

表 4 M46I/L, L90M amplicon に検出される変異一覧

症例	シーケンス	変異
Case A	通常法	I62V, L63P, <u>I72V</u> , T74A, V77I, I93L
	M46I amplicon*	M46I, I62V, L63P, T74A, V77I
	M46L amplicon*	M46L, I62V, L63P, <u>I72V</u> , T74A, V77I
	L90M amplicon**	I62V, L63P, <u>I72V</u> , T74A, V77I, L90M
Case B	通常法	M46I, E21R, R41K, I62V, L63P, L89I, Q92K, I93L
	M46I amplicon*	M46I, I62V, L63P
	M46L amplicon*	M46L, I62V, L63P, <u>A71T</u>
Case C	通常法	E35D, M36I, L63P, H69K, V77I
	M46I amplicon*	M46I, L63P, H69K, V77I

\*M46I と M46L amplicons は 46 番目のアミノ酸から 88 番目のアミノ酸までを解析

\*\*L90M amplicon は 15 番目のアミノ酸から 90 番目のアミノ酸までを解析

#### D. 考察

高感度法で薬剤耐性検査を行うことで、これまで通常法では検出できなかった薬剤耐性変異を検出する事が可能になった。本研究で解析対象とした計 11 変異で、薬剤耐性変異の検出頻度は 12.08% から 32.21% と約 2.7 倍に上昇した。微少集族として検出された耐性変異の中には K65R, M184V など現在抗 HIV 治療によく用いられる TDF や FTC に対して高い耐性を与える変異が含まれており、微少集族薬剤耐性変異の解析は抗 HIV 薬を選択する上で重要であると考えられる。また PI 耐性変異である M46I については、今年度新たに開発した高感度法検出系によって解析した。その結果、検出頻度が通常法の 9.3% から 19.46% に上昇した。また、M46L, L90M も通常法では検出されていなかったが高感度法では検出され、PI 耐性変異も微少集族として患者血中に存在していることが示された。微少集族が検出された症例のうち 3 症例では 2 個以上の変異が検出され、HIV 感染時に複数の抗 HIV 薬に対して既に耐性を持っている未治療患者症例があることも示された。L90M の amplicon に M46I, M46L が存在していなかったことから (Case A、表 4)、Case A ではこれら

の耐性変異が独立して存在する可能性が示され、高感度法の解析から薬剤耐性変異の関係性も解析可能であった。これらの結果から、抗 HIV 治療開始前の微少集族薬剤耐性 HIV 解析は、抗 HIV 治療に用いる薬剤選択に重要な情報を得られると考えられる。

#### E. 結論

高感度法による薬剤耐性検査によって、通常法では検出できない微少集族薬剤耐性 HIV を検出可能になった。2008 年から 2009 年にかけて名古屋医療センターで通常法による薬剤耐性検査を行った、新規未治療患者検体 Subtype B 149 症例を高感度法で解析した。対象とした逆転写酵素阻害剤 (NRTI, NNRTI) に対する耐性変異 M41L, K65R, K70R, K103N, Y181C, M184V, T215F/Y の 8 変異と PI に対する耐性変異 M46I/L, L90M の 3 変異を解析した結果、薬剤耐性変異の検出頻度は 12.08% から 32.21% に上昇した。高感度法を用いる事によって、通常法では検出できない微少な耐性変異も検出でき、より正確に新規未治療患者の薬剤耐性を解析できる事が示された。

**F. 健康危険情報**

なし

**G. 研究発表****1. 原著論文**

欧文

なし

和文

なし

**2. 口頭発表**

海外

- 1) Masako Nishizawa, Walid Heneine, Jeffrey A. Johnson, and Wataru Sugiura. Highly-sensitive allele-specific PCR demonstrated that minority-population of drug resistance mutations may affect ART in ART-treated patients. 2011 年 7 月 ローマ

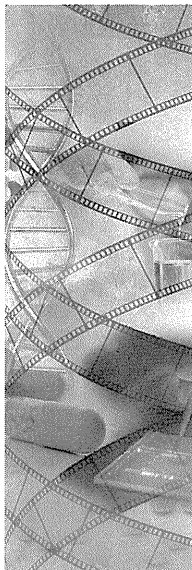
国内

- 1) 西澤雅子、Jeffrey A. Johnson、Walid Heneine、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 2011 年 12 月 東京
- 2) 服部純子、椎野禎一郎、瀧永博之、林田庸総、吉田 繁、千葉仁志、小池隆夫、佐々木悟、伊藤俊広、内田和江、原 孝、佐藤武幸、上田敦久、石ヶ坪良明、近藤真規子、今井光信、長島真美、貞升健志、古賀一郎、太田康男、山元泰之、福武勝幸、加藤真吾、藤井 毅、岩本愛吉、西澤雅子、仲宗根正、岡 慎一、伊部史朗、横幕能行、上田幹夫、大家正義、田邊嘉也、渡辺香奈子、渡邊 大、白阪琢磨、小島洋子、森 治代、中桐逸博、高田 昇、木村昭郎、南 留美、山本政弘、松下修三、藤田次郎、健山正男、杉浦 互：2003～2009 年の新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性頻度の動向 第 25 回日本エイズ学会 2011 年 12 月 東京
- 3) 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 2011 年 12 月 東京

**H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）**

なし





## 研究要旨

# 東京医大における薬剤耐性 HIV の動向調査研究

～ 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～

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

東京都新宿区西新宿において HIV/ エイズ診療拠点病院として約 30 年に渡り診療を行っている東京医科大学病院における最近の受診者の状況は変化しており、従来からの診療体制に加え、これから提供すべき診療体制について再検討すべき時期に来ている。この研究は本施設をこれまでに受診した患者の動向を明らかにしたうえで、昨年 1 年間に新たに受診した HIV 感染者の状況から今後の対策を検討した。

新患として受診した HIV 感染者数は 1997 年以降増加傾向を続け、2006 年までの 10 年間で約 6 倍となった。2010 年は過去最高の 137 人となった。保健所や他の病院・診療所からの未発症患者の紹介が多い状況は続いているが、多くの感染者が居住地活動する地域性を反映して、何らかの診療のために東京医科大学病院を受診し、HIV 感染症の診断に至った患者（院内診断による患者）数が 2010 年には 31 例と増加し、保健所などからの紹介を上回った。診断時の症状や検査受検のきっかけとして、HIV 感染症の急性期症状を疑った例（実際には急性期ではなかった例も含む）が最も多く 26 例となった。

このような状況は当地域における HIV 感染症の伝搬が早いペースで進んでいる可能性を示唆している。

## A. 目的

東京都新宿区西新宿において HIV/ エイズ診療拠点病院として約 30 年に渡り診療を行っている東京医科大学病院における最近の受診者の状況は変化しており、従来からの診療体制に加え、これから提供すべき診療体制について再検討すべき時期に来ている。この研究は本施設をこれまでに受診した患者の動向を明らかにしたうえで、昨年 1 年間に新たに受診した HIV 感染者の状況から今後の対策を検討し、当該地域に相応しい診療体制を確立していくことを目的とした。

## B. 方法

### I. HIV 感染初診患者数の推移

東京医科大学病院において HIV 感染症の診療担当科となっている臨床検査医学科の受診者記録を基に、1997 年以降の HIV 感染症で初診となった患者

数を 1 年ごとに調査した。

### II. HIV 感染初診患者の受診経路

東京医科大学病院臨床検査医学科の受診者記録を基に、2009 年と 2010 年について HIV 感染症で初診となった患者の受診経路を、①自発検査・保健所からの紹介など、②院内診断による患者発生、③転院・転居、④一般病院からの紹介、⑤診療所からの照会、⑥術前検査での診断、⑦献血時検査での診断、⑧警察署からの診療依頼に分類し検討した。

### III. 院内診断による HIV 感染患者数の推移

何らかの診療のために東京医科大学病院を受診し、HIV 感染症の診断に至った患者（院内診断による患者）数の推移を臨床検査医学科の受診者記録を基に、1997 年以降 1 年ごとに調査した。

