

系統樹を見ると 10 年前に採取されたサンプルと比較しても遺伝子距離は近く、殆ど変化をしていない事が明らかである。この事を踏まえて、MCMC 法で tMRCA を計算すると A2 全体は 19 世紀末、現在名古屋で感染拡大している株は 20 世紀中頃に出現したと推測される (図 5)。

遺伝子解析が行なわれた 54 例中 2 例 (4. 4%) (HB-14, HB-28) にジェノタイプ G の重複感染が確認された。選択的にジェノタイプ G を増幅できるように新たにプライマーを設計して解析を行なった結果 L-fragment S-fragment とともにジェノタイプ G の産物を得る事ができた (図 6)。

但しいずれの症例においてもジェノタイプ G の全長配列を得る事は出来ず、組み換え体もしくは欠損株が疑われた。

考察

日本ではかつて、HBV は母子感染と輸血による感染で広く伝播していた。しかし現在ではこれらの感染経路に対しては予防策が徹底されている。そのため、今日では HBV 感染は主に性的接触に因るものと考えられている。日本に広がっている HBV のジェノタイプは C が約 80%、B が約 20% と報告されている。しかし我々の今までの研究から、名古屋の HIV-1/HBV 重複感染者の HBV ジェノタイプは A が 80. 7%、C が 19. 3% であり、これまで日本に広く伝播していた HBV とは分布が大きく異なることが明らかになった。この傾向は 2010 年も継続しており、診断された重複感染症例の 75% がジェノタイプ A であった。興味深いことに、少数ながらジェノタイプ G のリコンビナントもしくは重複感染例が今までに 2 例見つかっている。ジェノタイプ G は単独では生存できない事が知られており、今後ジェノタイプ G の重複感染の拡大が懸念される。今回の解析では名古屋の HBV ジェノタイプ A 群は 10 年前に東京で採取・解析されたジェノタイプ A 群と遺伝子距離が極めて近縁な集団を形成していることが確認された。これは HBV ジェノタイプ A 株が短時間に且つ広く感染した事を示唆するデータであり、名古屋の MSM 集団にジェノタイプ A 株が入ってきたのも 10 年前であると推測される。HBV と HIV の系統樹の分岐パターンが必ずしも一致しないことは、HIV-1 の系統樹解析結果から推測されているよりも、MSM の性的交流がより幅広い可能性を示していると考えられる。既に日本において定着しているジェノタイプ C ではなく、ジェノタイプ A 株の感染拡大が有意となっている理由は明らかでないが、ジェノタイプ A がキャリア化し

やすいことと合わせて、ウイルス学的にみてジェノタイプ C よりもヒトに適応、あるいは直腸を介しての感染に適応している可能性が考えられる。今後も MSM 集団を中心にジェノタイプ A の感染が拡大する恐れがあり、この集団に対するワクチン接種を検討する必要があるが、MSM 人口の全貌が明確でないことを考えると、ジェノタイプ A の感染予防を達成するためには更に発展させて国民全員への接種まで検討することが必要であると思われる。

結論

平成 22 年度は 118 例の新規 HIV/AIDS 症例中 8 例 (6.8%) に HBsAg 陽性が確認できた。これら 8 例は全て日本人の男性同性間性交渉者であった。8 例全例についてゲノム解析が可能であった。系統樹を基にジェノタイプを判定したところ、6 例が A、1 例が C、1 例が A/G リコンビナントであり、MSM 集団においてジェノタイプ A による感染拡大が継続している事が確認された。

健康危険情報

該当なし

知的財産権の出願・取得状況

該当なし

研究発表

1) 原著論文による発表
(英文)

Hirano A, Ikemura K, Takahashi M, Shibata M, Amioka K, Nomura T, Yokomaku Y, Sugiura W. Lack of Correlation Between UGT1A1*6, *28 Genotypes, and Plasma Raltegravir Concentrations in Japanese HIV Type 1-Infected Patients. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2011 Nov 9. [Epub ahead of print]

Revell AD, Wang D, Boyd MA, Emery S, Pozniak AL, De Wolf F, Harrigan R, Montaner JS, Lane C, Larder BA; RDI Study Group*. The development of an expert system to predict virological response to HIV therapy as part of an online

treatment support tool. *AIDS*. 2011 Sep 24;25(15):1855-63. (* RDI Study Group のメンバーとして参加)

Yotsumoto M, Shinozawa K, Yamamoto Y, Sugiura W, Miura T, Fukutake K. Mutations to the probe of Cobas TaqMan HIV-1 ver. 1.0 assay causing undetectable viral load in a patient with acute HIV-1 infection. *J Infect Chemother*. [Epub ahead of print]

Yoshida I, Sugiura W, Shibata J, Ren F, Yang Z, Tanaka H. Change of positive selection pressure on HIV-1 envelope gene inferred by early and recent samples. *PLoS One*. 6(4):e18630, 2011

Ibe S, Sugiura W. Clinical significance of HIV reverse transcriptase inhibitor-resistant mutations. *Future Microbiol*. 6(3):295-315, 2011.

Shibata J, Sugiura W, Odee H, Iwatani Y, Sato H, Hsinyi Tsang, Matsuda M, Hasegawa N, Fengrong Ren and Tanaka H. Within-host co-evolution of Gag P453L and protease D30N/N88D demonstrates virological advantage in a highly protease inhibitor-exposed HIV-1 case: *Antivir. Res*. 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):1017-24, 2011

Shibata J, Sugiura W, Ode H, Iwatani Y, Sato H, Tsang H, Matsuda M, Hasegawa N, Ren F, Tanaka H. Within-host co-evolution of Gag P453L and protease D30N/N88D demonstrates virological

advantage in a highly protease inhibitor-exposed HIV-1 case *Antivir. Res.* 90(1):33-41, 2011

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):1426-9. 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):241-7. 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):22-9. 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):521-30. 2010

Land S, Cunningham P, Zhou J, Frost K, Katzenstein D, Kantor R, Chen YM, Oka S, DeLong A, Sayer D, Smith J, Dax EM, Law M; TAQAS Laboratory Network. TREAT Asia Quality Assessment Scheme (TAQAS) to standardize the outcome of HIV genotypic resistance testing in a group of Asian laboratories. *J Virol Methods.* 159(2):185-93, 2009

Hasegawa N, Sugiura W, Shibata J, Matsuda M, Ren F, Tanaka H. Inferring Within-Patient HIV-1 Evolutionary Dynamics under Anti-HIV Therapy Using Serial Virus Samples With vSPA. *BMC Bioinformatics.* 10:360, 2009

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. *Proceedings of National Academy of Sciences U S A.* 106(46):19539-44, 2009

(和文)

伊部史朗、杉浦 互、薬剤耐性 HIV の現状と対策、*日本臨床* 68(3): 476-79、2010 年

吉居廣朗、杉浦 互、ラルテグラビルの耐性医薬、*ジャーナル* 46(8)、2010 年

杉浦 互、5th International Workshop on HIV Transmission/ 18th International AIDS Conference *メディカルレビュー* 社 1(2)、2010 年

杉浦 互、HIV 感染—最新の疫学・臨床・治療

- 内科 106(5)、2010 年
2011. 6
- 伊部史郎、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 年
- Sugiura W. Effects of HIV integrase polymorphisms on raltegravir-resistance susceptibility. 6th IAS Conference on HIV Pathogenesis Treatment and Prevention. ROME, ITALY. 2011. 7
- 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 年
- Hattori J, Shao W, Shigemi U, Hosaka M, Okazaki R, Yokomaku Y, Iwatani Y, Maldarelli F, Sugiura W. Molecular epidemiology of transmitted drug-resistant HIV among newly diagnosed individuals in Japan. 6th International Workshop on HIV Transmission Principles of Intervention. ROME, ITALY, 2011. 7
- 服部純子、杉浦 互、我が国における薬剤耐性 HIV の現状、感染・炎症・免疫 Vol. 39 No. 4、2009 年
- Hattori J, Shigemi U, Hosaka M, Okazaki R, Sugiura W. Characteristics of Drug-Resistant HIV-1 Transmission: Analysis of Drug Resistance in Recently and Not-Recently Infected Treatment-Naïve Patients in Japan. XV International Congress of Virology. SAPPORO, 2011. 9
- 杉浦 互、HIV の薬剤耐性獲得の分子機構、日本臨床 Vol. 6 No. 1、2009 年
- Ibe S, Masaoka T, Yokomaku Y, Iwatani Y, Sugiura W. Identification of novel drug-resistance mutations selected during abacavir+lamivudine+lopinavir/r therapy in HIV-2 CRF01-AB infection. XV International Congress of Virology. SAPPORO, 2011. 9
- 服部純子、杉浦 互、薬剤耐性の現状、Pharma Medica Vol. 27 No. 4、2009 年
- Hattori J, Shigemi U, Hosaka M, Okazaki R, Sugiura W. Characteristics of Drug-Resistant HIV-1 Transmission: Analysis of Drug Resistance in Recently and Not-Recently Infected Treatment-Naïve Patients in Japan. XV International Congress of Virology. SAPPORO, 2011. 9
- 宮崎菜穂子、松下修三、藤井 毅、杉浦 互、抗 HIV 療法を受けている患者における薬剤耐性 HIV の現状と問題点、日本エイズ学会誌 Vol. 11 No. 2、2009 年
- Ibe S, Masaoka T, Yokomaku Y, Iwatani Y, Sugiura W. Development of in vitro enzymatic method for assessing susceptibility to HIV-1 reverse transcriptase inhibitors using a wheat-germ cell-free translation system. Protein Island Matsuyama International Symposium 2011. MATSUYAMA・EHIME, 2011. 9
- 伊部史朗、杉浦 互、薬剤耐性 HIV の現状と対策、日本臨床 Vol. 68 No. 3、2010 年 3 月
- Miyazaki N, Fujii T, Iwamoto A, Matsushita S, Sugiura W. Potential of recent antiretroviral treatments in controlling treatment-naïve and drug-resistant HIV cases in Japan. International Workshop on HIV& Hepatitis Virus Drug Resistance and Curative Strategies. Mexico,
- 2) 口頭発表
(国際学会)
- Miyazaki N, Fujii T, Iwamoto A, Matsushita S, Sugiura W. Potential of recent antiretroviral treatments in controlling treatment-naïve and drug-resistant HIV cases in Japan. International Workshop on HIV& Hepatitis Virus Drug Resistance and Curative Strategies. Mexico,
- Ibe S, Yokomaku Y, Maejima M, Iwatani Y,

