

本検査の臨床的意義は少なくなっている。

#### 4) HIV-RNA 定量検査

血漿中の HIV ウイルス遺伝子(RNA)を定量的に測定する方法で、末梢血 CD4陽性細胞数とともに HIV 感染者の治療管理に必須の検査である。PCR による定量的遺伝子増幅法を用いており、測定範囲が  $4 \times 10^2 \sim 7 \times 10^5/\text{ml}$  の通常法と、遠心によって濃縮することによって感度を上げた、測定範囲が  $5 \times 10^1 \sim 7 \times 10^4/\text{ml}$  の高感度法がある。通常法は主に未治療の患者で高いウイルス量が予想される場合に用い、高感度法は治療開始によってウイルス量が低下したときの測定法として使い分けられている。

感染を疑った際、とくに初感染が考えられる場合にウイルス抗原測定に代わりとして用いることができる。ただし、HIV 陰性検体でも低濃度のウイルス量が検出される場合( $\sim 10^2$ 台)があり、これは検査の偽陽性であるので注意が必要である。

#### 5) HIV の経過観察と治療のための検査

HIV 感染症と診断された後に必要となる検査としては、免疫不全の程度を判定し、治療開始の基準となる末梢血 CD4陽性細胞数検査、体内のウイルスの増殖程度を知るための HIV-RNA 検査(前述)が主要な検査である。このほか日和見感染症の発症リスクを知るために表 3 のような検査を行っておくことがすすめられる。

## VIII 治療

抗ウイルス療法の急速な進展により HIV はもはや死に至る病ではなく、慢性感染症となった。適切な組み合わせ療法によりウイルスの増殖を抑え、その結果として免疫不全の発生を抑えることで、日和見感染の発症をみない通常生活を送ることが可能である。

治療薬には①核酸系逆転写酵素阻害薬、②非核酸系逆転写酵素阻害薬、③プロテアーゼ阻害薬の3つの系統があり、これまでに17種類が使用可能となっている。通常①から2種類と②または③から1種類を組み合わせた3剤併用療法が行われる。

表 3 HIV 感染症の診療にあたって行うべき検査

#### 定期的に行うもの

- ・末梢血 CD4陽性細胞数
- ・ HIV-RNA 定量
- ・血液分画・生化学検査
- ・眼底検査
- ・婦人科検診(女性)

#### 受診初期に一度行うもの

- ・ A, B, C 型肝炎抗原抗体
- ・梅毒抗体(STS と TPHA)
- ・トキシプラズマ抗体
- ・サイトメガロウイルス抗体
- ・アメーバ抗体

抗 HIV 療法 (Highly Active Anti-Retroviral Therapy ; HAART) は薬剤の効果を持続させ、ウイルスが増殖するのを抑えている。服薬が不規則となると効果が現れないだけでなく、ウイルスが薬剤に対して耐性をもつようになり、その後きちんと服薬しても効果がなくなってしまう。この耐性は他の薬剤とも共通する(交叉耐性)。また、効果を持続させるためには服薬は生涯にわたって続ける必要があるが、長期服用に伴う体型の変化や高脂血症、高血糖などの副作用がみられることも知られるようになった。

このため、抗 HIV 療法は日和見感染症の発症リスクが高くなる少し前に開始し、いったん開始したら規則正しい服薬を継続する必要がある。このため投薬を開始する前に、患者は服薬に対するモチベーションをしっかりともち、規則正しい服薬ができるようになっておく必要がある。抗 HIV 療法は薬をただ処方するのではなく、患者の生活に合わせた薬剤選択と服用パターンの設計、患者の教育指導が非常に重要である。また投薬開始後も副作用のモニターや適切な服薬が維持できているかどうかのチェックを続けていく必要がある。

## IX 感染対策

病院感染としてみた場合、HIV は血液によって媒介される感染症に分類される。しかしその感染率は HBV の約 1/100、HCV の約 1/10 でしかない。感染は血液・

体液が付着した針などの鋭利物による針刺し・切創受傷または粘膜への曝露であり、これ以外による可能性はほとんどない。皮膚への曝露による感染や環境表面などを介した感染はまず考慮しなくてよい。したがって、HIV の感染防止策は標準予防策の遵守であり、HIV に“対する”特別な”感染対策は必要としない。普段から、血液・体液に触れるおそれがある場合は手袋やマスク、眼の保護具などを適切に着用する習慣が重要である。

## おわりに

---

HIV 感染症を輸入感染症としてみた場合、HIV の急性感染としての来院か、海外長期滞在者や外国人がエイズに伴う日和見感染症として来院することが考えられる。輸入感染症として HIV 感染症も想起することが何より重要であり、HIV 診断のための検査を早い時期に行うことが患者の予後改善のためにも望まれる。

〈報告〉

## 当院における感染性廃棄物減量化への取組み

境 美代子<sup>1,2)</sup>・安岡 彰<sup>1,3)</sup>・北川 洋子<sup>1,2)</sup>・鳴河 宗聡<sup>1,3)</sup>・三村 泰彦<sup>1,4)</sup>

### *An Approach to the Reduction of Medical Wastes in a University Hospital*

Miyoko SAKAI<sup>1,2)</sup>, Akira YASUOKA<sup>1,3)</sup>, Youko KITAGAWA<sup>1,2)</sup>, Munetoshi NARUKAWA<sup>1,3)</sup> and Yasuhiko MIMURA<sup>1,4)</sup>*Toyama Medical and Pharmaceutical University Hospital*<sup>1)</sup>Infection Control Team<sup>2)</sup>Department of Nursing<sup>3)</sup>Department of Clinical Infectious Diseases<sup>4)</sup>Department of Clinical Pharmacy

#### 要 旨

医療機関から排出される廃棄物の中で、特に感染性廃棄物の処理が問題となっている。当院では、ダイオキシン類対策特別措置法の施行に伴い、開院(昭和54年)からの施設内処理の運用をすべて外部委託に変更した。この時点で、院内感染対策チーム(ICT)が廃棄物運用に関する見直しと減量対策に取り組んだ。ICTが廃棄物処理施設などの実地視察後に、廃棄物の範囲、分別容器、集積・運搬方法などを検討した。また廃棄物減量対策に積極的に院内ラウンドを実施し、1年間の感染性廃棄物処理量を前年度と比較し14.4%減量できた。廃棄物処理状況と地域のごみ処理システムに応じた病院ごとの感染性廃棄物処理法を構築することが必要である。

Key words : 感染性廃棄物, 分別方法, 廃棄物処理

#### はじめに

医療機関から排出される廃棄物でとくに感染性廃棄物については、処理に関わる全ての人々に加え環境面からも適切な取扱いが要求されている<sup>1)</sup>。そのため、感染性廃棄物処理は一般廃棄物と比べ高コストとなるが、それを少しでも改善するために、感染性廃棄物の分別は緊急の課題と思われる。

当院ではダイオキシン類対策特別措置法の施行に伴い、平成15年度から感染性廃棄物の施設内処理を全面的に廃止し、外部委託となった。これに伴い当院の感染対策チーム(ICT)が廃棄物の減量対策に取り組む、廃棄物範囲、分別方法などの見直しなどを行い、処理経費削減効果を得たので報告する。

#### 現状分析

平成15年度から感染性廃棄物の外部委託が開始されることで、14年度末からICTが廃棄物処理減量対策に

取り組んだ。

#### 1. 当大学の廃棄物処理の流れ

病院から排出される廃棄物分別の種類は、一般廃棄物として「可燃物」「瓶類」「金属・缶・アルミ類」「塩化ビニール類」の4種類と、感染性廃棄物の鋭利物(専用容器)、非鋭利物(茶色袋)となっている。一般廃棄物の可燃物は富山地区広域圏クリーンセンターに運搬し焼却処理され、可燃物以外の廃棄物は資源有効活用のためにリサイクル事業で処理されている。感染性廃棄物は昭和54年開院以来、施設内の焼却施設で処理してきた。

#### 2. 他施設との処理量の比較

病院規模が同じような県内病院、近県大学病院の4施設と当大学の平成14年度の一泊あたり感染性廃棄物処理量を比較したところ、当大学の処理量が1.5倍多いことが判明した(図1)。さらに1日1ベッド当たり換算すると、当大学は711gと他施設の2倍ちかいたという深刻な状況が浮かび上がった。

#### 3. 感染性廃棄物の処理経費

感染性廃棄物を外部委託することによる処理経費を比較するために、これまでの焼却炉運転にかかる維持費な

富山医科薬科大学附属病院 <sup>1)</sup>ICT, <sup>2)</sup>看護部, <sup>3)</sup>感染症治療部, <sup>4)</sup>薬剤部

表1 施設内焼却炉維持費(概算)

	光熱水費	運転薬品費	修繕費など	業務委託費	合計	年間処理量(kg)	kg 当り単価(円)
平成12年度	8,637,000	111,000	5,757,000	2,655,000	17,160,000	143,400	120
平成13年度	8,512,000	157,000	2,293,000	2,655,000	13,617,000	141,000	97
平成14年度	8,273,000	290,000	1,526,000	2,655,000	12,744,000	140,200	91

