

神奈川県における薬剤耐性 HIV の動向調査研究

～神奈川県における薬剤耐性 HIV-1 発生動向把握調査研究 (2010 年-2012 年)～

研究分担者 近藤真規子 神奈川県衛生研究所 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

研究要旨

2010 年から 2012 年の 3 年間に主として神奈川県内の医療機関に来院した新規 HIV 感染者 252 名について薬剤耐性変異を解析した結果、薬剤耐性関連変異を有する症例が 18 例検出され、耐性変異の出現率は 7.1%であった。18 例は全て日本男性、サブタイプ B で、感染経路は同性間性行為 9 例、不明が 9 例で、2007 年から 2009 年の 3 年間の調査とほぼ同様の傾向にあった。

18 例中 15 例は核酸系逆転写酵素阻害剤 (NRTI) に対する耐性関連変異で、このうち 8 例は AZT 耐性変異 T215Y/F のリバータント T215D/E/C/S であったが、このうち 1 例は M41L、L210W の変異も同時に検出され、AZT に高度耐性と判定された。この他 3TC に対する高度耐性変異 M184V、NFV に対する高度耐性変異 K103N が 1 例ずつ検出された。3 例からはプロテアーゼ阻害剤 (PRI) に対する耐性変異 M46/M/I が検出され、インテグラーゼ阻害剤に対する耐性変異は検出されなかった。これら 18 例は全て日本男性、サブタイプ B で、感染経路は同性間性行為 9 例、不明 9 例で、昨年までと同様の傾向にあった。2010 年から 2012 年の 3 年間に解析した男性同性間感染、感染経路不明の日本男性 214 例から CRF01_AE が 19 例検出され、うち 5 例はサブタイプ B が同時に検出された。1990 年から 2009 年までの CRF01_AE 遺伝子検出率は 2.3% (9/391) に過ぎなかったが、2010 年から 2012 年では 8.9% (19/214) に増加した (P<0.01)。これら 19 例中 9 例 (47.4%) は中国の MSM 間で流行している CRF01_AE バリエントの一つである CN.MSM.01-1 タイプであった。

日本における流行株のほとんどはサブタイプ B であり CRF01_AE の占める割合は少ないが、今後、国内で中国由来 CRF01_AE の増加や AE/B 組換えウイルスの出現も予測される。国内の流行を把握するためには、中国や東南アジアで流行している CRF01_AE や AE/B 組換え体の動向にも注目し、流行を解析することが重要である。

A. 研究目的

HIV-1 感染者の治療は多剤併用療法 (HAART) の普及により飛躍的に進歩し、HIV-1 感染者の病態の進行をコントロールすることが可能となった。その一方で、薬剤の長期投与に伴い薬剤耐性 HIV-1 株を保有する感染者が増加し、新規感染者が薬剤耐性株に感染している症例も見つかってきている。欧米では薬剤耐性ウイルスによる感染が広がりつつあり、新規感染者の数%から十数%が何らかの抗 HIV 薬に対する耐性変異が認められると報告されている。日

本においては 2004 年から調査が開始され、当施設における 2004 年から 2005 年の調査では新規 HIV 感染者の薬剤耐性変異検出率は約 5%であったが、その後も漸増傾向にあることが明らかとなった。日本でのこの数字は欧米に比べまだ低いものの、薬剤耐性ウイルスの蔓延を制御するためにも継続した調査は重要である。

我々は、薬剤耐性 HIV の発生動向把握とその増加を抑制するため全国規模での調査に参加し、主として神奈川県および東京都内の医療機関を受診した

HIV 感染者についてサブタイプおよび薬剤耐性変異の解析を行うとともに流行株の特徴を解析した。

B. 研究方法

1) 調査対象

2010 年から 2012 年の 3 年間に主として神奈川県および東京都内の医療機関に来院した未治療の新規 HIV 感染者 252 名について、薬剤耐性変異検査およびサブタイプ解析を実施した。

2) HIV-1 薬剤耐性変異の解析

患者血漿より HIV-1 遺伝子を抽出（ハイピュア Viral RNA 抽出キット：ロシュ・ダイアグノスティックス）し、RT nested PCR 法（One step RNA PCR キット：タカラバイオ）によりプロテアーゼ（PR）、逆転写酵素（RT）およびインテグラーゼ（IN）領域の 3 カ所を増幅後、ダイレクトシーケンス法（BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit：アプライドバイオシステムズ）により塩基配列を決定した。PCR プライマーおよび PCR 条件は国立感染症研究所の方法に従った。

IAS-USA (2008) リスト、Shafer' s criteria、スタンフォードデータベースを基にプロテアーゼ阻害剤（PRI：IDV、LPV、RTV、SQV、NFV、FPV、ATV、DRV、TPV）、核酸系逆転写酵素阻害剤（NRTI：AZT、d4T、ddI、3TC、ABC、TDF、FTC）、非核酸系逆転写酵素阻害剤（NNRTI：RPV、EFV、ETR、NVP）、インテグラーゼ阻害剤（INI：RAL、EVG）に関与する薬剤耐性変異について解析した。

また、同時にスタンフォードデータベース（インターネット上で公開）を用い各種抗 HIV 薬に対する耐性度の判定と PR、RT、IN 領域のサブタイプ型別

を行った。スタンフォードデータベースの耐性度は susceptible、potential low-level resistance、low-level resistance、intermediate resistance、High-level resistance の 5 段階評価で示される。

env C2V3 領域については塩基配列決定後、neighbor-joining 法による系統樹を作成しサブタイプを決定した。

（倫理面への配慮）

主治医から患者に研究内容について説明を行い、研究への同意の得られた症例について研究を実施した。患者名はすべて記号化して扱っており、プライバシーの流出防止など患者の人権保護に十分配慮した。尚、本研究は当研究所の倫理委員会で承認されている。

C. 研究結果

IAS-USA (2011) リスト、Shafer' s criteria、スタンフォードデータベースに基づき 252 名の HIV-1 pol 領域のアミノ酸について解析した結果、PR 領域に 3 例、RT 領域に 15 例、計 18 例に薬剤耐性関連変異が認められ、IN 領域に重要な耐性変異は認められなかった。2010 年から 2012 年の 3 年間の耐性検出頻度は 7.1% であり、2007 年から 2009 年の調査の 5.8% に比べて漸増していた（表 1、表 2）。耐性関連変異の認められた 18 例は全て日本男性、サブタイプ B で、感染経路は同性間 9 例、不明 9 例で、3 年前の調査と同様の傾向にあった。

検出頻度が最も高い耐性関連変異は AZT 耐性変異 T215Y/F のリバータント変異であり、18 例中 8 例（44.4%）に検出された。8 例中 1 例は M41L、

表 1 新規 HIV 感染者から検出された薬剤耐性関連変異検出頻度（2010 年 -2012 年）

陽性判明年	解析数 (人)	耐性変異 出現頻度	感染経路 サブタイプ	薬剤耐性関連変異		
				Pro	RT	IN
2010年	80	6 (7.5%)	同性間 B	—	T215E	—
			不明 B	—	T215E	—
			同性間 B	—	K70KR	—
			不明 B	—	K101E	—
			同性間 B	—	K103N	—
			同性間 B	M46L	—	—
2011年	87	6 (6.9%)	同性間 B	—	T69D,V75LV,K101Q	—
			不明 B	—	T215S	—
			不明 B	—	V108I	—
			不明 B	—	V108I	—
			不明 B	—	M41L,L210W,T215D	—
			同性間 B	—	T215C	—
2012年	85	6 (7.1%)	同性間 B	—	T215E	—
			同性間 B	—	T215C	—
			不明 B	—	T215S	—
			不明 B	—	M184V	—
			同性間 B	M46L	—	—
			不明 B	M46I	—	—
合計	252	18 (7.1%)				

表 2 新規 HIV 感染者 190 名から検出された薬剤耐性関連変異検出頻度 (2007-2009 年)

