

I 感染症の種類別に小児感染症を考える

- 工夫。
- ⑤ 内服回数や錠数の少ない組み合わせの選択。
 - ⑥ 生活習慣・生活リズムに合わせた薬剤の選択。
 - ⑦ 保護者と感染児の信頼関係。
 - ⑧ 思春期以降になると、内服が煩雑で副作用が強いわりに、明らかな症状がないと薬の継続が困難になる。本人への告知も重要な課題である。

2. 感染の告知

わが国では母子感染の大半が1990年代に発生している。現在、その子供たちが成長して思春期にさしかかっており、親だけでなく周囲との関わりも増え、告知を検討すべき時期にきている。感染の告知は以下の点で極めて重要かつ慎重に扱うべき問題である。

- ① 薬を毎日飲み続けることは難しい。苦痛になると服薬への疑問が生じ、感染を詳しく知りたがるようになる。単に親から命令されて飲むことに納得できなくなる。また、告知されても感染が受容できない場合、逆に服薬を拒否することもある。
- ② 児が母子感染の経緯を知った場合、話し方次第では両親への怒りや嫌悪・憎悪などを一気に誘発しかねない。特に思春期では両親との葛藤が激しくなる時期であり、注意が必要である。
- ③ 思春期では感情の起伏が激しく、自己嫌悪・自己否定が続き、衝動的な行動が出やすくなる。こうした不安定な時期に告知を行うのは危険である。
- ④ 異性との性的な付き合いがみられるようなら、相手への感染リスクについて正確な情報を与えなければならない。性的接触を禁ずるのではなく、正確な感染予防知識を持たせることが必要である。
- ⑤ 学校の職員などに、児の感染を告知するかどうかは非常に難しい。HIVに対する差別・偏見は極めて強く、医療側がどれ

ほどHIVの感染リスクが少ないかを説明しても、告知することによって入学を拒否される可能性もある。学校が障害児や慢性疾患児を受け入れた実績や、両親と学校側との面接などを通して、告知が正しく受け止めてもらえそうか、慎重に見極める必要がある。

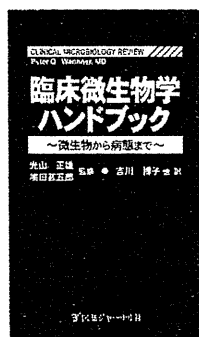
VIII おわりに

近年、小児のHIV感染症についてガイドラインが大きく変わってきている。診断のための検査時期・方法がより明確にされる一方、推奨薬剤については成人の実績を参考に大きく変更された。ただし、これらの薬剤は小児での使用実績は十分でなく、日本人においては使用経験すらないのが実情であり、副作用に十分注意する必要がある。1990年代に多く発生したHIV感染児が思春期を迎えつつあるが、感染の告知についての正答はない。本人に感染を受容させ、周囲の偏見からいかに支えていくか、真剣に考えるべき時期に来ている。

文 献

- 1) 「周産期・小児・生殖医療におけるHIV感染対策に関する集学的研究」班(主任研究者:和田裕一, 分担研究者:塚原優己):平成19年度母子感染予防対策マニュアル第5版
- 2) HIV Paediatric Prognostic Markers Collaborative Study Group: *Lancet* 362: 1605-1611, 2003
- 3) Gray L, et al: Fluctuations in symptoms in human immunodeficiency virus-infected children: the first 10 years of life. *Pediatrics* 108: 116-122, 2001
- 4) Puthanakit T, et al: Hospitalization and mortality among HIV-infected children after receiving highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect* 44 (4): 599-604, 2007
- 5) Working Group on Antiretroviral Therapy and Medical Management of HIV-Infected

- Children : Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Pediatric HIV Infection. July 29, 2008. <http://www.aidsinfo.nih.gov/guidelines>
- 6) Dunn DT, et al : The sensitivity of HIV-1 DNA polymerase chain reaction in the neonatal period and the relative contributions of intra-uterine and intra-partum transmission. *AIDS* 9 : F7-F11, 1995
 - 7) Simonds RJ, et al : Sensitivity and specificity of a qualitative RNA detection assay to diagnose HIV infection in young infants. *Perinatal AIDS Collaborative Transmission Study. AIDS* 12 : 1545-1549, 1998
 - 8) Desai N, et al : Lactate levels in children with HIV/AIDS on highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 17(10) : 1565-1567, 2003
 - 9) Blanche S, et al : Persistent mitochondrial dysfunction and perinatal exposure to antiretroviral nucleoside analogues. *Lancet* 354 : 1084-1089, 1999
 - 10) European Paediatric Lipodystrophy Group : Antiretroviral therapy, fat redistribution and hyperlipidaemia in HIV-infected children in Europe. *AIDS* 18 : 1443-1451, 2004
 - 11) Mallal S, et al : Association between presence of HLA-B*5701, HLA-DR7, and HLA-DQ3 and hypersensitivity to HIV-1 reverse-transcriptase inhibitor abacavir. *Lancet* 359 : 727-732, 2002
 - 12) Kinai E, Hanabusa H : Progressive renal tubular dysfunction associated with long-term use of tenofovir DF. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2008, accepted on Dec. 11, 2008



臨床微生物学ハンドブック ～微生物から病態まで～

聖マリアンナ医科大学・昭和薬科大学客員教授 嶋田甚五郎 監修
 京都大学大学院医学研究科微生物感染症学教授 光山 正雄
 新潟市民病院感染症担当医 吉川 博子 他 訳

B 6 変型判 412頁 定価 4,095円 (本体 3,900円 + 税 5%) 送料実費
 ISBN4-7532-1893-7 C3047

おもな内容

- | | |
|--|--|
| <p>I. 基礎</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 基本用語解説 <p>II. 細菌</p> <ol style="list-style-type: none"> 2. グラム陽性球菌 3. グラム陽性桿菌および
常在菌でない嫌気性菌 4. 常在嫌気性菌 5. グラム陰性球菌 6. グラム陰性桿菌 (呼吸器関連菌) 7. グラム陰性桿菌 (尿路関連菌) 8. グラム陰性桿菌 (消化器関連菌) 9. 人畜共通感染菌 10. 節足動物媒介性細菌 11. 抗酸菌および抗酸性菌 12. スピロヘータ 13. クラミジア 14. マイコプラズマとウレアプラズマ 15. 性状別細菌一覧 | <p>III. ウイルスとプリオン</p> <ol style="list-style-type: none"> 16. DNAウイルス 17. RNAウイルス 18. プリオン 19. ウイルス一覧表 <p>IV. 真菌</p> <ol style="list-style-type: none"> 20. 真菌 : 真菌症 21. 性状別真菌一覧 <p>V. 寄生虫</p> <ol style="list-style-type: none"> 22. 寄生虫 23. 寄生虫一覧表 <p>VI. 総一覧</p> <ol style="list-style-type: none"> 24. 全微生物総合一覧表 <p>○訳者註一覧</p> |
|--|--|

株式会社 医薬ジャーナル社 〒541-0047 大阪市中央区淡路町3丁目1番5号・淡路町ビル21 電話 06(6202)7280(代) FAX 06(6202)5295 (振替番号) 00910-1-33353
 〒101-0061 東京都千代田区三崎町3丁目3番1号・TKIビル 電話 03(3265)7681(代) FAX 03(3265)8369

<http://www.iyaku-j.com/> 書籍・雑誌/バックナンバー検索, ご注文などはインターネットホームページからが便利です。

特集

迷わない！重症感染症への抗菌薬・抗ウイルス薬

Ⅲ. 各種感染症・病態における診断の決め手と治療薬の選びかた

小児のHIV感染症

はな ぶさ ひで し 花 房 秀 次 荻窪病院小児科・血液科

Key Words

HIV
RNA
DNA
CD4
多剤併用療法

要 旨

わが国のHIV感染者は急増しており、母子感染の予防、出生児の感染診断、治療および思春期の性感染への対応などが必要である。HIV診療は急速に進歩しており、抗HIV薬の種類も増え、治療法が複雑になっている。成人では死亡率も減少し慢性感染症になりつつあるが、小児では利用可能な新薬は少なく、今後の改善が必要である。新薬の入手方法、薬剤耐性変異遺伝子の検査、副作用への対応など専門医との連携が重要である。

はじめに

わが国は、先進国の中では唯一、ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus, 以下HIVと略す) 感染者が急増している。現在は男性同性愛者の中で感染爆発が生じているが、その後は異性間感染症として若い女性を中心にHIV感染者が増加すると予測されている。HIV感染症はクラミジア感染などの性感染症を併発していると、感染確率が3～5倍高くなる。木原らの調査によると、女子高校生での性体験率は40%を超え、女子大学生では70%を超える。性交渉の相手が増えるほどコンドームの使用率が低下しており、性感染症の危険性が高くなる¹⁾。このままでは今後、母子感染が増加すると予測される。小児科医に必要なHIV感染症の診療は母子感染予防がもっとも多く、その他に母子感染した児、思春期以後の性感染症による

感染者などが対象となる。

母子感染予防

わが国の母子感染研究班調査によると、1984～2007年に468例のHIV感染妊婦の分娩が行われ、42名の母子感染が報告されている²⁾。しかし最近では、母子への抗HIV薬投与や選択的帝王切開などにより母子感染率は1/194例(0.5%)まで低下している。妊婦がHIVに感染している場合、母親の血中HIV RNA量を可能な限り低く抑制し、胎内感染と出産時の感染を防止することが重要である³⁾。

1. 妊娠後の抗HIV薬投与方法³⁾

1) 分娩前

初回治療で免疫状態が良好であれば、妊娠14週以後(28週前)に多剤併用療法 (highly active anti retroviral treatment: HAART) を開始する。エファビレンツ (EFV) などは催奇形性が

強く、妊娠初期には禁忌である。薬剤耐性や副作用がなければリトナビル・ロピナビル (LPV/r) + ジドブジン (AZT) + ラミブジン (3TC) が推奨される。

2) 分娩中

選択的帝王切開の場合、帝王切開の3時間前にAZT 2 mg/kg/回を1時間かけて点滴静注、以後1 mg/kg/時で持続静注する。分娩開始とともにAZT 2 mg/kgを1時間静注し、引き続き出産まで1 mg/kg/時を持続静注する。