3年間平均単価 ¥102

※焼却に伴う人件費や設備の減価償却費は含まれていない

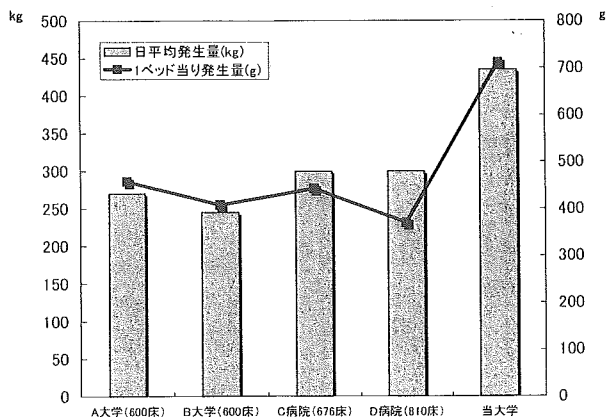


図1 感染性廃棄物処理量の他施設との比較

どのランニングコスト(光熱水費, 運転薬品費, 修繕費, 業務委託費)の合計と年間処理量(kg)から計算し, kg 当りの単価として概算すると(表1), 平成12年度120円, 13年度97円, 14年度91円, 3年間平均で102円となった。平成15年度の当大学が委託したA業者の外部委託処理経費はkg 当たり115円であったため, これで平成14年度の感染性廃棄物を処理委託したとすると年間16,123千円を要することとなり, 3,365千円の支出増が予想された。

## 対 策

感染性廃棄物処理費用を圧縮するため, 以下のような取り組みを開始した。

### 1. 廃棄物処理行程に関する調査

感染性廃棄物の範囲について検討する前に, 大学から排出された廃棄物の処理経路と処理の安全性についての状況を確認するために, 外部委託業者を含む3施設について, 大学事務担当者とICD, ICNが現地視察を行った。一般廃棄物を処理している「富山地区広域圏クリーンセンター」は, 処理能力1日当たり270トンの焼却炉3基を有し, ダイオキシン類の発生を抑制するための集塵装置や排ガス処理設備を装備するなど, 公害防止と周辺環境の保全に十分配慮した日本海側での最大規模の施設であった。当院から搬出された一般廃棄物は, 人の手に触れることなく輸送車から直接処理施設のゴミピットに投入され, 全自動で焼却処理されることを確認し

た。

### 2. 廃棄物範囲(定義)の変更

米国CDCによる標準予防策によれば, 感染性物質の範囲は「血液, 体液が付着したものは微生物汚染が危惧され, すべて感染性物質に含まれる」となっている<sup>2)</sup>。当大学ではこれまでこの基準に準じて, 血液, 体液, 排泄物全てに関係する廃棄物についても感染性のものとして処理してきた。中でも紙オムツ, 体液などが付着, あるいはその可能性のある覆布など, また血液と似た色が付着した医療材料(消毒薬が付着したガーゼなど)なども感染性廃棄物と見なしていた。今回減量対策をとるにあたり, 他病院での分別区分を参考にして廃棄物範囲の見直しを検討したところ, 地域や各施設の考え方によって感染性廃棄物とする範囲が異なっていることが明らかとなった。たとえば紙オムツなどの排泄物はすべて感染性として処理している施設と, 家庭での処理と同様に一般廃棄物として分別している施設とがあった。今回焼却施設の実地調査により, 安全面に注意して分別・運搬を行えば, 紙オムツなどの処理能力があることを確認できたことから, 明らかな感染症のない患者に使用された紙オムツや血液付着のない覆布などを, 感染性廃棄物の範囲から一般廃棄物に変更することにした。また一部の医療器材の分別について院内の部署間で相違がみられたので再検討した。血液付着のない医療材料の分別が曖昧になっている現状をふまえ, 今回は体内に挿入されていたチューブ類などは感染性廃棄物とし, それ以外は一般廃棄物の範囲とした。

### 3. 廃棄物分別の実態調査と視認性改善

病院内各部署から出される感染性廃棄物についての実態調査を平成15年3月から実施した。当院の分別は, 主にナイロン袋の色の違いにより識別されていた。一般可燃物は「黒透明」, 塩化ビニール類は「黄色」, 瓶類は「白色」, 缶, アルミ類は「緑色」, 感染性廃棄物は「茶色」で区別されていた。しかし院内の状況を見ると, 感染性と一般の分別, あるいは塩化ビニール類との分別が曖昧になっていることが明らかとなった。この一因として感染性廃棄物の「茶色」と一般可燃物の「黒透明」が状況によっては識別しにくいこともあったと考えられた。

これを改善させるため, 廃棄物の設置場所を再検討し, また分別内容が容易に理解できるようにするため

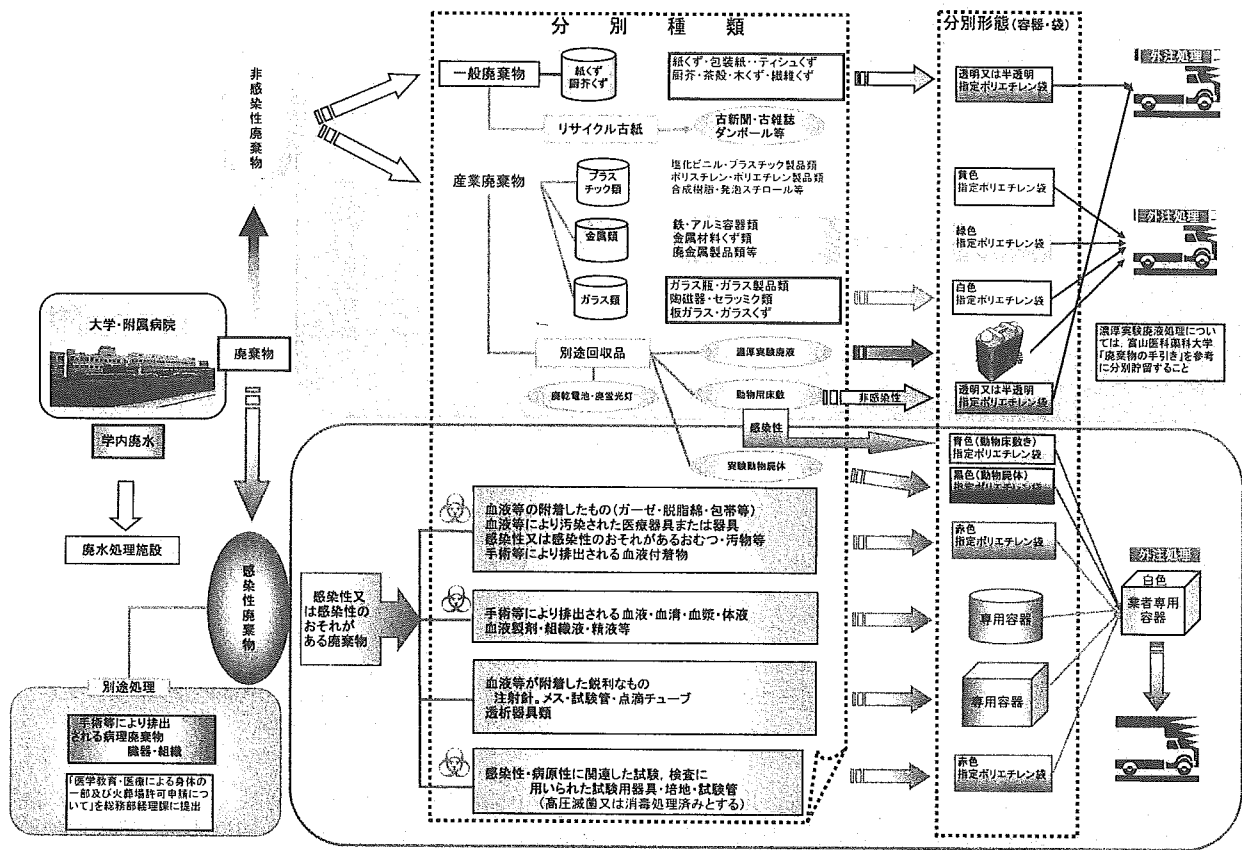


図2 富山医科薬科大学附属病院における廃棄物の分別方法

に、廃棄容器に投入して良いものの種類を具体的に、大きく明示した。さらに感染性廃棄物の袋の色を「茶色」から、一般可燃物の「黒透明」と区別しやすく目立つ「赤色」に変更し、病院感染対策マニュアルの廃棄物の項を修正した(図2)。

4. 廃棄物区分変更に伴う周知

ICTの活動目標を平成15年度は「感染性廃棄物減量作戦」として、ラウンドを強化した。4月よりICDとICNが各部署の分別状況を確認し、指導を含めて週1回ラウンドを実施し、廃棄物分別への関心を高める活動を開始した。6月から分別の変更や袋の変更、廃棄物表示を実際に適応し、その周知を図った。具体的にはラウンド中に適正に分別廃棄が行われているかどうかを確認し、廃棄物容器の大きさや設置場所などについて担当部署の看護師長、リンクナース等と相談しながら適宜修正を行った。

