

HIV感染指示細胞による感染性分子クローンの選別

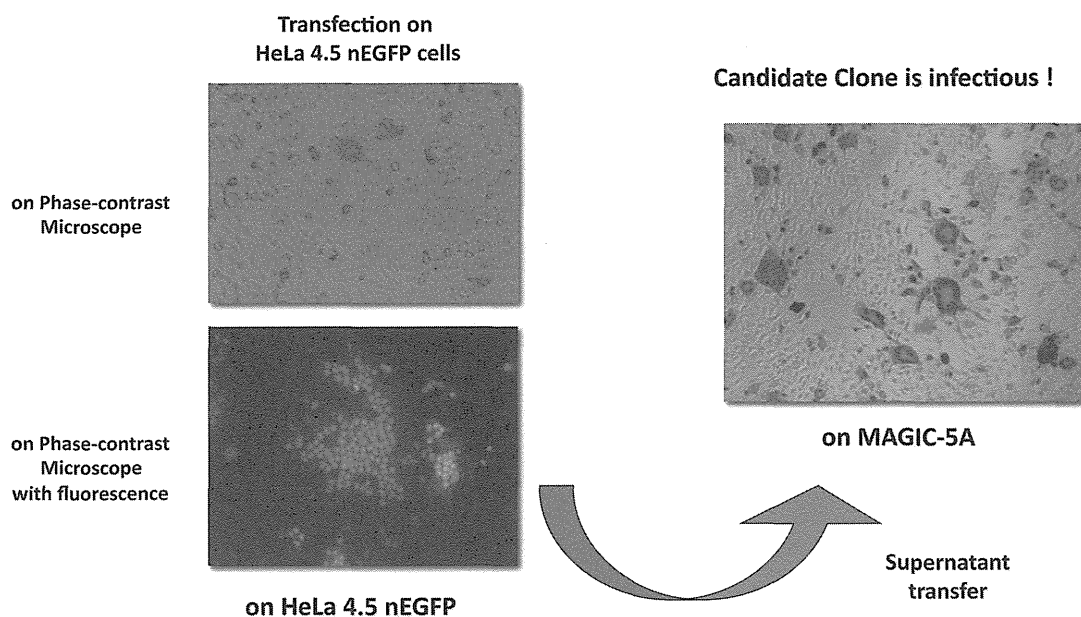


図3

より容易なので少ないウイルス増殖を見逃すことが避けられる利点がある。HIV ウイルス分離法として本法は、通常末梢血混合培養法でウイルス分離が困難な折の代替法として有用であると期待される。

MAGIC-5A 細胞 / 磁気ビーズ法で分離されたウイルスは増幅後、適当な MOI で改めて MAGIC-5A 細胞に感染させて Provirus Copy 数が高い、全ゲノムを増幅するのに適切な鋳型を調製できた。HIV-1 に限らず HIV-2 においても高度に保存されている Primer Binding Site 領域を Primer Design に応用することにより、In-Fusion Cloning 戦略により、これまでのユニークな制限酵素を想定して Primer Design をしなければならなかった Half & Half 戦略より格段に高効率に全ゲノムを保持した感染性分子クローンの樹立が容易になった。この樹立法の習得には、ある程度の慣れは必要ではあるが一般的な遺伝子工学の手技があれば応用可能な段階になったと考えられ、今後薬剤耐性ウイルスの解析において標準法として広く適用されることを期待したい。

E. 結論

長期保存 HIV-1/-2 感染症例血漿から磁気ビーズ / MAGIC-5A 細胞によってウイルスを分離し、In-Fusion Cloning Kit と HIV Trapping System により感染性分子クローンを樹立する標準法を確立した。これまでのウイルス分離法とクローン樹立法に比較して迅速簡易であることから HIV-1 多剤耐性獲

得機序解析のみならず HIV ウイルス解析全般に有用と期待される。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1) 原著論文

1. Koyama T, Sun B, Tokunaga K, Tatsumi M and Ishizaka Y. DNA damage enhances integration of HIV-1 into macrophages by overcoming integrase inhibition. *Retrovirology*. 2013 Feb 21 10:21.
2. Hoque SA, Ohtsuki T, Tatsumi M, Shimizu N, Islam S, Jinno-Oue A, Hoshino H. Lack of the trans-receptor mechanism of HIV-1 infection: CD4- and coreceptor-independent incorporation of HIV-1-resistant cells into syncytia induced by HIV-1. *Microbes Infect*. 2012 Apr;14(4):357-68.
3. Iwabu Y, Kinomoto M, Tatsumi M, Fujita H, Shimura M, Tanaka Y, Ishizaka Y, Nolan D, Mallal S, Sata T, Tokunaga K. Differential anti-APOBEC3G activity of HIV-1 Vif proteins derived from different subtypes. *J Biol Chem*. 2010 Nov 12;285(46):35350-8.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

沖縄における薬剤耐性 HIV の動向調査研究

～琉球大学附属病院における HIV-1 薬剤耐性検査に関する研究～

研究分担者 健山 正男 琉球大学大学院医学研究科 感染症・呼吸器・消化器内科学
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，島袋末美²，上地幸平²，
宮城綾乃²，名護珠美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 感染症・呼吸器・消化器内科学

² 同 検査部

³ 同 看護部

研究要旨

今回、我々は沖縄県における薬剤耐性の現状を把握するため、新規感染者における薬剤耐性サーベイランスを実施した。対象期間は 2010 年 1 月 1 日～2012 年 12 月 31 日に、同期間に 66 人が当院に HIV/AIDS 患者として初診外来受診した。その内、新規感染者の定義を満たすのは 44 人であった。40 人に薬剤耐性 HIV-1 検査を施行した。検査結果として RT 領域に耐性を 3 人に認めた。PI 領域はほとんどの検体に耐性関連変異は認めたが、理論的感受性評価では薬剤耐性 HIV-1 は検出されなかった。琉球大学附属病院はエイズ拠点病院として県内の患者の 70% を診療しており当院における検査結果は県内の状況を反映していると考えられ、沖縄県は今回の検査結果からは薬剤耐性 HIV-1 の未浸淫地域と推定された。

A. 研究目的

新規 HIV 感染者における薬剤耐性変異の頻度を調査し、当院の HIV 感染者/AIDS 患者における HIV 伝搬の疫学的傾向を明らかにする。

B. 研究方法

1. 当院を日本薬剤耐性 HIV-1 調査研究グループとして登録した。
2. 新規登録患者の定義：対象期間内（2007 年 1 月 1 日～2009 年 12 月 31 日）に初めて感染が確認された者。
3. 検体のサンプリングポイント
 - a) 初診時
 - b) 治療開始時
4. 新規登録患者において、本調査の参加の同意を文書にて取得した。
5. 3. a) または b) のポイントで採血し、国立感染症研究所エイズ研究センター第 2 研究グループにて薬剤耐性 HIV-1 検査を行った。

6. 倫理面での配慮

- 1) 個人情報の取得について
利用目的を明確にしたうえで、必要とする範囲内に限り、適法かつ公正な手段によって、個人情報を取得した。
- 2) 個人情報の利用について
個人情報を取得する際に示した本研究の範囲内で、研究の遂行上、必要な限りにおいて利用した。
- 3) 個人情報の第三者提供について
取得した個人情報は、適切に管理し、個人情報保護法に定める例外事項を除き、本人の同意を得ることなく、第三者に提供、開示しなかった。
- 4) 個人情報の開示・訂正・削除・利用停止について
本人から自己の個人情報について、開示・訂正・削除・利用停止などの申し出を受けた場合は、すみやかに必要な措置をとる旨説明したが、研究の全期間を通して申し出はなかった。
- 5) 個人情報の管理について
個人情報の紛失、流出、改ざんおよび漏洩などを防ぐため、個人情報を保有するのは研究代表者の

みとし、情報管理上問題は発生しなかった。

6) 法令等の順守について

個人情報保護に関して適用される法令、国のガイドラインを熟読し順守した。

C. 研究結果

対象期間内に当院外来を受診した HIV/AIDS 患者は 66 人であった。その内、新規登録患者の定義を満たした 44 人中、40 人を今回の調査に登録し検査を施行した。

検体のサンプリングポイントは、全員、治療開始前に設定した。

性別では女性は 1 人のみであった。感染経路は全員が性行為感染であり、38 人が同性間であった。病期は急性感染症を含め HIV キャリアーが 21 人、AIDS が 19 人であった。平均年齢は 37.2 歳であった。

薬剤耐性 HIV-1 薬剤耐性検査では RT 領域では耐性に関与する変異は T69N が 3 例、G190E が 2 例、K103N が 1 例、D67N/D、E138A、V179E、V179I、M184V、T215C、T215E、M230L が各 1 例に認められた。ANRS による薬剤耐性評価では AZT/D4T に対して Possible Resistance が 2 例、EFV/NVP に対して Resistance が 1 例認められた。PI 領域では耐性に関連する変異が全例に認めた。M36I、H69K、L89M による Tipranavir に 1 例 Resistance が認められた。台湾での感染が疑われる 1 名では RT 領域で M184V、Pro 領域では L10F、D30N、L33F、M36L、M46I、L63P、A71T、V82A と Darunavir を除く全ての PI 剤に耐性を示した。

