

原 著

東京都における 2007 年 HIV 検査陽性例の遺伝子学的・血清学的解析

貞升 健志, 長島 真美, 新開 敬行, 尾形 和恵, 仲真 晶子, 矢野 一好

東京都健康安全研究センター 微生物部

目的: 東京都においては HIV 感染者の報告数が年々増加傾向にある。本研究の目的は新たに東京都内で HIV 検査陽性となった例を解析し, サブタイプ型別および薬剤耐性変異の出現率を調査することにある。

対象及び方法: 2007 年に都内公的検査機関の HIV 検査で陽性となった血清 189 例より得られた HIV の逆転写酵素 (RT) およびプロテアーゼ領域 (PR) の塩基配列を決定した。サブタイプは MEGA4 を使用した系統樹解析により, 薬剤耐性変異は IAS-USA パネル (2007) に準拠し, T215-revertant 変異についても調査した。また, 感染初期例の検出は BED-CEIA 法を使用した。

結果: BED-CEIA 法により血清学的に感染初期と判定された例は 189 例中 75 例 (39.7%) であった。遺伝子解析で核酸系逆転写酵素阻害薬 (NRTI) に対する変異が 1.6%, 非核酸系逆転写酵素阻害薬 (NNRTI) に対しては 1.1%, プロテアーゼ阻害薬 (PI) に対する変異が 4.2%, NRTI および PI の耐性変異を有する例が 1.1% で認められ, T215-revertant 変異は 2.6% に認められた。系統樹解析により 95.2% がサブタイプ B であること, PI 耐性変異である M46L・M46I は系統樹上で別々にクラスターを形成することが判明した。

結論: 遺伝子学的に解析した結果, 東京都で新たに HIV と診断された例の 95.2% はサブタイプ B であり, 薬剤耐性変異は 7.9%, T215-revertant 変異は 2.6% に認められた。

キーワード: HIV-1, サブタイプ, 薬剤耐性検査, 系統樹解析, BED-CEIA 法

日本エイズ学会誌 11 : 27-33, 2009

緒 言

日本における HIV 感染者・AIDS 患者数は増加しており, 減少傾向は未だ認められていない。様々な抗 HIV 薬の開発や HAART (Highly Active Anti-Retroviral Therapy) に代表される薬剤治療が効果を上げている反面, 新規 HIV 感染者における薬剤耐性 HIV の存在が報告されている¹⁻⁵⁾。我が国においても, 新規感染者における薬剤耐性 HIV の全国調査が厚生労働省の HIV 研究班により実施され, 2003-2004 年に新規 HIV 感染診断例の約 4% に薬剤耐性変異が検出されたとの報告がなされており⁴⁾, 薬剤耐性 HIV の蔓延が懸念される場所である。

東京都では 1987 年に保健所等における HIV 検診事業を開始以来⁶⁾, 2007 年に過去最高の HIV 検査陽性数を記録した⁷⁾。今回, 都内で流行している HIV を分子疫学的に調査する目的で, 2007 年の保健所等の HIV 検査陽性例 189 例について, BED-CEIA 法を用いた感染時期の推定を行うとともに, Protease (PR) 領域および Reverse transcriptase (RT) の遺伝子解析を実施し, 検査陽性例における HIV サブタイプ並びに薬剤耐性変異の出現頻度を検索した。

材料と方法

1. 供試血清

2007 年に都内保健所・南新宿検査相談室等の HIV 検査で陽性となった検体 (血清) のうち, 遺伝子解析が可能な 189 例を供試した。

2. BED-CEIA 法による感染時期の推定

各血清を 101 倍に希釈し, Aware™ BED™ EIA HIV-1 Incidence EIA test (Calypte Biomedical Co., USA) を用いて検査を実施し, ODn 値 ≤ 0.8 となったものを感染初期 (155 日以内), ODn 値 > 0.8 を長期の感染と判定した。なお, 検査の実施手順はキットの取り扱い説明書に準じた。

