

## 治療後ウエスタンブロット法にて抗 HIV 抗体が陰性化し 持続している HIV-1 感染症の 1 例

独立行政法人国立病院機構九州医療センター内科・臨床研究センター

南 留美 高濱宗一郎 安藤 仁 山本 政弘

(平成 20 年 10 月 28 日受付)

(平成 21 年 2 月 10 日受理)

Key words: human immunodeficiency virus (HIV)-1, Western blot

### 序 言

ウエスタンブロット法 (WB 法) は, HIV 感染の確認検査として広く用いられており, 種々の HIV 構成タンパクに対する特異抗体を検出する方法である。これらの抗体は, 感染初期には産生量は少なく, 抗原に対する親和性も低いが, 時間の経過とともに抗原の暴露を受けることにより産生量が増加し, 親和性も高くなるといわれている。そのため, WB 法では通常, 感染から時間が経過するに従い, 検出される抗体の種類が増えていく。

今回, 初診時の WB 法にて 2 種類の抗体が検出されたにも係わらず, その後の経過中に抗体が消失した症例を経験した。抗体消失の機序を解明するため, 本症例での HIV 特異的抗原への反応性を評価し, 他の HIV 陽性患者との比較検討を行った。

### 症 例

症例: 41 歳, 男性。

主訴: 微熱。

既往歴, 家族歴: 特記事項なし。

現病歴: 2004 年 12 月頃より体重減少出現, 2005 年 3 月より微熱が認められるようになった。保健所にて抗 HIV 抗体 (PA 法, ELISA 法) 陽性を指摘され当院受診, CD4 陽性リンパ球数 (CD4) 37/μL, HIV-RNA  $3.4 \times 10^5$  コピー/mL であり, 胸部 CT にてすりガラス陰影を認めたため, 精査加療目的にて入院。なお, 5 年前の HIV スクリーニング検査は陰性であった。数カ月以内に HIV-1 感染のリスクはあったが, それ以前にも感染のリスクはあり, 正確な感染時期は不明であった。

入院時現症: 身長 175cm, 体重 65kg, 体温 37.5°C, 口腔内白苔は認めない。表在リンパ節触知せず, 胸腹部所見異常なし, 神経学的異常所見は認めない。

検査所見 (Table 1): 末梢血白血球 5,000/μL (リンパ球 10.3%), CRP 5.9g/dL, CD4 陽性 T 細胞数 37/μL, CD4/CD8 0.2, HIV-RNA  $3.4 \times 10^5$  コピー/mL, サブタイプ B。抗 HIV-1 抗体 (ELISA 法) 陽性, Western blot (WB) 法 gp160, p18 にバンドあり。IgG, IgA, IgM, IgG サブクラス異常なし, β-D-グルカン 42.6pg/mL, 喀痰 PCR *Pneumocystis jiroveci* 陽性, 抗酸菌陰性。胸部 CT にてすりガラス陰影を認める。

臨床経過 (Fig. 1): 入院後, PCP の治療を行ったが, 治療薬であるアトバコンに対しアナフィラキシー反応を示したため 28 病日に Hydrocortisone 100mg を使用した。その後, 喀痰より結核菌が検出されたため 58 病日より抗結核剤の内服を開始。76 病日から抗 HIV 薬の内服を開始した。93 病日より発熱を認め, 薬剤アレルギーおよび免疫再構築症候群の可能性を考え prednisolone を使用した (20mg/日×7日間, 10mg/日×7日間)。その後, 発熱は改善, 喀痰からの結核菌は消失, 胸部 CT の所見も改善したため退院となった。抗 HIV 薬開始後, HIV-RNA 量は徐々に低下し, 6 カ月後には感度 (50 コピー/mL) 以下となった。以後, ウイルス量は感度以下で経過している。HIV-DNA も同様に徐々に減少し 2006 年 4 月には検出感度以下となった。CD4 陽性細胞数は徐々に増加し 6 カ月後に 123/μL, 現在 300~400/μL にて経過している。HIV 抗体に関しては, WB 法 (ラブロット 1; 富士レビオ社) にて初診時 gp160, p18 にバンドが認められていたが, 2005 年 12 月以降, バンドは消失し, 2 年以上経過した現在でもその状態が持続している。PA 法による HIV-1 Ab (ジェネディア HIV-1/2 ミックス

別刷請求先: (〒810-8563) 福岡市中央区地行浜 1-8-1  
独立行政法人国立病院機構九州医療センター内  
科・臨床研究センター 南 留美

Table 1 Laboratory data on admission

CBC		Virology	
WBC	5,000 / $\mu$ L	Hbs Ag	(-)
Neut	76.5 %	HCV Ab	(-)
Ly	10.3 %	CMV IgG (EIA)	68.3
Mono	7.6 %	CMV IgM	0.43
Eos	5.6 %	CMV/C7HRP	(-)
RBC	5,230,000 / $\mu$ L	VZV IgG (EIA)	31.6
Hb	15.3 g/dL	HSV IgG (FA)	$\times$ 24.4
Ht	46.8 %	HHV-6 IgG (FA)	$\times$ 160
PLT	143,000 / $\mu$ L	EB EA-DR IgG (FA)	< 10
		EB VCA IgG (FA)	$\times$ 160
		measles (EIA)	35.3
Serology/Immunology		Infection	
CRP	5.99 g/dL	$\beta$ -D glucan	42.6 pg/mL
IgG	1,389 mg/dL	< PCR analysis of sputum >	
IgA	454 mg/dL	TB	(-)
IgM	98 mg/dL	MAC	(-)
		PCP	(+)
CD4	37 / $\mu$ L	HIV-RNA (subtype B) 340,000 copies/mL	
CD4%	8 %		
CD8	264 / $\mu$ L		
CD8%	61 %		
CD4/8	0.2		

EIA: Enzyme Immunoassay, FA: fluorescence antibody technique

TB: tuberculosis, MAC: Mycobacterium Avium complex, PCP: Pneumocystis Pneumonia

PA: 富士レジオ社), ELISA 法による HIV-1 Ag/Ab (2005年3月, 4月, 12月はジェンスクリーン HIV Ag-Ab; 富士レジオ, 2007年5月はアーキテクト HIV Ag/AB コンボアッセイ; アボットジャパンにて測定) においても titer が徐々に低下し, 2005年12月以降は陰性化した。なお, PA 法に関しては他の測定キット (セロディア HIV (Type 1): 富士レジオ) にて測定を行い, 128倍 (2005年12月) であった。

#### 方 法

本症例の HIV-1 抗原に対する反応性を評価し, 他の HIV-1 感染者との比較を行った。対象は本症例および当院通院中の HIV-1 陽性者 10名 (ステロイド使用歴あり4名, ステロイド未使用かつ抗 HIV 薬投与中3名, ステロイド未使用かつ抗 HIV 薬投与中3名) (Table 2)。末梢血単核球を分離し Phytohemagglutinin-P (PHA) (2 $\mu$ M), および HIV-1 Gag p24 (1 $\mu$ M; コスモバイオ), HIV-1 Gag p17 (0.2 $\mu$ M; コスモバイオ), HIV gp41 (0.2 $\mu$ M; Fitzgerald Industries Internal Inc) で刺激, 72時間後に, ①リンパ球増殖試験 (CellTiter 96 Aqueous One Solution Cell proliferation Assay: Promega), ②IFN- $\gamma$  mRNA の定量 (real-time RT-PCR 法), ③培養上清の IFN- $\gamma$  の濃度の測定 (human IFN- $\gamma$  ELISA high sensitivity; Bender MedSystems) を行った。測定は, 各々の症例につき2回ずつ行った。有意差は student t-test にて検定し  $p < 0.05$  を有意差ありとした。

#### 結果 (Fig. 2)

本症例の末梢血から分離した単核球は, PHA に対しては, リンパ球刺激試験, IFN $\gamma$  mRNA 発現量, IFN $\gamma$  産生量, いずれにおいても反応を示した。一方, HIV 特異抗原に対する反応は, 上記のいずれにおいても HIV 非感染者と同様, 反応は認められなかった。他の HIV 感染者においては HIV 特異抗原に対し反応を示した。p24 や p17 に対する反応は, ステロイド投与群や抗 HIV 薬投与群では, 未治療者群に比べ低下していた。gp41 に対する反応においても, ステロイド投与群や抗 HIV 薬投与群では, 未治療者群に比べ反応が低下する傾向があった。

#### 考 察

HIV 感染症の診断は, 血清中の抗 HIV 抗体や HIV 抗原, HIV 遺伝子の検出にて行う。まず, 粒子凝集反応 (PA 法), ELISA 法などの高感度スクリーニング検査で HIV 抗体, および HIV 抗原/抗体を検出する。スクリーニング検査には偽陽性が約 0.3% 認められるため, 陽性の場合には WB 法や HIV-RNA 量の確認検査を行い診断する。WB 法は HIV-1 のコア蛋白 (p17, p24, p55), ポリメラーゼ (p31, p51, p66), エンベロープ (gp41, gp120, gp160) に対する抗体を検出し gp120/160 と gp41 もしくは p24 に対する抗体が認められる場合に陽性とする。抗 HIV 抗体が偽陰性になる確率<sup>1)</sup>は, 0~2% と調査地域の HIV 感染率や検査対象によっても異なる。Farzadegan H らの薬物使用者 (intravenous drug users; IVDUs) を対

Fig. 1 Clinical course.

Peripheral blood HIV-1 RNA load (HIV-RNA), CD4 positive T lymphocyte counts (CD4), HIV-1 Ag/Ab ELISA (ELISA), patterns of Western blot results are shown.

PCP; Pneumocystis pneumonia, TB; Tuberculosis, ART; antiretroviral therapy, ELISA; enzyme-linked immunosorbent assay.

