

表1 血清が測定系に及ぼす影響

Serum	%	
	wild-type	D25N
-	100.0 ± 12.7	100.0 ± 19.2
inactivation (-)	16.0 ± 11.6	10.0 ± 5.0
inactivation (+)	4.0 ± 0.2	5.0 ± 0.1

Inactivation: 56°C, 30 min.

表2 溶媒が測定系に及ぼす影響

エタノール				ジメチルスルフォキシド			
EtOH (%)		%		DMSO (%)		%	
used	final	wild-type	D25N	used	final	wild-type	D25N
0	0	100.0 ± 15.3	100.0 ± 37.5	0	0	100.0 ± 28.4	100.0 ± 14.5
6.25	0.5	106.6 ± 5.4	94.5 ± 12.1	1	0.08	74.7 ± 29.9	118.4 ± 48.5
● 12.5	1	91.4 ± 11.9	56.4 ± 4.3	10	0.8	76.9 ± 8.6	57.3 ± 12.3
25	2	56.1 ± 8.5	84.0 ± 10.8	● 50	4	98.1 ± 5.5	84.4 ± 18.1
● 50	4	11.1 ± 6.6	18.1 ± 3.1	65	5.2	57.5 ± 15.9	76.4 ± 19.7
				75	6	30.2 ± 18.3	50.5 ± 5.3
				100	8	25.5 ± 9.2	24.0 ± 5.4

アセトニトリル				Triton X-100			
CH <sub>3</sub> CN (%)		%		Triton X-100 (%)		%	
used	final	wild-type	D25N	used	final	wild-type	D25N
0	0	100.0 ± 0.1	100.0 ± 34.6	0	0	100.0 ± 1.0	100.0 ± 8.0
12.5	1	50.6 ± 16.5	123.5 ± 42.3	0.63	0.05	1.0 ± 1.4	0.7 ± 0.1
25	2	21.3 ± 1.5	49.9 ± 13.6	1.25	0.1	0.3 ± 0.4	1.5 ± 0.6
50	4	5.4 ± 6.3	15.3 ± 0.2				
75	6	0.7 ± 0.1	0.3 ± 0.4				
100	8	0.3 ± 0.4	1.7 ± 0.8				

表3 LPVによるプロテアーゼ活性の阻害  
— エタノールに溶解した場合 —

1%					
EtOH (final 1%)	LPV (final) (μg/ml)	wild-type		D25N	
		luminescence	%	luminescence	%
-	0	4265 ± 516.2	-	3900 ± 891.0	-
+	0	3425 ± 1096.0	100.0 ± 32.0	4940 ± 297.0	100.0 ± 6.0
	0.6	5175 ± 4023.4	151.1 ± 117.5	3070 ± 169.7	62.1 ± 3.4
	3.2	3305 ± 615.2	96.5 ± 18.0	2695 ± 799.0	54.6 ± 16.2
	6.5	2505 ± 176.8	73.1 ± 5.2	2300 ± 282.8	46.6 ± 5.7

4%					
EtOH (final 4%)	LPV (final) (μg/ml)	wild-type		D25N	
		luminescence	%	luminescence	%
-	0	4050 ± 1145.5	-	4575 ± 799.0	-
+	0	450 ± 268.7	100.0 ± 59.7	830 ± 141.4	100.0 ± 17.0
	0.6	610 ± 212.1	135.6 ± 47.1	1125 ± 558.6	135.5 ± 67.3
	3.2	670 ± 212.1	148.9 ± 47.1	780 ± 42.5	95.2 ± 5.1
	6.5	425 ± 162.6	94.4 ± 36.1	635 ± 162.6	76.5 ± 19.6

表4 LPVによるプロテアーゼ活性の阻害  
— DMSOに溶解した場合 —

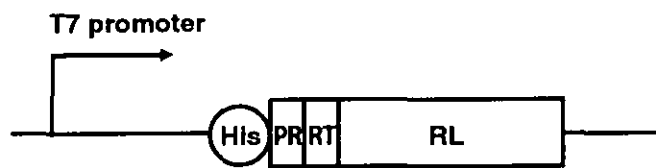
4%

DMSO (final 4%)	LPV (final) ( $\mu\text{g/ml}$ )	wild-type		D25N	
		luminescence	%	luminescence	%
-	0	2270 $\pm$ 99.0	-	3665 $\pm$ 289.9	-
+	0	3170 $\pm$ 84.9	100.0 $\pm$ 2.7	6710 $\pm$ 3125.4	100.0 $\pm$ 46.6
	1.5	3905 $\pm$ 374.8	123.2 $\pm$ 11.8	4005 $\pm$ 1336.4	59.7 $\pm$ 19.9
	7.6	3345 $\pm$ 1336.4	105.5 $\pm$ 42.2	3810 $\pm$ 127.3	56.8 $\pm$ 1.9
	15.2	2555 $\pm$ 417.2	80.6 $\pm$ 13.2	3830 $\pm$ 311.1	57.1 $\pm$ 4.6
	30.4	2700 $\pm$ 84.9	85.2 $\pm$ 2.7	3685 $\pm$ 348.5	54.9 $\pm$ 5.2

表5 NFVによるプロテアーゼ活性の阻害

エタノール  
4%

EtOH (final 4%)	NFV (final) ( $\mu\text{g/ml}$ )	wild-type		D25N	
		luminescence	%	luminescence	%
-	0	5780 $\pm$ 3351.7	-	7795 $\pm$ 4185.4	-
+	0	270 $\pm$ 198.0	100.0 $\pm$ 73.3	865 $\pm$ 544.5	100.0 $\pm$ 62.9
	0.7	345 $\pm$ 63.6	127.8 $\pm$ 23.6	475 $\pm$ 106.1	54.9 $\pm$ 12.3
	3.3	275 $\pm$ 21.2	101.9 $\pm$ 7.9	595 $\pm$ 205.1	68.8 $\pm$ 23.7
	6.6	430 $\pm$ 212.1	159.3 $\pm$ 78.6	315 $\pm$ 148.5	36.4 $\pm$ 17.2



**PR: 11 amino acids of the PR to introduce a cleavage site**  
**RT: 8 amino acids of the RT to introduce a cleavage site**  
**RL: renilla luciferase**

**圖2 基質用construct**

厚生科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）  
分担研究報告書

エイズ治療薬物の有効性を修飾するヒト遺伝子多型に関する研究  
～抗 HIV 薬の薬効に係わるヒト遺伝子群の多型の解析に関する研究～

分担研究者 北村義浩 東京大学医科学研究所先端医療研究センター 感染症分野 助教授

研究要旨

抗ヒト免疫不全ウイルス薬の吸収・細胞内外の輸送に係わる P 糖タンパク質をコードする MDR1 遺伝子の点変異多型 (SNPs) とプロテアーゼ阻害薬の薬効が密接に関連していると予想された。そこで MDR1 遺伝子 (エキソン 12, 21, 26) の 3 カ所の SNPs を 79 人の HIV 感染者を対象としてタイピングを行った。概してこの 3 つの SNPs は連鎖不均衡にあった。患者から樹立した B 細胞株を用いて細胞内から細胞外への Nelfinavir の排出を調べたところ、細胞内から迅速に排出される第 1 相とその後緩やかに排出される第 2 相の 2 相性の排出パターンを示した。第 2 相における Nelfinavir の半減期はエキソン 26 の SNPs が T/T の細胞の方が C/C の細胞よりもおよそ 3 倍短かった。プロテアーゼ阻害薬を含む抗ウイルス療法を受けた 31 人の患者について治療開始後の CD4 陽性細胞数の上昇および血中ウイルス量の減少を調べた。エキソン 12 の SNP は CD4 陽性細胞数の上昇と統計学的に有意な関連を示した。しかし、ウイルス量減少とは関連を示さなかった。エクソン 21, 26 の SNPs は CD4 陽性細胞数上昇ともウイルス量減少とも関連を示さなかった。in vitro の結果から確かに MDR1 エキソン 26 の SNP は P 糖タンパク質の活性と関連がありそうだ。しかし現実の治療効果のモニタリングに MDR1 の SNPs が有用かどうかを判定するには大規模な前向き研究が必要であろう。

