

本邦における薬剤耐性 HIV の動向調査研究

～東海ブロックにおける薬剤耐性検査体制確立のための研究～

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

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

¹ (独) 国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター 感染・免疫研究部

² 公益財団法人エイズ予防財団 リサーチレジデント

研究要旨

東海地区で流行する伝播性薬剤耐性 HIV の動向を調査するため、2013 年 1 月～12 月に名古屋医療センターにおいて新規に診断された HIV 感染患者 89 症例を対象に HIV-1 遺伝子配列の解析を施行し、薬剤耐性変異の検出頻度、HIV-1 サブタイプ、感染時期の推定、ウイルスの細胞指向性を解析した。また 2013 年に全国の施設から同様の検査依頼のあった新規診断症例 190 例を比較対象とした。日本人、男性、サブタイプは B が大半を占め、患者背景はこれまでの報告と変わらない傾向であった。東海地区での伝播性耐性変異の出現頻度は 15.7% であり、全国の施設の出現頻度 14.4% と比較しても差異は認められなかった。また東海地区で検出された変異の種類は、プロテアーゼ阻害剤耐性変異 D30N、M46I、N88D、核酸系逆転写酵素阻害剤耐性 M41L、D67N、T215 リバータント、非核酸系逆転写酵素阻害剤耐性変異 K103N、G190E、インテグラーゼ阻害剤耐性変異 L74M、T97A と多様な薬剤耐性変異が検出された。昨年より東海地区における耐性変異出現頻度が 2 倍に上昇しており、2013 年も継続して検出されたことから、伝播性薬剤耐性ウイルスの動向を今後も継続して調査していく必要があると考えられた。

A. 研究目的

本邦における伝播性薬剤耐性 HIV の動向と分子疫学を明らかにし薬剤耐性ウイルスの流行を防ぐため、まず東海地区における伝播性薬剤耐性変異の出現頻度とその変異の傾向を把握することを目的とした。そのため名古屋医療センターでの新規 HIV/AIDS 診断症例を対象に、薬剤耐性遺伝子検査、細胞指向性検査、サブタイプ検査、感染時期を推定する BED アッセイを施行した。また全国の施設から依頼のあった検体についても同様の検査を施行しており、東海地区で流行するウイルスの傾向と比較をした。

B. 研究方法

2013 年 1 月から 12 月の間に名古屋医療センターを受診し新規に HIV-1 感染と診断された症例 (89 例)、ならびに全国いずれかの HIV-1 診療科を受診

し、新規診断症例として検査依頼があったもの (190 例) を対象として、以下の方法で薬剤耐性遺伝子検査を施行した。患者 EDTA 加血より分離した血漿 200 μ l からウイルス RNA を抽出し、RT/nested-PCR により HIV-1 プロテアーゼ領域 (1 amino acid [aa] - 99 aa)、逆転写酵素領域 (1 aa - 240 aa)、インテグラーゼ領域 (1 aa - 288 aa) を増幅した。得られた増幅産物の塩基配列をダイレクトシーケンス法で決定し、薬剤耐性変異の有無を判定した。伝播性の薬剤耐性変異は、Shafer R.W. *et. al.* の Drug resistance mutations for surveillance of transmitted HIV-1 Drug resistance : 2009 update (PLoS One, 2009, 4(3), e4724) に定義されているものとした。同様の方法を用いて env C2/V3 領域の塩基配列についても決定し、指向性検査 (geno2pheno [coreceptor] 2.5, <http://coreceptor.bioinf.mpi-inf.mpg.de/>) を行い、ウイルスの細胞指向性を予測した。

gag (p17)、*pol* (protease[PR]-reverse transcriptase [RT]、integrase [IN])、*env* (C2/V3) 領域を対象に、系統樹解析 (MEGA 5.2、Neighbor Joining 法、bootstrap 100) を行いサブタイプの決定を行なった。また BED EIA HIV-1 incidence test (CALYPLE com) を用いて HIV-1 gp41 特異的な IgG 抗体の力価を測定し、感染後 155 日以内 (recent seroconversion) か、それ以上経過している (long-term seroconversion) かを判定した。

(倫理面の配慮)

担当医から患者に本研究の説明を行い、文書での同意が得られた患者のみ検査を行なった。また本研究は名古屋医療センターの研究倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

1) 東海地区における新規 HIV/AIDS 診断症例

名古屋医療センターで 2013 年に HIV-1 感染症例と新規診断された 89 例の未治療症例を対象に、薬剤耐性検査、サブタイピング解析、指向性検査、BED アッセイを施行した。

まず患者背景として、男性が 98.9% (88 症例)、

日本人が 84.3% (75 症例) と日本人男性が大部分を占めていた (図 1)。推定される感染経路は男性同性間の性接触による感染が 33.7% (30 症例)、同性異性間のいずれかの性接触は 42.7% (38 症例) であった。またこのうち 8 例は静注薬物使用を併用しており、はっきりとした感染経路は断定できなかった。PR-RT 領域におけるサブタイピング解析の結果、サブタイプ B が 88.9% と最も多く、その他 CRF01_AE が 7.9%、G と CRF02_AG がそれぞれ 1.1% であった。PR-RT 領域と他領域のサブタイプ結果が乖離したものが 2 例あり、F (IN 領域) と B (*gag*、PR-RT、*env* 領域) の、CRF01_AE (*env* 領域) と B (*gag*、*pol* 領域) のリコンビナントウイルスであることが疑われた。ウイルスの細胞指向性では、R5 指向性が 77.5 (69 症例)、X4 指向性が 22.5% (20 症例) であった (図 2)。

伝播性薬剤耐性変異 (Transmitted Drug Resistance Mutation [TDRM]) の出現頻度は 15.7% (14 症例) から検出された (図 3)。作用機序別に分けると、プロテアーゼ阻害剤耐性変異が 5.6% (M46I/L 4 例、D30N/N88D 1 例)、核酸系逆転写酵素阻害剤耐性変異が 4.5% (T215 リバ

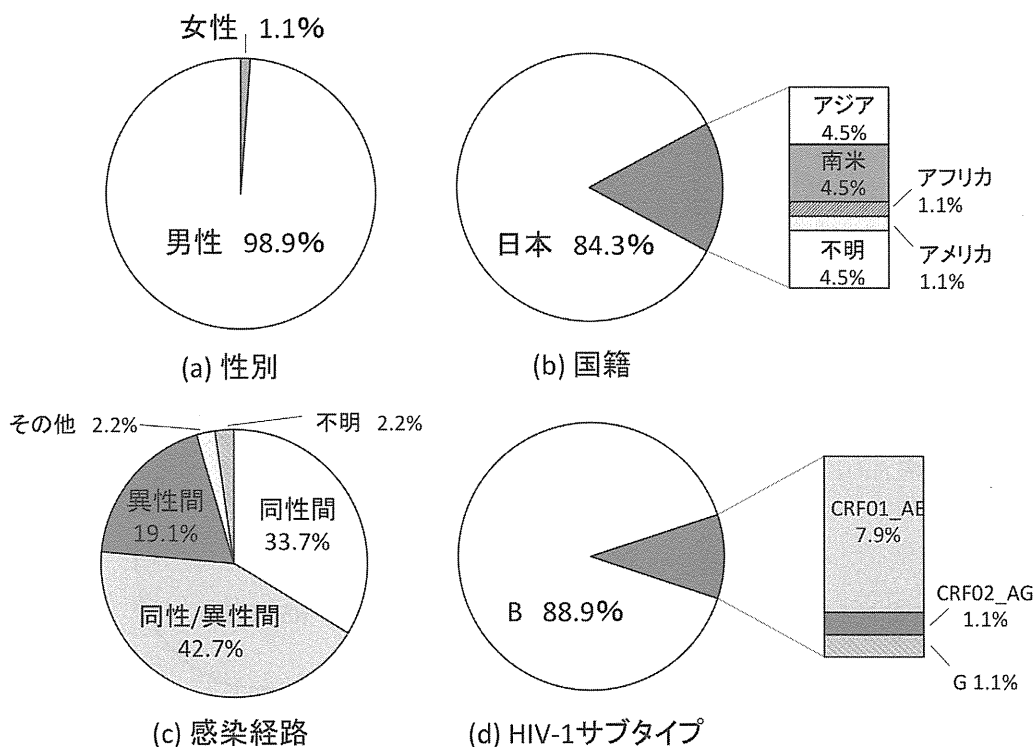


図 1. 東海地区における新規 HIV/AIDS 診断症例の背景 (n=89)

ータント 2 例、M41L/T215 リバータント、D67N/T215 リバータント 1 例ずつ)、非核酸系逆転写酵素阻害剤耐性変異が 1.1% (G190E 1 例) であり、インテグラーゼ阻害剤に対する耐性変異は 3.4% (T97A 2 例、L74M 1 例) であった (図 2)。またプロテアーゼ阻害剤 (M46L) と非核酸系逆転写酵素阻害剤 (K103N) に対する多剤耐性ウイルスが 1 例、見出された。BED アッセイの結果、本研究における検体が Recent (感染から 155 日未満) と判定されたのは 26 例 (29.2%) であった。このうち、薬剤耐性変異を付随していたのは 23% (6 例) であり、東海地区における頻度 15.7% と比べ、高い傾向にあった。

