

Fig. 2 Clinical course of the patient

GKS: gamma knife surgery, SRA: stereotactic radiofrequency ablation

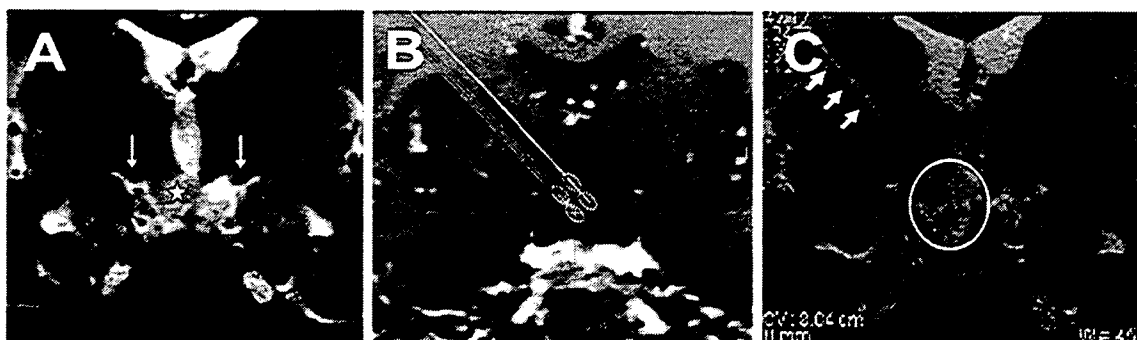


Fig. 3 Preoperative planning for SRA and postoperative MRI

(A) Coronal section of preoperative MRI. Sessile HH (star) and optic tracts (arrows) are shown. (B) Planned trajectories and planned ablation volumes for each targets (dotted circles) in this MRI plane are shown. (C) Coronal section of postoperative MRI. Ablated HH (circle) and electrode tracks (arrows) are shown.

接して存在し、真性性早熟を呈するタイプIと、腫瘍の大きさは中～大で、無茎性で第3脳室の変形を伴い難治のてんかん発作を呈するタイプIIに大別している¹⁰⁾。また Aritaらは Intrahypothalamic type と Parahypothalamic type に大別し、

前者は小児期から始まる笑い発作などのてんかん発作を主症状とし、精神遅滞を伴うことが多く、後者はてんかん発作を伴うことは稀で、思春期早発症を主症状とすると言われている¹¹⁾。本症例は Valdueza のタイプ IIb、Arita の Intrahypothalamic type に大別し、

lamic type に分類され、難治てんかんと思春期早発症、精神遅滞を呈し、加齢と共に不機嫌・易怒性が目立ってきていた。思春期早発症に対しては LH-RH アナログ治療が有効で、強直発作に対しては抗てんかん薬 (CBZ+VPA) が有効であったが、笑い発作に対する抗てんかん薬の効果は少なかった。また GKS 2 年後の MRI では、腫瘍の大きさに変化はなく、GKS の効果は明らかではなかった。

HH の笑い発作を初めとする難治性てんかんの発現部位や機序については、いまだ不明な点が多い。これまで、HH による間脳・大脳辺縁系や第 3 脳室の機械的刺激、あるいは HH から同部への直接的なてんかん性放電の波及などが笑い発作を引き起こし、行動障害や認知障害は、HH の乳頭体や第 3 脳室底への圧迫と視床下部・辺縁系間の神経連絡が原因と想定されていた^{8,12)}。しかし近年、発作焦点が HH 内に存在する可能性が示唆されている¹²⁾。Regis らは HH 自身がてんかん発作の焦点で、周囲の大脳皮質に散在性に二次性てんかん原性が生じて複数の独立した発作時焦点となり、種々のタイプの発作をきたし、てんかん発作の難治化・知能低下を引き起こすと報告している⁶⁾。本症例においても抗てんかん薬の調整で睡眠時の強直発作・偏向発作は抑制され、脳波異常の全般化は軽減したが、笑い発作は抑制されなかった。しかし、HH を焼灼することにより笑い発作が消失し、spike も著明に減少したことより、笑い発作のてんかん原性は HH にあると考えられた。さらに、術後の情緒の安定と知能の改善は、発作全般化の抑制効果のみならず HH を焼灼することにより、てんかん原である HH から視床下部・辺縁系への伝播経路が遮断されたことや、乳頭体や第 3 脳室底がてんかん原から遮断され機能障害が波及することが無くなったことが考えられる。

HH のてんかん発作は内科的治療のみでは難治で、外科的治療を含めて治療方針に苦慮することが多い。腫瘍摘出術は切除範囲に容積としての制限がなく、発作消失・行動異常の改善などの治療効果が直ちに得られる^{14,9)}が、手術による動眼神経麻痺、基底核・内包の梗塞、片麻痺などの機能障害を起こす可能性が高いと言われている¹³⁾。一方、

1995 年以降は侵襲性が少ない GKS が導入され、十分な照射量が得られた場合、HH への有効性は腫瘍摘出術とほぼ同等と報告されている⁷⁾。さらに、GKS は外科的治療に比べ低侵襲で、最大直径が 2.5 cm 以下であれば治療可能で安全性が高く、しかも低コストであるという利点がある。しかし、HH 近傍の視路は線量耐性が低く、HH の形態によっては十分な照射線量を設定することは困難で、無茎性 HH は GKS によっても十分な治療効果が得られないことが多い。また、GKS は 3 カ月～3 年かけて効果が発現する⁶⁾ため、効果判定に時間を要する。さらに、放射線壊死・放射線誘発性腫瘍・下垂体部の機能低下・視路障害・水頭症の他に、脳浮腫や一過性の腫瘍増大をきたす可能性があることが報告されており¹⁴⁻¹⁶⁾、GKS 後は十分な注意が必要である。本症例において GKS が無効であったことに関しては、照射部位・照射量など検討すべき点があるが、本症例が無茎性の過誤腫であり、視神経と近接していることから照射量には限界があり、十分な照射効果が得られなかった可能性が考えられる。

一般に小児の難治てんかんは知的、精神行動面での停滞・退行をもたらし、徐々に不可逆性になっていく¹⁷⁾ため、HH においても早期の発作抑制が望まれる。しかし、HH の笑い発作は抗てんかん薬での完全抑制は難しく、根本的治療と考えられる摘出術はリスクが高く、GKS は効果発現とともに効果判定に時間がかかるという欠点を有している。それらに代わり、近年、温熱療法や焼灼術の有用性が報告されている¹⁸⁻²⁰⁾が、報告例はまだ少なくフォロー期間も短く、長期的な効果は不明である。今回の SRA は、精密な画像誘導法のもと、細い電極を定位的に複数回 HH に挿入して腫瘍を体積として焼灼するため、脳の損傷が少なく比較的安全で、しかも効果発現が速い治療法であると言われている²⁰⁾。本症例でも SRA 後に合併症はなく、発作は速やかに消失し、脳波の正常化・精神行動面の改善があり、日常生活レベルの向上が見られたことより、非常に有効な治療法であると思われる。しかし、SRA についても症例が少なく、電極針挿入に伴う合併症、特に視床下部への侵襲など安全性や効果の点で未確定の要素が多く、今

後、症例を積み重ね検討が必要と考える。

個々のHH症例において最適な治療法が何であるか明らかではないが、てんかん発作が難治であるばかりでなく、早期発症例では知的レベルの低下や著しい行動異常が問題となることから、放射線治療・外科的治療の早期適応を含めた治療方針の確立が早急に望まれる。

