

は15検体中14検体（93.3％）に、1ヶ所以上が検出された。特にI93L、M36Iがそれぞれ60.0％、40.0％と、他の変異と比較し高い頻度で検出された（表3）。

RT領域は1検体でV90Iの耐性変異が検出された。その他、T215リバータント変異であるT215Sが2検体で検出された。

IN領域では、G163Eの耐性変異が1検体で検出された。

### 3. BED assayによる感染時期の推定

本研究の15検体中5検体（33.3％）がrecent、10検体（66.7％）がnot recentと判定された（表1）。Recentと判定された5検体は、いずれもサブタイプBの症例からのものであった（表2）。

### 4. HBs抗原及びHCV抗体検査

検体量の関係により、15例中14例で検査を実施した。14検体中3検体（21.4％）でHBs抗原が検出された。HCV抗体は、全て陰性であった。

## D. 考察

本研究の対象地域である埼玉県、茨城県、栃木県、山梨県及び長野県を合わせた平成21年のHIV感染者及びAIDS患者の報告数は、それぞれ65人、32人（厚生労働省エイズ動向委員会 平成21年報告）であり、これは全国の感染者及び患者報告数（1021人、431人）のそれぞれ6.4％、7.4％を占める。首都圏及び近郊地域は、全国平均と比較しHIV感染者/AIDS患者の人口10万人当たりの報告数の多い地域であり、当地域に流行するHIVの動向を継続して調査することは、全国的な動向を把握する上で重要である。

今年度の本研究の15検体におけるサブタイプ調査

では、前年度までの調査及び全国的な傾向と同様に、サブタイプBが最も多く、他にはCRF 01\_AEが検出された。薬剤耐性変異の調査では、PR領域のMajor mutationが認められる検体はなかったが、一方、Minor mutationは90％以上の検体に検出された。また、RT領域、IN領域での耐性変異がそれぞれ1検体で検出されたが、多くの耐性変異を持つ株は認められなかった。BED assayの結果では、感染初期の検体が1/3、感染初期を過ぎた検体が2/3であり、感染者の健康管理や治療の点からも、また感染の広がり防止するためにも、より早期に検査を受診できるような環境の整備が必要であると考えられる。さらに肝炎の検査ではHBV感染を伴う例が20％に検出された。本研究の15検体という限られた調査から、この地域のHIVのサブタイプの分布、薬剤耐性変異株の動向、HIV感染とB型及びC型肝炎感染との疫学的関連について全体像を推察するのは困難であるが、動向に注視し、今後も調査を継続する必要が示唆された。

## E. 結論

2009年から2010年に埼玉県、茨城県、栃木県、山梨県、長野県の5県で採取された新規または未治療HIV感染例の15検体についてHIVのサブタイプ調査及び薬剤耐性変異の調査を実施した。サブタイプ調査では、15検体中サブタイプBが13検体、CRF 01\_AEが2検体であった。薬剤耐性変異の調査では、PR領域のMinor mutationが90％以上の検体で認められた他、RT領域、IN領域の変異がそれぞれ1検体に認められた。今後も首都圏及び近郊におけるHIVの疫学及び薬剤耐性株の動向を注視していく必要がある。

表3 PR領域の薬剤耐性変異 (Minor Mutation)

変異部位	L10I	I13V	G16E	K20R	M36I	D60E	I62V	L63P	I64V	H69K	A71T	V77I	V82I	I93L
変異株数 (n=15)	2	1	1	1	6	1	5	3	1	2	2	4	3	9
(%)	(13.3%)	(6.6%)	(6.6%)	(6.6%)	(40.0%)	(6.6%)	(33.3%)	(20.0%)	(6.6%)	(13.3%)	(13.3%)	(26.7%)	(20.0%)	(60.0%)

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 学会発表

- 1) 服部純子、椎野禎一郎、瀧永博之、林田庸総、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、加藤真吾、藤井 毅、岩本愛吉、西澤雅子、仲宗根正、岡 慎一、伊部史朗、横幕能行、上田幹夫、大家正義、田邊嘉也、渡辺香奈子、渡邊 大、白阪琢磨、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、杉浦 互：2003-2009年の新規HIV/AIDS診断症例における薬剤耐性頻度の動向、第24回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2010

## H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし



## 研究要旨

# 中国四国ブロックにおける薬剤耐性HIVの動向調査研究 ～広島大学病院で検出された未治療HIV感染者の薬剤耐性遺伝子変異とその特徴～

研究分担者 **木村 昭郎** 広島大学原爆放射線医科学研究所  
ゲノム疾患治療研究部門血液内科 教授

研究協力者 **藤井 輝久** 広島大学病院輸血部 准教授 エイズ医療対策室 室長  
**齋藤 誠司** 広島大学病院輸血部 助教 エイズ医療対策室  
**高田 昇** 広島文化学園大学看護学部 教授

未治療HIV患者におけるHIVの薬剤耐性関連変異について解析、検討した。本年度解析分より、明らかな耐性株保有者は1名のみであった。しかし経年で見てみるとプロテアーゼ領域に、直接耐性に関与しないが既知の耐性変異と連動して出現する変異が分かってきた。またインテグラーゼ阻害薬やCCR5阻害薬についての検討も今後重要になっていくことが予想された。

## A. 研究目的

未治療HIV感染者における薬剤耐性検査の遺伝子型結果について、後方視的に変異部位別の発生状況を集計し、考察を行った。

本検査の目的や方法などを文書によって検査前に説明し、初回は本人から書面で、2回目以降は口頭で同意を得た。検体は研究協力者が記号化を行い、患者のプライバシーに触れることがないように配慮した。

## B. 研究方法

平成22年1月1日から12月31日までに広島大学病院を受診したHIV感染者のうち、未治療者24名を対象とした。対象者に対して本検査の目的や方法などを文書によって検査前に説明し、書面にて同意を得た者のみより末梢血約7mlを採血した。採血検体を国立感染症研究所に送付し、そこでHIV薬剤耐性検査を行った。測定方法は既報の方法で行われた。結果については本院で解析した。

解析の際、米国スタンフォード大学のHIV DRUG RESISTANCE DATABASE (<http://hivdb6.stanford.edu/index.html>)と、昨年度本研究事業報告書であるHIV薬剤耐性検査ガイドライン ver.4を参照した。

## (倫理面への配慮)

検査が同一対象者で2回以上にわたる場合には、その都度説明し同意を得た。検体送付に際しては、研究協力者が連結可能匿名化を行い、患者のプライバシーに触れることのように配慮した。このため、対象者24名全てより同意が得られた。