2) 他施設 (全国) における新規 HIV/AIDS 診断症

2013 年に 57 施設から当センターに検査依頼 (n=333) があり、その内 190 検体が診断後 1 年以内に受診した未治療症例であった。患者背景は、94.2% (n=179) が男性、93.7% (n=178) が日本人であった (図 3)。感染経路は、同性間の性接触による感染が 67.4% (n=128)、異性間の性接触が 17.9% (n=34)、同性 / 異性いずれかの性接触が 6.8% (n=13) であり、このうち 1 例において静注薬物使用を併用していた。(図 3)。PR-RT 領域のサブタイピング解析の結果、サブタイプ B

が 88.3% と大部分を占め、次いで CRF01_AE 7.4%、C 2.7%、CRF02_AG 1.1%、A 0.5% が検出された (図 3)。このうち PR-RT 領域と他領域のサブタイプ結果が乖離したものが 3 例あり、いずれも CRF01_AE と B のリコンビナントであった。ウイルスの細胞指向性では、R5 指向性が 77.5% (n=145)、X4 指向性が 22.5% (n=42) であった (図 2)。

伝播性薬剤耐性変異の出現頻度は 14.4% であった (図 3)。作用機序別に分けると、プロテアーゼ阻害剤耐性変異 2.1% (M46I/L 3 例、V82A 1 例)、核酸系逆転写酵素阻害剤耐性変異 8.5% (T215 リバータント 5 例、M41L 3 例、K219R/Q 2 例、M184V/I 2 例、L74I、F77I、T215 リバータント / K219Q、T215 リバータント / M184V が 1 例ずつ)、非核酸系逆転写酵素阻害剤耐性 1.1% (K101E/ Y181C、K103N/P225H が 1 例ずつ) であった。またインテグラーゼ阻害剤耐性変異は 1.6% (L74M が 2 例、T66I 1 例) であった。このうち核酸系逆転写酵素阻害剤 (T215 リバータント) とインテグラーゼ阻害剤 (L74M)、プロテアーゼ阻害剤 (D30N) とインテグラーゼ阻害剤 (L74M) に対する多剤耐性ウイルスが 1 例ずつ検出された。BED アッセイを施行した結果

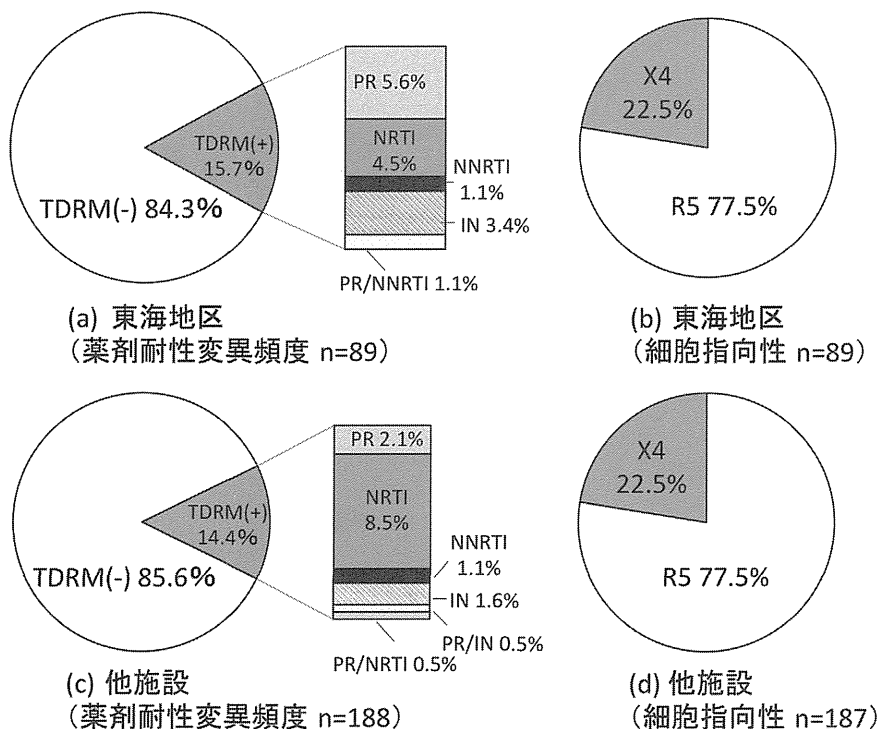


図 2. 薬剤耐性変異出現頻度と細胞指向性

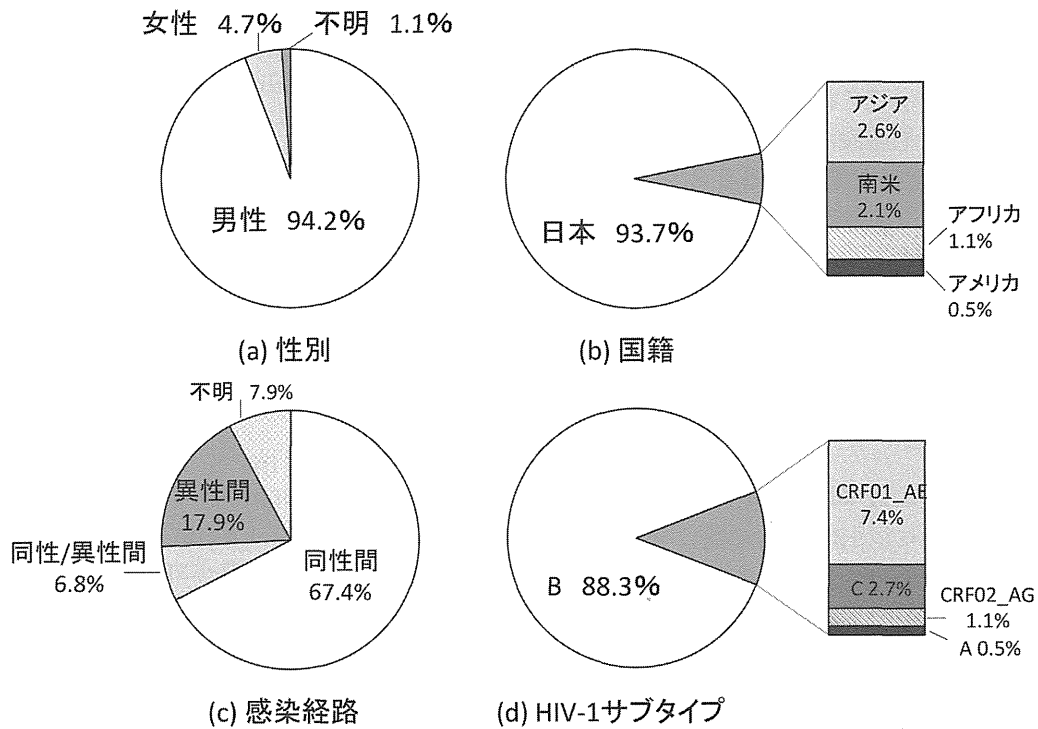


図3. 他施設における新規 HIV/AIDS 診断症例の背景 (n=190)

(n=178)、29.8% (n=53) が recent と判定され、そのうち薬剤耐性変異を付随していたのは 5.1% (n=9) であった。

D. 考察および結論

東海地区における 2013 年の新規 HIV/AIDS 診断症例の伝播性薬剤耐性変異の出現頻度は 15.7% であった。一昨年の報告での伝播性薬剤耐性ウイルスの検出頻度は 8.3% であったが、昨年 (15.2%) より約 2 倍に上昇し、その後継続して高い頻度で検出されていることが明らかとなった。他施設での伝播性薬剤耐性変異の出現頻度は 14.4% であり、東海地区における地域差は認められなかった。しかし一昨年からの動向に大きく変化があったことから、正確な伝播性薬剤耐性ウイルスの動向を見極めるため、さらなる継続的な調査が必要であると考えられた。東海地区、および他施設の検体から毎年必ず検出される M46L/I や T215 リバートラント変異は第一選択薬の効果に影響が少ないとされるものの、これら変異を持つ薬剤耐性ウイルスは既に全国的な流行株として蔓延していることが示唆された。また M184I/V はウイルスの増殖速度を落とす変異として知られており、Jain V. *et al.* によれば (J Infect Dis, 2011,

203, 1174-81)、HIV 感染 1 年後には 97% の症例で M184I/V は患者体内で野生株に置き換わることが報告されている。つまり感染早期でなければ検出できない M184I/V が 3 例検出されており、本研究において、感染早期といった適切な検体を解析対象としていることが示唆された。また BED アッセイの結果から、感染後約半年以内に HIV 検査を受検し、病院を受診する症例の割合は東海地区で 29.2%、他施設では 29.8% とその差が認められておらず、適切な母集団であると考えられた。しかしながら 2013, May 30 に update された「WHO/UNAIDS Technical update on HIV incidence assays for surveillance and epidemic monitoring」によれば、新しい測定方法 Limiting-Antigen (LAg) Avidity EIA が従来から使用されている BED アッセイに比べ、Recent の偽陽性率が低く、測定法が推奨されているため、今後導入の必要性が考えられた。