文 献

- 1) Kuzniecky RI, Guthrie B, Mountz J, Bebin M, Faught E, Gilliam F, et al. Intrinsic epileptogenesis of hypothalamic hamartomas in gelastic epilepsy. *Ann Neurol* 1997; 42: 60-67.
- 2) Berkovic SF, Kuzniecky RI, Andermann F. Human epileptogenesis and hypothalamic hamartomas: new lessons from an experiment of nature. *Epilepsia* 1997; 38: 1-3.
- 3) Nishio S, Morioka T, Fukui M, Goto Y. Surgical treatment of intractable seizures due to hypothalamic hamartoma. *Epilepsia* 1994; 35: 514-519.
- 4) Ng Y-t, Rekatte HL, Prenger EC, Chung SS, Freiz-Erfan I, Wang NC, et al. Transcallosal resection of hypothalamic hamartoma for intractable epilepsy. *Epilepsia* 2006; 47: 1192-1202.
- 5) Unger F, Schrottner O, Haselsberger K, Korner E, Ploier R, Pendl G. Gamma knife radiosurgery for hypothalamic hamartoma in patients with medically intractable epilepsy and precocious puberty. *J Neurosurg* 2000; 92: 726-731.
- 6) Regis J, Bartolomei F, de Toffol B, Genton P, Kobayashi T, Mori Y, et al. Gamma knife surgery for epilepsy related to hypothalamic hamartomas. *Neurosurgery* 2000; 47: 1343-1352.
- 7) 荻野芽子, 相馬 収. ガンマナイフ療法を施行した視床下部過誤腫の1例. *脳と発達* 2003; 35: 65-69.
- 8) Berkovic SF, Andermann F, Melanson D, Ethier RE, Feinder W, Gloor P, et al. Hypothalamic hamartomas and ictal laughter; evolution of a characteristic epileptic syndrome and diagnostic value of magnetic resonance imaging. *Ann Neurol* 1988; 23: 429-439.
- 9) Frattali CM, Liow K, Craig GH, Korenman LM, Makhlouf F, Sato S, et al. Cognitive deficits in children with gelastic seizures and hypothalamic hamartoma. *Neurology* 2001; 57: 43-46.
- 10) Valdueza JM, Cristante L, Dammann O, Bentele K, Vortmeyer A, Saeger W, et al. Hypothalamic hamartomas: with special reference to gelastic epilepsy and surgery. *Neurosurgery* 1994; 34: 949-958.
- 11) Arita K, Ikawa F, Kuris K, Sumida M, Harada K, Uozumi T, et al. The relationship between magnetic resonance imaging findings and clinical manifestations of hypothalamic hamartoma. *J Neurosurg* 1999; 91: 212-220.
- 12) 古関啓二郎. てんかん性笑い発作の神経生理学的機序に関する研究—双極子追跡法による脳内電源の分析を中心に—. *てんかん研究* 1994; 12: 107-117.
- 13) Palmieri A, Chandler C, Andermann F, Coasta DJ, Paglioli NE, Polkey C, et al. Resection of the lesion in patients with hypothalamic hamartoma and catastrophic epilepsy. *Neurology* 2002; 58: 1338-1347.
- 14) 辛 正廣. Radiosurgery後長期経過観察に基づいた合併症の可能性. *医学の歩み* 2002; (別冊) (9月15日): 104-107.
- 15) Iwai Y, Yamanaka K, Shiotani M, Uyama T. Radiosurgery for acoustic neuromas: results of low-dose treatment. *Neurosurgery* 2003; 53: 282-288.
- 16) Kida Y, Kobayashi T, Mori Y. Gamma knife radiosurgery for low-grade astrocytomas: results of long term follow up. *J Neurosurg* 2000; 93 (Suppl 3): 42-46.
- 17) Hermann BP, Seidenberg M, Bell B. The neurodevelopmental impact of childhood onset temporal lobe epilepsy on brain structure and function and the risk of progressive cognitive effects. *Prog Brain Res* 2002; 135: 429-438.
- 18) Kuzniecky RI, Guthrie BL. Stereotactic surgical approach to hypothalamic hamartomas. *Epileptic Disord* 2003; 5: 275-280.
- 19) Parrent AG. Stereotactic radiofrequency ablation for the treatment of gelastic seizures associated with hypothalamic hamartoma. Case report. *J Neurosurg* 1999; 91: 881-884.
- 20) Fujimoto Y, Kato A, Saitoh Y, Ninomiya H, Imai K, Sakakibara R, et al. Stereotactic radiofrequency ablation for sessile hypothalamic hamartoma with an image fusion technique. *Acta Neurochir* 2003; 145: 697-701.

Summary

A Case of Hypothalamic Hamartoma with Intractable Epilepsy and Emotional Disturbance Successfully Treated with the Stereotactic Radiofrequency Ablation

Junko Tanaka¹⁾, Amami Kato^{2,3)}, Yoshikazu Ozaki⁴⁾, Asami Yamazaki⁵⁾

¹⁾Tanaka Kitaumeda Clinic

²⁾Department of Neurosurgery, Osaka University Medical School

³⁾Department of Neurosurgery, Kinki University School of Medicine

⁴⁾Department of Pediatrics, Osaka Medical Center

⁵⁾Department of Neurosurgery, Osaka Medical Center

We report a 9-year-old girl with hypothalamic hamartoma (HH) whose symptoms improved by the stereotactic radiofrequency ablation (SRA). The patient developed epilepsy at three years of age. She had gelastic seizures, various types of complex partial seizures, which were not controlled by any anticonvulsant. At the age of 5 years and 10 months, she was diagnosed with HH. She had precocious puberty and mental retardation. Precocious puberty was controlled with the gonadotropin-releasing hormone analog. Her seizures were intractable to conventional antiepileptic drugs and gamma knife surgery underwent at the age of 6 years and 6 months. At the age of 8 years and 10 months, she underwent SRA, which resulted in immediate and remarkable seizure remission without complication and her mental function improved. This suggests that SRA is useful and safety technique for HH.

J. Jpn. Epil. Soc. 2007; 25: 81-87

(received: March 27, 2007, 1st revised: May 14, 2007, accepted: May 31, 2007)



未熟児動脈管開存症

葛西健郎
Takeo Kasai

● 概念

低出生体重児の循環管理中に頻繁に遭遇し、最も注意を要する疾患が未熟児動脈管開存症(PDA)である。特に呼吸器疾患を合併し、出生体重が小さい未熟な児ほどPDAの発症頻度が高い。これは未熟な児ほど動脈管の閉鎖が遅れること、肺血管床の未発達による肺血管抵抗の低値により、生後早期に大量左右短絡が出現することによる。動脈血中酸素分圧の上昇に対する動脈管収縮反応は在胎週数が小さいほど弱く(収縮しにくい)、プロスタグランジン(PG)E₂に対する動脈管拡張反応は在胎週数が小さいほど強くなる(拡張しやすい)ことなどが、未熟な児ほど動脈管閉鎖が遅れることの原因とされている¹⁾。

● 病態生理

左右短絡PDAにより肺血流が増加する。未熟児の心室は成熟児に比し拡張能が悪いため、左右短絡PDAによる左房への還流血液量の増加時に、左室拡張末期圧および左房圧上昇が強く認められる。PDAにみられる肺浮腫の原因として左房圧の上昇が重要と考えられている。

未熟児PDAでは、前負荷の増加および動脈管開存による後負荷の低下のため左室拍出量は増加する。しかし、心筋予備能が低下している未熟児では、大量左右短絡に伴う左心負荷の持続により、成熟児に比して心不全に陥りやすい。大量左右短絡PDAにみられる拡張期血圧低下による冠動脈血流の低下、左心容量負荷に伴う心筋虚血も心筋機能低下の原因となる。

未熟児PDAでは、脳血流は比較的保たれるが、腎・消化管血流が著明に低下する。体循環から肺循環への拡張期の短絡血流(ductal steal)の増加、およ

び各臓器の血管抵抗増加が原因と考えられる²⁾。腎血流、消化管血流の低下は、腎不全、壊死性腸炎の一因となる可能性がある。

● 臨床症状

1. 生後早期のPDA(7日以内)

肺疾患を有しない未熟児におけるPDAの発症頻度は低く、診断は比較的容易である。胸骨左縁の収縮期雑音により気づかれる。短絡量の増加とともにhyperactive precordium, bounding pulse, 連続性雑音がみられる。胸部X線像において心拡大、肺血管陰影の増強を認める。PaCO₂の上昇、無呼吸発作、頻脈がみられる。心電図に異常を認めることは少ない。肺浮腫、心不全の進行に伴い頻脈、多呼吸が出現し、肺野にラ音が聴取される。皮膚循環の悪化や代謝性アシドーシスの進行、回復困難な徐脈は、重篤な心不全徴候である。

肺疾患を有する低出生体重児ではPDAの合併頻度が高く、肺浮腫による症状が強く認められる。原疾患が回復する時期にもかかわらず、呼吸状態が再度悪化する際は要注意である。肺病変、人工呼吸管理によりPDA症状がマスクされることも多い。心雑音は初期症状として重要であるが、人工換気を一時中止して聴診することにより初めて聴取されることもある。胸部X線像は肺疾患、陽圧人工換気の影響を受け、PDAによる肺浮腫、心拡大が明らかでないこともあり読影の際には注意を要する。一般に人工換気からの離脱とともにPDAの症状が明らかとなるが、それ以前に、臨床症状を伴うことなく心エコーにて初めて大量短絡PDAが確認されることがあり(silent PDA)、急性期の管理に心エコー検査は欠かせない。

