

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：84407

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590840

研究課題名(和文) HIV感染者におけるHBV・梅毒トレポネーマの感染歴とHBV遺伝子型の解析

研究課題名(英文) Seroprevalence of HBV and Treponema pallidum in HIV-positive individuals and analysis of HBV genotype

研究代表者

小島 洋子 (Kojima, Yoko)

大阪府立公衆衛生研究所・その他部局等・研究員

研究者番号：70291218

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：大阪府内の性感染症関連医療機関に来院した受診者を対象にHIV、HBV、梅毒トレポネーマ(TP)の血清学的診断を行った。HIV陽性例でのHBs抗原陽性率、HBVの感染歴はHIV陰性対照と比べると有意に高かった($P < 0.001$)。また、74%は外国型のAeとGで占めており、この中にはAeとGのリコンビナントウイルスもみつかった。これらの事より、医療機関でHBs抗原が陽性、さらに外国型のジェノタイプであった場合にはHIV感染を疑って検査する事が重要であると考えられた。梅毒TPに関しては、2006年から2014年のデータで統計処理するとHIV陽性群とHIV陰性群との間で有意差はみられなかった。

研究成果の概要(英文)：This research determined the prevalence of HIV, HBV and Treponema pallidum (TP) in populations who visited primary sexually transmitted infection (STI) clinics in Osaka province. Compared with HIV-negative groups, the HBs antigen-positive rate and the seroprevalence of HBV among HIV positive-individuals were significantly higher ($P < 0.001$). Genetic analysis revealed that 17 of 23 (74%) HBV isolates detected in HIV co-infected cases were the foreign genotypes of Ae and G, including three of Ae/G recombinant viruses. From these results, it is highly recommended for clinicians to consider HIV testing when a patient attending a primary STI clinic is positive for HBs antigen, especially in case it is a foreign genotype HBV. The rate of TP antibody positivity was not significantly different between HIV-positive and HIV-negative groups during 2006-2014.

研究分野：ウイルス学

キーワード：HIV HBV 梅毒トレポネーマ 感染歴 HBVジェノタイプ

1. 研究開始当初の背景

性感染症は感染経路が同様であるため重複感染する事が多い。性感染症の中でも、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）は治療によりウイルスを制御する事は可能であるが、根治することは難しい感染症で、日本では減少の兆しは見えていない。また、B型肝炎ウイルス（HBV）は、国内で130万人以上に持続感染していると考えられている。HBVは遺伝子型（ジェノタイプ）の違いにより臨床経過や治療効果にも違いがある。国内では以前は慢性B型肝炎のHBVジェノタイプはCとBがそのほとんどを占めていた。ところが近年では、急性B型肝炎患者において慢性化しやすいHBV/Aの割合が高くなっており、中でもそのサブジェノタイプであるHBV/Aeが都市部で増加し、原因として同性間性的接触による感染が多いことが報告されている。平成18年全国拠点病院アンケート調査によると、HIV/HBV重複感染者はHIV感染者の6.4%であり、そのうちの70.8%は同性間性的接触によるものであった。HIV/HBV重複感染者はHBV単独感染者よりも肝疾患での死亡率が高い事や、予後が悪い事が報告されている。また、日本での梅毒トレポネーマ（梅毒TP）感染調査では、HIV感染者の50%程度において梅毒血清反応が陽性であった。HIV感染症に合併した梅毒では、非合併例と比較して、臨床症状や梅毒血清反応が非典型的である例も報告されている。

私たちは、1992年より20年にわたって大阪府内の性感染症（STI）関連診療所（性病科、皮膚科、泌尿器科、婦人科等）を定点として、HIV感染に関してリスクが高い行動をとっていると思われる者を対象としたHIV抗体調査（HIV疫学調査）を続けており、HIV感染陽性率は増え続けているという結論を

