

のARTと介入へのアクセスおよびアドヘレンスについて互いにサポートすることができるということがある。

検査と治療に対するアクセスの増加

また、カップルが一緒に HIV 検査を受けることによって、HIV に感染している（少なくとも残りの半分の）者が特定される。それは、治療に向かわせる効率的かつ効果的な方法なので推進すべきである。さらに、「カップルの HIV 検査相談」（CHTC）は、早期に ART にアクセスする者を増やし、より多くの者に治療の恩恵を恵む重要な介入となることが期待できる。現在、すべての国で、かなりの人々が、HIV 感染「後期」に ART を開始しているので、その効果は制限的である。また現在、HIV の流行が猖獗をきわめる国々ではほとんど、女性は男性よりも頻繁に医療機関に通い、さらに妊婦に対する医療従事者主導の検査相談（PITC）が拡大しているために、女性の方がより多く検査と治療にアクセスしている。

カップルに対する検査相談から、多くの者が利益を受けることが期待できる。HIV 感染者の半数ほどが、HIV 陰性のパートナーと長期間の性的関係にあると推測されている。近年のデータによれば、一般的な流行地における感染者のかなりの割合が、こ

のような片方のみが陽性の組み合わせ（感染不一致カップル）において発生している。このことは一部、性的関係にある多くの者が自分あるいはパートナーの HIV 感染状態を知らなかったことを示すものである。このように、多くの者は、HIV 感染に対して脆弱なまま放置されている。概して、一般住民および医療従事者も同様に、感染不一致の問題をほとんど理解していない。

「カップルの HIV 検査相談」は個人にとっても公衆衛生としても、潜在的にかなりの恩恵が予想されると思われる一方で、これまでのところ、プログラム実施上、十分に配慮されているとは言い難い。HTC に関する従来の指針は、個人を対象とした医療従事者主導および患者主導の HTC にほとんど特化したものである。多くの「HIV 母子感染予防」プログラムにおいて「カップルの HIV 検査相談」が拡大しているものの、感染不一致カップルを含む、一般のカップルのニーズに対する国際的なポリシーと指針はほとんどない。そこで、加盟国はこの格差を鑑み、治療へのアクセス増加を含む予防効果などを支援する観点から、カップルに対する検査相談の予防効果を評価し、かつ HIV 感染不一致カップルにおける予防効果に対する ART の役割を評価するよう、WHO に依頼した。

指針の開発

WHO は、研究教育機関や市民団体、国連と他の国際機関、プログラム実施機関の広範囲なパートナーと協働で、「カップルの

HIV 検査相談」および感染不一致カップルの治療と予防に関する指針を開発してきた。最終勧告では、情報の質、実践の費用と可能性、および医療従事者と地域の価値観および優先度を考慮した。

これまでのエビデンスの評価に基づいて作成された指針では、それがもし実行に移された場合、HIV 感染不一致カップルにおいて HIV 感染を減少させ、かつより一般的には新規感染を予防することを含む、潜在的に極めて広範囲に有益な成果を生み出しことができるように勧告されている。また ART をより効果的に提供すること、および HIV の「HIV 母子感染予防」を支援するような勧告になっている。この指針は、告知に対して互いに助け合うことによって、カップルあるいはパートナーに対する任意の HTC、および出産前ケアの環境において、互いの告知を支援することによってカップルあるいはパートナーに対する任意の HTC を提供するように勧告している。続いて、潜在的な負の結果をモニターする、最小化する方法で実施された時に、一人で検査を受けた人のカップルに対する任意の HTC を提供することも推奨されている。また、この指針は、HIV 感染を減少させるために、たとえ ART が自分の健康を守るのに適していない時にさえ、HIV 感染不一致カップルの陽性のパートナーに ART を提供することを推奨する（「勧告」のボックスを参照）。

「HIV とホルモン避妊に関する WHO の 2012 年 2 月の勧告」（WHO Hormonal contraception and HIV technical statement 16 February 2012）において詳しく述べられているように、注射用ホルモン避妊薬に関連した HIV 感染率増加の可能性（定かではないが）に関して、家族計画サービスにおけるカップル・カウンセリングの重要性が注目されている。注射用ホルモン避妊薬を選択した HIV 感染不一致カッ

プル的女性に対する HIV 感染リスクは、陽性のパートナーが ART を採用することで減らすことができると期待されている。

「カップルの HIV 検査相談」プログラムは多くのところで実施されているが、それは小規模であることが多く、日常業務の中に統合されていない。また、ART が、HIV 感染不一致カップルでの感染予防に効果があることを支持する新たな重要なエビデンスはあるが、それは臨床試験においてであり、それ以外の環境では実践が限定されている。本指針は、実際にそれを実施した場合に考慮すべき主要な運用課題について列記し、そしてこれを実践する場合の受入れ易さと効果をモニターする必要性についても強調している。

実施上の複雑な問題

HIV 感染不一致カップルにおける「カップルの HIV 検査相談」と ART の供給に関する実施課題は複雑である。国あるいはプログラム実施機関が本指針の導入を考慮し始める際、プログラム実施機関が実施上の経験を共有することと、国あるいはプログラム実施機関がそれぞれの環境に照らした実施可能性、受入れ易さ、潜在的なインパクトならびに好ましくない臨床・社会的影響の可能性を評価することが重要であると思われる。本指針を実施に移すかどうかの決定とアプローチは、受け入れる地域の背景によって異なり、利用できる資源やヘルスシステムの能力、流行状況を考慮する必要がある。「カップルの HIV 検査相談」サービスを提供する際、すべての HTC サービスと同様に、守秘義務が遵守され、検査と治

療は強制的、命令的ではなく、常に任意により始めなければならない。

この指針は、中・低所得国、特にサハラ以南のアフリカ諸国のデータと経験に大きく依拠しているので、これらの国々の異性間 HIV 感染不一致カップルに対する実践上の方法と選択肢が強調されている。一方で、流行が特定集団に集中しているか、もしくは有病率が低い国や高・中所得国および高所得国においては、それぞれの政策とプログラムに照らして、本指針を適用することを勧める。

予防のために推奨される ART

本指針は、WHO の ART に関する 2010 年指針の勧告に従って、陽性の疑いのあるパートナーが自らの健康を守るために ART を行うことが適切な場合でも、そうでない場合でも、カップルのうち HIV 陽性のパートナーに対しては ART を提供し、陰性のパートナーに対しては感染予防の手助けをすることを推奨する。後者の場合、まだ本人の健康のためには必要でないかも知れない時点で、生涯にわたる治療を導入することは、個人にとってもプログラムにとっても複雑な問題を引き起こす。個人およびカップルは、たとえば、継続的かつ正しい使用法に則った男性用・女性用コンドーム使用のような一般的な予防介入の活用に加えて、彼ら自身が決定しなければならないすべての局面に配慮することを手助けするカウンセリングから得ることが大きいと思われる。プログラムは、サービスへのアクセスと質および人権を保障する最善の方法などに対する平等の観点に重きを置いて議論し