2. 生後7日以降のPDA

人工呼吸管理が行われている極低出生体重児に多い。多くは再開通PDAであり、薬物学的閉鎖療法は

岩手医科大学小児科
〒020-8505 盛岡市内丸19-1

無効なことが多い。診断は比較的容易であるが、長期人工呼吸管理中の児(特に極低出生体重児)では大量短絡 PDA が出沒していることがあり、生後 1 カ月頃までは定期的に心エコー検査を行うことが推奨される。無呼吸発作、皮膚循環不全により気づかれることもある。受胎後週数が 30 週以上の症例では有意の症状を示さないことが多い。

● 診断

心エコーにて大量左右短絡 PDA を証明する。大量左右短絡 PDA の際は、ドプラ心エコーにて動脈管(内径 1.5mm 以上)を介する左右短絡血流がみられ³⁾、M モード心エコー上、左房大動脈内径比(LA/Ao)が 1.40 以上、左室収縮期時相(LSTI)は 0.27 未満を示す。腹部大動脈のドプラ心エコーでは、ductal steal による拡張期血流の途絶や逆行性血流を認めるが、同様のドプラ所見は、総動脈幹症や大動脈肺動脈中隔欠損、動静脈奇形の際にも認められることがあり鑑別が必要である。肺病変を有する未熟児では、動脈管依存性心疾患を心雑音により PDA と誤診する可能性があり、心エコー検査で必ず確認する必要がある。

● 治療

1. 全身管理

水分負荷や低酸素血症は PDA の増悪因子であるので、水分制限(初期輸液 50~60mL/kg/日)、低酸素血症を予防する適切な呼吸管理(CPAP, IMV など)を行う。貧血は心負荷を増強させる。濃厚赤血球輸血によりヘマトクリット値を 40~45%に維持する。輸血による動脈血の酸素含有量の増加が、動脈管閉鎖を促進する可能性もある。急激な心機能低下をきたす例は少ないこと、また、副作用が高頻度に認められることより未熟児 PDA に対するジギタリス製剤の適応はない。心不全に対してはカテコラミン(ドパミンなど: 2~5 µg/kg/min)投与を行う。

2. 薬物的動脈管閉鎖療法

現在、未熟児動脈管開存症に対し、静注用インドメタシンが第 1 選択薬として日常的に使用されている。一般に、極低出生体重児または肺疾患を有する低出生体重児で、生後 7 日以内の大量左右短絡 PDA

表 インダシン静注用の用法・用量

| 初回投与の生後時間 | 投与量(mg/kg) | | |
|------------|------------|------|------|
| | 1 回目 | 2 回目 | 3 回目 |
| 生後 48 時間未満 | 0.2 | 0.1 | 0.1 |
| 生後 2~7 日 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| 生後 7 日以降 | 0.2 | 0.25 | 0.25 |

注 1: 投与後に無尿または著明な乏尿(尿量: 0.6mL/kg/h 未満)があらわれたら、腎機能が正常化するまで次の投与は行わないこと。

注 2: 1 あるいは 2 回目の投与後動脈管の閉鎖が得られた場合は、以後の投与は行わずに経過を観察しても差し支えない。

注 3: 投与終了後 48 時間以上経過して、動脈管が閉鎖している場合は、追加投与の必要はない。

が積極的適応となる。標準的インドメタシンの投与法を表に示した。極低出生体重児では早期薬物学的動脈管閉鎖療法(生後 72 時間以内)は、PDA の発症率を低下させ、外科的結紮術の頻度を下げ、脳出血の発症を抑制すると報告されているが、長期的な予後についての明らかなメリットはまだ確立されていない⁴⁾。さらに、全例に投与するという真の予防投与の有効性についても議論があるところと思われる。また、極低出生体重児では 1 クールの投与後さらにインドメタシンを連日 5 日間投与(0.1~0.2 mg/kg を 24 時間間隔)することにより再開通 PDA が予防されると報告されている。しかし、未熟児 PDA に対する本投与法の有用性については今後の検討が必要である。このように、インドメタシンを用いた薬物学的動脈管閉鎖療法に関して、その投与時期、投与量、投与方法については、各施設間で試行錯誤のうえさまざまな試みがなされており、まだ確立されていないのが現状である。

早期投与ではインドメタシンによる重篤な合併症はほとんどないが、副作用に注意し慎重に投与すべきである。投与禁忌は、①血清クレアチニン \geq 1.8 mg/dL または BUN \geq 30 mg/dL、②尿量 \leq 0.6 mL/kg/h が 8 時間以上持続、③血小板 \leq 60,000/ μ L、④便潜血>3+、⑤出血傾向、⑥壊死性腸炎、⑦増悪する頭蓋内出血とされる。インドメタシン投与が頭蓋内出血の発症、増悪に関与することはなく、上衣下出血は禁忌とならない。インドメタシン投与後の尿量減少の治療(予防)にはフロセミド(1 mg/kg)投与を行う。低血糖、低ナトリウム血症もしばしば認めら

れる副作用である。

ほかのPG合成阻害剤による動脈管閉鎖療法を試みがある。メフェナム酸は我が国において使用経験が最も多い薬剤である。初回2mg/kg投与後、必要時12時間ごとに3回まで経管胃内投与する。安全性、有効性に問題ないと考えられるが、生後7日以降投与例に一過性の腎機能低下(尿量減少)が強くみられる傾向がある。また近年、イブプロフェンがPDAの治療薬として欧米から報告がなされている。動脈管の閉鎖に関してはインドメタシンと同様の効果があり、脳血流の低下や腎血流・消化管血流の低下などのインドメタシン投与の際に認められる副作用の発生率が、イブプロフェン投与では少ないとの報告がなされている。しかしながら、同治療法では慢性肺疾患の発生率の増加や肺高血圧症の合併例が報告されており、長期的な効果に関する検討が今後の課題であることから、現時点での使用は時期尚早と思われる⁵⁾。

3. 動脈管結紮術

薬物学的閉鎖療法が無効または禁忌の未熟児PDAが適応となる。PDA短絡の持続は、長期呼吸管理、水分制限を強いることにより、慢性肺疾患や未熟児網膜症、中枢神経障害、栄養障害の原因となり得る。人工呼吸換気中の超低出生体重児(特に在胎27週未満)では薬物学的閉鎖療法が無効のPDAに対し動脈管結紮術を積極的に行う。最近では動脈管周囲の剝離の必要が少なく、手術時間を短縮できるclipping

術が行われることが多い。手術室への搬送が困難な児ではNICUにて手術を行う。

文献

- 1) Clyman RI : Patent ductus arteriosus in the premature infant. In Taeusch HW, Ballard RA (ed) : Avery's disease of the newborn. W. B. Saunders, Philadelphia, pp816-826, 2005
- 2) Shimada S, Kasai T, Hoshi A, et al : Cardiocirculatory effects of patent ductus arteriosus in extremely low-birth-weight infants with respiratory distress syndrome. *Pediatr Int* **45** : 255-262, 2003
- 3) Evans N, Iyee P : Assessment of ductus arteriosus shunt in preterm infants supported by mechanical ventilation. *J Pediatr* **125** : 778-785, 1994
- 4) Ohisson A, Walla R, Shah S : Ibuprofen for the treatment of patent ductus arteriosus in preterm and/or low birth weight infants. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 1, 2007
- 5) Cooke L, Steer P, Woodgate P : Indomethacin for asymptomatic patent ductus arteriosus in preterm infants. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 1, 2007

Key Words

低出生体重児, 動脈管開存症, 薬物学的動脈管閉鎖療法, 動脈管閉鎖術

* * *

Technic **21** マイクロバブルテスト

目的 出生時の肺胞は解剖学的にまだ発達過程にあるが、ガス交換は在胎22～24週以降に可能となる。一方、出生後にガス交換が容易にできるためには、肺サーファクタント（surface active agent：表面活性物質）が充足していなければならない。肺サーファクタントは在胎20週頃から肺胞Ⅱ型上皮細胞で産生され始め、その後に肺胞腔へ分泌されるようになる。これは胎児肺を満たす肺液とともに羊水中へ移行し、胎児は羊水を嚥下している。

マイクロバブルテストは羊水や胃液に混入した肺サーファクタントを測定する検査であり、早産のため肺サーファクタントが不足して発症する呼吸窮迫症候群（respiratory distress syndrome, 以下RDS）の予知と早期診断に用いられている。

対象 RDSのリスクがある早産（在胎37週未満）が対象となる。

- 必要物品**
- ①パストゥールピペット（内径1 mm，毛細管長5 cmまたは11.5 cm）。
 - ②ピペット用スポイト（2 mL用）。
 - ③カバーガラス入り容器（35×50 mm）。
 - ④ホールスライドグラス，ほか顕微鏡。