陽性判明年	解析数 (人)	耐性変異 出現人数	感染経路 サブタイプ*	薬剤耐性関連変異	
				Pro	RT
2007年	47	3 (6.4%)	同性間 B	—	T215D
			異性間 A#	M46I	—
			同性間 B	—	D67DN
2008年	69	4 (5.8%)	同性間 B	D30N	—
			同性間 B	—	T215D
			同性間 B*	—	K103N
			異性間 B	D30N, L33F	—
2009年	74	4 (5.4%)	同性間 B	—	K103N
			同性間 B	—	T215E
			同性間 B	M46L	—
			不明 B	M46ML	—
合計	190	11 (5.8%)			

*USA、男性、#日本女性、他すべて日本男性

表 3 新規 HIV 感染者 252 名の感染経路とサブタイプ (2010-2012 年)

感染経路	合計	HIV-1サブタイプ(<i>env</i> C2V3, Pr, RT)							
		B	AE	AE/B	AG	C	B/F	F1	
男性同性間	日本	107	100	4(3)*	3(1)*				
	外国	5	5(1)**						
異性間 男性	日本	6	4	2					
	外国	5	1		1	1	1		
異性間 女性	日本	7	1	3		1	1	1	
	外国	8	1	5	2				
不明 男性	日本	107	93	10(4)*	2(1)*	1		1	
	外国	7	3	3(1)*	1				
合計	252	208	27	8	3	3	2	1	

*()内はCN.MSM.01-1バリエント **はCN.MSM.B-1バリエント

表 4 日本男性 (MSM,unknown) における CRF01_AE および CN.MSM.01-1 バリエント検出率

Year of collection	CRF01_AE 検出率	CN.MSM.01-1 /CRF01_AE
1990-2009	2.3% (9/391)	—
2010-2012	8.9% (19/214)	47.4% (9/19)
2010	12.9% (9/70)	44.4% (4/9)
2011	8.1% (6/74)	33.3% (2/6)
2012	5.7% (4/70)	50.0% (3/6)

L210W も同時に検出され、スタンフォードデータベースでは NRTI の AZT、D4T に High-level、ABC、DDI、TDF に Intermediate resistance と判定された。この他、2012 年に NRTI である 3TC、FTC に高度耐性を示す M184V 変異が 1 例、2010 年に NNRTI である NVP に中程度耐性を示す K101E、NVP および EFV に高度耐性を示す K103N が 1 例ずつ検出された。PR 領域に検出された耐性関連変異は 3 例とも M46I/L であった。

IN 領域に Major 変異は認められなかったが、Minor 変異、E157Q が 5 例、L74M、V151I、G163K が 2 例ずつ、Q95K、T97A が 1 例ずつ検出された。

252 例の感染経路別サブタイプを表 3 に示した。サブタイプの内訳は、サブタイプ B が 208 例 (82.5%) と最も多く、次いで CRF01_AE が 27 例 (10.7%) で、CRF01_AE とサブタイプ B の組換え、

あるいは重複感染疑い例 (AE/B と略す) が 8 例 (3.2%)、その他 9 例 (CRF02_AG、サブタイプ C、F、サブタイプ B と F の組換え、あるいは重複感染 (B/F と略す)) であった。

感染経路別に見てみると、同性間と不明の日本男性 214 例中 193 例 (90.2%) の遺伝子型はサブタイプ B であったが、CRF01_AE が 14 例 (6.5%)、AE/B が 5 例 (2.3%) 検出された。1990 年から 2009 年までの同集団における CRF01_AE の検出率は 2.3% (9/319) と少なかったが、2010 年から 2012 年の 3 年間で 8.9% (19/214) に増加していた ($P < 0.01$)、(表 4)。

CRF01_AE 遺伝子が検出された 19 例のうち 9 例から、近年中国の MSM 間で大流行している CRF01_AE バリエントの一つであるクラスター 1 (CN.MSM.01-1) が検出された (表 5)。9 例のうち 2 例の PR-RT 領域はサブタイプ B であり、重複感染、

表 5 日本男性 (MSM,unknown) に検出された CN.MSM.01-1

	risk	Year of collection	pro-RT 1.1 kb	env C2V3 325 bp
1	MSM	2010	CN.MSM.01-1	CN.MSM.01-1
2	MSM	2010	CN.MSM.01-1	CN.MSM.01-1
3	MSM	2010	JP.MSM.B-2	CN.MSM.01-1
4	unknown	2010	JP.MSM.B-1	CN.MSM.01-1/B(US)
5	unknown	2011	CN.MSM.01-1	CN.MSM.01-1
6	unknown	2011	CN.MSM.01-1	CN.MSM.01-1
7	MSM	2012	(解析中)	CN.MSM.01-1
8	unknown	2012	CN.MSM.01-1	CN.MSM.01-1
9	unknown	2012	CN.MSM.01-1	CN.MSM.01-1

あるいは AE/B 組換えウイルスの感染も確認された。

また、2012 年には日本男性の他、中国出身の男性から CN.MSM.01-1 バリエントが 1 例、中国 MSM 間で流行しているサブタイプ B のバリエント、CN.MSM.B-1 が 1 例検出された。

D. 考察

我々は、薬剤耐性 HIV の発生動向を把握するため、2004 年より全国規模での調査に参加し、主として神奈川県および東京都内の医療機関に来院した新規 HIV-1 感染者について薬剤耐性変異の解析を行っている。2010 年から 2012 年の 3 年間の調査では、252 例中 18 例 (7.1%) に薬剤耐性関連変異が確認され、検出頻度は、2007 年から 2009 年間の調査に比べ若干増加した。耐性関連変異の認められた 18 例は全て日本男性、サブタイプ B で、感染経路は同性間 9 例、不明 9 例で、3 年前の調査と同様の傾向にあった。

検出頻度が最も高い耐性関連変異は AZT 耐性変異 T215Y/F のリバータント変異であり、18 例中 8 例 (44.4%) 検出された。リバータント T215X は、2004 年から 2009 年までの神奈川の調査において 17 例中 7 例と高率に検出され、また全国調査においても比較的高頻度に検出されており、polymorphism の可能性も考えられるが、スタンフォードデータベースによると NRTI に低レベル耐性と判定され、薬剤選択の際には考慮する必要があると考えられた。

17 例中 4 例 (23.5%) は NRTI および NNRTI に中程度耐性 (K101E)、高度耐性変異 (K103N、M184V、M41L+L210W+T215D) であった。中程度耐性から高度耐性変異の検出率は 3 年前の調査と比べ若干低いが、変異の種類が増加している。治療の成功のために薬剤耐性検査はますます重要となっていると考えられた。

2010 年から 2012 年の 3 年間に解析した男性同性間感染、感染経路不明の日本男性 214 例から CRF01_AE が 19 例検出された。当研究所では日本で流行している HIV のサブタイプ解析を 1990 年から実施しており、同性間および感染経路不明の日本男性における CRF01_AE 遺伝子は 2009 年までは 2.3% (9/391) に過ぎなかったが、2010 年から 2012 年の検出率は 8.9% (19/214) に増加した ($P < 0.01$)。これら 19 例中 9 例 (47.4%) は CN.MSM.01-1 タイプであり、またこれらは CN.MSM.01-1 クラスタ内に系統樹上枝の短いサブクラスタを形成することから、中国 MSM から日本への流入は最近のことであると推察された。

さらに CN.MSM.01-1 バリエント 9 例のうち 2 例は日本で流行しているサブタイプ B との重複感染が疑われ、また 2012 年には日本男性の他、中国出身の男性から CN.MSM.01-1 バリエントおよび中国 MSM 間で流行しているサブタイプ B (CN.MSM.B-1) も 1 例ずつ検出された。

また、従来から日本で流行している欧米型サブタイプ B と東南アジア由来の CRF01_AE の組換えウイルス (AE/B 組換え体と略す) の感染を、同性間および感染経路不明の日本男性 3 例に認めた。AE/B 組換え体は東南アジアでの流行が報告されているが、これら 3 例の組換えパターンは東南アジアでの流行株とは異なっていた。AE/B 組換え体は日本では数株報告されているにすぎないが、当研究所では日本人以外にも 2004 年にタイ女性 1 例、2011 年にラオスとタイ出身者の 3 例、計 4 例確認した。