2. 選択的帝王切開について

陣痛がおこると母親の血液が胎盤から流入して胎児に感染する危険があるため、陣痛前の在胎38週前後で選択的帝王切開を行うことが推奨されている。しかし、母体血中ウイルス量が1,000 copies/mLより低い場合には感染確率は低く、帝王切開による危険性もあるので、米国などでは経膈分娩でもよいと考えられている。わが国の「HIV母子感染予防対策マニュアル」²⁾では、感染の危険性をより低くできる可能性から選択的帝王切開を推奨している。陣痛・破水が生じた場合、その後の帝王切開と経膈分娩では感染率に差がないといわれている。

HIV陽性母体から生れた児に対する管理

1. AZT予防投与

出産後6～12時間までに新生児に対しAZTシロップ経口投与 (2 mg/kg内服または1.5 mg/kg静注を6時間ごと1日4回)を開始し、6週間継続する。副作用が強い場合は4週間に短縮する。

2. 35週未満の未熟児

始めの2週間はAZTシロップ2 mg/kg/回 (経口) または1.5 mg/kg/回 (静注) を1日2回投与し、以後は同量を1日3回投与する。

3. 副作用

1) 貧血、顆粒球減少

AZTによる骨髄抑制が強い場合には減量や

中止が必要となる。

2) 消化器症状

悪心・嘔吐に注意する。

4. 今後の課題

出産後の児への抗HIV療法として、AZT単独投与でよいのか多剤併用療法がよいのかは今後の議論が必要である。AZT単独投与の有効性は多剤併用療法が導入される以前のデータ⁴⁾のため比較試験は少なく、児における薬物動態試験も十分に行われていない。生後早期にHIV感染が確定された場合、AZTは効果が乏しいので多剤併用療法にすぐに変更する必要がある。わが国では児の貧血が36%に認められ、突然死も報告されており、AZT投与量、投与回数、投与期間、また短期の多剤併用療法などが今後の検討課題である。

5. 母乳禁止

母乳にはHIVや感染細胞 (樹状細胞など) が含まれているため、母乳によりHIV感染が生じる。このため、乳房を冷やして断乳する。実際には母親が家族・親戚にHIV感染について話すことができない場合も多く、そのため、なぜ母乳を禁止するかの説明理由 (乳腺炎など) の相談も必要である。

6. 児のHIV感染の診断 (表1)⁵⁾

生下時、生後2～3週、1～2カ月、4～6カ月にHIV RNA、HIV DNA検査を行い、感染の有無を診断する。

①抗体測定：生後18カ月までは母親からの移行抗体があるため診断には適さない。

②HIV RNA量：感度は生後1週までは25～40%と低く要注意だが、生後2～3カ月までに90～100%となる。

③HIV DNA量：HIV感染細胞を測定でき新生児のHIV感染の診断には大変有用であるが、わが国で検査できる施設は少ない。

生後1～3カ月後にHIV DNA、HIV RNAともに陰性の場合には感染していない。慶應義塾大学

微生物教室が開発した超高感度PCR (DNA, RNA) を用いれば、生後2週でHIV感染の有無を判定し、予防投与の中止を判断できるようになりつつある。

生後6カ月以降の1カ月以上間隔をあけた2回以上の検査で抗体価が陰性で、かつ感染徴候がなければ感染は否定される。生後18カ月以降では抗体検査が有用となる。

HIV感染児に対する抗HIV療法

治療の目標は、血中HIV RNA量を検出限界以下に抑制し、免疫機能を長期間維持することである。

1. 治療開始時期

米国の治療開始ガイドラインを表2⁵⁾に示す。

生後1歳未満は生命予後がきわめて悪く、免疫状態や症状にかかわらず治療を開始する。1歳以後に診断された場合は、臨床症状、CD4細胞数、HIV RNA量に応じて治療を検討する。近年、治療開始基準としてCD4が25%未満もしくは350/mm³未満と、成人同様に早い段階で治療が開始されるようになっている。AIDS症状とHIV関連症状を表3に示す。

2. CD4細胞数と比率の判断

5歳未満の小児ではCD4細胞数の絶対値の年齢的変動が大きいいため、%での判断が望ましい。

3. 抗HIV薬の選択と組み合わせ

HIV治療の原則は、抗ウイルス作用の異なる薬剤を複数組み合わせる多剤併用療法である。

表1 母子感染が疑われる児の検査と診断 (文献5) より引用)

検査時期	検査項目	コメント
出生直後	PCR (HIV RNA, HIV DNA)	生後1週までのHIV RNA陽性感度は25~40%と低く、DNA陽性感度は38%前後である。陽性の場合、子宮内感染が疑われる
生後2~4週	PCR (HIV RNA, HIV DNA)	生後2週間でウイルス量が急上昇する。DNA感度は90%以上となる
生後1~3カ月	PCR (HIV RNA, HIV DNA)	生後1カ月でのHIV DNAの感度は96%、特異度は99%となる。HIV RNAの感度は生後2~3カ月までに90~100%となる
生後4~6カ月	PCR (HIV RNA, HIV DNA)	PCRで感染の有無が確定される
生後12~18カ月以後	HIV抗体検査 (EIA法・WB法など)	母体からの移行抗体が消失して陰性であれば感染はしていない。18カ月以上経過してもHIV抗体が陽性だと感染と診断される

生後12~18カ月までにHIV抗体が陰性化すると感染が否定される
 乳児期HIV RNA量が10,000 copies/mL以下だと再現性が乏しく、再検査が必要である
 母親が多剤併用療法を受けていて血中HIV RNA量が検出限界以下でもHIV DNAは陽性となる

表2 小児の初回治療開始基準 (2008年2月改定) (文献5) より引用)

年齢	臨床分類	CD4 (% or /mm ³)	血中HIV RNA量 (copies/mL)	治療適応
1歳未満	すべて	すべて	すべて	治療開始
1歳以上~5歳未満	有症状 (CまたはB)	すべて	すべて	治療開始
	すべて	< 25%	すべて	治療開始
	無症状~軽症状A	≥ 25%	かつ ≥ 10万	治療を考慮
		≥ 25%	かつ < 10万	経過観察
5歳以上	有症状 (CまたはB)	すべて	すべて	治療開始
	すべて	< 350	すべて	治療開始
	無症状~軽症状A	≥ 350	かつ ≥ 10万	治療を考慮
		≥ 350	かつ < 10万	経過観察

現在、小児に使用可能な薬剤は以下に述べる
①～③の3種類に大別される。

①ヌクレオシド系逆転写酵素阻害 (nucleo-
side reverse transcriptase inhibitor : NRTI) 薬。

②非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害 (non-
nucleoside reverse transcriptase inhibitor : NNRTI)
薬。

③プロテアーゼ阻害 (protease inhibitor : PI) 薬。

④インテグラーゼ阻害薬。

⑤侵入阻害薬。

成人では、抗 HIV NNRTI 作用の強い②～④
のうち1剤と NRTI 薬2剤を組み合わせで投与する
が、小児では④⑤などの新薬の検討が十分でな
く剤形も限られている。そのため現時点では、

表3 小児の HIV/AIDS 臨床分類 (文献5) より引用)

category N (無症状)	HIV 感染症による症状がないか、A 群の症状のうち一つしかない
category A (軽症)	以下の症状のうち二つ以上を示すが、C 群の症状がない ・リンパ節腫脹 (2カ所以上で 0.5 cm 以上、対称性は1カ所とみなす) ・肝腫大・脾腫・皮膚炎・耳下腺炎 ・反復性・持続性の上気道炎・副鼻腔炎・中耳炎
category B (中等症)	A 群または C 群の以外の症状 (以下の症状などがあるが、限定しない) ・30日以上持続する貧血 (Hgb < 8 mg/dL), 好中球減少 (< 1,000/ μ L), 血小板減少 (< 10万/ μ L) ・細菌性髄膜炎・細菌性肺炎・敗血症 ・6カ月未満の児で2カ月以上続く驚口創 ・生後1カ月未満のサイトメガロウイルス (CMV) 感染症 ・反復性・慢性の下痢・1カ月以上続く発熱 ・腎症・肝炎・心筋症・平滑筋肉腫・ノカルジア感染症 ・1年に2回以上反復する単純ヘルペス口内炎 ・生後1カ月未満の単純ヘルペス性気管支炎・肺炎・食道炎 ・2回以上繰り返す、もしくは1デルマトーム以上の帯状疱疹 ・リンパ性間質性肺炎 (LIP) または肺リンパ増殖症 ・生後1カ月未満のトキソプラズマ感染症 ・播種性水痘
category C (重症) AIDS	AIDS 指標疾患に含まれる症状 (ただし LIP は B 群に含まれる) ・多発または反復性の重症細菌感染症 (敗血症, 肺炎, 髄膜炎, 骨髄炎, 内臓膿瘍など) ・カリニ肺炎 (<i>Pneumocystis jiroveci</i> 感染症) ・カンジダ症 (食道, 呼吸器感染) ・クリプトコッカス症 (肺以外) ・活動性結核 (肺外, 播種性) ・非定型好酸菌感染症 ・単純ヘルペス感染症 (1カ月以上持続する潰瘍, 食道炎, 肺炎など) ・進行性多発性白質脳症 (JC ウイルス感染症) ・サイトメガロウイルス感染症 (肝臓, 脾臓, リンパ節以外) ・反復性サルモネラ敗血症 ・悪性リンパ腫 (脳原発, 非Hodgkin リンパ腫) ・HIV 消耗症候群 (10%以上の体重減少, 30日以上の下痢, 発熱で HIV 以外の感染症がない) ・トキソプラズマ脳症 (生後1カ月以上) ・クリプトスポリジウム症 (1カ月以上続く下痢) ・HIV 脳症 ・Kaposi 肉腫 ・その他

表4 小児の初回抗HIV療法 (文献5)より引用)

