

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。その結果、これまで臨床においてのみ認められたY143C/R変異およびこれまでに報告がない新たな関連変異の可能性が高いG163Rをin vitroで誘導することができた。このことは我々のin vitroの耐性誘導の系がX4, X4R5のみならずR5ウイルスを用いたRAL等の薬剤耐性の研究に有用であることを示している。また、インテグラーゼ阻害薬であるRALがEnvの選択に関与している可能性について今後検討を進めていく予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Shibata J, Yoshimura K, Honda A, Koito A, Murakami T & Matsushita S.: Impact of V2 mutations for escape from a potent neutralizing anti-V3 monoclonal antibody during in vitro selection of a primary HIV-1 isolate. *J. Virol* 81:3757-3768, 2007
- Nakayama E.E., Carpentier W, Costagliola D., Shioda T., Iwamoto A., Debre P, Yoshimura K, Autran B, Matsushita S, Theodorou I. Wild type and H43Y variant of human TRIM5 α show similar anti-human immunodeficiency virus type 1 activity both in vivo and in vitro. *Immunogenetics* 59:511-515, 2007.
- Gatanaga H, Hayashida T, Tsuchiya K, Yoshino M, Kuwahara T, Tsukada H, Fujimoto K, Sato I, Ueda M, Horiba M, Hamaguchi M, Yamamoto M, Takata N, Kimura A, Koike T, Gejyo F, Matsushita M, Shirasaka T, Kimura S, Oka S.: Successful efavirenz dose reduction in HIV-1-infected individuals with cytochrome P450 2B6*6 and*26. *Clinical Infectious Diseases.*, 45: 1230-1237, 2007.
- Ryo, A., Tsurutani, N., Ohba, K., Kimura, R., Komano, J., Nishi, M., Hiromi Soeda, Shinichiro Hattori, 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.

- 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.
- Yamada, Y., Ochiai, C., Yoshimura, K., Tanaka, T., Ohashi, N., Narumi T., Nomura, W., Harada, S., Matsushita, S., Tamamura, H. CD4 mimics targeting the mechanism of HIV entry. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 20: 354-358, 2010.
- Makiko Hatada, Kazuhisa Yoshimura, Shigeyoshi Harada, Yoko Kawanami, Junji Shibata and Shuzo Matsushita : HIV-1 evasion of a neutralizing anti-V3 antibody involves acquisition of a potential glycosylation site in V2. *J. Gen. Virol.* 2010 (in press)

2. 学会発表

(国内学会)

- 松下修三、西田吉辰、柴田潤二、畑田万紀子、吉村和久.: 長期非進行症例 (LTNP) における交叉中和のメカニズムの研究 I; 中和単クローン抗体の作成と解析. 第21回日本エイズ学会学術集会・総会. 2007.11.28-11.30. 広島.
- 西田吉辰、柴田潤二、吉村和久、松下修三: 長期非進行症例 (LTNP) における交叉中和のメカニズムの研究 II; 中和単クローン抗体の subtype B panel に対する交差中和活性. 第21回日本エイズ学会学術集会・総会. 2007.11.28-11.30. 広島.
- 畑田万紀子、吉村和久、柴田潤二、松下修三: 強力な抗HIV-1 gp120-V3抗体KD-247に対する HIV-1BaLの中和逃避のメカニズム解析. 第21回日本エイズ学会学術集会・総会. 2007.11.28-11.30. 広島.
- 柴田潤二、吉村和久、松下修三: 中和抗体高度抵抗性ウイルスを感受性にする変異はgp120三量体構造に影響を与える。第21回日本エイズ学会学術集会・総会. 2007.11.28-11.30. 広島.
- 吉村和久、柴田潤二、畑田万紀子、山田裕子、増野弘幸、玉村啓和、松下修三: CD4 mimic small compoundと anti-HIV monoclonal antibody のウイルス中和における相乗効果。第21回日本エイズ学会学術集会・総会. 2007.11.28-11.30. 広島.
- 吉村和久、原田恵嘉、畑田万紀子、増野弘幸、玉村啓和、松下修三: CD4 mimic small com-

- poundのin vitro耐性誘導による結合部位の予測. 第22回日本エイズ学会学術集会・総会. 2008. 11.26-11.28. 大阪
7. 畑田万紀子、吉村和久、石川哲也、原田恵嘉、松下修三：V2領域のN-glycosylation site挿入が抗V3中和抗体エスケープに及ぼす影響. 第22回日本エイズ学会学術集会・総会. 2008. 11.26-11.28. 大阪
 8. 榎原知里、吉村和久、畑田万紀子、原田恵嘉、松下修三：中和抗体高感受性R5臨床分離株の抗V3抗体によるin vitro中和逃避ウイルス誘導. 第22回日本エイズ学会学術集会・総会. 2008. 11.26-11.28. 大阪
 9. 松下修三：HIV-1に対する中和単クローン抗体の治療応用に向けた基礎研究. 第9回日本蛋白質化学学会 2009.5.20-22. 熊本.
 10. 畑田万紀子、吉村和久、原田恵嘉、松下修三：抗HIV-1V3抗体からの逃避過程で挿入されるV2領域の糖鎖が保存されるメカニズム-HIV-1の進化における耐性と増殖能のバランスに関する考察-第57回日本ウイルス学会学術集会. 2009.10.25-27 東京.
 11. 松下修三：エンベロープの進化と中和抗体. シンポジウムHIV細胞侵入とその防御機構. 第23回に本エイズ学会学術集会・総会. 2009. 11.26-28 名古屋.
 12. 吉村和久：ケモカインレセプター阻害剤の臨床的研究～臨床分離株を用いたマラビロック耐性誘導～. 第23回に本エイズ学会学術集会・総会. 2009.11.26-28 名古屋.
 13. 原田 恵嘉、吉村和久、松下修三：最近分離した7種の臨床HIV-1株を用いたin vitro ラルテグラビル耐性ウイルス誘導. 第23回に本エイズ学会学術集会・総会. 2009.11.26-28名古屋.
 14. 石川哲也、畑田万紀子、原田 恵嘉、吉村和久、松下修三：実験室HIV-1 R5株を用いたin vitro CCR5阻害薬 (maraviroc) 耐性ウイルス誘導の試み第23回に本エイズ学会学術集会・総会. 2009.11.26-28 名古屋.
- (国際学会)
1. Matsushita S., Ikeda, T, Shibata J., Honda A., Koito K, Yoshimura. Persistence of proviral DNA and the integration sites of HIV-1 in patients on prolonged and effective HAART. 4th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention. Sydney, Australia. June. 22-25, 2007.
 2. Yoshimura, K., Shibata, J., Honda A., Tamamura, H., Matsushita S.: A potent neutralizing anti-V3 monoclonal antibody, KD-247 shows favorable synergism with other antiretrovirals, sCD4 and CD4 mimic small compound in vitro. 4th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention. Sydney, Australia. June. 22-25, 2007.
 3. Nishida, Y., Shibata, J., Kazuhisa, Y., and Matsushita, S.: Broad neutralization against the HIV-1 subtype B panel of reference strains by human monoclonal antibodies established from an HIV-1 infected long-term non-progressor. 8th AIDS Seminar in Kumamoto. Sep 13-14, 2007. Aso, Kumamoto.
 4. Shibata J, Yoshimura K, Matsushita S. :The single mutation in V2 domain affects quaternary structure of trimer gp120 and dramatically increases the sensitivity of primary human immunodeficiency virus type 1 isolates to neutralizing antibodies. 8th AIDS Seminar in Kumamoto. Sep 13-14, 2007. Aso, Kumamoto.
 5. Hatada, M., Yoshimura K, Shibata J, Matsushita S. HIV-1BaL mutants escaping neutralization from a potent neutralizing anti-V3 monoclonal antibody KD-247. 8th AIDS Seminar in Kumamoto. Sep 13-14, 2007. Aso, Kumamoto.
 6. Yoshimura, K., Shibata, J., Honda A., Tamamura, H., Matsushita S.: A potent neutralizing anti-V3 monoclonal antibody, KD-247 shows favorable synergism with other antiretrovirals, sCD4 and CD4 mimic small compound in vitro. 8th AIDS Seminar in Kumamoto. Sep 13-14, 2007. Aso, Kumamoto.
 7. Matsushita S. : Development of broadly reactive neutralizing monoclonal antibody KD-247: implications for passive immunotherapy. Tentative Program for the 3rd Japan-Germany HIV/AIDS Symposium. Nov. 26, 2007. Hiroshima.
 8. Matsushita S., Nishida, Y., Shibata J., Honda A., Yoshimura, K: Broad cross-neutralization mediated by combination of anti-V3 and CD4 binding site antibodies in an HIV-1 infected patient with long-term non-progressive disease. 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic infections. Feb. 3-6, 2008, Boston, USA
 9. Yoshimura, K, Shibata J., Honda, A., Yamada, Y., Masuno, H., Tamamura, H., Matsushita S.:In vitro induction of human immunodeficiency virus type 1 variants resistant to a low-molecular CD4 mimic compound, N- (4- Chlorophenyl) -N' - (2,2,6,6-

