

32. 福岡県で近年流行している HIV の流行実態の解明

○中村麻子、梶原淳睦（福岡県保健環境研究所）

大島一里（国立大学法人佐賀大学）

南留美（国立病院機構九州医療センター）

【研究目的および必要性】

ヒト免疫不全ウイルス（Human Immunodeficiency Virus : HIV）は、エイズ（Acquired Immunodeficiency Syndrome : AIDS）の病因となるウイルスである。HIV 感染者やエイズ患者は、必ずしも感染初期に診断を受けないため、通常の疫学情報だけでは流行実態の詳細な把握が困難である。そのため、HIV 遺伝子の相同性により分類されたサブタイプや伝播クラスター（Transmission Cluster : TC）等の遺伝子型が感染地域や感染経路、感染集団と関連していることを利用した分子疫学的手法による流行実態の解明が進んでいる^{1,2)}。

福岡県では、2016 年の新規 HIV 感染者およびエイズ患者報告数が過去最高の 92 名（前年比 61%増）と急増し、2017 年以降は多少減少したものの依然として HIV 感染拡大が続いている。また、エイズ発症により HIV 感染が判明した者の割合は、2014 年以降 30%から 50%と高い割合で推移しており、潜在的な感染者の存在も指摘されるため早急な対策が必要とされている。我々は 2005 年から 2014 年にかけて福岡県で流行していた HIV について、分子疫学的手法を用い流行実態の一端を明らかにした（2016 年度大同生命厚生事業団助成研究報告書）³⁾。しかし、2016 年に急増した原因や潜在的な感染者の動向は明らかとなっていない。そのため、2016 年以降に福岡県で流行している HIV を含め、分子疫学的手法を用いた伝播状況の解析を行うことは、2016 年に急増した原因を明らかにし、今後の予防対策に有益な情報を提供する上で必要である。本研究では、分子疫学的手法により近年福岡県で流行している HIV の流行実態を明らかにし、感染拡大防止に寄与する事を目的とした。

【研究計画】

1. 検体および患者情報の収集

2015 年から 2017 年にかけて、福岡県内のエイズ治療拠点病院を受診した新規登録患者 488 名の血液および患者情報を収集し、前回の報告書で収集した 2005 年から 2014 年の検体の配列³⁾と合わせて解析した。また、2005 年から 2018 年にかけて福岡県内の保健所 HIV 確認検査で陽性となった 218 名の血液検体を収集し解析した。

2. HIV 遺伝子配列の決定および分子疫学解析

血液検体より HIV の RNA を抽出し、Protease-RT 領域 1,017 塩基の配列を決定した。塩基配列の決定はエイズ治療拠点病院の患者検体については九州医療センター、保健所

HIV 確認検査陽性検体については福岡県保健環境研究所にて実施した。分子疫学解析は福岡県保健環境研究所にて行った。サブタイプは、MEGA7 ソフトウェアを用いて参照配列とともに、近隣接合法により系統樹を作成し決定した。さらにサブタイプ B と決定された検体の塩基配列について、国立感染症研究所で開発が進められているソフトウェア SHPNCS (Searching Program for HIV Nationwide Cluster Sequence data) により、ウイルス遺伝子配列の遺伝的距離から日本国内の HIV-1 の TC を推定した。SHPNCS を用いた解析は国立感染症研究所に依頼し実施した。

(倫理面への配慮) 本研究は独立行政法人国立病院機構九州医療センター [審査番号: 14-51] および福岡県保健環境研究所 [審査番号: 第 30-2 号] の倫理審査委員会にての審査承認された上で実施した。
(利益相反) 本研究は福岡県保健環境研究所利益相反管理規定に基づき審査・承認済み [受付番号: 30-16] であり、本報告に関連して開示すべき利益相反にある企業等はない。