ウイルスの細胞指向性検査結果を東海地区と全国 (他施設) で比較したところ、どちらも R5 ウイルスが 77.5% 検出されており、未治療患者を対象とした Homer cohort (n=979) や Chelsea cohort (n=402) で検出された R5 ウイルスの出現頻度 81-82% と比較してもウイルスの細胞指向性に差異は認められな

かった。2008 年に本邦で Maraviroc が承認され 5 年が経過したが、Maraviroc に対し有効となる R5 指向性のウイルス出現率は世界的傾向と比べてもほぼ変わらないことが示唆された。

東海地区で 2 例、他施設から 3 例、リコンビナントウイルスによる感染が疑われる症例が見つかった。これはサブタイプの異なる 2 種類のウイルスによる重複感染の可能性も否定できないが、いずれもロスアラモスが定義する CRF (Circulating Recombinant Form) に当てはまらないものであった。そのため今後ウイルスの全長遺伝子配列を対象とした Breakpoint の解析が必要であると考えられた。

HIV 感染拡大防止には早期診断と早期治療が重要であり、またその為には HIV 検査の機会を増やしていく必要があることが知られている。効果的な治療を受けるため伝播性薬剤耐性変異の流行を阻止し、更なる調査・解析を重ね、日本で流行している HIV の正確な動向を把握していくことが必要であると思われた。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1) 原著論文

欧文

1. Imahashi M, Izumi T, Watanabe D, Imamura J, Matsuoka K, Ode H, Masaoka T, Sato K, Kaneko N, Ichikawa S, Koyanagi Y, Takaori-Kondo A, Utsumi M, Yokomaku Y, Shirasaka T, Sugiura W, Iwatani Y, Naoe T. Lack of Association between Intact/Deletion Polymorphisms of the APOBEC3B Gene and HIV-1 Risk. *PLoS One*. 9(3):e92861. 2014.
2. Kudoh A, Takahama S, Sawasaki T, Ode H, Yokoyama M, Okayama A, Ishikawa A, Miyakawa K, Matsunaga S, Kimura H, Sugiura W, Sato H, Hirano H, Ohno S, Yamamoto N, Ryo A. The phosphorylation of HIV-1 Gag by atypical protein kinase C facilitates viral infectivity by promoting Vpr incorporation into virions. *Retrovirology*. 11(1):9. 2014.
3. Nishizawa M, Hattori J, Shiino T, Matano T, Heneine W, Johnson JA, Sugiura W. Highly-Sensitive Allele-Specific PCR Testing Identifies a Greater Prevalence of Transmitted HIV Drug Resistance in Japan. *PLoS One*. 8(12):e83150. 2013.
4. Shibata M, Takahashi M, Yoshino M, Kuwahara T, Nomura T, Yokomaku Y, Sugiura W.

Development and application of a simple LC-MS method for the determination of plasma rilpivirine (TMC-278) concentrations. *The journal of medical investigation : JMI*. 60(1-2):35-40. 2013.

5. Saito A, Nomaguchi M, Kono K, Iwatani Y, Yokoyama M, Yasutomi Y, Sato H, Shioda T, Sugiura W, Matano T, Adachi A, Nakayama EE, Akari H. TRIM5 genotypes in cynomolgus monkeys primarily influence inter-individual diversity in susceptibility to monkey-tropic human immunodeficiency virus type 1. *The Journal of general virology*. 94(Pt 6):1318-1324. 2013.
6. Nii-Trebi NI, Ibe S, Barnor JS, Ishikawa K, Brandful JA, Ofori SB, Yamaoka S, Ampofo WK, Sugiura W. HIV-1 Drug-Resistance Surveillance among Treatment-Experienced and -Naive Patients after the Implementation of Antiretroviral Therapy in Ghana. *PloS one*. 8(8):e71972. 2013.
7. Katano H, Yokomaku Y, Fukumoto H, Kanno T, Nakayama T, Shingae A, Sugiura W, Ichikawa S, Yasuoka A. Seroprevalence of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus among men who have sex with men in Japan. *Journal of medical virology*. 85(6):1046-1052. 2013.
8. 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 type 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(1):198-203. 2013.
9. Jahanbakhsh F, Hattori J, Matsuda M, Ibe S, Monavari SH, Memarnejadian A, Aghasadeghi MR, Mostafavi E, Mohraz M, Jabbari H, Kamali K, Keyvani H, Azadmanesh K, Sugiura W. Prevalence of transmitted HIV drug resistance in Iran between 2010 and 2011. *PloS one*. 8(4):e61864. 2013.
10. Gatanaga H, Murakoshi H, Hachiya A, Hayashida T, Chikata T, Ode H, Tsuchiya K, Sugiura W, Takiguchi M, Oka S. Naturally Selected Rilpivirine-Resistant HIV-1 Variants by Host Cellular Immunity. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 57(7):1051-1055. 2013.

和文

1. 福山由美, 市川誠一, 大林由美子, 杉浦互, 横幕能行. 愛知県におけるエイズ診療拠点病院初診患者の受診遅れと検査遅れに関連する要因. *日本エイズ学会誌*. 15(2):119-127. 2013.

2. 平野淳, 高橋昌明, 柴田雅章, 野村敏治, 横幕能行, 杉浦互. 結核を合併した日本人 HIV 感染症例に対するラルテグラビルカリウムとリファンピシン併用に関する検討. 日本エイズ学会誌. 15(1):36-39. 2013.
- 2) 口頭発表
海外
1. Shiino T, Sadamasu K, Hattori J, Nagashima M, Iwatani Y, Yokomaku Y, Sugiura W. Large MSM Group and Local Heterosexual Transmission Are Major Concerns in the HIV Epidemic in Japan. CROI 2014. Boston, USA. Mar 3-6, 2014.
 2. Hachiya A, Anna Gres, Karen A. Kirby, Michailidis Eleftherios, Maejima M, Sugiura W, Kyeongeun Lee, Vineet KewalRamani, Kamendra Singh, Stefan G. Sarafianos. Small-Molecule Inhibits HIV-1 Replication by Interacting With HIV Capsid. CROI 2014. Boston, USA. Mar 3-6, 2014.
 3. Hosaka M, Fujisaki S, Hattori J, Shiino T, Hachiya A, Matsuda M, Iwatani Y, Yokomaku Y, Sugiura W. CRF01_AE and Subtype B Transmission Networks Cross Over; A New AE-B Recombinant Emerges in Japan. CROI 2014. Boston, USA. Mar 3-6, 2014.
 4. Saito A, Matsuoka K, Ode H, Otsuki H, Yoshida T, Iwatani Y, Sugiura W, Matano T, Miura T, Akari H. A Novel HIV-1mt Encoding CCR5-Tropic Env Established Persistent Infection in Cynomolgus Macaques. CROI 2014. Boston, USA. Mar 3-6, 2014.
 5. Hachiya A, Christie Pautler, Jennifer Moran, Sanath Janaka, Karen A. Kirby, Eleftherios Michailidis, Yee Tsuey Ong, Oka S, Michael A. Parniak, Sugiura W, KyeongEun Lee, Vineet N. KewalRamani, Kamalendra Singh and Stefan G. Sarafianos, Small-Molecule inhibits HIV-1 replication by targeting interaction with capsid and nuclear import. Retroviruses. New York. USA. May 20-25, 2013.
 6. Sugiura W. HIV Drug Resistance. Korea, Sep 24-25, 2013.
 7. Shiino T, Sadamasu K, Nagashima M, Hattori J, Iwatani Y, Yokomaku Y, Sugiura W. Nationwide HIV-1 transmission dynamics estimated by molecular evolutionary analysis in Japan. 8th International Workshop on HIV Transmission-Principles of Intervention. Barcelona, Spain, Oct 4-5, 2013.
 8. Kitamura S, Ode H, Nakashima M, Imahashi M, Naganawa Y, Kurosawa T, Yokomaku Y, Yamane T, Watanabe N, Suzuki A, Sugiura W, & Iwatani Y. Crystal structure of human APOBEC3C and HIV-1 Vif-binding interface. American Crystallographic Association Annual Meeting, Hawaii, USA, July 20-24, 2013.
 9. Imahashi M, Izumi T, Imamura J, Matsuoka K, Koyanagi Y, Takaori-Kondo A, Yokomaku Y, Naoe T, Sugiura W, Iwatani Y. A population-based matched-cohort study on insertion/deletion polymorphism of the APOBEC3B gene and risk of HIV-1. 7th IAS Conference on HIV Pathogenesis. Treatment and Prevention. Kuala Lumpur, Malaysia, June 30-July 3, 2013.
 10. Hattori J, Gatanaga H, Kondo M, Sadamasu K, Kato S, Mori H, Minami R, Uchida K, Yokomaku Y, Sugiura W. Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network. Comparison of patient characteristics and trends of transmitted drug resistant HIV between recent and long-term infection among treatment-naïve HIV-1-infected populations in Japan. 7th IAS Conference on HIV Pathogenesis. Treatment and Prevention. Kuala Lumpur, Malaysia, June 30-July 3, 2013.
 11. Shiino T, Sadamasu K, Hattori J, Nagashima M, Iwatani Y, Yokomaku Y, Sugiura W. Molecular phylodynamic analysis of drug resistance transmissions in HIV-1 subtype B in Japan. International Workshop on HIV & Hepatitis Virus Drug Resistance and Curative Strategies. Toronto, Canada, June 4-8, 2013.
 12. Matsuoka K, Tanabe F, Shigemi U, Hattori J, Ode H, Masaoka T, Morishita R, Sawasaki T, Yokomaku Y, Iwatani Y, Sugiura W. Complexity of cross-resistance mutation patterns in diarylpyrimidine non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors rilpivirine and etravirine in clinical isolates. International Workshop on HIV & Hepatitis Virus Drug Resistance and Curative Strategies. Toronto, Canada, June 4-8, 2013.
 13. Kitamura S, Ode H, Nakashima M, Imahashi M, Naganawa Y, Kurosawa T, Yokomaku Y, Yamane T, Watanabe N, Suzuki A, Sugiura W, and Iwatani Y. The crystal structure of APOBEC3C including HIV-1 Vif-binding interface. 4th International Symposium on Diffraction Structural Biology. Nagoya, May 26-29, 2013.
- 国内
1. 細羽恵理子, 鈴木匡弘, 杉浦互. 国内で分離された *Acinetobacter baumannii* の MLST による系統解析 第 25 回日本臨床微生物学会 名古屋 2014 年 2 月 1-2 日
 2. 根本理子, 伊部史朗, 今橋真弓, 今村淳治, 岩谷靖雅, 横幕能行, 味澤篤, 杉浦互. 本邦における HIV-2 感染疑い症例の実情と問題点. 第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会 (熊本) 2013 年 11 月
 3. 中島雅晶, 北村紳悟, 黒沢哲平, 大出裕高, 河村高志, 真野由有, 今橋真弓, 長縄由里子, 横幕能行, 渡邊信久, 杉浦互, 岩谷靖雅. APOBEC3F