日本における流行株のほとんどはサブタイプ B であり CRF01_AE の占める割合は少ないが、

今後、中国や東南アジアで流行している CRF01_AE や AE/B 組換え体の動向にも注目し、流行の解析、感染予防対策を講ずることが重要と考えられる。

E. 結論

2010 年から 2012 年の 3 年間に主として神奈川県内の医療機関に来院した新規 HIV 感染者 252 名について薬剤耐性変異を解析した結果、薬剤耐性関連変異を有する症例が 18 例検出され、耐性変異の出現率は 7.1% であった。18 例は全て日本男性、サブタイプ B で、感染経路は同性間性行為 9 例、不明が 9 例で、2007 年から 2009 年の 3 年間の調査とほぼ同様の傾向にあった。

2010 年から 2012 年の 3 年間に解析した男性同性間感染、感染経路不明の日本男性 214 例から CRF01_AE が 19 例検出され、うち 5 例はサブタイプ B が同時に検出された。1990 年から 2009 年までの CRF01_AE 遺伝子検出率は 2.3% (9/391) に過ぎなかったが、2010 年から 2012 年では 8.9% (19/214) に増加した ($P < 0.01$)。これら 19 例中 9 例 (47.4%) は中国の MSM 間で大流行している CRF01_AE バリエントの一つである CN.MSM.01-1 タイプであった。

日本における流行株のほとんどはサブタイプ B であり CRF01_AE の占める割合は少ないが、今後、国内で中国由来 CRF01_AE の増加や AE/B 組換えウイルスの出現も予測される。国内の流行を把握するためには、中国や東南アジアで流行している CRF01_AE や AE/B 組換え体の動向にも注目し、流行を解析することが重要である。

F. 健康危情報

なし

G. 研究発表

1) 論文発表

1. Sano T, Yamada R, Sekita K, Hankins RW, Hori H, Seto H, Sudo K, Kondo M, Kawahara K, Tsukahara Y, Inaba N, Kato S, Imai M: A Human Immunodeficiency Virus Screening Algorithm to Address the High Rate of False-Positive Results in Pregnant Women in Japan. *PLoS ONE*, 5, e9382 (2010).
2. Hattori J, Kondo M, Sugiura W, et al.: 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).
3. 近藤真規子、佐野貴子、今井光信、加藤真吾：日本における HIV 検査体制：病原微生物検出情報、32(10)、287-288、2011。
4. Kondo M, Lemey P, Sano T, Itoda I, Yoshimura Y, Sagara H, Tachikawa N, Yamanaka K, Iwamuro S,

Matano T, Imai M, Kato S, Takebe Y; Emergence in Japan of an HIV-1 variant associated with MSM transmission in China: First indication for the international dissemination of the Chinese MSM lineage. *J. Virol.*, 2013, in press.

5. 武部豊、近藤真規子：中国における男性同性愛者 (MSM) 間の HIV-1 流行の急速な拡大と我が国への流行波及に関する知見：病原微生物検出情報、34、2013、in press.

1) 学会発表

1. Kondo M, Tanaka R, Sudo K, Sano T, Tachikawa M, Sagara H, Iwamuro S, Imai M, Kato S: The development of quantitative HIV-1 RNA assay using general real time PCR machines, XVIII International AIDS Conference. (18-23 July, 2010, Vienna, Austria).
2. 服部純子、近藤真規子、杉浦互 他：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 24 回日本エイズ学会学術集会・総会 (2010 年 11 月 24 ~ 11 月 26 日、東京)。
3. 近藤真規子、佐野貴子、井戸田一郎、山中晃、岩室紳也、相楽裕子、立川夏夫、今井光信、加藤真吾：2010 年新規感染者から検出された CRF01_AE/B リコンビナント HIV-1、第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会 (2011 年 11 月 30 ~ 12 月 2 日、東京)。
4. 服部純子、近藤真規子、杉浦互 他：新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性 HIV の動向、第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会 (2011 年 11 月 30 ~ 12 月 2 日、東京)。
5. 椎野禎一郎、近藤真規子、杉浦互 他：国内感染者集団の大規模塩基配列解析 2：Subtype B の動向と微少系統群の同定、第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会 (2011 年 11 月 30 ~ 12 月 2 日、東京)。
6. 佐野貴子、近藤真規子、須藤弘二、根岸昌功、山中晃、井戸田一郎、今井光信、加藤真吾：HIV 迅速検査試薬の検討および即日検査への応用、第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会 (2011 年 11 月 30 ~ 12 月 2 日、東京)。
7. 伊部史郎、近藤真規子、今村淳治、岩谷靖雅、横幕能行、杉浦互：ウエスタンブロット法により HIV-1 / HIV-2 重複感染が疑われた症例の精査解析、第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会 (2011 年 11 月 30 ~ 12 月 2 日、東京)。
8. Kato S, Murayama M, Kondo M, Takagi R; Anti-HIV-1 activity of saliva through cleavage of viral RNA strands, The XIX International AIDS Conference (22-27 July, 2012 Washington, D.C., USA)
9. 武部豊、近藤真規子：中国における男性同性愛者 (MSM) 間の HIV-1 流行の急速な拡大に関する分子疫学と我が国への流行波及を示す知見、第 60 回日本ウイルス学会学術集会 (2012 年 11 月 13 ~ 15 日、大阪)。

10. 近藤真規子、佐野貴子、須藤弘二、立川夏夫、相楽裕子、岩室紳也、井戸田一郎、山中晃、武部豊、今井光信、加藤真吾：日本で流行している HIV-1 サブタイプの変遷、第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会（2012 年 11 月 24～26 日、横浜）。
11. 椎野禎一郎、近藤真規子、杉浦互 他：国内感染者集団の大規模塩基配列解析 3：希少サブタイプとサブタイプ間組換え体の動向、第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会（2012 年 11 月 24～26 日、横浜）。
12. 佐野貴子、小林寛子、杉浦太一、須藤弘二、植田知幸、清水茂徳、近藤真規子、今井光信、加藤真吾：ホームページ「HIV 検査・相談マップ」による HIV 検査機関の情報提供およびサイト利用状況、第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会（2012 年 11 月 24～26 日、横浜）。
13. 須藤弘二、佐野貴子、近藤真規子、今井光信、加藤真吾：HIV 郵送検査に関する実態調査（2009-2011）、第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会（2012 年 11 月 24～26 日、横浜）。
14. 服部純子、近藤真規子、杉浦互 他：新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性 HIV の動向、第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会（2012 年 11 月 24～26 日、横浜）。

H. 知的所有権の出願・取得状況

なし

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 (2010-2012 年)～

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

研究要旨

都内で流行している HIV 株を遺伝子学的に調査する目的で、南新宿検査・相談室等の検査陽性例より検出された HIV のサブタイプ型別並びに Protease(PR)、Reverse transcriptase(RT) および Integrase(IN) 領域における薬剤耐性変異の有無を検索した。その結果、検出された HIV の約 90% がサブタイプ B であり、CRF01_AE が 10%前後占めていた。感染初期の指標である BED 陽性率は 2009 年以降減少傾向にあり、感染初期の捕捉率は低下している。薬剤耐性変異については PR 領域および RT 領域の変異が認められ、revertant 変異については変異アミノ酸が同一であっても、分子系統樹解析で別々のクラスタを形成するものが検出されていた。

A. 研究目的

薬剤治療を受けている HIV 患者数の増加に伴い、薬剤耐性変異を有する HIV の出現および新規感染者における薬剤耐性 HIV が新たな問題となりつつある。

都内の新規感染者における薬剤耐性 HIV の出現状況を把握する目的で、南新宿検査・相談室（南新宿）の HIV 検査陽性例を対象とし、サブタイプ型別、薬剤耐性 HIV の検出率を調査することを本研究の目的とする。

B. 研究方法

1. 塩基配列の決定

2010～2012年に南新宿検査・相談室（南新宿）等の HIV 検査で陽性となった検体（血清）を供試した。各検体 200 μ L よりウイルス核酸 RNA を抽出後、RT-nested PCR 法により Protease(PR)、Reverse transcriptase(RT) および Integrase(IN) 領域を増幅後、特異バンドの精製を行い、精製 DNA を得た。Dye-terminator-cycle-sequencing 法を用いた Direct-

Sequencing 法により精製 DNA の塩基配列を決定した。

2. PR、RT および IN 領域の解析

サブタイプ型別は、得られた RT 領域の塩基配列を基に、スタンフォード HIV Drug Resistance Database または遺伝子解析ソフト MEGA4 を用いて系統樹を作成しサブタイプ型を決定するとともに、クラスタ形成の有無を判定した。