またリンクナースの活動グループで「廃棄物グループ」4名を中心に、月1回チェックリストに基づいて各部署をラウンドし、適切な分別が行われているかを確認した。

この結果、病棟部門では医師と看護師と一緒に業務しているせいか、どの部署においてもほぼ適正に分別されるようになってきたが、中央診療部門など、多部門の共

同利用部署で廃棄物分別が不十分であることが明らかとなった。特に中央放射線部での分別が徹底されなかったため、放射線技師の協力を得て、容器の工夫や廃棄物種類の表示などを行い、確実に分別が実施されるように改善した。

ICTのラウンドや担当グループの評価結果は関連会議やミーティングなどで職員にフィードバックした。この際、ラウンド中にデジタルカメラで撮影した廃棄物の分別状況を提示するなど、印象づけるよう工夫した。

結果

これらの対策を行った結果、対策を開始した6月より感染性廃棄物量は次第に減少していった(図3)。なお月別の感染性廃棄物量はその月の手術件数とおおまかに相関していた。平成15年4月から16年3月までの感染性廃棄物処理量と金額について平成14年度分と比較したところ(表2)、廃棄物処理量は120,015kgであり、平成14年度140,200kgに対して20,185kg(14.4%)減量できた。処理金額では、1,076千円増にとどまり、平成14年度分を外注していたと仮定した額に対して、2,303千円圧縮することができた。

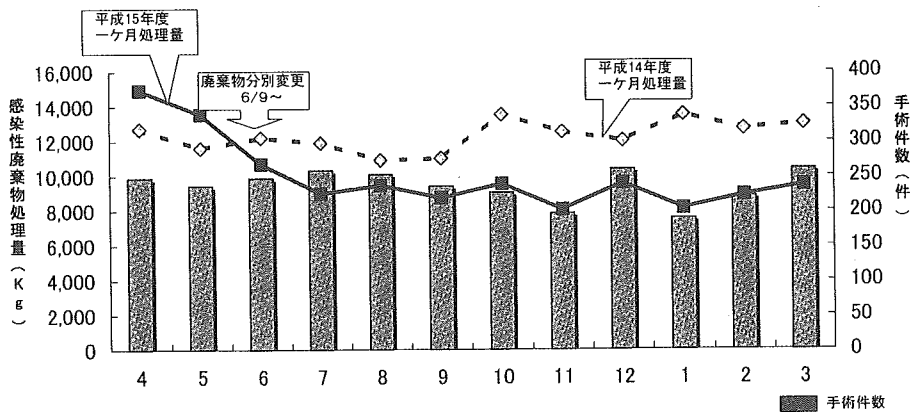


図3 感染性廃棄物処理量と手術件数の推移

表2 感染性廃棄物処理経費

H15年4月～16年3月 1年間

廃棄物処理量	120,015 kg	(H14 140,200 kg)	← 20,185 kg (14.4%)減量
廃棄物処理金額	13,820 千円	(H14 12,744 千円) (外注していた場合 16,123 千円)	← 1,076 千円増額 (2,303 千円圧縮)

考 察

当院は、開院以来感染性廃棄物は学内焼却炉で処理してきたが、ダイオキシン規制の影響により急遽、廃棄物処理をすべて外部委託することになった。外部委託にかかる処理経費を明らかにするために、まず廃棄物処理に関する現状調査を実施した。今回、他施設との処理量の比較から当院の量が2倍近く多いことが判明し、この減量が火急の課題となった。

感染性廃棄物減量対策を実施するにあたり、ICTが中心となり事務担当者、施設課、外注業者、廃棄物運搬作業員など各方面から情報を得て廃棄物処理について現状の分析を行った。その結果、感染性廃棄物が多い理由として、嚴重な感染性の絞り込みを行うより、安全性や美観、扱いやすさを重視して、分別区分の設定や容器とその設置場所の選択がなされてきた傾向が認められた。すなわち、

- 1) 血液、体液、排泄物に関するすべてを感染性廃棄物の範囲としてきた。
- 2) 袋の色によって分別区分の表示を行っていたが、区分が必ずしも理解されていない可能性があった。さらに一般廃棄物が「黒色」、感染性廃棄物が「茶色」と類似色であったために、一般と感染性廃棄物が判別しにくい状況があった。
- 3) 学内処理であったため、職員の廃棄物減量の意識が薄かった。

この3つを改善の要点として、減量するための対策を検討した。

分別区分の見直しは今回の対策で最も重点として取り組んだ。これまでは、米国CDCの標準予防策に規定された感染性物質が付着したもの、血液、体液、排泄物全てに関係するものを感染性として処理してきた<sup>3)</sup>。しかしながら、医療従事者の病原体曝露あるいは医療を介した感染媒介の視点での感染性と、一般の家庭や事業所から排出される廃棄物と比べてのゴミの感染性は異なるはずであり、実際周辺他病院でも嚴重な感染性廃棄物の定義を取り入れていない施設も見られた。そこで廃棄物処理施設の処理能力や処理過程の安全性も確認した上で、明らかな感染性疾患に罹患していない患者由来の、血液が付着していない非鋭利な廃棄物(主にオムツや覆布など)を一般ゴミとして取り扱うこととした<sup>4,5)</sup>。2003年6月に公表された米国CDCの医療施設における環境感染制御に関するガイドラインでは、特別な取り扱いをすべき感染性廃棄物(medical waste)の定義として、1) 微生物検査室で発生した廃棄物、2) 大量の血液、血液製剤、血液、血液が混入した体液、3) 病理や解剖で発生した廃棄物、4) 鋭利物、と規定している<sup>6)</sup>。すなわち、尿などが付着したものについてはmedical wasteとは分類されず、我々の再区分が適切であることが裏付けられた。また、2004年3月に環境省から感染性廃棄物処理マニュアルが公表されたが<sup>7)</sup>、この中で感染症のない患者に使用されたオムツは非感染性廃棄物であると明確に定義され、我々の方針が国内でも追認された形となった。

分別の明示に関しては、感染性廃棄物の袋の色を他と

区別しやすい赤に変更し、容器にも具体的な分別内容を記載するなどの工夫を行った。また前述の、職員の意識改革の過程の中で各部署での具体的な問題点が明らかになり、それぞれに応じて容器の位置や配置、表示方法を工夫した。これらにより、袋の色について知識がない新人や転入職員でも間違わずに分別ができるようになったものと考えられる。

意識の改善に関しては、廃棄物容器設置場所に分別の区分けをわかりやすく表示するとともに、4月からの半年間は「廃棄物減量対策強化月間」としてICTラウンドを頻回に行い、その場で医師、看護師などと対策について話す機会もできた。また、リンクナースの重点活動のひとつと位置づけるなど多方面からの働きかけを行った。これに伴い、徐々に職員の意識は高くなっていくことが実感できた。しかしながら、中央診療部門など、他部門が共用で用いる部署での分別が不十分で、関心の薄い一部のスタッフがいることなど課題が残されており、今後も継続して意識改善に取り組んでいく必要がある。

今回の減量対策により、14.4%の感染性廃棄物削減が可能となり、これに伴い2,303千円の病院経費の削減ができた。この理由として、特にオムツの区分変更の要因が大きいのと考えられるが、適正な廃棄物区分の徹底も効果があったものと考えられる。感染対策はコストがかかるものとの考えが根強いが、今回のようにICTの活動により適切な感染対策を導入することでコスト削減にも寄与したことはICT活動の幅を広げるものであると考えている。

当院の感染性廃棄物量はまた周辺他院と比べ割高である。提供している医療の内容や Disposable 器材の使用量など単純に比較できない要因は多いが、今後も感

染性廃棄物量の減量対策は継続する必要がある、ICTが中心となって今後さらに検討を進めていく予定である。

#### ま と め

感染性廃棄物の定義や処理方法などの解釈は地域などによって異なっているため、各施設内での廃棄物についての定義を明確にする必要がある。そして廃棄物処理過程におけるリスクを考慮した分別・梱包・運搬など法律に準拠した方法での確かな処理・処分を行うと同時に、各施設での廃棄物減量対策を実施することが重要と言える。

謝 辞：今回の稿をまとめるにあたり、資料の提供をいただいた当大学経理課、施設課職員の方々に感謝いたします。

#### 文 献

- 1) 厚生生活衛生局水道環境部産業廃棄物対策室。感染性廃棄物の適正処理について：1999, 2701-76.
- 2) Garner JS, and HICPAC: Guideline for isolation precaution in hospitals. *Am J Infect Control* 1996; 24: 24-52.
- 3) 岡田 淳：リスク・マネジメントの実際。環境汚染に対する予防と対策。臨床検査 2001; 45(13): 1683-89.
- 4) 宮崎元伸：感染性廃棄物の判断基準における見直しの必要性。日本公衆衛生雑誌 2003; 50(12): 1113-16.
- 5) 宮崎元伸：感染性廃棄物を取り巻く諸問題。日本公衆衛生雑誌 2001; 48(2): 73-5.
- 6) Sehulster L, Chinn RYW: Guidelines for environmental infection control in health-care facilities. *MMWR* 2003; 52(RR-10).
- 7) 環境省大臣官房廃棄物・リサイクル対策部長：感染性廃棄物の適正処理について 環産産発第040316001号 2004; <http://www.env.go.jp/press/press.php3?serial=4791>