## C. 研究結果

### (1) 対象者の概略

対象者はHIV感染症患者24名で検査回数は27回であった。外国人が1人で他は全て日本国籍であった。検査時の血中ウイルス量は、1,100コピー/mlから500,000コピー/mlに分布しており、全ての患者でHIV薬剤耐性遺伝子検査を施行し得た。重複3名を含む薬剤耐性遺伝子変異のプロファイルを表1に示す。

### (2) 薬剤耐性遺伝子変異について

24名、27検体のうち、明らかに薬剤耐性ウイルスであったものは、1名1件のみであった。これはプロテアーゼ領域にM36I、H69K、L89Mの変異があり、Tipranavir耐性と考えられた。またサブタイプはAであった。

逆転写酵素領域では、前年度薬物治療で問題となると報告したT69Sが今年も1例検出された。

またThymidine Analog Mutation (TAM) と呼ばれる一連の遺伝子変異 (M41L、D67N、K70R、L210W、T215F/Y、K219Q/E) は、別の患者で1例検出された。TDF耐性と言われるK65Rや3TC、FTC耐性と言われるM184V、NVP、EFV耐性と言われるK103の変異などは、未治療者であるためか検出されていない。全体の傾向として耐性変異はほとんどなく、実際に変異検出率の低下にも反映している (図1)。

一方で、プロテアーゼ領域では多くの変異が検出された。しかし前述したとおり、明らかな耐性変異は1例のみであった。今年度の症例で特に多い変異は、I15V、R41K、I62Vであった。I62VはSQV、ATVの二次変異であるが、I15V、R41Kは既知の耐性関連変異ではない。しかし、それぞれ8名、6名に検出され未治療者の約1/3、1/4に当たる。

インテグラーゼ領域の変異は、E157Q1名のみであった。

表2に主な耐性関連変異の年次推移を示す。

### D. 考察

未治療HIV感染者の結果について、今年の薬剤耐性株は24例中1例であったが、耐性関連変異を持つ割合はプロテアーゼ領域に特に多く16例に及んだ。それでも経時的に見るとこの2、3年では減少傾向である。逆転写酵素領域の変異が格段に減っているが、プロテアーゼ領域も今後減少するのかどうか注視する必要がある。一方で、東海・名古屋地域での患者で耐性変異が増えてきており、この現象は一時的なものかも知れない。その中でも既知の薬剤耐性変異ではないI15V、R41Kが増えており、それらは既知の耐性関連変異であるM36やL63などの変異を伴いやすい傾向が見られた。このことは一次変異のない

表1 2010年に薬剤耐性検査を施行した未治療HIV患者の一覧とその変異

Case No.	VL (c/ml)	P変異領域	RT領域変異	I領域変異
1	20,000	-	-	-
2	6,100	-	-	-
3	11,000	-	-	-
4	6,100	L10I, L63P, V77I	-	E157Q
5	500,000	-	-	-
6	370,000	M36I, R41K, M46I, I62V	-	-
7	9,000	E35D, R41K, L63P	T69S	-
8	140,000	L10F, D30N, L33F, E35D, M36I, I62V, L63P, N88D	-	-
9	1,100	M36I, R41K, M46I	L210L/F	-
10	6,300	I62V	-	-
11	260,000	-	-	-
12	180,000	L10V, I15V	-	-
13	24,000	M36I, H69K, L89M	-	-
14	280,000	I15V, I62V, A71T	-	-
15	970	I15V, V77I	-	-
16	4,100	I15V, I62V	-	-
17	53,000	-	-	-
18	4,400	I15V, E35D, M36I, R41K, D60E, I62I/V, L63C	-	-
19	300,000	-	-	-
20	23,000	I15V, A71V	-	-
21	96,000	I15V, A71T, G37S	-	-
22	61,000	-	-	-
23	230,000	L10V, I15V	-	-
24	99,000	I15V, I62I/V, A71V	-	-

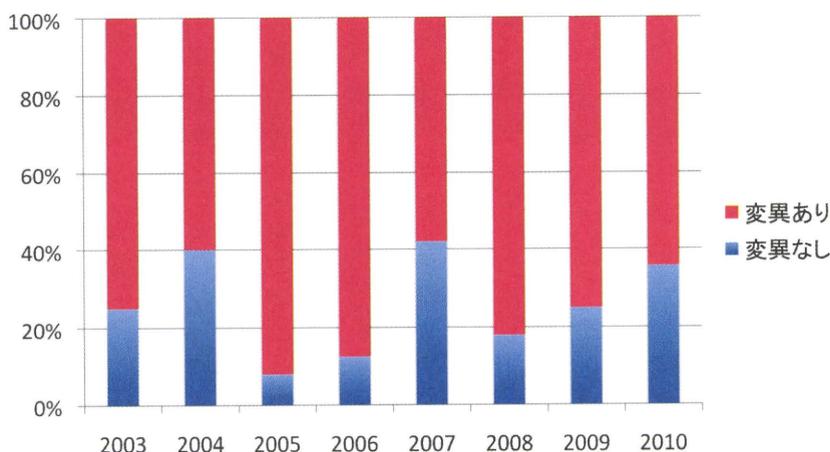


図1 未治療者における薬剤耐性関連変異頻度の年次推移

二次変異の出現に関し、何らかの影響があるのではないかと思われたが、想像の域を出ない。

今年度初めてインテグラーゼ領域にE157Qの変異が検出された。既知の薬剤耐性変異であるY143、Q148、N155との関連がいかなるものか、この変異が先んじて出現するのかどうかデータの蓄積が必要になると思われる。

DHHSのガイドラインが2011年1月に改訂され、CCR5阻害剤のMaravirocがacceptable regimenに採用になった。Maravirocはそのウイルス抑制機序から考えると、未治療者特に新規感染者に適した薬剤であると想像される。今後その使用が増えて来た場合、HIVgp120C2V3領域の変異により獲得すると予想される耐性変異の研究が進むことを期待する。さらに前述の変異の意義についても理解を深めていくためには、latent cellに潜むvirion、つまりプロウイルスDNAなどの細胞内ウイルスgenomeの解析が必要と思われる。

**E. 結論**

本院を受診した未治療HIV患者においてその薬剤耐性関連変異パターンを考察した。経年的に変異が増えていたが今年はその傾向に歯止めが掛かった。しかし一方で、プロテアーゼ領域において直接耐性に関与しないと思われる変異の増加が認められた。今後もさらに研究継続が必要であると考え。

**F. 健康危険情報**

特になし

**G. 研究発表**

**1. 発表論文**

Mihara K, Yanagihara K, Takigahira M, Imai C, Kitanaka A, Takihara Y, Kimura A: Synergistic and persistent effect of T-cell immunotherapy with anti-CD19 or anti-CD38 chimeric receptor in conjunction with rituximab on B-cell non-Hodgkin lymphoma. Br J Haematol 151(1): 37-46, 2010.