非ヌクレオシド系逆転酵素阻害 (NNRTI) 薬 based regimen	推奨	3歳以上：エファビレンツ+2 NRTIs 3歳未満 or カプセルが飲めない：ネビラピン+2 NRTIs
	代替	3歳以上：ネビラピン+2 NRTIs
プロテアーゼ阻害 (PI) 薬 based regimen	推奨	ロピナビル・リトナビル+2 NRTIs
	代替	アナザタビル・リトナビル+2 NRTIs (6歳以上) ホスアンプレナビル・リトナビル+2 NRTIs +(6歳以上) ネルフィナ+2 NRTIs (2歳以上)
		ジドブジン+(ラミブジンまたはエムトリシタビン) テノホビル+(ラミブジンまたはエムトリシタビン) (Tanner 4度または思春期発現後に限定) アバカビル+(ラミブジンまたはエムトリシタビン) ジダノシン+エムトリシタビン
推奨	ジドブジン+(ラミブジンまたはエムトリシタビン) テノホビル+(ラミブジンまたはエムトリシタビン) (Tanner 4度または思春期発現後に限定) アバカビル+(ラミブジンまたはエムトリシタビン) ジダノシン+エムトリシタビン	
代替	アバカビル+ジドブジン ジドブジン+ジダノシン	

- 1) 治療開始前に薬剤耐性遺伝子検査を実施
- 2) エファビレンツ (カプセル・錠剤のみ), ネビラピン (懸濁液), ロピナビル・リトナビル (液剤はあるがアルコール40%含有), ホスアンプレナビル (液剤), ネルフィナ (粉), ジドブジン (シロップ), ラミブジン (液剤), エムトリシタビン (液剤), アバカビル (液剤), ジダノシン (粉), テノホビル (錠剤のみ)
- 3) 小児では少量リトナビルブースト (r) はロピナビル・リトナビルと6歳以上のアタザナビル・リトナビル, ホスアンプレナビル・リトナビルに限定される (初回治療が失敗した場合に使用)
- 4) サニルブジンやジダノシンは副作用が強いため使用されなくなっている
- 5) 厚生労働省エイズ治療薬研究班から市販されていない薬剤を供給されている (<http://labo-med.tokyo-med.ac.jp/aidsdrugmhw/mokuji.htm>)

小児に対しては表4⁵⁾に示すように、NNRTI薬またはPI薬から1種類を選択し、NRTI薬2種類と組み合わせて投与する。成人ではPI薬は、少量のリトナビル (RTV, チトクローム p450 阻害) と併用してPI薬の薬剤濃度を高めるブーストが一般的となっており小児でも推奨されつつあるが、小児での薬物動態試験は十分でなく不明な点も多い。

EFVは使用実績が豊富で第一選択に分類されるが、カプセル剤 (50, 200 mg) しかない。EFVが飲めない児にはネビラピン (NVP) シロップが適応されるが、肝機能障害や重症発疹などの副作用に注意が必要である。

小児へのNRTI薬はAZT+3TC [エムトリシタビン (FTC)] またはアバカビル (ABC) +3TC (FTC) の組み合わせが推奨される。成人ではツルバダ[®] (テノホビル・エムトリシタビン：TDF/FTC) が第一選択であるが、小児では副作用の問題から思春期以後しかすすめられていな

い。サニルブジン (d4T) やジダノシン (ddI) は、成人では副作用が深刻で使用されなくなってきた。

最近開発されたダルナビルや侵入阻害薬も小児での経験が少なく、インテグラーゼ阻害薬もチュアブル錠の臨床試験が現在、小児で検討されている。成人では有効で安全性の高い薬剤が開発され、無治療群では死亡率が高いことも報告され、抗HIV療法の開始基準が次第に早くなってきている。小児で使用可能な抗HIV薬は成人に比較して少なく、今後の早急な開発が求められる。

4. 副作用

LPV/r (カレトラ[®]) シロップはアルコール濃度が約40%もあり、アルコール代謝酵素が不足している日本人には注意が必要である。成人での第一選択薬であるアタザナビル (ATV) も、小児では副作用の問題から13歳以上 (39 kg以上) しか推奨されておらず、選択肢が少ない。

1) 消化器症状

抗HIV薬全般で悪心・嘔吐や下痢などが高頻度に生じる。

2) ミトコンドリア障害

NRTI薬内服で高乳酸血症が30%前後に生じる。致死的な乳酸アシドーシスをひきおこすことはまれだが、新生児期での長期投与には注意が必要である。成人ではミトコンドリア障害から糖尿病や脂質代謝異常を生じ、脳心血管障害の増加が報告されている。

3) 肝機能障害

抗HIV薬全般で、肝機能障害が生じる可能性がある。

4) 発疹・過敏症

NVPなどは致死的な中毒性表皮壊死症を生じる場合があり、注意が必要である。投与後2～3週前後で多くみられ、重症の場合は即座に中止すべきである。ABCの過敏症はHLA-B5701との関連が報告され日本人には少ないが、それでも使用には注意が必要である。

5) 腎機能障害

テノホビル (TDF) は尿細管障害によりFanconi症候群や急性尿細管壊死が報告されている。TDFは成人では第一選択推奨薬だが、小児では骨塩量への影響が心配なためTanner 4度以上の年長者に限定されている。

6) その他

抗HIV薬の中にはEFVの中枢神経作用など、多くの副作用が報告されている。さらに、薬剤の相互作用も多く血中濃度への影響もあるので、使用には十分な配慮が必要である。

5. 薬剤耐性

HIVは遺伝子の変異速度が速く、投与薬剤で十分に抑制されないと薬剤耐性変異を生じる。治療中に血中HIV RNA量が1,000 copies/mL以上になった場合はHIVの遺伝子検査を実施し、耐性変異があれば有効な薬剤に変更して組み合わせる必要がある。

6. 服薬アドヒアランス

治療でもっとも重要な点は、抗HIV薬の服薬率を95%以上に保ち、薬剤耐性を防止することである。そのためには本人の自覚、保護者の教育、家族の支援、カウンセリングなどが重要である。医療従事者は有効で副作用が少なく、飲みやすい薬剤（味がよく、服薬回数が1回程度と少なく、錠数が少なく小さい）を選択して投与することが大事だが、現状では小児の選択肢は少なく改善が必要である。

思春期以後のHIV感染

思春期以後は成人に準じた診断と治療を行う。診断はスクリーニング検査で抗体測定し[EIA (enzyme immunoassay) 法など]、確定診断をウエスタンブロット (WB) 法とHIV RNA (PCR) 測定で行う。治療開始基準と初回治療法の推奨を表5⁶⁾に示す。成人の治療開始基準は毎年大きく変化している。最近では治療開始が遅れると発がんや脳心血管障害などにより死亡率が高まるため、治療開始が次第に早くなっている。数年前まではCD4細胞数が200を切る前に治療を開始するよう推奨されていたが、今では350未満で開始するよう変更されている。CD4細胞数が350～<500の場合、専門医の55%が開始を強く推奨しているが、CD4細胞数が500以上で治療をすすめるかどうかは専門家の中でも意見が分れている。抗HIV薬の早期開始に伴う効果と長期内服に伴う副作用を個々の患者の状況に応じて比較検討し、治療開始時期と治療薬を選択することが必要となる。成人では、小児に用いられている抗HIV薬の多くが副作用や効果の面から第一選択薬からはずされており、小児用の薬剤開発が早急に望まれる。

心理的・社会的問題

抗体スクリーニング検査では擬陽性が90%以上と高く、確認検査が必要である。感染告知に

表5 思春期以後の治療開始基準と初回治療の推奨治療薬剤の組み合わせ (文献6) より引用)

エイズ発症・妊婦・HIV腎症・HIV/HBV (HBV治療必要者) は治療開始	治療
CD4細胞数	
< 350	開始
350 ~ < 500	強く推奨 (55%), 中等度推奨 (45%)
≥ 500	治療開始を検討 (50%が開始を好ましい・50%は任意)

初回治療の推奨治療薬剤の組み合わせ

1日1回内服の組み合わせ

エファビレンツ+ツルバダ (テノホビル/エムトリシタビン)
 ダルナビル/リトナビル+ツルバダ
 アタザナビル/リトナビル+ツルバダ

1日2回内服

ラルテグラビル (1日2回) + ツルバダ (1日1回)

は十分なカウンセリングが必要である。HIV/AIDS 診療の急速な進歩にもかかわらず社会での理解は乏しく、配慮が必要である。

おわりに

HIV感染症の治療ガイドラインは、新たな知見や新薬の登場などにより年々大きく変更されている。治療は早期に開始するようになりつつあるが、薬剤の副作用など長期予後の観察が重要である。わが国では小児HIV感染者の診療経験のある医療従事者は少なく、経験豊富な医療スタッフと連携をとりながら診療を行う必要がある。

文献

1) 木原正博：日本における HIV 流行の現状と文脈

について。2007年度厚生労働科学研究エイズ対策研究事業, HIV感染症の動向と影響及び政策のモニタリングに関する研究班, 2008

- 2) 「周産期・小児・生殖医療における HIV 感染対策に関する集学的研究」班：平成19年度 HIV母子感染予防対策マニュアル。第5版, 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, 主任研究者：和田裕一, 2007
- 3) Perinatal HIV Guidelines Working Group: Recommendations for Use of Antiretroviral Drugs in Pregnant HIV-Infected Women for Maternal Health and Interventions to Reduce Perinatal HIV Transmission in the United States. 2009
<http://aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/PerinatalGL.pdf>.
- 4) Connor EM, Sperling RS, Gelber R et al.: Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. N Engl J Med 331:1173-1180, 1994
- 5) Working Group on Antiretroviral Therapy and Medical Management of HIV-Infected Children: Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Pediatric HIV Infection. 2009
<http://aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/PediatricGuidelines.pdf>
- 6) Department of Health and Human Service: Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents. 2009
<http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>