A. 研究目的

抗ヒト免疫不全ウイルス (HIV) 薬のうちプロテアーゼ阻害剤の吸収・細胞内外輸送に膜タンパク質である P 糖タンパク質分子が関与している。つまり P 糖タンパク質をコードする MDR1 遺伝子がプロテアーゼ阻害剤の効果・副作用を修飾するとされる。MDR1 遺伝子には遺伝情報の個体差、つまり遺伝子の点変異多型 (単塩基多型、single nucleotide polymorphism: SNP) が存在する。なかでもエクソンには 3 つの SNPs が存在する。なかでもエクソン 26 の SNP は治療開始後の CD4 陽性細胞数上昇スピードと統計学的な有意差を指摘する報告とそうでない報告がある。MDR1 遺伝子の SNPs を解析すれば、HIV 感染者に対する薬効、副作用などを推定したり、投与する薬剤を選択したりする時に役立つはずである。しかし、日本人における報告はなく、MDR1 遺伝子の SNPs の治療における有用性は不明である。本研究は MDR1 遺伝子の多型が抗プロテアーゼ薬の効果にどのような影響を及ぼすかを調べることを目的としている。

B. 研究方法

SNP を安価に、容易に、正確にタイピングする手法として我々が確立した SNaPshot 法を用いた。細胞内の Nelfinavir 量を測定する HPLC を用いる系を開発した。細胞をエタノールで抽出し、移動相 (31mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> and 31mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 5.63) and acetonitrile (1:1, v: v) に溶解し 4.6-mm PEGASIL ODS カラムで解析した (0.3mL/min)。初回治療からプロテアーゼ阻害薬を用いて治療を受け

た患者 31 人について治療後の CD4 陽性細胞数上昇とウイルス RNA 量の減少について SNPs の遺伝型との関連を Mann-Whitney U テストを用いてノンパラメトリックな解析を行った。

C. 研究結果

タイピングした SNPs の結果は hardy-Weinberg 平衡にあった。正確にタイピングできたことを示唆している。概してこの 3 つの SNPs は連鎖不均衡にあった。患者から樹立した B 細胞株を用いて細胞内から細胞外への Nelfinavir の排出を調べたところ、細胞内から迅速に排出される第 1 相とその後緩やかに排出される第 2 相の 2 相性の排出パターンを示した。第 2 相における Nelfinavir の半減期はエキソン 26 の SNPs が T/T の細胞の方が C/C の細胞よりもおよそ 3 倍短かった。プロテアーゼ阻害薬を含む抗ウイルス療法を受けた 31 人の患者について治療開始後の CD4 陽性細胞数の上昇および血中ウイルス量の減少を調べた。エキソン 12 の SNP は CD4 陽性細胞数の上昇と統計学的に有意な関連を示した。しかし、ウイルス量減少とは関連を示さなかった。エクソン 21, 26 の SNPs は CD4 陽性細胞数上昇ともウイルス量減少とも関連を示さなかった。

D. 考察

MDR1 遺伝子のエクソン 26 の SNPs は従来から MDR1 の活性に関連するとされてきた。実際我々も Nelfinavir の排出の第 2 相が関連することを確認した。しかし、この SNPs を含め 3 つのどの SNPs も臨床効果との関連を認めなかった。これは、奨励数

が少ないこと、normalization の無い retrospective な研究であること、に原因があるかもしれない。

#### E. 結論

MDR1 遺伝子の SNPs をタイピングできた。細胞内の Nelfinavir 濃度を簡便に測定できる HPLC を用いる系を開発した。Nelfinavir の細胞外への排出は 2 相性であることが分かった。スピードの遅い第 2 相における Nelfinavir の半減期は MDR1 遺伝子の SNPs と統計的に有意な関連があった。臨床的薬効とは明確な関連が認められなかった。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 発表

##### 1. 論文発表

1) Miura T, Goto M, Hosoya N, Odawara T, Kitamura Y, Nakamura T, Iwamoto A. "Depletion of mitochondrial DNA in HIV-1-infected patients and its amelioration by antiretroviral therapy." *J Med Virol.* 70(4):497-505. (2003)

2) Sakuma R, Kobayashi N, Ae K, Kitamura Y. "Inhibitory and enhancing effects of insertion of central polypurine tract sequence on gene expression with vectors derived from human immunodeficiency virus type 1." *Biochem Biophys Res Commun.* 302(3):489-95. (2003)

3) Yamada T, Kaji N, Odawara T, Chiba J, Iwamoto A, Kitamura Y. "Proline 78 is crucial for human immunodeficiency virus type 1 Nef to down-regulate class I human leukocyte antigen." *J Virol.* 77(2):1589-94. (2003)

4) 北村義浩、仲嶋一範 (編著)、必ず上手いく 遺伝子導入と発現解析プロトコール、羊土社、2003 年 9 月

5) 村松正実 (監修)、北村、井上、田中、禾 (編著)、新ラボマニュアル遺伝子工学、丸善、2003 年 9 月

##### 2. 学会発表

1) 佐久間龍太、北村義浩、HIV-1 cPPT/CTS の隣接配列のベクター産生に及ぼす影響、日本ウイルス学会、2003 年 10 月

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）  
分担研究報告書

抗 HIV 薬の血中濃度と体内動態に関する研究

分担研究者 白阪琢磨・国立病院大阪医療センター・部長

研究協力者 高田寛治<sup>1</sup>、芝田信人<sup>1</sup>、上平朝子<sup>2</sup>、吉野宗宏<sup>3</sup>、永井聡子<sup>3</sup>、平林義弘<sup>4</sup>、照屋勝治<sup>4</sup>、土屋亮人<sup>4</sup>、栞原 健<sup>5</sup>、味澤 篤<sup>5</sup>、今村顕史<sup>6</sup>、平島由香<sup>7</sup>（1 京都薬科大学薬物動態学教室、2 国立大阪病院免疫感染症科、3 国立大阪病薬剤部、4 国立国際医療センターエイズ治療研究開発センター、5 国立療養所宇野病院薬剤科、6 東京都立駒込病院感染症内科、7 東京都立駒込病院薬剤科）