〔連絡先：〒930-0194 富山市杉谷 2630

富山医科薬科大学附属病院感染症治療部 安岡 彰  
E-mail: ayasuoka@ms.toyama-mpu.ac.jp〕

## 免疫再構築症候群の実際と対応

Immune reconstitution inflammatory syndrome



安岡 彰

Akira YASUOKA

富山医科薬科大学医学部感染予防医学/感染症治療部

◎免疫再構築症候群とは、強力な抗 HIV 療法(HAART)が開始された高度免疫不全患者が、免疫力が回復し日和見感染症のリスクが軽減したと思われる状態で、逆説的(paradoxical)に発症する日和見感染症のことをいう。これは免疫不全状態では十分認識されずに体内に存在していた病原体(抗原)に対して、回復した免疫がいつせいに応答したことによって発生すると考えられており、けっしてまれではない病態である。治療としては適切な抗菌薬の投与と消炎鎮痛剤や副腎皮質ステロイドホルモンを用いて過剰な炎症をコントロールする必要がある。ときに致死転帰や機能障害をきたすことがあるので、症例によっては免疫応答を抑制するために HAART の一時中断が必要となる場合もある。本症の発症を予防するために、ハイリスクグループに対しては、HAART 開始前に疑わしい病原体の量を減少させるような方策を考えていく必要がある。



Key Word : 免疫応答, HAART, paradoxical reaction, 副腎皮質ステロイドホルモン

HIV 感染症では免疫不全の進行に伴いさまざまな日和見感染症がつきつぎと発症する。裏返せば強力な抗 HIV 療法(HAART)などにより免疫不全が回復してくれば、日和見感染症は発症しなくなるはずである。しかし、実際には高度免疫不全状態で HAART を開始された患者で、強い炎症所見を伴った日和見感染症がみられることが経験されるようになった。この一見不思議な病態は当初パラドキシカルリアクション(paradoxical reaction; 逆説的反応)とよばれていたが、やがて免疫能の回復がその本体であると考えられるようになり、現在では免疫再構築症候群(immune reconstitution inflammatory syndrome: IRIS)とよばれることが多い。

本稿では IRIS の機序と病態、治療と予防について概説する。

### 免疫再構築症候群(IRIS)とは

免疫不全が進行した状態(HIV 感染症が判明したときには免疫不全が進行していたような場合)で抗 HIV 薬の投与が開始された後、数週間のうち

に HIV に特徴的な日和見感染症が発症することをいう。また、日和見感染症を発症して発見され、この治療が終了したり治療を継続されつつ抗 HIV 薬を投与開始された後、沈静化した感染症が再発したり治療中の感染症が再悪化することも本症候群とみなされている。

免疫再構築症候群の発症機序は以下のように考えられている。HIV 感染症が進行すると、細胞性免疫応答を調整・促進するヘルパー T 細胞などの CD4<sup>+</sup>細胞が減少し、細胞性免疫応答によって排除されていた病原体の認識・応答能が低下する。その結果、これらの病原体が免疫応答にさらされずに生体内で存在する状態が発生すると考えられる。そこに抗 HIV 薬が投与されると、ウイルスの増殖による CD4<sup>+</sup>細胞の破壊が停止し、病原体に対する免疫応答能が急速に回復する。この結果、周囲に存在する病原体の存在を認識し急激な炎症を惹起すると考えられている。これを図示すると図 1 のようになる。

免疫再構築症候群の定義を明確に示したものはないが、Hirsch ら<sup>1)</sup>は表 1 のような特徴があるこ



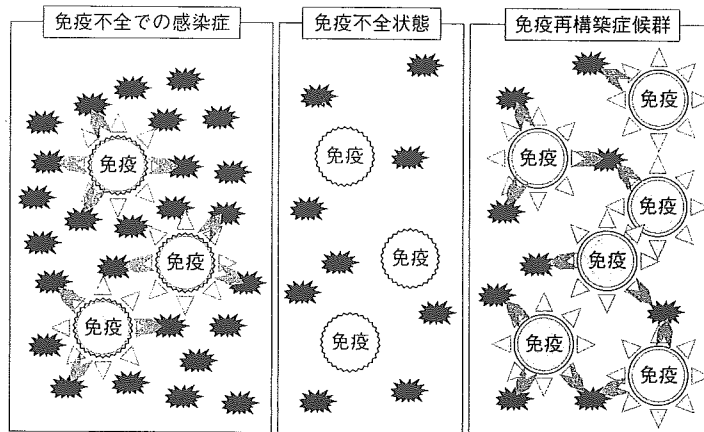


図 1 免疫再構築症候群の発症機序模式図

表 1 免疫再構築症候群の概要(文献<sup>1)</sup>を元に作成)

<ul style="list-style-type: none"> <li>・ HAART 開始後の矛盾した日和見感染症</li> <li>・ 発症は開始後数日から数カ月以内(多くは 8 週以内)</li> <li>・ 治療前の CD4 数は <math>&lt;50/\mu\text{l}</math> のことが多い</li> <li>・ 発症時の CD4 数は低くてもよい</li> <li>・ 発症時のウイルス量は多くの場合 <math>-2 \log_{10}</math> 以上低下</li> </ul>
---

とを示している。

### 免疫再構築症候群なのか？ 通常の日和見感染症なのか？

免疫再構築症候群の発症経緯を考えていくと、では HAART 療法を開始したあとしばらくして発症した日和見感染症は免疫再構築症候群なのか、あるいはまだ免疫不全状態にある患者にあらたに発生した従来型の日和見感染症なのか、その区別ができるかという疑問がわいてくる。インターフェロン $\gamma$ の測定など、免疫の賦活を表すいくつかのマーカーが検討されているが、この疑問に明確にこたえられる手段はまだないといってよい。しかし、French<sup>2)</sup>らは適切な抗 HIV 治療が開始されると免疫応答は速やかに回復し、あらたな日和見病原体の感染や発症は起こりにくくなると述べている。たしかに、治療により HIV-RNA が検出感度以下になってもなかなか CD4 数が回復せず低値にとどまる患者がいるが、日和見感染症が発症することはまれであるという印象がある。このような背景から考えると、適切な抗 HIV 療法が開始されたあとに従来の機序で日和見感染症が発症

する可能性はかなり低く、治療開始後に発生する日和見感染症の多くは免疫再構築症候群であると考えてよいように思われる。

### 発症の背景と頻度

前述の Hirsch らが示した特徴にあるように、免疫再構築症候群は高度の免疫不全を背景に発症する。HAART 開始前の CD4 数は  $100/\mu\text{l}$  未満、多くは  $50/\mu\text{l}$  未満である。一方、免疫再構築症候群を発症した時点では通常は発症のリスクが低いとされる CD4 数でも日和見感染症を発症することがある。たとえば、非結核抗酸菌症は CD4 数  $50/\mu\text{l}$  未満で発症するとされるが、免疫再構築症候群としてみられる場合  $100/\mu\text{l}$  以上での発症例もある。

著者らがエイズ治療・研究開発センターで経験した 22 例の疾患とその発症時期を図 2 に示した。ニューモシスチス肺炎やクリプトコックス症のように HAART 開始からまもなく発症するものと CMV や帯状疱疹のように数カ月後にも発症する疾患がある。

厚生労働科学研究班による全国日和見合併症の集計を行った結果<sup>3)</sup>によると、HAART 治療中に発症した日和見感染症の 3 割は治療開始後 3 カ月以内に発症しており、免疫再構築症候群は全国で少なからず経験されている可能性がある。また同研究班で古西らが報告したエイズ診療 7 病院での集計<sup>4)</sup>によると、病院によっては日和見感染症の 15% は免疫再構築症候群としての発症が疑われて

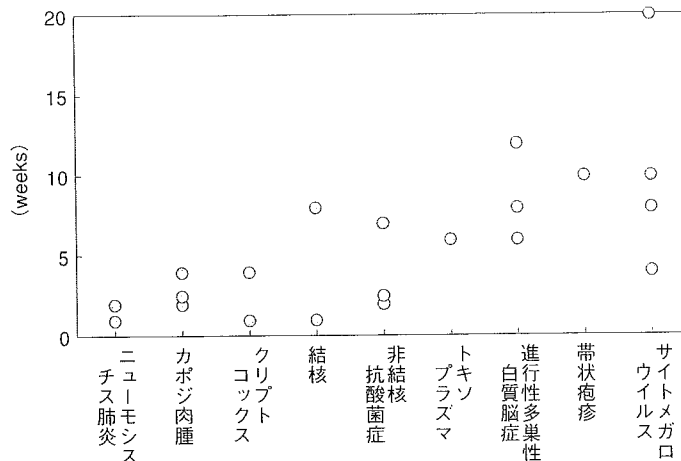


図2 HAART開始から免疫再構築症候群発症までの期間(ACC 22例)