- タンパク質上の HIV-1 Vif 結合領域の同定と構造的解析 第 36 回日本分子生物学会 神戸 2013 年 12 月 3-6 日
4. 北村紳悟、中島雅晶、黒沢哲平、大出裕高、河村高志、今橋真弓、長縄由里子、真野由有、横幕能行、渡邊信久、杉浦互、岩谷靖雅. 抗 HIV-1 宿主因子 APOBEC3F の Vif 結合領域に関する構造的解析 第 61 回日本ウイルス学会学術集会 神戸 2013 年 11 月 10-12 日
 5. 大出裕高、松岡和弘、松田昌和、根本理子、蜂谷敦子、横幕能行、岩谷靖雅、杉浦互. 次世代シーケンサー Illumina MiSeq による微小集族薬剤耐性 HIV の網羅的検出システムの構築 第 61 回日本ウイルス学会学術集会 神戸 2013 年 11 月 10-12 日 17.
 6. 蜂谷敦子、Christie Pautler、Jennifer Moran、Sanath Janaka、Karen A. Kirby、Eleftherios Michailidis、Yee Tsuey Ong、岡慎一、Michael A. Parniak、前島雅美、松岡和弘、岩谷靖雅、KyeongEun Lee、Vineet N. KewalRamani、Kamalendra Singh、杉浦互、Stefan G. Sarafianos. カプシドと核膜移行を標的とした低分子化合物の開発とその作用機序の解明 第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会 熊本 2013 年 11 月 20-22 日
 7. 重見麗、服部純子、蜂谷敦子、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、伊藤俊広、古賀道子、岩本愛吉、西澤雅子、岡慎一、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、高田清式、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 27 回日本エイズ学会学術集会・総会、熊本、2013 年 11 月 20-22 日.
 8. 保坂真澄、藤崎誠一郎、服部純子、椎野禎一郎、松田昌和、蜂谷敦子、重見麗、岡崎玲子、岩谷靖雅、濱口元洋、横幕能行、杉浦互. 東海地域で見いだされた新たな CRF01_AE/B リコンビナント HIV-1 株 第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会 熊本 2013 年 11 月 20-22 日
 9. 中島雅晶、北村紳悟、大出裕高、河村高志、今橋真弓、長縄由里子、黒沢哲平、横幕能行、渡邊信久、杉浦互、岩谷靖雅. APOBEC3F C 末端側ドメインの構造解析と HIV-1 Vif 結合インターフェイス 第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会 熊本 2013 年 11 月 20-22 日
 10. 齊藤暁、大附寛幸、東濃篤徳、鈴木紗織、松田健太、高橋尚史、松岡佐織、岩谷靖雅、杉浦互、野間口雅子、足立昭夫、保富康宏、俣野哲朗、三浦智行、明里宏文. CCR5 指向性を示す新規サル指向性 HIV-1 はサル個体に持続感染する 第 61 回日本ウイルス学会学術集会 神戸 2013 年 11 月 10-12 日
 11. 今橋真弓、泉泰輔、渡邊大、今村淳治、松岡和弘、正岡崇志、佐藤桂、金子典代、市川誠一、小柳義夫、高折晃史、内海眞、横幕能行、白阪琢磨、直江知樹、杉浦互、岩谷靖雅. 宿主防御因子 APOBEC3B の遺伝子欠損による HIV-1 感染伝播・病勢への影響に関する研究 第 61 回日本ウイルス学会学術集会 神戸 2013 年 11 月 10-12 日
 13. 大出裕高、松岡和弘、松田昌和、根本理子、蜂谷敦子、横幕能行、岩谷靖雅、杉浦互. 次世代シーケンサー Illumina MiSeq による HIV ゲノム配列の網羅的解析システムの構築 第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会 熊本 2013 年 11 月 20-22 日
 14. 齊藤暁、大附寛幸、東濃篤徳、鈴木紗織、松田健太、高橋尚史、松岡佐織、岩谷靖雅、杉浦互、野間口雅子、足立昭夫、保富康宏、俣野哲朗、三浦智行、明里宏文. CCR5 指向性を示す新規サル指向性 HIV-1 はサル個体に持続感染する 第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会 熊本 2013 年 11 月 20-22 日
 15. 今橋真弓、泉泰輔、渡邊大、今村淳治、松岡和弘、佐藤桂、金子典代、市川誠一、小柳義夫、高折晃史、内海眞、横幕能行、白阪琢磨、直江知樹、岩谷靖雅、杉浦互. 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 67 回国立病院総合医学会 金沢 2013 年 11 月 8-9 日
 16. Ode H, Sugiura W, Yokomaku Y. Molecular dynamics simulations of HIV-1 protease-inhibitor complex with modified charges for catalytic aspartate. 第 51 回日本生物物理学会年会 京都 2013 年 10 月 28-30 日
 17. 中島雅晶、北村紳悟、黒沢哲平、大出裕高、河村高志、今橋真弓、長縄由里子、横幕能行、渡邊信久、杉浦互、岩谷靖雅. HIV-1 Vif 結合領域を持つ APOBEC3F C 末端側ドメインの構造解析 第 15 回白馬シンポジウム 名古屋 2013 年 7 月 19-20 日
 18. 松岡和弘、重見麗、大出裕高、蜂谷敦子、服部純子、森下了、澤崎達也、横幕能行、岩谷靖雅、杉浦互. HIV-1 臨床分離株を用いた Rilpivirine 及び Etravirine に対する交差耐性変異に関する酵素的な解析 第 15 回白馬シンポジウム 名古屋 2013 年 7 月 19-20 日
 19. 大出裕高、松岡和弘、松田昌和、根本理子、蜂谷敦子、横幕能行、岩谷靖雅、杉浦互. 次世代シーケンサー Illumina MiSeq による HIV ゲノム解析系の構築 第 15 回白馬シンポジウム 名古屋 2013 年 7 月 19-20 日
 20. 今橋真弓、泉泰輔、渡邊大、今村淳治、松岡和弘、佐藤佳、小柳義夫、高折晃史、横幕能行、白阪琢磨、杉浦互、岩谷靖雅、直江知樹. 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 15 回白馬シンポジウム 名古屋 2013 年 7 月 19-20 日
 21. 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. ヒト抗レトロウイルス因子 APOBEC3 ファミリー間における HIV-1 Vif 結合インターフェイスの構造比較 第 13 回日本蛋白質科学会年会 鳥取 2013 年 6 月 12-14 日

22. 杉浦互. 「H I V 治療の進歩と薬剤耐性H I Vの動向」 大阪 2013 年 6 月 1 日

G. 知的所有権の出願・取得状況

なし

横浜および近郊における薬剤耐性 HIV の動向調査研究

研究分担者 石ヶ坪 良明 横浜市立大学大学院医学研究科 病態制御免疫内科 教授
研究協力者 上田 敦久 横浜市立大学附属病院 リウマチ・血液・感染症内科

研究要旨

神奈川県における HIV/AIDS 診療の実態を把握するため平成 25 年 1 月より 12 月に当院初診の新規未治療感染患者 23 名を対象に薬剤耐性検査と BED アッセイを継続して行った。BED アッセイは 20 名に施行され、最近の感染を疑う ODn <0.8 に該当する患者は 5 名おられ、うち 1 名のみ臨床初期 HIV 感染と診断できた。耐性検査は 23 名になされ 1 名に Etravirine の耐性変異である E138A を認めた。23 名中 4 名が指向性 X4 であった。また 4 名がサブタイプ 01 AE であり、1 名がサブタイプ C であり、残り 18 名はサブタイプ B であった。