研究要旨

- ①研究班ホームページの運用状況は、平成16年1月現在、通算アクセス数1326、パスワード取得者数91名。今年度、ホームページの内容を一新した。ID/パスワード発行を自動化し、メールマガジン発行を自動化した。新たに抗HIV薬の薬物動態学的特性情報を提供した。平成15年4月～平成15年11月までに当研究班が(BML)に委託し測定した測定件数は125検体で7施設からの利用があった。件数の内訳はSQV : 3、RTV : 50、EFV : 12、APV : 4、LPV : 53、NFV : 3であった。
- ②エファビレンツの (EFV) による精神神経系の副作用と薬物血中濃度との関係について、平成11年10月から平成15年9月まで国立病院大阪医療センターを受診し、EFV血中濃度を測定した110例を対象に検討を行ったところ、副作用が認められた群の血中濃度は認められなかった群に比べ、有意に高い傾向が認められた (P=0.0281)。
- ③都立駒込病院において、インジナビル (IDV) /リトナビル (RTV) 併用療法におけるIDV血中濃度に及ぼす食事の影響について検討したところ、IDV血中濃度に及ぼす食事の影響は、IDV単独療法における際に問題とされる食事の影響よりも少ないものと思われた。
- ④都立駒込病院において、IDV/RTV療法における腎結石とIDV血中濃度の検討を行ったところ、IDV800mg/RTV100mg群では、IDV400mg/RTV100mg群に比べ、C<sub>min</sub>、AUCは2倍以上の高値を示した。腎結石を認めた群の血中濃度は高く、特にIDV800mg/RTV100mg群では高値を示したことから、海外のガイドライン等で推奨されているIDV800mg/RTV100mg/回、1日2回併用療法は、日本人ではIDV血中濃度が持続的に高値になるため、腎結石を引き起こす可能性の高くなることが示唆された。1L程度の水分摂取を推奨することにより、腎結石の頻度は低下し、認容性は高くなるものと考えられた。

A. 研究目的

プロテアーゼ阻害剤 (PI)、非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤 (NNRTI) は HIV 感染症治療薬として広く使われ、めざましい改善をもたらした薬剤である。しかし、プロテアーゼ阻害剤や非核酸系逆転写酵素阻害剤の体内動態は、主に海外から報告されたもので、日本人でのデータが限られていることが問題とされている。本研究ではこれら抗 HIV 薬の薬物動態について調査・検討し、日本人 HIV 感染症患者における抗 HIV 薬の血中濃度の推移について確認し、より適切な血中濃度測定に必要なデータを収集することで、抗 HIV 療法の治療効果を高めることを目的とする。また、抗 HIV 薬の血中濃度測定は

HPLC等の専門の設備やスタッフが必要であることから、一般診療を行う施設での測定が難しい。国内の臨床医が簡便に、かつ無料で血中濃度測定を行えるよう、ホームページを利用した血中濃度測定システムを構築・供給し、抗 HIV 療法の治療効果を高めることを目的とする。

1. 研究班のホームページを利用した血中濃度測定について

研究班のホームページ (図 1) を開設・公開し、国内で HIV 感染症治療を行う医師を対象として血中濃度測定が容易に測定できるシステムを提供した。血中濃度の臨床応用を可能にすると共に、血中

濃度のデータを広く収集することを目的とした。

2. エファビレンツの (EFV) による精神神経系の副作用と薬物血中濃度との関係 (国立病院大阪医療センター)

EFV は非核酸系逆転写酵素阻害剤で抗 HIV 療法の第一選択薬にあげられる薬剤である。本剤の主な副作用は治療開始時に認められる精神神経系副作用で、その頻度は国立病院大阪医療センターの調査では約 55%とされている (吉野宗宏, 近畿エイズ研究会, 大阪, 2003)。本剤の血中濃度と副作用との関連は海外でも報告されており、日本人におけるデータの収集・解析が必要である。国立病院大阪医療センターに通院する患者の血中濃度データを解析し、その関係について検討した。

3. インジナビル (IDV) /リトナビル (RTV) 併用療法における IDV 血中濃度に及ぼす食事の影響 (都立駒込病院)

HIV 感染症治療において、プロテアーゼ阻害薬 (PI)、非ヌクレオチド系逆転写酵素阻害剤 (NNRTI) の登場は 予後のめざましい改善をもたらした。最近では、PI を 2 剤併用するダブルプロテアーゼ療法が行われている。その一つであるインジナビル (IDV)、リトナビル (RTV) の併用療法は、RTV の CYP3A4 阻害効果によるブースト効果で IDV の血中濃度を持続的に保つとともに副作用を軽減し、認容性を改善させることが報告されている。ただし、この併用療法の日本人における臨床成績や薬物動態に関する報告は少なく、投与量は主に海外のガイドライン等を参考に設定されている。今回、我々は日本人患者における IDV/RTV 併用療法時の IDV 血中濃度を測定し、日本人における食事の影響について検討を行い、知見を得たので報告する。

4. IDV/RTV 療法における腎結石と IDV 血中濃度の検討 (都立駒込病院)

現在報告されている IDV/RTV 併用療法には様々な投与量が報告されている。各投与量における IDV 血中濃度を測定し薬物動態を検討する。また、各投与量群における IDV 血中濃度と腎結石の発生との関係についてレトロスペクティブに検討する。

## B. 研究方法

1. 研究班のホームページを利用した血中濃度測定について

研究班の HP は平成 13 年 7 月から運用を開始した。システムは次の通り。血中濃度測定を希望する医師は氏名、所属施設等を HP に入力し ID、パスワードを取得する。測定希望薬剤名、本数等を入力し

送信すると、(株)BML より測定依頼伝票、採血管等が送付される。研究班事務局からは調査用紙等が送付される。医師は患者血液を採取後検体を(株)BML に送る。同時に調査用紙を研究班事務局に郵送。結果は(株)BML より医師・研究班事務局あて郵送される (図 2)。

2. エファビレンツの (EFV) による精神神経系の副作用と薬物血中濃度との関係 (国立病院大阪医療センター)

平成 11 年 10 月から平成 15 年 9 月まで国立病院大阪医療センターを受診し、EFV 血中濃度を測定した 110 例について、原則として服薬 12 時間後に採血し、同時に副作用を観察した。また、患者の年齢、性別との関連についても検討を行った。統計解析はロジスティック回帰分析を行った。

3. インジナビル (IDV) /リトナビル (RTV) 併用療法における IDV 血中濃度に及ぼす食事の影響 (都立駒込病院)

IDV/RTV 併用療法中の外来患者を空腹時服用群と食後服用群に分け、IDV 濃度を測定した。

(対象) Viral Load が検出限界以下の日本人症例 (肝・腎障害なし)。IDV/RTV 療法を開始し 1 ヶ月以上を経過しており、アドヒアランス良好かつ試験参加の同意を得た患者。

(食事) 600~650kcal (蛋白 20%、脂質 20%、糖質 60%) コンビニエンスストアまたは当院売店で購入可能な献立で統一した。

(グループ)

空腹時投与群：来院前 2 時間以前に朝食を摂取するか、朝食を摂取しない。来院後薬剤を服用した。

食後服用群：朝食を摂取せずに来院し、朝食摂取後に薬剤を服用した。

\*両群とも前日 21 時に最終服薬し、指示以外の食事も禁止した。

(採血ポイント) IDV/RTV 服用直前、1・2・4・6 時間後

4. IDV/RTV 療法における腎結石と IDV 血中濃度の検討 (都立駒込病院)

平成 12 年 1 月~平成 14 年 9 月に IDV/RTV 併用療法中の IDV 濃度を測定した患者について、カルテにより測定した前後 1~2 ヶ月の腎結石の発生の有無を調査した。