なければならない。特に、ART の資源が限定されているところでは、他者の感染予防のための早期治療よりも、自分の健康のための治療が常に優先されるべきものである。

勧告を作成した指針開発委員会（グループ）は、同性間のカップルや重要な施策層（セックスワーカー、MSM、トランス・ジェンダー、薬物静注者）のような人々は、カップルの文脈の外にあるものとして、彼らに対する ART の予防効果については検討していない。しかしながら、ART が、対象集団や環境状況を問わず、HIV の性感染リスクを相当程度減らすということは世界の科学者の間では常識になりつつある。

2011 年にかけて、HIV 感染不一致カップルにおける HIV 陰性のパートナーや MSM が、ARVs（たとえば、フマル酸テノホビルジソプロキシルやフマル酸テノホビルジソプロキシルに加えたエムトリシタビンの経口投与）による PrEP（曝露前予防法）によって、HIV 感染を予防することが明らかになった。WHO は現在、これらのデータを解析し審査する仕事に取り掛かっている。MSM コミュニティと HIV 感染不一致異性間カップルにおける PrEP デモンストレーション・プロジェクトを指導・支援するために、WHO は PrEP に関する「早急な助言」を 2012 年に発表する予定である。そして、より詳細な指針を後日出版する予定である。

HIV 感染不一致カップルにおける陽性のパートナーに対して、より早期の治療が提供できるか否かに関わらず、本勧告は、カップルに対する検査相談サービスを拡大することを各国に強く推奨する。

勧告

1. 相互に告知するための支援を行いつつ、カップルおよびパートナーに任意の HIV 検査相談を提供すべきである（弱い根拠に基づく強い勧告）。
2. 相互に告知するための支援を行いつつ、出産前ケアの環境にあるカップルおよびパートナーに任意の HIV 検査相談を提供すべきである（弱い根拠に基づく強い勧告）。
3. 相互に告知するための支援を行いつつ、HIV 感染状況が分かっている人やそのパートナーに、カップルおよびパートナーの任意の HIV 検査相談を提供すべきである（すべての HIV 流行状況におけるすべての者に対する、弱い根拠に基づく強い勧告／各国の流行状況に応じて陰性者に対する、弱い根拠に基づく条件付き勧告）。
4. HIV 感染不一致カップルの陽性者および、自らの健康のために ART を開始した者の陰性パートナーへの感染リスクを減らすために、彼らに ART を提供することを勧告する（高い根拠に基づく強い勧告）。
5. HIV 感染不一致カップルにおける CD4 が 350 個以上 ($/\mu\text{L}$) の感染者に対して、彼らの陰性であるパートナーへの感染リスクを減らすために、ART を提供すべきである（高い根拠に基づく強い勧告）。

17. 薬剤耐性変異の解析法の開発・改良・技術研修に関する研究： 薬剤耐性検査の実用化と衛生研究所等への技術移管

研究分担者	杉浦 互	国立病院機構 名古屋医療センター
研究協力者	瀧永博之	国立国際医療センターACC
	近藤真規子	神奈川県衛生研究所
	森 治代	大阪府公衆衛生研究所
	椎野禎一郎	国立感染症研究所感染情報センター
	岩谷靖雅	国立病院機構名古屋医療センター
	横幕能行	国立病院機構名古屋医療センター
	伊部史朗	国立病院機構名古屋医療センター
	服部純子	国立病院機構名古屋医療センター
	前島雅美	国立病院機構名古屋医療センター
	大出裕高	国立病院機構名古屋医療センター
	松岡沙織	国立感染症研究序
	貞升健志	東京都健康安全研究センター
	長島真美	東京都健康安全研究センター
	松田昌和	国立病院機構名古屋医療センター
	松岡和弘	国立病院機構名古屋医療センター

研究要旨
全国の衛生研究所等の施設において HIV-1 検査を担当する技官および診療ブロック拠点病院の検査室技官対象に、HIV 薬剤耐性検査法に関する技術研修会を平成 24 年 9 月 18 日～21 日の日程で名古屋医療センター附属看護助産学校の講義室と実習室において開催した。。平成 24 年度は 17 施設より 17 人が受講した。この研修会は全国どこでも同質の薬剤耐性 HIV 検査が実施可能となるように技術移管をすることを目的とする。講義では国内の HIV 診断・研究に取らぐむ研究機関より講師を招聘して HIV-1 の薬剤耐性検査に関する基礎知識から臨床的意義までを取り上げ、実習では薬剤耐性遺伝子検査と血清学的診断法について取り組んだ。研修会後の事後評価では実習・講義ともに受講者より高い評価を得た。

A. 研究目的

多剤併用療法の導入は HIV/AIDS 患者の予後を大きく改善したが、一方で薬剤耐性 HIV の出現が治療を進めていく上で障害となっている。薬剤耐性 HIV は治療に失敗した症例だけでなく、新規に HIV/AIDS と診断された患者にも散見されるようになっており、今後保健所等で把握される HIV 症例においても薬剤耐性 HIV-1 感染症例が検出されると予想される。我が国における薬剤耐性 HIV の状況を正しく把握し迅速な対策を講じるためにも、各拠点病院・衛生研究所等で HIV 検査業務を担当する技官等が HIV の薬剤

耐性検査法や薬剤耐性について正しい技術と知識を習得している事が望ましい。本研究では、薬剤耐性遺伝子検査手技を HIV 検査担当技官に実習と講義を通じて学んでもらい、より多くの HIV/AIDS 患者が薬剤耐性検査の恩恵にあずかることができるような薬剤耐性検査体制を確立することを目的とする。

B. 研究方法

平成 24 年 9 月 18 日から 21 日の 3 日間、名古屋医療センター中病棟の講義室と実習室において第 23 回 HIV 検査技術研修会を開催した。

図1に示す全国 17 施設から 17 名の参加者があり、表2に示すプログラムに従って薬剤耐性検査の実習と講義を行った。実習で使用するサンプルはバイオセーフティー上のレギュレーションから事前に患者血清から抽出し調製・解析済みの HIV-1 RNA を用いた。名古屋医療センター等で開発したプライマーを用いた RT-PCR により逆転写酵素領域とプロテアーゼ領域、インテグラーゼ領域を増幅し、塩基配列解析を行った。また *env* 領域についても同様に RT-PCR による増幅・塩基配列解析を行い、サブタイピングを試みた。本講習会では衛生研究所間、各地域における病院・衛生研究所の連携強化も副次的な目的としていることから、名古屋医療センターのスタッフだけではなく全国の衛生研究所の中でも HIV の診断・研究が活発な東京都健康安全研究センター、神奈川県衛生研究所、大阪府立公衆衛生研究所の4施設に加えて国立国際医療研究センター、国立感染症研究所、慶応義塾大学からも HIV の専門家を講師として招き(表1)講義と実習における技術指導をより実践的な内容にしている。研修終了後、実習講義についてアンケート調査を行い研修参加者の満足度と次年度以降の要望について調査した。

