

あるが、判定保留または陽性の場合、保健環境研究所で確認試験を実施している。

## C. 研究結果

### (1) 福岡県内の HIV 感染状況

福岡県が平成 23 年 2 月に発表した「福岡県 HIV 感染者等情報」によると、平成 23 年 1 年間に新たに報告された HIV 感染者・患者は合計 59 名であった。これは、前年の 58 名から 1 名 (1.7%) の増加であった。過去の感染者・患者報告数の年毎の推移を図 1 に示す。平成 20 年に再び増加に転じた報告数は、21 年には大きく増加し、22、23 年は微増であった。23 年に報告された感染者・患者は男性 57 名、女性 2 名であり、前年と同様に男性がほとんど (97%) を占めた。次に、感染経路別の報告数の割合を図 2 に示す。同性間性的接触による感染が最も多く 66% (39 名)、異性間性的接触によるものが 27% (16 名) であった。平成 21 年から 23 年の感染経路別の報告数の推移を図 3 に示す。また、これまでに報告された累計の感染者・患者の推定感染経路の割合を図 4 に示す。同性間性的接触による感染の報告数が最も多く、3 年間に大きな変動はない。また、異性間性的接触による感染は前年に比べると報告数が増加しているが、23 年における感染経路別の割合は 27% であり、累計報告数における割合 (28%) とほぼ同じ値であった。一方、23 年の報告例の年齢分布では、20-39 歳が全体の約 73% を占めていた。

### (2) 保健所を窓口とする HIV 検査

福岡県内（保健所設置市を除く）の保健所を窓口とする HIV 検査の件数の推移と、陽性と確認された件数を図 5 に示す。検査件数は、平成 19 年をピークに減少を始め、21、22 年は大幅に減少し、23 年も検査件数は 1,067 件と、前年の 1,135 件から約 6% の減少であった。一方、陽性例は 22 年には見られなかったが、23 年には 2 件見られた。

### (3) 民間クリニックにおける HIV 検査

福岡市内の S クリニックが実施している、迅速診断による HIV 検査の 23 年の概要を表 1 に、過去 5 年間のまとめを表 2 に示す。23 年の受診者数は 339 名で、その内訳は、男性 265 名 (78%)、女性 74 名 (22%) であった。22 年と比較すると、受診者は 22 名減少しているが、その男女比には大きな変化がなかった。また、迅速検査法で陽性であった 1 件は、確認試験でも陽性であり、受診者は男性であった。年間の陽性数は、前年の 2 件から 1 件減少していた。23 年 10 月から迅速検査を開始した Y クリニックの検査状況は表 3 のとおりである。なお、両クリニックにおいては、23 年には迅速検査キットの偽陽性は見られなかった。

## D. 考察

福岡県内では、平成 21 年に 17 年以来となる感染者・患者報告数の大きな増加が見られたが、22、23 年は微増であった。23 年に報告された感染者・患者はほとんどが男性であり、この傾向は変わらなかった。一方、感染経路を見ると、同性間性的接触によるものが 66% と相変わらず最も多かった。現在のところ、福岡県内では、これまでと同じく、20 代、30 代の男性を中心に、同性間性的接触による感染が最も拡大していると考えられる。また、異性間性的接触による報告数が前年に比べると増加していたが、中期的に見ると明らかな増加とは考えられない。

24 年 2 月のエイズ動向委員会の発表によると、全国的には 23 年の感染者・患者報告数における同性間性的接触による感染の割合は 65% (935/1486) で、本県とほぼ同じである。また、性別では全国でも 94% (1393/1486) と圧倒的に男性が多く、年齢別では 20 代、30 代が多く、本県と同様である。

県内（保健所設置市を除く）の保健所における HIV 検査の件数は、18 年に一部保健所で

迅速検査を開始したことで、一旦大きく増加したが、21年は新型インフルエンザの流行の影響と考えられる件数の減少が見られた。しかし、新型インフルエンザの流行が終息した22年以降も検査件数は減少を続けている。一方、全国における保健所等における検査件数は、エイズ動向委員会によると、20年の17.7万をピークとして、21年は15.0万件、22年は13.1万件へと減少したが、23年は13.1万件で前年と大きな変化がないことが報告されている。なお、保健所設置市を含む福岡県全体における保健所での検査件数は、20年の7,753件から、21年の6,650件、22年の5,842件と減少していたが、23年は5,906件と僅かではあるが増加に転じている。このことから、福岡市、北九州市のような大都市部では保健所における検査件数の減少に歯止めがかかった可能性が考えられる。

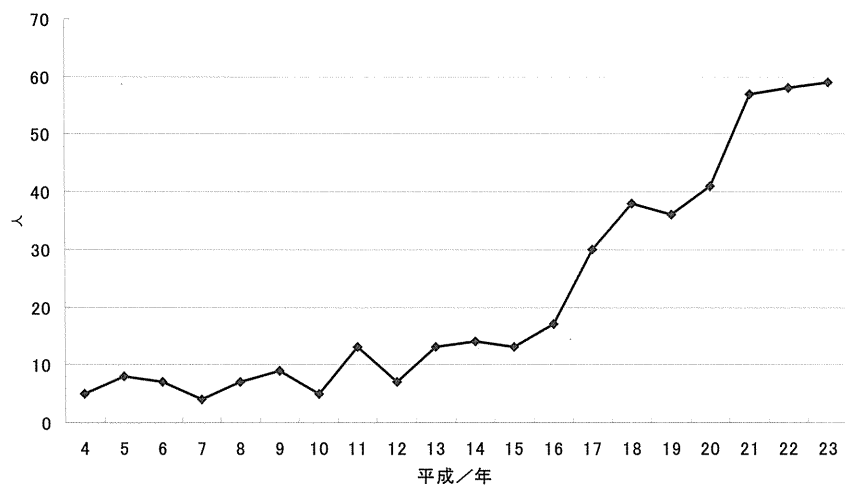
保健所における検査で、16年以降毎年陽性例が見つかるようになったが、22年には陽性例はなかった。しかし、23年は再び2件の陽性例が見られた。県内における感染者・患者報告数が減っているわけではなく、さらに保健所の検査に感染者を導くよう努力する必要があると考えられる。