いた。また、免疫再構築症候群を起こした疾患では帯状疱疹 > 非結核抗酸菌症 > サイトメガロウイルス感染症 > ニューモシス肺炎 > 結核の順で多く認められていた。このように免疫再構築症候群はまれな病態ではなく、高度免疫不全でHAARTが開始された例の25~30%では何らかの免疫再構築症候群を経験するとの報告もある。

### 🌿 発症時の対応

本症が発症した場合の対応であるが、免疫再構築症候群といえども感染症の発症であるから、まず病原体に有効な抗菌薬の投与を開始する。また、過剰な炎症反応がみられていることが多いことから、この抑制を考慮する。非ステロイド系消炎鎮痛剤(NSAID)は、炎症所見が強いと思われる場合は抗菌薬の投与と同時に開始してもよい。

副腎皮質ステロイドホルモンは本症のコントロールに有効であるが、汎免疫抑制剤であり、本症が発症した根底には高度の免疫不全状態があるため、他の日和見感染症の発症リスクがあることを忘れてはならない。投与する場合にはプレドニゾロンにして30~40 mgから開始し、2~3週程度と投与期間が長期にならないように減量・中止する。

以上の処置を行っても過剰な炎症が発生してコントロールが困難な場合、HAARTの一時中止を考慮する。以前は抗HIV薬の中止は薬剤の耐性リスクが大きく、よほどのことでなければ中止して

はならないといわれていたが、不規則な服用で継続するよりも中止の方が薬剤に対する耐性化のリスクは低い。ただし、血中半減期の長い非核酸系逆転写酵素阻害薬の場合は耐性化のリスクが高いことが知られており、中止する場合は他の2剤の中止時期を遅らせたり、いったんプロテアーゼ阻害薬に置き換えてから中止するなど工夫が必要である。また、HAART中止は免疫不全状態に逆戻りすることを意味するので、中止後は他の日和見感染症発症にも注意が必要である。

### 🌿 発症の予防

本症の発症を完全に予防することは困難であるが、疾患によっては高度の炎症を惹起し機能障害や致死性の転帰の可能性もあることから、発症しないような工夫が必要である。

日和見感染症で発見された例の場合はいづつHAARTを開始するかが問題となる。これは疾患によって対応が異なるため疾患各論を参照していただきたいが、免疫再構築症候群を避けるためには日和見感染症の治療が十分終了するまでHAARTの開始を延期することが考えられる。多数の薬剤による副作用の増強や薬剤相互作用を避ける意味でも合理的である。ただこの考え方には異論もあり、発症している疾患や免疫不全の程度も考慮して決める必要がある。

高度の免疫不全状態がある場合は、可能性が高い疾患の治療、あるいは発症予防投薬を先行させ

てから HAART を開始するという試みも行われている。ニューモシスチス肺炎や非結核抗酸菌症、サイトメガロウイルス感染症に対する予防投薬を先行させる試みが行われており、まだその有効性は明らかではないが、期待される方法である。

本症の発症背景には高度免疫不全があることから HAART 開始をいたずらに延ばすことは、さまざまな日和見感染症が発症する危険性が増すことになる。免疫再構築症候群を起こさせないことが目的ではなく、生命危機に陥らず、機能障害を残さないように免疫不全からの脱却をはかることが最終目標であることを忘れず、治療のバランスを考えることが重要である。

## 疾患各論

### 1. ニューモシスチス肺炎

ニューモシスチス肺炎は死亡率が 15~20% に達する重篤な肺炎であり、AIDS 指標疾患のなかでもっとも発生頻度が高いものであること、免疫再構築症候群も起こしやすい疾患であることからもっとも注意すべきである。ニューモシスチス肺炎での免疫再構築症候群発症は HAART 開始後比較的早期(3日~4週後)に起こりやすい。また、一般的なニューモシスチス肺炎の起こり方より急激で、胸部 X 線像もスリガラス像というより浸潤影の要素が強い。

エイズ治療・研究開発センターでの検討では、ニューモシスチス肺炎治療終了後 1 カ月を空けてから HAART を開始した場合は、免疫再構築症候群を起こす症例はなかったことが示されている。異論もあるが、著者もニューモシスチス肺炎治療中には HAART を開始しない方がよいと考えている。治療が終了したら肺炎の重症度に応じて HAART 開始まで 1~4 週程度の猶予期間をおくことが免疫再構築症候群の発症を予防するためにはよいと思われる。

### 2. 結核

結核も免疫再構築症候群を起こしやすい疾患のひとつであり、とくに結核治療中に HAART を開始した場合に問題となる。抗 HIV 療法でもっとも重視されているアメリカ保健省のガイドライン(DHHS ガイドライン)<sup>5)</sup>でも結核の治療を開始す

る場合は CD4 数が 50/ $\mu$ l 未満でないかぎり HAART 開始を 4~8 週以上延期するよう勧告しており、これは抗 HIV 薬と結核治療の中心薬剤である rifampicin との相互作用の観点からも重要である。結核の初期強化期間で 4 種の抗結核薬が投与され、また副作用発生の可能性も高い最初の 8 週間は HAART を延期することが望ましいのではないかと考えられる。

結核の場合は治療期間が長期に及ぶことより末梢血 CD4 数に応じた対応を考える必要がある。CD4 数が 200/ $\mu$ l 以上で結核を発症した場合は、“AIDS を発症したら CD4 数にかかわらず HAART を開始する”という HAART 開始基準は適応せず、結核治療が終了するまで HAART は延期する。

CD4 数が 50~200/ $\mu$ l の場合は、結核治療開始から 8 週経過後に HAART 開始を考慮する。ただし結核が重篤でこの時点での改善が不十分な場合はもうすこし経過をみることも考慮される。またこの場合、rifampicin と併用可能な efavirenz を選択するか、または rifampicin を rifabutin に変更して HAART を開始する必要がある。

CD4 数が 50/ $\mu$ l 未満の場合は、ケースバイケースであるが、HAART を同時にはじめることがかならずしも有利とは限らない。他の日和見感染症の発症予防策を講じながら 8 週程度 HAART を遅らせるという選択肢も考慮すべきである。

HAART 施行中に結核を発症した場合は、両方の治療を併用することになるが、この場合も薬剤の相互作用を考慮して治療薬の変更や投与量の調整が必要である。

免疫再構築症候群が発生した場合は、NSAID の投与を開始し、重篤な場合はプレドニゾロンで 1 mg/kg の高用量のステロイド投与が DHHS ガイドラインで推奨されている。この場合 1~2 週間継続した後、減量する。

### 3. 非結核抗酸菌症

非結核抗酸菌症(非定型抗酸菌症; MAC)も免疫再構築症候群を起こしやすい疾患である。HIV の日和見感染症としては播種性菌血症をきたすことが知られているが、免疫再構築症候群では肺病変や壊死性リンパ節炎の病態をとりやすいことがエイズ治療・研究開発センターから報告されてい

る。

免疫再構築症候群として発症した場合、治療に難渋することが多いため、非結核抗酸菌症で発見された高度免疫不全患者の場合、結核よりさらに HAART 開始は遅らせたほうがよいという印象がある。

CD4 数 < 50/μl の高度免疫不全状態で HAART を開始する場合、開始後 6 カ月程度までは発熱やリンパ節の増大、肺陰影の出現などに注意が必要である。このような場合、抗酸菌をねらった菌検査(抗酸菌塗抹、培養、遺伝子検査)や病理検査を忘れずに行うことが重要である。

免疫再構築症候群として非結核抗酸菌症が発症した場合は、結核の場合に準じたステロイドの投与や、HAART の一時中断が必要となる場合が多い。

#### 4. サイトメガロウイルス(CMV)感染症

CMV 感染症のうち、網膜炎は免疫再構築症候群を起こしやすい疾患のひとつである。病態として通常の網膜炎型と脈絡・ブドウ膜炎を起こす型が知られている。HAART 開始後比較的後期になっても起こることがあり、高度免疫不全で HAART を開始した場合は 6 カ月までは定期的な眼底検査が必要である。

また、CMV 網膜炎で HIV 感染が発見された場合、CMV の治療期間は 2~3 週間と比較的短いことから、治療が終了するまで HAART 開始を遅らせる方がよいと思われる。

#### 5. クリプトコックス症

クリプトコックス症でも免疫再構築症候群がみられることがある。クリプトコックス症は HIV 感染症では髄膜炎としてみられることが多いため、免疫再構築症候群を発症すると意識障害や神経障害をきたしやすくなり、後障害を残すリスクがある。とくにクリプトコックス症の発症後に HIV 感染症が発見された場合、HAART を開始すると意識障害や麻痺をきたす形で免疫再構築症候群を起こすことが多い。したがって、まだ十分なデータはないが、クリプトコックス症の場合も十分な治療期間である 6~8 週の治療が終了してから HAART を開始するのがよいと思われる。