薬剤耐性関連変異の有無については IAS-USA、Shafer らの報告またはスタンフォード HIV Drug Resistance Database に基づき判定した。PR 領域については 1～90 番目、RT 領域では 41～236 番目、IN 領域については 1～288 番目を対象とした。また、RT 領域の T215 については revertant 変異についても調査を行った

3. BED assay による感染時期の推定

血清をを 101 倍に希釈後、AWARE™ BED™ EIA TEST(Calypte 社) を用いて検査を実施し、ODn 値 \leq 0.8 となったものを、感染初期（155 日以内）と判定した。尚、検査の実施手順はキットの取り扱い説

明書に準じた。

(倫理面の配慮)

本研究はヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針等の倫理規定に準拠して実施した。本研究は個人が特定できるようなデータを含まない、連結不可能匿名化されている検体から抽出した HIV 遺伝子の解析を目的とした調査研究であり、東京都健康安全研究センター倫理審査委員会において承認されている (21 健研管第 1955 号、24 健研健第 1014 号)。

C. 3 カ年の研究結果と考察

1. 東京都内保健所・南新宿・検査相談室における HIV 検査陽性数の推移

2008 年以降、毎年 150 件前後で推移している (図 1)。2009 年に新型インフルエンザの流行、2011 年に東日本大震災と HIV 検査に影響する社会的な事件が発生しており、検査陽性数の推移にも少なからざる影響を及ぼしたと考えられる。

南新宿等における陽性例で BED assay により血清学的に感染初期 (ODn 値 ≤ 0.8) と判定された例は、2009 年には 51.7%であったが、2012 年は 29.2%であった (図 2)。このことは、南新宿等における感染初期の率が減少傾向にあることを示している。

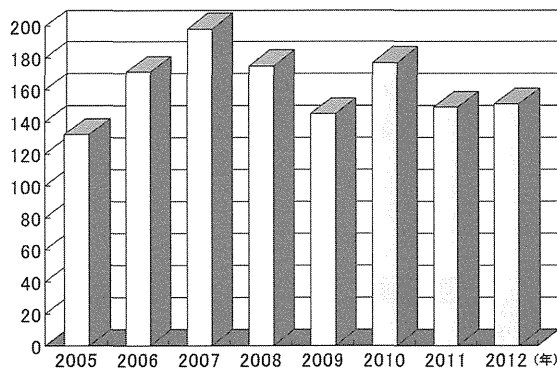


図 1 東京都における HIV 検査陽性数 (2005~2012年)

2. サブタイプ型別

南新宿等の HIV 検査で HIV-1 陽性となった検体について、RT 領域の解析を実施した結果、2010 年が 90.6%、2011 年が 89.4%、2012 年は 92.7%がサブタイプ B であり、CRF01_AE が 7.3%~10.2%、次いで C が 1.0%前後で認められている (図 3)。

この傾向は大きく変化していないが、2009 年以降、CRF01_AE の検出率がやや増加している。

3. PR、RT および IN 領域の薬剤耐性変異の検出

PR 領域について遺伝子解析を実施した結果、2010 年まで検出されていた M46I および M46L が 2011-2012 年には認められなかったが、今まで検出されなかった I54IL が 2012 年に初めて検出された。

RT 領域では、核酸系逆転写酵素阻害薬 (NRTI) の耐性変異である M41L、M184V が 2011-2012 年に検出されている。一方、非核酸系逆転写酵素阻害薬 (NNRTI) の耐性変異である V103N や V108I は継続して認められているが、分子系統樹解析では相互の関連性は認められていない。また、G190AG が 2012 年に初めて検出された。

一方、revertant 変異の検出は年によって検出率および検出数が異なる。T215S については継続して検

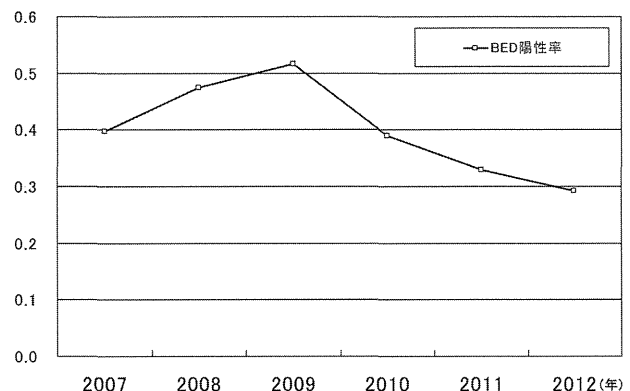


図 2 BED 陽性率

出されているが、T215E、T215D、T215L 等は年によって検出にバラツキが見られている (図 4)。

全体の薬剤耐性変異の検出率 (2010-2012 年) は 2010 年が低く、2011 年と 2012 年が同程度に高いが、内訳は逆転している (図 5)。すなわち、2011 年は T215X の検出率が高く、逆に 2012 年は薬剤耐性変異の検出率が高い。過去 8 年間の推移では、全体的に右肩上がりの傾向にあると考えられる。

今までの研究報告書並びに 2012 年のエイズ学会でも報告したが、薬剤関連変異の中で、T215X、M46I/L を持つウイルスは分子系統樹解析でクラスタを形成する傾向にある (図 6)。

特に東京都においては M46L、M46I、T215C、T215S については単一のクラスタを形成する傾向にあるが、T215D および E については過去 8 年間で、

T215D は 3 つ (T215D1 ~ T215D3)、T215E は 2 つのクラスタ (T215E1、T215E2) を形成している (図 7)。T215D1 は 2008 年以降、T215E1 は 2011 年以降認められておらず、2011-2012 年の T215D 流行型は T215D2、T215D3 となっており、T215D/E revertant 型の変遷が示唆された。また、M46I および M46L は 2010 年を最後に都内では検出されていない。

今回の検討から、薬剤耐性関連変異の調査を継続的に実施することにより薬剤耐性変異の流行型の変化を捉えることができることが示唆された。今後もサブタイプの推移、感染初期例の率、M46I/L および T215X の動向をみながら東京都における HIV の疫学解析を継続して実施していく必要がある。

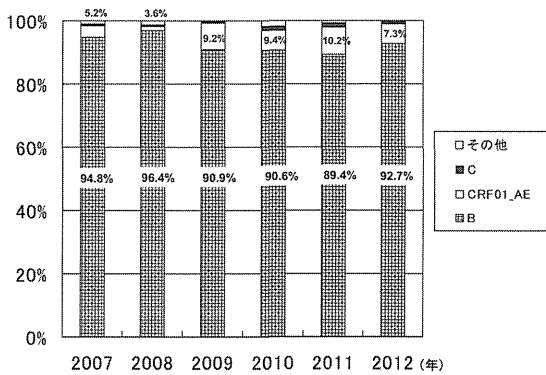


図 3 HIV サブタイプ型別 (南新宿・検査相談室等) (2005~2012年)

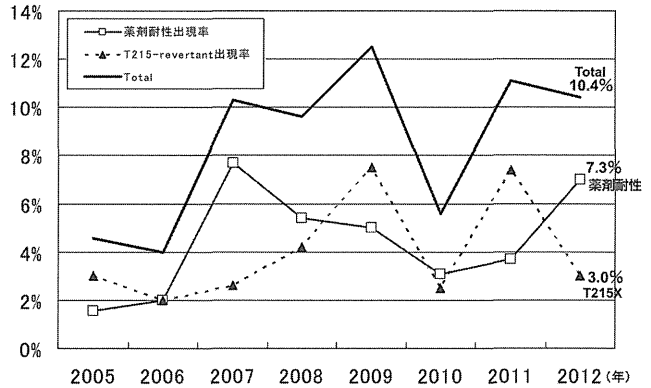


図 5 東京都における南新宿等検査陽性例 (薬剤耐性変異・revertant 出現率)

	year	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Drug resistance	multi			I84V,L90M/D67N,K70R,M184V,T215V,K219Q M46I,L90M/M41L,D67N,K70K/R,T215F,K219Q			M46I,T215S,K219Q		
	nRTIs			M41L M41L M41L		L74LV		M184V,	M41L M184V
	NNRTIs		V108I	K103N K103N	V108I K103N		K103N K103N	V108I V108I	V108IV V108I K103N G190AG
	PI	M46L M46L		V32V/I M46I M46I M46I/L M46L M46L M46L M46L	M46I M46L M46L M46L M46L M46L	Q58E M46I M46L	M46I M46I		I54IL
	Revertant	T215D T215D T215D T215E	T215D	T215C T215D T215D	T215C T215D T215C T215E T215D T215E T215E T215E T215E T215E T215S T215L	T215C T215D T215C T215E T215D T215E T215E T215E T215E T215S T215L	T215E T215E T215E T215S	T215C T215D T215D T215D T215D T215D T215S T215S T215S	T215E T215S T215IT