(対象) Viral Load が検出限界以下の日本人症例。IDV/RTV 療法開始後または IDV/RTV 療法の投与量変更後、1 ヶ月以上を経過した症例。

(方法) 薬剤は前日の夜分を自宅で服用し、当日は来院後病院にて服用した。投与量は次のいずれかと



する。IDV800mg/RTV400mg/回 1日2回、IDV400mg/RTV400mg/回 1日2回、IDV400mg/RTV100mg/回 1日2回。

(採血)IDV/RTV 服用直前、1・2・4・6時間後または1・2・3・5時間後

\*なお、IDV800mg/RTV100mg/回群は全て投与を中止し、IDV400mg/RTV400mg/回に減量した後も腎結石が生じた症例があったため、医師が脱水しない程度の水分補給(1L程度)を励行した。

### C. 研究結果

#### 1. 研究班のホームページを利用した血中濃度測定について

研究班ホームページの運用状況は、平成16年1月現在、通算アクセス数1326(平成15年8月19日ホームページ更新後は272)、パスワード取得者数91名。今年度、ホームページの内容を一新した。ID/パスワード発行を自動化し、メールマガジン発行も自動化した。抗HIV薬の薬物動態情報(食事の影響、生物学的利用率、血清中半減期、細胞内半減期、P-450への影響、肝・腎機能障害時への対応)、PI・NNRTIを組み合わせた場合の推奨投与量一覧、海外データを参考にまとめた抗HIV薬の薬物動態学的特性情報を提供した(図3)。

平成15年4月～平成15年11月までに当研究班が(株)BMLに委託し測定した測定件数は125検体で7施設からの利用があった。件数の内訳はSQV:3、RTV:50、EFV:12、APV:4、LPV:53、NFV:3であった。年度別の測定推移は図4のとおり。平成15年度は全体的に測定件数が減少した。

#### 2. エファビレンツの(EFV)による精神神経系の副作用と薬物血中濃度との関係(国立病院大阪医療センター)

採血時、精神神経系副作用を認めた16例の血中濃度は図5のとおり。平均血中濃度は、 $10,577 \pm 5,813$  nMであった。採血時、精神神経系副作用を認めなかった96例の血中濃度は図6のとおり。平均血中濃度は $8,185 \pm 3,175$  nMであった。両群について検定(ロジスティック回帰分析)を行った結果、副作用が認められた群の血中濃度は認められなかった群に比べ、有意に高い傾向が認められた( $P=0.0281$ )。さらに、副作用とEFV血中濃度との関連について検討したところ、表1の結果が得られた。

また、年齢・性別を解析ファクターとして加え検定(ロジスティック回帰分析)を行った結果、①EFVのみ、 $\text{logit(AE)}=-0.000139(\text{EFV})+3.0060$  : EFV(p値0.0283)、②EFV, 年齢、 $\text{logit(AE)}=-0.000137(\text{EFV})+0.0212(\text{AGE})+2.22275$  : EFV(p値0.0303)、AGE(p値0.4730)、③EFV, 年齢、

$\text{logit(AE)}=-0.000150(\text{EFV})+0.0226(\text{AGE})+12.52(\text{SEX:MALE}=1,\text{FEMALE}=2)-10.3067$  : EFV(p値0.0224)、AGE(p値0.4416)、SEX(p値0.9767)であった。①②③のモデルの、EFV推定値に差は認められなかった。(国立病院大阪医療センター)

#### 3. インジナビル(IDV) / リトナビル(RTV) 併用療法におけるIDV血中濃度に及ぼす食事の影響(都立駒込病院)

空腹時投与群と食事投与群におけるIDVのCmin、AUCに大きな差はなかった(図7)。Tmaxへの影響は、症例数が少なくばらつきが多いため、検討できなかった。症例数は少ないものの、IDV/RTV併用療法におけるIDV血中濃度に及ぼす食事の影響は、IDV単独療法における際に問題とされる食事の影響よりも少ないものと思われた。

#### 4. IDV/RTV療法における腎結石とIDV血中濃度の検討(都立駒込病院)

各投与群におけるデータは表2・図8のとおりであった。IDV血中濃度は他の2群に比べ、IDV800mg/RTV100mg群において高い値で推移した。全ての症例においてCminは有効濃度である150nM以上となり、効果不十分、耐性等のために投与を中止した症例はなかった。海外で報告されているCminより高値の傾向であった。IDV800mg/RTV100mg群では、IDV400mg/RTV100mg群に比べ、Cmin、AUCは2倍以上の高値を示した。IDV400mg/RTV100mg群、IDV400mg/RTV400mg群の2群において、RTV投与量によるブースト効果の差はなかった。IDV血中濃度と腎結石の関係を、各投与群について検討した結果、表3の結果が得られた。腎結石を認めた群の血中濃度は高く(図9)、特にIDV800mg/RTV100mg群では高値を示した(図10)。

### D. 考察

#### 1. 研究班のホームページを利用した血中濃度測定について

今年度、研究班のホームページを利用した血中濃度測定は以前に比べて減少傾向を示した。原因として、新薬が承認されなかったこと、初期治療の中心がEFV、LPV/rに移行し、これら薬剤の使用経験の蓄積が行われたことから、初期治療における血中濃度測定の必要性が多少低下したことが考えられる。しかし、研究班に依頼される検体の多くは、サルベージ療法における血中濃度の確認等、薬剤耐性を持った患者への治療に対する治療での利用が多く、臨床医のニーズは、初期治療での確認からサルベージ療法での応用が中心であった。臨床医が容易に血中

濃度測定にアクセスできたことで、抗 HIV 療法の治療効果を高め、副作用の軽減に寄与したものと思われた。また、症例数が少ない日本人の血中濃度データを幅広く収集することが可能となり、より適正な薬物療法に貢献できたものと考えられた。

## 2. エファビレンツの (EFV) による精神神経系の副作用と薬物血中濃度との関係 (国立病院大阪医療センター)

国立病院大阪医療センターで測定した結果を国内第 I 相試験と比較したところ、国内データにおける服用後 12 時間後の平均血中濃度は 3,767nM であったのに対し、国立病院大阪医療センターのデータは、平均 8,113±3,329(nM)であり、国内第 I 相試験に比べ高い傾向が認められたことから国内第 I 相試験結果には問題があるものと思われた。薬物血中濃度測定時点で精神神経系副作用が認められた群と認められなかった群において有意差が認められたことから、海外での報告と同様、血中濃度と副作用との関連が示唆された。血中濃度が高くなるに従って副作用発現の可能性も高くなることが予想された。年齢・性別を加えて EFV 血中濃度と副作用の関係について検討した結果、EFV 推定値に差は認められなかったことから、年齢・性別を考慮することにより、副作用と EFV 血中濃度との関係が変化する可能性は少ないものと考えられた。

## 3. インジナビル (IDV) /リトナビル (RTV) 併用療法における IDV 血中濃度に及ぼす食事の影響 (都立駒込病院)

海外で報告されているデータと同じく、日本人における IDV/RTV 併用療法における食事の影響は少ないものと思われた。

## 4. IDV/RTV 療法における腎結石と IDV 血中濃度の検討 (都立駒込病院)

海外のガイドライン等で推奨されている IDV800mg/RTV100mg/回,1日2回併用療法は、日本人では IDV 血中濃度が持続的に高値になるため腎結石を引き起こす可能性が高い。