**2. 学会発表**

- 1) 服部純子、椎野禎一郎、瀧永博之、林田庸総、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、加藤真吾、藤井毅、岩本愛吉、西澤雅子、仲宗根正、岡慎一、伊部史朗、横幕能行、上田幹夫、大家正義、田邊嘉也、渡辺香奈子、渡邊大、白阪琢磨、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、杉浦 互、2003～2009年の新規HIV/AIDS診断症例における薬剤耐性頻度の動向、第24回日本エイズ学会学術集会（平成22年11月24日～26日、東京）
- 2) 太刀掛咲子、畝井浩子、関野由希、藤田啓子、齋藤誠司、藤井輝久、高田昇、木村昭郎、木平

表2 未治療者初回検査における耐性関連変異の年次推移

年	人	逆転写酵素領域							プロテアーゼ領域														
		T69 S	K103 N	V179 D	M184 V	L210 W	K219 Q	L10 L/V	I15 V	G16 E	K20 M/L/R	D30 N	M36 I	R41 K	M46 L/L	D60 E	I62 V	L63 P	A71 V/T	V77 I	L89 M		
03	3			1		1																3	
04	10			1				2			1		2									3	3
05	10							2			1		2									3	5
06	3							1					1	3									
07	4		1					1						4							1	1	
08	9	1						1	3	2	1			1	3			1			1	3	
09	12	1						3	3	1				4		1	1	2			2	3	1
10	16	1							10				1	4	6	3	1	8	4		5	4	2
計	67	3	1	2	0	1	1	14	15	2	2	1	8	16	4	2	11	4	18	19	3		

健治、広島大学病院におけるラルテグラビルの使用状況と精神症状の副作用調査、第24回日本エイズ学会学術集会（平成22年11月24日～26日、東京）

- 3) 関野由希、藤田啓子、太刀掛咲子、畝井浩子、藤井輝久、齋藤誠司、木村昭郎、高田昇、木平健治、院外処方せん応需薬局における抗HIV薬処方に対する意識調査について、第24回日本エイズ学会学術集会（平成22年11月24日～26日、東京）
- 4) 喜花伸子、品川由佳、内野悌司、兒玉憲一、濱本京子、船附祥子、鍵浦文子、藤井輝久、木村昭郎、広島県内の新規派遣カウンセラー養成の取り組み—HIV告知直後カウンセリングに携わる不安軽減を目指して—、第24回日本エイズ学会学術集会（平成22年11月24日～26日、東京）
- 5) 齋藤誠司、鍵浦文子、小川良子、藤井輝久、高田昇、木村昭郎、ART施行例における脂質異常症合併例の考察、第24回日本エイズ学会学術集会（平成22年11月24日～26日、東京）

## H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし



## 研究要旨

# 東京医大における薬剤耐性HIVの動向調査研究

～コバスTaqMan HIV-1 ver.1.0による測定の問題点とその対策の検討～

研究分担者 **福武 勝幸** 東京医科大学医学部臨床検査医学講座 主任教授

研究協力者 **福武 勝幸**<sup>1,2</sup>、**四本 美保子**<sup>1</sup>、**篠澤 圭子**<sup>2</sup>、**天野 景裕**<sup>1,2</sup>、**大瀧 学**<sup>1</sup>、**尾形 享一**<sup>1</sup>、**鈴木 隆史**<sup>1</sup>、**清田 育男**<sup>1</sup>、**近澤 悠志**<sup>1</sup>、**萩原 剛**<sup>1</sup>、**村松 崇**<sup>1</sup>、**山元 泰之**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東京医科大学臨床検査医学講座

<sup>2</sup>東京医科大学血液凝固異常症遺伝子研究寄付講座

HIV 1/2 抗原抗体検査 (ELISA) 陽性であり、Western blot (WB) では判定保留 (gp160 (env) +, p55 (gag) +, p24/25 (gag) +, p18/17 (gag) +)) であったことから急性HIV感染症の可能性が疑われた症例において、COBAS TaqMan HIV-1 real-time PCR assay ver.1.0 (CTM v1.0 assay) による初回のHIV-1 RNA量は  $6.1 \times 10^2$  copies/mlであったが、HIV-1 RNA量を再検したところ、CTM v1.0 assayにおいて「検出せず」を示した。HIV-2のWBは判定保留であり、HIV-1 感染は偽陽性の可能性も考えられたが、1ヶ月後のHIV-1のWBでは全てのバンドが揃い、HIV-1 感染が確定した。その際のCTM v1.0 assayによるHIV-1 RNA量は  $4.9 \times 10^1$ /mlであった。これと同じ検体をアンプリコア法にて検査したところ、 $5.48 \times 10^4$  copies/mlを呈し、CTM v1.0 assayとの著明な乖離が明らかとなった。

CTM v1.0 assayではプライマー下位のsingle point mutationによって100倍以上HIV-1 RNA量を低く検出することが報告されており、この症例のウイルス変異について検討した。ただし、COBAS TaqMan HIV-1 Real-Time PCR AssayのProbeおよびPrimerの塩基配列は非公開であるため、公表されているアンプリコア法の領域について野生株との違いをもとに考察した。患者のCOBAS AMPLICORのPCR領域内にはWild-type (HXB2) と比較して、13箇所の変異、Probe領域内には5箇所の変異、Downstream Primer領域内には5箇所の変異が検出された。CTM v1.0 assayによる低反応性にこれらの変異が影響したと推定される。急性期症例において「検出せず」を呈したという事実は、診断や治療方針の決定などについて実臨床における判断を誤らせる可能性のある重要な事態であり、変異の影響を受けない測定法の開発が求められる。

## A. 目的

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-1RNA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、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、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ることが明らかとなった。

一方、HIV 1/2 抗原抗体検査 (ELISA) 陽性であり、Western blot (WB) では判定保留 (gp160 (env) +, p55 (gag) +, p24/25 (gag) +, p18/17 (gag) +)) であったことから急性HIV感染症の可能性が疑われた症例において、COBAS TaqMan HIV-1 real-time PCR assay ver.1.0 (CTM v1.0 assay) による初回のHIV-1 RNA量は  $6.1 \times 10^2$  copies/mlであったが、HIV-1 RNA量を再検したところ、CTM v1.0 assayにおいて