- tetramethylpiperidin-4-yl)-oxalamide (NBD-556). 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Feb. 3-6, 2008, Boston, USA.
10. Yoshimura, K, Hatada, M., Harada S., Shibata J., Masuno, H., Tamamura, H., Matsushita S.: In vitro induction of human immunodeficiency virus type 1 variants resistant to a low-molecular CD4 mimic compound. 9th Kumamoto AIDS Seminar. Sep. 18-19, 2008, Aso, Kumamoto.
 11. Hatada, M., Yoshimura, K, Ishikawa T., Harada S., Matsushita S.: The impact of an N-linked glycosylation site insertion in HIV-1 gp120 region to escape from a potent neutralization anti-V3 monoclonal antibody. 9th Kumamoto AIDS Seminar. Sep. 18-19, 2008, Aso, Kumamoto.
 12. Narahara C., Yoshimura, K, Hatada, M., Harada S., Matsushita S.: Different mutation in HIV-1 gp120 V3-tip region for escape from a potent neutralizing anti-V3 monoclonal antibody during in vitro selection with low or high concentration of the Mab. 9th Kumamoto AIDS Seminar. Sep. 18-19, 2008, Aso, Kumamoto.
 13. Yoshimura, K, Harada S., Hatada, M., Matsushita S.: Mutations in V4 and C4 regions of the HIV-1 CRF-BC envelope induced by the in vitro selection of Maraviroc Confer cross-resistance to other CCR5 inhibitors. 16th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI 2009). 2009.2.8-11, Montreal, Canada.
 14. Matsushita S, Narahara C, Morizono M, Nishida Y, Honda -Shibata A, Harada S., Yoshimura, K.,: Polyclonal antibody response against gp120 including antibodies to V3, CD4bs and CD4i epitopes account for broad neutralization. 5th Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention. 2009.7.19-22, Cape Town, South Africa.
 15. Harada S, Yoshimura K., and Matsushita S.: Generation of an integrase inhibitor raltegravir resistant variants using recent primary isolates, X4, R5 and dual/mix HIV-1. 10th Kumamoto AIDS Seminar GCOE Joint International Symposium. 2009.9.28-29, Kumamoto
 16. Yoshimura K., Harada S, Hatada M. and Matsushita S.: In vitro induction of HIV-1 resistant to a CCR5 antagonist maraviroc. 10th Kumamoto AIDS Seminar GCOE Joint International Symposium. 2009.9.28-29, Kumamoto
 17. Ishikawa T., Yoshimura K., Hatada M. Harada S, and Matsushita S.: Mutations in gp120 of R5 HIV-1 laboratory isolate induced by the in vitro selection of maraviroc confer highly sensitive to anti-V3 monoclonal antibody. 10th Kumamoto AIDS Seminar GCOE Joint International Symposium. 2009.9.28-29, Kumamoto
 18. Hatada M. Yoshimura K., Harada S, and Matsushita S.: Mechanism of maintaining a glycan-insertion in HIV-1 gp120 V2 region under pressure of a potent neutralizing antibody in vitro. 10th Kumamoto AIDS Seminar GCOE Joint International Symposium. 2009.9.28-29, Kumamoto.
 19. Matsushita S. Narahara C, Nishida Y, Honda A., Harada S., Yoshimura K.: Mechanism of maintaining a glycan-insertion in HIV-1 gp120 V2 region under pressure of a potent neutralizing antibody in vitro. 10th Kumamoto AIDS Seminar GCOE Joint International Symposium. 2009.9.28-29, Kumamoto.
 20. Yoshimura K, Matsushita S: In vitro induction of HIV-1 resistant to a CCR5. Kumamoto AIDS Seminar GCOE Joint International Symposium-Satellite Symposium. 2009.9.30, Aso, Kumamoto
 21. Matsushita S: Accumulation of multiple functional mutations in HIV-1 gp120 is involved in the development of neutralization escape under pressure of neutralizing antibody in vitro. Kumamoto AIDS Seminar GCOE Joint International Symposium-Satellite Symposium, 2009.9.30, Aso, Kumamoto.
 22. Narahara C, Hatada M, Harada S., Yoshimura, K., Matsushita S, : A primary R5 isolate undergoes different escape pathway during in vitro selection with low or high concentration of an anti-V3 monoclonal antibody. AIDS Vaccine 2009, 2009.10.19-22, Paris.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし



研究要旨

ACCにおける薬剤耐性HIVの調査研究

研究分担者 **渦永 博之** 国立国際医療センター エイズ治療・研究開発センター
治療開発室長

研究協力者 **林田 庸総** 国立国際医療センター エイズ治療・研究開発センター
リサーチレジデント

国立国際医療センター エイズ治療・研究開発センター(ACC)において、平成19-21年の間に、515人のHIV-1感染者が新規に診断された。この515人に対してHIV-1の遺伝子検査による薬剤耐性検査を施行したところ、31人の患者に主要な薬剤耐性変異が認められた。逆転写酵素のK103Nが2人、V108Iが3人、T215Xが13人、プロテアーゼ領域のD30Nが1人、M46Lが12人、であった。サブタイプは、Bが464人、AEが33人、AGが3人、Cが7人、Gが5人、AGが2人、Aが1人であった。515人のうち469人にBEDアッセイを行ったところ、150人が約半年以内の感染と判定された。今後も調査を継続する必要があると考えられた。

A. 研究目的

全国的な薬剤耐性HIV-1の動態把握のため、国立国際医療センターACCで新規に診断されたHIV-1感染者のサブタイプおよび薬剤耐性変異を調べる。また、BEDアッセイを行い、感染時期を推定する。

B. 研究方法

新規に診断されたHIV-1感染者の血漿からRNAを抽出し、HIV-1の逆転写酵素遺伝子領域とプロテアーゼ遺伝子領域をRT-PCRとnested-PCRにて増幅し、シーケンスを解析する。また、血漿中の、全IgGのうち、HIV-1 gp41に特異的なIgGの割合をBEDアッセイにより測定する。

(倫理面への配慮)

研究に参加していただいた患者様からは、すべて文書による同意を得ている。拒否は自由であり、拒否することで、診療面での不利益は生じない。説明文書・同意文書は国立国際医療センターにおける倫理委員会で承認されている(IMCJ-H13-80)。

C. 研究結果

515人のHIV-1感染者が新規に診断された。この515人に対してHIV-1の遺伝子検査による薬剤耐性

検査を施行したところ、31人(6.0%)の患者に主要な薬剤耐性変異が認められた。逆転写酵素のK103Nが2人、V108Iが3人、T215Xが13人、プロテアーゼ領域のD30Nが1人、M46Lが12人、であった。サブタイプは、Bが464人、AEが33人、AGが3人、Cが7人、Gが5人、AGが2人、Aが1人であった。515人のうち469人にBEDアッセイを行ったところ、150人(32.0%)が約半年以内の感染と判定された。BEDアッセイによるこの判定率は、平成19年から21年で、29.2%、33.5%、34.0%と徐々に上昇しており、今後も調査を継続する必要があると考えられた。

D. 考察

主要な耐性変異を持つ患者の割合は、この3年間でほぼ横ばいである。BEDアッセイによる新規感染者の割合は、年々増加傾向にあり、感染早期に診断される例が増えてきているといえる。

E. 結論

耐性HIV-1の動態を把握するため、今後も新規診断症例の薬剤耐性検査を継続する必要があると考えられる。BEDアッセイによる感染時期の推定についても、経時変化を調べるため、継続が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

- Honda M, Yogi A, Ishizuka N, Gatana H, Teruya K, Tachikawa N, Kikuchi Y, Oka S. Effectiveness of subcutaneous growth hormone in HIV-1 patients with moderate to severe facial lipoatrophy. *Intern. Med.* 46: 359-362, 2007.
- Yamanaka H, Gatana H, Kosalaraksa P, Matsuoka-Aizawa S, Takahashi T, Kimura S, Oka S. Novel mutation of human DNA polymerase gamma associated with mitochondrial toxicity induced by anti-HIV treatment. *J. Infect. Dis.* 195: 1419-1425, 2007.
- Fujisaki S, Fujisaki S, Ibe S, Asagi T, Itoh T, Yoshida S, Koike T, Oie M, Konda M, Sadamasu K, Nagashima M, Gatana H, Matsuda M, Ueda M, Masakane A, Hata M, Mizogami Y, Mori H, Minami R, Okada K, Watanabe K, Shirasaka T, Oka S, Sugiura W, Kaneda T. Performance and quality assurance of genotypic drug-resistance testing for human immunodeficiency virus type 1 in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* 60: 113-117, 2007.
- Gatana H, Hayashida T, Tsuchiya K, Yoshino M, Kuwahara T, Tsukada H, Fujimoto K, Sato I, Ueda M, Horiba 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. Dis.* 45: 1230-1237, 2007.
- Hachiya A, Kodama E, Sarafianos SG, Schuckmann MM, Sakagami Y, Matsuoka M, Takiguchi M, Gatana H, Oka S. Amino acid mutation N348I in the connection subdomain of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase confers multiclass resistance to nucleoside and non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *J. Virol.* 82: 3261-3270, 2008.
- Hayashida T, Gatana H, Tanuma J, Oka S. Effects of low HIV-1 load and antiretroviral treatment on IgG -captured BED-enzyme immunoassay. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 24: 495-498, 2008.
- Gatana H, Honda H, Oka S. Pharmacogenetic information derived from analysis of HLA alleles. *Pharmacogenetics* 9: 207-214, 2008.
- Tanuma J, Fujiwara M, Teruya K, Matusoka S, Yamanaka H, Gatana H, Tachikawa N, Kikuchi Y, Takiguchi M, Oka S. HLA-A*2404-restricted HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes and escape mutation after AER with structured treatment interruptions. *Microbes Infect.* 10: 689-698, 2008.
- Kawashima Y, Pfafferoth K, Frater J, Matthews P, Payne R, Addo M, Gatana H, Fujiwara M, Hachiya A, Koizumi H, Kuse N, Oka S, Duda A, Prendergast A, Crawford H, Leslie A, Brumme Z, Brumme C, Allen T, Brander C, Kaslow R, Tang J, Hunter E, Allen S, Mulenga J, Branch S, Roach T, John M, Mallal S, Ogwu A, Shapiro R, Prado JG, Fidler S, Weber J, Pybus OG, Klenerman P, Ndung'u T, Phillips R, Heckerman D, Harrigan PR, Walker BD, Takiguchi M, Goulder P. Adaptation of HIV-1 to human leukocyte antigen class I. *Nature* 458: 641-645, 2009.
- Hachiya A, Shimane K, Sarafianos SG, Kodama EN, Sakagami Y, Negishi F, Koizumi H, Gatana H, Matsuoka M, Takiguchi M, Oka S. Clinical relevance of substitutions in the connection subdomain and RNase H domain of HIV-1 reverse transcriptase from a cohort of antiretroviral treatment-naïve patients. *Antiviral Research* 82: 115-121, 2009.
- Davaalkham J, Unenchimeg P, Baigalmaa Ch, Oyunbileg B, Tsuchiya K, Hachiya A, Gatana H, Nyamkhuu D, Oka S. High-risk status of HIV-1 infection in the very low epidemic country, Mongolia, 2007. *International Journal of STD and AIDS* 20: 391-394, 2009.
- Honda H, Gatana H, Matsumura J, Kamimura M, Goto K, Tsukada K, Honda M, Teruya K, Kikuchi Y, Oka S. Favorable use of non-boosted fosamprenavir in patients treated with warfarin. *International Journal of STD and AIDS* 20: 441, 2009.
- Watanabe T, Yasuoka A, Honda H, Tanuma J, Yazaki H, Tsukada K, Honda M, Teruya K, Gatana H, Kikuchi Y, Oka S. Serum (1→3) β-D-glucan as a non-invasive useful adjunctive diagnostic marker for Pneumocystis pneumonia in patients with human immunodeficiency virus. *Clinical Infectious Diseases* 49: 1128-1131, 2009.
- Tsukada K, Teruya K, Tasato D, Gatana H, Kikuchi Y, Oka S. Raltegravir-associated perihepatitis and peritonitis: a single case report. *AIDS* 24: 160-161, 2010.
- Watanabe K, Honda M, Watanabe T, Tsukada K, Teruya K, Kikuchi Y, Oka S, Gatana H.