#### IV. 初診 HIV 感染患者の受診時合併症または検査受検のきっかけ

2010年1月から12月の間に、東京医科大学病院を HIV 感染症患者として初診受診した患者から、無症候で自発検査を受けて感染が判明した例などを除いた78例の患者の受診時合併症または検査受検のきっかけについて、臨床検査医学科の受診者記録を基に調査した。

(倫理面の配慮) この内容は対象患者の病態を明らかにすることを目的に進められたものであり、世界医師会によるヘルシンキ宣言に示された倫理規範を遵守し実施した。

### C. 結果

#### I. HIV 感染初診患者数の推移

東京医科大学病院の臨床検査医学科を新患として受診した HIV 感染者数は1997年以降増加傾向を続け、2006年までの10年間で約6倍となった。図1に示すように、その後、2008年に一旦減少したが再

び増加傾向を続けて2010年は過去最高の137人となった。

#### II. HIV 感染初診患者の受診経路

東京医科大学病院臨床検査医学科に、2009年と2010年に HIV 感染症で初診となった患者の受診経路を比較すると、2009年は自発検査・保健所からの紹介などが35件と最も多く、続いて、院内診断による患者発生であったが、2010年は順位が逆転しており、院内診断による患者発生が33件と最多で、自発検査・保健所からの紹介などが23件となった。

#### III. 院内診断による HIV 感染患者数の推移

何らかの診療のために東京医科大学病院を受診し、HIV 感染症の診断に至った患者(院内診断による患者)数の推移は1997年以降増加のトレンドを示してきたが、2010年には31例と過去最高を示した。

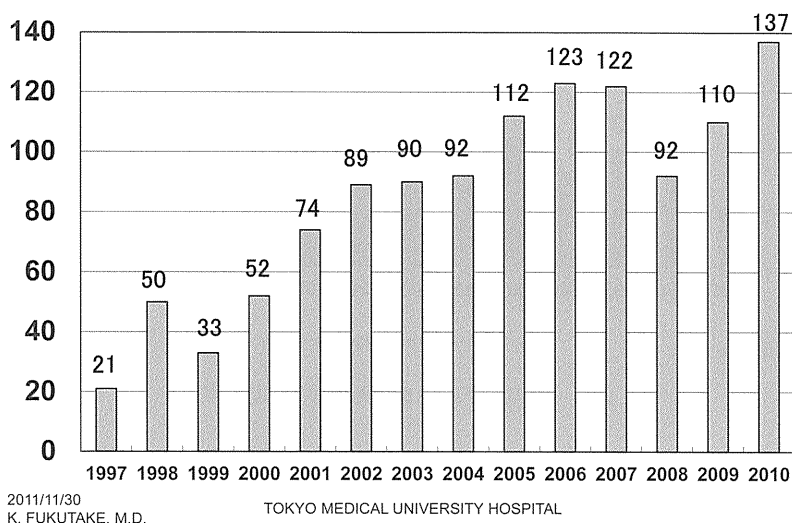


図1 初診 HIV 感染患者数 年次推移

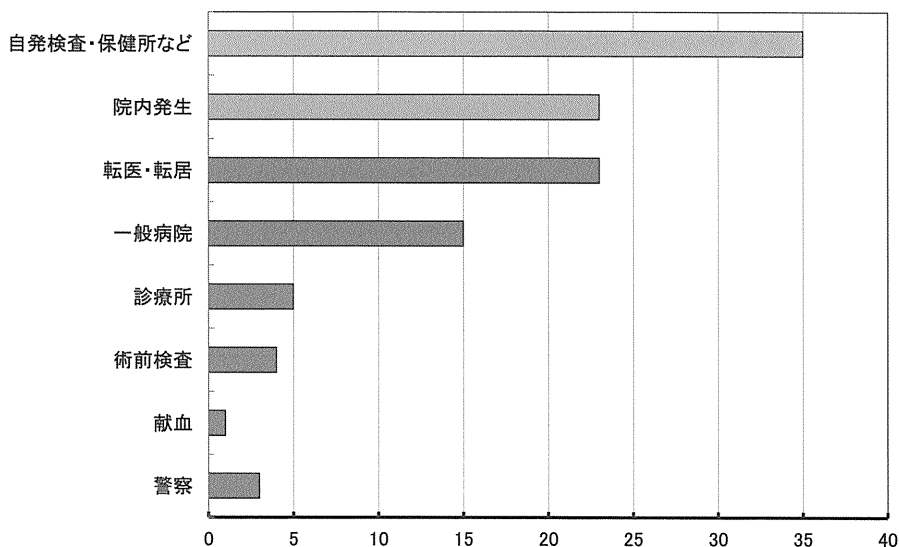


図2 受診経路 2009年1月~2009年12月初診の108名

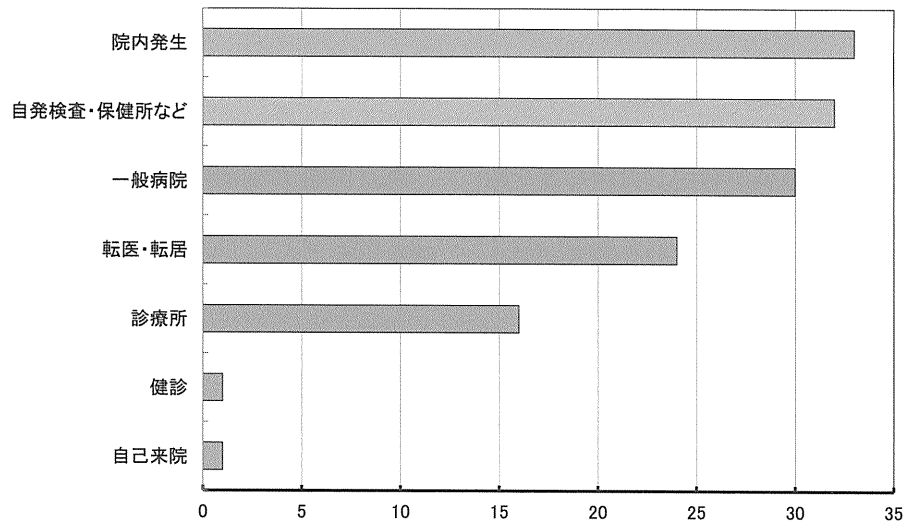
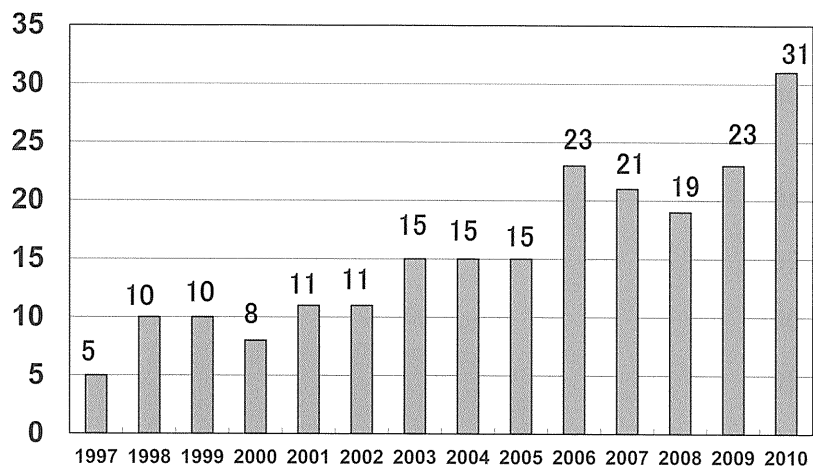


図 3 受診経路 2010年1月～2010年12月初診の137名

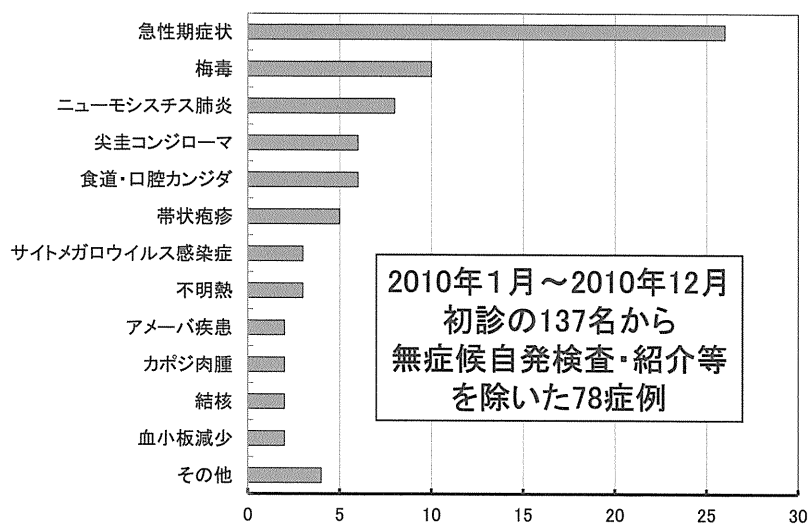


2011/11/30  
K. FUKUTAKE, M.D.

