

200932021A

厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業

HIV感染症及びその合併症の 課題を克服する研究

平成21年度 研究報告書

独立行政法人国立病院機構大阪医療センター
HIV/AIDS 先端医療開発センター長

白阪 琢磨

厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業

HIV 感染症及びその合併症の課題を克服する研究

平成 21 年度 研究報告書

独立行政法人国立病院機構大阪医療センター
HIV/AIDS先端医療開発センター

白阪 琢磨

目 次

■ 総括研究報告

- 1 HIV 感染症及びその合併症の課題を克服する研究…………… 7

研究代表者：白阪 琢磨（独立行政法人国立病院機構大阪医療センター HIV/AIDS先端医療開発センター）

■ 分担研究報告

- 2 HIV 感染症治療の開始時期と治療終焉指標に関する研究…………… 1 5

研究分担者：渡邊 大（独立行政法人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）

- 3 急性感染者の早期発見のための医療機関と社会とのコミュニケーションの形成…………… 1 9

研究分担者：渡邊 大（独立行政法人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）

研究協力者：大北 全俊（独立行政法人国立病院機構大阪医療センター/財団法人エイズ予防財団）

- 4 治療終焉のためのプロウイルス DNA 等臨床指標の開発に関する研究…………… 2 1

研究分担者：岩谷 靖雅（独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター 臨床研究センター）

- 5 抗 HIV 療法の実施状況と副作用調査に関する研究…………… 2 5

研究分担者：栞原 健（独立行政法人国立病院機構南京都病院 薬剤科）

- 6 Web サイトを活用した情報発信と情報収集、閲覧動向に関する研究…………… 3 7

研究分担者：栞原 健（独立行政法人国立病院機構南京都病院 薬剤科）

研究協力者：湯川 真朗（有限会社キートン）

- 7 抗 HIV 療法のガイドラインに関する研究…………… 4 7

研究分担者：鯉淵 智彦（東京大学医科学研究所附属病院 感染免疫内科）

- 8 HIV 検査相談所における重複感染を含む HIV 感染症診断に関する研究…………… 5 1

研究分担者：今井 光信（神奈川県衛生研究所 微生物部 田園調布学園大学 人間福祉学部）

- 9 HIV 検査相談所における HBV の分子学的研究…………… 5 5

研究分担者：杉浦 亙（独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター 臨床研究センター 感染免疫研究部）

- 10 HIV 検査相談所における陽性告知からその後の当事者支援に関する研究…………… 6 1

研究分担者：桜井 健司（特定非営利活動法人 HIV と人権・情報センター）

- 11 携帯を使った服薬支援“だ・メール”および検査予約システムの開発…………… 7 3
 研究代表者：白阪 琢磨（独立行政法人国立病院機構大阪医療センター HIV/AIDS 先端医療開発センター）
 研究協力者：幸田 進（有限会社ビッツシステム）
- 12 エイズ看護の在り方に関する研究…………… 7 7
 研究分担者：井端美奈子（公立大学法人大阪府立大学 看護学部）
- 13 セクシュアルヘルス支援体制のモデル開発と普及に関する研究…………… 8 1
 研究分担者：井上 洋士（放送大学 教養学部）
- 14 抗 HIV 療法に伴う心理的負担、および精神医学的介入の必要性に関する研究…………… 9 5
 研究分担者：廣常 秀人（独立行政法人国立病院機構大阪医療センター 精神科）
- 15 NGO と歯科診療所のネットワークによる HIV 陽性者歯科診療提供に関する研究…………… 1 0 3
 研究分担者：中田たか志（中田歯科クリニック）
- 16 血友病患者における HIV 感染症の治療に関する研究…………… 1 0 9
 研究分担者：西田 恭治（独立行政法人国立病院機構大阪医療センター 感染症内科）
- 17 ケースマネジメントスキルを使った行動変容支援サービスに関する研究…………… 1 1 5
 研究分担者：藤原 良次（特定非営利活動法人りょうちゃんず）
- 18 エイズ予防啓発イベント参加者における意識調査…………… 1 2 3
 研究代表者：白阪 琢磨（独立行政法人国立病院機構大阪医療センター HIV/AIDS 先端医療開発センター）
 研究協力者：小野田敦乙（株式会社エフエム大阪）
- 19 チーム医療構築の現状と課題に関する研究…………… 1 3 7
 研究分担者：仲倉 高広（独立行政法人国立病院機構大阪医療センター 臨床心理室）
- 20 長期療養者の受け入れにおける福祉施設の課題と対策に関する研究…………… 1 4 3
 研究分担者：山内 哲也（社会福祉法人武蔵野会 八王子生活実習所）
- 21 長期療養患者のソーシャルワークに関する研究…………… 1 6 3
 研究分担者：小西加保留（関西学院大学 人間福祉学部）
- 22 長期療養看護の現状と課題に関する研究…………… 1 8 9
 研究分担者：下司 有加（独立行政法人国立病院機構大阪医療センター 看護部）

総括研究報告

1

HIV感染症及びその合併症の課題を克服する研究

研究代表者：白阪 琢磨（独立行政法人国立病院機構大阪医療センター HIV/AIDS 先端医療開発センター）

経緯・目的

HIV感染症は抗HIV薬の多剤併用療法によって慢性疾患と捉えられるまでになったが、抗HIV薬の副作用や薬剤耐性変異株の出現など克服すべき課題が未だに山積している状況と言える。HIV感染症は治癒が無いため、治療は長期に及ぶので患者支援がますます重要である。本研究ではHIV感染症治療、ケア、長期療養、患者支援における現状の課題を明らかにし、解決方法を提示することを目的とする。【班構成】当研究班は研究テーマを治療、ケア、長期療養の3分野に大別し、次の15名の研究分担者による分担研究で構成した（括弧内は研究分担名。敬称略）。治療については、渡邊 大（HIV感染症治療の開始時期と治療終焉指標に関する研究）、岩谷 靖雅（治療終焉のためのプロウイルスDNA等臨床指標の開発に関する研究）、栗原 健（抗HIV療法の実施状況と副作用調査に関する研究）、小田原 隆（抗HIV療法のガイドラインに関する研究）、西田 恭治（血友病患者におけるHIV感染症の治療に関する研究）、杉浦 互（HIV検査相談所におけるHBVの分子学的研究）、ケアについては、井端 美奈子（エイズ看護の在り方に関する研究）、廣常 秀人（抗HIV療法に伴う心理的負担、および精神医学的介入の必要性に関する研究）、仲倉 高広（チーム医療構築の現状と課題に関する研究）、中田 たか志（NGOと歯科診療所のネットワークによるHIV陽性者歯科診療提供に関する研究）、長期療養については、山内 哲也（長期療養者の受け入れにおける福祉施設の課題と対策）、小西 加保留（長期療養患者のソーシャルワークに関する研究）、下司 有加（長期療養看護の現状と課題に関する研究）、患者支援については藤原 良次（ケースマネジメントプログラム（CMP）を用いたHIV陽性者支援及びHIV感染予防のための研究）、桜井 健司（HIV検査相談所における陽性告知からその後の当事者支援に関する研究）、今井 光信（HIV検査相談所におけるHIV感染症診断に関する研究）で構成した。以下に主な研究方法、結果等について述べるが、各研究の詳細は研究分担報告書を参照されたい。