3. 血清からの遺伝子抽出と塩基配列の決定

各血清 200 μL よりウイルス核酸 RNA を抽出後, 国立感染症研究所の方法に準じた nested-PCR 法により PR および RT 遺伝子領域を増幅した。なお, RT 領域の増幅に使用する Reverse 側の inner primer については pol4 プライマー (CCACTAACTTCTGTATGTCATT) を使用した。各遺伝子を nested-PCR 法により増幅後, PCR 増幅産物をアガロースゲル電気泳動により特異バンドを確認し, 新たに低融点ゲルにて電気泳動後, 特異バンドを分離し, QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN) を用いて精製した。得られた産物は Dye-terminater-cycle-sequencing 法 (アプライドバイオシステムズジャパン) を用いた Direct-Sequencing

著者連絡先: 貞升健志 (〒169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1 東京都健康安全研究センター 微生物部)

2008 年 12 月 4 日受付; 2009 年 1 月 22 日受理

法を実施後、ABI PRISM3130（アプライドバイオシステムズジャパン）により各塩基配列を決定した。

4. サブタイプ型別と薬剤耐性変異の解析

得られた塩基配列（724 bp : RT 領域）を基に、遺伝子解析ソフト MEGA4 を用いた系統樹解析⁸⁾とスタンフォード大学 HIV Drug Resistance Database⁹⁾ を利用し、サブタイプを決定した。また、薬剤耐性変異の有無については International AIDS Society-USA (IAS-USA) panel 2007¹⁰⁾ および Shafer ら¹¹⁾ の報告を参考に、RT 領域 41~236 番目のアミノ酸変異で M41L, A62V, K65R, D67N, 69 (Insert), K70R, L74V, V75I, F77L, L100I, K103N, V106M, V108I, Y115F, F116Y, Q151M, Y181C/I, M184V, Y188C/L/H, G190S/A, L210W, T215F/Y, K219Q/E, P225H の変異の有無を調べた。PR 領域については 1~90 番目のアミノ酸変異で D30N, V32I, L33F, M46I/L, I47V/A, G48V, I50V, I54M/L, L76V, V82A/F/T/S/L/T, I84V, N88S, L90M のアミノ酸変異の有無を調査した。なお、RT 領域 T215 については F/Y 以外の revertant 変異についても調査を実施した。

本研究はヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針等の倫理規定に準拠して実施した。本研究は個人が特定できるようなデータを含まない、連結不可能匿名化されている検体から抽出した HIV 遺伝子の解析を目的とした調査研究であり、東京都健康安全研究センター研究調整委員会において倫理審査委員会への付議に当たらないと決定された。

結 果

1. HIV 検査陽性例の性別、年齢区分別解析

189 例の性別、年齢別、サブタイプおよび BED-CEIA 法陽性率を表 1 に示す。187 例 (98.9%) は男性であり、女性は 2 例 (1.1%) であった。年齢別では、30 歳代が 80 例 (内 2 例女性, 42.3%) と最も多く、次に 20 歳代が 58 例 (30.7%), 40 歳代が 40 例 (21.2%) であり、20 歳代から 40 歳代を合わせた 178 例は全体の 94.2% を占めていた。各血清を材料に BED-CEIA 法による感染時期の推定をおこなった結果、189 例中 75 例 (39.7%) が ODn 値 ≤ 0.8 となり感染初期と判定された。年齢別にみた BED 陽性率は、20 歳代では

41.4%, 30 歳代では 35.0%, 40 歳代では 45.0%, 50 歳代では 25.0% と 30 歳代と 50 歳代の陽性率がやや低い傾向が認められたが、統計的に有意とはならなかった (表 2)。