TOKYO MEDICAL UNIVERSITY HOSPITAL

4

図 4 院内診断 HIV 感染患者数 年次推移



2010年1月～2010年12月  
初診の137名から  
無症候自発検査・紹介等  
を除いた78症例

図 5 受診時にみられた合併疾患 (検査のきっかけ)

#### IV. 初診 HIV 感染患者の受診時合併症または検査受検のきっかけ

2010年1月から12月の間に、東京医科大学病院を HIV 感染症患者として初診受診した患者から、無症候で自発検査を受けて感染が判明した例を除いた患者 78 例の受診時合併症または検査受検のきっかけは、HIV 感染症の急性期症状を疑った例（実際には急性期ではなかった例も含む）が最も多く 26 例となった。次いで梅毒が 10 例であり、PCP で発症のいわゆる「いきなりエイズ」例は 8 例であった。

#### D. 考察

東京医科大学病院の臨床検査医学科を新患として受診した HIV 感染者数は 1997 年以降増加傾向を続け、2006 年までの 10 年間で約 6 倍となった。周辺の医療機関の受け入れ体制の強化の影響もあり 2008 年に一旦減少したが、その後は再び増加傾向を続けて 2010 年は過去最高の 137 人となった。長期の診療実績とアクセスのしやすさなどから、保健所や他の病院・診療所からの未発症患者の紹介が多い状況は続いている。しかし、多くの感染者が居住し活動する地域性を反映して、何らかの診療のために東京医科大学病院を受診し、HIV 感染症の診断に至った患者（院内診断による患者）数が 31 例と増加し、2010 年に保健所などからの紹介を上回った。当院の年間初診患者数が約 60,000 人であることから、初診患者の 2,000 人に 1 人が HIV 感染者であったという計算になった。また、診断時の症状や検査受検のきっかけとして、HIV 感染症の急性期症状を疑った例（実際には急性期ではなかった例も含む）が最も多く 26 例となった。この様な状況は当地域における HIV 感染症の伝搬が早いペースで進んでいる可能性を示唆している。

#### E. 結論

今回の調査では、院内の様々な診療科における日常診療のなかで診断された例の増加と急性症状を基にした診断の増加が特に目立つ結果となった。これは、国内での流行地域の状況を反映したものであると考えられるが、この様な状況は当地域における HIV 感染症の伝搬が早いペースで進んでいる可能性を示唆している。

これまでの診療体制は、エイズ関連疾患の発症者の治療とその後の抗 HIV 療法あるいは自発検査受検で判明した感染者の抗 HIV 療法を中心に専門診療科が当たる体制であったが、今後は全病院的に積極的に HIV 感染症に対応し、関連症状の早期発見による早期診断を進める必要がある。特に急性感染の症状

での診断を確実に行うよう、HIV 検査の実施への敷居を引き下げることが必要であり、検査体制においても抗体と抗原を同時に検出する第 4 世代のスクリーニング試薬を必ず導入することと HIV-1 RNA の測定も考慮すべきであると考ええる。

#### F. 健康危険情報

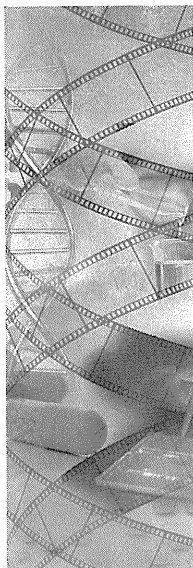
なし。

#### G. 研究発表

なし。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし。



## 研究要旨

# 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～

研究分担者 藤井 毅 東京大学医科学研究所先端医療センター 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

新規抗 HIV 薬 (ARV) の使用状況を把握することによって治療困難症例が直面する問題を明らかにすることを目的として、全国の HIV 診療機関 377 施設を対象に、新規 ARV (ダルナビル、ラルテグラビル、エトラビリン、マラビロク、T-20、Tipranavir) 使用状況について詳細なアンケート調査を行った。総服薬患者 6,296 例中、新規 ARV 服用症例は 280 例 (4.4%) であった。新規 ARV への主な変更理由はウイルス学的失敗 (MDR 群) 34.6% (97 名)、副作用など他の理由 (non-MDR 群) 64.2% (180 名) であった。導入前の CD4 陽性 T リンパ球数 (cells/ $\mu$ L) は、MDR 群 227、non-MDR 群 323 と、MDR 群の方が有意に低く、総治療期間 (年) は、MDR 群 10.8、non-MDR 群 4.3 と、MDR 群の方が有意に長く、使用経験のある既存 ARV 数 (剤) は、MDR 群 7、non-MDR 群 5 と、MDR 群の方が有意に多かった。MDR 群における抗ウイルス効果 ( $\log \Delta$  VL の中央値) について、新規 ARV 導入剤数に関しては 1 剤群 : 1.4、2 剤群 : 1.8、3 剤以上群 : 2.7 と導入剤数が多いほど下げ幅が大きく、1 剤群と 3 剤以上群で有意差が認められた。薬剤耐性検査実施の有無に関しては、検査実施群 : 1.8、非実施群 : 0.3 と、検査実施群の方が有意にウイルス量を減少させていた。

## A. 研究目的

近年、日本において承認された抗 HIV 薬は、サルベージとしての用途を目的に承認されているものの、副作用の軽減など他の理由にした薬剤変更も多数行われており、その使用実態はつかめていない。また、サルベージ症例は、各施設における症例数が非常に少ないため、直面した際の処方選択は難しい。今回、新規抗 HIV 薬の使用調査を行い、使用状況の把握と、治療困難症例が直面する問題を明らかにし、今後の治療選択に役立つものを目的として行った。前年度の等報告書では途中経過を報告したが、今回全てのデータ・解析結果が出揃ったため報告する。

## B. 研究方法

### 【研究デザイン】

各施設の既存資料 (診療録等) を活用した後ろ向きの観察的研究を行った。背景因子を使用した解析

も行うが、主たる目的は日本における新規抗 HIV 薬の使用状況と、その背景にある耐性実態を把握する記述的臨床疫学研究である。

### 【対象施設】

全国の HIV 診療拠点病院、及びクリニックの全 377 施設に対して実施した。

### 【調査対象症例】

現在、新規抗 HIV 薬である以下の薬を投与中の全ての患者。

ダルナビル (商品名プリジスタ)、ラルテグラビル (商品名アイセントレス)、

エトラビリン (商品名インテレンス)、マラビロク (商品名シーエルセントリ)、

T-20 (商品名 fuzeon)、Tipranavir (商品名 Aptivus)

### 【調査内容】

今回の調査では、新規抗 HIV 薬の選択に至る背景、及び予後を中心に以下の調査を行った。(※は選択形式)



- ① 現在のメニュー：現在の新規抗 HIV 薬メニュー、及びその開始年月
- ② 患者背景：生年月、性別（\*）、感染経路
- ③ 検査データ：現メニューに切替え直前における CD4 数（個/μL）、及び HIV-RNA 量（コピー/mL）、最も直近の CD4 数（個/μL）、及び HIV-RNA 量（コピー/mL）
- ④ 切り替える直前の抗 HIV 薬メニュー
- ⑤ 新規抗 HIV 薬処方理由（\*）
- ⑥ 新規抗 HIV 薬処方前の耐性検査実施の有無（\*）
- ⑦ 現在までの使用薬剤（\*）

