

図1 逆転写酵素阻害剤耐性変異の部位と耐性化機序

HIVの逆転写酵素の構造と耐性変異の部位、耐性化機序を示す。HIVの逆転写酵素はp66とp51の2つの分子からなる。p66とp51分子の違いはRNaseHドメインの有無であり、それ以外の配列は同一である。p66には5つのドメインがあり、それぞれfinger, palm, thumb, connective, RNaseHドメインと名付けられている。ポリメラーゼ活性は110番、185番そして186番の3個のアスパラギンで、palmドメインに位置する。

a: 左: NRTIの耐性変異はfingerドメインに集中している。右: AZTの耐性変異はexcision反応を促進することで耐性を示す。

b: 184番目に位置するメチオニン(左: グレーのボール)がバリンに置換すると(右: グレーのボール)、側鎖の方向が変わり、3TC分子と衝突するようになる。その結果3TC耐性を呈するようになる。

c: NNRTIの耐性変異は薬剤結合ポケットの壁を形成するアミノ酸に生じる(白ボール)。その結果薬剤との結合力が低下し、耐性を呈する。

の NNRTI に対して高感受性を呈することが知られている。高感受性は臨床的にも良い結果につながるとされている<sup>5)</sup>。

#### b. NNRTI 耐性化機序

NNRTI は逆転写酵素活性中心近傍にある窪みにはまり込むことにより、活性中心である YMDD 配列のアスパラギン酸の位置をずらすことにより逆転写酵素活性を失活させる (図 1-c)。今日 nevirapine (NVP), efavirenz (EFV), delavirdine (DLV) の 3 剤が認可されている。NNRTI は酵素に直接結合する薬剤のため、薬剤耐性変異は薬剤と逆転写酵素の結合部位に出現し、両者の結合親和性を低下させることにより耐性を呈する。したがって、変異獲得によって引き起こされる薬剤感受性の変化も大きく、1つの変異で数百倍もの耐性を示す場合がある<sup>6)</sup>。NNRTI の問題は結合ポケットが小さいことから、薬剤間の交差耐性が著しいことである。

#### c. プロテアーゼ阻害剤耐性化機序

PI は HIV-1 複製サイクルの後期における HIV 粒子の成熟と感染性の獲得に作用する酵素プロテアーゼを阻害する薬剤である。1995 年に saquinavir (SQV), zidovudine (ZDV), zalcitabine (ZCZ) という 3 種類のプロテアーゼ阻害剤が登場し、これにより HAART が行われるようになった。その後 nelfinavir (NFV), amprenavir (APV), lopinavir (LPV) そして atazanavir (ATV) が登場し現在に至っている。PI は NNRTI 同様に標的酵素に直接結合することから、薬剤耐性変異は薬剤と酵素の結合部に出現する (図 2-a)。SQV, RTV, IDV, NFV の 4 剤では要となる耐性変異 (major mutation) がはっきりしており、プロテアーゼ活性中心周囲に薬剤との水素結合形成を避けるような変異が起き、結合親和性が低下することにより耐性となる。APV, LPV, ATV では major mutation はあるが、それ以外に複数の変異が集積することによっても耐性を呈するようになる。いずれの薬剤も該当する変異が 6-7 個以上集積するとそれに応じて薬剤耐性を呈するようになり、また耐性度は集積する変異数に依存する。major mutation ではないが薬剤耐性に関与している変異を minor mutation と定義し、耐性レベ

ルを引き上げる、あるいはウイルスの増殖を改善するような働きを考えると考えられている。図 2-b に示すように minor mutations は酵素活性部ではなく、その周辺部に存在する。