2. サブタイプ型別

RT 領域の遺伝子解析により、189 例中 180 例がサブタイプ B で (95.2%), 6 例が CRF01_AE (3.2%) に分類され、サブタイプ C (0.5%), CRF08_BC (0.5%), CRF20_BG (0.5%) が各 1 例であった (表 1)。BED-CEIA 法による感染時期の推定をおこなった結果 (表 3)、サブタイプ B では 180 例中 73 例 (40.6%) が陽性であったのに対し、non-B (CRF01_AE, C, CRF08_BC, CRF20_BG) 9 例中 2 例 (22.2%) が ODn 値 ≤ 0.8 となり感染初期と判定され、統計的に有意な差はないが、non-B の方が BED-CEIA 陽性率が低い傾向が認められた。

3. 薬剤耐性変異

PR または RT 領域に薬剤耐性変異を認めた例は 15 例

表 1 HIV 検査陽性例 189 例の特徴

性別		
男性	187	98.9%
女性	2	1.1%
年齢		
10 歳代	1	0.5%
20 歳代	58	30.7%
30 歳代	80	42.3%
40 歳代	40	21.2%
50 歳代	8	4.2%
60 歳代	2	1.1%
BED-CEIA		
Recent	75	39.7%
Long-term	114	60.3%
HIV-1 subtype		
B	180	95.2%
C	1	0.5%
CRF01_AE	6	3.2%
CRF08_BC	1	0.5%
CRF20_BG	1	0.5%

表 2 HIV 検査陽性例の年齢別構成、BED-CEIA 法による感染時期の推定

	10	20	30	40	50	60 (歳代)	計
HIV 検査陽性数	1	58	80 (2)*	40	8	2	189
BED-CEIA 陽性 (Recent)	1	24	28 (0)	18	2	2	75
(%)	100.0	41.4	35.0 (0)	45.0	25.0	100.0	39.7 (%)

*: () 内は女性

(7.9%) あり, T215-revertant は 5 例 (2.6%) 検出された (表 4)。

PR 領域では, M46L (4 例), M46I (2 例), M46I/L (1 例), V32V/I (1 例) と, プロテアーゼ阻害薬 (PI) に対する薬剤耐性変異が単独で認められる例が 8 例 (4.2%) 検出された。

RT 領域では核酸系逆転写酵素阻害薬 (NRTI) の薬剤耐性変異である M41L が 3 例 (1.6%), 非核酸系逆転写酵素阻害薬 (NNRTI) の薬剤耐性変異である K103N が 2 例 (1.1%) と, NRTI または NNRTI の薬剤耐性変異が単独で認められる例が計 5 例 (2.6%) 検出された。

PR 領域および RT 領域で複数の薬剤耐性変異を有する例は 2 例 (1.1%) で, それぞれ, [PR 領域: M46I, L90M, RT 領域: M41L, D67N, K70K/R, T215F, K219Q], [PR 領

域: I84V, L90M, RT 領域: D67N, K70R, M184V, T215V, K219Q] が検出され, どちらも IAS-USA パネルにおいて NRTI および PI に対し耐性を獲得していることが示唆された。

T215-revertant 変異は 5 例 (2.6%) で検出され, T215D が 2 例, T215S が 2 例, T215C が 1 例であった。以上の変異が認められたもののうち, M46L 1 例を除き, T215-revertant を含む 19 例の変異を有する HIV はすべてサブタイプ B であった。

BED-CEIA と薬剤耐性変異の関連を調査したところ, 感染初期と判定された 75 例中薬剤耐性変異を認めたもの 7 例 (9.3%), T215-revertant 3 例 (4.0%) であった。一方, 感染後長期間経過と判定された 114 例では 7 例 (6.1%) に薬剤耐性変異が, 2 例 (1.8%) に T215-revertant 変異が認められたことから, 薬剤耐性変異については感染初期例の方が出現率がやや高く, T215-revertant 変異については低い傾向が認められた。耐性変異別にみると, NRTI および NNRTI 耐性変異 (M41L および K103N) については, 長期の感染で多く, PI 耐性変異については感染初期例に多い傾向が認められたが, どちらも統計的な有意差はなかった。

