

HIV 抗体検査陽性判明者の HIV 分子疫学的解析とリスク行動の関連に関する研究

研究分担者：川畑 拓也 (大阪府立公衆衛生研究所感染症部ウイルス課 主任研究員)
研究協力者：小島 洋子 (大阪府立公衆衛生研究所 主任研究員)
森 治代 (大阪府立公衆衛生研究所 主任研究員)
毛受 矩子 (スマートらいふネット 理事長)
岩佐 厚 (岩佐クリニック 院長)
亀岡 博 (亀岡クリニック 院長)
菅野 展史 (菅野クリニック 院長)
近藤 雅彦 (近藤クリニック 院長)
杉本 賢治 (京橋杉本クリニック 院長)
高田 昌彦 (高田泌尿器科 院長)
田端 運久 (田端医院 院長)
中村 幸生 (中村クリニック 院長)
古林 敬一 (そねざき古林診療所 所長)
清田 敦彦 (清田クリニック 院長)
伏谷 加奈子 (ふしたにクリニック 院長)
柴田 敏之 (大阪府健康医療部医療対策課長)
桧山 智香子 (大阪府健康医療部医療対策課)
研究代表者：日高 庸晴 (宝塚大学看護学部)

研究要旨

日本における HIV 感染拡大の対策に資する資料を得るため、国内ではこれまであまり積極的には行われてこなかった、HIV 検査受検者への行動疫学調査（質問紙調査）と検査結果を関連づけて解析することを検討した。2016 年度も、検査で HIV 陽性と判明した者の感染している HIV 遺伝子を解析し、遺伝的に近い関係にある HIV に感染している者同士をリスクが共通している群と仮定し、各群のリスク因子を解析することで特徴的なリスク因子を見出すことに加え、国内での大流行が懸念される梅毒抗体陽性者のリスク因子について検討した。医療機関における HIV 検査受検者への質問紙調査では、2015 年から 2016 年にかけて 353 例の回答を得たが、その内 HIV 陽性者は 9 例、梅毒 Tp 抗体陽性者は 77 例であった。質問紙調査の結果、HIV 陽性群は陰性群よりも HIV 検査を過去 3 年間よりも以前に受検した割合が高く、また過去 6 ヶ月間にアナルセックスを行った割合が高かった。

A. 研究目的

日本国内における HIV 感染は、主として推計で男性の成人人口の約 4%程度を占める性的マイノリティであるゲイ・バイセクシャル男性の中で

MSM (男性と性交する男性) を中心に拡大している (文献 1)。これまで、HIV 検査を受検する人を対象とした行動疫学調査 (質問紙調査) (文献 2) や、インターネットを用いた調査 (文献 3) 等で、

HIV 感染者の多くを占める MSM のリスク行動はある程度明らかになってきている。しかしながら、MSM のなかでも、特にどういったリスク行動をとる人たちの間で HIV 感染が拡大しているかは、これまで国内では、行動疫学調査と検査結果が関連づけられてこなかったため、真に明らかになっているとは言いがたい。一方、海外では行動疫学調査と検査結果を関連づけた研究は珍しくない（文献 4、5）

本研究では、HIV 検査受検者に行動疫学調査を行い、HIV 検査の結果が陽性である場合、HIV 遺伝子の塩基配列の類似性を利用し、遺伝学的に近縁な HIV に感染しているもの同士を共通したリスクを持つ群と仮定する。次に、各群に共通した行動様式を行動疫学調査の結果から解析し、その行動様式より HIV 感染に関して高い関連性を示すリスク行動を検索する。こうして明らかとなる HIV 感染に対して強く関連するリスク因子を感染拡大の対策に資する資料とすることを目的とする（図 1）。今年度も、HIV に加え、国内で感染が拡大している梅毒について検討した。

