

第11回 ECC 山口メモリアルエイズ研究奨励賞受賞研究

世界最初の HIV-2 組換え流行株 CRF01_AB の発見

Identification of the First Circulating Recombinant Form of HIV-2, CRF01_AB

伊 部 史 朗

Shiro IBE

独立行政法人国立病院機構 名古屋医療センター 臨床研究センター 感染・免疫研究部

Department of Infection and Immunology, Clinical Research Center, National Hospital Organization Nagoya Medical Center

はじめに

ヒト免疫不全ウイルス 2 型 (Human immunodeficiency virus type 2 : HIV-2) は、HIV-1 に次いで 1986 年に後天性免疫不全症候群 (Acquired immunodeficiency syndrome : AIDS) の原因ウイルスとして同定された^{1,2)}。現在、HIV-1 が世界規模で流行し、約 3,300 万人の感染者が存在するのに対し、HIV-2 は西アフリカとその関連するヨーロッパ及びアジア諸国に局限した流行を示しており、その感染者数は約 100 万人と推定されている。HIV-2 は HIV-1 よりも病原性が低く、HIV-2 感染者の多く (75% 以上) は無症候のまま生涯を全うすると言われている³⁾。これまで HIV-2 には 8 つのグループ (A~H) が遺伝子学的に同定されており、グループ A 株と B 株が流行株として認識されてきた。また、グループ A 株と B 株の組換えウイルスが 2 種類各 1 例ずつ同定されてきたが、これら組換えウイルスの流行実態はこれまで未確認であった。

本邦においては、2002 年 (平成 14 年) 10 月に最初の HIV-2 感染例の同定に伴う通知が^{4,5)}、更に 2006 年 (平成 18 年) 8 月には最初の日本人 HIV-2 感染例の同定に伴う通知がなされてきたが^{6,7)}、いずれも海外における感染事例の国内発見であり、国内での HIV-2 感染や流行はこれまで未確認であった。このように本邦における HIV-2 感染例の報告がほとんど無い一方で、名古屋医療センターでは 2004 年に 1 例、2007 年に 2 例、2008 年に 2 例、計 5 例の HIV-2 感染例を経験した。これらの症例がどのような HIV-2 株に感染しているのかを解明することは、本邦における HIV-2 感染の起源や動向を理解する上で非常に重要である。そのため、詳細なウイルス分子疫学的解析を実施

した結果、3 例から HIV-2 として最初の組換え流行株 (Circulating recombinant form : CRF) と認定されることとなった CRF01_AB 株を同定した⁸⁾。以下、その結果について概説する。

4 例が診断時に既に AIDS を発症 : 高い AIDS 診断率

表 1 に 5 例の HIV-2 感染例の診断時の臨床データを示した。うち 3 例 (NMC307, NMC716, NMC786) は HIV-2 流行地域である西アフリカ諸国出身の男性であったが、2 例 (NMC678, NMC842) は日本人女性であり、いずれも HIV-2 流行地域出身者との交際歴を有していたことから日本国内での感染が強く疑われるものであった。今回の 5 例は全て異性間性接触による感染と推測されたが患者間の関連性は認められず、それぞれが独立した HIV-2 感染例であった。注目すべきは、4 例 (NMC307, NMC716, NMC786, NMC842) が 38 歳以下にもかかわらず診断時点で既に AIDS を発症しており、低い CD4⁺ T 細胞数と高い血中 HIV-2 RNA 量を示していた。一方、1 例 (NMC678) は未症候であり、高い CD4⁺ T 細胞数を示し、血中 HIV-2 RNA は不検出であった。なお、5 例全例において血中 HIV-1 RNA 量は検出限度以下であり HIV-2 単独感染例であると診断された。

最初の HIV-2 組換え流行株 CRF01_AB の発見

次に、HIV-2 の遺伝子学的グループを決定するために、採取した末梢血単核球から精製した DNA を鋳型に用いて、HIV-2 gag 遺伝子断片 (777 塩基対) と env 遺伝子断片 (454 塩基対) の増幅を nested PCR 法にて試みた。その結果、5 例のうち 4 例の AIDS 発症例において両遺伝子断片の増幅に成功した。一方、1 例の無症候例 (NMC678) においては複数の異なるプライマーセットを追加して遺伝子増幅を試みたが遺伝子増幅産物を得ることができず、