#### 【データの匿名性】

本研究では、多剤耐性 HIV の背景因子との関連性より、患者背景として生年月、性別、感染経路の情報を収集するが、当研究班では各患者を特定する情報（イニシャル、名前、住所、診療録番号等）は有しておらず、非連結匿名化された情報として維持する。また、本研究実施にあたって、対象症例データは各施設において匿名コード化されるが、この際、イニシャル、診療録番号は用いないようにし、匿名を保つ。

#### （倫理的配慮）

本研究は、HIV 診療拠点病院、及びクリニックの既存資料（診療録）からの情報を受け、疫学研究に関わる倫理指針を遵守して行った。

- 1) 全ての情報は、既存情報であり、生体資料を用いない観察研究である
- 2) 主たる研究機関である国立感染症研究所倫理委員会の承認をうけて実施する
- 3) 当該研究の目的を含む研究の実施についての情報を研究班ホームページ上で同指針第 3-1(2) 細則に準じて公開する
- 4) 情報は匿名化されていると判断される
- 5) 公表する情報は集計であり個人を特定できない以上より、同指針第 3-1 細則①～⑤、同第 4-3-(2) を適用し、インフォームドコンセント行わず実施することに倫理的問題はないと判断した。

#### C. 研究結果

調査を依頼した 377 施設中、回答を得た 211 施設（56.0%）における通院症例数は 9040 名、総服薬症例数 6296 名（69.6%）、そのうち新規 ARV 使用症例数は 280 症例（4.4%）であり、さらにこの 280 症例のうち、ウイルス学的失敗による変更（MDR 群）は 97 症例（34.6%）、副作用などの他の理由での変更・導入（non-MDR 群）は 180 症例（64.2%）であった。この 2 群間の背景を解析すると、導入前の CD4 陽性 T

リンパ球数（cells/μL）は、MDR 群 227、non-MDR 群 323 と、MDR 群の方が有意に低く（ $p=0.0304$ ）、総治療期間（年）は、MDR 群 10.8、non-MDR 群 4.3 と、MDR 群が有意に長く（ $p<0.0001$ ）、使用経験のある既存 ARV 数（剤）は、MDR 群 7、non-MDR 群 5 と、MDR 群の方が有意に多かった（ $p<0.0001$ ）。

MDR 群 97 症例について、抗ウイルス効果を log $\Delta$ VL の中央値（log copies/mL）として解析したところ、新規 ARV 導入剤数においては、1 剤群（ $n=52$ ）1.4、2 剤群（ $n=33$ ）1.8、3 剤以上群（ $n=11$ ）2.7 と導入剤数が多いほど下げ幅が大きく、1 剤群と 3 剤以上群で有意差が認められた（ $p=0.0244$ ）。薬剤耐性検査実施の有無においては、検査実施群（ $n=81$ ）1.8、非実施群（ $n=15$ ）0.3 と、検査実施群の方が有意に VL を減少させていた（ $p=0.0223$ ）。

#### D. 考察

治療経験者における耐性症例では、長期治療・かつ多数の薬剤使用経験があったが、新規抗 HIV 薬への変更により治療が奏功していることが判明した。また、耐性症例の治療においては、耐性検査の実施による治療の方針決定が効果的であることが示された。

#### E. 結論

既治療 HIV/AIDS 患者における薬剤耐性治療の状況は、薬剤耐性症例自体が少ないこともあり全体像の把握が難しい。本調査は、治療未経験者を中心とした大量処方の開始直前に期間を絞ることで、多剤耐性の現状を把握することができた。このように短期間で新規薬剤が相次いで発売されることは大変珍しく、この機会を逃していたならば、新薬の効果により耐性がマスキングされ、調査は正確性を欠く大変難しいものになっていたに違いない。そういった意味において今回の調査は、日本の HIV 治療の歴史上、大変意義のあるものとなった。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 論文発表

- 1) Nakayama K, Nakamura H, Koga M, Koibuchi T, Fujii T, Miura T, Iwamoto A, Kawana-Tachikawa A. Imbalanced Production of Cytokines by T Cells Associates with the Activation/Exhaustion Status of Memory T Cells in Chronic HIV Type 1 Infection. AIDS Res Hum Retroviruses. 2011 in press
- 2) Nakamura H, Miyazaki N, Hosoya N, Koga M,

- Odawara T, Kikuchi T, Koibuchi T, Kawana-Tachikawa A, Fujii T, Miura T, Iwamoto A. Long-term successful control of super-multidrug-resistant human immunodeficiency virus type 1 infection by a novel combination therapy of raltegravir, etravirine, and boosted-darunavir. *J Infect Chemother.* 17: 105-10, 2011
- 3) Imai K, Koibuchi T, Kikuchi T, Koga M, Nakamura H, Miura T, Gono T, Yazawa K, Iwamoto A, and Fujii T. Pulmonary nocardiosis caused by *Nocardia exalbida* complicating *Pneumocystis pneumonia* in a HIV-infected patient. *J Infect Chemother.* 17: 547-51, 2011
  - 4) Koga M, Koibuchi T, Kikuchi T, Nakamura H, Miura T, Iwamoto A, Fujii T. Kinetics of serum  $\beta$ -D-glucan after *Pneumocystis pneumonia* treatment in patients with AIDS. *Intern Med.* 50: 1397-401, 2011
  - 5) Imai K, Koibuchi T, Kumagai T, Maeda T, Osada Y, Ohta N, Koga M, Nakamura H, Miura T, Iwamoto A, Fujii T. Cerebral schistosomiasis due to *Schistosoma haematobium* confirmed by PCR analysis of brain specimen. *J Clin Microbiol.* 49: 3703-6, 2011
  - 6) Adachi E, Koibuchi T, Okame M, Sato H, Imai K, Shimizu S, Tsurita G, Oyaizu N, Iwamoto A, Fujii T. Case of secondary syphilis presenting with unusual complications: syphilitic proctitis, gastritis, and hepatitis. *J Clin Microbiol.* 49: 4394-6, 2011
  - 7) Takuya Maeda, Akira Ito, Yasuhito Sako, Hiroshi Yamasaki, Naoki Oyaizu, Takashi Odawara, Aikichi Iwamoto, Takeshi Fujii. Neurocysticercosis case with tuberculoma-like epithelioid granuloma strongly suspected by serology and confirmed by mitochondrial DNA. *BMJ Case Reports* 2011; doi:10.1136/bcr.04.2011.4125
  - 8) Iwatsuki-Horimoto K, Horimoto T, Tamura D, Kiso M, Kawakami E, Hatakeyama S, Ebihara Y, Koibuchi T, Fujii T, Takahashi K, Shimojima M, Sakai-Tagawa Y, Ito M, Sakabe S, Iwasa A, Takahashi K, Ishii T, Gorai T, Tsuji K, Iwamoto A, Kawaoka Y. Seroprevalence of pandemic 2009 (H1N1) influenza A virus among schoolchildren and their parents in Tokyo, Japan. *Clin Vaccine Immunol.* 18: 860-6, 2011
  - 9) Fujisaki S, Yokomaku Y, Shiino T, Koibuchi T, Hattori J, Ibe S, Iwatani Y, Iwamoto A, Shirasaka T, Hamaguchi M, Sugiura W. Outbreak of infections by hepatitis B virus genotype A and transmission of genetic drug resistance in patients coinfecting with HIV-1 in Japan. *J Clin Microbiol.* 49:1017-24, 2011
- HIV-MDR Study Group. Potential of recent antiretroviral treatments in controlling treatment-naïve and drug-resistant HIV cases in Japan. 19<sup>th</sup> The International HIV & Hepatitis Virus Drug Resistance Workshop. June 7-11, 2011, Baja California Sur, Mexico.
- 2) S. Nomura, N. Hosoya, T. Kikuchi, M. Koga, H. Nakamura, T. Koibuchi, T. Fujii, A. Kawana-Tachikawa, A. Iwamoto, T. Miura. Replication capacities of chimeric NL4-3 encoding gag-protease from modern HIV-1 isolates are significantly reduced compared to those derived from isolates in the early days of epidemic in Japan. 6th International AIDS Society Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention. 17 July 2011, Roma, Italy
  - 3) T. Kikuchi, K. Iwatsuki-Horimoto, E. Adachi, K. Imai, S. Shimizu, N. Miyazaki, M. Koga, H. Nakamura, A. Kawana-Tachikawa, T. Koibuchi, T. Miura, T. Fujii, Y. Kawaoka, A. Iwamoto. Induction and maintenance of neutralizing antibodies after single dose of non-adjuvanted split 2009 pandemic H1N1 influenza A vaccine in HIV-1 positive population. 6th International AIDS Society Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention. 17 July 2011, Roma, Italy

