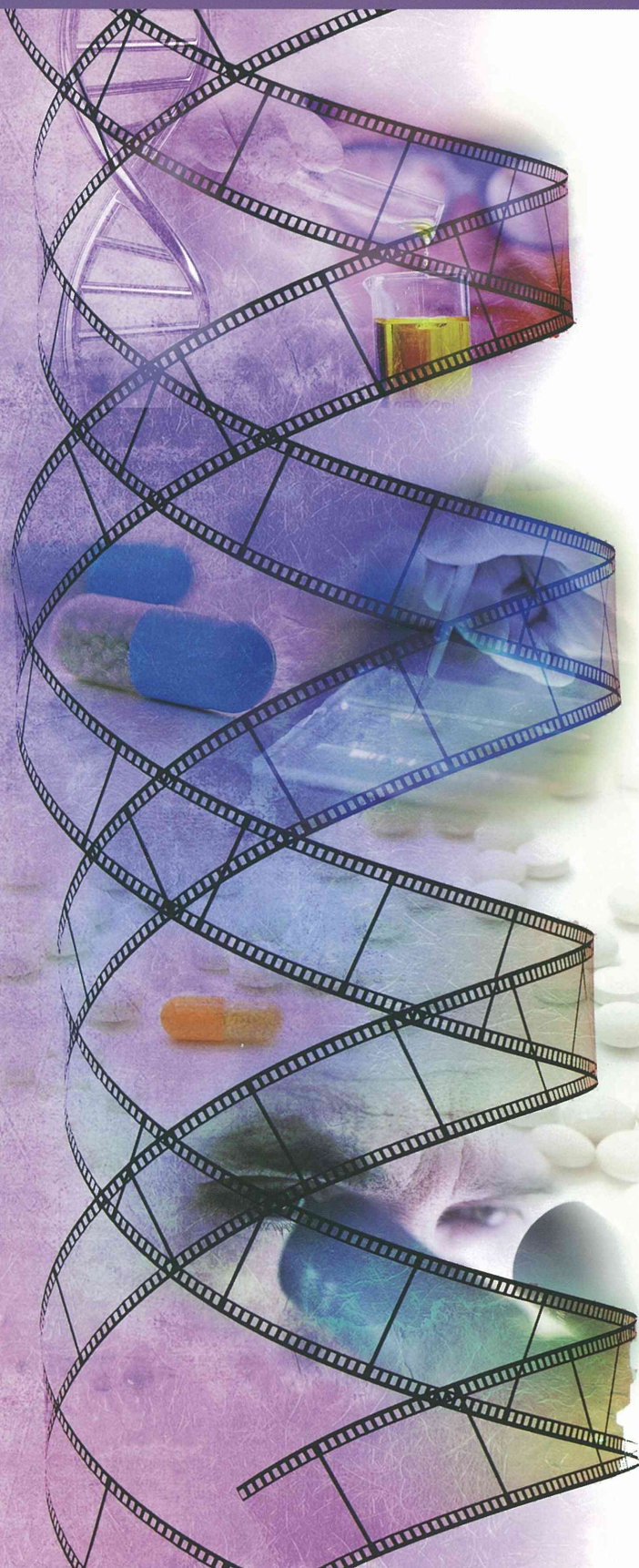


201124023A

厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業平成23年度総括・分担研究報告書

国内で流行するHIV遺伝子型および 薬剤耐性株の動向把握と 治療方法の確立に関する研究



研究代表者

杉浦 亙

(独)国立病院機構
名古屋医療センター
臨床研究センター

平成24(2012)年3月

平成 23 年度
厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業

国内で流行する HIV 遺伝子型および
薬剤耐性株の動向把握と治療方法の確立に関する研究

—平成 23 年度 総括・分担研究報告書—

研究代表者 杉浦 亙

平成 24(2012) 年 3 月

国内で流行する HIV 遺伝子型および薬剤耐性株の動向把握と治療方法の確立に関する研究

研究者名	分担	所属	役職
杉浦 互	研究代表者	(独) 国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター 感染・免疫研究部	部長
石ヶ坪 良明	研究分担者	横浜市立大学大学院医学研究科病態免疫制御内科学	教授
伊藤 俊広	研究分担者	(独) 国立病院機構仙台医療センター血液内科	医長
上田 幹夫	研究分担者	石川県立中央病院血液病治療部	部長
上野 貴将	研究分担者	熊本大学エイズ学研究センター	准教授
内田 和江	研究分担者	埼玉県衛生研究所ウイルス担当	専門研究員
太田 康男	研究分担者	帝京大学医学部内科学講座	教授
潟永 博之	研究分担者	(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	治療開発室 医長
加藤 真吾	研究分担者	慶應義塾大学医学部微生物学・免疫学教室	専任講師
木村 昭郎	研究分担者	広島大学原爆放射線医科学研究所ゲノム疾患治療研究部門血液内科	教授
榎原 健	研究分担者	(独) 国立病院機構東京都病院薬剤科	薬剤科長
近藤 真規子	研究分担者	神奈川県衛生研究所微生物部	主任研究員
貞升 健志	研究分担者	東京都健康安全研究センター微生物部	科長
佐藤 武幸	研究分担者	千葉大学医学部附属病院感染症管理治療部	准教授
佐藤 典宏	研究分担者	北海道大学大学院医学研究科内科学講座・第二内科	教授
椎野 禎一郎	研究分担者	国立感染症研究所感染症情報センター	主任研究官
白阪 琢磨	研究分担者	(独) 国立病院機構大阪医療センター臨床研究センター エイズ先端医療研究部・HIV/AIDS 先端医療開発センター	部長
巽 正志	研究分担者	国立感染症研究所エイズ研究センター第2室	室長
健山 正男	研究分担者	琉球大学大学院医学研究科感染病態制御学講座分子病態感染症学分野	准教授
田中 靖人	研究分担者	名古屋市立大学大学院医学研究科病態医科学 (ウイルス学)	教授
田邊 嘉也	研究分担者	新潟大学医歯学総合病院感染管理部	准教授
西澤 雅子	研究分担者	国立感染症研究所エイズ研究センター第2研究グループ	研究官
福武 勝幸	研究分担者	東京医科大学医学部臨床検査医学講座	主任教授
藤井 毅	研究分担者	東京大学医科学研究所先端医療研究センター	講師
松下 修三	研究分担者	熊本大学エイズ学研究センター病態制御分野	教授
南 留美	研究分担者	(独) 国立病院機構九州医療センター免疫感染症科臨床研究部	医師
森 治代	研究分担者	大阪府立公衆衛生研究所ウイルス課	主任研究員

目 次

総括研究報告書

国内で流行する HIV 遺伝子型および薬剤耐性株の動向把握と治療方法の確立に関する研究.....2

研究代表者 杉浦 互 (独)国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター
感染・免疫研究部 部長