4. 薬剤耐性変異を有する例の分子系統樹解析

RT 領域 (724 bp) の分子系統樹解析を実施し, 薬剤耐性

表 3 サブタイプ型別と BED-CEIA 法による感染時期の推定

	BED assay		total (%)
	Recent (%)	Long-term (%)	
B	73 (40.6)	107 (59.4)	180 (100.0)
non-B	2 (22.2)	7 (77.8)	9 (100.0)
	75 (39.7)	114 (60.3)	189 (100.0)

表 4 検出された薬剤耐性変異と BED-CEIA 法による感染時期の推定

			BED assay		total (%)
			Recent N=75	Long-term N=114	
NRTI resistance	RT	M41L	1	2	3 (1.6)
NNRTI resistance	RT	K103N	0	2	2 (1.1)
PI resistance	PR	M46L	2	2	4
		M46I	2	0	2
		M46I/L	0	1	1
		V32V/I	0	1	1
dual class resistance (NRTI and PI)	RT	M41L, D67N, K70K/R, T215F, K219Q	1	0	2 (1.1)
	PR				
	RT	D67N, K70R, M184V, T215V, K219Q	1	0	15 (7.9%)
	PR				
T215-revertant variants	RT	T215C	1	0	1
	RT	T215D	1	1	2 5 (2.6)
	RT	T215S	1	1	2
			3 (4.0%)	2 (1.8%)	5 (2.6%)