#### 6. 帯状疱疹

免疫再構築症候群として帯状疱疹も報告されており、研究班の報告では免疫再構築症候群としてもっとも報告数が多いものであった。通常の帯状疱疹と比べ、強い炎症を伴った発疹を呈したり発熱などの全身症状を伴うことが多いとされる。帯状疱疹は生命予後の悪化をきたしたり難治化することはまれなので、HAART 導入時期を考慮する必要は通常ない。

#### 7. Kaposi肉腫

Kaposi 肉腫も HAART 開始後に悪化することがあり、免疫再構築症候群と考えられている。Kaposi 肉腫の治療には liposomal doxorubicin があるが、HAART を開始することによって特別な治療薬を用いなくてもコントロールできる場合も多い。したがって、Kaposi 肉腫を診断した場合、第一選択の治療法は HAART を開始することであり、少々の悪化は経過をみることによって解消しうる。

#### 8. 進行性多巣性白質脳症(PML)

PML でも HAART 後に悪化したり発症した例を経験している。しかし、PML には有効な治療薬がなく、HAART によって免疫が回復することによる治療を期待する以外に救命の方法がない。したがって、PML の場合も免疫再構築症候群の発症について考慮せず、HAART を開始、継続することが唯一の治療法である。

#### 9. その他

このほか B 型肝炎や C 型肝炎も HAART 治療後に一過性の悪化をみることがあり、免疫再構築症候群とみなされる場合がある。

#### 文献

- 1) Hirsch, H. H. et al. : *AIDS*, **38** : 1159-1166, 2004.
- 2) French, M. A. et al. : *Clin. Infect. Dis.*, **18** : 1615-1627, 2004.
- 3) 安岡 彰・他 : 厚生労働科学研究エイズ対策事業「HAART 時代の日和見合併症に関する研究」平成 16 年度報告書. 10-23, 2005.
- 4) 古西 満・他 : 厚生労働科学研究エイズ対策事業「HAART 時代の日和見合併症に関する研究」平成 16 年度報告書. 84-92, 2005.
- 5) Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents. April, 7 : 2005. : [http://www.aidsinfo.nih.gov/guidelines/adult/AA\\_040705.pdf](http://www.aidsinfo.nih.gov/guidelines/adult/AA_040705.pdf)

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者名	論文タイトル名	発表雑誌	巻号	ページ	出版年
Tsuchiya K, Matsuoka-Aizawa S, Yasuoka A, Kikuchi Y, Tachikawa N, Genka I, Teruya K, Kimura S, and Oka S.	Primary nelfinavir (NFV)-associated resistance mutations during a follow-up period of 108 weeks in protease inhibitor naive patients treated with NFV-containing regimens in an HIV clinic cohort.	J Clin Virol	27	252-262	2003
田中秀子、佐藤 志保子、源河いく み	末期の後天性免疫不全 症(AIDS)患者の褥瘡治 癒課程	褥瘡会誌	5(3)	548-552	2003
源河いくみ	HIV 感染症の現状と母 子感染を防ぐガイドラ イン	助産誌	157(12)	1048-1051	2003
狩野繁之、源河い くみ、岡慎一、他	わが国の HIV/AIDS 患 者に合併する寄生虫症	日本臨床寄 生虫学会誌	15(1)	95-98	2004
塚原優己、矢永由紀 子、稲葉憲之、喜多 恒和、稲葉淳一、山 田里佳、蓮尾泰之、 源河いくみ、外川正 生、大金美和、川戸 美由紀	HIV と妊娠をめぐる諸 問題	日本エイズ 学会誌	7	93-98	2005

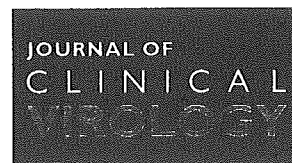
書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
岡慎一、 源河いくみ	免疫不全患者の寄生虫易感染性について	狩野繁之	病院・施設における寄生虫感染症とその対策	フリープレス	東京	2003	54-59
源河いくみ、吉田邦仁子、岡慎一	HIV 陽性症例に合併した赤痢アメーバ症の検討	狩野繁之	エイズに合併する寄生虫症	フリープレス	東京	2005	35-38



ELSEVIER

Journal of Clinical Virology 27 (2003) 252–262



www.elsevier.com/locate/jcv

## Primary nelfinavir (NFV)-associated resistance mutations during a follow-up period of 108 weeks in protease inhibitor naïve patients treated with NFV-containing regimens in an HIV clinic cohort<sup>☆</sup>

Kiyoto Tsuchiya, Saori Matsuoka-Aizawa, Akira Yasuoka, Yoshimi Kikuchi, Natsuo Tachikawa, Ikumi Genka, Katsuji Teruya, Satoshi Kimura, Shinichi Oka \*

AIDS Clinical Center, International Medical Center of Japan, 1-21-1 Toyama, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8655, Japan

Received 15 February 2002; accepted 20 August 2002

### Abstract

**Background:** Nelfinavir (NFV) is a widely prescribed HIV-1 specific protease inhibitor (PI). However, there are only a few reports that have described the long-term effects of NFV-containing regimens, especially with regard to the emergence of drug resistance in inner-city clinics. **Objectives:** The aim of this study was to investigate the clinical and virologic responses to treatment with NFV-containing regimens for up to 108 weeks and determine the timing and rate of emergence of primary NFV-resistance associated mutations in daily clinical practice. **Study design:** A cohort study in an inner-city clinic. Our study included 51 consecutive patients who were PI-naïve and commenced therapy in February 1997 through April 1999. **Results and conclusions:** The proportions of patients who continued the same therapeutic regimen and showed virologic success (viral load < 400 copies/ml) up to 108 weeks were 78 and 63%, respectively, based on intent-to-treat analysis. Among patients with a viral load persistently > 400 copies/ml at week 12 ( $n = 30$ ), 11 developed primary NFV-resistance associated mutations by 108 weeks (stratified log-rank test;  $P < 0.05$ ). The Cox proportional hazard model showed that prior use of reverse transcriptase inhibitors ( $n = 22$ ) (relative hazard (RH); 2.10, 95% CI; 0.67–6.62), prior AIDS diagnosis ( $n = 6$ ) (RH; 1.70, 95% CI; 0.37–7.77), CD4 < 200/ $\mu$ l at baseline ( $n = 19$ ) (RH; 2.48, 95% CI; 0.78–7.81) and viral load > 30,000 copies/ml at baseline ( $n = 21$ ) (RH; 2.10, 95% CI; 0.67–6.62) were not independent predictors of the NFV-resistance, although some tendency was noted. In total, 77% of the patients continued NFV-containing treatment without the NFV-resistance for 108 weeks. The viral load at week 12 could be used as a predictor of treatment success in our cohort study.

© 2002 Elsevier Science B.V. All rights reserved.

**Keywords:** HIV-1; Nelfinavir; Drug resistance; Cohort study; Inner-city clinic

<sup>☆</sup> The accession numbers of the nucleotide sequence were assigned at the DDBJ as follows: AB020911–020925.

\* Corresponding author. Tel./fax: +81-3-5273-5192.

E-mail address: oka@imcj.hosp.go.jp (S. Oka).

## 1. Introduction

Morbidity and mortality related to HIV-1 infection have markedly diminished in those countries in which highly active antiretroviral therapy (HAART) is available (Egger et al., 1997; Hammer et al., 1997; Palella et al., 1998; Murphy et al., 2001). Among the six HIV-1-specific protease inhibitors (PI) approved as of 2001, nelfinavir (NFV) is often prescribed because of its very active antiviral and clinical efficacy (Easterbrook et al., 2001). Therefore, NFV is frequently used as the control drug in many clinical trials of investigational drugs (Podzamczer et al., 2001; Ruane et al., 2001), as well as salvage therapy in those patients in whom initial therapies had failed (Seminari et al., 1999; Roca et al., 2000; Albrecht et al., 2001). However, there are only a few reports that have described the long-term effects of NFV-containing regimens (Gathe et al., 2000), especially with regard to the emergence of drug resistance in inner-city clinics.

In clinical trials, the selection of participants is not only based on specific inclusion criteria of trials, but also on adherence to the designed regimens to achieve maximum clinical effect (Paterson et al., 2000). Therefore, virologic success (viral load < 400 copies/ml) has been described in such trials to occur in 70–90% of patients (Hammer et al., 1997; Markowitz et al., 1998; Ruane et al., 2001). However, in daily clinical practice, patients form a heterogeneous group of individuals with various demographic, behavioral and clinical features. Therefore, the clinical effects of HAART in such situations have been reported to be considerably less successful compared with clinical trials (Fatkenheuer et al., 1997; Lucas et al., 1999; Mocroft et al., 2000).