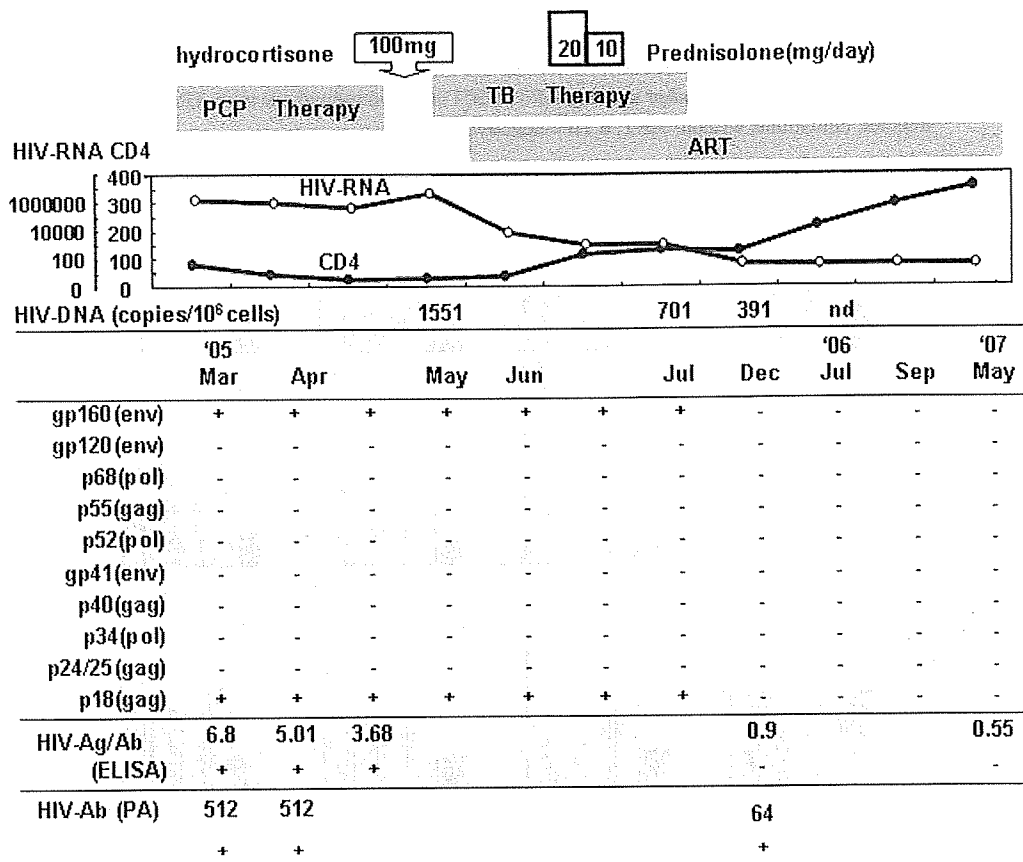


Table 2 Patient profiles

	Age	CD4 (present)	HIV-RNA (present)	ARV Duration (years)	CD4 (min) (μL)	Steroid use	Steroid dose (max)
Case	41	345	< 50	2.4	7	before ART	Hydrocortisone 100mg
1	36	809	< 50	2	148	after ART	PSL 20mg
2	35	874	< 50	1	236	before ART	mPSL 500mg
3	37	231	< 50	2	15	after ART	mPSL 500mg
4	49	514	< 50	3.6	4	after ART	PSL 20mg
5	47	595	< 50	3.5	111	—	PSL 30mg
6	50	551	< 50	1	262	—	0
7	30	513	< 50	1.8	243	—	0
8	39	455	13,000	0	455	—	0
9	29	498	4,300	0	245	—	0
10	30	325	8,400	0	224	—	0

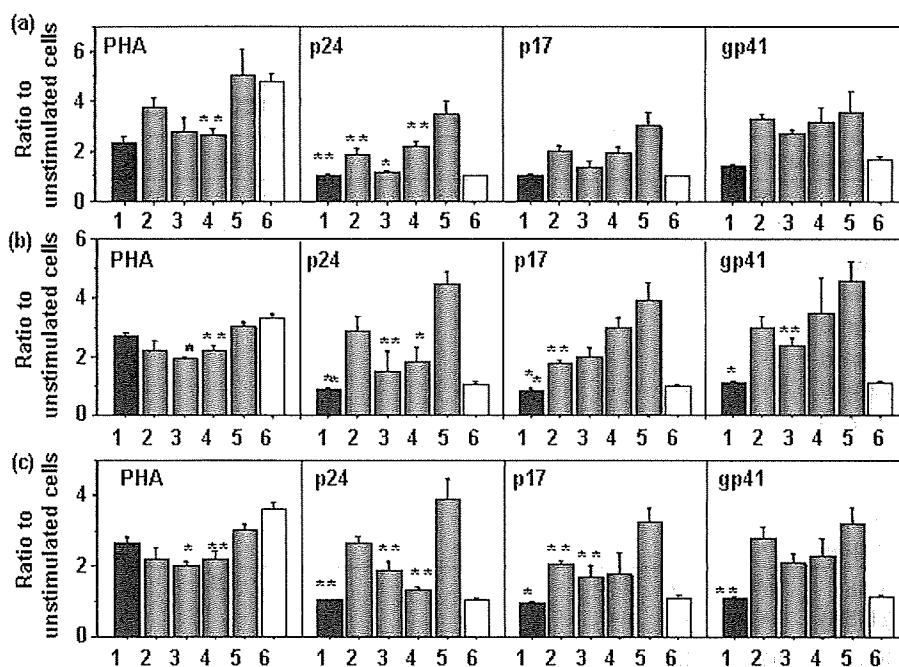
CD4 (min): minimum CD4 T lymphocyte counts during clinical course.

Steroid dose (max): maximum steroid dose use during clinical course.

象とした研究では 0.3%<sup>2)</sup>, Gibbonns J らの血友病を対象とした研究では 1.8% と報告されている<sup>3)</sup>. 偽陰性の原因としては, (1) ウィンドウ期, (2) 抗体の消失: 進行した免疫不全状態や, 急性期に抗 HIV 剤を

開始した場合など, (3) 無 γ グロブリン血症, (4) HIV-2 感染, (5) ウイルス側の要因, (6) 検査技術の問題, (7) 原因不明, などが挙げられる. 本症例の場合, 感染が判明してから 2 年以上が経過しており, (1) のウ

Fig. 2 Response of the peripheral blood mononuclear cells (PBMC) to HIV-specific protein.  $5 \times 10^4$  PBMCs were incubated in triplicate with PHA ( $2 \mu\text{M}$ ), Gag p24 ( $1 \mu\text{M}$ ), Gag p17 ( $0.2 \mu\text{M}$ ), gp41 ( $0.2 \mu\text{M}$ ) for 3 days. (a) Proliferation assays were performed with a Cell proliferation Assay kit. (b) IFN $\gamma$  mRNA expression of PBMC was evaluated by quantitative RT-PCR. (c) Secretion of IFN $\gamma$  to the culture medium was assayed using an ELISA. Results are expressed as the ratio of data of PBMC with antigens to data of PBMC without antigens. \*  $p < 0.01$ , \*\*  $p < 0.05$  vs. patients without antiretroviral therapy (Student *t*-test). 1. case, 2. HIV-infected individuals with steroid use before starting ART, 3. HIV-infected individuals with steroid use after starting ART, 4. HIV-infected individuals with ART, 5. HIV-infected individuals without ART, 6. HIV-negative controls.



インドウ期とは考えにくい。また IgG は正常範囲であり、麻疹やヘルペスウイルス属に対する抗体は検出されているため、(3) の無 $\gamma$ グロブリン血症も否定的である。HIV-1 の RNA は PCR で検出されており、HIV-2 に対する抗体は WB 法にて陰性であった。検査は再検にて確認されており、また PA 法や ELISA 法による HIV 抗体は、他の測定キットでも同様の結果であったため、技術的な問題も考えにくい。ウイルス側の要因としては、HIV-1 の HLA-I もしくは HLA-II 拘束性のエピトープが変異することにより HIV が T 細胞からの認識を妨げている場合があるという報告がある<sup>9)</sup>。本症例の場合、*in vitro* にてリコンビナントの p24, p17, gp41 に対する反応がいずれも低下しており、ウイルス側の要因ではなく、宿主側の要因が主体であると考えられる。以上より、本症例では、何らかの要因により HIV に対する抗体が消失したと考えられる。実際、初診時に認められた gp160, p18 に対する抗体は、6 カ月後には、消失している。Fig. 2 に示すように、本症例は p24, p17, gp41 に対する反応が消失していた。他の症例は、いずれも HIV 抗原に対する反応性は保たれていたが、ステロイド投与群、

抗 HIV 剤投与群では、未治療者に比べ、反応性が低下していた。ステロイドの使用により HIV 特異的 CTL が抑制され HIV-1 タンパクに対する反応性が低下したという報告がある<sup>9)</sup>。また抗 HIV 薬の影響については、抗 HIV 薬そのものが、免疫系に影響を与えるという報告<sup>6)</sup>、および抗 HIV 薬にて抗原刺激 (体内の HIV) が減少するために HIV 特異的 CTL や HIV に対する抗体の産生が抑制されるという報告がある<sup>7)</sup>。後者に関連して、急性感染時期の抗 HIV 薬導入により、抗体の陽転化が遅延したという報告<sup>8)9)</sup>や、垂直感染時の早期の抗 HIV 薬導入により HIV 特異的 CTL が消失した症例の報告がある<sup>10)</sup>。本症例では、感染時期の同定は出来ないが、HIV-1 への反応が不十分な時期にステロイドの使用および抗 HIV 薬の導入を行い、抗原刺激の減少 (HIV-RNA, HIV-DNA の減少) とともに、HIV-1 に反応するリンパ球のクローンが消失した可能性がある。

今回、我々は抗 HIV 抗体が WB 法による判定で長期間陰性で、HIV 抗原に対する *in vitro* の反応も消失している HIV-1 感染症の症例を経験した。今回の症例は HIV に対する免疫機構を考える上で興味深い症

例と考えられる。また、本症例は、末梢血中の HIV-1 RNA が検出感度以下であり、抗 HIV-1 抗体も検出されないことから、標準的な検査では、HIV-1 感染陰性と判定され得るため注意が必要である。