図 4 HIV 薬剤耐性変異の検出 (2005~2012年)

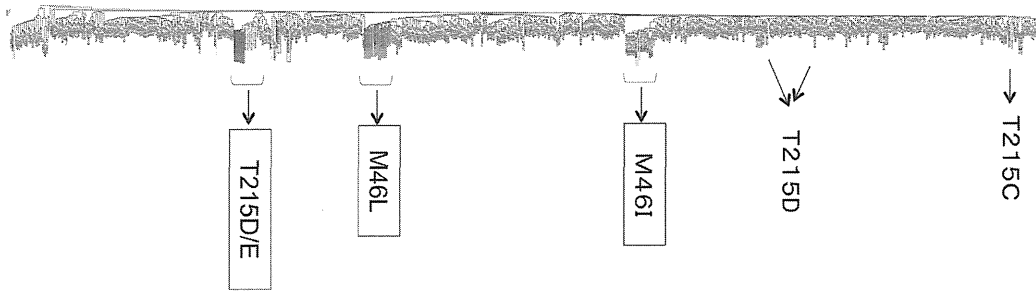


図6 RT 領域における系統樹解析
M46I/L&T215X について

year		2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
PI	M46L	○		○	○	○			
	M46I			○	○	○	○		
Revertant T215X	T215D	1	○	○	○				
		2					○		
		3				○		○	
	T215E	2							○
		1	○			○	○	○	
	T215C			○	○	○		○	
	T215S			○		○	○	○	○
	T215L					○		○	
T215I								○	

図7 東京都における M46I/L および T215X 検出状況

E. 結論

都内で流行している HIV 株を遺伝子学的に調査する目的で、南新宿等の検査陽性例より検出された HIV のサブタイプ型別並びに PR、RT および IN 領域における薬剤耐性変異の有無を検索した。その結果、検出された HIV の 90% がサブタイプ B であり、CRF01_AE が 10% 前後占めている。感染初期の指標である BED 陽性率は 2009 年以降減少傾向にあり、感染初期の捕捉率は低下している。薬剤耐性変異については PR 領域および RT 領域の変異が認められ、revertant 変異については変異アミノ酸が同一であっても、分子系統樹解析で別々のクラスターを形成するものが検出されており、継続的な調査が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

- 1) 学会発表
 1. 長島真美、新開敬行、尾形和恵、吉田 勲、原田幸子、林志直、貞升健志、甲斐明美：2007 年～2011 年の東京都内における HIV 検査陽性例の解析、第 26 回日本エイズ学会学術集会、2012（横浜）
 2. 長島真美、新開敬行、尾形和恵、吉田 勲、原田幸子、林志直、貞升健志、甲斐明美：東京都内公的検査機関における HIV 検査数の解析（2007-2011 年）、第 26 回日本エイズ学会学術集会、2012（横浜）

H. 知的所有権の出願・取得状況

なし

千葉県及び近郊における薬剤耐性 HIV の動向調査研究

～針刺し・暴露事故対応と母子感染予防よりみた薬剤耐性検査の意義～

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 部長

研究要旨

薬剤耐性検査の意義を、拠点病院以外の一般診療機関での HIV 陽性者の針刺し・暴露事故対応と母子感染予防の 2 点から検討した。

一般診療機関での針刺し・暴露事故対策として、千葉県では拠点病院以外の地域機関病院（7カ所）・各保健所にツルバダ、アイセントレス（以前はカレトラ）が配布されている。しかし、近年の薬剤耐性株の増加より、暴露源の患者の薬剤耐性状況が不可欠となる。自院では対応できない診療・介護などのため、拠点病院以外の機関でフォローされる例が増加する中で、針刺し・暴露事故対応の充実と、そのための薬剤耐性検査および動向把握は不可欠である。

一方母子感染対策としても、外国籍妊婦が多く、医療機関へのアクセスが遅れ、出産までの抗 HIV 薬治療期間が短い状況の中で、短期間でウイルス量の減少を確実にするため、薬剤耐性検査の重要性が増すと思われる。

A. 研究目的

1. 千葉県内の拠点病院が連携し、拠点病院以外の機関にて長期・定期的にフォローされる実態を調査し、針刺し・暴露事故対応における薬剤耐性動向を反映させる方策を検討する。同時に初診時における薬剤耐性検査の重要性を拠点病院において認識する。
2. HIV 陽性妊婦の薬剤耐性検査について、国籍、初診と出産までの間隔、薬剤耐性結果について検討し、本邦での HIV 薬剤耐性検査の問題点を論じる。

初診日から出産日)、抗 HIV 薬開始前と出産時の母親の血中 HIV 量、抗 HIV 薬開始前の薬剤耐性検査、児の予後について検討した。全例が診断前の抗 HIV 薬を受けておらず、緊急当日手術の 1 例 (No.5) を除き、初診後 (診断後) 直ちに抗 HIV 薬投与を開始した。全例が帝王切開術と術前～術中の AZT 点滴静注、児への 6 週間の AZT 経口投与がされている。

母親への抗 HIV 薬は以下である。

AZT + 3TC + NFV : No.1-3

AZT + 3TC + LPV/RTV : No.4-10

B. 研究方法

1. 千葉県内拠点病院 10 機関に聞き取り調査を行い、拠点病院以外の機関にて長期・定期的にフォローされる実態、およびこれら機関に対する啓発活動を調査し、拠点病院会議にて検討を行った。
2. 2004 年より 2012 年 7 月の間に当院にて出産した HIV 陽性妊婦 10 例で、国籍 (本人とパートナー)、出産週数、母親の抗 HIV 薬治療期間 (

C. 研究結果および考察

1. 針刺し・暴露事故対応

(1) 拠点病院以外での長期・定期的フォロー実態

1) 歯科診療

拠点病院 10 病院中 7 病院に歯科があり、患者数の多い病院の中では 1 病院のみが歯科診療に障害が出ている。しかし、歯科を有する病院においても、遠隔地より来院する患者にとっては頻回の通院を有する歯科治療を全て自院で行うことは、患

表 当院での HIV 陽性妊婦の出産例

年	年齢	国籍 (本人/夫)	出産 週数	治療 週数	治療薬	RNA量 (copies/mL)		薬剤 耐性	公的医 療保険	
						開始前	分娩前			
1	2004	34	タイ/日本	37w5d	4w5d	A	3900	<400	-	-
2	2004	34	アルゼンチン/日本	37w2d	5w1d	A	3800	100	AZT	+
3	2006	23	ルーマニア/日本	37w0d	5w2d	A	不明 (服用2w: 472)	<50	未検査	+
4	2008	33	日本/ウガンダ	36w0d	20w0d	B	3890	<50	-	+
5	2009	30	アフリカ南部/不明	38w4d	0d	なし	1050	1050	未検査	-
6	2010	23	インドネシア/日本	35w6d	21w0d	B	24000	<50	NVP EFV	+
7	2011	35	ウガンダ/ウガンダ	35w6d	3w0d	B	8010	149	-	-
8	2011	23	エチオピア/日本	38w4d	1w4d	B	52000	778	-	-
9	2012	26	日本/日本	38w1d	1w3d	B	4280	<50	-	+
10	2012	24	エチオピア/日本	37w6d	2w0d	B	38000	510	-	-

全例が帝王切開、 A: AZT・3TC・NFV B: AZT・3TC・LPV/RTV

者負担につながり、地域での歯科診療の拡大が求められる。

そこで、千葉県・千葉県歯科医師会と連携し、地域毎の研修会を開催し、HIV 感染者の歯科治療機関の拡大をはかった。今年度までに 7 カ所で開催され、歯科診療機関での HIV のみならず全般的感染管理が啓発され、感染管理推進施設等の制度などを通じて、今後千葉県全域での HIV 歯科診療の発展を計画している。