Sugiura W. Drug-resistance profiles of HIV-2 CRF01_AB-infected case during abacavir+lamivudine+lopinavir/r therapy. 6th German-Japanese HIV Symposium. Bochum, Germany, 2011. 10

Suzuki K, Ode H, Fujino M, Kimura Y, Masaoka T, Hattori J, Yokomaku Y, Iwatani Y, Suzuki A, Watanabe N, Sugiura W. Enzymatic and Structural Analyses of DRV-resistant HIV-1 Protease. The 12th SADR. Hershey, Pennsylvania, USA, 2011. 11

Yoshii H, Kitamura S, Sugiura W, Iwatani Y. Constitutive activation of Stat1 causes spontaneous APOBEC3G expression, which determines permissive phenotype against vif-deficient HIV-1 replication in T-cell lines. CSHL RETROVIRUSES. Cold Spring Harbor Laboratory, USA, 2010. 5. 24-29

Iwatani Y. LinLiu, Denis S Chan, Yoshii H, Judith G Levin, Angela M Gronenborn, Sugiura W. Structure-guided mutagenesis of APOBEC3G reveals four lysine residues critical for HIV-1 Vif-mediated ubiquitination. CSHL RETROVIRUSES. Cold Spring Harbor Laboratory, USA, 2010. 5. 24-29

Suzuki H, Hattori J, Nishizawa M, Ibe S, Iwatani Y, Yokomaku Y, Sugiura W. Previous antiretroviral exposure enhances accumulation of mutations in the integrase region and affects acquisition of raltegravir resistance. The International HIV & Hepatitis Virus Drug Resistance Workshop & Curative Strategies. Dubrovnik, Croatia, 2010. 6. 8-12

Masaoka T, Sugiura W, Iwatani Y, Sawasaki T, Matsunaga S, Endo Y, Tatsumi M, Yamamoto N, Ryo A. A high-throughput phenotypic assay for HIV-1 protease drug resistance using a wheat cell-free protein production system. The

International HIV & Hepatitis Virus Drug Resistance Workshop & Curative Strategies. Dubrovnik, Croatia, 2010. 6. 8-12

Hattori J, Gatanaga H, Kondo M, Sadamasu K, Kato S, Mori H, Minami R, Sugiura W, the Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network. Characteristics of drug-resistant HIV-1 transmission: analysis of drug resistance in recently and non-recently infected treatment-naive patients in Japan. The International HIV & Hepatitis Virus Drug Resistance Workshop & Curative Strategies. Dubrovnik, Croatia, 2010. 6. 8-12

Ibe S, Yokomaku Y, Shiino T, Tanaka R, Hattori J, Fujisaki S, Iwatani Y, Mamiya N, Utsumi M, Kato S, Hamaguchi M, Sugiura W. Molecular epidemiology of HIV-2 in Japan: identification of the first circulating recombinant form of HIV-2, CRF01-AB. 5th International Workshop on HIV Transmission. Vienna, Austria, 2010. 7. 15-16

Nishizawa M, Hattori J, Heneine W, J.A. Johnson, Sugiura W. Sensitive testing identifies a greater prevalence of transmitted HIV drug resistance in Japan. 5th International Workshop on HIV Transmission. Vienna, Austria, 2010. 7. 15-16

Sugiura W, Hattori J, Yoshida S, Gatanaga H, Kondo M, Sadamasu K, Shirasaka T, Mori H, Minami R, Tateyama M, Ueda M, Kato S, Ito T, Oie M, Ueda A. A nationwide surveillance study on the prevalence of drug-resistance mutations among newly diagnosed individuals in Japan from 2003 to 2008. 5th International Workshop on HIV Transmission. Vienna, Austria, 2010. 7. 15-16

Ibe S, Yokomaku Y, Tanaka R, Hattori J, Fujisaki S, Iwatani Y, Kato S, Hamaguchi M,

Sugiura W. Development of a highly sensitive and reproducible plasma HIV-2 RNA copy quantification method for monitoring antiretroviral treatment. XVIII IAS Conference. Vienna, Austria, 2010. 7. 18-23

Miyazaki N, Matsushita S, Fujii T, Iwamoto A, Sugiura W, Japanese HIV-MDR Study Group. Drug-Resistant Genotyping to Guide Selection of Etravirine, Darunavir and Raltegravir in Salvage Therapy for Multi-Drug-Resistant Cases Improves Outcomes. XVIII IAS Conference. Vienna, Austria, 2010. 7. 18-23

Hattori J, Gatanaga H, Kondo M, Sadamasu K, Kato S, Mori H, Minami R, Sugiura W, and the Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network. Characteristics of Drug-Resistant Hiv-1 Transmission: Analysis of Drug Resistance in Recently and Not-Recently Infected Treatment-Naïve Patients in Japan. 11th SADR. Hershey PA, 2010. 11. 7-10

Ibe S, Yokomaku Y, Hattori J, Iwatani Y and Sugiura W. First Case of Hiv-2 Crf01-Ab Infection Treated with Combination Antiretroviral Therapy. 11th SADR. Hershey PA, 2010. 11. 7-10

Sugiura W. Characterization and phylogenetic analysis of Drug-Resistant HIV-1 Transmission in Japan. US-Japan Joint AIDS Panel: Resistance Meeting. Singapore, 2010. 12. 8-9

Iwatani Y, D Chan, L Liu, Yoshii H, Shibata J, J Levin, A Gronenborn, and Sugiura W. Structure-guided Mutagenesis of APOBEC3G Reveals Critical Lysine Residues for HIV-1 Vif-mediated Ubiquitination/Degradation. 17th CROI, San Francisco, 2010. 2. 16-19

Masaoka T, Sawasaki T, Matsunaga S, Sugiura

W, Endo Y, Tatsumi M, Yamamoto N, and Ryo A. Novel High-throughput HIV-1 Protease-resistance Phenotypic Assay Using Cell-free Protein Production System. 17th CROI, San Francisco, 2010. 2. 16-19

Ibe S, Yokomaku Y, Shiino T, Tanaka R, Hattori J, Fujisaki S, Iwatani Y, Kato S, Hamaguchi M, and Sugiura W. HIV-2 CRF01-AB: First Circulating Recombinant Form of HIV-2. 17th CROI, San Francisco, 2010. 2. 16-19

Shibata J, Fengrong Ren, Iwatani Y, Hsiny Tsang, Matsuda M, Hasegawa N, Tanaka H, and Sugiura W. Within-Host Coevolution of Gag P453L and Protease D30N/N88D Demonstrates virological Advantage in a Highly Protease Inhibitor-Exposed HIV-1 Case. 10th Annual symposium on Antiviral Drug Resistance, Richmond, VA, 2009. 11. 15-18

Iwatani Y, D Chan, L Liu, Yoshii H, Shibata J, J Levin, A Gronenborn, and Sugiura W. Four Lysine Residues in APOBEC3G C-Terminal Domain are Critical for HIV-1 Vif Mediated Ubiquitination/Degradation. 10th Annual symposium on Antiviral Drug Resistance, Richmond, VA, 2009. 11. 15-18

Masaoka T, Sawasaki T, Sugiura W, Endo Y, Tatsumi M, Yamamoto N, and Ryo A. Development of Methods for Testing HIV-1 Protease Drug Resistance Based on Cell-Free Protein Production System. 10th SADR Richmond, VA, 2009. 11. 15-18

Sugiura W and Japanese Drug resistant HIV surveillance network. Characterization and the Pattern of Antiretroviral Resistance among HIV-1-Infected Patients in Japan: Update from Nationwide Surveillance. The 10th Kumamoto AIDS Seminar, Kumamoto, 2009. 9. 27-29