Emergence of raltegravir-resistant HIV-1 in the central nervous system. *International Journal of STD & AIDS* (in press)

2. 学会発表

- 1) 湯永博之、矢崎博久、田沼順子、本田美和子、源河いくみ、立川夏夫、菊池嘉、岡慎一、木村哲. 過去5年間に新規に診断された未治療HIV-1感染者のHIV-1サブタイプと薬剤耐性変異 日本内科学会総会 2007年4月
- 2) 渡辺珠代、安岡彰、阿部泰尚、神村麻穂子、渡辺恒二、矢崎博久、田沼順子、塚田訓久、本田美和子、源河いくみ、湯永博之、照屋勝治、立川夏夫、菊池嘉、岡慎一. HIV合併ニューモシスチス肺炎における β -D-glucan値の臨床的意義に関する検討 日本感染症学会総会 2007年4月
- 3) 阿部泰尚、本田元人、渡辺珠代、神村麻穂子、渡辺恒二、矢崎博久、塚田訓久、本田美和子、源河いくみ、湯永博之、立川夏夫、照屋勝治、菊池嘉、片野晴隆、岡慎一. HIVに合併したMulticentric Castleman Disease (MCD) 3例 日本感染症学会総会 2007年4月
- 4) 湯永博之、田沼順子、矢崎博久、本田美和子、源河いくみ、照屋勝治、立川夏夫、菊池嘉、白阪琢磨、木村哲、岡慎一. 日本人とザンビア人におけるcytochrome P450 2B6の遺伝子型と抗HIV-1薬efavirenzの血中濃度の比較、およびその減量投与 日本感染症学会総会 2007年4月
- 5) 立川夏夫、柳沢邦雄、後藤耕司、神村麻穂子、渡辺珠代、渡辺恒二、本田元人、矢崎博久、田沼順子、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、菊池嘉、仲村秀太、塚田訓久、岡慎一. AIDSリンパ腫(diffuse large B-cell lymphoma) 18例の臨床的特徴の検討 日本エイズ学会総会 2007年12月
- 6) 渡辺珠代、安岡彰、後藤耕司、柳沢邦雄、仲村秀太、神村麻穂子、渡辺恒二、本田元人、塚田訓久、矢崎博久、田沼順子、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、立川夏夫、菊池嘉、岡慎一. 当院におけるHAART時代のHIV日和見合併症の動向 日本エイズ学会総会 2007年12月
- 7) 神村麻穂子、後藤耕司、柳沢邦雄、仲村秀太、渡辺珠代、本田元人、塚田訓久、田沼順子、矢崎博久、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、立川夏夫、菊池嘉、岡慎一. 抗HIV療法Naïve患者124例におけるAtazanavirの治療成績 日本エイズ学会総会 2007年12月
- 8) 矢崎博久、後藤耕司、仲村秀太、柳沢邦雄、神村麻穂子、渡辺恒二、渡辺珠代、本田元人、田沼順子、塚田訓久、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、立川夏夫、菊池嘉、岡慎一. 当院での初回療法で使用された抗HIV薬の変遷とFPV投与者の経過について 日本エイズ学会総会 2007年12月
- 9) 林田庸総、湯永博之、菊池嘉、岡慎一. Efavirenzの血中濃度に関わるcytochrome P450 2B6の遺伝子多型についての解析 日本エイズ学会総会 2007年12月
- 10) 仲村秀太、後藤耕司、柳沢邦雄、渡辺珠代、神村麻穂子、渡辺恒二、本田元人、矢崎博久、田沼順子、塚田訓久、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、立川夏夫、菊池嘉、岡慎一. 当センターにおける急性HIV感染症96例の臨床検討 日本エイズ学会総会 2007年12月
- 11) 本田美和子、仲村秀太、後藤耕司、柳沢邦雄、渡辺恒二、神村麻穂子、渡辺珠代、本田元人、塚田訓久、田沼順子、矢崎博久、湯永博之、照屋勝治、立川夏夫、菊池嘉、岡慎一. 高齢HIV感染者に高率に起こったlopinavir/ritonavirとの関連を疑う不整脈の検討 日本エイズ学会総会 2007年12月
- 12) 本田元人、後藤耕司、仲村秀太、柳沢邦雄、神村麻穂子、渡辺珠代、塚田訓久、矢崎博久、田沼順子、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、立川夏夫、菊池嘉、岡慎一. 日本人HIV患者におけるabacavir関連Hypersensitivity Reactionsの発現頻度 日本エイズ学会総会 2007年12月
- 13) 蜂谷敦子、児玉栄一、湯永博之、松岡雅雄、滝口雅文、岡慎一. 核酸系(NRTI)および非核酸系逆転写酵素阻害剤(NNRTI)に対する多剤耐性変異N348Iについて ~その1/基礎的検討 日本エイズ学会総会 2007年12月
- 14) 蜂谷敦子、児玉栄一、湯永博之、松岡雅雄、滝口雅文、岡慎一. 核酸系(NRTI)および非核酸系逆転写酵素阻害剤(NNRTI)に対する多剤耐性変異N348Iについて ~その2/臨床解析 日本エイズ学会総会 2007年12月
- 15) 田沼順子、齊藤可奈、後藤耕司、柳沢邦雄、仲村秀太、渡辺恒二、神村麻穂子、渡辺珠代、本田元人、矢崎博久、塚田訓久、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、立川夏夫、菊池嘉、岡慎一. 初回治療としてTDF/3TCを含む抗レトロウイルス療法を実施したHBe抗原陽性HIV患者の臨床経過 日本エイズ学会総会 2007年12月
- 16) 塚田訓久、立川夏夫、渡辺珠代、神村麻穂子、