一方、感染者・患者の報告が多いとされる

福岡市内にあるSクリニックでも21年以降検査件数は減少している。このクリニックでは、平成20年に初めて陽性例が2例見られ、21年は3例、22年は2例、23年は1例が陽性であった。23年の陽性率は0.3%で20年以降では最も低かったが、保健所における検査での陽性率0.2%(2/1067)を依然上回っている。なお、23年10月から福岡市内薬院地区にあるYクリニックにも研究に協力して頂いているが、10～12月には陽性例は見られなかった。

## E. 結論

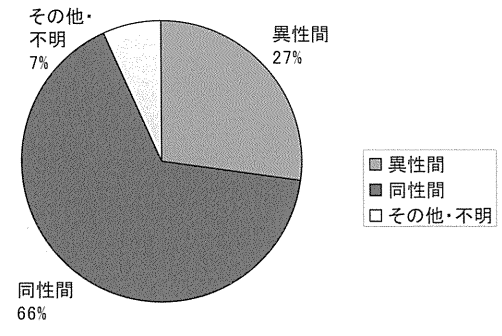
福岡県内では、平成17年に感染者・患者数の報告数が一旦大きく増加し、その後は比較的小さな変動を続けていたが、21年に感染者・患者が再び大きく増加し、22年、23年と微増であった。福岡県内では、依然、男性における同性間性的接触による感染が主に拡大していると考えられるため、さらに重点的な啓発活動が重要と考えられる。また、感染者・患者数の報告が減少していないにも関わらず、保健所等におけるHIV検査件数が増加していないことから、一層の啓発活動により、検査件数を増やしていく努力をすることが必要である。



累計 447名 : 男性419名、女性28名

図1. 福岡県における感染者・患者報告数の推移

図2. 感染者・患者の感染経路(平成23年)



報告患者・感染者数 59名

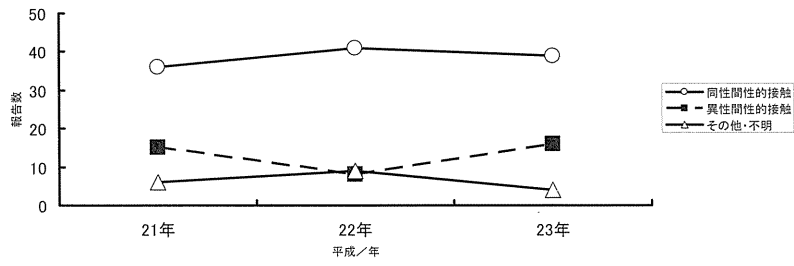
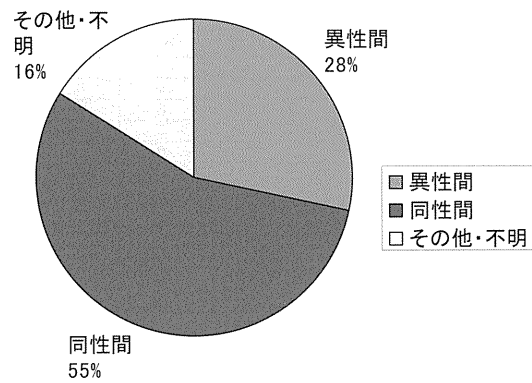


図3. 感染経路別報告者数の推移(平成21-23年)

図4. 感染者・患者の感染経路(累計)



累計患者・感染者数 447名

図5.保健所における検査数と陽性者数の推移  
(保健所設置市を除く)

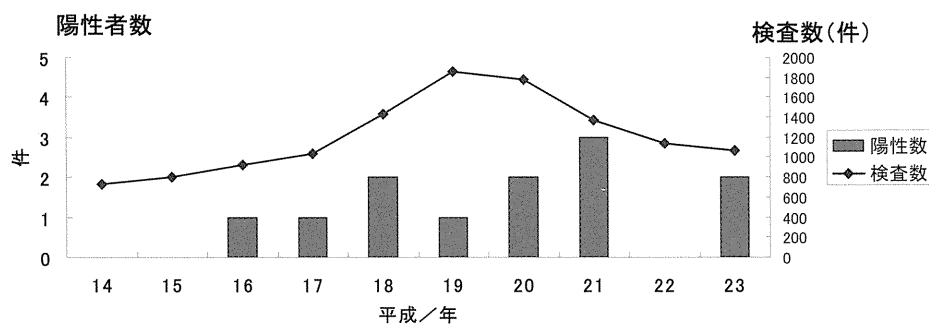


表1. Sクリニックにおける検査状況(平成23年)