In the absence of suppression of viral load during treatment with NFV-containing regimens, selection and accumulation of NFV-associated resistance mutations is inevitable (Patick et al., 1998; Tebas et al., 1999). The majority of the initial substitutions emerged in NFV-containing regimens and included aspartic acid (D) to asparagines (N) substitution at residue 30 (D30N) and/or from leucine (L) to methionine (M) at residue 90 (L90M) of the PR gene (primary mutation of

NFV resistance) (Hirsch et al., 2000). In this regard, the L90M mutation causes cross-resistance to saquinavir (SQV) (Hirsch et al., 2000), which reduces the clinical effects of subsequent regimens including SQV (Gatanaga et al., 1999; Tebas et al., 1999).

The aim of the present study was to investigate the timing and rate of emergence of NFV-resistance in clinical practice. For this purpose, we retrospectively investigated the clinical and virologic outcomes in PI-naïve otherwise unselected patients treated with NFV-containing regimens for up to 108 weeks.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Study design and patients

Consecutive patients who were PI-naïve and commenced treatment containing NFV between February 1997 and April 1999 at the AIDS Clinical Center, International Medical Center of Japan were included in this study. Patients visited our clinic once a month where, in addition to clinical examination, CD4 counts and viral load were determined. Before starting any anti-HIV regimens, we extensively provided all patients with detailed information regarding the importance of treatment, the method of taking many pills, possible adverse events and strategies to deal with such effects and finally, the importance of full adherence to treatment and regular visits by doctors and coordinator nurses. In our clinic, almost all patients agreed to participate in retrospective clinical studies and serum stocks from residues of routine examinations of blood chemistry for such future studies were maintained after obtaining a signed informed consent. The institutional ethics committee approved this study in August 2001. Then, a retrospective analysis of the medical records by the end of May 2001 was completed in August 2001. Thus, the follow-up period of this study was 108 weeks. Most patients were treated with 1250 mg NFV twice daily, combined with two reverse transcriptase inhibitors (RTI). Adherence and adverse events were recorded at each visit. Adverse events were graded



according to the rating scale of the ACTG (Division of AIDS, 1996).

## 2.2. Measurement of viral load and CD4 count

Plasma viral load was measured in our hospital by using the Roche Amplicor assay kit (Roche Diagnostic Systems, Branchburg, NJ) version 1.0 by September 1999 and version 1.5 thereafter. Since the detection limit of these two kits is different, any viral load recorded as <400 copies/ml was considered undetectable viral load was transformed to  $\log_{10}$  values. CD4 count was analyzed using standard flow cytometry techniques.

## 2.3. Sequence analysis

Sera were stored at  $-80^{\circ}\text{C}$ . Sequence analysis of the protease gene was performed using the method described previously (Gatanaga et al., 1999). Total RNA was extracted from 80  $\mu\text{l}$  of serum by the SMITEST EX-R&D (Genome Science Laboratories, Fukushima, Japan) and the pellet was resuspended in 25  $\mu\text{l}$  of RNA-free water. The RNA was reverse transcribed at  $50^{\circ}\text{C}$  for 30 min and subjected to the first polymerase chain reaction (PCR) with primers DRPO1 (sense) and DRPO2 (antisense) using one-step RNA PCR Kit (TaKaRa, Kyoto, Japan) followed by the second PCR with primers DRPO3 (sense) and DRPO4 (antisense). Each procedure consisted of 30 cycles of denaturing at  $94^{\circ}\text{C}$  for 30 s, annealing at  $50^{\circ}\text{C}$  for 30 s and extension at  $72^{\circ}\text{C}$  for 30 s. Primer sequences of DRPO1, 2, 3 and 4 were as follows, respectively: DRPO1, 5'-CCAACAGCCCCAC-CAGA-3' (MN *pol* positions, 2152–2168), DRPO2, 5'-ATTTTCAGGCCCATTT TTTGA-3' (MN *pol* positions, 2711–2691), DRPO3, 5'-AGCAGGAGACGATAGACAAGG-3' (MN *pol* positions, 2213–2233) and DRPO4, 5'-CTGGCTTTAATTTTACTGGTA-3' (MN *pol* positions, 2592–2572). PCR products were directly submitted to sequence analysis using an automatic sequencer (model 377, Applied Biosystems, Foster City, CA) and the Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Biosystems) using the conditions recommended by

the supplier. The nucleotide sequence was translated to the amino acid sequence by the GENE-TYX-WIN version 4.0 (Software Development, Tokyo, Japan). Sequence data were compared to the HIV-1 clade B consensus sequence.

## 2.4. Definition of virologic success and time of sequence analysis

Suppression of the viral load to <400 copies/ml at 12 weeks after the commencement of treatment was considered as successful treatment (virological success) and the causative virus was considered free of primary mutations. All sera at baseline were sequenced to confirm that there were no primary NFV resistance-associated mutations (D30N and/or L90M). If viral load was >400 copies/ml at 8 weeks after the commencement of treatment, a genotypic resistance assay was performed at that stage and every 4 months thereafter until the primary mutations were detected.

## 2.5. Statistical analysis

CD4 count and viral load were recorded every month. Analyses were censored every 4 months. If CD4 count and viral load were not available at the censored time, data of 1 month earlier were used. Primary efficacy was assessed based on virologic success. Rate of virologic success was analyzed by the intent-to-treat principle. The time to various outcomes, such as time to virologic success, time to discontinuation of treatment and time to emergence of NFV-resistance mutations, were estimated using the Kaplan–Meier analysis and compared using the stratified log-rank test. The Cox proportional hazard model was used to estimate event rate ratios with 95% CI for potential predictors of emergence of resistance mutations. These included prior AIDS diagnosis, prior RTI therapy, CD4 <200/ $\mu\text{l}$  at baseline and viral load over 30,000 copies/ml at baseline. The Wilcoxon signed-rank test was used to assess changes in CD4 and viral load after treatment. All reported *P* values are two-tailed and *P* < 0.05 was considered significant. Analyses were performed using StatView software package version 5.0 (SAS Institute, Cary, NC).

### 3. Results

#### 3.1. Baseline characteristics

We identified 51 patients who were PI-naïve, commenced treatment with NFV-containing regimens and followed their clinical courses for at least 108 weeks as of May 2001. No other selection criteria were used to enroll patients in this study. Table 1 shows the baseline characteristics of these patients. CD4 count at baseline varied from 1 to 680/ $\mu$ l (median; 237/ $\mu$ l) and viral load also varied from undetectable (<400 copies/ml) to 6.4 log<sub>10</sub> copies/ml (median: 4.3 log<sub>10</sub> copies/ml). Six patients (12%) had histories of AIDS-related illnesses before commencement of NFV therapy. Twenty-two patients (43%) had used RTI in the past. Thus, our population sample was very heterogeneous with regard to CD4 count and viral load at baseline, prior RTI therapy and prior AIDS

Table 1  
Baseline characteristics of participating patients

Parameter	Patients (n = 51)
Mean age in years (range)	36 (20–71)
Males n (%)	45 (88)
<i>Ethnic group n (%)</i>	
Japanese	48 (94)
Asian other than Japanese	2 (4)
Hispanic	1 (2)
<i>Route of transmission n (%)</i>	
Male homosexuals	31 (60)
Heterosexual	10 (20)
Hemophilia	10 (20)
CD4 count, median (range) cells/ $\mu$ l	237 (1–680)
Plasma viral load, median (range) log <sub>10</sub> copies/ml	4.3 (undetectable–6.4)
Previous AIDS defining illnesses n (%)	6 (12)
RTI-experienced n (%)	22 (43)
<i>Drugs combined with nelfinavir n (%)</i>	
Stavudine (d4T)+lamivudine (3TC)	21 (41)
Zidovudine (AZT)+3TC	18 (35)
AZT+zalcitabine (ddC)	7 (14)
D4T+didanosine (ddI)	3 (6)
AZT+ddI	2 (4)

RTI, reverse transcriptase inhibitor.

diagnosis, but all patients were PI-naïve and the majority were Japanese.

#### 3.2. Continuation of original treatment regimens

All patients survived at week 108. Estimated probabilities of continuation of the original regimen at weeks 48 and 108 were 86% (95% CI; 76.8–95.7%) and 78% (95% CI; 67.1–89.7%), respectively (Fig. 1). During the course of follow-up, 11 patients changed their original regimens (Table 2). Among them, five discontinued their regimens due to grade III adverse events (including four who developed generalized drug eruption within 2 weeks of commencement of therapy and one developed liver toxicity at week 76) and six patients changed their regimens because of virologic failure, all of whom harbored viruses with resistance mutations before failure.

#### 3.3. CD4 count and virologic responses

Fig. 2 shows the mean increase in CD4 count from baseline. The mean increase of CD4 count (95% CI) at weeks 24, 48, 72 and 108 were 93/ $\mu$ l (61–124/ $\mu$ l), 129/ $\mu$ l (94–164/ $\mu$ l), 168/ $\mu$ l (120–215/ $\mu$ l) and 166/ $\mu$ l (116–217/ $\mu$ l), respectively. At each time point, the mean increase in CD4 count from baseline was significant ( $P < 0.05$ ). The rate of virologic success (viral load <400 copies/ml) at week 108 was 63% by intent-to-treat analysis (Fig. 3). The median decrease  $\pm$ S.D. of viral load at weeks 24, 48, 72 and 108 from baseline were  $-1.38 \pm 0.84$ ,  $-1.54 \pm 0.91$ ,  $-1.49 \pm 0.91$  and  $-1.51 \pm 0.99$  log<sub>10</sub> copies/ml, respectively. The decrease in viral load from baseline was significant ( $P < 0.05$ ) at each time point.