研究方法

本研究の目的を達成するために、前述のように研究分野を治療、ケア、長期療養、患者支援に大別した。

1) 治療

「HIV感染症および合併症治療HIV感染症治療の開始時期と治療終焉指標に関する研究（渡邊）」ではプロウイルス量測定の設定条件を行い、「治療終焉のためのプロウイルスDNA等臨床指標の開発に関する研究（岩谷）」では領域別プロウイルス定量系の検討を行った。「抗HIV療法の実施状況と副作用調査に関する研究（栗原）」では全国拠点病院にアンケート調査を実施した。「抗HIV療法のガイドラインに関する研究（鯉淵）」では改訂作業を進めた。「血友病患者

者におけるHIV感染症の治療に関する研究（西田）」では当事者を含め課題抽出作業を行った。

「重複合併例のHBVの分子学的研究（杉浦）」ではゲノタイプ解析を行った。

2) ケア

「エイズ看護の在り方に関する研究（井端）」ではHIV専門、非専門看護師対象に調査を実施した。「抗HIV療法に伴う心理的負担、および精神医学的介入の必要性に関する研究（廣常）」では調査を行った。「外来チーム医療マニュアルの改訂（仲倉）」では改訂作業を行った。「セクシュアルヘルス支援体制のモデル開発と普及に関する研究（井上）」ではモデル研修を実施し解析した。「HIV陽性者の歯科診療の課題と対策（中田）」ではHIV陽性者へのケアを掲げる

全国25団体へのアンケートおよび事例収集と一部ヒアリングを実施した。

3) 長期療養支援

「長期療養者の受け入れにおける福祉施設の課題と対策（山内）」では関係施設へのアンケート等を実施した。「長期療養患者のソーシャルワークに関する研究（小西）」では調査を実施した。「長期療養看護の現状と課題に関する研究（下司）」では全国で研修会を開催し担当者との意見交換会および調査を実施した。

4) 患者支援

「HIV検査相談所における陽性告知からその後の当事者支援に関する研究（桜井）」では受検者視点から効果的な検査相談、有効な結果告知及び必要な支援につき検討した。「ケースマネジメントスキル（CMP）を使った行動変容支援サービスに関する研究（藤原）」ではモデル研修を実施しプログラムの検討を行った。「検査相談所におけるHIV感染症診断（今井）」では実施例を検討した（括弧内は研究分担者）。さらに、携帯を用いた服薬支援ツールの改良および検査予約システム開発、ホームページの開発を進めた。

主な研究結果

今年度は各研究分野の現状把握等を行った。

1) 治療

残存プロウイルス量の測定系の改良を行い、先行研究で感度未満の症例も測定可能となった。プロウイルスDNAとして、4指標（early と late RT 産物、Integrated DNA、2-LTR DNA）の個別定量系を確立し、既報のデータと同等で定量系が機能していることを確認した。この系を用いて、RAL 投与前後の症例につき解析を行った。薬剤調査では全国の拠点病院に対し抗HIV薬の採用、在庫、廃棄、抗HIV薬の組み合わせ等につき調査を実施した（回収率63%）。各施設の在庫金額が前年より約1億円増加していた。1日1回処方など新薬へのスイッチが浸透していた。抗HIV薬Q&Aの改訂（Ver. 8）などホームページ内容の更新を実施した。抗HIV治療ガイドラインの改訂作業を進めた。特に、米国DHHSの

治療のガイドラインで「治療開始基準」と「治療開始の推奨処方」が大きく改訂された事を受け、国内状況も鑑みて改訂を行った。Web上での推奨処方エビデンスを公開した。重複感染者のHBVゲノタイプについては検討できた41症例で33例がA、7例がC、1例がその他であり、日本の以前のHBV伝播状況とは大きく異なっていた。

2) ケア

エイズ看護の経験のない看護職は知識・態度ともに十分で無かった。近畿ブロックにおける総合病院の精神科、単科精神科病院、診療所など、精神科診療を行う1030施設に調査票を郵送法で配布し、191施設（18.5%）から回答を得、診療所が最も多く107施設（61.8%）、総合病院の精神科および単科精神科病院は30施設（17.3%）ずつであった。全施設のうち21施設（12.5%）がHIV感染症患者の診療経験があると答えた。外来チーム医療マニュアルの全面的改訂作業を進め、チーム医療の評価法の作成についても検討した。「HIV陽性者のセクシュアルヘルス支援のための研修会」ベーシックコース普及のためのパッケージ化の一環として「HIV 陽性者のセクシュアルヘルス支援のための研修会ベーシックコース マニュアルVer. 1」等を発行した。

3) 長期療養支援

福祉施設従事者の受入意思決定プロセスの検討では、従事者の「社会的使命感」を起点とした「ソーシャルサポート」「医療体制」「リスク評価」「業務負担感」「HIV 知識」の受入課題領域が直接・間接的に影響し合い「HIV 感染者の受入拒否意向」に至るプロセスモデルが検証された。福祉施設のHIV感染者の受入課題の検討では、福祉施設の従事者がHIV/AIDSに関して、負のイメージを介して強い不安のスパイラルに陥りやすいことや自分たちの福祉施設の業務領域として認識していないことから、福祉従事者の意識向上や受入マニュアルの整備、支援体制の初動形成などが重要課題であることが判明した。全国のエイズ拠点病院374カ所のソーシャルワーカーに対して無記名自記式調査票の郵送調査を行い、回答数は117票、回収

率は31.3%であった。在宅看護研修では研修会を予定通り実施し、研修会後にHIV陽性者の受け入れの意識変化を認めた。参加施設の多くは受け入れ経験は少なく、受け入れに関しては職員全体の理解と協力、かかりつけ医や地域連携病院の協力が不可欠であった。

4) 患者支援

検査時インフォームドコンセントの重要性、告知時カウンセリングの必要性、当事者支援における自立と支援のバランスの重要性が明らかになった。ケースマネジメントプログラム(CMP)が、HIV陽性者やHIV感染に悩む人に対する性行動変容支援プログラムとしての有用性を検証した。

考察

1) 治療

残存プロウイルス量測定にはCD4陽性T細胞に加え、他細胞の測定が必要であることが明らかになった。今後、プロウイルスDNA量の定量とケモカインレセプター指向性HIV env データベース作り、共に、更なるデータの蓄積が必要である。在庫金額調査からHIV感染症診療が病院経営に及ぼす影響は今後益々増加すると思われる。MSMに多く認められたゲノタイプA集団は遺伝子的に近縁関係であったため比較的最近持ち込まれたと考えられた。