「検出せず」を示した事例を受けて、アンプリコア法にて検査したところ、 $5.48 \times 10^4$  copies/mlを呈し、CTM v1.0 assayとの著明な乖離が明らかとなった。CTM v1.0 assayではプライマー下位のsingle point mutationによって100倍以上HIV-1 RNA量を低く検出することが報告されており、乖離の原因を検索しその影響を評価するためにこの症例のウイルス変異について検討した。

## B. 方法

### I. 血中HIV-1 RNA量測定法

#### ①コバス TaqMan HIV-1 「オート」

リアルタイムPCR法であるコバス TaqMan HIV-1 「オート」(ロシュ・ダイアグノスティックス株)を使用し、測定は添付文書記載の操作方法に従い行われた。

#### ②コバスアンプリコア HIV-1

従来用いられていたPCR法であるコバスアンプリコア HIV-1 (ロシュ・ダイアグノスティックス株)を使用し、測定は添付文書記載の操作方法に従い行われた。

### II. P24領域のダイレクトシーケンス

塩基配列のミスマッチを検出するために、HIV-1のGag-P24領域をPCR法にて増幅し、ダイレクトシーケンスを行った。PCRには独自のプライマーを作成して増幅し、患者と野生株(HXB2)のダイレクトシーケンスの結果を比較した。

#### (倫理面の配慮)

この内容は対象患者の病態を明らかにすることを目的に進められたものであり、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遵守し、対象患者への十分な説明と同意のもとに行われた。

## C. 結果

HIV-1のGag-P24領域をPCR法にて増幅し、ダイレクトシーケンスを行った結果は図1に示す。

1. 患者ウイルスのCOBAS AMPLICORのPCR領域内には、野生株(HXB2)と比較して、13箇所の変異が検出された。
2. 患者ウイルスのCOBAS AMPLICORのProbe領域内には、野生株(HXB2)と比較して、5箇所の変異が検出された。
3. 患者ウイルスのCOBAS AMPLICORのDownstream Primer領域内には、5箇所の変異が検出された。

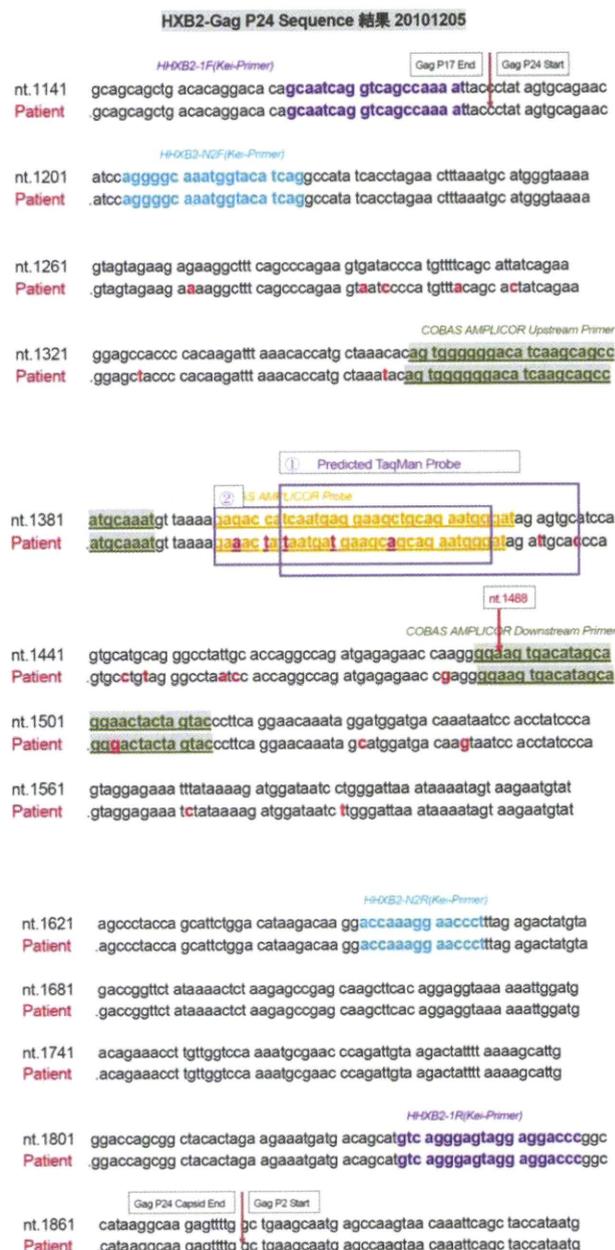


図1 HIV-1野生株(HXB2)と患者ウイルスのGag-P24領域のダイレクトシーケンス

## D. 考察

COBAS TaqMan HIV-1 Real-Time PCR AssayのProbeおよびPrimerの塩基配列は非公開である。PCR Primerの設計方法を考えると、Probeの位置は大きく変化はないと考えられる(30塩基)。ゆえに、TaqMan HIV-1 Real-Time PCR AssayのProbeの配列として、2通りのProbeを推測してみた。①は上流側gより始まるPredicted Probeで、②はAMPLICOR Probeの上流側から下流へ9塩基めのcより始まるProbeである。①のProbeは30塩基中の上流側に集中して4箇所のミスマッチが認められ、②のProbeは上流および下流の両端にミスマッチが認められる。いずれもプローブの30塩基中に5箇所のミスマッチがあり、TemplateにProbeが相補的な結合ができなかったと推測される。

Primerの推測位置については、この領域のPCRにはCOBAS AMPLICORのPrimerの位置が適切であることをPrimer 3.1softwareにて確認した。COBAS AMPLICORのDownstream Primer内には、患者から1箇所のMismatchesが検出されたが、Primer内の中心部なので影響はないと考えられた。これらのことから、TaqMan Real-TimeのDownstream Primerを予測するとCOBAS AMPLICORの4塩基上流のaがPrimerの3'に相当するのではないかと考えられる。また、5名の解析を行っているKornらの論文と、今回の患者の検出された変異の位置から、TaqMan Real-TimeのDownstream PrimerはCOBAS AMPLICORのPrimer配列よりもさらにおよそ30塩基上流にPrimerの3'が位置するのではないかということも推測された。しかし、TaqManReal-TimeのUpstreamとDownstreamのPrimerの位置に関しては正確にはわからない。