著者連絡先 : 〒460-0001 名古屋市中区三の丸4-1-1 名古屋医療センター 臨床研究センター 感染・免疫研究部

2011 年 4 月 11 日受付

表 1 HIV-2 感染例の診断時プロファイル

症例	年	性別	年齢	国籍	CD4 ⁺ T細胞数 (cells/ μ l)	血中 HIV RNA 量 (copies/ml)		ウェスタン ブロット検査		日和見感染症
						HIV-1	HIV-2	HIV-1	HIV-2	
NMC307	2004	男性	28	ナイジェリア	241	<50	350,000	±	+	結核症
NMC678	2007	女性	28	日本	883	<50	不検出	±	+	-
NMC716	2007	男性	36	ナイジェリア	4	<50	680,000	±	+	カンジダ症
NMC786	2008	男性	38	ガーナ	1	<40	60,000	-	±	カンジダ症, CMV 感染症
NMC842	2008	女性	34	日本	110	<40	25,000	-	+	-

CMV, cytomegalovirus.

HIV-2 感染を遺伝子学的に証明するまでには至らなかった。遺伝子増幅に成功した4例については、塩基配列決定後に系統樹解析を実施した。その結果、1例(NMC786)はグループA株であると判定し得たが、興味深いことに残りの3例(NMC307, NMC716, NMC842)は、グループA株とB株の組換えウイルスとして1例だけ報告されていた7312A(1990年に西アフリカのコートジボアールにて同定⁹⁾)と共に独立した集団を形成しており、遺伝子学的に非常に近い関係にあることが明らかになった(図1A, 1B)。この結果は、NMC307, NMC716, NMC842が7312Aと同様に組換えウイルスである可能性を示唆しており、これを検証するためにウイルスの全長ゲノム塩基配列を決定しウイルスゲノム構造を解析した。その結果、3例いずれもがグループA株とB株の組換えウイルスであり、4つのゲノム組換えポイントを有していること、そして、これらウイルスのゲノム組換え構造が7312Aと完全に一致していることが明確に示された(図2)。さらに、全長ゲノム塩基配列を用いて作成した系統樹上でも、NMC307, NMC716, NMC842, 7312Aは100%という非常に高い再現性をもって独立した集団を形成したことから(図1C)、これらウイルスは同一のAB組換えウイルス株であるとの結論に至った。

HIVの塩基配列を統括する米国 Los Alamos HIV Sequence Databaseが1999年に提唱し現在でも活用されているHIV株の命名法では^{10,11)}、新たな組換え流行株の存在を宣言するためには原則として、少なくとも独立した3症例においてウイルスの全長ゲノム塩基配列を決定し、それらのゲノム組換え構造が一致することを証明することが必要とされている。当院の3症例から同定されたNMC307, NMC716, NMC842(アクセッション番号AB499693, AB499694, AB499695)とコートジボアールの1症例から同定された7312Aを解析した我々のデータはこの条件を完全に満たすものであり、HIV-2として最初の組換え流行

