



研究課題:エイズ患者におけるカポジ肉腫関連ヘルペスウイルスが原因となる疾患の発症機構の解明と予防および治療法に関する研究

課題番号: H23-エイズ-一般-002

研究代表者: 片野 晴隆 (国立感染症研究所感染病理部 室長)

研究分担者: 上田啓次(大阪大学大学院医学系研究科ウイルス学 教授)、藤室雅弘(京都薬科大学薬学部細胞生物学分野教授)、今村顕史(がん・感染症センター東京都立駒込病院感染症科 医長)、照屋勝治(国立国際医療研究センター・エイズ治療・研究開発センター 病棟医長)、上平朝子(国立病院機構大阪医療センター感染症内科 科長)

1. 研究目的

日本のエイズ患者におけるカポジ肉腫の発症数は2001年から2008年の間に3倍以上と、現在、急激に増加している。皮膚カポジ肉腫の予後は比較的よいが、肺や消化管などの深部臓器に発症した症例は治療困難であり、カポジ肉腫への対策は急務である。カポジ肉腫に対する治療は抗レトロウイルス療法(ART)に化学療法(ドキシル、一般名リポゾーマルドキソルビジン)を併用する方法が標準化されつつあるが、現在のところ、ARTを考慮した病期分類や治療ガイドラインがない。また、現在、ドキシルの供給が停止している点も臨床的に大きな問題である。カポジ肉腫の原因ウイルスであるカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス(KSHVまたはHHV-8)には有効なワクチンや発症予測法がないが、カポジ肉腫は危険因子(MSM)がはっきりしており、早期の治療が功を奏する疾患であるだけに、効果的な新規予防・治療法の開発が望まれる。本研究では以下のアプローチにより日本のカポジ肉腫減少を目指す。

(1) KSHV 関連疾患の発症機構の解明: KSHVの潜伏感染機構の解析から分子標的を絞る(上田、片野)。

(2) ワクチンを含めたカポジ肉腫の新規予防・発症予知法の開発: 粘膜ワクチン開発と分子標的を定めた新規治療薬、発症予測法を確立する(片野、藤室)。

(3) カポジ肉腫・KSHV 感染症の現状把握: 年齢、性別、発症部位、同性愛行為との関連、治療法、他の日和見感染症の合併などを把握する(今村、照屋、上平)。

(4) 治療ガイドラインの作成: ARTを考慮した臨床的病期分類、ARTの開始時期とリポゾーマルドキソルビジン(ドキシル)の併用などを考慮に入れた治療ガイドラインの作成を行う(今村、照屋、上平)。また、ドキシル供給停止に伴う対策や代替薬の検討も行う。

日本以外の先進国ではカポジ肉腫は減少傾向にあり、ARTを考慮した病期分類や治療ガイドラインは現在のところ存在しない。KSHVの感染、発症機構はいまだに不明で、KSHV感染、発症機構の解明ではウイルス発症共通の知見が発見される可能性がある。

2. 研究方法

ウイルスはKSHV、GFP発現組換えKSHVを用いた。また、KSHV感染細胞として、TY-1、BCBL-1を用いた。感染細胞の同定はLANAに対する免疫染色、またはフローサイトメトリーを用いた。ウイルスタンパクの検出はウエスタンブロット、フローサイトメトリーなどの方法を各分担研究の中で目的に応じて使用した。アンケート調査は全国のエイズ拠点病院を対象に書面、またはインターネット(web)上で行った。

(倫理面への配慮)

遺伝子組換え等の実験に関しては当該研究施設の遺伝子組換え実験倫理委員会の承認を得た上で実験を行った。蛍光色素を発現するウイルスはDNA組換えウイルスであり、使用に当たり、大臣確認を得た。ヒト検体を用いた研究は当該施設の研究倫理委員会の承認を得て行われる。

3. 研究結果

(1) KSHV 関連疾患の発症機構の解明: KSHVの潜伏感染タンパクであるLANAのインスレーター領域を同定し、DNA結合領域のキメラタンパクを作成し、複製との関連を調査している。(上田)

(2) ワクチンを含めたカポジ肉腫の新規予防・発症予知法の開発: KSHV感染はcell to cellの感染(細胞間感染)が重要であるが、GFP発現する組換えKSHVを感染させた293T, Vero細胞をウイルス供給細胞とし、KSHV非感染ヒトリンパ腫細胞であるBjab細胞にcell to cellでKSHVを感染させる実験系を検討したところ、効率が悪いながらもBjab細胞への感染が見られた。今後、ワクチン、感染阻害薬開発のための細胞間感染効率を測定できる実験系の開発を目指し、感染効率を上げる方法を検討している(片野)。また、PELに対し、プロテアソーム阻害剤、NF-κBシグナル阻害剤、HSP90阻害剤等が細胞死を誘導する点を示した。(藤室)

(3) カポジ肉腫・KSHV 感染症の現状把握: 駒込病院におけるカポジ肉腫症例について、臨床的な検討を行なった。カポジ肉腫の所見や進行は多彩であり、従来の病期分類で

は ART 時代における治療方針を計画することは困難であることが明らかになった。この結果から、化学療法を必要とする基準、そして経過によって早期に化学療法を終了するための推奨案を示すことができた(今村)。一方で、2011年12月から、全国の拠点病院を対象としたアンケート調査を実施しており、日本のカポジ肉腫の実態把握を行う予定である。調査結果に基づき、ドキシルの供給停止に伴う対策の提言や代替薬検討の準備も行っている(照屋、今村、上平)。大阪医療センターでは KSHV の抗体保有率の検討を行っている(上平)。

(4) 治療ガイドラインの作成：上記のアンケート調査等の結果から、ART を考慮した臨床的病期分類、ART の開始時期とドキシルの併用などを考慮に入れた治療ガイドラインの作成を行う予定である(今村、照屋、上平)。

4. 考察

KSHV のワクチン開発には感染防御を評価できる感染実験系の確立が必要であるが、現在のところ、ヒトで起きる感染を再現するような適切な動物実験系がない。B 細胞系への感染実験はこれまでも困難といわれているが、本研究で行ったヒト、またはサル細胞からヒトリンパ腫細胞への細胞間感染実験系は効率が悪いながらも、ヒトにおける感染に最も近い実験系であり、この系の感染効率の改善を目指すことが、ワクチン評価系の開発につながるものと考えられる。また、PEL 細胞の細胞死を誘導する薬剤がいくつか同定されたが、発癌に一般的なシグナル伝達系を標的としており、さらに特異性や安全性の評価が課題となる。LANA は KSHV 感染症の病態を考える上でも最も重要な分子であり、その発現制御機構を明らかにすることは KSHV 感染症そのものの解明に他ならない。インスレーターという独自の視点からの解明はウイルスの潜伏感染機構の解明につながる可能性を持ち、意義深い。臨床研究では、今年度の研究期間中に、ドキシルの供給停止という、予期せぬ事態が発生したことから、KSHV 疾患の発生、治療状況に加え、急遽、ドキシルの使用状況、代替薬としてのパクリタキセルの有効性などにつき、合わせてアンケート調査を開始した。日本におけるはじめての KSHV 関連疾患に関する本格的な全国調査であり、KSHV 関連疾患の現状が正確に把握されることが期待される。駒込病院の症例の検討では ART を考慮した病期分類やガイドラインの作成の必要性が改めて認識され、現在進行しているアンケート調査により KSHV 感染症の現状を把握することで、有用なガイドラインの作成やドキシル代替薬の提言が可能となるものと考えている。

5. 自己評価

1) 達成度について

基礎研究、臨床研究とも、目的を達成するための基礎実験、基礎データの収集に着手した。ワクチン評価系の開発は来年度以降のワクチン開発研究、薬剤スクリーニングに必須である。本実験系では KSHV 感染自体は確認できたものの、まだ感染効率に問題があり、来年度以降の課題である。また、PEL 細胞の細胞死を誘導する薬剤の同定がいくつか行えた点は評価される。カポジ肉腫・KSHV 感染症の現状把握についてはアンケート調査が開始された点が重要で、来年度までには結果がまとめられる予定である。駒込病院のカポジ肉腫の症例検討ではその多彩な臨床症状が明らかになり、治療の指針の推奨案が示された点は評価されるべき点である。また、当初に予期されていなかったドキシル供給停止への対応をアンケートに盛り込んだことで有効な提言のための基礎データとしたい。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

KSHV ワクチンの評価系の開発はまだ途上にあるものの、ヒト体内で起きている感染を反映する評価系として、意義深い。ART を加味したカポジ肉腫の臨床統計は国際的にもデータが少なく、ガイドライン作成の論拠となる重要な意味を持つ。

3) 今後の展望について

KSHV 感染評価系を確立し、ワクチンの候補である K8.1 タンパクや、抗 KSHV 抗体を含めた、感染阻害薬のスクリーニングを大規模に行う予定である。LANA の発現機構の解明や PEL 細胞死誘導薬開発は特異性の高い標的分子の同定につながるものと期待される。また、カポジ肉腫に対する全国アンケート調査の結果を考慮し、最終年度までには ART を考慮した病期分類、治療ガイドラインを提唱する。ドキシル供給停止に対しては現状を把握した上での提言が可能と考えられる。

6. 結論

ワクチン評価系としての細胞間感染実験系の開発に着手した。PEL 細胞の細胞死を誘導する薬剤をいくつか同定した。駒込病院におけるカポジ肉腫の臨床的解析を行い、治療の指針の推奨案を示した。また、KSHV 感染疾患の全国調査を開始し、アンケートには供給が停止しているドキシルの実態調査などの項目も盛り込んだ。

7. 知的所有権の出願・取得状況(予定を含む)

なし。

研究発表

研究代表者

片野晴隆

- 1) Yamamoto K, Ishikawa C, Katano H, Yasumoto T, Mori N: Fucoxanthin and its deacetylated product, fucoxanthinol, induce apoptosis of primary effusion lymphomas, *Cancer Lett* 2011, 300:225-234
- 2) Nakai H, Sugata K, Usui C, Asano Y, Yamakita T, Matsunaga K, Mizokuchi Y, Katano H, Iwatsuki K, Yoshikawa T: A case of erythema multiforme associated with primary epstein-barr virus infection, *Pediatr Dermatol* 2011, 28:23-25
- 3) Katano H, Kano M, Nakamura T, Kanno T, Asanuma H, Sata T: A novel real-time PCR system for simultaneous detection of human viruses in clinical samples from patients with uncertain diagnoses, *J Med Virol* 2011, 83:322-330
- 4) Fukumoto H, Kanno T, Hasegawa H, Katano H: Pathology of Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus Infection, *Front Microbiol* 2011, 2:175
- 5) 大田泰徳、比島恒和、望月 眞、児玉良典、片野晴隆: カレントトピックス エイズ関連リンパ腫の病理診断. 病理と臨床 2012, in press.