IDV400mg/RTV100mg/回 および IDV400mg/RTV400mg/回,1日2回併用療法においても、IDV 濃度はやや高値となるが、1L 程度の水分摂取により腎結石の頻度は低下し、認容性は高くなるものと考えられた。

## E. 結論

血中濃度については、これまで行ってきた我々の研究からも、外国人でのデータとの違いが明らかになってきていることから、今後さらに臨床データを

収集し、日本人における薬物動態を検討し、臨床へのフィードバックを行うことが重要である。今後は、抗 HIV 薬の血中濃度関連情報の集約を行い、薬剤耐性と血中濃度測定の実臨床への応用が必要である。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

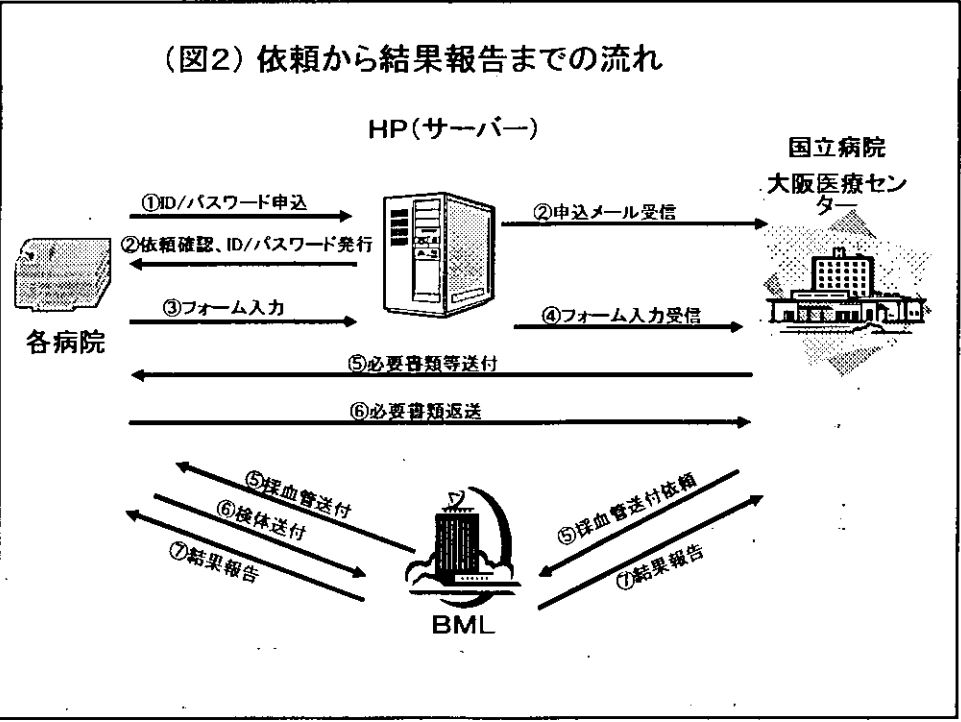
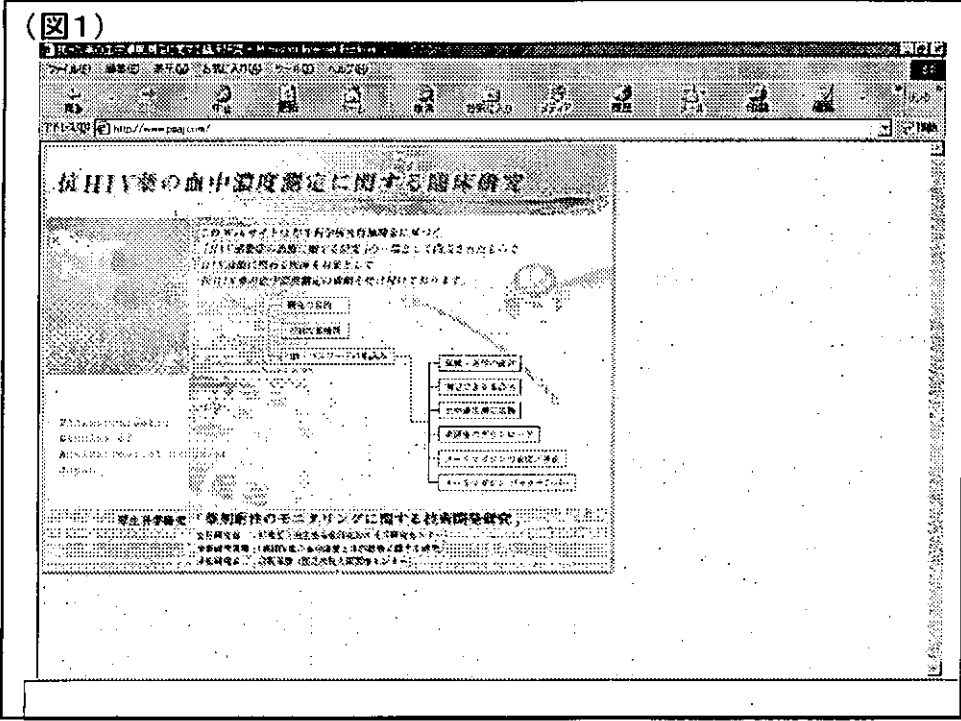
学会発表

○平島由香, 他. 神戸: 第 13 回日本医療薬学会; 9 月. 2003. 抄録番号 p-237

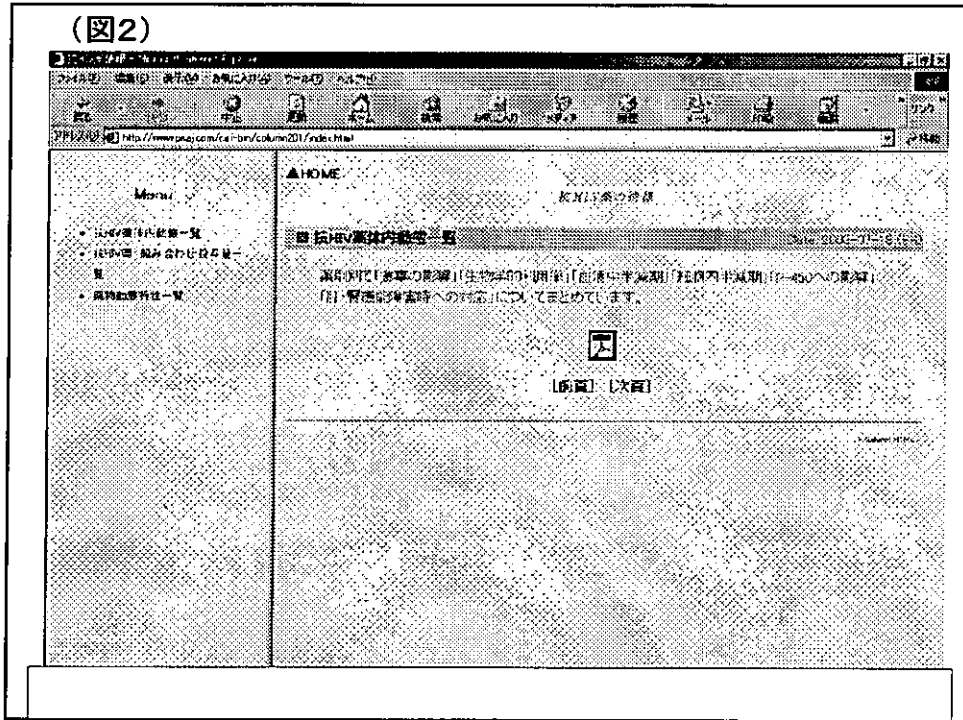
○平島由香, 他. 神戸: 第 17 回日本エイズ学会総会; 11 月. 2003. 抄録番号 239