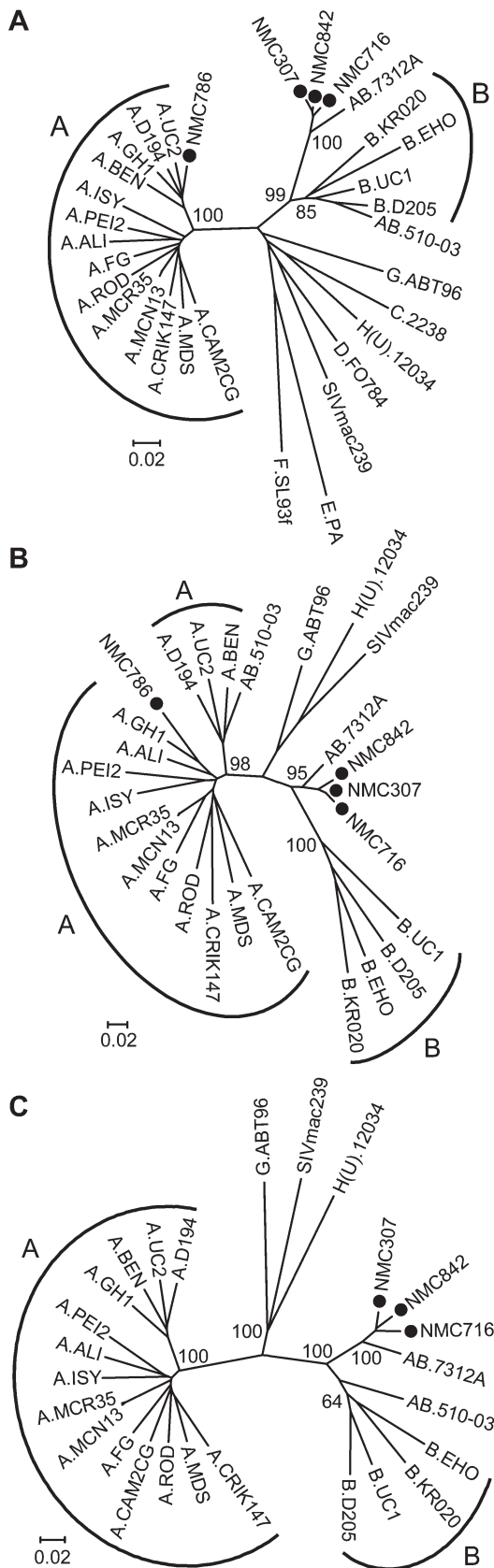
株の同定であると米国 Los Alamos HIV Sequence Databaseによって認定された。この組換え流行株は「HIV-2 CRF01_AB」と命名され、「HIV-2 CRF01」がHIV-2の最初(1番目)の組換え流行株であることを示し、「AB」がグループA株とB株との組換えウイルスであることを示している。

HIV-2 CRF01_AB のゲノム構造

図3Aに示すように、HIV-2 CRF01_ABのゲノムの大部分はグループB株由来である。興味深いことに、この組換え流行株が持つ4つのゲノム組換えポイントは全てenv遺伝子内またはその近傍に存在しており、その結果としてキメラのEnvタンパク質がコードされている。具体的に述べると(図3B)、gp120領域の大部分はグループA株由来であるがC2V3領域にグループB株由来の断片が含まれている。また、gp41領域の細胞外ドメインと膜貫通ドメインはグループA株由来であるが、細胞質ドメインの大部分はグループB株由来である。

HIV-2 CRF01_AB の出現時期の推定

今回我々が見いだしたHIV-2 CRF01_AB分離株は3例とも検体採取時期が明らかだったことから、ベイズマルコフ連鎖モンテカルロ(Bayesian Markov chain Monte Carlo: Bayesian MCMC)法を用いて、HIV-2/SIV系統内で見出された単系統群の共通祖先年代(Times of the most recent common ancestors: tMRCAs)を算出した。その結果、HIV-2 CRF01_ABの共通祖先年代の平均は1964~1973年であることが分かった(表2)。今回の我々の計算結果や他の研究室からの報告によると^{12,13)}、HIV-2グループA株とB株の出現時期はいずれも20世紀初頭と推定されることから、それから数十年の時間を経てHIV-2 CRF01_ABが出現したことが推察された。



HIV-2 CRF01_AB の発見が示唆すること

冒頭で述べたように、HIV-2 感染例の多く (75%以上) は無症候のまま生涯を全うされている³⁾。また、HIV-2 感染者の死亡年齢のピークは 65 歳と高齢であることも報告されている^{14, 15)}。ところが、特筆すべきことに、今回我々が同定した 3 例の HIV-2 CRF01_AB 感染例は全例が 28~36 歳の若年齢であるにもかかわらず診断時に既に AIDS を発症していた。また、同定されている症例数は少ないものの、HIV-2 CRF01_AB がゲノム組換えを介してより高い病原性を獲得した可能性が懸念される。その病原性に係わる因子のひとつとして、我々は *env* 遺伝子内の gp120 C2V3 領域が組換えを起こしている点に着目している。なぜなら、この領域は宿主免疫が Env タンパク質に応答する際の主要標的部位のひとつであると同時に、ウイルスが宿主細胞表面上の CD4 やケモカイン受容体を介して細胞に接着・侵入する際にも重要な役割を果たしているからである。我々は、この gp120 C2V3 領域内の組換えがウイルスの宿主免疫からの逃避やウイルス複製能向上に寄与している可能性があると考えている。