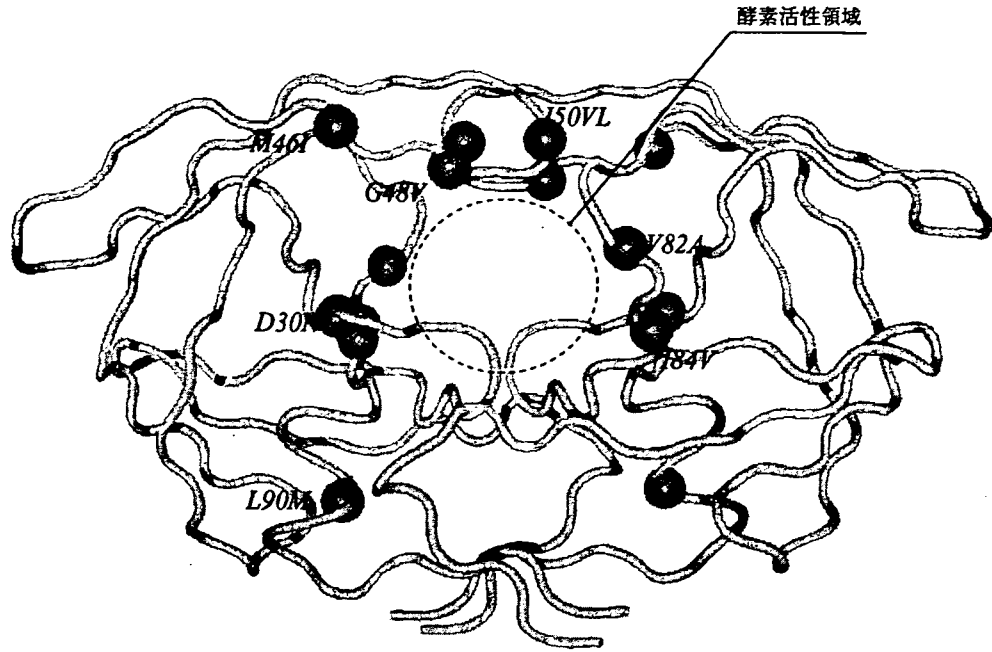
### 3. 新規感染者にみられる薬剤耐性 HIV-1

抗 HIV 療法の進んでいる先進諸国では、薬剤治療を受けている感染者の増大とともに薬剤耐性変異の新規感染者への拡散が大きな問題となりつつある。報告により幅があるが、使用歴の長い NRTI で 1.8-14.5%, NRTI より新しい PI では 2-3% 程度見いだされる。我が国の状況については、著者らが行った 2003 年から 2004 年にかけての調査研究の結果があるが、これによると薬剤耐性の検出頻度は 5.0% であった。現在の HIV-1 感染症をとりまく種々の状況、そして結核など別の病原体における薬剤耐性の歴史をみると、新規感染者における薬剤耐性は広がっていく恐れがあり、調査の継続および拡大予防の対策を講じておくことが重要であろう。

### 4. Non-B サブタイプの薬剤耐性変異

HIV-1 には 3 つのグループ、グループ M (main group), グループ O (outlier group) そしてグループ N (non-M/non-O group) があり、現在世界で広がっているものの多くはグループ M に含まれるウイルスである。このグループ M に含まれる HIV-1 はその遺伝子配列より更に 9 種類のサブタイプ (A, B, C, D, F, G, H, J, K) と 19 種類以上の circulating recombinant format (CRF) に分類される (CRF\_01~CRF\_19)。欧米諸国そして我が国ではグループ M のサブタイプ B が主流であるため治療薬剤開発や薬剤耐性の研究は B を対象に行われてきた。一方、HIV/AIDS 患者の 8 割が生活するアジア・アフリカにおいては、B 以外のサブタイプと CRF が圧倒的に多い。このような背景から近年 B 以外の薬剤耐性化に対する関心が高まり研究されている。その結果、G, C, E のいずれのサブタイプにおいても PI の一つである NFV の耐性変異 D30N が出現しにくい結果が報告されている<sup>7-9)</sup>。また NNRTI の EFV においても耐性変異パターンが B とは異なってい