A. 研究目的

当院診療圏（横浜市南部・三浦湘南地区）における HIV 感染の動向把握のために 7 年前より施行している新規未治療感染患者の薬剤耐性検査と BED アッセイを継続して行った。

（倫理面への配慮）

サンプリングは採血のみであり、多くは他の検査項目と一緒に行われた。薬剤耐性検査の解析結果は、治療開始時の薬剤選択において大いに有用であり、不利益な点はない。BED アッセイは患者の要請に基づき通知するが、偽陽性や偽陰性の頻度が高いこと同時に知らせ、また診療方針の決定には影響しない。情報の扱いには細心の注意が払われる。施設から出る情報は匿名化されたものを用い、個人を特定しうる情報の流出はない。本解析は当院の倫理委員会で承認されており、これに基づき研究の目的、研究に協力いただいたときの利益と不利益、参加の方法と内容、研究調査の適切な運営と情報の保護、研究成果の公表、協力して頂くことを説明し、同意のもとに行われた。

B. 研究方法

薬剤耐性検査および BED アッセイ； 2013 年に当院を新規感染患者として受診した 23 名に研究の内容に同意を得た後に薬剤耐性検査および BED アッセイを施行した。薬剤耐性検査、指向性検査、サブタイプ解析は国立病院機構名古屋医療センターに検査を依頼、BED アッセイは calypte® HIV-1 BED incidence EIA キット（Calypte Biochemical Co., Rockville, MD）を用いて調べた。

C. 研究結果

薬剤耐性検査および BED アッセイ

平成 25 年に当院を初診した HIV 感染患者は 30 名であり、1986 年より行なわれている当院の HIV 診療の歴史の中で最も多い数字となった。29 名が男性で 1 名が女性であった。日本国籍が 29 名で 1 名がアメリカ国籍であった。うち 23 名が新規感染判明患者であり 7 名は紹介患者であった。23 名中 6 名は AIDS を発症していた。20 名に BED アッセイが施行され 5 名が ODn <0.8 であり、最近の感染が推測された。しかし臨床的に PHI と診断でき

たのは1名で1人はクリプトコックス髄膜炎を発症しており、CD4 陽性細胞数も $15/\mu\text{L}$ まで低下しており偽陽性を推測された。残り3名は最近の感染が否定できない臨床歴であった。23名全員に薬剤耐性検査、指向性検査、サブタイプ解析が行なわれた。1名に E138A の薬剤耐性変異を認めた他は臨床的に問題となる変異はなかった。指向性は4名(17.4%)が X4 であり残り19名(82.6%)は R5 であった。サブタイプ解析では4名が O1_AE であり、1名が C、18名がサブタイプ B であった。サブタイプ C 型の方はミャンマーでの感染が推測された。

D. 考察

エイズ動向委員会報告による新規 HIV 感染患者数は2007年に1500名となり、以降1500名前後で推移しているが、当院では依然増加傾向がみられる。BED アッセイは5名(22%)で陽性であり、若干少なかった。さらに1名は AIDS を発症した偽陽性例が疑われ、PHI 例が少なかったのが今年の特徴である。

薬剤耐性変異は E138A のエトラビリンに対する耐性変異を1名に認めた。この耐性変異は当院初診患者を対象に7年間行なわれてきた検査では初めてのものであり、エトラビリン、リルピビリンといった比較的新しく、しばしば臨床で用いられる薬剤の耐性変異であり注意を要する。以前に検出された T215S/E/D/L や M46I/L、K103N といった耐性変異は昨年引き続き認められなかった。

E. 結論

神奈川県東南部に診療圏を持つ横浜市立大学附属病院の新規感染患者を対象に薬剤耐性変異検査および BED アッセイを施行した。薬剤耐性変異は1名に E138A を認め、傾向を慎重に見守る必要がある。ODn <0.8 の頻度は当診療圏において大きな変動はみられない。耐性変異の動向を明らかにするために今後もデータの蓄積を継続するべきと考えられる。

F. 健康危険情報

なし

表1 BED アッセイ

| 症例 | Sex | 感染時期 | AIDS発症 | CD4 | ウイルス量 | ODn |
|-----|-----|------|--------------|-----|--------|-------|
| 525 | M | 不明 | なし | 126 | 94000 | 3.620 |
| 526 | M | 不明 | PCP | 2 | 320000 | 1.960 |
| 527 | M | 不明 | なし | 534 | 220000 | 3.120 |
| 530 | M | 不明 | なし | 597 | 88000 | 0.810 |
| 531 | M | 不明 | PCP | 72 | 930000 | 2.180 |
| 532 | M | 不明 | なし | 231 | 45000 | 2.640 |
| 533 | N | 不明 | なし | 394 | 97000 | 2.700 |
| 534 | M | 不明 | Candidosis | 138 | 49000 | 2.910 |
| 535 | M | 不明 | なし | 771 | 880 | 1.840 |
| 538 | M | PHI | なし | 252 | 73000 | 0.160 |
| 540 | M | 不明 | なし | 786 | 2700 | 0.671 |
| 541 | M | 不明 | なし | 664 | 6600 | 0.143 |
| 542 | M | 不明 | なし | 215 | 49000 | |
| 543 | M | 不明 | なし | 0.6 | 150000 | 2.680 |
| 544 | M | 不明 | PCP | 11 | 110000 | 2.370 |
| 545 | M | 不明 | Cryptococcus | 15 | 230000 | 0.560 |
| 547 | M | 不明 | Candidosis | 19 | 240000 | 4.170 |
| 549 | M | 不明 | なし | 227 | 84000 | 0.163 |
| 550 | M | 不明 | なし | 568 | 52000 | 2.550 |
| 551 | F | 不明 | なし | 244 | 12000 | 2.120 |
| 552 | M | 不明 | なし | 165 | 66000 | 2.060 |
| 554 | M | 不明 | なし | 369 | 86000 | |
| 555 | M | 不明 | なし | 440 | 18000 | |

表 2 薬剤耐性検査、指向性検査、サブタイプ解析

| 症例 | Sex | RT | PI | INT | Subtype | Odn |
|-----|-----|---------------|------------------------------------|-------|----------|----------|
| 525 | M | (-) | I15V | V72I | B | X4 3.620 |
| 526 | M | (-) | L10I, G16E, M36I, L63P, | (-) | AE (USA) | X4 1.960 |
| 527 | M | (-) | L63P, L77I | V72I | B | R5 3.120 |
| 530 | M | (-) | L63P, V77I | (-) | B | R5 0.810 |
| 531 | M | (-) | L10I, I15V, I62V | (-) | B | R5 2.180 |
| 532 | M | (-) | I15V, I62V, L63P, V77I | (-) | B | R5 2.640 |
| 533 | N | V179I | I15V, I62V, L63P, V77I | (-) | B | R5 2.700 |
| 534 | M | (-) | M36I, L63P | (-) | C | R5 2.910 |
| 535 | M | V90I | K20R, M36I, L63P, V77I | (-) | B | R5 1.840 |
| 538 | M | (-) | I15V, L63P | (-) | B | R5 0.160 |
| 540 | M | (-) | (-) | (-) | B | R5 0.671 |
| 541 | M | V106I | L10I | (-) | B | R5 0.143 |
| 542 | M | (-) | M36I, M46L, I62V, A71V, V77I | (-) | B | R5 |
| 543 | M | V179I | I15V, K20R, M36I | (-) | AE | R5 2.680 |
| 544 | M | (-) | L10I, I15V, M36I, D60E, I62V, A71V | (-) | B | R5 2.370 |
| 545 | M | M41L, V179D/F | A71V, V77I | (-) | B | R5 0.560 |
| 547 | M | (-) | I15V, M36I, I62V, A71V | (-) | B | X4 4.170 |
| 549 | M | (-) | L10V, I15V, M36I | (-) | AE | R5 0.163 |
| 550 | M | E138A | I15V, K20R, L63P | (-) | B | R5 2.550 |
| 551 | F | V179I | K20R, M36I, D60E, I62V | (-) | AE | R5 2.120 |
| 552 | M | (-) | I62V, A71T | E157Q | B | R5 2.060 |
| 554 | M | (-) | L10I, M36I, I62V, L63P, V77I | L74M | B | R5 |
| 555 | M | (-) | I15V | (-) | B | X4 |

G. 研究発表

1) 原著論文

- 井戸田 一郎 (しらかば診療所), 星野 慎二, 沢田 貴志, 佐野 貴子, 上田 敦久, 加藤 真吾, 今井 光信, コミュニティセンター「かながわレインボーセンター SHIP」の夜間 HIV/STIs 即日検査相談を受けた MSM (men who have sex with men) の特徴及び罹患率 日本公衆衛生雑誌 (0546-1766)60 巻 5 号 Page253-261(2013.05)