HIV-2 CRF01_AB の地理的起源に関しては、現在同定されている感染例 4 例のうち 3 例が西アフリカのナイジェリア及びコートジボアール出身者であること、そして、これらの国々では HIV-2 のグループ A 株と B 株の流行が確認されていることから^{16, 17)}、西アフリカ南部の海岸沿岸地域であると推察される。今後、西アフリカ諸国及び関連各国と共同で疫学調査を進めることにより、HIV-2 CRF01_AB の病原性や流行状況を明らかにすることができると考えている。また、元来の HIV-2 の流行地域ではない本邦において HIV-2 CRF01_AB 感染例が 3 例同定されたという我々の報告は、この HIV-2 組換え株が既に西アフリカを越えて世界的規模で拡がり始めていることへの注意を喚起する役割を果たした。

本邦の検査体制及び医療体制への本研究の貢献

本邦の正確な HIV-2 感染例数は現在まで把握されてい

図 1 HIV-2 分離株の系統樹解析。(A) *gag* 遺伝子領域 (参照株 SIVmac239 の 1163-1939 領域に該当)。(B) *env* 遺伝子領域 (同様に 7300-7753 領域に該当)。(C) 全長ウイルスゲノム。系統樹は近隣接合法にて作成した。Bootstrap 値 (%) は 1000 回の解析により算出し、主な節に示している。目盛りは 1 塩基部位あたりの塩基置換率を表している。HIV-2 の参照株は属する遺伝子学的グループと株名で表している。本研究で同定された分離株は黒丸で示している。