a. major (primary) mutation は活性中心周囲に主に位置している



b. minor (secondary) mutation はプロテアーゼ分子の周辺領域に位置している

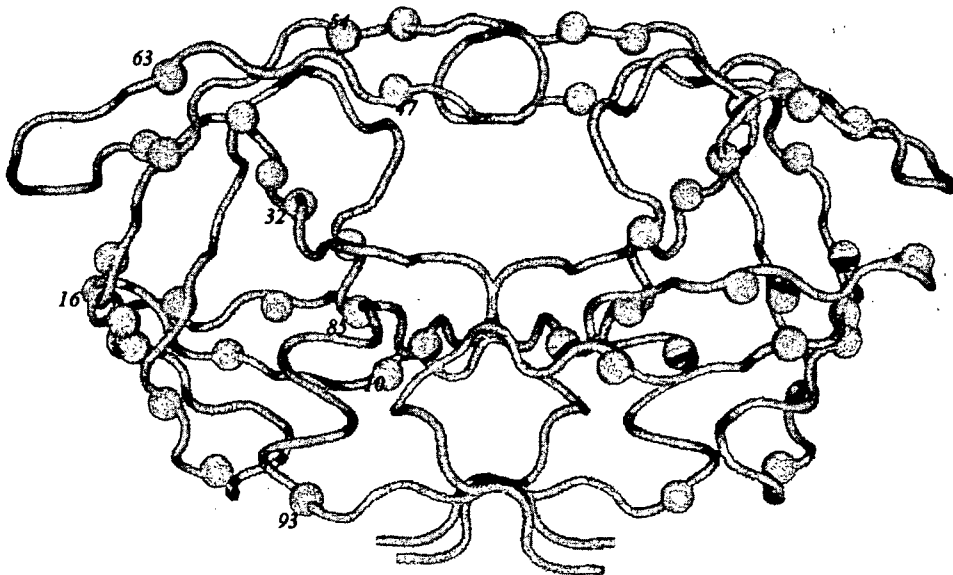


図2 プロテアーゼの構造と阻害剤耐性変異の部位

HIVのプロテアーゼの構造と耐性変異の部位を示す。HIVのプロテアーゼは99個のアミノ酸からなる分子2つよりなる。酵素活性は中心に位置しており、a: 薬剤の耐性に大きく影響する major mutation はその周囲に主に観察される。b: 一方 minor mutation は分子の周辺領域に観察される。

ることが報告されている<sup>10)</sup>。non-B の薬剤耐性については現在多くの研究グループが関心をもって取り組んでおり、国際的な共同研究も進められている<sup>11)</sup>。

### おわりに

今日世界には 4,000 万人の HIV 感染者がいると推測されているが、そのうち治療を受けている感染者の数は 130 万人にすぎない。本稿で述べてきた薬剤耐性はどちらかというと思われた

国での問題であるが、それでも近年発展途上国でも薬剤耐性症例増加の報告が相次いでいる。薬剤耐性の克服は、新薬開発もその一つであるが、根本的には HIV 感染拡大を抑え込むことが必要である。予防ワクチンも根治薬剤をもたない現状では HIV/AIDS の感染拡大予防に、何が必要なのか？ 一番有効な対策は感染予防であり、これには教育と啓発に力を注ぐことであることを最後に強調したい。

### ■ 文 献

- 1) Johnson V, et al: Update of the drug resistance mutations in HIV-1: Fall 2005. *Top HIV Med* 13: 125-131, 2005.
- 2) Meyer PR, et al: Unblocking of chain-terminated primer by HIV-1 reverse transcriptase through a nucleotide-dependent mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 13471-13476, 1998.
- 3) Nikolenko G, et al: Mechanism for nucleoside analog-mediated abrogation of HIV-1 replication: balance between RNase H activity and nucleotide excision. *Proc Natl Acad Sci USA* 102: 2093-2098, 2005.
- 4) Parikh U, et al: The K65R mutation in human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase exhibits bidirectional phenotypic antagonism with thymidine analog mutations. *J Virol* 80: 4971-4977, 2006.
- 5) Haubrich R, et al: The clinical relevance of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor hypersusceptibility: a prospective cohort analysis. *AIDS* 16: F33-40, 2002.
- 6) Balzarini J, et al: Differential antiherpesvirus and antiretrovirus effects of the (S) and (R) enantiomers of acyclic nucleoside phosphonates: potent and selective in vitro and in vivo antiretrovirus activities of (R)-9-(2-phosphonomethoxypropyl)-2,6-diaminopurine. *Antimicrob Agents Chemother* 37: 332-338, 1993.
- 7) Grossman Z, et al: Genotypic variation of HIV-1 reverse transcriptase and protease: comparative analysis of clade C and clade B. *AIDS* 15: 1453-1460, 2001.
- 8) Ariyoshi K, et al: Patterns of point mutations associated with antiretroviral drug treatment failure in CRF01\_AE(subtype E) infection differ from subtype B infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 33: 336-342, 2003.
- 9) Gomes P, et al: Different pathway to nelfinavir genotypic resistance in HIV-1 subtype B and G. 9th CROI, 2002.
- 10) Brenner B, et al: A V106M mutation in HIV-1 clade C viruses exposed to efavirenz confers cross-resistance to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *AIDS* 17: F1-5, 2003.
- 11) Kantor R, et al: Impact of HIV-1 subtype and antiretroviral therapy on protease and reverse transcriptase genotype: results of a global collaboration. *PLoS Med* 2: e112, 2005.