2) 口頭発表

- 寒川 整, 比嘉 令子, 上田 敦久, 白井 輝, 石ヶ坪 良明 HIV opt-out 検査に向けたアンケート調査、第 7 4 回神奈川県感染症医学会 2013,9,21 (横浜)
- 石ヶ坪 良明, 寒川 整, 比嘉 令子, 上田 敦久, 筑丸 寛, 竹林 早苗, 松山 奈央, 松井 周一, 友田 安政, 白井 輝、初診時における血液・体液暴露事故時感染症検査の事前同意書取得の試み 第 2 7 回日本エイズ学会学術集会 2013, 11, 20 (熊本)
- 上田 敦久, 石ヶ坪 良明, 寒川 整, 比嘉 令子, 筑丸 寛, 竹林 早苗, 松山 奈央, 松井 周一, 友田 安政, 白井 輝、HIV 治療の必要性和身障者手帳申請条件の乖離を認識した 2 症例 第 2 7 回日本エイズ学会学術集会 2013, 11, 20 (熊本)

- 筑丸 寛, 上田 敦久, 小森 康雄, 泉福 英信, 金子 明寛, 池田 正一, 石井 良昌, 竹林 早苗, 松山 奈央, 松井 周一, 友田 安政, 白井 輝, 石ヶ坪 良明, 藤内 祝、神奈川県 HIV 歯科診療ネットワークにおける専門的歯科診療の受け入れ体制に関する調査 第 2 7 回日本エイズ学会学術集会 2013, 11, 20 (熊本)
- 星野 慎二, 井戸田 一郎, 上田 敦久, 相楽 裕子, 佐伯 理恵, 鈴木 宣子, 平岡 真理子、社会 検査・相談体制 川崎市における MSM を対象とした無料 HIV/STIs 検査相談結果について 第 2 7 回日本エイズ学会学術集会 2013, 11, 20 (熊本)

H. 知的所有権の出願・取得状況 なし

東北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 伊藤 俊広 仙台医療センター HIV/AIDS 包括医療センター長
 研究協力者 佐々木 悟 仙台医療センター臨床検査科細菌主任
 成田 弘 仙台医療センター臨床検査科技師長

研究要旨

平成 24 年度（平成 24 年 12 月～平成 25 年 3 月）及び平成 25 年度（平成 25 年 4 月～11 月まで）「国内で流行する HIV とその薬剤耐性株の動向把握に関する研究」の分担研究として東北地方における新規 HIV 感染者における薬剤耐性 HIV の現状を調査した。検査可能であった新規感染者 8 症例はすべてサブタイプ B であった。MSM 6 例、異性間感染 2 例（男性 1 例、女性 1 例）。MSM 6 例中 3 例は AIDS 発症していた。男性 7 例で耐性変異が検出された。RT 領域では 4 例に耐性変異を認めた：V179E、V118I、V108I、V106I、K103KR、D67DN、E138EG。プロテアーゼ領域では 6 例に耐性変異を認めた：A71V（3 例）、A71T（1 例）、L10I（2 例）、L24I（1 例）、I62V（2 例）。

A. 研究目的

すでに慢性疾患と認識される HIV 感染症であるが、今後も継続的に問題とすべきものの一つに薬剤耐性ウイルスの出現がある。HIV それ自体が持つ易変異性と治療を受ける患者側の薬剤服用アドヒアランスがその出現に大きな影響力を持つが、感染拡大と疾患コントロールの観点から耐性ウイルスの発生動向の把握は重要であり、現状把握が必要である。耐性ウイルスをサーベイすることにより適切な初期治療の選択や新薬の開発、また同系の耐性ウイルスの拡がりを把握することにより感染集団の同定やその広がりを知ることができる可能性が高い。

国内で流行する HIV とその薬剤耐性株の動向を把握するため、東北地方における新規感染者における薬剤耐性 HIV の発生状況を調査した。

本研究の目的は、臨床サイドで分離されるこれらウイルスの耐性遺伝子部位の変化を調べることにより、ウイルスの持つ性格と動向を知り、治療法の評価や HIV 基礎研究に役立てることである。今回は平成 24 年 12 月～平成 25 年 11 月の症例分について報告する。

B. 研究方法

平成 24 年 12 月から平成 25 年 11 月の期間に仙台医療センターにおける新規 HIV 感染者の血漿中 HIV RNA を用い、これらウイルスが持つ性質の一つである薬剤耐性遺伝子変異について検討した。方法：「国内で流行する HIV とその薬剤耐性株の動向把握に関する研究」班および「HIV 検査相談の充実と利用機会の促進に関する研究」班による HIV-1・2 技術研修会での HIV-1 薬剤耐性遺伝子検査法に準じて実施した。すなわち、RT-PCR とそれに引き続き Nested PCR で遺伝子増幅を行い、ABI PRISM 310 Genetic Analyzer で増幅した遺伝子産物の塩基配列解析を実施した。得られた塩基配列は STANFORD UNIVERSITY HIV DRUG RESISTANCE DATABASE で薬剤耐性遺伝子変異を検索した。

（倫理面への配慮）

耐性遺伝子変異データの集計においては個人名、個人情報の同定は不可能であり、HIV 関連遺伝子以外の遺伝学的研究には用いない。

C. 研究結果

仙台医療センターにおける平成 25 年 11 月末日

までの HIV/AIDS 感染者の累計は 251 名である。東北全体での平成 25 年 9 月までの累計では 495 名で、全国と同様に増加している。平成 24 年 12 月～平成 25 年 11 月の期間に当院を初診した HIV 感染者は 16 例（女性 2 例）で血液製剤 2 例、性的接触による感染が 14 例であった。治療歴のない HIV 感染者で本研究の対象となった症例は 8 例（男性 7 例、女性 1 例）であり、MSM 6 例、異性間感染 2 例であった。年齢は 23 歳から 46 歳で平均 33.8 歳、中央値は 34.5 歳で A I D S 発症 3 例、キャリアー 5 例。耐性検査時の H I V ウイルス量は $2.6 \times 10^2 \sim 4.9 \times 10^5$ コピー / m l、C D 4 は $35 \sim 617 / \mu l$ 。ウイルス subtype はすべて B であった。女性 1 例は海外（イタリア）感染と思われた。

耐性変異は男性 7 例に認められた。すなわち、RT 領域では 4 例に耐性変異を認め（V179E、V118I、V108I、V106I、K103KR、D67DN、E138EG）、プロテアーゼ領域では A71V（3 例）、A71T（1 例）、L10I（2 例）、L24I（1 例）、I62V（2 例）の変異を検出した。

D. 考察

東北においても全国と同様に HIV 感染者は同性間の性的接触（MSM）を中心に増加傾向にある。治療（多剤併用療法：cART）開始時に耐性ウイルスの存在の有無を確認することは治療薬剤の選択だけでなく、その後のさらなる耐性出現を防ぐ上でも重要である。新規に開発される薬剤についても適時サーベイして行く必要がある。当施設では現時点でインテグラーゼ領域の耐性検査が行なわれておらず、今後準備していく必要がある。現時点において実際の診療上、抗 HIV 療法の薬剤選択に大きな混乱は生じていない。

E. 結論

平成 24 年 12 月～平成 25 年 11 月の期間の HIV 感染症新規症例 8 例に対し薬剤耐性検査を施行し、7 例で耐性変異を検出した。今後も継続的サーベイランスが必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) 学会発表

1. 佐藤麻希、山本善彦、阿部憲介、水沼周市、小山田光孝、伊藤俊広：災害時に対応した抗 HIV 薬供給と服薬支援策の検討 - 第 2 報 - ～震災・被災

HIV 患者アンケート調査から考える未来への備え～：第 27 回日本 AIDS 学会、2013、11 月、熊本

2. 太田 貴、高橋幸二、伊藤俊広、塩野徳史：東北地方の MSM を対象とした HIV 抗体検査の受検促進のための取り組み：第 27 回日本 AIDS 学会、2013、11 月、熊本
3. 牧園裕也、荒木順子、石田敏彦、太田 貴、金城 健、後藤大輔、伊藤俊広、内海 眞、鬼塚哲郎、山本政弘、健山正男、塩野徳史、金子典代、市川誠一：MSM 向けエイズ対策としてのコミュニティセンターの意義と妥当性の検討：第 27 回日本 AIDS 学会、2013、11 月、熊本
4. 金子典代、塩野徳史、健山正男、山本政弘、鬼塚哲郎、内海 眞、伊藤俊広、岩橋恒太、市川誠一：MSM 向けインターネット横断調査に続く追跡パネル調査法の妥当性の検討：第 27 回日本 AIDS 学会、2013、11 月、熊本
5. 重見 麗、服部純子、蜂谷敦子、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、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、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、高田清式、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 27 回日本 AIDS 学会、2013、11 月、熊本
6. 阿部憲介、佐藤麻希、小山田光孝、塚本琢也、伊藤ひとみ、佐藤 功、伊藤俊広：薬剤性腎機能障害により cART 変更となった一症例—薬剤変更のトリガーとしての腎障害—：第 27 回日本 AIDS 学会、2013、11 月、熊本
7. 山本善彦、佐藤 功、伊藤俊広：仙台医療センターにおける HIV 感染患者の合併慢性感染症の検討：第 27 回日本 AIDS 学会、2013、11 月、熊本
8. 須貝 恵、吉田 緑、センチノ田村恵子、鈴木智子、辻 典子、井内亜紀子、濱本京子、田邊嘉也、伊藤俊広：拠点病院診療案内からみる拠点病院の現状：第 27 回日本 AIDS 学会、2013、11 月、熊本
9. 伊藤俊広：HIV 感染症の見つけ方—インフルエンザ様症状や悪性リンパ腫等に潜む HIV を見逃さないために—（シンポジウム 32 免疫機能低下時の感染管理）：第 23 回日本医療薬学会年会、2013、9 月、仙台