2) その他の機関

基本的に患者数は少なく、また ART の発展より問題となる患者は多くはない。しかし、患者数の増加・高齢化に伴い今後の必要性は増加すると思われる、今から準備していく必要がある。

人工透析は拠点病院 10 カ所中 5 カ所で可能であり、千葉県全体で常時 2-3 名が受けている。透析は頻回の通院が必要であり、患者の社会的・身体的状況により、通院困難な状況が認められる例もある。2011 年に地域の民間透析施設で 1 名が透析可能となり、今後の拡大に期待が持てるようになった。

身よりのない高齢者・寝たきり患者(PML 後遺症)・歩行困難者などについても、民間介護施設での入所が 4 名あった。

協力的な家族がいる場合は、身体的障害があっても自宅介護が可能であるが、その場合でも訪問看護(医療)・ヘルパーの必要はあり、常時 3-4 名が利用していた。

民間リハビリ施設を利用している患者も 1 名いた。

(2) 針刺し・暴露事故対応と薬剤耐性動向把握

拠点病院以外との連携で最も問題となった点は、針刺し・暴露事故対応とプライバシーの 2 点であった。今回は薬剤耐性との関連で前者について検討した。紹介された本人を暴露源とする針刺し・暴露事故では、本人の経過がよいのであれば、原則的に本人が服用している抗 HIV 薬で対応することで、了解いただいていた。本人服用中の薬であれば緊急時の入手も容易であり、1 回目の服薬を優先し、その後主治医に相談可能となる。

HIV 陽性血液暴露事故対策として、千葉県では拠点病院 10 施設(県内全域で車で 1 時間以内で連絡可能)に加え、地域基幹病院(7 施設)と各保健所にツルバダおよびカレトラをそれぞれ 2 日分と 1 日分配備し、さらにきめ細かな緊急対応に備えている。カレトラは平成 24 年度よりアイセントレスへ変更された。

当研究班での検討成果として、診断時の耐性変異検出頻度が年々増加傾向であり、最近は全体で 11%、NRTI で 6% 台、NNRTI で最大 3% 弱と 10 年前の全体で 5% 程度と比べ明らかに増加している。今後も診断時の薬剤耐性変異の検討結果を注視し、血液暴露事故対策における備蓄薬剤または初回使用薬剤選択に生かす必要がある。

2. 母子感染予防(表)

(1) 国籍

母親の国籍は、日本は 2 名のみであり、他は外国籍であった。大別して、アジア 2 名(タイ、インドネシア)、アフリカ 3 名(南部地域、ウガンダ、エチオピア)、南米 1 名(アルゼンチン)、東欧 1 名(ル

一マニア)であった。外国籍 8 例中 5 例が公的保険を有しておらず、医療機関へのアクセスの遅れの原因となったと思われる、結果として治療期間の短縮の原因となった。

パートナーの国籍は、日本 6 名、ウガンダ 2 名、不明 1 名であった。

(2) 出産週数

35 週 6 日から 38 週 1 日 (平均 37 週 3 日) であり、全例が帝王切開での出産であった。36 ~ 37 週での出産を目標としたが、妊婦の状況、手術室の確保で若干の変動が生じた。

38 週を超えた 3 例中、1 例は成田空港からの緊急搬送での同日出産、2 例は抗 HIV 薬開始の遅れ (初診の遅れ) のため、出産時のウイルス量低下目的で帝王切開予定日を延ばした例 (1 週 1 日と 1 週 6 日) である。

数例が破水状況により若干の予定日 (時) が早められたが、リスクを伴うほどの緊急性はなく、定められた方法 (基本的にウイルス性肝炎と同様) によって、順調に出産された。

(3) 母親の抗 HIV 薬治療期間

早期より治療を開始できたのは妊娠 14 週 (No.6)、16 週 (No.4) の 2 例のみであり、他の 8 例は最大で 5 週 2 日であり、全例が初診時 (診断日) に直ちに抗 HIV 薬が開始されていた。1 例 (No.5) は緊急搬送当日の出産のため母親への抗 HIV 薬が間に合わなかったが、術前~術中の AZT 点滴静注、児への 6 週間の AZT 経口投与がされている。

(4) 初診時の薬剤耐性検査と HIV ウイルス量

他院で抗 HIV 療法開始の No.3 と緊急帝王切開の No.5 を除く 7 例で検討できた。AZT 耐性関連遺伝子変異 + (M41L、感受性は有りとの判定) 1 例 (No.1)、NVP および EFV 耐性 (K101E) 1 例 (No.6) 以外は薬剤耐性は認められなかった。耐性の 2 例を含め全例が結果判明前から治療開始されており、結果による薬剤変更例はなかった。

No.2 については、ウイルス量の低下もよく、臨床的には反応していたため、そのまま継続使用した。No.5 は投与薬剤についての耐性はなく、AZT + 3TC + LPV/RTV を出産後も含め継続使用し、HIV-RNA 感度未満、CD4 正常範囲を維持している。その他全例で出産時のウイルス量低下を得られた。

今回幸いにも全例で臨床的に有効ではあったが、現在の推奨である AZT + 3TC + LPV/RTV 以外に今後他の薬剤についての使用実績も多くなり、薬剤選択の幅の拡大が予想される中で、薬剤耐性検査の重要性が増すと思われる。

(5) 児の予後

現時点で全例 HIV 陰性であり、健康に发育している。2012 年出産の 2 例を除き 8 例が 1 年 6 か月検診 (HIV-RNA 含む) を終え、HIV に関するフォローは中止となっている。他の 2 例についても、生後 6 ヶ月検診の HIV - RNA は陰性となっている。

D. 結論

HIV 感染者の増加・高齢化に伴い地域の様々な機関との連携が強く求められる。それに伴い血液暴露事故対策は不可欠であり、その中で薬剤耐性変異は備蓄薬剤選択などで重要な情報となり、今後も継続的な調査が求められる。

母子感染対策においても、外国籍妊婦の出産例が続くと推定され、世界的な耐性状況と迅速な耐性検査が求められる。さらに妊婦で使用される他の薬剤についての使用実績も多くなり、薬剤選択の幅の拡大が予想される中で、薬剤耐性検査の重要性が増すと思われる。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1) 論文

1. 佐藤武幸. 性感染症 小児科診療 73:1954-1960,2010.
2. 佐藤武幸. 思春期の性感染診断の話題: HIV 診断とクラミジア・トラコマティス opt-out. 小児科臨床 64:383-391,2011.
3. 佐藤武幸. 思春期の性感染と HPV ワクチン. 小児感染免疫 23:63-73,2011.
4. 佐藤武幸. 性感染症が疑われるとき. 小児科診療 74:252-258,2011.
5. 佐藤武幸. 性感染症. 岡部信彦 編 小児感染症学 診断と治療社 東京 PP95-102,2011.
6. 佐藤武幸. 性感染症. 日本医師会雑誌 141: S254-S257,2012.
7. 佐藤武幸. 後天性免疫不全症候群. 小児内科 44:248-249,2012.
8. 佐藤武幸. 性感染の診断. 小児科臨床 65: 2607-2614,2012.