謝辞：抗 HIV 抗体測定にご協力いただきました富士レビオ社に深謝いたします。また、「HIV-1 抗原に対する反応性」の実験にご協力いただきました高橋真梨子氏に深謝いたします。

#### 文 献

- 1) Van de Perre P, Simonon A, Msellati P, Hitimana DG, Vaira D, Bazubagira A, *et al.* : Postnatal transmission of human immunodeficiency virus type 1 from mother to infant. A prospective cohort study in Kigali, Rwanda. *N Engl J Med* 1991 ; 325 : 593—8.
- 2) Farzadegan H, Vlahov D, Solomon L, Muñoz A, Astemborski J, Taylor E, *et al.* : Detection of human immunodeficiency virus type 1 infection by polymerase chain reaction in a cohort of seronegative intravenous drug users. *J Infect Dis* 1993 ; 168 : 327—31.
- 3) Gibbons J, Cory JM, Hewlett IK, Epstein JS, Eyster ME : Silent infections with human immunodeficiency virus type 1 are highly unlikely in multitransfused seronegative hemophiliacs. *Blood* 1990 ; 76 : 1924—6.
- 4) Harcourt GC, Garrard S, Davenport MP, Edwards A, Phillips RE : HIV-1 variation diminishes CD4 T lymphocyte recognition. *J Exp Med* 1998 ; 188 : 1785—93.
- 5) Harrer T, Bäuerle M, Bergmann S, Eismann K, Harrer EG : Inhibition of HIV-1-specific T-cells and increase of viral load during immunosuppressive treatment in an HIV-1 infected patient with Chlamydia trachomatis induced arthritis. *J Clin Virol* 2005 ; 34 : 224—30.
- 6) Angel JB, Parato KG, Kumar A, Kravcik S, Badley AD, Fex C, *et al.* : Progressive human immunodeficiency virus-specific immune recovery with prolonged viral suppression. *J Infect Dis* 2001 ; 183 : 546—54.
- 7) Pitcher CJ, Quittner C, Peterson DM, Connors M, Koup RA, Maino VC, *et al.* : HIV-1-specific CD4+ T cells are detectable in most individuals with active HIV-1 infection, but decline with prolonged viral suppression. *Nat Med* 1999 ; 5 : 518—25.
- 8) Selleri M, Orchi N, Zaniratti MS, Bellagamba R, Corpolongo A, Angeletti C, *et al.* : Effective highly active antiretroviral therapy in patients with primary HIV-1 infection prevents the evolution of the avidity of HIV-1-specific antibodies. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007 ; 46 : 145—50.
- 9) Rosenberg ES, Altfeld M, Poon SH, Phillips MN, Wilkes BM, Eldridge R, *et al.* : Immune control of HIV-1 after early treatment of acute infection. *Nature* 2000 ; 407 : 523—6.
- 10) Luzuriaga K, McManus M, Catalina M, Mayack S, Sharkey M, Stevenson M, *et al.* : Early therapy of vertical human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection : control of viral replication and absence of persistent HIV-1-specific immune responses. *J Virol* 2000 ; 74 : 6984—91.
- 11) Desai N, Mathur M, Abu-Lawi K : HIV-1 seronegativity in a child with proved perinatal HIV infection on HAART. *Sex Transm Infect* 2005 ; 81 : 377—9.

### A Case of HIV-1 Infection that Showed Western Blot Analysis for HIV-1 Negative After Antiretroviral Therapy

Rumi MINAMI, Soichiro TAKAHAMA, Hitoshi ANDO & Masahiro YAMAMOTO

Internal Medicine, Clinical Research Institute, National Hospital Organization, Kyushu Medical Center

Western blot (WB) is the most widely accepted confirmatory assay for detecting antibodies to the human immunodeficiency virus 1 (HIV-1). We report the case of an HIV-1 patient whose WB was negative for over two years.

A 41-year-old Japanese man with Pneumocystis pneumonia (PCP) and pulmonary tuberculosis referred in March 2005 was found to have positive HIV-1 ELISA and HIV RNA PCR, but HIV-1 WB with only two bands, at gp160 and p18, and no WB HIV-2 band. The CD4 count was 37/μL, and total immunoglobulin, IgG, IgM, and IgG subclasses were normal. The man was treated for PCP and pulmonary tuberculosis, then underwent antiretroviral therapy. He had taken short-terms steroids to treat a drug allergy and immune reconstitution syndrome. Six months later, his serological ELISA tests for HIV-1 and HIV DNA PCR were negative and WB showed no positive band. The CD4 count recovered gradually, and exceeded 350/μL two years later, but WB remained negative. Lymphoproliferative assays and interferon  $\gamma$  expression against HIV-p17, p24, and p41 were studied and compared to those of other HIV-1 infected patients. Our patient showed no response to p17 or p24 and only a weak response to p41. Other patients showed a response to HIV-antigens, but patients with antiretroviral therapy or with histories of steroid use responded more weakly than those with neither. These findings show that HIV-specific lymphocytes decline with antiretroviral therapy and steroid treatment within early HIV infection. It is therefore important to interpret negative serological tests carefully in patients such as ours.

[J.J.A. Inf. D. 83 : 251~255, 2009]

〈調査報告〉

## HIV/AIDS 患者に対する 医療ソーシャルワーカーの地域連携行動

田 中 千枝子  
本 名 靖

(要旨)

医療財資源の効率化を目的にした、第五次医療法改正の目玉である4疾患5事業制度が始まった。各疾患や事業ごとの地域連携を促進する仕組みである。それに先駆けて、HIV/AIDS医療体制でも整備事業が行われている。これはHIV/AIDSに関するブロック・中核の各拠点病院間また拠点・非拠点病院間の地域医療連携体制づくりの試みである。そこでは医療ソーシャルワーカーには、ミクロレベルの個別事例の直接支援のための連携のみならず、組織や地域に介入するメゾからマクロレベルの連携行動が必要とされる。しかし従来病院に所属している医療ソーシャルワーカーはミクロレベルへの直接介入のサービスマネジメントにとどまり、組織や地域に展開するメゾ・マクロレベルの連携行動としてのソーシャルワークを、通常業務として行っているとは言いがたい状況にあるのではないかと考えられた。

そこでHIV/AIDSに対する医療ソーシャルワーカーの地域連携活動についての認識とその実態について、全国の全拠点病院(368名)、非拠点病院(800名)のソーシャルワーカーに対して量的調査を平成20年12月から21年1月にかけておこなった。回収率は前者50.8%で、後者で43.8%であった。調査の結果、回答を行った拠点病院の75%のソーシャルワーカーはHIV/AIDS事例体験を有しており、非拠点病院では15%であった。対象の集団は、専門職団体である日本医療社会事業協会会員とほぼ同じ基本属性を持つ集団であり、性別で8割弱が女性、8割弱が社会福祉士資格をもち、拠点病院ではさらに精神保健福祉士や介護支援専門員資格も3~4割程度と有意に多く持っていた。しかし拠点病院のソーシャルワーカーの経験年数は非拠点病院よりも有意に少なく、比較的若年層が多かった。

HIV/AIDS拠点および有事例者集団の連携行動の特徴は、メゾのチーム・組織レベルでの認知や理解は得られており、また経験を積んでいることによって、外部との連絡を自分なりに吟味して動き出すという専門職としての自律性を有していることが分かった。また事例経験のないソーシャルワーカーほど、他組織との連携の必要を強調しているが、経験を積み積むほど、拠点病院として他のスタッフや組織的な認知が深まっていると思われる状況では、むやみに他と連携す

るような行動とはならず、状況をアセスメントした上で、必要な連携の形を吟味していることが推察された。

さらに有事例者のみに対して、保健師や地域権利擁護専門員を対象に信頼性妥当性があるとされる筒井の4領域15項目にわたる地域連携活動尺度を援用した。その結果HIV/AIDSへのメゾレベルへの介入行動としての連携活動は、地域に軸足を置くコミュニティワーカーとしての保健師や、権利擁護専門員とは異なる連携の型を持っていることが考えられた。それは病院内に軸足を置きながら、組織の人間として地域や組織をアセスメントし、組織の代表として地域と繋がっていかうとする行動と関連があるように考えられた。この点の具体的な確認作業が今後の課題であると考えられる。

病院機能分化 地域医療連携 地域連携活動尺度 医療ソーシャルワーカー HIV/AIDS

## I はじめに

病院の機能分化と地域連携の促進は効率的な医療財資源の使用をめざしている。病院に所属する医療ソーシャルワーカーの業務は、その機能分化の流れに大きく左右されており、退院支援および地域との連携業務が大きな焦点となっている。特定機能、急性期、回復期、療養型といった病院機能の相違と急性期から慢性期への一方向の流れは、主に脳卒中を中心とした高齢退行性疾患に対応する機能分化である。しかしそれ以外の疾患に対しても、拠点病院の指定と非拠点病院との連携といった地域の仕組みで対応するようになってきた。第5次医療法改正で疾患別・事業別の医療連携が注目され、4疾患5事業として、脳卒中以外に癌や心筋梗塞、小児、災害、へき地といった対象に対し、連携システムが整備され始めた。この間医療ソーシャルワーカーは総合相談室ではなく地域連携室に配置されるようになり、病院機能の純化・促進役として、社会的に期待されることが多くなった。しかしその連携に関する業務行動のあり方については、ミクロの対人支援のレベルでは、病院スタッフとして機能分化の促進役であり、患者側の生活の継続性を大切にする専門職志向との間で板挟みになりがちであることが指摘されている<sup>(1)</sup>。

一方それらの拠点病院の指定およびシステム整備に先行して、HIV/AIDSの領域では平成15年度より国指定のブロック拠点病院、都道府県指定による地域中核拠点病院に分類された。従来からこの領域の医療は特定の病院に患者が集中し、また偏見・差別を畏れた患者が地元を嫌って遠方に通うなど、システムティックな地域分担ができにくいといった問題があった。また入院よりも外来での対応数および受療ニーズが圧倒的に多く、若者が多い患者の生活実態の多様さや見えにくさから、受療行動の維持をサポートしにくいことなどが、機能分化と連携の課題としてあげられている<sup>(2)</sup>。