2) ケア

HIV看護では他の領域の看護ではほとんど触れないセクシュアリティや性的マイノリティへのかかわりを通して、看護観・セクシュアリティ観・死生観・人間観・人生観などが揺さぶられるような体験をしていることが多く、新たに担当者となるものにとっては、非常にストレスが大きい。自信を持って、エイズ看護を実践するためには、相当の準備が必要である。担当して数年経過した者は、看護の深まりを実感しており、他領域の看護にも十分経験が活用できると考えられた。

3) 長期療養支援

福祉施設について総じて先行研究を支持する内容となった。特に社会福祉施設従事者が

HIV/AIDSに関し自分たちの業務領域対象と捉えていない事や受入れ不安が強い事が判明した。対策として啓発研修の強化や具体的な受入マニュアルの整備などが課題として挙げられる。訪問看護で受け入れの障碍となっている知識不足に対する研修会の実施は効果的であったと考える。在宅医との連携や職務感染時の対応などの課題も明確になり新たな課題克服に向けた取り組みが必要である。

4) 患者支援

CMP基礎研修の実施での参加者評価から1日研修プログラムへの変更とテキストの修正を行った。受検者の視点に立った効果的なHIV検査相談、及び当事者(HIV感染者・AIDS患者及びその家族等)の視点から見た有効な告知後支援のあり方につき、今後も検討が必要と考えた。各分担研究毎に現状の把握を行い、課題を明らかにした。

結論

抗HIV治療ガイドライン、外来チーム医療マニュアルの改訂等、計画に従い本年度の研究をほぼ予定通り実施できた。新しい臨床指標であるプロウイルス量測定系の開発、エイズ看護での独自の教育カリキュラムの構築、社会福祉施設が積極的に受け入れを行うために職員教育や受入マニュアルの整備等を社会福祉施設側からの主体的福祉問題として捉えていく必要がある等の重要な成果も得られたので、次年度の研究に繋げて行く。

研究発表

研究代表者

白阪琢磨

- 1) 吉野宗宏、矢倉裕輝、栗原健、坂東裕基、小川吉彦、矢嶋敬史郎、谷口智宏、大谷成人、富成伸次郎、渡邊大、上平朝子、白阪琢磨：硫酸アタザナビルの血中濃度が高値の患者を対象とした、ATV/rからATV400へのスイッチ臨床試験結果、日本エイズ学会誌11:50-53, 2009
- 2) 白阪琢磨：抗HIV療法(HAART)の実際、日本内科学会雑誌:98(11):50-57、2009
- 3) T. Shirasaka, Y. Yamamoto, K. Fukutake, T.

- Odawara, T., Nakamura, M., Negishi, A., Ajisawa. The Incidence of Skin Pigmentation in Japanese HIV-Infected Patients Receiving TDF/FTC., THE 9th International Congress on AIDS in Asia and the Pacific, Indonesia, Aug. 2009
- 4) 上平朝子、吉野宗宏、渡邊大、宮成伸次郎、谷口智宏、矢嶋敬史郎、小川吉彦、坂東祐基、矢倉裕輝、笠井大介、西田恭治、白阪琢磨：当院における新規抗HIV薬（Raltegravir, Etravirine）の使用経験。第23回日本エイズ学会学術集会・総会、愛知、2009年
- 5) 吉野宗宏、矢倉裕輝、栗原健、小川吉彦、坂東裕基、矢嶋敬史郎、笠井大介、谷口智宏、渡邊大、西田恭治、上平朝子、白阪琢磨：エファビレンツ投与患者における治療継続と中断に関する検討。第23回日本エイズ学会学術集会・総会、愛知、2009年
- 6) 白阪琢磨、榎本てる子、中道基夫、鍋島直樹：今の医療に新たに求められているもの～尊厳と罪悪と共に歩むスピリチュアル・ケア～。第23回日本エイズ学会学術集会・総会、愛知、2009年
- 研究分担者
渡邊 大
- 1) 吉野宗宏、矢倉裕輝、栗原健、坂東裕基、小川吉彦、矢嶋敬史郎、谷口智宏、大谷成人、富成伸次郎、渡邊大、西田恭治、上平朝子、白阪琢磨。ロピナビル・リトナビル配合剤（LPV/r）の1日2回から1日1回投与へのスイッチ臨床試験結果。日本エイズ学会誌11(3)：250-254, 2009
- 2) 大北全俊、白阪琢磨、渡邊大：急性感染者の早期発見の促進に関する倫理的な課題について。第23回日本エイズ学会学術集会・総会、愛知、2009年
- 岩谷靖雅
- 1) Iwatani Y., Chan D. S. B., Liu L., Yoshii H., Shibata J., Yamamoto N., Levin J. G., Gronenborn A. M., and Sugiura W.: HIV-1 Vif-mediated ubiquitination/degradation of APOBEC3G involves four critical lysine residues in its C-terminal domain. Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2009) 106:19539-19544
- 2) Iwatani Y.: Study on molecular mechanism of host defense factor, APOBEC3G, against HIV. J. AIDS Research (2009) 11:218-222
- 3) Iwatani, Y., Chan, D. S. B., Liu, L., Yoshii, H., Shibata, J., Levin, J. G., Gronenborn, A. M., and Sugiura, W.: Four Lysine Residues in the APOBEC3G C-terminal Domain Are Critical for HIV-1 Vif-Mediated Ubiquitination/Degradation. 10th Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance. Richmond, VA. USA. 2009
- 栗原 健
- 1) 吉野宗宏、矢倉裕輝、栗原健、坂東裕基、小川吉彦、矢嶋敬史郎、谷口智宏、大谷成人、富成伸次郎、渡邊大、西田恭治、上平朝子、白阪琢磨：ロピナビル・リトナビル配合剤（LPV/r）の1日2回から1日1回投与へのスイッチ臨床試験結果、日本エイズ学会誌11(3)：250-254、2009
- 2) 吉野宗宏、矢倉裕輝、栗原健、坂東裕基、小川吉彦、矢嶋敬史郎、谷口智宏、大谷成人、富成伸次郎、渡邊大、上平朝子、白阪琢磨：硫酸アタザナビルの血中濃度が高値の患者を対象とした、ATV/r からATV400 へのスイッチ臨床試験結果、日本エイズ学会誌11(1)：50-53、2009
- 3) 栗原健、吉野宗宏、矢倉裕輝、小島賢一、日笠聡、白阪琢磨：拠点病院における抗HIV療法と薬剤関連アンケート調査結果（第6報）。第23回日本エイズ学会学術集会・総会、愛知、2009年
- 4) 矢倉裕輝、吉野宗宏、小川吉彦、坂東裕基、矢嶋敬史郎、笠井大介、谷口智宏、富成伸次郎、渡邊大、西田恭治、上平朝子、白阪琢磨、栗原健：Efavirenzの剤型変更に伴う血中濃度の変化及び副作用に関する検討。第23回日本エイズ学会学術集会・総会、愛知、2009年
- 鯉淵智彦

