

201124020A

厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業 平成23年度総括・分担研究報告書

多施設共同研究を通じた 新規治療戦略作成に関する研究



平成24(2012)年3月



研究代表者 岡 慎一

(独)国立国際医療研究センター エイズ治療・研究開発センター

平成 23 年度
厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業

多施設共同研究を通じた新規治療戦略作成に関する研究

—平成 23 年度 総括・分担研究報告書—

研究代表者 岡 慎一

平成 24(2012)年 3 月

研究代表者 岡 慎一 (独) 国立国際医療研究センター
エイズ治療・研究開発センター長

研究分担者 田邊 嘉也 新潟大学医歯学総合病院
第二内科准教授

田沼 順子 (独) 国立国際医療研究センター
エイズ治療・研究開発センター専門外来医長

目次

総括研究報告書

多施設共同研究を通じた新規治療戦略作成に関する研究	3
---------------------------------	---

研究代表者： 岡 慎一

((独) 国立国際医療研究センター エイズ治療・研究開発センター長)

分担研究報告書

新しい治療法を目指した多施設共同臨床試験

～テノホビル、エムトリシタピン（あるいはラミブジン）とロピナビル/リトナビル合剤を併用している HIV 感染者を対象に、
現行レジメン継続とラルテグラビル・プリジスタ/リトナビル併用と無作為割付するオープンラベル多施設共同臨床試験
(SPARE 試験) ～

11

研究分担者： 岡 慎一

((独) 国立国際医療研究センター エイズ治療研究開発センター長)

日本人に適したバックボーンを比較する多施設臨床試験 (ET study)

～HAART 関連腎障害-テノホビルによる尿細管障害のメカニズム-～

15

研究分担者： 田邊 嘉也

(新潟大学医歯学総合病院 准教授 感染管理部)

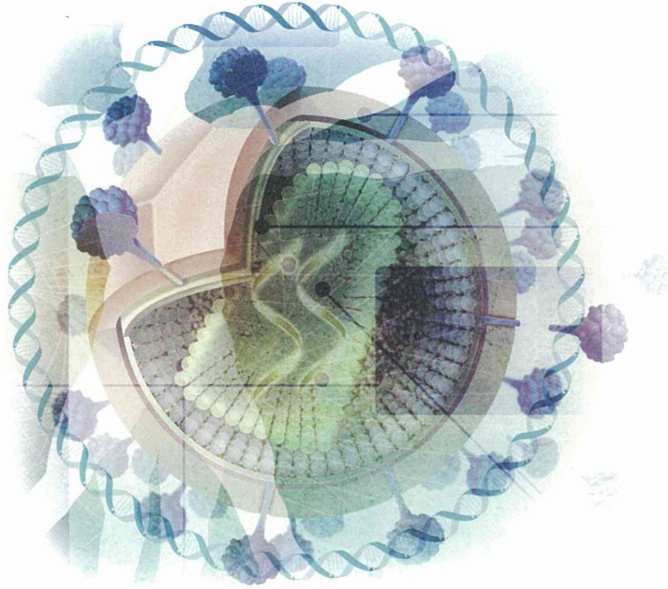
多施設による急性期患者病状進行解析研究	18
---------------------------	----

研究分担者： 田沼 順子

((独) 国立国際医療研究センター エイズ治療・研究開発センター専門外来医長)

研究成果の刊行に関する一覧.....	25
--------------------	----

I. 総括研究報告書



多施設共同研究を通じた新規治療戦略作成に関する研究

研究代表者： 岡 慎一

(独) 国立国際医療研究センターエイズ治療・研究開発センター長

研究分担者： 田邊 嘉也 新潟大学医歯学総合病院第二内科准教授

田沼 順子 (独) 国立国際医療研究センターエイズ治療・研究開発センター
専門外来医長

研究要旨

本研究では、2つの多施設RCTと1つの多施設コホートを行い、日本における日本人のための治療戦略作成のための臨床研究を行っている。ET試験では当初予定していた非劣性RCTのための組み入れが進まなかったため、prospective pilot試験としてEPZとTVDの安全性、有効性を比較することとした。SPARE試験は、2010年末までに予定していた組み入れに達し、腎機能回復を第一目的としたRCTが順調に進行中である。EACHコホートは、予定よりデータベース作成に時間がかかったが、まもなくデータ入力開始予定である。

A.研究目的

国内で日本人による臨床研究を行わなければならない理由は、しばしば欧米のガイドラインに従うと、体格差や人種差などから予期せぬ副作用を経験することによる。今回の研究は、すでに行っていた多施設臨床研究RCT（ET試験）と新たに開始したHIV感染症の病状の進行を検証する臨床研究（EACH Cohort研究）と多施設共同RCT（SPARE試験）からなる。この班による多施設臨床研究を通じて、日本からの成績を世界に向け発信することを目的とし

ている。今回の研究では、多施設共同研究を主体としているが、ET試験もSPARE試験も基本的な問題点は、日本人におけるテノホビル（TFV）の腎障害にある。したがって、副次的な研究としてTFVの腎障害機序を探るため、近位尿細管由来培養細胞を用いて特異的分子の発現・機能変化など基礎的検討も行う。