B. 研究方法

1. 受検者行動疫学調査

行動疫学調査の質問紙は、MSM 向け web アンケート調査の質問を参考に作成し、昨年修正したもの（資料 1）を用いた。行動疫学調査は、2015 年 12 月から 2016 年の 2 月末日までの間と、2016 年 8 月 18 日から 9 月末日までの間に大阪府が実施する MSM 向け HIV/STI 検査事業と、厚生労働科学研究エイズ対策政策研究事業「急速な病期進行あるいはセロネガティブ感染を伴う新型 HIV の国内感染拡大を検知可能なサーベイランスシステム開発研究」（研究代表者：川畑拓也）の協診診療所において医師の協力を得て、HIV/STI 検査受検者を対象に実施した。行動疫学調査は、同意が得られた者からのみ回答を得た。医師により受検者と質問紙に共通の ID が付与され、検査結果と調査の回答は、この ID により関連づけた。

2. HIV の分子疫学解析

HIV 検査で陽性が確定した場合には、その陽性者の HIV について分子疫学解析を行った。方法としては、血清検体 140 μ l から QIAamp viral RNA mini kit (QIAGEN) を用いてウイルス RNA を抽出し、RT-nested-PCR 法により HIV-1 env-C2V3 領域（標準株 HXB2:7050-7409 塩基）を増幅した。目的とするサイズの DNA が増幅されていることをアガロースゲル電気泳動により確認した後、BigDye Terminator 法を用いたダイレクトシーケンスにより増幅産物の塩基配列を決定した。塩基が混在しダイレクトシーケンスでは解読困難なものについては TA クローニングを実施し、1 サンプルにつき 5~8 クローンのシーケンスを行なった。シーケンス解析には ABI 3130 ジェネティックアナライザー (Applied Biosystems) を使用した。得られた HIV-1 env-C2V3 領域の塩基配列をもとに MEGA5 を用いて系統樹を作成し、サブタイプの決定および疫学的解析を行なった。

今年度も陽性の例数が少ないことが予想されたので、地域で 2009 年から 2016 年に検出された HIV を対照として、解析を行った。

3. リスク因子の統合解析

密封された行動疫学調査の回答入り封筒を、各診療所から回収し、大阪府立公衆衛生研究所において開封し、ID のチェック等を行った。その後、昨年度分の回答と共に、データ入力・解析委託先であるマイ・ビジネスサービスに送付し、データ入力を行った。データ入力後、各回答の ID により検査結果と照合し、HIV 陽性群と陰性群、および梅毒 Tp 抗体陽性群と陰性群に分け、質問紙の回答を各群間で比較・解析を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は大阪府立公衆衛生研究所運営審査会倫理審査部会の承認を経て実施した（申請番号 1402-03-2）。また各種ガイドラインを遵守し、検査受検者、HIV 陽性者の人権に最大限の配慮を行った。

C. 研究結果

1. 受検者行動疫学調査

2015年冬期に協力診療所11ヶ所においてHIV/STI検査受検者206名を対象に行動疫学調査を実施し、201名から同意を得て回答を回収した。HIV検査で陽性が確定した者は8名であったが、その内7名からアンケートを回収した。また梅毒Tp抗体陽性は43名であったが、その内42名からアンケートを回収した。2016年度は9月末までに協力医療機関11ヶ所においてHIV/STI検査受検者162名を対象に行動疫学調査を実施し、152名から同意を得て回答を回収した。HIV検査で陽性が確定した者は3名であったが、その内2名からアンケートを回収した。また梅毒Tp抗体陽性は36名であったが、その内35名からアンケートを回収した。(図2)。

2. HIVの分子疫学解析

行動疫学調査の質問紙に回答し、かつHIV検査で陽性が確定した9名の検体よりHIV遺伝子を抽出し、この内、8名が感染していたHIVについて分子疫学解析が終了した(図3)。2015年冬期にHIV陽性だった7検体の内、6つのHIVが検出された(図3の●)。また、2016年夏期にHIV陽性だった2検体から検出されたHIVは両方解析可能であった(図3の○)。