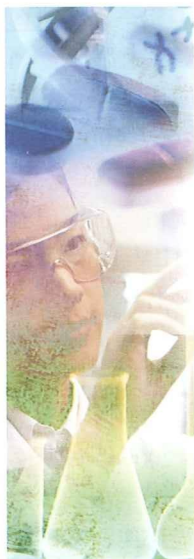
- 渡辺恒二、後藤耕司、齊藤可奈、仲村秀太、柳沢邦雄、本田元人、田沼順子、矢崎博久、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、菊池嘉、岡慎一。新規抗HIV薬の使用経験 日本エイズ学会総会 2007年12月
- 17) 杉浦互、湯永博之、吉田繁、千葉仁志、小池隆夫、伊藤俊広、原孝、佐藤武幸、石ヶ坪良明、上田敦久、近藤真規子、今井光信、貞升健志、長島真美、福武勝幸、山元泰之、田中理恵、加藤信吾、宮崎菜穂子、岩本愛吉、藤野真之、仲宗根正、巽正志、椎野慎一郎、岡慎一、林田庸総、服部純子、浅黄司、伊部史朗、藤崎誠一郎、金田次弘、浜口元洋、上田幹夫、正兼亜季、大家正義、下条文武、田邊嘉也、渡邊香奈子、白阪琢磨、栗原 健、森治代、小島洋子、中桐逸博、高田昇、木村昭郎、南留美、山本政弘、松下修三、健山正男、藤田次郎。2003-2006年の新規HIV-1感染者における薬剤耐性頻度の動向 日本エイズ学会総会 2007年12月
- 18) 照屋勝治、田沼順子、仲村秀太、後藤耕司、柳沢邦雄、神村麻穂子、渡辺恒二、渡辺珠代、本田元人、塚田訓久、矢崎博久、本田美和子、湯永博之、立川夏夫、菊池嘉、岡慎一。HAART時代の日和見感染症－残された課題－非定型抗酸菌症 日本エイズ学会総会 2007年12月
- 19) 湯永博之。シンポジウム「HIV感染症治療の最前線」進化した抗HIV療法と残された問題 日本感染症学会総会 2008年4月
- 20) 林田庸総、湯永博之、田沼順子、本田元人、後藤耕司、菊池嘉、岡慎一。HIV-1感染者におけるBEDアッセイに対するウイルス量と抗HIV-1治療の影響 日本感染症学会総会 2008年4月
- 21) 田沼順子、大金美和、矢崎博久、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、立川夏夫、菊池嘉、岡慎一、瓜生英子、山中純子、国方徹也、宮澤廣文、松下竹次、源河いくみ。当院におけるHIV合併妊娠に対する抗レトロウイルス療法 日本感染症学会総会 2008年4月
- 22) 柳沢邦雄、本田元人、湯永博之、仲村秀太、後藤耕司、渡辺恒二、神村麻穂子、渡辺珠代、塚田訓久、田沼順子、矢崎博久、本田美和子、照屋勝治、立川夏夫、菊池嘉、岡慎一。Fluconazole (FLCZ)とMiconazole (MCFG)の併用療法が有効と考えられたHIV感染者における*Candida albicans*脊椎炎の一例 日本感染症学会総会 2008年4月
- 23) 周東翔、原口日和、湯永博之、森川裕子。非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤エファビレンツによるHIV粒子形成阻害機構 日本ウイルス学会 2008年10月
- 24) 中村春香、渡辺恒二、塚田訓久、矢崎博久、田沼順子、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、菊池嘉、岡慎一。糞線虫症をきたしイベルメクチン内服が奏功したHIV感染タイ人女性の1例 日本感染症学会東日本地方学術集会 2008年10月
- 25) 青木孝弘、塚田訓久、渡辺珠代、本田美和子、照屋勝治、湯永博之、菊池嘉、岡慎一。HAART開始時よりステロイド併用しPMLの免疫再構築に備えた1例 日本感染症学会東日本地方学術集会 2008年10月
- 26) 湯永博之。新規標的に対する抗ウイルス薬の臨床的意義－日常臨床への新薬導入－我が国における新薬導入の課題 日本エイズ学会総会 2008年11月
- 27) 湯永博之。抗HIV薬治療の変遷とPIの位置づけ 日本エイズ学会総会 2008年11月
- 28) 今村顕史、湯永博之、花房秀次、日笠聡。HIV感染症「治療の手引き 第12版」エキスパートに聞く～処方に対する考え方 日本エイズ学会総会 2008年11月
- 29) 今村顕史、小田原隆、湯永博之、小島賢一、村松崇、榎谷法生、中田たか志。現在のHIV診療が抱える他科連携の問題点を総括する 日本エイズ学会総会 2008年11月
- 30) 本田元人、湯永博之、西島健、青木孝弘、中村春香、田里大輔、柳沢邦雄、渡辺恒二、神村麻穂子、渡辺珠代、塚田訓久、矢崎博久、田沼順子、本田美和子、照屋勝治、菊池嘉、岡慎一。Warfarinと抗HIV薬併用症例の検討 日本エイズ学会総会 2008年11月
- 31) 田里大輔、中村春香、西島健、青木孝弘、柳沢邦雄、神村麻穂子、渡辺恒二、渡辺珠代、本田元人、塚田訓久、矢崎博久、田沼順子、本田美和子、照屋勝治、湯永博之、菊池嘉、岡慎一。当センターで経験したHAART時代のAIDS関連カポジ肉腫90例の検討 日本エイズ学会総会 2008年11月
- 32) 渡辺珠代、安岡彰、中村春香、青木孝弘、西島健、田里大輔、神村麻穂子、渡辺恒二、本田元人、矢崎博久、田沼順子、塚田訓久、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、菊池嘉、岡慎一。当院におけるHAART時代の日和見感染症の動向 日本エイズ学会総会 2008年11月
- 33) 蜂谷敦子、嶋根和毅、児玉栄一、小泉寛和、湯永博之、松岡雅雄、滝口雅文、岡慎一。逆転写

- 酵素connectionとRNase H subdomainの多様性と薬剤感受性に及ぼす影響 日本エイズ学会総会 2008年11月
- 34) 神村麻穂子、中村春香、西島健、青木孝弘、田里大輔、渡辺恒二、渡辺珠代、本田元人、矢崎博久、塚田訓久、田沼順子、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、菊池嘉、岡慎一. HBs抗原陽性HIV患者に導入したTDF/3TC(FTC)を含む抗HIV療法の効果 日本エイズ学会総会 2008年11月
- 35) 高橋佳子、池田和子、島田恵、今井公文、湯永博之、岡慎一. HIV感染症患者における非就労の背景要因に関する研究 日本エイズ学会総会 2008年11月
- 36) 八鍬類子、杉野祐子、島田恵、荒井理那、伊藤紅、石垣今日子、山田由紀、武田謙治、大金美和、池田和子、遠藤貴子、西垣昌和、数間恵子、湯永博之、岡慎一. HIV/AIDS患者の脂質代謝コントロールのための健康行動支援の検討 日本エイズ学会総会 2008年11月
- 37) 塚田訓久、青木孝弘、田里大輔、中村春香、西島健、神村麻穂子、柳沢邦雄、渡辺恒二、渡辺珠代、田沼順子、本田元人、矢崎博久、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、立川夏夫、菊池嘉、岡慎一. 新規抗HIV薬の使用経験と有害事象 日本エイズ学会総会 2008年11月
- 38) 渡辺恒二、中村春香、青木孝弘、西島健、田里大輔、柳沢邦雄、神村麻穂子、渡辺珠代、本田元人、塚田訓久、田沼順子、矢崎博久、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、菊池嘉、岡慎一. 当院におけるアタザナビル使用473症例の検討 日本エイズ学会総会 2008年11月
- 39) 矢崎博久、中村春香、青木孝弘、西島健、田里大輔、柳沢邦雄、神村麻穂子、渡辺恒二、渡辺珠代、本田元人、田沼順子、塚田訓久、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、菊池嘉、岡慎一. 当院での新規抗HIV薬の変遷とFPV投与者の経過について(続報) 日本エイズ学会総会 2008年11月
- 40) 照屋勝治、西島健、中村春香、田里大輔、青木孝弘、渡辺恒二、柳沢邦雄、神村麻穂子、渡辺珠代、塚田訓久、本田元人、矢崎博久、田沼順子、本田美和子、湯永博之、菊池嘉、岡慎一. HIV合併結核における抗結核薬の有害事象についての検討 日本エイズ学会総会 2008年11月
- 41) 林田庸総、湯永博之、菊池嘉、岡慎一. 当センターにおけるBEDアッセイを用いた2003年と2007年以降の新規患者の解析 日本エイズ学会総会 2008年11月
- 42) 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、渡邊香奈子、渡邊大、白阪琢磨、栗原健、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 日本エイズ学会総会 2008年11月
- 43) 湯永博之. HIV感染症におけるtailor-made治療はどこまでできたか? 日本感染症学会総会 2009年4月
- 44) 井田節子、渡邊珠代、湯永博之、岡慎一. CTLからの逃避と病状の進行-感染から20年を経て急激に病状が進行した患者の解析- 日本感染症学会総会 2009年4月
- 45) 渡辺恒二、照屋勝治、本田美和子、湯永博之、菊池嘉、岡慎一. BCGワクチン皮内誤接種により形成された皮膚潰瘍を抗結核薬とステロイド全身投与により治療した1例 日本感染症学会総会 2009年4月
- 46) 田里大輔、矢崎博久、本田美和子、照屋勝治、湯永博之、菊池嘉、岡慎一. 多彩な皮膚症状が繰り返し出現した急性HIV感染症の1例 日本感染症学会総会 2009年4月
- 47) 湯永博之. HIV/AIDS治療からみた、疾病のコントロール 日本エイズ学会 2009年11月
- 48) 湯永博之. インテグラーゼ阻害薬(raltegravir)の臨床現場における実際と今後の問題 日本エイズ学会 2009年11月
- 49) 湯永博之. Darunavirを中心とした新規薬剤の使用経験 日本エイズ学会 2009年11月
- 50) 服部純子、湯永博之、吉田繁、千葉仁志、小池隆夫、佐々木悟、伊藤俊広、内田和江、原孝、佐藤武幸、上田敦久、石ヶ坪良明、近藤真規子、今井光信、長島真美、貞升健志、古賀一郎、太田康男、山元泰之、福武勝幸、田中理恵、加藤真吾、宮崎菜穂子、藤井毅、岩本愛吉、西澤雅子、仲宗根正、巽正志、椎野禎一郎、林田庸総、岡慎一、伊部史朗、藤崎誠一郎、金田次弘、横幕能行、濱口元洋、上田幹夫、大家正義、田邊