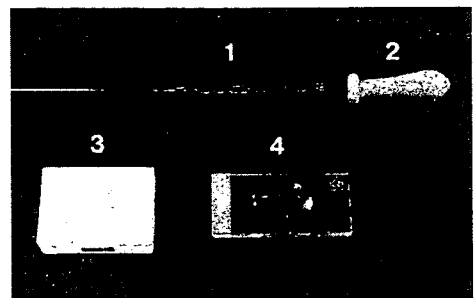
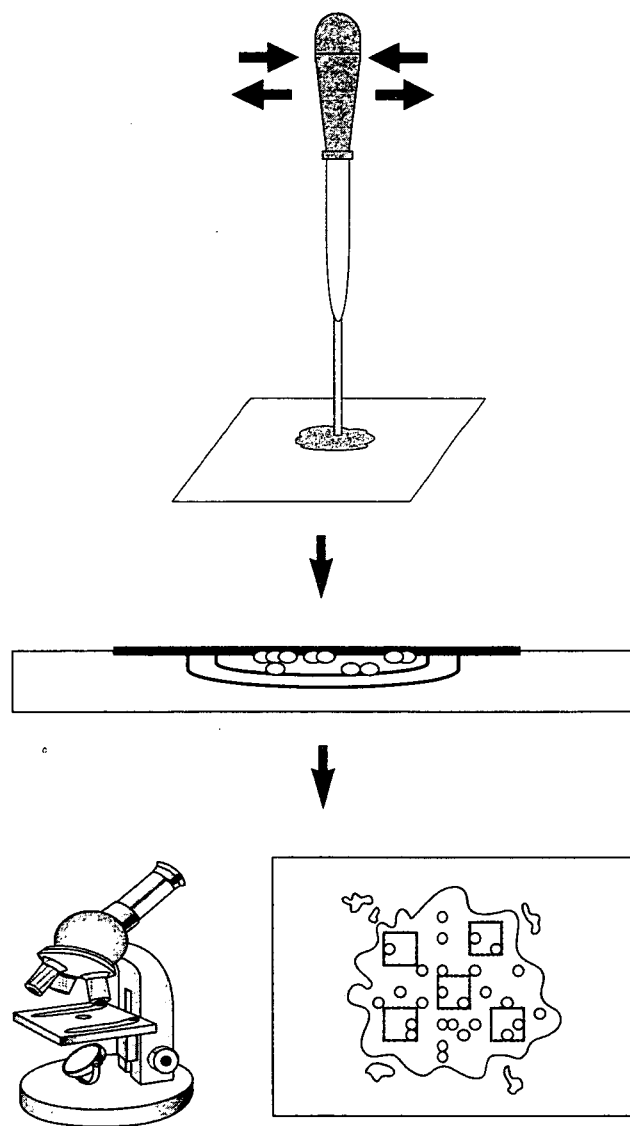


写真 ④ 必要物品（文献1より引用）

検体 経腹壁穿刺や胎胞穿刺，帝王切開時の穿刺，破水によって得られた羊水，または出生直後に栄養カテーテルで採取した胃液を用いる。

手技の流れ

検体を起泡させる



手順

- ①未処理検体をパスツールピペットの先端から5cmの高さまでスポイトで吸引し(約40 μ L)、カバーガラス中央に滴下する(研究目的にはエッペンドルフピペットで正確に40 μ Lを採取している)。
- ②パスツールピペットの先端をカバーガラスに垂直に立て、6秒間に20回の速さで吸引と排出を強く繰り返すことで起泡する。カバーガラスをただちに反転してホールスライドグラスにかぶせ、4分間静置する。
- ③原法²⁾は内径1mm、毛細管長5cmのパスツールピペットを使い、羊水1滴(約20 μ L)で検査するが、われわれは起泡手技を容易にするため40 μ Lを使用している。

コツ

検体の吸引と排出はリズムカルな音が出て、かつ検体が飛散しないよう適度に強く行う³⁾。

注意

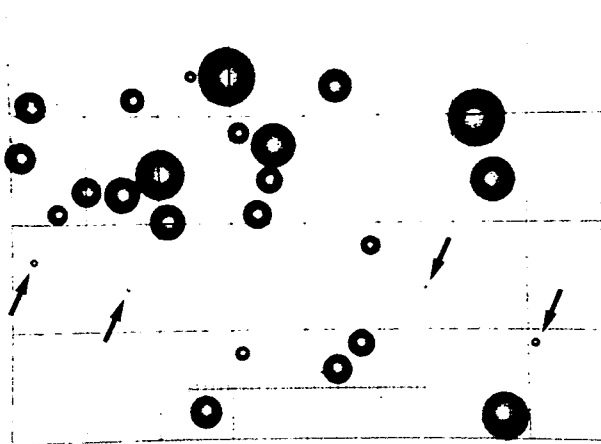
- ①排出時の加圧が弱いと、スポイトが弾力性に欠けると起泡効果は減弱し、判定を誤る可能性がある。
- ②胃液が粘稠な場合には、起泡は困難である。

Q 切迫早産の妊婦が来院した場合は？

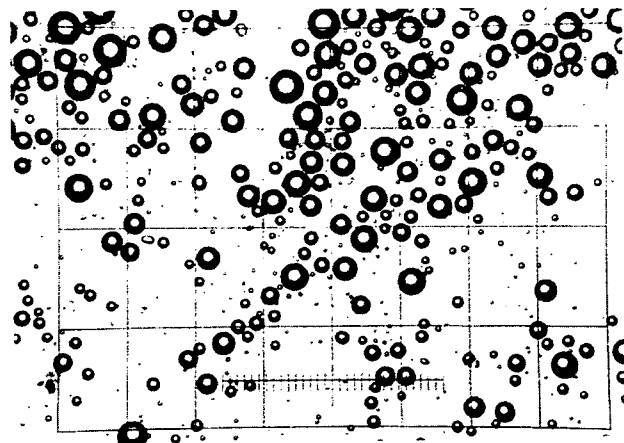
A 切迫早産に対しては、母体感染症や急速遂娩の適応を除いて、妊娠継続を図るとともに胎児肺成熟をうながす目的で母体にベタメタゾン¹⁾を投与します。妊娠継続が困難か破水した場合は、羊水中でマイクロバブルテストを行います。羊水が採取できないときは、娩出直後の胃液で検査します。どちらかが陽性で、娩出後に人工換気が必要であればRDSの可能性が高く、人工肺サーファクタントの予防投与⁴⁾を考慮します。

こんなときはどうする？

マイクロバブルを算定する



RDS児. この視野に4個（矢印）のマイクロバブルがみられる. 5視野の平均値は1.8個/mm².



呼吸障害がない児. 無数のマイクロバブルがみられる. 外枠内の面積は1mm². スケールは1目盛15μm. 数えやすいように, 1mm²の枠内を4×8に区分している³⁾.

判定

手順

羊水を用いた原法²⁾では, 平均マイクロバブル数によりzero, very weak (2個未満), weak (2~10個未満), medium (10~20個未満), strong (20個以上) の5段階で判定している. RDSはweak以下に多く, strongでは少ない.

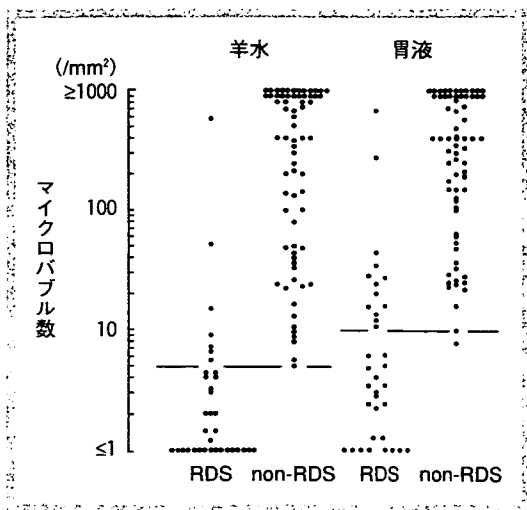
平均マイクロバブル数が羊水で5個未満, 胃液で10個未満を陽性 (肺サーファクタント欠乏) としたわれわれの成績¹⁾では, 陽性予測値がそれぞれ100%と96%, 陰性予測値が91%と84%であった. すなわち, 本法で陽性を示せば, ほぼ全例がRDSを発症する. しかし, 本法は肺サーファクタントを鋭敏に検出できるため, 陰性であってもRDSの発症はみられる. この場合は軽症RDSのことが多い. カットオフ値が羊水よりも胃液で高いのは, 気道からの肺サーファクタントが胃液に混入するためと考えられる.

手順

顕微鏡 (10×10倍) で検体の中央と四隅の計5視野について, 1視野あたり1mm²中の直径15μm以下のマイクロバブルを数え, その平均値で判定する. 顕微鏡に1mm²と15μmのスケールを装着すれば正確にカウントできる.