## H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

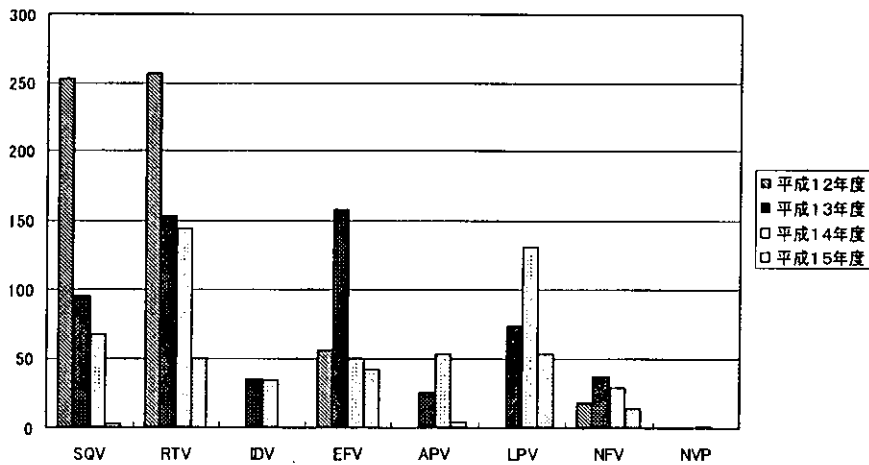


(図2)



(図4) 血中濃度測定件数の推移

(件数)



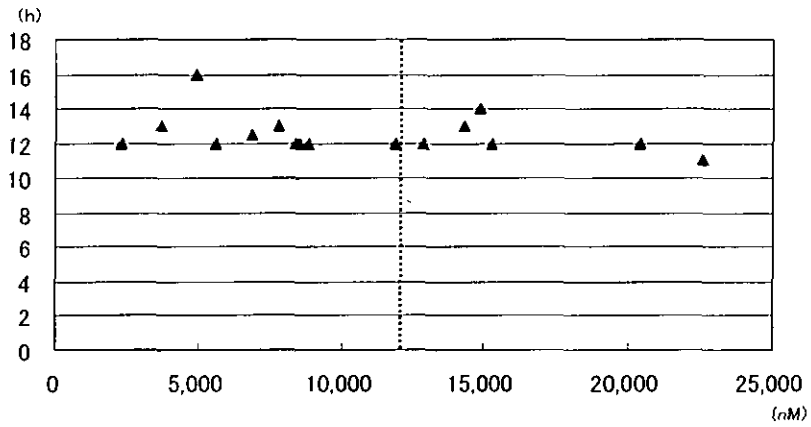
註)平成15年度は平成15年11月までの件数  
研究班システムを利用しない国立大阪データ(一部)を含む

(図5)

測定時のめまい・ふらつき(+)血中濃度

Mean ± S.E. = 10,577 ± 5,813(nM)

n = 16

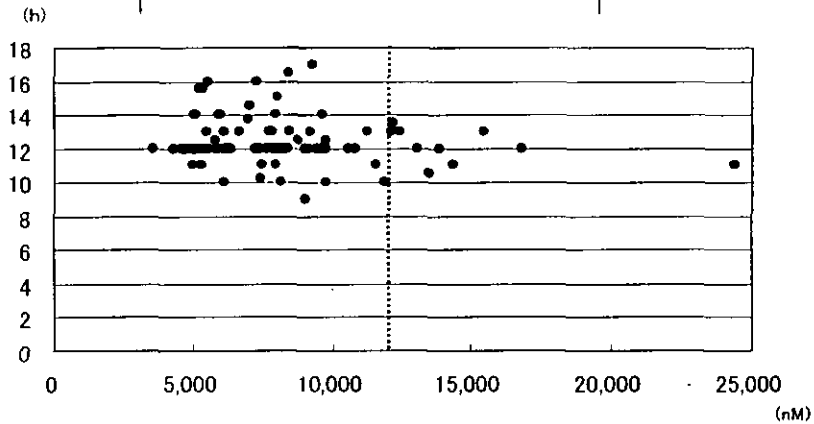


(図6)

測定時のめまい・ふらつき(-)血中濃度

Mean ± S.E. = 8,185 ± 3,175(nM)

n = 94



(表1)

## EFV血中濃度と副作用との関係

EFV	P(副作用の確率)	EFV	P(副作用の確率)
5000	0.093	14000	0.265
6000	0.106	15000	0.293
7000	0.120	16000	0.322
8000	0.135	17000	0.353
9000	0.152	18000	0.386
10000	0.171	19000	0.419
11000	0.192	20000	0.453
12000	0.214	21000	0.488
13000	0.239	22000	0.523

図7 IDV/RTV併用療法における食事の影響

IDV 400mg RTV 400mg	n	IDV濃度 (ng/ml)					AVG	SD	
		0	1	2	4	6	(ng/ml)	(ng/ml)	
空腹時服用群	10	平均	1389	2559	3329	4425	3276	35600	3.17
		SD	214.9	1924	1937	1217	1482	3866.7	1.76
食後服用群	10	平均	1551	1902	2748	4244	4339	37446	5.17
		SD	614.8	686.5	890	2119	683	5766.6	0.29

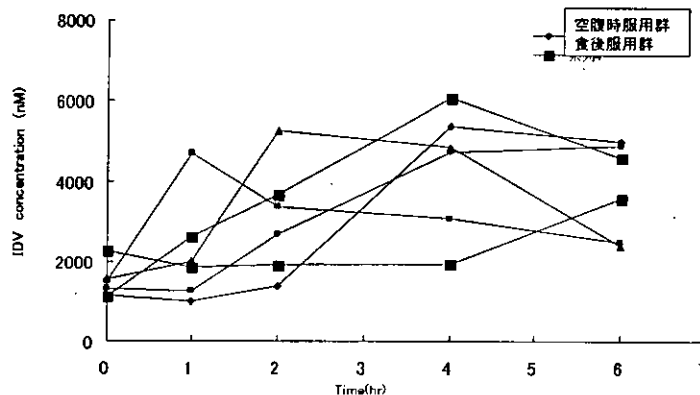


表2 IDV/RTV療法:投与量(1回量)別IDV濃度

IDV	RTV	N	IDV濃度 (nM)								AUC (nM·hr)	T <sub>max</sub> (hr)
			採血 時間 (hr)	0	1	2	3	4	5	6		
400mg g	400mg g	N=13	平均	1824	3881	4445	5521	4673	4271	4251	43291	3.4
			SD	852	2078	2310	1725	1750	1290	1374	12128	1.6
400mg g	100mg g	N=11	平均	1566	4255	4223	3854	5036	5761	3677	43047	3.8
			SD	1482	3089	2063	2056	2139	1836	1956	19633	1.5
800mg g	100mg g	N=5	平均	4514	7645	10834	9305	12131	10503	10424	101867	3.0
			SD	3893	3032	5246	561	5000	4653	5553	46798	1.5