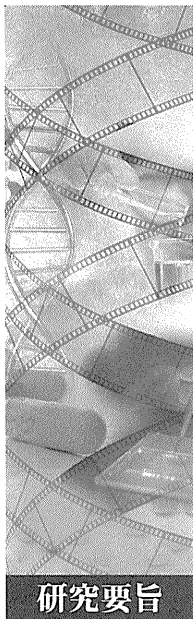
#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

#### 学会発表

- 1) Naoko Miyazaki, Takeshi Fujii, Aikichi Iwamoto, Shuzo Matsushita, Wataru Sugiura, and Japanese





## 既治療患者における 薬剤耐性 HIV 調査・サブタイプの調査

研究分担者 松下 修三 熊本大学エイズ学研究センター 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

### 研究要旨

HIV-1 は感染を拡大させながら、進化し続けていることが大きな特徴である。本研究の目的は、このような HIV-1 の進化に関わる分子マーカーが、新たな疫学的指標として提唱可能かどうか調べるところにある。熊本大学を受診した HIV-1 感染の新規診断症例の env 領域の シークエンスによる subtype 分類の結果、subtype B と non-B のキメラのシークエンスを持つ症例の増加が認められた。これらの V3 tip の GPGR の 4 番目の R のコドンは CAG もしくは CGG であり、従来の subtype B で見られる AGA とは異なっていた。これらは、非 subtype B の V3 tip に見られる 315Q (CAA or CAG) から 315R (CGA or CGG) と変異したものと考えられた。一方、GPGK の 4 番目の K のコドンは AAA であり、こちらは従来の R (AGA) から進化したものと推測された。本年度も観察を続け、サンプルサイズを増やしている状況であるが、7 例の分離株の解析の結果、従来型の感染は 3 例のみで残りは、その進化型か組換え型のウイルスであった。HIV-1 の進化を知る上で、また日本や中国を含む東アジアでの分子疫学的解析に重要な知見であると考えられる。

### A. 研究目的

我々は、新規診断症例に関して、ウイルス分離を行い、治療用に開発中の抗 V3 抗体を用いて中和抗体への感受性の検討を行ってきたが、その過程で興味深い観察をした。すなわち、subtype B に分類されるウイルスのなかで、V3 抗体に中和抵抗性のウイルスの V3-tip のアミノ酸配列が GPGR と GPGQ が混在する症例と GPGK のみまたは GPGR と GPGK が混在する症例があることを観察した。特に、後者は、最近の数年間に急激に増加しているという印象を受けており、これらの解析は中和抗体が関わるワクチン開発に示唆を与えるだけでなく、感染拡大を調査する疫学的解析にも貢献するものと考えられる。HIV-1 は感染を拡大させながら、進化し続けていることが大きな特徴である。本研究の目的は、このような進化に関わる分子マーカーが、新たな疫学的指標として提唱可能かどうか調べるところにある。

### (倫理面への配慮)

HIV 感染症例由来の血液検体を用いたウイルス分離及び塩基配列同定、中和抗体感受性試験などに関しては、臨床研究に関する倫理指針に従い、学内倫理委員会の承認を得た説明と同意書を用いて同意を得たのちに採血した(臨床研究登録 UMIN000004720)。

### B. 研究方法

HIV-1 感染症例末梢血単核球 (PBMC) より、CD8-immunobeads を用いて CD8+ 細胞を除去し、抗 CD3 抗体 及び IL2 を用いて CD4+ 細胞を増殖させ、その培養上清中のウイルスを env primer を用いて RT-PCR で増幅し、env 全長をシークエンスした。また、EDTA 加血漿に対して直接 RT-PCR、PBMC を用いた場合 proviral DNA を用いた PCR にて C2-V3 の塩基配列を同定し、HIV の集団内での進化を考察し、これによる分類を試みた。env シークエンスによる subtype 分類は NCBI のホームページの viral genotyping tool の subtype 分類機能を用いて同定

した。

### C. 研究結果

我々は、昨年より新規診断症例に関して、ウイルス分離を行い、治療用に開発中の抗 V3 抗体を用いて中和抗体への感受性の検討を行ってきた。その過程で subtype B に分類されるウイルスのなかで、V3 抗体に中和抵抗性を示すウイルスの V3-tip のアミノ酸配列が GPGR と GPGQ が混在する症例と GPGK のみまたは GPGR と GPGK が混在する症例があることを観察した。一方、2006 年以降新規患者として熊本大学を受診した HIV-1 感染者由来の HIV-1 分離株の env 全長の塩基配列を決定し subtype 分類を行った結果、subtype B と non-B のキメラのシーケンスを持つ症例の増加が認められた。NCBI のホームページの viral genotyping tool の subtype 分類機能を用いて解析すると、subtype B の配列を基本にしながら、CRF03\_AB (green) や CRF14\_BG や CRF15\_01B などを含むキメラ化されたエンベロップ配列であることが分かった。これらの組み換え型エンベロップを持つウイルスを“組み換え型 B”として区別する。これらの多くは V3 tip のシーケンスが GPGR もしくは GPGQ であり、その GPGR の 4 番目の R のコドンは CGA もしくは CGG であった。

一方、過去に熊本大学でシーケンスを行った患者サンプルの V3 tip シーケンスをあらためて調べ直した結果、1996 年以前のサンプルにおける V3 tip のシーケンスの GPGR の 4 番目の R のコドンは 2 例を除き、全て北米タイプの 315R (AGA) もしくはこれから派生したと考えられる K (AAA)、S (AGT) または G (GGA) であった (30/32)。例外の 2 例は、Q (CAA) → R (CGA) であった。subtype B の HIV-1 株として、実験室で用いられている IIIB、JRFL、89.6、BaL、YU2、SF162 は全て従来タイプの B 株 (AGA) で、V3 tip の GPGR の全てが同一のコド

ンであった。

1997 年以降 Non-B 株で 315R と Q の混在が確認され (CRF01\_AE2 例)、その R のコドンは CAA → CGA のパターンであった。また、組換え型の B 株と考えられる中で CAA → CGA パターンの R コドンを持つものが 6 例認められた。一方、Q (CAG) から変異したと思われる R (CGG) を持つものが 7 症例確認された。7 例中 5 例は 2006 年以降に外来を受診した症例であった。新規診断症例に見られる組み換え型 B ウイルスの V3 tip のコドンは、従来の subtype B で見られる AGA とは異なっていた。このことは、同じ V3 tip の GPGR シーケンスでも組み換え型 B の 315R は 315Q (CAA or CAG) から 315R (CGA or CGG) に変わってできたものであり、従来の subtype B 由来ではないことを示唆する。

もう一つの傾向として、最近数年以内に受診された症例の中に GPGK のみをもつ症例が見られるようになったことが上げられる。315K のみのものが 4 例、R と K の混合が 1 例確認されている。315K のコドンは AGA から変わった AAA であり、従来型の B 株がそのまま進化したものと考えられた。本年度、ウイルスを分離し、シーケンスを同定した 7 例の V3 tip GPGR の R のコドンは、従来型の B 株である AGA が 3 例、従来型からの進化型の B 株である AAA、AGT が各 1 例、この両者を持つものが 1 例、一方、組換え型の B 株である CGG が 1 例であった (表 1)。これらの結果は、新規診断症例では、従来型からの進化型と組み換え型の増加が観察される。他施設のデータを集積中である。

### D. 考察

近年 HIV-1 感染者の env シーケンスによる subtype 分類の結果、B と non-B のキメラのシーケンスを持つ症例の増加を疑わせるデータが蓄積してきた。これらの多くは V3 tip のシーケンスが