# 生体防御 医学事典

鈴木和男  
…[監修]…  
山本健二  
吉開泰信  
光山正雄  
中山俊憲  
赤川清子  
瀬谷 司  
上出利光  
岡田則子  
住本英樹  
川畑俊一郎  
朽津和幸  
小林茂人  
大野尚仁  
…[編集]…

朝倉書店

# 14 HIV 感染症の治療と薬剤耐性

## 1. human immunodeficiency virus の発見と治療薬剤開発

1983年にフランスのリュック・モンタニエ博士と米国のロバート・ギャロ博士により AIDS を引き起こす原因ウイルス HIV-1 が分離・同定されその遺伝子配列が解明された。HIV-1 の遺伝子は plus 鎖の RNA であり、mRNA 同様に 5' の cap 構造と 3' の poly A tail をもっている。遺伝子は全長約 9.2 kb であり、1 つのウイルス粒子内に RNA 鎖を 2 本もっていることが知られている。HIV-1 の遺伝子は宿主細胞に進入後、直接 mRNA としては機能せずウイルス粒子がもつ逆転写酵素 (reverse transcriptase) により DNA 鎖に逆転写されることからその複製サイクルが始まる。逆転写反応で作られたゲノム DNA は細胞核に移動し、そこでインテグラーゼの働きにより宿主ゲノムに組み込まれる。組み込まれた遺伝子からは合計 10 種類

の蛋白をコードする遺伝子が作り出される。この中でも *gag*, *pol*, *tat*, *rev*, *env* の 5 種類の遺伝子は HIV-1 の複製に不可欠なものであり、治療薬剤の標的として研究されてきた。今日我が国において使用されている抗 HIV-1 薬剤は *pol* 遺伝子にコードされている 2 種類の酵素、逆転写酵素とプロテアーゼ、を阻害する薬剤である (表 1)。また近年同じ *pol* 遺伝子にコードされている 3 番目の酵素、インテグラーゼを阻害する薬剤や、*env* 遺伝子にコードされている gp 41-gp 120 を標的とした薬剤の開発が活発に行われている。

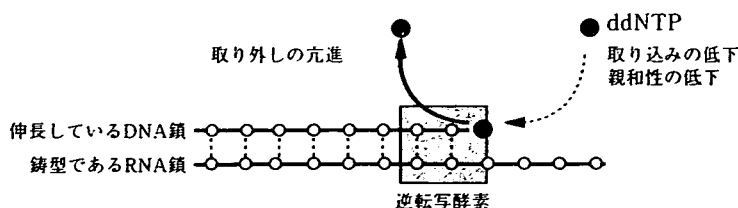
HIV-1 感染症の治療薬剤は 1986 年の Zidovudine (AZT) の開発・実用化で幕を開けた。この最初の抗 HIV-1 薬剤 AZT は DNA の構成成分であるヌクレオシドと類似の構造をもっており、HIV-1 複製サイクル初期に起こる逆転写反応の際に伸長する DNA 鎖へ正常のヌクレオシドと競合して取り込まれ、DNA の伸長反応を阻害することからヌク

表 1 現在使用されている抗 HIV 薬剤一覧

クラス	一般名 (略表記)	商標名	認可年
ヌクレオシド型逆転写酵素阻害薬 (nucleoside analogue RT inhibitor: NRTI)	zidovudine (AZT)	レトロビル	1987
	didanosine (ddI)	ヴァイデックス	1992
	zalcitavine (ddC)	ハイビット	1996
	stavudine (d4T)	ゼリット	1997
	lamivudine (3TC)	エビビル	1997
	emtricitabine (FTC)	エムトリバ	2005
	abacavir (ABC)	ザイアジェン	1999
	tenofovir (TDF)	ビリアード	2003
	非ヌクレオシド型逆転写酵素阻害薬 (non-nucleoside RT inhibitor: NNRTI)	nevirapine	ヴィラミューン
efavirenz		ストックリン	1999
delavirdine		レスクリプター	2000
プロテアーゼ阻害薬 (protease inhibitor)	saquinavir	インビラーゼ/フォートベイス	1997
	ritonavir	ノーピア	1997
	indinavir	クリキシバン	1997
	nelfinavir	ピラセプト	1998
	amprenavir	ブローゼ	1999
	fosamprenavir	レクシヴァ	2005
	lopinavir/ritonavir	カレトラ	2000
	atazanavir	レアタッツ	2003
	Darunavir/ritonavir	ブレジスタ	未*