研究分担者

上田啓次

- 1) Ueda, K., Ito, E., Karayama, M., Ohsaki, E., Nakano, K., and Watanabe, S. "Kaposi's sarcoma-associated Virus governs gene expression profiles toward B cell transformation." *Herpesviruses*, Magel, D. G. ed., ISBN 978-953-307-750-5. In press, 2011.
- 2) Ueda, K., Ohsaki, E., Nakano, K., and Zheng, X. "Characterization of Kaposi's sarcoma-associated virus-associated lymphomas by DNA array analysis." *Leukemia Research and Diagnosis in the Era of High-throughput Genome Analysis (LRD)*. In press, 2011.

藤室雅弘

- 1) Saji C, Higashi C, Niinaka Y, Yamada K, Noguchi K, Fujimuro M: Proteasome inhibitors induce apoptosis and reduce viral replication in primary effusion lymphoma cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2011, 415:573-578
- 2) Nishiya T, Matsumoto K, Maekawa S, Kajita E, Horinouchi T, Fujimuro M, Ogasawara K, Uehara T, Miwa S: Regulation of Inducible Nitric-oxide Synthase by the SPRY Domain- and SOCS Box-containing Proteins. *J Biol. Chem.* 2011, 286:9009-9019

今村顕史

- 1) 今村顕史、柳澤如樹、菅沼明彦、味澤 篤. HIV 関連カポジ肉腫の臨床像と治療方針に関する検討. 日本エイズ学会、2011年、東京.

照屋勝治

- 1) 照屋勝治、岡田誠治、川名敬、加藤哲朗、佐原力三郎. シンポジウム「HIV 感染と腫瘍」、日本エイズ学会誌、2011, 13(2), 47-55.

上平朝子

- 1) Watanabe D, Taniguchi T, Otani N, Tominari S, Nishida N, Uehira T, Shirasaka T: Immune reconstitution to

parvovirus B19 and resolution of anemia in a patient treated with highly active antiretroviral therapy: A case report, *J Infect Chemother* 2011, 17:283-287.

- 2) Watanabe D, Ibe S, Uehira T, Minami R, Sasakawa A, Yajima K, Yonemoto H, Bando H, Ogawa Y, Taniguchi T, Kasai D, Nishida Y, Yamamoto M, Kaneda T, Shirasaka T: Cellulr HIV-1 DNA levels in patients receiving antiretroviral therapy strongly correlate with therapy initiation timing but not with therapy duration, *BMC Infect Dis* 2011, 11:146
- 3) Yoshino M, Yagura H, Kushida H, Yonemoto H, Bando H, Ogawa Y, Yajima K, Kasai D, Taniguchi T, Watanabe D, Nishida Y, Kuwahara T, Uehira T, Shirasaka T: Assessing recovery of renal function after tenofovird isoproxil fumarate discontinuation, *J Infect Chemother* 2011, in press.
- 4) Watanabe D, Koizumi Y, Yajima K, Uehira T, Shirasaka T: Diagnosis and Treatment of AIDS-Related Primary Central Nervous Lymphoma, *J Blood Disord Transfus* 2011, in press.

研究課題：HIV-1感染・発症霊長類モデル研究：宿主内因性及び獲得免疫解析に基づく前臨床評価システムの最適化

課題番号：H23・エイズ・一般・003

研究代表者：明里 宏文（京都大学霊長類研究所 教授）

研究分担者：足立 昭夫（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 教授）

高折 晃史（京都大学医学研究科 教授）

中山 英美（大阪大学微生物病研究所 助教）

松岡 佐織（国立感染症研究所エイズ研究センター 研究員）

1. 研究目的

新規抗 HIV-1 薬やワクチン開発、有効性評価研究において、実験用サル類を用いた前臨床試験は今や不可欠である。しかし HIV-1 は実験用サル類に感染発症しないことから、これまで SIV および SHIV/マカクザル感染発症モデルが汎用されてきた。一方 HIV-1 特異的で SIV, SHIV モデルでは評価困難な新規薬剤や予防治療ワクチンの前臨床評価研究を目的として、実用的な HIV-1 感染霊長類モデルの開発が求められてきた。当該研究課題では、サル類における HIV-1 感染および病態発現の制御に寄与する宿主内因性及び獲得免疫の基礎的解析に基づき、慢性エイズを発症する病原性 HIV-1 感染霊長類モデルを確立し急性・慢性 HIV-1 感染霊長類モデルの前臨床評価システムとしての最適化を目指すものである。

2. 研究方法

本研究チームで同定済みの HIV-1 宿主域を規定する宿主内因性免疫因子に関して、その機能ドメインや作用機序解析を進めるとともに、関連ウイルス遺伝子 (gag-CA, vif, vpr 等) との相互作用を規定する領域の分子構造生物学的検討を進める。この結果を基に、サル末梢血 T リンパ球での増殖能が向上した改良型 HIV-1mt を構築し、カニクイザルにおける増殖能および免疫応答を評価する。本研究班においては、各研究班員が合目的に協調して本課題に取り組むことを主眼としている。

（倫理面への配慮）

本研究では改正動愛法に基づいた動物福祉規程にのっとり、実験動物の飼育・実験・解剖作業を行う。また実験実施機関において実験動物委員会による承認を得た。

3. 研究結果

HIV-1mt の改良とサル細胞・個体での評価実験

高馴化型第三世代 HIV-1mt である MN4Rh-3 は、カニクイザル PBMC および個体ともに良好なウイルス増殖を示した ($\sim 10^5$ viral RNA copies/ml)。またウイルス増殖に伴い、一過性ではあるが顕著な CD4 陽性 T 細胞の減少が確認された。ウイルス血症はウイルス接種後 6 週で検出

限界以下となったが、ウイルス接種後 17 週の時点で CD8 特異抗体を投与し CD8 陽性 T 細胞除去を行なったところ HIV-1mt 再活性化が生じウイルス RNA が検出された。このことから、MN4Rh-3 はカニクイザルにおいて長期潜伏感染が可能であることが示された。興味深いことに、このサル個体から再分離されたウイルス株はサル PBMC での増殖能が向上している結果を得ており、適合変異を獲得した可能性について現在検証を進めている。

他方、更なるウイルス増殖効率の向上を念頭に、主要な抗 HIV-1 宿主内因性因子 (APOBEC3, TRIM5 α , CypA および Tetherin) を回避する HIV-1mt クローンの構築を行なった。最も新しい HIV-1mt である MN4/LSDQgtu は、プロトタイプである NL-DT5R と比較して 30 個程度のアミノ酸置換 (全アミノ酸残基の 1%) があるのみであるが、これ以前の様々な HIV-1mt に比較し格段にサル細胞株での増殖能が向上している。現在、サル PBMC における増殖能について検証を進めており、この結果を踏まえてカニクイザルにおける評価実験を実施予定である。

抗 HIV-1 宿主内因性因子に関する解析

我々はこれまでに、HIV-1mt 増殖動態が接種カニクイザル個体によって顕著に異なること、TRIM5 遺伝子アリルがその主な規定要因であることを示唆する知見を得た。そこで、TRIM5 の HIV-1mt への機能的意義を検討したところ、TRIMCyp (TRIM5(の一部領域に cyclophilin A の一部が挿入された変異型アリル) を有するカニクイザル個体では野生型である TRIM5(アレル保有個体と比較して、HIV-1mt 感染における血中ウイルス量が約 50 倍高いことを見出した。興味深いことに、TRIM5/TRIMCyp 頻度はカニクイザルの原産地によって大きく異なっており、フィリピン由来個体群における TRIMCyp アリル頻度 (87.0%) はインドネシア及びマレーシア由来個体群のアリル頻度 (34.8%、48.9%) と比較して有意に高かった。この地理的多様性は、複数の国内カニクイザル繁殖飼育施設の個体および野生個体でも同様の傾向が認められたことから、カニクイザルの TRIMCyp アリル頻度における地理的多様性が実証された。

さらに、ウイルス蛋白 Vif との機能的相互作用が示されている主要な抗 HIV-1 因子の一つである APOBEC3G および癌抑制遺伝子 p53 について、Vif との機能的相互作用を解析した。その結果、APOBEC3G Arg122 が Vif への結合親和性に重要な役割を担っていること、また Vif は p53 の Ser15、Ser20、Ser37 および Ser46 のリン酸化を増強させることを見出した。さらに Ser15 を Ala に置換した変異体では Vif による p53 の発現増強、転写活性増強、G2 細胞周期停止がいずれも見られないことを見出した。これらの結果を踏まえ、今後 HIV-1 と SIV 由来 Vif の機能的互換性を分子構造科学的観点から探っていく予定である。

4. 考察

本研究課題の最終目標は、HIV-1 自体を標的としたワクチンや新規抗 HIV 薬の有効性評価が可能となる実用的な HIV-1 感染霊長類モデルの開発である。第3世代 HIV-1mt クロンのサル感染実験結果より、急性モデルによる新規薬剤や予防ワクチンの評価が実施可能と考えられる。特に、HIV-1 感受性に関するサル個体差を TRIM5 遺伝子型が規定していることを *in vitro* のみならず *in vivo* でも実証し、さらに HIV-1 サルモデル確立に向けてフィリピン産カニクイザル個体の有用性が遺伝子レベルで実証されたことは特筆すべき成果である。今後は TRIM5 遺伝子型に基づき HIV-1mt 感受性個体を選別することで、より信頼性・再現性の高い霊長類モデル構築に寄与すると期待される。

ところで、CD4 陽性 T 細胞の減少等の病原性を伴う持続感染 HIV-1mt クロンの確立を本研究の一つのゴールと見なした場合、現状での到達地点はどの程度であろうか？ 病原性 HIV-1 や SIV 感染初期におけるピーク時ウイルス量（約 10^7 copies/ml）を一つの評価基準とすると、第一世代 DT5R が 10^3 copies/ml 以下、第三世代 HIV-1mt である MN4Rh-3 が 10^5 copies/ml 程度であることから、道半ばを越えたといったところである。他方、病原性に関しては MN4Rh-3 感染ザルで CD4 陽性 T 細胞の一過性であるが有為な減少が生じたことから、 10^5 copies/ml 程度以上のウイルス血症が持続すれば病原性を発現すると考えられる。今後、より優れたクロン構築に向け、ウイルス・宿主因子との相互作用や機能決定に関わる新たな構造科学的情報と、それらに基づく宿主因子の回避能力を賦与する変異部位の選択・決定を積極的に推進していきたい。