表 1 本年度、ウイルスを分離し、シーケンスを同定した 7 例の V3 tip の解析

H23年に新患で熊大を受診された症例の分離ウイルス				
Pt's ID	Subtype	V3 tip AA	Codon of 4th AA	Our classification
TOSI	B	GPGR	AGA	Old B
TANA	B	GPGR	AGA	Old B
KKIY	B	GPGR	CGG	Recombinant B
TTO	B	GQGK	AAA	Evolutional B
JNA	B	GQGR	AGA	Old B
		GQGK	AAA	Evolutional B
長期経過観察中にV3に変異が認められた症例の分離ウイルス(元はOld B)				
Pt's ID	Subtype	V3 tip AA	Codon of 4th AA	Our classification
TSU	B	GPSG	AGT	Evolutional B

GPGR もしくは GPGK であり、GPGR の場合、4 番目の R のコドンは CAG もしくは CGG であった。つまり、従来の subtype B で見られる AGA とは全く異なっていた。このことは、同じ V3 tip の GPGR シークエンスでも、non-B subtype で見られる 315Q (CAA or CAG) → 315R (CGA or CGG) によるものと考えられ、従来の subtype B 由来ではないことを示している。一方、GPGK の 4 番目の K のコドンは AAA であり、こちらは従来の R (AGA → AAA) から進化したものと推測される。これまで、同一患者の V3 tip のシークエンスで GPGR と GPGK、あるいは GPGR と GPGQ は混在していたが、GPGQ と GPGK の混在は確認されていない。これは、Q → R の変異と R → K の変異は全く異なるルートの進化であるためだということが、今回の観察からわかった。従来の subtype B からの進化と、新たな組み合わせによる進化の 2 つの進化のルートの存在が V3 tip の 4 つ目のアミノ酸のコドンを調べることで判断できると考えられた。本年の分離ウイルスに関して、当てはめてみたのが図 1 である。このように、組み合わせ型の subtype B と従来型から進化した B の増加が観察される。これらの解析は、HIV-1 の進化の方向性を知る上で、また日本や中国を含む東アジアの今後のウイルスのトレンドを疫学的に推測する上で

重要な知見であると考えられる。今後全国規模での詳細な検討を行う必要がある。

**E. 結論**

今回我々は、V3 tip の 315R のコドンを調べることで、B 株に分類されていたものの中に明らかに 2 つの全く異なった由来のウイルスが存在することを証明した。Non B タイプの V3 tip (GPGQ) であったものが、リコンビネーションの結果 GPGR という、いわゆる B 株の V3tip へと進化した可能性がある。このことは、より多くのサンプルを長期にわたり解析する必要があると考えられる。

**F. 健康危険情報**

特になし

**G. 研究発表**

**1. 論文発表**

- 1) Narumi T, Arai H, Yoshimura K, Harada S, Nomura W, Matsushita S, Tamamura H. Small molecular CD4 mimics as HIV entry inhibitors. *Bioorg Med Chem*, 19: 6735-6742 (2011).
- 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

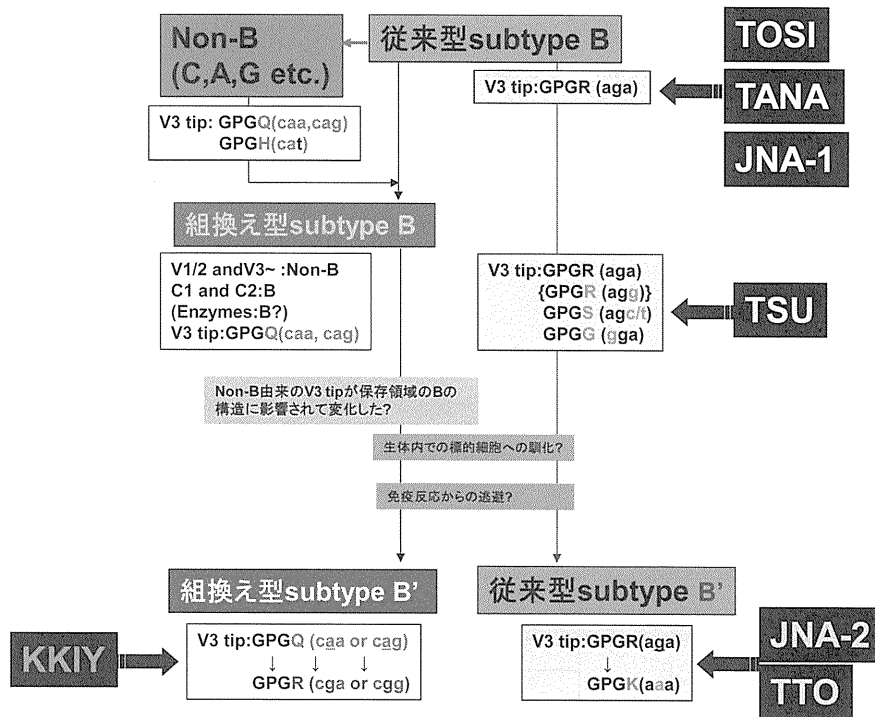


図 1 Gp120 V3 tip のシークエンスのコドン使用とウイルスの進化モデル  
従来の subtype B からの進化と、新たな組み合わせによる進化の 2 つの進化のルートの存在が V3 tip の 4 つ目のアミノ酸のコドンを調べることで判断できる。本年の分離ウイルスに関して当てはめてみると、組み合わせ型の subtype B と従来型から進化した B の増加が観察された。

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. 学会発表

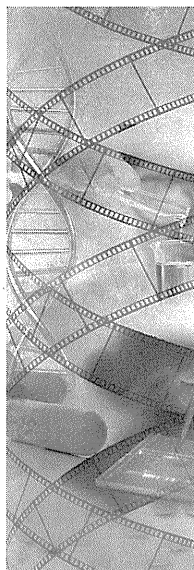
- 1) Kuwata T, Igarashi T, Matsushita S. Isolation of potent neutralizing monoclonal antibodies against V3 loop from SIV-infected macaques. AIDS Vaccine 2011, 9.12-9.15. Bangkok, Thailand, USA.
- 2) Yoshimura K, Harada S, Hamji A, Matsushita S. Maraviroc-resistant subtype B primary HIV-1 induced in vitro selection became highly sensitive to anti-gp120 neutralizing antibodies and autologous plasma IgG under high concentrations of the CCR5 inhibitor. 6th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention. 2011.7.17-20, Roma, Italy.
- 3) Harada S., Ishikawa T., Hamaji A., Matsushita S., Yoshimura K. Impact of raltegravir pressure on the selection of HIV-1 envelope sequences in vitro. 6th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention. 2011.7.17-20, Roma, Italy.
- 4) Yoshimura K., Harada S., Hamji A., Matsushita S. Two-step escape pathway of the HIV-1 primary isolates induced by the in vitro selection of maraviroc. 12th Kumamoto AIDS Seminar GCOE Joint International Symposium, 2011.10.19-21, Aso, Kumamoto, Japan.
- 5) Harada S., Ishikawa T., Hamji A., Matsushita S., Yoshimura K. Impact of raltegravir pressure on the selection of HIV-1 envelope sequences in vitro. 12th Kumamoto AIDS Seminar GCOE Joint International Symposium, 2011.10.19-21, Aso, Kumamoto, Japan.
- 6) Maruta, S, Ramirez, K, Kuwata, T., Matsushita, S. : Construction of neutralizing antibody fragments for efficient access to V3 epitope. 12th Kumamoto AIDS Seminar GCOE Joint International Symposium, 2011.10.19-21, Aso, Kumamoto, Japan.
- 7) Ramirez, K, Maruta, Y., Kuwata, T., Yoshimura, K, Tamamura, H., Matsushita, S : Novel CD4-induced monoclonal antibodies (MAbs) with cross-neutralizing activity against primary isolates of HIV-1 B and C subtypes. 12th Kumamoto AIDS Seminar GCOE Joint International Symposium, 2011.10.19-21, Aso, Kumamoto, Japan.
- 8) Kuwata, T, Takaki, K., Matsushita, S: Biased induction of neutralizing antibodies with particular specificity and gene usage in SIVsmH635FC-infected macaques. 12th Kumamoto AIDS Seminar GCOE Joint International Symposium, 2011.10.19-21, Aso, Kumamoto, Japan.
- 9) 桑田岳夫：SIVsmH635FC 感染サルにおける特定のエピトープと遺伝子に偏った中和抗体の誘導．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会