Fujino M, Miura H, Hattori J, Ibe S, Fujisaki S, Matsuda M, Nishizawa M, Iwatani Y and Sugiura W. Mechanism of Darunavir Resistance Acquisition in Multi-Protease Inhibitor Resistant HIV-1. XVIII international HIV Drug Resistance Workshop, Fort Myers, Florida, 2009. 6. 9-13

Hattori J, Yoshida S, Gatanaga H, Kondo M, Sadamasu K, Shirasaka T, Mori H, Minami R, Sugiura W, and the Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network. Increasing Prevalence of Drug-resistance Mutations among Treatment-naïve HIV-Infected Patients in Japan, 2003 to 2008. XVIII international HIV Drug Resistance Workshop, Fort Myers, Florida, 2009. 6. 9-13

Fujisaki S, Yokomaku Y, Hattori J, Ibe S, Utsumi M, hamaguchi M and Sugiura W, Natl Nagoya Med Ctr, Japan and Natl Inst of Infectious Diseases, Tokyo Japan. Molecular Epidemiology of HBV-HIV Co-Infection in Japan: Viral Genotypes and Drug Resistance. XVIII international HIV Drug Resistance Workshop, Fort Myers, Florida, 2009. 6. 9-13

Sugiura W. Epidemiology of Drug Resistance. 4th German-Japanese HIV-Symposium Bochum, 2009. 3. 23-24

Hattori J, Yoshida S, Gatanaga H, Kondo M, Sadamasu K, Shirasaka T, Mori H, Minami R, Sugiura W, and the Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network. Increasing Prevalence of Drug-resistance Mutations among Treatment-naïve HIV-infected Patients in Japan, 2003 to 2007. 16th CROI, Montreal, Canada, 2009. 2. 8-11

Fujisaki S, Yokomaku Y, Hattori J, Ibe S, Utsumi M, hamaguchi M, and Sugiura W, Natl Nagoya Med Ctr, Japan and Natl Inst of

Infectious Diseases, Tokyo Japan. New Outbreak of HBV Genotype A in HIV-1-co-infected Cases in Japan. 16th CROI, Montreal, Canada, 2009. 2. 8-11

Yoshida S, Gatanaga H, Itoh T, Fujino M, Kondo M, Sadamasu K, Kaneda T, Gejyo F, Shirasaka T, Mori H, Ueda M, Takata N, Minami R, Suigura W and the Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network. Prevalence of Drug Resistance Associated Mutations in Newly Diagnosed HIV/AIDS Patients in Japan from 2003-2007

(国内学会)

伊部史朗、横幕能行、服部純子、杉浦 互、抗レトロウイルス治療中の HIV-2CRF01-AB 感染症例に認めた薬剤耐性変異。第 85 回日本感染症学会総会、東京、2011 年 4 月

今村淳治、横幕能行、服部純子、岩谷靖雅、杉浦 互、新規 HIV/AIDS 診断症例におけるトロピズムに関する検討。第 85 回日本感染症学会総会、東京、2011 年 4 月

平野淳、池村健治、横幕能行、杉浦 互、ラルテグラビル投与に伴う副作用発現並びに遺伝子多型と血中濃度に関する検討。第 85 回日本感染症学会総会、東京、2011 年 4 月

伊部史朗、正岡崇志、横幕能行、岩谷靖雅、杉浦 互、抗レトロウイルス療法中の HIV-2CRF01-AB 感染症例に認めた薬剤耐性変異。第 13 回白馬シンポジウム in 札幌-最先端のエイズ研究を徹底討論する-、札幌、2011 年 5 月

岩谷靖雅、HIV の逆転写・複製機構と APOBEC3 による抑制機序。第 13 回白馬シンポジウム in 札幌-最先端のエイズ研究を徹底討論する-、札幌、2011 年 5 月

杉浦 互、～難治性疾患の治療にむけて～

「HIV/AIDS 治療の現状とこれからの課題」。第3回富山ライフサイエンスシンポジウム、富山、2011年7月

松永智子、澤崎達也、小島良績、森下 了、佐藤裕徳、大出裕高、古川亜矢子、片平正人、杉浦 互、梁 明秀、コムギ無細胞タンパク質合成系を用いた Xenotropic murine leukemia virus-related virus (XMRV) プロテアーゼの解析。日本ヒトプロテオーム機構第9回大会、新潟、2011年7月

横幕能行、鈴木奈緒子、杉浦 互、医療現場における HIV 暴露事故への対策と課題。第65回国立病院総合医学会、岡山、2011年10月

杉浦 互、インテグラーゼ阻害剤の臨床における耐性発現の実際。第25回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011年11月30日-12月2日

杉浦 互、HIV 薬剤耐性検査と耐性 HIV の現状。第25回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011年11月30日-12月2日

北村紳悟、中島雅晶、大出裕高、前島雅美、伊部史朗、横幕能行、渡邊信久、鈴木淳巨、杉浦 互、岩谷靖雅、HIV-1 Vif 感受性に関する APOBEC3C/F のアミノ酸残基の同定。第25回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011年11月30日-12月2日

伊部史朗、近藤真規子、今村淳治、岩谷靖雅、横幕能行、杉浦 互、ウエスタンブロット法により HIV-1/HIV-2 重複感染が疑われた症例の精査解析。第25回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011年11月30日-12月2日

岩谷靖雅、北村慎吾、前島雅美、伊部史朗、横幕能行、杉浦 互、HIV-1 NC は逆転写開始反応を促進する。第25回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011年11月30日-12月2日

田中勇悦、児玉 晃、西澤雅子、杉浦 互、田

中礼子、CXCR4 架橋による CXCR4 および CCR5 親和性 HIV-1 の感染制御。第25回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011年11月30日-12月2日

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、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、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、藤井輝久、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、新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性 HIV の動向。第25回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011年11月30日-12月2日

椎野禎一郎、服部純子、瀧永博之、吉田 繁、伊藤俊広、上田敦久、近藤真規子、貞升健志、藤井毅、横幕能行、上田幹夫、田邊嘉也、渡邊 大、森 治代、藤井輝久、南 留美、健山正男、杉浦 互、日本薬剤耐性 HIV 調査研究グループ国内感染集団の大規模塩基配列解析 2: Subtype B の動向と微小系統群の同定。第25回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011年11月30日-12月2日

片野晴隆、横幕能行、菅野隆行、福本 瞳、中山智之、新ヶ江章友、杉浦 互、市川誠一、安岡彰、日本人 MSM におけるカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV/HHV-8) 抗体保有率について。第25回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011年11月30日-12月2日

渡邊綱正、横幕能行、今村淳治、杉浦 互、田中靖人、HBV 新規感染における HIV 重感染の影響についての検討。第25回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011年11月30日-12月2日

吉田 繁、伊部史朗、服部純子、松田昌和、橋本 修、岡田清美、和山行正、巽 正志、杉浦 互、HIV 薬剤耐性検査の外部精度管理。第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011 年 11 月 30 日-12 月 2 日

西澤雅子、Johnson Jeffrey、Heneine Walid、杉浦互、定量 PCR を応用した高感度薬剤耐性検査法による抗 HIV 治療患者からの微量集族薬剤耐性変異検出の試み。第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011 年 11 月 30 日-12 月 2 日

今村淳治、横幕能行、服部純子、岩谷靖雅、杉浦 互、薬剤耐性変異を認めた新規未治療 HIV/AIDS 症例の治療と予後の検討。第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011 年 11 月 30 日-12 月 2 日

柴田雅章、福島直子、高橋昌明、野村敏治、今村淳治、横幕能行、杉浦 互、リトナビルソフトカプセルから錠剤への切り替えに伴うダルナビル血中濃度の変化に関する検討。第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011 年 11 月 30 日-12 月 2 日

大久保奈美、高橋昌明、木下枝里、柴田雅章、福島直子、野村敏治、泉田真生、今村淳治、横幕能行、杉浦互、抗結核薬リファンピシンが中止となった患者のラルグラビル(RAL)の血中濃度推移をみた一症例。第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011 年 11 月 30 日-12 月 2 日

横幕能行、鬼頭優美子、今村淳治、大出裕高、服部純子、伊部史朗、岩谷靖雅、杉浦 互、HIV プロテアーゼ表現型検査法である VLP ELISA 法の実臨床への応用。第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011 年 11 月 30 日-12 月 2 日

福島直子、柴田雅章、木下枝里、大久保奈美、高橋昌明、野村敏治、横幕能行、杉浦 互、薬剤師のための HIV 研修会開催に関するアンケート調査について。第 25 回日本エイズ学会学術集会・総

会、東京、2011 年 11 月 30 日-12 月 2 日

桑原 健、矢倉裕輝、吉野宗宏、上平朝子、白阪琢磨、杉浦 互、エトラビルン、ダルナビル、ラルテグラビルの血中トラフ値と海外データとの比較。第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011 年 11 月 30 日-12 月 2 日

丸山笑里佳、横幕能行、松岡亜由子、服部純子、杉浦 互、服薬アドヒアランスの低さに関連する要因の検討。第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011 年 11 月 30 日-12 月 2 日