月	迅速	性別		外国	確認	陽性	
		男	女			男	女
H23.1	27	24	3	1	0	0	0
2	28	23	5	1	0	0	0
3	27	22	5	0	0	0	0
4	19	16	3	0(1)	0	0	0
5	28	20	8	1	0	0	0
6	31	21	10	0(1)	0	0	0
7	24	17	7	0	0	0	0
8	37	31	6	0(1)	1	1	0
9	38	27	11	0(1)	0	0	0
10	39	31	8	0(1)	0	0	0
11	18	16	2	0	0	0	0
12	23	17	6	1	0	0	0
計	339	265	74	4(5)	1	1	0

外国 ( ): 国籍不明者

表2. Sクリニックにおける過去5年間の検査状況

年	件数	男	女	性不明	外国	確認	陽性数	陽性率(%)
H19	414	325	89	0	6	5	0	0
20	455	332	123	0	2(3)	10	2	0.4
21	461	363	97	1	10(12)	4	3	0.7
22	361	289	72	0	4(5)	3	2	0.6
23	339	265	74	0	4(5)	1	1	0.3

( ): 国籍不明者

表3. Yクリニックにおける検査状況(平成23年)

月	迅速	陽性		外国	確認	陽性	
		男	女			男	女
H23.10.	2	2	0	0	0	0	0
11	12	11	1	0(2)	0	0	0
12	17	13	4	0(1)	0	0	0
計	31	26	5	0(3)	0	0	0

平成23年10月より検査開始

( ): 国籍不明者

## 19. 汎用リアルタイム PCR 装置を用いた HIV-1RNA 定量法 (KK-TaqMan)

### の地方衛生研究所への技術支援及び KK-TaqMan 増幅領域における

### 変異のモニタリングとサブタイプ解析

研究分担者	近藤真規子 (神奈川県衛生研究所)
協力研究者	貞升健志 (東京都健康安全研究センター)
	川畑拓也 (大阪府立公衆衛生研究所)
	長野秀樹 (北海道立衛生研究所)
	佐野貴子 (神奈川県衛生研究所)
	今井光信 (神奈川県衛生研究所)
	岩室紳也 (厚木市立病院)
	吉村幸浩 (横浜市立市民病院)
	相楽裕子 (横浜市立市民病院)
	立川夏夫 (横浜市立市民病院)
	井戸田一朗 (しらかば診療所)
	山中 晃 (新宿東口クリニック)
	加藤真吾 (慶應義塾大学医学部微生物学・免疫学教室)
	須藤弘二 (慶應義塾大学医学部微生物学・免疫学教室)

#### 研究要旨

##### 1. KK-TaqMan の地方研究所への普及と技術支援

血中 HIV-1 RNA 測定は保健所等の無料匿名検査での確認検査においても重要な検査の一つである。確認検査の多くは地方衛生研究所で行われているが、HIV-1RNA 測定キットがリアルタイム PCR を原理とするコバス TaqMan 法へ切り替わったことに伴い、高価な専用機器の購入が必要になり、全国の地方衛生研究所での実施が困難になった。そのため、本研究班では汎用リアルタイム装置を用いた in house の HIV-1RNA 測定法 (以下、KK-TaqMan) を開発し、全国地方衛生研究所に技術支援を行った。

感染者の多い地域を中心に技術移管を行い、2010 年には、東京都健康安全研究センター、大阪府立公衆衛生研究所、神奈川県衛生研究所、横浜市衛生研究所、川崎市衛生研究所、埼玉県衛生研究所、福岡県保健環境研究所、北海道立衛生研究所、福島県衛生研究所、鹿児島県環境保健センター、大分県衛生環境研究センター、富山県衛生研究所の 12 施設において KK-TaqMan の実施が可能となった。本年度は千葉県衛生研究所において導入検討を行い、横須賀市健康安全科学センター、相模原市衛生試験所については技術研修を行った。栃木県保健環境センター、佐賀県衛生薬業センター、名古屋市衛生研究所、広島県保健環境センター、新潟県保健環境科学研究所の 5 施設には操作マニュアルを配布した。また、KK-TaqMan 法は「病原体検出マニュアル改定版」に掲載する予定である。

##### 2. KK-TaqMan 増幅領域の変異のモニタリングとサブタイプ解析

2011 年に検査依頼のあった HIV-1 感染者 30 例の HIV 遺伝子解析を行った結果、

KK-TaqMan のプライマー及びプローブ領域に、測定値に影響を与える変異は認められなかった。

2010年から2011年の2年間に検査依頼のあったHIV-1感染者161例についてサブタイプ解析を行ったところ、サブタイプBが135例(83.9%)と最も多く、次いでCRF01\_AEが15例(9.3%)であったが、6例からサブタイプBとCRF01\_AEの遺伝子が同時に検出された。6例中3例は日本男性(男性同性間1例、感染経路不明2例)で、2例からサブタイプBとCRF01\_AEの組換えウイルスが検出された(1例は詳細を検討中)。

2007年から2009年に調査した同性間性行為感染、感染経路不明の日本男性からは組換えウイルスは検出されず、CRF01\_AEの検出率は1.4%に過ぎなかったが、2010年から2011年ではCRF01\_AEおよびB/AE組換えウイルスが9.4%(139例中13例)検出されており、この2年間のCRF01\_AEの増加は顕著である。今後、日本男性においてサブタイプBだけでなく、CRF01\_AEおよびB/AE組換えウイルスの流行も視野に入れた感染予防対策を講ずることが重要であると考えられた。