H. 知的所有権の出願・取得状況

なし

北陸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 上田 幹夫 石川県立中央病院 免疫感染症科 部長

研究要旨

北陸ブロックにおける薬剤耐性 HIV 伝播の現状を把握するために、2013 年新規に診断された 8 例の HIV 感染者全例に対して、薬剤耐性検査とサブタイプ解析を行った。その結果、プロテアーゼ領域では一次変異は認められず、逆転写酵素領域でも高度耐性変異は認められなかった。しかし、プロテアーゼ領域の二次変異は全ての症例で検出され、逆転写酵素領域では T215N、E138K、L74I など 7 種類の変異が 5 症例に検出された。インテグラーゼ領域では耐性変異は検出されなかった。サブタイプ解析では、全例 B であった。

A. 研究目的

本邦における薬剤耐性 HIV 伝播の状況を把握する研究の分担として、北陸ブロックにおける新規あるいは慢性未治療 HIV 感染者における薬剤耐性変異の状況を調査し、薬剤耐性 HIV の発生動向を把握する。同時にサブタイプ解析を行い、新規診断患者の HIV サブタイプの動向についても調査する。

B. 研究方法

薬剤耐性検査 (genotype) とサブタイプ解析は、初診時または服薬開始前の検体を用いて行った。検査の同意を得た後、検査は研究代表者である杉浦互先生 (名古屋医療センター) に依頼した。

(倫理面への配慮)

HIV 感染者には担当医から説明を行い、同意を得た後、検査を行った。また、サンプルの患者情報は記号化し、プライバシーの保護に配慮した。なお、本研究は石川県立中央病院倫理委員会で承認されている。

C. 研究結果

当院における 2013 年 1 月から 12 月までの HIV 感染者・AIDS 患者の新規登録は 10 例で、そのうち未治療は 8 例であった。耐性検査は 8 例全例で施行し、問診と免疫機能検査成績などから、感染初期と判断される例は 1 例 (表 1 の No.5) であった。

耐性検査の結果、プロテアーゼ領域では 8 例全例に耐性に関与する変異が確認されたが、全て二次変異であった (表 1)。それらの変異の中で頻度の多いものとしては、L63P (5 例)、V77I (4 例)、A71T (2 例)、A71V (2 例) などであった。逆転写酵素領域では、T215N、V179D/I、E138K、V90I、L74I、T69S、V16I がそれぞれ 1 例に観察された。インテグラーゼ領域では、薬剤耐性変異は認めなかった。サブタイプ解析では、サブタイプ B が 8 例 (100%) であった。

また抗 HIV 療法を自己中断した 2 例で、薬剤再開前検査として耐性検査を行ったが、プロテアーゼ領域の一次変異や逆転写酵素領域の高度耐性変異は見られなかった (表 2)。

表 1 新規登録未治療患者における薬剤耐性変異

2013年1月～12月

| No. | 性別 | 国籍 | サブタイプ | PRO | RT | IN |
|-----|----|----|-------|-------------------------------|---------------|----|
| 1 | M | 日本 | B | A71T | V106I | — |
| 2 | M | 日本 | B | L63P, A71V, V77I | V90I | — |
| 3 | M | 日本 | B | L63P, A71V, V77I | — | — |
| 4 | M | 日本 | B | I15V | K101E, E138K | — |
| 5 | M | 日本 | B | I15V | — | — |
| 6 | M | 日本 | B | I62V, L63P, H69K/N/Q, V77I | L74I, T215N | — |
| 7 | M | 日本 | B | L63P, H69N, V77I | — | — |
| 8 | M | 日本 | B | L63P, A71T | T69S, V179D/I | — |

表 2 抗 HIV 治療自己中断患者における薬剤耐性変異

2013年1月～12月

| No | 性別 | 国籍 | サブタイプ | PRO | RT | IN |
|----|----|----|-------|---------------------|----|----|
| 1 | M | 日本 | B | I15V, I62V, V77wt/I | — | NT |
| 2 | F | 日本 | A | M36I, L63P | — | — |

表 3 抗 HIV 治療 (ART) 施行中の患者数の推移 (北陸)

| | 2006 | 2007 | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 |
|-----------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 診療患者数 | 84 | 82 | 102 | 105 | 120 | 147 | 163 | 175 |
| ART施行中(人) | 49 | 58 | 75 | 90 | 99 | 120 | 138 | 158 |
| ART施行中(%) | 58.3 | 70.7 | 73.5 | 85.7 | 82.5 | 81.6 | 84.7 | 90.3 |

D. 考察

2013 年、未治療 HIV 感染者の薬剤耐性調査研究として新規にエントリーしたのは 8 例であった。プロテアーゼ領域では一次変異は認めなかったが、二次変異は L63P、V77I をはじめとして 7 種類の変異が検出された。逆転写酵素領域では、2010 年以後は観察されなくなっていた T215X 変異を 4 年ぶりに検出した。抗 HIV 治療 (ART) を受けている患者数は北陸においても増加しており (表 3)、これまでにウイルス学的治療失敗例には多剤耐性ウイルスも検出されている。今後、北陸においても耐性 HIV の出現や伝播が危惧されるので、臨床の現場では服薬アドヒアランスの向上や HIV 二次感染予防の啓発に努めなければならない。

E. 結論

2013 年、新規に HIV 感染が診断され登録された 8 例全例に対して薬剤耐性検査を行い、プロテアーゼ領域で一次変異は 0 例、二次変異は 8 例全例に認めた。逆転写酵素領域で T215N、E138K、L74I、V179D/I、V90I、T69S、V106I を単独または複数変異として検出した。これらの変異は HIV 感染者 8 例中 5 例 (62.5%) に認められた。インテグラーゼ領域では耐性変異はみられなかった。サブタイプは全例 B であった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) 学会発表

- 宮田勝, 高木純一郎, 能島初美, 山本裕佳, 上田幹夫, 山田三枝子, 辻典子, 溝部潤子, 前田憲昭: 拠点病院と歯科診療所との連携に関する考察 第 3 報—研修会の現状と歯科医療体制のネットワーク化の取り組み—. 第 27 回日本エイズ学会, 熊本, 2013 年.
- 羽柴知恵子, 東政美, 小山美紀, 伊藤紅, 大野稔子, 渡部恵子, 伊藤ひとみ, 川口玲, 高山次代, 下司有加, 木下一枝, 城崎真弓, 大金美和, 池田和子: エイズ診療拠点病院 HIV 担当看護師に対する支援の検討「HIV/AIDS 看護に関する調査」結果から (その 1) ~診療報酬の算定と看護ケア実践に関する現状と課題—. 第 27 回日本エイズ学会, 熊本, 2013 年.
- 東政美, 羽柴知恵子, 小山美紀, 伊藤紅, 大野稔子, 渡部恵子, 伊藤ひとみ, 川口玲, 高山次代, 下司有加, 木下一枝, 城崎真弓, 大金美和, 池田和子: エイズ診療拠点病院 HIV 担当看護師に対する支援の検討「HIV/AIDS 看護に関する調査」結果から (その 2) ~看護ケア実践に関する

課題と支援ニーズ—. 第 27 回日本エイズ学会, 熊本, 2013 年.

- 下川千賀子, 安田明子, 林志穂, 柏原宏暢, 辻典子, 山田三枝子, 上田幹夫: 石川県内における職業上血液曝露による HIV 感染予防の緊急対応. 第 27 回日本エイズ学会, 熊本, 2013 年.
- 椎野禎一郎, 服部純子, 瀧永博之, 吉田繁, 石ヶ坪良明, 近藤真規子, 貞升健志, 横幕能行, 古賀道子, 上田幹夫, 田邊嘉也, 渡邊大, 森治代, 南留美, 健山正男, 杉浦互: 国内感染者集団の大規模塩基配列解析 4; サブタイプと感染リスクによる伝播効率の差異. 第 27 回日本エイズ学会, 熊本, 2013 年.
- 重見麗, 服部純子, 蜂谷敦子, 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, 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, 松田昌和, 林田暢総, 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, 高田清式, 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 27 回日本エイズ学会, 熊本, 2013 年.
- 上田幹夫, 小谷岳春, 青木剛, 山田三枝子, 高山次代, 辻典子, 渡邊珠代, 塚田訓久: 当院の HIV 感染者における骨代謝異常の検討—第 1 報—. 第 27 回日本エイズ学会, 熊本, 2013 年.
- 林志穂, 下川千賀子, 安田明子, 柏原宏暢, 木山茂春, 山田三枝子, 辻典子, 上田幹夫: 初回抗 HIV 療法の年齢による有効性への影響の検討. 第 27 回日本エイズ学会, 熊本, 2013 年.
- 安田明子, 下川千賀子, 林志穂, 柏原宏暢, 山田三枝子, 辻典子, 上田幹夫: 石川県立中央病院におけるリルピビリン使用状況について. 第 27 回日本エイズ学会, 熊本, 2013 年.
- 森明美, 浅田裕子, 高山次代, 山田三枝子, 上田幹夫: 当院における HIV 感染妊婦の受け入れの現状と課題. 第 27 回日本エイズ学会, 熊本, 2013 年.
- 須貝恵, 吉用緑, センテノ田村恵子, 鈴木智子, 辻典子, 井内亜紀子, 濱本京子, 田邊嘉也, 伊藤俊広: 拠点病院診療案内からみる拠点病院の現状. 第 27 回日本エイズ学会, 熊本, 2013 年.
- 北志保里, 上田幹夫, 山下美津江, 古川夢乃, 高山次代: HIV 感染者に対する在宅支援—地域との連携におけるカウンセラーの支援—. 第 27 回日本エイズ学会, 熊本, 2013 年.