松下修三、杉浦 互、「マラビロク、どう使う?」。第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011 年 11 月 30 日-12 月 2 日

Matsuoka K, Masaoka T, Tanabe F, Morishita R, Sawasaki T, Iwatani Y, Sugiura W. Development of in vitro enzymatic method for assessing susceptibility to HIV-1 reverse transcriptase inhibitors using a wheat-germ cell-free translation system. 第 34 回日本分子生物学会年会、横浜、2011 年 12 月 13 日-16 日

北村紳悟、中島雅晶、大出裕高、前島雅美、伊部史朗、横幕能行、渡邊信久、鈴木淳巨、杉浦 互、岩谷靖雅、Structure-Guided Mutagenesis を用いた APOBEC3C/F の HIV-1 Vif 感受性に関するアミノ酸残基の同定。第 34 回日本分子生物学会年会、横浜、2011 年 12 月 13 日-16 日

伊部史朗、横幕能行、服部純子、杉浦 互、定量 PCR 法を用いた HIV-2 viral load 測定系の確立とその臨床応用。第 84 回日本感染症学会総会、京都、2010 年 4 月 5 日-6 日

岩谷靖雅、杉浦 互、Structure-guided mutagenesis of APOBEC3G reveals four lysine residues critical for HIV-1 Vif-mediated ubiquitination near the C-terminal end. 第 5 回 日独エイズシンポジウム、東京、2010 年 5 月

10 日－11 日

吉居廣朗、岩谷靖雅、杉浦 亙、Spontaneous APOBEC3G expression which determines permissive phenotype against Vif-deficient HIV-1 replication is caused by constitutive activation of Stat1 in T-cell lines. 第 5 回日独エイズシンポジウム、東京、2010 年 5 月 10 日－11 日

岩谷靖雅、杉浦 亙、抗 HIV 宿主因子 APOBEC3G の発現制御と分解。第 12 回白馬シンポジウム、徳島、2010 年 5 月 14 日－15 日

服部純子、重見 麗、杉浦 亙、BED アッセイを用いた未治療 HIV 感染者の動向調査。第 12 回白馬シンポジウム in 徳島～最先端のエイズ研究を徹底討論する～、徳島、2010 年 5 月 14 日－15 日

Sugiura W. A Nationwide Surveillance Study on the Prevalence of Drug-Resistance Mutations among Newly Diagnosed Individuals in Japan from 2003 to 2009, Joint Meeting of AIDS Panel for U. S. Japan Cooperative. Awaji, Japan, 2010. 9. 14

北村紳悟、吉居廣朗、前島雅美、横幕能行、杉浦 亙、岩谷靖雅、APOBEC3C における HIV-1Vif に対する感受性を決定する領域の探索。第 58 回日本ウイルス学会学術集会、2010 年 11 月 7 日

正岡崇志、杉浦 亙、澤崎達也、松永智子、遠藤弥重太、巽 正志、Robert Shafer、山本直樹、梁 明秀、酵素活性を指標とした HIV プロテアーゼ薬剤耐性新規検査法の開発。第 58 回日本ウイルス学会学術集会、2010 年 11 月 7 日

吉居廣朗、北村紳悟、前島雅美、杉浦 亙、岩谷靖雅、リンパ球由来細胞株における vif 欠損 HIV に対する異なる感受性は Stat1 活性化状態に関する。第 58 回日本ウイルス学会学術集会、2010

年 11 月 9 日

木下枝里、平野 淳、柴田雅章、高橋昌明、野村敏治、脇坂達郎、横幕能行、杉浦 亙、リファンピシン併用下におけるインテグラーゼ阻害剤ラルテグラビルの投与量に関する検討。第 24 回日本エイズ学会学術集会、東京、2010 年 11 月 24 日

横幕能行、今村淳治、平野 淳、伊部史朗、岩谷靖雅、杉浦 亙、名古屋医療センターにおける etravirine の使用状況と効果および適応に関する検討。第 24 回日本エイズ学会学術集会、東京、2010 年 11 月 24 日

高橋昌明、平野 淳、木下枝里、柴田雅章、野村敏治、横幕能行、杉浦 亙、HPLC using UV detection for the simultaneous quantification of etravirine (TMC-125) and 4 protease inhibitors in human plasma. 第 24 回日本エイズ学会学術集会、東京、2010 年 11 月 24 日

平野 淳、木下枝里、柴田雅章、高橋昌明、野村敏治、横幕能行、杉浦 亙、Tipranavir 併用患者に対する TDM の有効例。第 24 回日本エイズ学会学術集会、東京、2010 年 11 月 24 日

吉居廣朗、前島雅美、北村紳悟、横幕能行、杉浦 亙、岩谷靖雅、抗 HIV 宿主因子 APOBEC3 ファミリーの細胞依存的な発現調節機構の解明。第 24 回日本エイズ学会学術集会、東京、2010 年 11 月 24 日

西澤雅子、服部純子、横幕能行、Jeffrey Johnson、Walid Heneine、杉浦 亙、高感度薬剤耐性検査法を用いた新規未治療 HIV/AIDS 症例における微小集族薬剤耐性 HIV 調査研究。第 24 回日本エイズ学会学術集会、東京、2010 年 11 月 25 日

奥村かおる、横幕能行、三和治美、山田由美子、杉浦 亙、岩谷靖雅、平野 淳、木下枝里、ベナンボックス吸入時の苦味の軽減に対するハッカ飴の使用とその効果第 2 報—他の有効な手段を探す

ためのハッカの有効性の検証。第 24 回日本エイズ学会学術集会、東京、2010 年 11 月 25 日

柴田雅章、平野 淳、木下枝里、高橋昌明、野村敏治、横幕能行、杉浦 互、薬剤師のための HIV 研修会開催についての事前アンケート調査結果。第 24 回日本エイズ学会学術集会、東京、2010 年 11 月 25 日

正岡崇志、杉浦 互、澤崎達也、松永智子、遠藤弥重太、巽 正志、Shafer Robert、山本直樹、梁 明秀、コムギ無細胞合成 HIV プロテアーゼを用いた薬剤耐性高速検査法の開発。第 24 回日本エイズ学会学術集会、東京、2010 年 11 月 25 日

椎野禎一郎、貞升健志、長島真美、服部純子、杉浦互、国内感染者集団の大規模塩基配列解析 1: CRF01-AE の動向と微小系統群の同定。第 24 回日本エイズ学会学術集会、東京、2010 年 11 月 25 日

今村淳治、横幕能行、服部純子、岩谷靖雅、杉浦 互、新規 HIV/AIDS 診断症例におけるトロピズムに関する検討。第 24 回日本エイズ学会学術集会、東京、2010 年 11 月 25 日

谷 麗君、立川川名愛、椎野禎一郎、細谷紀彰、鯉渕智彦、藤井 毅、三浦聡之、杉浦 互、岩本愛吉、配列特異的オリゴプローブを用いた HIV-1 薬剤耐性変異検出法の開発。第 24 回日本エイズ学会学術集会、東京、2010 年 11 月 25 日

木村雄貴、藤野真之、正岡崇志、服部純子、横幕能行、岩谷靖雅、鈴木淳巨、渡邊信久、杉浦 互、HIV-1 のダルナビル耐性獲得機構の酵素学的構造学的解明。第 24 回日本エイズ学会学術集会、東京、2010 年 11 月 25 日

伊部史朗、横幕能行、服部純子、間宮均人、杉浦 互、東海地域における HIV-2 感染疑い症例の遺伝子学的解析。第 83 回日本感染症学会総会、東京、2009 年 4 月 23 日-24 日

岩谷靖雅、吉居廣朗、柴田潤子、杉浦 互、

APOBEC3G のユビキチン化部位と抗レトロウイルス作用。第 57 回日本ウイルス学会学術集会、東京、2009 年 10 月 25 日-27 日

星野忠次、藍壇 愛、原田壮一郎、杉浦 互、ウイルス酵素の構造変形に関する系統解析。第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会、名古屋、2009 年 11 月 26 日-28 日

正岡崇志、梁 明秀、巽 正志、杉浦 互、松永智子、森下 了、澤崎達也、山本直樹、酵素活性を指標とした新規の HIV プロテアーゼ阻害剤耐性検査法の基盤技術の開発。第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会、名古屋、2009 年 11 月 26 日-28 日

柴田潤子、杉浦 互、岩谷靖雅、Hsinyi Tsang、松田昌和、長谷川直樹、任 鳳蓉、田中 博、宿主内 HIV-1 の共進化変異の解析: Protease 阻害剤耐性変異 D30N/N88D と p1/p6 切断領域の P453 変異の相互干渉の意義。第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会、名古屋、2009 年 11 月 26 日-28 日

鈴木寿子、服部純子、村田大悟、三浦秀佳、伊部史朗、藤野真之、西澤雅子、山本直樹、杉浦 互、インテグラーゼ阻害剤耐性化機序の分子生物学的解析。第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会、名古屋、2009 年 11 月 26 日-28 日