今回解析できた8名から検出されたHIVは、すべて国内で主に流行している遺伝子型であるサブタイプBであった。しかしながら、遺伝的には互いにかなり離れており、近縁な同一の群とは言えなかった。対照として解析に加えた過去8年間に大阪地域で検出されたHIVの中には、今回検出されたそれぞれのHIVと遺伝的に近いHIVが多数みとめられた。

3. リスク因子の統合解析

今年度、行動疫学調査回答中のHIV陽性者から得られた回答の数は8件と少なく、回答の遺伝的近縁さによるグループ化は困難であった。

2015年冬期と2016年夏期の調査の回答をHIV

陽性群とHIV陰性群に分け、解析を行った結果、「HIV検査受検経験」「過去6ヶ月間に経験がある行動」の2点で2群間の回答に有為な差が認められた(資料2-1~2-3)。

また、国内で感染が拡大している梅毒について、感染リスクを評価するために梅毒Tp抗体陽性群と陰性群に分け、解析を行った。その結果、今年度は2群間の回答に有為な差は認められなかった(資料3-1~3-3)。

D. 考察

過去数年間に同一地域で検出されたHIVを対照とした分子疫学解析の結果から、数年程度データを蓄積すれば、遺伝的に近縁なHIVに感染している群を把握することができ、その群の行動疫学調査の結果を解析することで、その群のリスク因子を把握出来る可能性が示唆された。特に、現在は把握出来ていない静注薬物使用時の注射針の共有による感染拡大(アウトブレイク)が有った場合に、把握出来る可能性もある。従って、本手法は継続的に実施する意義が大きいと思われる。

今回、HIV陽性群と陰性群で有為に差があった行動疫学調査の回答を精査すると、「HIV検査受検経験」の質問に対する回答からは、HIV陽性群は陰性群よりも「過去3年間よりも前に」HIV検査を受けた人の割合が高く、最近検査を受けていなかった人からHIV感染者が多く見つかった事が明らかとなった。このことは、い、過去に保健所等でHIV検査を受検したが、その後検査から足が遠ざかっている内にHIVに感染してしまった人が、診療所における検査が受けやすかったことから今回受検し、HIV感染が判明した事を示しているかも知れない。

E. 結論

診療所におけるHIV検査受検者を対象に、検査結果を関連づける行動疫学調査を継続し、解析対象となるHIV陽性者の回答を増やした。HIV陽性群と陰性群に分け、HIV感染リスク行動と梅毒

毒感染のリスクを評価した結果、HIV 感染におけるいくつかのリスク項目について HIV 陽性群と陰性群で回答に差があることを明らかにした。国内で感染が拡大している梅毒についても評価したが、今回は有為に差がある因子は認めなかった。

今後調査を継続し、また協力施設を増やすことで、遺伝的に近縁な HIV に感染している群を把握することが出来ると考えられ、その群ごとに HIV 陽性者の行動疫学調査回答を統合的に解析する事で、HIV 感染に強く影響する更なるリスク因子を明らかに出来ると考える。

F. 発表論文等

1. 論文発表

(英文)

1. Shu-ichi Nakayama, Ken Shimuta, Kei-ichi Furubayashi, Takuya Kawahata, Magnus Unemo and Makoto Ohnishi. New ceftriaxone- and multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* strain with a novel mosaic penA gene isolated in Japan. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2016 July 60 (7), 4339-41

(和文)

1. 川畑拓也、小島洋子、森 治代. 大阪府域における梅毒の発生状況 (2006~2015 年). *病原微生物検出情報(IASR)*, 37(7)、142-144、2016
2. 川畑拓也、小島洋子、森 治代. 男性同性愛者向け HIV 検査事業の取り組み. *公衛研ニュース* No.59 7 月 2016 年

2. 学会発表

(国内)