2011.11.30-12.2. 東京

- 10) Ramirez, K, Maruta, Y., Kuwata, T., Yoshimura, K, Tamamura, H., Matsushita, S : Cross-reactivity and cross-neutralizing activity of monoclonal antibody(MAbs) to CD4-induced epitope of gp120 against HIV-1B, C, CRF\_01 subtype viruses. 第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会 2011.11.30-12.2. 東京
- 11) 丸田泰広、桑田岳夫、クリステル・パオラ・ラミレス・バルデス、松下修三：HIV-1 の V3 領域に結合する中和抗体の遺伝子組換えによる小型化の試み．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会 2011.11.30-12.2. 東京

## H. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

なし



## 研究要旨

# 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～

研究分担者 **南 留美** 国立病院機構九州医療センター免疫感染症科 医師  
**山本 政弘** 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

近年、多剤耐性ウイルスにも奏効する抗 HIV 薬が開発されているが、さらに新しい耐性獲得など治療に難渋する患者も存在する。近年、未治療の新規感染者のなかにも耐性ウイルスを持つ症例が認められ、薬剤耐性は HIV 感染症の診療を続けていく上で大きな課題となっている。当院では 2003 年以降、九州地区の新規感染患者における薬剤耐性変異の頻度を評価するため新規感染患者の薬剤耐性変異の解析（RT 領域、PR 領域、インテグラーゼ領域）およびサブタイプの解析を行っている。さらに今年度は HIV 指向性検査（genotype）も行った。今年度の登録症例は 43 例（うち 42 例で解析）、サブタイプは全例 B であった。耐性変位に関しては RT 領域、特に NNRTI に関連する耐性変異（V179D, K103N など）が例年より多く認められ 19% に認められた。指向性検査は登録症例中 37 例で解析し、33 名（89.2%）が CCR5 指向性であった。急性感染者の割合は 2006 年以降 20-30% で推移しており、今年度は 25.6% であった。

## A. 研究目的

九州地区における急性 HIV-1 感染者および未治療慢性 HIV-1 感染者における薬剤耐性変異の頻度を調査し、薬剤耐性 HIV-1 伝播の疫学的動向を明らかにする。同時にウイルスサブタイプの解析を行い九州におけるサブタイプの頻度について考察する。

## B. 研究方法（倫理面への配慮）

2011 年に HIV 感染が判明し当院免疫感染症科、もしくは九州ブロック内の他施設を受診した未治療慢性 HIV-1 感染患者および急性 HIV-1 感染患者を対象に、informed consent のもとに採血を行い、血清中 HIV-1 のプロテアーゼ（PR）領域、逆転写（RT）領域、インテグラーゼ領域の薬剤耐性遺伝子解析を行う。薬剤耐性変異の評価は IAS-USA（Dec:2010）および Shafer's criteria を参考にした。同時に EnvC2V3 領域、Gag p17 領域、Pol（protease, RT）領域の遺伝子解析を行い、サブタイプングも施行した。BED assay に関しては Calypte® HIV-1 BED Incidence EIA（IgG-Capture HIV-EIA）を用いた。さらに今年度は EnvC2V3 領域が解析可能であった症

例に対し細胞指向性を予測するジェノタイプテスト（Geno2Pheno）も行った。解析結果は、九州医療センターにて連結可能匿名化したデータとして、そのデータを研究代表施設（名古屋医療センター）に集約し、解析を行うので、個人の人権を侵害することは無く、個人の人権は確実に守られる。

## C. 研究結果

2011 年において検討した新規未治療患者数は 43 名（1 名は、ウイルス量が少ないため解析不可能）であった。この数は同時期の九州ブロック内（沖縄は除く）での新規感染者数（エイズ発生動向委員会報告による）の約 35% に相当し、例年とほぼ同程度の割合であった。解析症例数は 2003 年以降年々増加してきたが、今年度は昨年に比べ減少している。（2003 年：10 人、2004 年：12 人、2005 年：25 人、2006 年：26 人、2007 年 29 人、2008 年 33 人、2009 年 38 人、2010 年 48 例）。2006 年以降、急性感染者の割合が増加しており、今年度は 43 名中 11 名（22.9%）が急性感染、BED assay にて recent と診断された症例は 13 例（20.2%）であった。



## 耐性変異の頻度

RT 領域では K101E 1 名、K103N 2 名 (うち 1 名は、EFV 5 日間内服の既往あり)、V108I 1 名、V106I 1 名、V179D 3 名、計 8 名 (19%) に変異を認めた。NNRTI 領域の変異は 2010 年 5 例、2008 年 3 例であり、増加傾向にある。PR 領域では 42 名中全例に何らかの変異を認めたが、D30N を 1 例認めた以外は polymorphism がほとんどであった。インテグラーゼ領域に関しては major mutation として E138K1 例、minor mutation として G163R を 2 例に認めた。サブタイプに関しては、全例 B であった。

## BED assay について

BED assay による感染時期の推定では、13 名が recent infection であった。WB による結果から判定した場合、急性感染は 11 名であった。当院で施行した BED assay の感度は 70%、特異度は 81.3% となった。

## CCR5 指向性検査

EnvC2V3 領域の解析が可能であった症例 37 例において指向性検査を施行した。33 例が CCR5 指向性、4 例が CXCR4 指向性であった。2009 年 -2011 年計 116 例の解析では CCR 指向性 94 例、CXCR4 指向性 22 例であった。CCR5 指向性の割合は 2009 年 78%、2010 年 76%、2011 年 83% と今年度は CCR5 指向性ウイルスが占める比率が高かった。初診時の HIV-RNA 量は CCR5 指向性  $1.6 \times 10^5$  コピー /mL、CXCR4 指向性  $5.1 \times 10^4$  コピー /mL、CD4 陽性細胞数は CCR5 指向性 233/ $\mu$ L、CXCR4 指向性 218/ $\mu$ L (いずれも有意差なし) であった。AIDS 発症の割合は、CCR5 指向性 26.6%、CXCR4 指向性 22.7%、急性感染の割合は CCR5 指向性 20.2%、CXCR4 指向性 4.5% (1 例のみ) であった。急性感染で CXCR4 指向性であった症例は、3 カ月後、6 カ月後の再検では CCR5 指向性を示した。また、多施設で治療中の症例 (HOV-RNA 感度以下) 10 例の指向性検査を proviral DNA を用いて検討した。4 例が CCR5 指向性、6 例が CXCR4 指向性であった。

## D. 考察

### 耐性変異について

2008 年までは NRTI/NNRTI 領域の耐性変異は数% で経過していたが、2009 年以降増加している。特に K103 や V179 といった NNRTI 領域の変異の割合が高い。変異の比率が高くなっている原因については不明であるが、全国的にも K103N は増加傾向であり、その影響を受けていると考えられる。PR 領域に関しては、一例で D30N を認めたが、特定のパートナーからの急性感染例である。そのほかは、

polymorphism と考えられるものが主体であった。M46 の変異が全国的に増加しているようだが、九州では 2009 年に一例認めたのみである。インテグラーゼ領域にも、Q148 変異を伴わない単独の E138K を一例認めたが感染源は不明である。2009 年にも一例認めており今後、増えていく可能性もある。

## BED assay について

当院での BED assay の感度は 70%、特異度は 81% であった。avidity assay との併用にて感度、特異度ともに改善すると報告されており、今後、検討していく必要がある。