服部純子、瀧永博之、吉田 繁、千葉仁志、小池隆夫、佐々木悟、伊藤俊広、内田和江、原 孝、佐藤武幸、上田敦久、石ヶ坪良明、近藤真規子、今井光信、長島真美、貞升健志、古賀一郎、太田康男、山元康之、福武勝幸、田中理恵、加藤真吾、宮崎菜穂子、藤井 毅、岩本愛吉、西澤雅子、仲宗根正、巽正志、椎野禎一郎、林田庸総、岡 慎一、伊部史朗、藤崎誠一郎、金田次弘、横幕能行、濱口元洋、上田幹夫、大家正義、田邊嘉也、渡辺香奈子、渡邊 大、矢倉裕輝、白阪琢磨、桑原 健、小島洋子、森 治代、中桐逸博、高田 昇、木村昭郎、南 留美、山本政弘、松下修三、藤田次郎、健山正男、堀 成美、杉浦 互、2003-2008 年の

新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性頻度の動向。第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会、名古屋、2009 年 11 月 26 日－28 日

須藤弘二、杉浦 互、加藤真吾、PCR-MS 法を用いた新規感染者血漿中の薬剤耐性微小団の定量。第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会、名古屋、2009 年 11 月 26 日－28 日

重見 麗、服部純子、保坂真澄、伊部史朗、藤崎誠一郎、横幕能行、濱口元洋、内海 眞、岩谷靖雅、杉浦 互、BED アッセイを用いた名古屋医療センターにおける新規 HIV 感染者の動向調査。第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会、名古屋、2009 年 11 月 26 日－28 日

椎野禎一郎、貞升健志、長島真美、服部純子、杉浦互、国内感染者集団の大規模塩基配列データベースから推測される HIV 集団サイズの経時的变化。第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会、名古屋、2009 年 11 月 26 日－28 日

藤崎誠一郎、横幕能行、服部純子、伊部史朗、濱口元洋、岩谷靖雅、杉浦 互、HIV/HBV 重複感染者における HBV genotype 解析および薬剤耐性アミノ酸変異の検出。第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会、名古屋、2009 年 11 月 26 日－28 日

伊部史朗、横幕能行、椎野禎一郎、田中理恵、服部純子、藤崎誠一郎、岩谷靖雅、間宮均人、内海 眞、加藤真吾、濱口元洋、杉浦 互、日本における HIV-2 感染症の分子疫学的解析。第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会、名古屋、2009 年 11 月 26 日－28 日

宮崎菜穂子、松下修三、藤井 毅、岩本愛吉、杉浦互、多剤耐性症例治療を目的とした新規抗 HIV 薬使用症例に対する緊急全国調査。第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会、名古屋、2009 年 11 月 26 日－28 日

石川晃一、山本典生、杉浦 互、服部純子、山

岡昇司、ガーナにおける抗レトロウイルス治療 (ART) 中 HIV 感染者のウイルス定量と薬剤耐性解析。第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会、名古屋、2009 年 11 月 26 日－28 日

西澤雅子、Jeffery Johnson, Walid Heneine、山本直樹、杉浦 互、高感度薬剤耐性 HIV 検出法を用いた微小集族薬剤耐性 HIV の検出と依存比率に関する研究。第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会、名古屋、2009 年 11 月 26 日－28 日

横幕能行、大出裕高、藤崎誠一郎、服部純子、濱口元洋、杉浦 互、HIV プロテアーゼ阻害剤耐性関連変異蓄積症例の薬剤感受性評価に対する VLP ELISA 法およびコンピューターシミュレーション法の有用性の検討。第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会、名古屋、2009 年 11 月 26 日－28 日

岩谷靖雅、吉居廣朗、柴田潤子、杉浦 互、Vif 依存的な APOBEC3G のユビキチン化部位と抗ウイルス作用。第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会、名古屋、2009 年 11 月 26 日－28 日

吉居廣朗、岩谷靖雅、杉浦 互、抗 HIV-1 宿主因子 APOBEC3G ファミリーの発現調節に関する研究。第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会、名古屋、2009 年 11 月 26 日－28 日

8

HIV関連リポディストロフィーの治療に関する研究

研究分担者：秋田 定伯（長崎大学病院 形成外科）

研究協力者：吉本 浩（長崎大学病院 形成外科）

研究要旨

閉鎖系脂肪組織由来細胞分離・精製システムを使用した非培養自己ヒト皮下脂肪組織由来間葉系前駆細胞を用いた HIV 関連リポディストロフィーに対する脂肪再生療法を【ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針】

（ヒト幹指針）に沿った臨床研究の推進のために、中小動物（マウス）、大動物（ミニブタ）を用いた有効性、安全性試験（前臨床研究）をすすめる。今後の検討項目としてヒトの皮膚・皮下組織に性状に近いミニブタにおいて脂肪組織単独と間葉系幹細胞を含む細胞付加した群とで、脂肪再生組織の検討を加え、有効性の根拠を更に検討することが重要である。今後の臨床研究へ向けての研究の方向性と基礎的検討が重要である。現行ヒト臨床で実施されている HIV 関連を含めたリポディストロフィーに対する治療方法の検討を行う。

研究目的

平成 20 年度～22 年度の厚生労働科学研究費補助金【HIV 関連リポディストロフィーの克服に向けて】研究における、大阪医療センターでの臨床評価では、HAART 服薬期間平均 3074 日の 1281 名の患者（うち血液製剤由来感染者 80 名）中、42 名（性感染者 32 名、血液製剤由来 10 名）の“リポディストロフィー”を呈する患者さんがおられ、顔面（48%）、足部（25%）、腕部（21%）等露出部での症状出現を多く認めており、人目を気にするなど QoL 低下を招く等問題点が指摘されている。更に、国立国際医療センター外来診療における事例検討でも顔貌変化などを著明に認めるとの結果を得た。また、長崎大学病院にて 3 次元 CT を用いた検討では、HIV 感染者が、膝及び肘遠位、顔面、骨突起周辺部、体幹などの皮下組織（脂肪）分布の低下を認めた。その中で、特に血液製剤由来感染者に関しては出血、長時間手術などによる手術侵襲を可能なかぎり抑えること、外部からの病原体などによる感染を防ぐ手法を開発が求められることから、脂肪過剰部からの脂肪吸引とその吸引組織を用いた新規治療法を開発を目的にヨーロッパにおいて CE マーク承認され慢性心不全（PRECISE trial）及び虚血性心疾患（APOLLO trial）など II 相試験での安全性が示され、乳房再建方法としても多く使用されている閉鎖系脂肪組織由来細胞分離・精製システムを用いた非培養自己ヒト皮下脂肪組織由来間葉系前駆細胞による HIV 関連リポディストロフィーに対

する脂肪再生療法を【ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針】（ヒト幹指針）に沿った臨床研究の推進のために、中小動物（マウス）、大動物（ミニブタ）を用いた有効性、安全性試験（前臨床研究）をすすめ、特にヒトに近いミニブタ実験では脂肪組織単独と間葉系幹細胞を含む細胞付加した群とで、脂肪再生組織の検討を加え、有効性の根拠を検討し、今後の臨床研究へ向けての研究の方向性と基礎的検討を行う。

研究方法

小動物（マウス）実験はリポディストロフィーのモデルがないため、全身疾患モデルで糖尿病に随伴することが知られている NOD（Non-Obese Diabetic）マウス（n=4）とその littermate である ICR（n=4）マウスを用い、更に皮下組織の萎縮効果と続発する“脂肪萎縮”モデルとして、放射線を外照射した。放射線照射は原爆後障害医療研究施設 4 階にて ISOVOLT TITAN 320 を用い 5 Gy 照射とした。脂肪由来細胞は、ヒトにおける実際と同様に放射線照射以外部位のソケイ部位などから脂肪採取し、ヒトにおける閉鎖系回路が使用不可能なことから、肉様膜を含めて皮膚切開し皮下脂肪を採取し 10 cm² ペトリ皿上でリン酸緩衝液添加し、組織を mincing し、50cc チューブ内に移動し、ヒトと同じ Celase™（0.5 単位/ml 脂肪組織）を加え、37℃にて 30 分間インキュベート、更に 10 分 37℃で震盪器にて攪拌。組織消化後、600×g

5 分間で室温沈降。滅菌 BSA (Bovine Serum Albumin) 5ml 入れ再度攪拌。更に、400×g 5 分間で室温沈降を 2 回繰り返す。10 分間室温での震盪攪拌後、600×g 5 分間で室温沈降させ、100 μm 細胞濾過器を用いて濾過、更に 40 μm 細胞濾過器を用いて濾過、0.5 ml を細胞計測に用い他は細胞移植準備とした。細胞数計測後対照群に 2.97×10^6 細胞個/5ml、放射線群 3.8×10^6 細胞個/5ml 細胞を洗浄脂肪組織と混和して皮下に移植注入した。体重変化などの経過観察と 4 週後の組織採取し検討した。