H. 知的所有権の出願・取得状況

なし

北海道ブロックにおける薬剤耐性 HIV の動向調査研究

研究分担者 佐藤 典宏 北海道大学病院高度先進医療支援センター 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

研究要旨

2010-2012 年度の北海道ブロックにおける新規 HIV 感染者の動向と薬剤耐性 HIV 検出状況の調査を目的に、新規感染者血液中の HIV 遺伝子解析をおこなった。2010-2012 年に北海道大学病院を新規受診した HIV 感染者は 61 名であり、そのうち新規 HIV 感染者は 45 名であった。これら新規感染者の HIV 遺伝子解析をおこなった結果、ほぼ全ての患者から薬剤耐性に関連する変異が検出され、そのうち 4 名 (8.9%) から高度耐性変異を有する HIV (rtD67N/rtM184V/rtT215F/rtK219E、rtV108I、rtK101E、prM46L/prQ58E) が検出された。また、2 名から T215X リバートantが検出された。北海道ブロックでは毎年 15-20 名の新規感染者があり、確実に増加している。本調査の継続は北海道における HIV 動向の把握に重要であり、それは感染拡大の防止を考えるうえでの一助となる。

A. 研究目的

本邦における薬剤耐性 HIV の発生動向把握を目的とし、北海道ブロックにおける新規 HIV 感染者数の動向調査ならびに新規感染者血液中の HIV 遺伝子の解析をおこなった。

B. 研究方法

北海道ブロックにおける 2010-2012 年度の新規 HIV 感染者数を調査した。調査期間中に本院を受診した新規 HIV 感染患者の血漿 / 血清および血球を凍結保存し、血漿 / 血清中に存在する遊離 HIV-1 の pol、gag、env 領域の遺伝子配列を解析し、薬剤耐性ならびサブタイプの決定をおこなった。

(倫理面への配慮)

本研究は北海道大学医学研究科・医学部医の倫理委員会により承認されたものであり、担当医から患者へ研究の説明を行い、同意書に署名をしていただいた患者について検査をおこなった。情報保護に関してはアクセスユーザー制限、パスワード設定、匿名コード化をおこなった。

C. 研究結果

2010-2012 年に北大病院を新規受診した HIV 感染者は 61 名であり、そのうち新規 HIV 感染者は 45 名 (73.8%) であった。エイズ動向委員会による新規 HIV/AIDS 感染者数をもとにした本調査の補足率は約 60% であった。新規感染者の性別は男性 44 名、女性 1 名であり、国籍は日本人 43 名、外国人 2 名であった。推定感染経路は同性間 MSM 26 名 (57.8%)、異性間 14 名 (31.1%)、不明 5 名 (11.1%) であり、初診時に AIDS を発症していた患者は 13 名 (28.9%) であった。

1 名を除く 44 名の新規感染者について HIV 薬剤耐性検査をおこないプロテアーゼ、逆転写酵素、インテグラーゼ領域の薬剤耐性変異解析をおこなったところ、42 名 (95.5%) に薬剤耐性関連変異 (international AIDS society-USA もしくは stanford drug resistance database にて採用されている変異) が認められた (図 1)。その内 4 名 (9.1%) に高度耐性変異 1) 逆転写酵素 D67N、M184V、T215F、K219E、2) 逆転写酵素 V108I、3) 逆転写酵素 K101E、4) プロテアーゼ M46L、Q58E が検出された (表 1)。また、2 名からそれぞれ T215E、

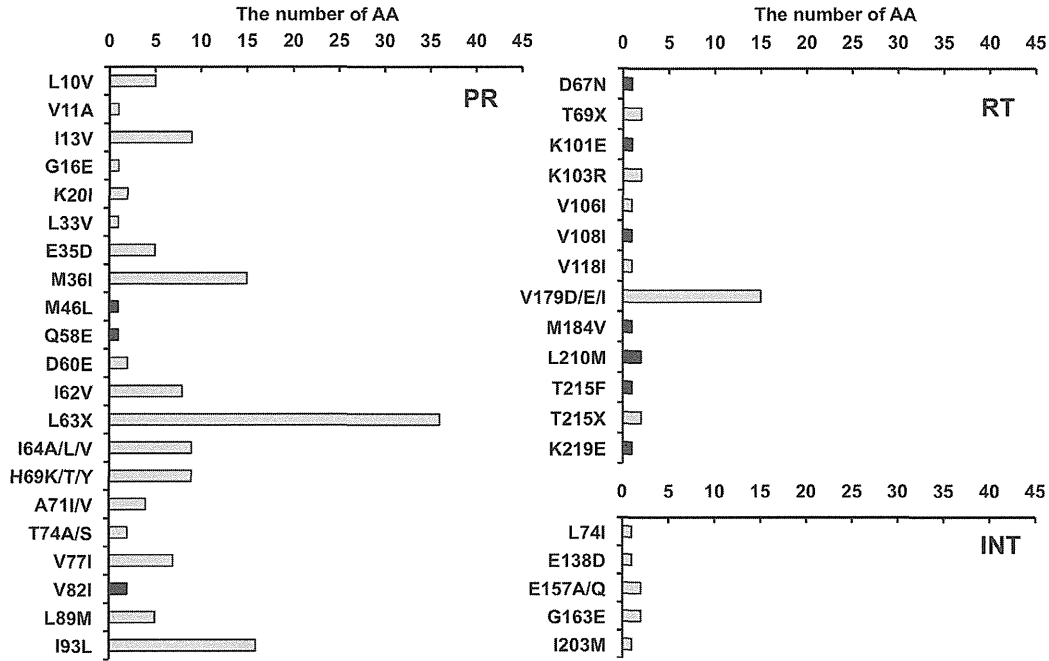


図1 2010-12年度新規 HIV 感染者から検出された薬剤耐性変異

表1 2010-2012年に薬剤耐性変異もしくは T215X が検出された新規感染者

症例	性別	年齢	国籍	感染経路	耐性変異	
					プロテアーゼ	逆転写酵素
1	男性	52	日本	同性間	M36I, D60E, I62V, L63P, I64V, H69Y, T74S	D67N, V179I, M184V, L210F, T215E, K219E
2	男性	50	日本	異性間	M36I, L63AT	V108I, L210M
3	男性	54	日本	同性または異性間	H69HY	K101EK, K103KR, V179I
4	男性	30	日本	異性間	M46L, Q58E, L63P, T74A	V179I
5	男性	40	日本	同性間	I13IV, V77I, I93L	V106I, V179I, T215E
6	男性	45	日本	同性間	I13V, M36IM, I62V, L63A, I64V	T215L

T215L リバータントが検出された。インテグラーゼ領域での高度耐性変異は確認されなかった。サブタイプは B が 39 名 (88.6%)、CRF01_AE が 3 名 (6.8%)、C が 1 名 (2.3%)、CRF02_AG が 1 名 (2.3%) であった。また、HCV 抗体陽性者は確認されなかったものの、HBs 抗原陽性者が 9 名 (20.5%) 確認された。

D. 考察

2012 年度末には北大病院を受診した HIV 感染者

は累計で 270 名を超え、毎年 20-25 名が増加している。そのうち新規感染者の増加は毎年約 15-20 名前後と確実に感染者は増加している。北大病院での主な新規感染者は 30 歳代、日本人男性、同性間感染と日本国内での傾向と同様であった。しかしながら、2010 年より 50 歳以上の新規感染者の割合が増加傾向にあり (図 2)、また、感染経路においては 2011 年以降より異性間の割合が増加傾向にある (図 3)。今後、継続して観察する必要はあるものの、感染者の分布の拡大や感染者数の増加の可能性があ

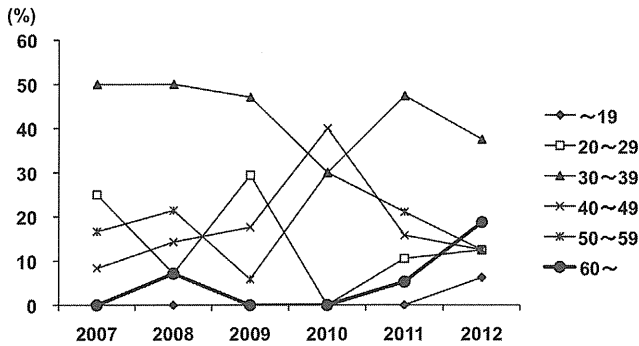


図2 年齢別での新規 HIV 感染者割合の年次推移

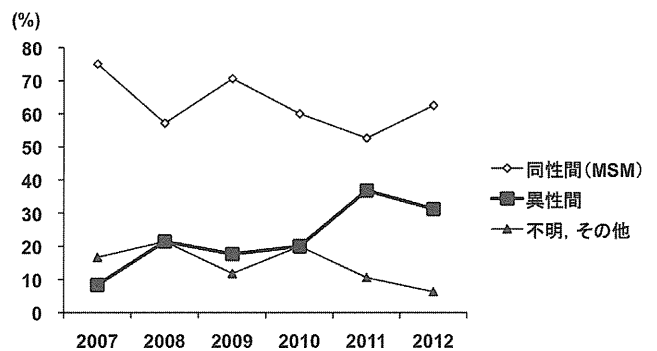


図3 感染経路別での新規 HIV 感染者割合の年次推移

り、異性間感染者の動向については注意する必要があると考えられる。

薬剤耐性変異の解析においては、ほとんど全ての新規感染者から薬剤耐性に関与する何らかの変異が検出され、これは 2007-2009 年と同様の結果であった。このことは変異を有する株が流行株として定着していることを示唆している。そして、高度耐性変異（プライマリー変異）を有する HIV は 2004-2006 年で平均 3%、2007-2009 年で平均 7.1%、2010-2012 年では平均 8.9% と増加傾向にある。2010-2012 年に検出された高度耐性変異 4 例を見ると年齢 50 歳代が 3 例、異性間感染が 2 例であった。また、北海道ブロックでは今までに 1 例しか検出されていない T215X リバータントが 2 例検出された。これらの結果からも HIV 感染の拡大の可能性や感染動向の変化が示唆される。