1. 森 治代、小島洋子、川畑拓也. HIV 確認検査陽性検体における HIV サブタイプの動向. 第 30 回近畿エイズ研究会学術集会、神戸、2016 年
2. 川畑拓也. 大阪府内の梅毒流行状況 (2006 年~2016 年の発生届を元に). 大阪 STI 研究会 第 39 回学術集会、大阪、2016 年

3. 川畑拓也. HIV 検査 今とこれから~大阪府における HIV の発生動向 (2015 年) と、MSM 向け検査キャンペーンについて~. 第 6 回 AIDS 文化フォーラム in 京都、2016 年
4. 川畑拓也、小島洋子、森 治代、岩佐 厚、亀岡 博、菅野展史、近藤雅彦、杉本賢治、高田昌彦、田端運久、中村幸生、古林敬一、清田敦彦、伏谷加奈子、柴田敏之、木下 優、日高庸晴. MSM 向け HIV/STI 検査における検査結果と関連付けたリスク行動調査. 第 30 回日本エイズ学会学術集会、鹿児島、2016 年
5. 川畑拓也、小島洋子、森 治代、駒野 淳、岩佐 厚、亀岡 博、菅野展史、近藤雅彦、杉本賢治、高田昌彦、田端運久、中村幸生、古林敬一、清田敦彦、伏谷加奈子、塩野徳史、後藤大輔、町登志雄、柴田敏之、木下 優. 大阪府における MSM 向け HIV/STI 検査相談事業・平成 27 年度実績報告. 第 30 回日本エイズ学会学術集会、鹿児島、2016 年
6. 川畑拓也、長島真美、小島洋子、森 治代、貞升健志、駒野 淳. IC 法を利用した新しい HIV 抗原抗体迅速検査試薬の急性感染期検体を用いた評価. 第 30 回日本エイズ学会学術集会、鹿児島、2016 年
7. 森 治代、小島洋子、川畑拓也、中山英美、塩田達雄、藤野真之、引地優太、俣野哲朗、村上努、松浦基夫、宇野健司、古西 満、渡邊 大、駒野 淳. 新型変異 HIV-1 の急速な病期進行と関連する病原体と宿主因子に関する解析. 第 30 回日本エイズ学会学術集会、鹿児島、2016 年
8. 松岡佐織、長島真美、森 治代、川畑拓也、貞升健志. 日本国内の HIV 感染者数の推定理論に関する研究. 第 30 回日本エイズ学会学術集会、鹿児島、2016 年
9. 古林敬一、川畑拓也、小島洋子. 自動化法時代の梅毒の臨床(1)-1 期梅毒における梅毒抗体の挙動-. 第 29 回日本性感染症学会学術大会、岡山、2016 年
10. 川畑拓也、森 治代、小島洋子、古林敬一、

長島真美、貞升健志. 新しい IC 法 HIV 抗原・抗体迅速検査試薬の抗原検出が診断に有用だった HIV 急性感染期の一事例. 第 29 回日本性感染症学会学術大会、岡山、2016 年

in 2011–2012. *BMC Infectious Diseases* (2015)15:14 DOI:10.1186/s12879-014-0738-2
6. 井上洋士 他、調査結果報告会 Futures Japan キャラバンツアー, 2015 年 2 月 14 日, 大阪