## E. 結論

今回、COBAS TaqMan HIV-1 Real-Time PCR Assayにおいて、低値が認められた患者のHXB2-Gag-P24領域のダイレクトシーケンスにより塩基配列のミスマッチを検出した。これらの変異は、COBAS AMPLICORの測定には影響しなかったが、TaqMan HIV-1 Real-Time PCRのProbeやPrimerの結合を阻害し、TaqMan HIV-1 Real-Time PCR Assayにおいて低値を示したと考えられた。急性期症例のみならず、HIV-1感染症においてHIV-1 RNA測定法が「検出せず」を呈したという事実は、診断や治療方針の決定などについて実臨床における判断を誤らせる可能性のある重要な事態であり、変異の影響を受けない測定法の開発が求められる。

## F. 健康危険情報

なし。

## G. 研究発表

- 1) 四本美保子、近澤悠志、村松崇、清田育男、大瀧学、尾形享一、萩原剛、鈴木隆史、天野景裕、山元泰之、福武勝幸 コバスTaqManHIV-1「オート」によるHIV1 RNA定量検査で「検出せず」を呈した急性HIV-1感染症の一例、第24回日本エイズ学会学術集会(東京)2010年11月24-26日

## H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

なし。



## 研究要旨

# 千葉県及び近郊における薬剤耐性HIVの動向調査研究 ～国内で流行するHIV遺伝子型および薬剤耐性株の動向把握と治療方法の確立のために～

研究分担者 佐藤 武幸 千葉大学医学部附属病院感染症管理治療部 准教授

本邦では年間1500人ほどの新規HIV感染者が診断されているが、検査を受けずに診断がされない多数の感染者の存在が推察されている。米国では2006年にCDCがHIV診断にopt-out方式を推奨し新規感染者の発見に成果をあげつつある。HIV感染者の頻度が0.1%以上であることが前提とされ、本邦での実施は時期早尚と思われる。そこで、HIV感染の100倍は存在すると推定されるクラミジア・トラコマティスopt-out法を導入し、陽性者へのHIV抗体検査を実施により新規HIV感染者の発見につながるか否かの検討を試みた。

## A. 研究目的

新規HIV感染者の早期診断をめざしたクラミジア・トラコマティスopt-out法の有効性の検討

### (倫理面への配慮)

対象者にクラミジア・トラコマティス感染が原因となる将来の不妊・肝周囲炎などの重症化、高い頻度、有効な治療法の存在などを説明し、同意を得た上で検査を行う。検査は、侵襲性を伴う血液については原病のために採血が必要な人に対して行い、他の人では尿または膣の擦過検体を用いる。

## B. 研究方法

様々な疾患で医療機関を受診する30歳未満の全ての患者に、クラミジア・トラコマティス感染が原因となる将来の不妊・肝周囲炎などの重症化、高い頻度、有効な治療法の存在などを説明し、同意を得た上で検査を行う。

血液検査の場合は、クラミジア・トラコマティス抗体検査(EIA法による特異IgG抗体)を行い、血液検査の不要な患者では男性では尿検体、女性では膣の擦過検体を用いた遺伝子増幅検査を行う。全て保険診療が認められている。

今回は、一般社会におけるクラミジア・トラコマティス感染の有病率を過去の発表結果を基に検討

し、一般外来を受診者を対象としたクラミジア・トラコマティスopt-out法の有効性の検討を行う。

## C. 結果および考察

妊婦を対象としたクラミジア・トラコマティス抗原検査において、20歳未満では未婚者27.3%；既婚者19.0%、20-25歳では未婚者19.2%；既婚者19.2%、25-29歳では未婚者11.0%；既婚者3.3%と低年齢ほど高値であった<sup>1)</sup>。健康高校生を対象としたクラミジア・トラコマティス抗原検査では、男子で5%、女子で13%が陽性であった<sup>2)</sup>。千葉県の保健所でのHIV無料検査時に行われたクラミジア抗体検査では、筆者らの検討で、10歳代で26.9%、20歳代で22.2%、30歳代で21.3%、40歳代で21.1%と低年齢ほど高値であり、50歳代以上では20%未満と低値であった(影山ら、未発表データ)。

背景としては、初交年齢の若年化があり、様々な報告を勘案すると、中学3年生で5%、高校1年生で15%、2年生で25%、3年生で35%の子ども達が性交渉経験を有すると推察される<sup>3,4)</sup>。一般に進学校での性交渉経験は低いが、高校卒業後には一気に増加し、国立大学生を対象とした調査によると、一年生で25%程度が4年生には75%まで急上昇する。

以上を総合すると、あらゆる疾病を有して来院する若年患者においては、少なくとも10%以上が、ク

ラミジア・トラコマティス抗原または抗体陽性者と推察されるが、今後のさらなる検討は必要である。

抗原陽性者は現在の感染を意味しており治療対象となる。一方抗体陽性・抗原陰性者は既感染を意味し治療対象とはならないが、過去のリスクを伴った性交渉経験者であり、HIV感染のリスクを負った群となる。すなわち抗原・抗体どちらかでも陽性の場合、HIV陽性の可能性の高い群となる。

米国ではHIV感染者スクリーニング検査として、opt-out法と称される方法が推奨されている<sup>5)</sup>。Opt-outの意味は「自身で選択(opt)」し「排除する(out)」ことであるが、与えられた情報を自身で判断・選択することが基本となる。HIVの場合、別の目的で医療機関を受診した患者に対してもHIV検査の重要性を説明し、本人が拒否(排除)せずに了解が得られた場合に検査を行い、HIV不顕感染者の発見を推進させようとの戦略である。インフォームド・コンセントは必要であるが、文書での承諾書、検査前のカウンセリングなどは不要とし、陽性者の発見に重点がおかれた戦略である。前提としては、診断による被験者の有益性が高いこと、ある程度の陽性頻度があること(HIV感染では0.1%以上)が必要となる。従って年齢は13歳から64歳とされている。

本邦でのHIV陽性率は、首都圏の若年男子でもHIV感染率は0.1%未満と推定されるため、HIVのopt-outは時期早尚と思われ、本邦ではHIV感染の100倍は存在するクラミジア・トラコマティス感染を目的とすることが有用と思われる。Opt-out法の条件として最も重要な点は、一定以上の有病率があり、発見されることが被験者に明らかに有用である点があげられる。クラミジア・トラコマティス感染は、現在は不顕性感染であっても、肝周囲炎などの重症感染、不妊・子宮外妊娠などとなる可能性を含み、なにより治療により治癒しうる疾患である。検査の