今回の調査ではインテグラーゼ領域での耐性変異は検出されなかった。しかしながら、インテグラーゼ阻害剤であるラルテグラビルはキードラッグとして現在、多くの患者に使用されている。そのため新規感染者におけるインテグラーゼ領域の解析の重要性は増加するものと考えられる。

今回の調査では北海道ブロックでの新規感染者の

年齢や感染経路の変化を示唆する結果が得られたと考える。札幌中心街に設置された HIV 検査・相談所でも数は少ないものの、毎年 HIV 感染者が見つかることから潜在的に多くの HIV 感染者が存在することが推測され、今後も感染者は更に増加し続けることが考えられる。本研究の継続が今後の HIV 感染拡大の防止につながることを期待される。

E. 結論

- 1) 2010-2012 年度の北大病院での新規感染者は 45 名であった。
- 2) 50 歳以上の新規感染者の割合が増加傾向にあった。
- 3) 異性間感染による新規感染者の割合が増加傾向にあった。
- 4) 新規感染者 4 名 (8.9%) から薬剤耐性変異（プライマリー変異）が検出された。
- 5) 新規感染者 2 名から T215X リバータントが検出された。
- 6) 北海道ブロックでの感染者や耐性変異の変化が示唆されたことから、今後も本調査の継続が感染動向把握と拡大防止に重要であると考えられた。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1) 学会発表

1. 吉田 繁、伊部史朗、服部純子、松田昌和、橋本 修、岡田清美、和山行正、巽 正志、杉浦 互：HIV 薬剤耐性検査の外部精度管理．第 25 回日本エイズ学会総会・学術集会、2011 年 12 月、東京
2. 吉田 繁、服部純子、松田昌和、橋本 修、岡田清美、和山行正、伊部史朗、巽 正志、杉浦 互：HIV 薬剤耐性検査の外部精度管理．第 22 回日本臨床化学会北海道支部例会、旭川、2012.10.
3. 吉田 繁、服部純子、松田昌和、橋本 修、岡田清美、和山行正、加藤真吾、伊部史朗、巽 正志、杉浦 互：2011 年度 HIV 薬剤耐性検査外部精度管理の報告．第 26 回日本エイズ学会、横浜、2012.11.
4. 吉田 繁、服部純子、松田昌和、橋本 修、岡田清美、和山行正、加藤真吾、伊部史朗、巽 正志、杉浦 互：In vitro transcribed RNA を用いた HIV 薬剤耐性検査の外部精度管理．第 59 回日本臨床検査医学会、京都、2012.11.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

HIV の分子進化学的解析

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

研究要旨

目的：我々は、わが国の HIV-1 感染者における薬剤耐性変異の状況を調べるために患者・検体・塩基配列情報のデータベースの作成事業を行っている。本研究は、データベースのための効率的な出入インターフェースの構築と、それによって得られる塩基配列情報の分子進化学的手法による解析によって、わが国における HIV-1 感染の動態を明らかにすることを目的としている。

方法：2010 年度～2012 年度の 3 年間で対象とした患者は、データベースの中の 2002 年度～2011 年度に初診で来院したもので、初診時に採取された検体から得られた Protease-RT 領域の塩基配列（全 4393 配列）である。解析は、1) サブタイプ分類、2) 各サブタイプ毎に微小系統群（主に国内検体で構成される遺伝的に有意に近縁な配列集団で、感染クラスタとみなされる）の同定、3) 微小系統群の疫学的特徴の探索 4) 微小系統群の発生時間の推定による感染動態の解明、の順で行なった。まず、検体配列をサブタイプリファレンス配列と共にアライメントし、ウィンドウをスライドさせながらウィンドウに入った配列について検体とリファレンス間の平均置換塩基率を各々算出する自作のプログラムを用いて、検体配列の微細なサブタイプ構造を大量解析した。微小系統群の同定は、3 種類の原理の異なる分子系統樹解析と塩基置換距離の比較を合わせた方法を新規に開発した。主要な各感染クラスタの共通祖先配列の存在時間（tMRCA）は、Bayesian Markov Chain Monte-Carlo 法によって解析した。組換え体の構造は、Bootscan 法と組換えネットワークツリーの推定によって行なった。

結果：解析に供した 4393 配列のうち、95% 以上の領域が同じサブタイプである検体は、B=3899, CRF01_AE=344, C=46, G=15, F=9, D=1 であった。既知の CRF は、02_AG=36, 06_cpx=3, 07_BC, 12_BF, 33_01B が各 2 検体, 08_BC と 28 または 29_BF が 1 検体ずつであった。それぞれのサブタイプを系統樹解析にかけ、CRF01_AE には 33 個、Subtype B には 247 個、CRF02_AG には 6 個の微小系統群を見出した。CRF01_AE の微小系統群（感染クラスタ）は、3 患者以上で構成される 5 つの大きなクラスタと、2 患者のペアからなる 28 の小さなクラスタに分けられた。一方 Subtype B の感染クラスタに含まれる患者数は、2 患者のペアからなるものが最も多いが、41 人の感染者が集まるクラスタも見出された。これらのクラスタは内包する感染者数の度数分布がべき乗則に従うため、スケールフリーネットワークとみなされた。このことは、我が国の主要なサブタイプの感染対策には、感染クラスタに注目した対策が求められることを示唆している。スケール係数は、Subtype B でより高く、Subtype B のほうがより感染を広げやすいことがわかった。一方、CRF02_AG のクラスタは 3 名以上のものが多く、スケールフリー性はなかった。CRF01_AE の大きなクラスターは、外国人と薬物使用者が集約されている。また、小さなクラスタのうち、tMRCA の新しいものには MSM が入り込んでいた。Subtype B のクラスタは、カップルであることが明らかなケースを除けば、すべて日本人男性同性愛者のみで構成されていた。CRF02_AG では、一転して女性が男性より多かった。tMRCA の解析結果から、CRF01_AE の大きなクラスターは 96 年～2001 年に感染を開始した一方で、小さなクラスターは 2000 年代後半に起源をもつ新しいものが多いことがわかった。Subtype B の感染クラスターは 1990 年代後半から発生し始め、2000 年ごろに輸入のピークを持っていた。CRF02_AG の感染クラスターの起源は、2000 年代後半であった。その他の組換え体それぞれについて記述疫学および分子疫学的解析を行なったところ、CRF02_AG は顕著に感染クラスターが多い特徴を持ち女性に多いこと、その他の CRF は元来の流行地出身者や渡航者の感染が多いこと、既知の CRF に属さない構造を持つ組換え体（URF）は構成要素であるサブタイプの流行地出身者や渡航者の感染が多いが、B-01 間のもは国内での生成も疑われる結果となった。

結論：我が国において、CRF01_AE は薬物使用者を中心に大きなクラスターを形成して感染を広げていることが危惧される。一方、Subtype B は日本人男性同性愛者のコミュニティで感染クラスターを形成して感染を広げているが、感染拡大の様式は個々のコミュニティの特性に依存して様々であると推測される。CRF02_AG は、女性中心のいくつかのコミュニティで広がっていることが推測される。その他の組換え体ウイルスは数こそ少ないが、サブタイプごとに薬剤耐性変異、免疫への応答性等が異なるとの報告があることを考えると、疾病対策上特異な地位を占める。