注意³⁾

器具に付着しているゴミをマイクロバブルと間違えないようにする. マイクロバブルは中心部が抜けた円形構造をしている.



RDS児とnon-RDS児からそれぞれ羊水と胃液を採取した。縦軸は対数表示で、赤丸は症例、水平線はカットオフ値を示す。RDS n=35, non-RDS n=70。

図1 羊水と胃液のマイクロバブルテスト (文献3より引用)

注意³⁾

- ①検体採取時期や羊水量、母体疾患は本法の判定に影響することが考えられる。分娩24時間以前の羊水と出生30分以後の胃液、羊水過多・過少、糖尿病母体などの診断精度は確認していない。
- ②マイクロバブル数は10%の血液混入でも影響はないが、胎便やヒビテン®クリームの混入により減少する。しかし、早産では胎便混入はまれである。
- ③検体を遠心するとマイクロバブル数は減少する。

Column マイクロバブルテストの特徴は？

わが国で行われた人工肺サーファクタントのランダム化比較臨床試験で、本法は肺サーファクタント欠乏の確認試験に採用されたため、広く行われています。しかし、初心者は熟練者よりもマイクロバブルが少なく出ますので、症候や、人工換気中であれば換気条件と、胸部X線像とを考慮して治療にあたるのが大切です。現在、本法の全自動測定装置を臨床でテストする計画があります。

参考文献

- 1) Chida, S. "A stable microbubble test for antenatal and early neonatal diagnosis of surfactant deficiency". Surfactant Therapy for Lung Disease. Robertson, B. et al. eds. New York, Marcel Dekker, 1995, 107-20.
- 2) Pattle, RE. et al. Maturity of fetal lungs tested by production of stable microbubbles in amniotic fluid. Br. J. Obstet. Gynaecol. 86 (8), 1979, 615-22.
- 3) 千田勝一. "マイクロバブルテスト". 周産期医学. 周産期診療指針'97. 東京, 東京医学社, 1997, 688-90.
- 4) 嶋田泉司ほか. 呼吸窮迫症候群に対する人工肺サーファクタントの投与時期の検討: 全国多施設共同比較臨床試験. 日本小児科学会雑誌. 106 (9), 2002, 1251-60.

岩手医科大学小児科助教授 葛西健郎 同教授 千田勝一

合成ペプチドを用いた合成肺サーファクタントの評価：(1) 生理活性の比較

Key words : surfactant, SP-B, SP-C, pressure-volume curve, compliance

岩手医科大学小児科¹⁾
現・昭和大学小児科²⁾
現・岩手県療育センター³⁾
現・もりおかこども病院⁴⁾
徳島大学疾患酵素学研究センター応用酵素・疾患代謝部門⁵⁾

内田俊彦¹⁾ 松橋一彦²⁾ 嶋田泉司³⁾
高橋明雄⁴⁾ 松本 敦¹⁾ 戸津五月¹⁾
葛西健郎¹⁾ 武井恒知^{1,5)} 千田勝一¹⁾

目 的

肺サーファクタントの必須成分である surfactant protein (SP)-B と SP-C のアミノ酸配列を参考にしたアナログが合成され、このいずれかを含む合成肺サーファクタントが報告されている。本研究では、これらの合成肺サーファクタント(以下、SP-B・脂質、SP-C・脂質と略す)と人工肺サーファクタント製剤の生理活性について、肺サーファクタント欠乏モデルの未熟ウサギ胎仔で比較した。

材 料 と 方 法

SP-B アナログと SP-C アナログはそれぞれ KLLLLKLLLLKLLLLKLLLLK と CPVHLKRLLLLLLLLLLLLLLLLL のアミノ酸配列からなるポリペプチドで、どちらも三菱ウェルファーマ(大阪)から提供を受けた。脂質は dipalmitoyl phosphatidylcholine (DPPC), palmitoyl oleoyl phosphatidylglycerol (POPG), egg-phosphatidylglycerol (PG), palmitic acid (PA) (以上 Sigma-Aldrich Corp., St Louis, MO) を使用した。

SP-B・脂質は DPPC : POPG : PA : SP-B アナログ = 75 : 25 : 15 : 3 (重量比) の割合に、SP-C・脂質は DPPC : PG : PA : SP-C アナログ = 75 : 25 : 10 : 3 (重量比) の割合に混合し、凍結乾燥して作製した。これをリン脂質として 25 mg/ml となるように生理食塩液に懸濁し、氷冷下で超音波処理を

行って使用した。人工肺サーファクタント製剤は Surfacten を使用した。

実験は本学動物実験委員会の承認を受け、妊娠期間が既知のウサギで行った。未熟ウサギ胎仔は妊娠 27 日 ± 2 時間に帝王切開で娩出し、無作為に未熟対照群、SP-B・脂質群、SP-C・脂質群、Surfacten 群に割り付けた。サーファクタントは 50 mg/kg または 100 mg/kg を気管内へ注入した。妊娠 30 日 ± 2 時間に帝王切開で出した胎仔を成熟対照群とした。これらについて肺胸郭圧量曲線と肺胸郭コンプライアンスを測定し、実験終了後に気胸の有無を観察した。

結 果

肺気量は SP-C・脂質群と Surfacten 群の 50 mg/kg 投与で成熟対照群のレベルへ改善したが、SP-B・脂質群では 100 mg/kg 投与でも成熟対照群より有意に少なかった(図 1)。肺胸郭コンプライアンスは成熟対照群と SP-C・脂質群、および Surfacten 群の間で有意差はなかったが、SP-B・脂質群では 100 mg/kg 投与でも 15 分と 30 分で未熟対照群と有意差を認めなかった(図 2)。気胸の発生率は、未熟対照群 (n=5/11, 45%) と SP-B・脂質群の 50 mg/kg 投与 (n=6/11, 55%) が成熟対照群 (n=0/9, 0%) と Surfacten 群の 50 mg/kg 投与 (n=0/11, 0%) よりも有意に高かった。SP-C・脂質群の 50 mg/kg 投与 (n=1/13, 8%) では、他の群と有

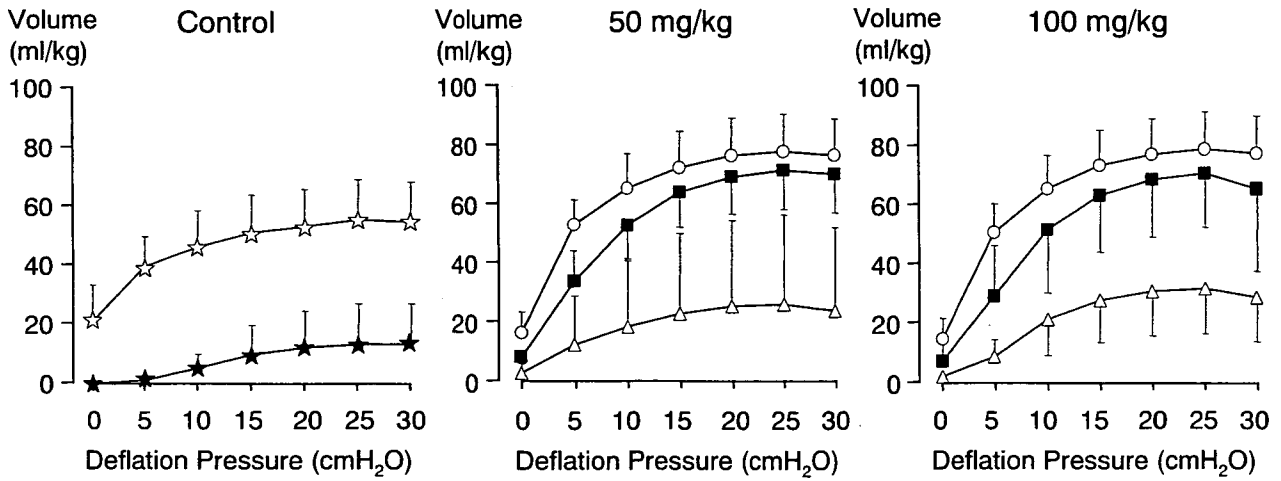


図1 肺胸郭圧量曲線

左：対照群，中：各サーファクタント 50 mg/kg 投与群，右：各サーファクタント 100 mg/kg 投与群。☆：成熟対照群 (n=9)，★：未熟対照群 (n=11)，△：SP-B・脂質群 (n=11 と 7)，■：SP-C・脂質群 (n=13 と 8)，○：Surfacten 群 (n=12 と 11)。n は前が 50 mg/kg，後が 100 mg/kg 群。値は平均と SD。肺気量の比較 (不等号は有意差を表す)：成熟対照群，SP-C・脂質群^a，Surfacten 群 > SP-B・脂質群，未熟対照群^a (0 cmH₂O を除く)；Surfacten 群 > SP-C・脂質群 (5 cmH₂O)。