さらにHIV/AIDSが新薬開発等により「死に至る病」から慢性疾患となり、患者は長期間継続して、地域で社会生活を送ることが大きな課題となってきた。そこで拠点病院内および周辺機関との「線の連携」のみならず、地域の非拠点病院や診療所、医療の他、介護・福祉機関や施設

との「面の連携」として、メゾレベルの介入である地域連携を行う必要性が大きくなってきた<sup>(4)</sup>。そして地域の側からは、患者の高齢化や合併障害、疾病の進行、重度化により、感染症としての HIV/AIDS の治療ケアと、通常的生活介護サービスとの両立が地域資源に求められることにより、中核拠点病院に協力する例が多くなってきた。しかし地域施設・機関がサービス提供を拒否・制限するなど、権利侵害などの事例も散見され、そうした面でもミクロの直接支援のみならず、メゾレベルの地域連携を行う医療ソーシャルワーカーの姿勢や活動手法が問われている。

本調査では、HIV/AIDS 医療体制整備に関する医療ソーシャルワーカーの地域連携の実態とその方法をとらえる。さらに医療ソーシャルワーカーが、地域連携のあり方をどのように考え、どのような手法を持ち、連携に取り組んでいるのかについてデータを得ることは、保健医療領域におけるソーシャルワークの地域活動による「連携」のあり方とその方法論を検討するための基礎資料となると考える。

## II 調査目的

HIV/AIDS 患者が、地域で安定した保健・医療・福祉・介護サービスを受けられるよう、日頃行っている、組織や地域に対する介入であるメゾレベルの連携行動をとらえることで、医療ソーシャルワーカーの地域連携のあり方に対する認識や方法の実際を把握することを目的とした。

本論で使用する地域連携行動とは、様々な連携に関する見解がある中<sup>(4) (5)</sup>で、「異なる専門職や機関・組織が、地域で生じる問題のよりよい解決のために、共通の目的をもち、情報の共有化を図り、協力できるようにする体制づくりのためのメゾレベルの介入行動」と定義した。

## III 調査方法

平成 20 年度における HIV/AIDS の全国のブロック拠点（国指定 14 カ所）および中核拠点（都道府県指定 48 カ所）病院、および診療拠点（契約 310 カ所）病院の合計 368 カ所（ブロックと中核の二重指定 4 カ所）に所属する医療ソーシャルワーカー 368 名と、日本医療社会事業協会に所属しており、かつ拠点に指定・契約していない非拠点病院のソーシャルワーカーのうち、多層抽出法による 800 名を対象に、郵送調査を 2008 年 12 月 15 日～09 年 1 月 15 日にわたって行った。

調査内容は、1) 基本属性（性別、年齢、ソーシャルワーク経験年数、HIV/AIDS に対するソーシャルワーク（以下 HIV-SW）経験年数、経験事例件数、所属部門、雇用形態、役職、所持資格、最終学歴、教育背景）、2) HIV-SW に関する基本情報（HIV 学習経験、HIV-SW の関心領域、チームレベルの連携活動の内容と程度、連携経験、担当事例総数）、3) HIV-SW における地域連携活動尺度（4 領域 15 項目）である。

HIV 医療は患者数が少なく特定病院に集中する特徴があることから、患者数が多い拠点病院



と患者数が少ない非拠点の群に二分し比較することによって、日本における HIV-SW の現状ととくにソーシャルワーカーとしての連携の手法に関して、その特徴を描いた。これら2グループの表記は、拠点病院と非拠点病院とした。

また調査に使用した連携活動尺度は、筒井らが『地域福祉権利擁護事業に携わる「専門員」の連携活動の実態と「連携活動評価尺度」の開発』<sup>(6)</sup> で使用したものであり、その後『全国の市区町村保健師における「連携」の実態に関する研究』<sup>(7)</sup> で追試された。連携得点の平均と構成概念としての4因子(①情報共有 ②業務協力 ③関係職種との交流 ④連携業務の処理と管理)の確認がなされており、隣接職種の連携行動との比較をすることで HIV/AIDS 医療体制におけるソーシャルワーカーの連携の内実を検討することができる。なお保健師や地域権利擁護事業担当者に対する4領域15項目の連携尺度の信頼性、妥当性は、下位尺度によっては信頼性にやや検討の余地が残されているもののおおむね良好<sup>(8)</sup>という結果を得ている。

倫理的配慮として、調査票の巻頭に研究の主旨と、調査内容は統計的に処理し、研究の目的以外使わない旨を明記した。また調査票の不備に対する追加聴取を想定し、原則記名で依頼したが、無記名でもかまわない旨のことわりをおこなった。

#### IV 調査結果と考察

##### 1. 回収率等

拠点病院 187 名(回収率 50.8%)、非拠点病院 344 名(同 43.0%)から回答を得た。ただし HIV/AIDS 患者に、回答した全てのソーシャルワーカーが会う体験をしている訳ではなく、事例を受け持った体験のある人の割合は、拠点病院で 133 名(74.3%)非拠点病院では 58 名(16.9%)であった。ただし体験のないものも調査に回答した点から、HIV-SW に対する興味と関心の比較的高い医療ソーシャルワーカーの集団と見ることができる。

そこで基本属性および HIV-SW の実態とそのあり方についての項目は回答者全体、合計 539 名に対して、拠点・非拠点の比較分析を行った。さらに実際の連携活動に関わる尺度の援用については、203 名の経験者集団のみをとりあげて分析し分けた。なお属性項目によって、有効回答数が異なっているために、合計数が異なっている。

##### 2. 基本属性

###### 1) 性別

男女比は 3:7 で、日本医療社会事業協会の会員調査(2008)と比較し、やや男性が多い集団であり、かつ拠点病院の方が非拠点病院に比較して 10%レベルで女性に高い有意差が見られた。なお拠点病院のソーシャルワーカーも、医療ソーシャルワーカーの職能団体である日本医療社会事業協会に所属しているものが多い。つまり回答者群は、専門職団体である協会の平均よりも、拠点病院では女性の比率が高く、非拠点病院では男性の比率が高い。

表1 病院種別と性別

	男 性	女 性	合 計
拠点病院	48 (25.7)	139 (74.3)	187 (100)
非拠点病院	116 (33.7)	228 (66.3)	344 (100)
合 計 (%)	164 (30.9)	367 (69.1)	531 (100)

p&lt;.055

## 2) 年 齢

年齢構成は20代が全体の4分の1、30代が4割近くと比較的若い集団である。しかし40代以上の中堅ベテラン層が4割以上あり、拠点病院と非拠点病院との間での有意差はなかった。

## 3) 最終学歴

大学卒以上が9割を超え、社会福祉職の集団としては高学歴である。しかし日本医療社会事業会員調査との差異はなく、さらに拠点病院・非拠点病院での有意差はなかった。

## 4) 経験年数

経験年数を中央値で分けて2グループを作成した。経験年数が短いグループと経験年数が長いグループである。この結果、1%レベルで有意差が確認された。従って、拠点病院で働くソーシャルワーカーは非拠点病院で働くソーシャルワーカーより明らかに経験年数が短い比率が高いという結果であった。

表2 年齢階層

年 齢	人数 (%)
20代	137 (25.4)
30代	213 (39.5)
40代	109 (20.1)
50代	77 (14.2)
60代以上	3 (0.6)
合 計	539 (100)

表3 最終学歴

最終学校	人数 (%)
大 学 院	28 (5.2)
大 学	465 (85.8)
短大・高専	17 (3.1)
専 門 学 校	24 (4.4)
そ の 他	5 (0.9)
合 計	539 (100)

表4 病院種別と経験年数

	経験 0-9 年	経験 10 年以上	合 計
拠点病院	117 (62.2)	71 (37.8)	188 (100)
非拠点病院	162 (47.4)	180 (52.6)	342 (100)
合 計 (%)	279 (52.6)	251 (47.4)	530 (100)

p&lt;.001

表 5 病院種別と資格

資 格		有意差	拠点/非拠点
社会福祉士		—	
精神保健福祉士	**	p<.004>	拠点>非拠点
介護支援専門員	**	p<.001>	拠点>非拠点
臨床心理士		—	
社会福祉主事		—	
介護福祉士		—	

5) 資 格

資格に関して、社会福祉士資格は全体で 78.3%が所持し、拠点病院と非拠点病院との間に有意差はなかった。精神保健福祉士 (29.1%)、介護支援専門員 (47.1%) の資格で、拠点の方が多し有意差がみられた。社会福祉士に関してはほぼ同じ割合であったが、これは日本医療社会事業協会会員調査とほぼ同じ割合であるが、社会福祉の専門職集団としては資格所持率が非常に高い。

6) HIV の事例体験件数

HIV の事例に出会った件数で 2 種類の比較を試みた。出会った経験の有無 2 グループと拠点病院と非拠点病院で検定したものである。次に、経験がない人を除いて、経験事例件数の中央値で 2 グループを作成し、同様の検定を試みた。

HIV 感染症患者に出会ったことがあると回答した拠点病院ソーシャルワーカーの比率が有意に高く、また出会ったことがない非拠点病院ソーシャルワーカーの比率も有意に高かった。しかし患者が拠点病院に集中している中で、拠点病院ソーシャルワーカーの 46 名 (25.7%) が、HIV 感染症患者の事例と出会ったことがなく、逆に非拠点病院のソーシャルワーカーの 58 名

表 6 病院種別と経験の有無

	経験なし	経験あり	合 計	
拠点病院	46 (25.7)	133 (74.3)	179 (100)	
非拠点病院	285 (83.1)	58 (16.9)	343 (100)	
合 計 (%)	331 (63.1)	191 (36.6)	522 (100)	p<.000