D. 考察

沖縄県における HIV 感染者の増加は 1999 年より顕著となり、2011 年度の人口 10 万人あたりの AIDS の新規届出数は全国 1 位、HIV は 6 位と高い発生率となっている。

琉球大学附属病院はエイズ拠点病院として県内の患者の 70% 以上を診療しており当院における検査結果は県内の状況を反映していると思われる。

当院の初診患者の届出地は 30% が県外である。本県は観光地でもあり国内、国外からの人の入域が活発であり、薬剤耐性 HIV-1 が持ち込まれる可能性が危惧されている。引き続き新規登録患者の薬剤耐性調査を行うことが必要と思われた。今後は県内における拠点病院、保健所をネットワーク化して本調査に組み込み、県内における全ての新規登録患者の調査を行うことが必要と思われた。

E. 結論

新規患者における HIV-1 薬剤耐性変異が当県でも

検出される頻度が年々高まっている。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) 原著論文

- Hibiya K, Tateyama M, Niimi M, Teruya H, Karimata Y, Hirai J, Tokeshi Y, Haranaga S, Tasato D, Nakamura H, Ihama Y, Haroon A, L Cash H, Higa F, Hokama A, Ogawa K, Fujita J. Acquired Immune-deficiency Syndrome with Focal Onset of Mycobacterium avium Infection Displaying a Histological/Genetic Pattern of Disseminated Mycobacteria. *Intern Med* 51(21):3089-3094. 2012.
- Tamaki Y, Higa F, Tasato D, Nakamura H, Uechi K, Tamayose M, Haranaga S, Yara S, Tateyama M, Fujita J. Pneumocystis jirovecii pneumonia and alveolar hemorrhage in a pregnant woman with human T cell lymphotropic virus type-1 infection. *Intern. Med.* 50:351-354, 2011.
- Hibiya K, Tateyama M, Tasato D, Nakamura H, Atsumi E, Higa H, Tamai K, Fujita J. Mechanisms involved in the extension of pulmonary Mycobacterium Avium infection from the pulmonary focus to the regional lymph nodes. *Kekkaku* 86(1):1-8, 2011.
- 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. *Pathology-Research and Practice.* 207(4):262-270, 2011.
- 健山正男, 新里敬, 原永修作, 比嘉太, 那覇唯, 仲村秀太, 田里大輔, 屋良さとみ, 小出道夫, 藤田次郎. A-DROP に基礎疾患と呼吸数を追加したシステムの 30 日死亡予測の検討. *日本呼吸器学会雑誌 別冊* 49(5):343-348. 2011.
- Hibiya K, Furugen M, Higa F, Tateyama M, Fujita J. Pigs as an experimental model for systemic Mycobacterium avium infectious disease. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 34(6): 455-464. 2011.
- Hibiya K, Shigeto E, Iida K, Kaibai M, Higa F, Tateyama M, Fujita J. Distribution of mycobacterial antigen based on differences of histological characteristics in pulmonary Mycobacterium avium infectious diseases-Consideration of the extent of surgical resection from the pathological standpoint. *Pathol Res Pract.* 2011.
- 健山正男, 山口徹, 北原光夫, 福井次矢編.

- HIV-1 感染症 今日の治療指針 2010 年版. P 172-173. 医学書院. 2010.
9. Hattori J, Shiino T, Gatanaga H, Yoshida S, Watanabe D, Minami R, Sadamasu K, Kondo M, Mori H, Ueda M, Tateyama M, Ueda A, Kato S, Ito T, Oie M, Takata N, Hayashida T, Nagashima M, Matsuda M, Ibe S, Ota Y, Sasaki S, Ishigatsubo Y, Tanabe Y, Koga I, Kojima Y, Yamamoto M, Fujita J, Yokomaku Y, Koide T, Shirasaka T, Oka S, Sugiura W. 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.
 10. 日比谷健司, 比嘉太, 健山正男, 藤田次郎. ヒト型結核菌による腸結核における感染と発病の機序. *結核* 85(9) : 711-721, 2010.
 11. Hattori J, Shiino T, Gatanaga H, Yoshida S, Watanabe D, Minami R, Sadamasu K, Kondo M, Mori H, Ueda M, Tateyama M, Ueda A, Kato S, Ito T, Oie M, Takata N, Hayashida T, Nagashima Y, Matsuda M, Ibe S, Ota Y, Sasaki S, Ishigatsubo Y, Tanabe Y, Koga I, Kojima Y, Yamamoto M, Fujita J, Yokomaku Y, Koike T, Shirasaka T, Oka S, Sugiura W. 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.
 12. Hibiya K, Utsunomiya K, Yoshida Y, Toma S, Higa F, Tateyama M, Fujita J. Pathogenesis of systemic mycobacterium avium infection in pigs through histological analysis of hepatic lesions. *The Canadian journal of Veterinary Research* 74, 252-257. 2010.
 13. 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.* 49:1817-21. 2010.
 14. 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.* 40: 15-21. 2010.
 15. Hideta Nakamura, Masao Tateyama, Daisuke Tasato, Syusaku Haranaga, Satomi Yara, Futoshi Higa, Yuji Ohtsuki, Jiro Fujita. Clinical utility of serum β -d-glucan and KL-6 levels in *Pneumocystis jirovecii* pneumonia. *Intern Med.* 48:195-202. 2009.
 16. Hibiya K, Kazumi Y, Nishiuchi Y, Sugawara I, Miyagi K, Oda Y, Oda E, Fujita J. Descriptive analysis of the prevalence and the molecular epidemiology of Mycobacterium avium complex-infected pigs that were slaughtered on the main island of Okinawa. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 33:401-21. 2010.
 17. 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.* 74:252-7. 2010.
 18. Satoshi Toma, Tsuyoshi Yamashiro, Shingo Arakaki, Joji Shiroma, Tatsuji Maeshiro, Kenji Hibiya, Naoya Sakamoto, Fukunori Kinjo, Masao Tateyama, and Jiro Fujita. Inhibition of intracellular hepatitis C virus replication by nelfinavir and synergistic effect with interferon- α . *J Viral Hepat.* 16:506-12. 2009.
- 2) 学会発表
1. 健山正男, 田里大輔, 仲村秀太, 仲松正司, 宮城一也, 原永修作, 比嘉太, 藤田次郎. HIV に関連した神経認知障害の臨床的検討. 第 86 回日本感染症学会総会・学術講演抄録 86 : 326, 2012.
 2. 健山正男, 比嘉太, 田里大輔, 宮城一也, 原永修作, 藤田次郎. 行政と連携し集団予防内服により 2 次感染を抑制できた劇症型髄膜炎菌性肺血症症例. 第 60 回日本化学療法学会学術集会プログラム・抄録集, 60 : 287, 2012.
 3. 前城達次, 田中照久, 平田哲生, 田里大輔, 比嘉太, 健山正男, 金城福則, 藤田次郎. HIV/HBV 重複感染症における Tenofovir 及び Emtricitabine による抗 HBV 効果の検討. 第 86 回日本感染症学会総会・学術講演抄録 86 : 437, 2012.
 4. 田里大輔, 健山正男, 仲村秀太, 古堅誠, 宮城一也, 原永修作, 屋良さとみ, 比嘉太, 藤田次郎. AIDS 患者に発症した非結核性抗酸菌症 5 例の検討. 第 87 回日本結核病学会総会講演集 87 : 309, 2012.
 5. 田里大輔, 健山正男, 仲村秀太, 狩俣洋介, 仲松正司, 金城武士, 古堅誠, 宮城一也, 前城達次, 原永修作, 屋良さとみ, 比嘉太, 藤田次郎. 赤痢アメーバ大腸炎・肝膿瘍に腸結核および肝結核を合併した AIDS の 1 例. 第 82 回日本感染症学会西日本地方会学術集会プログラム・講演抄録集, 225, 2012.
 6. 山腰晃治, 田里大輔, 健山正男, 仲村秀太, 狩俣洋介, 仲松正司, 金城武士, 古堅誠, 宮城一也, 原永修作, 屋良さとみ, 比嘉太, 藤田次郎. HIV 感染症に合併した治療に難渋した陰部単純疱疹 (HSV-1) の 1 例. 第 82 回日本感染症学会西日本地方会学術集会 プログラム・講演抄録集, 227, 2012.
 7. 狩俣洋介, 比嘉太, 平井潤, 仲村秀太, 田里大輔, 仲松正司, 玉寄真紀, 金城武士, 宮城一也, 原永修作, 健山正男, 藤田次郎. ヒト・メタニューモウイルス感染症に合併した肺炎 24 例の臨床的検討. 第 82 回日本感染症学会西日本地方会学術集会プログラム・講演抄録集, 288, 2012.