B.研究方法

本研究の概略を図1に示す。

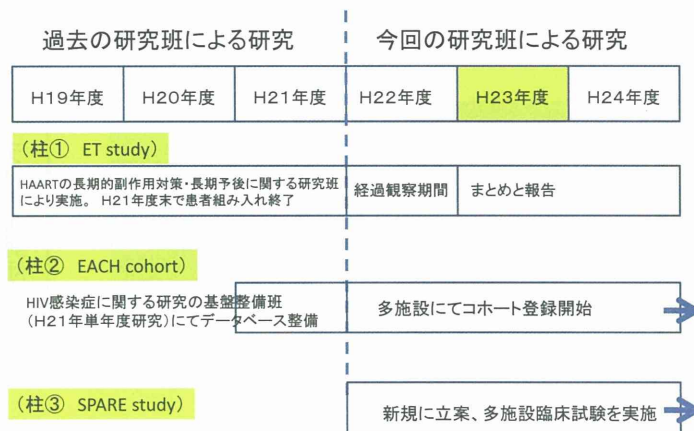


図1

① ET 試験

アタザナビルを固定し、エプジコム (EPZ) とツルバダ (TVD) をランダム割り付けする多施設共同前向き臨床試験である (図2)。田邊分担研究者と ACC データセンターにより、組み入れ後 1 年間の治療経過の観察を行い、症例固定、データ解析を行う。

② 急性期患者の病状の進行解析研究 (EACH Cohort 研究)

病状の進行が早まっているという仮説を検証するため、多施設および多国間で利用できるデータベースを完成させた。H23 年度末よりこのデータベースを用いた急性期患者の登録を多施設で行いたい。この研究は、それぞれの協力施設がデータを収集するため、また、将来的には東アジアにも拡大していきたいために、East Asia Clinical HIV Cohort (EACH Cohort) と命名した。

③ 新しい治療法を目指した多施設共同臨床試験 (SPARE 試験)

この試験は、LPV/r+TVD で治療している患者を組み入れ、くじ引きにて、同じ治療継続群と DRV/r+RAL の NRTI spare 群に割り付け、腎機能の経過を観察することを主目的とした多施設共同の RCT である (図3)。副次目的として NRTI spare による治療成功率や、脂質代謝異常の経過なども検討する。本臨床試験は、本研究の主目的をとり、(Switch to Prizista And Raltegravir to Evaluate estimated glomerular filtration rate) SPARE 試験とした。主目的を腎機能の改善とポイントを絞ることにより、症例数は 1 群 27 例の合計 54 例で有意差が出せる予定である。

④ HAART 関連腎障害—TFV による尿細管障害の解析

近位尿細管由来培養細胞を収集し、特有のトランスポーター (OAT1、OAT3、MRP4、NHE3、NaPi II a、SGLT2、URAT1) やスカベンジャー受容体メガリンなど膜機能担体の有無を RT-PCR 実験で検討する。テノホビルや同様に尿細管障害を来すゲンタマイシン (GM) を培養細胞に添加し、細胞毒性の違いや各担体の mRNA 発現量 (real-time RT-PCR)、蛋白量 (ウェスタンブロット)、機能 (¹²⁵I 標識リガンドの取り込み処理能力) の変動や可逆性を比較検討する。

(倫理面への配慮)

多施設共同研究に参加するすべての施設で倫理委員会の承認を得ており、「臨床試験に関する倫理指針」(平成 15 年 7 月 30 日制定、平成 20 年 7 月 31 日全部改正、厚生労働省) および「疫学研究に関する倫理指針 (平成 14 年 6 月 17 日制定、平成 19 年 8 月 16 日全部改正、平成 20 年 12 月 1 日一部改正、文部科学省、厚生労働省)」に準拠して実施している。

C. 研究結果

① ET study では、H23 年度で観察期間を終了、データの固定を行った。組み入れ数は 109 例であり、この組み入れ期間に予定症例数の 240 例に到達できず、2 群間の非劣性を証明することは不可能である。したがって、日本人における NRTI の副作用解析に主目的を変更する。一方、副作用解析は、症例数が必要なため、retrospective 解析も本臨床試験とは別に行い、やはりツルバダの方が腎機能低下の大きいことが明らかとなった。ET 試験を行うきっかけとなったツルバダの日本人に対する腎障害に関し、やはり同様に retrospective な解析を行ったが、体重の軽い日本人では欧米に比べ腎機能の低下する比率が