\*: 米国では 2006 年に承認

## A スクレオシド系逆転写酵素阻害薬の耐性機序



## B 非スクレオシド系、プロテアーゼ阻害薬の耐性機序

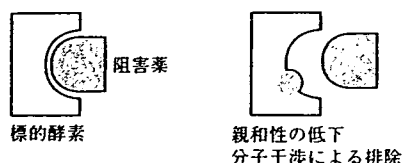


図1

レオシド系逆転写酵素阻害薬 (nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitor: NRTI) とよばれている。NRTIは多数開発され、現在では didanosine(ddI), zalcitavine(ddC), stavudine(d4T), lamivudine(3TC), 3TCにフッ素が付与されたFTC, abacavir(ABC)そして2004年に入り非環状構造をもち、かつリン酸がすでに1個付加されているヌクレオシド系の tenofovir が加わり合計9種類の薬剤が使用されている。NRTIに続いて逆転写酵素同様 HIV-1の複製に必須な酵素であるプロテアーゼに対する阻害薬 (protease inhibitor: PI) が1995年に登場した。この年、サキナビル (saquinavir: SQV), リトナビル (ritonavir: RTV), インジナビル (indinavir: IDV) という3種類のプロテアーゼ阻害薬が実用化され、強力な多剤併用療法が可能となった。その後ネルフィナビル (nelfinavir: NFV), アンブレナビル (amprenavir: AMP), ロピナビル (lopinavir: LPV) そしてアタザナビル (atazanavir: ATV) が開発実用化されて現在に至っている。PIと前後して登場してきた3番目の薬剤は非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害薬 (non-nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitor: NNRTI) である。このタイプの薬剤は、その名が示すとおり、逆転写酵素を阻害する薬剤であるが、NRTIとは構造も阻害機序も異なっている。NNRTIは逆転写酵素の酵素活性中心近傍にある構造上の窪みにはまり込むことにより活性中心の構造

を崩すことにより逆転写酵素活性を抑制する (allosteric inhibitor)。現在ネビラピン (nevirapine: NVP), エファビレンツ (efavirenz: EFV), テラベルジン (delavirdine: DLV) の3剤が認可されている。3剤の中でも2000年に登場したエファビレンツは逆転写酵素と不可逆的に結合することから tight binding inhibitor とよばれ、殺菌剤としての使用も可能とされている。

## 2. 多剤併用療法とその限界

NRTI2剤にPIもしくはNNRTIを1~2剤組み合わせた多剤併用療法 (highly active antiretroviral therapy: HAART) は大変優れた治療効果を示し、HIV-1感染者体内におけるウイルスの増殖をほぼ完全に抑制し、CD4陽性T細胞数の回復をも実現した。しかしながらHAARTを受けている感染者体内におけるHIV-1の減衰をウイルスの体内動態から推測した結果、体内のウイルスを完全に排除するためには少なくとも73年の治療が必要と算出され、HAARTをもってしても根治には程遠いことが明らかになった。それでもHAART導入後、欧米においてはAIDSによる死亡者数は顕著に減少し、HIV-1感染症の予後は大きく改善された。しかし残念なことに、HAARTの恩恵を得るのは容易ではなく、いったん治療をはじめたらHIV-1感染者は厳格な服薬、95%以上のアドヒアランスの達成が求められる。近年排泄・代謝の遅い新薬・新剤型の登場により、1日1回の服用でのコ

ントロールが可能となり、随分と負担が軽減されたが、それでも終生飲むことには変わりはない。また、治療薬剤には深刻な副作用を示すものが多数あり、副作用のために服薬中止を余儀なくされる症例も多い。さらに治療薬剤に対して耐性を獲得したウイルスの出現も治療を妨げる大きな問題である。報告によれば初回治療患者の実に20~40%が、前述のような問題でウイルス増殖の抑え込みに失敗するとされている。その原因の中でも薬剤耐性ウイルスの出現はその後の治療薬剤の選択を大幅に制限するために深刻な問題となっている。