8. 新里彰, 宮城一也, 稲嶺盛史, 田里大輔, 金城武士, 玉寄真紀, 原永修作, 比嘉太, 健山正男, 藤田次郎. インフルエンザ肺炎との鑑別を要したサイトメガロ、ニューモシスチス合併肺炎の 1 症例. 第 69 回日本呼吸器学会・日本結核病学会九州支部秋季学術講演会プログラム・講演抄録, 119, 2012.
9. 平井潤, 原永修作, 狩俣洋介, 仲村秀太, 上地華代子, 仲松正司, 宮城一也, 屋良さとみ, 比嘉太, 健山正男, 藤田次郎. 遺伝子解析で明らかとなったマクロライド耐性
10. 仲村秀太, 健山正男, 田里大輔, 前田サオリ, 宮城京子, 原永修作, 比嘉太, 藤田次郎. 当院 HIV 感染者における骨代謝以上の有病率とその危険因子に関する検討 - 第 2 報 -. 第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会 プログラム・抄録集, 14: 455, 2012.
11. 仲里愛, 富永大介, 健山正男, 田里大輔, 仲村秀太, 宮城京子, 前田サオリ, 原永修作, 比嘉太, 石内勝吾, 藤田次郎. HAND における前頭葉機能障害と精神症状の関連. 第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会 プログラム・抄録集, 14: 409, 2012.
12. 仲里愛, 健山正男. HIV 関連神経認知障害 (HAND) 診断の実際と今後の展開. 第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会プログラム・抄録集, 14: 199, 2012.
13. 健山正男, 井濱容子, 深沢真希, 田里大輔, 仲村秀太, 仲里愛, 原永修作, 宮城一也, 比嘉太, 藤田次郎, 宮崎哲次, 宮城京子, 前田サオリ. 沖縄県の法医解剖症例における HIV 感染率の前方視的検討. 第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会 プログラム・抄録集, 14: 412, 2012.
14. 椎野禎一郎, 服部純子, 瀧永博之, 吉田繁, 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, 南留美, 健山正男, 杉浦瓦. 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・総会プログラム・抄録集, 14: 211, 2012.
15. 服部純子, 瀧永博之, 渡邊大, 長島真美, 貞升健志, 近藤真規子, 南留美, 吉田繁, 森治代, 内田和江, 椎野禎一郎, 加藤真吾, 千葉仁志, 佐藤典宏, 伊藤俊広, 佐藤武幸, 上田敦久, 石ヶ坪良明, 古賀一郎, 太田康男, 山元泰之, 福武勝幸, 古賀道子, 岩本愛吉, 西澤雅子, 岡慎一, 伊部史朗, 松田昌和, 林田庸総, 横幕能行, 上田幹夫, 大屋正義, 田邊嘉也, 白阪琢磨, 小島洋子, 藤井輝久, 高田昇, 山元政弘, 松下修三, 藤田次郎, 健山正男, 杉浦瓦. 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・総会プログラム・抄録集, 14: 245, 2012.
16. 西島健, 高野操, 石坂美千代, 瀧永博之, 菊池嘉, 遠藤知之, 堀場昌英, 金田暁, 鯉渕智彦, 内藤俊夫, 吉田正樹, 立川夏夫, 横幕能行, 松下修三, 健山正男, 田邊嘉也, 満屋裕明, 岡慎一. 初回治療でアタザナビル/リトナビルを固定しエブリコムとツルバダを無作為割付するオープンラベル多施設臨床試験: ETstudy96 週結果. 第 17. 前田サオリ, 宮城京子, 健山正男, 石川章子, 田里大輔, 仲村秀太, 石郷岡美穂, 大城市子, 吉本なるよ, 新江裕貴, 諸見牧子, 仲里愛, 下地孝子, 藤田次郎. 定期受診が遵守できない患者の要因の検討. 第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会プログラム・抄録集, 14: 361, 2012.
18. 宮城京子, 前田サオリ, 健山正男, 石川章子, 田里大輔, 仲村秀太, 石郷岡美穂, 大城市子, 吉本なるよ, 新江裕貴, 諸見牧子, 仲里愛, 下地孝子, 藤田次郎. 沖縄県におけるコーディネーターナースの活動状況. 第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会プログラム・抄録集, 14: 373, 2012.
19. 仲村秀太, 健山正男, 田里大輔, 平井潤, 宮城一也, 狩俣洋介, 金城武士, 玉寄真紀, 仲松正司, 古堅誠, 原永修作, 比嘉太, 藤田次郎. S 状結腸穿孔から右大腿部筋膜間膿瘍を併発した一例. 第 82 回日本感染症学会西日本地方学術集会プログラム・講演抄録, 244, 2012.
20. 渡慶次賀博, 原永修作, 仲村究, 仲村秀太, 田里大輔, 照屋宏充, 上地華代子, 玉城佑一郎, 屋良さとみ, 比嘉太, 健山正男, 藤田次郎. 迅速インフルエンザ抗原陰
21. 狩俣洋介, 健山正男, 照屋宏充, 田里大輔, 平井潤, 仲村秀太, 宮城一也, 原永修作, 比嘉太, 藤田次郎. Ga シンチ検査で cold spot をきたした Mycobacterium avium 培養陽性の後縦隔腫瘍の 1 例. 第 81 回 日本感染症学会西日本地方学術集会 プログラム・講演抄録 138, 2011.
22. 仲里愛, 富永大介, 田里大輔, 宮城京子, 前田サオリ, 仲村秀太, 原永修作, 比嘉太, 健山正男, 藤田次郎. HIV 関連神経認知障害 (HAND) の神経心理学的評価. 第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会 プログラム・抄録集, 13: 427, 2011.
23. 田里大輔, 健山正男, 仲里愛, 宮城京子, 前田サオリ, 仲村秀太, 原永修作, 比嘉太, 富永大介, 藤田次郎. 神経心理学検査にて早期に HIV 関連神経認知障害 (HAND) を捉えることができた急性 HIV 感染症の 2 例. 第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会プログラム・抄録集, 13, 427, 2011.
24. 田里大輔, 健山正男, 稲嶺盛史, 日比谷健司, 玉城佑一郎, 原永修作, 屋良さとみ, 比嘉太, 丸山総一, 藤田次郎. 結核性リンパ節炎と鑑別を要した高齢者 猫ひっかき病の 1 例. 日本内科学会雑誌 100(7):1969-1971. 2011.
25. 健山正男, 井濱容子, 深沢真希, 錦戸雅春, 宮城京子, 仲村秀太, 田里大輔, 原永修作, 比嘉太, 藤田次郎, 宮崎哲次, 大城市子, 前田サオリ,

- 石郷岡美穂. 部検例における長期 ART 患者の動脈硬化の病理学的検討. 第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会 プログラム・抄録集, 13, 359, 2011.
26. 健山正男, 糸数公, 比嘉太, 日比谷健司, 原永修作, 藤田次郎. 沖縄県における新型インフルエンザ入院症例 242 例の検討. 感染症学雑誌. 84: 231, 2010.
27. 清水佐知子, 赤嶺盛和, 那覇唯, 内原照仁, 親川幸信, 比嘉太, 健山正男, 藤田次郎. 救命しえた重症新型インフルエンザ肺炎の 1 例. 沖縄医学会雑誌 49: 61, 2010.
- 健山正男. "肺 MAC 症の進展機序解明へのアプローチ—エイズと健常人の病理像から見えたもの—". 第 65 回日本呼吸器学会・日本結核病学会九州支部秋季学術講演会プログラム・抄録集 63, 2010.
28. 仲村秀太, 健山正男, 田里大輔, 照屋宏充, 上地華代子, 仲村究, 古堅誠, 玉城佑一郎, 原永修作, 屋良さとみ, 比嘉太, 藤田次郎. 慢性壊死性肺アスペルギルス症に Rasmussen's aneurysm を併発するもボリコナゾールで軽快した AIDS の 1 例. 第 65 回日本呼吸器学会・日本結核病学会九州支部秋季学術講演会 2010 熊本
29. 仲村秀太, 健山正男, 田里大輔, 原永修作, 比嘉太, 藤田次郎. 当院 HIV-1 感染者における骨代謝異常の有病率とその危険因子に関する検討. 日本エイズ会誌 .12: 319, 2010.
30. 田里大輔, 健山正男, 仲里愛, 宮城京子, 仲村秀太, 原永修作, 比嘉太, 富永大介, 藤田次郎. アドヒアランスが確保できない HIV 脳症患者へのアプローチ (1) ~ガイドライン通りにはいかない症例への HAART 導入~日本エイズ会誌 .12: 419, 2010.
31. 仲里愛, 富永大介, 田里大輔, 宮城京子, 仲村秀太, 原永修作, 比嘉太, 健山正男, 藤田次郎. アドヒアランスが確保できない HIV 脳症患者へのアプローチ (2) ~スクリーニング検査の限界と神経心理学検査の有用性について~日本エイズ会誌 .12: 420, 2010.
32. 大城市子, 與那嶺敦, 渡久山朝裕, 平安良次, 仲村秀太, 田里大輔, 宮城京子, 健山正男. 地域における陽性者交流会の試み. 日本エイズ会誌 .12: 354, 2010.
33. 宮城京子, 石川章子, 健山正男, 藤田次郎. 当院における HIV 看護に関する看護スタッフ教育プログラムの実践報告. 日本エイズ会誌 .12: 465, 2010.
34. 宮城京子, 石川章子, 石郷岡美穂, 仲程ひろみ, 嘉数光一郎, 向井三穂子, 椎木創一, 佐久川あや子, 健山正男, 藤田次郎. 沖縄県における自立困難患者の療養環境整備に関して. エイズ予防財団. 平成 21 年度「ケア応用編研修会」, 2010.