研究分担者 石ヶ坪 良明¹、伊藤 俊広²、上田 幹夫³、上野 貴将⁴、内田 和江⁵、太田 康男⁶、瀧永 博之⁷、
加藤真吾⁸、木村 昭郎⁹、榎原 健¹⁰、近藤 真規子¹¹、貞升 健志¹²、佐藤 武幸¹³、佐藤 典宏¹⁴、
椎野 禎一郎¹⁵、白阪 琢磨¹⁶、巽 正志¹⁷、健山 正男¹⁸、田中 靖人¹⁹、田邊 嘉也²⁰、西澤 雅子²¹、
福武 勝幸²²、藤井 毅²³、松下 修三²⁴、南 留美²⁵、森 治代²⁶

¹ 横浜市立大学大学院医学研究科病態免疫制御内科学 教授

² (独)国立病院機構仙台医療センター血液内科 医長

³ 石川県立中央病院血液病治療部 部長

⁴ 熊本大学エイズ学研究センター 准教授

⁵ 埼玉県衛生研究所ウイルス担当 専門研究員

⁶ 帝京大学医学部内科学講座 教授

⁷ (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 治療開発室医長

⁸ 慶應義塾大学医学部微生物学・免疫学教室 専任講師

⁹ 広島大学原爆放射線医科学研究所ゲノム疾患治療研究部門血液内科 教授

¹⁰ (独)国立病院機構南京都病院薬剤科 薬剤科長

¹¹ 神奈川県衛生研究所微生物部 主任研究員

¹² 東京都健康安全研究センター微生物部 科長

¹³ 千葉大学医学部附属病院感染症管理治療部 准教授

¹⁴ 北海道大学大学院医学研究科内科学講座・第二内科 教授

¹⁵ 国立感染症研究所感染症情報センター 主任研究官

¹⁶ (独)国立病院機構大阪医療センター臨床研究センター

エイズ先端医療研究部・HIV/AIDS 先端医療開発センター 部長

¹⁷ 国立感染症研究所エイズ研究センター第2室 室長

¹⁸ 琉球大学大学院医学研究科感染病態制御学講座分子病態感染症学分野 准教授

¹⁹ 名古屋市立大学大学院医学研究科病態医科学 (ウイルス学) 教授

²⁰ 新潟大学医歯学総合病院感染管理部 准教授

²¹ 国立感染症研究所エイズ研究センター第2研究グループ 研究官

²² 東京医科大学医学部臨床検査医学講座 主任教授

²³ 東京大学医科学研究所先端医療研究センター 講師

²⁴ 熊本大学エイズ学研究センター病態制御分野 教授

²⁵ (独)国立病院機構九州医療センター免疫感染症科臨床研究部 医師

²⁶ 大阪府立公衆衛生研究所ウイルス課 主任研究員

分担研究報告書

本邦における薬剤耐性 HIV の動向調査研究

～東海ブロックにおける薬剤耐性検査体制確立のための研究～ 12

研究分担者 杉浦 互 (独) 国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター
感染・免疫研究部 部長

研究協力者 服部純子^{1,2}、松田昌和^{1,3}、重見 麗¹、保坂真澄¹、岡崎玲子¹
¹ (独) 国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター感染・免疫研究部
² 公益財団法人エイズ予防財団 リサーチレジデント
³ OSCR