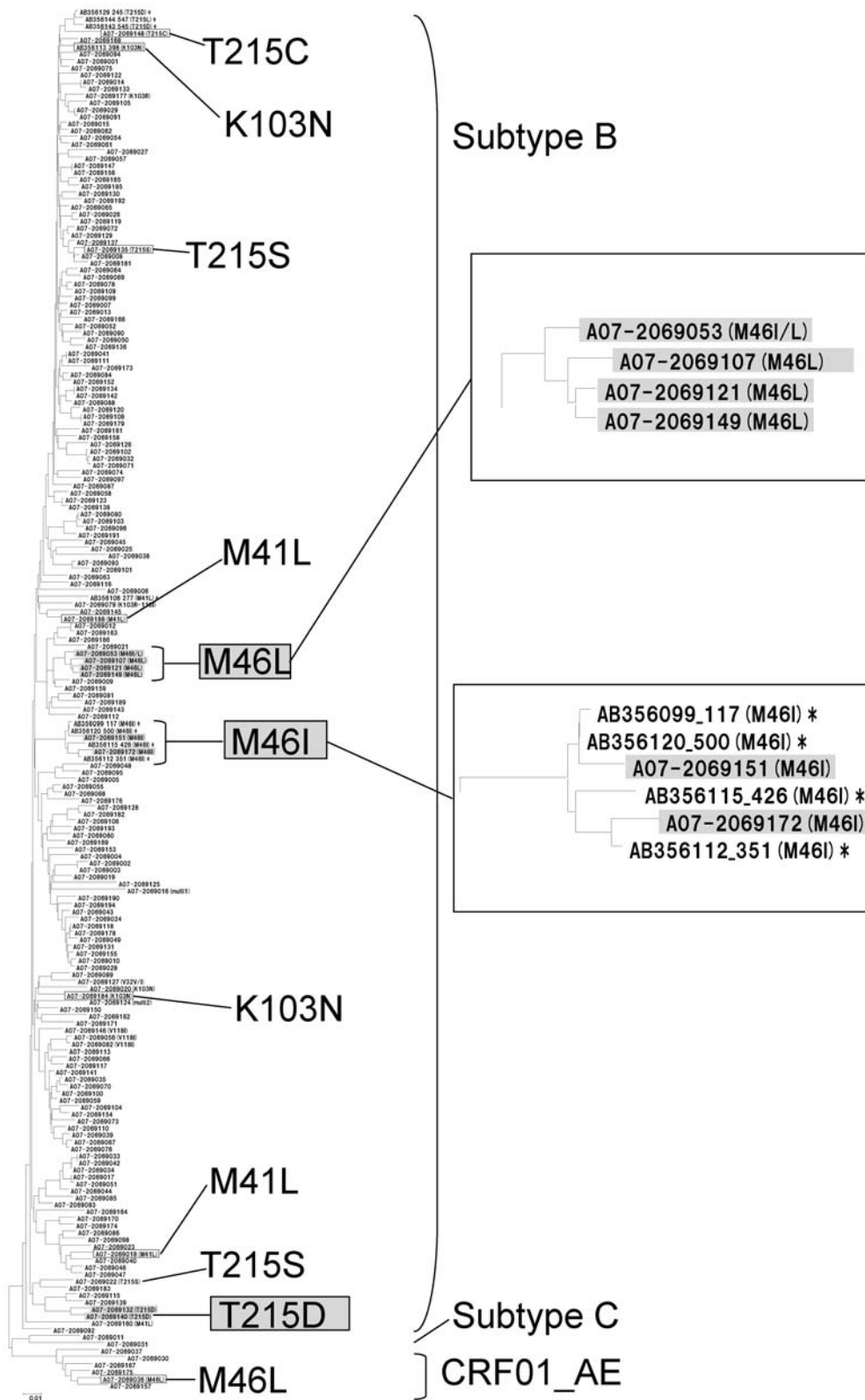


図 1

変異および T215-revertant 変異検出例の関連性を検討した結果 (図 1), PR 領域で M46L の変異が認められた 4 例については近接する位置にクラスタを形成し, M46I 2 例については名古屋由来 M46I 株の 117 [DDBJ/EMBL/GenBank アクセス番号: AB356099], 426 [AB356115], 351 [AB356112] 500 株 [AB356120] とクラスタを形成した。また, RT 領域で T215-revertant 変異を認めた T215D 2 例はほぼ同位置に位置したが, 他の 3 例 (T215S および T215C) と, K103N (2 例), M41L (3 例) については系統樹上で別々に位置し, 関連性は認められなかった。

考 察

東京都の HIV 感染者報告数は年々増加傾向が続いており, 2007 年には過去最高の 423 例が報告された^{6,7)}。これ以上の増加に歯止めをかけるためには, 普及啓発等の行政的な努力のみならず, 都内で流行している HIV の分子疫学的な解析・モニタリング等のエビデンスに基づいた調査が必要である。我々は 2007 年東京都の感染症発生動向調査における HIV 感染者報告総数の 44.7% にあたる 189 例の保健所等 HIV 検査陽性例を材料とし, 感染時期の推定を行うとともに, 遺伝子の解析による HIV サブタイプ, 薬剤耐性変異 HIV の出現頻度の調査を実施した。

今回, 都内保健所等 HIV 検査陽性 189 例の解析を行った結果, サブタイプ B が 95.2%, CRF01_AE が 3.2% を占めていた。東京都におけるサブタイプ B を中心とした流行の傾向に近年変化はないが⁶⁾, 一方で, CRF08_BC¹²⁾ や CRF20_BG¹³⁾ のような中国やキューバで検出されているリコンビナントウイルスが今回都内で初めて検出されたことは, 海外からの新たな遺伝子型の東京都内への侵入と感染の広がりが懸念される。

PR 領域および RT 領域の薬剤耐性遺伝子解析を実施した結果, 主としてサブタイプ B において, 15 例 (7.9%) に薬剤耐性変異を, 5 例 (2.6%) に T215-revertant 変異を認めた。日本においては, Gatanaga らが 575 例の新規 HIV 感染患者を対象とした 2003-2004 年の全国調査で⁴⁾, 薬剤耐性 HIV の出現率を 4.0% と報告している。また, Ibe らは 1999-2006 年の名古屋地域における 402 例の新規 HIV 感染患者の調査を行い⁵⁾, 2.3%-10.0% の薬剤耐性変異と報告している。今回の調査結果で, 東京都内の公的検査機関における HIV 検査陽性例の中にも薬剤耐性変異を有する