H. 知的所有権の出願・取得状況 なし

HIV 存在下における HBV 及び HCV 遺伝子解析

～ HIV 存在下における HBV 遺伝子解析と治療法の検討～

研究分担者 田中 靖人 名古屋市立大学大学院医学研究科 教授

研究協力者 渡邊 綱正 名古屋市立大学大学院医学研究科 講師

研究要旨

ウイルス学的に近縁な集団を多く認める東海ブロック拠点病院における HBV 感染症の特徴を HIV 合併の有無により比較検討し、その臨床像および抗 HIV 剤による治療効果を明らかとし薬剤耐性 HIV の関与を調査した。さらに HBV 治療目的である HBs 抗原陰性化率が高いとされるペグインターフェロン製剤 (PEG-IFN) を用いて、核酸アナログに追加する PEG-IFN 併用療法を行い、その有効性を検討した。HIV 陰性 HBV 感染 28 症例と HIV 合併 HBV 感染 45 例の検討から、HIV 非合併 HBV 例に比べて HIV/HBV 重感染例は臨床背景の均一な集団であることが確認された。また、HIV 存在下の HBV 感染症では免疫能の低下を示唆する血中 HBV DNA 高値と肝炎の程度が軽微であることが明らかとなった。HIV 合併 HBV に対する抗 HIV 療法の開始後、HIV、HBV ともに耐性ウイルス出現は 1 例も認めず、抗 HIV 療法は HIV のみならず血中 HBV DNA 制御に対しても有効であった。しかし、一部の症例では 2 年以上の長期にわたる抗 HIV 療法を行っても HBs 抗原が消失せず、PEG-IFN を追加する併用療法を行い HBs 抗原の消失ないし減少を認めた。HIV 合併 HBV 例に対する現行の抗 HIV 療法では、HIV 耐性ウイルス出現を 1 例も認めず HBV 制御に対しても有効であるが、HBV による発癌を阻止するためには追加する PEG-IFN 療法が有効である可能性が示唆された。

A. 研究目的

日本の B 型肝炎ウイルス (HBV) 感染は、HIV 感染と同様、主に性感染症として伝播し、一部の HIV-1 感染者間に HBV 重感染が検出される。最近の本邦のデータでは、HIV-1 感染者の約 6% に B 型肝炎ウイルス (HBV) との重感染が検出される。特に、東海ブロックの拠点病院における HIV/HBV 重感染症例のウイルスゲノム系統樹解析から、HIV サブタイプの分布に比べて HBV 遺伝子型は均一なクラスターを形成していることが報告されている。今後は、HIV/HBV 重感染症の蔓延化に伴う薬剤耐性 HIV の出現も危惧されることから、現状における HIV/HBV 重感染者の臨床的特徴を明らかとし、さらに HBV 治療の目的である HBs 抗原陰性化率が高いとされるペグインターフェロン製剤 (PEG-IFN; ペガシス) を用いた治療法を検証し、その有効性を明らかとすることを目的とした。

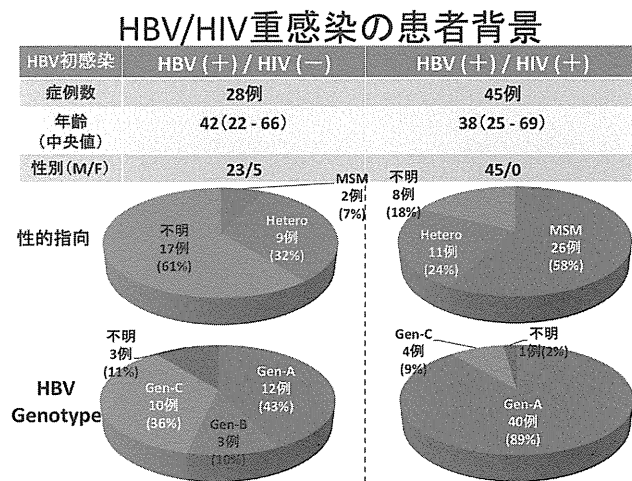
B. 研究方法

2005～2010 年までに名古屋市立大学病院および名古屋医療センターで HBV 初感染と診断された

HIV 陰性 HBV 感染 28 例と HIV 合併 HBV 感染 45 例を対象とした。さらに HIV/HBV 重感染症例に対する治療法として、抗 HBV 活性を有する NA (テノフォビル; TDF) を含む抗 HIV 療法 (ART) を開始後も 2 年以上 HBs 抗原陽性で推移する HIV 合併 HBV 遺伝子型 A (HBV/A) 症例に対し PEG-IFN を追加する NA add-on PEG-IFN 併用療法を行い、HBs 抗原陰性化の可能性を検討した。今回検討した事項は、既存の臨床検査データとカルテ記載内容に留めることとし、解析データの公表に際しては個人情報保護を徹底した。具体的には、本検討に用いた HIV 関連血清マーカー、HBV 関連血清マーカーは通常診療において測定された結果を用いたものであり、追加の検体採取は行わないため安全性に問題はない。またインフォームドコンセントの取得された症例のみを取り扱い、使用にあたっては連結不可能匿名化を行うことで被験者のプライバシーは完全に保護することとした。本試験で結果を公表する際は、被験者・協力者を特定できる情報を含まないこととし、ヘルシンキ宣言の精神、「臨床研究に関する倫理指針」を遵守して実施した。

C. 研究結果

HIV 合併 HBV 例の臨床的特徴は、HIV 陰性 HBV 例に比べて年齢（中央値）が若く（38 歳 VS 42 歳）、HIV 合併例では全例が男性であり、うち 58% が MSM (Men who have sex with men) であった。さらに HBV 遺伝子型については、HIV 陰性 HBV 例では 43% が遺伝子型 A であるのに対して HIV 合併 HBV 例では 89% が HBV 遺伝子型 A であった。



HIV 合併 HBV 例では 22% のみ肝炎を発症した後診断され、49% は診断時に肝炎無症候性であった。経過中の血中 HBV DNA 値は HIV 陰性例に比較し 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。さらに HBV 排除を示唆する HBs 抗原消失までの期間は、HIV 非合併 HBV 例では全例が約 1 年以内に HBs 抗原陰性化するのに対し、HIV 合併 HBV 例では HBs 抗原陰性化までの期間が長く、さらに約 3 割が HBs 抗原持続陽性で推移した。次に HBV 遺伝子型 A のみに限定し検討すると、HIV 合併 HBV 例における肝炎の病態は 32% が自然発症の急性肝炎を呈し、54% が抗 HIV 療法開始後の免疫再構築症候による肝炎（IRH）を発症した。HIV 合併 HBV 遺伝子型 A の自然肝炎発症例では、HIV 陰性 HBV 遺伝子型 A 症例に比して優位に肝炎の程度が軽微であったが（ALT; $p=0.009$, T-Bil; $p=0.024$ ）、抗 HIV 療法開始後 2 年以内に全例が HBs 抗原の消失を認めた。一方、IRH 発症後の HBs 抗原消失に関連する因子として、肝炎の程度（ALT; $p=0.011$, AST; $p=0.019$ ）が優位差を呈したが、治療開始前の HBV DNA 量、HIV RNA 量、CD4/CD8 数は差を認めなかった。

次に、IRH 発症後も HBs 抗原消失せず 2 年以上 ART を継続する 4 例に対して、PEG-IFN の add-on

療法を行った。対象は HIV 合併 HBV/A の 4 症例で、その臨床背景は、全例が男性かつ MSM (men who have sex with men) であり、年齢分布は 2 例が 30 歳代、1 例が 40 歳代、残り 1 例が 60 歳代であった。PEG-IFN 併用開始直前の HBs 抗原量は、2 例が低値、2 例は高値を呈していた。全例で PEG-IFN 併用療法による HBs 抗原低下効果を認め、特に併用開始前 HBs 抗原低値の 2 例では、いずれも当初の目的である HBs 抗原陰性化を呈し、さらに 1 例では HBs 抗体陽性（いわゆる HBs のセロコンバージョン）となった。また、併用前の HBs 抗原高値例において PEG-IFN の増量（90 μ g から 180 μ g）による治療効果の増強を認めた。