## A. 研究背景

血中HIV-1 RNA測定は患者のフォローアップ検査としてだけでなく、各自治体で行っている保健所等の無料匿名検査での確認検査においても重要な検査の一つである。

HIV 確認検査の多くは各自治体の運営する衛生研究所が行っており、従来はHIV-1RNA測定には市販のアンプリコアHIV-1モニターキット(以下、アンプリコア)が用いられていた。しかし、2009年末にアンプリコアが販売中止となり、リアルタイムPCR法を原理としたコバス TaqMan HIV-1(以下、コバス TaqMan)に切り替わった。しかし、コバス TaqManでは高価な専用装置が必要なため、地方衛生研究所への導入は非常に難しく、また民間検査センターに依頼する場合でも、新たに8mlの採血が必要となった。これら問題を解決するため、我々は昨年までの研究において、血漿量500 $\mu$ lで汎用リアルタイム装置を用いたin houseのHIV-1RNA測定法(以下、KK-TaqMan)を開発し、本法がコバス TaqManとほぼ同様の精度であること、コバス TaqManに低反応性を示した1症例についても問題なく測定できることを報告した。〔HIV 検査機会の拡大と質的充実に関する研究:平成18~20年報告書〕および本研究班の「平成21年

度報告書」参照)。

本年度は、保健所等での無料匿名HIV検査における確認検査をサポートするため、昨年に引き続き、全国の地方衛生研究所を対象にKK-TaqManの普及と技術支援を行うと共に、全国衛生微生物協議会で編集している「病原体検出マニュアル」のエイズ/HIV感染症の改定版の作成に協力した。

また、流行株の特徴を明らかにし、KK-TaqMan法の信頼性を担保するため、流行HIVのサブタイプ解析およびKK-TaqMan法の増幅領域について変異の解析を行った。

## B. 研究方法

### 1. KK-TaqManの地方研究所への普及と技術支援

#### ① NATスクリーニング検査実施機関

当研究班との協力により、保健所の無料匿名検査で3カ所(横浜市火曜夜間検査、川崎市日曜検査、神奈川県夜間検査)、大阪府の定点調査医療機関5カ所、計8カ所が、スクリーニング検査にNAT(核酸増幅検査)を導入しており、これら施設のNAT検査は、それぞれ横浜市衛生研究所、川崎市衛生研究所、神奈川県衛生研究所、大阪府公衆衛生研究所が



行っている。これら4カ所の衛生研究所については2009年10月にKK-TaqManのマニュアルおよび試薬、コントロールHIV-1RNAを送付し、検討を依頼した。

## ② 地方衛生研究所への導入

平成22年度地方衛生研究所HIV検査グループ会議(2010年5月24日)、全国の地方衛生研究所を対象にした衛生微生物技術協議会第31、32回研究会(2010年、2011年)等において、KK-TaqMan法を公開し、導入希望機関に操作マニュアル、コントロールHIV-1RNAの送付、技術研修を行った。

## ③ 病原体検出マニュアルの改定

全国衛生微生物協議会で監修している「病原体検出マニュアル、エイズ/HIV感染症」について改定版を作成した。

## 2. KK-TaqMan 増幅領域の変異のモニタリングとサブタイプ解析

2011年に検査依頼のあったHIV-1感染者30例について、KK-TaqManのプライマー及びプローブ領域の変異を解析した。また、2010年から2011年に検査依頼のあったHIV-1感染者161例についてサブタイプ解析を行った。

### (倫理面への配慮)

HIV遺伝子の解析については主治医から患者に研究内容を説明し同意を得ている。患者名は記号化して扱っており、プライバシーの流出防止など患者の人権保護に十分配慮した。なお、HIV遺伝子解析により流行株の特徴を調べることは、当研究所の倫理委員会で承認されている。

## C. 結果および考察

### 1. KK-TaqMan の地方研究所への普及と技術支援

NATスクリーニング検査を導入している横

浜市衛生研究所、川崎市衛生研究所、大阪府立公衆衛生研究所、神奈川県衛生研究所の4施設については、KK-TaqManの検討を2009年10月より行い、2010年4月以降は各施設での対応が可能となった。

次に地方衛生研究所HIV検査グループに属している東京都健康安全研究センター、北海道立衛生研究所、福岡県保健環境研究所において、2010年1月からKK-TaqMan導入のための検討を開始し、3施設共に良好な標準曲線が得られており、アンプリコアとKK-TaqManの測定値間には良好な相関が得られた。

この他、2010年3月以降順次、福島県衛生研究所、埼玉県衛生研究所、鹿児島県環境保健センター、大分県衛生環境研究センター、富山県衛生研究所に操作マニュアル、コントロールHIV-1RNAを送付し、各施設で検討が行われた。

KK-TaqManの開発において、リアルタイムPCR装置はアプライドバイオシステムズ(ABI)の7900HT、Step OnePlusの2機種を使用した。各施設での検討の結果、ABIの7500通常モードおよびFastモード、ロシュダイアグノスティックスのLightCycler480においても良好な結果が得られた。

今年度は新たに千葉県衛生研究所にコントロールRNAを送付し、検討を依頼した。横須賀市健康安全科学センター、相模原市衛生試験所については当研究室で技術研修を行った。

また、平成22年度は地方衛生研究所HIV検査グループの愛知県衛生研究所、兵庫県立健康生活科学研究所、広島市衛生研究所、愛媛県立衛生環境研究所の4施設に、今年度は要望のあった栃木県保健環境センター、佐賀県衛生薬業センター、名古屋市衛生研究所、広島県保健環境センター、新潟県保健環境科学研究所の5施設へ「操作マニュアルを配布した。