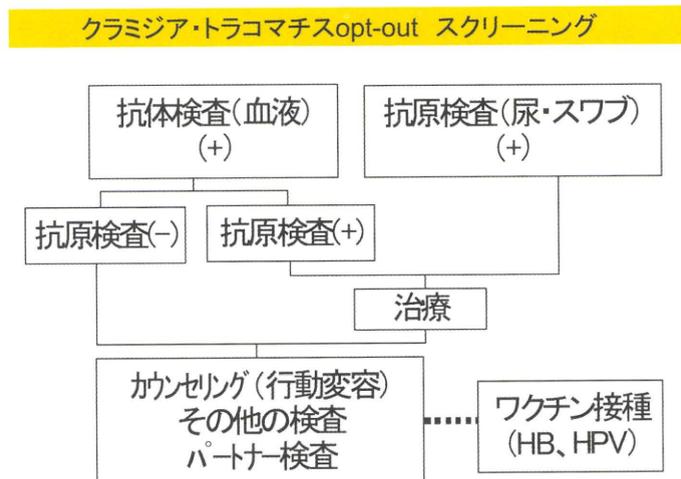
侵襲性も少なく、民間の検査会社を利用する事により全国の一線医療機関で数日以内に結果を得ることが可能である。

クラミジア・トラコマティス抗体陽性・抗原陰性者では、治療の必要はないが、過去のリスクを伴った性交渉経験者であり、HIVと感染様式が一致しているため(共にコンドームで予防可能)、パートナーがHIV陽性であったならばHIV感染者となった可能性の高い群の人達と言える。HIV検査の普及が不十分な本邦において、クラミジア・トラコマティスopt-out法を用いて、既感染者および感染者をスクリーニングし、これら高リスク者にHIV検査を施行する戦略は極めて有用と思われる。

妊婦における網羅的なHIV検査も実質はopt-out法であり、決して本邦で未経験の方法ではない。しかし、十分なインフォームド・コンセント(口頭でもよい)が求められるなど、倫理的な配慮をしつつ発展させる必要があり、慎重な運用が求められよう。今回は当面の対象者として30歳未満を提示したが、検討により年齢層をあげることが可能となるかもしれない。

図に具体的方法をシェーマで示した。第一段階は抗体検査と抗原検査の2通りがある。前者は血液検査となり、後者は女性ではスワブ検査、男性では尿検査でのクラミジア/淋菌同時検出遺伝子増幅検査が有用である。民間検査会社への外注により実地医家でも容易に検査できる。抗体検査陽性者は既感染者か現在の感染かの診断のため、抗原検査が必要である。抗体検査の有用性は、既感染者をスクリーニングする事が出来、今後の行動変容のカウンセリングが可能となる点であり、最初からの抗原検査より優れていると思われるが、血液検査が必要となり、採血の機会が無い場合はハードルが高くなる。

抗原が陽性の場合には治療が行われるが、他は抗体



図

陽性者と同様に、行動変容のカウンセリング、その他の性感染チェック、パートナー検診が必要となる。さらに、1年後などの定期検診も勧める必要がある。可能ならばHPVワクチン、HBワクチン接種も考慮する。

2010年12月千葉県のHIV診療に関わる有志が参加して、第1回のopt-out研究会を開催し、今後の戦略を討議した。

#### D. 結論

クラミジア・トラコモティスopt-out法はHIV感染者の早期発見に有用と思われる、今後のさらなる研究が求められる。

#### 文献

- 1) 熊本悦明・他：日本における性感染症サーベイランス —2002年度調査報告— 日本性感染症学会誌15：17-45、2004
- 2) 性感染症の効果的な蔓延防止に関する研究班（主任研究者：小野寺昭一）：性感染症の効果的な蔓延防止に関する研究。厚生労働科学研究平成15年～平成17年度総合研究報告
- 3) HIV社会疫学研究班（主任研究者：木原正博）：HIV感染症の動向と予防モデルの開発・普及に関する社会疫学的研究。厚生労働科学研究平成17年度総括・分担研究報告書
- 4) 社団法人全国高等学校PTA連合会：高校生の心身の健康を育む家庭教育の充実事業平成16年度事業報告書
- 5) CDC: Revised recommendations for HIV testing of adults, adolescents, and pregnant women in health-care settings. MMWR 50[No. RR-19]:63-85, 2006.

#### E. 研究発表

##### 論文

##### 和文

- 1) 佐藤武幸 迷わない。重症感染症への抗菌薬・抗ウイルス薬。性感染症 小児科診療 11：1954-1960、2010.
- 2) 佐藤武幸【性感染症の診断と治療Update】思春期の性感染診断の話題：HIV診断とクラミジア・トラコモティスopt-out 小児科臨床 64：383-391、2011.
- 3) 佐藤武幸 思春期の性感染とHPVワクチン 小児感染免疫 23：63-73、2011.

#### F. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

## 研究成果の刊行物に関する一覧

杉浦 互

研究成果の刊行に関する一覧表

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
貞升健志	HIV ジェノタイプ 薬剤耐性検査	高久文麿 監修 黒川清、春日雅人、 北村聖編集	臨床検査 データブック 2011-2012	医学書院	東京	2011	585-587
西澤雅子 杉浦互	HIV	山脇良平	各疾患領域の治療 の現状とメディカ ルニーズ DATA BOOK	技術情報協会	東京	2010	515-523

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Imai K, Koibuchi T, Kikuchi T, Koga M, Nakamura H, Miura T, Gono T, Yazawa K, Iwamoto A, and Fujii T	Pulmonary nocardiosis caused by <i>Nocardia exalbida</i> complicating <i>Pneumocystis pneumonia</i> in a HIV-infected patient.	J Infect Chemother			in press
Seiichi Ichikawa, Noriyo Kaneko, JaneKoerner, Satoshi Shiono, Akitomo Shingae, Toshihiro Ito	Survey investigating homosexual behaviour among adult males used to estimate the prevalence of HIV and AIDS among men who have sex with men in Japan	SexualHealth	8(1)	123-124	2011
Ibe S, Sugiura W.	Clinical significance of HIV reverse transcriptase inhibitor-resistant mutations	Future Microbiology	6(3)	295-315	2011
Junko Shibata, Wataru Sugiura, Hirotaka Ode <sup>e</sup> , Yasumasa Iwatani, Hironori Sato, Hsinyi Tsang, Masakazu Matsuda Naoki Hasegawa, Fengrong Ren and Hiroshi Tanaka.	Within-host co-evolution of Gag P453L and protease D30 N/N88D demonstrates virological advantage in a highly protease inhibitor-exposed HIV-1 case	Antiviral Research	90(1)	33-41	2011
Fujisaki S, Yokomaku Y, Shiino T, Koibuchi T, Hattori J, Ibe S, Iwatani Y, Iwamoto A, Shirasaka T, Hamaguchi M, Sugiura W.	Outbreak of hepatitis B virus genotype A and transmission of genetic drug resistance in cases coinfecting with HIV-1 in Japan.	J Clin Microbiol	49(3)	1017-1024	2011
Hibiya K, Tateyama M, Tasato D, Atsumi E, Higa F, Fujita J.	Mechanisms involved in the extension mechanism of pulmonary <i>Mycobacterium avium</i> infection from primary focus to regional lymph nodes	Kekkaku	86(1)	1-8	2011