D. 考察

HIV 合併 HBV 例に対する現行の抗 HIV 療法は HBV 制御に対して有効であり、また今回対象とした 45 例の HIV/HBV 重感染例中に耐性ウイルス出現は 1 例も認めることなく、HIV に対しても良好な治療効果を呈していた。ただし、HBV に対する治療目標を HBs 抗原陰性化とすると、一部の症例では治療効果は充分ではなかった。HBV 感染症は、長期予後として肝臓癌を発症することが知られており、この肝臓癌のリスク因子は、HBV-DNA と HBs 抗原量が報告されている。したがって、TDF を含んだ ART による治療のみで HBs 抗原陰性化が得られない例では、長期的な発癌の問題が解消されない。したがって、今回の PEG-IFN を add-on する治療法により積極的に HBs 抗原を陰性化することが HIV/HBV 重複感染例の予後を改善することが期待される。さらに、HIV/HBV 重複感染例の第一選択薬である TDF には、長期使用に伴う腎機能障害の副作用が懸念される。今後、PEG-IFN 併用により、HBs 抗原陰性化から HBs 抗体陽性となる HBs セロコンバージョンが得られれば、HBV に対する作用を考慮しない ART に変更可能となる。さらに、治療薬選択の幅が広がることにより、HIV 耐性ウイルス出現リスクの軽減にも繋がると考える。

E. 結論

HIV 合併 HBV 例に対する現行の抗 HIV 療法は HBV 制御に対して有効であり、HIV/HBV 重感染例中に耐性ウイルス出現は 1 例も認めることなかった。ただし、HBV 治療目標は HBs 抗原陰性化による生命予後改善であることから、NA add-on PEG-IFN 併用療法を検討した。この治療は HBs 抗原陰性化を目指す治療方針に合致し、また HIV 耐性ウイルス出現を 1 例も認めることなく、今後の有用性が示

唆された。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1) 原著論文

1. Watanabe T, and Tanaka Y. Reactivation of hepatitis viruses following immunomodulating systemic chemotherapy. *Hepatology Research* 2012; in press.
2. Zhou B, Wang Z, Yang J, Sun J, Li H, Tanaka Y, Mizokami M, Hou J. Novel evidence of HBV recombination in family cluster infections in western China. *PLoS One*. 2012;7(6):e38241.
3. Iijima S, Lee YJ, Ode H, Arold ST, Kimura N, Yokoyama M, Sato H, Tanaka Y, Strebel K, Akari H. A noncanonical mu-1A-binding motif in the N terminus of HIV-1 Nef determines its ability to downregulate major histocompatibility complex class I in T lymphocytes. *J Virol*. 2012;86(7):3944-51.

2) 学会発表雑誌名

1. 日本エイズ学会誌、13 巻 4 号、P205、HBV 新規感染における HIV 重感染の影響についての検討、渡邊綱正、横幕能行、今村淳治、杉浦互、田中靖人
2. 日本肝臓学会雑誌、第 52 巻別冊 3、P733、HIV 合併例を含めた B 型急性肝炎症例の検討、渡邊綱正、杉浦互、田中靖人
3. 肝臓、53 巻 Suppl.3、PA95、B 型肝炎診療「ウイルス増殖と免疫反応から」HIV 治療に伴う B 型肝炎免疫再構築症候群の検討、渡邊 綱正、杉浦 互、田中 靖人
4. 日本エイズ学会誌、14 巻 4 号、P404、HIV 合併 HBV 感染例に対するペグインターフェロン治療、渡邊 綱正、横幕 能行、今村 淳治、杉浦 互、田中 靖人
5. 肝臓、53 巻 Suppl.2、PA741、B 型肝炎既往感染患者における HBs 抗体価の性差、飯尾 悦子、渡邊 綱正、松浦 健太郎、日下部 篤宣、新海 登、藤原 圭、宮木 知克、野尻 俊輔、城 卓志、田中 靖人
6. 肝臓、53 巻 Suppl.2、PA678、HIV 合併 HBV 感染例において核酸アナログ add-on ペグインターフェロン併用療法による HBs 抗原セロコンバージョンの可能性、渡邊 綱正、横幕 能行、杉浦 互、田中 靖人

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～

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

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

研究要旨

2010 年から 2012 年の間で新潟県内の病院で HIV 感染と診断された新規患者 18 名の血中ウイルスについて、遺伝子塩基配列の解析をおこない、薬剤耐性変異の検出とウイルスの性状の分析をおこなった。患者は日本人男性 16 名、女性 2 名であった。感染経路は 14 例が同性間、4 例が異性間の性感染で、1 例の外国人女性は感染地域不明であるがそれ以外はいずれも国内で感染している。2012 年に測定した同性間感染 2 例は、正確な感染時は不明ながら 2010 年と 2011 年にそれぞれ血液検査で陰性が確認されており、従来の検査では稀な感染の早期発見に属するものであったが、前者では免疫機能の低下が進み、すでにエイズ発症の段階に至っていた。

塩基配列から推定された感染ウイルスのクレイドはサブタイプ B が 15 例、CRF01_AE が 3 例であったが、2012 年測定の異性間感染男性の 2 例で検出されたウイルスはいずれもサブタイプ B の特徴をもち、CRF01_AE タイプのウイルスは女性 2 例と男性同性間感染の 1 症例のみみつかっている。薬剤耐性変異は、プロテアーゼ阻害薬に対するマイナー変異を除いて、2010 年測定の男性 1 例に NNRTI の耐性変異 V179D が検出されている。

ウイルスの遺伝子の塩基配列から推定した県内で検出されるウイルス相互の遺伝的関係は、2000 年代後半に至るまでは近縁と認められるものではなく、地域内での感染の蓄積がないことが低い発生率の最大の理由とみてきた。しかし 2011 年の感染・発症の報告数は 12 年ぶりに年間 10 件の大台に達し、2012 年も報告数は 8 件と増加傾向は続いているとみられる。これに対応するように、最近明らかに遺伝的近縁性が高いと認められるウイルスが MSM 症例で相次いで観察されるようになり、2012 年に新たに解析した 2 症例を加えて、3 組 9 症例がこうした範疇に入る結果となった。新潟県における感染の様子は、県域外での感染を主体とするものから県内の MSM 集団内での蓄積へと変化しつつあり、今後の発生数の増加が危惧される。

A. 研究目的

抗 HIV 薬多剤併用治療の普及によるエイズ死亡の減少はめざましいが、治療を受ける患者数の増加とその長期化は一方で薬剤への耐性変異をもったウイルスの増加を招いている。その社会への漏出は今後治療の大きな障害として立ちはだかってくる可能性があり、実態の監視が急務といえる。われわれは 2004 年にはじまる厚生労働省「薬剤耐性 HIV の動向把握のための調査体制確立およびその対策に関する研究」に参加して以来、新潟県内であらたに発生した HIV 感染/エイズ発症の全例について、感染ウ

イルスの分析と耐性変異の保有状況の調査をおこなってきた。大都市圏に比較して地方部の感染の捕捉が手薄な中であって、われわれのデータはこの弱点を補い、国内で流行するウイルスのより正確な全体像の把握に寄与するものと自負している。長期にわたる定点観測的な調査は、耐性変異の問題にとどまらず、さまざまな観点から HIV 感染症の特徴や問題点を浮かび上がらせることにもつながっている。

本研究班の主要な課題である薬剤耐性ウイルスの現状分析に加えて、ウイルス遺伝子の解析で同時に明らかになる感染の疫学的側面をも視野に入れつつ

なお調査を続ける。

(倫理面への配慮)

本研究は新潟大学医学部遺伝子倫理審査委員会の承認のもとに行っている。用いた血液サンプルの解析結果のうち薬剤耐性に関する情報は提供先医療機関に通知しており、治療薬剤の選択の目安として患者本人の利益に還元されるため、単なる調査研究の目的のみの利用とは性格をことにする。サンプル受け入れの際、患者の生年月日、性別、感染時期、感染ルートなど疫学研究に必要な情報の提供を求めているが、氏名、住所などだちに個人の特定に結びつく項目は含まれない。また文書で通知された内容は直ちにデジタル化した後、原書類をシュレッダーで切断廃棄しており、転記したファイルはスクランブル化して保存するなど、情報漏洩により患者が不利益を蒙る恐れを最小にとどめるよう配慮している。

B. 研究方法

解析したサンプル

研究期間中に 18 例の検討を行った。(表 1)。被検者は男性 16 例、女性 2 例であった。全例性行為による感染で、同性間の感染が 14 例、異性間の感染が 4 例となっている。年齢構成は 20 歳代が 3 例、30 歳代が 6 例、40 歳代 5 名、50 歳代 2 名で、1 例 74 歳での発見例があった。これは新潟県内最高

齢での新規患者である。新潟県ではここ数年初診時に 50 代以上の高齢に達している感染者の増加が顕著になってきている(図 1)。

また、予後の改善にともなって通院患者の高齢化もすすんできており当院においては通院患者の 15% が 60 歳以上になってきている。さらに高齢者ほどいきなりエイズでの発見が多いことも問題である。新潟県ではかつて異性間の性行為で感染した患者が過半を占め、また感染ウイルスとして CRF01-AE が検出されることが多かった。しかし、図 2 に示したように、2009 年以降感染経路、検出ウイルスともに、全国の状況と同様、男性同性間の感染 (MSM)、サブタイプ B のウイルスが主となっている。