AUCは台形法により算出

図8 IDV/RTV療法:投与量別IDV濃度

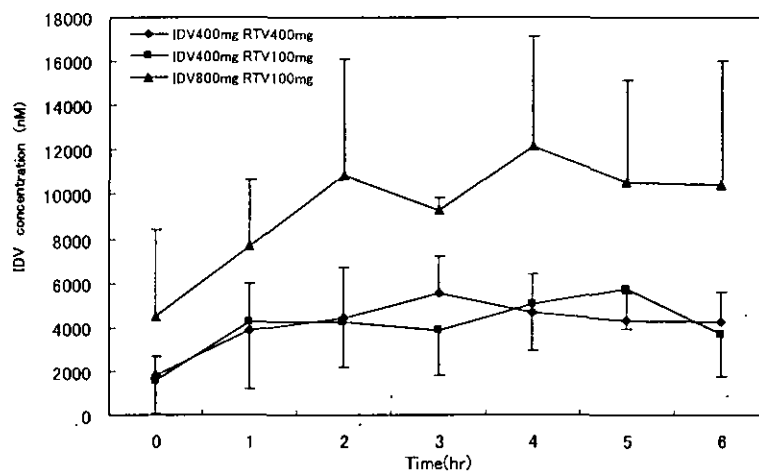


表3 IDV濃度と腎結石の検討

	IDV (mg)	RTV (mg)	N	濃度 (nM/ml)							
				時間(hr)	0	1	2	3	4	5	6
腎結石なし			(N=20)	平均	1610	3539	3650	4376	4384	4606	3954
				SD	1224	2663	1968	2411	1720	1870	1252
	400	100	(N=9)	平均	1525	4009	4223	3854	5036	5761	3677
				SD	1555	3140	2063	2056	2139	1836	1956
	400	400	(N=9)	平均	1713	3273	3547	5647	4266	4386	4096
				SD	903	2178	1980	2427	1416	1687	1065
	800	100	(N=1)	平均	679	5467	5943		5207	4040	4081
				SD							
800	200	(N=1)	平均	1527	1247	1614	1606	2182	2236		
			SD								
腎結石あり			(N=9)	平均	3573	6720	9148	7319	9726	8672	8110
				SD	2959	2538	4777	2316	5248	4921	5201
	400	100	(N=1)	平均	1981	6722					
				SD							
	400	400	(N=4)	平均	2072	5250	6240	5333	5589	4078	4639
				SD	781	1010	1992	75	2298	198	2524
	800	100	(N=4)	平均	5472	8189	12056	9305	13863	12118	10424
				SD	3753	3207	5170	561	3655	3385	5553

図9 IDV濃度と腎結石の検討

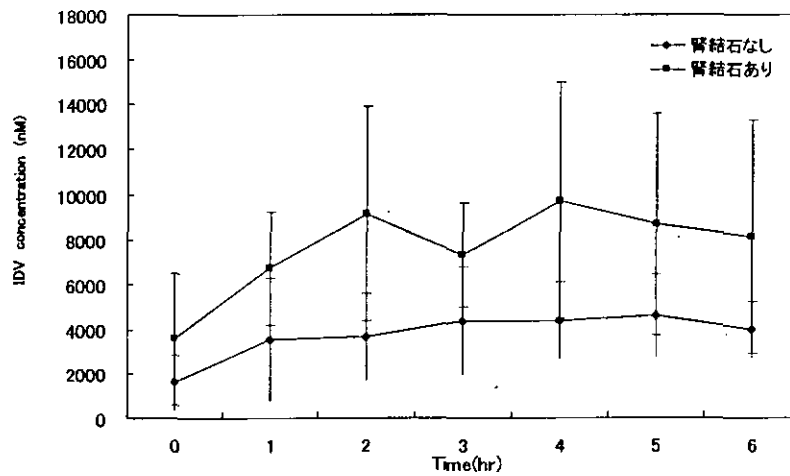
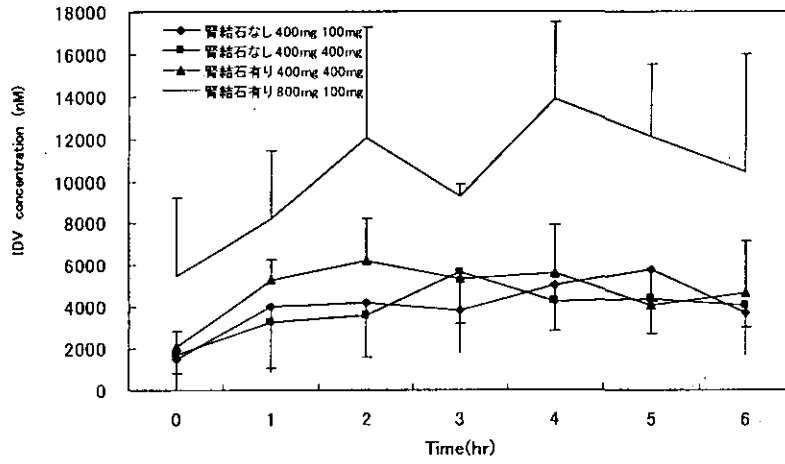




図10 IDV濃度と腎結石の検討:投与量別



厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）

分担研究報告書

抗 HIV 薬生体内濃度測定法の開発ならびに薬剤濃度と

臨床的有効性および有害事象との相関性の解析

～簡便なエファビレンツのリンパ球内濃度測定法の開発～

分担研究者 平林義弘 国立国際医療センター エイズ治療研究開発センター 治療開発室長

研究要旨：

臨床で頻用される非核酸系逆転写酵素阻害剤エファビレンツについて、そのリンパ球内の濃度を簡便に測定する方法を開発した。本法は、定量性、感度、再現性に優れており、手技も容易で、比較的短時間で測定可能であった。今後、本法の臨床応用が期待される。

A. 研究目的

近年、抗 HIV 薬服薬患者の薬剤血中濃度に関する研究が広く行なわれているが、その多くは血漿中のプロテアーゼ阻害剤の濃度に関するものである。一方、非核酸系逆転写酵素阻害剤(NNRTI)は、感染リンパ球内で酵素を直接阻害してウイルスの増殖を抑制すること、また細胞内外の薬剤輸送には各種のトランスポーターを介した動的平衡が成立していると考えられることなどから、NNRTI では、血漿中よりもリンパ球内の薬剤濃度の方が臨床的に重要であると考えられる。しかし、リンパ球内濃度の簡便な測定法が確立しておらず、このような研究はわずかしかみられない。

そこで本研究では、臨床で頻用されている NNRTI のエファビレンツ(EFV)について、簡便なリンパ球内濃度の測定法を開発することを目的としている。

B. 研究方法

薬剤と細胞：EFV は万有製薬(株)より分与された原末を使用した。細胞はヒト CD4 陽性 T 細胞株の MOLT4、およびインフォームドコンセントが得られた健康人ボランティアの末梢血単核球(PBMC)を使用した。

細胞の前処理：細胞を種々の濃度の EFV とともに RPMI1640 培地で一晚培養し、PBS で十分に洗浄後、EFV を 80%メタノールで抽出した。窒素ガスで乾固後、移動相に溶解し、濾過して使用した。

高速液体クロマトグラフィー：Waters 社の C18 カラムを使用し、移動相には磷酸カリウム水溶液とアセトニトリルの混合液を isocratic で用いた。検出は 246nm で行なった。