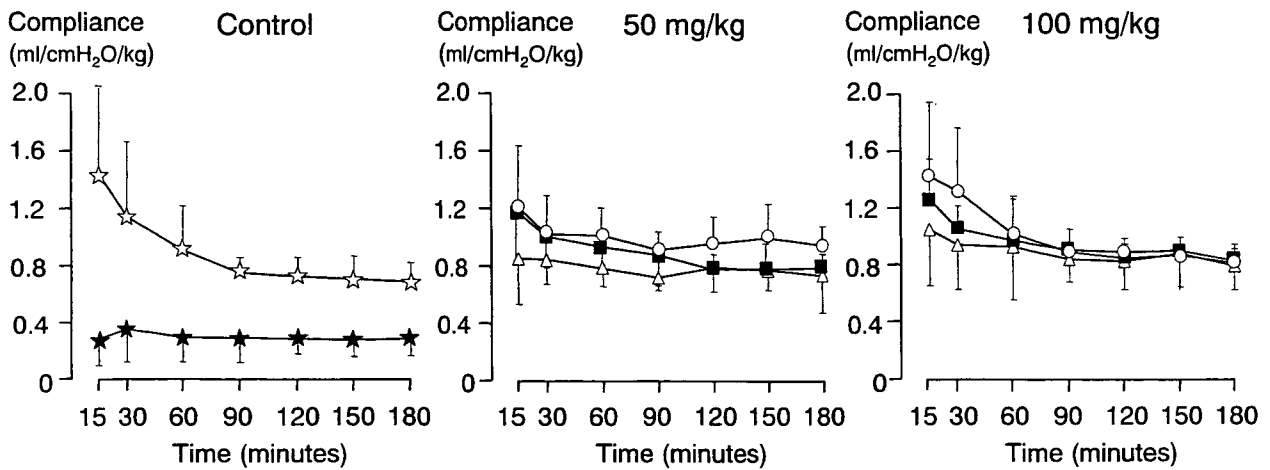


図2 肺胸郭コンプライアンス

左：対照群，中：各サーファクタント 50 mg/kg 投与群，右：各サーファクタント 100 mg/kg 投与群。マークと n，値の表示は図 1 に同じ。肺胸郭コンプライアンスの比較 (不等号は有意差を表す)：成熟対照群，SP-B・脂質群^a，SP-C・脂質群，Surfacten 群 > 未熟対照群^a (50 mg/kg の 15～60 分および 100 mg/kg の 15 分と 30 分を除く)。

意差を認めなかった。

考 察

本研究で用いた SP-B アナログは米国の Cochrane ら，SP-C アナログはわが国の Takei らが報告したアミノ酸配列と同様のものである。それらを報告に記載された脂質と重量比を同じものに調製し

た合成肺サーファクタントについて，生理活性を Surfacten と比較した。この結果，肺サーファクタントとしての生理活性は Surfacten が最も優れていたが，SP-C・脂質も Surfacten にはほぼ匹敵した。SP-B・脂質が生理活性で劣っていたのは，SP-B アナログが SP-B の働きを代用するに至っていないのではないかと推測された。

《討 論》

質問：脂質だけではサーファクタント活性はないのでしょうか。

高橋：我々の *in vitro* の実験では脂質のみで表面張力低下作用はある程度あるものの、表面吸着・表面拡散が速やかであること、最小表面張力 10 mN/m に達する面積が大きいことなどの有効な人工肺サーファクタントの基準のいずれも満たしていませんでした。SP-B または SP-C を添加するとこの基準を満たすようになります。

質問：SP-B も加えなくていいのでしょうか。

高橋：以前本学会で発表したデータでは、SP-

C のみを含むサーファクタントと比較して SP-B も加えると若干表面活性が改善しましたが、製品として実用化する目的ではシンプルな組成が望ましいのと、現段階で SP-C アナログのみをタンパク成分として含むサーファクタントが臨床応用できる可能性があるデータがでたという理由で SP-B アナログは加えてありません。

木戸(徳島大学)：1回投与での有効性はどうか。

高橋：今回の実験は脱血死亡した胎仔を用いて行いました。1回投与後の有効性を評価するには、血液循環をそのままにした大動物で実験するか、臨床試験を行う必要があると思います。

合成ペプチドを用いた合成肺サーファクタントの評価：(2) 肺組織像の比較

Key words : surfactant, SP-B, SP-C, histology, alveolar expansion

岩手医科大学小児科¹⁾
現・昭和大学小児科²⁾
現・岩手県療育センター³⁾
現・もりおかこども病院⁴⁾
徳島大学疾患酵素学研究センター応用酵素・疾患代謝部門⁵⁾

葛西健郎¹⁾ 松橋一彦²⁾ 嶋田泉司³⁾
高橋明雄⁴⁾ 松本敦¹⁾ 戸津五月¹⁾
武井恒知^{1,5)} 千田勝一¹⁾

目 的

呼吸窮迫症候群の治療薬として、世界では天然由来の数種類の人工肺サーファクタント製剤が用いられている。一方、肺サーファクタントの表面張力低下作用に必須の surfactant protein (SP) - B または SP-C のアナログが合成され、天然由来の製剤に替わる次世代の合成肺サーファクタントとして臨床応用に期待が寄せられている。本研究では、SP-B アナログまたは SP-C アナログと脂質との合成

肺サーファクタント(以下、SP-B・脂質、SP-C・脂質と略す)を未熟ウサギ胎仔に投与して、肺組織像を評価した。

材料と方法

材料は前報の(1) 生理活性の比較に記載したウサギ胎仔肺を使用し、その実験終了後、肺に 10 cmH₂O の圧を加えた状態で気管を結紮して10%ホルマリンで胸郭ごと固定した。次に胸郭から肺を分離してパラフィン包埋し、主気管支を含む面で3μm厚の標本作製してelastica van Gieson染色を行い、肺胞拡張度とその均一性について評価した。

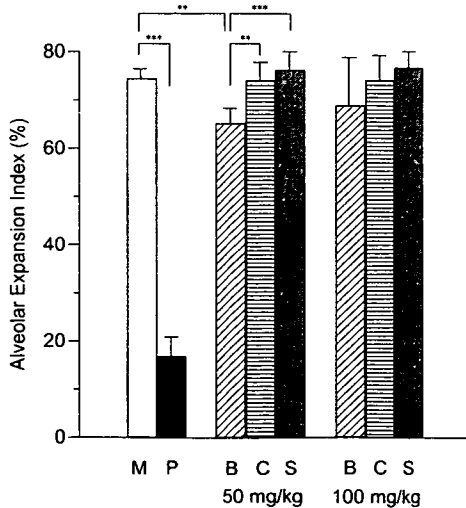


図1 Alveolar Expansion Index

M:成熟対照群 (n=7), P:未熟対照群 (n=6), B: SP-B・脂質群 (n=4 と 5), C: SP-C・脂質群 (n=8 と 7), S: Surfacten 群 (n=7 と 8). n は前が 50 mg/kg, 後が 100 mg/kg 群. 値は平均と SD. ** : p < 0.01, *** : p < 0.001.

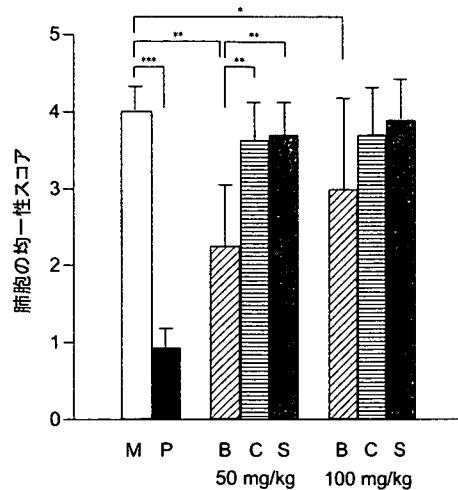
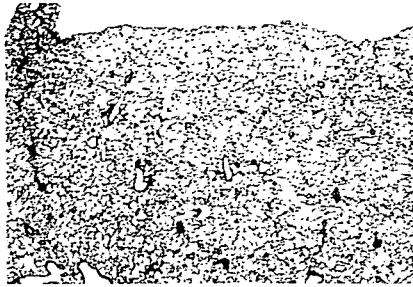


図2 肺胞拡張の均一性スコア

マークと n, 値の表示は図1に同じ. * : p < 0.05, ** : p < 0.01, *** : p < 0.001.