現在世界に蔓延している HIV-1 の野外株（臨床分離株）由来 R5 指向性 Env を有する HIV-1mt の作出は、今後の重要な課題である。これまで見出された抗 HIV-1 内因性因子は、Env 以外のウイルス蛋白がその宿主域決定要因で

あったことから、CD4 陽性 T 細胞の減少およびセットポイントを伴う持続感染 HIV-1mt クロンの、すなわち主要な内因性因子を回避可能なクロンが作出できた時点で R5 指向性 Env に置換することを念頭に置いている。なお *in vitro* での R5 指向性 HIV-1mt の構築およびサル細胞での評価は現在平行して進行中である。

5. 自己評価

1) 達成度について

当該研究の目標に向けて、極めて速やかに且つ着実に進展している。それぞれの宿主因子に関する新知見を踏まえ、実験室で構築されたウイルスあるいはサル細胞株で馴化させたウイルスの全ゲノムを決定し、その生物学的性状を各種サル細胞株で解析し、選択したクロンについてサル PBMC で確認し、最終的にサル個体実験で評価するというプロセスを考慮すれば、例外的に効率的な進展と言えるであろう。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

当該研究の目標に向けて、各研究班員が合目的に協調して本課題に取り組んだ結果、サル個体での増殖能が格段に向上した HIV-1mt 樹立に成功し、のみならず TRIM5 を初めとする宿主内因性因子の機能発現や宿主域規定に関わる新たな分子機構の発見に繋がったことは学術的にも特筆に値する。国際的にも当該研究分野において最先端にある。さらに抗 HIV-1 薬剤開発における臨床試験への「橋渡し研究」迅速化に向け更なる発展が大いに期待できることから、社会的にもその意義は高い。

3) 今後の展望について

今年度の研究成果を踏まえ、本研究課題期間内に病原性を伴う持続感染 HIV-1mt クロンの確立および実用的な HIV-1 感染霊長類モデルの開発を達成することが可能な見通しである。

6. 結論

サル類における HIV-1 感染および病態発現の制御に寄与する宿主内因性及び獲得免疫の基礎的研究成果に基づき、サル個体での増殖能が格段に向上した HIV-1mt 樹立に成功し、さらに TRIM5 を初めとする宿主内因性因子の機能発現や宿主域規定に関わる新たな分子機構を明らかにした。

7. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

なし

研究発表

研究代表者

明里宏文

- 1) Saito Y, Naruse TK, Akari H, Matano T, Kimura A: Diversity of MHC class I haplotypes in cynomolgus macaques. *Immunogenetics*, in press.
- 2) Yoshida T, Omatsu T, Saito A, Katakai Y, Iwasaki Y, Kurosawa T, Hamano M, Nakamura S, Takasaki T, Yasutomi Y, Kurane I, Akari H: CD16 positive natural killer cells play a limited role against primary dengue virus infection in tamarins. *Archives of Virology*, in press.
- 3) Takeuchi H, Ishii H, Kuwano T, Inagaki N, Akari H, Matano T: Host cell species-specific effect of cyclosporine A on simian immunodeficiency virus replication. *Retrovirology*, in press.
- 4) Saito A, Kono K, Nomaguchi M, Yasutomi Y, Adachi A, Shioda T, Akari H, Nakayama EE: Geographic, genetic and functional diversity of antiretroviral host factor TRIMCyp in Cynomolgus macaque (*Macaca fascicularis*). *Journal of General Virology*, in press.
- 5) Saito A, Nomaguchi M, Iijima S, Kuroishi A, Yoshida T, Lee YJ, Hayakawa T, Kono K, Nakayama EE, Shioda T, Yasutomi Y, Adachi A, Matano T, Akari H: Improved capacity of a monkey-tropic HIV-1 derivative to replicate in cynomolgus monkeys with minimal modifications. *Microbes and Infection* 13, 58-64, 2011.
- 6) Ohtani H, Nakajima T, Akari H, Ishida T, Kimura A: Molecular evolution of immunoglobulin superfamily genes in primates. *Immunogenetics* 63, 417-428, 2011.
- 7) Ito M, Katakai Y, Ono F, Akari H, Mukai RZ, Takasaki T, Kotaki A, Kurane I: Serotype-specific and cross-reactive neutralizing antibody responses in cynomolgus monkeys after infection with multiple dengue virus serotypes. *Archives of Virology* 156, 1073-1077, 2011.
- 8) Naruse TK, Okuda Y, Mori K, Akari H, Matano T, Kimura A: ULBP4/RAET1E is highly polymorphic in the Old World monkey. *Immunogenetics* 63, 501-509, 2011.
- 9) Omatsu T, Moi ML, Hirayama T, Takasaki T, Nakamura S, Tajima S, Ito M, Yoshida T, Saito A, Katakai Y, Akari H, Kurane I: Common marmoset (*Callithrix jacchus*) as a primate Model of dengue virus infection: development of high levels of viremia and demonstration of protective immunity. *Journal of General Virology* 92, 2272-2280, 2011.
- 10) Iwasaki Y, Mori K, Ishii K, Maki N, Iijima S, Yoshida T, Okabayashi S, Katakai Y, Lee Y-J, Saito A, Fukai H, Kimura N, Ageyama N, Yoshizaki S, Suzuki T, Yasutomi Y, Miyamura T, Kannagi M, Akari H: Long-term persistent GBV-B infection and development of a progressive chronic hepatitis C-like disease in marmosets. *Frontiers in Microbiology* 2, 240, 2011.

研究分担者

1. 足立昭夫

- 1) Saito A, Kono K, Nomaguchi M, Yasutomi Y, Adachi A, Shioda T, Akari H, Nakayama EE: Geographic, Genetic and functional diversity of antiretroviral host factor TRIMCyp in cynomolgus macaque (*Macaca fascicularis*). *Journal of General Virology*, in press.
- 2) Chutiwitoonchai N, Hiyoshi M, Mwimanzi P, Ueno T, Adachi A, Ode H, Sato H, Fackler OT, Okada S, Suzu S: The identification of a small molecule compound that reduces HIV-1 Nef-mediated viral infectivity enhancement. *PLoS One* 6, e27696, 2011.

- 3) Fujii H, Ato M, Takahashi Y, Otake K, Hashimoto S, Kaji T, Tsunetsugu-Yokota Y, Fujita M, Adachi A, Nakayama T, Taniguchi M, Koyasu S, Takemori T: HIV-Nef impairs multiple T cell functions in antigen-specific immune response in mice. *International Immunology* 23, 433-441, 2011.
- 4) Doi N, Fujiwara S, Adachi A, Nomaguchi M: Rhesus M1.3S cells suitable for biological evaluation of macaque-tropic HIV/SIV clones. *Frontiers in Microbiology* 2, 115, 2011.

2. 高折晃史

- 1) Hirai M, Kadowaki N, Kitawaki T, Fujita H, Takaori-Kondo A, Fukui R, Miyake K, Maeda T, Kamihira S, Miyachi Y, Uchiyama T: A proteasome inhibitor bortezomib suppresses immunostimulatory activity of human plasmacytoid dendritic cells by targeting intracellular trafficking of nucleic acid-sensing Toll-like receptors and endoplasmic reticulum homeostasis. *Blood* 117, 500-509, 2011.
- 2) Nishinaka Y, Arai T, Adachi S, Takaori-Kondo A, Yamashita K: Singlet oxygen is essential for neutrophil extracellular trap formation. *Biochem Biophys Res Commun* 413, 75-79, 2011.

3. 中山英美

- 1) Saito A, Kono K, Nomaguchi M, Yasutomi Y, Adachi A, Shioda T, Akari H, Nakayama EE. Geographic, Genetic and Functional Diversity of Antiretroviral Host Factor TRIMCyp in Cynomolgus Macaque (*Macaca fascicularis*). *Journal of General Virology*, in press.
- 2) Miyamoto T, Yokoyama M, Kono K, Shioda T, Sato H, Nakayama EE. Single Amino Acid of Human Immunodeficiency Virus Type 2 Capsid Protein Affects Conformation of Two External Loops and Viral Sensitivity to TRIM5 α . *PLoS ONE* 6: e22779, 2011.
- 3) Saito A, Nomaguchi M, Iijima S, Kuroishi A, Yoshida T, Lee Y, Hayakawa T, Kono K, Nakayama EE, Shioda T, Yasutomi Y, Adachi A, Matano T, Akari H. A novel monkey-tropic HIV-1 derivative encoding only minimal SIV sequences can replicate in cynomolgus monkeys. *Microbes and Infection* 13:58-64, 2011.

4. 松岡佐織

- 1) Ishii H, Kawada M, Tsukamoto T, Yamamoto H, Matsuoka S, Shiino T, Takeda A, Inoue M, Iida A, Hara H, Shu T, Hasegawa M, Naruse TK, Kimura A, Takiguchi M, Matano T: Impact of vaccination on cytotoxic T lymphocyte immunodominance and cooperation against simian immunodeficiency virus replication in rhesus macaques. *Journal of Virology*, in press.
- 2) Nakamura M, Takahara Y, Ishii H, Sakawaki H, Horiike M, Miura T, Igarashi T, Naruse TK, Kimura A, Matano T, Matsuoka S: Major histocompatibility complex class I-restricted cytotoxic T lymphocyte responses during primary simian immunodeficiency virus infection in Burmese rhesus macaques. *Microbiology and Immunology* 55, 768-773, 2011.
- 3) Battivelli E, Migraine J, Lecossier D, Matsuoka S, Perez-Bercoff D, Saragosti S, Clavel F, Hance AJ: Modulation of TRIM5 α activity in human cells by alternatively spliced TRIM5 isoforms. *Journal of Virology* 85, 7828-7835, 2011.
- 4) Takahara Y, Matsuoka S, Kuwano T, Tsukamoto T, Yamamoto H, Ishii H, Nakasone T, Takeda A, Inoue M, Iida A, Hara H, Shu T, Hasegawa M, Sakawaki H, Horiike M, Miura T, Igarashi T, Naruse TK, Kimura A, Matano T: Dominant induction of vaccine antigen-specific cytotoxic T lymphocyte responses after simian immunodeficiency virus challenge. *Biochem Biophys Res Commun* 408, 615-619, 2011.

