

令和 2 年 5 月 25 日現在

機関番号：17401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19686

研究課題名（和文）母子垂直感染後に成長したHIV陽性小児の分子疫学研究

研究課題名（英文）Molecular epidemiological study of vertically transmitted HIV positive young adults

研究代表者

上野 貴将（UENO, Takamasa）

熊本大学・ヒトレトロウイルス学共同研究センター・教授

研究者番号：10322314

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：HIV陽性小児に対して速やかに抗レトロウイルス剤を投与する母子感染予防プログラムが導入された結果、多くのHIV陽性小児が生き残り、一部は成人へと成長した。ところが、こうしたサバイバーも感染病態が不良で、多剤併用療法への応答性が悪く、サブサハラアフリカ地域では公衆衛生学上の社会問題となっている。本研究では、タンザニア共和国のムヒンビリ医科学大学との共同研究で、垂直感染者を含むHIV感染者の前向きコホートを作り、ウイルスゲノムの解析を実施した。ウイルス学的あるいは免疫学的な特徴を明らかにすることで、母子感染を含むHIV陽性者ケアの向上につながるものと期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

HIV陽性小児に対して速やかに抗レトロウイルス剤を投与する母子感染予防プログラムが導入された結果、多くのHIV陽性小児が生き残り、一部は成人へと成長した。ところが、こうしたサバイバーも感染病態が不良で、多剤併用療法への応答性が悪く、サブサハラアフリカ地域では公衆衛生学上の社会問題となっている。本研究の成果は、こうした問題に対処するうえで必須な基盤的知見を提供する。

研究成果の概要（英文）：The program to prevent mother-to-child transmission works very well and actually the vertical transmission cases were much dropped down. Some survived children grew to adults, however, these group shows relatively poor responses to ART and has become an important public health issue in Sub-Saharan countries. In this study, we have made a prospective cohort including vertically transmitted HIV-positive adults in Tanzania, in collaboration with Muhimbili University of Health and Allied Sciences. We conducted molecular epidemiology studies using plasma viral RNA and proviral DNA isolated from these patients. Results are expected to contribute to better understanding of vertical transmission cases and provide insights into public health approaches in this country.

研究分野：感染症学

キーワード：HIV/AIDS

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

HIV 感染症では、世界で 140 万人の HIV 陽性妊婦から、15 万人の HIV 陽性児が生まれている (WHO report 2015)。母体から HIV に垂直感染した小児の病態進行は極めて早く、治療を施さない(現行のタンザニアでのプログラムでは 2 週間以内に抗レトロウイルス剤を投与)場合には、多くが 1 ~ 2 年以内に死に至る。成人が HIV に感染したときに比較して予後が悪い要因は、新生児の感染免疫系が未熟なためと推察されているが、詳細な分子疫学研究は実施されていない。

先進国では、母体への多剤併用療法や分娩時のケアにより、新生児が HIV 陽性となるケースは極めて稀となった。途上国、特にサブサハラアフリカ地域では、母子垂直感染は激減したとはいえ、いまだに 1 ~ 5 % の新生児が HIV に感染することから、垂直感染が十分に制御・防御可能となったとは言えない。加えて、HIV 陽性の母親(多くの場合、父親も)が出産後に HIV 感染によって亡くなる、新生児の栄養不良、貧困など、社会医学的な問題と関連する研究が多く報告されている。

2. 研究の目的

母体から胎児あるいは新生児へ病原ウイルスは垂直感染する。垂直感染を受けた HIV 陽性小児は成人に比べてなぜか予後が著しく悪く、多くは数年以内に死に至る。HIV 陽性小児に対して速やかに抗レトロウイルス剤を投与する母子感染予防プログラムが導入された結果、多くの HIV 陽性小児が生き残り、一部は 10 代後半へと成長した。ところが、こうしたサバイバーも感染病態が不良で、多剤併用療法への応答性が悪く、サブサハラアフリカ地域では公衆衛生学上の社会問題となっている。しかし、HIV 陽性小児の予後が悪い要因は明らかではなく、対策が滞っている。本研究では、タンザニア共和国のムヒンビリ医科大学との共同研究で、HIV 感染者コホートを作る。その検体を用いてウイルスゲノム解析を行い、感染病態や薬剤応答性の違いを生む要因を明らかにする。ウイルス学的あるいは免疫学的な特徴を明らかにすることで、母子感染を含む HIV 陽性者ケアの向上につなげたい。

3. 研究の方法

(1) 検体のサンプリング体制の確立

国立ムヒンビリ病院でフォローアップしている HIV 陽性者(母子垂直感染によって HIV 陽性となったと推定される成人含む)に対して本研究へのリクルートを行なう。本人の同意が得られた場合のみ、血液(10 ml)の採取を行う。最大 200 名のリクルートを実施する。病院施設において採取した血液検体は、速やかにムヒンビリ大学微生物学教室に運び、血漿と末梢単核球に分離する。これらの操作は、すでに訓練済みの現地のテクニシャンあるいは若手研究者が行う。検体は冷凍庫および液体窒素タンクで保管し、約 50 検体ごとあるいは概ね半年ごとに熊本大学に向けて発送し、実験および解析に供する。本研究計画は、ムヒンビリ医科大学、国立ムヒンビリ病院、タンザニア政府の倫理委員会において承認を受けている。すべての検体提供者から、インフォームドコンセントを受けている。