得ている。この調査における2006年から2010年の検体のべ7529例についてHIV検査を行った結果、113例（1.5%）がHIV陽性であり、このうち15例（13.3%）がHBs抗原陽性であった。この15例についてHBVのcore領域を解析すると日本における慢性B型肝炎患者の8割をしめるCは3例（20%）のみであり、外国型のジェノタイプAeが9例（60%）、Gが3例（20%）と多数を占めていた。ジェノタイプAeは慢性化する確率が高く、今後の感染拡大の可能性を考えると憂慮される結果であった。また、HIV陽性者の61%はHBVに感染歴があり、47%は梅毒TPに感染歴のあることが明らかとなり、さらなる調査により感染実態の解明が必要であると考えられた。（文献；Kojima et al., Epidemiol Infect. 2013.）

2. 研究の目的

性的に感染リスクの高い人のなかでもHIV感染の有無によるHBVおよび梅毒TPの感染状況、HBVジェノタイプの相違を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 我々は大阪府内の性感染症関連医療機関を定点としたHIV疫学調査を行ってきた。この中で2006年から2010年の検体を用いて、HIV抗体検査でHIV陽性であった検体、HIV陰性であった検体について、HBVとTPの感染歴について解析していた。本研究では検査未実施だった1992年から2005年のHIV陽性検体94例および2011年から2014年のHIV陽性検体67例について、HBVのHBs抗原、HBc抗体、HBs抗体と梅毒TP抗体の調査を行った。特にHBs抗原陽性の場合はHBV遺伝子解析を行い、ジェノタイプを決定した。また対照として、1992年から2005年のHIV陰性検体94例および2011年から2014年のHIV陰性検体

80 例についても同様の調査を行った。

(2)2006 年から 2010 年の HBV ジェノタイプを core 領域の塩基配列により決定していたが、2008 年と 2010 年に検出された 2 例のジェノタイプ G の検体は全塩基配列の解析を行うことにより、Ae と G のリコンビナントであることが判明した。HBV はジェノタイプの違いにより臨床経過や治療効果にも違いがある事、日本人症例で Ae と G のリコンビナントの報告がほとんどない事から、2008 年以降の検体については全長塩基配列の解析を行った。また、異なるジェノタイプの HBV による重複感染が存在する事より、必要に応じてクローニングも行い、詳細なデータの解析に努めた。

(3) HBV は血液癌やリウマチなどの免疫を抑制する治療や HIV や HCV などの重複感染をきっかけにウイルス再活性化を起こす事が知られている。2008 年の本疫学調査検体のうち HIV 陽性 HBs 抗原陰性で HBc 抗体か HBs 抗体のいずれか一方でも陽性の 13 例について血清中 HBV-DNA の検出を行うと、1 例において遺伝子が検出された。そこで、2013 年と 2014 年の検体のうち、HBs 抗原陰性であっても HBc 抗体、HBs 抗体いずれか一方でも陽性の検体については HBV-DNA の検出を行い、再活性化がおこっていないかを検討した。

(4)これまでのデータをまとめて公表することにより、研究に協力して頂ける新たな STI 関連診療所を開拓し、臨床症状や問診により医師が検査を必要と判断した人に HIV 検査を勧めてもらい、HIV の感染者を早期発見すると共に、医師へ検査情報の提供を行った。

(5)1992 年から 2014 年までの HIV 疫学調査での HIV 陽性例および陰性例における HBV、梅毒 TP の感染歴、HBV のジェノタイプのデータを経年変化も交えて解析した。