EPZ と TVD の有効性・安全性を非劣性で比較する

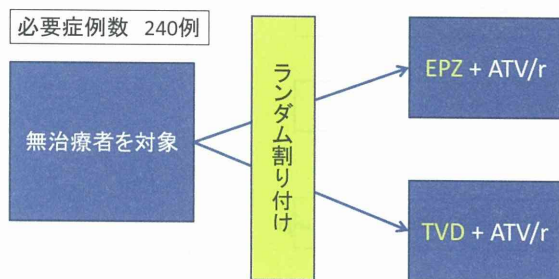


図2 柱① ET study の概要

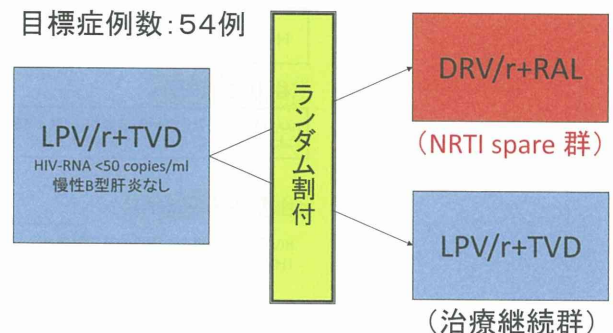


図3 SPARE study の概略

高いことが明らかとなった。

② EACH Cohort 研究では、多施設のデータを収集するため昨年までに開発してきたデータベースの内容を充実させ、かつ一部改良して後ろ向きの患者登録を可能とした。これまでに国立国際医療研究センターにおいて早期 HIV 感染症と診断された 120 例について、登録を行った。また、他の国内 7 施設から参加の申し入れがあり、1 施設にて倫理審査が完了した。また、検体バンクの創設と運用規則の整備を行った。

③ SPARE 試験は、各施設において倫理委員会の承認を得たのち H23 年 2 月に組み入れ開始、H23 年 12 月末で 59 例の組み入れを行い組み入れ期間を終了した。H24 年度は、結果観察期間となり、H25 年度に結果報告を行うことが出来る。

④ HAART 関連腎障害 - TFV による尿細管障害の解析では、OK 細胞に TFV 及び GM を添加し、ミトコンドリア機能やリソソーム機能、タンパク合成能などに関する細胞毒性がどちらも濃度依存的に起こることを確認したが、その傾向に差は認めなかった。mRNA 発現については、MRP4 は両薬剤負荷にて上昇したが、メガリン、NaPi II a、NHE3、SGLT などの変動はやや異なった傾向が示唆された。メガ

リンに関しては mRNA のほか蛋白量の変動や、 β 2-MG など低分子蛋白尿を呈する Fanconi 症候群の細胞実験モデルとして ^{125}I 標識リガンド (β 2-MG、アルブミン) 取り込み処理機能の変動も解析し、各薬剤負荷でいずれも低下を認めたが、TFV では負荷解除後に回復する可逆性を認めたのに対し、GM では負荷解除後も障害が進行するという、逆の傾向を認めた。この傾向の差は β 2-MG 取り込み処理機能の段階で特に顕著であった (図 4)。

D. 考察

ET 試験では、日本で初めての非劣性を証明する RCT として計画、実施してきたが、症例数が目標に達することが出来ず、副作用を中心に解析することになってしまった。しかし、この試験を補完するために行った retrospective 解析の結果は、論文にすることが出来た。また、SPARE 試験では、ツルバダ中止後の腎機能の回復を主要目的としているが、この臨床試験を補完する実験で、TFV 及び GM は共に近位尿細管細胞障害を来すが、細胞内への取り込み経路、排泄経路などは異なっており、臨床的な毒性の違いにも関わっていると思われる。近年いわれて