表 7 病院種別と経験件数

	4 事例まで	5 事例以上	合 計	
拠点病院	52 (39.1)	81 (60.9)	133 (100)	
非拠点病院	44 (75.9)	14 (24.1)	58 (100)	
合 計 (%)	96 (50.3)	95 (49.7)	191 (100)	p<.000

表 8 病院種別と HIV-SW 経験年数

	経過 0-5 年	経過 6 年以上	合 計
拠点病院	98 (68.1)	46 (31.9)	144 (100)
非拠点病院	32 (54.2)	27 (45.8)	59 (100)
合 計 (%)	130 (64.0)	73 (36.0)	203 (100)

p<.062

(16.9%) が、またそのうち 5 事例以上体験したとする 16 名が HIV/AIDS 患者に出会い、実際ソーシャルワーク介入をしている点、今後の拠点と非拠点を含めた関係機関について地域連携との関係で着目すべきであろう。

### 7) HIV-SW 実践経過年数

最初に HIV-SW を実践してからの経過年数を中核施設・拠点病院とその他の病院の比率を検定したものが上の表である。中核施設・拠点病院 SW の経過年数の短い割合が高い傾向にあり、非拠点病院は経過年数が長い人の割合が高い傾向にあった。これは拠点病院のソーシャルワーカーの年齢が若いことと連動していることが考えられる。

### 3. HIV-SW のチーム組織レベルの連携について

HIV-SW の個別事例から組織への展開を行うマイクロからメゾレベルの連携行動について、HIV-SW 経験の有無を問わず、その組織やチームレベルの連携に関する基礎的な認識とアセスメントの視点及びその動き方について聞いた。聴取項目は 7 項目である。この項目は HIV/AIDS 患者の事例体験者 3 名に対して、「HIV-SW のチームワークを実施するにあたって、重要なものは何か」とするリサーチクwestions をたて、フォーカスグループインタビューによって抽出した項目である。

その結果は拠点・非拠点、および HIV-SW 経験の有無によって回答の次元が異なることが考えられるため、回答の質が変化することを考慮しつつグループ別にみていった。

表 9 病院種別と HIV-SW 経験の有無と連携行動

連 携 行 動	拠点/非拠点	経験の有無
事務的のうち合わせ以外の関係機関との連携	φ	***
職場の上司への相談できる雰囲気	***	***
外部機関や専門家への相談	***	***
地域連携への職場の応援	***	—
組織内紹介ルートの確保	***	***
HIV に関するスタッフの理解	***	***

φ p<.1    \*p<.05    \*\*p<.01    \*\*\*p<.000

1) 事務的うち合わせ以外の関係機関との連携

うち合わせ以外の関係機関との連携については、非拠点、また事例体験なし群の方が、行う又は行うであろうと答えている。これは HIV-SW 活動実態としては、うち合わせ以外の関係機関との連携活動を実施していない傾向があるとの結果である。実際は事務的うち合わせや調整で完結するミクロレベルの連携が主に行われていることが考えられる。事例によっては、それで十分な場合もあり早計な判断は下せないが、メゾレベルの地域連携を視野に入れた実践が行われにくい実態があることも考えられる。

2) 上司へ相談できる雰囲気

拠点および有事例のソーシャルワーカーの群が有意に多かった。これはこれらの群の方が従来相談してきたソーシャルワーカー側の実績や相談に足りる能力等の下地があることが推察される。

3) 外部機関や専門家への相談

拠点および有事例の群は「相談しない」が有意に高かった。これはこれらの群は問題が生じた場合すぐに相談すると言うよりも、相談するかしないかの見立てをもって、しなくても活動が可能になっているということ、また非拠点および無事例群は、外部に相談しないと支援が始まらないと考えていることが考えられる。いずれにしても HIV-SW の特殊性の認識が基底にあると考えられる。

4) 地域連携への職場の応援

拠点の方が非拠点よりもその応援態勢が有意に積極的であった。しかし事例の有無には関連がなかった。この設問のみ拠点と有事例とが分かれた。これは有事例が組織の支援のない中で活動を行っていることを示すと共に、拠点という組織的認識が有効であること。そして非拠点、無事例群のこたえにあらわれているように、事例がないと応援態勢が整わない、事例を体験しつつ周囲の応援を得ようとする認識が存在することが分かる。

5) 組織内紹介ルートの確保

拠点と有事例双方でルートが確保されていることが分かった。その点非拠点でも無事例でも自分の病院では HIV/AIDS 事例が見逃され、ソーシャルワーカーのところまで来ないとソーシャルワーカー自身が考えている可能性があることが分かった。

6) HIV-SW に関するスタッフの理解

拠点および有事例の非拠点ソーシャルワーカーの両者とも有意に高いことが分かった。これは HIV/AIDS に関する専門家チームの存在がある中で、HIV-SW との協働体験がスタッフの理解をすすませる可能性が高いことが分かる。

## 4. HIV-SW への地域連携活動尺度の援用について

筒井が保健師と地域権利擁護事業専門員に対して用いた地域連携活動尺度を、HIV-SW を体験したと答えた拠点・非拠点の医療ソーシャルワーカー 191 名に対して援用し、連携活動の検討を行った。単純集計結果は表 10 の通りである。

さらに無回答を除外し、因子分析を実施した（表 11・12）。因子分析は主因子法、バリマックス回転を用いた。項目を調整し因子数 2 から始めて因子数 4 まで順次試行し、それぞれの回転後の因子負荷行列を得たが、最適解を得たのは因子数 3 であった。

表 10 HIV-SW の連携行動の実態

連 携 行 動	全くしない	あまりしない	必要に応じて	いつもする
分担して支援した時の他機関への報告	2	5	168	19
他機関からのサービスの把握	1	9	161	23
サービス提供に必要な他機関からの知識と情報収集	14	30	134	6
他機関へのサービスプログラムの提言	8	30	150	6
HIV-SW の推進に他機関からの協力要請	1	7	164	22
他の専門職の会議への参加	11	45	76	3
関連機関の実務者から機関の実態について聞く	12	41	129	12
関連他機関にいる専門職の把握	8	45	120	20
事例検討会参加についての同僚への呼びかけ	13	38	112	30
関連機関や他の職種との懇親会への参加	16	49	114	13
新規採用された場合に関連機関への挨拶	82	42	60	8
自分の判断で費用負担の決定権限	134	26	27	5
自分の業務内容の他機関への資料配付	53	53	80	8
複数の機関で集めた情報の管理	28	26	98	40

表 11 項目の共通性

連携行動項目	初期	因子抽出後
分担して支援した時の他機関への報告	1	0.516
他機関からのサービスの把握	1	0.532
サービス提供に必要な他機関からの知識と情報収集	1	0.454
HIV-SW の推進に他機関からの協力要請	1	0.381
関連機関の実務者から機関の実態について聞く	1	0.618
関連他機関にいる専門職の把握	1	0.609
新規採用された場合に関連機関への挨拶	1	0.467
自分の業務内容の他機関への資料配付	1	0.676
複数の機関で集めた情報の管理	1	0.498
他機関からの協力要請に応える	1	0.39

表 12 HIV-SW の連携に関わる因子分析

連 携 行 動 項 目	成 分		
	1	2	3
関連機関の実務者から機関の実態について聞く	.762	.159	.110
関連他機関にいる専門職の把握	.747	.212	.076
サービス提供に必要な他機関からの知識と情報の収集	.631	.015	.234
他機関からの協力要請に応える	.609	.027	-.138
自分の業務内容の他機関への資料配付	.059	.818	.057
複数の機関で集めた情報の管理	.113	.685	.129
新規採用された場合に関連機関への挨拶	.157	.665	-.014
分担して支援した時の他機関への報告	.091	.080	.708
他機関からのサービスの把握	.137	-.117	.706
HIV-SW の推進に他機関からの協力要請	-.070	.287	.542

因子抽出法：主成分分析

回転法：Kaiser の正規化を伴うバリマックス法

因子数 3 の回転後の因子負荷行列、共通性、固有値、累積寄与率等を確認した。第 1 因子は「関連機関の実務者から機関の実態について聞く」「関連機関にいる専門職の把握」「他機関からの情報収集」「他機関からの協力要請」の項目に大きな負荷を持ち、第 2 因子は「自分の業務内容の資料を他機関にも配布する」「複数の機関で集めた情報を管理する」、第 3 因子は「分担して支援した時のその機関への報告」「他機関からのサービスの把握」にそれぞれ大きな因子負荷を持った。

このことから第 1 因子は「関連機関アセスメント行動」、第 2 因子は「情報流通・管理行動」、第 3 因子は「連携の巻き込み行動」と命名した。しかし各因子の信頼性を検定した結果、第 1 因子、第 2 因子では、信頼性が確認されたが、Cronbach の  $\alpha$  係数が第 1 因子 (.634)、第 2 因子 (.608) と十分な信頼性が確保されたわけではない。尺度として使えるという程度であった。また、第 3 因子では  $\alpha$  係数が (.395) と信頼性が確認できなかった。

以上のことから筒井の連携行動尺度を HIV-SW の地域連携に援用したが、医療ソーシャルワーカーの HIV-AIDS に対するメゾからマクロレベルの連携行動の実態とは、異なるものがあると考えられた。保健師の地域連携業務では、4 因子 ①情報共有 ②業務協力 ③関係職種との交流 ④連携業務の処理と管理とに分かれていた。しかし医療ソーシャルワーカーでは、第 1 因子では情報共有や業務協力以上に、関係機関に対するアセスメントとして、情報収集の上の資源のアセスメントのための行動があるのではないかと推察される。第 2 因子では情報交流と管理として、関係機関や関係職種との協力や情報共有が、機関と職種を問わず同一の範疇でとらえられているのではないかと考えられた。また第 3 因子では信頼性が十分確保できなかったが、連携のための巻き込み行動として、ネットワークキング様の行動要素が入る可能性が考えられる。