HIV が存在すること, 薬剤耐性変異の出現率は Gatanaga らの報告⁴⁾ より高く, Ibe らの報告⁵⁾ とほぼ同様の傾向を示していることが判明した。

薬剤耐性変異のうち, 13 例については単独のアミノ酸変異のみを示していたが, 複数の変異を有する 2 例については, IAS-USA パネルにおいて NRTI および PI の両耐性を獲得していることから, このような耐性変異の出現については, 今後特に注意を払っていく必要がある。また, RT 領域の系統樹解析により, M46I, M46L, T215D については系統樹上での関連性が示唆された。特に, 今回検出された M46I は 2000 年から 2006 年に名古屋医療センターにおいて調査を実施した 402 例の未治療患者 (男性: 90%, リスクファクターが Homosexual である: 59%) において検出されている M46I 変異を有する HIV 株⁵⁾ との関連性が強く示唆された。また, T215D や M46L については東京都内のみの検出例で, 名古屋地域との関連性は認められなかったが, 今後の調査により, 他府県との関連性が出てくるとも考えられ, これらの HIV 株の広域的な分子疫学的な研究を実施していく必要がある。

BED-CEIA 法による感染時期の推定結果では, HIV 検査陽性例の 39.7% が感染初期例と判定された。このことは, 陽性例の 39.7% が抗体陽転後 155 日以内に保健所検査を受診していることを示している。この結果を諸外国における報告と比較してみると, サンフランシスコの STD クリニックでは 32.3%¹⁴⁾, タイの Red Cross voluntary counselling and testing center では 15%¹⁵⁾, タイの IDUs のデータでは 19%¹⁶⁾ と, 諸外国の報告例に比べ高い傾向にある。この理由として, 検査目的の検体であり, 症状が出てから受診するクリニックに比べ感染時期からの経過日数が早いこと, 感染成立後, 効率的に検査を受診している結果と考えられる。しかしながら, 都内の HIV 感染者数が増加している現状では, 感染実態そのものが非常に active であることも想定されるため, 今後も継続して調査を実施していかなければ, 実態を把握することは困難である。

薬剤耐性変異と BED-CEIA 法の関係では, 有意差は認められないながら感染初期と判定された群における薬剤耐性変異の出現率がやや高い傾向が認められた。このことは, 薬剤耐性を獲得した HIV は薬剤のない条件下では wild type に比べ増殖力が劣る場合があることが知られており¹⁷⁾, 感染後長期間が経過した場合には耐性ウイルスが

図 1 RT 領域の分子系統樹解析

189 例の RT 遺伝子 (724 bp) を MEGA4 (NJ 法) により分子系統樹解析を行った。薬剤耐性関連変異である M46L, T215D については系統樹上で都内株でクラスタもしくは近接して位置しており, M46I については名古屋由来 M46I 株* とクラスタを形成していた。それ以外の変異株については, 相互の関連性は認められなかった。

minor population となり、体内に存在していても通常の方法では検出されにくくなるためと考えられる¹⁸⁾。一方で、感染時にウイルス量の少ない事例では BED-CEIA 法の信頼性が低いとの報告もあり¹⁹⁾、BED-CEIA の精度、信頼性の可能性も示唆されることから、さらに両面から継続して調査していく必要性が示唆された。

今回の調査結果により、保健所等の HIV 検査陽性例を材料とした解析により、都内ではサブタイプ B の HIV が多くを占めていること、サブタイプ B を中心に薬剤耐性に関連する変異が認められること、薬剤耐性に関連する変異株 (M46I) の名古屋地域と東京との関連性が強く示唆された。しかし、このような耐性に関与する変異を有した HIV が実際に *in vitro* でどの程度の薬剤耐性を示すのかは不明瞭であり、今後ウイルス分離を実施した上で検証して行く必要がある。東京都では公的検査機関における HIV 検査陽性数、HIV 感染者・患者数ともに右肩上がりの傾向が続いており、このような傾向に歯止めをかけるためにも、さらに陽性例の解析を実施し、検査相談等の行政対応へとつなげていかななくてはならない。