横浜及び近郊における薬剤耐性 HIV の動向調査研究..... 18

研究分担者 石ヶ坪 良明 横浜市立大学大学院医学研究科病態免疫制御内科学 教授

研究協力者 上田 敦久 横浜市立大学附属病院リウマチ・血液・感染症内科

東北ブロックにおける薬剤耐性 HIV の動向調査研究..... 22

研究分担者 伊藤 俊広 (独) 国立病院機構仙台医療センター血液内科 医長

研究協力者 葛西 淳 (独) 国立病院機構仙台医療センター 臨床検査技師

北陸ブロックにおける薬剤耐性 HIV の動向調査研究..... 24

研究分担者 上田 幹夫 石川県立中央病院血液病治療部 部長

研究協力者 古谷 智慧 公益財団法人エイズ予防財団 リサーチ・レジデント

免疫制御が HIV 流行株および耐性獲得に及ぼす影響..... 28

研究分担者 上野 貴将 熊本大学エイズ学研究センター 准教授

首都圏近郊における薬剤耐性 HIV の動向調査研究

～流行株の遺伝子型及び薬剤耐性株の動向把握に関する研究～ 32

研究分担者 内田 和江 埼玉県衛生研究所ウイルス担当 専門研究員

研究協力者 鈴木 典子¹、宇野 優香²、原 孝³、人見 重美⁴、岡本その子⁵、
池ヶ谷美穂⁶、大沼 正行⁷、小林 広記⁸

¹ 埼玉県衛生研究所 ウイルス担当

² さいたま市健康科学研究センター保健科学科

³ 茨城県衛生研究所ウイルス部

⁴ 筑波大学大学院人間総合科学研究科

⁵ 栃木県保健環境センター微生物部

⁶ 宇都宮市衛生環境試験所 微生物担当

⁷ 山梨県衛生環境研究所微生物部

⁸ 長野県環境保全研究所感染症部

帝京大学における薬剤耐性 HIV の動向調査研究

～薬剤耐性 HIV の動向把握のための調査体制確立及びその対策に関する研究～ 36

研究分担者 太田 康男 帝京大学医学部内科学講座 教授

研究協力者 古賀 一郎 帝京大学医学部内科学講座 助教

ACCにおける薬剤耐性 HIV の動向調査研究	40
研究分担者 潟永 博之 (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 治療開発室医長	
研究協力者 林田 庸総 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	
次世代シーケンサーによる薬剤耐性 HIV の遺伝的多様性解析に関する研究 ～次世代シーケンサーを用いた HIV-1 細胞指向性解析法の開発～.....	42
研究分担者 加藤 真吾 慶應義塾大学医学部微生物学・免疫学教室 専任講師	
中国四国ブロックにおける薬剤耐性 HIV の動向調査研究 ～広島大学病院における未治療 HIV 感染者における薬剤耐性の解析～.....	48
研究分担者 木村 昭郎 広島大学原爆放射線医科学研究所ゲノム疾患治療研究部門血液内科 教授	
研究協力者 藤井 輝久 ¹ 、齋藤 誠司 ² 、高田 昇 ³	
¹ 広島大学病院輸血部 准教授・エイズ医療対策室 室長	
² 広島大学病院輸血部 助教・エイズ医療対策室	
³ 広島文化学園大学看護学部 教授	
抗 HIV 薬の薬物動態に関する臨床研究 ～抗 HIV 薬剤血中濃度モニタリング～.....	52
研究分担者 栗原 健 (独)国立病院機構南京都病院薬剤科 薬剤科長	
研究協力者 芝田 信人 ¹ 、加藤 真吾 ² 、須藤 弘二 ² 、上平 朝子 ³ 、白阪 琢磨 ³ 、 吉野 宗宏 ⁴ 、矢倉 裕輝 ⁴ 、照屋 勝治 ⁵ 、土屋 亮人 ⁵ 、林田 庸総 ⁵ 、 高橋 昌明 ⁶ 、小田原 隆 ⁷ 、味澤 篤 ⁸ 、今村 顕史 ⁸ 、牧江 俊雄 ⁹	
¹ 同志社女子大学薬学部生物薬剤学教室	
² 慶應義塾大学医学部微生物学・免疫学教室	
³ 独立行政法人国立病院機構大阪医療センター免疫感染症科	
⁴ 独立行政法人国立病院機構大阪医療センター薬剤科	
⁵ 独立行政法人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	
⁶ 独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター薬剤科	
⁷ 三菱東京 UFJ 銀行健康管理センター	
⁸ 東京都立駒込病院感染症内科	
⁹ 医薬品医療機器総合機構	
神奈川県における薬剤耐性 HIV の動向調査研究	60
研究分担者 近藤 真規子 神奈川県衛生研究所微生物部 主任研究員	
研究協力者 吉村 幸浩 ¹ 、立川 夏夫 ¹ 、相楽 裕子 ¹ 岩室 紳也 ² 、井戸田 一朗 ³ 、山中 晃 ⁴ 、佐野 貴子 ⁵ 、今井 光信 ⁶	
¹ 横浜市立市民病院	
² 厚木市立病院	
³ しらかば診療所	
⁴ 新宿東口クリニック	
⁵ 神奈川県衛生研究所	
⁶ 田園調布学園大学	

東京都及び近郊における薬剤耐性 HIV の動向調査研究

- ～南新宿検査・相談室等のHIV検査陽性例のHIV-1 薬剤耐性遺伝子の解析(2011年)～ 66
研究分担者 貞升 健志 東京都健康安全研究センター微生物部 科長
研究協力者 長島 真美、新開 敬行、林 志直、甲斐 明美
東京都健康安全研究センター

千葉県及び近郊における薬剤耐性 HIV の動向調査研究

- ～拠点病院以外の HIV 患者フォロー：針刺し・暴露事故対応と薬剤耐性動向把握～ 70
研究分担者 佐藤 武幸 千葉大学医学部附属病院感染症管理治療部 准教授

北海道ブロックにおける薬剤耐性 HIV の動向調査研究 74

- 研究分担者 佐藤 典宏 北海道大学大学院医学研究科内科学講座・第二内科 教授
研究協力者 吉田 繁 北海道大学大学院保健科学研究院病態解析学分野 助教

HIV の分子進化学的解析 76

- 研究分担者 椎野 禎一郎 国立感染症研究所感染症情報センター 主任研究官

近畿ブロックにおける薬剤耐性 HIV の動向調査研究 82

- ～近畿地区における薬剤耐性検査体制確立のための研究～ 82
研究分担者 白阪 琢磨 (独)国立病院機構大阪医療センター臨床研究センター
エイズ先端医療研究部・HIV/AIDS 先端医療開発センター 部長
研究協力者 渡邊 大¹、上平 朝子²、鈴木 佐知子³、岡本 瑛里子³、蘆田 美紗³、土肥 浩美³
¹大阪医療センター・HIV 感染制御研究室、²大阪医療センター・感染症内科
³大阪医療センター・エイズ先端医療研究部

薬剤耐性ウイルス感染性分子クローンの整備

- ～感染性分子クローンパネルの整備：国内 HIV-2 感染症例からの標準株クローン整備の試み～ 90
研究分担者 巽 正志 国立感染症研究所エイズ研究センター第2室 室長

沖縄における薬剤耐性 HIV の動向調査研究

- ～平成 23 年度沖縄県における薬剤耐性 HIV-1 調査体制確立のための研究～ 96
研究分担者 健山 正男 琉球大学大学院医学研究科感染病態制御学講座
分子病態感染症学分野 准教授
研究協力者 田里 大輔¹、仲村 秀太¹、日比谷 健司¹、前城 達次¹、原永 修作¹、
比嘉 太¹、藤田 次郎¹、仲里 愛¹、上地 幸平²、木佐貫 京子²、
宮城 綾乃²、名護 珠美²、又吉 拓²、山根 誠久²、宮城 京子³、
前田 さおり³
¹琉球大学大学院医学研究科感染病態制御学講座分子病態感染症学分野
²琉球大学大学院医学研究科感染病態制御学講座検査部
³琉球大学大学院医学研究科感染病態制御学講座看護部

HIV 存在下におけるHBV およびHCV 遺伝子解析 100

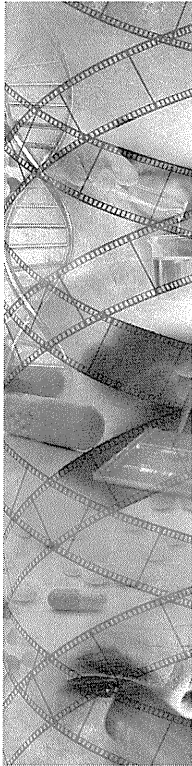
- 研究分担者 田中 靖人 名古屋市立大学大学院医学研究科病態医科学 (ウイルス学) 教授

関東甲信越ブロックにおける薬剤耐性 HIV の動向調査研究

- ～新潟県における状況 2011 ～ 102
研究分担者 田邊 嘉也 新潟大学医歯学総合病院感染管理部 准教授
研究協力者 大家 正泰 新潟大学大学院医歯学総合研究科地域疾病制御医学専攻・国際感染医学講座

高感度薬剤耐性 HIV 検査法を用いた微小集族薬剤耐性 HIV の検出と存在比率に関する研究 ～定量 PCR を応用した高感度薬剤耐性検査法の開発～	110
研究分担者 西澤 雅子 国立感染症研究所エイズ研究センター第2研究グループ 研究官	
東京医大における薬剤耐性 HIV の動向調査研究 ～ HIV-1 感染者の濃厚存在地域における最新の診療状況の把握と治療体制の確立に関する研究～	116
研究分担者 福武 勝幸 東京医科大学医学部臨床検査医学講座 主任教授	
研究協力者 四本 美保子、篠澤 圭子、山元 泰之、清田 育男、大瀧 学、鈴木 隆史、 天野 景裕、萩原 剛、村松 崇 東京医科大学臨床検査医学講座	
国内で流行する HIV 株および薬剤耐性 HIV 株の動向把握調査研究 ～多剤耐性 HIV の調査研究～	120
研究分担者 藤井 毅 東京大学医科学研究所先端医療研究センター 講師	
研究協力者 宮崎 菜穂子 国立感染症研究所 リサーチレジデント	
既治療患者における薬剤耐性 HIV 調査・サブタイプの調査	124
研究分担者 松下 修三 熊本大学エイズ学研究センター病態制御分野 教授	
研究協力者 吉村 和久 熊本大学エイズ学研究センター 准教授	
九州ブロックにおける薬剤耐性 HIV の動向調査研究 ～九州地区における薬剤耐性 HIV-1 の動向～	128
研究分担者 南 留美 (独)国立病院機構九州医療センター免疫感染症科臨床研究部 医師	
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 センター長	
大阪市及び近郊における薬剤耐性 HIV の動向調査研究	132
研究分担者 森 治代 大阪府立公衆衛生研究所ウイルス課 主任研究員	
研究協力者 小島 洋子、川畑 拓也 大阪府立公衆衛生研究所ウイルス課	

