

C. 研究結果

我々は臨床試験段階から PI を用い、多剤耐性となった 2 症例について、LPV を含む 3rd salvage 療法をおこなった。LPV の血中濃度を調べ、その耐性変異と salvage 療法の有効性を検討した。

症例 1 は 1996 年まで AZT を断続的に服用していた。1997 年 1 月より、AZT+3TC+RTV にて加療したが、HIV-RNA の抑制は不完全だった。この時点で RT に T215Y、PR に L10I、I54V、L63P の変異があり、1998 年 5 月より d4T+3TC+NFV+SQV に治療薬の組合せを変更した(1st salvage)。一旦 HIV-RNA が測定感度以下となったがその後上昇、新たに RT に D67G/E、M184V、K219Q の変異が、PR に A71V、V82A、L90M の変異が出現した。RTV を加えて 5 剤併用とし、HIV-RNA は < 400~2600 copies/ml で経過した。耐性変異の蓄積が明らかなことから、10 月より Amprenavir (APV) と Efavirenz (EFV) を含む 4 剤併用へ変更し、HIV-RNA は < 400 copies/ml となった(2nd salvage)。以後 7 ヶ月間は測定感度以下であったが、肝機能障害が出現し、いったん全ての抗ウイルス剤を中止せざるを得なかった。中断後 HIV-RNA が 510、560、1700 copies/ml と上昇した。肝機能改善し、APV+d4T+ABC にて HAART を再開したが、RNA レベルは 1600~2100copies/ml を推移した。PR の変異は合計 6 種(L10I, I54V, L63P, A71V, V82A, L90A) であり、LPV に対する交叉耐性はワイルドタイプの IC₅₀ の 10 倍程度と考えられる。また EFV に対する耐性もないことから、LPV/r+EFV+ABC+d4T にて 3rd salvage を行った。現在、HIV-RNA は 50copies/ml 未満となっており、3rd salvage 療法は成功したと考えられる。一方、PR の耐性は増加し、8 種類 (L10I, L24X, I54V, L63P, A71V, V82A, L90M, I93X) となった。本症例の LPV の血中濃度は早朝服薬前が 7.62 μg/ml、服薬 2 時間後が 10.03 μg/ml とそれぞれ IC₅₀ (0.018 μg

/ml) の 423、585 倍であった。PR に 8 種の耐性変異があると 30 倍位耐性になると言われているが、この濃度あれば十分有効と考えられた。

症例 2 は AZT と ddI での前治療歴がある。1996 年 8 月より臨床試験の症例としてインディナビル(IDV)を加えたが、効果は一時的であった。その後、d4T+3TC+NFV に変更したが、ウイルスの増殖抑制が不十分だったため SQV を加えた。いったん HIV-RNA は測定感度以下となったが、再び上昇傾向となったため、相談のうえ RTV200mg BID を加えた。以後、HIV-RNA は 490~2500copies/ml にて経過した。耐性変異としては RT に M4IL、M184V、T215Y などが認められたが、経過中前 2 者は消失し T215Y、L210W という AZT 耐性のみが残った。一方、PR の耐性変異は蓄積していき、特に、L10I、I54V、G73S、L90M の各変異は治療経過に伴って陽性率が増加した。これらの耐性変異の蓄積は、RTV を加えて 5 剤併用とした後も続いたが、HIV-RNA の急激な上昇はみられなかった。2000 年 11 月より APV と EFV を含む 4 剤併用へ変更した。いったん HIV-RNA は測定感度以下となり、CD4 陽性細胞数も増加したが、アドヒアランスの維持が困難となり、ウイルス量の増加および CD4 の低下がみられた。EFV への耐性も出現し、耐性変異のプロフィールは RT(T215Y, K103N) PR (M36I, I54V, A71V, G73S, V77I, L90M) となった。この変異でも LPV への感受性は十分残存していると考えられ、LPV/r+ABC+d4T へ変更した。本症例の LPV 血中濃度は早朝服薬前 5.98 μg/ml、服薬 2 時間後 5.72 μg/ml であり、それぞれ IC₅₀ の 332、318 倍となっていてアドヒアランスさえよければ十分有効と考えられ、服薬指導、カウンセリングに力を入れている。

我々はさらに、LPV 使用中の 12 症例について、LPV 血中濃度を調べたところ、早朝服薬前、服薬 2 時間後いずれも IC₅₀ の 100 倍以上であり、良好なコントロールが得られて

いる。一方、一例のみであるが、前夜の服薬が守れていなかった例があった。その症例では前日朝服薬から 24 時間を経過した状態で $0.6\mu\text{g/ml}$ 、服薬 2hr 後で $0.34\mu\text{g/ml}$ であった。それぞれ IC_{50} の 32 倍と 19 倍であり、本症例が PR に耐性がないことからウイルス増殖の抑制は十分であったと考えられる。一方、最も血中濃度の高かった症例は服薬前 $12.06\mu\text{g/ml}$ 、服薬 2hr 後、 $12.45\mu\text{g/ml}$ であった。本症例には副作用なかった。中性脂肪の上昇が認められる症例は数例あったが、LPV の血中濃度との関連は認められなかった。