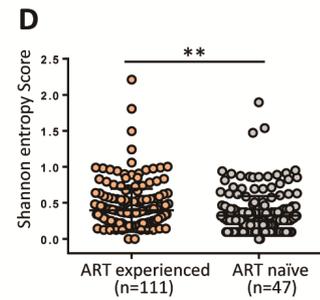
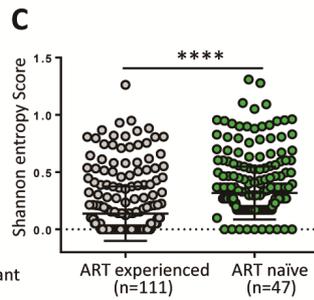
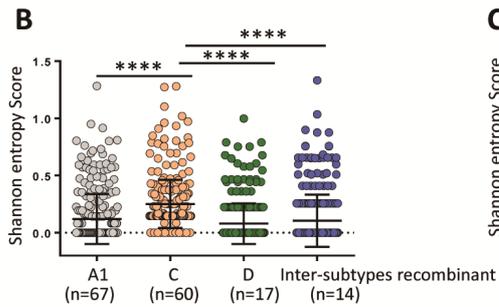
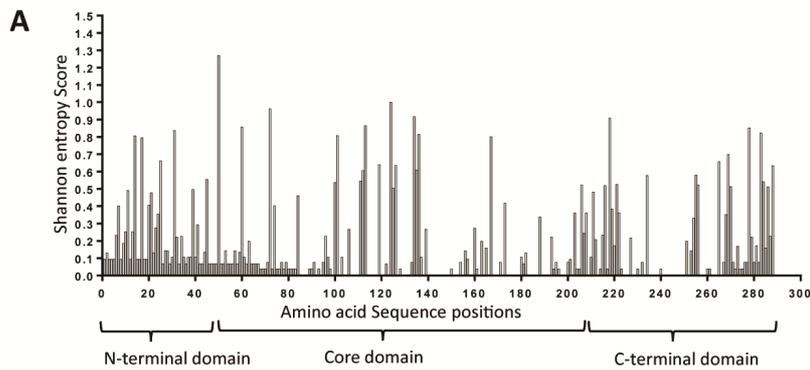
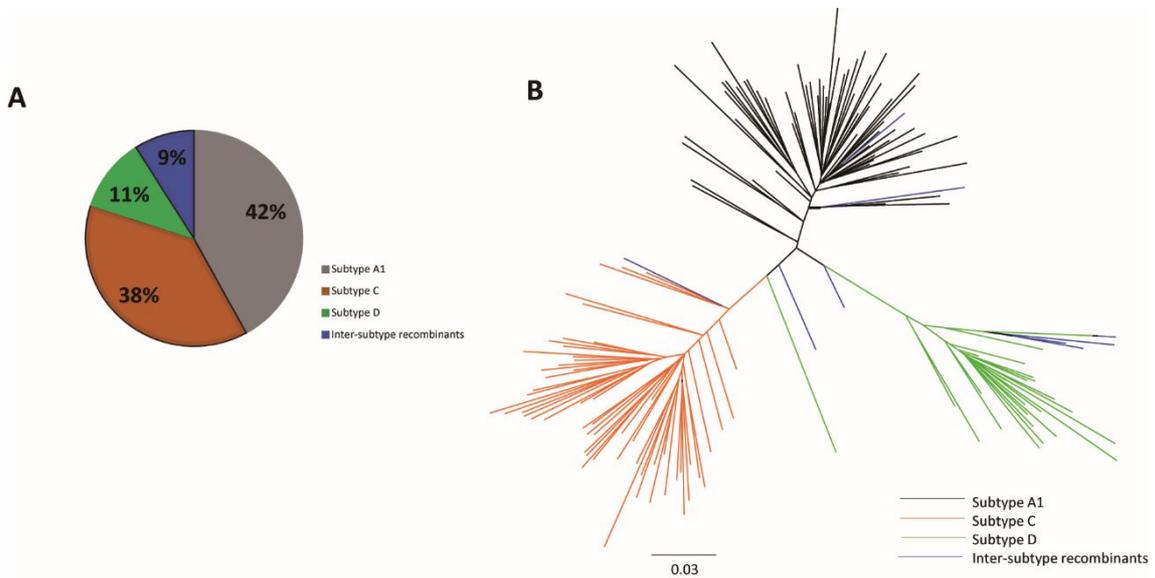
(2) ウイルス遺伝子の抽出と遺伝子配列の解析