【実施内容および結果】

1. 検体のサブタイプ分類

2005 年から 2017 年にかけて福岡県内のエイズ治療拠点病院を受診した新規登録患者の 488 検体について、サブタイプを決定した結果を表 1 に示した。B が 444 件 (91.0%) と最も多く、次いで CRF 01_AE が 14 件 (2.9%)、CRF 02_AG が 5 件 (1.0%)、C が 3 件 (0.6%)、G が 2 件 (0.4%)、CRF 07_BC および CRF 33_01B が各 1 件 (0.2%) であった。また、どのサブタイプにも分類されず判別が不可能であった検体が 2 件 (0.4%)、塩基配列に欠落があり解析不可能であった検体が 16 件 (3.3%) であった。

また、2005 年から 2018 年にかけて、福岡県内の保健所 HIV 確認検査で陽性となった 218 件検体についてサブタイプを決定した結果を表 2 に示した。解析が可能であった 80 件 (36.7%) のサブタイプ別内訳は、B が 74 件 (92.5%)、CRF 01_AE が 3 件 (3.8%)、CRF 07_BC が 2 件 (2.5%) および C が 1 件 (1.3%) であった。解析不可能であった 138 件 (63.3%) は、核酸増幅ができなかった。

表 1. 福岡県内のエイズ治療拠点病院にて新規登録された患者検体のサブタイプ分類 (2005 年から 2017 年)

採取年	検体数	サブタイプ							
		B	CRF 01_AE	C	G	CRF 07_BC	CRF 02_AG	CRF 33_01B	判別不可能*1 解析不可能*2
2005	12	4							8
2006	23	20	1				1		1
2007	31	30	1						
2008	37	35	1				1		
2009	39	36							3
2010	48	45							3
2011	42	41							1
2012	37	36	1						
2013	43	40	1		1		1		
2014	40	39	1						
2015	23	22			1				
2016	49	40	5	2			1		1
2017	64	56	3	1		1	1	1	1
合計	488	444	14	3	2	1	5	1	16

*1 判別不可能: どのサブタイプにも分類されなかった

*2 解析不可能: 配列がそろわずサブタイプ解析ができなかった

表 2. 福岡県内の保健所 HIV 確認検査陽性検体のサブタイプ分類 (2005 年から 2018 年)

採取年	検体数	サブタイプ								判別不可能 ^{*1}	解析不可能 ^{*2}
		B	CRF 01_AE	C	G	CRF 07_BC	CRF 02_AG	CRF 33_01B			
2005	7									7	
2006	11									11	
2007	8									8	
2008	12	1								11	
2009	8									8	
2010	14									14	
2011	18	1								17	
2012	17	1								16	
2013	25	10								15	
2014	28	14								14	
2015	14	12								2	
2016	26	14	2							10	
2017	13	9				2				2	
2018	17	12	1	1						3	
合計	218	74	3	1	0	2	0	0	0	138	

*1 判別不可能: どのサブタイプにも分類されなかった

*2 解析不可能: 配列がそろわずサブタイプ解析ができなかった

2. サブタイプ B の SPHINCS による伝播クラスターの同定および解析

サブタイプ解析の結果、検体の 9 割以上を占めたサブタイプ B に着目し、SPHINCS により TC 解析を行った。2005 年から 2014 年にかけて、福岡県内のエイズ治療拠点病院の検体でサブタイプ B と決定された配列のうち、Protease-RT 領域の 1,017 塩基が欠落なくそろっている 252 配列について TC 解析を行った結果を図 1 に示した。サブタイプ B の 252 検体中、244 検体が 56 種類の TC に分類された。同定され