- 嘉也、渡辺香奈子、渡辺大、矢倉裕輝、白阪琢磨、栗原健、小島洋子、森治代、中桐逸博、高田昇、木村昭郎、南留美、山本政弘、松下修三、藤田次郎、健山正男、堀成美、杉浦互。2003-2008年の新規HIV/AIDS診断症例における薬剤耐性頻度の動向 日本エイズ学会 2009年11月
- 51) Davaalkham Jagdagsuren、土屋亮人、湯永博之、岡慎一。Two clusters of HIV-1 subtype B infection in Mongolia 日本エイズ学会 2009年11月
- 52) 塚田訓久、照屋勝治、水島大輔、中村春香、青木孝弘、西島健、柳沢邦雄、渡辺恒二、渡邊珠代、本田元人、田沼順子、矢崎博久、本田美和子、湯永博之、菊池嘉、岡慎一。Raltegravirを含む多剤併用療法の効果と有害事象 日本エイズ学会 2009年11月
- 53) 渡邊珠代、安岡彰、水島大輔、中村春香、西島健、青木孝弘、柳沢邦雄、渡辺恒二、本田元人、矢崎博久、田沼順子、塚田訓久、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、菊池嘉、岡慎一。当院におけるHAART時代のHIV日和見合併症の動向 日本エイズ学会 2009年11月
- 54) 青木孝弘、西島健、中村春香、柳沢邦雄、渡辺恒二、水島大輔、渡邊珠代、本田元人、塚田訓久、矢崎博久、田沼順子、本田美和子、照屋勝治、湯永博之、菊池嘉、岡慎一。ニューモシスチス肺炎108例の治療の検討 日本エイズ学会 2009年11月
- 55) 照屋勝治、水島大輔、西島健、中村春香、青木孝弘、渡辺恒二、柳沢邦雄、渡邊珠代、塚田訓久、本田元人、矢崎博久、田沼順子、本田美和子、湯永博之、菊池嘉、岡慎一。当科におけるHIV合併ノカルジア症の臨床的検討 日本エイズ学会 2009年11月
- 56) 本田美和子、水島大輔、中村春香、西島健、青木孝弘、柳沢邦雄、渡辺恒二、渡邊珠代、本田元人、塚田訓久、田沼順子、矢崎博久、湯永博之、照屋勝治、菊池嘉、岡慎一。当院における女性HIV感染者の傾向とその背景についての報告 日本エイズ学会 2009年11月
- 57) 田沼順子、水島大輔、中村春香、青木孝弘、西島健、柳沢邦雄、渡辺恒二、渡邊珠代、本田元人、塚田訓久、矢崎博久、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、菊池嘉、岡慎一。HBe抗原陽性HIV感染者に対するHAARTの抗HBV効果について 日本エイズ学会 2009年11月
- 58) 渡辺恒二、水島大輔、中村春香、青木孝弘、西島健、柳沢邦雄、渡邊珠代、本田元人、塚田訓久、田沼順子、矢崎博久、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、平林義弘、菊池嘉、岡慎一。当院で経験した赤痢アメーバ症の臨床症状と治療についての検討 日本エイズ学会 2009年11月
- 59) 村越勇人、湯永博之、小柳円、岡慎一、滝口雅文。慢性HIV-1感染者におけるHIV-1 pol特異的CD8T細胞によるHIV-1のコントロール 日本エイズ学会 2009年11月
- 60) 久世望、川島夕佳、湯永博之、岡慎一、滝口雅文。HLA-B*5101拘束性CTLによるHIV-1逃避変異体の選択 日本エイズ学会 2009年11月
- 61) 矢崎博久、水島大輔、中村春香、青木孝弘、西島健、柳沢邦雄、渡辺恒二、渡邊珠代、本田元人、田沼順子、塚田訓久、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、菊池嘉、岡慎一。当院での初回治療で使用された抗HIV薬の変遷とDRV投与者の経過について 日本エイズ学会 2009年11月
- 62) 本田元人、水島大輔、中村春香、青木孝弘、西島健、柳沢邦雄、渡辺恒二、渡邊珠代、塚田訓久、矢崎博久、田沼順子、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、菊池嘉、岡慎一。HIV感染者における高血圧症 日本エイズ学会 2009年11月
- 63) 小澤あかね、池田和子、島田恵、大金美和、武田謙治、山田由紀、石垣今日子、八楯類子、伊藤紅、徐廷美、三枝政行、芳田玲子、湯永博之、菊池嘉、岡慎一。HIV/AIDS患者の治療を支える医療保障制度の活用及び自立支援に向けての実態調査 日本エイズ学会 2009年11月
- 64) 柳沢邦雄、田沼順子、水島大輔、中村春香、青木孝弘、西島健、渡辺恒二、渡邊珠代、本田元人、矢崎博久、塚田訓久、本田美和子、照屋勝治、湯永博之、菊池嘉、岡慎一、萩原將太郎。当科で経験したAIDS関連悪性リンパ腫56例における神経系病変の検討 日本エイズ学会 2009年11月
- 65) 西島健、水島大輔、中村春香、青木孝弘、柳沢邦雄、渡辺恒二、渡邊珠代、本田元人、矢崎博久、田沼順子、塚田訓久、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、菊池嘉、岡慎一。日本人患者におけるTenofovir disoproxil fumarateによる腎機能障害 日本エイズ学会 2009年11月

H. 知的財産権の取得状況

なし。



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の検討～

研究分担者 **福武 勝幸** 東京医科大学主任教授 臨床検査医学講座
 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

HIV-1感染症の治療のモニタリングと耐性ウイルスの検出においてHIV-1 RNAの測定は必須である。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おり、治療のモニタリング特に耐性ウイルスの早期発見に大きな障害となった。この現象の状況を確認し、改善のための対策を構築し、耐性ウイルスの検出が円滑に進むよう検討した。従来法(アンプリコア法)とリアルタイムPCR法の比較のために同時採血した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、リアルタイムPCR法ではその47%が50コピー以上を呈した。また、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倍の高値を示した。この原因として採血管の分離剤の上に沈殿した血球成分の再浮遊が原因と考えられたため、日常臨床検体として分離剤入り採血管で採取された血漿検体を院内で通常の遠心処理後、そのまま冷蔵で輸送し、測定前に再度1200gで20分間遠心分離を行い、専用チューブに分注して測定(以下、改良日常法)して測定値の変化を検討した。アンプリコア法で過去5回連続50コピー/mL未満を示していた150症例について、改良日常法を実施した結果は95%以上が50コピー/mL未満を示し、改良日常法で50コピー/mL以上を示した9例のうち、高値の3例は治療中断例または服薬不良例で、他は非常に低値であり、改良日常法は従来法と良好な一致性を示した。今回の検討で分離剤入り採血管で輸送された検体の処理法に問題があったことが判明した。この結果、一部の患者に無用の不安を与えたり、不適切な薬剤変更へ誘導するなどの重大な事態を招く危険性を生じた。分離剤入り採血管で輸送された検体は、検査前に再度遠心分離を行うなどの手順改善措置が必要であり、改良日常法は有用な方法の一つと考えられた。

A. 研究方法 (倫理面の配慮)

(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)コバスTaqMan HIV-1「オート」(ロシユ・ダイアグノスティックス株)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-1 RNA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法へ変更後のHIV-1 RNA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。

(3) 検体の調整方法の改善

通常、医療施設からの検体は分離剤入り採血管中に保存し凍結状態で搬送されるので、解凍して一旦室温状態に戻した後、解凍後の血清中の濃度勾配をなくするため数回転倒混和による攪拌し、その後キャップの裏側や容器の側面に付着した付着物を除くため1分間程度の遠心操作を行い、専用チューブに分注して測定している。我々は診断薬製造会社との検討において、分離剤の上に沈殿した血球成分の再浮遊が原因と考えられたため、日常臨床検体として分離剤入り採血管で採取された血漿検体を院内で1200gで20分間遠心し血漿分離を行い、遠心後、そのまま冷蔵で輸送し、測定前に再度1200gで20分間遠心分離を行い、専用チューブに分注して測定（以下、改良日常法）することにした。分離剤入り採血管としては8mL EDTA-2K血漿採血管（積水メディカル社製）を使用した。

(4) 改良日常法による実検体の検討

過去の外注データから、従来法であるコバスアンプリコアHIV-1モニターv1.5で過去5回連続50コピー/mL未満を示していた150症例について、TaqMan法に切替えて以後の測定結果を過去データから調査し比較検討した。SRLによって従来の通常の手順に従い測定された過去3回の血清検体測定結果および過去2回の血漿検体測定結果および改良日常法により測定した結果を調査した。

(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. 結果

平成19年度

HIV-1感染症の治療として行われる多剤併用抗レトロウイルス治療の効果のモニタリングとして、また耐性ウイルス発現の早期発見を目的としてHIV-1 RNA測定は最も重要な臨床検査である。我々はこれまでアンプリコア法により患者血液中のHIV-1 RNAを測定し、治療によるHIV-1 RNA 否抑制例について耐性検査を行い治療に反映させてきた。一方、2007年に入り、わが国でも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、高感度に広い測定範囲をカバーする方法として変更が進んだ。しかし、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るようになった。当該年度においては、この現象の実態を把握するため東京医科大学病院臨床検査医学科外来へ通院している約1500名のHIV-1感染者の診療を通じて、治療効果の判定や耐性ウイルスの早期診断において障害になることを推定し、この原因を究明し、改善策を検討するための研究計画を作成した。