Nakamura, H., Miyazaki, N., Hosoya, N., Koga, M., Odawara, T., Kikuchi, T., Koibuchi, T., Kawana-Tachikawa, A., Fujii, T., Miura, T., Iwamoto, A.	Long-term successful control of super-multidrug-resistant human immunodeficiency virus type 1 infection by a novel combination therapy of raltegravir, etravirine, and boosted-darunavir.	J Infect Chemother	17(1)	105-110	2011
Iwabu Y, Kinomoto M, Tatsumi M, Fujita H, Shimamura M, Tanaka Y, Ishizaka Y, Nolan D, Mallal S, Sata T and Tokunaga T	Differential anti-Apobec 3G activity of HIV-1 vif proteins derived from different subtypes.	J.Biol.Chem.	285(46)	35350 – 35358	2011
服部純子、杉浦互	薬剤耐性検査の現状と課題	化学療法の領域	27(3)	78-84	2011
佐藤武幸	思春期の性感染と HPV ワクチン	小児感染免疫	23(1)	63-73	2011
佐藤武幸	思春期の性感染診断の話題： HIV 診断とクラミジア・トラコモテイス opt-out	小児科臨床	64(3)	383-391	2011
Koga, M., Kawana-Tachikawa, A., Heckerman, D., Odawara, T., Nakamura, H., Koibuchi, T., Fujii, T., Miura, T., and Iwamoto, A	Change in impact of HLA class I allele expression on HIV-1 plasma virus loads at a population level over time.	Microbiol.Immunol	54(4)	196-205	2010
Tasaka S, Tokuda H, Sakai F, Fujii T, Tateda K, Johkoh T, Ohmagari N, Ohta H, Araoka H, Kikuchi Y, Yasui M, Inuzuka K, Goto H.	Comparison of clinical and radiological features of pneumocystis pneumonia between malignancy cases and acquired immunodeficiency syndrome cases: a multicenter	Intern Med.	49(4)	273-281	2010
Teruya H, Tateyama M, Hibiya K, Tamaki Y, Haranaga S, Nakamura H, Tasato D, Higa F, Hirayasu T, Furugen T, Kato S, Kazumi Y, Maeda S, Fujita J	Pulmonary Mycobacterium parascrofulaceum infection as an immune reconstitution inflammatory syndrome in an AIDS patient.	Intern Med.	49(16)	1817-21	2010
Hibiya K, Utsunomiya K, Yoshida T, Toma S, Higa F, Tateyama M, Fujita J.	Pathogenesis of systemic Mycobacterium avium infection in pigs through histological analysis of hepatic lesions	Can J Vet Res	74(4)	252-257	2010
Kawashima Y, Kuse N, Gatanaga H, Naruto T, Fujiwara M, Dohki S, Akahoshi T, Maenaka K, Goulder P, Oka S, Takiguchi M.	Long-term control of HIV-1 hemophiliacs carrying slow-progressing allele HLA-B*5101.	J Virol	84(14)	7151-60	2010

Hattori J, Shiino T, Gatanaga H, Yoshida S, Watanabe D, Minami R, Sadamasu K, Kondo M, Mori H, Ueda M, Tateyama M, Ueda A, Kato S, Ito T, Oie M, Takata N, Hayashida T, Nagashima M, Matsuda M, Ibe S, Ota Y, Sasaki S, Ishigatsubo Y, Tanabe Y, Koga I, Kojima Y, Yamamoto M, Fujita J, Yokomaku Y, Koike T, Shirasaka T, Oka S, Sugiura W.	Trends in transmitted drug-resistant HIV-1 and demographic characteristics of newly diagnosed patients: nationwide surveillance from 2003 to 2008 in Japan.	Antiviral Res	88(1)	72-79	2010
Tanuma J, Hachiya A, Ishigaki K, Gatanaga H, Lien TT, Hien ND, Kinh NV, Kaku M, Oka S.	Impact of CRF01_AE-specific polymorphic mutations G335D and A731V in the connection subdomain of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) reverse transcriptase (RT) on susceptibility to nucleoside RT inhibitors.	Microbes Infect	12(14-15)	1170-1177	2010
Hirano A, Takahashi M, Kinoshita E, Shibata M, Nomura T, Yokomaku Y, Hamaguchi M, Sugiura W.	High performance liquid chromatography using UV detection for the simultaneous quantification of the new non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor etravirine (TMC-125), and 4 protease inhibitors in human plasma.	Biol Pharm Bull	33(8)	1426-1429	2010
Bandaranayake RM, Kolli M, King NM, Nalivaika EA, Heroux A, Kakizawa J, Sugiura W, Schiffer CA.	The effect of clade-specific sequence polymorphisms on HIV-1 protease activity and inhibitor resistance pathways	J Virol	84(19)	9995-10003	2010
Suzuki S, Urano E, Hashimoto C, Tsutsumi H, Nakahara T, Tanaka T, Nakanishi Y, Maddali K, Han Y, Hamatake M, Miyauchi K, Pommier Y, Beutler JA, Sugiura W, Fuji H, Hoshino T, Itotani K, Nomura W, Narumi T, Yamamoto N, Komano JA, Tamamura H.	Peptide HIV-1 integrase inhibitors from HIV-1 gene products.	J Med Chem	53(14)	5356-60	2010
Ibe S, Yokomaku Y, Shiino T, Tanaka R, Hattori J, Fujisaki S, Iwatani Y, Mamiya N, Utsumi M, Kato S, Hamaguchi M, Sugiura W.	HIV-2 CRF01_AB: first circulating recombinant form of HIV-2.	J Acquir Immune Defic Syndr	54(3)	241-247	2010