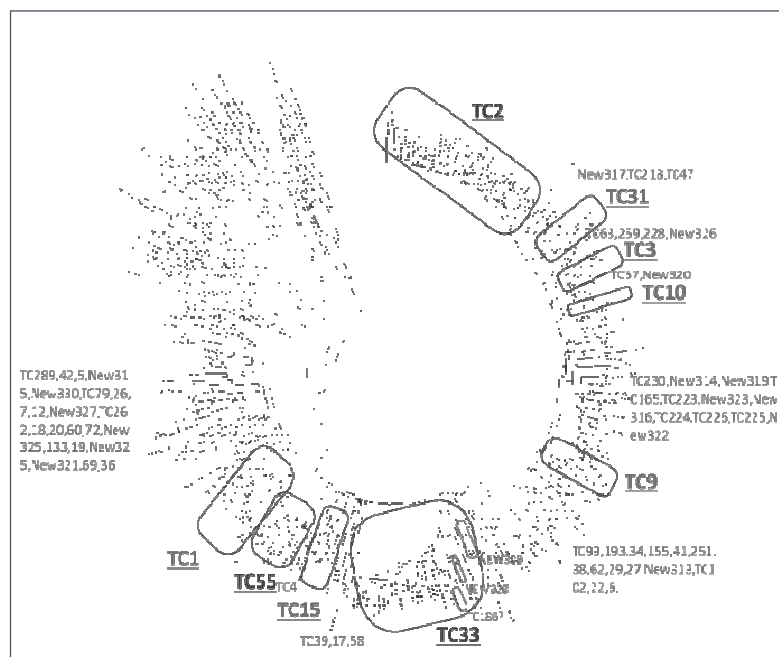


図 1. サブタイプ B、252 検体の SPHINCS による伝播クラスター (TC) 分類

た TC のうち、福岡の配列が 7 以上含まれ、かつ全国に占める割合が高い上位 3 つの TC 2、TC33 および TC55 について、全国の配列を含めそれぞれ系統樹を作成したところ、福岡の配列がサブクラスターを形成していた。また、TC 2、TC33 および TC55 について構成員の年齢、CD4 値および RNA 量を比較したところ、TC55 は他の TC と比べ有意に年齢が高かった。TC 2 および TC33 の構成員の年齢の中央値は 30 代、TC55 は 50 代であった。

3. サブタイプ CRF 01_AE の系統樹解析

サブタイプ解析の結果、2 番目に多く検出された CRF 01_AE の 17 検体（エイズ治療拠点病院および保健所の検体）を表 3 に示した。このうち Protease-RT 領域の 1,017 塩基が欠落なくそろっていた 15 検体について系統樹を作成した（図 2）。参照配列として、検体の塩基配列を Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) 検索にかけ上位 10 に挙げた配列を用いた。その結果、中国、ベトナムおよび台湾、タイおよび日本の配列から構成される 5 つのクラスタが形成された。2 つの中国のクラスタ内に 14KJP24（MSM、中国国籍）、16KJP39（男性、両性間、中国国籍）および 16KJP45（男性、異性間、中国国籍）の検体配列が存在していた。また、ベトナムおよび台湾のクラスタ内に 16_167（男性、感染経路不明、国籍不明）が存在していた。さらに 2 つのタイおよび日本のクラスタ内に 12KJP26（MSM、日本国籍）、13KJP9（MSM、日本国籍）が存在していた。

表 3. CRF 01_AE の検体情報

採取年	検体番号	性別	感染経路	国籍	推定感染場所
2006	06KJP10	男性	異性間	日本	国内
2007	07KJP18	男性	異性間	日本	東南アジア
2008	08KJP16	男性	不明	日本	不明
2012	12KJP26	男性	MSM	日本	国内
2013	13KJP_9	男性	MSM	日本	国内
2014	14KJP24	男性	MSM	中国	中国
2016	16_167	男性	不明	不明	不明
	16FA19	男性	不明	不明	不明
	16KJP3	男性	異性間	日本	国内
	16KJP28	男性	異性間	日本	タイ
	16KJP39	男性	両性間	中国	不明
	16KJP42	男性	MSM	日本	国内
	16KJP45	男性	異性間	中国	国内
2017	17KJP15	男性	異性間	日本	国内
	17KJP21	男性	MSM	日本	タイ
	17KJP5K	女性	異性間	日本	国内
2018	18FA25	男性	不明	不明	不明