C. 研究結果

EFV は約 10.7 分の保持時間で溶出され、クロマトグラム上、細胞由来の夾雑ピークとは明瞭に分離された。

検量線は 0 ng/ml から 20  $\mu$ g/ml の範囲で、 $r^2 > 0.99$  であった。詳細な真度および精度は検討中であるが、予備的な結果ではいずれも良好であり、これを考慮した定量下限も十分実用に耐えうるものと予測された。本法の同時再現性は  $CV < 2.0\%$  であった。日差再現性は現在検討中である。服薬患者の PBMC を用いた検討も、進めている。

本法は、細胞の前処理およびクロマトグラフィーとも、特に複雑な手技を必要とせず、短時間で実施することが可能であった。

D. 考察

EFV の有効性や副作用の発現には顕著な個人差が認められるが、それが必ずしも血漿の EFV 濃度とは相関していないことが報告されている。EFV の作用機序と、細胞レベルでの薬剤輸送の機序を考慮した時、その原因の一つとして、EFV の細胞内濃度と血漿濃度の解離が推測される。本法によって EFV のリンパ球内濃度を容易に測定することが可能となれば、投薬量の調節による有効性の改善や副作用の回避、また治療効果の予測など、HIV 治療の改善につながるものと期待される。

本法の validation を早急に完了した上で、本法を用いて、細胞内濃度と血漿中濃度の相関、細胞内濃度と臨床的有効性との相関などの臨床研究に着手する計画である。

E. 結論

EFV のリンパ球内濃度の簡便な測定法を開発した。本法の臨床応用が期待される。

F. 研究発表

1) 土屋亮人、平林義弘、井田節子、菊池嘉、立川夏夫、源河いくみ、照屋勝治、本田美和子、湯永博之、木村哲、岡慎一。日本人 HIV 患者における薬物トランスポーターおよび薬物代謝酵素の遺伝子多型についての検討。第 77 回日本感染症学会総

会、2003年4月、福岡。

2) 山中ひかる、照屋勝治、田中真理、土屋亮人、田沼順子、矢崎博久、鈴木康弘、本田美和子、瀧永博之、源河いくみ、立川夏夫、五反田亨、鈴木雄次郎、菊池嘉、平林義弘、岡慎一、木村哲。HIV患者におけるインフルエンザワクチンの有効性の検討。第17回日本エイズ学会学術集会、2003年11月、神戸。

3) 土屋亮人、平林義弘、立川夏夫、矢崎博久、照屋勝治、源河いくみ、本田美和子、瀧永博之、菊池嘉、木村哲、岡慎一。LPV/r +EFV 併用療法におけるLPV血中濃度の検討。第17回日本エイズ学会学術集会、2003年11月、神戸。

#### G. 知的所有権の取得状況

なし。

#### H. 研究協力者

土屋亮人、岡慎一、木村哲（国立国際医療センター エイズ治療研究開発センター）

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）  
分担研究報告書  
HAART の最適化に関する臨床研究  
分担研究者 松下修三 熊本大学エイズ学研究センター 教授

研究要旨

強力な抗ウイルス剤の多剤併用療法 (highly active antiretroviral therapy; HAART) の導入で長期間にわたりウイルスの増殖抑制が得られるようになった。一方多剤耐性変異株が出現し治療効果が不十分となった症例も増加している。治療効果に影響する因子としては服薬 adherence が最も重要であるが、抗ウイルス剤の組み合わせや薬剤量がそれぞれの症例に最適かどうか問題であり、薬剤血中濃度測定は重要な判断材料である。本年度は昨年度に引き続き、長期にわたり良好なコントロールを得ている症例のなかからリトナビル (RTV) +サキナビル (SQV) の double protease inhibitor を用いている症例の SQV の血中濃度に注目し、最適な薬剤の量と組み合わせについて考察すると同時に、薬剤代謝に関与するといわれる遺伝子解析も行った。プロテアーゼ阻害剤の排出に関与する MDR1 遺伝子について SNPs タイピングを行った結果、これまでのところ最も高値を示した症例と最も低値であった症例の間に明らかなタイピングの違いは認められていない。また、薬剤変更により副作用の改善を見た臨床症例から、薬剤と副作用の関連を検討したところ、出現可能性の高い代謝異常に関しては、変動が予想される検査値の定期測定を徹底することが、副作用を最小限に止める上で必要であることが確認された。

A. 研究目的

抗ウイルス剤の多剤併用療法は、AIDS の発症率や死亡率を低下させたが、治癒をもたらすのは困難であることと、様々な長期毒性があきらかとなったことから、いかにして副作用を抑えつつ長期間服薬継続ができるかという段階となっている。そのためには、抗ウイルス剤の組み合わせと最適な薬剤量の研究が、新規薬剤の開発と同様にきわめて重要である。本研究では、治療に用いられている薬剤の血中濃度と臨床効果や副作用・耐性変異の検索結果により、HAART に用いられる薬剤の組み合わせや量の最適化を図ることを目標にしてきた。そこで、本年度は昨年度に引き続き、長期にわたり良好なコントロールを得ている症例のなかからリトナビル (RTV) +サキナビル (SQV) の double protease inhibitor を用いている症例の SQV の血中濃度に注目し、最適な薬剤の量と組み合わせについて考察すると同時に、薬剤代謝に関与するといわれる遺伝子解析も現在行っている。また、薬剤変更により副作用の改善を見た臨床症例により、薬剤と副作用の関連を検討した。

B. 研究方法

症例 ; RTV(100~400mg BID)+SQV(800~1000mg BID)+RTIs で 2 年以上継続的に良好な治療効果 (HIV-RNA が測定感度以下) が得られている症例を対象とした。耐性変異検査 ; 患者末梢血単核球より DNA を分離し、nested-PCR にて逆転写酵素

(RT)とプロテアーゼ(PR)部位耐性変異の有無を調べる。SQV の血中濃度測定 ; EDTA 加血より血漿を分離し (2 ポイント ; 服薬前及び薬剤服薬後 2 時間) (5 ポイント PK ; 服薬前及び薬剤服薬後 1, 2, 4, 8 時間)、HPLC にて SQV を定量した。また、それぞれの症例の genomeDNA を用い、薬剤耐性遺伝子 (ABCB1 と ABCC4) の SNPs タイピングを行った。D4T 服用中の患者で、高乳酸血症、高血糖を示した症例の薬剤変更によるそれぞれの値の変動を測定し、薬剤との関連を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究を行うに当たり各症例には研究の概要を説明し同意を得た上で採血し、解析した。なお本研究の倫理的・科学的妥当性は熊本大学病院の先進医療審査委員会で審査され、了承されている。また、遺伝子解析に関しても、倫理的・科学的妥当性は熊本大学医学部のヒトゲノム・遺伝子解析に係る倫理審査委員会で審査され、了承されている。

C. 研究結果

RTV(100~400mg, BID)+SQV(800~1000mg, BID)+RTIs で継続的に 2 年以上良好な治療効果を得ている症例が 10 例に増え、これら継続例では中性脂肪の若干の増加 (199.5±61mg/dl) が見られたものの、いずれの症例も副作用は観察されなかった。また PR に耐性変異は見られていない。すなわち、RTV+SQV の組み合わせは上記の量で nRTI や NNRTI と併用した場合、SQV の有効濃度を保つことが可能で、長