薬剤耐性変異

本年の解析分を含め、われわれがこれまでに取り扱った検体から検出された薬剤耐性変異の数を表 2 に掲げている。

これまで新潟県内の病院から寄せられた未治療症例の検体から薬剤耐性変異が検出されたのはあわせて 6 例 (V106I 2 例、V108I 1 例、V179D 3 例) あるが、これらはすべて非ヌクレオシド系の RT 阻害薬に対するもので、薬剤への耐性付与の程度は比較的軽微とされる。これらが検出されたのはいずれも MSM 症例で 2006 ~ 2010 年の期間に検出されているが、対象症例数がかつても多かった 2011 年

表 1 2010 年から 2012 年において新規感染 / 発症者を対象におこなった検査数とその概要

(検体はすべて新潟県内の病院から委託されたもの)

Case No	性別	年齢	国籍	感染ルート	推定感染地	推定感染時期	CD4/ μ l	Viral load (per ml)	感染ウイルス
2010	1 男	37	日本	同性間	不明	不明	20	1.6×10^5	Subtype B
	2 男	38	日本	同性間	国内	不明	256	1.0×10^4	Subtype B
	3 女	40	日本	異性間	国内	不明	26	1.3×10^5	CRF01_AE
	4 男	27	日本	同性間	国内	2004 年	68	5.1×10^4	Subtype B
2011	5 男	36	日本	同性間	国内	2010 年	168	1.7×10^4	Subtype B
	6 男	42	日本	同性間	国内	不明	265	1.0×10^4	Subtype B
	7 男	37	日本	同性間	国内	不明	216	1.2×10^3	Subtype B
	8 男	62	日本	同性間	国内	不明	96	9.4×10^4	Subtype B
	9 男	74	日本	同性間	国内	1996 年?	92	2.1×10^4	Subtype B
	10 女	36	タイ	異性間	国外?	不明	4	1.9×10^6	CRF01_AE
	11 男	38	日本	同性間	国内	不明	274	9.1×10^3	Subtype B
2012	12 男	50	日本	異性間	国内	不明	294	1.2×10^5	Subtype B
	13 男	43	日本	同性間	国内	不明	391	2.1×10^4	Subtype B
	14 男	25	日本	同性間	国内	2011~12 年	685	2.2×10^4	Subtype B
	15 男	49	日本	同性間	国内	不明	596	4.2×10^4	Subtype B
	16 男	40	日本	異性間	国内	不明	144	2.4×10^4	Subtype B
	17 男	27	日本	同性間	国内	2010~12 年	21	1.6×10^5	CRF01_AE
	18 男	54	日本	同性間	国内	不明	16	4.2×10^3	Subtype B

表 2 薬剤耐性変異の検出頻度

	未治療群 (N=52)	治療群 (N=33)		未治療群 (N=52)	治療群 (N=33)		未治療群 (N=52)	治療群 (N=33)
NRTI			NNRTI			PI major		
M41L	0	4	K101EHP	0	2	D30N	0	1
D67L	0	4	K103N	(2) ^f	7	M46IL	0	4
T69_ins	(2) ^{ab}	(2) ^{bc}	V106IAM	3	0	I54ML	0	1
K70R	0	2	V108I	1	1	V82AFLS	0	1
L74V	0	2	V179DF	4(1) ^g	1	I84V	0	1
M184VI	0	12	Y188CLH	0	3	N88S	0	2
L210W	(1) ^d	2	P236L	0	1	L90M	0	2
T215YF	(1) ^e	3						
K219QE	0	2						

- 注 1 本表に掲げた症例数は、新潟県以外の都病院から依頼されておこなった検査分も含まれる。
- 注 2 薬剤耐性変異の定義は International AIDS Society-USA 2010 による。() 内の数字は定義部位検出された非典型的なアミノ酸置換が認められた症例数を示す。a:T69A, b:T69Nb: c:T69S, d:L210F, e:T215E, f:K103R, g:V179A。
- 注 3 インテグラーゼ阻害薬(ラルテグビ)に対する耐性変異についても調査している(新規症例 24, 既治療症例 11)が、これまでに検出例はない。

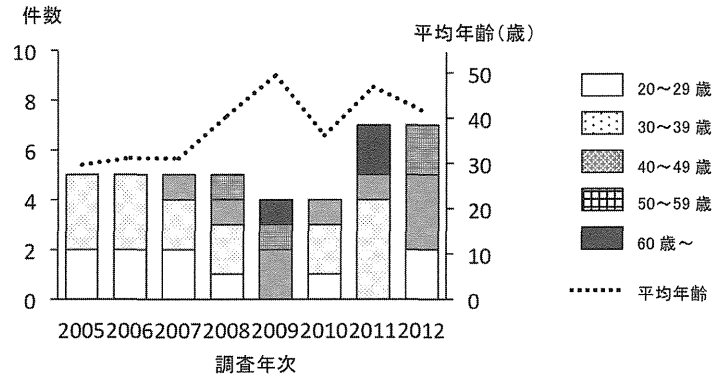


図 1. 新潟県内における新規症例の 被験者の年齢 (調査時) 分布

に引き続き、本年も 1 例もみだされなかった (図 3)。

新規症例でこれまでに検出されている耐性変異については、薬剤治療といった実際面への影響はすくないものの、その由来については示唆に富むものといえる。これらの変異は薬剤治療の継続中に単独で現われることはまずなく、より強い耐性を獲得したウイルスに後から付加的に生じるのが普通で、既知量患者から検出されるのはむしろ稀である (表 2)。おそらくは治療歴のある感染者から広がったウイルスが、その後伝播を繰り返していく過程で薬剤の存在しない環境下ではフィットネスが劣る強い耐性変異を失い、耐性への関与が小さい代わりにそうした

排除の影響も比較的受けにくい V179D などの変異だけが生き残った姿と考えられる。耐性変異が検出された 6 例の中には、それ自体は薬剤耐性をもたらすものではないが、同一部位での別種のアミノ酸置換が強い耐性を生じるような変異 (T69A /N/T/S、L210F、T215E、K103R、V179A) を (ときに複数) 含むウイルスがいくつか存在する。こうした疑似耐性変異を低下したフィットネスを代償するために生じた不完全な復帰変異とみるならば、これらが元は強い薬剤耐性をもったウイルスに由来するものであるとの推定を支持するデータといえる。

新潟県で検出されるウイルスの特徴

2012 年の 7 件を加え、これまでの調査で新潟県

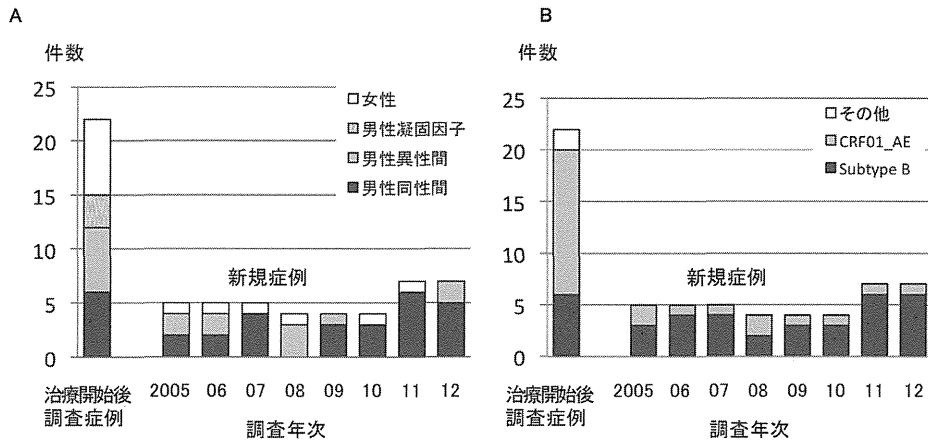
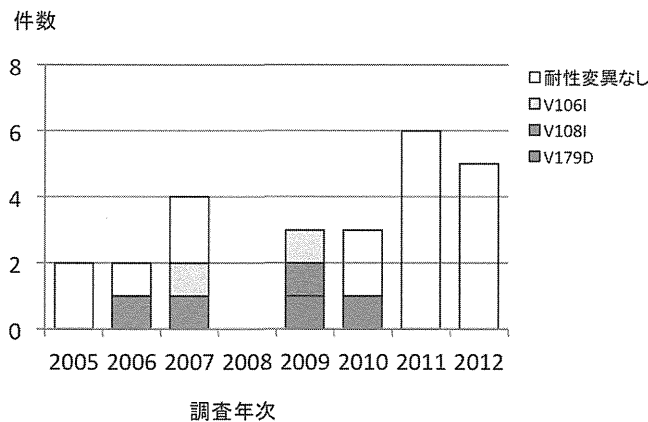


図 2. 調査症例の感染経路 (A), および感染ウイルスのクレイド (B) の内訳

- 注 1 データはすべて新潟県内の病院を受診した患者についてのものである。
- 注 2 治療開始後症例は本調査治療開始 (2005 年) 以前から治療を受けており、その後耐性検査で性状が明らかになった症例すべてを含む。検査自体は現在までの複数年にわたって実施されたものである。