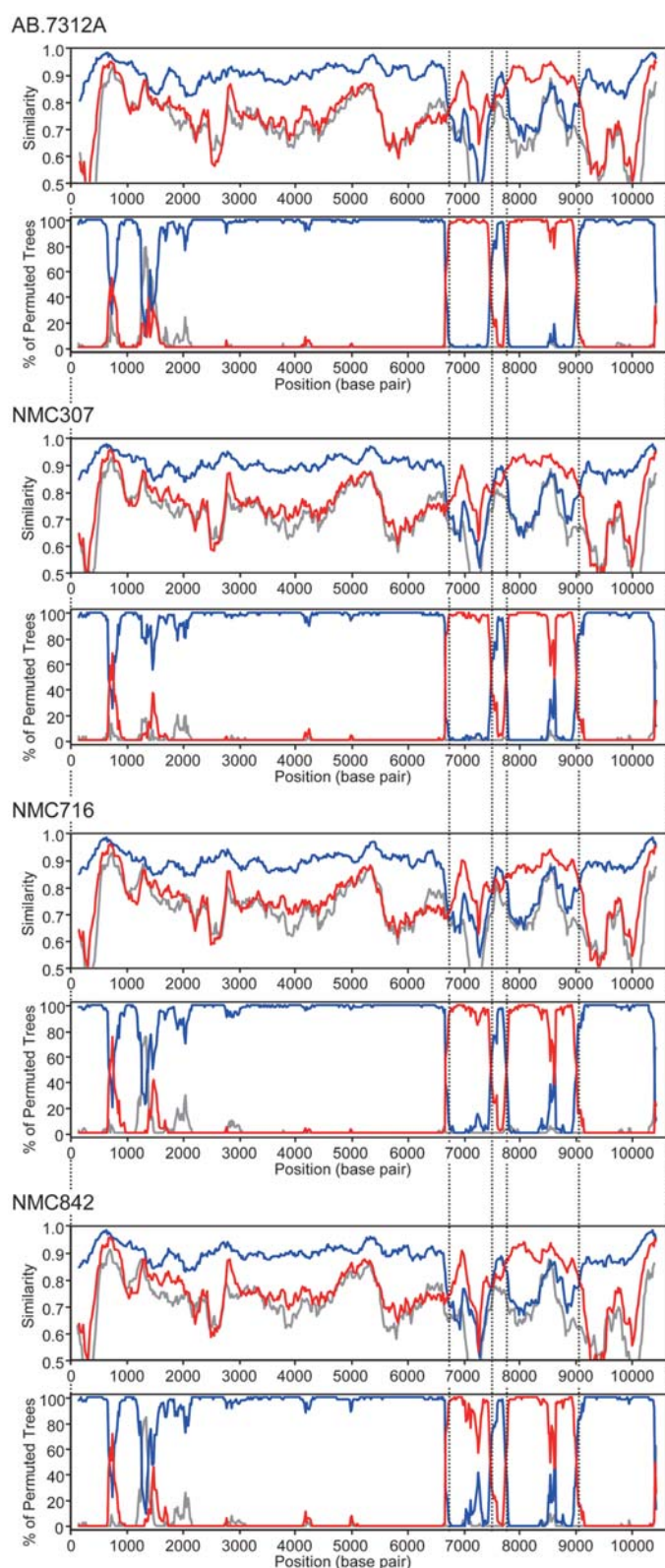


図 2 HIV-2 AB 組換え体のゲノム構造解析

AB.7312A, NMC307, NMC716, NMC842 の 4 分離株それぞれにおける similarity plotting (上部) と bootscanning (下部) 結果を示した。HIV-2 グループ A 株の共通塩基配列, B 株の共通塩基配列, 及び, SIVmac239 の塩基配列に対するデータをそれぞれ, 赤, 青, 及び, 灰色で示している。Similarity plotting と bootscanning を共に, window size を 300 塩基, step size を 20 塩基に設定して実施した。また, bootscanning では近隣接合法を用い 500 回の bootstrap 解析に設定し実施した。

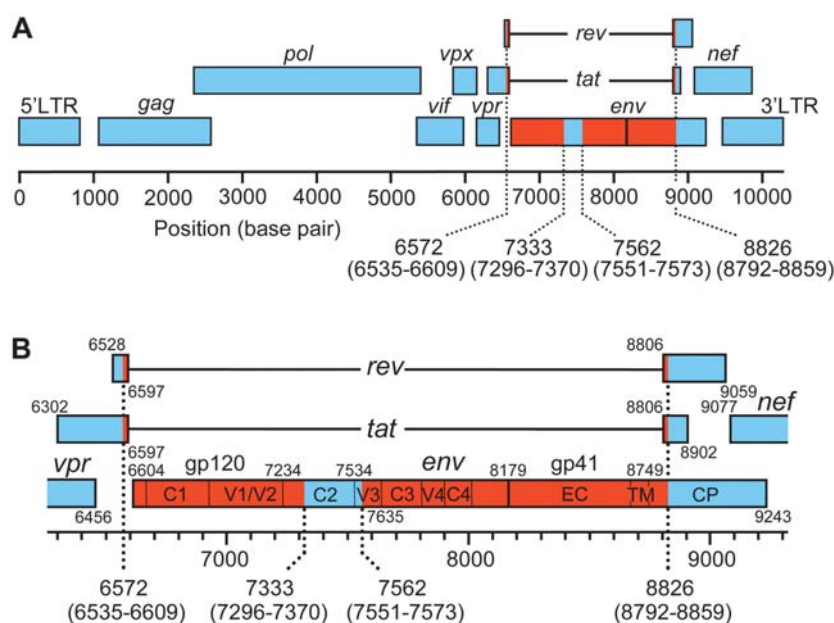


図 3 HIV-2 CRF01_AB のゲノム構造の模式図

(A) ウイルスゲノム全体の構造。(B) *env* 遺伝子構造の詳細。HIV-2 グループ A 株と B 株由来の領域をそれぞれ、赤と青で示している。塩基番号は参照株 SIVmac239 の配列に適応させて表示している。4つのゲノム組換えポイントは位置する範囲とその中間点で表している。C, constant region ; V, variable region ; EC, extracellular domain ; TM, transmembrane domain ; CP, cytoplasmic domain ; gp, glycoprotein.