I. 総括研究報告書



国内で流行する HIV 遺伝子型および薬剤耐性株の 動向把握と治療方法の確立に関する研究

研究代表者 杉浦 亙 (独)国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター
感染・免疫研究部 部長

研究分担者

石ヶ坪良明¹、伊藤俊広²、上田幹夫³、上野貴将⁴、内田和江⁵、
太田康男⁶、瀧永博之⁷、加藤真吾⁸、木村昭郎⁹、榎原 健¹⁰、
近藤真規子¹¹、貞升健志¹²、佐藤武幸¹³、佐藤典宏¹⁴、椎野禎一郎¹⁵、
白阪琢磨¹⁶、巽 正志¹⁷、健山正男¹⁸、田中靖人¹⁹、田邊嘉也²⁰、
西澤雅子²¹、福武勝幸²²、藤井 毅²³、松下修三²⁴、南 留美²⁵、
森 治代²⁶

¹ 横浜市立大学大学院医学研究科病態免疫制御内科学 教授

² (独)国立病院機構仙台医療センター血液内科 医長

³ 石川県立中央病院血液病治療部 部長

⁴ 熊本大学エイズ学研究センター 准教授

⁵ 埼玉県衛生研究所ウイルス担当 専門研究員

⁶ 帝京大学医学部内科学講座 教授

⁷ (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
治療開発室 医長

⁸ 慶應義塾大学医学部微生物学・免疫学教室 専任講師

⁹ 広島大学原爆放射線医科学研究所ゲノム疾患治療研究部門血液内科 教授

¹⁰ (独)国立病院機構南京都病院薬剤科 科長

¹¹ 神奈川県衛生研究所微生物部 主任研究員

¹² 東京都健康安全研究センター 微生物部 科長

¹³ 千葉大学医学部附属病院感染症管理治療部 准教授

¹⁴ 北海道大学大学院医学研究科 内科学講座・第二内科 教授

¹⁵ 国立感染症研究所感染症情報センター 主任研究官

¹⁶ (独)国立病院機構大阪医療センター臨床研究センター
エイズ先端医療研究部・HIV/AIDS 先端医療開発センター 部長

¹⁷ 国立感染症研究所エイズ研究センター第2室 室長

¹⁸ 琉球大学大学院医学研究科感染病態制御学講座
分子病態感染症学分野 准教授

¹⁹ 名古屋市立大学大学院医学研究科病態医科学 (ウイルス学) 教授

²⁰ 新潟大学医歯学総合病院感染管理部 准教授

²¹ 国立感染症研究所エイズ研究センター第2研究グループ 研究官

²² 東京医科大学医学部臨床検査医学講座 主任教授

²³ 東京大学医科学研究所先端医療研究センター 講師

²⁴ 熊本大学エイズ学研究センター病態制御分野 教授

²⁵ (独)国立病院機構九州医療センター免疫感染症科臨床研究部 医師

²⁶ 大阪府立公衆衛生研究所ウイルス課 主任研究員

研究協力者：巻頭の一覧参照 (目次 ix ページ)

研究要旨

多剤併用療法は標準的な HIV/AIDS 治療法として定着し HIV 感染者の予後を大きく改善した。しかしその一方では治療薬剤による薬剤耐性 HIV の誘導が治療を進める上での大きな障害となっている。また先進諸国では薬剤耐性ウイルスによる新たな感染が広がりつつあり、その頻度は新規診断症例の 10～15%に達するとされている。我が国でも平成 15 年から 17 年の調査で新規 HIV/AIDS 診断症例の約 5%に薬剤耐性変異が確認されている。本研究班では我が国における薬剤耐性 HIV の発生動向把握とその増加を抑制することを目的とし、以下 5 項目の研究に取り組んだ。

(1) 薬剤耐性調査研究：新規診断および既治療 HIV/AIDS 症例における薬剤耐性 HIV の発生動向の把握を行った。平成 23 年は新規感染症例 569 例を捕捉し、52 例(9.2%)に薬剤耐性変異を認めた。薬剤耐性 HIV 発生機序の解析研究：本邦では subtype B (88%) が主流である事は揺るぎないが、non-B subtype では AE に次いで C が多い事が明らかになった。(2) HIV に合併する HBV は 89%が Genotype A であり、その 32%が自然発祥の急性肝炎を呈し、54%が ART 開始後に免疫再構築症候群を呈していた事を明らかにした。subtype B 症例の Env V3Tip 領域の配列は中和抗体による選択圧を受けて大きく 2 つのタイプに分類できることを明らかにした。(3) 薬剤耐性検査の質的管理：3 回目外部精度管理を実施した。(4) 薬剤血中濃度測定研究：累積 HP アクセス数は 13344 件、パスワード取得者 218 名、検査数は 949 件であった。(5) 情報統合・分析研究：研究班で収集した遺伝子情報を統合する DB の基本構成は完成した。データの公開に向けたサーバの構築もほぼ完成した。

A. 研究目的

我が国における薬剤耐性 HIV の発生動向とその分子疫学を明らかにし、それを踏まえて薬剤耐性 HIV 発生の予防法と薬剤耐性症例の治療法を立案する。

(必要性と目標)

目的達成のために以下 5 項目の研究に取り組む(図 1)。

(1) 薬剤耐性動向調査研究

新規診断及び既治療症例における薬剤耐性 HIV の発生動向の把握を行うが、これは我が国で流行する薬剤耐性 HIV の現状を正確に把握する上で必要な研究である。

(2) 新規 HIV/AIDS 診断症例の疫学研究

HIV サブタイプの同定、指向性の解析、感染時期の推定、肝炎などの合併感染症の有無を調査するが、これは疫学調査情報の質を高め、HIV 感染症の現状を理解するために必要な研究である。