^{125}I 標識 β 2-MG を用いたメガリンの uptake - degradation assay

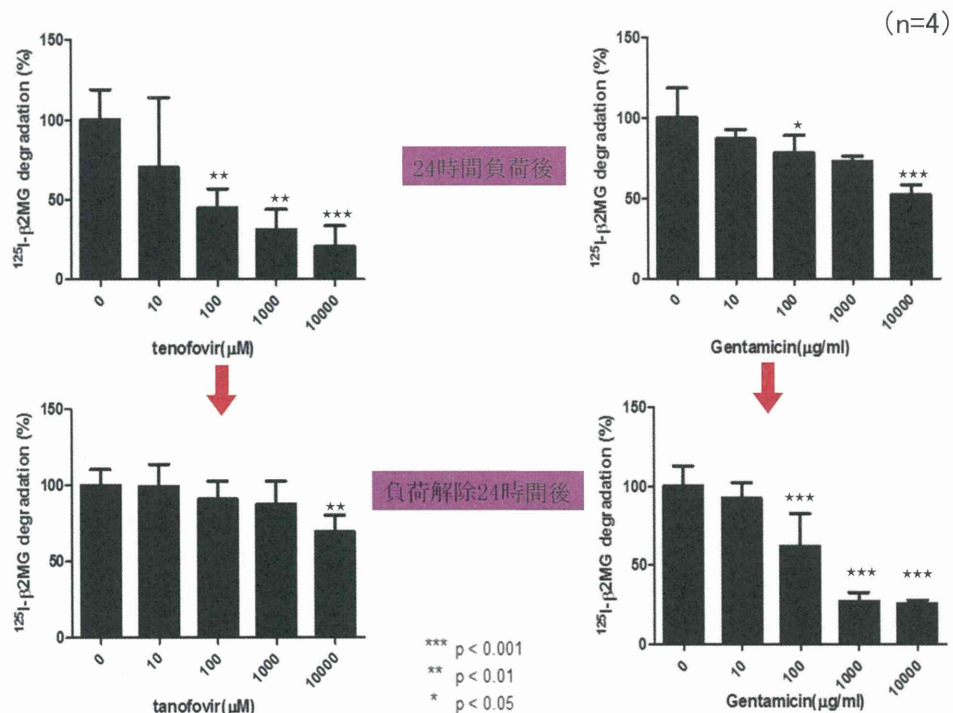


図 4

しかし、リソソームで degradate され上清中に放出された量は特に TFV 負荷において大きく減少した。また負荷解除後には TFV では著明な回復性を認めたのに対し、GM では不可逆性に低下傾向が進行した。同程度の負荷時に細胞障害実験ではリソソーム活性が比較的維持されていることを考慮すると、障害機序はエンドサイトーシスの recycling やリソソームへの移行速度の低下などが主体である可能性が示唆される。

いるミトコンドリアの障害傾向などに関しては違いを認めなかったが、メガリンの機能レベルでの障害、特にその可逆性に関して著明な差が認められ、これは TFV の尿細管障害・腎障害が臨床的に可逆性という特徴を裏付けている可能性がある。臨床試験でもこの実験の結果をさらに補完することが出来ればお互いの研究成果をさらに確実なものにすることが出来る。

コホート研究は、出来るだけ多くの施設で時間をかけ行うことが望ましい。このためには、はじめにしっかりとしたデータベースを構築しておく必要がある。今回、データベース構築に時間がかかったのはこのためである。引き続きコホートの拡大に努めていきたい。

E. 結論

この研究を通じて、日本で2つの RCT を行っている。特に、SPARE 試験では、1年で予定症例数の組み入れを終えることが出来た。また、臨床試験を補完する基礎的検討により、テノホビルによる尿細管細胞障害はアミノグリコシド系とは異なる特性があることが分かった。多施設共同 HIV 感染者コホート研究において、予定した症例数の登録とデータベースの開発が完了した。今後は、早期 HIV 感染者の予後を解析するとともに、コホートの拡大と運営基盤の盤石化を図る。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

- 1) Nakamura H, Teruya K, Takano M, Tsukada K, Tanuma J, Yazaki H, Honda H, Honda M, Gatanaga H, Kikuchi Y, and **Oka S**: Clinical symptoms and courses of primary HIV-1 infection in recent years in Japan. *Intern Med* 50: 95-101, 2011.
- 2) Honda M, Ishisaka M, Ishizuka N, Kimura S, **Oka S** and behalf of Japanese Anti-HIV-1 QD Therapy Study Group: Open-label randomized multicenter selection study of once daily antiretroviral treatment regimen comparing ritonavir boosted atazanavir to efavirenz with fixed-dose abacavir and lamivudine. *Intern Med* 50: 699-705, 2011.
- 3) Watanabe T, Murakoshi H, Gatanaga H, Koyanagi M, **Oka S**, and Takiguchi M: Effective recognition of HIV-1-infected cells by HIV-1 integrase-specific