平成20年度

(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%という内訳であった(Fig.1)。

また、同時に採血した検体の測定結果を相関図

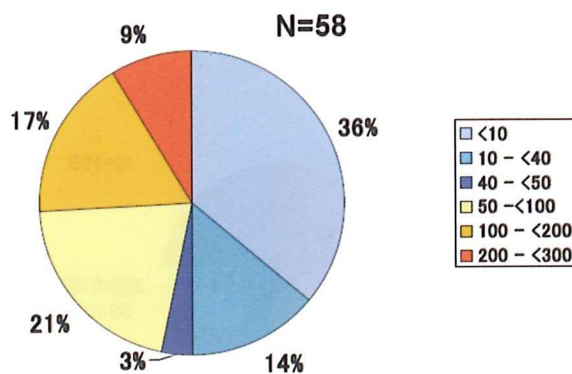


Fig.1 同時測定でアンプリコア(高感度)法50コピー/mL未満を示した症例のTaqManの測定結果(コピー/mL)

(Fig.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。

(2)リアルタイムPCR法に変更後のHIV-1 RNA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-1 RNA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(Fig.3)。

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。(Fig.4)

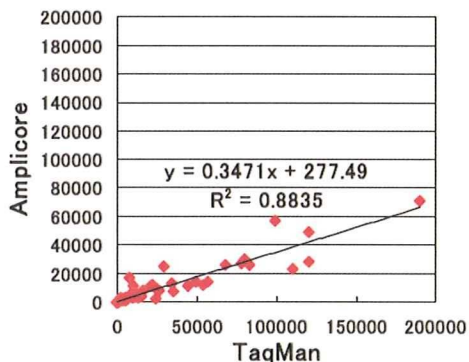


Fig.2 HIV-1 RNA アンプリコア法とリアルタイムPCR法の同時採血検体の測定結果

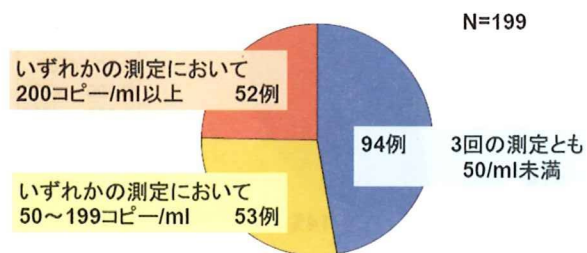


Fig.3 リアルタイムPCR法に変更後3回の測定でのHIV-1 RNA量

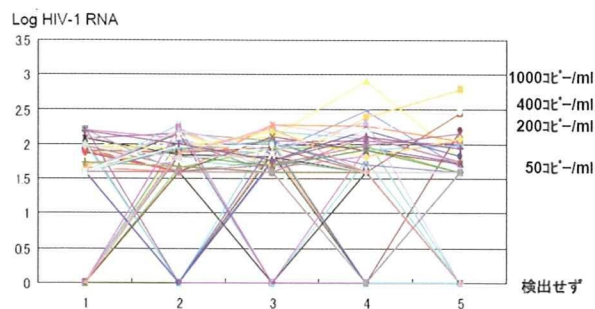


Fig.4 リアルタイムPCR法に変更後、3回の測定中いずれかのポイントにおいて50～199コピー以上/mlを呈した症例におけるHIV-1 RNA量の経時変化

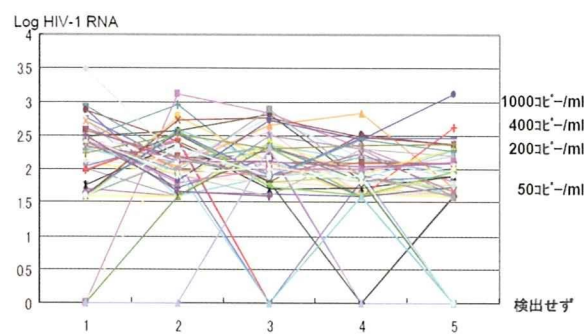


Fig.5 リアルタイムPCR法に変更後、3回の測定中、いずれかのポイントにおいて200コピー以上/mlを呈した症例におけるHIV-1 RNA量の経時変化

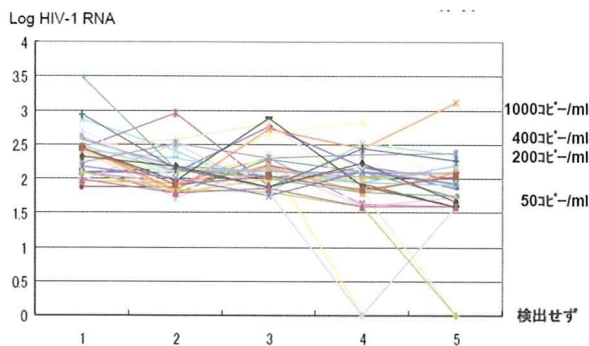


Fig.6 リアルタイムPCR法に変更後3回の測定が継続的に常に50コピー以上/mlを呈した症例におけるHIV-1 RNA量の経時変化

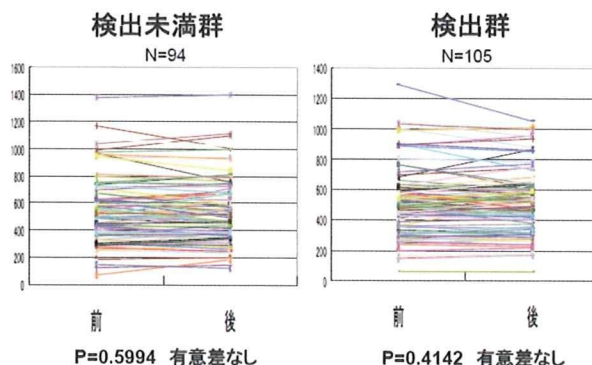


Fig.7 検査法変更前後のCD4 平均の変化

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変化
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。

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量の経時間的変化

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。

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。

平成21年度

アンプリコア法で過去5回連続50コピー/mL未満を示していた150症例について、TaqMan法への変更後、通常の手順で処理された過去3回の血清検体測定結果（S1、S2、S3）および過去2回の血漿検体測定結果（P1、P2）について調査した結果と測定前に20分間の再遠心（改良日常法）を実施してから測定した結果をfig.8に示す。血清検体の約40～60%が40コピー/mLから最大900コピー/mLまで分布し、血漿検体の約65～75%が40コピー/mLから最大1500コピー/mLまで分布していた。一方、改良日常法で測定した結果は95%以上が50コピー/mL未満を

示した。

また、改良日常法で50コピー/mL以上を示した9例のうち、高値の3例は治療中断例または服薬不良例で、他は非常に低値であった（table 1）。

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。しかし、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く、この現象が患者の病態の悪化を意味するものではないと考えられた。また、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ず、患者の病態との関連はないものと推定された。この検討を行った、平成19年から20年においてはリアルタイム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、予想外の高値を示すことがあり、再現性もあまり良くない事を念頭に置いて診療に対応する必要があることを周知する必要があり、早急に改善へ向けての検討が必要であると考えられた。

その後の製造会社との共同検討により、TaqMan法における測定値の乖離は、検体を分離剤入り採血管中に保存したまま輸送し測定した場合に高頻度で発生していることが確認された。また、血漿分離後二次チューブへ検体を移し輸送した場合には乖離は

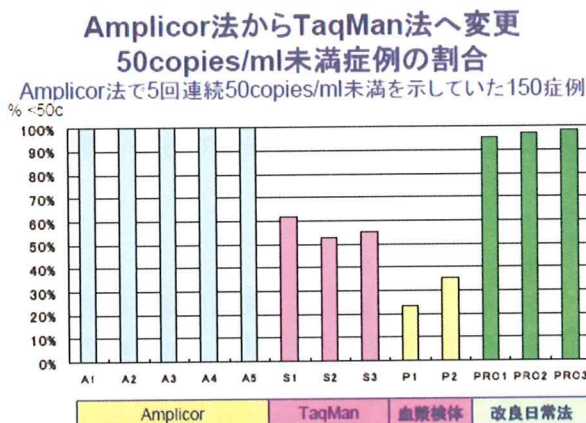


Fig.8 改良日常法へ変更前後の測定結果

症例	1	2	3	服薬状況
1	N.D.	130000	440000	中断
2	46	480	N.D.	問題なし
3	32000	21000	120	中断・再開
4	61	N.D.	-	問題なし
5	130	N.D.	N.D.	問題なし
6	64	40	40	問題なし
7	71	40	40	問題なし
8	8600	68	N.D.	服薬不良
9	61	N.D.	N.D.	問題なし

N.D.: Not Detected

Table 1 改良日常法で50コピー/mlとなった症例の検討

起こらないこと、分離剤入り採血管中に保存したまま輸送した場合でも、測定前に再遠心を行うとほぼ回避できるということが確認され、2009年の日本エイズ学会において我々が報告した(table 2)。

この検討に用いた検体は、平成21年2月から5月の間に東京医科大学病院へ通院したHAART治療患者の内、過去に低レベルHIV-1 RNA量 (<400コピー/mL) が測定された患者50名からインフォームドコンセントを受けて血漿検体を採取した。一被験者から、分離剤なしEDTA-2K血漿採血管(以下、「分離剤なし採血管」と記す)2本、分離剤入りEDTA-2K血漿採血管(以下、「分離剤入り採血管」と記す)2本を採血し、それぞれ1200gで20分間遠心、血漿分離を行い次の1から7の試料を作成した。分離剤なし採血管としては6mL EDTA-2K血漿採血管(BD社製)、分離剤入り採血管としては8mL EDTA-2K血漿採血管(積水メディカル社製)を使用した。