大動物 (ミニブタ) については自己脂肪組織採取し、ヒト臨床と全く同じ“閉鎖系”細胞分離装置 (Celution システム) を用いて細胞分離・精製後、対照群と“脂肪萎縮”群としての放射線照射群で検討した。放射線照射は外科用 X 線システム (DHF-105CX-B, 日立メデコ) にて線源を照射面から 20cm 高さで固定し、放射線 (60 kV, 25 分, 最長 9 分の 20 分間隔で 3 回照射) 発生させた。放射部位に線量計 (ガラス素子) を 8 つ貼付し、照射後に長崎大学アイソトープセンターにて線量計算した。組織移植細胞源である脂肪は、ヒト実際と同様に吸引法により鼠蹊部、大腿から採取し、回路で分離精製後、細胞測定後全量を洗浄脂肪組織と混和して注入移植した。術後 4 週まで経過観察し、4 週後に全身組織検査を含む検討した。ミニブタは毎日の一般状態の観察、体重測定は移植前、移植後、7, 14, 21, 28 日で実施し血液検査は放射線照射前、移植術後、移植後 14, 21 日に前大動脈洞カニューラから採取し血液学検査、血液生化学検査実施した。28 日剖検時、脳、肺、心、肝、脾、腎、副腎、移植部位皮膚・皮下組織について病理組織検査した。

(倫理面への配慮)

マウス実験は長崎大学動物実験計画番号 1008020871、1007150867 に基づき、先導生命科学研究支援センター・動物実験施設、原爆後障害医療研究施設 X 線照射室を使用し、動物への苦痛軽減、排除に最善を尽くし、実験終了後は安楽死させた。ミニブタを用いた実験は日本バイオリサーチセンター羽島研究所にて厚生労働省通知 科発 0601001 号 (平成 18 年 6 月 1 日付) 「厚生労働省の所轄する実施期間における動物実験などの基本指針」、(平成 19

年 4 月 2 日付。平成 22 年 8 月 27 日改訂) 「実験動物の管理および福祉に関する指針」に基づいた。

研究結果

マウスを用いた実験では 4 週間観察期間で、対照群、放射線照射群共に、全マウス 10% の体重増加を認め、行動なども異常を認めなかった。肝、筋 (大腿筋)、心臓、腎臓、大腸、小腸、脳、移植部位を含めた皮下・皮膚は対照群、放射線照射群で全く組織学的異常を認めなかった。

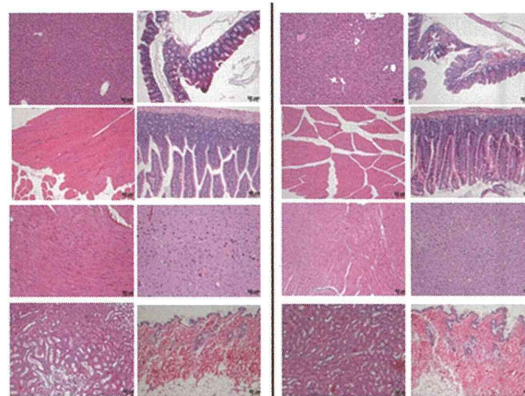


図1 NOD (左) 及び ICR (右) マウス 放射線照射後の組織像
各々1 段左 (肝)、1 段右 (大腸)、2 段左 (筋)、2 段右 (小腸)、3 段左 (心)、3 段右 (脳)、4 段左 (腎)、4 段右 (皮膚・皮下組織)

ミニブタ実験に関して、全身状態は観察期間 4 週間で著変を認めず体重推移も異常を認めなかった。放射線照射動物では照射実験後 14 日で血小板値が著明な低下 (術前 51.7 から $20.4 \times 10^4 \mu\text{L}$) したが術後 28 日までに回復した。その他血液生化学的検査、移植部位の外観、器官重量は非放射線照射動物、照射線動物ともに異常を認めなかった。病理組織観察で、非照射動物は照射動物では、脳、肺、心臓、脾臓、副腎及び移植部位 [右下 (高照射) と左上 (低照射)] に異常は認められなかったが、肝臓及び腎臓で軽度の線維化が認められた。

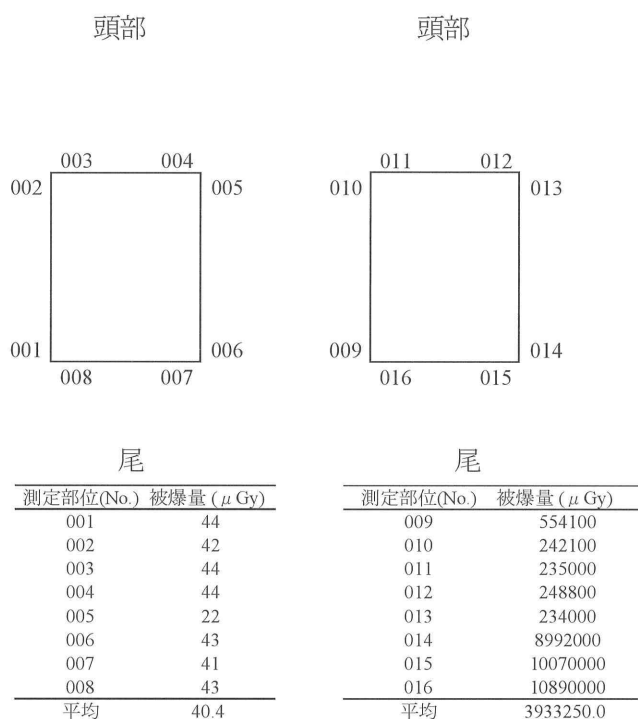


図 2 ミニブタ放射線照射（左 対照動物、右 照射動物）後の線量測定結果
照射群では“尾”部により高線量照射となっている。

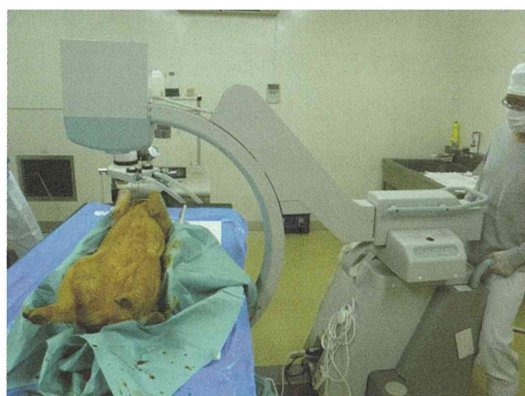


図 3 ミニブタに対する外科用 X 線システムを用いた放射線照射実際

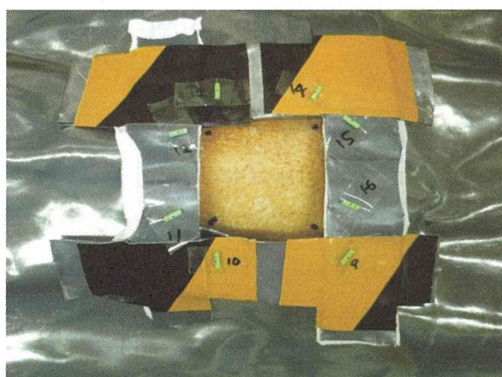


図 4 ミニブタに対する外科用 X 線システムを用いた放射線照射実際



図 5 “閉鎖”回路細胞精製分離 Celution システム



図 6 吸引脂肪組織

組織はこの後“閉鎖”回路細胞精製分離 Celution システム内で脂肪の油滴など除去後、“細胞”として取り出される。

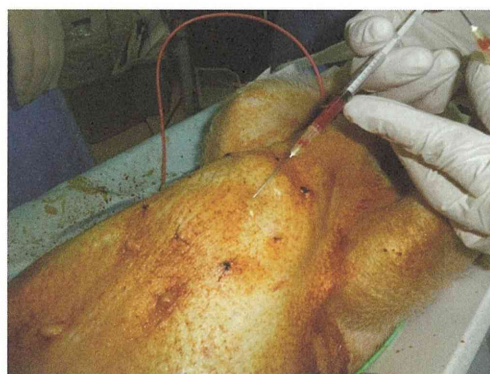


図 7 精製・分離後に注入している様子

考察

NOD マウスおよび局所放射線照射マウスを用いた小動物検討において、自己脂肪組織由来の幹細胞を含むと思われる細胞と吸引脂肪組織の混合注入にて、4 週間経過で安全性が確認された。マウスモデルでは、体重が軽く、脂肪吸引器具もヒトに用いるもの

とは異なり、皮膚組織性状も肉様膜の存在のため、ヒト大きく異なることから、ヒトに比較的近く、脂肪の吸引採取方法がヒトと全く同じで、吸引組織からの細胞分離精製が同じシステムを用いた方法で、且つ脂肪萎縮モデルの代用として、ミニブタに対する放射線外照射モデルを用い、対照動物と共に検討した。ミニブタの飼育、管理、実験設備の関係から外部施設での研究となったが、放射線照射は外科用 X 線システム (いわゆる C アーム) を用いて測定線量も 0.5 ~ 10.8 Gy と “不均等” 照射となったものの、脂肪組織からの精製細胞と皮膚の混和移植部位では、4 週間観察で肉眼的にも、病理組織学的にも異常を認めなかった。術後 14 日で一時、血小板低下 (術前の半分以下) となったが経過観察中に回復し、その他全身的障害は認めなかった。但し、放射線照射個体で深部器官である肝と腎に軽度の線維化を認めており、この事は外部放射線照射が十分に深部まで到達した証拠ともなり、通過部位で細胞と脂肪組織混和物の移植後最も線量が大きな、皮膚・皮下組織で異常を認めなかったことから安全性が示唆された。