研究課題：MSMのHIV感染対策の企画、実施、評価の体制整備に関する研究

課題番号：H23-エイズ一般-006

研究代表者：市川 誠一(名古屋市立大学看護学部 教授)

研究分担者：金子典代(名古屋市立大学看護学部 講師)、伊藤俊広(独・国立病院機構仙台医療センター 医長)、内海 眞(独・国立病院機構東名古屋病院 院長)、鬼塚哲郎(京都産業大学文化学部 教授)、山本政弘(独・国立病院機構九州医療センター・AIDS/HIV 総合治療センター 部長)、健山正男(琉球大学大学院医学研究科 准教授)、木村 哲(東京通信病院 院長)、岡 慎一(独・国立国際医療研究センター・エイズ治療・研究開発センター センター長)、多田有希(国立感染症研究所感染症情報センター 第二室長)、本間隆之(山梨県立大学看護学部 講師)

1. 研究目的

わが国ではMSMを中心にHIV/AIDSの増加が続いている。本研究班の先行研究により、①MSMのHIV感染者、AIDS患者の有病率はMSM以外の男性の96倍、33倍と高い、②AIDS患者新規発生率は東京、近畿、東海が同程度、他の地域も同値に近づきつつある、③ゲイNGOはコミュニティベースの啓発により受検行動、コンドーム使用や購入行動を向上させていることを示した。MSMのHIV感染は全国的に同じ状況にあり、早期検査を促進しなければ、今後もAIDS患者の増加は続くことが予想される。本研究は、MSMの早期受検を促進しAIDS患者発生を減少させるとともに、予防行動の向上によりHIV感染の拡大を抑えることを目標とする。そのために、同性間HIV感染対策事業であるコミュニティセンター事業と協働し、ソーシャルネットワークを活用したコミュニティベースの介入とその評価分析の研究を行い、また、MSMへのHIV感染対策の自治体への施策導入を促進する。

2. 研究方法

1) エイズ予防のための戦略研究の効果評価と政策還元(木村哲、岡慎一、金子典代、協力：塩野徳史、高野操、岩橋恒太他)：戦略研究の介入効果を分析し、有用な手法のマニュアル化、MSMのHIV感染対策ガイドライン改定を行う。
2) 地域のMSMにおけるHIV感染対策の企画、実施に関する研究(東北地域/伊藤俊広、協力：やろっこ、首都圏/協力：荒木順子、生島嗣、他)、東海地域/内海眞、協力：Angel Life Nagoya、近畿地域/鬼塚哲郎、協力：MASH大阪、福岡地域/山本政弘、協力：Love Act Fukuoka、沖縄地域/健山正男、協力：nankr)：6地域のゲイコミュニティセンターのNGO活動と協働し、MSMネットワークを活用した介入を実施する。保健所等でのMSMの受検環境を整備し(初年度)、これと連動した検査促進の広報を図る(2-3年度)。
3) MSMにおける行動科学調査および介入評価研究
(1) 行動科学調査および介入評価研究(金子典代、本間隆之、協力：塩野徳史、新ヶ江章友、岳中美江、中村久美子、岩橋恒太、木村博和、他)：①6地域の保健所等の受検件数調査および受検者質問紙調査体制を構築し(初年度)、MSM

受検者動向を評価する(2-3年度)、②6地域のMSM集団の横断調査と追跡パネル調査体制を構築し(初年度)、受検行動や予防行動を指標に啓発介入を評価する(2-3年度)。

(2) MSMにおけるHIV/STD感染の動向に関する研究(多田有希、塩野徳史)

4) 自治体におけるMSMのHIV感染対策構築に関する研究(協力：中澤よう子、川畑拓也、他)：ゲイNGOと行政の協働による施策(MSMの早期検査・治療・支援の促進)構築。(倫理面への配慮)

当事者やNGOと連携して調査等の内容を検討し、対象者を含めゲイコミュニティへの倫理性を配慮しつつ研究を進める。必要に応じて研究者の所属施設等の倫理委員会審査を受ける。

3. 研究結果

1) エイズ予防のための戦略研究の効果評価と政策還元

(1) 対象地域・対象者：首都圏(東京都、神奈川県、埼玉県、千葉県)および阪神圏(大阪府、兵庫県、京都府、奈良県)に在住するMSMを対象者とした。(2) 研究方法および介入方法：首都圏、阪神圏においてMSMのHIV抗体検査を促進する広報介入を行い、本研究の検査受け入れに協力した施設(以下、定点施設)とそれ以外の施設別に検査件数の動向とエイズ発症者数の抑制効果を介入前後で比較した。

(3) MSMのHIV検査とAIDS発症：首都圏では保健所を、阪神圏ではクリニックを定点に、MSMが利用する商業施設やWebサイトへの啓発介入によりHIV検査受検促進を図った。保健所等での全受検者数は2008年末に増加傾向を示したが、2009年の新型インフルエンザ流行後に検査件数は減少し、その後横ばいとなった。しかし、首都圏の定点保健所では受検者に占めるMSM割合が高く、男性受検者のHIV陽性割合も上昇し、2010年のエイズ患者報告数は推計値より16.1%減少した。一方、阪神圏では定点クリニックでMSM割合が上昇し、陽性割合も5%と高かったが、2010年のエイズ患者報告数は推計値を超えた。阪神圏では、保健所等でMSM受検機会を拡大する介入体制を構築できなかったことが影響している。

2) 地域のMSMにおけるHIV感染対策の企画、実施に関する

研究：①前身の研究班、エイズ予防戦略研究で実施したプログラムから、効果的に展開する啓発方法の企画や実施について各地域の NGO や研究担当者で情報を共有した。②首都圏では HIV マップ、あんしん HIV 検査サーチ、阪神圏ではクリニック検査を継続し、他地域でも MSM 対象の検査をクリニックや保健所で試行した。③啓発プログラムをロジック分析し、より効果的な取り組みの体制を NGO と共に検討した（東京、福岡）。

3) MSM における行動科学調査および介入評価研究

1) 行動科学調査および介入評価研究

(1) 横断調査およびパネル調査：横断調査から追跡可能な MSM を募集し、性行動、検査行動の把握や普及啓発の効果を評価する新たな調査手法（パネル調査）を構築した。沖縄（246 人）、福岡（359 人）の横断調査からパネル調査に応諾し継続可能な MSM は 41% であった。次年度から間歇的に行うパネル調査と NGO 活動を連動させ啓発を評価する。

(2) HIV 検査受検者動向調査：MSM 受検者動向の把握、普及啓発との関連を評価する調査手法（保健所の受検件数、受検者対象質問紙調査）を構築し、沖縄（3 保健所）、大阪（11）、東京（19）、愛知（16）で開始した。他の地域にも導入する。

2) MSM における HIV/STD 感染の動向に関する研究

サーベイランスデータを基に HIV、梅毒等の STI の動向を MSM と MSM 以外に分類して分析した。

4) 自治体における MSM の HIV 感染対策構築に関する研究
 ゲイ NGO と行政の協働による施策（MSM の早期検査・治療・支援の促進）を構築するため、行政エイズ担当者と NGO との協働による取り組みを開始した。

4. 考察

エイズ予防戦略研究で得られた成果を参考に、6 地域でクリニック検査や保健所等での早期検査を促進する取り組みを行い、エイズ患者の発生を減少に転じさせたいと考えている。地方行政におけるエイズ対策にとって、MSM、性産業従事者、滞日外国人は hard to reach 層であり、当事者への接触が困難である。そのためエイズ対策の予算化も難しい面がある。こうした現状を変えるために、本研究班では、これまでの当事者参加型の研究体制に、地域のエイズ担当者に加え、NGO が取り組む検査普及などの広報活動と保健所等での HIV 検査体制を連動させ、受検者動向調査やコミュニティでの啓発資料認知調査による情報を共有する体制を構築し、地域の MSM へのエイズ対策に貢献する。6 地域の保健所の HIV 検査受検者調査では、およそ 30000 件が見込まれ、その成果はほぼ全国の HIV 検査の受検者動向を評価するものと想定される。また、パネル調査は、調査に参加する MSM から定期的に情報を把握するものであり、新たな追跡調査手法として期待される。

5. 自己評価

1) 達成度について

①エイズ予防戦略研究を最終評価した。今後、首都圏、阪神圏での取り組みを社会学的視座からまとめ、MSM の HIV 感染対策として有用な資料とする。②保健所を中心に受検者動向を把握する調査が 4 地域で開始でき、次年度は 6 地域で NGO の検査普及活動を評価する体制を整える。③ゲイコミュニティでの横断調査の後に、継続して質問紙調査に参加するパネル調査を考案し、一部地域で試行した。次年度は間歇的に行うパネル調査と NGO の啓発活動を連動させ、啓発の普及効果を評価する。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

①戦略研究は、首都圏では保健所等の検査キャパシティの高い施設において、阪神圏ではクリニックにおいて、MSM の受検機会を確保し、検査行動を促進させた。当事者 NGO と関係機関が協働する研究体制を構築し、検査普及や予防介入に関する啓発事業と効果評価を行う研究を連動させて取り組むことの有効性を示した。今後のエイズ対策の展開に重要な成果も得られており、社会的意義が大きい。

②MSM における HIV 感染は全国的に増加の現状にある一方、地方自治体では MSM への HIV 感染対策予算を新規に設けることが困難な状況にある。研究班は 6 地域で当事者参加型の研究体制に行政担当者を交え、MSM の HIV 感染対策の企画、実施、評価の体制整備をめざす。

3) 今後の展望について

①エイズ予防戦略研究の成果から有用な手法のマニュアル化、MSM の HIV 感染対策ガイドライン改定を行う。②効果的に展開する啓発普及方法、保健所やクリニックでの HIV 検査促進、陽性者支援環境の構築を提示する。③MSM 集団の行動学的調査、検査機関等の受検者動向調査から HIV 感染対策評価に有用な指標を提示する。④MSM の HIV 感染対策の自治体への導入を図り具体的な施策とする。