### 3. HIV-1 薬剤耐性獲得の機序

HIV-1が治療薬剤耐性を獲得しやすい理由は2つあげられる。1つ目はきわめて活発なウイルスの新生である。HIV-1感染症は感染成立からAIDS発病まで5~10年という長い潜伏期があるため、一見緩慢な疾患のようにみえるが、感染者生体内において1日に $10^{10}$ 個にも及ぶ新たなHIV-1粒子が産生される活動的かつ消耗性のウイルス疾患である。2つ目は逆転写酵素の逆転写精度の低さにある。HIV-1の逆転写酵素はDNAポリメラーゼと異なりproof reading活性をもたないために逆転写の精度が低いことが知られている。RNAがDNAへの逆転写過程で変異を起こす頻度は30万塩基対に対して1回起こりうると推定されている。前述の活発なウイルス増殖と併せて考えると、少なくとも1カ所の変異をもったウイルスが1日に $3 \times 10^4$ 個生み出される計算になる。このような易変異獲得性のために、HIV-1は感染者体内において多様性と可塑性に富む集団を形成している。このためHIV-1は治療薬剤中濃度が不十分のためHIV-1の増殖が抑えきれない状況におかれると、当該薬剤に対して耐性変異をもつウイルスの増殖と選択を容易に許すこととなる。そしてこのような薬剤が存在しつつも増殖が抑え切れていない環境でウイルスの複製が繰り返されることにより、時間とともに薬剤耐性に関与する変異がウイルスに集積し、薬剤耐性レベルが上昇していく。今日ほとんどの薬剤耐性変異は薬剤を投与されていない状況下ですでに多様性の範疇で存在していると考えられている。しかし一般的に薬剤耐性変異はウイルスの増殖能 (replication capacity)、適合性 (fitness) が薬剤耐性をもたないウイルスに比べて低いために、薬剤非存在下では感染者体内で優位の集簇として生存することは困難であ

ると考えられる。

### 4. 各薬剤クラスにおける耐性変異とその機序

一般に薬剤耐性変異は治療薬剤の標的であるそれぞれの酵素に出現してくる。NRTIとNNRTIは逆転写酵素に、PIではプロテアーゼにおいて耐性に関与する特有の変異が誘導される。現在知られている耐性変異の一覧を図2に示す。

#### 1) NRTI 耐性機序

NRTIの耐性化機序には2つの異なる機序の存在が知られている。1つは耐性変異の獲得によりNRTIの取り込みが低下する機序である (decreased uptake)。代表的なものでは逆転写酵素184番目のアミノ酸メチオニンがバリンに変わる (M184V変異) 3TC耐性変異がこれに該当する。この機序による耐性の特徴として単独の変異できわめて高い耐性レベルを呈することがあげられる。M184V変異を獲得するとウイルスは3TCに対して数百倍以上の耐性になる。もう1つの耐性化機序は逆転写反応の際に取り込まれてDNAの伸張を阻害していたNRTIが取り外されてしまい、DNAの伸長が再開されてしまう機序である (excision, pyrophosphorolysis)。これに該当する代表的なものはAZTに対する耐性変異 (thymidine analogue resistant mutation: TAM) のM41L, D67N, K70R, L210W, T215Y/F, K219Q/Eであり、AZT耐性変異獲得ウイルスでは、このような取り外し反応が野生株に比して起きやすいと考えられている。また興味深いことにAZT耐性変異を獲得すると3TC/FTC害のすべてのNRTIに対してもある程度の耐性を呈するようになることが知られており、ddNTPを取り外す反応はNRTIに共通して起こりうる主要な耐性化機序であると考えられる。この機序による耐性変異の特徴として、変異は単独では強い耐性を呈さないが、複数の変異の集積により相加的、相乗的に耐性度が上昇することが知られている。

#### 2) NNRTI 耐性化機序

NNRTIはNRTI剤とは全く異なった機序で耐性化する。NNRTIは逆転写酵素に直接結合する薬剤のため、薬剤耐性変異であるL100I, K103N, V106A/M, V108I, Y181CY, Y188CLH, G190A, P225H, P236Lはいずれも薬剤と逆転写酵素の結合部位に位置している。両者の結合親和性を低下させることにより耐性を呈する。したがっ