- ①. 分離剤なし採血管で採取された血漿全量をプロピレン製滅菌管(以下、「PP管」)に分注し、冷蔵保存状態で輸送(コントロール群)
- ②. 分離剤なし採血管で採取された血漿全量をPP管に分注、凍結保存状態で輸送(検体群1)
- ③. 分離剤入り採血管で採取された血漿1.2mLをPP管に分注、冷蔵状態で輸送(検体群2)
- ④. ③の残検体を採血管ごと冷蔵状態で輸送(検体群3)
- ⑤. 分離剤入り採血管で採取、血漿1.2mLをPP管に分注し凍結状態で輸送(検体群4)
- ⑥. ⑤の残検体を採血管ごと凍結状態で輸送(検体群5)
- ⑦. 日常臨床検体として③と同一の試験管で採血し、院内で遠心後冷蔵で輸送(検体群6)

各検体群における乖離の頻度を table 2 に示すが、各検体群の乖離率は、小分け分注してから輸送した検体群1において0% (0/50)、分離剤入り採血管(P3採血管)のまま輸送した検体群3(冷蔵保存輸送)および5(凍結保存輸送)においてそれぞれ

48% (24/50)、46% (23/50) と半数近くの検体で乖離していた。また、分離剤入り採血管のまま冷蔵保存輸送し、測定前に20分間の再遠心を実施した検体群6においては、乖離の頻度は4% (2/50)であった。

採血後血漿分離したならば二次チューブへ検体を移し輸送する方法は欧米では標準的な方法として行われており、本邦においても全ての医療機関がこの方法で運用できれば問題はないと考えられる。しかし、HIV-1RNAウイルス検体を取扱うことを想定した上で、検体へのコンタミネーション防止および医療者の安全管理上、検体を二次チューブへ移す作業は熟練した技師によりクリーンベンチ内で行うことが望ましいことから、ただちに全ての施設で実施できるとは考えられない。特に、中小病院やクリニックなど検体測定を外注しなければならない施設においては、実運用上困難と考えられる。一方、分離剤入り採血管のまま検査センターへ輸送し、測定前再遠心を行う改良日常法では、採血してから測定されるまで、分離剤入り採血管中に検体が保存されたまま一度も開封されることがないことから、クリニックなどにとってコンタミネーション防止や医療者の安全管理上の問題を解決したシステムと考えられる。これらの状況を踏まえて我々は日常改良法を設定し実際の検体について検討した。この改良日常法の有用性は、従来のアンプリコア法で50コピー/mL未満に安定していた患者150例において50コピー/mL未満を示す検体が95%以上であったこと、50コピー/mL以上を示した9例のうち、高値の3例は治療中断例または服薬不良例で、他は非常に低値であったことから、臨床的に有用な改善方法であることが明らかであると考えられる。

一方、海外においてもPPT(plasma preparation tubes)に関する検討がなされ、分離しきれずに残存しているリンパ球由来のHIV-1RNA量が測り込まれ乖離がおこっているとの報告がある。また、残存リンパ球の影響が測定前の再遠心により回避できたと報告されており、分離剤入り採血管中に保存されたまま検体を検査センターへ輸送し、測定が行われる外注検査の検体処理手順において、測定前再遠心が乖離問題回避の上で有効な方法であると考えられた。

E. 結論

平成19年のTaqMan法導入初期の臨床検討と平成20年度の本研究結果においては、TaqMan法は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

対照検体との3倍超乖離率

N=50

被検体群	分離剤	小分け ^{※1}	輸送・保存条件	測定前手順	3倍超乖離率
対照群 ^{※2}	なし	あり	冷蔵	軽遠心	対照
被検体群 1	なし	あり	凍結	軽遠心	0% (0/50)
被検体群 2	あり	あり	冷蔵	軽遠心	2% (1/50)
被検体群 3	あり	なし	冷蔵	軽遠心	48% (24/50)
被検体群 4	あり	あり	凍結	軽遠心	0% (0/50)
被検体群 5	あり	なし	凍結	軽遠心	46% (23/50)
改良日常法	あり	なし	冷蔵	再遠心分離 ^{※3}	4% (2/50)

測定値が対照群値より3倍を超えて高く測定された場合を乖離とした。
ただし、測定値がN.D.と40未満は25コピー/mLとして計算した。

Table 2 検体調整法別のHIV-1 RNA値乖離率

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。しかし、その後の検討により、測定値の異常変動は分離剤入り採血管で輸送された検体の処理法に問題があったことが判明した。わが国の医療体制の下では、検査センターでの測定は必要である。検査センターでの検査を正確に行うための方策が検討され、この改良日常法による測定値を解析したところ、ほぼ従来法と同じ水準の臨床的評価が可能となることを明らかに出来た。分離剤入り採血管で検査センターへ輸送された検体は、検査前に再度遠心分離を行うなどの手順改善措置を行う改良日常法は有用な方法の一つと考えられた。この一連の経過において、一部の患者に無用の不安を与えたり、不適切な薬剤変更へ誘導するなどの重大な事態を招く危険性も生じていたことは、今後の教訓としなければならない。

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（予定を含む）

なし。



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

2007年から2009年の間にHIV-1感染が判明し医療機関を受診した新規未治療診断症例42例、および当所におけるHIV確認検査で陽性が確認された251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3例(7.1%)および確認検査陽性検体23例(9.2%)において薬剤耐性に関連するアミノ酸変異が検出された。その大部分は、プロテアーゼ領域あるいは逆転写酵素領域に1カ所のmajor mutationを認めるのみであったが、確認検査陽性検体のうちの4例において2カ所以上のmajor mutationを有する中～高度耐性HIV-1が検出された。

A. 研究目的

新規診断症例における薬剤耐性HIV-1の発生動向を把握するための全国規模での疫学調査を実施するにあたり、近畿ブロックとして調査に参加し、大阪府およびその近郊の新規HIV-1診断症例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

2007年1月から2009年12月の間にHIV-1感染が判明し医療機関を受診した新規未治療診断症例42例(治療開始後3ヶ月の1例を含む)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、逆転写酵素(RT)領域およびインテグラーゼ(IN)領域をRT-PCRにより増幅し、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した後、IAS-USAパネルに基づいて薬剤耐性アミノ酸変異の有無を判定した。2007-2009年に当所のHIV確認検査で陽性と判定された検体301例中251例についても同様に薬剤耐性遺伝子検査を実施した。ただし、確認検査陽性検体のIN領域については、2009年の46例のみ検討を行なった。また、env-C2V3領域についてもシーケンス

を実施し、得られた塩基配列をもとにウイルスのサブタイプを決定した。必要な場合にはTAクローニングも行なった。

さらに、感染時期(感染後半年以内 recent/慢性期 long-term)を推定する目的で、Calypte HIV-1 BED Incidence EIA アッセイ(CALYPTE BIOMEDICAL 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審査委員会の承認を受けている。

C. 研究結果

(1) 医療機関受診症例

医療機関受診症例の感染リスクとサブタイプを表1に示した。2007-2009年に調査した42例の感染リスクは、同性間性的接触が32例(日本人男性31例、外国人男性1例)、異性間性的接触が8例(日本人男性4例、外国人男性2例、外国人女性2例)、その他が2例(日本人男性2例)であった。サブタイプはBが

36例、CRF01_AEが4例、Cが2例で、*pol*領域と*env*領域での不一致例は見られなかった。

また、3例(7.1%)において薬剤耐性に関連するmajor mutation (PR:M46I, RT:V108I/T215L)が検出され(表2)、そのうちの1例はBEDアッセイにより感染初期と推定された。その他の症例も、PR領域にはpolymorphismと考えられるminor mutationが多数見られ、8例においてはRT領域に非核酸系RT阻害剤(NNRTIs)の耐性に関連するminor mutationであるV179D(A/E)が検出された。IN領域には薬剤耐性に関連するとされるアミノ酸変異は認められなかった。

(2) 確認検査陽性検体

2007-2009年に当所のHIV確認検査で陽性が判明した301例のうち遺伝子検査が可能であった251例についてサブタイプを調べたところ、Bが233例(92.8%)と大部分を占め、その他のサブタイプとしてはCRF01_AEが11例、Aが2例、Cが4例、Fが1

例であった(表3)。non-Bタイプのうち、CRF01_AE以外のタイプはほとんどが外国人と女性であった。2009年に感染が確認されたCRF01_AEの1例は、混合塩基が多くダイレクトシーケンスでは塩基配列が決定出来なかったため、TAクローニングを実施したところ、CRF01_AEとBの重感染であることが判明した。

また表4に示すように、薬剤耐性に関連するmajor mutationが251例中23例(9.2%)に検出されたが、その大部分はPR領域あるいはRT領域に1カ所のmajor mutationを認めるのみであった。しかしながら、4例において2カ所以上のmajor mutation (RT: M41L+L210W+T215D, RT:V108I+Y181C+M184MV, PR: D30N+L33F+M46I+N88D, RT:M41L+T215D)を有し中～高度の薬剤耐性を示すと考えられるHIV-1が検出された。IN阻害剤に対するmajor mutationは検出されなかったが、minor mutationとしてL74I/Vが3例、E138Dが1例、G163E/K/Tが4例において認められた(データ示さず)。

表1 医療機関受診症例の感染リスクとサブタイプ (2007-2009年)

症例数	感染リスク			subtype			BEDアッセイ recent/total (%)
	同性間	異性間	その他	B	CRF01_AE	C	
2007年	14	11	2 (1)	1	11	3	4/14 (28.6)
2008年	16	12	3 (1)	1	13	2	2/16 (12.5)
2009年	12	9	3		12		2/12 (16.7)
計	42	32	8	2	36	2	8/42 (19.0)