- 注 データはすべて新潟県内の病院を受診した患者についてのものである

図 3. MSM 症例から検出された薬剤耐性変異の頻度

内の病院を受診する HIV 感染者 63 名 (新規症例 43 例、治療開始後症例 20 例) についてウイルスの性状解析をおこなっている。図 4 はこれらウイルスの RNA 配列を、gag p17、プロテアーゼ - 逆転写酵素 (1-240 aa)、インテグラーゼ、gp120 (C2V3) の 4 遺伝子領域について、分子系統樹を作成し比較したものである。

ウイルス間の遺伝的関係を推定すると、2008 年までの調査では遺伝学的な近縁性を想起させるウイルスは全く検出されてこなかった。由来が雑多なウイルスはおそらく県域外の地域 (おそらく大部分は東

京) で、いわば偶発的に感染し、県内に持ち込まれたものと考えられる。しかし、2009 年に既知のウイルス (2007 年に解析) と近縁性が高いウイルスの最初の例が検出されたのを皮切りに、同様の事例が相次いで検出され、本年までに 9 例のウイルスが近縁関係にあると同定されている。これらはすべて男性同性間の感染とされるケースで見いだされており、2009 年以降の新規症例で解析した MSM 症例の約半数 (8/17) がこうしたウイルスの感染によるものとなっている。

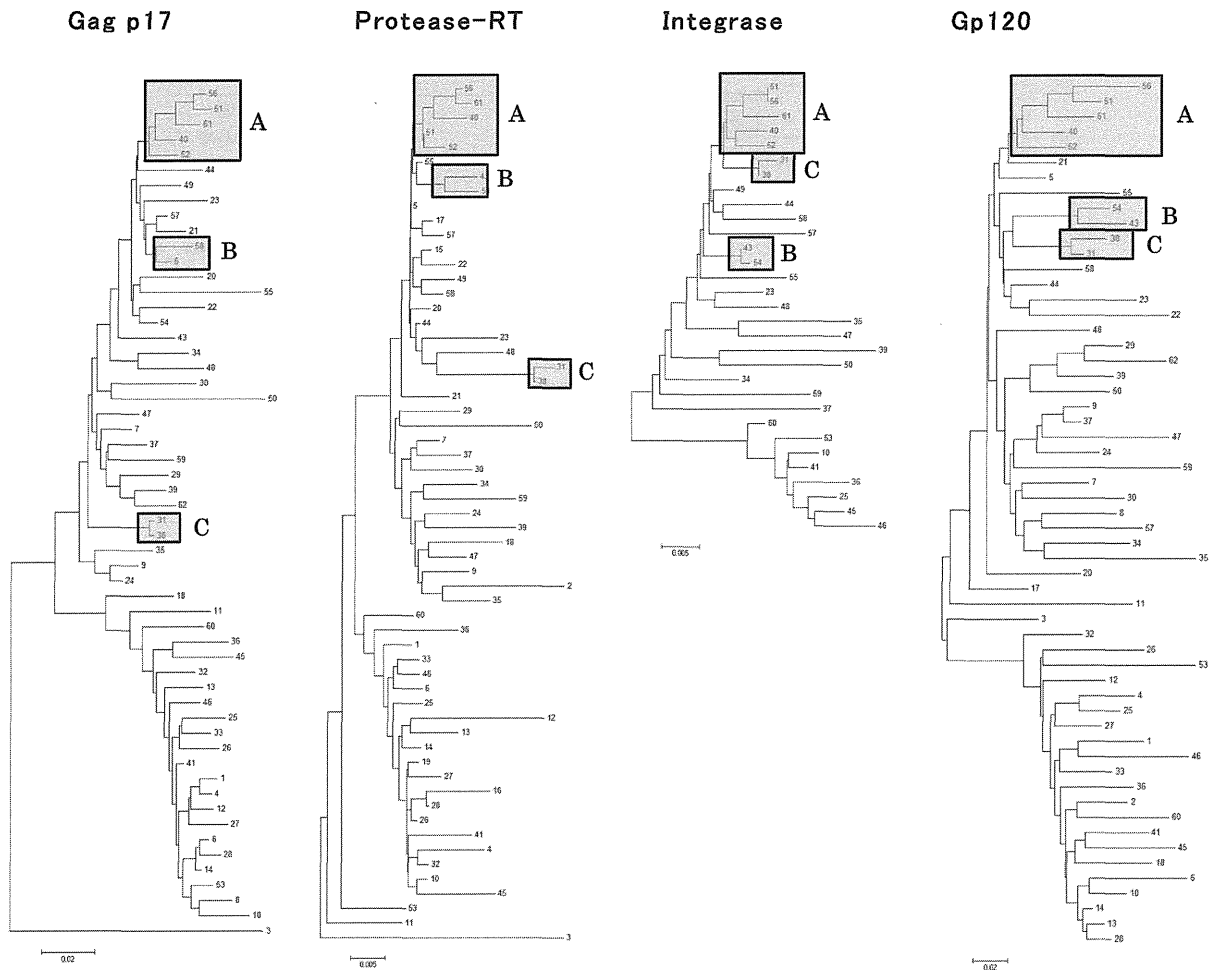


図 4. 新潟県で検出されたウイルスの系統学的関係

D. 考察

われわれがこれまでに起こってきた調査のデータを通覧すると、新潟県の HIV 感染の様相が比較的短期間に次々に変化している様子が見取れる。

新潟県では 1990 年代の後半、感染 / 発症者の報告数（エイズ動向委員会報告）が一過的に急増した時期があるが、この時期の感染者の大半は異性間の感染によるもので、女性も高い割合（約 1/3）で含まれていたことが、調査開始後（2005 年以降）既治療症例として依頼された薬剤耐性検査を通じてわかっていく。検体の解析により明らかになったのは、感染ウイルスの大半は CRF01_AE に属するもので、サブタイプ C や CRF02_AG など国内では稀なクレイドに属するウイルスも検出されている一方で、当時すでに国内感染の大部分を占めていたサブタイプ B のウイルスはむしろ少数である事実であった。RNA 配列から見たウイルス相互の遺伝学的関係はきわめて希薄で、その由来は新潟県との人的交流が活発で HIV の浸透がもっとも進んでいた東京にあった

ことはほぼ間違いないと思われる。MSM の感染が主となりサブタイプ B がそのほとんどであった当時の東京と、上述のような新潟県でのウイルス検出状況の間の際だった違いは、新潟県の感染者の多くは免疫不全が相当に進行した段階で発見、診療を受けているという事実でおおよそ説明できる。新規の発生としてみている感染状況が実際には 10 年近く遡った時点で起きた事象の反映であるとするならば、新潟県で観察されている 1990 年代の後半の異性間感染を中心とした報告数の増加は、1990 年前後の東京など大都市圏での状況、海外へのセックスツアーや性産業に従事する外国人女性によって持ち込まれたウイルスの蔓延、とよく符合する。また、その後の感染 / 発症者の急減は行政機関によっておこなわれたエイズ防止キャンペーン、マスコミ報道による注意喚起の効果と見られよう。

2001 年～ 2010 年の 10 年間の新潟県での新規感染 / 発症者数の合計は 47 人、対人口 10 万人当たりでは 1.97 人で全国平均の 9.84 人を大きく下回り、

47 都道府県中 45 位の低さとなっている。本研究班の年次報告でこれまでしばしば述べたように、新潟県内で採取されたウイルスのほとんどは遺伝学的に大きく懸け離れており、それぞれ感染源を異にしている。検出されるウイルスが遺伝学的に多様な状況が引き続き観察されていることから、感染のほとんどは県域外で生じており、県内での感染の広がりが少ないことがこのひくい HIV 感染の理由であったことは疑いないところであった。

しかし、2010 年から 2012 年の本研究期間における調査結果では MSM 症例で明らかに遺伝学的に近縁と認められるウイルスが検出される例が目立ち初め、その傾向は年々顕著になってきている。MSM 症例についても、異性間感染の場合と同様に、県域外からの流入は減少しつつあり、代わって県内にウイルスの感染源が成立し、近年これが感染を広げる要因となって減少を補ってきていることは明らかである。こうした事象の始まりは、実際には 2000 年代の前半、われわれが本調査を始めた時期にほぼ重なるのではないかと想定している。今になってようやくその徴候をつかんだのが調査の現状といえる。一時 MSM 症例で高頻度に見られた弱い薬剤耐性をもったウイルスが姿を消した点、また感染者の年齢が高年齢層に広がってきた点なども、おそらくこうした感染傾向の遷移に対応したものと思われる。

把握されたウイルスのクラスタが一過的なもので、現に治療中の患者以外には拡大していない可能性はもちろん考えられるが、まだ目に見えない形ですでに県内に広く拡散している事態もまた予想することができよう。

われわれのデータも現在構築が進んでいる国内 HIV のシーケンスデータベースに加えられており、その整備によって県内で採取されたウイルスの由来について時系列的なトレースが可能になると期待している。現在進行している HIV 感染の拡大は、大都市を含む一部の地域にほぼ限局しており、多くの地域では比較的少数にとどまったまま推移してきたが、最近のエイズ問題への関心の低下、危機感の減退を考えると、この状況が将来にわたって継続するかどうかは必ずしも楽観はできない。実際、新潟県における HIV 感染は拡大期に入る徴候を見せており、これには県域内での感染が主にかかわっていることをうかがわせる結果がえられており、新潟県内においてもリスク集団に対するアプローチを検討する必要があると考える。