- 1) Chen H, Piechocka-Trocha A, Miura T, Brockman MA, Julg BD, Baker BM, Rothchild AC, Block BL, Schneidewind A, Koibuchi T, Pereyra F, Allen TM, & Walker BD. Differential neutralization of human immunodeficiency virus (HIV) replication in autologous CD4 T cells by HIV-specific cytotoxic T lymphocytes. *Journal of Virology* 83: 3138-3149, 2009
- 2) 鯉渕智彦：抗HIV治療の開始時期と抗HIV薬の組み合わせ、*BIO Clinica* 24(7)：31-35、2009
- 3) 菊地正、古賀道子、鯉渕智彦、今井健太郎、中村仁美、三浦聡之、小田原隆、藤井毅、岩本愛吉：ART初回導入したABC、TDF使用症例の血清脂質の経時的変化について。第23回日本エイズ学会学術集会・総会、愛知、2009年

杉浦 互

- 1) Matsuyama S, Shimizu A, Ode, H, Hata M, Sugiura W, Hoshino T. Structural and Energetic Analysis on the Complexes of Clinically-isolated Subtype C HIV-1 Proteases and Approved Inhibitors by Molecular Dynamics Simulation. *The Journal of Physical Chemistry.* (in press)
- 2) Iwatani Y, Chan DS, Liu L, Yoshii H, Shibata J, Yamamoto N, Levin JG, Gronenborn AM, Sugiura W. HIV-1 Vif-mediated ubiquitination/degradation of APOBEC3G involves four critical lysine residues in its C-terminal domain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Nov 17;106(46):19539-44. Epub 2009 Nov 3.

仲倉高広

- 1) 宮本哲雄、仲倉高広、安尾利彦、森田眞子、大谷ありさ、藤本恵里、倉谷昂志、白阪琢磨：HIV/AIDS医療における神経心理学的検査の導入の実際。第23回日本エイズ学会学術集会・総会、愛知、2009年
- 2) 仲倉高広、白阪琢磨：幻想的融合を求め故意に自らの健康を害する性行動が繰り返された

HIV感染症陽性者の心理療法について 理想的融合か死との融合かの分裂から現実への適応に至った事例。第23回日本エイズ学会学術集会・総会、愛知、2009年

- 3) 藤本恵里、大谷ありさ、仲倉高広、森田眞子、安尾利彦、倉谷昂志、宮本哲雄、白阪琢磨：他職種との連携における心理職の専門性に関する研究—HIVの心理臨床において「連携」は特別か？—。第23回日本エイズ学会学術集会・総会、愛知、2009年

井上洋士

- 1) 井上洋士：セクシュアリティと看護援助：「HIV陽性者のセクシュアルヘルス支援のための研修会」開催を通じた検討と考察、*HIV/AIDS看護学会会報*54：2-7、2009

小西加保留

- 1) 小西加保留、石川雅子、池田和子、岡本学、馬淵規嘉、市橋恵子、岩本和子：介護を要する感染者を地域で支える—医療・保健・福祉を繋ぐ視点と“ツボ”をさぐる—、*日本エイズ学会誌*11(2)：126-130、2009
- 2) 小西加保留、石川雅子、島田恵：要支援患者の退院支援困難事例における実践モデルの試み。第23回日本エイズ学会、名古屋、2009年
- 3) 山中京子、小西加保留、白阪琢磨：HIV医療におけるヘルスケアチームに関する研究—ブロック拠点病院のチームメンバーに対するアンケート調査より—。第23回日本エイズ学会、名古屋、2009年

下司有加

- 1) 垣端美帆、下司有加、上平朝子、富成伸次郎、岡本学、安尾利彦、伊藤友子、白阪琢磨：HIV陽性者の在宅支援の現状。第23回近畿エイズ研究会・学術集会、京都、2009年
- 2) 下司有加、垣端美帆、立花泉、安尾利彦、仲倉高広、白阪琢磨：初診患者へのカウンセリング導入に関する調査 第2報 HIV専従看護師のアセスメントと精神健康スクリーニングの結果から。第23回日本エイズ学会学術集会・総

会、愛知、2009年

分担研究報告

2

HIV 感染症治療の開始時期と治療終焉指標に関する研究

研究分担者：渡邊 大（独立行政法人国立病院機構大阪医療センター エイズ先端医療研究部）

研究協力者：上平 朝子（独立行政法人国立病院機構大阪医療センター 感染症内科）

大北 全俊（独立行政法人国立病院機構大阪医療センター/財団法人エイズ予防財団
リサーチレジデント）

岡本瑛理子（独立行政法人国立病院機構大阪医療センター エイズ先端医療研究部）

蘆田 美沙（独立行政法人国立病院機構大阪医療センター エイズ先端医療研究部）

鈴木佐知子（独立行政法人国立病院機構大阪医療センター エイズ先端医療研究部）

研究要旨

【目的】抗 HIV 薬を複数用いる多剤併用療法（highly active antiretroviral therapy; HAART）の登場によって HIV 感染者の予後は改善した。しかし、長期服薬に伴う薬剤毒性の蓄積や、治療開始時期や治療終焉の目安等、未解決の問題も多い。そして、急性 HIV 感染症に関しては国内での研究はほとんど行われていない。今年度は、（1）薬剤の毒性としての血清 CK の解析、（2）治療開始時期および終焉時期の指標として残存プロウイルス量の測定系の改良、（3）急性 HIV 感染症の早期発見のための倫理的な課題を明確することを目的とした。【方法】（1）診療録より血清 CK、CK-MB、処方された抗 HIV 薬を収集し統計解析を行った。（2）残存プロウイルス量は TaqMan PCR 法にて測定を行った。（3）急性 HIV 感染症の早期発見のための倫理的課題に関しては文献調査を行った。【結果】（1）TDF の投与と血清 CK-MB の上昇に関連を認めた。（2）残存プロウイルス量の測定系の改良を行い、先行研究で感度未満の症例も測定可能となった。（3）HIV 感染症対策の基本であった「例外主義」から一般的な施策への転換および医療機関のより積極的な関与が必要であることが明確となった。【考察】（1）CK-MB 以外のアイソザイムの干渉が示唆されたため、今後その同定を行う。（2）次年度は臨床検体を用いた再現性や、他の手法による差異の検討が必要である。（3）海外の文献が主であったため、次年度は国内の実情についてインタビュー調査を行う。

研究目的

1990 年代の後半から登場した複数の抗 HIV 薬を用いる多剤併用療法（highly active antiretroviral therapy ; HAART）によって、HIV 感染症は致死の病から、コントロール可能な慢性疾患となった。しかし、多くの課題は解決されずに残されている。HAART によって血中のウイルス量は測定感度未満となるが、寿命の長い潜伏感染細胞を除去することができず、一生抗 HIV 薬を内服する必要がある。このことから、抗 HIV 薬の毒性の蓄積が危惧される。また、抗 HIV 薬の血中濃度を保つために厳密な内服が必要とされ、飲み忘れ・飲み遅れ等により薬剤耐性ウイルスの誘導が引き起こされる。この事実は HAART を内服する患者に多大な精神的負担をかけることになる。最後に、抗 HIV 薬の薬価が高いことがあげられる。