C. 研究結果

3 日間の研修会は無事に終了した。事後評価のアンケート調査の結果(図2-3)、講義は受講者のほぼ全員から、実習に関しては全員から価値のある内容という回答を得られた。講義に関しては、過半数は適当と回答したが、難しいという回答が約3割に見られた。個別の講義について分析してみると、ややアドバンスなテーマである系統樹解析とサブタイピングでは参加者全員が「やや難しい」もしくは「難しい」と回答しており、今後の工夫が必要であると思われた。実習に関しては、実務経験者も参加していた事もあり難しいと感じる受講生2割程度であった。時間に関しては講義、実習ともに適当という回答がほとんどであったが、講義に関しては時間を増やしてほし

いという回答が3割あった。講義と実習のバランスを再考する必要があると思われた。

D. 考察

アンケート結果より、意義のある研修会が行われ、薬剤耐性検査技術の移管という目的は達成できたと思われる。本講習会は 23 年間にわたり開催され(第 18 回まで国立感染症研究所、第 19-25 回が名古屋医療センターでの開催)多くの地方衛生研究所の技官が HIV 感染症の検査技術や知識を学んできたが、予算の削減等により本年度が最終回となり幕を閉じる事となった。この場を借りて今まで本講習の開催に無償でご協力下さった埼玉県衛生研究所、東京都健康安全研究センター、神奈川県衛生研究所、愛知県衛生研究所、大阪府立公衆衛生研究所、国立国際医療研究センター、国立感染症研究所そして名古屋医療センターの諸先生方に御礼を申し上げたい。今後の HIV 感染症の検査技術の講習会については継続を求める声が多数寄せられた事もあり(表3)、平成 25 年度より本研究班内において地方衛生研究所の担当者等の参加によるワーキング・グループを組み、現場の意見を聞きながら研修の必要性、希望する研修内容等を検討して新たな研修会を提案していきたい。

E. 結論

全 17 施設から 17 名の参加者を対象に、HIV 検査技術研修会を3日間の日程で開催して HIV 検査技術の公開および普及と薬剤耐性 HIV に関する講義を行って知識の向上を図った。参加した HIV 検査担当技官に有効な検査技術移管と教育を行う事が出来、本研究の目的は達成した。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

1. 原著論文

欧文

- 1) Bunupuradah T, Imahashi M, Iampornsin T, Matsuoka K, Iwatani Y, Puthanakit T, Ananworanich J, Sophonphan J, Mahanontharit A, Naoe T, Vonthanak S, Phanuphak P, Sugiura W. On Behalf Of The Predict Study Team. Association of APOBEC3G genotypes and CD4 decline in Thai and Cambodian HIV-infected children with moderate immune deficiency. *AIDS Res Ther.* 24;9(1):34. 2012.
- 2) Tsuzuki T, Iwase H, Shimada M, Hirashima N, Hibino Y, Ryuge N, Saito M, Tamaki D, Kamiya A, Yokoi M, Yokomaku Y, Fujisaki S, Sugiura W, Goto H. Clinical evaluation of peginterferon alpha plus ribavirin for patients co-infected with HIV and HCV at Nagoya Medical Center. *Nihon Shokakibyō Gakkai zasshi = The Japanese journal of gastro-enterology.* 109(7):1186-1196. 2012.
- 3) Ode H, Nakashima M, Kitamura S, Sugiura W, Sato H. Molecular dynamics simulation in virus research. *Frontiers in microbiology.* 3:258. 2012.
- 4) Miyamoto T, Nakayama EE, Yokoyama M, Ibe S, Takehara S, Kono K, Yokomaku Y, Pizzato M, Luban J, Sugiura W, Sato H, Shioda T. The Carboxyl-Terminus of Human Immunodeficiency Virus Type 2 Circulating Recombinant form 01_AB Capsid Protein Affects Sensitivity to Human TRIM5 α . *PloS one.* 7(10):e47757. 2012.
- 5) Matsunaga S, Sawasaki T, Ode H, Morishita R, Furukawa A, Sakuma R, Sugiura W, Sato H, Katahira M, Takaori-Kondo A, Yamamoto N, Ryo A. Molecular and enzymatic characterization of XMRV protease by a cell-free proteolytic analysis. *Journal of proteomics.* 75(15):4863-4873. 2012.
- 6) Kitamura S, Ode H, Nakashima M, Imahashi M, Naganawa Y, Kurosawa T, Yokomaku Y, Yamane T, Watanabe N, Suzuki A, Sugiura W, Iwatani Y. The APOBEC3C crystal structure

and the interface for HIV-1 Vif binding. *Nature structural & molecular biology.* 19(10):1005-1010. 2012.

- 7) Jahanbakhsh F, Ibe S, Hattori J, Monavari SH, Matsuda M, Maejima M, Iwatani Y, Memarnejadian A, Keyvani H, Azadmanesh K, Sugiura W. Molecular epidemiology of HIV-1 infection in Iran: genomic evidence of CRF35_AD predominance and CRF01_AE infection among individuals associated with injection drug use. *AIDS research and human retroviruses.* 29:198-203. 2012.
- 8) Hirano A, Ikemura K, Takahashi M, Shibata M, Amioka K, Nomura T, Yokomaku Y, Sugiura W. Short communication: lack of correlation between UGT1A1*6, *28 genotypes, and plasma raltegravir concentrations in Japanese HIV type 1-infected patients. *AIDS research and human retroviruses.* 28(8):776-779. 2012.

和文

- 1) 都築智之, 岩瀬弘明, 島田昌明, 平嶋昇, 日比野祐介, 龍華庸光, 齋藤雅之, 玉置大, 神谷麻子, 横井美咲, 横幕能行, 藤崎誠一郎, 杉浦互, 後藤秀実. 当院における hiv、Hcv 重複感染症例に対するペグインターフェロン、リバビリン併用療法の治療成績. *日本消化器病学会雑誌.* 109(7):1186-1196. 2012.

2. 口頭発表

海外

- 1) J. Hattori, U. Shigemi, M. Hosaka, R. Okazaki, Y. Iwatani Y. Yokomaku, W. Sugiura. Socio-demographic analysis of treatment-naïve HIV-1-POSITIVE POPULATIONS WITH RECENT OR LONG-TERM INFECTION ESTIMATED BY BED assay in Japan. XIX International AIDS Conference, Seattle, Washington, USA, Jul 22-27, 2012.
- 2) K Suzuki, H Ode, M Fujino, T Masaoka J, Hattori, Y Yokomaku, Y Iwatani, A Suzuki, N Watanabe, W Sugiura. Molecular and

Structural analysis of darunavirresistant HIV-1 protease. International Workshop on HIV&Hepatitis Virus Drug Resistance and Curative Strategies, Sitges, Spain, Jun 5-9, 2012.