H. 知的所有権の出願・取得状況

該当なし

首都圏近郊における薬剤耐性 HIV の動向調査研究

～首都圏及び近郊における HIV と薬剤耐性株の動向把握に関する研究～

| | | |
|-------|-------|-----------------------|
| 研究分担者 | 内田 和江 | 埼玉県衛生研究所 ウイルス担当 |
| 研究協力者 | 鈴木 典子 | 埼玉県衛生研究所 ウイルス担当 |
| | 宇野 優香 | さいたま市健康科学研究センター 保健科学科 |
| | 永田 紀子 | 茨城県衛生研究所 ウイルス部 |
| | 人見 重美 | 筑波大学大学院 人間総合科学研究科 |
| | 岡本その子 | 栃木県保健環境センター 微生物部 |
| | 長島 史子 | 宇都宮市衛生環境試験所 微生物担当 |
| | 大沼 正行 | 山梨県衛生環境研究所 微生物部 |
| | 嶋崎 真実 | 長野県環境保全研究所 感染症部 |

研究要旨

首都圏のうち埼玉県、茨城県、栃木県及び山梨県とその近郊である長野県で 2012 年から 2013 年に新たに HIV 感染が確認された保健所等検査受診例の 14 検体について HIV の遺伝子型 (サブタイプ) 及び薬剤耐性変異を調査した。サブタイプは B が 13 検体 (92.9%)、CRF01_AE が 1 検体 (7.1%) であった。薬剤耐性変異は、プロテアーゼ領域の Major mutation は 14 検体全てに検出されなかったが、Minor mutation は 13 検体に検出された。逆転写酵素領域では、D67D/N、V106I、K219Q がそれぞれ 1 検体に、V179D が 2 検体に検出された。インテグラーゼ領域の耐性変異は検出されなかった。

A. 研究目的

国内で流行している薬剤耐性 HIV の発生動向及び疫学的動向を把握するため、その一環として、首都圏のうち埼玉県、茨城県、栃木県及び山梨県とその近郊である長野県を対象とし、新規 HIV 感染例について、薬剤耐性変異、遺伝子のサブタイプ、BED アッセイ (感染時期推定) の調査を実施した。併せて HIV との重感染の増加や使用薬剤の HIV への影響が懸念される B 型肝炎 (HB)、C 型肝炎 (HC) について抗原、抗体の有無を調査した。

B. 研究方法

1. 調査対象

2012 年から 2013 年に埼玉県、茨城県、栃木県、山梨県及び長野県の保健所等での HIV 検査で HIV 抗体陽性と判定された新規 HIV 感染者 14 名からの血清または血漿検体 (2012 年: 1 検体、2013 年 13 検体) を供試した。

2. 方法

1) 薬剤耐性変異及び HIV サブタイプ解析

各検体 200 μ l からウイルス RNA を抽出し、RT-nested PCR 法により得たプロテアーゼ (PR)、逆転写酵素 (RT)、インテグラーゼ (IN)、エンベロープ (*env*) 及び gag 領域の増幅 DNA の塩基配列をダイレクトシーケンスにより解析した。シーケンス反応は BigDye Terminators v1.1 Cycle sequencing Kit (ライフテクノロジー ジャパン株式会社)、解析は ABI 3500 Genetic Analyzer を用いた。PCR 及びシーケンス反応のプライマーは、国立感染症研究所病原体検出マニュアルに記載されたものを使用した。

得られた PR、RT、IN 領域のアミノ酸配列 (PR 領域の 1 ~ 99 番目、RT 領域の 1 ~ 240 番目及び IN 領域の 1 ~ 288 番目) は、IAS-USA 報告 (Update of the Drug Resistance Mutations in

HIV-1: March 2013) 及び Shafer' s criteria に基づき薬剤耐性変異の有無を判定した。サブタイプは、PR/RT、env、gag 領域の塩基配列について、スタンフォード大学の HIV Drug Resistance Database (<http://hivdb.stanford.edu/>) 及びロスアラモス国立研究所の HIV Databases (<http://www.hiv.lanl.gov/content/index>) のプログラムを使用し決定した。

2) BED assay による感染時期推定及び B 型肝炎 s (HBs) 抗原、C 型肝炎 (HCV) 抗体検査

調査対象者の HIV 感染が感染初期のものであるかどうかを推定するため、Aware BED EIA HIV-1 Incidence Test (CALYPTE 社 USA) を用い BED assay を実施した。検査はキットの添付説明書に従い実施し、ODn<0.8 となったものを感染初期 (recent: 感染後 155 日以内) とした。B 型肝炎、C 型肝炎と HIV 感染の関連及び薬剤耐性変異への影響を調べるため、HBs 抗原及び HCV 抗体の有無を検査した。HBs 抗原の検査はエスプライン HBs Ag (富士レビオ株式会社)、HCV 抗体は HCV Ab PA テスト II (オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社) を用い添付説明書に従い実施した。

(倫理面への配慮)

本研究は、埼玉県衛生研究所倫理審査委員会の承認を受けて実施した。保健所で採取された検体は、匿名で検査受付された。保健所及び拠点病院から検体及び臨床情報の提供を受けるに当たっては、すべて匿名化し個人が特定できないようにする等、研究対象者に不利益が生じないよう十分に配慮した。

C. 研究結果

1. 薬剤耐性変異の解析及び HIV サブタイプ

調査検体 14 例の概要と検査結果を表 1 に示した。14 例の感染者の国籍、性別は、全て日本人、男性であった。問診から得た感染経路は、同性間性的接触 7 例、異性間性的接触 5 例、不明 2 例であった。また、14 例の年齢は 20 歳代から 60 歳代であった。サブタイプは、B が 13 例 (92.9%)、CRF 01_AE が 1 例 (7.1%) であった。

薬剤耐性変異は、PR 領域では Major mutation は検出されず、1ヶ所以上の Minor mutation が 13 検体に検出された。検出された Minor mutation では、I93L (9 検体、69.2%)、V77I(V) (4 検体、30.8%) が比較的高い頻度で検出された。RT 領域の耐性変異は、V179D が 2 検体に検出された他、

表 1 新規感染例の調査結果 (2013 年)

| 診断年 | 症例 No. | 年齢 | 感染経路 | 薬剤耐性変異 | | Subtype | BED assay | HBs 抗原 | HCV 抗体 |
|------|--------|----|------|------------------------|---------------|----------|------------|--------|--------|
| | | | | PR | RT | | | | |
| 2012 | 1 | 21 | 異性間 | V82I | V179D | B | recent | (-) | (-) |
| 2013 | 2 | 23 | 同性間 | | | B | recent | (-) | (-) |
| 2013 | 3 | 24 | 同性間 | I93L | | B | recent | (-) | (-) |
| 2013 | 4 | 25 | 異性間 | I64I/V | | B | recent | (-) | (-) |
| 2013 | 5 | 29 | 異性間 | L63P, H69K, V77I | | B | not recent | (-) | (-) |
| 2013 | 6 | 29 | 同性間 | I62I/V, A71V, I93L | | B | not recent | (-) | (-) |
| 2013 | 7 | 32 | 同性間 | M36M/I, I62V, I93L | | B | not recent | NT | NT |
| 2013 | 8 | 33 | 異性間 | A71T, I93L | V106I | B | not recent | (-) | (-) |
| 2013 | 9 | 35 | 不明 | L10V, G16E, I62V, I93L | | B | not recent | (-) | (-) |
| 2013 | 10 | 37 | 同性間 | L63P, V77I, I93L | | B | recent | (-) | (-) |
| 2013 | 11 | 38 | 同性間 | G16E, I93L | D67D/N, K219Q | B | not recent | (-) | (-) |
| 2013 | 12 | 52 | 同性間 | V77V/I, I93L | | B | not recent | (-) | (-) |
| 2013 | 13 | 62 | 異性間 | M36I, H69K, L89M | V179D | CRF01_AE | not recent | (-) | (-) |
| 2013 | 14 | 62 | 不明 | L63P, A71V, V77I, I93L | | B | not recent | (-) | (-) |

国籍、性別: すべて日本、男性