(3) 薬剤耐性遺伝子検査の標準化研究

本研究では薬剤耐性 HIV 遺伝子検査の外部精度管理の実施と検査標準化を目指す。我が国における薬剤耐性検査の質を維持する上で必要な研究である。

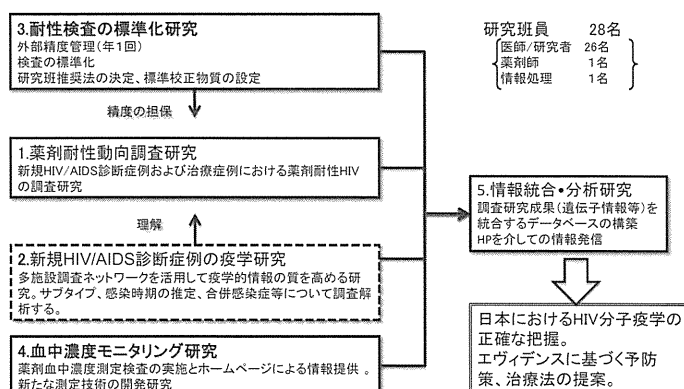


図 1 研究計画 目的を達成するために以下の 5 テーマについて取り組む

(4) 薬剤血中濃度モニタリング研究

本研究では新薬を含め薬剤血中濃度測定検査の提供とデータの解析を実施するが、これは適切な服薬実現に必要なものである。

(5) 情報統合・分析研究

調査・研究成果を統合するデータベースを構築するが、調査研究で得られる膨大な情報処理ならびに調査結果からの有益な情報の抽出に必要なものである。

B. 研究方法

本研究は目的を達成するために以下の計画に沿ってそれぞれの研究項目を遂行する。

(1) 薬剤耐性動向調査研究

我が国における薬剤耐性 HIV の動向を把握するために研究班員で構築される調査ネットワーク (図 2) を利用して新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性 HIV 調査を実施する。新規に HIV/AIDS と診断された症例を対象にプロテアーゼ (PR) 領域 (297bps)、逆転写酵素 (RT) 領域 (720bps)、インテグラーゼ (IN) 領域 (864bps) の遺伝子配列解析を行う。薬剤耐性変異の判定には Stanford database と International AIDS Society-USA の基準を合わせたものを用いる。自施設で薬剤耐性検査を実施する場合は以下項 (3) で実施する外部精度管理への参加を義務づける。

(2) 新規 HIV/AIDS 診断症例の疫学研究

我が国における HIV 感染症の実態を正確に把握するために次の研究を行う。(i) 新規 HIV/AIDS 診断症例のサブタイピング: Env C2V3 領域 (300bps) および Gag p17 領域 (480bps) の遺伝子配列解析と系統樹解析を行う。また、Env 配列を用いて指向性を調査する。(ii) 感染時期の推測: BED アッセイと avidity アッセイによる感染時期の推測を実施する。(iii) 微少薬剤耐性集属の検出: 潜在する薬剤耐性株の検出技術開発および調査を行う。代表的な PR と RT 阻害剤耐性変異を対象に高感度 PCR、LC-MS、次世代シーケンサ FLEX システムなど複数の手法を用いての解析を実施する。(iv) 合併する感染症の調査: 特に B 型肝炎、C 型肝炎の合併の有無について調査を行う。

(3) 薬剤耐性検査の質的管理研究

今までに決定した PR 領域および RT 領域の遺伝子配列解析の研究班推奨基準測定法と研究班実用校正物質の確認を行う。さらに、IN 領域等の遺伝子配列解析についても研究班推奨基準測定法と研究班実用校正物質を作成し標準化を進めていく。年 1 回

の外部精度管理の実施を予定している。自施設で薬剤耐性検査を実施している機関に試験サンプル (3 ~ 5 検体) を送付し、検査法の確認と検査精度の評価を行う。

(4) 薬剤血中濃度モニタリング研究

抗 HIV 薬剤の血中濃度を指標に至適治療の実践するために次の検査・研究を実施する。(i) 血中濃度測定検査の提供: ホームページ (HP) を利用した血中濃度測定検査を提供する。(ii) 技術開発研究: 新薬の血中濃度測定法を開発する。(iii) 薬物動態解析研究: 新薬の薬物動態を解析することで、日本人に対する抗 HIV 薬剤の用法用量の妥当性について検討する。

(5) 情報統合・分析研究

膨大な調査研究データを統合し、分析することにより有益な情報を抽出し、薬剤耐性 HIV の予防法と治療法の立案に活用するために次の研究を行う。(i) データベースの構築: 研究班として薬剤耐性検査等の結果を登録管理するためのデータベースを構築する。(ii) HP を介しての情報提供: 薬剤耐性検査 HP では本研究班の調査に関する情報提供を、薬剤血中濃度測定 HP では相互作用データベースに抗 HIV 薬剤に関する情報の提供を、またそれぞれの HP で最新の学会報告、文献等から収集した情報を掲示する。

(倫理面への配慮)

研究の実施に当たっては疫学研究に関する倫理指針 (平成 19 年 8 月 16 日改定) で定めた倫理規定等を遵守すると共に必要に応じて施設ごとの倫理委員会の承認を得るものとする。薬剤耐性 HIV の発生機序に関する研究では実施にあたり臨床研究に関する倫理指針 (平成 16 年厚生労働省告示第 459 号) で定めた倫理規定等を遵守するとともに、必要に応じて施設ごとの倫理委員会の承認を得るものとする。

C. 研究結果

研究班 2 年目として以下の成果を上げた。

(1) 薬剤耐性動向調査研究

本年度は 569 症例の新規 HIV/AIDS 診断症例の遺伝子配列が収集された。捕捉率は動向委員会に報告された HIV/AIDS 総数が 1486 であることから、38.3%であった (図 3)。そのうち 52 例 (9.2%) の薬剤耐性症例が同定された。薬剤クラス別内訳は核酸系 RT 阻害剤 (NRTI): 32 例 (5.6%)、非核酸系 RT 阻害剤 (NNRTI): 7 例 (1.2%)、PI: 17 例 (2.9%)、インテグラーゼ阻害剤 (INSTI): 0 例 (0%) であ