- 3) S. Kitamura, H. Ode, M. Nakashima, A. Suzuki, N. Watanabe, W. Sugiura, Y. Iwatani. Conformational Conservation of the HIV-1 Vif-Binding Interface on APOBEC3C, DE, and F. Cold Spring Harbor Laboratory Meetings - Retroviruses, New York, USA, May 21-26, 2012.
- 4) S. Kitamura, H. Ode, M. Nakashima, M. Imahashi, Y. Naganawa, Y. Yokomaku, A. Suzuki, N. Watanabe, W. Sugiura aYI. The APOBEC3C Crystal Structure and the Interface for HIV-1 Vif Interaction. Cold Spring Harbor Laboratory Meetings - Retroviruses, New York, USA, May 21-26, 2012.

国内

- 1) 松岡和弘, 田邊史子, 重見麗, 服部純子, 正岡崇志, 森下了, 澤崎達也, 横幕能行, 岩谷靖雅, 杉浦互. コムギ無細胞蛋白質合成系を利用した HIV-1 逆転写酵素の in vitro 薬剤感受性解析法の開発. 第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会, 東京, 2012 年 11 月 24-26 日.
- 2) 大出裕高, 鈴木康二, 藤野真之, 前島雅美, 木村雄貴, 正岡崇志, 服部純子, 横幕能行, 鈴木淳巨, 渡邊信久, 岩谷靖雅, 杉浦互. 耐性誘導により得た高度ダルナビル耐性 HIV-1 プロテアーゼの構造学的解析. 第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会, 東京, 2012 年 11 月 24-26 日.
- 3) 今橋真弓, 泉泰輔, 今村淳治 1, 松岡和弘, 金子典代, 市川誠一, 高折晃史, 内海眞, 横幕能行, 直江知樹, 杉浦互, 岩谷靖雅. HIV-1 感染伝播・病勢に対する APOBEC3B

遺伝子型の影響に関する解析. 第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会, 東京, 2012 年 11 月 24-26 日.

- 4) 松田昌和, 服部純子, 今村淳治, 横幕能行, 岩谷靖雅, 杉浦互. Plasma RNA と Proviral DNA による HIV 指向性遺伝子型の比較解析. 第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会, 東京, 2012 年 11 月 24-26 日.
- 5) 鬼頭優美子, 松田昌和, 服部純子, 伊部史朗, 大出裕高, 松岡和弘, 今村淳治, 岩谷靖雅, 杉浦互, 横幕能行. 臨床検体由来 env 全長組み換え HIV-1 による指向性検査法の確立. 第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会, 東京, 2012 年 11 月 24-26 日.
- 6) 服部純子, 湯永博之, 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, 大家正義, 田邊嘉也, 白阪琢磨, 小島洋子, 藤井輝久, 高田昇, 山本政弘, 松下修三, 藤田次郎, 健山正男, 杉浦互. 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, 東京, 2012 年 11 月 24-26 日.
- 7) 伊部史朗, 横幕能行, 前島雅美, 松岡和弘, 正岡崇, 岩谷靖雅, 杉浦互. 薬剤感受性プロファイリングに裏づけされた新規 HIV-2 組換え流行株 CRF01_AB 感染例の良好な治療経過. 第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会, 東京, 2012 年 11 月 24-26 日.
- 8) 羽柴知恵子, 福山由美, 伊藤明日美, 長谷川真奈美, 渡邊智子, 藤谷和美, 小川恵子, 杉浦互, 横幕能行. HIV 陽性者への外来トリアージの必要性に向けて. 第 66 回国立

- 病院総合医学会, 神戸, 2012 年 11 月 16-17 日.
- 9) 永見芳子, 塚本弥生, 杉本香織, 杉浦互, 福山由美, 横幕能行. 長期に療養が必要となった HIV 感染症患者への支援体制の現状と課題. 第 66 回国立病院総合医学会, 神戸, 2012 年 11 月 16-17 日.
- 10) 丸山笑里佳, 羽柴知恵子, 福山由美, 杉浦互, 横幕能行. 違法薬物使用歴を持つ HIV 陽性者に対する内科外来での心理的支援の検討. 第 66 回国立病院総合医学会, 神戸, 2012 年 11 月 16-17 日.
- 11) 榊原美穂, 福山由美, 羽柴知恵子, 長谷川真奈美, 伊藤明日美, 渡邊智子, 藤谷和美, 小川恵子, 杉浦互, 横幕能行. 外来看護師による HIV 陽性者受診継続のための看護介入判断基準の標準化に向けて. 第 66 回国立病院総合医学会, 神戸, 2012 年 11 月 16-17 日.
- 12) 渡邊英恵, 福山由美, 羽柴知恵子, 伊藤明日美, 長谷川真奈美, 渡邊智子, 藤谷和美, 小川恵子, 杉浦互, 横幕能行. HIV 陽性女性が安心して将来の妊娠について考えられる外来看護支援に向けて. 第 66 回国立病院総合医学会, 神戸, 2012 年 11 月 16-17 日.
- 13) 福山由美, 大林由美子, 杉浦互, 横幕能行. 医療機関からみる愛知県内 HIV 陽性判明の動向 ～いきなりエイズ減少に向けて～. 第 66 回国立病院総合医学会, 神戸, 2012 年 11 月 16-17 日.
- 14) 北村紳悟, 大出裕高, 中島雅晶, 今橋真弓, 長縄由里子, 黒沢哲平, 横幕能行, 山根隆, 渡邊信久, 鈴木淳巨, 杉浦互, 岩谷靖雅. APOBEC3C の構造解析と HIV-1 Vif 結合インターフェイスの同定. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012 年 11 月 13-15 日.
- 15) 大出裕高, 鈴木康二, 藤野真之, 前島雅美, 木村雄貴, 正岡崇志, 服部純子, 横幕能行, 鈴木淳巨, 渡邊信久, 岩谷靖雅, 杉浦互. 高度ダルナビル耐性 HIV-1 の分子機序の解明. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012 年 11 月 13-15 日.
- 16) 中島雅晶, 北村紳悟, 大出裕高, 今橋真弓, 長縄由里子, 黒沢哲平, 横幕能行, 山根隆, 渡邊信久, 鈴木淳巨, 杉浦互, 岩谷靖雅. APOBEC3 間における HIV-1 Vif 結合インターフェイスの違い. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012 年 11 月 13-15 日.
- 17) 岩谷靖雅, 前島雅美, 北村紳悟, 大出裕高, 中島雅晶, 今橋真弓, 長縄由里子, 黒沢哲平, 伊部史朗, 横幕能行, 杉浦互. APOBEC3G の酵素活性非依存的な抗 HIV-1 作用メカニズム. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012 年 11 月 13-15 日.
- 18) 北村紳悟, 大出裕高, 中島雅晶, 今橋真弓, 長縄由里子, 横幕能行, 鈴木淳巨, 渡邊信久, 杉浦互, 岩谷靖雅. APOBEC3C の結晶構造解析と HIV-1 Vif 結合インターフェイスの同定. 第 12 回日本蛋白質科学会年会, 名古屋, 2012 年 6 月 20-22 日.
- 19) 伊部史朗, 横幕能行, 前島雅美, 松岡和弘, 正岡 宗, 岩谷靖雅, 杉浦互. 新規 HIV-2 組換え流行株 CRF01_AB 感染例の治療経過と薬剤感受性ポロファイリング. 第 14 回白馬シンポジウム in 京都, 京都, 2012 年 6 月 7-8 日.
- 20) 松田昌和, 服部純子, 今村淳治, 横幕能行, 杉浦互. 遺伝子配列解析による HIV-1 指向性の判定とその動向. 第 86 回日本感染症学会総会, 長崎, 2012 年 4 月 25-26 日.
- 21) 今村淳治, 横幕能行, 服部純子, 伊部史朗, 天羽清子, 塩見正司, 杉浦互. enofovir+Darunavir/r+Etravirine によるサルベージ療法が著効した多剤耐性 HIV 感染児の一例. 第 86 回日本感染症学