codon No.	41	44	62	65	67	69	70	74	75	77	100	103	106	108	115	116	118	151	181	184	188	190	210	215	219	225	230	236										
AA.in.wild.type	M	E	A	K	D	I	K	L	Y	F	V	Q	Y	M	Y	G	L	I	K	P	M	P																
レトロビル( AZT)	L																																					
ワイドテックス( ddI)																																						
ハイビット( ddC)																																						
ゼリット( dAT)																																						
Emtriva( FTC)																																						
エビル( 3TC)																																						
サイアジエン( ABC)																																						
ビルアード( TDF)																																						
151 complex																																						
69 ins complex																																						
multi-NRTI																																						
AA.in.wild.type	M	E	A	K	D	I	K	L	Y	F	V	Q	Y	M	Y	G	L	I	K	P	M	P																
codon No.	41	44	62	65	67	69	70	74	75	77	100	103	106	108	115	116	118	151	181	184	188	190	210	215	219	225	230	236										
AA.in.wild.type	M	E	A	K	D	I	K	L	Y	F	V	Q	Y	M	Y	G	L	I	K	P	M	P																
ピラミューン( NVP)																																						
ストックリン( EFV)																																						
レスクリブター( DLV)																																						
multi-NNRTI																																						
multi-NNRTI																																						
AA.in.wild.type	M	E	A	K	D	I	K	L	Y	F	V	Q	Y	M	Y	G	L	I	K	P	M	P																
codon No.	41	44	62	65	67	69	70	74	75	77	100	103	106	108	115	116	118	151	181	184	188	190	210	215	219	225	230	236										
AA.in.wild.type	M	E	A	K	D	I	K	L	Y	F	V	Q	Y	M	Y	G	L	I	K	P	M	P																
codon No.	10	11	13	16	20	2	30	32	33	34	35	36	43	46	47	48	50	53	54	58	60	62	63	64	69	71	73	74	76	77	82	83	84	85	88	89	90	93
AA.in.wild.type	L	V	I	G	K	L	D	V	L	E	E	M	K	M	I	G	I	F	I	Q	D	I	L	H	A	Q	T	L	V	V	N	I	N	L	L	I		
AA.in.wild.type	L	V	I	G	K	L	D	V	L	E	E	M	K	M	I	G	I	F	I	Q	D	I	L	H	A	Q	T	L	V	V	N	I	N	L	L	I		
codon No.	10	11	13	16	20	2	30	32	33	34	35	36	43	46	47	48	50	53	54	58	60	62	63	64	69	71	73	74	76	77	82	83	84	85	88	89	90	93
AA.in.wild.type	L	V	I	G	K	L	D	V	L	E	E	M	K	M	I	G	I	F	I	Q	D	I	L	H	A	Q	T	L	V	V	N	I	N	L	L	I		
codon No.	10	11	13	16	20	2	30	32	33	34	35	36	43	46	47	48	50	53	54	58	60	62	63	64	69	71	73	74	76	77	82	83	84	85	88	89	90	93
AA.in.wild.type	L	V	I	G	K	L	D	V	L	E	E	M	K	M	I	G	I	F	I	Q	D	I	L	H	A	Q	T	L	V	V	N	I	N	L	L	I		

□ 一次変異：薬剤投与後最初に出現  
 することが多い変異であり、かつ  
 薬剤感受性に大きく影響を及ぼす  
 もの。  
 □ 二次変異：一次変異に続いて出現  
 してくる変異であり、一次変異と  
 組み合わさることにより耐性レベ  
 ルを上げる（プロテアーゼのみ）。

図2 抗 HIV-1 薬剤と誘導される耐性変異のまとめ

て、耐性変異の獲得によって引き起こされる薬剤感受性の変化も大きく、単独変異で数百倍もの耐性を示すことが知られている。NNRTIの結合する窪みは小さいことから、3種類に NNRTI の耐性変異は重なっており、交叉耐性が著しいことが知られている。

### 3) PI 耐性化機序

プロテアーゼ阻害薬は NNRTI と同様に、標的酵素に直接結合する薬剤であることから、薬剤耐性化機序は薬剤と酵素の結合親和性の低下である。したがって主要な変異の多くはプロテアーゼ活性中心近傍に集中している。これらの変異は特に耐性レベルに大きく影響を及ぼすことから primary mutation とよばれている。primary mutation には D 30 N, M 46 I/L, G 48 V, I 50 V, V 82 A/F/T/S, I 84 V, L 90 M があり、L 90 M を除きいずれも活性中心周辺に位置している。PI ではこの他薬剤結合部位から離れた部位にも薬剤投与に伴い変異が現れることが知られており、これらの変異は耐性レベルの増強だけでなく、primary mutation 獲得によるウイルスの増殖能の低下を補うことに関与していると考えられている。これらの変異は primary mutation に対比して secondary mutation とよばれている。この他に、プロテアーゼの基質である Gag の基質領域 (cleavage site) にも変異が誘導されることが報告されており、耐性ウイルスの増殖能の補完に重要であると考えられている。

## 5. HIV-1 の薬剤耐性検査とその適応

今日行われている薬剤耐性 HIV-1 を検出する方法には薬剤耐性遺伝子検査 (genotyping) と薬剤感受性検査 (phenotyping) という2つの手法がある。薬剤耐性遺伝子検査は治療薬剤の標的である逆転写酵素、あるいはプロテアーゼの遺伝子配列を解析することにより耐性の有無を調べる手法である。この検査の成立前提には各治療薬剤が特異的な点変異を標的酵素内に誘導するという事実がある。図2に見るように、薬剤はそれぞれいくつかの決まった耐性変異を誘導する。したがって誘導された耐性変異のパターンをみることによって、耐性を示す薬剤の判定が可能となる。薬剤により誘導される変異は単独であることもあれば、複数が組み合わさっていることもある。一般的に薬剤使用歴が長ければ長いほど耐性変異は集積していく。そして変異が複数あれば変異間の相互作用が生じ、それは往々にして薬

剤耐性レベルの増強とウイルスの増殖能力の上昇として反映される。遺伝子検査は比較的簡単であることから薬剤耐性検査の主流となりつつあるが、耐性変異が多数集積してくると変異間の相互作用も複雑になり、遺伝子検査評価の前提である変異と薬剤耐性の対応関係が崩れてくる場合がある。遺伝子検査法の限界はこの点にある。多数の変異が集積した場合には遺伝子型からの評価と実際の臨床経過の間に乖離が生じてしまう。このような症例に対応しては次に述べる薬剤耐性感受性検査を併せて実施し、薬剤耐性遺伝子検査の結果と比較することも必要である。

もう一方の手法である感受性検査は遺伝子検査と異なり、実際に HIV-1 の薬剤感受性を試験管内で測定する直接的な評価方法である。この検査の成立には患者由来の HIV-1 を回収することが必要である。今日 HIV-1 の回収には患者末梢血中単核球を *in vitro* で健常人の末梢血リンパ球と混合培養し上清中に出芽・放出された HIV-1 を回収してする方法、分子生物学的手法を用いて血漿中 HIV-1 粒子より抽出した HIV-1 RNA より HIV-1 を再構築させる方法など各種ある。感受性検査の実施には遺伝子検査と比較して高い技術力と費用が必要である。しかしながら、遺伝子検査において判定困難であったような多数の変異が集積した症例ではこの検査は威力を発揮する。感受性検査は直接に薬剤の効果を測定することから、理解しやすい結果を得ることができる。一般的に野生株の薬剤感受性と比較対照して、“何倍耐性”という数値で表現され、数値が大きいほど耐性レベルも高いことになる。このように、結果を理解しやすい反面、ウイルス分離の過程でさまざまな培養環境因子 (細胞、培地、血清 etc.) がウイルス集簇の選択に影響を及ぼすため、分離されたウイルスの集簇に歪みが生じてしまう可能性がある。すなわち、分離されてきたウイルス集簇と実際に感染者体内におけるウイルス集簇が完全に一致することは理論上あり得ない。極端な場合には生体内ではごくわずかしか存在していないウイルスが分離されることもあり得る。この点が感受性検査の限界である。また、検査結果が理解しやすいとはいっても、臨床的に薬剤変更の指標となるべき閾値がはっきりしないため薬剤変更の判断は必ずしも容易ではない。

薬剤耐性検査を行うべき時期については欧米のガイドラインでは次の5つのタイミングが示されている

る。すなわち、①急性感染、②慢性に経過している HIV 感染、③最初の治療が失敗した時、④その後の治療が失敗した時、⑤妊娠である。特に①に関しては薬剤耐性ウイルスが新規感染者に伝播しつつあることから重視されている。

薬剤耐性 HIV-1 遺伝子検査を評価するには、すべての臨床検査がそうであるように、耐性変異の基本的な知識と経験が必要である。個々の症例を詳細に検討し情報を集積していくことが肝心であろう。薬剤耐性を評価、そして対応するうえで重要なもう 1 つの事項は「薬剤耐性ウイルスの出現が当該薬剤の完全な無効を示しているわけではない」という点

である。多数の耐性変異が集積し高い耐性レベルを獲得し、血中ウイルス量が高く維持されていたとしても、その時点で投与している薬剤により抑えられているウイルス産生は必ず存在し、薬剤を完全に中止した場合は血中ウイルス量の上昇、CD4 陽性細胞の低下をきたすことが知られている。仮に薬剤耐性検査の結果のみを受けて短絡的に次々と薬剤を変更していけば、ウイルスが多剤耐性に陥るのを加速させることとなる。このような事態を避けるためには薬剤変更時期を血中 RNA コピー数と CD4 陽性細胞数の変動をみながら総合的に判定することが重要である。

[杉浦 互]

平成19年度 厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業  
「HIV感染症の医療体制の整備に関する研究」班  
総括・分担研究報告書

---

発行日 2008年3月31日

発行者 主任研究者 岡 慎一

発行所 研究班事務局  
国立国際医療センター  
エイズ治療・研究開発センター  
〒162-8655 東京都新宿区戸山1-21-1

---