対照群



成熟対照

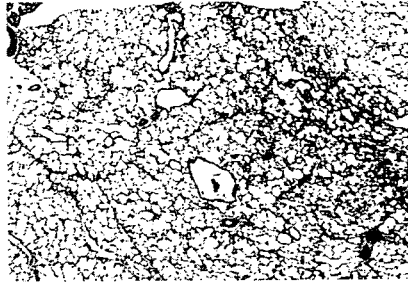


未熟対照

SP-B・脂質群



50 mg/kg

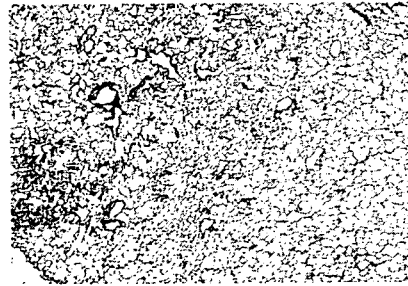


100 mg/kg

SP-C・脂質群



50 mg/kg



100 mg/kg

Surfactant 群



50 mg/kg



100 mg/kg

図3 各サーファクタント群の肺組織像
代表的なものを提示した. elastica van Gieson 染色, × 5倍.

肺胞拡張度は画像解析システム(KS-400, Carl Zeiss, Ober-Kochen, Germany)を用いて、肺面積に対する肺胞腔面積の比(alveolar expansion index, 以下 AEI と略す)で評価した。これは標本を拡大したディスプレイ上で(21.4 mm²), 気管支, 血管, 標本の亀裂を除去して測定した。肺胞拡張の均一性は, AEI と同じ画像において, 均一に拡張した肺胞が占める面積により, まったくないものを0, 0ではないが1/4以内を1, 1/4~1/2を2, 1/2~3/4を3, 3/4以上あるがすべてでないものを4, すべてを5のスコアで評価した。上記のいずれも左右肺の上・中・下6カ所の平均値で表した。

結 果

1. AEI(図1)

サーファクタント 50 mg/kg 投与群の AEI は, SP-B・脂質群が成熟対照群, SP-C・脂質群, Surfacten 群よりも有意に小さかった。100 mg/kg 投与群の AEI は, いずれも成熟対照群と有意差はなかった。50 mg/kg と 100 mg/kg 投与との群内比較では有意差を認めず, これらはどちらも未熟対照群よりも有意に大きかった。

2. 肺胞拡張の均一性(図2, 3)

サーファクタント 50 mg/kg 投与群の均一性スコアは, SP-B・脂質群が成熟対照群, SP-C・脂質群, Surfacten 群よりも有意に低く, 100 mg/kg 投与群では SP-B・脂質群が成熟対照群よりも有意に低かった。50 mg/kg と 100 mg/kg 投与との群内比較では有意差を認めず, これらはどちらも未熟対照群よりも有意に高かった。

考 察

AEI は肺に 10 cmH₂O の呼気終末陽圧をかけて末梢気道の含気度を測定するもので, 含気の均一性は評価できない。このため, 我々は肺胞の均一性をスコア化して評価した。この結果, SP-C・脂質群と Surfacten 群は AEI, 肺胞拡張の均一性とも成熟対照群と有意差を認めなかった。

SP-B・脂質群が SP-C・脂質群と Surfacten 群に比べて活性が劣っていたのは, SP-B アナログが天然 SP-B の働きを代用するに至っていないためと推測された。肺組織像からみて, SP-C・脂質は臨床応用が可能と考えられた。

Letter to the Editor

Pharmacokinetic Parameters of Lopinavir Determined by Moment Analysis in Japanese HIV Type 1-Infected Patients

EDITOR: We determined pharmacokinetic (PK) parameters of lopinavir (LPV) in Japanese HIV-1-infected patients, as PK data for LPV have not yet been reported from Japanese multiple-dose studies. Subjects comprised 65 HIV-1-infected patients (57 men, 8 women) with a mean age of 38 years (range: 22–62 years) and a mean weight of 63.8 kg (range: 50.0–80.8 kg), recruited at the Outpatient HIV Clinic of the National Hospital Organization Nagoya Medical Center, Japan, between March 2002 and January 2007. Patients were treated for >1 month with LPV/ritonavir (400/100 mg twice daily; Kaletra capsule) in combination with other antiretroviral agents. The combination of coadministered nucleoside reverse transcriptase inhibitors was ZDV-3TC in 37 patients, 3TC-TDF in 8 patients, 3TC-d4T in 8 patients, 3TC-ABC in 5 patients, ABC-TDF in 3 patients, TDF-FTC in 2 patients, ddI-TDF in 1 patient, and ddI-ABC in 1 patient. The drug adherence of each patient was confirmed by interview and viral load (<50 copies/ml). Also patients had not been administered any drugs metabolized through the CYP3A pathway. The hepatic and renal functions of all patients were normal.

Plasma sampling was performed in the afternoon at an outpatient HIV clinic. All samples were prospectively obtained for the purpose of routine therapeutic drug monitoring. LPV plasma concentrations were determined by high-performance liquid chromatography according to our previously described methods.¹ We measured LPV plasma concentrations six times on average (range: 1–32 times) for recruited patients. The distribution of LPV plasma concentrations ($n = 419$) is shown in Fig. 1. PK parameters (mean \pm SD) for LPV obtained using moment analysis were as follows: total area under the plasma concentration curve (AUC), $94.4 \pm 8.6 \mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$; mean residence time (MRT), $10.0 \pm 1.2 \text{ h}$; elimination half-life ($t_{1/2}$), $5.1 \pm 0.9 \text{ h}$; appearance oral clearance (CL/F, $F =$ oral bioavailability), $4.23 \pm 0.3 \text{ liters/h}$; and volume of distribution (V/F), $42.6 \pm 1.6 \text{ l}$. AUC, $t_{1/2}$, CL/F, and V/F values obtained in this study were similar to those reported in American subjects.^{2–5} We have previously reported that the $t_{1/2}$ of LPV tended to be prolonged after food intake in a single-dose study of healthy Japanese individuals,⁶ but no such tendency was detected in this multidose study of Japanese HIV-1-infected patients. Our present data suggest that Japanese patients are sim-

ilar to American patients in terms of PK findings for LPV at steady state. The recommended dose of LPV in the guideline⁷ will thus also be suitable for Japanese HIV-1-infected patients.

The institutional review board of the National Hospital Organization Nagoya Medical Center approved this study and plasma samples were prepared from patients after obtaining written informed consent.

Moment analysis was performed using a PK analysis program developed by Tabata *et al.*⁸ Details of the method were previously reported by Yamaoka *et al.*⁹

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported in part by Health Science Research Grants for Research on HIV/AIDS from the Ministry of Health, Labor, and Welfare of Japan (H13-AIDS-001 and H16-AIDS-002 to T.K.). We wish to thank Miss Aiko Mizutani and Mr. Takahito Kaji for their technical support during sample analysis.

REFERENCES

1. Takahashi M, Yoshida M, Oki T, Okumura N, Suzuki T, and Kaneda T: Conventional HPLC method used for simultaneous determination of the seven HIV protease inhibitors and nonnucleoside reverse transcription inhibitor efavirenz in human plasma. *Biol Pharm Bull* 2005;28:1286–1290.
2. Cvetkovic RS and Goa KL: Lopinavir/ritonavir: A review of its use in the management of HIV infection. *Drugs* 2003;63:769–802.
3. Bertz R, Lam W, Brun S, Kumar G, Fields C, Orth K, Jennings J, Hsu A, Granneman GR, Japour A, and Sun E: Multiple-dose pharmacokinetics (PK) of ABT-378/ritonavir (ABT-378/r) in HIV+ subjects. 39th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, CA, September 26–29, 1999.
4. Bertz R, Renz C, Foit C, Swerdlow J, Ye X, Jasinsky O, Hsu A, Granneman GR, and Sun E: Steady-state pharmacokinetics of Kaletra (lopinavir/ritonavir 400/100 mg BID) in HIV-infected subjects when taken with food. 2nd International Workshop on Clinical Pharmacology of HIV Therapy, Noordwijk, The Netherlands, April 2–4, 2001.