会総会，長崎，2012 年 4 月 25-26 日．

22) 今村淳治，横幕能行，片野晴隆，安岡 彰，
杉浦互．名古屋医療センターにおけるカ
ポジ肉腫発症エイズ患者数の動向．第 86
回日本感染症学会総会，長崎，2012 年 4
月 25-26 日．

23) 伊部史朗，近藤真規子，今村淳治，横幕
能行，杉浦互．HIV-1/HIV-2 重複感染疑い
例における血清学のおよび遺伝子学的精
査解析．第 86 回日本感染症学会総会，長
崎，2012 年 4 月 25-26 日．

図1 参加17施設

宇都宮市衛生環境試験所
相模原市衛生試験所
静岡市環境保健研究所
石川県保健環境センター
長野県環境保全研究所
愛知県衛生研究所
岐阜市衛生試験所
京都府保健環境研究所
堺市衛生研究所
足崎市立衛生研究所
広島県総合技術研究所保健環境センター
島根県保健環境科学研究所
徳島県立保健製薬環境センター
佐賀県衛生薬業センター
宮崎県衛生環境研究所
鹿児島県環境保健センター
琉球大学医学部附属病院

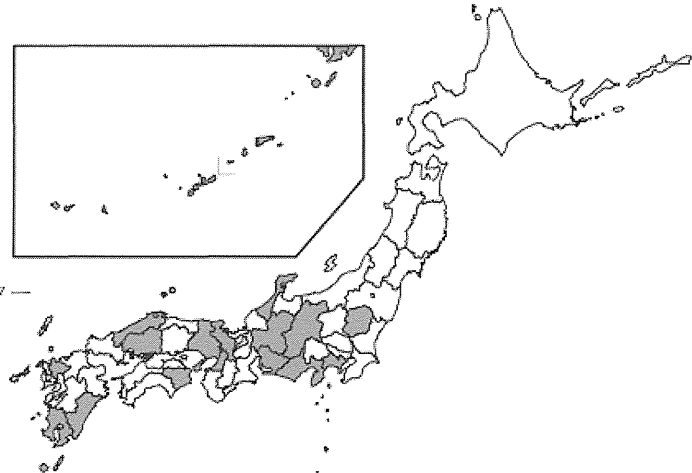


表1 講師一覧

国立国際医療研究センター

湯永 博之

国立感染症研究所

松岡 佐織

椎野 禎一郎

神奈川県衛生研究所

近藤 真規子

東京都健康安全研究センター

貞升 健志

長島 真美

大阪府公衆衛生研究所

森 治代

慶応義塾大学医学部

加藤 真吾

国立病院機構名古屋医療センター

杉浦 互

岩谷 靖雅

横幕 能行

伊部 史朗

大出 裕高

服部 純子

前島 雅美

松岡 和弘

松田 昌和

表 2 講義・実習内容

【 1 日 目 】			
《講義》	HIV検査法概要	神奈川県衛生研究所	近藤 横幕 加藤
	HIVの診断～臨床の現場から	名古屋医療センター	
	HIV検査法update	慶応義塾大学	
《実習》	PA法によるHIV-1, HIV-2検査 HIV-RNA抽出, RT-PCR		
【 2 日 目 】			
《講義》	HIVの遺伝子検査	名古屋医療センター	伊部
	シーケンスの原理	名古屋医療センター	松田
	HIVの基礎知識	感染症研究所	松岡
	HIV-1感染症治療と薬剤耐性	国際医療研究センター	鴻永
《実習》	Nested PCR PCR産物の確認・精製、シーケンシング		
【 3 日 目 】			
《講義》	東京におけるHIVの動向	東京都健康安全研究センター	貞升
	大阪におけるHIVの動向	大阪府公衆衛生研究所	森
	日本におけるHIV/AIDSの現状	名古屋医療センター	杉浦
	系統樹解析とサブタイピング	感染症研究所	推野
《実習》	シーケンスデータの回収と解析 薬剤耐性の解析		

図2 アンケート調査 (講義)

講義の内容、難易度、時間いずれも過半数の参加者が適当と回答したが、講義が難しい、時間が少ないという意見も見られた

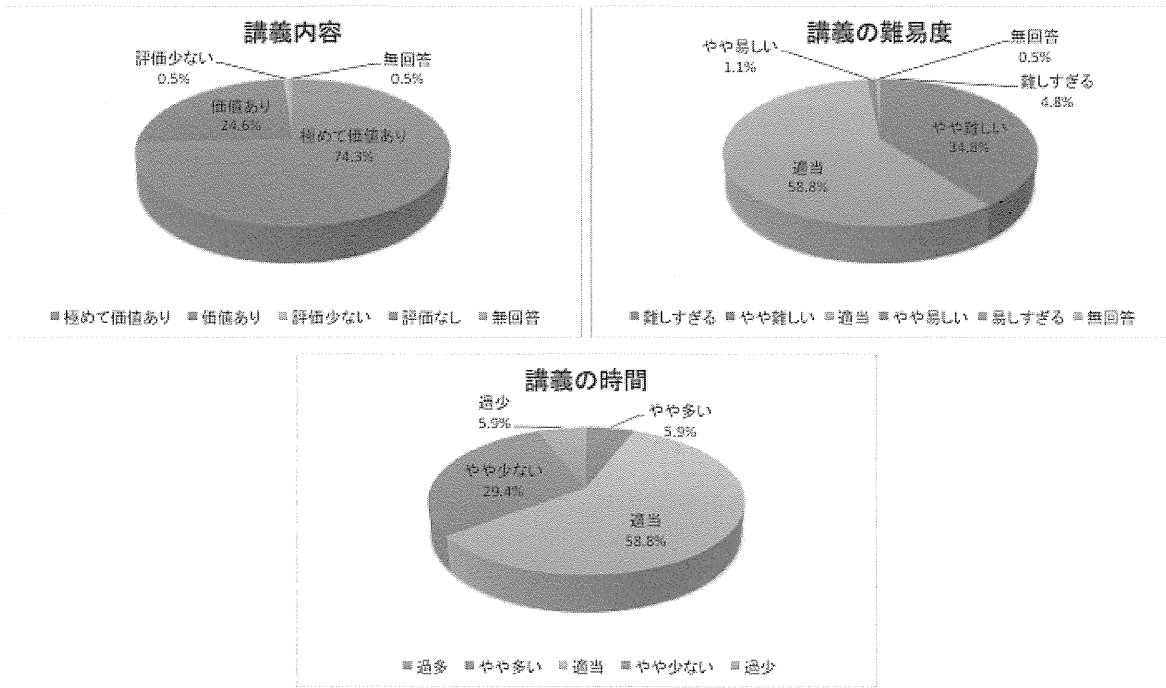


図3 アンケート調査 (実習)