本法は全国の地方衛生研究所を対象にした衛生微生物技術協議会第31、32回研究会

(2010年、2011年)でもアナウンスしており、要望があれば随時技術支援を行う予定である。

「病原体検出マニュアル、エイズ/HIV感染症」改定版に、HIV-1 RNA 定量法 KK-TaqMan 法を追加した(資料1)。本マニュアルは国立感染症研究所と本研究班の協力により作成され、特に HIV 検査手順、HIV-2 の検査、HIV 遺伝子検査、HIV 分離法等について充実させた。詳細については国立感染症研究所ホームページ内の病原体検出マニュアルを参照していただきたい。

## 2. KK-TaqMan 増幅領域における変異のモニタリング及びサブタイプ解析

2011年に検査依頼のあった30例のHIV遺伝子に、KK-TaqMan のプライマー及びプローブ領域に測定値に影響を与える変異は認められなかった。

しかしながら、2011年に陽性が判明した81例のうち、東南アジア出身者3名(ラオス2名、タイ1名)に、サブタイプBとCRF01\_AEの組換えウイルス(以下、B/AE組換えウイルスと略す)の感染が疑われた(表1)。これら3株共にプロテアーゼからRT領域がサブタイプB、インテグラーゼおよびenv C2V3がCRF01\_AEであり、RTとenvC2V3の2領域の系統樹解析で、同一のクラスターを形成した。詳細については現在解析中である。

B/AE組換えウイルスは、2010年にHIV陽性が判明したHIV感染者80例のうち、日本男性3例からも検出された(表2)。1例(GM3222)は感染経路不明で、gag p24 からRT領域(break point HXB:1310-40から4300)、インテグラーゼ領域の一部(break point HXB:4500から4800)がサブタイプBで、その他はCRF01\_AEであった(図1)。もう1例(GM3289)は同性間性行為感染の日本男性で、RTからインテグラーゼ領域、envから3'LTR領域に組換えクローンが検出されたが、RTから3'LTR領域はプライマーにより増幅されるサブタイ

プが異なり、サブタイプBとCRF01\_AEの重複感染も疑われた(図2)。1例は詳細を解析中である。

B/AE組換えウイルスは2004年に滞日タイ女性より検出され、その組換えフォームが2010年に検出されたGM3222とよく似ているが、系統樹解析の結果、これら2株に関連性は認められなかった。

B/AE組換えウイルスは主に東南アジアで流行しており、図3に示すように現在、5種類のCRF(15\_01、33\_01、34\_01、48\_01、55\_01)が報告されている。2010年以前の3株の組換えパターンは、これら5種類のCRFとは異なっており、日本国内で形成された組換えウイルスである可能性が高いと考えられた。

また、2010年から2011年の2年間で、男性同性間感染、感染経路不明の日本男性139例のうち、CRF01\_AEおよびB/AE組換えウイルスが13例(9.4%)検出された(表1、2)。2007年から2009年に調査した同性間性行為感染、感染経路不明の日本男性においてCRF01\_AEの検出率は1.4%にすぎず、この2年間のCRF01\_AEの増加は顕著である。

日本の男性感染者で流行しているHIV-1サブタイプの多くはBであるが、今後CRF01\_AEおよびB/AE組換えウイルスの流行にも注目する必要がある。

## D. 結語

保健所等での無料匿名HIV検査における確認検査をサポートするため、汎用リアルタイム装置を用いたin houseのHIV-1RNA測定法、KK-TaqManを開発し、全国の地方衛生研究所を対照にKK-TaqManの普及と技術支援を行った。2010年には、東京都健康安全研究センター、大阪府立公衆衛生研究所、神奈川県衛生研究所、横浜市衛生研究所、川崎市衛生研究所、埼玉県衛生研究所、福岡県保健環境研究所、北海道立衛生研究所、福島県衛生研究所、鹿児島県環境保健センター、大分県衛生環境

研究センター、富山県衛生研究所の12施設においてKK-TaqManの実施が可能となった。本年度は千葉県衛生研究所において導入検討を行い、横須賀市健康安全科学センター、相模原市衛生試験所については技術研修を行った。

2010年に検査依頼のあった81例中、2例の日本人男性にB/AE組換えウイルスの感染が認められた。2010年から2011年の2年間で、男性同性間感染、感染経路不明の日本男性139例からCRF01\_AEおよびB/AE組換えウイルスが13例(9.4%)検出された。しかし、2007年から2009年に調査した同性間、感染経路不明の日本男性においてCRF01\_AEの検出率は1.4%にすぎず、この2年間のCRF01\_AEの増加は顕著である。今後CRF01\_AEおよびB/AE組換えウイルスの流行も視野に入れた感染予防対策を講ずることが重要であると考えられた。

## E. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 近藤真規子、佐野貴子、今井光信、加藤真吾：日本におけるHIV検査体制：病原微生物検出情報、32(10)、287-288、2011。

### 2. 学会発表

- 1) 近藤真規子、佐野貴子、井戸田一郎、山中晃、岩室紳也、相楽裕子、立川夏夫、今井光信、加藤真吾：2010年新規感染者から検出されたCRF01\_AE/BリコンビナントHIV-1、第25回日本エイズ学会学術集会・総会(2010年11月30～12月2日、東京)。
- 2) 服部純子、近藤真規子、杉浦互 他：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(2010年11月30～12月2日、東京)。
- 3) 椎野禎一郎、近藤真規子、杉浦互 他：国内感染者集団の大規模塩基配列解析2：Subtype Bの動向と微笑系統群の同定、第25回日本エイズ学会学術集会・総会(2010