表 2 HIV-2/SIV 系統内で見出された単系統群の共通祖先年代

データセット ^{*1}	グループ A 領域		グループ B 領域		Combined	
	平均	95%HPD	平均	95%HPD	平均	95%HPD
系統群						
NMC 分離株 ^{*2}	1982	1960-1996	1995	1987-2002	1990	1974-2002
CRF01_AB ^{*3}	1964	1933-1985	1973	1956-1986	1971	1949-1986
グループ A	1921	1686-1963	1929	1882-1964	1927	1879-1964
グループ B	1909	1837-1962	1948	1915-1973	1934	1879-1973
HIV-2/SIV	1818	1670-1923	1821	1697-1930	1822	1693-1926

^{*1} CRF01_AB が持つグループ A 領域と B 領域に合わせてデータセットをそれぞれ用意した。LogCombiner プログラムを用いて両データセットの情報を合わせたものを Combined として表している。

^{*2} この単系統は当院で同定された 3 つの CRF01_AB 分離株, NMC307, NMC716, NMC842 で構成されている。

^{*3} この単系統は 4 つ全ての CRF01_AB 分離株, 7312A, NMC307, NMC716, NMC842 で構成されている。

^{*4} CRF, circulating recombinant form; HIV, human immunodeficiency virus; HPD, highest posterior density; NMC, Nagoya Medical Center; SIV, simian immunodeficiency virus.

ないが、誌上報告されている症例数は合わせても 10 例に満たない。2009 年以降、当院では新たな HIV-2 感染例は同定されていないが、本邦における HIV-2 の疫学動向を把握するためにはより詳細な疫学調査が必要であると思われる。これまで本邦では重要な HIV-2 感染例の同定に伴い周知の通達がなされ、検査機関及び医療機関に対して HIV-2 感染症への注意が喚起されてきた^{4,6)}。血液製剤の検査体制においても、抗 HIV-2 抗体検査が 1994 年（平成 6 年）から全国で実施され、2008 年（平成 20 年）8 月からは HIV-2 の核酸増幅検査（Nucleic acid amplification test : NAT）が全国 3 施設で稼動し、HIV-2 感染症も念頭に置いた対策が実施されている¹⁸⁾。本研究は、国内での感染が疑われる日本人 HIV-2 感染例を複数確認したことにより、2009（平成 21）年 2 月に HIV-2 感染症への注意を改めて喚起する役割を果たすと共に¹⁹⁾、その対策に必要な知見（全長ウイルスゲノム塩基配列等）の提供に貢献した。実際に我々も、リアルタイム RT-PCR 法を用いて血中 HIV-2 RNA 定量系を確立し、当院の HIV-2 感染症例の治療効果の評価に応用しているが²⁰⁾、プライマーとプローブを設計する際にこれら全長ウイルスゲノム塩基配列が役立った。

おわりに

HIV-2 感染症の診断においては、しばしば判定に難渋する場合がある。本邦の最新の HIV-1/2 感染症の診断ガイドラインによると、HIV-2 感染の確認試験が必要な場合には HIV-2 ウェスタンブロット法が推奨されている²¹⁾。HIV-1 感染症の診断には、HIV-1 ウェスタンブロット法に加えて、市販の血中 HIV-1 RNA 定量系が活用され成果を上げているが、HIV-2 感染症の診断においてはそのような市販の核酸増幅検査法が無い場合、HIV-1 感染症と同等のレベルで正確に診断することの困難さが指摘されている²²⁾。加えて、最近報告された西アフリカにおける長期コホート研究によると、血清学的に HIV-2 感染例と診断された症例のうち 37% (48/130) がウイルス血症を伴わない（血漿 HIV-2 RNA 量が 100 コピー/ml 未満）ことが報告されている²³⁾。以前の通達でも言及されていることではあるが⁶⁾、HIV-2 感染を確定する上で血清学的検査結果が唯一の根拠となる場合も少なくないことがこの報告により再認識させられる。

75% 以上の HIV-2 感染例が無症候のまま生涯を全うするという言葉は、言い換えれば、25% 未満の HIV-2 感染例は病態が進行し治療を必要することを意味する³⁾。しかし、HIV-2 感染症の治療にあたっては幾つかの制限が存在する²⁴⁾。現在、臨床に供されている抗 HIV 薬は HIV-1 を第一の標的として開発されてきたため、非核酸系逆転写酵素阻害薬のように HIV-2 には明らかに効果が低い薬剤も