著者連絡先

〒167-8515 東京都杉並区今川3-1-24
 荻窪病院小児科・血液科
 花房秀次

7. HIV 検査および HIV 関連検査

加藤 真吾*

HIV 感染症の治療と感染拡大の防止のため、HIV 検査はますます重要となっている。近年、HIV 検査薬は格段の進歩を遂げ、抗体、抗原およびウイルス RNA に対する検査を適切に組み合わせることにより、急性期からの HIV 感染を非常に正確に診断できるようになった。また、迅速検査薬は保健所等での検査に大いに役立っている。口腔液を用いた検査や1分間で結果が出る検査などが今後、国内でも利用できるようになることが期待される。一風変わった検査法として、治療効果予測のための毛髪中抗 HIV 薬定量というものがある。検査法は進歩したが、わが国の HIV 検査体制は必ずしも有効に機能していない。その改善策をいくつか提言する。

Key Words : 迅速検査/ウエスタンブロット法/HIV RNA 定量法/毛髪中薬剤濃度/HIV 検査体制

I はじめに

近年、HIV 感染症の治療は飛躍的な進歩を遂げ、早期診断・早期治療により患者の生活の質を著しく改善できるようになった。また、抗 HIV 治療により体内のウイルス量を下げることが感染予防にも役立つことがわかってきた。より多くの感染者を確実に診断し、医療につなげることがますます重要となっている。本稿では、HIV 感染症を正確に診断するための検査プロトコールや新しい検査方法を解説し、最後にわが国における HIV 検査体制の課題とその対策を提示する。

I HIV 検査

HIV 感染の検査はスクリーニング検査と確認検査の2段階で行われる。すなわち、まず感度の高いスクリーニング検査を実施し、そこで陽性反応が出た検体をより特異度の高い確認検査にかけることにより、スクリーニング検査における偽陽性を排除する。

スクリーニング検査の方法は、HIV 研究の初めころは HIV-1 の Ig (免疫グロブリン) G 抗体が検出できるだけであったが、その後、検出技術が飛躍的に向上し、現在では HIV-1 と HIV-2 の抗体 (IgG と IgM) だけでなく、HIV-1 の抗原 (p24) も検査することが可能となった。このような最新の方法を HIV-1/2 抗原抗体同時検出法、あるいは第4世代スクリーニング検査法と呼んでいる。わが国の検査センターなどではこの方法が標準的に使用されている。

一方、検査法の簡易化、迅速化も進み、イムノクロマト法を原理とする迅速検査法が開発された。この方法は、血液あるいは血清を1滴加えて15分間静置するだけで結果を得ることができる。保健所などの HIV 検査相談の場で広く使用されており、陰性の場合はその日のうちに受検者に結果を返すことができるという利点がある。

確認検査にはウエスタンブロット (WB) 法と HIV-1 RNA 定量法が用いられる。WB 法は HIV の構成タンパク質に対するそれぞれの抗体を検出

HIV testing and its related topics

*慶應義塾大学医学部微生物学・免疫学教室 専任講師 Shingo Kato

するもので、HIV-1 と HIV-2 に対する検査キットが別途用意されている。一般に、感染初期では時間とともに抗体価が高まり、WB 法で反応するバンドの数も多くなる。一方、WB 法では非特異的な反応により陽性バンドが現れることもあるため、WB 法のバンドパターンは一定の基準に従って判定される。WHO と CDC (米国疾病予防管理センター) は若干異なる 2 つの判定基準を発表している¹⁾²⁾。国内でおもに使われている WHO の基準によると、特異的バンドが出現しないときは陰性、エンベロープの gp41, gp120, gp160 の 3 本のバンドのうち 2 本のバンドが検出されたときは陽性、特異的バンドはあるが陽性の判定基準にあわないときは保留と判定される。

スクリーニング検査法の性能は飛躍的に向上したが、WB 法の性能はほとんど変わっていない。そのため、スクリーニング検査の感度が WB 法の感度を追い越してしまった³⁾。すなわち、急性感染期の患者では、HIV-1 の抗原あるいは抗体がスクリーニング検査で検出されるが、WB 法ではまだ陰性あるいは保留と判定される場合があることを意味している。急性感染期の HIV 感染を診断することは、早期治療と二次感染の予防のために非常に重要である。

急性期感染の確認には HIV-1 RNA 定量法による検査が重要である。現在の HIV-1 RNA 定量法の感度は非常に高いため、一般に HIV RNA は抗原よりも早期に検出される。また、HIV-1 RNA 定量法と免疫学的検出法の原理はまったく異なるため、スクリーニング検査の偽陽性を判別することが容易である。そのため、WB 法と HIV-1 RNA 定量法を併用することにより HIV の確認検査の正確さを高めることができる。

一般的な HIV 検査手順として、日本エイズ学会と日本臨床医学会から「診療における HIV-1/2 感染症の診断ガイドライン 2008」が発表されている (図 1)⁴⁾。このガイドラインは急性期感染や HIV-2 感染などをできる限り正確に検査できる

よう設計されているが、指摘しておきたい点がひとつある。このプロトコールでは、スクリーニング検査が陽性であれば、HIV-1 と HIV-2 の確認検査がすべて陰性であっても、HIV-2 の急性期感染が否定できないという理由で 2 週間後の再検査が必要となっている。そのため、スクリーニング検査が偽陽性であった場合、確認検査では診断が確定せず、すべて再検査が必要になる。国内の HIV-2 の感染例はきわめて少ない。HIV-2 の感染リスクがないことが明らかな場合は、HIV-2 確認検査が陰性ならば、HIV に感染していないと診断してもよいのではないだろうか。

妊婦検診の場合、妊婦の有病率はきわめて低いので、スクリーニング検査の陽性はほとんど偽陰性によるものである。感度が十分高い検査法を追加検査として用いることにより、スクリーニング検査の偽陽性を検査の早い段階で除外するというプロトコールが試行されている⁵⁾。

III 新しい HIV 検査薬

ここでは、わが国にはまだ導入されていないが、国外で使用されている有用性の高い HIV 検査薬をいくつか紹介する。

1. コバス TaqMan HIV-1 バージョン 2.0

前述のように、現在使用されているタックマン法は、検体によって HIV-1 RNA がきわめて低値を示したり、検出できなかったりすることがある。この問題に対処するため、タックマン法バージョン 2.0 が開発された。バージョン 2.0 では、従来の製品が gag だけを標的にしていたのとは異なり、gag と LTR (long terminal repeat) の 2 つの標的を同時に使ってリアルタイム PCR (ポリメラーゼ連鎖反応) を行う。ここで用いられる 2 種類のプローブはどちらも FAM (レポーター蛍光色素) で標識されている。PCR の増幅効率 は 2 つの標的で同じになるように設定されているが、遺伝子の多型や変異などが原因で、どちらかの標的で PCR 増幅がまったく起こらなかった場合、HIV-1

Ig (免疫グロブリン)

CDC (米国疾病予防管理センター)

WB (ウェスタンブロット)

LTR (long terminal repeat)

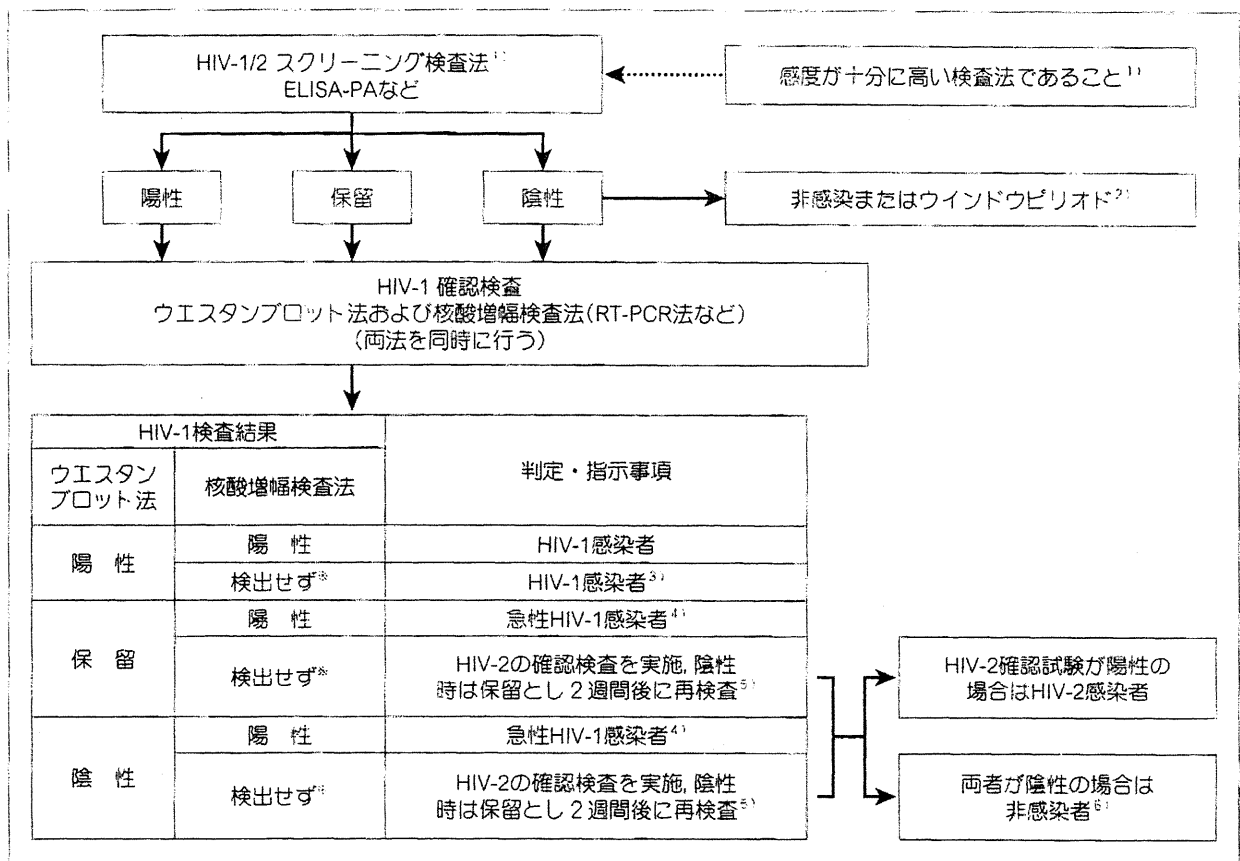


図1 診療における HIV-1/2 感染症診断のためのフローチャート

1) 明らかな感染のリスクがある場合や急性感染を疑う症状がある場合は抗原・抗体同時検査法によるスクリーニング検査に加え、HIV-1 核酸増幅検査法による検査も考慮する必要がある (ただし、現時点では保険適応がない)。