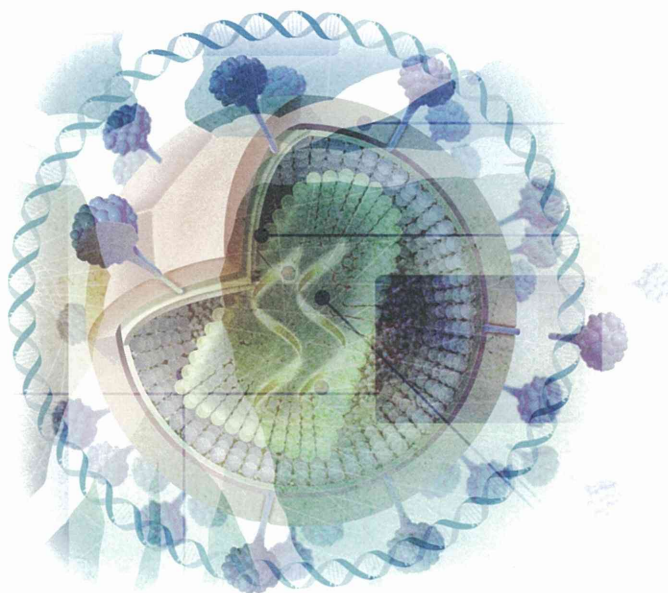
- HLA-B*4002-restricted T cells. *Microb Infect* 13: 160-166, 2011.
- 4) Goto H, Hagiwara S, Hirai R, Miyama T, Honda H, Tagashira A, Iizuka T, Mochizuki M, Teruya K, Kikuchi Y, **Oka S**, and Miwa A: Case of relapsed AIDS-related plasmablastic lymphoma treated with autologous stem cell transplantation and highly active antiretroviral therapy. *Rare Tumors* 3: 33-35, 2011.
- 5) Ishikawa N, Ishigaki K, Ghidinelli MN, Ikeda K, Honda M, Miyamoto H, Kakimoto K, and **Oka S**: Paediatric HIV and elimination of mother-to-child transmission of HIV in the ASEAN region: a call to action. *AIDS Care* 23: 413-416, 2011.
- 6) Davaalkham J, Unenchimeng P, Baigalmaa C, Erdenetuya G, Nyamkhuu D, Shiino T, Tsuchiya K, Hayashida T, Gatanaga H, and **Oka S**: Identification of a current hot spot of HIV-1 transmission in Mongolia by molecular epidemiological analysis. *AIDS Res Hum Retrovirus* 27: 1073-80, 2011. Mar 18. [Epub ahead of print]
- 7) Honda K, Zheng N, Murakoshi H, Hashimoto M, Sakai K, Borghan MA, Chikata T, Koyanagi M, Tamura Y, Gatanaga H, **Oka S**, and Takiguchi M: Selection of escape mutant by HLA-C-restricted HIV-1 Pol-specific cytotoxic T lymphocytes carrying strong ability to suppress HIV-1 replication. *Eur J Immunol* 41:97-106, 2011.
- 8) Hachiya A, Kodama EN, Schuckmann MM, Kirby KA, Michailidis E, Sakagami Y, **Oka S**, Singh K, and Sarafianos SG: K70Q adds high-level tenofovir resistance to "Q151M complex" HIV reverse transcriptase through the enhanced discrimination mechanism. *PLoS One* 6, e16242, 2011.
- 9) Nagata N, Kobayashi M, Shimbo T, Hoshimoto K, Yada T, Gotoda T, Akiyama J, **Oka S**, and Uemura N: Diagnostic value of antigenemia assay for CMV gastrointestinal disease in immunocompromised patients. *World J Gastroenterol* 17: 1185-1191, 2011.
- 10) Tsukada K, Sugawara Y, Kaneko J, Tamura S, Tachikawa N, Morisawa Y, Okugawa S, Kikuchi Y, **Oka S**, Kimura S, Yatomi Y, Makuuchi M, Kokudo N, Koike K: Living Donor Liver Transplantations in HIV- and Hepatitis C Virus- Coinfected Hemophiliacs: Experience in a Single Center. *Transplantation* 91: 1261- 1264, 2011. May 17 [Epub ahead of print]
- 11) Nishijima T, Tsukada K, Nataga, N, Watanabe K, Teruya K, Gatanaga H, Kikuchi Y, and **Oka S**: Antiretroviral therapy alone resulted in successful resolution of large idiopathic esophageal ulcers in a

- patient with acute retroviral syndrome. *AIDS* (Correspondence) 25: 1677-1679, 2011.
- 12) Nishijima T, Komatsu H, Gatanaga H, Aoki T, Watanabe K, Kinai E, Honda H, Tanuma J, Yazaki H, Tsukada K, Honda M, Teruya K, Kikuchi Y and **Oka S**: Impact of small body weight on Tenofovir-associated renal dysfunction in HIV-infected patients: A retrospective cohort study of Japanese patients. *PLoS One* 6: e22661, 2011.
 - 13) Han SH, Zhou J, Saghayam S, Vanar S, Phanuphak N, Chen YM, Sirisanthana T, Sungkanuparph S, Lee CK, Pujari S, Li PC, **Oka S**, Saphonn V, Zhang F, Merati TP, Law MG, Choi JY: Prevalence of and risk factors for lipodystrophy among HIV-infected patients receiving combined antiretroviral treatment in the Asia-Pacific region: results from the TREAT Asia HIV Observational Database (TAHOD). *Endocr J* 58: 475-484, 2011.
 - 14) Watanabe K, Gatanaga H, Cadiz A, Tanuma J, Nozaki T, and **Oka S**: Amebiasis in HIV-infected Japanese men: Clinical features and response to therapy. *PLoS Neglect Trop Dis* 5: e1318, 2011.
 - 15) Hamada Y, Watanabe K, Aoki T, Arai N, Honda M, Kikuchi Y, **Oka S**: Primary HIV Infection with Acute Transverse Myelitis. *Intern Med* 50(15):1615-7, 2011.
 - 16) Nishijima T, Tsukada K, Takeuchi S, Chiba A, Honda M, Teruya K, Gatanaga H, Kikuchi Y and **Oka S**: Antiretroviral Therapy for Treatment-naive Chronic HIV-1 Infection with an Axonal Variant of Guillain-Barre Syndrome Positive for Anti-ganglioside Antibody: A Case Report. *Intern Med* 50: 2427-2429, 2011.
 - 17) Goto N and **Oka S**: *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in kidney transplantation. *Transplant Infect Dis* (review) 13: 551-558, 2011.
 - 18) Hayashida T, Gatanaga H, Takahashi Y, Negishi F, Kikuchi Y, and **Oka S**: Trends in early identification of HIV-1 infection in Tokyo from 2002 to 2009 analyzed with BED assay. *Int J Infect Dis* 2012 Jan 9 [Epub ahead of print]
 - 19) Hamada Y, Nagata N, Honda H, Asayama N, Teruya K, Ikari T, Kikuchi Y, and **Oka S**: Epstein-Barr virus associated colitis in an HIV-infected patient. *AIDS* (Correspondence) 26: 400-402, 2012.
 - 20) Akahoshi T, Chikata T, Tamura Y, Gatanaga H, **Oka S**, and Takiguchi M: Selection and accumulation of an HIV-1 escape mutant by three types of HIV-1-specific CTLs recognizing wild-type and/or escape mutant epitopes. *J Virol* 2011 Dec 7 [Epub ahead of print]
 - 21) Nishijima T, Gatanaga H, Komatsu H, Tsukada K, Shimbo T, Aoki T, Watanabe K, Kinai E, Honda H, Tanuma J, Yazaki H, Honda M, Teruya K, Kikuchi Y, and **Oka S**: Renal function declines more in tenofovir- than abacavir-based antiretroviral therapy in low-body weight treatment-naïve patients with HIV infection. *PLoS One* 7: e29977, 2012.
 - 22) Takano M, Okada M, **Oka S**, and Wagastuma Y: The relationship between HIV testing and CD4 counts at HIV diagnosis among newly diagnosed HIV-1 patients in Japan. *Int J STD AIDS* (in press)
 - 23) Sassi M, Ripamonti C, Muller NJ, Yazaki H, Kutty G, Ma L, Huber C, Gogineni E, **Oka S**, Goto N, Fehr T, Gianella S, Konrad R, Sing A, and Kovacs JA: Outbreaks of *Pneumocystis* pneumonia in two renal transplant centers linked to a single strain of *Pneumocystis*: Implications for transmission and virulence. *Clin Infect Dis* (in press)
 - 24) Nishijima T, Tsukada K, Teruya K, Gatanaga H, Kikuchi Y, and **Oka S**: Efficacy and safety of once-daily ritonavir-boosted darunavir plus abacavir/lamivudine for treatment-naïve patients: A pilot study. *AIDS* (Research letter) 2012 Jan 10 [Epub ahead of print]