## V まとめ

HIV/AIDS 医療体制整備事業の大きな目的の一つは、拠点間また拠点・非拠点間の地域医療連携体制づくりである。そこでは医療ソーシャルワーカーには、効率的医療のためミクロの個別事例に対する支援のための連携のみならず、組織や地域に介入するメゾからマクロレベルの連携活動が必要とされる。

そこで HIV/AIDS に対する医療ソーシャルワーカーの地域連携活動についての認識とその実態について、全国の全拠点病院（368 名）、非拠点病院（800 名）のソーシャルワーカーに対して量的調査を平成 20 年 12 月から 21 年 1 月にかけておこなった。回収率は前者 50.8%で、後者で 43.8%であった。

調査の結果、回答を行った拠点病院の 75%のソーシャルワーカーは HIV/AIDS 事例を有しており、非拠点病院のソーシャルワーカーの 15%も HIV/AIDS 事例を体験していた。調査対象とした拠点および非拠点病院のソーシャルワーカーの集団は、専門職団体である日本医療社会事業協会会員とほぼ同じ基本属性を持ち、性別で 8 割弱が女性、8 割弱が社会福祉士資格をもち、拠点病院ではさらに精神保健福祉士や介護支援専門員資格も 2~3 割程度と有意に多く持っていた。しかし経験年数は非拠点病院よりも有意に少なく、比較的若年層が多かった。

HIV/AIDS 拠点および有事例者集団の連携行動の特徴は、メゾのチーム・組織レベルでの認知や理解は得られており、また経験を積んでいることによって、外部との連絡を自分なりに吟味して動き出すという専門職としての自律性を有していることが分かった。また事例経験のないソーシャルワーカーほど、他組織との連携の必要を強調しているが、経験を積めば積むほど、拠点病院として他のスタッフや組織的な認知が深まっていると思われる状況では、むやみに他と連携するような行動はとらず、状況をアセスメントした上で、必要な連携をとっていることが推察された。

さらに有事例者のみに対して、保健師や地域権利擁護専門員に対して信頼性妥当性があると考えられる筒井の 4 領域 15 項目にわたる地域連携活動尺度を援用した。その結果 HIV/AIDS へのメゾレベルへの介入行動としての連携活動は、地域に軸足を置くコミュニティワーカーとしての保健師や、権利擁護専門員とは異なる連携の型を持っていることが考えられた。それは病院内に軸足を置きながら、組織の人間として地域をアセスメントし、組織の代表として地域と繋がっていかこうとする行動と関連があるように考えられた。この点の具体的な行動別の確認作業が今後の課題であると考えられる。

本研究・調査は平成 20 年度厚生労働省科学研究費補助金事業『HIV 感染症の医療体制整備に関する研究（研究代表者 濱口元洋）』『MSW の立場から（研究分担者 田中千枝子）』にもとづいて行われた。



引用文献

- (1) 漆畑真人「患者の権利擁護を考える」『医療ソーシャルワーク』東京都医療社会事業協会 56 2006 pp39-42
- (2) 小西加保留「ソーシャルワークにおけるアドボカシー」ミネルヴァ書房, 2007 p96
- (3) 田中千枝子「地域の保健医療ネットワーク構築のための連携方法と基礎知識」『保健医療サービス』中央法規 2009 p112
- (4) 田城孝雄「21世紀の医療連携」『地域医療連携』日経研, 2006 p10  
田城は医療を柱にした地域連携を唱え, 系統的システムティックな医療供給体制の整備を地域連携の課題とした。
- (5) 筒井孝子, 東野定律「全国の市区町村保健師における「連携」の実態に関する研究」日本公衆衛生雑誌, 53巻, 10号, 2006 pp763  
筒井は「連携」を「異なる専門職や機関（もしくは組織）が, よりよい課題解決のために, 共通の目的を持ち, 情報の共有化をはかり, 協力し合い活動すること」と定義しているが, その連携尺度は個別のミクロレベルではなく組織や地域のメゾ・マクロレベルを測るようになっており, 地域連携としてシステムづくりのための下準備の行動ととることができる。
- (6) 筒井孝子「地域福祉権利擁護事業に携わる「専門員」の連携活動の実態と「連携活動評価尺度」の開発」上下, 社会保険旬報, No.2 (8) PP18-24 No. 2184 PP24-28 2003
- (7) 筒井孝子, 東野定律「全国の市区町村保健師における「連携」の実態に関する研究」日本公衆衛生雑誌, 53巻, 10号, 2006 pp762-776
- (8) 筒井孝子, 大井田隆『介護サービスにおける権利擁護の行政的評価に関する研究』厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）平成14年度 研究報告書 2002 P73

# Adaptation of HIV-1 to human leukocyte antigen class I

Yuka Kawashima<sup>1</sup>, Katja Pfafferott<sup>3,6</sup>, John Frater<sup>4,5</sup>, Philippa Matthews<sup>3</sup>, Rebecca Payne<sup>3</sup>, Marylyn Addo<sup>7</sup>, Hiroyuki Gatanaga<sup>2,8</sup>, Mamoru Fujiwara<sup>1</sup>, Atsuko Hachiya<sup>1,8</sup>, Hirokazu Koizumi<sup>1</sup>, Nozomi Kuse<sup>1</sup>, Shinichi Oka<sup>2,8</sup>, Anna Duda<sup>4,5</sup>, Andrew Prendergast<sup>3</sup>, Hayley Crawford<sup>3</sup>, Alasdair Leslie<sup>3</sup>, Zabrina Brumme<sup>7</sup>, Chanson Brumme<sup>7</sup>, Todd Allen<sup>7</sup>, Christian Brander<sup>7,9</sup>, Richard Kaslow<sup>10</sup>, James Tang<sup>10</sup>, Eric Hunter<sup>11</sup>, Susan Allen<sup>12</sup>, Joseph Mulenga<sup>12</sup>, Songee Branch<sup>13</sup>, Tim Roach<sup>13</sup>, Mina John<sup>6</sup>, Simon Mallal<sup>6</sup>, Anthony Ogwu<sup>14</sup>, Roger Shapiro<sup>14</sup>, Julia G. Prado<sup>3</sup>, Sarah Fidler<sup>15</sup>, Jonathan Weber<sup>15</sup>, Oliver G. Pybus<sup>16</sup>, Paul Klenerman<sup>4,5</sup>, Thumbi Ndung'u<sup>17</sup>, Rodney Phillips<sup>4,5</sup>, David Heckerman<sup>19</sup>, P. Richard Harrigan<sup>18</sup>, Bruce D. Walker<sup>7,17,20</sup>, Masafumi Takiguchi<sup>1</sup> & Philip Goulder<sup>3,6,17</sup>

The rapid and extensive spread of the human immunodeficiency virus (HIV) epidemic provides a rare opportunity to witness host–pathogen co-evolution involving humans. A focal point is the interaction between genes encoding human leukocyte antigen (HLA) and those encoding HIV proteins. HLA molecules present fragments (epitopes) of HIV proteins on the surface of infected cells to enable immune recognition and killing by CD8<sup>+</sup> T cells; particular HLA molecules, such as HLA-B\*57, HLA-B\*27 and HLA-B\*51, are more likely to mediate successful control of HIV infection<sup>1</sup>. Mutation within these epitopes can allow viral escape from CD8<sup>+</sup> T-cell recognition. Here we analysed viral sequences and HLA alleles from >2,800 subjects, drawn from 9 distinct study cohorts spanning 5 continents. Initial analysis of the HLA-B\*51-restricted epitope, TAFTIPSI (reverse transcriptase residues 128–135), showed a strong correlation between the frequency of the escape mutation I135X and HLA-B\*51 prevalence in the 9 study cohorts ( $P = 0.0001$ ). Extending these analyses to incorporate other well-defined CD8<sup>+</sup> T-cell epitopes, including those restricted by HLA-B\*57 and HLA-B\*27, showed that the frequency of these epitope variants ( $n = 14$ ) was consistently correlated with the prevalence of the restricting HLA allele in the different cohorts (together,  $P < 0.0001$ ), demonstrating strong evidence of HIV adaptation to HLA at a population level. This process of viral adaptation may dismantle the well-established HLA associations with control of HIV infection that are linked to the availability of key epitopes, and highlights the challenge for a vaccine to keep pace with the changing immunological landscape presented by HIV.

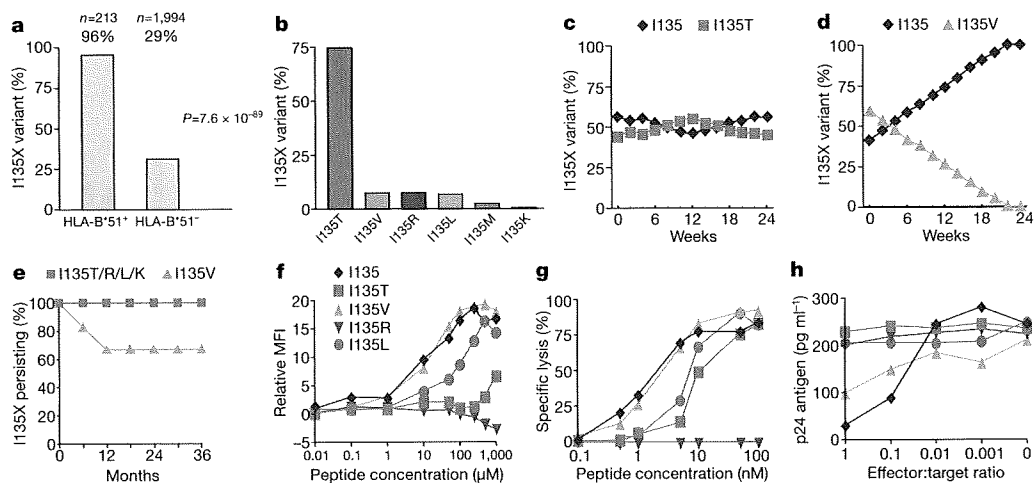
The extent to which HIV is evolving at the population level in response to immune selection pressure is under debate<sup>2–6</sup>. Resolving the impact of HLA class I alleles on viral evolution is problematic because it can be obscured by other influences, such as founder effect<sup>6</sup> (polymorphisms present within the early strains establishing the epidemic in a group). In addition, most HLA alleles do not drive significant selection pressure on HIV, a proportion of escape mutations revert to wild type after transmission, and different HLA alleles may drive the identical escape mutation<sup>7</sup>.