本年の調査で感染の最終陰性時期が明記されている症例が 2 件存在した。そして残念ながら、うち 1 例では症状の進行が急速ですでに重度の免疫不全の

状態に陥っていた。このことは ACC の中村らが報告 (Intern Med.2011;50(2):95-101.) しているように近年の HIV 感染者は病状の進行がはやまっていることが指摘されていることと一致している。感染の早期発見がより重要なものとなってきていると言える。

E. 結論

新潟県における新規の HIV 感染/エイズ発症数は、昨年へ続き、今年も従来に比べやや増加したが、なお低い水準を維持している。MSM 症例が感染の大多数を占める傾向は最近 4 年間でほぼ定着したとみられるが、その内実は、首都圏（東京）とみられる県域外での感染から、県内に成立した感染集団内部での拡大へと推移しつつあると思われる。今後の調査ではこうした県内感染集団の動向に十分な注意を払っていく必要がある。また 2010 年に陰性を確認している症例において 2012 年時点ですでに AIDS 期にはいつている症例を経験しており HIV 感染症の病状進行の変化を示唆する症例と考えられ、全国的な調査が必要と考え。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1) 原著論文

1. Hattori J 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 Res. 2010 Oct;88(1):72-9.
2. Honda M et. al. : 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(7):699-705. Epub 2011 Apr 1
3. 田邊 嘉也：新潟大学医歯学総合病院感染管理部の成り立ちと本県における HIV 診療の変遷と今後. 新潟医学会雑誌 126 (10) :p515-521. 2012.

2) 学会発表

1. 椎野禎一郎、田邊嘉也他：国内感染者集団の大規模塩基配列解析 3～稀少サブタイプとサブタイプ間組み換え体の動向～. 日本エイズ学会. 2012 年 11 月 24 日～ 26 日 横浜
2. 西島健、田邊嘉也他：HIV 感染症の初回治療でアタザナビル/リトナビルを固定しエプジコムとツルバダを無作為割り付けするオープンラベル

- 多施設共同臨床試験：ET study 96 週結果. 日本エイズ学会. 2012 年 11 月 24 日～26 日 横浜
3. 石塚さゆり、田邊嘉也他：「HIV/ エイズ出張研修実施における行政との連携とその効果」. 日本エイズ学会. 2012 年 11 月 24 日～26 日 横
 4. 影向 晃、田邊嘉也他：テノホビルによる尿細管細胞機能障害の可逆性. 日本エイズ学会. 2012 年 11 月 24 日～26 日 横浜
 5. 服部純子、田邊嘉也他：新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性 HIV の動向. 日本エイズ学会 2012 年 11 月 24 日～26 日 横浜
 6. 村山正晃 他：HIV-1 陽性者の唾液中に存在するウイルス DNA の完全性に関する研究. 日本エイズ学会 2011 年 11 月 30 日～12 月 2 日 東京
 7. 西島 健 他：HIV 感染症の初回治療でアタザナビル/リトナビルを固定しエプジコムとツルバダを無作為割り付けするオープンラベル多施設共同臨床試験：ET study. 日本エイズ学会 2011 年 11 月 30 日～12 月 2 日 東京
 8. 菊池 嘉：多施設共同疫学調査における HAART の有効率 2010. 日本エイズ学会 2011 年 11 月 30 日～12 月 2 日 東京
 9. 牧野 麻由子 他：HIV カウンセリングの実践内容の明確化の試み. 日本エイズ学会 2011 年 11 月 30 日～12 月 2 日 東京
 10. 牧野 麻由子：「看護師のためのケースカンファレンス～第 2 弾 多職種との包括的アセスメントから看護支援を考える～」. 日本エイズ学会 2011 年 11 月 30 日～12 月 2 日 東京
 11. 須貝めぐみ 他：エイズ拠点病院から地域医療機関への患者紹介の現状その 1、その 2. 日本エイズ学会 2011 年 11 月 30 日～12 月 2 日 東京
 12. 石塚さゆり 他：「新潟県内診療所における HIV 抗体検査に関する調査」. 日本エイズ学会 2011 年 11 月 30 日～12 月 2 日 東京
 13. 田邊嘉也：免疫再構築症候群として発症した CMV 脳室炎の 1 例. 第 12 回北関東・甲信越 HIV 感染症症例検討会 2012 年 1 月 28 日 高崎市
 14. 池 睦美 他 HIV 患者の血液透析療法における管理. 第 37 回東北腎不全研究会. 2010.8.28～29
 15. 川口 令 他 HIV 患者の血液透析療法における管理 (一部改変して発表). 第 11 回北関東・甲信越 HIV 感染症症例検討会 2011.1.29
 16. 田邊 嘉也：透析室の感染症対策 ～その重要性と特殊性～. 第 37 回東北腎不全研究会 2010.8.28～29
 17. 田邊 嘉也：「Trends in Niigata area epidemic of HIV-1 infection and transmitted Drug-resistant HIV-1 of newly diagnosed Patients」. Japan-Russia International Workshop 2010.5.29
 18. 三船 大樹他：免疫再構築症候群として発症した CMV 脳室炎の 1 例. 新潟日和見感染症研究会 2010.9.22 新潟市
 19. 須貝 恵 他：「拠点病院診療案内」の作成効

果の検討 (その 2) . ～拠点病院の回答から今後の課題へ～. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会 2010. 1.26～28

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

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～

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 研究員

研究要旨

患者血中に微小集族として存在する薬剤耐性 HIV が、将来の抗 HIV 療法 (cART) に影響を及ぼす可能性が示唆されている。効果的な cART のためには薬剤耐性検査を行い、cART を開始する前に効果が期待できる抗 HIV 薬を選択することが重要である。通常の薬剤耐性検査には、ダイレクトシーケンス法 (通常法) を用いるのが一般的であるが、この通常法では血中に約 20% 以下の割合で存在する微少な薬剤耐性変異の検出は難しく、微少な薬剤耐性変異までを含めた詳細な薬剤耐性 HIV の把握は難しいとされる。そこで患者血中に 1% 以下の割合で存在する薬剤耐性変異を検出できる、定量 PCR の技術を応用した高感度薬剤耐性 HIV 検査法 (高感度法) を開発し、この方法を用いて微少な薬剤耐性変異の検出を試みた。高感度法で検出可能な薬剤耐性変異は核酸系逆転写酵素阻害剤 (NRTI) 耐性変異の M41L、K65R、K70R、M184V、T215F/Y の 6 変異、非核酸系逆転写酵素阻害剤 (NNRTI) 耐性変異の K103N、Y181C の 2 変異及びプロテアーゼ阻害剤 (PI) 耐性変異の M46I/L、L90M の 3 変異の合計 11 変異とした。解析対象として 2008 年 1 月から 2009 年 12 月にかけて名古屋医療センターで薬剤耐性検査を行ったサブタイプ B の新規未治療患者 149 検体を選択し、高感度薬剤耐性 HIV 検査で解析した。その結果通常法では検出されなかった薬剤耐性変異が逆転写酵素領域で新たに計 6 個、プロテアーゼ (PR) 領域で新たに計 24 個検出され、薬剤耐性変異の検出頻度はダイレクトシーケンス法の 12.08% から 32.21% に上昇した。また、解析した症例の中に 6 つの耐性変異が検出された症例が 1 例存在した。L90M、M46I/L の 3 つの PI 耐性変異が検出された症例の M46I/L、L90M amplicon のシーケンス解析をした結果、L90M amplicon には M46I/L が検出されず、これらの薬剤耐性変異は患者血中で独立して存在している可能性が示唆された。M46I/L amplicon と L90M amplicon のシーケンスの相違から、異なる HIV 株の重感染の可能性が示唆されたため、この症例の PR 領域のクローニングを行って系統樹解析を行ったところ、M46I/L を持つ配列は持たない配列 (野生型) の配列と系統樹上で同じクラスターに位置し、検出された M46I/L を持つクローンは重感染によるものではなく、同じ起源の HIV 株であることが示された。また従来の高感度法の M184V 検出系の感度が十分でなく解析できない臨床検体が存在することが明らかになったため、M184V プライマーを新たに設計し M184V 検出系の改良を試みた。

A. 研究目的

新規 HIV 感染患者に対して効果的な抗 HIV 薬剤 (ARV) を選択するには、薬剤耐性検査を行って患者に感染している HIV の薬剤耐性プロファイルを把握することが重要である。通常薬剤耐性検査で使用されるダイレクトシーケンス法 (通常法) は、患者血中に約 20% 以上の比率で存在する薬剤耐性変異

HIV を検出可能だが、それ以下の比率で存在する微小集族薬剤耐性 HIV を検出する事は難しい。近年患者血中に微小集族として存在する薬剤耐性 HIV も、その後の cART に悪影響を及ぼす可能性が報告された。しかしこのような微小集族薬剤耐性 HIV の感染拡大について詳細な解析は行われていない。そこで、定量 PCR の原理を応用して米国疾病対策局 (CDC)