実習についても内容、難易度、時間いずれも過半数の参加者が
 適当と回答したが、難しい、時間が少ないという意見も見られた

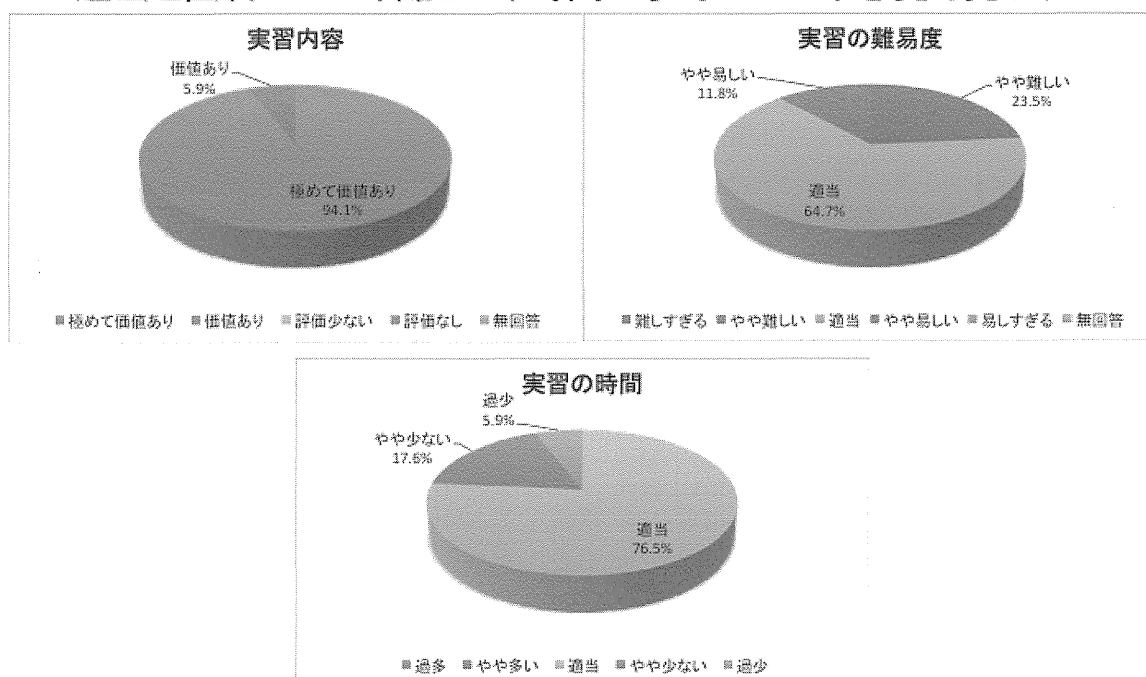


表3 講義・実習内容アンケートまとめ

- 内容は「極めて価値あり」「価値あり」が大多数を占め、満足度は高かったことが示された。
- 難易度は「適当」が過半数、続いて「やや難しい」、一部に「やや易しい」となり、受講者のレベル分布が初心者から上級者までであったことが伺われた。
- 時間は「適当」「やや少ない」「過少」の順であり、より日数を長くすることが望まれた。
- 受講者に期待されている内容は、他の病原体や検査等に応用可能な手法である、シークエンス、系統樹およびPCを用いたデータ解析が主であった。
- HIVの専門性に関する興味は、診断法としての血清診断および確認検査としてのウェスタンブロットであり、感染者の治療指針となるウイルス定量、耐性検査および指向性検査には別の講習機会が必要と考えられる。
- 技術研修会の継続を求める意見が多数寄せられた。

18. HIV-1 遺伝子検査法「KK-TaqMan」の地方衛生研究所への普及・技術支援と実施状況

及び保健所等の HIV 無料匿名検査での確認検査における HIV 遺伝子検査の重要性

研究分担者 近藤真規子（神奈川県衛生研究所）

協力研究者 佐野貴子、岡部英男（神奈川県衛生研究所）、
岩室紳也（厚木市立病院）、吉村幸浩、立川夏夫（横浜市民病院）、
井戸田一朗（しらかば診療所）、山中晃（新宿東口クリニック）、
今井光信（田園調布学園大学）
須藤弘二、加藤真吾（慶應義塾大学医学部微生物学・免疫学教室）

研究要旨

血中 HIV-1 RNA 測定は保健所等の HIV 無料匿名検査での確認検査において重要な検査の一つである。確認検査の多くは地方衛生研究所（地研）で行われており、感染初期を判定する HIV 遺伝子検査（NAT）として市販のキットを用いていたが、キットの改良に伴い、高価な専用機器の購入が必要になったため、全国の地研での実施が困難になった。

我々は研究班で開発した HIV-1 遺伝子検査法（KK-TaqMan）の技術支援を、地研を対象に行っている。KK-TaqMan の普及・技術支援と実施状況および確認検査として NAT 検査の必要性について報告する。

1. KK-TaqMan の地方研究所への普及・技術支援と実施状況

感染者の多い地域を中心に技術支援を行い、2012 年末現在で、15 か所の地研（北海道（札幌市分も実施）、福島県、栃木県、埼玉県、東京都、神奈川県、横浜市、川崎市、大阪府（堺市、東大阪市分も実施）、大阪市、福岡市、大分県）で NAT 検査として KK-TaqMan を実施している。

2. 確認検査における HIV 遺伝子検査の重要性

血液中 HIV-1 ウイルス量が 10^6 コピー/ml 以上の感染初期の血漿 6 検体を用いて、スクリーニング検査とウエスタンブロッティング法（WB）の感度について比較した。6 検体は全て 4 種類のスクリーニング検査陽性であったが、6 検体とも WB で陽性と判定されず、陰性、あるいは判定保留であった。

最近のスクリーニング検査は従来に比べ格段の進歩を遂げ、感度が非常に良くなっているが、WB の感度は従来のままでスクリーニング検査に比べ劣るため、WB が陰性や判定保留の場合は NAT 検査の結果が重要である。79 か所の地研でのアンケート調査の結果、65 か所から回答があり、NAT 検査を実施している地研が 15 か所、WB のみ実施している地研が 41 か所、民間委託が 6 か所であった。WB のみ実施施設において、WB が陰性、判定保留の場合の結果返しについては民間委託している施設を含めて、来年度以降調査したいと考えている。