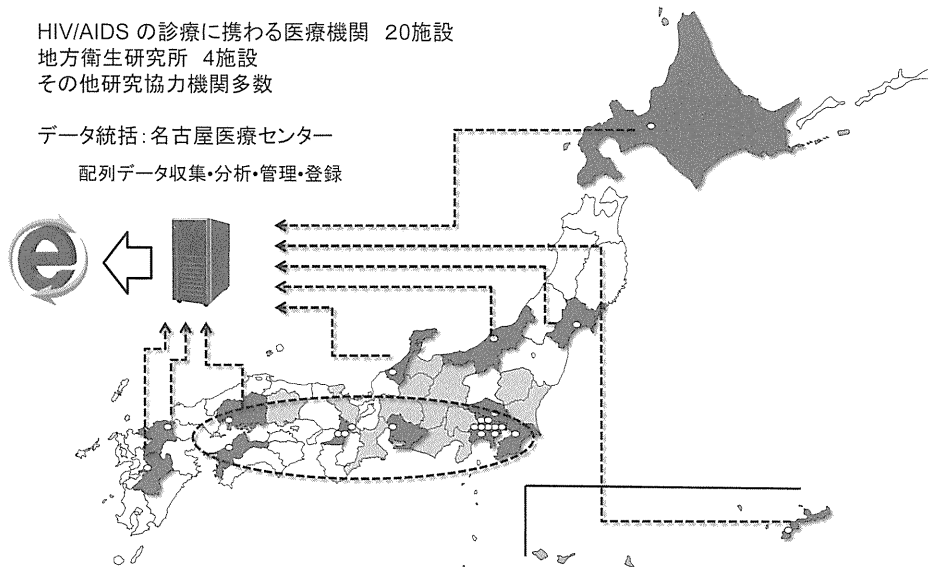


図2 研究班による疫学調査ネットワーク

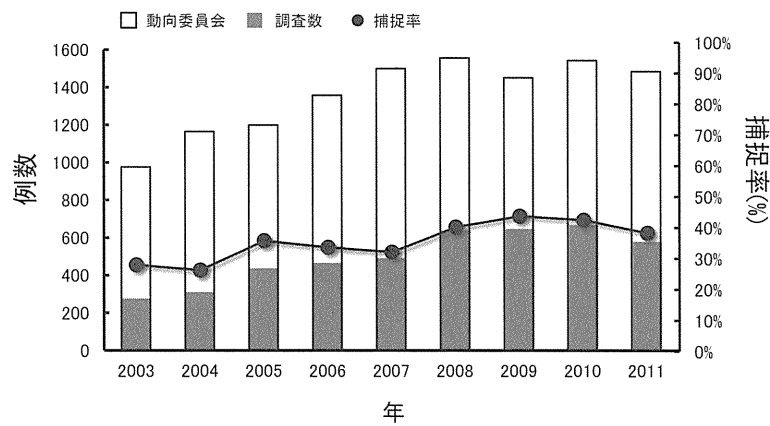


図3 調査研究ネットワークによる新規症例捕捉率

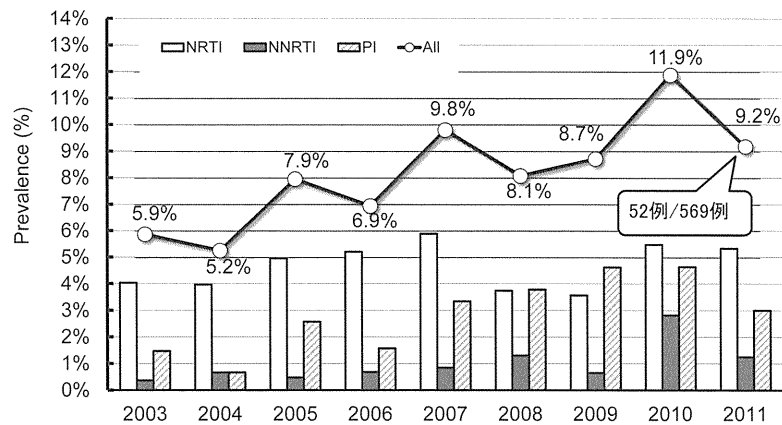


図4 新規 HIV/AIDS 診断症例調査 - 薬剤耐性の観察頻度

った (図 4)。ほとんどの症例は耐性変異が単独で見いだされたが、6 例は複数の変異を同時に有しており、そのうち 2 例は多剤耐性であった (表 1)。

個別の変異を見ていくと NRTI 耐性の T215X:21

例 (3.7%) が最も高く、次いで PI 耐性変異の M46I/L:14 例 (2.4%) そして NNRTI 耐性の K103N:4 例 (0.7%) であった。これらの観察頻度の高い変異は毎年必ず見つかっており、既に流行株として定着

表 1 新規 HIV/AIDS 診断症例調査 --- 観察された耐性変異

(a) 観察された変異			(b) 複数の変異が検出された症例		
NRTI	M41L	3例	(1)D30N/N88D/L90M	1例	
	D67N/G/E	1例	(2)T215D/M230L	1例	
	T69D	2例	(3)M41L/L210W/T215D	2例	
	K70R/E	1例	(4)K103N/M184V	1例	
	M184V/I	1例	(5)K103N/P225H	1例	
	L210W	5例			
	T215X	21例			
NNRTI	K101E	2例			
	K103N	4例			
	P225H	1例			
	M230L	1例			
PI	D30N	1例			
	M46I/L	14例			
	I54V/T	1例			
	I84V	1例			
	N88D	1例			
	L90M	1例			

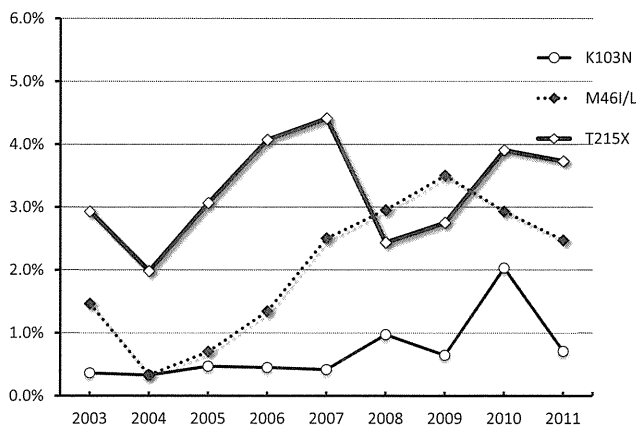


図 5 主要な変異の動向
T215X, K103N, M46I/L は毎年必ず検出される

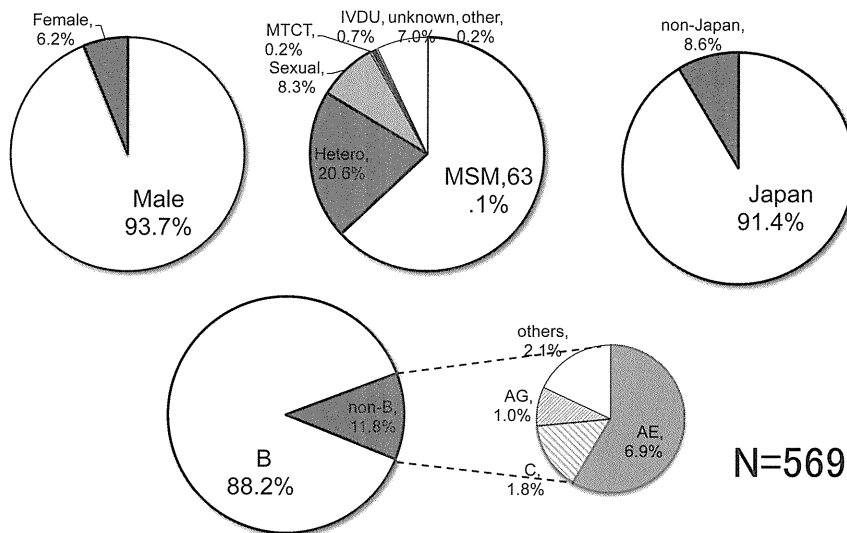


図 6 2011 年の調査結果
感染者の主体は男性、MSM、日本人、subtype B

していると推測される。

(2) 薬剤耐性 HIV 発生機序の解析研究

本邦における HIV/AIDS 患者の主体は男性 (93.7%)、MSM (63.1%)、日本人 (91.4%) そして subtype B (88.2%) であった (図 6)。この傾向は調査開始以来 9 年間変わっていない。本邦において subtype は B (88%) が主流である事には揺るぎないが、non-B subtype では AE に次ぐものは年々入れ替わっており、本年度は C が多い事が明らかになった。本研究班の調査では肝炎合併率も情報を収集しているが、HBV の合併率は 8.1%、HCV の合併率は 2.7% であった (図 7)。また HIV に合併する HBV は 89% が Genotype A であり、その 32% が自然発祥