2) 急性感染を疑って検査し、HIV-1/2 スクリーニング検査とウエスタンプロット法が陰性または保留であり、しかも、HIV-1 核酸増幅検査法 (RT-PCR 法) が陽性であった場合は HIV-1 の急性感染と診断できるが、後日、HIV-1/2 スクリーニング検査とウエスタンプロット法にて陽性を確認する。

3) HIV-1 感染者とするが、HIV-1 核酸増幅検査法 (RT-PCR:リアルタイム PCR 法または従来法の通常感度法) で「検出せず^{*}」の場合 (従来法で実施した場合はリアルタイム PCR 法または従来法の高感度法における再確認を推奨) は HIV-2 ウエスタンプロット法を実施し、陽性であれば HIV-2 の感染者であることが否定できない (交差反応が認められるため)。このような症例に遭遇した場合は、専門医、専門機関に相談することを推奨する。

4) 後日、適切な時期にウエスタンプロット法で陽性を確認する。

5) 2週間後の再検査において、クリーニング検査が陰性であるか、HIV-1/2 の確認検査が陰性 / 保留であれば、初回のスクリーニング検査は偽陽性であり、「非感染 (感染はない)」と判定する。

6) 感染のリスクがある場合や急性感染を疑う症状がある場合は保留として再検査が必要である。また、同様な症状をきたす他の原因も平行して検索する必要がある。

注1: 妊婦健診、術前検査等の場合にはクリーニング検査陽性例の多くが偽陽性反応によるため、その結果説明には注意が必要。

注2: 母子感染の診断は、移行抗体が存在するため抗体検査は有用でなく、児の血液中の HIV-1 抗原、または HIV-1 核酸増幅検査法により確認する必要がある。

ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, PA: Particle Agglutination

(文献4より)

RNA の測定値は真の値の半分になる。しかし、50%程度の血中 HIV-1 RNA 量の差は臨床的に有意ではないとされているため、実際の HIV 感染症の治療においては問題にならないと考えられる。同じ検体 (n = 375) を用いてバージョン 2.0 を従来法のタックマン法およびアンプリコア法と比較した研究では、タックマン法でみられたような測定値の過小評価は観察されず、アンプリコアによる測定値と非常によく一致していた⁶⁾。

2. OraQuick ADVANCE Rapid HIV-1/2 Antibody Test

この検査薬は 20 分で HIV-1 と HIV-2 の抗体を検出することができる迅速キットで、全血、血漿のほかに口腔液でも検査できるのが特徴である。口腔液を検体に用いた場合、採血の必要がなく、廃棄物の処理も比較的簡単であるため、米国では保健・医療機関だけでなく、アウトリーチなどの非医療機関で広く使用されている。わが国においても、HIV 検査の利便性を高めるため早期に利用可能になることが望まれる。しかし、全血や血漿を検体とした場合に比べると、唾液を検体とした場合の感度が低いことや⁷⁾⁸⁾、使用期限に近づくと偽陽性の頻度が高まる傾向があるという問題⁹⁾に注意を払う必要がある。

3. INSTI HIV-1/HIV-2 Rapid Antibody Test

全血、指穿刺血、血清、血漿の中の HIV-1 あるいは HIV-2 の抗体をわずか 1 分で検出することができる。昨年 (2010 年) 11 月、HIV-1 抗体だけを検出するキットが FDA (米国食品医薬品局) によって認可された。他の多くの迅速検査法がイムノクラマトグラフィーを原理にしているのに対し、このキットはイムノフィルトレーションを使って測定時間の短縮化を図っている。感度に関しては、他の迅速検査法と比べてまったく遜色がないと報告されている⁸⁾。検査に要する時間が短くなるので、検査結果に見合った予防カウンセリングにより長い時間をかけることができるのではないだろうか。

IV 毛髪中抗 HIV 薬濃度の測定

ここで、通常の検査法とは性格が異なるが、今後の抗 HIV 治療において有用となる可能性のある検査法を紹介する。

血漿中の抗 HIV 薬、特にプロテアーゼ阻害薬の濃度は治療効果や副作用と関連があることが知られており、抗 HIV 治療を管理するための有効な指標となる¹⁰⁾。しかし、血漿薬剤濃度は個体内で大きく変動するため、それぞれの測定値は測定前後のわずかな時間での濃度しか反映しない。個々の患者の薬物動態を知るためには、長時間にわたって何回か採血しなければならないが、このような検査を実際に行うことは非常に困難である。一方、服薬アドヒアランスが不十分であると、血中薬剤濃度のトラフ値がウイルス増殖を阻害する濃度を下回り、その結果、薬剤耐性ウイルスの出現を引き起こし、治療の失敗に至る場合がある。服薬アドヒアランスの維持は HIV 治療において重要であるが、その評価は今のところ患者の自己申告に頼るほかなく、客観的な指標は確立されていない。

プロテアーゼ阻害薬は他の多くの薬剤と同様に血中から毛髪に移行し、そこで蓄積することが知られている。すなわち、毛髪中の薬物濃度はグリコシル化ヘモグロビン A1c (HbA1c) が過去 1~2 カ月の平均的な血糖値を反映するのと同じような性格をもっている¹¹⁾。また、毛髪中の薬剤は軸方向にほとんど拡散せず、毛髪の成長速度は 1 カ月で 1.0~1.2 cm とほぼ一定であるため、毛根から適当な距離と長さの毛髪部分を用いることにより、特定の時期と期間における平均的血中濃度の情報を得ることが可能である。

最近、抗 HIV 薬服薬患者の毛髪中プロテアーゼ阻害薬濃度がウイルス学的治療効果と有意な相関があるという研究が、米国¹²⁾と南アフリカ¹³⁾から相次いで報告された。毛髪の採取は採血に比べて簡便で、侵襲性もきわめて低く、資源の乏しい地域での検査に適している。今後、世界中に必要な

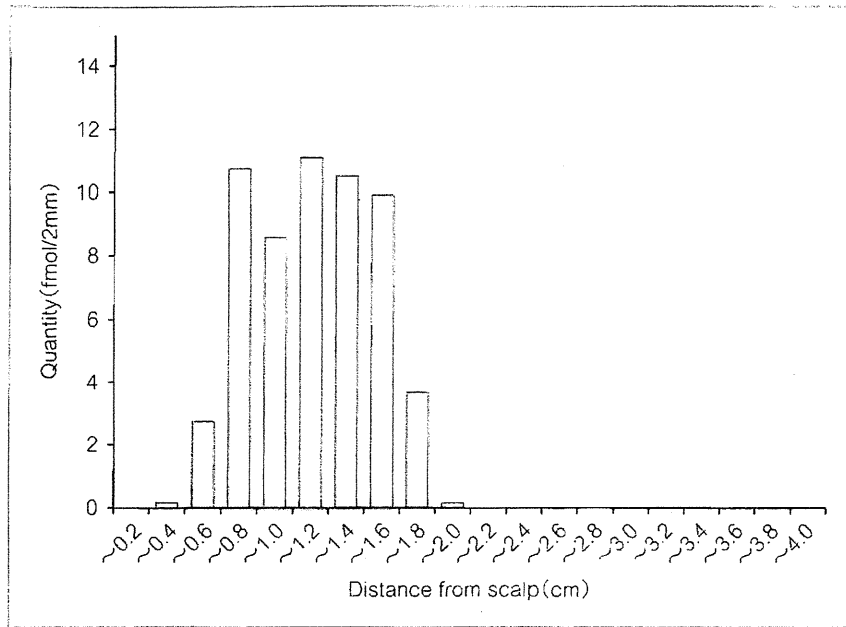


図2 A 毛髪内ネルフィナビル濃度

抗 HIV 薬をロピナビルからネルフィナビルに変更した患者の毛髪内ネルフィナビル濃度。

(筆者作成：未発表データ)

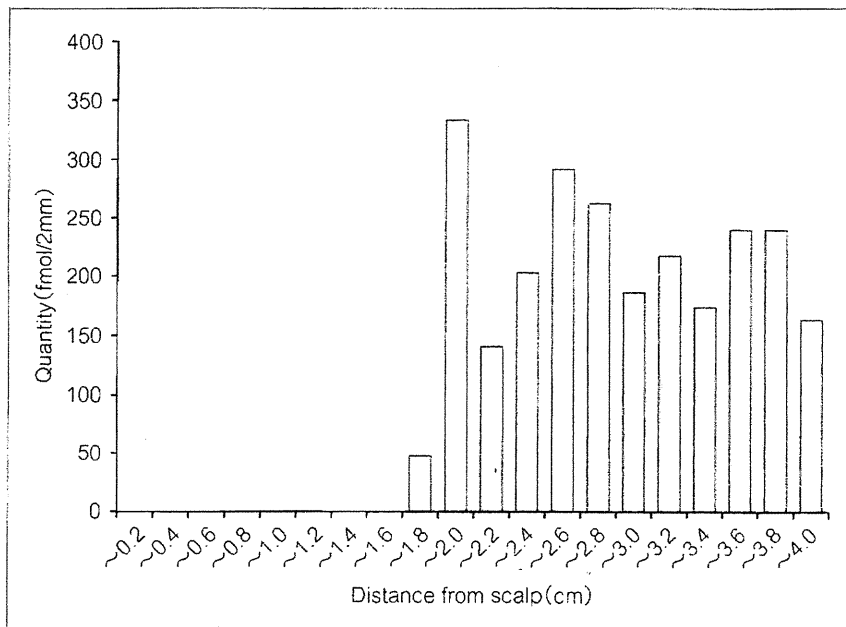


図2 B 毛髪内ロピナビル濃度

抗 HIV 薬をロピナビルからネルフィナビルに変更した患者の毛髪内ロピナビル濃度。

(筆者作成：未発表データ)

