の調査、第22回日本エイズ学会学術集会・総会(2008年11月26～11月28日、大阪)



研究要旨

千葉県および近郊における薬剤耐性HIVの調査研究 千葉県におけるHIV抗体検査啓発の新たな試み

研究分担者 佐藤 武幸 千葉大学医学部附属病院 感染症管理治療部 部長

HIV感染者の早期発見と予防啓発を目的とし、千葉県内保健所におけるHIV抗体検査に伴う性器クラミジア抗体検査陽性者の実態を調査した。千葉県内の全保健所での2005年度の性器クラミジア抗体陽性率は男性15.4%、女性23.1%、全体で18.6%であった。3保健所における、2007年度の男女別・年齢群別検討では、若年者においては男女共20~30%が陽性であった。

これら抗体陽性者へのカウンセリング、パートナー検診による、HIV感染者の早期発見・予防啓発が求められる。また受診行動の実態は把握されておらず、紹介可能な公的機関の整備などの対策が必要である。

A. 研究目的

HIV感染者の早期発見と予防啓発を目的とした千葉県内保健所におけるHIV抗体検査に伴う性器クラミジア抗体検査陽性者の実態調査

B. 研究方法

1. 千葉県内保健所における性器クラミジア抗体陽性率

千葉県のホームページ上に報告されている2005年度の千葉県内の2政令・中核都市を除く保健所での性器クラミジア抗体結果をまとめた。

2. 千葉県内3保健所での性器クラミジア抗体の検討

対象3保健所における2007年度の性器クラミジア抗体を男女別、年齢群別に検討した。また検査結果を被験者に伝達出来たか否かの検討も行った。

3. 性器クラミジア抗体の評価

性器クラミジア抗体はEIA法で測定し、IgG・IgAの両者またはひとつでも陽性の場合を陽性者とした。

C. 研究結果

1. 千葉県内保健所における性器クラミジア抗体陽性率（2政令・中核都市を除く）

政令・中核都市である千葉市・船橋市を除いた千

葉県内の全保健所での2005年度の性器クラミジア抗体検査を希望した男性1392名中15.4%、女性966名中23.1%、全体で2358名中18.6%で抗体が陽性であった。

地域別特徴は無く、東京隣接地域、農村地帯では同様の結果であった。

千葉県の全保健所での年間のHIV抗体検査数は年々増加しており、2006年度にはそれまでの4000名弱から5000名に増加した。その約80%は性器クラミジア抗体検査を希望していた。

2. 千葉県内3保健所での性器クラミジア抗体の検討 (1) 性器クラミジア抗体結果

東京近郊の都会地域、中間地域、農村地域の3保健所における、2007年度の男女別・年齢群別の性器クラミジア抗体を検討した（図1）。全年齢での陽性率は男性で21.7%、女性で23.6%であった。年齢群別では、若年者ほど陽性率が高く、高齢化するに従い低下した。10代男性では全例陰性であったが、被験者が10名と少なく、状況は不明である。10代女性は被験者は10名程度ではあるが、陽性者は30%を越えており陽性頻度は高いと推察できる。若年者では、男女ともほぼ20~30%が陽性者であった。被験者数は20代男性で200名、20代女性で190名、30代男性で180名、30代女性で120名であり、これらの年齢群では傾向がつかめていると思われる。40代

以降はどの群も40名以下であった。

(2) 性器クラミジア抗体結果の返却率

中間地域、農村地域の2保健所で検討した。約75%に結果を本人に連絡できなかった。これは来院者の目的がHIV抗体検査であり、性器クラミジア抗体検査は2次的にとらえていたと推定される。事実HIV即日検査における返却率は50%程度に減少していた。

D 考察

保健所での無料・匿名HIV検査による陽性率は、東京都の一部などの例外を除き、ほぼ0.3%程度とされている。千葉県においてもほぼ同様である。

一方、性器クラミジア抗体陽性率は、男女共に若年者では20～30%と高率である。すなわちHIV抗体陽性者の約100倍の陽性者が存在することになる。抗体検査であるため既感染者が含まれるが、ほとんどは無防備の性交渉による感染者と考えられ（一部新生時期の母子感染後の抗体持続者が含まれる可能性がある）、これらの群は正にHIV感染の予備軍であり、リスクの高い性交渉をしている人達と言える。これらの人達を医療機関への受診行動に導き、治療の必要な人には加療し、今後の性行動へのカウンセリング、パートナー検診へ結びつける事により、HIV感染者の早期発見・予防に貢献できると思われる。

今回は、抗体陽性者の内、治療が必要な抗原陽性群の検討は出来ていないが、保健所でのHIV検査を希望するハイリスク群を対象とした検討であり、本邦では健康若年者の5～10%に性器クラミジア抗原が陽性である点を加味すると、約半数は治療が必要な群と推察される。無治療で放置される事による将来の不妊などのリスク、また粘膜障害によるHIV感