我々は SQV+RTV の double PI を中心とした HAART が長期間有効と判明している 5 症例について SQV の steady state PK レベルを 5 ポイント測定した。各症例とも安定した PK プロフィールを示した。本データによると服薬後 4 時間が C_{max} であり、服薬後 1 時間が C_{min} であった。いずれも SQV の IC_{50} の 100 倍以上であり、十分な臨床効果が期待できる。また steady state PK では 1 ポイントの採血でも十分な効果判定が可能と考えられた。

この中の一例はインビレース (Invirase: IVR) からフォートベース (Fortvase: FTV) へ SQV の製剤を変更し、RTV を 400mg BID から 200mg BID へ減量したが、ほぼ同一の PK プロフィールが得られている。すなわち、SQV を基本とする double PI の場合、アドヒアランスが保てるなら FTV800mg BID+RTV200mg BID という組み合わせが考えられる。我々はさらに IVR から FTV へ変更した 5 症例の変更前後の SQV 血中濃度を測定したところ、早朝服薬前値は IVR $3341\pm 681\text{ ng/ml}$ 、FTV $3447\pm 679\text{ ng/ml}$ で有意差はなかった。服薬 2hr 後は IVR で $2773\pm 604\text{ ng/ml}$ 、FTV $5334\pm 1101\text{ ng/ml}$ と増加がみられたもののこの検体数では有意差は認められなかった。IVR と FTV のどちらも副作用はほとんど認められなかった。

D. 考察

今回 LPV と SQV という 2 種類の PI の血中濃度を測定し、RTV との併用で steady state level では安定した PK を示すことがわかった。このことからアドヒアランスに疑問がある場合はインフォームドコンセントを得たうえで、その時点での血中濃度を調べることに十分な意義があると考えられた。また LPV/r を salvage 療法に用いる場合 10 倍以上耐性であっても IC_{50} の 100 倍以上の高い血中濃度を維持し得るならば有効と考えられた。

E. 結論

RTV を併用した場合 steady state level では、LPV と SQV は安定した PK を示す。そのため steady state における薬剤濃度のチェックは 1 ポイントで十分可能であることがわかった。SQV を IVR から FTV に変更することにより SQV の血中濃度を保ったまま RTV の量を減量することができ、RTV の副作用を軽減することが可能となった。RTV を併用する double PI 療法では SQV や LPV の血中濃度を IC_{50} の 100 倍以上に維持することが可能で、これによって、3rd salvage も成功する症例がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ikegawa M., Yuan J., Matsumoto K., Herrmann S., Iwamoto A., Nakamura T., Matsushita S., Kimura T., Nakamura T., Honjo T., Tashiro K.: Elevated plasma SDF-1 protein level in the progression of HIV-1 infection/AIDS. *AIDS Res. Hum. Retrov.* 17(7):587-595., 2001
- 2) Kimura T., Yoshimura K., Nishihara K., Maeda Y., Matsumi S., Koito A., and Matsushita S.: Reconstitution of spontaneous neutralizing antibody response against autologous HIV-1 in

- chronically infected patients during highly active antiretroviral therapy. *J. Infect. Dis.*, 185:53-60, 2002.
- 3) Wang FX, Kimura T, Nishihara K, Yoshimura K, Koito A, and Matsushita S: Emergence of autologous neutralization-resistant variants from pre existing quasi species during viral-rebound of human immunodeficiency virus type-1 infected patients under treatment of highly active anti retroviral therapy (HAART). *J. Infect. Dis.*, 2002. (in press)
2. 学会発表
- 1) 松下修三:感染症研究の新戦略. 第 25 回阿蘇シンポジウム. 2001.8.25. 熊本県阿蘇町
- 2) 松下修三:overview「免疫応答による HIV 感染・増殖の制御」. 第 49 回日本ウイルス学会学術集会. 総会. 2001.11.18. 大阪市.
- 3) 小糸 厚, 重兼弘法, 松下修三:HIV-gag 発現とヒト cyclin-T1 を発現させた小動物細胞における gag 発現、アッセンブリーの解析. 第 49 回日本ウイルス学会学術集会. 総会. 2001.11.18-20. 大阪市.
- 4) 松下修三:抗 HIV 薬の選び方. ~ロピナビル/r という選択~. 第 15 回日本エイズ学会ランチョンセミナー. 2001.12.1.東京.
- 5) 王 鳳香, 木村哲也, 吉村和久, 小糸 厚, 松下修三: Emergence of autologous neutralization resistant variants from pre-existing quasispecies during viral-rebound of HIV-1 infected patients undergoing HAART. 第 15 回日本エイズ学会学術集会. 総会. 2001.11.29-12.1. 東京.
- 6) 小糸 厚, 重兼弘法, 松下修三:異種細胞 HIV-1 アッセンブリー阻害の解析. 第 15 回日本エイズ学会学術集会. 総会. 2001.11.29-12.1. 東京.
- 7) 木村哲也: HAART 療法前後の抗 HIV-1 中和抗体. 第 15 回日本エイズ学会学術集会. 総会. 2001.11.29-12.1.東京.
- 8) 吉村和久, 木村哲也, 西原久美子, 松下修三: residual replication の新しい指標~高感度プロウイルス DNA(pDNA) の定量と細胞ターンオーバーの測定. 第 15 回日本エイズ学会学術集会.総会. 2001.11.29-12.1.東京.
- 9) Matsushita S, Kimura T, Nishihara K, Maeda Y, Wang FX, Yoshimura K,Koito A: Autologous isolate neutralizing antibodies in plasma from HIV-1 infected patients on highly active antireroviral therapy. Japan-US Cooperative Medical Science Program 13th Joint Meeting of AIDS Panels. 2001.3.21-23.,Kumamoto.
- 10) Koito A, Shigekane H, Matsushita S: Defects of HIV-1 assembly in murine cells. Japan-US Cooperative Medical Science Program 13th Joint Meeting of AIDS Panels. 2001.3.21-23., Kumamoto.
- 11) Wang FX, Kimura T, Nishihara K, Yoshimura K, Koito A, Matsushita S:Emergence of autologous neutralizatoin resistant variants from Pre-existing quasispecies during viral-rebound of HIV-1 infected patients under treatment of HAART. 2001 International Meeting of the institute of Humanvirology.2001.9.9-13 2001. Baltimore, U.S.A
- 12) Koito A., Shigekane H., Matsushita S: Assembly defects of HIV-1 gag in murine cells. 2nd AIDS Seminar in Kumamoto. 2001.9.20-21 2001