治療法の有効性検証として、細胞を使用せずに、脂肪移植のみを放射線障害部位へ移植し効果を挙げたとするヒト脂肪をマウスに移植した報告や (Sultan SM, Stem CS, Allen RJ, et al. Human fat grafting alleviates radiation skin damage in a murine model. *Plast Reconstr Surg.* 128: 363-372, 2011) や HIV 関連リポディストロフィーの顔面萎縮に対しての合成充填物 (filler) と比較して、脂肪移植単独が有用であるとの報告がある (Rauso R, Curinga G, Santillo V, et al. Comparison between lipofilling and a nonabsorbable filler for facial wasting rehabilitation in HIV-positive patients. *J Craniofac Surg.* 22: 1684-1688, 2011) が、長期的な経過での吸収や、脂肪萎縮状態の再発などについての比較研究は認められないため、有効性の検証には今回の実験で使用したシステムによるミニブタモデルでの、脂肪由来細胞と脂肪組織移植と脂肪移植単独または外科的皮弁術での充填について検討が必要と思われる。

ヒト臨床における HIV 関連リポディストロフィーの脂肪萎縮に対する治療として、自己の体幹など脂

肪過剰部位から吸引した脂肪組織を萎縮部位に注入する方法は広く用いられているが、整容的改善は 38 例中、12 例で 6 か月後の評価で再脂肪注入移植を必要としている (Serra-Renom JM, Fontdevila J. Treatment of facial fat atrophy related to treatment with protease inhibitors by autologous fat injection in patients with Human Immunodeficiency Virus infection. *Plast Reconstr Surg.* 114: 551-555, 2004.)。また、別の報告では、吸引脂肪移植では予想容量より 50% 吸収されてしまう事が、平均 3 年 6 か月の経過観察で報告されており (Niechajav I, Sevcuk O. Long-term results of fat transplantation: clinical and histologic studies. *Plast Reconstr Surg.* 94: 496-506, 1994)、全身疾患で薬剤の影響の大きい HIV 関連リポディストロフィーでのその影響はより大きいと考えられる。

外科的な充填術には、他に、真皮-脂肪の血管柄を付加せずに用いる場合や、陥凹部を目立たなくするために除皺術を行う場合や、filler など合成物充填があるが、術後の萎縮が高度になったり、異物反応、感染などを来すことがある。

また、より吸収の少ない組織充填を目的として、事例研究的に各種 flap を用いた再建が試みられている。ロンベルグ病 (進行性顔面萎縮症) に対する血管柄付き遊離前腕真皮-脂肪移植 (Endo T, Nakayama Y, Matsuura E, et al. Facial contour reconstruction in lipodystrophy using a double paddle dermis-fat radial forearm free flap. *Ann Plas Surg.* 32: 93-96, 1994)、あるいは限局性脂肪萎縮に対して 2 例に血管柄付き遊離脂肪筋膜弁での再建では組織がしなやかで、顔面表情が再建後に維持されやすく重力による移植組織の低下も 4 年、5 年で問題ないとの結果を得ている (Koshy CE, Evans J. Facial contour reconstruction in localized lipodystrophy using free radial forearm adipofascial flaps. *Br J Plast Surg.* 51: 499-502, 1998)。また、血管吻合を用いずに顔面リポディストロフィー頬部萎縮部位への側頭筋を移行術などにより頬部と上唇の充填再建が試みられている (Van der Wal KG, Mulder JW. Facial contour reconstruction in partial lipodystrophy using two temporalis muscle flaps.

A case report. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 27: 14-16, 1998)。いずれにしても flap による再建は手術侵襲が高度となり、出血や血腫形成の危険性が高くなり、血液製剤由来の HIV 関連リポディストロフィーに対しては適応となりにくい事が多い。また、flap 採取部位は術前に 3 次元 CT など脂肪組織の存在と分布を確認する必要があるが、当方のこれまでの 3 次元 CT を用いた評価では四肢においても脂肪分布が極端に少ない症例が多く、遊離脂肪弁の適応そのものも慎重考慮すべきであると思われる。

よって、全身性の脂肪分布異常の中でも萎縮病変が主体の場合には、単純は吸引脂肪組織の移植や、大がかりな脂肪を中心とする flap による組織移植などは一部の症例には適応となると思われるが、一般的な治療方法として十分は検討が必要である。長期的にも安定した脂肪再生が得られ、十分な臨床効果が得られる手法の開発が望まれる。

結論

HIV 関連リポディストロフィーに対する治療方法として、有望と思われる脂肪組織由来細胞と吸引脂肪を用いた脂肪再生の安全性と一部有効性について、代謝性リポディストロフィーである NOD マウス及びヒトの皮膚皮下組織に近いとされるミニブタへ放射線照射後の皮膚・皮下組織（脂肪）の安全性は確認された。今後は比較試験を通じてこれまで頻りに治療報告されている脂肪組織単独移植と脂肪組織由来細胞と吸引脂肪組織との比較検討は重要であると思われる。

また現行 HIV 関連リポディストロフィーの治療として、多く用いられている合成人工物は長期的には感染や露出などの危険を常に伴い、顔面などに用いられた場合には自然は表情が得られないなどの欠点がある。血行を伴わない真皮-脂肪移植術は脂肪移植術と同様に術後吸収程度に予想つきにくく、また、血管柄付き組織移植は HIV 関連以外のリポディストロフィーにおいては年単位の経過で有効であるとの事例報告はあるが、系統だった臨床研究報告はない。また手術手技が大がかりになり侵襲も大きくなるため、術前の準備が重要である。

よって、安全で効果的な手法の開発が望まれる。

健康危険情報

該当なし

知的財産権の出願・取得状況

該当なし

研究発表

1) 原著論文による発表

Hikida M, Tsuda M, Watanabe A, Kinoshita A, Akita S, Uchiyama T, Yoshiura KI. No evidence of association between 8q24 and susceptibility to nonsyndromic cleft lip with or without palate in Japanese population. *Cleft Palate Craniofac J.* 2011, epub ahead of print

Akita S, Yoshimoto H, Akino K, Yamashita S, Hirano A. Early experiences with stem cells in treating chronic wounds. *Clin Plast Surg.* in press, 2011

Kinoshita N, Tsuda M, Hamuy R, Nakashima M, Nakamura-Kurashige T, Matsuu-Matsuyama M, Hirano A, Akita S. The usefulness of basic fibroblast growth factor from radiation-exposed tissue. *Wound Repair Regen.* in press, 2011

Akita S. Surgical management of pressure ulcers. *Surgical wound Management, Second Edition* Eds. Mark S. Granick and Luc Teot, Informa Healthcare, London, 2011

林田健志、秋田定伯、bFGF 製剤の創傷治癒への効果と臨床応用。医学のあゆみ 237: 14-16, 2011

2) 口頭発表

Akita S, Yoshimoto H, Akino K, Ohtsuru A, Hayashida K, Hirano A, Suzuki K, Yamashita S. Mesenchymal stem cell therapy in local radiation injuries-A Japanese approach. 5th International REAC/TS (Radiation Emergency

Assistance Center/Training Site) Symposium,
Miami, September 27-29, 2011

Akita S, Yoshimoto H, Akino K, Ohtsuru A,
Hayashida K, Hirano A, Yamashita S. Novel Therapy
for chronic radiation wounds: Autologous
adipose-derived stem cell therapy is useful for
chronic radiation injuries. 10th Annunal meeting
of Italian Wound Healing Society (AIUC), Ancona,
September 21-24, 2011

Akita S. Murakami R. Versatility of thin
groin flap and adipose-derived stem cell
therapy for burn scar contracture. The 8th
Asia-Pacific Burn Congress & the 3rd congress
of the Asian Wound Healing Association, Bangkok,
September 11-14, 2011

Akita S, Yoshimoto H, Hayashida K, Hirano A.
Management in difficult wound: application of
autologous adipose-derived stem cells in
radiation injury, chrohn' s disease and
ulcerative colitis. The 8th Asia-Pacific Burn
Congress & the 3rd congress of the Asian Wound
Healing Association, Bangkok, September 11-14,
2011

Akita S. Future of wound care and stem cell
therapy. 1st joint Asia-Pacific Wound Conference,
Singapore, September 1-3, 2011

Akita S. Advancement in science of wound
management. 1st joint Asia-Pacific Wound
Conference, Singapore, September 1-3, 2011

秋田定伯、吉本 浩、林田健志、芳原聖司、
平野明喜、ケロイド電子線照射後放射線障害（潰
瘍、拘縮）に対する自家脂肪組織由来幹細胞を用
いた再生医療。第 3 回日本創傷外科学会、札幌、
2011 年 7 月 9 日