()は女性、再掲

non-Bタイプの国籍・性別・感染リスク

CRF01_AE: 日本人男性同性間 1、日本人男性異性間 1、日本人男性不明 1、外国人男性異性間 1
C: 外国人男性異性間 1、外国人女性異性間 1

表2 薬剤耐性関連アミノ酸変異が認められた新規HIV-1診断症例 (2007-2009年)

診断年	性別	国籍	感染リスク	薬剤耐性アミノ酸変異			サブタイプ (env-C2V3)	BEDアッセイ	
				PR	RT	IN			
* 2007年の症例中には耐性変異を認めず									
1	2008年	男性	日本人	同性間	I62I/V, V77I, I93L	V108I, V179D	-	B	Long-term
2	2008年	男性	日本人	同性間	M36I, I62V, I93L	T215L	-	B	Recent
3	2009年	男性	インドネシア	異性間	M36I, M46I, I62V, I64V, I93L	-	-	B	Long-term

表3 確認検査陽性検体のサブタイプ

解析数/陽性件数	subtype				BEDアッセイ recent/total (%)
	B	CRF01_AE	A	F	
2007年	77/88	2			25/71* (35.2)
2008年	84/120	4	1		37/120 (30.8)
2009年	90/93	5**	1	1	27/93 (29.0)
計	251 / 301	11	2	1	89/284 (31.3)

**CRF01_AEとBの重感染1例を含む

*陽性検体の一部アッセイせず

non-Bタイプの国籍性別

CRF01_AE: 日本人男性 9(同性間5、異性間1、不明3)、国籍不明男性 1、国籍不明女性 1
A: 外国人女性 1、不明 1
C: 日本人女性 1、外国人男性 2、外国人女性 1
F: 日本人女性 1

(3) BEDアッセイによる感染時期の推定

おおよその感染時期を推定する目的で、2007-2009年の新規HIV-1診断症例について、Calypse HIV-1 BED Incidence EIA (BEDアッセイ)を実施したところ、感染初期(ODn<0.8、感染後155日以内)と推定されたものは医療機関受診症例42例中8例(19.0%)であったのに対し、確認検査陽性検体では284例中89例(31.3%)と高い値を示した。

D. 考察

2007-2009年の間にHIV-1感染が判明した新規診断症例(医療機関受診症例42例、確認検査陽性検体251例)において検出されるHIV-1の遺伝子を解析し、大阪およびその近郊に流行するHIV-1のサブタイプおよび薬剤耐性アミノ酸変異の保有状況を調査した。医療機関受診症例、確認検査陽性検体共にサブタイプはBが主流であり、年毎に多少の変動はあるものの全体の85%から90%以上を占めていた。感染リスクが明らかなケースでは、MSM(men who have sex with men)が圧倒的に多く見られたが、Bに次いで頻度の高いCRF01_AEはMSMの間では流行が広がる傾向は認められなかった。しかしながら、その中で2009年にCRF01_AEとBの重感染例が見つかったことは非常に興味深い。本症例は、*pol*、*env*共にCRF01_AEとBが混合して検出され、AE/Bの重

感染であることが推察された。確認検査検体であるため、性別(男性)以外の情報が得られず感染リスクも不明であるが、検出されたCRF01_AEの塩基配列が他のMSM由来の配列と非常に相同性が高いことから、本症例もMSMである可能性が示唆された。今後、このような重感染症例が増加することも考えられ、注意深い観察が必要である。

医療機関受診例における薬剤耐性検出件数は3年間で3例(7.1%)と少ないため、年別推移の検討は困難であった。一方、確認検査陽性検体における薬剤耐性変異の検出率は2007年6.5%、2008年13.1%、2009年7.8%で、3年間を合わせると9.2%となり、医療機関受診例の7.1%に比べ高い検出率を示した。新規HIV-1診断症例に検出されるmajor mutationとしては、T215リバータント(T215C/D/E/L/S)が最も多く、2002年以降毎年数例ずつ見つかっている。2008年の検出率が高いのは主にT215リバータントの数が多いことによるもので、T215リバータント単独で見つかった例を除くと、2007、2008、2009年の検出率はそれぞれ3.9%、6.0%、5.6%となる。2005年、2006年共にT215リバータント単独例のみの検出であったことを考え合わせると(データ示さず)、それ以外のmajor mutation検出率は漸増傾向にあると言える。また、これまで我々の調査の中で新規感染症例に見られた耐性変異は、PR領域あるいはRT領域

表4 確認検査陽性検体に検出された薬剤耐性変異(2007-2009年)

	薬剤耐性検査数 /HIV陽性件数	薬剤耐性検出数	国籍性別	感染リスク	薬剤耐性変異	subtype (<i>pol</i>)	BED アッセイ
2007年	77 / 88	5 (6.5%)	日本人男性	不明	PR: M46I	B	R
			日本人男性	同性間	PR: M46L	B	L
			外国人男性	同性間	RT: M41L, L210W, T215D	B	L
			日本人男性	同性間	RT: T215C	B	L
			日本人男性	同性間	RT: T215D	B	L
2008年	84 / 120	11 (13.1%)	日本人男性	不明	PR: M46I	B	R
			外国人女性	異性間	RT: A62V	A	R
			日本人男性	不明	RT: V108IV	B	L
			日本人男性	同性間	RT: V108I	B	L
			不明	不明	RT: V108I, Y181C, M184MV, (H221YH)	B	R
			日本人男性	不明	RT: T215D	B	L
			日本人男性	不明	RT: T215D	B	L
			日本人男性	同性間	RT: T215E	B	R
			不明	不明	RT: T215E	B	L
日本人男性	同性間	RT: T215L	B	R			
2009年	90 / 93	7 (7.8%)	不明	不明	PR: M46I	B	R
			日本人男性	同性間	PR: (L10F), D30N, L33F, M46I, N88D	B	L
			日本人男性	同性間	RT: D67N	B	L
			日本人男性	不明	RT: M41L, T215D	B	L
			不明	不明	RT: A62V	A	L
			日本人男性	不明	RT: T215L	B	R
日本人男性	不明	RT: T215E	B	L			

()はminor mutation

R: recent

L: long-term

に1カ所のmajor mutationを認めるのみで、その耐性度はごく低いと考えられるものがほとんどであったが、2007年以降2カ所以上のmajor mutationを有する、中～高度の薬剤耐性を示すと考えられるHIV-1が確認検査陽性検体において検出されるようになった。確認検査検体は匿名検査という特性上、個人を特定出来る情報がなく、重複例や既治療患者を完全に排除することは不可能であるが、BEDアッセイの結果からも推定されるように感染からの期間が医療機関受診例に比べて短いと考えられ、感染した薬剤耐性ウイルスが野生型に戻る前に検知できる確率は高いのではないかとと思われる。新規診断症例における薬剤耐性HIV-1の発生動向をより正確に把握するためには、補足率の向上と共に感染早期での検査が重要であり、確認検査検体を用いた薬剤耐性調査は意義あるものと考えている。

E. 結論

薬剤耐性HIV-1の検出率はT215リバータントの検出数に大きく左右されるが、それ以外のmajor mutation検出率は近年漸増傾向にあると考えられた。また、中～高度の薬剤耐性を示唆する、複数のmajor mutationを有しているHIV-1が確認検査陽性検体において検出されるようになり、感染診断後できるだけ早い時期に薬剤耐性検査を実施する重要性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

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
3. Yoko Kojima, Takuya Kawahata, Haruyo Mori. Cases of HIV type 1 acute infection at STI-related clinics in Osaka. *AIDS Research and Human Retroviruses* 25:717-719, 2009

2. 学会発表

1. 森 治代、小島洋子、川畑拓也、大國 剛、プ

ライマーにより異なるサブタイプおよび薬剤耐性変異が検出されたHIV-1重感染例、第21回日本エイズ学会、広島、2007（抄録：日本エイズ学会誌 9:552、2007）

2. 小島洋子、川畑拓也、森 治代、大國 剛、大阪近隣の未治療新規感染者における薬剤耐性HIV-1の伝播状況、第21回日本エイズ学会学術集会、広島、2007（抄録：日本エイズ学会誌 9:554、2007）
3. 小島洋子、川畑拓也、森 治代、大竹 徹、大國 剛、大阪府内のSTI関連クリニックにおけるHIV感染初期例、第21回近畿エイズ研究会学術集会、大阪、2007
4. Haruyo Mori, Yoko Kojima, Takuya Kawahata, Tuyoshi Okuni. Mismatched primers detected covert drug-resistant mutations in a patient of HIV-1 dual infection, 3rd International Workshop on HIV Transmission, 31 July-2 August 2008, Mexico City
5. Haruyo Mori, Yoko Kojima, Takuya Kawahata, Tuyoshi Okuni. Mismatched primers detected covert drug-resistant mutations in a patient of HIV-1 dual infection, XVII INTERNATIONAL AIDS CONFERENCE, 3-8 August 2008, Mexico City
6. 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
7. 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（抄録：日本エイズ学会誌 10:412、2008）
8. 川畑拓也、小島洋子、森 治代、大國 剛、古林敬一、岩佐 厚、谷口 恭、大阪府内のSTI関連診療所でのHIV陽性者におけるB型肝炎・梅毒の罹患状況とHBV遺伝子型、第23回日本エイズ学会、名古屋、2009（抄録：日本エイズ学会誌 11:487、2009）
9. 川畑拓也、森 治代、小島洋子、秋吉京子、近藤真規子、中澤よう子、宇宿秀三、貞升健志、長島真美、矢永由里子、今井光信、加藤真吾、HIV検査相談体制における新型インフルエンザ流行の影響、第23回日本エイズ学会、名古屋、2009（抄録：日本エイズ学会誌 11:536、2009）

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし