

38人)。2006年以降、急性感染者の割合が増加しており、今年度は48名中11名(22.9%)が急性感染、BED assayにてrecentと診断された症例は10例(20.8%)であった。

- (耐性変異の頻度) RT領域ではT69N 2名(1名)、L101Q 1名(0)、K103N 1名(0名)、V108I 1名(0名)、N179D/E 3名(0名)、T210F 1名(0名)、T215I 1名(1名)。〈()内は急性感染者〉計10名(20.8%)に変異を認めた。PR領域では48名中47名に何らかの変異を認めたが、polymorphismがほとんどであった。なかでも、I93Lが年々増加してきており、今年度は32名(66.6%)に認められた(2005年:8%、2006年:38.5%、2007年:39.3%、2008年:46.9%、2009年:60.6%)。非特異的変異であるが、同様に頻度が増加している変異としてL63Aがある(2005年:16%、2006年:19.2%、2007年:30%、2008年:33.3%、2009年:39.4%、2010年:43.7%)。インテグラーゼ領域に関してはmajor mutationを認めず、1例にE157Qを認めた。サブタイプに関しては、全例Bであった。
- (BED assayについて) BED assayによる感染時期の推定では、10名がrecent infectionであった。WBによる結果から判定した場合、急性感染は11名であった。当院で施行したBED assayの感度は80%、特異度は92%となった。
- (CCR5指向性検査) EnvC2V3領域の解析が可能であった症例27例において指向性検査を施行した。10%以下、40-50%、90-100%の3つの部分にピークを認めた、感染時期(急性・慢性)とCCR5指向性の間に関連は認められなかった。CCR5指向性が80%以上の症例は80%以下の症例に比べCD4陽性細胞数が多い傾向があったが有意ではなかった。一方、CCR5指向性が10%以下の症例は10%以上の症例に比べ、HIV-RNAが有意に低値であった。

D. 考察

耐性変異について

2008年まではNRTI/NNRTI領域の耐性変異は数%で経過していたが、2009年24.2%、2010年20.8%と増加している。特にK103やV179といったNNRTI領域の変異の割合が高い。変異の比率が高くなっている原因については不明であるが、全国的にもK103Nは増加傾向であり、その影響を受けていると考えられる。今後も増加する可能性があり経過を追っていく必要がある。PR領域に関しては、例年どおりmajor mutationは認められず、polymorphismと考えら

れるものが主体であった。しかしI93LやL63Aの頻度は年々増加し、2010年においても増加が見られた。急性感染者において近年、早期に病状が進行するようになったことなどを考慮すると、新たに感染するウイルスが徐々に変化してきていることが示唆される。なお、急性感染と慢性感染における耐性変異の種類、頻度の差は年々、少なくなっている。

BED assayについて

BED assayにてrecent、WB法にて慢性感染期と診断された症例(偽陽性)は、AIDS発症例や病歴上、比較的早期に感染したと考えられる症例であった。一方、BED assayにてnot recent、WB法にて急性感染と診断された症例(偽陰性)は、自己抗体陽性例や顕性の梅毒感染を併発した症例など非特異的な免疫反応が生じる可能性がある症例であった。感度・特異度ともにさらに優れた検査法での検討が必要である。

CCR5指向性検査について

EnvC2V3領域は変異の多い部位であり当院では48例中27症例でのみ解析が可能であった。プライマーの再設定等、検査の感度を上げる必要がある。また、今後、治療薬としてCCR5阻害剤を使用する際、指向性検査が必須であるが、ウイルス量が少ない症例にも対応出来るよう、proviral DNAでの評価が必要であると考えられる。

E. 結論

- NRTI/NNRTI領域の変異が増加傾向にある。
- I93L、L64A増加しており、新たに感染するウイルスが変化している可能性がある。
- CCR5指向性検査に関しては、プライマーの選択、proviral DNAを用いる等、感度を上げる必要がある。

F. 健康危険情報

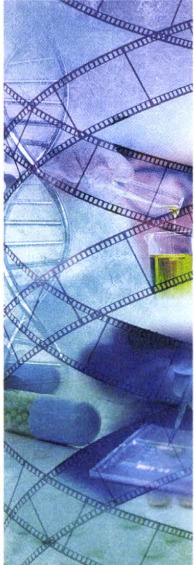
特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Comparison of the influence of four classes of HIV antiretrovirals on adipogenic differentiation: the minimal effect of raltegravir and atazanavir. Minami R, Yamamoto M, Takahama S, Ando H, Miyamura T, Suematsu E. J Infect Chemother. 2010 Aug 13.
- 2) Trends in transmitted drug-resistant HIV-1 and demographic characteristics of newly diagnosed patients: nationwide surveillance from 2003 to 2008 in Japan. Hattori J, Shiino T, Gatanaga H, Yoshida

- S, Watanabe D, Minami R, Sadamasu K, Kondo M, Mori H, Ueda M, Tateyama M, Ueda A, Kato S, Ito T, Oie M, Takata N, Hayashida T, Nagashima M, Matsuda M, Ibe S, Ota Y, Sasaki S, Ishigatsubo Y, Tanabe Y, Koga I, Kojima Y, Yamamoto M, Fujita J, Yokomaku Y, Koike T, Shirasaka T, Oka S, Sugiura W. *Antiviral Res.* 2010 Oct; 88(1): 72-9.
- 3) TaqmanPCR法によるHIV-RNA定量の基礎的検討 田中沙希恵、藤野達也、堀田飛香、原田 浩、中村辰巳、高橋真梨子、高濱宗一郎、安藤 仁、南 留美、山本正弘、国臨協九州別冊vol10 (1)、1-6、2010. 1
- ## 2. 学会発表
- 1) Some antiretroviral drugs increased the degree of steatosis in hepatitis B virus infected hepatocytes, Minami R, Takahama S, Ando H, Yamamoto M, XVIII International AIDS Conference, 18-23, July, 2010, Vienna, Austria
- 2) 抗HIV剤による代謝への影響、南 留美 第24回日本エイズ学会総会 ランチョンセミナー
- 3) 2003-2009年の新規HIV/AIDS診断症例における薬剤耐性頻度の動向 服部純子、椎野禎一郎、瀧永博之、林田庸総、吉田 繁、千葉仁志、小池隆夫、佐々木悟、伊藤俊広、内田和江、原 孝、佐藤武幸、上田敦久、石ヶ坪良明、近藤真規子、今井光信、長島真美、貞升健志、古賀一郎、太田康男、山元泰之、福武勝幸、加藤真吾、藤井毅、岩本愛吉、西澤雅子、仲宗根正、岡 慎一、伊部史朗、横幕能行、上田幹夫、大家正義、田邊嘉也、渡辺香奈子、渡邊 大、白阪琢磨、小島洋子、森 治代、中桐逸博、高田 昇、木村昭郎、南 留美、山本政弘、松下修三、藤田次郎、健山正男、杉浦 互 第24回日本エイズ学会総会
- 4) 残存プロウイルス量測定の臨床的意義について 渡邊 大、伊部史朗、上平朝子、南留美、矢嶋敬史郎、谷口智宏、笠井大介、西田恭治、山本政弘、白阪琢磨、金田次弘、第24回日本エイズ学会総会
- 5) 多施設共同疫学調査におけるHAARTの有効率2009 菊池 嘉、遠藤知之、南 留美、伊藤俊広、田邊嘉也、上田幹夫、横幕能行、渡邊 大、藤井輝久、宮城島拓人、建山正男、中村仁美 第24回日本エイズ学会総会
- 6) SLE様症状を呈し、パルボウイルスB19感染が判明したAILD合併HIV感染症の一例 高濱宗一郎、南 留美、山本政弘、第24回日本エイズ学会総会
- 7) EFV、TDF/FTCの大量副訳語の薬物血中動態について 大石祐樹、安藤 仁、高橋昌明、高濱宗一郎、南 留美、石橋 誠、山本政弘 第24回日本エイズ学会総会
- 8) 急性HIV感染症の入院37症例の検討 渡邊 大、上平朝子、白阪琢磨、横幕能行、濱口元洋、南留美 第24回日本エイズ学会総会
- 9) 抗HIV療法施行中に血管免疫芽球性T細胞リンパ腫を併発したHIV-1感染症の1例 南 留美、高濱宗一郎、長与由紀子、城崎真弓、辻麻理子、山本政弘 第24回日本エイズ学会総会
- 10) 当院での就労問題に対するカウンセリングによる取組み 辻麻理子、南 留美、高濱宗一郎、城崎真弓、長与由紀子、本松由紀、石川謙介、本田慎一、早川宏平、山本政弘 第24回日本エイズ学会総会
- 11) 当院におけるHIV感染患者に対する栄養食事指導の現状と効果について 増田香織、池本美智子、長与由紀子、城崎真弓、高濱宗一郎、南 留美、山本政弘 第24回日本エイズ学会総会
- 12) 福岡地域で得られたHIVの免疫耐性 川本大輔、宮代守、桶脇弘、高橋真梨子、南 留美、山本政弘 第24回日本エイズ学会総会
- ## H. 知的財産権の出願・登録状況
- なし



研究要旨

神奈川県における薬剤耐性HIVの動向調査研究

～神奈川県における薬剤耐性HIV-1 発生動向把握調査研究 (2010年)～

研究分担者 **近藤 真規子** 神奈川県衛生研究所微生物部 主任研究員

研究協力者 **吉村 幸浩¹、立川 夏夫¹、相楽 裕子¹、岩室 紳也²、井戸田 一朗³、
山中 晃⁴、佐野 貴子⁵、今井 光信⁵**

¹横浜市立市民病院 ²厚木市立病院 ³しらかば診療所

⁴新宿東口クリニック ⁵神奈川県衛生研究所

新規HIV-1感染者における薬剤耐性HIV-1の出現状況を調査するため、2010年の1年間に主として神奈川県および東京都内の医療機関に来院した新規HIV感染者76名について薬剤耐性変異の解析を行った。IAS-USA (2008) リスト、Shafer's criteria、スタンフォードデータベースに基づき薬剤耐性変異の有無を調べた結果、薬剤耐性関連変異を有する症例が6例 (RT領域5例、PR領域1例) 検出され、薬剤耐性変異出現頻度は7.9%であり、2004年の調査から漸増傾向にあることが確認された。

PR領域にM46L変異が1例、RT領域にAZT耐性変異215Y/FのリバータントT215Eが2例、K70Rが1例、非核酸系逆転写酵素阻害剤 (NNRTI) に対する高度耐性変異K103NとK101Eが1例ずつ検出された。Integrase領域にMajor変異は認められなかった。耐性関連変異の認められた6例は全て日本男性、サブタイプBで、感染経路は同性間性行為4例、不明2例で例年と同様の傾向であった。

同性間性行為および感染経路不明の日本人男性67例中CRF01_AEが5例、CRF01_AEとサブタイプBの組み換え疑い例が2例検出された。2004年から2009年までの調査によると、同性間性行為感染による日本人男性では、ほとんどがサブタイプBでCRF01_AEの検出率は1.2% (2/172) にすぎなかったが、2010年は9.1%に増加していた。今後、男性同性間でCEFO1_AEおよびCRF01_AE/B組み換えHIV-1の流行も危惧され、耐性変異の解析とともにサブタイプの動向把握も重要である。

A. 研究目的

HIV-1感染者の治療は多剤併用療法 (HAART) の普及により飛躍的に進歩し、HIV-1感染者の病態の進行をコントロールすることが可能となった。その一方で、薬剤の長期投与に伴い薬剤耐性HIV-1株を保有する感染者が増加し、新規感染者が薬剤耐性株に感染している症例も見つかってきている。欧米では薬剤耐性ウイルスによる感染が広がりつつあり、新規感染者の数%から十数%が何らかの抗HIV薬に対する耐性変異が認められると報告されている。日本においては2004年から調査が開始され、2003年から2005年の調査で新規HIV感染者の約5%に薬剤耐性変異が認められ、その後も漸増傾向にあることが明らかとなった。日本でのこの数字は欧米に比べまだ低いものの、薬剤耐性ウイルスの蔓延を制御す

るためにも継続した調査は重要である。

我々は、薬剤耐性HIVの発生動向把握とその増加を抑制するため全国規模での調査に参加し、主として神奈川県および東京都内の医療機関を受診したHIV感染者についてサブタイプおよび薬剤耐性変異の解析を行った。

B. 研究方法

1) 調査対象

2010年の1年間に主として神奈川県および東京都内の医療機関に来院した未治療のHIV感染者76名。

2) HIV-1 薬剤耐性変異の解析

患者血漿よりHIV-1遺伝子を抽出 (ハイピュア Viral RNA抽出キット: ロシュ・ダイアグノスティ

ックス) し、RT nested PCR法 (One step RNA PCRキット: タカラバイオ) によりプロテアーゼ (PR)、逆転写酵素 (RT) およびインテグラーゼ (IN) 領域の3カ所を増幅後、ダイレクトシーケンス法 (BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit: アプライドバイオシステムズ) により塩基配列を決定した。PCRプライマーおよびPCR条件は国立感染症研究所の方法に従った。

IAS-USA (2008) リスト、Shafer's criteria、スタンフォードデータベースを基にプロテアーゼ阻害剤 (PRI: IDV、LPV、RTV、SQV、NFV、FPV、ATV、DRV、TPV)、核酸系逆転写酵素阻害剤 (NRTI: AZT、d4T、ddI、3TC、ABC、TDF、FTC)、非核酸系逆転写酵素阻害剤 (NNRTI: DLF、EFV、ETR、NVP)、インテグラーゼ阻害剤 (INI: RAL、EVG) に関する薬剤耐性変異について解析した。

また、同時にスタンフォードデータベース (インターネット上で公開) を用い各種抗HIV薬に対する耐性度の判定とPR、RT、IN領域のサブタイプ型別を行った。スタンフォードデータベースの耐性度はsusceptible、potential low-level resistance、low-level resistance、intermediate resistance、resistanceの5段階評価で示される。

env C2V3領域については塩基配列決定後、neighbor-joining法による系統樹を作成しサブタイプを決定した。

(倫理面への配慮)

主治医から患者に研究内容について説明を行い、研究への同意の得られた症例について研究を実施した。患者名はすべて記号化して扱っており、プライバシーの流出防止など患者の人権保護に十分配慮した。尚、本研究は当研究所の倫理委員会で承認されている。

C. 研究結果

IAS-USA (2008) リスト、Shafer's criteria、スタンフォードデータベースに基づき76名のHIV-1 pol 領域のアミノ酸について解析した結果、PR領域に1例、RT領域に5例、計6例に薬剤耐性関連変異が認められ、耐性検出頻度は7.9%であり、2007年から2009年の調査から漸増傾向にあった。(表1、表2)。耐性関連変異の認められた6例は全て日本男性、サブタイプBで、感染経路は同性間4例、不明2例であった。

PR領域にM46Lの見られた1例は、スタンフォー

表1 新規HIV感染者76名から検出された薬剤耐性関連変異検出頻度 (2010年)

陽性判明年	解析数 (人)	耐性変異 出現人数	感染経路 サブタイプ*	薬剤耐性関連変異	
				Pro	RT
2010年	76	6(7.9%)	同性間 B	—	T215E
			不明 B	—	T215E
			同性間 B	—	K70KR
			不明 B	—	K101E
			同性間 B	—	K103N
			同性間 B	M46L	—

*すべて日本男性

表2 新規HIV感染者186名から検出された薬剤耐性関連変異検出頻度 (2007-2009年)

陽性判明年	解析数 (人)	耐性変異 出現人数	感染経路 サブタイプ*	薬剤耐性関連変異	
				Pro	RT
2007年	41	3(7.3%)	同性間 B	—	T215D
			異性間 A#	M46I	—
			同性間 B	—	D67DN
2008年	71	4(5.6%)	同性間 B	D30N	—
			同性間 B	—	T215D
			同性間 B*	—	K103N
			異性間 B	D30N, L33F	—
2009年	74	4(5.4%)	同性間 B	—	K103N
			同性間 B	—	T215E
			同性間 B	M46L	—
			不明 B	M46ML	—
合計	186	11(5.9%)			

ドデータベースによりPRIに対する耐性度がNFVに Intermediate resistance (5段階評価の2番目)、ATV、FPV、IDV、LPVに Potential low-level resistance (5段階評価の4番目)と判定された。

RT領域にAZT耐性変異T215Y/Fのリバータント変異T215Eが検出された2例およびK70Rが検出された1例の計3例は、スタンフォードデータベースによりAZT、D4Tに低レベル耐性と判定された。また、NNRTIに対する耐性変異K103NとK101Eがそれぞれ1例ずつ検出され、K103Nの見られた1例はDLV、EFV、NVPに High-level resistance、ETRに Potential low-level resistance、K101EはDLV、NVPに Intermediate resistance、EFVに low-level resistanceと判定された。

IN領域については42例の解析を行った結果、Y143R/H/C、Q148H/K/R、N155Hの高度耐性変異は認められなかったが、Minor変異のE157Qが4例(9.5%)、V151Iが2例(4.7%)、L74Rが1例(2.3%)に認められた。

76例の感染経路別サブタイプを表3に示した。サブタイプの内訳は、サブタイプBが63例(82.8%)と最も多く、次いでCRF01_AEが10例で、CRF01_AEとサブタイプBの組換えか、あるいは重複感染疑い(*env* C2V3領域:CRF01_AE、PR-IN領域:サブタイプB)が2例、サブタイプCが1例であった。

感染経路別サブタイプを見てみると、男性同性間性行為感染45例(日本44例、外国籍1例)および感染経路不明の日本男性23例(日本男性)の60例はサブタイプBであったが、CRF01_AEが5例、CRF01_AEとサブタイプBの組み換え疑い例が2例存在した。2007年～2009年の186例の解析では、同性間、感染経路不明の日本男性においてCRF01_AEは検出されなかったが(表4)、2010年はCRF01_AEが7例(内2例はサブタイプBとの組換えか、重複感染疑い)検出された。系統樹解析の結果、組み換えが疑われる2株に関連性は認められなかった。

D. 考察

我々は、薬剤耐性HIVの発生動向を把握するため、2004年より全国規模での調査に参加し、主として神奈川県および東京都内の医療機関に来院した新規HIV-1感染者について薬剤耐性変異の解析を行っている。2010年の調査では、76例中6例(7.9%)に薬剤耐性関連変異が確認され、昨年に比べ若干増加しており、2004年から引き続き漸増傾向にあることが確認された。これら6例のサブタイプはすべてBであり、感染経路は男性同性間性行為4例、不明2例で、昨年までと同様の傾向にあった。

耐性関連変異の検出された6例の内2例はAZT耐性変異T215Y/FのリバータントT215Eを有してい

表3 新規HIV感染者76名(2010)の感染経路とサブタイプ

感染経路	合計	HIV-1サブタイプ (<i>env</i> C2V3, <i>pol</i>)			
		B	AE	AE/B	C
男性同性間	日本	44	40	3	1
	外国	1	1		
異性間 男性	日本	2	1	1	
	外国	2	1	1	
異性間 女性	日本	1			1
	外国	3		3	
不明 男性	日本	23	20	2	1
合計	76	63	10	2*	1

* *env* C2V3:CRF01_AE, protease-RT/integrase:subtype B

表4 新規HIV感染者186名の感染経路とサブタイプ(2007-2009年)

感染経路	合計	サブタイプ(<i>env</i> C2V3, <i>pol</i>)					
		B	E	A	AG	D	?
男性同性間	日本	110					
	外国	7	6	1			
異性間 男性	日本	14	10	2		2	
	外国	4	1	3			
異性間 女性	日本	6	1	2	1	1	1
	外国	10	2	5		2	1
不明 男性	日本	35	35				
合計	186	165	13	1	5	1	1

た。リバータント T215X は、2004 年から 2010 年までの神奈川の調査において 23 例中 10 例と高率に検出されている。また、PR 領域の M46L の変異も 1 例検出され、今までの調査で 5 例検出された。これらの変異は東京、大阪、名古屋等でも比較的高頻度に検出されており、日本において頻度の高い耐性関連変異であると考えられた。T215X の NRTI に対する耐性度は低い、M46L 変異はスタンフォードデータベースによると NFV に中程度耐性と判定されており、薬剤選択の際には考慮する必要があると考えられた。

2010 年の調査で NNRTI に対し高度耐性である K103N 変異、中程度耐性である K101E 変異を持つ症例が 1 例ずつ認められた。K103N は 2008 年から毎年検出されているが、K101E は 2010 年に新たに加わった。今後 NNRTI の耐性変異の動向が注目される。

同性間性行為および感染経路不明の日本人男性 67 例中 CRF01_AE および CRF01_AE とサブタイプ B の組み換え疑い例が 7 例 (10.4%) 検出された。日本では CRF01_AE は主として異性間性行為感染で流行しているが、男性同性間ではほとんどがサブタイプ B で CRF01_AE は非常に少ないことが報告されている。我々が 2004 年から 2009 年までに行ったサブタイプ解析でも同性間感染の日本男性 172 例のうち、CRF01_AE は 2 例 (1.2%) にすぎなかった (表 4、表 5)。今後は男性同性間においてもサブタイプ B の流行だけでなく、CEF01_AE および CRF01_AE/B 組み換えウイルスの流行も危惧され、耐性変異の解析とともにサブタイプの動向を把握することも重要である。

E. 結論

2010 年 1 年間に主として神奈川県内の医療機関に来院した新規 HIV 感染者 76 名について薬剤耐性変異を解析した結果、薬剤耐性関連変異を有する症例が 6 例 (RT 領域 5 例、PR 領域 1 例) 検出され、耐性変

異の出現率は 7.9% で、年々漸増傾向にある。

耐性関連変異の認められた 6 例は全て日本男性、サブタイプ B で、感染経路は同性間性行為 4 例、不明 2 例で、例年と同じ傾向にあった。

男性同性間性行為および感染経路不明の日本人男性 67 例中 CRF01_AE および CRF01_AE とサブタイプ B の組み換えウイルスの疑い例が 7 例 (10.4%) 検出された。2004 年から 2009 年までの男性同性間での CRF01_AE の検出率は 1.2% にすぎなかったが、今後、男性同性間での CEF01_AE および CRF01_AE/B 組み換え HIV-1 の流行も危惧される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sano T, Yamada R, Sekita K, Hankins RW, Hori H, Seto H, Sudo K, Kondo M, Kawahara K, Tsukahara Y, Inaba N, Kato S, Imai M: A Human Immunodeficiency Virus Screening Algorithm to Address the High Rate of False-Positive Results in Pregnant Women in Japan. PLoS ONE, 5, e9382 (2010).
- 2) Hattori J, Kondo M, Sugiura W, *et.al.*: Trends in transmitted drug-resistant HIV-1 and demographic characteristics of newly diagnosed patients: Nationwide surveillance from 2003 to 2008 in Japan. Antiviral Research, 88, 72-79 (2010).

2. 学会発表

- 1) Kondo M, Tanaka R, Sudo K, Sano T, Tachikawa M, Sagara H, Iwamuro S, Imai M, Kato S: The development of quantitative HIV-1 RNA assay using general real time PCR machines, XVIII International AIDS Conference. MOPE0090 (18-23 July, 2010, Vienna, Austria).
- 2) 服部純子、近藤真規子、杉浦互 他: 2003-2009 年の新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性頻度の動向、第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会 (2010 年 11 月 24 ~ 11 月 26 日、東京)。

表 5 新規 HIV 感染者 141 名 (2004-2006 年) の感染経路とサブタイプ

感染経路	合計	サブタイプ (<i>env</i> C2V3, <i>pol</i>)									
		B	E	A	AG	C	D	F	EB	?	
男性同性間	日本	62	60	2							
	外国	5	5								
異性間 男性	日本	34	21	12	1				1		
	外国	11	3	5			2			1	
異性間 女性	日本	7		3	2	1	1				
	外国	11	1	6	1		1			1	
不明 男性	日本	8	8								
その他 女性		3	2					1			
合計	141	100	28	4	1	4	1	1	1	1	



研究要旨

国内で流行するHIV株および薬剤耐性HIV株の動向把握調査研究

研究分担者 **藤井 毅** 東京大学医科学研究所先端医療研究センター 講師
 研究協力者 **宮崎 菜穂子** 国立感染症研究所エイズ研究センター
 (財)エイズ予防財団 リサーチレジデント

新規抗HIV薬（ARV）の使用状況を把握することによって治療困難症例が直面する問題を明らかにすることを目的として、全国のHIV診療機関377施設を対象に、新規ARV（ダルナビル、ラルテグラビル、エトラビリン、マラビロク、T-20、Tiplranavir）使用状況について詳細なアンケート調査を行った。総服薬患者6,296例中、新規ARV服用症例は280例（4.4%）であった。新規ARVへの主な変更理由はウイルス学的失敗（MDR群）34.6%（97名）、副作用など他の理由（non-MDR群）64.2%（180名）であった。導入前のCD4陽性Tリンパ球数（cells/ μ L）は、MDR群 227、non-MDR群 323と、MDR群の方が有意に低く、総治療期間（年）は、MDR群 10.8、non-MDR群 4.3と、MDR群が有意に長く、使用経験のある既存ARV数（剤）は、MDR群 7、non-MDR群 5と、MDR群の方が有意に多かった。MDR群における抗ウイルス効果（log Δ Lの中央値）について、新規ARV導入剤数に関しては1剤群：1.4、2剤群：1.8、3剤以上群：2.7と導入剤数が多いほど下げ幅が大きく、1剤群と3剤以上群で有意差が認められた。薬剤耐性検査実施の有無に関しては、検査実施群：1.8、非実施群：0.3と、検査実施群の方が有意にウイルス量を減少させていた。

A. 研究目的

近年、日本において承認された抗HIV薬は、サルベージとしての用途を目的に承認されているものの、副作用の軽減など他の理由にした薬剤変更も多数行われており、その使用実態はつかめていない。また、サルベージ症例は、各施設における症例数が非常に少ないため、直面した際の処方選択は難しい。今回、新規抗HIV薬の使用調査を行い、使用状況の把握と、治療困難症例が直面する問題を明らかにし、今後の治療選択に役立つものを目的として行った。前年度の等報告書では途中経過を報告したが、今回全てのデータ・解析結果が出揃ったため報告する。

B. 研究方法

【研究デザイン】

各施設の既存資料（診療録等）を活用した後ろ向き観察的研究を行った。背景因子を使用した解析も行うが、主たる目的は日本における新規抗HIV薬

の使用状況と、その背景にある耐性実態を把握する記述的臨床疫学研究である。

【対象施設】

全国のHIV診療拠点病院、及びクリニックの全377施設に対して実施した。

【調査対象症例】

現在、新規抗HIV薬である以下の薬を投与中の全ての患者。

ダルナビル（商品名プリジスタ）、ラルテグラビル（商品名アイセントレス）、エトラビリン（商品名インテレンス）、マラビロク（商品名シーエルセントリ）、T-20（商品名fuzeon）、Tiplranavir（商品名Aptivus）

【調査内容】

今回の調査では、新規抗HIV薬の選択に至る背景、及び予後を中心に以下の調査を行った。（*は選択形式）

①現在のメニュー：現在の新規抗HIV薬メニュー

一、及びその開始年月

- ②患者背景：生年月、性別（*）、感染経路
- ③検査データ：現メニューに切替え直前におけるCD4数（個/ μ L）、及びHIV-RNA量（コピー/mL）、最も直近のCD4数（個/ μ L）、及びHIV-RNA量（コピー/mL）
- ④切り替える直前の抗HIV薬メニュー
- ⑤新規抗HIV薬処方理由（*）
- ⑥新規抗HIV薬処方前の耐性検査実施の有無（*）
- ⑦現在までの使用薬剤（*）

【データの匿名性】

本研究では、多剤耐性HIVの背景因子との関連性より、患者背景として生年月、性別、感染経路の情報を収集するが、当研究班では各患者を特定する情報（イニシャル、名前、住所、診療録番号等）は有しておらず、非連結匿名化された情報として維持する。また、本研究実施にあたって、対象症例データは各施設において匿名コード化されるが、この際、イニシャル、診療録番号は用いないようにし、匿名を保つ。

（倫理的配慮）

本研究は、HIV診療拠点病院、及びクリニックの既存資料（診療録）からの情報を受け、疫学研究に関わる倫理指針を遵守して行った。

- 1) 全ての情報は、既存情報であり、生体資料を用いない観察研究である
- 2) 主たる研究機関である国立感染症研究所倫理委員会の承認をうけて実施する
- 3) 当該研究の目的を含む研究の実施についての情報を研究班ホームページ上で同指針第3-1(2)細則に準じて公開する

4) 情報は匿名化されていると判断される

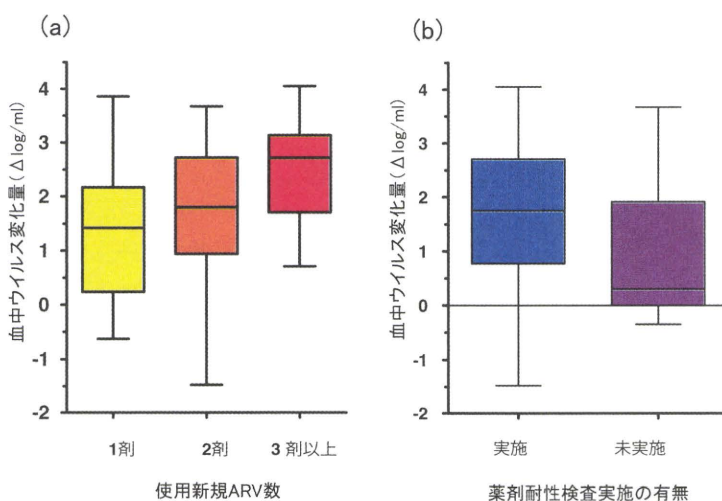
5) 公表する情報は集計であり個人を特定できない

以上より、同指針第3-1細則①～⑤、同第4-3-(2)を適用し、インフォームドコンセント行わず実施することに倫理的問題はないと判断した。

C. 研究結果

調査を依頼した377施設中、回答を得た211施設（56.0%）における通院症例数は9040名、総服薬症例数6296名（69.6%）、そのうち新規ARV使用症例数は280症例（4.4%）であり、さらにこの280症例のうち、ウイルス学的失敗による変更（MDR群）は97症例（34.6%）、副作用などの他の理由での変更・導入（non-MDR群）は180症例（64.2%）であった。この2群間の背景を解析すると、導入前のCD4陽性Tリンパ球数（cells/ μ L）は、MDR群 227、non-MDR群 323と、MDR群の方が有意に低く（ $p=0.0304$ ）、総治療期間（年）は、MDR群 10.8、non-MDR群 4.3と、MDR群が有意に長く（ $p<0.0001$ ）、使用経験のある既存ARV数（剤）は、MDR群 7、non-MDR群 5と、MDR群の方が有意に多かった（ $p<0.0001$ ）。

MDR群97症例について、抗ウイルス効果を $\log \Delta VL$ の中央値（ \log copies/mL）として解析したところ、新規ARV導入剤数においては、1剤群（ $n=52$ ）1.4、2剤群（ $n=33$ ）1.8、3剤以上群（ $n=11$ ）2.7と導入剤数が多いほど下げ幅が大きく、1剤群と3剤以上群で有意差が認められた（ $p=0.0244$ ）。薬剤耐性検査実施の有無においては、検査実施群（ $n=81$ ）1.8、非実施群（ $n=15$ ）0.3と、検査実施群の方が有意にVLを減少させていた（ $p=0.0223$ ）。（図）



D. 考察

治療経験者における耐性症例では、長期治療・かつ多数の薬剤使用経験があったが、新規抗HIV薬への変更により治療が奏功していることが判明した。また、耐性症例の治療においては、耐性検査の実施による治療の方針決定が効果的であることが示された。

E. 結論

既治療HIV/AIDS患者における薬剤耐性治療の状況は、薬剤耐性症例自体が少ないこともあり全体像の把握が難しい。本調査は、治療未経験者を中心とした大量処方開始直前に期間を絞ることで、多剤耐性の現状を把握することができた。このように短期間で新規薬剤が相次いで発売されることは大変珍しく、この機会を逃していたならば、新薬の効果により耐性がマスキングされ、調査は正確性を欠く大変難しいものになっていたに違いない。そういった意味において今回の調査は、日本のHIV治療の歴史上、大変意義のあるものとなった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nakamura H, **Miyazaki N**, Hosoya N, Koga M, Odawara T, Kikuchi T, Koibuchi T, Kawana-Tachikawa A, **Fujii T**, Miura T, **Iwamoto A**. Long-term successful control of super-multidrug-resistant human immunodeficiency virus type 1 infection by a novel combination therapy of raltegravir, etravirine, and boosted-darunavir. *J Infect Chemother*. 2010 Jun 30.
- 2) Imai K, Koibuchi T, Kikuchi T, Koga M, Nakamura H, Miura T, Gono T, Yazawa K, Iwamoto A, and **Fujii T**. Pulmonary nocardiosis caused by *Nocardia exalbida* complicating *Pneumocystis pneumonia* in a HIV-infected patient. *J Infect Chemother. in press*
- 3) Tasaka S, Tokuda H, Sakai F, **Fujii T**, Tateda K, Johkoh T, Ohmagari N, Ohta H, Araoka H, Kikuchi Y, Yasui M, Inuzuka K, Goto H. Comparison of clinical and radiological features of *pneumocystis pneumonia* between malignancy cases and acquired immunodeficiency syndrome cases: a multicenter study. *Intern Med*. 49: 273-81, 2010.
- 4) Kakugawa T, Mukae H, Hishikawa Y, Ishii H, Sakamoto N, Ishimatsu Y, **Fujii T**, Koji T, Kohno S. Localization of HSP47 mRNA in murine bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Virchows Arch*. 456: 309-15, 2010.
- 5) Koga, M., Kawana-Tachikawa, A., Heckerman, D., Odawara, T., Nakamura, H., Koibuchi, T., **Fujii, T.**, Miura, T., and **Iwamoto, A.** Change in impact of HLA class I allele expression on HIV-1 plasma virus loads at a population level over time. *Microbiol. Immunol*. 54:196- 205, 2010. Apr 2010.
- 6) Liu J, Wu P, Gao F, Qi J, Kawana-Tachikawa A, Xie J, Vavricka CJ, **Iwamoto A**, Li T, Gao GF. Novel immunodominant peptide presentation strategy: a featured HLA-A*2402 restricted CTL-epitope stabilized by intra-chain hydrogen-bonds from SARS-CoV nucleocapsid protein. *J Virol*. 84:11849-11857, 2010.
- 7) Zhu D, Kawana-Tachikawa A, **Iwamoto A**, Kitamura Y. Influence of polymorphism in dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing nonintegrin-related (DC-SIGNR) gene on HIV-1 trans-infection. *Biochem Biophys Res Commun*, 393:598-602, 2010.
- 8) Sun Y, Liu J, Yang M, Gao F, Zhou J, Kitamura Y, Gao B, Tien P, Shu Y, **Iwamoto A**, Chen Z, Gao GF. Identification and structural definition of H5-specific CTL epitopes restricted by HLA-A*0201 derived from the H5N1 subtype of influenza A viruses. *J Gen Virol*. 91:919-930, 2010 Apr 2010.
- 9) Kondo, N., Miyauchi, K. Meng, F. **Iwamoto, A.** and Matsuda, Z. Conformational changes of the HIV-1 envelope protein during membrane fusion were inhibited by the replacement of its membrane-spanning domain. *J. Biol. Chem*. 285:14681-14688, 2010. May 7, 2010.
- 10) Yu, L., Aoki, C., Shimizu, Y., Shimizu, K., Hou, W., Yagyu, F., Wen, X., Oshima, M., **Iwamoto, A.**, Gao, B., Liu, W., Gao, GF., and Kitamura, Y. Development of a simple system for screening anti-hepatitis C virus drugs utilizing mutants capable of vigorous replication. *J. Virol Methods* 169: 380-384, 2010.
- 11) Miyauchi, K., Curran, A.R., Long, Y., Kondo, N., **Iwamoto, A.**, Engelman, D.M., and Matsuda, Z. The membrane-spanning domain of gp41 plays a critical role in intracellular trafficking of the HIV envelope protein. *Retrovirology* 2010, 7:95. doi: 10. 1186/1742-4690-7-95. E- published, November 13, 2010.
- 12) Liu, S., Kondo, N., Long, Y., Xiao, D., **Iwamoto, A.**, and Matsuda, Z. Membrane topology analysis of HIV-1 envelope glycoprotein gp41. *Retrovirology*. 7:100.
- 13) **宮崎菜穂子**, 杉浦互. 我が国における抗HIV治療と多剤耐性症例の現状. *IASR* 31 (8); p233-234, 2010.
- 14) **宮崎菜穂子**. 専門薬剤師Up-to-date不測の事態への備え: 月刊薬事52 (14); p2178, 2010.
- 15) **宮崎菜穂子**. 薬剤師が知っておきたいHIV/AIDSの知識: 日本病院薬剤師会雑誌46 (8); p1049-1052, 2010.
- 16) **藤井 毅**. AIDSにおけるニューモシスチス肺

炎：日本胸部臨床69；103-111、2010.

- 17) **藤井 毅**. ヒト免疫不全ウイルス1型、2型：日本臨床68（増刊号6）；473-477、2010.
- 18) **藤井 毅**. AIDS 指標疾患としての真菌症：深在性真菌症SFI Forum；6；19-23、2010.
- 19) **藤井 毅**. IDSAガイドライン真菌症治療のUP-TO-DATE「クリプトコックス脳髄膜炎の治療戦略；HIV感染患者における初期治療」；河野茂 編、医薬ジャーナル社；242-245、2010.

2. 学会発表

- 1) **Miyazaki N**, Matsushita S, Fujii T, Iwamoto A, Sugiura W and Japanese HIV-MDR Study Group. Drug-Resistant Genotyping to Guide Selection of Etravirine, Darunavir and Raltegravir in Salvage Therapy for Multi-Drug-Resistant Cases Improves Outcomes. 18th International AIDS Conference. July 18-23 2010, Vienna, Austria.
- 2) 菊地正、堀本研子、**藤井毅**、安達英輔、今井健太郎、清水少一、古賀道子、中村仁美、鯉淵智彦、立川愛、三浦聡之、河岡義裕、**岩本愛吉**. HIV感染者における2009パンデミックインフルエンザワ（H1N1）ワクチン接種後の中和抗体価の推移. 第24回日本エイズ学会学術集会2010年、東京.
- 3) 菊地正、清水少一、古賀道子、安達英輔、今井健太郎、中村仁美、鯉淵智彦、三浦聡之、**藤井毅**、**岩本愛吉**. テノホビルの骨代謝に及ぼす影響. 第24回日本エイズ学会学術集会 2010年、東京.
- 4) 菊地正、安達英輔、清水少一、古賀道子、今井健太郎、中村仁美、鯉淵智彦、三浦聡之、**藤井毅**、**岩本愛吉**. ART初回導入後の血清脂質の長期的な変化について. 第24回日本エイズ学会学術集会 2010年、東京.
- 5) 安達英輔、清水少一、今井健太郎、鯉淵智彦、古賀道子、中村仁美、三浦聡之、**藤井毅**、**岩本愛吉**. ニューモシスチス肺炎治療中に発症した播種性結核のAIDS症例. 第59回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第57回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会（東京）2010年10月21-22日.
- 6) **岩本 愛吉**. 特別講演「抗HIV療法の進歩とグローバルな課題」第58回日本化学療法学会総会学術講演会（長崎）2010年6月2-4日.
- 7) 菊地正、前田卓哉、坂本勇一、佐藤末光、今井健太郎、古賀道子、中村仁美、鯉淵智彦、三浦聡之、小田原隆、**藤井毅**、**岩本愛吉**. 季節性インフルエンザ流行期の発熱小児における急性上気道炎のResPlex法による病原微生物微生物に対する網羅的な遺伝子診断法の検討核酸増幅検査の検討. 第58回日本化学療法学会総会学術講演会（長崎）2010年6月2-4日.
- 8) 今井健太郎、清水少一、安達英輔、鯉淵智彦、古賀道子、中村仁美、三浦聡之、**藤井毅**、**岩本愛吉**. AIDS合併ニューモシスチス肺炎治療中

におけるサイトメガロウイルスアンチゲネミア値の臨床的意義に関する検討. 第84回日本感染症学会総会・学術講演会（京都）2010年4月5-6日.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



近畿ブロックにおける薬剤耐性HIVの動向調査研究

研究分担者 **白阪 琢磨** (独)国立病院機構大阪医療センター臨床研究センター
エイズ先端医療研究部 部長

研究協力者 **渡邊 大**¹、**上平 朝子**²、**鈴木 佐知子**³、**岡本 瑛里子**³、
蘆田 美紗³、**佐子 肇**⁴、**真能 正幸**⁴

¹ (独)国立病院機構大阪医療センターHIV感染制御研究室

²同 感染症内科 ³同 エイズ先端医療研究部 ⁴同 臨床検査科

研究要旨

薬剤耐性HIV変異株の出現はHIV感染症の臨床上重要な課題となっており、近畿ブロックでの薬剤耐性検査の実施とその結果を臨床に反映するシステム構築が必要とされる。今年度は新規HIV感染者における薬剤耐性変異の有無の頻度と、インテグラーゼ阻害剤による治療失敗例について調査した。平成22年に当院を受診した初診患者のうち85名が対象となった。RT領域にはK103NとM184Vの変異を認め、M184Vに変異を認めた症例はB型肝炎に対して核酸アナログ製剤が投与されていた。PR領域の耐性に関しては、ネルフィナビルに対して高度耐性が推定される症例を2例認めた。2008年から2010年治療症例のうち、Raltegravir(RAL)を含んだ抗HIV療法を開始後に、ウイルス学的治療失敗を示し、それに関連してIN領域の変異を認めた症例を2例経験した。IN領域の変異は1例はmajor mutationであったが、もう1例はminor mutationのみであった。RALはウイルス学的効果や忍容性に優れる一方で、耐性獲得に対するgenetic barrierが低く、耐性変異の出現には注意が必要である。

A. 研究目的

HIV感染症は抗HIV療法の進歩によって慢性疾患になったと捉えられているが、実際には種々の理由から適切な服薬を継続できずにウイルス学的治療失敗となり、その結果、投与薬剤に耐性を持つHIV変異株が出現する事が知られている。この薬剤耐性HIV変異株は他剤にも交叉耐性を示すこともしばしばであり、薬剤耐性HIV変異株の出現は臨床上重要な課題となっている。本研究の最終目標は、近畿ブロックで薬剤耐性検査が必要なHIV感染症患者に薬剤耐性検査を実施でき、かつ、その検査結果を臨床に反映できるような薬剤耐性検査システムを構築することである。今年度は当院での新規HIV感染者における薬剤耐性変異の頻度を調査した。

Raltegravir(RAL)は2007年10月にFDAによって認可された新しいクラスの抗HIV薬であり、インテグラーゼ(IN)活性を阻害することによって抗ウイルス効果を発揮する。RALは多剤耐性の症例にも有効であることが示されたが、一方で薬剤耐性株の出現も報告されている。今回、RALを含んだ抗HIV療

法を開始後に、ウイルス学的治療失敗を示し、それに関連してIN領域の変異を認めた症例を2例経験したので報告する。

B. 研究方法

薬剤耐性検査方法は、患者から採血後直ちに血漿を分離し、ウイルスRNAを抽出した。その後特定のプライマーを用いてRT-PCR法でHIV-1(以下HIV)の逆転写酵素(RT)およびプロテアーゼ(PR)領域を増幅した。一部の症例ではIN領域についても増幅を行った。増幅されたDNAをdirect sequencing法にて決定した。決定された塩基配列を既報告の薬剤耐性に関連する変異と照合した。これらの解析はSeqscape Ver 2.6(Applied Biosystems)とStanford University HIV drug resistance databaseを用いた。2010年に独立行政法人国立病院機構大阪医療センターで薬剤耐性検査を実施した症例のうち、2010年に初めて感染が確認されたものを対象とし、カルテから情報を収集し検討を行った。

RALを含む抗HIV療法を施行中の症例のうち、初

回治療後に血漿中HIV-RNA量(VL)の低下を認めない1例、抗HIV療法にてVLが測定感度未満を維持していたがVLが400copies/ml以上に上昇した1例に対して薬剤耐性検査を行った。

(倫理面への配慮)

研究の遂行に関しては、当院の倫理委員会に相当する受託研究審査委員会で承認を得た方法を用いた。いずれも個人情報の取り扱いについては厳重に行った。

C. 研究結果

国立大阪医療センター初診患者は年々増加傾向にあり(図1)、2009年度は2008年度と比較してやや減少したが、ここ数年は200名以上が来院した。2010年に初めて感染が確認され、未治療のまま薬剤耐性検査が実施された85名から検体を採取し解析を行った。背景は図2に示した。採血時期が治療開始時の症例が多かったため、CD4陽性リンパ球数の中

央値は134/ μ L(最大544/ μ L、最小3/ μ L)、血漿HIV-RNA量の中央値は98,000cp/ml(最大4,760,000cp/ml、最小368cp/ml)と免疫能低下症例が多数を占めていた。耐性検査の結果は図3に示した。PCRにてRT領域が増幅されなかった症例が6例あった。RT領域にK103NとM184Vの変異を認めた。M184Vの変異を認めた症例はB型肝炎に対して核酸アナログ製剤であるバラクルード®が長期投与されていた。PR領域に関してはD30N・L33F・N88Dの変異を2例ずつに認め、この変異は特定の2例の症例に存在していた。1例は急性HIV感染症と診断された症例であり、診断2ヶ月後から症状緩和のためにTDF/FTCおよびDRV/rにて抗HIV療法が導入されていた。その臨床経過を図4、耐性検査の結果を図5に示した。新規診断症例79例のPR領域とRT領域で系統樹解析を行った(図6)。ほぼ同一の配列を示したペア(*1)と他の配列とは距離が長く比較的似た配列を示した2ペア(*2と*3)が認められた。上記のD30N・L33F・N88Dの2例は*3のペアであった。

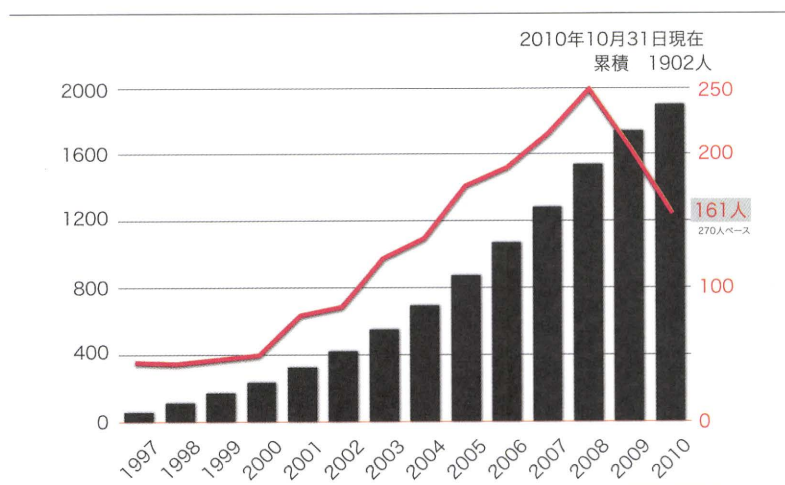


図1 累積患者数と年間新規患者数の推移

新規診断患者、85名から検体採取

・ 推定感染経路	・ 国籍	・ CD4数
同性間 59例	日本 82例	中央値 134/ μ L
異性間 13例	外国 3例	(3-544)
その他 13例		
	・ Subtype	・ HIV-RNA量
	B 82例	中央値 98,000/ml
	01_AE 2例	(368 - 4,760,000)
	02_AG 1例	
・ 推定感染場所	・ HIV検査歴	・ 肝炎合併
国内 68例	初回検査 41例	HBsAg陽性 5例
国外 5例		HCV Ab陽性 7例
不明 12例		

図2 2010年 耐性検査 患者背景

RALを含んだ抗HIV療法を開始後に、ウイルス学的治療失敗を示し、それに関連してIN領域の変異を認めた2例の経過と耐性変異を図7-10に示した。症例1は40歳代の男性でサブタイプCRF01_AEであ

った(図7)。AZT+ddIで治療を開始しAZT+3TC+IDVに変更してもウイルス量(VL)が感度未満にならないため、2001年に当院紹介となった。耐性検査ではNRTIに対する複数の耐性変異を示していた。

PR領域 (85症例)			RT領域 (79症例)		
L10I/V/F	16	I62V	22	T69A/D	3
V11I	1	L63A/P/T/S/Q	78	V75L	2
I13V	17	I64V	4	A98S	2
G16A/E	4	H69Q/K/H/Y	9	K101Q	3
K20R/I	4	A71T/I/V	21	K103R/Q	4
D30N	2	T74A	1	K103N	1
L33F/I	3	V77I	30	V106I	2
E35D	18	V82I	1	E138A	1
M36I	21	N88D	2	V179D/I/E	17
K43R	4	L89M	10	M184V	1
D60E	1	I93L	45	L210F	1
			(人)	K219Q	1
				(人)	

図3 2010年 耐性検査 結果

症例 30歳代男性 2010年新規診断例 サブタイプB

初診時 RT: (-)
1ヶ月後 PR: L10I, D30N, L33F, N88D

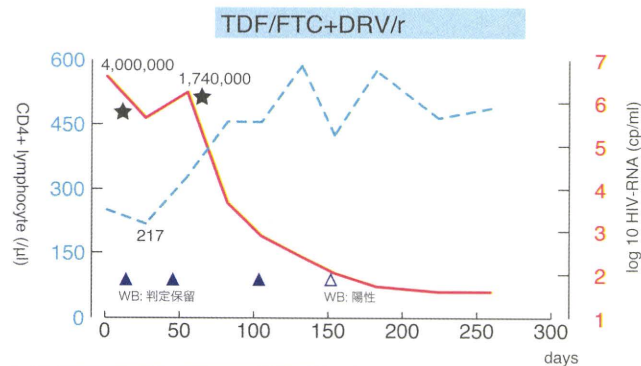


図4 耐性検査にてNFVに対する高度耐性が疑われた急性HIV感染症の一例

症例 30歳代男性 2010年新規診断例 サブタイプB

初診時 RT: (-)
1ヶ月後 PR: L10I, D30N, L33F, N88D

Mutation Scoring								
PR	ATV/r	DRV/r	FPV/r	IDV/r	LPV/r	NFV	SQV/r	TPV/r
D30N	10	0	0	0	0	60	0	0
L33F	5	4	10	0	5	0	0	10
N88D	10	0	0	5	0	30	10	0
L10I	2	0	2	2	2	2	2	0
Total:	27	4	12	7	7	92	12	10

RT	3TC	ABC	AZT	d4T	ddI	FTC	TDF	DLV	EFV	ETR	NVP
Total:	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Mutation Scoring	
0-9:	susceptible
10-14:	potential low-level resistance
15-29:	low-level resistance
30-59:	intermediate resistance
>=60:	high-level resistance

Stanford University HIV Drug Resistance Database URL: <http://hivdb.stanford.edu/>

図5 耐性検査にてNFVに対する高度耐性が疑われた急性HIV感染症の一例

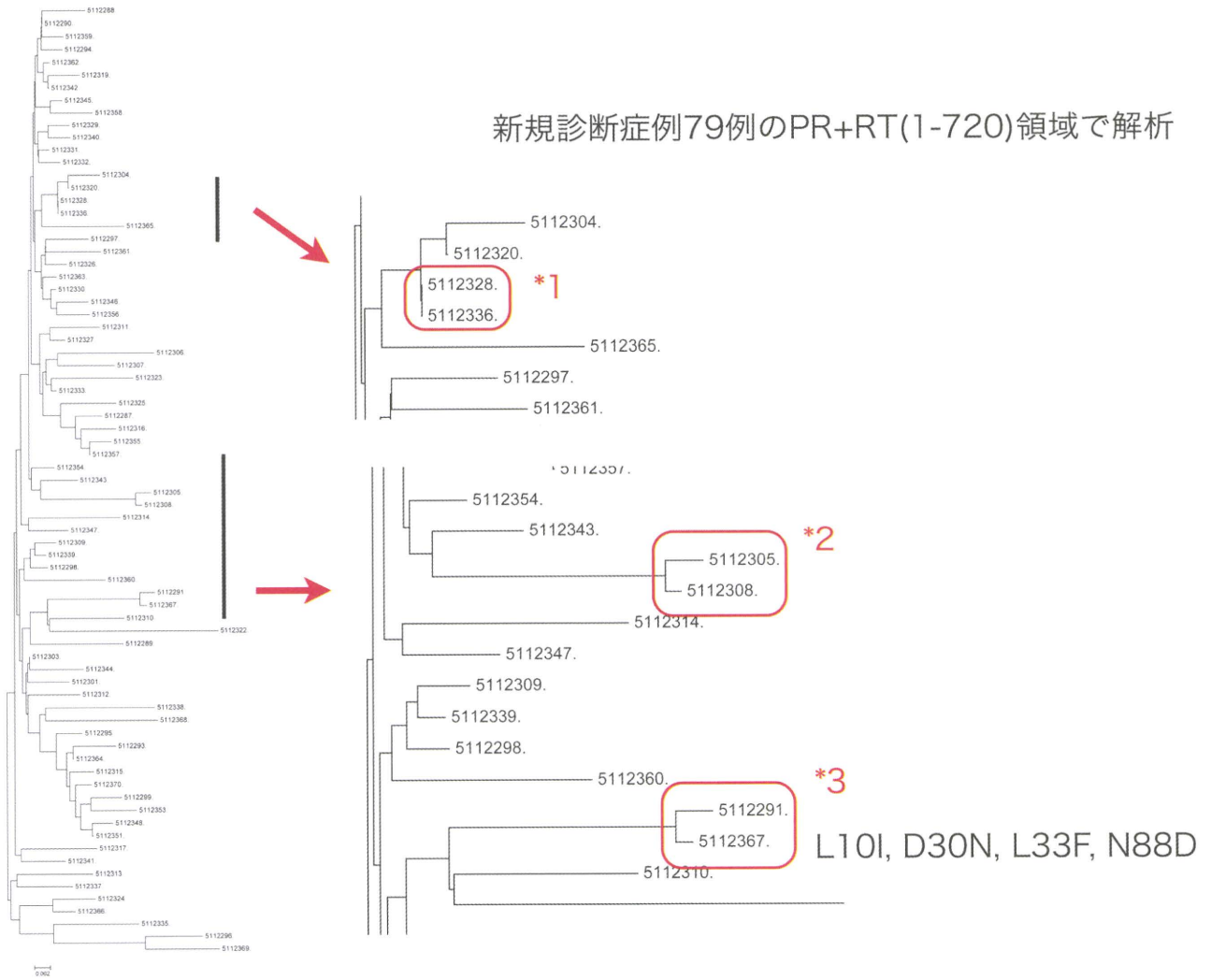


図6 2010年 系統樹解析

症例1 40歳代男性 1997年診断 2001年に当院初診 サブタイプCRF01_AE

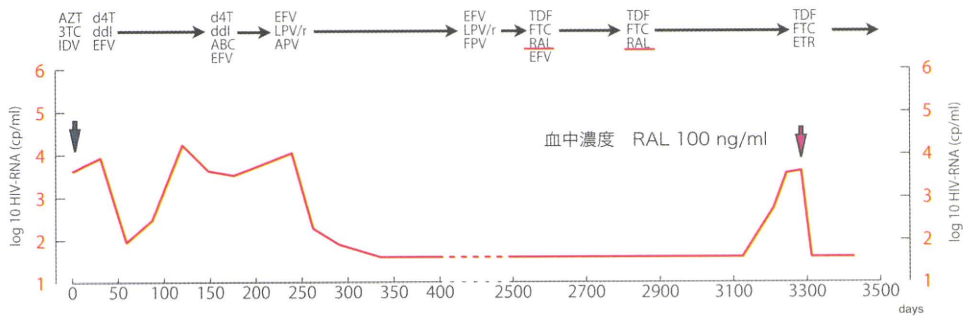


図7 症例1の経過

EFV+LPV/r+APVに変更後、VLは感度未滿に維持されていた。2009年にTDF+FTC+RALに変更し、その半年後からVLの上昇を認め、耐性検査にてインテグラーゼ領域にQ148Rの変異を認めた(図8)。問診では服薬アドヒアランスに問題は無かった。症例2は30歳代の男性で、サブタイプはBであった(図9)。

2009年にAIDSと診断され、初診時の耐性検査ではPR領域のマイナー変異のみであった。入院下でRAを含む三剤による初回治療が導入されたが、治療開始2ヶ月後においてもVLは1logしか低下せず、耐性検査にてE92E/Qの変異の出現を認めた(図10)。

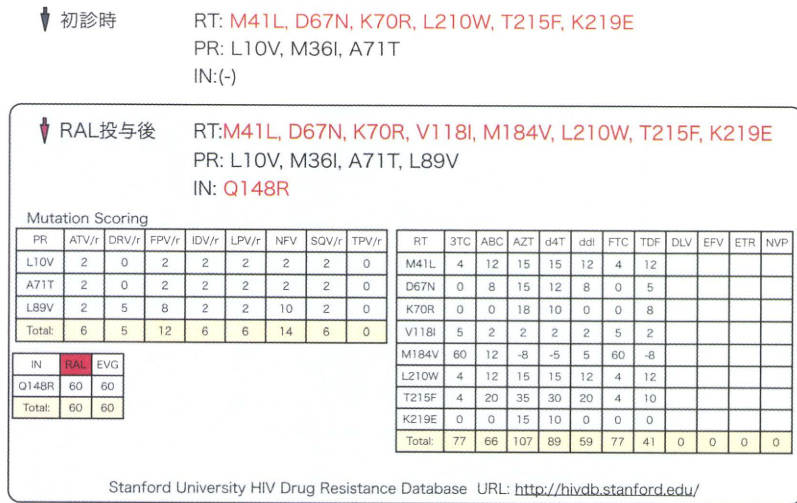


図8 症例1の耐性検査

症例2 30歳代男性 2009年新規診断例 サブタイプB

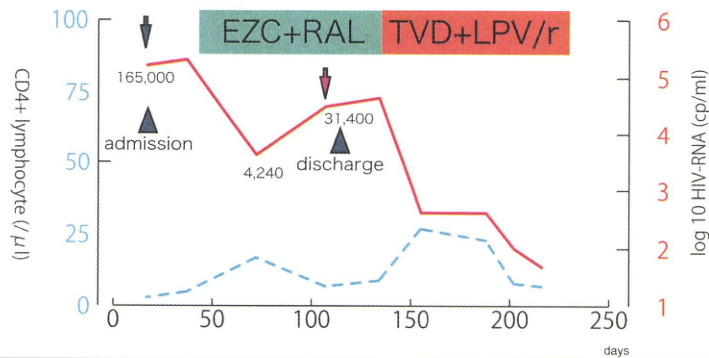


図9 症例2の経過

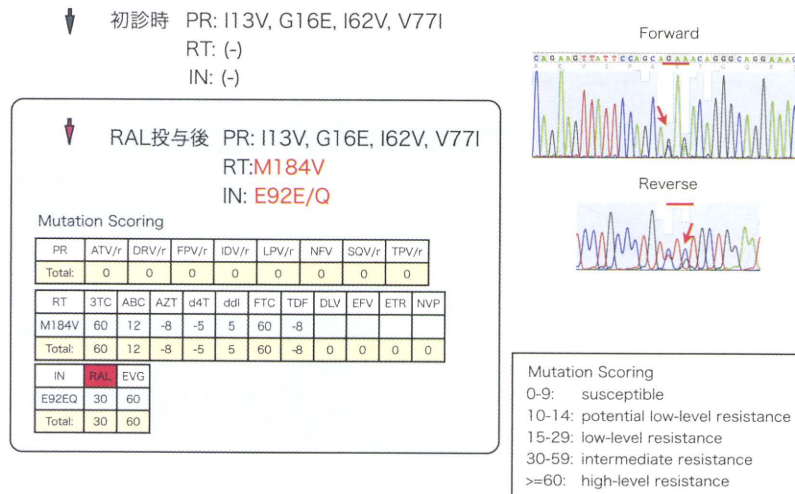


図10 症例2の耐性検査

D. 考察

HIV耐性検査は治療導入前の施行がガイドライン上勧められており、検査結果によって使用薬剤が変更されることもある。今年度の解析結果では、RT領域にK103NとM184Vの変異を認めた。いずれの変異も過去にも報告されたものである。K103Nの頻度は決して高いものではないが、EFVの投与の際には注意が必要となる変異である。M184VはB型肝炎に対して核酸アナログ製剤が長期に使用されていた症例であった。繰り返し述べることになるが、B型肝炎の診断を行った場合は、必ずHIV検査が必要であることを示唆する症例である。一方、PR領域には2例の耐性症例を認め、いずれもL10I・D30N・L33F・N88Dを有しておりNFVに対する高度耐性が推測された。また、この2例は系統樹解析において

も近い距離に位置していた。このような薬剤耐性ウイルスの伝搬が危惧され、薬剤耐性検査による疫学調査は今後必要と考えられた。

RALはウイルス学的効果や忍容性に優れる一方で、耐性獲得に対するgenetic barrierが低いことがあげられるようになってきている。IAS-USAの2009年度のガイドラインではRALのmajor mutationはQ148/H/K/R、N155HおよびY143R/H/Cの3つが挙げられており、実際の薬剤耐性の獲得の機序としてこれらのmajor mutationが出現したのちにminor mutationが蓄積され高度の耐性を獲得すると考えられている。RALを使用した代表的な臨床試験は、多剤耐性の症例を対象としたBENCHMRK試験(図11・12)、未治療者を対象としたSTARTMRK試験(図13)、LPV/r+NRTIsでVLが感度未満に維持されてい

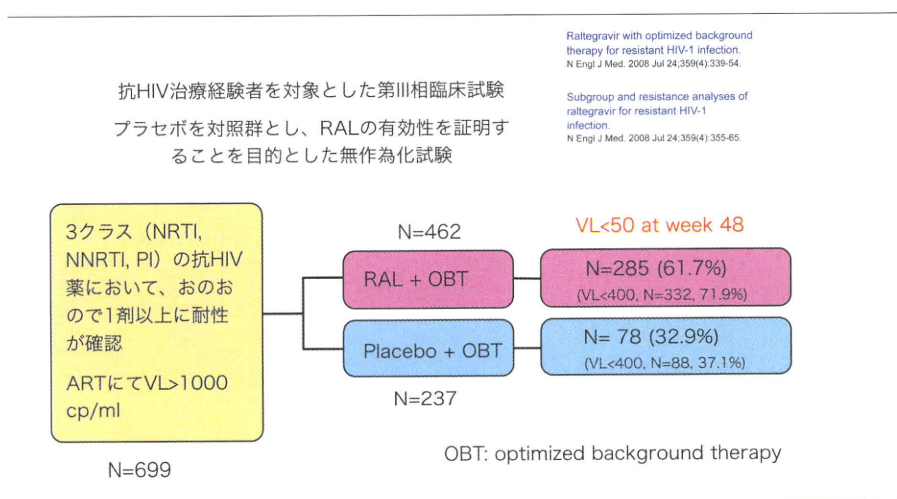


図11 BENCHMRK study (1)

48週でのvirological failure 105例
 Genotypingが行われた症例 94例

Virological failureの定義
 ・VLが16週までにベースラインの1/10以下に低下しない
 ・VLが16週までに400 cp/ml未満に低下しない
 ・16週以後、VLが400 cp/ml以上に上昇する
 ・16週以後、VLが最低値の10倍以上増加する

	IN領域	人数 (例)
major mutationあり	Y143, Q148, N155のいずれか	62
	Q148の変異を含む	27
	N155の変異を含む	38
	Y143の変異を含む	10
minor mutationのみ	E92E/Q	1
	L74M, E92Q	1
ベースラインと比較してアミノ酸の置換があったが、意義不明なもの		5
ベースラインと比較してアミノ酸の置換なし		25

図12 BENCHMRK study (2)

る症例を対象としたSWITCHMRK試験（図14・15）の3つである。これらの臨床試験で治療失敗となった多くの症例でmajor mutationを認めている（図

12・13・15ではmajor mutationを赤字で示した）。我々の経験した症例1においても、Q148Rという比較的commonな変異を認めた。一方で、IN領域に耐

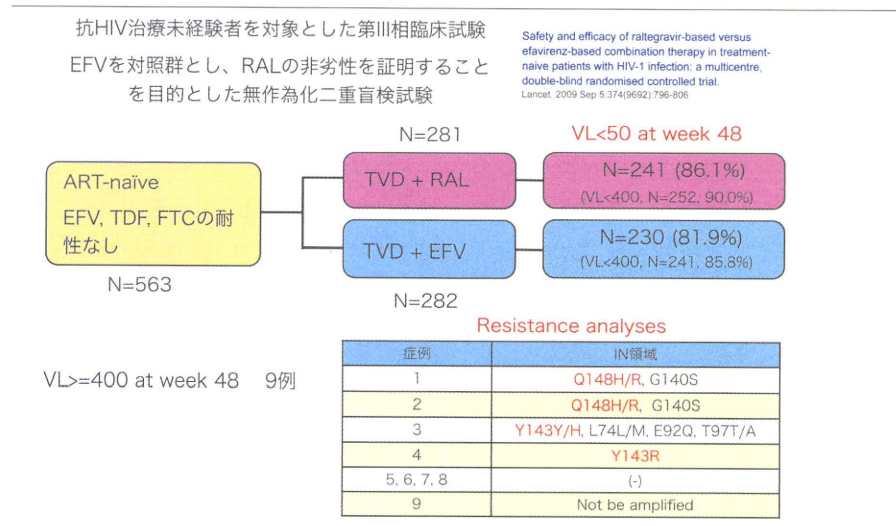


図13 STARTMRK study (1)

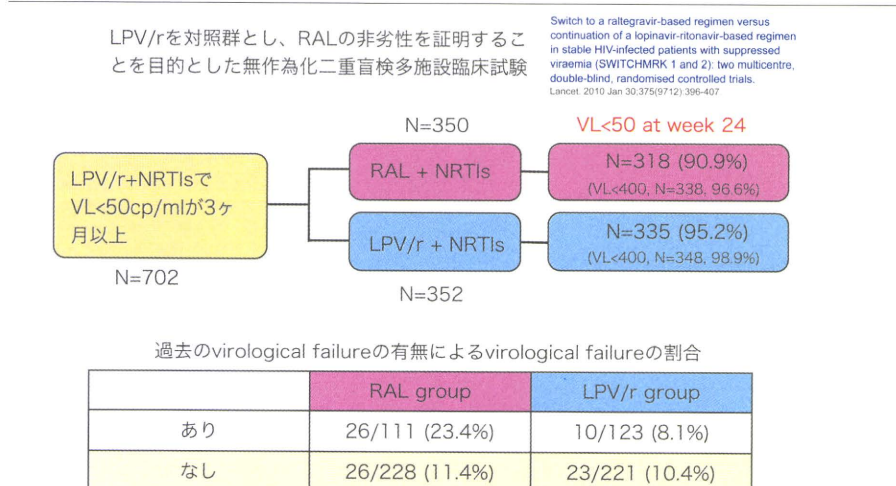


図14 SWITCHMRK study (1)

症例	IN領域	RT領域
1	N155H	K103N
2	T97T/A	V118I, M184V
3	(-)	(-)
4	Q148Q/H/R, N155N/H, L74I, E138E/A, G140G/S	M184V, Y181C
5	N155H, V151V/I	M184M/V
6	Y143Y/C, Q148Q/R, N155N/H, L74I	D67D/N, K70K/R, M184V, K219Q
7	Q148H, G140S	M184V, K103N, P225H
8	Q148Q/H/R, N155H/N, G140G/S	(-)
9	N155H	(-)
10	Y143Y/S, Q148Q/R, L74I	(-)
11	(-)	(-)
12	Not done	Not done

図15 SWITCHMRK study (2)

性変異のない症例 (BENCHMRK 試験で 94 例中 25 例) や minor mutation のみの症例 (BENCHMRK 試験で 94 例中 2 例) も少なからず存在している。我々の経験した症例 2 はウイルス学的治療失敗に関連して、治療開始前には観察されなかったアミノ酸変異 (E92E/Q) が出現しているため、薬剤耐性変異と考えるのが妥当であるが、IN 領域に minor mutation のみが発見することは、従来考えられている機序と異なっているため、その評価は慎重に行う必要があり、*in vitro* の解析も含め今後の詳細な検討による意義の解明が期待される。

RAL の薬剤耐性について注意すべきことは、ウイルス学的治療失敗歴のある症例に対する投与である。SWITCHMRK 試験の報告において統計学的な考察はなされていないが、本試験のウイルス学的治療失敗に対する過去のウイルス学的治療失敗の有無の相対危険度について算出した。RAL が投与された群では 2.05 (95% 信頼区間 1.25-3.36) と上昇していた。一方、LPV/r が投与された群では 0.78 (95% 信頼区間 0.38-1.59) であった。このことは過去に治療失敗歴がない症例と比較して、治療失敗歴のある症例では RAL 投与後に治療失敗となる可能性が高いことを意味している。LPV/r で VL が感度未満に抑えられている症例を対象としているため、LPV/r が投与された群での相対危険度が低く見積もられた可能性は否定することはできない。しかし、この結果を受けて、治療失敗歴のある症例や、NRTI に対して耐性を有している症例への RAL の投与は慎重に行うべきと考えられる。今回我々が経験した症例 1 はその典型的な症例であった。

E. 結論

新規患者における HIV の薬剤耐性遺伝子の検索を 85 名に対して行った。治療に関連する変異を 4 例に認めた。RAL 投与後にウイルス学的治療失敗例を 2 例経験し、ウイルス学的治療失敗に関連して、IN 領域に変異の出現を認めた。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

口頭発表

国内

- 1) 白阪琢磨、富成伸次郎、小川吉彦、渡邊大、矢嶋敬史郎、米本仁史、坂東裕基、谷口智宏、笠井大介、西田恭治、上平朝子：Integrase 領域の変異の出現を認めた Raltegravir による治療失敗の 2 例。第 24 回日本エイズ学会総会・学術集会、

2010 年 11 月、東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし。



横浜及び近郊における薬剤耐性HIVの動向調査研究

研究分担者 石ヶ坪良明 横浜市立大学大学院医学研究科病態免疫制御内科学 教授
研究協力者 上田 敦久 横浜市立大学附属病院リウマチ・血液・感染症内科

研究要旨

神奈川県におけるHIV/AIDS診療の実態を把握するため平成22年度1～12月に当院初診の新規未治療感染患者19名を対象に薬剤耐性検査とBEDアッセイを継続して行った。最近の感染を示唆するODn値0.8未満の者は6人(33%)であった。また、臨床的問題となりうる耐性変異を17人中1人(6%)に認めた。

平成21年11月から22年5月の間に4名の初期HIV感染患者が当院を初診した。初診時に全症例でODn値は0.8未満であったものの、うち2例において感染後180日以内のODn値回復を認めなかった。3例においてCD4値の回復を認めず、感染後約200日、270日、360日後にHAARTが導入されていた。

A. 研究目的

当院診療圏(横浜市南部・三浦湘南地区)におけるHIV感染の動向把握のために一昨年より施行している新規未治療感染患者の薬剤耐性検査とBEDアッセイを継続して行った。

過去4年間のBEDアッセイにおいて、最近の感染を疑うODn値0.8未満の新規感染判明患者のうち、AIDS発症や臨床歴から偽陽性を疑う症例を散見した。BEDアッセイの感度、特異度を評価する目的で初期HIV感染が明らかである症例に関してBEDアッセイを含め経過を追った。

(倫理面への配慮)

サンプリングは採血のみであり、多くは他の検査項目と一緒に行われた。薬剤耐性検査の解析結果は、治療開始時の薬剤選択において多いに有用であり、不利益な点はない。BEDアッセイは患者の要請に基づき通知するが、偽陽性や偽陰性の頻度が高いこと同時に知らせ、また診療方針の決定には影響しない。情報の扱いには細心の注意が払われる。施設から出る情報は匿名化されたものを用い、個人を特定する情報の流出はない。本解析は当院の倫理委員会で承認されており、これに基づき研究の目的、研究に協力いただいたときの利益と不利益、参加の方法と

内容、研究調査の適切な運営と情報の保護、研究成果の公表、協力して頂くことを説明し、同意のもとに行われた。

B. 研究方法

薬剤耐性検査およびBEDアッセイ；2010年度に当院を新規感染患者として受診した19名に研究の内容に同意を得た後に薬剤耐性検査およびBEDアッセイを施行した。薬剤耐性検査は国立感染症研究所および国立名古屋医療センターに検査を依頼、BEDアッセイはcalypte® HIV-1 BED incidence EIAキット(Calypte Biochemical Co., Rockville, MD)を用いて調べた。

C. 研究結果

薬剤耐性検査およびBEDアッセイ

表1に19名の新規感染判明患者の初診時CD4陽性細胞数、VL、AIDS発症の有無、BEDアッセイの結果を示す。症例1、症例14は前医でWB法による確認検査が判定保留であったことから初期HIV感染と判明、症例6は初診時抗体陽性であったものの半年前のHIV検査(第3世代抗体検査)が陰性であり初期HIV感染と判明した。症例3はエンテカビルによる急性B型肝炎治療中であったためHIV-VLは

320c/mlと低値であった。最近の感染の可能性を示唆するODn値0.8未満は症例1、6、14を含めた6症例（35%）であった。症例9、15はPCPを指標疾患にAIDSを発症していた。耐性検査の結果は症例2にrt215Sを症例6にrt215Aを認めた以外に臨床上考慮すべき変異を認めなかった。15症例にサブタイプ解析が施行され、症例16のAEを除き全例サブタイプBであった。症例16の感染経路はMSMと推測されている。

初期HIV感染者の経過

平成21年11月から22年5月の間に4名の初期HIV感染患者が当院を初診した。全例診断時に抗原検査陽性（リアルタイムPCR法）であったが、症例Aは抗体陰性（第3世代抗体検査）、症例B、CはWB法

での抗体検査が判定保留（Cは本年度初診の症例1）、症例Dは診断時抗体検査陽性であったものの半年前の検査陰性であり初期HIV感染症状と診断された（症例6）。診断時のODn値は全例で0.8未満（0.05～0.31）であった。全例に発熱を認め、さらに皮疹・肝機能障害・下痢症状を呈する症例もあった。初診時およびその後の臨床経過を図1に示す。症例B、C、DにおいてCD4陽性細胞数は初診時から300/μL以下で推移しそれぞれ感染後360日、210日、270日後にHAARTが導入されていた。特に症例CではHAART導入時CD4値は57/μLまで低下し、導入直後にはPCPの発症をみた。症例C、Dにおいて感染後180日を超える経過中にODn値が0.8を超えることはなかった。

表1

表2

症例	感染時期	CD4	VL (c/ml)	ODn
1	初期 HIV 感染	104	960 000	0.05
2	不明	31	21 000	1.47
3	不明	619	320	NP
4	不明	1	11 000	3.34
5	不明	374	3 100	0.96
6	初期 HIV 感染	278	350 000	0.31
7	不明	399	83 000	0.08
8	不明	298	110 000	1.65
9	不明	29	570 000	0.43
10	不明	629	3 200	2.20
11	不明	23	110 000	5.72
12	不明	295	7 100	4.37
13	不明	410	910	2.05
14	初期 HIV 感染	419	110 000	0.19
15	不明	18	160 000	0.70
16	不明	410	190 200	4.88
17	不明	42	42 000	3.16
18	不明	818	11 000	0.95
19	不明	127	65 000	4.62

症例	NT	PR	INT	Subtype
1	(-)	62V, 71T, 77I	(-)	NP
2	41L, 106I, 215S	62V, 63P, 71V	(-)	NP
3	(-)	10V, 15V	(-)	NP
4	(-)	NP	NP	NP
5	(-)	15V, 62V	(-)	B
6	215A	15V, 77I	(-)	B
7	(-)	15V	(-)	B
8	(-)	15V	(-)	B
9	(-)	62V, 71V, 77I	157Q	B
10	(-)	15V, 62V, 77I	(-)	B
11	98S, 179D	77I	(-)	B
12	(-)	62V, 63P, 77I	(-)	B
13	(-)	63P, 69Q, 77I	(-)	B
14	(-)	10V, 15V	(-)	B
15	(-)	15V, 58E, 62V, 71V, 77I	(-)	B
16	(-)	15V, 16E, 69K, 71T, 77I	(-)	AE
17	(-)	(-)	(-)	B
18	(-)	71V	(-)	B
19	(-)	15V, 60E	(-)	B

AIDS 発症例 NP: not performed

NP: not performed

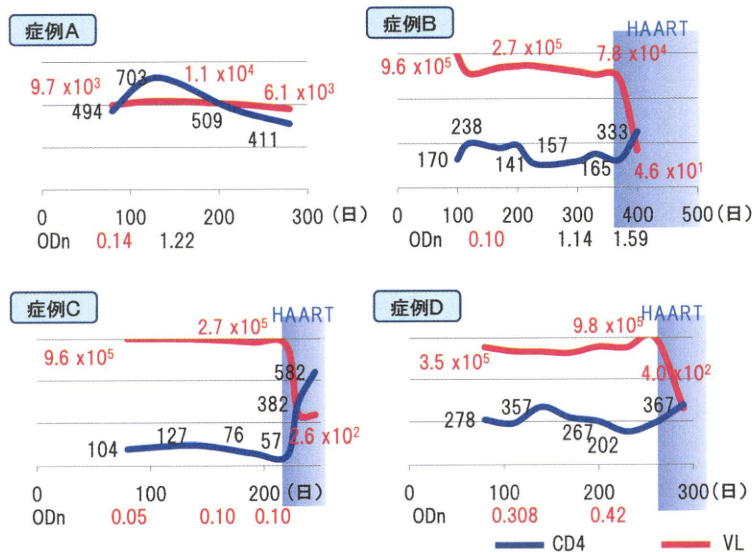


図1