G. 引用文献

1. 塩野徳史 他、日本成人男性における MSM 人口の推定と HIV/AIDS に関する意識調査、厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業「男性同性間の HIV 感染対策とその介入効果に関する研究-平成 21 年度総括・分担研究報告書」、119-138、2010
2. 塩野徳史 他、HIV 抗体検査受検者における特性と介入の効果評価に関する研究-HIV 抗体検査を受検する人を対象とした質問紙調査-、厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業「MSM の HIV 感染対策の企画、実施、評価の体制整備に関する研究-平成 23 年度～25 年度総合研究報告書」127-171、2014
3. 嶋根卓也 他、インターネットによる MSM の HIV 感染予防に関する行動疫学研究-REACH Online 2013-、厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業「HIV 感染予防対策の個別施策層を対象にしたインターネットによるモニタリング調査・認知行動理論による予防介入と多職種対人援助職による支援体制構築に関する研究-平成 23 年度-平成 25 年度総合研究報告書」、46-77、2014
4. Pathela P, Braunstein SL, Blank S, and Schillinger JA: HIV Incidence Among Men With and Those Without Sexually Transmitted Rectal Infections: Estimates From Matching Against an HIV Case Registry. *Clin Infect Dis.* first published online June 25, 2013 doi:10.1093/cid/cit437.
5. Ulrich M, Jasmin O, Marc G, Kai E, Karin W, and Andreas W: Risk factors for HIV and STI diagnosis in a community-based HIV/STI testing and counselling site for men having sex with men(MSM) in a large German city

図1

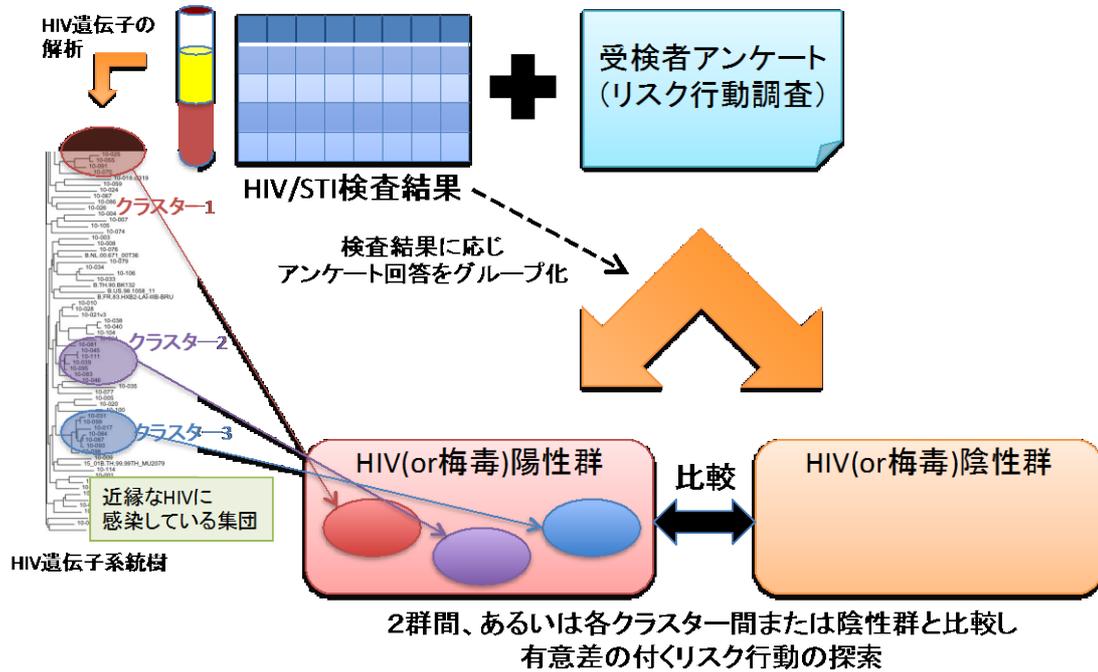


図2

MSM向けHIV/STI検査における受検者アンケート調査(2期実施)

	H27年12月～H28年2月	H28年8月～9月
受検者数(対象数)	206	162
アンケート回答数	201	152
有効回答数	201	152
有効回答率(%)	97.6	93.8
HIV陽性件数	8(治療中2)	3(治療中1)
梅毒TP抗体陽性 件数	43	36
梅毒RPR 16倍以上 件数	5	6

図3

env-C2V3領域の系統樹
(2009年～2016年)

- 2015年冬期
- 2016年夏期