To test the hypothesis that the frequency of escape mutations in a given population is correlated with the prevalence of the relevant HLA allele in that population, we studied nine distinct cohorts from North America, the Caribbean, Europe, sub-Saharan Africa, Australia and Japan, in which we performed HLA typing, and defined the viral mutations arising within CD8<sup>+</sup> T-cell epitopes. We focused initially on a well-characterized mutation, I135X, within the HLA-B\*51-restricted epitope, TAFTIPSI (RT 128–135)<sup>8</sup>, because it arises in acute infection, non-HLA-B\*51 alleles do not also select this mutation<sup>7,9</sup>, and it does not revert to Ile 135 after transmission to HLA-B\*51-negative subjects<sup>9</sup>. Thus, if highly prevalent HLA alleles drive a high frequency of escape mutations in the population, this would be most obvious in relation to HLA-B\*51 and the escape mutant I135X. We then considered an additional 13 well-defined escape mutations, including those known to reduce viral fitness and therefore liable to revert after transmission.

I135X was selected in 205 of 213 (96%) HLA-B\*51-positive individuals analysed (Figs 1 and 2, and Supplementary Fig. 1). The I135X variants do not significantly affect viral replicative capacity *in vitro*, other than the rare I135V mutation. This was the only variant observed to revert to wild-type *in vivo* during a 3-year follow-up of 38 HLA-B\*51-negative subjects identified during acute HIV infection who carried I135X mutant viruses at transmission (Fig. 1e). The I135X mutants substantially affect HLA binding, and therefore also recognition by CD8<sup>+</sup> T cells (Fig. 1f–h). Thus, HIV transmission from HLA-B\*51-positive subjects would probably involve transmission of I135X, which would persist in the new host. Newly infected HLA-B\*51-positive subjects receiving an I135X mutant would be unable to generate an HLA-B\*51-TAFTIPSI-specific response.

To test the hypothesis that the population frequency of I135X is correlated with HLA-B\*51 prevalence, HIV sequence and HLA data were collated from the nine study cohorts. One cohort comprised subjects with acute/early HIV infection; the remaining cohorts comprised chronically infected subjects. In all cohorts the odds ratio strongly favoured I135X in the HLA-B\*51-positive subjects, even in the acute cohort where I135X was selected sufficiently early to be already over-represented in HLA-B\*51-positive subjects (odds ratio 1.65,  $P = 0.07$ , Fig. 2a). In Japan, where HLA-B\*51 is highly

<sup>1</sup>Divisions of Viral Immunology and <sup>2</sup>Infectious Disease, Center for AIDS Research, Kumamoto University, 2-2-1 Honjo, Kumamoto 860-0811, Japan. <sup>3</sup>Department of Paediatrics, <sup>4</sup>Nuffield Department of Clinical Medicine and <sup>5</sup>The James Martin 21<sup>st</sup> Century School, Peter Medawar Building for Pathogen Research, South Parks Road, Oxford OX1 35Y, UK. <sup>6</sup>Centre for Clinical Immunology and Biomedical Statistics, Royal Perth Hospital and Murdoch University, Western Australia 6000, Australia. <sup>7</sup>Partners AIDS Research Center, Massachusetts General Hospital, 13<sup>th</sup> Street, Building 149, Charlestown, Boston, Massachusetts 02129, USA. <sup>8</sup>AIDS Clinical Center, International Medical Center of Japan, 1-21-1 Toyama, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8655, Japan. <sup>9</sup>Fundació IrsiCaixa-HIVACAT, Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona and Institut Catalana de Recerca i Estudis Avancats (ICREA), Barcelona 08916, Spain. <sup>10</sup>University of Alabama at Birmingham, Birmingham, Alabama 35294, USA. <sup>11</sup>Emory University Vaccine Center and Yerkes National Primate Research Center, Atlanta, Georgia 30329, USA. <sup>12</sup>Zambia Emory HIV Research Project, and the Zambia Blood Transfusion Service, Lusaka, Zambia. <sup>13</sup>Ladymeade Reference Unit, University of West Indies, Bridgetown BB11156, Barbados. <sup>14</sup>Botswana-Harvard School of Public Health AIDS Initiative Partnership, Gaborone, Botswana. <sup>15</sup>Division of Medicine, Wright Fleming Institute, Imperial College, St Mary's Hospital, Norfolk Place, Paddington, London W2 1PG, UK. <sup>16</sup>Department of Zoology, University of Oxford, South Parks Road, Oxford OX1 35Y, UK. <sup>17</sup>HIV Pathogenesis Programme, The Doris Duke Medical Research Institute, University of KwaZulu-Natal, Durban 4013, South Africa. <sup>18</sup>Microsoft Research, One Microsoft Way, Redmond, Washington 9805, USA. <sup>19</sup>BC Centre for Excellence in HIV/AIDS, Vancouver, British Columbia V6Z 1Y6, Canada. <sup>20</sup>Howard Hughes Medical Institute, Chevy Chase, Maryland 20185, USA.



**Figure 1 | Selection and fitness cost of I135X escape variants and recognition by the HLA-B\*51-TAFTIPSI (RT 128–135)-specific CD8<sup>+</sup> T cells.** **a**, Association between I135X and HLA-B\*51 in all study cohorts. **b**, Ile 135 variation in HLA-B\*51-positive subjects. **c**, **d**, *In vitro* competition assays between NL4-3 wild-type virus and I135T (**c**) and I135V (**d**). I135R and I135L showed no fitness cost (not shown).

**e**, Persistence of I135X mutants in 38 HLA-B\*51-negative subjects followed from acute infection. **f**, TAFTIPSI variant binding to HLA-B\*51 (see Methods). MFI, mean fluorescence intensity. **g**, **h**, Recognition of peptide-pulsed HLA-B\*51-matched targets and viral variants by representative TAFTIPSI-specific CD8<sup>+</sup> T-cell clones.

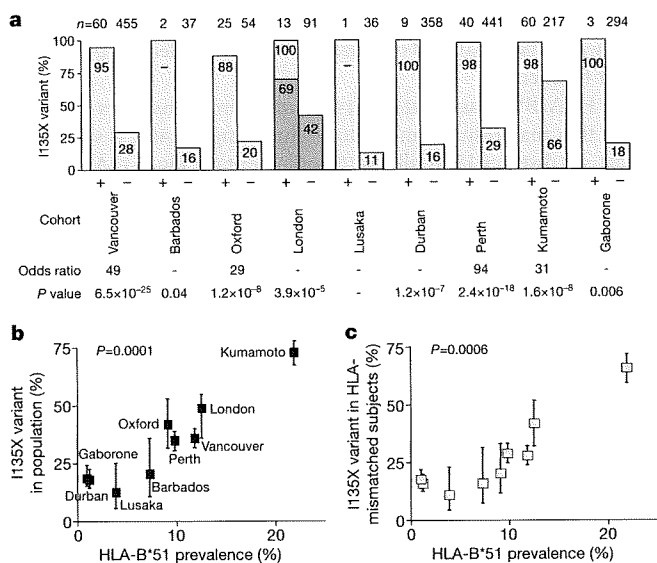
prevalent<sup>10</sup> (21.9% of the study cohort), the frequency of I135X was >50%, and overall across all cohorts the I135X frequency was strongly correlated with HLA-B\*51 prevalence ( $P = 0.0001$ , Fig. 2b). To control for the possibility that disproportionately more virus sequences from HLA-B\*51-positive subjects were analysed, the same analysis comparing I135X frequency in HLA-B\*51-negative subjects only was undertaken, with similar findings (Fig. 2c,  $P = 0.0006$ ). These data suggest that HIV may be adapting to HLA-B\*51 with respect to the HLA-B\*51-TAFTIPSI response in localities where HLA-B\*51 is at high prevalence.

Additional evidence that I135X is accumulating in Japan comes from the observation that only 3 of 14 (21%) HLA-B\*51-negative Japanese haemophiliacs infected in 1983 carried I135X, compared with 30 of 43 (70%) HLA-B\*51-negative subjects infected between 1997 and 2008 ( $P = 0.002$ ). Furthermore, HLA-B\*51 does not protect against disease progression in Japanese subjects infected between 1997 and 2008, whereas HLA-B\*51-positive haemophiliacs infected in 1983 had lower viraemia levels and higher CD4 counts than HLA-B\*51-negative haemophiliacs (Supplementary Fig. 2). These data are consistent with fewer HLA-B\*51-positive subjects targeting TAFTIPSI during 1997–2008, owing to a population-level increase in the HLA-B\*51 I135X escape mutation over this 14–25-year period.

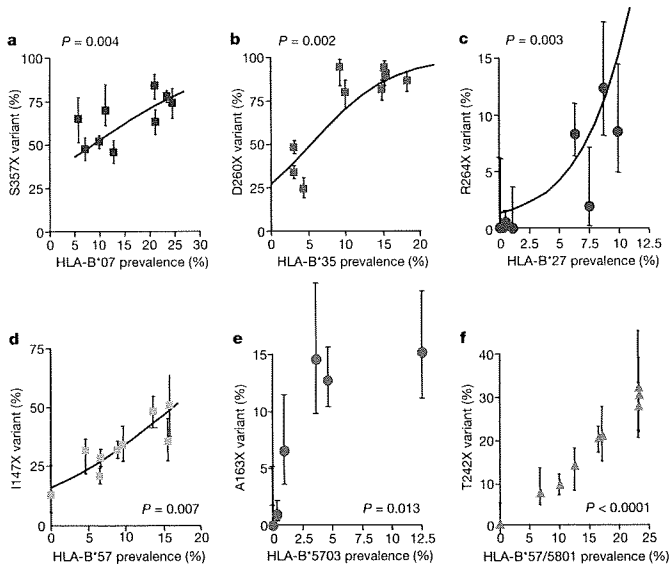
To investigate HIV adaptation to other HLA alleles, we initially examined other escape mutations shown previously to persist stably after transmission<sup>5,7</sup>. We selected the three non-reverting Gag polymorphisms that, from analysis of 673 study subjects in Durban, South Africa<sup>7</sup>, were most strongly associated with the relevant restricting allele ( $P < 10^{-6}$  after phylogenetic correction), namely, S357X, D260X and D312X within epitopes restricted, respectively, by HLA-B\*07 (GPSHKARVL, Gag 355–363), HLA-B\*35 (PPIPVGDIY, Gag 254–262) and HLA-B\*44 (AEQATQDVKNW, Gag, 306–316). In addition, we analysed a non-reverting I31V variant (LPPIVAKEL, Int 28–36) previously hypothesized to increase in relation to population HLA-B\*51 prevalence<sup>5</sup>. These additional polymorphisms show a similar relationship to that between I135X and HLA-B\*51, overall showing a strongly significant correlation between variant frequency and prevalence of the restricting HLA allele (Figs 3 and 4a, and Supplementary Fig. 3).