## CCR5 指向性検査について

今年度は 42 例中 37 例にて解析可能であった。2009-2011 年 116 例の解析の結果、CCR5 指向性ウイルス感染例にて CXCR4 指向性ウイルス感染例よりウイルス量が多く CD4 陽性細胞数が多いのは、CCR5 指向性ウイルス感染例に急性感染例が多いためと考えられる。また初診時 CXCR4 指向性ウイルスであった急性感染例において経時的に解析を行ったところ、3 カ月後、6 カ月後には CCR5 指向性を示した。初診時にはパートナーと同一の塩基配列であったが、3、6 カ月後には 1 塩基が置換されており、パートナーとは異なるものになっている。今回の proviral DNA による解析症例はすべて多施設からの依頼であり、詳細な臨床データがないため、CXCR4 指向性ウイルスが占める割合が高かった原因は不明である。ほとんどが ART 施行中であったことが関与している可能性もある。

なお、当院では FPR の cut off 値を 10% にしている (効果が無い症例に MVC を投与する機会を少なくするため)。しかし cut off 値に関しては正確な規定がないため、施設間で相違が出てくる可能性もある。

## E. 結論

NNRTI 領域の変異が増加傾向にある。

BED assay の是非は再検討する必要がある。

CCR5 指向性検査に関しては、今後も症例を増やして検討していく予定である。FPR の cut off 値を設定する必要がある。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 論文発表

- 1) 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. Cellular HIV-1 DNA levels in patients receiving antiretroviral therapy strongly correlate with therapy initiation timing but not with therapy duration. *BMC Infect Dis.* 24;11:146, 2011.
- 2) 南 留美、HIV 感染者における生活習慣病への対処 化学療法の領域 27(3): 62-69 2011
- 3) 南 留美、HIV 感染症 /AIDS と脂質異常症 HIV 感染症と AIDS の治療 2(1): 41-48 2011

### 学会、講演会

- 1) The effect of antiretroviral drugs on adiponectin R1/R2 receptor in hepatocytes with and without HCV infection ICAAP 2011.8.27
- 2) 「HIV 感染症について」 HIV/AIDS 出前研修会 社会保険小倉記念病院 2011.9.7
- 3) 「HIV 感染症に合併する代謝異常とそのメカニズム」 HIV Specialist Forum 2011.10.22
- 4) 「日頃の疑問に専門医が答えます」 第 3 回九州抗 HIV 薬勉強会 2011.10.28
- 5) 抗 HIV 療法による血清中 AGE (advanced glycation endproducts) および酸化ストレスマーカーの変化：南 留美、高濱宗一郎、喜安純一、山本政弘、日本エイズ学会 2011.11.30
- 6) 宿主因子としての脂質代謝 日本エイズ学会共催シンポジウム「宿主因子」基礎研究の臨床的意義 2011.12.1
- 7) HIV 感染症と血清尿酸値の関連性：高濱宗一郎、喜安純一、南 留美、山本政弘 日本エイズ学会 2011.11.30
- 8) 新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性 HIV の動向：服部純子、椎野禎一郎、渦永博之、林田庸総、吉田 繁、千葉仁志、小池隆夫、佐々木悟、伊藤俊広、内田和江、原 孝、佐藤武幸、上田敦久、石ヶ坪良明、近藤真規子、今井光信、長島真美、貞升健志、古賀一郎、太田康男、山元泰之、福武勝幸、加藤真吾、藤井 毅、岩本愛吉、西澤雅子、仲宗根正、岡 慎一、伊部史朗、横幕能行、上田幹夫、大家正義、田邊嘉也、渡辺香奈子、渡邊 大、白阪琢磨、小島洋子、森治代、中桐逸博、高田 昇、木村昭郎、南 留美、山本政弘、松下修三、藤田次郎、健山正男、杉浦 互 日本エイズ学会 2011.11.30
- 9) 国内感染者集団の大規模塩基配列解析 2: SubtypeB の動向と微小系統群の同定：椎野禎一郎、服部純子、渦永博之、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 日本エイズ学会 2011.11.30
- 10) HCV/HIV 重複感染症例において IFN の治療効

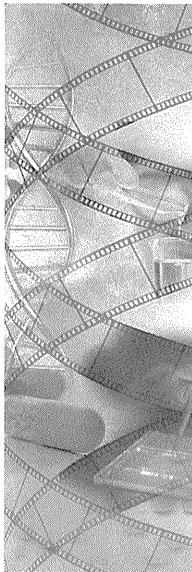
果に影響を及ぼす因子の解析：大石裕樹、石川奈緒子、南 留美、高濱宗一郎、喜安純一、石橋誠、山本政弘 日本エイズ学会 2011.11.30

- 11) 多施設共同疫学調査における HAART の有効率 2010：菊池 嘉、遠藤知之、宮城島拓人、伊藤俊広、中村仁美、田邊嘉也、上田幹夫、横幕能行、渡邊 大、藤井輝久、南 留美、健山正男 日本エイズ学会 2011.12.2
- 12) HIV 感染症に合併した劇症型サイトメガロウイルス感染症の一救命例：喜安純一、高濱宗一郎、南 留美、山本政弘 日本エイズ学会 2011.11.30
- 13) 急性 HIV 感染症におけるほかのウイルス感染症との関連性の検討：渡邊 大、上平朝子、白阪琢磨、味澤 篤、今村顕史、菅沼明彦、濱口元洋、横幕能行、南 留美、高濱宗一郎、白野倫徳、後藤哲志 日本エイズ学会 2011.12.1

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし





## 研究要旨

# 大阪市及び近郊における薬剤耐性 HIV の動向調査研究

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

2011 年に HIV-1 感染が判明し医療機関を受診した新規診断症例 17 例、および当所における HIV 検査で陽性が確認された 99 例中 92 例について、薬剤耐性遺伝子検査を実施した結果、医療機関受診症例 2 例および確認検査の陽性検体 9 例において major な薬剤耐性変異が検出された。医療機関受診症例は 2 例ともにプロテアーゼ領域に M46L が、また確認検査陽性検体では 3 例のプロテアーゼ領域に M46L/I、6 例の逆転写酵素領域に V108I および T215D/L/S が認められた。pol および env 領域の遺伝子解析によりサブタイプ型別を行ったところ、確認検査陽性検体のうち 2 例が CRF\_01\_AE、1 例がサブタイプ B と C の重複感染疑い、1 例がサブタイプ B と CRF\_01\_AE のリコンビナント疑いで、残りはすべてサブタイプ B による感染であった。

## A. 研究目的

国内で流行する HIV 遺伝子型および新規診断症例における薬剤耐性 HIV の出現頻度の動向について全国規模での疫学調査を実施するにあたり、近畿ブロックとして調査に参加し、大阪府およびその近郊における新規 HIV 診断症例についてウイルスの遺伝子解析を行ない、今後のエイズ対策に有用な情報を集積することを目的とする。

## B. 研究方法

2011 年に HIV-1 感染が判明し医療機関を受診した新規診断症例 17 例、および当所における HIV 確認検査の陽性検体 99 例について、血漿あるいは血清より HIV RNA を抽出し、それを鋳型にして治療薬が標的とするプロテアーゼ (PR) 領域 (297bp)、逆転写酵素 (RT) 領域 (720bp) およびインテグラーゼ (IN) 領域 (864bp) を RT-PCR により増幅した。PCR 増幅産物について、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した後、IAS-USA パネル 2010 年版に基づいて薬剤耐性アミノ酸変異の有無を判定した。また、env-C2V3 領域 (351-357bp) についてもシーケンスを行ない、得られた塩基配列をもと

に系統樹を作成しウイルスのサブタイプを決定した。一部の検体については、Geno2pheno coreceptor サイト (<http://coreceptor.bioinf.mpi-inf.mpg.de/>) を利用して、env-V3 領域の配列よりウイルスのコレセプター指向性を推測した。

さらに、感染時期 (感染後 155 日以内 recent/155 日以上 not recent) を推定する目的で、Calypte HIV-1 BED Incidence EIA アッセイ (CALYPTE BIOMEDICAL Co., OR USA) を添付のマニュアルに従って実施した。

### (倫理面への配慮)

医療機関において主治医より研究内容について説明し、本人の同意を得た上で採血を行っている。また、確認検査検体については連結不可能な匿名検査であり、HIV 陽性検体を研究に用いることを当所ホームページ上で広報している。本研究は、大阪府立公衆衛生研究所の倫理審査委員会の承認を受けている。

## C. 研究結果

医療機関受診症例 17 例はすべて日本人男性で、