の急性肝炎を呈し、54% が ART 開始後に免疫再構築症候群を呈した。また経過中の血中 HBV-DNA は HIV 陰性例に比較して HIV 合併例で高値を示し (6.3 vs 7.7 Log copy/mL)、肝炎の程度 (AST, ALT, T-Bil) は HIV 合併例で優位に軽微であった。本邦の流行株の形成に細胞性免疫による選択が作用していることを、240 例の Vpr と Vpu 領域の CTL エピトープの変化と各々 HLA Class I A0206 と A3305 アリルの関連から明らかにした。また本邦の subtype B 症例の Env V3Tip 領域の配列は大きく 2 つのタイプに分類でき、同領域は primary neutralizing determinant に含まれる事から中和抗体による選択圧の関与が示唆されることを明らかにした。

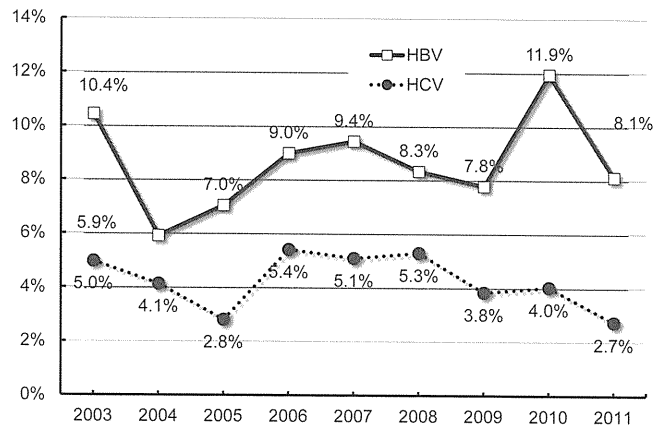


図 7 HIV とウイルス肝炎の重感染

年月日	
2011.12.28	外部精度管理参加施設の募集
2012.1.16-20	サンプルの配布
2012.2.29	結果回収

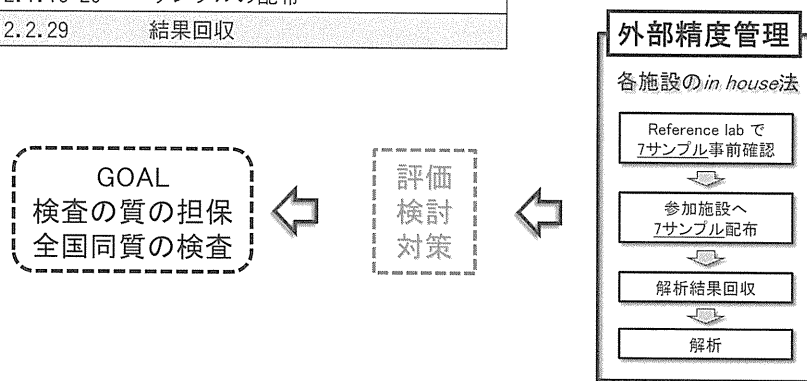


図 8 HIV 薬剤耐性検査の標準化と外部精度管理

(3) 薬剤耐性検査の質的管理

我が国における薬剤耐性検査の精度を担保し、どこでも同質の検査が提供されることを目標に、研究班参加施設のうち薬剤耐性検査を実施している施設に対して外部精度管理を実施した（図 8）。過去 2 回の外部精度管理では合成 RNA を用いたが、今回は患者血漿 4 サンプルと合成 RNA3 サンプルを用いた。

(4) 薬剤血中濃度測定研究

H23 年度 11 月 30 日時の累積 HP アクセス数は 13344 件、パスワード取得者は 218 名、検査数は 949 件であった。本邦の処方への流行に一致して raltegravir と darunavir の測定依頼が増加している。Ritonavir の剤型変更の血中濃度への影響を調査し、有意な差が無い事を確認した。日本人の Darunavir、raltegravir、etravirine 血中濃度データの収集を行った（表 2）。

(5) 情報統合・分析研究

研究班で収集した遺伝子情報を統合する DB の基本構成は完成した。データの公開に向けたサーバの構築もほぼ完成し、Web アプリケーションの開発に着手している。DB、サーバの開設と併行して収集配列データの DDBJ への登録作業を進めている。Bioinformatics 解析研究では subtype B 1882 例の遺伝子配列を用いて、ベイイズ法に基づく subtype B 感染 network の解析を行った。その結果、本邦における subtype B 症例が scale-free network を形成しており、また地域特異的なクラスターを形成している事が明らかになった。

D. 考察

新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性の動向調査は本研究班としては 2 年目に入るが、本年度もエイズ動向委員会に報告された症例の約 40% という高い捕捉率を達成している。この捕捉率は国全体の調査としては国際的にみても高く、国際学会等で発表した際に我々のデータは大きな関心を持たれている。過去に我々が報告してきた H15 年からの調査も合わせると 9 年間のデータが蓄積されている。9 年間の推移を見てみると H15 年：5.9%、16 年：5.2%、17 年：7.9%、18 年：6.9%、19 年：9.8%、20 年：8.1%、21 年：8.7%、22 年：11.9%、23 年（速報値）：11.0% と H22 年以降は 10% を超えて検出されており、増加傾向を示しているが、検出された変異を見ると、過去に使用された薬剤によるものが多く、最近数年間の間に登場した新薬に対する耐性変異はほとんど観察されない。例えば INSTI の raltegravir は承認から既に 4 年が経つが、今までのところ新規 HIV/AIDS 診断症例には 1 例も耐性が検出されていない。また、観察される変異には AZT 耐性変異 T215X、efavirenz 耐性 K103N、そして PI 耐性変異 M46I/L のように毎年一定の頻度で必ず観察されるものがあり、このような変異を有する HIV 株は既に流行株として定着し感染が拡大していると考えられる。BED により新規感染症例と慢性感染症例を分類し各々の耐性検出頻度をみても両者に有意な差は無いことも、この事実を裏付けていると考えられる。我々は HIV 陽性者間の性的交渉における薬剤耐性伝播のリスクを危惧しており、これを明らかにすべく潜伏する薬剤耐性株を検出可能な高感度薬