6. 結論

①エイズ予防戦略研究では、首都圏はキャパシティの高い施設において、阪神圏はクリニックにおいて、MSM の受検しやすい受検機会を確保し、検査行動を促進させていた。②保健所を中心に受検者動向を把握する調査を 4 地域で開始し、NGO の検査普及活動を評価する体制を整えた。③ゲイコミュニティの横断調査後の継続参加によるパネル調査を考案し、一部地域で試行した。次年度は、NGO の啓発活動と連動させ啓発普及評価の可能性を調べる。

7. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

なし

研究発表

研究代表者

市川誠一

- 1) ○金子典代, 塩野徳史, コーナジェーン, 新ヶ江章友, 市川誠一, 日本人成人男性における生涯での HIV 検査受検経験と関連要因, 日本エイズ学会誌, 受理済み, 2011
- 2) ○金子典代, 大森佐知子, 辻宏幸, 鬼塚哲郎, 市川誠一:ゲイ・バイセクシュアル男性における HIV 感染予防行動のステージと関連要因 大阪市内での商業施設利用者への質問紙調査から, 日本公衆衛生雑誌, 58(7), 501-514, 2011
- 3) ○塩野徳史 金子典代 市川誠一・日本成人男性における HIV および AIDS 感染拡大の状況-MSM(Men who have sex with men) と MSM 以外の男性との比較-厚生 の 指 標, 58 (13)、12-19、2011
- 4) ○Koerner J, Shiono S, Ichikawa S, Kaneko N, Tsuji H, Machi T, Goto D and Onitsuka T: Factors associated with unprotected anal intercourse and age among men who have sex with men gay bar customers in Osaka, Japan, Sexual Health, 2012 (in press)
- 5) Koerner J & Ichikawa S: Testing, treatment and prevention among gay men and other men who have sex with men in Japan- An update, HIV Australia, 9 (3) 40-43, 2011
- 6) ○塩野徳史, 市川誠一: MSM の HIV 感染対策におけるコミュニティセンター事業の意義, 病原微生物検出情報, 31 (8), 229-230, 2010
- 7) ○市川誠一:MSM における HIV 感染者/AIDS 患者の現状と予防戦略, 特集 再考:HIV/AIDS 予防対策, 公衆衛生, 74(11), 906-909, 2010
- 8) ○Seiichi Ichikawa, Noriyo Kaneko, Jane Koerner, Satoshi Shiono, Akitomo Shingae, and 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, Sexual Health, 8 (1) ,123-124, 2010.
- 9) ○新ヶ江章友、金子典代、内海眞、市川誠一: HIV 抗体検査会に参加した東海在住 MSM (Men who have Sex with Men) の性自認と HIV 感染リスク行動、日本エイズ学会誌、11 巻 3 号、255 - 262、2009.

研究分担者

金子典代

- 1) ○金子典代, 塩野徳史, コーナジェーン, 新ヶ江章友, 市川誠一, 日本人成人男性における生涯での HIV 検査受検経験と関連要因, 日本エイズ学会誌, 受理済み, 2011
- 2) ○金子典代, 大森佐知子, 辻宏幸, 鬼塚哲郎, 市川誠一, ゲイ・バイセクシュアル男性における HIV 感染予防行動のステージと関連要因 大阪市内での商業施設利用者への質問紙調査から, 日本公衆衛生雑誌 58(7), 501-514, 2011.
- 3) ○塩野徳史 金子典代 市川誠一・日本成人男性における HIV および AIDS 感染拡大の状況-MSM(Men who have sex with men) と MSM 以外の男性との比較-厚生 の 指 標 58 (13) 12-19、 2011
- 4) ○Seiichi Ichikawa, Noriyo Kaneko, Jane Koerner, Satoshi Shiono, Akitomo Shingae, and 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, Sexual Health, 8 (1) ,123-124, 2010

伊藤俊広

- 1) Junko Hattori, Teiichiro Shiino, Hiroyuki Gatanaga, Shigeru Yoshida, Dai Watanabe, Rumi Minami, Kenji Sadamasu, Makiko Kondo, Haruyo Mori, Mikio Ueda, Masao Tateyama, Atsuhisa Ueda, Shingo Kato, Toshihiro Ito, Masayasu Oie, Noboru Takata, Tsunefusa Hayashida, Mami Nagashima, Masakazu Matsuda, Shiro Ibe, Yasuo Ota, Satoru Sasaki, Yoshiaki Ishigatsubo, Yoshinari Tanabe, Ichiro Koga, Yoko Kojima, Masahiro Yamamoto, Jiro Fujita, Yoshiyuki Yokomaku, Takao Koike, Takuma Shirasaka, Shinichi Oka, Wataru Sugiura:Trends in transmitted drug-resistant HIV-1 and demographic characteristics of newly diagnosed patients: Nationwide surveillance from 2003 to 2008 in Japan, Antiviral Research, (88), 72-79, 2010.
- 2) ○Seiichi Ichikawa, Noriyo Kaneko, Jane Koerner, Satoshi Shiono, Akitomo Shingae, and 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, Sexual Health, 8 (1) ,123-124, 2010.

内海 眞

- 1) ○新ヶ江章友、金子典代、内海眞、市川誠一:HIV 抗体検査会に参加した東海在住 MSM(Men who have Sex with Men) の性自認と HIV 感染リスク行動、日本エイズ学会誌、11 巻 3 号、255 - 262、2009.
- 2) ○金子典代、内海眞、市川誠一. 東海地域のゲイ・バイセクシュアル男性の HIV 抗体検査の受検動機と感染予防行動、日本看護研究学会雑誌、30 巻 4 号、37-43、2007

鬼塚哲郎

- 1) ○金子典代, 大森佐知子, 辻宏幸, 鬼塚哲郎, 市川誠一, ゲイ・バイセクシュアル男性における HIV 感染予防行動のステージと関連要因 大阪市内での商業施設利用者への質問紙調査から, 日本公衆衛生雑誌, 2011. 58(7), 501-514
- 2) ○Tetsuro Onitsuka, Hiroyuki Tsuji, Jane Koerner, Noriyo Kaneko, Seiichi Ichikawa : The HIV/AIDS epidemic among

MSM in Japan: Background & gay NGO responses, 1st Developed Asia Regional Consultation on HIV in MSM and TG, Singapore, 2-3, Dec. 2010. (国際会議)

- 3) ○Tetsuro Onitsuka, Jane Koerner, Noriyo Kaneko, Hiroyuki Tsuji, Daisuke Goto, Yukio Cho, Satoshi Shiono, Suguru Uchida, Mie Takenaka, Seiichi Ichikawa: HIV infection rates, risk & preventive behaviors of MSM in Asia: How does Japan compare?, ICAAP Bali, 10 Aug 2009. (国際会議)

山本政弘

- 1) 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*, 2010 Aug 13.
- 2) 山本政弘: 図説 HIV 感染症に生じた性感染症関連合併症の 2 例, 日本性感染症学会誌, 21 (2) 78-79, 2010.
- 3) ○牧園祐也, 請田貴史, 川本大輔, 北村紀代子, 狭間隆司, 濱田史朗, 橋口卓, 山本政弘, 井上緑: 福岡地域における男性同性間の HIV 感染対策とその推進 CBO「Love Act Fukuoka(LAF)」の啓発活動の展開とコミュニティセンターhaco の有用性について, 第 24 回日本エイズ学会学術総会, 2010. (国内学会)

健山正男

- 1) Hibiya K, Tateyama M, Teruya H, Nakamura H, Tasato D, Kazumi Y, Hirayasu T, Tamaki Y, Haranaga S, Higa F, Maeda S, Fujita J.: Immunopathological characteristics of immune reconstitution inflammatory syndrome caused by *Mycobacterium parascrofulaceum* infection in a patient with AIDS., *Pathol Res Pract*. 2011.207(4):262-70.
- 2) 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*. 2010.49:1817-21.
- 3) 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*. 2010.74:252-7.
- 4) 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. 2010. 41: 15-21.

木村 哲

- 1) M. Honda, M. Ishisaka, N. Ishizuka, S. Kimura, S. Oka and Behalf of Japanese Anti-HIV-1 QD Therapy Study Group: Open-label randomized multicenter selection study of once daily antiretroviral treatment regimen comparing ritonavir-boosted atazanavir to efavirenz with fixed-dose abacavir and lamivudine. *Intern Med* 50: 699-705, 2011
- 2) 木村哲: HIV 感染予防対策の現状と課題. 日本臨床, 2010, 68(3), 536-540
- 3) 木村哲, 岡慎一, 満屋裕明: 座談会 HIV 感染症と AIDS の診療: in 最新医学・別冊 新しい診断と治療の ABC 65, HIV 感染症と AIDS, 第 3 章 診断と症状・合併症, P209-218, 最新医学社, 大阪, 2010

岡 慎一

- 1) Nakamura H, Teruya K, Takano M, Tsukada K, Tanuma J, Yazaki H, Honda H, Honda M, Gatanaga H, Kikuchi Y, and Oka S. Clinical symptoms and courses of primary HIV-1 infection in recent years in Japan. *Intern Med*, 2011, 50: 95-101
- 2) Honda M, Ishisaka M, Ishizuka N, Kimura S, Oka S and behalf of Japanese Anti-HIV-1 QD Therapy Study Group. Open-label randomized multicenter selection study of once daily antiretroviral treatment regimen comparing ritonavir boosted atazanavir to efavirenz with fixed-dose abacavir and lamivudine. *Intern Med*, 2011, 50: 699-705
- 3) Ishikawa N, Ishigaki K, Ghidinelli MN, Ikeda K, Honda M, Miyamoto H, Kakimoto K, and Oka S. Paediatric HIV and elimination of mother-to-child transmission of HIV in the ASEAN region: a call to action. *AIDS Care*, 2011, 23: 413-416

多田有希

- 1) 多田有希: 梅毒(特集 STD サーベイランスを考える—STD サーベイランスから実態をどこまで把握できるか—), 日本性感染症学会誌, 2009, 20 巻 1 号, p57-60
- 2) 多田有希: 感染症法に基づく梅毒発生届けにおける問題点(特集 梅毒血清反応の問題点), 日本性感染症学会誌, 2009, 20 巻 1 号, p75-77
- 3) 小野寺昭一, 多田有希: 性感染症の発生動向と最近のトピックス, 公衆衛生, 2008, 2 巻 6 号, p25-29

本間隆之

- 1) Ma Q, Ono-Kihara M, Cong L, Xu G, Pan X, Zamani S, Ravari SM, Zhang D, Homma T, Kihara M. Early initiation of sexual activity: a risk factor for sexually transmitted diseases, HIV infection, and unwanted pregnancy among university students in China. *BMC Public Health*. 2009 Apr 22;9:111.
- 2) Homma T, Ono-Kihara M, Zamani S, Nishimura YH, Kobori E, Hidaka Y, Ravari SM, Kihara M. Demographic and behavioral characteristics of male sexually transmitted disease patients in Japan: a nationwide case-control study. *Sex Transm Dis*. 2008 Dec;35(12):990-6.