The spectrum of HLA-associated polymorphisms also includes mutations reducing viral fitness<sup>1</sup>. These either revert to wild type after transmission, or persist in the presence of compensatory mutations. We extended these analyses to include epitopes restricted by HLA-B\*27 and HLA-B\*57, alleles strongly associated with successful immune control of HIV<sup>11,12</sup>. The mutations analysed themselves are associated with precipitating loss of immune control<sup>13–16</sup> and all inflict a documented viral fitness cost, either demonstrated by *in vitro* fitness studies and/or *in vivo* reversion<sup>7,14,17–21</sup> (data not shown for V168I).

Again, a strong correlation between escape mutant frequency and prevalence of the restricting HLA allele was observed (Figs 3c–f and 4b, and Supplementary Fig. 3; overall, for these nine variants affecting viral fitness,  $r = 0.69$ ,  $P < 0.0001$ ). Unexpectedly, this correlation



**Figure 2 | Correlation between frequency of HLA-B\*51-associated escape mutations and HLA-B\*51 prevalence in study cohorts.** **a**, Frequency of I135X mutations within TAFTIPSI (RT 128–135) in HLA-B\*51-positive (+) and -negative (-) subjects within nine study cohorts. In the acute cohort (London) 69% of HLA-B\*51-positive subjects expressed I135X mutant at enrolment, 100% within 2 years of baseline (Supplementary Fig. 1). **b**, Correlation between frequency of I135X mutation and HLA-B\*51 prevalence in the nine study populations. Logistic regression  $P = 0.0001$  (Supplementary Table 1). **c**, Correlation between I135X frequency in HLA-B\*51-negative subjects and HLA-B\*51 prevalence in nine study populations. Error bars represent 95% confidence limits, obtained using a binomial error distribution.

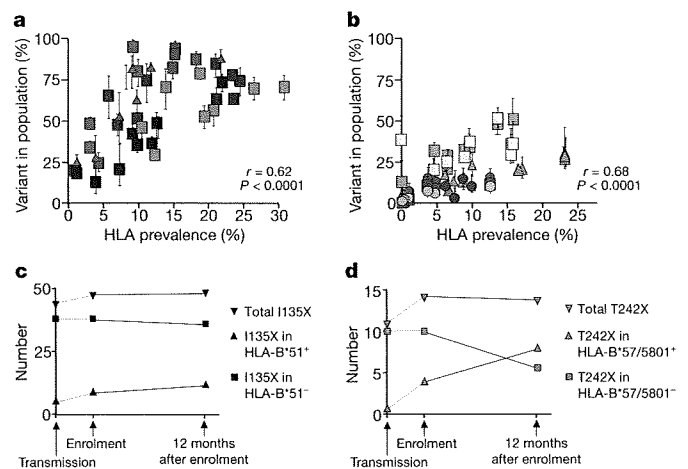


**Figure 3 | Correlation between frequency of HIV sequence variant and HLA prevalence for six additional well-characterized epitopes.** *P* values calculated after logistic regression analysis as shown (calculations after linear regression analysis are shown in Supplementary Table 1). **a**, Frequency of the S357X mutation within the HLA-B\*07-restricted epitope GPSHKARVL (Gag 355–363). **b**, Frequency of the D260X mutation within the HLA-B\*35-restricted epitope PPIPVGDIY (Gag 254–262). **c**, Frequency of the R264X mutation within the HLA-B\*27-restricted epitope KRWILGLNK (Gag 263–272). **d**, Frequency of the I147X mutation within the HLA-B\*57-restricted epitope ISPRTLNAW (Gag 147–155). **e**, Frequency of the A163X mutation associated with the HLA-B\*5703-restricted epitope KAFSPEVPMF (Gag 162–172). **f**, Frequency of the T242X mutation within the B\*57/5801-restricted epitope TSTLQEQIAW (Gag 240–249). Error bars represent 95% confidence limits, obtained using a binomial error distribution.

remained significant even when comparing HLA prevalence with variant frequency in the HLA-mismatched population ( $r = 0.40$ ,  $P = 0.0004$ ). As anticipated, non-reverting variants such as I135X accumulate at the population level, but even rapidly reverting<sup>18,20</sup> mutations such as T242N can accumulate, if the selection rate exceeds the reversion rate (Fig. 4c, d).

Although frequency of the analysed HIV polymorphisms and HLA prevalence were strongly correlated overall, some anomalies were observed. For example, despite a 0% prevalence of HLA-B\*57 in Japan<sup>10</sup>, 38% of the Japanese cohort had the HLA-B\*57-associated A146X variant. One potential explanation might be A146X selection by non-HLA-B\*57 Japanese alleles. Analysing Gag sequences from Japanese study subjects, we observed a strong association between A146P and HLA-B\*4801 ( $P = 0.00035$ ), and then that A146P is indeed selected in HLA-B\*4801-positive subjects (Supplementary Fig. 4a, b). We defined a novel HLA-B\*4801-restricted epitope (Gag 138–147), showing also that A146P is an escape mutant (Supplementary Fig. 4c–f). These data illustrate that more than one HLA allele can drive the selection of a particular escape mutant (Supplementary Fig. 5). Also, in populations where HIV-specific CD8<sup>+</sup> T-cell responses are incompletely characterized, the influences of locally prevalent HLA alleles on HIV sequence variation are unknown.

These data show a strong correlation between HLA-associated HIV sequence variation and HLA prevalence in the population ( $r = 0.69$ ,  $P < 0.0001$ , Supplementary Fig. 6), suggesting that the frequency of the studied variants is substantially driven by the HLA-restricted CD8<sup>+</sup> T-cell responses. Non-reverting variants<sup>5,7</sup>, as well as those previously shown to arise at a fitness cost<sup>7,14,16–21</sup>, were studied. The latter constitute approximately 55–65% of HLA-associated polymorphisms<sup>7,20</sup>. This current analysis included epitopes whose role in HIV immune control is unknown, as well as those



**Figure 4 | Correlation between HIV variant frequency and HLA prevalence for all epitopes studied.** **a**, Correlation between HLA prevalence and the five stable, non-reverting variants (symbols in Figs 2 and 3, and Supplementary Fig. 3; grey triangles, I31V; green squares, D312X). **b**, Eight variants demonstrated to reduce viral fitness (see text, Fig. 3 and Supplementary Fig. 3; turquoise triangles, L268X; yellow squares, A146X; sky-blue squares, V168I; yellow circles, I247X). **c**, **d**, Data from acute London cohort. **c**, Number of HLA-B\*51-positive and HLA-B\*51-negative subjects carrying the non-reverting I135X variant. The percentage of I135X in HLA-B\*51-negative subjects at enrolment (42%) assumed the percentage of I135X in all subjects at transmission (I135X frequency in HLA-B\*51-positive subjects at enrolment was 69%,  $P = 0.07$ ). **d**, The reverting HLA-B\*57/5801-restricted T242X mutation. T242X frequency in HLA-B\*57/5801-negative subjects at enrolment was 7%, versus 33% in HLA-B\*57/5801-positive subjects ( $P = 0.01$ ). Error bars represent 95% confidence limits, obtained using a binomial error distribution.

believed to contribute significantly to containment of HIV<sup>4,7,13–19</sup>. Analysis of well-characterized epitopes only also served to limit potential confounding influences of epitope clustering (selection of the same variant by different HLA alleles) and of founder effect. Either would be capable of obscuring a true HLA effect on population variant frequency.

The HLA-B\*57-associated A146X mutation illustrates the complexity that may result from epitope clustering. A146X is selected by at least six distinct HLA alleles (Supplementary Fig. 5). A true correlation existing between mutation frequency and individual HLA allele prevalence might thus be obscured by selection of the same mutation by other alleles.

Founder effect also has an undoubted influence on population frequencies of particular polymorphisms<sup>6</sup>. Phylogenetic correction of sequence data excludes founder effect as a confounder<sup>6,7,9</sup>, and the highly significant associations between the presence of particular HLA alleles and all 14 HIV polymorphisms studied, persisting after phylogenetic correction (Supplementary Table 3), provide compelling evidence that the effects observed here are substantially HLA-driven. The large numbers of study subjects in these current studies reduce the likelihood of genuine HLA associations with HIV amino acid polymorphisms being obscured by founder effects. The relative impact of HLA and founder effect on variant frequency is harder to quantify, and is likely to differ substantially between particular populations.

The consequence of HIV adapting to certain CD8<sup>+</sup> T-cell responses is unknown. For non-reverting polymorphisms such as HLA-B\*35-associated D260E, the variant approaches fixation, because even at population frequencies of 90%, D260E is still significantly selected in HLA-B\*35-positive subjects (Supplementary Fig. 7b). Important questions relevant to vaccine design include the extent and rate of sequence change in populations. Relevant factors include the selection rate in subjects expressing the HLA allele, the reversion rate in HLA-mismatched subjects, the population HIV