結 論

2007 年に都内保健所等の検診で検査陽性例から検出された HIV の 95.2% はサブタイプ B であり、薬剤耐性変異の出現頻度は 7.9%、T215-revertant の出現は 2.6% であった。

謝辞

本研究の一部は、厚生労働省科学研究費補助金エイズ対策研究事業「薬剤耐性 HIV の動向把握のための調査体制確立及びその対策に関する研究」班の助成を受けて実施した。

文 献

- 1) Hecht FM, Grant RM, Petropoulos CJ, Dillon B, Chesney MA, Tian H, Hellmann NS, Bandrapalli NI, Digilio L, Branson B, Kahn JO : Sexual transmission of an HIV-1 variant resistant to multiple reverse-transcriptase and protease inhibitors. *N Engl J Med* 339 : 307-311, 1998.
- 2) Yerly S, Kaiser L, Race E, Bru JP, Clavel F, Perrin L : Transmission of antiretroviral-drug-resistant HIV-1 variants. *Lancet* 354 : 729-733, 1999.
- 3) Boden D, Hurley A, Zhang L, Cao Y, Guo Y, Jones E, Tsay J, Ip J, Farthing C, Limoli K, Parkin N, Markowitz M : HIV-1 drug resistance in newly infected individuals. *JAMA* 282 : 1135-1141, 1999.
- 4) Gatanaga H, Ibe S, Matsuda M, Yoshida S, Asagi T,

Kondo M, Sadamasu K, Tsukada H, Masakane A, Mori H, Takata N, Minami R, Tateyama M, Koike T, Itoh T, Imai M, Nagashima M, Gejyo F, Ueda M, Hamaguchi M, Kojima Y, Shirasaka T, Kimura A, Yamamoto M, Fujita J, Oka S, Sugiura W : Drug-resistant HIV-1 prevalence inpatients newly diagnosed HIV/AIDS in Japan. *Antiviral Res* 75 : 75-82, 2007.

- 5) Ibe S, Hattori J, Fujisaki S, Shigemi U, Fujisaki S, Shimizu K, Nakamura K, Kazumi T, Yokomaru Y, Mamiya N, Hamaguchi M, Kaneda T : Trend of drug-resistant HIV type 1 emergence among therapy-naive patients in Nagoya, Japan : an 8-year surveillance from 1999 to 2006. *AIDS Res Hum Retroviruses* 24 : 7-14, 2008.
- 6) 貞升健志, 長島真美, 新開敬行, 尾形和恵, 吉田靖子, 矢野一好 : ヒト免疫不全ウイルス (HIV) 感染症 : 東京都における検査と解析. *東京健安研セ年報* 58 : 27-36, 2007.
- 7) AIDS NEWS letter : <http://idsc.tokyo-eiken.go.jp/AIDS/news/AIDS120-2.pdf>
- 8) Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S : MEGA4 : Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24 : 1596-1599, 2007.
- 9) Stanford University HIV Drug resistance Database, <http://hivdb.stanford.edu/>
- 10) Johnson VA, Brun-Vézinet F, Clotet B, Günthard HF, Kuritzkes DR, Pillay D, Schapiro JM, Richman DD : Update of the drug resistance mutations in HIV-1 : 2007. *Top HIV Med* 15 : 119-125, 2007.
- 11) Shafer RW, Rhee SY, Pillay D, Miller V, Sandstrom P, Schapiro JM, Kuritzkes DR, Bennett D : HIV-1 RT and protease mutations for HIV-1 drug resistance surveillance and epidemiology : application to published studies of primary infection. 2006. Stanford HIV Drug Resistance Database, <http://hivdb.stanford.edu>
- 12) Yang R, Kusagawa S, Zhang C, Xia X, Ben K, Takebe Y : Identification and characterization of a new class of human immunodeficiency virus type 1 recombinants comprised of two circulating recombinant forms, CRF07_BC and CRF08_BC, in China. *J Virol* 77 : 685-695, 2003.
- 13) Sierra M, Thomson MM, Posada D, Pérez L, Aragonés C, González Z, Pérez J, Casado G, Nájera R : Identification of 3 phylogenetically related HIV-1 BG intersubtype circulating recombinant forms in Cuba. *J Acquir Immune Defic Syndr* 45 : 151-160, 2007.
- 14) Truong HM, Grant RM, McFarland W, Kellogg T, Kent