年11月30～12月2日、東京)。

- 4) 佐野貴子、近藤真規子、須藤弘二、根岸昌功、山中晃、井戸田一郎、今井光信、加藤真吾：HIV迅速検査試薬の検討および即日検査への応用、第25回日本エイズ学会学術集会・総会(2010年11月30～12月2日、東京)。
- 5) 伊部史郎、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(2010年11月30～12月2日、東京)。

表1 新規HIV感染者81名の感染経路とサブタイプ(2011年)

感染経路		合計	HIV-1サブタイプ (envC2V3, Pr, RT)			
			B	AE	AE/B*	AG
男性同性間	日本	29	29			
	外国	1	1			
異性間 男性	日本	2	2			
	外国	2			1	1
異性間 女性	日本	2		1		1
	外国	2			2	
不明 男性	日本	40	35	5		
	外国	3	2			1
合計		81	69	6	3	3

\* protease/RT/integrase: B/B/AE

表2 新規HIV感染者80名の感染経路とサブタイプ(2010年)

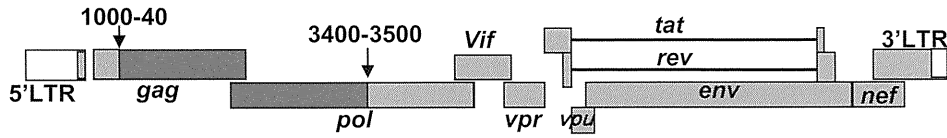
感染経路		合計	HIV-1サブタイプ (env C2V3, Pr, RT)			
			B	AE	AE/B*	C
男性同性間	日本	46	42	3	1	
	外国	1	1			
異性間 男性	日本	2	1	1		
	外国	2	1			1
異性間 女性	日本	1				1
	外国	4	1	3		
不明 男性	日本	24	20	2	2**	
合計		80	66	9	3	2

\*:protease/RT/env: B/B/AE

\*\*:内1例は詳細を解析中

図1 日本で検出されたサブタイプBとCRF01\_AEの組換えHIV-1

Y231(異性間、タイ女性 2004)



GM3222(感染経路不明、日本男性、2010)

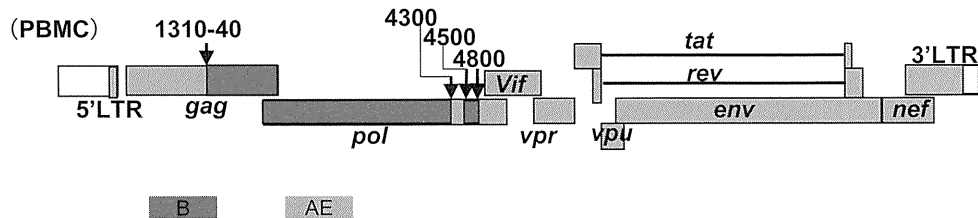
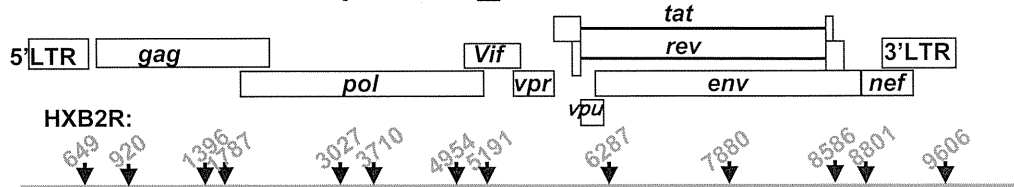
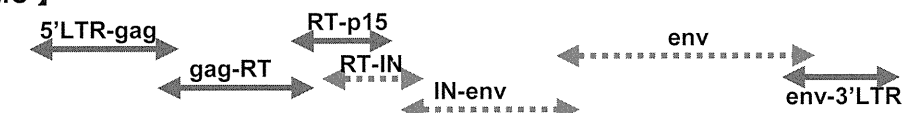


図2 サブタイプB/CRF01\_AE組換えHIV-1の解析



【PBMC】

GM3289(男性同性間、日本、2010)



SimPlotによる  
bootscan,  
informative site解析

RT-IN  
B: 2クローン  
B/AE: 5クローン  
(break point: 4700)

env-3'LTR  
AE: 1クローン  
AE/B: 3クローン  
(break point: 9050-9200)

【RNA】

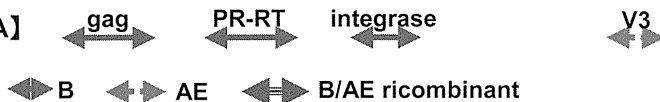
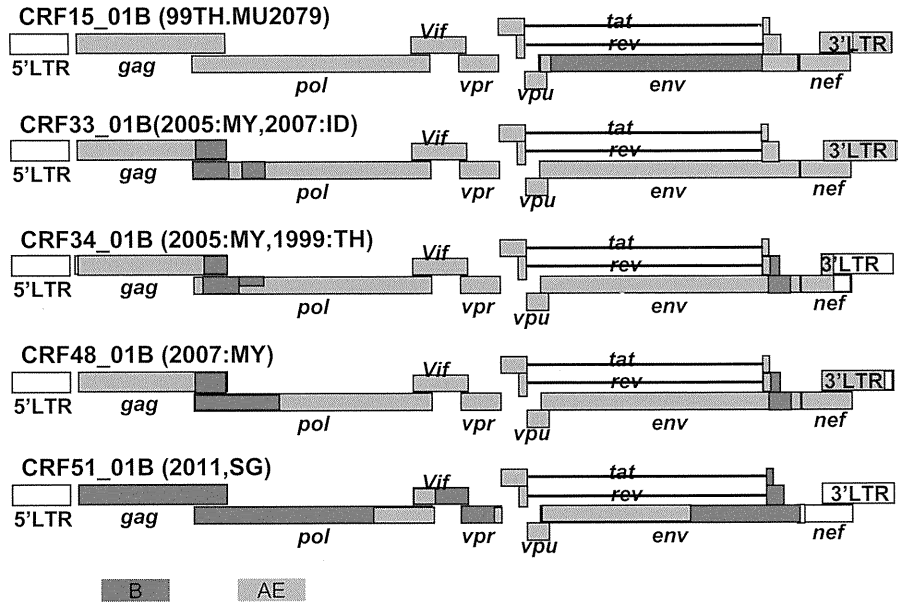