染リスクの上昇などを考慮すると、抗体陽性者の医療機関受診の重要性が理解される。

一方で、約25%に抗体検査結果が伝えられていない点も問題である。いくつかの保健所では電話などでの伝達も行われ、返却率向上にはつながっているが（データ略）、一方的な伝達となりやすく、その後の受診行動につながりにくくなる可能性がある。

性器クラミジア抗体陽性者は地域に関係なく分布しており、今後は非都会地域でのHIV感染者の増加へと移行する可能性を秘めている。

E 結論

性器クラミジア抗体陽性者は、千葉県の全域で若年者では約20～30%陽性であり、これらの群に属する人は、無防備の性交渉をしているHIV感染リスクの高い人達である。これらの人達を医療機関への受診行動に導き、カウンセリング、パートナー検診を実施し、また受診実態を把握するためにも、公的機関を中心とした受け入れ体制の整備が求められる。

これにより、HIV感染者の早期発見・予防啓発も合わせて可能となろう。さらに、性器クラミジア感染による、不妊などの将来の健康被害の防止にもなる。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

なし。

H. 知的財産権

なし。

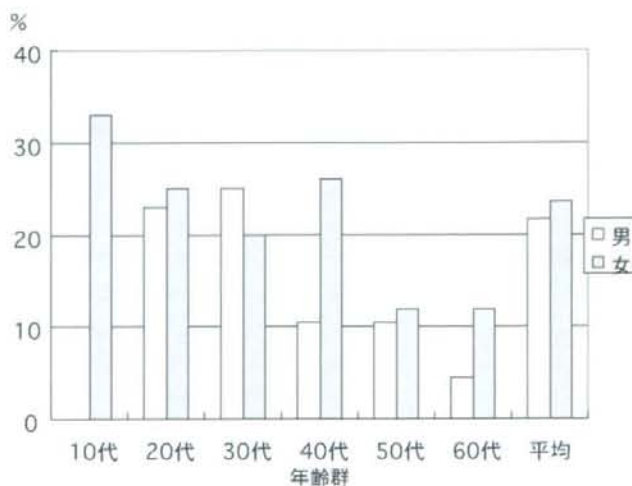


図1 年代別性器クラミジア抗体陽性率



研究要旨

沖縄県における薬剤耐性HIVの調査研究

研究分担者 **健山 正男** 琉球大学大学院医学研究科 感染症制御学講座
分子病態感染症学分野 准教授

研究協力者 **日比谷健司¹、仲村 秀太¹、田里 大輔¹、原永 修作¹、比嘉 太¹、
藤田 次郎¹、宮城 京子²**

¹琉球大学大学院医学研究科感染症制御学講座 分子病態感染症学分野

²同 看護部

今回、我々は前回に引き続き当地での薬剤耐性の現状を把握するため、新規感染者における薬剤耐性サーベイランスを実施した。対象期間は2008年1月1日～2008年12月1日で、同期間に12人が当院にHIVキャリアー/AIDS患者として初診外来受診した。新規感染者の定義を満たすのは7人であり、10月30日までにHIV薬剤耐性検査を施行した6人および2007年度の新規登録で当該年度(2008年中)に薬剤耐性検査を施行した3人の計9人に薬剤耐性HIV検査を施行した。RT領域ではmajor および minor mutationがそれぞれ1名に認められた。PR領域では耐性に関連する変異が全例に認められたが、major mutationは検出されなかった。当院はエイズ中核拠点病院として県内の患者の70%を診療しており当院における検査結果は県内の状況を反映していると考えられ、沖縄県は今回の検査結果からは薬剤耐性HIV-1の未浸淫地域と推定された。

A. 研究目的

沖縄県の新規患者の70%を診療する当院における新規HIV-1感染者における薬剤耐性変異の頻度を調査し、本県のHIV-1薬剤耐性の浸淫度を明らかにする。

B. 研究方法

1. 当院を日本薬剤耐性HIV-1調査研究グループとして登録した。
2. 新規登録患者の定義：対象期間内(2008年1月1日以降2008年12月1日)の期間に初めて感染が確認された者。
3. 検体のサンプリングポイント。下記のいずれかで行った。
 - a). 初診時
 - b). 治療開始時
4. 新規登録患者において、本調査の参加の同意を文書にて取得した。
5. 3. a)または b)のポイントで採血し国立感染症研究所エイズ研究センター第2研究グループにて薬剤耐性HIV-1検査を行った。

(倫理面での配慮)