存在する。これは HIV-2 感染症では治療薬の選択肢が制限されることを意味する。また、現在まで HIV-2 感染症治療の臨床試験が実施されていないため確立した治療法が存在しない²⁵⁾。血中 HIV-2 RNA 定量系は世界的に見ても臨床検査として実用化されておらず、HIV-2 の薬剤耐性やその検査法に関する知見もまだ不足している。このような状況下ではあるが、実際に HIV-2 感染症例を診療している施設の研究部門の一員として、克服すべき問題を克服し、最善の環境を臨床の場に提供できるように努めていきたい。

謝辞

まず、本賞への応募に際しご推薦をいただきました愛知県赤十字血液センターの濱口元洋先生にお礼申し上げます。また、本研究の機会を与えていただき、ご指導いただきました名古屋医療センターの杉浦 互先生、横幕能行先生、岩谷靖雅先生にお礼申し上げます。本研究の血中 HIV-2 RNA 量の測定は慶應義塾大学の田中理恵先生と加藤真吾先生に、また、共通祖先年代の算出は国立感染症研究所の椎野禎一郎先生に実施していただきました。あらためてお礼申し上げます。また、これまでお世話になりました名古屋医療センターの臨床、研究、検査部門の先生方、並びに、愛知県衛生研究所の先生方にこの場をお借りしてお礼申し上げます。最後に本研究を審査していただきました選考委員会の先生方にお礼申し上げます。ありがとうございました。

文 献

- 1) Kanki PJ, Barin F, M'Boup S, Allan JS, Romet-Lemonne JL, Marlink R, McLane MF, Lee TH, Arbeille B, Denis F, Essex M : New human T-lymphotropic retrovirus related to simian T-lymphotropic virus type III (STLV-III_{AGM}). *Science* 232 : 238-243, 1986.
- 2) Clavel F, Guétard D, Brun-Vézinet F, Chamaret S, Rey MA, Santos-Ferreira MO, Laurent AG, Dauguet C, Katlama C, Rouzioux C, Klatzmann D, Champalimaud JL, Montagnier L : Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science* 233 : 343-346, 1986.
- 3) de Silva TI, Cotten M, Rowland-Jones SL : HIV-2 : the forgotten AIDS virus. *Trends Microbiol* 16 : 588-595, 2008.
- 4) 健疾発第 1024001 号 : 医療機関及び保健所に対する HIV-2 感染症例の周知について。2002.
- 5) Kusagawa S, Imamura Y, Yasuoka A, Hoshino H, Oka S, Takebe Y : Identification of HIV type 2 subtype B transmission in East Asia. *AIDS Res Hum Retroviruses* 19 : 1045-1049, 2003.
- 6) 健疾発第 0811001 号 : 医療機関及び保健所に対する