研究課題：APOBEC3 分子のタンパク質レベルの機能性多型を基礎とした HIV-1 複製抑制機構の分子基盤の解明

課題番号：H23-エイズ一般-004

研究代表者：宮澤 正顯（近畿大学医学部 教授）

研究分担者：高折 晃史（京都大学大学院医学研究科 教授）、伊藤 暢聡（東京医科歯科大学大学院疾患生命科学研究所 教授）、有吉 紅也（長崎大学熱帯医学研究所 教授）、木村 彰方（東京医科歯科大学難治疾患研究所 教授）

1. 研究目的

一本鎖 DNA を標的とするシチジンデアミナーゼ APOBEC3 は、レトロウイルスの逆転写過程に働く細胞内複製制限因子である。哺乳類による APOBEC3 獲得後に霊長類に感染するようになったレンチウイルスは、Vif によって APOBEC3 の細胞内分解を促進し、複製阻害を回避している。しかし、自然宿主でないマウスの APOBEC3 は、Vif の有無に関わらず HIV-1 複製を阻害出来る。

申請者らと米国の Greene らは、マウス APOBEC3 が同種由来レトロウイルスに対する生理的抵抗因子であり、自然抵抗性の異なる系統間に機能的な遺伝子多型があることを同時に報告した。多型の分子基盤を exon 2 欠損の有無とした Greene らの報告には再現性がない。一方我々は、1) 抵抗性対立遺伝子産物は高発現で exon 5 を欠くのに対し、2) 感受性対立遺伝子産物は低発現で exon 5 を含むこと、3) 両遺伝子産物はアミノ酸配列が異なり、N-末端側が活性を決めること、4) 抵抗性遺伝子産物による複製抑制はデアミナーゼ非依存的であることを示し、Greene らも我々の記述を追認した。マウス APOBEC3 とヒト APOBEC3G の N-末端側 Z2 ドメインは相同であるから、我々の見出した配列多型と exon 5 の作用機構を明らかにすることで、ヒト APOBEC3G に Vif による阻害を受けない HIV-1 複製抑制能を付与する分子設計の基盤が築ける。

本研究は、マウス APOBEC3 Z2 ドメインを大量発現させ、ウイルス及び細胞タンパク質との相互作用を解析、その結晶化を試みるとともに、構造・機能に対する exon 5 の役割を明らかにし、Z2 ドメインの示すデアミナーゼ非依存的複製抑制の分子基盤を明らかにすることを目的とした。

2. 研究方法

1) マウス APOBEC3 exon 5 がタンパク質発現と機能に与える影響の解析（宮澤）

APOBEC3 mRNA 発現量の差がタンパク質発現量に対応するか否かを Western blot 法で、また exon 5 の有無がタンパク質の安定性に与える影響を *in vitro* 転写翻訳系で検討した。さらに、マウス APOBEC3 各対立遺伝子のゲノムクローンをを用い、site-directed mutagenesis により、exon 5 の発現に関与する遺伝子多型を同定することを試みた。

2) マウス APOBEC3 分子と相互作用するウイルス側及び細胞側タンパク質の解析（宮澤、高折）

構築済みの N-末端側及び C-末端側タグ挿入ベクターと、構造遺伝子の一部に改変を加えたマウスレトロウイルス分子クローンを活用し、APOBEC3 対立遺伝子産物及びそれらの変異体と結合するマウスレトロウイルス及び HIV-1 構成分子、ならびに細胞側分子の同定を試みた。

3) APOBEC3 Z2 ドメインの大量発現系（宮澤・伊藤）
X 線構造解析に必要な N-末端側 Z2 ドメインの結晶化を目指し、マウス APOBEC3 各対立遺伝子 cDNA クローンを大腸菌発現ベクターに移植し、タンパク質発現系を構築した。

4) ヒト APOBEC3G タンパク質発現量及び遺伝子多型が HIV-1 感染病態に与える影響の検討（有吉、木村、宮澤）

タイ・ランパンコホートの HIV-1 曝露非感染者及び感染者の凍結末梢血単核球を活用し、a) APOBEC3G タンパク質発現量に群間較差があるか否かを Western blot 法で、b) APOBEC3 遺伝子発現産物に alternative splicing があるか否かを RT-PCR 法で、c) ゲノム多型の有無を塩基配列決定でそれぞれ解析することとし、今年度は細胞株のプロモーター部位塩基配列を解析して、多型の有無を探った。

（倫理面への配慮）

北タイランパン県の HIV-1 感染者および配偶者コホート検体については、APOBEC3 分子に関する研究を含め、タイ保健省医学研究倫理委員会より 2015 年までの研究承認を受けている。コホート参加者には宿主因子の解析を行うことを書面で説明し、署名による同意を得て採血を行った。また、木村が行うゲノム塩基配列多型の解析については、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に沿って、所属機関におけるゲノム倫理委委員会の許可を得た。

3. 研究結果

1) 当初平成 24 年度に計画していた exon 5 の影響について、抵抗性対立遺伝子産物はタンパク質レベルでも高発現であること、exon 5 の有無はタンパク質分解には影響せず、翻訳効率を変えることが明らかとなった。さらに、スプライシング調節多型の分子実体は intron 4 末端部の TCCT 反復回数と exon 5 内部の G/C 多型であることを明らかにし、多数の野生マウス種におけるゲノム多型と exon 5

発現を比較することで、exon 5 発現はマウスの進化過程でごく最近に獲得された形質であることを明らかにした。

2) 宮澤らは、マウス APOBEC3 の粒子内取り込みが glycosylated Gag タンパク質により影響されるとの報告を検証する過程で、ウイルスプロテアーゼの活性変異体で APOBEC3 感受性が変化することを発見、プロテアーゼが APOBEC3 と相互作用する可能性を見出した。また、マウス APOBEC3 が感染細胞からの粒子出芽に影響することも観察している。高折らはヒトゲノム DNA が APOBEC3G の標的となる可能性を発見し報告した。

3) 宮澤らは HIV-1 複製の初期過程を解析するため、蛍光標識 Vpr 発現系を作り、ウイルス粒子吸着・侵入過程の解析を始めた。その過程で、Vpr のユビキチン化に関わる新規の分子間相互作用を見出し、論文作製中である。

4) 宮澤の提供したプラスミドを用い、伊藤が二つの対立遺伝子に由来する APOBEC3 Z2 ドメインを可溶化状態で大量に発現することに成功した。現在結晶化を目指した精製が進行中である。

4) 木村が複数のヒト細胞株で APOBEC3G 発現を解析し、プロモーター領域の新規多型を見出した。また、有吉が宮澤と協力して、タイコホートの凍結検体解析を開始した。

4. 考察

マウス APOBEC3 遺伝子多型については、これまで exon 5 を欠く抵抗性対立遺伝子が正の選択を受けてきたものと考えられていたが、今回 exon 5 を含むタンパク質発現量の低い対立遺伝子が最近獲得され、地理的にも広範囲に分布していることが明らかとなった。これは、APOBEC3 が同種由来レトロウイルスに対する抵抗性因子であると同時に、宿主ゲノムまたはトランスクリプトームに対する修飾因子として危険性を発揮する可能性を示している。

APOBEC3 と相互作用するウイルス側因子としてプロテアーゼが候補に挙げたことは、高折らが以前に指摘しているウイルスプロテアーゼによる APOBEC3 分解の可能性と符合する。ヒト APOBEC3G のプロモーター多型を初めて見出した意義は大きく、今後タンパク質発現量及び病態との相関を解明することが急務である。

5. 自己評価

1) 達成度について

APOBEC3 分子 Z2 ドメインの結晶化と X 線構造解析を目指した研究は、可溶性タンパク質の大量発現に成功し、順調に進行している。また、APOBEC3 遺伝子多型がタンパク質発現量に直結していることを明らかにしたことにより、以前に宮澤らが報告したヒト末梢血単球における

APOBEC3G タンパク質発現量と HIV-1 感染抵抗性の関係 (Biasin *et al. J. Infect. Dis.* 195:960-964, 2007) が、遺伝的制御を受けている可能性が高まった。木村らがヒト細胞株でプロモーター多型を見出したので、多型の機能性と病態との相関解析の意義が裏打ちされたことになる。APOBEC3 分子と相互作用するウイルス側及び宿主細胞分子の解析も、プロテアーゼやゲノム DNA との相互作用が明らかとなり、世界に先駆ける成果が挙がりつつある。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

今年度 APOBEC3 遺伝子多型の進化論的意義を明らかにしたことは学術的に極めて重要である。これまで、APOBEC3 多型についてはウイルスとの進化競争の中で正の選択を受けてきたとの解釈が主流であったが、今回我々はウイルス複製抑制効果が弱い exon 5 発現型のゲノム多型がむしろ最近獲得され、地理的にも広く分布することを明らかにした。APOBEC3 が宿主細胞ゲノム DNA と相互作用する可能性と考え合わせると、同種由来レトロウイルスの複製阻害に働くべき APOBEC3 が、ゲノム同一性の維持に対する危険因子となっている可能性が考えられ、ゲノム研究や進化学の分野に対しインパクトのある成果を挙げた。

3) 今後の展望について

APOBEC3 分子 Z2 ドメインの大量発現に成功したので、来年度はその結晶化と X 線構造解析に邁進する。また、ヒト APOBEC3 プロモーター領域に塩基配列多型があることを見出したので、ランパンコホートの凍結末梢血検体を活用して、遺伝子多型とタンパク質発現量、及び HIV-1 感染病態との相関を明らかにする。