図3 報告されているサブタイプBとCRF01\_AEの組換えフォーム



## 20. 薬剤耐性変異の解析法の開発・改良・技術研修に関する研究：

### 薬剤耐性検査の実用化と衛生研究所等への技術移管

研究分担者	杉浦 互	国立病院機構 名古屋医療センター
研究協力者	瀧永博之	国立国際医療センターACC
	近藤真規子	神奈川県衛生研究所
	森 治代	大阪府公衆衛生研究所
	椎野禎一郎	国立感染症研究所感染情報センター
	岩谷靖雅	国立病院機構名古屋医療センター
	横幕能行	国立病院機構名古屋医療センター
	伊部史朗	国立病院機構名古屋医療センター
	服部純子	国立病院機構名古屋医療センター
	前島雅美	国立病院機構名古屋医療センター
	大出裕高	国立病院機構名古屋医療センター
	駒野 淳	国立感染症研究所エイズ研究センター
	貞升健志	東京都健康安全研究センター
	鈴木典子	埼玉県衛生研究所
	松田昌和	国立病院機構名古屋医療センター
	松岡和弘	国立病院機構名古屋医療センター

#### 研究要旨

全国の衛生研究所等の施設において HIV-1 検査を担当する技官および診療ブロック拠点病院の検査室技官対象に、HIV 薬剤耐性検査法に関する技術研修会を平成 23 年 9 月 28 日～30 日の日程で名古屋医療センター附属看護助産学校の講義室と実習室において開催した。平成 23 年度は 16 施設より 16 人が受講した。この研修会で全国どこでも同質の薬剤耐性 HIV 検査が実施可能となるように技術移管をすることを目的とする。講義では国内の HIV 診断・研究に取りくむ研究機関より講師を招聘して HIV-1 の薬剤耐性検査に関する基礎知識から臨床的意義までを取り上げ、実習では薬剤耐性遺伝子検査と血清学的診断法について取り組んだ。研修会後の事後評価では実習・講義ともに受講者より高い評価を得た。

#### A. 研究目的

多剤併用療法の導入は HIV/AIDS 患者の予後を大きく改善したが、一方で薬剤耐性 HIV の出現が治療を進めていく上で障害となっている。薬剤耐性 HIV は治療に失敗した症例だけでなく、新規に HIV/AIDS と診断された患者にも散見されるようになっており、今後保健所等で把握される HIV 症例においても薬剤耐性 HIV-1 感染症例が検出されると予想される。我が国における薬剤耐性 HIV の状況を正しく把握し迅速な対策を講じるためにも、各拠点病院・衛生研究所等で HIV 検査業務を担当する技官等が HIV の薬剤

耐性検査法や薬剤耐性について正しい技術と知識を習得している事が望ましい。本研究では、薬剤耐性遺伝子検査手技を HIV 検査担当技官に実習と講義を通じて学んでもらい、より多くの HIV/AIDS 患者が薬剤耐性検査の恩恵にあずかることができるような薬剤耐性検査体制を確立することを目的とする。

#### B. 研究方法

平成 23 年 9 月 28 日から 30 日の 3 日間、名古屋医療センター附属看護助産学校の講義室と実習室において第 22 回 HIV 検査技術研

修会を開催した。表1に示す全国 16 施設から 16 名の参加者があり、表2に示すプログラムに従って薬剤耐性検査の実習と講義を行った。実習で使用するサンプルはバイオセーフティー上のレギュレーションから事前に患者血清から抽出し調製・解析済みの HIV-1 RNA を用いた。名古屋医療センター等で開発したプライマーを用いた RT-PCR により逆転写酵素領域とプロテアーゼ領域、インテグラーゼ領域を増幅し、塩基配列解析を行った。また *env* 領域についても同様に RT-PCR による増幅・塩基配列解析を行い、サブタイピングを試みた。本講習会では衛生研究所間、各地域における病院-衛生研究所の連携強化も副次的な目的としていることから、名古屋医療センターのスタッフだけではなく全国の衛生研究所の中でも HIV の診断・研究が活発な埼玉県衛生研究所、東京都健康安全研究センター、神奈川県衛生研究所、大阪府立公衆衛生研究所の4施設に加えて国立国際医療研究センター、国立感染症研究所からも HIV の専門家を講師として招き講義と実習における技術指導をより実践的な内容にしている。研修終了後、実習講義についてアンケート調査を行い研修参加者の満足度と次年度以降の要望について調査した。