患者に抗 HIV 治療が広がっていくにつれ、服薬管理が大きな問題となることが予想される。ウイルス学的治療失敗があった場合、その原因を明らか

にし、服薬指導の必要な症例を特定するため毛髪中薬剤抗濃度の測定が重要となるかもしれない。液体クロマトグラフィー/タンデム質量スペク

トロメトリー (LC-MS/MS) のような検出感度の高い方法を用いると、1本の毛髪を切断して得られる短い断片のそれぞれに含まれる薬剤の量を測定することが可能となる。たとえば、2mm ずつに切断した毛髪断片を用いると、約5日ごとの平均血中薬剤濃度の推移を調べることができる。図2Aと図2Bに、プロテアーゼ阻害薬をロピナビルからネルフィナビルに変更した患者の結果を示す。薬剤を変更してから70日後に毛髪を採取し、毛根から2mm ずつに切断した各断片中のネルフィナビルとロピナビルの量を測定した。毛根からだいたい2cmのところを境に、先端側にロピナビル、毛根側にネルフィナビルが存在しており、薬剤の変更をよく反映した分布となっている。この結果は、服薬アドヒアランスの低下や薬物相互作用などによる一定期間の血中薬物濃度の変動を後方的に検査できることを示している。

V HIV 検査体制

保健所および公的特設検査施設 (以下、保健所等と略す) における、無料、匿名の HIV 検査相談は、わが国におけるエイズ予防対策の重要な柱として取り組まれている。保健所等以外では、医療機関での診療、民間クリニックでの有料自発検査、郵送検査などの形で HIV 検査が実施されてい

る。また、血液製剤の安全性を守るため、すべての献血液に対して HIV 検査が行われている。

表に、2008年と2009年におけるエイズ動向委員会に報告された HIV 感染者数・エイズ患者数と、厚生労働省エイズ対策研究事業研究班で調査した各検査部門の検査数・検査陽性数をまとめた¹⁴⁾。2009年は2008年と比べてエイズ患者数は同数であったが、HIV 感染者数は105人少なくなった。保健所等での検査件数、陽性判明者数とともに大きく減少した。民間クリニックでの有料自発検査と献血液の検査での陽性判明者数はほとんど変わらなかった。郵送検査の利用者数は伸びている。

2009年は新型インフルエンザの流行が社会的に大きな問題となった年である。保健所等での HIV 検査がその影響をもっとも強く受けたことがこの表のデータから推測される。ところが2010年に入り、新型インフルエンザの流行が収まったにもかかわらず、保健所等での検査件数・陽性判明者数はほとんど回復していない。一方、エイズを発症して初めて感染が判明する患者の数は一向に減る気配がない。これらの事実はわが国の HIV 検査相談体制が十分に機能していないことを示している。

以下に改善策を提言する。①エイズ予防におけ

表 感染者・患者報告数と検査数・検査陽性数の2008年と2009年の比較

	2008年		2009年	
	感染者数	患者数	感染者数	患者数
エイズ動向委員会	1,126	431	1,021	431
	検査数	検査陽性者数 (陽性率)	検査数	検査陽性者数 (陽性率)
保健所等	177,156	501 (0.28%)	150,252	442 (0.29%)
民間クリニック (即日検査)	22,261	104 (0.47%)	19,418	105 (0.54%)
郵送検査	50,000	234 (0.47%)	54,000	192 (0.36%)
献血者	5,077,238	107 (0.0021%)	5,287,101	102 (0.0019%)
民間検査センター	1,385,117	1,011 (0.073%)	1,376,958	1,003 (0.073%)

(文献 14 より)

る評価可能な具体的国家目標を設定し、その実現のための対策を実施する。②有病率の高い地域における保健所等の取り組みを強化し、特設検査施設を新設する。HIV 検査を効率的に機能させるために公衆衛生資源を重点的に投入することが必要である。③感染の集中している男性同性愛者集団に対するエイズ予防対策を重点的に実施する。コミュニティーに根ざした NGO 等との連携が重要である。④医療機関における医師主導の HIV 検査を促進、拡大する。HIV 感染症を疑う場合や他の性感染症が陽性の場合には必ず HIV 検査を提供すべきである。⑤自己採取検体の送付による検査を活用する。この方式では、スクリーニング陽性者に対する適切な結果説明と相談をどのように提供するかが大きな課題である。

わが国における HIV 感染の拡大を抑制するためには、国、地方自治体、保健機関、医療機関、患者、支援団体など、多くの社会階層の連携した不断の取り組みが必要である。

文 献

- 1) Acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). Proposed WHO criteria for interpreting results from western blot assays for HIV-1, HIV-2, and HTLV- I /HTLV- II. *Wkly Epidemiol Rec* **65** : 281-283, 1990
- 2) Centers for Disease Control (CDC) : Interpretation and use of the western blot assay for serodiagnosis of human immunodeficiency virus type 1 infections. *MMWR Morb Mortal Wkly Rec* **38** (Suppl 7) : 1-7, 1989
- 3) Owen SM, et al : Alternative algorithms for human immunodeficiency virus infection diagnosis using tests that are licensed in the United States. *J Clin Microbiol* **46** : 1588-1595, 2008
- 4) 山本直樹, 宮澤幸久 : 診療における HIV-1/2 感染症の診断ガイドライン 2008. *日本エイズ学科誌* **11** : 70-72, 2009
- 5) Shima-Sano, et al : 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
- 6) De Bel A, et al : Correction of underquantification of human immunodeficiency virus type 1 load with the second version of the Roche Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan Assay. *J Clin Microb* **48** : 1337-1342, 2010
- 7) Holguin A, et al : Performance of OraQuick Advance Rapid HIV-1/2 Antibody Test for detection of antibodies in oral fluid and serum/plasma in HIV-1 + subjects carrying different HIV-1 subtypes and recombinant variants. *J Clin Virol* **45** : 150-152, 2009
- 8) Pavie J, et al : Sensitivity of five rapid HIV tests on oral fluid or finger-stick whole blood : a real-time comparison in a healthcare setting. *PLoS One* **5** : e11581, 2010.
- 9) Facente SN, et al : False positive rate of rapid oral fluid HIV tests increases as kits near expiration date. *PLoS One* **4** : e8217, 2009
- 10) Dickinson L, et al : Pharmacokinetics and drug-drug interactions of antiretrovirals : an update. *Antiviral Res* **85** : 176-189, 2009
- 11) Bernard L, et al : Indinavir concentrations in hair from patients receiving highly active antiretroviral therapy. *Lancet* **352** : 1757-1758, 1998
- 12) Gandhi M, et al : Protease inhibitor levels in hair strongly predict virologic response to treatment. *AIDS* **23** : 471-478, 2009
- 13) Low lopinavir plasma or hair concentrations explain second line protease inhibitor failures in a resource-limited settings. *J Acquir Immune Defic Sybndr*, 2011 [Epub ahead of print]
- 14) 加藤真吾ほか : 厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業「HIV 検査相談体制の充実と活用に関する研究」. 平成 21 年度研究報告書

Progressive Renal Tubular Dysfunction Associated with Long-Term Use of Tenofovir DF

Ei Kinai and Hideji Hanabusa

Abstract

It became evident that tenofovir DF (TDF) causes a modest and gradual decline in GFR, however, the impact of long-term use of TDF on tubular function has not been fully evaluated. In 40 patients treated with TDF and 23 patients treated with other NRTIs, urine β_2 -microglobulin (U-BMG), percentage tubular reabsorption of phosphate (%TRP), alkaline phosphatase (ALP), serum creatinine, and calculated GFR were prospectively measured for 96 weeks. In patients receiving TDF, median U-BMG rose from 188 $\mu\text{g/liter}$ at baseline to 555 $\mu\text{g/liter}$ at week 96 ($p = 0.02$), median %TRP declined from 94% at baseline to 90% at week 96 ($p = 0.002$), median ALP ratio compared with baseline persistently increased from 1 to 1.278 at week 96 ($p = 0.001$), and serum creatinine showed significant but minimal change from 0.64 mg/dl to 0.74 mg/dl at week 96 ($p = 0.02$). The GFR level declined minimally but significantly in TDF-receiving patients ($-17 \text{ ml/min/1.73 m}^2$), whereas it did not change in other NRTI-receiving patients [$+3 \text{ ml/min/1.73 m}^2$; mixed models analysis of variance (MMANOVA) $p = 0.03$ for overall change from baseline to week 96]. U-BMG, %TRP, ALP, or serum creatinine did not change significantly in other NRTI-receiving patients during the observation period. In five patients with marked changes in U-BMG ($>10,000 \mu\text{g/liter}$) and %TRP ($<80\%$), both U-BMG and %TRP immediately recovered in all patients after discontinuing TDF, whereas GFR levels did not fully recover for 6 months in three patients. Prolonged treatment with TDF caused progressive renal tubular dysfunction as well as a modest decline in GFR. If U-BMG levels $>10,000 \mu\text{g/liter}$ and %TRP values $<80\%$ are observed, discontinuing TDF may be beneficial.

Introduction

TENOFOVIR DISOPROXIL FUMARATE (TDF), a nucleotide analogue of adenosine 5'-monophosphate, is one of the most widely used antiretroviral agents for HIV-1-infected patients. Although clinical trials have concluded that TDF-associated renal toxicity is rare and reversible,¹⁻³ it is evident that long-term administration of TDF causes a gradual decrease in glomerular filtration rate (GFR).⁴⁻⁷ Furthermore, a growing number of case reports suggested that TDF-associated renal toxicity is mainly caused by proximal tubular injury.⁸⁻¹¹ TDF is excreted via renal proximal tubular transporters.^{12,13} Adefovir and cidofovir, both nucleotide analogues, have been reported to cause human renal toxicity via mitochondrial injury in renal tubular epithelial cells.¹⁴ Nevertheless, the impact of the long-term use of TDF on proximal tubular function has not been fully evaluated.