一人の年間の医療費は約 300 万円、一生の医療費は 1 億円と推定されている。このように、HIV 感染症の予後を劇的に改善した HAART であるが、今後解決すべき”陰”の側面も残されており、治療を強いられる患者にとっては、身体的・精神的・経済的負担は多大である。

（1）HAART の解決すべき問題として薬剤の副作用があげられる。体内の HIV の増殖を抑制し、免疫能の回復があったとしても、抗 HIV 薬の毒性により QOL の低下や平均寿命が短縮は避けるべきである。従って、毒性の蓄積を早期発見するための指標開発が必要である。我々はこのような観点から、血清 Creatine kinase (CK) 活性に注目した。Raltegravir や Tenofovir の臨床試験で、血清の CK が上昇することが知られている。第一の研究課題として HAART 施行中の

血清CKに注目し、解析を行った。

(2) 抗HIV療法をいつ開始するかについてはこれまで多くの議論がなされてきた。最近、CD4陽性Tリンパ球数（以下CD4数）が $350/\mu\text{l}$ を上回った場合に計画的に治療を中断するという臨床試験（SMART Study; N. Engl. J. Med. 355, p2283, 2006）に加え、大規模なコホート研究の結果（N. Engl. J. Med. 360, p360, 2009およびLancet 373, p1314, 2009）もこの1年の間に報告された。多少結果は異なるものの、臨床試験とコホート研究の後者からはCD4数が $350/\mu\text{l}$ 以下でHAARTを開始すべきであり、治療を遅らせた場合、心血管系イベント・腎疾患・肝疾患・非AIDS関連悪性腫瘍が問題になるとされた。一方、Kitahataらのコホート研究（前者）はCD4数が $500/\mu\text{l}$ 以下で治療すべきと結論づけている。現在無作為割付国際臨床試験（Strategic Timing of AntiRetroviral Treatment, NCT00867048）が行われ、開始すべきCD4数は $350/\mu\text{l}$ なのか、それとも $500/\mu\text{l}$ であるべきかが検討されようとしている。治療の終焉に関する研究はあまり進歩が見られていない。2003年の報告（Nat. Medicine 9, p727, 2003）では、潜伏感染細胞の半減期は平均44ヶ月と推定され、100万個の潜伏感染細胞をすべて駆逐するのに平均73.4年かかるという結論であった。この仮説が正しければ、多くの症例で治癒は困難であるが、抗ウイルス効果が早期から際立って良好な症例等では治癒する可能性も示唆している。我々は先行研究で、残存プロウイルス量が臨床指数として有効か否かを検討した。残存プロウイルス量には以下の特徴があった。（1）HAART導入前のCD4陽性Tリンパ球数と逆相関を示した。（2）急性期での治療導入例では低レベルに維持されていた。（3）治療期間と逆相関を示した。（4）残存プロウイルス量の比較的高い2症例から、非AIDS関連悪性腫瘍が発生した。これらの観察からは、残存プロウイルス量が開始時期の検討および治療終焉の指標となりうることが示された。しかし、先行研究で用いた方法では感度や再現性といった点に問題があったため、今年度は測定系の

改良を試みた。

(3) 3つめの研究課題として急性感染に注目した。急性HIV感染症は多くの症例で症状が出現しているにもかかわらず診断が困難であること、標準的な治療指針がないことが臨床上の問題にあげられる。それ以外にも、早期発見・早期診断・告知・パートナー検診にも課題は残されており、国内での研究もほとんど行われていない。そこで本研究では、急性感染者の早期発見をめぐる倫理的な課題を明確にすることを目的とし、本年度は文献調査を行った。本調査の詳細な目的・方法・結果については別紙の資料を参照されたい。

研究方法

診療録より処方された抗HIV薬・CK・CK-MBの結果について収集を行い、関連性について検討した。抗HIV療法が導入され血中HIV-RNA量が感度未満で維持されている症例を対象とし、informed consentのもとに採血を行った。末梢血単核球（PBMC）もしくはCD4陽性Tリンパ球を分離し、DNAを抽出した。精製したDNAを鋳型として、Lightcycler DX400を用いてTaqman PCR法を用いてコピー数を決定した。HIV-DNA量は $1\mu\text{g}$ に含まれるコピー数として算出した。

（倫理面への配慮）

HAART施行中の残存プロウイルス量の測定に関しては疫学研究に相当し、院内の倫理委員会に相当する受託研究審査委員会で倫理審査を行い、承認を取得した。この審査委員会で審査・受理された方法で研究を遂行し、具体的には文書での同意の取得や、検体処理やデータ管理の際の匿名化などを行った。

研究結果

2005年1月1日から2008年10月31日までにHAARTが投与され血清CKおよびCK-MBが同時に測定された検体は43症例・113検体であった。そのうち各症例の直近の43検体を対象とした。血清CKは中央値146 IU/L（最大2101、最小11、平均353 IU/L）で、血清CK-MBは中央値26 IU/L（最大72、最小5、

平均29 IU/L)であった。基準値外(CK62~287 IU/L、CK-MB0~16 IU/L)となった検体は、血清CKで25例(58%)、血清CK-MBで28例(65%)と、半数以上の症例で基準を外れていた。次に投与された抗HIV薬との関連について検討した。投与された抗HIV薬はTDF21例、3TC 31例、AZT 5例、ABC 17例、d4T 3例、FTC 12例、EFV 7例、NVP 2例、ATV 16例、FPV 5例、LPV 10例、RTV 27例であった。43例の全例で3TCもしくはFTCのいずれかが一方が投与されていたため、3TCを除いた10例以上投与を行った抗HIV薬(TDF, ABC, FTC, ATV, LPV, RTV)を選択し、それらの投与の有無と血清CKおよび血清CK-MBの関連性についてMANOVAにて解析した。血清CKとの相関はいずれの薬剤にも認めなかったが、血清CK-MBではTDF($p=0.054$)と関連性があった。TDFが投与された21例では血清CK-MBの平均は40 IU/Lであり、TDFの投与のない22例では平均18 IU/Lと、統計学的有意にTDF投与にて血清CK-MBの上昇を認めた(Wilcoxonの検定、 $p<0.0001$)。以上のことからTDFの投与と血清CK-MBの関連性が明らかとなった。