表 2 血中濃度測定

血中濃度測定件数の推移（総数）

平成 21 年：863
平成 22 年：867
平成 23 年：949

HP の運用状況（H23 年 11 月現在）

HP アクセス数：13,344 件
パスワード取得者数：218 名

新薬への対応状況

Darunavir (PI) : H21 年 7 月から測定受付開始
Etravirine (NNRTI) : H21 年 9 月から測定受付開始
Raltegravir (Integrase Inhibitor) : H21 年 12 月から測定受付開始
抗 HIV 薬 一括同時アッセイ法：検討中

剤耐性検出法の開発に取り組んでいる。今年度は PI 耐性変異 M46I/L と L90M の検出系を完成させて解析を開始した。本研究班の特徴は我が国の新規 HIV/AIDS 診断症例の 4 割強を捕捉する多施設調査ネットワークであるが、その情報収集能力を活用して本邦における HIV 感染動向についても分子疫学的手法や bioinformatics 学的手法を取り入れた解析を行ってきた。Subtype B と CRF01_AE の感染症例がそれぞれ scale-free network を形成しているという事実は HIV 感染予防の介入ポイントを把握する上で重要な情報である。また宿主免疫による選択圧が HIV に及ぼす影響の解析は本邦における HIV 流行株の成立と特徴をつかむ上で重要であり、予防治療ワクチン研究にも貢献できる有益な情報と期待される。近年 MSM 集団における HIV/HBV 重複感染症例の増加は深刻な問題であり本研究班でもその情報収集と解析に取り組んだ。本年はパイロット的に名古屋医療センターの重複感染症例について解析を行なったが、HBV と HIV が相互に深く関与しており両感染症の病状・病態の理解には統合して検討する必要がある事が改めて確認された。次年度以降は多施設調査ネットワークを活用して解析対象を広げるとともに、肝炎の線維化についても評価していく事とした。外部精度管理に関しては過去 2 回の成績が素晴らしく、国内何処でも同質の検査が受けられる事が確認できているが、新たに検査を開始した施設、検査担当者が変わった施設等もあることから本年度第 3 回目の外部精度管理を実施しており、検査の質の維持には継続する事が重要である。血中濃度測定研究に関しては HP アクセス数、パスワード取得者、依頼検査数の増加から臨床現場に定着している事は明らかである。

次年度以降の展望であるが多施設調査ネットワークには東北地方および中国四国地方の参加施設が少なく、現在同地域の幾つかの施設に研究協力を依頼している。また今後は本研究班の調査ネットワークの活用を薬剤耐性調査に限らず本邦の HIV 感染症の分子疫学的研究、合併する感染症 (HBV、HCV 等) の調査にも活用していきたい。収集した大量の遺伝子情報の分析には今以上に取りくむ事を考えており、国内外を問わず bioinformatics 研究者との共同研究を進め、より多くの有益な情報を抽出していくことが今後の重要な課題である。また情報等の社会への還元を行なうために予防介入等に取り組む研究班との研究連携を進めていきたい。

E. 結論

新規 HIV/AIDS 診断症例および治療中の症例の薬剤耐性の調査を実施した。研究班の調査ネットワークを活用した合併感染症や免疫学的研究を取り入れた。薬剤耐性検査の外部精度管理を実施し、本邦ではいずれの地域においても同質の薬剤耐性検査が実施されている事が確認された。血中濃度測定に関しては検査の受付と HP での情報公開を行った。

F. 研究発表

各分担研究者報告書および巻末の一覧を参照

G. 知的所有権の出願・取得状況

各分担研究者報告書を参照

II. 分担研究報告書



研究要旨

本邦における薬剤耐性 HIV の動向調査研究

～東海ブロックにおける薬剤耐性検査体制確立のための研究～

研究分担者 **杉浦 亙** (独) 国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター
感染・免疫研究部 部長

研究協力者 **服部純子**^{1,2}、**松田昌和**^{1,3}、**重見 麗**¹、**保坂真澄**¹、**岡崎玲子**¹

¹ (独) 国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター感染・免疫研究部

² 公益財団法人エイズ予防財団 リサーチレジデント

³ OSCR

2011年1月～12月の期間に名古屋医療センターにおいて115例のHIV-1感染者が新規診断された。この内108例の新規未治療患者について薬剤耐性検査を施行し、薬剤耐性HIV-1及びアミノ酸変異の検出頻度、HIV-1サブタイプの動向を把握することを目的として研究を行なった。その結果、プロテアーゼ領域にM46I、或いは逆転写酵素領域にT215リバータント変異を有する耐性株のみが検出され、その頻度は合わせて8.3%に留まった。過去数年間の調査結果だけに注目しても、薬剤耐性HIVの検出頻度は13.3% (2008年)、9.6% (2009年)、26.0% (2010年)と増減が激しく、長期にわたる調査の重要性が示唆された。

A. 研究目的

本邦における薬剤耐性HIV-1の発生動向把握の一環として、東海地区における新規HIV/AIDS診断症例を対象に薬剤耐性変異を有する症例の出現頻度、観察される薬剤耐性変異の種類そしてHIVサブタイプ分布の調査を明らかにする。またBEDアッセイによる感染時期の推定を試みる。

B. 研究方法

対象：

2011年1月から12月の間に名古屋医療センターを受診し新規にHIV/AIDSと診断された症例、及び同期間に全国いずれかのHIV-1診療科を受診し検査依頼のあった症例を対象とした。

薬剤耐性検査およびサブタイプング：

患者EDTA加血より分離した血漿200 μ LからウイルスRNAを市販の抽出キットを用いて抽出し、それを鋳型にRT/nested-PCRによりHIV-1プロテアーゼ領域、逆転写酵素領域、インテグラーゼ領域を増幅した。得られた増幅産物の塩基配列をダイレクトシーケンスで決定し、薬剤耐性変異の有無を判定した。同様の方法を用いてgag p17領域及びenv C2/V3領域の塩基配列についても解析し、この4遺伝子領域の塩基配列から系統樹解析を行いサブタイ

プの決定を行なった。

BED assay:

感染時期の推定のために血漿中HIV-1 gp41特異的IgG抗体の力価の定量をこころみた。この方法ではOD値0.8以下のものを感染後155日以内と判定する。

(倫理面への配慮)

担当医から患者に研究の説明を行い、文書により同意が得られた患者についてのみ検査を行なった。研究の実施に当たっては疫学研究に関する倫理指針(平成19年8月16日改定)および臨床研究に関する倫理指針(平成16年厚生労働省告示第459号)で定めた倫理規定等を遵守する。本研究は名古屋医療センターの研究倫理委員会の承認を得ており、それに基づいて担当医から患者に研究の説明を行い、文書により同意が得られた患者についてのみ検査を行なった。