HIV 検査目的の受検者でスクリーニング検査陽性、かつ HIV-1 WB 陽性の 469 例について、NAT 検査、コバス TaqMan を実施した結果、NAT 検査陰性と判定された症例が 5 例（ver. 1.0 4 例、ver. 2.0 1 例）確認された。急性感染時に血液中に増殖したウイルスは抗体が産生されると減少し、数か月以内に一定のレベルまで低下（セットポイント）する。セットポイントの期間、ウイルス量は個体によって異なり、NAT 検査を実施しても HIV 遺伝子を検出できないことがある。また、プライマーやプローブの塩基配列と HIV 遺伝子の塩基配列のミスマッチによって、陰性と判定されることがあるが、このような場

合の確認検査には WB が有効となる。

感染初期を見出す NAT 検査は確認検査として今後ますます重要となるが、WB、NAT 検査それぞれの特徴を理解して検査を進めていくことが重要である。

A. 研究背景と目的

全国の各自治体で行っている保健所等の HIV 無料匿名検査の確認検査のほとんどが各自治体の運営する衛生研究所が行っていたが、最近では民間検査センターに依頼する自治体も多くなっている。確認検査には抗体確認検査としてウエスタンブロット法 (WB)、感染初期の判定のためには HIV 遺伝子検査 (核酸増幅検査 : NAT) を実施する必要がある。

従来、地方衛生研究所 (地研) では確認検査としてまず抗体確認検査である WB を行い、WB では判定困難な感染初期例について NAT 検査を実施しており、NAT 検査には市販のキットを用いていたが、キットの改良に伴い専用的高額な機器が必要となったため、地研での NAT 検査が困難になった。そこで、我々は昨年までの研究班において、汎用リアルタイム装置を用いた HIV-1RNA 測定法 (以下、KK-TaqMan) を開発し、地研への NAT 検査導入のため技術支援を行い、いくつかの地研では KK-TaqMan が確認検査として実施できるようになった。

一方、WB のみで結果を返し、NAT 検査を実施していない自治体等もあり、結果判断の方法が多様化している。確認検査としての KK-TaqMan の普及・支援状況および確認検査として NAT 検査の重要性について報告する。

B. 研究方法

1. 地方衛生研究所への KK-TaqMan の普及と技術支援

2009 年 10 月から、スクリーニング検査に NAT 導入している地研 (神奈川県衛生研究所、横浜市衛生研究所、川崎市衛生研究所、大阪府公衆衛生研究所) で KK-TaqMan の検討を開

始し、2010 年からは地方衛生研究所 HIV 検査グループ会議、全国衛生微生物技術協議会等において、KK-TaqMan 法を公開し、導入希望機関に操作マニュアル、コントロール HIV-1RNA を送付し、KK-TaqMan 法の技術移管を行った。

また、病原体検出マニュアル (全国衛生微生物協議会で監修) の「エイズ/HIV 感染症」改定版に KK-TaqMan 法を掲載した。

2. 確認検査における HIV 遺伝子検査の重要性

各種 HIV スクリーニング検査法と WB 法 HIV 遺伝子検査法の感度比較を行った。

1) スクリーニング検査法

即日検査 : ダイナスクリーン HIV-1/2 (アリーアメディカル)、エスプライン Ag/Ab (富士レビオ)

PA 法 : ジェネディア HIV-1/2Mix、セロディア HIV-1/2 (富士レビオ)

抗原抗体同時検査法 : VIDAS DUO II (シスメックス・バイオメリュー)

2) 確認検査法

WB : ラブブロット 1、2 (バイオラッド)

HIV 遺伝子検査 : コバス TaqMan HIV-1 (コバス TaqMan : ロシュ・ダイアグノスティックス)

C. 結果および考察

1. 地方研究所への KK-TaqMan の普及と技術支援

NAT スクリーニング検査を導入している横浜市衛生研究所、川崎市衛生研究所、大阪府立公衆衛生研究所、神奈川県衛生研究所の 4 施設については、KK-TaqMan の検討を 2009 年

10 月より行い、2010 年 4 月以降はこれら 4 施設での対応が可能となった。

次に地方衛生研究所 HIV 検査グループに属している東京都健康安全研究センター、北海道立衛生研究所、福岡県保健環境研究所において、2010 年 1 月から KK-TaqMan 導入のための検討を開始し、3 施設共に良好な標準曲線が得られており、コバス TaqMan ver. 1.0 と KK-TaqMan の測定値間には良好な相関が得られた (HIV 検査相談機会の拡大と質的充実に関する研究、総合研究報告書「平成 18～20 年度」参照)。

KK-TaqMan の基礎的検討において、リアルタイム PCR 装置はアプライドバイオシステムズ (ABI) の 7900 HT、Step One Plus の 2 機種を使用した。各施設での検討の結果、ABI の 7500 通常モード、ロシュ・ダイアグノスティックスの Light Cycler 480 においても良好な結果が得られた。

この他、2010 年 3 月以降順次、NAT 検査導入を希望する福島県衛生研究所、埼玉県衛生研究所、鹿児島県環境保健センター、大分県衛生環境研究センター、富山県衛生研究所で、2011 年以降は、千葉県衛生研究所、静岡県環境衛生科学研究所、栃木県保健環境センター、名古屋市衛生研究所、尼崎市立衛生試験所に操作マニュアル、コントロール RNA を送付し、検討を行った。

その結果、現在 15 か所の地研 (北海道 (札幌市分も実施)、福島県、栃木県、埼玉県、東京都、神奈川県、横浜市、川崎市、大阪府 (堺市、東大阪市分も実施)、大阪市、福岡市、大分県) で KK-TaqMan を実施している (2012 末現在)。

また、2011 年、2012 年には横須賀市健康安全科学センター、相模原市衛生試験所、川崎市衛生研究所について当研究室で技術研修を行った。

本法の詳細については国立感染症研究所ホームページの「病原体検出マニュアル、エイ

ズ/HIV 感染症」をご覧ください

2. 確認検査における HIV 遺伝子検査 (NAT) の重要性

HIV 検査はスクリーニング検査と確認検査の 2 段階で行われ、スクリーニング検査陽性の場合には確認検査を実施、HIV 感染の有無を確認する (図 1)。

スクリーニング検査法と WB の感度について調べるため、スクリーニング抗体検査陽性、かつ血液中 HIV-1 ウイルス量が 10^6 コピー/ml 以上の感染初期の血漿 6 検体を用いて 4 種類のスクリーニング検査法と WB の感度について比較した。6 検体とも、4 種類のスクリーニング検査で HIV 抗体陽性と判定されたが、WB では 1 検体が陰性、5 検体は判定保留となった。

最近のスクリーニング検査は従来に比べ格段の進歩を遂げ、感度が非常に良くなっている。しかし、WB の感度は従来のままでスクリーニング検査に比べ劣るため、WB が陰性や判定保留の場合は NAT 検査を実施しなければならない (図 1、表 1)。一方、WB の特異性は高く、WB 陽性の場合は NAT 検査を実施しなくても HIV 陽性と判定できる。

平成 22-23 年に各地研で行った確認検査についてアンケート調査を行った (回収率: $65/79=82.3\%$)。その結果、確認検査に WB のみ実施している施設は 41 施設、WB と NAT 両方実施施設 15 施設、民間委託が 9 施設であった。