Materials and Methods

This study was conducted prospectively from May 2004 to May 2007. Among 164 HIV-1-infected patients who were

registered in Ogikubo Hospital, 110 patients were treated with antiretroviral drugs. Of 110 treated patients, 63 patients who could come to Ogikubo Hospital regularly to have regular blood and urine sampling with informed consents were enrolled in this study. Exclusion criteria were a moderately low level of calculated GFR ($<80 \text{ ml/min/1.73 m}^2$). Of 63 enrolled patients, 40 patients were treated with a TDF-based regimen and 23 patients were treated with another NRTI-based regimen. The characteristics of the sample population are shown in Table 1. Of the 40 patients who received TDF, 32 ART-experienced patients simply switched from d4T to TDF to avoid future risk of lipodystrophy or other d4T-related adverse effects. In TDF-receiving patients ($n = 40$), combined NRTIs were as follows: 34 patients with lamivudine (3TC) or emtricitabine (FTC), 4 patients with abacavir (ABC), and 2 patients with didanosine (ddI). In other NRTI-receiving patients ($n = 23$), combinations of two NRTIs were as follows: 10 patients with zidovudine (ZDV) + 3TC, 10 patients with stavudine (d4T) + 3TC, 2 patients with d4T + ddI, and 1 patient with d4T + ABC. Informed consent was obtained from all enrolled patients.

Department of Hematology, Ogikubo Hospital, Tokyo, Japan 167-8515.

TABLE 1. CHARACTERISTICS OF SAMPLE POPULATION

	TDF	Other NRTI
Number of patients	40	23
Sex male	40 (100%)	23 (100%)
Median of age (range)	35 (27–66)	32 (22–68)
Median of CD4 (cell/mm ³)	376 (69–1243)	224 (12–748)
Median of HIV RNA (copies/ml)	33 (<50–100,000)	18,000 (<50–100,000)
History of HAART	Naive 8 Experienced 32	Naive 9 Experienced 14
Underlying		
antiretrovirals		
Efavirenz	14 (35%)	6 (26%)
Nevirapine	3 (8%)	0 (0%)
Atazanavir/ritonavir	16 (40%)	6 (26%)
Lopinavir/ritonavir	5 (13%)	3 (13%)
Nelfinavir	2 (5%)	6 (26%)
Dual therapy	0 (0%)	2 (9%)
Route of HIV-1 infection		
Contaminated blood products	36 (90%)	17 (74%)
Sexual transmission	4 (10%)	6 (26%)
Underlying disease		
Diabetes mellitus	6 (15%)	2 (9%)
Indinavir-associated renal atrophy	2 (5%)	0 (0%)
Pretreatment with indinavir	7 (18%)	7 (0%)

Laboratory testing

Urine β_2 -microglobulin (U-BMG), %TRP, alkaline phosphatase (ALP), serum phosphorus, serum uric acid, serum creatinine, and GFR were prospectively measured along with a urinalysis performed every 4–12 weeks, from baseline to 96 weeks, in 40 patients treated with TDF. In 23 patients treated with other NRTIs, serum creatinine, GFR, and ALP were prospectively measured every 3 months, while U-BMG and %TRP were measured every 12 months for 2 years in 17 patients during the same period. U-BMG was determined using a spot urine sample. %TRP was calculated using the following formula: %TRP = [1 - (urine phosphorus/serum phosphorus \times serum creatinine/urine creatinine)] \times 100. Urine phosphorus and urine creatinine were measured on the spot urine sample and serum creatinine and serum phosphorus levels were obtained from blood samples on the same day. GFR was calculated based on the simplified modification of diet in renal disease (MDRD) equation, which is described in the National Kidney Foundation's Kidney Disease Outcomes Quality Initiative.¹⁵ In urinalysis, urine glucose and urine protein were evaluated in accordance with the color chart of the dipsticks (Labsticks; Bayer Medical Corp., CA). Renal tubular epithelial cells were counted with high-power fields (HPF; 400 \times objective), and granular casts were counted with low-power fields (LPF; 100 \times objective) from urine sediments.

Statistical analyses

Changes over time within groups were assessed using the Wilcoxon signed rank test, and levels of renal parameters between two groups at week 96 were compared using the Mann-Whitney *U* test. Moreover, mixed models analysis of variance (MMANOVA) was used to assess the overall pattern of changes in GFR from baseline to week 96 in the total sample population.¹⁶ MMANOVA allowing for the influence of TDF/other NRTI assignment, naive/experienced assignment,

baseline U-BMG level, and a potential interaction between TDF/other NRTI assignment and naive/experienced assignment was applied to adjust the significance level for the change on GFR. All analyses were performed using SAS release 8.02 (SAS Institute, Cary, NC).

Results

Renal parameters

In TDF-receiving patients, 3/40 (8%) patients discontinued TDF before week 96 due to a progressive decline of GFR and tubular dysfunction, whereas there was no patient who discontinued antiretrovirals in other NRTI-receiving patients.

The median [interquartile range (IQR)] of U-BMG was significantly elevated from 188 (134–359) μ g/liter at baseline to 555 (229–1425) μ g/liter at week 96 ($p = 0.02$) in TDF-receiving patients (Fig. 1a). Highly elevated U-BMG (>10,000 μ g/liter) was observed in 3 of 40 (8%) patients by week 96, and moderately elevated U-BMG (1000–10,000 μ g/liter) was observed in 15 of 40 (38%) patients by week 96. In contrast, in other NRTI-receiving patients ($n = 17$), U-BMG did not change significantly during the study period [from 170 (96–217) μ g/liter at the initial point of the study to 150 (81–307) μ g/liter at the end of the study; $p = 0.37$], and there was no patient with a moderate or marked elevation of U-BMG (≥ 1000 μ g/liter).

The median (IQR) of %TRP showed a significant decline from 94 (92–96)% at baseline to 90 (89–95)% at week 96 in TDF-receiving patients ($p = 0.04$; Fig. 1a), whereas there was no significant decline of %TRP in the other NRTI group [$n = 17$; from 96 (95–97)% at the initial point to 94 (91–96)% at week 96 ($p = 0.33$)]. A marked decline in %TRP (<80%) was observed in 3/40 (8%) patients, and a moderate decline (80–90%) was observed in 18/40 (45%) patients at week 96, whereas there was no patient with a moderate or marked decline (%TRP <90%) in the other NRTI group. Comparing the patients who had mildly decreased %TRP (%TRP <90% on two occasions)

with those with normal %TRP (%TRP $\geq 90\%$), the former had significantly higher levels of median serum creatinine [0.79 (0.74–0.91) mg/dl vs. 0.63 (0.56–0.70) mg/dl, $p = 0.002$] and significantly lower levels of median GFR [118 (106–136) ml/min/1.73 m² vs. 160 (139–177) ml/min/1.73 m², $p = 0.001$] at week 96.

The median (IQR) of MDRD-GFR declined gradually from 150 (126–165) ml/min/1.73 m² at baseline to 136 (116–157) ml/min/1.73 m² at week 96 ($p = 0.02$) in TDF-receiving patients, whereas it did not change in other NRTI-receiving patients ($n = 23$) [from 129 (112–138) ml/min/1.73 m² at baseline to 136 (124–145) ml/min/1.73 m² at week 96 ($p = 0.39$); Fig. 1b]. In using the Cockcroft-Gault equation, the median (IQR) of GFR also declined from 138 (112–155) ml/min/1.73 m² at baseline to 127 (105–148) ml/min/1.73 m² at week 96 ($p = 0.02$), whereas it did not significantly change in other NRTI-receiving patients [from 129 (117–143) ml/min/1.73 m² at baseline to 135 (116–155) ml/min/1.73 m² at week 96 ($p = 0.65$)]. The change in MDRD-GFR over time was reassessed using MMANOVA. In using MMANOVA, GFR declined significantly in TDF-receiving patients (-17 ml/min/1.73 m², $p = 0.04$), whereas it did not change in other NRTI-receiving patients ($+3$ ml/min/1.73 m², $p = 0.43$). The overall difference between the two treatment groups was statistically significant (MMANOVA, $p = 0.03$). GFR change was not significantly influenced by previous administration of HAART (MMANOVA, $p = 0.07$) or baseline U-BMG levels (MMANOVA, $p = 0.28$). There was no significant interaction between TDF/other NRTI assignment and naive/experience assignment (MMAOVA, $p = 0.73$). The median (IQR) of serum creatinine increased from 0.64 (0.59–0.75) mg/dl at baseline to 0.74 (0.64–0.80) mg/dl at week 96 ($p = 0.02$), whereas it did not change in other NRTI-receiving patients [$n = 23$; from 0.73 (0.68–0.83) mg/dl at baseline to 0.70 (0.66–0.78) mg/dl at week 96 ($p = 0.14$), respectively].

The median (IQR) of ALP persistently and significantly rose during the study period in the TDF group [from 289 (261–382) IU/liter at baseline to 355 (280–421) IU/liter at week 96 ($p = 0.001$)], whereas it did not change significantly in other NRTI groups [from 172 (138–250) IU/liter at baseline to 180 (148–247) IU/liter at week 96 ($p = 0.98$)]. In comparing the ALP ratio (relative to baseline), the median (IQR) ALP ratio in patients receiving TDF was significantly higher than in patients receiving other NRTIs [1.278 (1.059–1.354) vs. 1.003 (0.876–1.098) ($p = 0.02$); Fig. 1c]. Even in patients receiving TDF, serum phosphorus and serum uric acid were not significantly decreased during the study period. The median (IQR) serum phosphorus level was 3.4 (2.9–3.6) mg/dl at baseline and 3.0 (2.7–3.4) mg/dl at week 96 ($p = 0.20$), and serum uric acid was 6.1 (5.0–7.0) mg/dl at baseline and 5.5 (4.9–6.6) mg/dl at week 96 ($p = 0.08$).

In TDF-receiving patients, a reduction in GFR level was associated with U-BMG levels. GFR significantly decreased in patients with higher U-BMG (≥ 1000 $\mu\text{g/liter}$) in two or more occasions from 132 (124–159) ml/min/1.73 m² at baseline to 118 (104–151) ml/min/1.73 m² at week 96 ($p = 0.01$), whereas it did not decrease in the other patients [from 155 (134–172) mg/dl at baseline to 143 (133–164) mg/dl ($p = 0.59$)]. In comparing GFR levels at week 96 between the patients with higher U-BMG (≥ 1000 $\mu\text{g/liter}$) on two or more occasions and those with lower U-BMG (< 1000 $\mu\text{g/liter}$), the former level

was significantly lower than the latter [118 (104–151) ml/min/1.73 m² vs. 143 (133–164) ml/min/1.73 m² ($p = 0.04$)].