木下直志、Rodrigo Hamuy、吉本 浩、林田健志、
芳原聖司、中島正博、平野明喜、秋田定伯、サイ
トカインおよび人工真皮とともに実施した同時植

皮の生着性、術後拘縮および癒痕性状の検討。第
3 回日本創傷外科学会、札幌、2011 年 7 月 8 日

秋田定伯、吉本 浩、林田健志、平野明喜、HIV
リポディストロフィーに対する自家脂肪幹細胞再
生医療。第 54 回日本形成外科学会、徳島、2011
年 4 月 13 日

9

HIV感染患者における透析医療の推進に関する研究

研究分担者：秋葉 隆（東京女子医科大学 腎臓病総合医療センター 血液浄化療法科）

研究協力者：日ノ下文彦（国立国際医療研究センター病院 腎臓内科）

研究要旨

エイズ感染患者の透析医療の確保に関して透析施設の HIV 患者受け入れの現状を把握し今後の対策の資料とするため調査を行った。全国の透析施設 3802 施設にアンケートを送付、1552 通（回収率 40.82%）を得た。透析を必要とする HIV 陽性者の透析受け入れの経験のある施設は 94 施設（6.2%）、経験のない施設 1434 施設（93.8%）で、平成 23 年 11 月現在の HIV 患者透析実施患者数は 89 名（60 施設、各施設 1～7 名、 1.48 ± 1.12 名）だった。この施設は今後も「受け入れる」が 69 施設、「難しい」23 施設で 74.2%の施設が今後も受け入れを継続するとの意向を示された。受け入れの経験がない医療機関の今後の方針は「紹介があれば受け入れる方針である」227 施設（15.7%）、「今後、受け入れを検討する」445 施設（30.7%）、「受け入れることは難しい」776 施設（53.6%）と約半数が今後の受け入れの可能性を表明した。しかしながら、「受け入れがたい理由」として、「HIV 陽性者専用のベッドが確保できない。」「HIV 陽性者への対応手順が整理されていない。」「透析中に急変した際のバックアップ体制が得られるのか心配。」などの懸念が高頻度に示され、公的な援助なしに民間施設が HIV 患者を受け入れるには多くの難関があることが明らかになった。

研究目的

HIV 感染症は 1996 年以前には有効な治療法がなく、AIDS を発症すれば平均 1-2 年のうちに死亡する極めて予後不良の疾患だった。しかし 1996 年から HAART (highly active anti-retroviral therapy) と呼ばれる多剤併用療法が行われるようになり劇的な改善が見られ、それまで致死性の疾患であった HIV 感染症は現在では「慢性疾患」として扱われるようになった。

一方、HIV 患者の 3 分の 1 近くで病的な蛋白尿を認めるという報告もあり、HIV 患者では腎炎や急性腎不全による腎障害を合併しやすいと考えられ、さらに抗 HIV 薬や、合併する日和見疾患の治療や予防に用いられる薬剤の中には、副作用として腎障害を来すものも少なくなく、生命予後の著明な改善の結果、今後は患者の高齢化に伴って、糖尿病、高血圧などを原因とする慢性腎臓病の増加も考えられ、今後、透析導入例が増加するであろうと予想される。

しかしながら、HIV 患者を受け入れる透析施設は限られており、導入後、「慢性に透析を継続できる施設が見つからない」との患者の苦境が厚労省疾病対策課に寄せられている。このような現状を踏まえ、エイズ感染患者の透析医療の確保に関して透析施設

の HIV 患者受け入れの現状を把握し今後の対策の資料とするため調査を行った。

研究方法

調査対象はわが国で慢性透析治療を行っている全医療機関とした。具体的には、日本透析医学会の施設会員名簿（2011 年度版）に掲載された全施設とした。アンケートは表に示すように匿名で、①施設の背景、②他の感染症患者の経験と対策、③HIV 患者の受け入れ経験と今後の受け入れ可否、④受け入れがたい理由と行政への期待、⑤「HIV 感染慢性血液透析患者の透析機会の確保」についての自由記載による意見、に及んだ。

最後に「現状を踏まえ、エイズ感染患者の透析医療の確保に関して現状を把握し今後の対策の資料とするために別紙のアンケートにお答えのうえ、12 月 28 日（水）までに返信用封筒にてご送付ください。なお、お答えは「施設名」を匿名として集計し、施設名が公表されることはありません。」と記して、アンケートをいただいた。

(倫理面への配慮)

アンケートは、今回の研究目的のみに使用し、施

設名が公表されることがないことを明示して行った。

研究結果

(1) 背景因子

アンケートは 12 月 14～16 日に日本透析医学会施設会員名簿により、全国の透析施設 3802 施設に発送、12 月 28 日までに到着した 1443 通と、1 月 4 日から 1 月 20 日までに到着した 109 通をあわせた 1552 通 (回収率 40, 82%) を集計した。

記入者の職種は医師 1110 人 (71. 52%)、看護師 190 人 (12. 24%)、臨床工学士 149 人 (9. 60%)、事務 56 人 (3. 60%) その他・無記入 45 人 (2. 89%) と、医師による記入がほとんどだった。

回答施設の性格は国立大学 40 施設、私立大学 39 施設、国立病院 17 施設、県市町村立施設 168 施設、社会保険 18 施設、厚生連 27 施設、その他公的施設 118 施設、私立総合病院 100 施設 (6. 44%)、私立病院 288 施設 (18. 55%)、診療所 682 施設 (43. 94%) と広く分布し、2009 年末の各医療機関種別の分布と同様だった。うち無床診療所 509 施設 (32. 79%)、有床診療所 243 施設 (15. 65%)、病院 797 施設 (51. 35%) と病院が半数を占めた。

施設の規模を示す同時透析数は、 $31. 4 \pm 26. 0$ (平均±標準偏差) 人、最大透析患者数は $128. 3 \pm 136. 9$ 人だった。715 施設と約半数が夜間透析を実施していた。

施設の機能では、「導入透析／維持透析のどちらに対応していますか。」との問いに①導入透析と維持透析の両方に対応 (外来患者・入院患者の両方に対応) が 57%、②導入透析と維持透析の両方に対応 (ただし維持透析は入院患者のみに対応) が 6. 18%、③導入透析のみ対応が 1. 86%、④維持透析のみ対応が 33. 44%、まとめると、維持透析のみに対応する施設が 1/3、両者に対応する施設が 2/3 と導入透析にも対応している施設が多かった。

(2) 施設の感染症患者の経験と対策

B 型肝炎 (HBe 抗原陽性) を受け入れた経験のある施設が 1279 施設、C 型肝炎患者を受け入れた経験のある施設が 1493 施設と、それぞれ 84. 0%、97. 5% の施設が受け入れ経験ありだった。

ウイルス肝炎患者に対する対応法として、標準感

染予防策、他の患者同様に標準感染予防策で対応をしている施設が 1279 施設、標準感染予防策に加え特別の個人防護具を装着している施設が 177 施設と、特別の個人防護具を装着している施設が 12. 2% 存在した。また B 型、外来 C 型肝炎患者専用のベッドを設けている施設が 592 施設 (38. 2%)、透析のシフトごとに担当スタッフを固定している施設が 86 施設 (5. 5%) 存在した。

また、自施設独自の院内感染対策マニュアルを持っている施設は 1378 施設 (88. 7%) とほとんどの施設で独自の院内感染対策マニュアルを作成していた。またマニュアルの「底本」として作製された厚生労働科学研究費補助金による「透析医療における標準的な透析操作と院内感染予防に関するマニュアル」(2000 年 2 月初版、現行は三訂版) は 1100 施設 (70. 9%) の施設に常備され、「知らない」と答えた施設は 89 施設 (5. 7%) に過ぎなかった。

一方、日本透析医会・日本透析医学会 HIV 感染患者透析医療ガイドライン策定グループが 2010 年 11 月に作成した「HIV 感染患者透析医療ガイドライン」をご存知ですかとの質問には、「知らない」が 577 施設 (37. 3%)、「読んだことがある」が 571 (36. 9%) 施設、「施設内に常備している」が 400 施設 (25. 8%) と「知らない」施設は 1/3 強と、院内感染対策マニュアル周知に比較して周知度は低かった。

(3) HIV 患者の受け入れ経験と、今後の受け入れ可否

透析を必要とする HIV 陽性者の透析受け入れの経験有無について質問した。HIV 陽性患者を受け入れた経験のある施設は 94 施設 (6. 2%)、経験のない施設 1434 施設 (93. 8%) だった。受け入れた経験がある施設での平成 23 年 11 月現在の HIV 患者透析実施患者数は 89 名 (60 施設、各施設 1～7 名、 $1. 48 \pm 1. 12$ 名) だった。

透析を必要とする HIV 陽性者の透析受け入れの経験があると回答した 94 医療機関に、維持透析を必要とする HIV 陽性者を今後も受け入れていく意向を聞いたところ、「受け入れる」が 69 施設、「これ以上の受け入れ余力はないので難しい」23 施設で 74. 2% の施設が今後も受け入れを継続するとの意向を示された。