- 1) 個人情報の取得について
利用目的を明確にしたうえで、必要とする範囲内に限り、適法かつ公正な手段によって、個人情報を取得した。
- 2) 個人情報の利用について
個人情報を取得する際に示した本研究の範囲内で、研究の遂行上、必要な限りにおいて利用した。
- 3) 個人情報の第三者提供について
取得した個人情報は、適切に管理し、個人情報保護法に定める例外事項を除き、本人の同意を得ることなく、第三者に提供、開示しなかった。
- 4) 個人情報の開示・訂正・削除・利用停止について
本人から自己の個人情報について、開示・訂正・削除・利用停止などの申し出を受けた場合は、すみやかに必要な措置をとる旨説明したが、研究の全期間を通して申請者はいなかった。
- 5) 個人情報の管理について
個人情報の紛失、流出、改ざんおよび漏洩などを防ぐため、個人情報を保有するのは研究代表者のみとし、情報管理上問題は発生しなかった。

6) 法令等の順守について

個人情報保護に関して適用される法令、国のガイドラインを熟読し順守した。

C. 研究結果

対象期間内に当院外来を受診した HIV/AIDS 患者は 12 人であった。その内、新規登録患者の定義を満たした 7 人中、6 人および 2007 年度の新規登録で当該年度 (2008 年中) に薬剤耐性検査を施行した 3 人の計 9 人に今回の調査に登録し検査を施行した。検体のサンプリングポイントは、全員、治療開始前に設定した。

薬剤耐性 HIV-1 検査を施行した 9 人の背景と結果を表に示した。性別では全員が男性で平均年齢は 38.5 歳であった。感染経路は全員が同性間であり病期は HIV キャリアーが 5 人、AIDS が 4 人であった。CD4 数の平均値は HIV キャリアーは 315.0/μl、AIDS は 63.1/μl であった。一方 HIV-RNA 定量の平均値は、HIV キャリアーは 9.2×10^4 コピー/ml、AIDS は 1.35×10^6 コピー/ml であった。

薬剤耐性 HIV-1 薬剤耐性検査では RT 領域では major および minor mutation がそれぞれ 1 名に認められた。PR 領域では耐性に関連する変異が全例に認められたが、major mutation は検出されなかった。

薬剤感受性の評価では耐性は認めなかった。

D. 考察

沖縄県における HIV 感染者の増加は 1999 年より顕著となり、2007 年の人口 10 万人あたりの新規感染

者は 2.58 人と全国で 2 番目に高い陽性率となった。

琉球大学附属病院はエイズ拠点病院として県内の患者の 70% 以上を診療しており当院における検査結果は県内の状況を反映していると思われるので、今回の検査結果から沖縄県は現時点において薬剤耐性 HIV-1 の未浸淫地域と推定された。しかしながらプロテアーゼ阻害薬に対する耐性関連変異は施行した全員に認められたので、今後の動向に注視する必要がある。当院の初診患者の届出地は 21% が県外であり、沖縄県全体の患者では県外患者が 30% を占めている。本県は観光地であり国内、国外からの人の入域が活発であり、薬剤耐性 HIV-1 が持ち込まれる可能性が危惧されている。引き続き新規登録患者の薬剤耐性調査を行うことが必要と思われた。

E. 結論

新規患者における薬剤耐性 HIV-1 検査を施行した 9 人では、血液製剤以外の感染者から RT 領域の major mutation が 1 名認められた。PR 領域に対する mutation は全例に認められたが全て minor mutation であった。HIV-1 耐性関連変異は認められたが、薬剤耐性 HIV-1 は検出されなかった。沖縄県は現時点 (2008 年 12 月 1 日現在) において薬剤耐性 HIV-1 の浸淫は低い、毎年 minor mutation の出現頻度が高まっており今後もいっそうのサーベイランス強化が必要である。

F. 健康危惧情報

なし

表 1 薬剤耐性検査結果

No	Stage	age	subtype	CD4	HIV-1 RNA copies/ml	薬剤耐性に関連する mutation		
						NRTI	NNRTI	PI
1.	HIV	38	B	243	2.4×10^4	ND	ND	V71, I15V
2.	HIV	17	ND	468	4.1×10^5	ND	ND	V71, I15V
3.	AIDS	51	B	31.6	2.1×10^4	ND	ND	A71T, V77I, L101
4.	HIV	47	B	338	2.4×10^4	ND	ND	L10V, I15V
5.	AIDS	40	ND	174	4.2×10^2	ND	ND	K20R, M36I, M36I, L63P
6.	AIDS	35	ND	6.7	6.8×10^6	T215T/I	ND	A71V, I62V, A71V, L63P,
7.	HIV	66	ND	316	1.1×10^3	ND	ND	M36I, L63P/T
8.	HIV	23	ND	214	2.0×10^3	A98A/S	ND	M36I, L10L/I/M, I62I/V, L63A/P
9.	AIDS	29	ND	39.9	4.7×10^6	T69T, I/A/D/N	ND	M36M/I, V77V/I, V106V/I, I15V