- 13) Wang FX, Kimura T, Nishihara K, Yoshimura K, Koito A, Matsushita S: Emergence of autologous neutralization resistant variants from pre-existing quasispecies during viral rebound of HIV-1 infected patients undergoing HAART. 2nd AIDS Seminar in Kumamoto. 2001.9.20-21, 2001.

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
杉浦 互	HIV の薬剤耐性	BIO Clinica	Vol.16 (13)	47-51.	2001
守谷研二、杉浦 互	抗 HIV 薬剤耐性検査の方法と解釈	Modern Physician			2001
Earl PL, Sugiura W, Montefiori DC, Broder CC, Lee SA, Wild C, Lifson, J Moss B	Immunogenicity and protective efficacy of oligomeric human immunodeficiency virus type 1 gp 140	J Virol	Vol.75	645-653	2001
Matsuo, T Iwasaki, K Yamada and W Sugiura	Contribution of accumulated Gag and protease mutations towards recovery of the fitness and the virus particle formation in the protease inhibitor -resistant HIV-1 with D30N and L90M.	Antiviral Therapy	Vol.6	s-1:55	2001
Y Yokomaku, Z Matsuda, W Sugiura, M Matsuda, K Sakai, and Y Nagai	Phenotypic analysis of HIV-1 protease by virus -like particle ELAIZA.	Antiviral Therapy	Vol.6	s-1:13	2001
Wataru Sugiura	Effect of introduction of highly active antiretroviral treatment and the changes in patterns of drug -resistant HIV-1 in Japan.	J Infect Chemother	Vol.7	127-132	2001

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Wataru Sugiura, Zene Matsuda, Yoshiyuki Yokomaku, Kurt Hertogs, Brendan Larder, Tsuyoshi Oishi, Aiko Okano, Teichirou Shiino, Masashi Tatsumi, Masakazu Matsuda, Hanae Abumi, Noboru Takata, Satoshi Shirahata, Kaneo Yamada, Hiroshi Yoshikura, and Yoshiyuki Nagai	Interference Between D30N and L90M in Selection and Development of Protease Inhibitor Resistant Human Immunodeficiency Virus Type-1.	Antimicrobial Agents & Chemotherapy			2002 (in press)
M. Tanaka, C. Yasuoka, I. Genka, N. Tachikawa, Y. Kikuchi, K. Teruya, A. Yasuoka, Y. Hirabayashi, S. Kimura and S. Oka	Sustained cytomegalovirus-specific CD4+ T cell response associated with prevention of recurrence of cytomegalovirus retinitis without secondary prophylaxis after highly active antiretroviral therapy in patients with AIDS.	AIDS Research and Human Retroviruses.	17	1749-1756	2001
Ikegawa M, Yuan J, Matsumoto K, Herrmann S, Iwamoto A, Nakamura T, Matsushita S, Kimura T, Nakamura T, Honjo T, Tashiro K	Elevated plasma SDF-1 protein level in the progression of HIV-1 infection/AIDS	AIDS Res Hum. Retrov.	17	587-595	2001
Kimura T, Yoshimura K, Nishihara K, Maeda Y, Matsumi S, Koito A, Matsushita S	Reconstitution of spontaneous neutralizing antibody response against autologous HIV-1 in chronically infected patients during highly active antiretroviral therapy.	J. Infect. Dis.	185	53-60	2002
Wang FX, Kimura T, Nishihara K, Yoshimura K, Koito A, Matsushita S	Emergence of autologous neutralization-resistant variants from pre existing quasi species during viral-rebound of human immunodeficiency virus type-1 infected patients under treatment of highly active anti retroviral therapy (HAART) .	J. Infect. Dis.			2002 (in press)