Saeng-aroon S, Tsuchiya N, Auwanit W, Ayuthaya PI, Pathipvanich P, Sawanpanyalert P, Rojanawiwat A, Kannagi M, Ariyoshi K, Sugiura W.	Drug-resistant mutation patterns in CRF01_AE cases that failed d4T+3TC+nevirapine fixed-dosed, combination treatment: Follow-up study from the Lampang cohort	Antiviral Res	87(1)	22-29	2010
Matsuyama S, Aydan 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.	J Phys Chem B	114 (1)	521-530	2010
Takako Shima-Sano, Rika Yamada, Kazuyo Sekita, Raleigh W. Hankins, Hiromasa Hori, Hiroshi Seto, Koji Sudo, Makiko Kondo, Kazuo Kawahara, Yuki Tsukahara, Noriyuki Inaba, Shingo Kato, and Mitsunobu Imai.	A Human Immunodeficiency Virus Screening Algorithm to Address the High Rate of False-Positive Results in Pregnant Women in Japan.	PLoS ONE	5(2)	e9382	2010
Minami R, Yamamoto M, Takahama S, Ando H, Miyamura T, Suematsu E.	Comparison of the influence of four classes of HIV antiretrovirals on adipogenic differentiation: the minimal effect of raltegravir and atazanavir.	J Infect Chemother.	17(2)	183-188	2010
Mizusawa, Y., Kuji, N., Tanaka, Y., Tanaka, M., Ikeda, E., Komatsu, S., Kato, S., and Yoshimura, Y.	Expression of human oocyte-specific linker histone protein and its incorporation into sperm chromatin during fertilization.	Fertil. Steril.	93(4)	134-141	2010
Mihara K, Yanagihara K, Takigahira M, Imai C, Kitanaka A, Takihara Y, Kimura A	Synergistic and persistent effect of T-cell immunotherapy with anti-CD19 or anti-CD38 chimeric receptor in conjunction with rituximab on B-cell non-Hodgkin lymphoma.	Br J Haematol	151(1)	37-46	2010
Yoshino Y, Kitazawa T, Kamimura M, Tatsuno K, Ota Y, Yotsuyanagi H	Pseudomonas putida bacteremia in adult patients: five case reports and a review of the literature.	J Infect Chemother.	17(2)	278-82	2010
Yoshino Y, Kitazawa T, Tatsuno K, Ota Y, Koike K.	Cryptococcal pleuritis containing a high level of adenosine deaminase in a patient with AIDS: a case report.	Respiration	79(2)	153-156	2010

Narumi T, Ochiai C, Yoshimura K, Harada S, Tanaka T, Nomura W, Arai H, Ozaki T, Ohashi N, Matsushita S, Tamamura H.	CD4 mimics targeting the HIV entry mechanism and their hybrid molecules with a CXCR4 antagonist.	Bioorg Med Chem Lett.	20(19)	5853-5858	2010
Yoshimura K, Harada S, Shibata J, Hatada M, Yamada Y, Ochiai C, Tamamura H, Matsushita S.	Enhanced exposure of human immunodeficiency virus type 1 primary isolate neutralization epitopes through binding of CD4 mimetic compounds.	J Virol	84(15)	7558-7568	2010
Hatada M, Yoshimura K, Harada S, Kawanami Y, Shibata J, Matsushita S.	HIV-1 evasion of a neutralizing anti-V3 antibody involves acquisition of a potential glycosylation site in V2	J Gen Virol	91(pt5)	1335-1345	2010
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.	Bioorg Med Chem Lett	20(1)	354-358	2010
伊部史朗, 杉浦互	薬剤耐性 HIV の現状と対策	日本臨床	68(3)	476-479	2010
吉居廣朗, 杉浦互	ラルテグラビル耐性の	医薬ジャーナル	46(8)	2054-2058	2010
杉浦互	5th International Workshop on HIV Transmission/ 18th International AIDS Conference	HIV 感染症と AIDS の治療	1(2)	71-73	2010
杉浦互	HIV 感染—最新の疫学・臨床・治療	内科	106(5)	781-787	2010
伊部史朗, 横幕能行, 杉浦互	本邦における HIV-2 の疫学動向と新たな組換え流行株 CRF01_AB の同定	IASR	31(8)	232-233	2010
宮崎菜穂子* 杉浦互	わが国における抗 HIV 治療と多剤耐性症例の現状	IASR	31(8)	233-234	2010
今井光信, 加藤真吾	HIV 検査—最近のスクリーニング検査と遺伝子検査の進歩—	日本臨床	68(3)	433-438	2010
加藤真吾, 今井光信	HIV 検査と検査相談体制	最新医学・別冊 新しい診断と治療の ABC	65	180-187	2010
松井祥子, 安村敏, 喜多博文, 北啓一朗, 鳴河宗聡, 上田幹夫	第 10 回日本内科学会専門医部会北陸支部オープンカンファレンス まとめ 1 ヶ月間に呼吸困難が進行した中年男性	日本内科学会誌	99(7)	164-171	2010

田中沙希恵、藤野達也、堀田飛香、原田浩、中村辰巳、高橋真梨子、高濱宗一郎、安藤仁、南留美、山本正弘	TaqmanPCR 法による HIV-RNA 定量の基礎的検討	国臨協九州別冊	10(1)	1-6	2010
松下修三、横山 勝、宮内浩典、松田善衛、俣野哲朗、岩谷靖雅	HIV 細胞侵入とその防御機序	The Journal of AIDS Reserch	12(2)	67-73	2010
松下修三	抗 HIV 薬	治療薬 up-to date 2010		711-712	2010
松下修三	IV 生化学的検査[2]H.薬物分析検査抗ウイルス薬、抗 HIV 薬	日本臨床	68(増刊号 1)	486-490	2010
松下修三	HIV 感染症	Year note 別冊 Selected Articles		1345-1364	2010
松下修三	HIV-1 感染症の病態生理	最新医学 (別冊) 新しい診断と治療の ABC	65	1345-1364	2010
太田康男、古賀一郎	わが国および帝京大学医学部附属病院における HIV 感染症例の現状	帝京大学雑誌	33(4)	219-224	2010
佐藤武幸	迷わない。重症感染症への抗菌薬・抗ウイルス薬。性感染症	小児科診療	11	1954-1960	2010
健山正男	日本における HIV 診療の現況	日本臨床細胞学会九州連合会雑誌	41	15-21	2010

厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業

「国内で流行するHIV遺伝子型および  
薬剤耐性株の動向把握と治療方法の確立に関する研究」班  
平成22年度 総括・分担研究報告書

---

発行日 2011年3月31日

発行者 研究代表者 杉浦 互

発行所 研究班事務局

(独) 国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター  
〒460-0001 名古屋市中区三の丸4丁目1番1号