6. 結論

マウス APOBEC3 遺伝子多型がタンパク質発現量の多寡に直結すること、exon 5 の有無がタンパク質翻訳効率を決定すること、exon 5 の発現は intron 4 及び exon 5 内の塩基配列多型で制御されていることを明らかにし、APOBEC3 の遺伝子進化に新しい視点を提供した。また、APOBEC3 と相互作用するウイルス側及び宿主細胞側因子について新知見を得、ヒト APOBEC3G に新規のプロモーター多型を見出した。APOBEC3 分子 Z2 ドメインの大量発現に成功したので、来年度はその精製と結晶化に邁進するとともに、プロモーター多型とタンパク質発現量及び HIV-1 感染病態の相関を明らかにする。

7. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

今年度は無し。

研究発表

研究代表者

宮澤正顯

- 1) Li, J., Y. Hakata, E. Takeda, Q. Liu, Y. Iwatani, C. A. Kozak, and M. Miyazawa. Two genetic determinants acquired late in *Mus* evolution regulate the inclusion of exon 5, which alters mouse APOBEC3 translation efficiency. *PLoS Pathogens*, *in press*, 2011 (DOI: 10.1371/journal.ppat.1002478).
- 2) Miyazawa, M., S. Takamura, S. Tsuji-Kawahara, E. Kajiwara, T. Chikaishi, and M. Kato. A hole in the T-cell repertoire induced after retroviral infection of immunocompetent adult mice. *Retrovirology* 8 (Suppl. 2):O30, 2011.
- 3) Sironi, M., F. R. Guerini, C. Agliardi, M. Biasin, R. Cagliani, M. Fumagalli, D. Caputo, A. Cassinotti, S. Ardizzone, M. Zanzottera, E. Bolognesi, S. Riva, Y. Kanari, M. Miyazawa, and M. Clerici. An evolutionary analysis of *RAC2* identifies haplotypes associated with human autoimmune diseases. *Mol. Biol. Evol.* 28: 3319-3329, 2011.
- 4) Ogawa, T., S. Tsuji-Kawahara, T. Yuasa, S. Kinoshita, T. Chikaishi, S. Takamura, H. Matsumura, T. Seya, T. Saga, and M. Miyazawa. Natural killer cells recognize Friend retrovirus-infected erythroid progenitor cells through NKG2D-RAE-1 interactions *in vivo*. *J. Virol.* 85: 5423-5435, 2011.
- 5) Hayasaka, N., K. Aoki, S. Kinoshita, S. Yamaguchi, J. K. Wakefield, S. Tsuji-Kawahara, K. Horikawa, H. Ikegami, S. Wakana, T. Murakami, R. Ramabhadran, M. Miyazawa, and S. Shibata. Attenuated food anticipatory activity and abnormal circadian locomotor rhythms in Rgs16 knockdown mice. *PLoS One* 6: e17655, 2011.

研究分担者

高折 晃史

- 1) Hirai, M., N. Kadowaki, T. Kitawaki, H. Fujita, A. Takaori-Kondo, R. Fukui, K. Miyake, T. Maeda, S. Kamihira, Y. Miyachi, T. Uchiyama. A proteasome inhibitor bortezomib suppresses immunostimulatory activity of human plasmacytoid dendritic cells by targeting intracellular trafficking of nucleic acid-sensing Toll-like receptors and endoplasmic reticulum homeostasis. *Blood* 117:500-509, 2011.
- 2) Nishinaka, Y., T. Arai, S. Adachi, A. Takaori-Kondo, K. Yamashita. Singlet oxygen is essential for neutrophil extracellular trap formation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 413:75-79, 2011.
- 3) Kitawaki, T., N. Kadowaki, K. Fukunaga, Y. Kasai, T. Maekawa, K. Ohmori, T. Itoh, A. Shimizu, K. Kuzushima, A. Takaori-Kondo, T. Ishikawa, T. Uchiyama. Cross-priming of CD8⁺ T cells *in vivo* by dendritic cells pulsed with autologous apoptotic leukemic cells in immunotherapy for elderly patients with acute myeloid leukemia. *Exp. Hematol.* 39:424-433, 2011.
- 4) Kitawaki, T., N. Kadowaki, K. Fukunaga, Y. Kasai, T. Maekawa, K. Ohmori, A. Takaori-Kondo, R. Maekawa, M. Takahara, M. Nieda, K. Kuzushima, T. Ishikawa, T. Uchiyama. A phase I/IIa clinical trial of immunotherapy for elderly patients with acute myeloid leukemia using dendritic cells co-pulsed with WT1 peptide and zoledronate. *Br. J. Haematol.* 153:796-799, 2011.

伊藤 暢聡

- 1) Tamashiro, T., Y. Tanabe, T. Ikura, N. Ito, and M. Oda. Critical roles of Asp270 and Trp273 in the α -repeat of the carbohydrate-binding module of endo-1,3- β -glucanase for laminarin-binding avidity. *Glycoconj. J.* 2011 Dec 27. [Epub ahead of print]
- 2) Fujii, S, H. Masuno, Y. Taoda, A. Kano, A. Wongmayura, M. Nakabayashi, N. Ito, M. Shimizu, E. Kawachi, T. Hirano, Y. Endo, A. Tanatani, and H. Kagechika. Boron cluster-based development of potent nonsecosteroidal vitamin D receptor ligands: Direct observation of hydrophobic interaction between protein surface and carborane. *J. Am. Chem. Soc.* 133:20933-20941, 2011.
- 3) Nomura, W., N. Ohashi, Y. Okuda, T. Narumi, T. Ikura, N. Ito, and H. Tamamura. Fluorescence-quenching screening of protein kinase C ligands with an environmentally sensitive fluorophore. *Bioconjug. Chem.* 22:923-930, 2011.

有吉 紅也

- 1) Amilasan, A. T., M. Ujiie, M. Suzuki, E. Salva, M. C. P. Belo, N. Koizumi, K. Yoshimatsu, W. P. Schmidt, S. Marte, E. M. Dimaano, J. B. Villarama, and K. Ariyoshi. Outbreak of Leptospirosis after flood caused by typhoon Ketsana in metro Manila, the Philippines, 2009. *Emerg. Infect. Dis.*, *in press*, 2011.
- 2) Schmidt, W. P., M. Suzuki, V. Dinh Thiem, R. G. White, A. Tsuzuki, L. M. Yoshida, H. Yanai, U. Haque, L. Huu Tho, D. D. Anh, and K. Ariyoshi. Population density, water supply, and the risk of dengue fever in Vietnam:

cohort study and spatial analysis. *PLoS Med.* 8:e1001082, 2011.

- 3) Mori, M., B. Sriwanthana, N. Wichukchinda, C. Boonthimat, N. Tsuchiya, T. Miura, P. Pathipvanich, K. Ariyoshi, and P. Sawanpanyalert. Unique CRF01_AE Gag CTL epitopes associated with lower HIV-viral load and delayed disease progression in a cohort of HIV-infected Thais. *PLoS One* 6:e22680, 2011.
- 4) Rojanawiwat, A., N. Tsuchiya, P. Pathipvanich, W. Pumpradit, W. P. Schmidt, S. Honda, W. Auwanit, P. Sawanpanyalert, and K. Ariyoshi. Impact of the national access to antiretroviral program on the incidence of opportunistic infections in Thailand. *International Health* 3:101-107, 2011.
- 5) Ichinose, A., K. Watanabe, M. Senba, K. Ahmed, K. Ariyoshi, and K. Matsumoto. Demonstration of pneumococcal capsule under immunoelectron microscopy. *Acta Med. Nagasaki* 56:1-4, 2011.

木村 彰方

- 1) Takaki, A., A. Yamazaki, T. Maekawa, H. Shibata, K. Hirayama, A. Kimura, H. Hirai, and M. Yasunami. Positive selection of Toll-like receptor 2 polymorphisms in two closely related old world monkey species, rhesus and Japanese macaques. *Immunogenetics*, *in press*, 2011.
- 2) Kimura, A., H. Ohtani, T. K. Naruse, T. Nakajima, H. Akari, K. Mori, T. and Matano, T. Evolutional medicine: an approach to identify the human genome diversity associated with HIV-1/AIDS. Proceeding of the International Conference on Emerging Frontiers and Challenges in HIV/AIDS Research, *in press*, 2011.
- 3) Ohtani, H., T. Nakajima, H. Akari, T. Ishida, and A. Kimura. Molecular evolution of immunoglobulin superfamily genes in primates. *Immunogenetics* 63:417-428, 2011.
- 4) Naruse, T. K., Y. Okuda, K. Mori, H. Akari, T. Matano, and A. Kimura. ULBP4/RAET1E is highly polymorphic in the Old World monkey. *Immunogenetics* 63:501-509, 2011.

研究課題：HIV 感染予防対策の個別施策層を対象にしたインターネットによるモニタリング調査・認知行動理論による予防介入と多職種対人援助職による支援体制構築に関する研究

課題番号：H23-エイズ—一般-005

研究代表者：日高 庸晴（宝塚大学看護学部 准教授）

研究分担者：嶋根 卓也（国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所 研究員）、西村 由実子（関西看護医療大学看護学部 講師）、古谷野 淳子（新潟大学医歯学総合病院感染管理部 特任助教）

1. 研究目的

わが国の HIV 流行は MSM を中心に都市部とその周辺地域や地方都市へ拡大している。また、インターネットの普及拡大に伴い MSM の性行動も多様化細分化されており、ネットを効果的に用いたモニタリングと予防介入が必須である。よって本研究の目的は、1) MSM を対象としたモニタリング調査と予防介入を行うこと、2) 教育・保健医療・心理の対人援助職（教員・保健師・臨床心理士）を対象に意識や対応経験の実態調査を行うこと、3) MSM のリスク行動やその背景要因である生育歴の課題と支援ニーズの現状を援助職に情報還元すると共に、支援スキル開発等の支援体制を構築することである。

2. 研究方法

〔研究1〕インターネットによる MSM の HIV 感染予防に関する行動疫学研究 2つのプロジェクトを実施した。

①無記名自記式質問票調査をインターネット上の調査サイトを通じて実施した。PC、モバイル（従来型携帯電話、スマートフォン）の2種類のページを設置し、ユーザーの使用端末によって調査サイトを自動振り分けした。②ネット調査参加者の中から取込基準（16歳以上男性、過去6ヶ月間にコンドーム不使用、HIV陰性・感染状況不明）に合致する者に、オンライン型認知行動療法による HIV 予防介入プログラムの参加を促し、ランダム化比較試験デザインにより介入研究を行った（wait-list control）。