毒 TP の感染歴、HBV のジェノタイプのデータを経年変化も交えて解析した。

(6) 2012 年から 2014 年の HIV 陽性例と HIV 陰性対照群について HCV 抗体、HTLV-1 抗体の有無を調査した。

4 . 研究成果

(1)1992 年から 2014 年までの 23 年間に HIV 抗体検査を受けた 43497 例のうち、HIV 陽性例は 275 例 (0.63%) であった。解析できた 227 例の env-C2V3 領域での HIV サブタイプは B:217 例 (95.6%)、CRF01_AE:8 例 (3.5%)、C:2 例 (0.9%) であった。HIV 陽性検体のうち、検査ができた 250 例における HBV の HBs 抗原陽性例は 23 例 (9.2%) であった。23 例のジェノタイプは core 領域の解析では Ae:13 例 (56.5%)、C:4 例 (17.4%)、G:4 例 (17.4%)、不明:2 例であった(表 1.)。

表 1. HIV 感染の有無による HBV ジェノタイプの違い

HBV genotype	本研究		
	全数 (N = 29)	HIV + (N = 23)	HIV - (N = 6)
A (Aa / Ae)	17	13 (0 / 13)	4 (0 / 4)
B	0	0	0
C	5	4	1
D	0	0	0
G	4	4	0
mixed	0	0	0
不明	3	2	1

また G の 4 例のうち 3 例は全塩基配列の解析により、Ae と G のリコンビナントウイルスであることが判明した。また、HIV 陽性例では 64%は HBV に、52.4%は TP に感染歴があることが明らかとなった(表 2. & 表 3.)。同じく 1992 年から 2014 年までの間に HIV 抗体検査を受け、HIV 陰性であった検体から任意に抽出した 343 例について調べた結果、HBV の HBs 抗原陽性例は 6 例 (1.7%) であった。6 例のジェノタイプは core 領域の解析では Ae:4 例 (66.7%)、C:1 例、不明:1 例であった(表 1.)。また、HBV と TP の感染歴はそれぞれ

25.4%と38.5%であった(表2. & 表3.)。

表2. HIVの感染の有無によるHBV血清マーカーの比較

感染	血清マーカー			HIV + (N=250)		HIV - (N=343)		有意差
	HBsAg	HBcAb	HBsAb	例数	%	例数	%	
陽性	現在	+	-	140	64	37	25.4	P<0.001
		+	+	5	2	0	0	P<0.05
		+	+	18	7.2	5	1.5	P<0.001
		+	+	0	0	1	0.3	有意差なし
	過去	-	+	48	19.2	18	5.2	P<0.001
		-	+	73	29.2	49	14.3	P<0.001
		-	+	3	1.2	0	0	有意差なし
		-	+	13	5.2	14	4.1	有意差なし
-	Not test	-	1	0.4	0	0	有意差なし	
-	Not test	-	1	0.4	0	0	有意差なし	
陰性	-	-	88	35.1	256	74.6	P<0.001	

表3. HIVの感染の有無によるHBVとTPの感染歴

	HIV + (N=250)		HIV - (N=343)		有意差
	例数	%	例数	%	
TP +	131	52.4	132	38.5	P<0.001
HBV +	88	35.2	52	15.2	P<0.001
HBV -	42	16.8	80	23.3	有意差なし
HBV 不明	1	0.4	0	0	有意差なし
TP -	119	47.6	211	61.5	P<0.001
HBV +	71	28.4	36	10.5	P<0.001
HBV -	48	19.2	175	51	P<0.001

これまでにおこなってきた研究の結果、HIV陽性者はHBVの感染歴がHIV陰性者と比べて有意に高い事が明らかになり、HBVの感染歴のある人への積極的なHIV検査の推奨が非常に重要であることが推測された。

(2) HIV陽性の検体のうち、2008年から2014年までにHBs抗原陽性であった11例中の6例については全塩基配列の解析が可能であった。この6例は、Oxford HBV Subtyping Tool (<http://regatools.med.kuleuven.be/typing/v2/html/indexhbv.html>)を用いた解析により、ジェノタイプAe/Gが3例、Aeが2例、Cが1例である事が分かった。また、2例は全長では解析できなかったが、core, P, S, X領域の解析ができ、ジェノタイプは1例はAe、もう1例はCであった。残りの3例はcore領域での解析にとどまり、Aeが2例、Gが1例であった。また今回Ae/Gが検出された3例はクローニングやジェノタイプ特異的PCRの結果より、リコンビナントAe/GとAeが重複感染していることが強く示唆された。(文献 ; Kojima et al., AIDS Res Hum Retroviruses.2015.)