残存プロウイルス量の測定は5組のリアルタイムPCR用のプライマー、プローベセットについて効率の検討を行った。1組においてPCRの効率が低下していたものの、残りの4組の効率は同等であった。そこでnested PCRの系の組み立てが可能であること、プライマー、プローベの周辺の配列のシーケンス情報を保有していることから1組のプライマー、プローベセットを決定した。プライマー、プローベともgag遺伝子内に設計され、そのアンプリコンは108 bp(核酸配列で1252~1359)であった。50 copies/tubeまで定量が可能であり、そのCV値はintra-assayで35%、inter-assayで20%であり、先行研究で測定感度未満であった症例の残存プロウイルス量の測定も可能となった。また、臨床検体由来のDNAを鋳型とした増幅曲線とプラスミドを鋳型とした増幅曲線を比較すると、臨床検体由来のDNAを鋳型とした場合に増幅曲線が理想的なカーブをとらず傾きが下がる傾向や最終のシグナルが弱い傾向を認めた。PCRのアニーリング時間を延長(30秒から2分)すると最終のシグナルは増加した。以上のことから今回採用した

条件は先行研究よりも感度は高いものの、改善の余地は残されていると考えられた。そこで、競合的PCRを行うためのcompetitorの作製を行った。今後は臨床検体を経時的に測定することによる再現性を検討し、数値の正確性についても検討を予定する。

考察

本研究でTDFの投与と血清CK-MBとの関連性が見いだされた。その多くは40 IU/L前後であり、100 IU/L以上のは見いだされなかった。CK-MBは通常心疾患に関連しているが、今回測定を行った43例で急性の心疾患を発症したものは存在しなかった。今回解析したCK-MBの測定は免疫阻害法によって行われている。この方法は、血清中にはCK-MMとCK-MBしか存在しないという仮定のもとで算出される。まず、CK-Mに対する活性を阻害抗体を用いて酵素活性をブロックする。その場合は活性を示すのはCK-Bのみとなる。このCK-Bの活性値を測定し、2倍することによってCK-MBの活性値が算出される。従って、CK-MMおよびCK-MB以外のアイソザイムが血清中に存在するとそれらの酵素活性も2倍された形で測定値に加えられることになる。すなわち、免疫阻害法でCK-MBが高値となったとしても、他のアイソザイムの影響を十分検討すべきである。今回は結果を示さなかったが、等電点電気泳動法ではTDF内服症例においてCK-MBのピークは高くないこと、ELISA法にてCK-MBは正常範囲内であることから、TDF内服症例のCK-MBの上昇は他のアイソザイムの干渉と考えられる。今後はこのアイソザイムの同定と臨床的意義について解明したい。

残存プロウイルス量測定は、未だ標準法が存在しない。これは残存プロウイルス量の測定が困難であり、その原因としてはゲノムDNAと比較してコピー数の少ないことや、HIVの塩基配列の多様性が関与していると考えられる。商業ベースで行われている血漿中のHIV-RNA量の測定も現在リアルタイムPCR法で行われており、現在の主流のキットがロシュから販売されているコバスTaqMan HIVである。その名の通りTaqMan PCR法でコピー数の算出を行っているが、50-100 copies/mlあた

りで他キットとの差が大きく、臨床の現場においても大きな問題となった。その原因としては、輸送や保管の問題に加え、プライマー、プローベのミスマッチも関与している可能性はある。プライマーのミスマッチは3'側の数塩基が問題なければ、最初の数サイクル以後は使用したプライマー由来の配列となるため、実際上大きな影響を受けない。しかし、プローベのミスマッチはPCRの最終サイクルまで影響を受ける。最近、アボットからも新しいリアルタイムPCR法によるHIV-RNA測定キットが販売された。このキットの特徴として、検査の再現性が良好なこと、プライマーがインテグラーゼ領域に設定されていること、そしてTaqManプローベではなく部分2本鎖プローベを用いており、長いプローベの5'にレポーターを修飾し、そのプローベにハイブリする短いプローベの3'にクエンチャーを修飾していることがあげられる。この特徴的なプローベによってミスマッチによる影響を回避できている可能性もあり、今後検討すべき手法であると考えられる。本研究では、通常TaqMan PCR法を用いた測定系の開発を行ったが、今後competitive nested PCR法や限界希釈法（ポワソン分布法）についても検討したい。

結論

TDFの投与と血清CK-MBの上昇に関連性を認め、CK-MB以外のアイソザイムの関与について検討が必要であった。残存プロウイルス量の測定系の改良を行い、先行研究で測定感度未満の症例も測定可能となった。本手法を用いて、残存プロウイルス量が治療の開始時期と終焉の指標になるか否かを検討する。急性HIV感染症の早期発見のための倫理的課題として、文献調査によりHIV感染症対策の基本であった「例外主義」から一般的な施策への転換と、医療機関のより積極的な関与の必要があることが示された。

健康危険情報

該当なし

知的財産権の出現・登録状況

該当なし

3

急性感染者の早期発見のための医療機関と社会とのコミュニケーションの形成

研究分担者：渡邊 大（独立行政法人国立病院機構大阪医療センター エイズ先端医療研究部）

研究協力者：大北 全俊（独立行政法人国立病院機構大阪医療センター/財団法人エイズ予防財
団 リサーチレジデント）

研究要旨

本研究の目的は、急性感染者の早期発見を促進するにあたって、想定される倫理的な課題を明確にすることで、早期発見の促進の是非およびその促進の方法（医療機関と社会とのより緊密なコミュニケーションのあり方など）について検討するための論点を提示することである。初年度は関連する文献を分析することによって、検討すべき倫理的な課題について明確にした。それは、従来の HIV 感染症対策の「例外主義」を見直し、ノーマライゼーションをはかることに伴う諸問題であった。しかしながら、ノーマライゼーションをはかるためには、HIV 感染症をとりまくそれぞれの社会状況を十分に考慮する必要がある。よって、今後は文献の分析と並行して、日本での急性感染者が置かれている現状を調査する必要がある。

研究目的

疾病の早期発見は、それがいかなる疾病であっても患者本人にとっての医療上のメリットは大きいものと言える。なかでも HIV 感染症については、その早期発見によって患者本人の医療上のメリットのみならず感染拡大の防止という点から公衆衛生上のメリットも大きいと言われている。しかしながら、HIV 感染症は長い無症候期を経て諸々の症状を現す AIDS 発症へと移行することが一般であることから、本人の自発的な検査にゆだねる以外にその早期発見は難しい。そのため、感染のきわめて早期に身体的症状を現すことのある急性期の段階での介入（HIV 感染症の可能性を洞察し患者へ検査を促すなど）は、HIV 感染症の早期発見の可能性という点から、その意義について議論がなされている。

本研究の目的は、急性感染者の早期発見を促進するにあたって、想定される倫理的な課題を明確にすることで、早期発見の促進の是非およびその促進の方法（医療機関と社会とのより緊密なコミュニケーションのあり方など）について検討するための論点を提示することである。

初年度は主に関連する文献を分析することによって、検討すべき論点の析出と今後の質的調査等の方向性を明確にすることを目的とした。

研究方法

急性感染の早期発見の意義について議論している主な文献を分析し、その分析をもとに急性感染に限定されない HIV 感染症対策全般にわたって必要と思われる論点（provider-initiated HIV testing and counselling : PITC や partner notification など）について議論している文献（主に UNAIDS や CDC のガイドイラン、およびそれらに引用されている文献など）について分析し倫理的に問題となりうる論点について検討した。