*MSM: 男性同性間性的接触

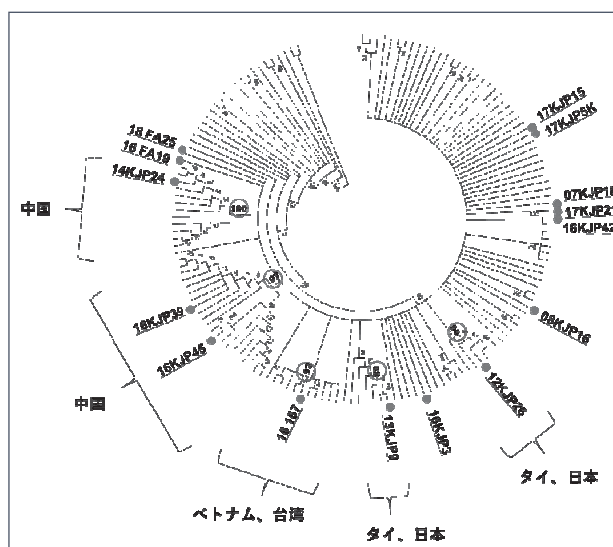


図 2. CRF 01_AE の系統樹
●：福岡県内で検出された CRF 01_AE 検体

【考察および今後の課題】

2005 年から 2018 年に福岡県で検出された HIV のサブタイプは、全国的な調査結果と同様に、B が 90%以上と最も多く、次いで CRF 01_AE が 3%程度であった。2016 年以降は、CRF 01_AE の検出数が増加し、C や CRF 07_BC、CRF 33_01B 等これまでほとんど検出されなかったインドや東南アジア諸国由来のサブタイプが検出された。また、CRF 01_AE について詳細に調べたところ、中国、ベトナムおよび台湾、タイおよび日本の配列で構成されるクラスタの中に、本県の検体が含まれていたことから、アジア由来の HIV が県内に浸淫している可能性が示唆された。今後県内の動向について継続し調査を行う必要があると考えられた。

また、県内で流行する HIV の大半を占める 2005 年から 2014 年にかけてサブタイプ B の検体について SHPNCS を用い TC 解析を行った結果、56 種類の TC が存在することが明らかになった。そのうち TC55 は、構成員の年齢の中央値が 50 代と他の TC より有意に高かった。福岡県では 2016 年以降 50 代以上の新規エイズ患者が顕著に増加しており、TC55 の存在と関連している可能性が考えられた。

今後さらに、2015 年から 2017 年のサブタイプ B 検体および CRF 01_AE 検体について TC 解析を行い、詳細を明らかにしていきたい。

【参考文献】

- 1) Amin S. Hassan *et al.*: *AIDS*, 31:1211-1222, 2017
- 2) J. Wertheim *et al.*: *JID*, 218:1943-1953, 2018
- 3) 大同生命厚生事業団 2016 年度地域保健福祉研究助成報告書
http://www.daido-life-welfare.or.jp/research_papers/28/welfare_37.pdf

【謝辞】

解析に際しご指導、ご協力いただきました国立感染症研究所の椎野禎一郎先生および検体をご提供いただきました福岡市保健環境研究所の皆様に感謝申し上げます。また、研究助成を頂きました公益財団法人大同生命厚生事業団に深謝致します。

【経費使途明細】

使 途		金 額
旅費	(H30.12.14～15 国立感染症研究所) (H31.3.13 佐賀大) (R1.6.14 国立感染症研究所) (R1.7.9～11 熊本市)	120,410円
消耗品費	(遺伝子解析試薬: 遺伝子抽出キット、シーケンス関連試薬等)	159,591円
その他	(情報収集参加費: RubyKaigi 2019)	20,000円
合 計		300,001円
大同生命厚生事業団助成金		300,000円