HIV陰性の検体については、解析した193

例の中で、HBs抗原陽性は5例であった。そのうち全塩基配列の解析が可能であった3例は、ジェノタイプAeであった。またcore領域のみ解析できた2例は、AeとCが1例ずつであった。

(3) HBs抗原陰性例のうち、HBc抗体あるいはHBs抗体が陽性であった検体14例について、S抗原遺伝子およびC抗原遺伝子の検出を試みたが、全て陰性であった。

(4) より多くの一次医療機関において、臨床症状や問診により、医師が検査を必要と判断した人にHIV検査を勧めることが、HIV感染者の早期発見、早期治療につながると考え、HIV疫学調査に協力していただける医療機関を新たに2ヶ所選定した。試みとして、これまでお願いしていた医療機関とは異なる市町村を選び、期間も2ヶ月と限定した。結果としては、2ヶ所合わせて8件にとどまった。受検者の症状としては、性器ヘルペス、淋菌性尿道炎、鼠径リンパ節炎、尖圭コンジローマなどであったが、HIV陽性例は認められなかった。感染初期例を見逃さない目的で行ったNATも陰性であった。HBVとTPの感染歴はなかった。

(5) 1992年から行った本疫学調査のHIV陽性例におけるHBVは1993年にジェノタイプC、1994年にはAe、2008年になって、リコンビナントAe/G HBVとの重複感染が初めて確認された。また同じくHIV陰性であった検体から任意に抽出した343例のHIV陰性例中では2008年にジェノタイプC、2010年になってAeが初めて確認された。

2003年からは毎年10例以上のHIV陽性者が確認されたが、HBVの感染歴は50%から77.8%の間であった。また梅毒TPの感染歴

も 30%から 76.9%の間であったが、年により上下しており経年変化というものはみられなかった。HIV 陰性例では 2011 年から 2014 年まで毎年 20 例ずつ HBV、梅毒 TP の感染歴をみているが、HBV の感染歴は 30%から 50%の間であり、梅毒 TP の感染歴は 25%から 55%の間であった。梅毒 TP に関しては、1992 年から 2014 年で統計処理すると、HIV 陽性群と HIV 陰性群との間で有意差がみられたが、2011 年から 2014 年の間で統計処理すると、有意差はみられず、梅毒 TP は本調査検体では感染歴に差がなくなっているといと推測された。

(6)HIV 陽性 47 例中検査ができた 46 例の中に HCV 抗体陽性例はなかったが、HTLV-1 抗体陽性例は 1 例みつけた。また、HIV 陰性 60 例中では HCV 抗体陽性は 3 例みつけたが、HTLV-1 抗体陽性例はなかった。

5 . 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

Kojima Y, Kawahata T, Mori H, Furubayashi K, Taniguchi Y, Itoda I and Komano J.
Identification of Novel Recombinant Forms of Hepatitis B Virus Generated from Genotypes Ae and G in HIV-1-Positive Japanese Men Who Have Sex with Men.
AIDS Res Hum Retroviruses. 2015 May 4.
doi.10.1089/aid.2014.0281 [Epub ahead of print](査読有)

森 治代、川畑拓也、小島洋子、永井仁美、田邊雅章、原田一浩、松本治子、溝端孝史、田中佐代子。
大阪府における HIV/AIDS の現状と対策につ

いて。

病原微生物検出情報. Vol. 35. 205-206、2014.
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr-sp/2299-related-articles/related-articles-415.html>(査読無)