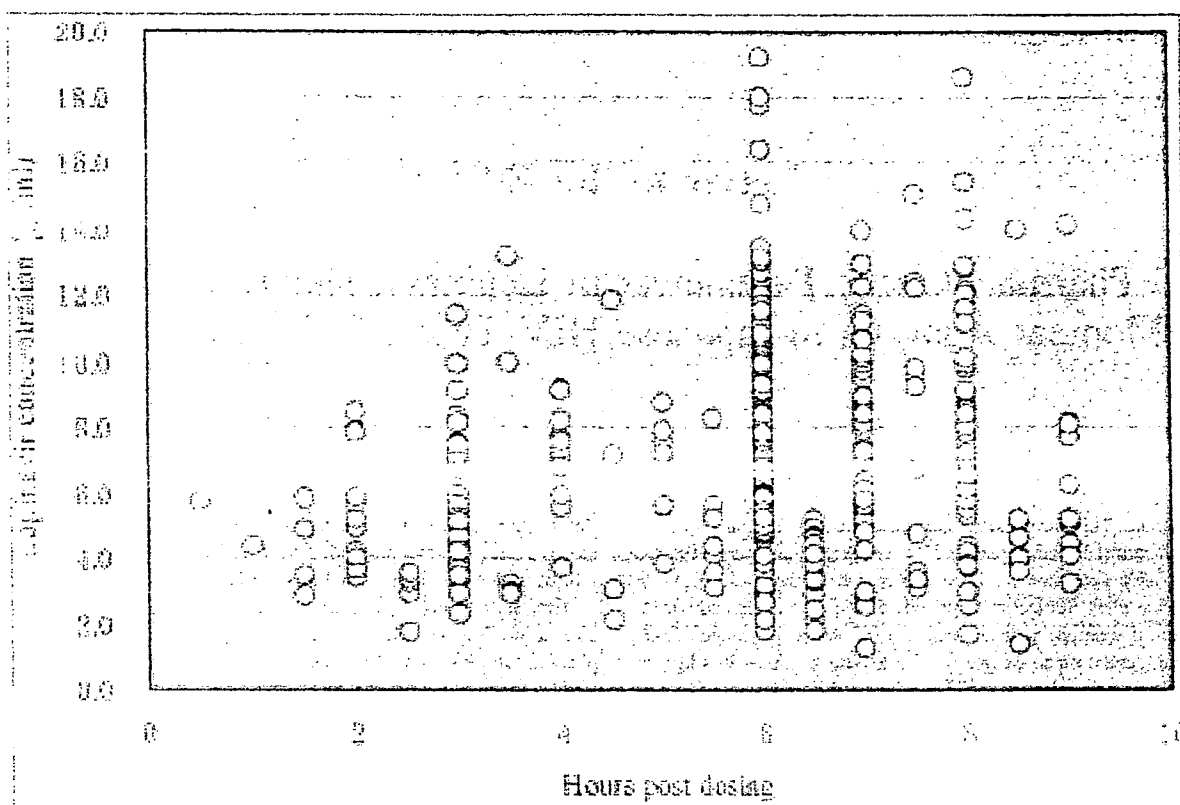


FIG. 1. Distribution of lopinavir plasma concentrations in 65 Japanese HIV-1-infected patients ($n = 419$). Measured concentrations are plotted versus hours postdosing.

5. Crommentuyn KM, Mulder JW, Mairuhu AT, van Gorp EC, Meenhorst PL, Huitema AD, and Beijnen JH: The plasma and intracellular steady-state pharmacokinetics of lopinavir/ritonavir in HIV-1-infected patients. *Antiviral Ther* 2004;9:779-785.
6. Oki T, Usami Y, Nakai M, Sagisaka M, Ito H, Nagaoka K, Mamiya N, Yamanaka K, Utsumi M, and Kameda T: Pharmacokinetics of lopinavir after administration of Kaletra in healthy Japanese volunteers. *Biol Pharm Bull* 2004;27:261-265.
7. Developed by the DHHS Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents—A Working Group of the Office of AIDS Research Advisory Council (OARAC): Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents [online]. Available from URL: <http://AIDSinfo.nih.gov>. Accessed May 7, 2007.
8. Tabata K, Kaibara A, Suzuki S, Terakawa M, Hata T, and Yamaoka K: Moment analysis program available on Microsoft Excel. *Yakuhutsudoutai* 1999;14:286-293. In Japanese [online]. Available from URL: <http://www.pharm.kyoto-u.ac.jp/hyoyaku/Kinetics/download.html>. Accessed April 10, 2007.
9. Yamaoka K, Nakagawa T, and Uno T: Statistical moments in pharmacokinetics. *J Pharmacokinetic Biopharm* 1978;6:547-558.

Musaki Takahashi^{1,2}
 Yuichi Kudaka^{1,2}
 Naoya Okamura^{1,2}
 Atsushi Hirano^{1,2}
 Kuzuhide Banno¹
 Tsuguhiro Kaneda²

Address reprint requests to:
 Tsuguhiro Kaneda
 Clinical Research Center
 National Hospital Organization Nagoya Medical Center
 (Tokai Area Central Hospital for AIDS
 Treatment and Research)
 4-1-1 Sannomaru
 Naka-ku
 Nagoya, Aichi 460-0001, Japan

E-mail: kanedat@nnh.hosp.go.jp

¹Department of Pharmacy and ²Clinical Research Center, National Hospital Organization Nagoya Medical Center (Tokai Area Central Hospital for AIDS Treatment and Research), Nagoya, Japan.

Trend of Drug-Resistant HIV Type 1 Emergence among Therapy-Naive Patients in Nagoya, Japan: An 8-Year Surveillance from 1999 to 2006

SHIRO IBE,¹ JUNKO HATTORI,¹ SEIICHIRO FUJISAKI,¹ URARA SHIGEMI,¹ SAEKO FUJISAKI,¹ KAYOKO SHIMIZU,¹ KAZUYO NAKAMURA,¹ TAKEJIRO KAZUMI,² YOSHIYUKI YOKOMAKU,¹ NAOTO MAMIYA,¹ MOTOHIRO HAMAGUCHI,¹ and TSUGUHIRO KANEDA¹

ABSTRACT

We studied the emergence of drug-resistant human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) with major amino acid mutations in 402 therapy-naive patients at Nagoya Medical Center, Japan, between 1999 and 2006. The mean prevalence of drug-resistant HIV-1 was 6.7% (range, 2.3–10.0%; $n = 27$). HIV-1 variants with protease inhibitor (PI)-resistant mutations alone were most frequently found (3.5%, $n = 14$), followed by those with nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI)-resistant mutations alone (1.7%, $n = 7$). Variants with nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NRTI)-resistant mutations alone were sporadically found (1.0%, $n = 4$). A variant possessing both NRTI- and PI-resistant mutations was detected in one patient (0.2%) and a variant possessing both NNRTI- and PI-resistant mutations was identified in another patient (0.2%). In addition, another 17 variants (4.2%, $n = 17$) with only 215-revertant mutations (T215C/D/G/L/S) that can easily revert to the nucleoside analogue-associated mutation of T215Y/F were found. The 402 viruses were phylogenetically analyzed, revealing three independent clusters comprising PI-resistant variants with the M46I or L90M mutation, NNRTI-resistant variants with the K103N mutation, and 215-revertant variants. The PI-resistant and 215-revertant strains have been spreading since 2000, and the NNRTI-resistant strain has started spreading since 2003. The nature of the epidemic and information for successfully blocking the spread of drug-resistant HIV-1 were clarified in this study.

INTRODUCTION

COMBINATION THERAPY with three or more antiretroviral drugs (highly active antiretroviral therapy, HAART) can strongly suppress the replication of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and maintain the amount of HIV-1 RNA in plasma (viral load) under detectable levels in many cases.^{1–5} However, HIV-1 variants with decreased susceptibility to antiretroviral drugs are sometimes found under conditions in which the drug concentration is insufficient to suppress viral replication following poor adherence to treatment regimens.^{4–9} Such variants might become an origin for HIV-1 transmission, resulting in the finding of drug-resistant HIV-1 in therapy-naive individuals.

This represents a serious problem in therapy, as such variants hinder antiretroviral therapy from the first trial.^{10–16} Determining whether therapy-naive patients are infected by drug-resistant HIV-1 before starting HAART is thus important. The present study studied emergence trends for drug-resistant HIV-1 with major mutations among therapy-naive patients in the Nagoya Medical Center, Japan, between 1999 and 2006. We also studied the emergence of HIV-1 with 215-revertant amino acid mutations in the reverse transcriptase (RT), as 215-revertant variants can easily change to nucleoside RT inhibitor (NRTI)-resistant variants.^{17–20} The final aim of the study was to understand the epidemiological nature of drug-resistant variants and obtain information to successfully block their spread.

¹Clinical Research Center and ²Department of Clinical Research Laboratory, National Hospital Organization Nagoya Medical Center (Tokai Area Central Hospital for AIDS Treatment and Research), Nagoya, Aichi 460-0001, Japan.