H. 知的財産権の出願、登録状況

なし

I. 分担研究報告書



新しい治療法を目指した多施設共同臨床試験

～テノホビル、エムトリシタビン（あるいはラミブジン）と
ロピナビル/リトナビル合剤を併用している HIV 感染者を対象に、
現行レジメン継続とラルテグラビル・プリジスタ/リトナビル併用とを
無作為割付するオープンラベル多施設共同臨床試験（SPARE 試験）～

研究分担者	岡 慎一	(独) 国立国際医療研究センターエイズ治療・研究開発センター
研究協力者	西島 健	(独) 国立国際医療研究センターエイズ治療・研究開発センター
	高野 操	エイズ予防財団リサーチレジデント
	石坂 美千代	エイズ予防財団リサーチレジデント
	小形 幹子	(独) 国立国際医療研究センターエイズ治療・研究開発センター
	中野 彰子	(独) 国立国際医療研究センターエイズ治療・研究開発センター
	田邊 嘉也	新潟大学医歯学総合病院第二内科

研究要旨

日本人においてテノホビル（TFV）の腎障害は今後問題となる可能性が高い。特にロピナビル（LPV/r）との併用でその発生頻度は高い。本研究では、TFV+LPV/rを併用している患者をラルテグラビル（RAL）とプリジスタ（DRV）に切り替えた場合、腎機能が回復するかどうかを検討する多施設共同 RCT である。H23 年度に開始、12 月末までに予定症例数を組み入れ、順調に経過している。

A. 研究目的

今回の研究では、2つのことを目的としている。一つは、TFV+LPV/rで低下した腎機能が、新しい治療法に変更することにより改善するかどうかを検討することであり（主目的）、もう一つが、逆転写酵素阻害薬を含まない治療でウイルス学的に失敗せず安全に治療できるかどうかである（副次目的）。また、臨床試験を補完する目的で、TFVの腎障害機序を探るため、近位尿細管由来培養細胞を用いて特異的分子の発現・機能変化など基礎的検討も行う。

B. 研究方法

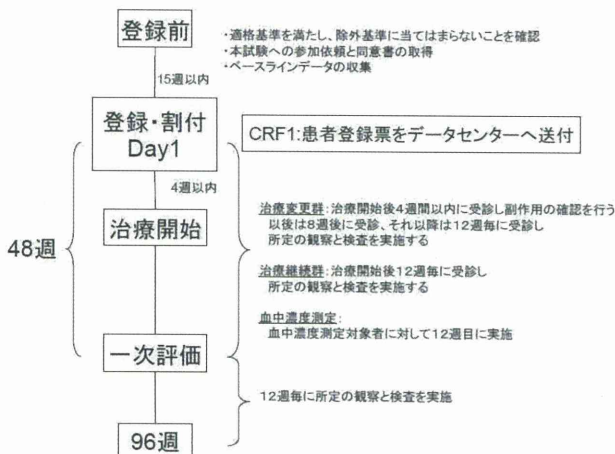
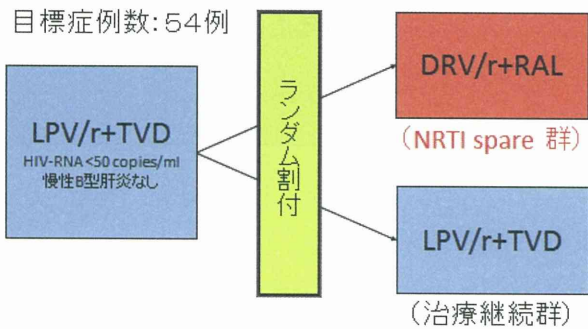
① 新しい治療法を目指した多施設共同臨床試験（SPARE 試験）