Kojima Y, Kawahata T, Mori H, Furubayashi K, Taniguchi Y, Iwasa A, Taniguchi K, Kimura H and Komano J.
Prevalence and epidemiological traits of HIV infections in populations with high-risk behaviours as revealed by genetic analysis of HBV.
Epidemiol Infect. 2013 Nov;141(11):2410-7.
doi: 10.1017/S0950268812003123. Epub 2013 Jan 25. (査読有)

川畑拓也、長島真美、貞升健志、小島洋子、森 治代。

HIV 急性感染期の診断における第 4 世代 HIV 診断薬の性能評価。

感染症学雑誌、Vol.87、No.4、431-434、2013。
<http://journal.kansensho.or.jp/Disp?pdf=0870040431.pdf>(査読有)

[学会発表](計 9 件)

小島洋子、川畑拓也、森 治代、古林敬一、谷口 恭、井戸田一朗、駒野 淳。

HIV 感染者における新規 Ae/G リコンビナント HBV の解析。

近畿エイズ研究会、2014 年 6 月 7 日、大阪府、大阪市。

森 治代、小島洋子、川畑拓也、駒野 淳。
急速な病期進行を伴う感染初期症例に検出された新規変異 HIV-1 の流行実態調査。
第 28 回日本エイズ学会学術集会、2014 年 12

月 3 日、大阪府、大阪市。

Mori H, Kojima Y and Kawahata T.

Drug resistance mutations persist in HIV-1 proviral DNA despite 12 years of successful viral suppression.

20th International AIDS Conference. July 20-25, 2014, Melbourne, Australia.

森 治代、小島洋子、川畑拓也、駒野 淳、松浦基夫。

高ウイルス血症と急激な CD4 数の減少を呈する HIV-1 感染初期症例の地域的集積とそのウイルス学的解析。

第 27 回日本エイズ学会学術集会、2013 年 11 月 22 日、熊本県、熊本市。

川畑拓也、長島真美、貞升健志、小島洋子、森 治代。

HIV 急性感染期の診断における第 4 世代 HIV 迅速検査試薬エスプライン HIV Ag/Ab の性能評価。

第 27 回日本エイズ学会学術集会、2013 年 11 月 22 日、熊本県、熊本市。

小島洋子、川畑拓也、森 治代、駒野 淳、古林敬一、谷口 恭、岩佐 厚、谷口幸一、木村博子。

大阪府内の性感染症関連診療所受診者における HIV・HBV・梅毒の疫学調査と HIV 検査勸奨の効果。

第 27 回日本エイズ学会学術集会、2013 年 11 月 22 日、熊本県、熊本市。

森 治代、小島洋子、川畑拓也。

血漿中 HIV-1 と PBMC 由来分離 HIV-1 のコレセプター指向性不一致例。

第 26 回日本エイズ学会学術集会、2012 年 11

月 24-26 日、神奈川県、横浜市。

小島洋子、川畑拓也、森 治代、駒野 淳、谷口 恭、井戸田一朗。

HIV 感染者における新規 Ae/G リコンビナント HBV の解析。

第 60 回日本ウイルス学会学術集会、2012 年 11 月 13-15 日、大阪府、大阪市。

小島洋子、川畑拓也、森 治代、谷口 恭、井戸田一朗。

HIV 陽性者における HBV ジェノタイプ Ae/G リコンビナント。

第 26 回近畿エイズ研究会学術集会、2012 年 7 月 7 日、兵庫県、神戸市。

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

小島洋子 (KOJIMA, Yoko)

大阪府立公衆衛生研究所・ウイルス課・主任研究員

研究者番号 : 70291218

(2) 研究分担者

川畑拓也 (KAWAHATA Takuya)

大阪府立公衆衛生研究所・ウイルス課・主任研究員

研究者番号 : 80270768

(3) 研究分担者

森 治代 (MORI Haruyo)

大阪府立公衆衛生研究所・ウイルス課・主任研究員

研究者番号 : 20250300