- HIV-2 感染症例の周知について. 2006.
- 7) Utsumi T, Nagakawa H, Uenishi R, Kusakawa S, Takebe Y : An HIV-2-infected Japanese man who was a long-term nonprogressor for 36 years. *AIDS* 21 : 1834-1835, 2007.
 - 8) Ibe S, Yokomaku Y, Shiino T, Tanaka R, Hattori J, Fujisaki S, Iwatani Y, Mamiya N, Utsumi M, Kato S, Hamaguchi M, Sugiura W : HIV-2 CRF01_AB : first circulating recombinant form of HIV-2. *J Acquir Immune Defic Syndr* 54 : 241-247, 2010.
 - 9) Gao F, Yue L, White AT, Pappas PG, Barchue J, Hanson AP, Greene BM, Sharp PM, Shaw GM, Hahn BH : Human infection by genetically diverse SIV_{SM}-related HIV-2 in West Africa. *Nature* 358 : 495-499, 1992.
 - 10) Robertson DL, Anderson JP, Bradac JA, Carr JK, Foley B, Funkhouser RK, Gao F, Hahn BH, Kuiken C, Learn GH, Leitner T, McCutchan F, Osmanov S, Peeters M, Pieniazek D, Kalish ML, Salminen M, Sharp PM, Wolinsky S, Korber B : HIV-1 nomenclature proposal. (Kuiken CL, Foley B, Hahn B, Korber B, McCutchan F, Marx PA, Mellors JW, Mullins JI, Sodroski J, Wolinsky S eds), *Human Retroviruses and AIDS 1999*. Los Alamos National Laboratory, pp 492-505, 1999.
 - 11) Robertson DL, Anderson JP, Bradac JA, Carr JK, Foley B, Funkhouser RK, Gao F, Hahn BH, Kalish ML, Kuiken C, Learn GH, Leitner T, McCutchan F, Osmanov S, Peeters M, Pieniazek D, Salminen M, Sharp PM, Wolinsky S, Korber B : HIV-1 nomenclature proposal. *Science* 288 : 55-56, 2000.
 - 12) Lemey P, Pybus OG, Wang B, Saksena NK, Salemi M, Vandamme AM : Tracing the origin and history of the HIV-2 epidemic. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100 : 6588-6592, 2003.
 - 13) Wertheim JO, Worobey M : Dating the age of the SIV lineages that gave rise to HIV-1 and HIV-2. *PLoS Comput Biol* 5 : e1000377, 2009.
 - 14) Poulsen AG, Aaby P, Larsen O, Jensen H, Nauc ler A, Lisse IM, Christiansen CB, Dias F, Melbye M : 9-year HIV-2-associated mortality in an urban community in Bissau, west Africa. *Lancet* 349 : 911-914, 1997.
 - 15) Berry N, Jaffar S, Schim van der Loeff M, Ariyoshi K, Harding E, N'Gom PT, Dias F, Wilkins A, Ricard D, Aaby P, Tedder R, Whittle H : Low level viremia and high CD4% predict normal survival in a cohort of HIV type-2-infected villagers. *AIDS Res Hum Retroviruses* 18 : 1167-1173, 2002.
 - 16) Pieniazek D, Ellenberger D, Janini LM, Ramos AC, Nkengasong J, Sassan-Morokro M, Hu DJ, Coulibally IM, Ekpin E, Banda C, Tanuri A, Greenberg AE, Wiktor SZ, Rayfield MA : Predominance of human immunodeficiency virus type 2 subtype B in Abidjan, Ivory Coast. *AIDS Res Hum Retroviruses* 15 : 603-608, 1999.
 - 17) Zeh C, Pieniazek D, Agwale SM, Robbins KE, Odama L, Sani-Gwarzo N, Gboun MS, Inyang US, Folks TM, Wambebe C, Kalish ML: Nigerian HIV type 2 subtype A and B from heterotypic HIV type 1 and HIV type 2 or monotypic HIV type 2 infections. *AIDS Res Hum Retroviruses* 21 : 17-27, 2005.
 - 18) 日本赤十字社 : プレスリリース「より感度の高い新しい核酸増幅検査へ切り替え」。2008.
 - 19) 健疾発第 0203001 号 : 医療機関及び保健所に対する HIV-2 感染症例の周知について. 2009.
 - 20) Ibe S, Yokomaku Y, Tanaka R, Hattori J, Fujisaki S, Iwatani Y, Kato S, Hamaguchi M, Sugiura W : Development of a highly sensitive and reproducible plasma HIV-2 RNA copy quantification method for monitoring antiretroviral treatment. XVIII International AIDS Conference, Austria : #MOPE0088, 2010.
 - 21) 山本直樹, 宮澤幸久 : 診療における HIV-1/2 感染症の診断ガイドライン 2008. *日本エイズ学会誌* 11 : 70-72, 2009.
 - 22) 加藤真吾 : HIV 検査法の現状と課題. *病原微生物検出情報* 31 : 232-233, 2010.
 - 23) van der Loeff MF, Larke N, Kaye S, Berry N, Ariyoshi K, Alabi A, van Tienen C, Lelgiewicz A, Sarge-Njie R, da Silva Z, Jaye A, Ricard D, Vincent T, Jones SR, Aaby P, Jaffar S, Whittle H : Undetectable plasma viral load predicts normal survival in HIV-2-infected people in a West African village. *Retrovirology* 7 : 46, 2010.
 - 24) Ibe S, Sugiura W : Clinical significance of HIV reverse-transcriptase inhibitor-resistance mutations. *Future Microbiol* 6 : 295-315, 2011.
 - 25) Gottlieb GS, Eholi  SP, Nkengasong JN, Jallow S, Rowland-Jones S, Whittle HC, Sow PS : A call for randomized controlled trials of antiretroviral therapy for HIV-2 infection in West Africa. *AIDS* 22 : 2069-2072, 2008.