この試験は、LPV/r+TVD（TDFとFTCの合剤）で治療している患者を組み入れ、くじ引きにて、同じ治療継続群とDRV/r+RALのNRTI spare群に割り付け、腎機能の経過を観察することを主目的とした多施設共同のRCTである。副次目的としてNRTI spareによる治療成功率や、脂質代謝異常の経過なども検討する。本臨床試験は、本研究の主目的をとり、（Switch to Prizista And Raltegravir to Evaluate estimated glomerular filtration rate）SPARE試験とした。本研究の研究仮説は、「TVD+LPV/rを内服中の症例は、登録時のeGFRと比較して10%以上改善する割合においてTVD+LPV/rを継続する群より

RAL+DRV/r に変更する群が上回る」ことを統計的有意性で証明する検証的試験である。したがってプライマリーエンドポイントは、試験登録後 48 週の時点での、2 群における推算糸球体濾過量が治療開始時と比較して 10%以上改善している割合であり、ITT 解析による検定結果から有意差ありの場合には RAL+DRV/r に変更を推奨すると判断する。この仮説を証明するための症例数は、有意水準 5%（両側検定）で 48 週後において RAL+DRV/r 群で試験登録時の eGFR と比べ eGFR が改善する症例が 50%、TVD+LPV/r 群で登録時の eGFR と比べ eGFR が改善する症例が 10%と仮定し、検出力を 80%と設定すると、一群 25 例の計 50 例が必要である。解析対象とされない逸脱例を各群最大 2 例として、一群 27 例、計 54 例とする。組み入れ期間は、最初の施設で倫理委員会の承認が得られ試験が開始されてから 1 年とする。本試験に参加する施設の組み入れ基準に当てはまる症例数は、約 160 例と推定される。したがって、この試験の組み入れ条件に合う患者の 30%から同意を得ることが出来れば達成可能である。

研究の概略を下図に示す。

SPARE study の概略



② HAART 関連腎障害—TFV による尿細管障害の解析 (ET 試験とも共通で、田邊分担報告書に記載)

(倫理面への配慮)

多施設共同研究に参加するすべての施設で倫理委員会の承認を得ており、「臨床試験に関する倫理指針」(平成 15 年 7 月 30 日制定、平成 20 年 7 月 31 日全部改正、厚生労働省)に準拠して実施している。

C. 研究結果

SPARE 試験は、各施設において倫理委員会の承認を得たのち H23 年 2 月に組み入れ開始、H23 年 12 月末で 59 例の組み入れを行い、組み入れ期間を終了した。SPARE 試験の参加施設と組み入れ状況は以下の通りである。

	施設名	予定	同意	継続群	変更群	脱落
1	国立国際医療研究センター	40	36	20	16	2
2	北海道大学病院	2	1	1		
3	新潟大学医学部総合病院	2	0			
4	広島大学病院	2	1	1		
5	九州医療センター	2	2		2	
6	東埼玉病院	4	1		1	
7	東京大学医科学研究所附属病院	4	2	2		
8	順天堂大学医学部附属順天堂医院	4	3	1	2	1
9	佐久総合病院	2	4	2	2	
10	愛媛大学医学部附属病院	2	2		2	
11	熊本大学医学部附属病院	2	2	2		
12	しらかば診療所	4	5	1	4	1
	計	72	59	30	29	4

59例で組み入れ終了

H24 年度 (2012 年) は、結果観察期間となり、H25 年度 (2013 年) に結果報告を行うことが出来る予定である。

D. 考察

SPARE 試験では、TVD 中止後の腎機能の回復を主目的としている。当初の計画では、eGFR の 10%改善する率が治療変更群 (NRTI Spare 群) では 50%、治療継続群では 10%として組み入れ症例数を算定した。しかし、欧米での一部のデータでは (Prof Andrew Carr の personal communication) TVD 中止後も腎機能の回復はあまり芳しくないとのことであった。このため、この臨床試験が予想通りの結果出会った場合の我々の臨床研究を補完する目的で、基礎検討も行った。基礎検討の結果では、TFV 及び GM は共に近位尿細管細胞障害を来すが、細胞内への取り込み経路、排泄経路などは異なっており、臨床的な毒性の違いにも関わっていると思われる。近年いわれているミトコンドリアの障害傾向などに

関しては違いを認めなかったが、メガリンの機能レベルでの障害、特にその可逆性に関して著明な差が認められ、これはTFVの尿管障害・腎障害の可逆性を示唆するものである。