### C. 研究結果

3 日間の研修会は無事に終了した。事後評価のアンケート調査の結果(図1)、講義は受講者全員から価値のある内容という回答を得られた。講義に関しては、過半数は適当と回答したが、難しいという回答が3割近く見られた。個別の講義について分析してみると(表3)、ややアドバンスなテーマである系統樹解析とサブタイピングでは参加者全員が「やや難しい」もしくは「難しい」と回答しており、今後の工夫が必要であると思われた。実習に関しては、実務経験者が多かったこともあり技術習得に難しいと感じる受講生は少なかった。実習時間に関しても適当という回答がほとんどであったがもっと実習に時間を取りたいという声もあり、講義と実習のバランスを再考

する必要があると思われた。

### D. 考察

アンケート結果より、意義のある研修会が行われ、薬剤耐性検査技術の移管という目的は達成できたと思われる。コメントで今回取り上げなかった話題についてもリクエストがあり(表4)、講習会に取り入れるかは費やすことが出来る時間の制限もあり、検討していきたい。

本講習会後にどれだけの参加者が実際に学んだ技術をそれぞれの職場で活用できるかは未知数であり、事後のアンケートを実施することも考えたい。その上で、最新の検査技術だけではなく、実践的な内容も実習と講義に加えていくことが必要であると思われる。本講習会は HIV 検査を担う衛生研究所と HIV 治療を担う病院の技術者が交流できる貴重な機会であり、今後の課題として、検査のトラブルとその対処など、各人の経験を共有できるようなインターネットのサイトを開設することも今後視野に入れていきたい。

### E. 結論

全 16 施設から 16 名の参加者を対象に、HIV 検査技術研修会を3日間の日程で開催して HIV 検査技術の公開および普及と薬剤耐性 HIV に関する講義を行って知識の向上を図った。参加した HIV 検査担当技官に有効な検査技術移管と教育を行う事が出来、本研究の目的は達成した。

### F. 研究発表

1)原著論文による発表

1. 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]



2. 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)
  3. 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]
  4. 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.
  5. Ibe S, Sugiura W. Clinical significance of HIV reverse transcriptase inhibitor-resistant mutations. Future Microbiol. 6(3):295-315, 2011.
  6. Junko Shibata, Wataru Sugiura, Hiroataka Odee, 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: Antivir. Res. 90(1):33-41, 2011.
  7. 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.
- 2) 口頭発表  
(国際学会)
1. Miyazaki N, Fujii T, Iwamoto A, Matsushita S, Sugiura W. Potential of recent antiretroviral treatments in controlling treatment-naive and drug - resistant HIV cases in Japan. International Workshop on HIV& Hepatitis Virus Drug Resistance and Curative Strategies. (Mexico) 2011.6
  2. Sugiura W. Effects of HIV integrase polymorphisms on raltegravir-resistance susceptibility. 6th IAS Conference on HIV Pathogenesis Treatment and Prevention. (ROME,ITALY) 2011.7
  3. 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
  4. 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-Naive Patients in Japan. XV International Congress of Virology (札幌) 2011.9
  5. 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 (札幌) 2011.9
  6. 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. Protein Island Matsuyama International Symposium 2011 (愛媛・松山)2011.9
  7. 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
  8. 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  
(国内学会)
1. 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
  2. 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

3. 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
4. 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
5. 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
6. 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
7. 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
8. 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
9. 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
10. 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
11. 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
12. 伊部史朗、近藤真規子、今村淳治、岩谷靖雅、横幕能行、杉浦 互 ウェ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
13. 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
14. 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
15. 服部純子、椎野禎一郎、湯永博之、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、白坂琢磨、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
16. 椎野禎一郎、服部純子、湯永博之、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 の動向と微少系統群の同定. 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
17. 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
18. 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
19. 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

20. 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 治療患者からの微少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
21. 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
22. 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
23. 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
24. 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
25. 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
26. 桑原健, 矢倉裕輝, 吉野宗宏, 上平朝子, 白坂琢磨, 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

27. 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
28. 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
29. 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
30. 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

表1 参加施設

愛知県衛生研究所  
 石川県保健環境センター  
 大阪医療センター  
 岐阜県保健環境研究所  
 京都府保健環境研究所  
 埼玉県衛生研究所  
 堺市衛生研究所  
 相模原市衛生試験所  
 滋賀県衛生科学センター  
 千葉県衛生研究所  
 新潟県環境保健科学研究所  
 浜松市保健環境研究所  
 北海道立衛生研究所  
 三重県津市保健福祉事務所  
 宮崎県衛生環境研究所  
 琉球大学附属病院



表2 講義・実習内容

【1日目】

《講義》	HIV-1の遺伝子診断 HIVの基礎知識 シーケンスの原理	名古屋医療センター 感染症研究所 名古屋医療センター	伊部 駒野 松田
《実習》	検体取り扱い, HIV-RNA抽出 RT-PCR, nested PCR		

【2日目】

《講義》	系統樹解析とサブタイピング HIV-1感染症治療と薬剤耐性 東京におけるHIVの動向 大阪におけるHIVの動向 薬剤耐性の解析	感染症研究所 国際医療研究センター 東京都健康安全研究センター 大阪府公衆衛生研究所 名古屋医療センター	椎野 瀧永 貞升 森 横幕
《実習》	PCR産物の確認・精製 シーケンシングとデータ解析		

【3日目】

《講義》	HIV検査法概要 HIVの遺伝子診断について 日本におけるHIV/AIDSの現状	神奈川県衛生研究所 慶応義塾大学 名古屋医療センター	近藤 加藤 杉浦
《実習》	PA法とWB法によるHIV-1, HIV-2検査		