In urinalysis, the ratio of the patients with positive urine protein did not significantly increase in both TDF-receiving patients and other NRTI-receiving patients [19% at baseline and 26% at week 96 ($p = 0.84$) in TDF-receiving patients and 5% at baseline and 5% at week 96 in other NRTI-receiving patients ($p = 0.86$), respectively]. There was no statistical difference in the ratio of positive urine protein at week 96 between the two groups. A ratio of the patients with positive urine glucose did not significantly change in both TDF-receiving patients and other NRTI-receiving patients [19% at baseline and 26% at week 96 in TDF-receiving patients ($p = 0.84$) and 5% at baseline and 5% at week 96 in other NRTI-receiving patients, respectively]. Granular cast was observed in 5% at baseline and 6% at week 96 in TDF-receiving patients, and 0% at baseline and 0% at week 96 in other NRTI-receiving patients. There was no significant difference between the two groups at baseline or week 96 ($p = 0.77$ and 0.85, respectively). Renal tubular epithelial cells were observed in 17% at baseline and 8% at week 96 in TDF-receiving patients ($p = 0.46$), and 5% at baseline and 9% at week 96 in other NRTI-receiving patients. There was no significant difference between the two groups at baseline or week 96 ($p = 0.29$ and 0.43, respectively). Among the five TDF-receiving patients with rapid deterioration of U-BMG and %TRP, granular casts were observed in only two patients and renal tubular epithelial cells were observed in three patients.

Severe TDF-associated renal toxicity and its recovery after discontinuation of TDF

In this study, severe renal toxicity was observed in five TDF-receiving patients (Table 2), whereas neither reduction of GFR nor tubular dysfunction was observed in other NRTI-receiving patients. Among these five patients, three patients (Patients 1–3 in Table 2) showed TDF-associated renal toxicity during the study period, and they discontinued TDF. The other two patients had acute renal failure after the study period (Patients 4 and 5). An extremely abnormal value of U-BMG ($> 10,000$ $\mu\text{g/liter}$) and %TRP ($< 80\%$) were observed in all five patients, but both of them recovered to baseline levels immediately after TDF was discontinued in all cases. In three of five patients, GFR levels rapidly declined from a normal level (> 90 ml/min/1.73 m²) to a mildly decreased level (60–89 ml/min/1.73 m²), and in the other two patients, it declined from normal to a moderately decreased level (30–59 ml/min/1.73 m²). In three patients (Patient 1, 2, and 4), the GFR level did not fully recover for 6 months after discontinuation of TDF (Table 2).

No association between TDF-associated renal toxicity and low CD4 cell count

Among TDF-receiving patients, urine- β_2 -microglobulin, %TRP, ALP, GFR, and serum creatinine were compared between patients with low CD4 cell counts at baseline ($< 200/\mu\text{l}$; $n = 11$) and patients with normal CD4 cell counts at baseline ($\geq 200/\mu\text{l}$; $n = 29$). In the 11 patients with low CD4 cell count < 200 , U-BMG at baseline and week 96 was 307 (235–455) $\mu\text{g/liter}$ and 411 (262–711) $\mu\text{g/liter}$; %TRP was 94

(92–95)% and 90 (88–93)%; GFR was 159 (146–174) ml/min/1.73 m² and 147 (134–163) ml/min/1.73 m²; and serum creatinine was 0.62 (0.57–0.66) mg/dl and 0.67 (0.62–0.74) mg/dl. In contrast, in the 29 patients with normal CD4 cell count >200, U-BMG at baseline and week 96 was 154 (113–194) μ g/liter and 499 (208–1790) μ g/liter; %TRP was 94 (92–96)% and 91 (85–93)%; GFR was 151 (130–163) ml/min/1.73 m² and 130 (116–157) ml/min/1.73 m²; and serum creatinine was 0.64 (0.59–0.75) mg/dl and 0.74 (0.64–0.80) mg/dl.

Discussion

Several large clinical studies revealed that long-term use of TDF caused a gradual reduction of GFR, whereas tubular dysfunction has not been fully evaluated. Although increased urinary loss of BMG has already been observed in the patients treated with TDF both in adults¹⁷ and children,^{18,19} it has not been determined whether long-term use of TDF causes tubular dysfunction, or whether TDF-associated tubular dysfunction is persistent/progressive or transient. This study first

showed that long-term use of TDF caused progressive tubular dysfunction, whereas a decline in GFR was significant but minimal. Three of five patients with severe proximal tubular dysfunction (U-BMG > 10,000 μ g/liter and %TRP < 80%) did not show a marked low level of estimated GFR (<60 ml/min/1.73 m²), although they presented with a rapid reduction of estimated GFR. Also, in a previously reported case with typical Fanconi's syndrome,²⁰ maximum serum creatinine was 1.06 mg/dl and minimum calculated GFR was 82 ml/min/1.73 m². Measuring tubular function is useful to detect progressive tubular dysfunction, which causes Fanconi's syndrome.

Some analyses suggested a potential association of progressive tubular dysfunction and a gradual decline of GFR in TDF-associated renal impairment. In TDF-receiving patients, GFR levels in patients with high U-BMG (≥ 1000 μ g/liter) on two or more occasion were significantly lower than that in patients with lower U-BMG (<1000 μ g/liter). In analyses using MMANOVA for the total sample population, maximum U-BMG levels were significantly associated with the

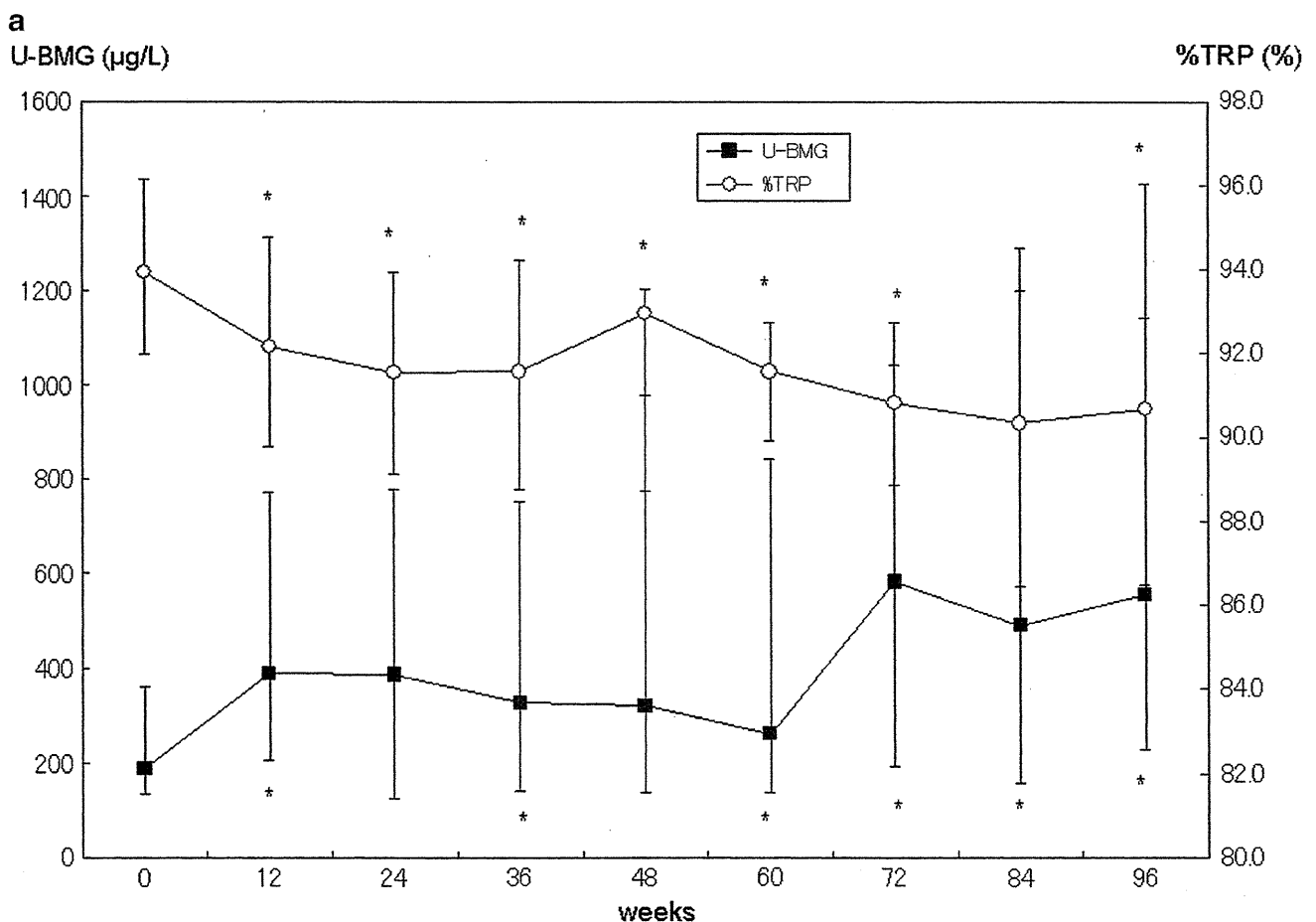


FIG. 1. Urine β_2 -microglobulin (U-BMG) and percentage tubular reabsorption of phosphate (%TRP), calculated glomerular filtration rate (GFR), and alkaline phosphatase. (a) The U-BMG level in patients receiving TDF (■) and %TRP in patients receiving TDF (○). (b) The glomerular filtration rate (GFR) in patients receiving TDF (■) and in patients receiving other NRTIs (○). GFR was calculated using the simplified modification of diet in renal disease (MDRD) formula. (c) The ratio of alkaline phosphatase compared with baseline in patients receiving TDF (■) and patients receiving other NRTIs (○). Data are shown as median (IQR). * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$ using the Wilcoxon signed rank test.