#### 3.4. Emergence of resistant mutations

Time to emergence of primary NFV-resistance mutations, D30N and/or L90M, is shown in Fig. 4(A). The earliest emergence at D30N was 9 weeks after commencement of therapy and at L90M was 48 weeks. In three cases, L90M was added to D30N harboring mutants. In total, 12 of 51 patients (24%) had D30N and/or L90M substitutions up to 108 weeks. When virologic success was

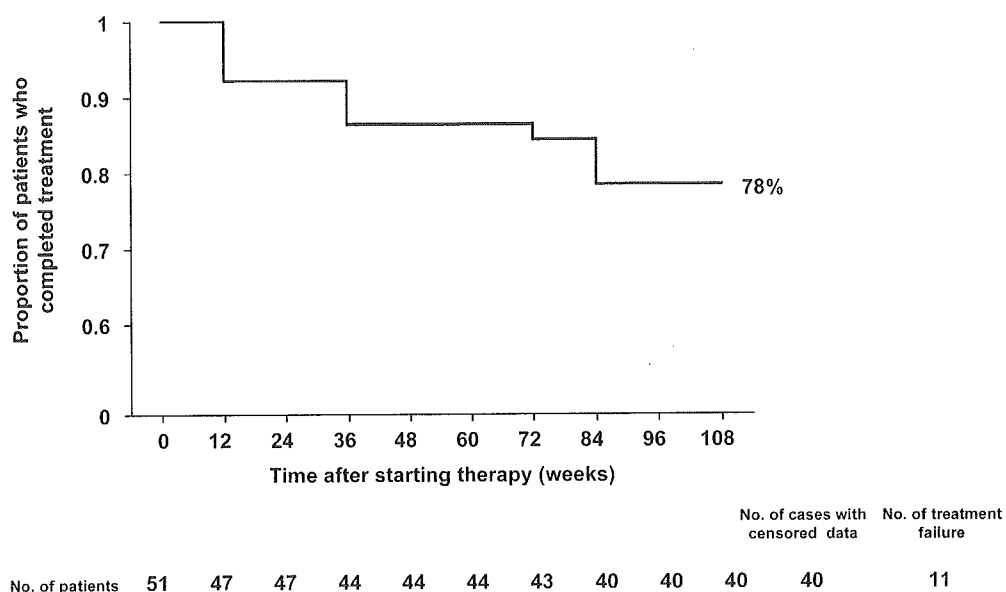


Fig. 1. Kaplan–Meier estimates of the time to discontinuation of nelfinavir-containing regimens.

established at week 12, all patients except one (16 of 17 patients) continued the same regimen up to 108 weeks without any primary resistance mutations. In contrast, the viral load of 30 patients remained  $>400$  copies/ml at week 12 (four patients had already discontinued their original regimens due to drug-related eruption by week 2; Table 2). Among them, 11 had resistance muta-

tions by 108 weeks (the stratified log-rank test;  $P < 0.05$ ) (Fig. 4B) and seven patients changed their regimens due to treatment failure. When patients were stratified into the antiretroviral-naïve ( $n = 29$ ) (ART-naïve) and PI-naïve but RTI-experienced ( $n = 22$ ), the resistance mutations tended to appear earlier in the RTI-experienced group than in the ART-naïve group (Fig. 4C).

Table 2  
Patients who discontinued NFV-containing therapeutic regimen

Pt	Original regimen*	Discontinuation of original regimen		Replacement regimen	Resistant mutations (detected at week)
		At week	Reason		
1	AZT/ddI	2	Drug eruption	AZT/ddI/SQV	None
2	AZT/3TC	2	Drug eruption	No therapy	None
3	AZT/3TC	2	Drug eruption	AZT/3TC/SQV	None
4	d4T/3TC	2	Drug eruption	No therapy	None
5	d4T/ddI	76	Liver toxicity	No therapy	None
6	AZT/ddC	73	Virologic failure	D4T/3TC/RTV/SQV	D30N (16)
7	d4T/ddI	25	Virologic failure	d4T/ddI/RTV/SQV	D30N (12)
8	AZT/3TC	63	Virologic failure	d4T/3TC/RTV/SQV	D30N (47)
9	AZT/3TC	28	Virologic failure	d4T/3TC/RTV/SQV	D30N (16)
10	d4T/3TC	34	Virologic failure	d4T/ddI/IDV	D30N (9)
11	d4T/3TC	78	Virologic failure	AZT/ddI/APV	L90M (76)

AZT, zidovudine; ddI, didanosine; ddC, zalcitabine; d4T, stavudine; 3TC, lamivudine; NFV, nelfinavir; IDV, indinavir; SQV, saquinavir; RTV, ritonavir; APV, amprenavir; D, aspartic acid; N, asparagine; L; leucine; M, methionine.

\* Combined with NFV.

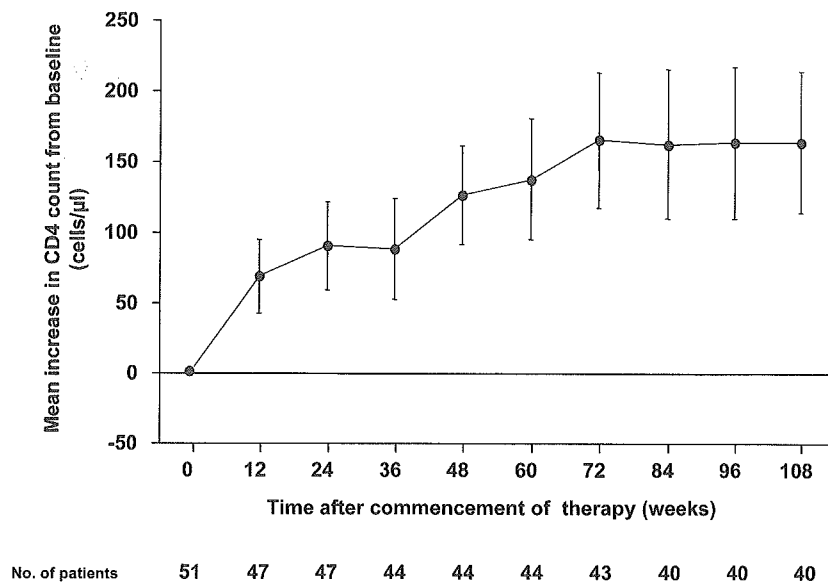


Fig. 2. Mean changes in CD4 count from baseline. Vertical bars represent the 95% confidence interval.

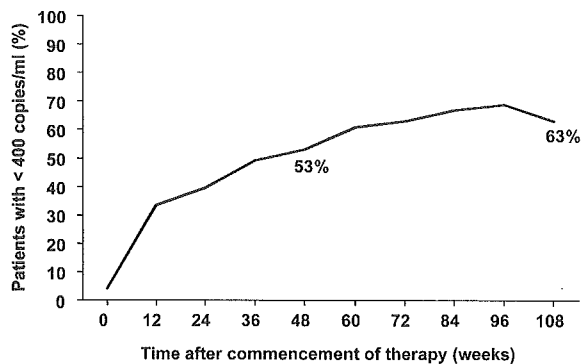


Fig. 3. Percentage of patients with plasma viral load < 400 copies/ml.

However, the rates of emergence of resistant mutations were not statistically different ( $P = 0.188$ ). Table 3 shows the results of univariate Cox analysis for potential predictor of emergence of drug resistance. Although some factors had trends with approximately two-fold greater rate for drug resistance, none of the factors correlated with the emergence of NFV-associated resistance. This finding was probably due to the small number of patients who developed drug resistance.

#### 4. Discussion

We described the rate of emergence of NFV-resistance virus in PI-naïve patients treated with NFV-containing regimens for up to 108 weeks in an HIV clinic cohort. In most clinical trials, the main outcome measure is viral suppression (virologic success) to undetectable level over a certain period of time (Staszewski et al., 1999; Grabar et al., 2000a; Gulick et al., 2000). However, such clinical trials did not refer to the emergence of drug resistance. Thus, this is the first study to investigate factors involved in drug resistance in daily clinical practice.

In the present study, rate of virologic success (viral load < 400 copies/ml) was 63% at week 108 by ITT exposure. This rate is lower than the results of several clinical trials (Staszewski et al., 1999; Paredes et al., 2000) but quite similar to the results of unselected cohort studies (Fatkenheuer et al., 1997; Mocroft et al., 1998; Rhone et al., 1998; Paris et al., 1999; Grabar et al., 2000b). The most important predisposing factor for the virologic success is adherence to treatment (Lucas et al., 1999; Paris et al., 1999; Paterson et al., 2000). However, in daily clinical practice, patient population is heterogeneous in terms of clinical status,