凍結保存した血漿からウイルスゲノム RNA を精製し、PCR 法によって全ウイルスゲノム領域を増幅する。ウイルス遺伝子領域を 5' 側と 3' 側に分けて、増幅することで、結果として全長の配列を得る。系統樹解析を行って、ウイルスサブタイプ、感染ネットワークの推定などの集団遺伝学的解析を随時進めて行く。また、興味深い検体については、次世代シーケンサーによる解析を実施し、稀な頻度で現れるウイルス変異を解析する。なお、タンザニアでは HIV 陽性の成人を用いたウイルス遺伝子の解析をすでに 200 例程度実施しており、タンザニアで流行するウイルス遺伝子にマッチしたプライマーや増幅条件はすでに確立している。

4. 研究成果

(1) インテグラーゼ阻害剤に対する薬剤耐性変異

国際機関のリーダーシップで途上国へのインテグラーゼ阻害剤(ドルテグラビル)の導入が推進されている。タンザニアでも、2019 年 6 月にドルテグラビルの処方が解禁される予定であった。そこで、母子感染者を含む検体のうち、治療開始前で、薬剤選択が働いていないと思われる時期のものを用いて、インテグラーゼ阻害剤に対して潜在的に耐性となるような多型変異がないか、解析した。インテグラーゼ領域のサブタイプを解析したところ、他の領域と同じく、サブタイプ A と C が多く、サブタイプ D とサブタイプ間の組換え体がほぼ 10% ずつであった。また、インテグラーゼの各アミノ酸の保存性を解析したところ、世界の他の地域で流行しているウイルスと同程度であった。また、ドルテグラビルへの耐性が知られている既知の変異は認められなかった。これからのことから、耐性変異という視点で見た場合、母子感染者に対してもインテグラーゼ阻害剤の有効性が期待できるものと示唆された。



(2) エンベロープ領域の遺伝子配列およびウイルス学的な解析

エンベロープ領域は、ウイルス複製に大きく影響することが知られている。そこで、薬剤治療を受けていない99名の感染者について、エンベロープ領域の遺伝子配列とレセプトラロピズムの解析を実施した。エンベロープ遺伝子を全長を増幅して、プラスミドベクターにクローニング後に、シュドウイルスを作成して、感染性を示したエンベロープクローンを選択し(感染者あたり1~3クローン)、シーケンスを決定した。さらに、MaravirocやAMD-3100などレセプター特異的な阻害剤を用いて、トロピズムを解析した。その他、V3領域の配列、グリコシレーションの有無などについて、解析を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Barabona Godfrey, Mahiti Macdonald, Masoud Salim, Mbelele Peter, Mgunya Amina Shaban, Minja Lilian, Sunguya Bruno, Shigemi Urara, Matsuda Masakazu, Hachiya Atsuko, Iwatani Yasumasa, Lyamuya Eligius, Ueno Takamasa	4. 巻 74
2. 論文標題 Pre-treatment and acquired HIV drug resistance in Dar es Salaam, Tanzania in the era of tenofovir and routine viral load monitoring	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Antimicrobial Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 3016 ~ 3020
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jac/dkz272	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Masoud Salim, Kamori Doreen, Barabona Godfrey, Mahiti Macdonald, Sunguya Bruno, Lyamuya Eligius, Ueno Takamasa	4. 巻 -
2. 論文標題 Circulating HIV-1 Integrase Genotypes in Tanzania: Implication on the Introduction of Integrase Inhibitors-Based Antiretroviral Therapy Regimen	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 AIDS Research and Human Retroviruses	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/AID.2020.0021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件／うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Takamasa Ueno
2. 発表標題 HIV immune evasion mechanisms and disease association revealed by MUHAS graduates.
3. 学会等名 6th MUHAS SCIENTIFIC CONFERENCE (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Godfrey Barabona, Macdonald Mahiti, Salim Masoud, Peter Mbelele, Amina Shaban Mgunya, Lilian Minja, Bruno Sunguya, Eligius Lyamuya, Takamasa Ueno
2. 発表標題 CIRCULATING HIV-1 DRUG RESISTANCE MUTATIONS IN DAR ES SALAAM TANZANIA; IMPLICATION TO PRE EXPOSURE PROPHYLAXIS
3. 学会等名 HIVR4P2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 George Judicate, Godfrey Barabona, Macdonald Mahiti, Salim Masoud, Doreen Kamori, Amina Shaban Mgunya, Takeo Kuwata, Bruno Sunguya, Eligius Lyamuya, Takamasa Ueno
2. 発表標題 Characterization of Currently Circulating HIV-1 Envelope Sequences in Tanzania
3. 学会等名 第33回日本エイズ学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Doreen Kamori, Salim Masoud, Godfrey Barabona, Macdonald Mahiti, Bruno Sunguya, Eligius Lyamuya, Takamasa Ueno
2. 発表標題 HIV integrase genotypes circulating in Tanzania: Implication to efficacy of integrase inhibitors containing regimen
3. 学会等名 第33回日本エイズ学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考