- C, Louie B, Wong E, Klausner JD : Routine surveillance for the detection of acute and recent HIV infections and transmission of antiretroviral resistance. *AIDS* 20 : 2193–2197, 2006.
- 15) Sirivichayakul S, Phanuphak P, Pankam T, O-Charoen R, Sutherland D, Ruxrungtham K : HIV drug resistance transmission threshold survey in Bangkok, Thailand. *Antivir Ther* 13 (Suppl), 109–113, 2008.
- 16) Hu DJ, Vanichseni S, Mock PA, Young NL, Dobbs T, Byers RH Jr, Choopanya K, van Griensven F, Kitayaporn D, McDougal JS, Tappero JW, Mastro TD, Parekh BS : HIV type 1 incidence estimates by detection of recent infection from a cross-sectional sampling of injection drug users in Bangkok : use of the IgG capture BED enzyme immunoassay. *AIDS Res Hum Retroviruses* 19 : 727–730, 2003.
- 17) Hu Z, Giguel F, Hatano H, Reid P, Lu J, Kuritzkes DR : Fitness comparison of thymidine analog resistance pathways in human immunodeficiency virus type 1. *J Virol* 80 : 7020–7027, 2006.
- 18) Johnson JA, Li JF, Morris L, Martinson N, Gray G, McIntyre J, Heneine W : Emergence of drug-resistant HIV-1 after intrapartum administration of single-dose nevirapine is substantially underestimated. *J Infect Dis* 192 : 1–3, 2005.
- 19) Hayashida T, Gatanaga H, Tanuma J, Oka S : Effects of low HIV type 1 load and antiretroviral treatment on IgG-capture BED-enzyme immunoassay. *AIDS Res Hum Retroviruses* 24, 495–498, 2008.

Genetic and Serological Analysis of Newly Diagnosed HIV Infection in Tokyo, 2007

Kenji SADAMASU, Mami NAGASHIMA, Takayuki SHINKAI,
Kazue OGATA, Akiko NAKAMA and Kazuyoshi YANO

Department of Microbiology, Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

Objective : The number of annual new cases of HIV infection diagnosis have continued to increase in Tokyo. The aim of this study is to research subtype and drug-resistant mutation emergence in newly diagnosed HIV-1-infected patients in the Tokyo metropolitan area.

Materials & Method : 189 serum samples diagnosed HIV positive in 2007 at the public diagnosis organization of Tokyo underwent sequencing of HIV-1 reverse transcriptase (RT) and protease (PR) genes. Subtyping was assigned by phylogenetic analysis using MEGA4 software. Resistance was scored according to the International AIDS Society USA panel (2007) modified to include T215-revertant variants. Recent seroconversion was identified by BED capture enzyme immunoassay (BED-CEIA).

Results : Serologically, seventy-five of 189 samples (39.7%) were classified recent seroconversion by BED-CEIA. Genetically, mutations conferring resistance to nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTI), nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTI), protease inhibitors (PI) and dual-class (NRTI+PI) were detected in 1.6%, 1.1%, 4.2% and 1.1% of specimens, respectively. T215-revertant variants were detected in 2.6%. Phylogenetic analysis indicated that 95.2% were subtype B and PI-resistant and revertant variants with M46I and M46L comprised the independent cluster of RT gene region.

Conclusion : Genetically, 95.2% of newly detected HIV-1 samples in Tokyo in 2007 were subtype B. The prevalence of resistance mutations and T215-revertant variants were 7.9% and 2.6%, respectively.

Key words : HIV-1, subtype, drug-resistant diagnosis, phylogenetic analysis, BED-CEIA