また、それらの公衆衛生上の対策について、倫理的な観点から考察するための理論的枠組みとして、アメリカを主とする public health ethics の議論を参照した。

【主な文献】

- ① WHO/UNAIDS
 - Guidance on provider-initiated HIV testing and counselling in health facilities (2007)
- ② CDC
 - Incorporating HIV prevention into the medical care of persons living with HIV (2003)
- ③ 論文
 - Christopher D. Pilcher, et al : Approaching “HIV Elimination” : Interventions for Acute HIV Infection. Current HIV/AIDS Reports 2006, 3 : 160-168

- Lydia R. Temoshok, et al : Integrating Multidimensional HIV Prevention Programs Into Healthcare Settings. *Psychosomatic Medicine* 2008, 70 : 612-619
- M. J. Wawer, et al : Rates of HIV-1 transmission per coital act, by stage of HIV-1 infection, in Rakai, Uganda. *The Journal of Infectious Diseases* 2005, 191 : 1403-1409
- Childress, et al : Public health ethics: Mapping the terrain. *J Law Med Ethics* 2002 : 170-178
- Ronald Bayer, et al : Changing the paradigm for HIV testing - the end of exceptionalism. *N Engl J Med* 2006, 355;7 : 647-649

研究結果

文献より析出される急性感染の早期発見の意義、なかでも公衆衛生上に意義としては、急性期という感染力の強い段階での感染拡大の防止、感染経路の特定化と新たな感染者の早期発見の可能性、陽性者への医療機関などを介しての早期の介入などが挙げられる。これらの公衆衛生の意義を追及するために求められる感染症対策としては、(i) 医療従事者などによる積極的な検査機会の提供 (PITC) など VCT モデル以外の検査体制の模索、(ii) 感染経路の特定化のための第三者機関などによる追跡および通告の実施、(iii) 医療機関をはじめとする第三者機関による積極的かつ長期的な介入などが挙げられる。つまり、急性感染の早期発見による公衆衛生上の意義を追及するとすれば、これまでの HIV 感染症対策の基本であった「例外主義」から一般的な公衆衛生の施策への転換 (ノーマライゼーション) および公衆衛生の施策に対する医療機関のより積極的な関与が求められることが明確になった。

考察

関連文献の分析の結果から、感染症対策のノーマライゼーションに伴い倫理的に検討を要すると考えられる諸問題として、(i) 検査の実施および結果の告知などのインフォームドコンセントに関連する問題 (opt-in 方式から opt-out 方式

への移行や検査のルーティン化に伴う諸問題)、(ii) 感染経路およびパートナーなどへの追跡／通告による陽性者などのプライバシーの侵害の可能性、(iii) 医療機関の関与に伴う守秘義務との抵触の可能性などが挙げられる。以上より、倫理的な配慮をすることなく、感染者の早期発見のみを追及する施策を実施することはプライバシーなど感染者の人権を侵害する可能性のみならず、これまでの「例外主義」によって維持されていた感染拡大の予防の効果 (陽性者のプライバシーの保護の徹底による感染の潜伏化を防ぐことなど) にも影響を与える可能性が考えられる。

以上のように、本年度分析の対象とした諸文献は日本国外での議論を主として分析したものであるが、その分析からも急性感染者の早期発見の促進には倫理的な諸問題が発生する可能性が示唆されていた。急性感染の早期発見の促進を日本で試みるためには、上記の倫理的諸問題以外の論点の有無についても明確にしておく必要がある。特に HIV 感染症対策のノーマライゼーションを模索するにあたっては、それぞれの社会状況を考慮する過程が不可欠である。

結論

関連する文献の分析と並行して、日本での急性感染者の置かれている現状とその諸問題について調査する必要がある。医療従事者、NPO などの地域の支援者、そして陽性者自身を対象とした調査を実施する必要があるものとする。急性感染者が置かれている現状とその問題点の明確化、そしてその諸問題への具体的な対策がそのまま、日本での急性感染者の早期発見の促進につながる可能性もあるものとする。

研究発表

大北全俊、白阪琢磨、渡邊大：急性感染者の早期発見の促進に関する倫理的な課題について。第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会、愛知、2009 年 11 月

4

治療終焉のためのプロウイルスDNA等臨床指標の開発に関する研究

研究分担者：岩谷 靖雅（独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター 臨床研究センター）

研究要旨

HIV 感染症に対する多剤併用療法（HAART）の進歩によって、感染者の予後は大幅に改善されつつある。しかし、根治には至っておらず終生にわたって服薬の継続が求められている。そのため治療の長期化により、投薬効果と病態変化の的確なモニタリングが求められている。すなわち、現在の治療は、生涯にわたって血中ウイルス量を測定検出感度未滿に抑え続けることが最大目標となっており、感染者体内からの HIV 完全排除は将来的な目標と考えられていた。一方、近年インテグラーゼ阻害剤や CCR5 阻害剤等の新規な阻害機序による抗 HIV 薬剤が登場し、これらの新規薬剤の影響は、「治療の終焉」という悲願に対しての福音となる可能性は否定できない。そこで、その可能性を模索するために、本研究ではインテグラーゼ阻害剤のプロウイルス DNA 量への影響を明らかにすること、プロウイルス DNA を利用した HIV-1 のケモカインレセプター指向性を判定するデータベースを構築することを目的とし、2つの研究テーマ（インテグラーゼ阻害剤によるプロウイルス DNA 量の変動についての解析、ケモカインレセプター(CR)トロピズムを判定する Genotype Assay 構築に関する研究）について取り組み、初年度はアッセイシステムの構築を行った。

研究目的

長期化する HIV 感染症に対する多剤併用療法の投薬効果と病態変化の的確なモニタリングするためのプロウイルス DNA 等の臨床指標を開発する基礎的基盤を構築することを目的とする。

以下、2項目について取り組んでいる。

1) インテグラーゼ阻害剤によるプロウイルス DNA 量の変動についての解析

従来のプロウイルス DNA の定量では、細胞中に存在する複製途中の逆転写産物、2-LTR 遺伝子産物、インテグレーションしたプロウイルスの、全てが同時に検出されてしまっている。しかし、各 DNA 量の変動はウイルス学的、かつ臨床的指標としての意味が全く異なる。特に、2-LTR DNA は、インテグラーゼ阻害剤などによってインテグレーションが阻害されることによって一過的に増加する。PBMC 中の DNA の種別ごとに（逆転写途中の遺伝子産物、2-LTR、Integrated form）プロウイルス DNA を定量することによって、患者体内のウイルスの活動やインテグラーゼ阻害剤の効果などをモニターする指標として有用であると考え、詳細なプロウイルス DNA プロファイルと血中（細胞）ウイルス動態についての相関性を模索する研究を行う。