NAT 検査を実施していない施設では、WB が陰性、判定保留の場合の結果返しとして、判定保留とする、病院での検査を勧める等の回答があったが、結果返しについては民間委託している施設を含めて、来年度以降調査したいと考えている。

以上のように、感染初期の判定において NAT 検査は極めて重要である。しかし、急性感染時に血液中に増殖したウイルスは抗体が

産生されると減少し、数か月以内に一定のレベルまで低下する。このレベルをセットポイントと呼ぶが、セットポイントの期間、ウイルス量は個体によって異なり、この時期に NAT 検査を実施しても HIV 遺伝子を検出できないこともある。このような場合の確認検査には WB が有効である。

HIV 検査目的の受検者でスクリーニング検査陽性、かつ HIV-1 WB 陽性の 469 検体について、NAT 検査としてコバス TaqMan を行った結果、陰性と判定された症例が ver. 1.0 (検出限界:<40 コピー/ml) で 4 例 (4/357=1.1%)、ver. 2.0 (検出限界:<20 コピー/ml) で 1 例 (1/112=0.89) 確認された。

NAT 検査ではプライマーやプローブの塩基配列と HIV 遺伝子の塩基配列にミスマッチがあると、陰性 (検出限界以下) と判定されることがあるが、上記 5 例についてプロウイルス DNA の解析を行った結果、解析できた 2 例には測定値に影響を及ぼす変異は認められなかった。

保健所等の無料匿名検査における確認検査において、感染初期を見出す NAT 検査は今後ますます重要となるが、WB 陽性の時期に血液中ウイルスが検出できないことがあることも理解して、検査を進めていく必要がある。

D. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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.
- 2) 武部豊、近藤真規子：中国における男性

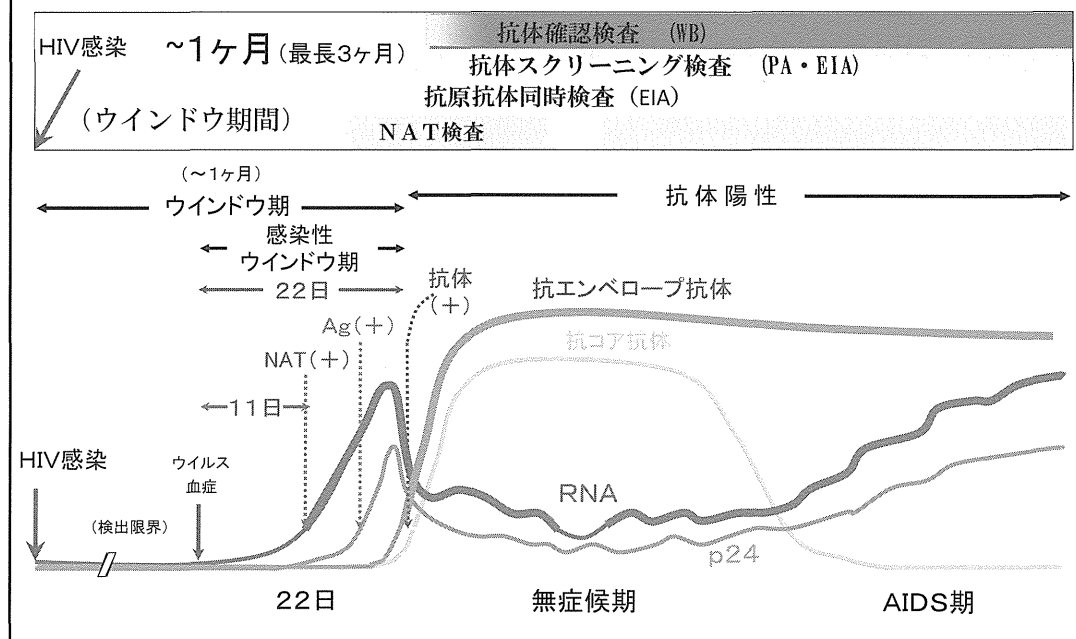
同性愛者 (MSM) 間の HIV-1 流行の急速な拡大と我が国への流行波及に関する知見：病原微生物検出情報、34、2013、in press。

2. 学会発表

- 1) 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) .
- 2) 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)。
- 3) 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)。
- 4) 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)。
- 5) 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)。
- 6) 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)。

- 7) 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)。

HIV検査体制
研究班

HIV病毒基因组
研究班

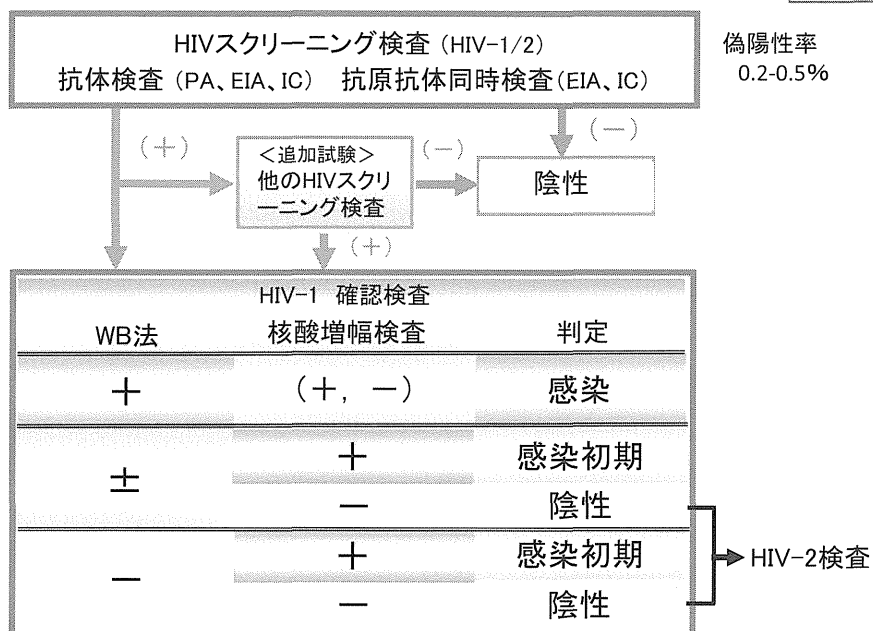


表1 スクリーニング検査法とWB法の感度比較

上野/検査科
研究科

臨床検体を用いた検討

検体番号	ダイナスクリーン	エスプライン		PA		VIDAS DUOII	HIV-1 RNA*	WB
		Ag	Ab	HIV1/2	HIV-1			
Y527	3+	-	3+	128	16	ND	$>10^7$	-
GM3330	3+	-	3+	2560	320	+ (5.8)	3.2×10^6	±(GP160,p55,p25)
GM3411	3+	-	+	10240	64	+ (14.4)	$>10^7$	±(GP160,p55,p25)
GM3421	+	-	+	32	-	+ (19.4)	$>10^7$	± (p25)
GM3176	+/-	-	3+	256	-	+ (7.4)	3.0×10^6	± (p18)
GM3197	3+	-	+	1280	64	+ (6.5)	2.0×10^6	±(GP160,p55,p25)

* copies/ml