〔研究2〕学校教育におけるセクシュアリティ理解と援助スキル開発に関する研究 教員のセクシュアリティに関する意識や生徒への対応経験等の実態を明らかにすることを目的に、西日本 A 市および東日本 C 市の教育委員会と校長会の協力を得て、市立中・高校教員を対象に無記名自記式質問紙調査を実施した。質問紙の配布・回収は学校単位で行い、回収は回答者自身によって個別封筒を厳封した上で行った。なお、2012年1月に西日本 B 県公立高校（48校）、B 市教員悉皆調査（128校）も準備中である。

〔研究3〕保健師・臨床心理士におけるセクシュアリティ理解と援助スキル開発に関する研究 近畿圏6府県12保健所設置市の保健所等の常勤保健師を対象に、無記名自記

式質問紙調査を行った。臨床心理士においては次年度実施予定の質問紙調査の予備的研究として、大学の学生相談経験のある臨床心理士5名と臨床心理士養成コースの大学院生37名を対象にインタビューと、無記名自記式質問紙による集合調査を実施した。

〔研究4〕認知行動理論（CBT）による HIV 予防介入研究 MSM コミュニティセンタースタッフや MSM 支援経験の豊富な関係者11人に対して実施に向けてのヒアリングを行い、さらに CBT 専門家からのコンサルテーション、文献検討の結果と合わせて研究デザインの検討を行い、次年度実施予定のプログラムの試案を設計した。

（倫理面への配慮）

疫学研究に関する倫理指針の遵守、研究者所属機関の研究倫理委員会の審査と指針に基づいて実施した。

3. 研究結果

〔研究1〕有効回答数6,770（PC2,321、モバイル4,449）件の中間集計結果を報告する（12月末現在の総回答数は9,800件、2012年1月末調査終了予定）。47都道府県全てから回答があり、過去6ヶ月間の性行動はPC回答群に比してモバイル群が若干活発であった（表1）。過去6ヶ月間のゲイバーとハッテン場利用実態に基づいてコミュニティ来訪群と非来訪群に二群したところPC回答群の58%、モバイルの40%はコミュニティ非来訪群であった。

表1. PC回答者とモバイル回答者の比較

	PC n=2,321	モバイル n=4,449
平均年齢	33.7歳	30.2歳
HIV抗体検査受検率（生涯）	48.8%	44.1%
HIV抗体検査受検率（過去1年）	25.1%	25.6%
性経験率（過去6ヶ月）	86.7%	87.9%
アナルセックス経験率（過去6ヶ月）	65.9%	72.9%
コンドーム常時使用率	36.4%	35.8%

また、精神健康のスクリーニング尺度であるK10/K6によれば、MSMのスコアは一般住民の平均値を大きく上回っており、とりわけ非来訪群は来訪群に比して、うつや不安障害のリスクが高いことが示された（ $p=0.002$ ）。その一方、非来訪群は、心理カウンセリング・心療内科受診率が低く、HIV抗体検査受検率、コンドーム使用率も低かった（表2）。

表 2. コミュニティ来訪者と非来訪者の比較

	PC n=2,321		モバイル n=4,449	
	来訪	非来訪	来訪	非来訪
K10(一般平均 6.1 点)	10.0 点	11.1 点**		
K6 (一般平均 3.6 点)			6.1 点	6.1 点
心理カウンセリング受診歴	15.3%	12.1% *	10.2%	7.3%**
心療内科受診歴	19.0%	14.6%**	16.1%	11.9%**
HIV 検査 (過去 1 年)	31.1%	20.7%**	31.3%	16.8%**
コンドーム常時使用率	29.6%	20.7%**	29.7%	21.4%**

K10/ K6: 川上憲人ら、成人期における自殺予防対策のあり方に関する精神保健的研究、平成 6 年度厚生労働科学研究こころの健康科学研究事業 *p<.05、**p<.01

②280 人が介入プログラムに参加登録し、そのうち 43.6% がコミュニティ非来訪群であった。参加登録者をランダムに介入群と統制群に割り付け、オンライン介入を行い、現在効果評価を検証中である。

[研究 2] 質問紙回収数 608 部 (有効回収率 61%) であり平均年齢は 42.9 歳、教員 86.6%、養護教諭 4.7%、管理職 7.2%、出身養成機関は 85.7% が大学であった。全体の 95.3% が教育現場でエイズ教育の必要性を感じる一方、同性愛については 59.9% と低率であった。20% が性同一性障害と性的指向の区別がつかず、12.6% が男性同性愛と思われる生徒がこれまでにいたと回答した。「性の多様性」に関する研修が出身養成機関であった者は 6.6%、今後の研修参加希望は 51.6% であった。

[研究 3] 近畿圏保健師調査では質問紙回収数 1,541 部 (有効回収率 78.5%) であり、1,531 件の中間集計を報告する。平均年齢は 40.9 歳、平均勤務年数は 17.0 年であった。性に関する相談に積極的に対応すると考えている者は 14.3% と低率であり「職務として対応」といった消極的な反応が 77.7% であった。全体の 49.9% が性的指向は本人の選択の問題であると認識、70.1% に HIV 関連業務 (相談や検査等) 経験があったが、47.2% がそれに苦手意識を持っていた。抗体検査受検者に性パートナーの性別を確認する者は 45.1%、陰性告知時の予防的支援の自信度は 53.0% であった。臨床心理士予備調査では 5 人の質的研究と 37 人の量的研究から、養成大学院において同性愛教育を受けた者は皆無であり、全体の 70% がセクシュアリティの話をどう扱えばいいかわからないと回答があった。また、来年度に学生相談担当の臨床心理士の本調査を実施するにあたり、関係者と実施のための協議・体制整備を進めた。

[研究 4] MSM コミュニティセンタースタッフ等からのヒアリングから、コミュニティの既存の予防啓発は、知識や情報伝達型の従来からの健康教育の追求が主体であり、一歩踏み込んで個人の自省を促しながら行動変容を目指す介入手法はあまり用いられてこなかったこと、これまでのコミュニティでの啓発に補完・補強するような意味合いで CBT による対面型介入手法を開発することが求められていること等が明らかとなった。

4. 考察

PC からのネット接続がかつての主流であったが、ネット環境の急激な変化により総回答者の約 60% がモバイルからの回答であった。HIV 抗体検査受検率は過去の調査結果と比して特に都市部在住者において若干の上昇傾向にあるが、コンドーム常時使用率はほぼ横ばいの低率であった。コミュニティ非来訪者は全体の 45% であり、ネットの活用により一定数の接触困難層の実態把握と予防介入を行うことが出来た。繁華街コミュニティに来訪しない者は予防情報やコンドーム使用率が概して低く、ネットを活用した積極的な啓発が急務であることが示唆された。

教員・保健師・臨床心理士いずれの調査においても MSM 支援にとって必要なセクシュアリティに関する知識不足、誤解、認識のずれ等の現状には大いに改善の余地があり、セクシュアリティに関する「性の多様性」研修の必要性が示されると共にその体制整備が急がれる。

5. 自己評価

1) 達成度について

MSM ネット調査は過去最多の研究参加者を獲得、教員・保健師調査においても当初の予定数を上回る自治体の協力を得て、年度当初の計画以上の規模で研究を実施した。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

継続した MSM ネット調査は世界的に珍しく、経年的に動向把握が可能となっている。教員と保健師のセクシュアリティ意識をわが国で初めて明らかにしたことは、当該集団の HIV 感染対策を推進する上での基礎資料となり、学術的・社会的にも意義がある。

3) 今後の展望について

次年度の MSM ネット調査では HIV 抗体検査の受検阻害要因の明確化を目的に、モバイルによる調査を行う。その際コミュニティ非来訪群の動向把握に務め、接触困難層の詳細な情報獲得を目指す。教員・保健師・臨床心理士調査では参加自治体を拡大すると共に研修を行う。CBT 対面型介入は、実際にプログラムの実施・効果評価を行う。

6. 結論

計画を予定通りに進め、MSM の HIV 感染リスク行動のモニタリングを行い、接触困難層であるコミュニティ非来訪層の動向把握と予防介入に努めた。また、MSM を取り巻く対人援助職の実態調査を行い、支援スキル開発研修のために関連機関との連携体制の構築を図った。

7. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

なし。

研究発表

研究代表者

日高 庸晴

原著論文による発表

和文

- 1) 日高庸晴：思春期の健康問題に決定的に関与する性的指向。精神科治療学（2011）26（537-544）。
- 2) 日高庸晴：セクシュアリティについて。みまもるつながるうけとめるⅡ学校における自殺リスクの認知とその対応に関する調査報告（2011）89-93。大阪教育大学学校危機メンタルサポートセンター

口頭発表

国内

- 1) 日高庸晴、本間隆之。インターネットによる MSM の行動疫学調査—経年変化分析の結果—。日本エイズ学会、2011年、東京
- 2) 西村由実子、日高庸晴。就労成人男性および大学生を対象としたインターネットによる行動科学的 HIV 予防介入の実施可能性の検討に関する研究。日本エイズ学会、2011年、東京。

研究分担者

嶋根 卓也

原著論文による発表

和文

- 1) 嶋根卓也。思春期における薬物乱用の実態と対策。産婦人科治療。103:144-150, 2011.
- 2) 嶋根卓也。思春期における薬物乱用の実態と予防。思春期学 29:13-18, 2011.
- 3) 嶋根卓也。薬局薬剤師を情報源とする向精神薬の乱用・依存の実態把握に関する研究。埼玉県薬剤師会雑誌。37:17-21, 2011.

口頭発表

国内

- 1) 嶋根卓也、日高庸晴：クラブカルチャーとの親和性と MDMA 使用との関連。日本公衆衛生学会総会。2011年、秋田。
- 2) 嶋根卓也、松本俊彦、和田清。薬局薬剤師を情報源とする向精神薬の乱用・依存の実態把握に関する研究。日本アルコール薬物医学会、2011年、愛知。
- 3) 嶋根卓也、松本俊彦、和田清。調剤レセプトを通じて把握された向精神薬の重複処方の実態について。埼玉県薬剤師会学術大会、2011年、埼玉。

西村 由実子

原著論文による発表

和文

- 1) 木原正博、西村由実子、加藤秀子、木原雅子。先進国における早期梅毒流行の再興とその背景要因について。日本性感染症学会誌。22(1)：30-39, 2011.

口頭発表

国内

- 1) 西村由実子、日高庸晴。就労成人男性および大学生を対象としたインターネットによる行動科学的 HIV 予防介入の実施可能性の検討に関する研究。日本エイズ学会、2011年、東京。