2) ケモカインレセプタートロピズムを判定する Genotype Assay 構築に関する研究

HIV のケモカインレセプター(CR)トロピズムは、感染者の病態進行と深く関連している。さらに、CR 拮抗薬マラビロック (MVC) の治療導入時には、その有効性を予測するために感染者がもつウイルスの CR トロピズムの判定は必要不可欠な状態になっている。しかし、その判定方法は、phenotype Assay を利用した特殊であるため、時間とコストが大きいという問題が生じている。さらに、この判定は、海外の検査会社に頼らざるを得ないのが現状である。もし、検体中のウイルスの遺伝子型から CR トロピズムを判定 (Genotype Assay) できれば、本邦だけでなく、世界各国で、現場レベルでの迅速判定 (検査) が可能になると考えられている。これを実現するためには、ウイルスの *env* 遺伝子配列の情報から、CR トロピズムを判定するデータベース作りが必要である。現在、いくつかの研究グループが *env* 遺伝子の V3 領域の配列情報からトロピズムを判定するデータベースを構築している。その一つに、Geno2pheno[coreceptor] (URL: <http://coreceptor.bioinf.mpi-inf.mpg.de/index.php>) がある。CR トロピズムは、V3 領域に配列で大きく変わるが、その他の *env* 遺伝子領域にも影響されるため、現存のデータベースだけでは、トロピズム判定の精度は低く過ぎる。そこで、本研究では、*env* (gp120) 遺伝子配列の情報とそれに呼応する CR トロピズムデータをプロウイルス DNA を用いて情報蓄積を行い、将来的な CR トロピズム Genotype Assay のた

めのデータベースの基盤作りを行うことを目的として研究を行う。

研究方法

1) 末梢 CD4 陽性 T リンパ球中のプロウイルス DNA のコピー数をリアルタイム PCR 法により定量した。図 1 に示すように、Early RT (逆転写初期遺伝子産物)、Late RT (逆転写後期遺伝子産物)、2-LTR、IF (Integrated Form) を検出した。定量系の確認実験には、逆転写酵素阻害剤 (AZT) あるいはインテグラーゼ阻害剤 (RAL:Raltegravir) で前処理した培養細胞 (MT-2) に HIV-1 NL43 を感染させた系を用いた。細胞数は、β2 M DNA コピー数 (細胞数を示す) で補正した。

2) HIV のケモカインレセプタートロピズムを判定するための *env* 遺伝子情報を解析する。

CR トロピズム (R5 と X4: CCR5 と CXCR4) の実験では、R5 あるいは X4 のどちらかを発現している CD4⁺ NP-2 細胞に、患者血漿検体 (ウイルス) を感染させる。それぞれの感染細胞よりプロウイルス DNA を抽出し、gp120 (*env*) 領域を TA クローニング法によりクローニングし、遺伝子配列を決定する。確認実験では、HIV-1 NL43 (X4 指向性) あるいは HIV-1 AD8 (R5 指向性) ウイルスを用いた。

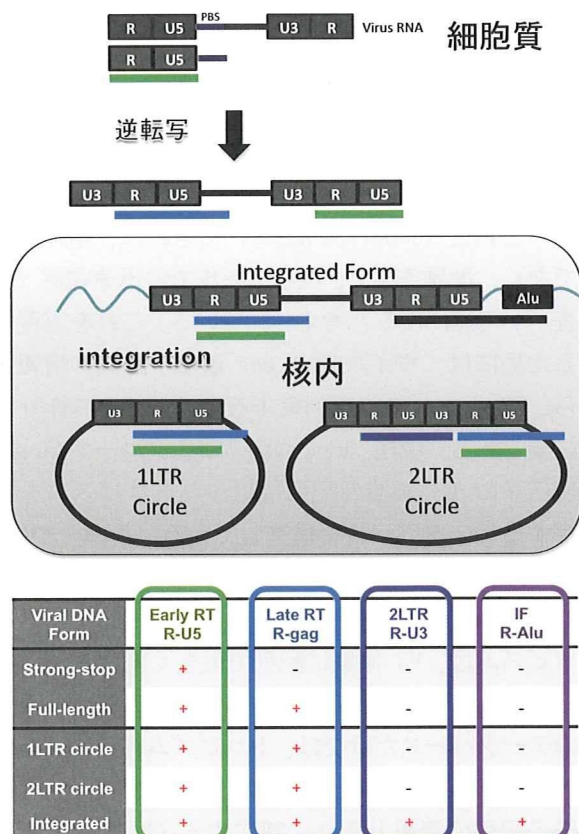


図 1 4 種のプロウイルス DNA を定量する

(倫理面への配慮)

ウイルス遺伝子配列解析に関して

HIV-1 のウイルス疫学調査では全て検体が匿名化されるため、万が一の情報漏洩の事態においても個人情報流出は起こらない。また、調査にあたっては疫学研究に関する倫理指針 (平成 19 年文部科学省・厚生労働省告示第 1 号) で定めた倫理規定等や臨床研究に関する倫理指針 (平成 20 年厚生労働省告示第 415 号) で定めた倫理規定等を遵守した。疫学的研究を実施する研究施設、独立行政法人国立病院機構名古屋医療センターにおける倫理委員会の承認は既に得た。

研究結果

1) インテグラーゼ阻害剤によるプロウイルス DNA 量の変動についての解析

インテグラーゼ阻害剤 (Raltegravir) を投与した患者の末梢 CD4 陽性 T リンパ球中のプロウイルスのコピー数を定量するリアルタイム PCR 法を確立した。培養細胞を用いた確認実験では、感染後 24 時間における各遺伝子産物は、Late RT は Early RT の 2/3、2-LTR は Late RT の 1/43、IF は Late RT の 1/5 で (RAL なしの場合、図 2) あり、RAL によるプロウイルス DNA 変動 (既に報告されている 2-LTR DNA が 3 倍増加する) (図 3) 現象は追試できた。既報のデータと同等で定量系が機能していることを確認した。この系を用いて、RAL 初回治療 6 症例の投与前後におけるコピー数の変動を解析したが、現在のところ、症例ごとのバラツキが大きく、RAL 投与におけるプロウイルス DNA の変動の規則性がつかめていない (図 4)。

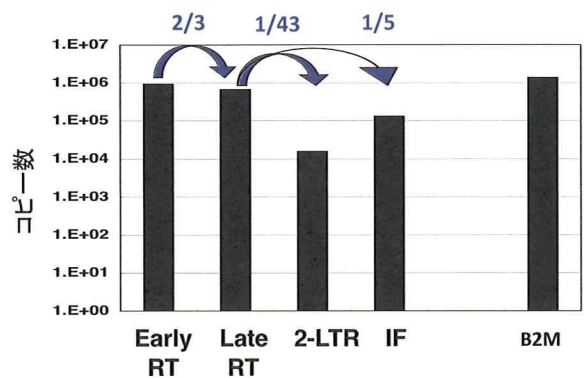


図 2 4 種 DNA を定量する系を用いて、感染細胞内の各 DNA の量を比較した