現在の治療ガイドラインは、3系統の薬剤から選択するkey drugとNRTIのみ2剤使用するbackboneの組み合わせからなりbackboneではTVDがほぼ独占的に使用されている。このため、現在治療を受けているすべてのHIV患者がNRTI共通の副作用であるミトコンドリア障害にさらされることになる。しかし、インテグラーゼ阻害薬など新しい系統の薬剤が開発されたことや、DRVのように非常に薬剤耐性に出にくい薬剤が開発されたことから、NRTIを含まない新しい治療薬の組み合わせによる治療法に大きな期待がかかっている。そのような中、今回我々が検討するDRV+RALは世界的にも注目されている組み合わせである。米国ではパイロット試験としてDRV/r+RALの臨床試験(ACTG5262)が初回治療の患者100例を対象に行われた。しかし、ウイルス量が多い患者では治療失敗例が多く、期待を裏切る結果となっている。フランスでは、やはり初回治療患者800例を対象にしたDRV/r+TVD vs DRV/r+RALのRCTが進行中で2013年に終了予定である。この大規模RCTにより初回治療におけるNRTI Spareの評価は決まるであろう。これに対し、我々が行っているSPARE試験は、治療が安定している患者に対する治療変更の試験であり、他の2つより治療失敗は少なく安全であると考えられる。長期的にも安全な治療法の重要性が高まっており、ミトコンドリア障害を回避できる我々の治療法の有効性が示されれば、世界的にもインパクトは大きいと思われる。

E. 結語

SPARE試験では、1年で予定症例数の組み入れを終えることが出来た。順調に経過すれば、2013年末には結果が報告できる予定である。また、臨床試験を補完する基礎的検討により、TFVによる尿管細胞障害はアミノグリコシド系とは異なる特性があり、可逆性が期待できることもわかった。

F. 発表論文

1) Nakamura H, Teruya K, Takano M, Tsukada K, Tanuma J, Yazaki H, Honda H, Honda M, Gatanaga H, Kikuchi Y, and Oka S: Clinical symptoms and

courses of primary HIV-1 infection in recent years in Japan. *Intern Med* 50: 95-101, 2011.

- 2) Honda M, Ishisaka M, Ishizuka N, Kimura S, Oka S and behalf of Japanese Anti-HIV-1 QD Therapy Study Group: Open-label randomized multicenter selection study of once daily antiretroviral treatment regimen comparing ritonavir boosted atazanavir to efavirenz with fixed-dose abacavir and lamivudine. *Intern Med* 50: 699-705, 2011.
- 3) Watanabe T, Murakoshi H, Gatanaga H, Koyanagi M, Oka S, and Takiguchi M: Effective recognition of HIV-1-infected cells by HIV-1 integrase-specific HLA-B*4002-restricted T cells. *Microb Infect* 13: 160-166, 2011.
- 4) Goto H, Hagiwara S, Hirai R, Miyama T, Honda H, Tagashira A, Iizuka T, Mochizuki M, Teruya K, Kikuchi Y, Oka S, and Miwa A: Case of relapsed AIDS-related plasmablastic lymphoma treated with autologous stem cell transplantation and highly active antiretroviral therapy. *Rare Tumors* 3: 33-35, 2011.
- 5) Ishikawa N, Ishigaki K, Ghidinelli MN, Ikeda K, Honda M, Miyamoto H, Kakimoto K, and Oka S: Paediatric HIV and elimination of mother-to-child transmission of HIV in the ASEAN region: a call to action. *AIDS Care* 23: 413-416, 2011.
- 6) Davaalkham J, Unenchimeng P, Baigalmaa C, Erdenetuya G, Nyamkhuu D, Shiino T, Tsuchiya K, Hayashida T, Gatanaga H, and Oka S: Identification of a current hot spot of HIV-1 transmission in Mongolia by molecular epidemiological analysis. *AIDS Res Hum Retrovirus* 27: 1073-80, 2011.
- 7) Honda K, Zheng N, Murakoshi H, Hashimoto M, Sakai K, Borghan MA, Chikata T, Koyanagi M, Tamura Y, Gatanaga H, Oka S, and Takiguchi M: Selection of escape mutant by HLA-C-restricted HIV-1 Pol-specific cytotoxic T lymphocytes carrying strong ability to suppress HIV-1 replication. *Eur J Immunol* 41:97-106, 2011.
- 8) Hachiya A, Kodama EN, Schuckmann MM, Kirby KA, Michailidis E, Sakagami Y, Oka S, Singh K, and Sarafianos SG: K70Q adds high-level tenofovir resistance to "Q151M complex" HIV reverse transcriptase through the enhanced discrimination mechanism. *PLoS One* 6, e16242, 2011.
- 9) Nagata N, Kobayashi M, Shimbo T, Hoshimoto K, Yada T, Gotoda T, Akiyama J, Oka S, and Uemura N: Diagnostic value of antigenemia assay for CMV gastrointestinal disease in immunocompromised patients. *World J Gastroenterol* 17: 1185-1191, 2011.

- 10) Tsukada K, Sugawara Y, Kaneko J, Tamura S, Tachikawa N, Morisawa Y, Okugawa S, Kikuchi Y, **Oka S**, Kimura S, Yatomi Y, Makuuchi M, Kokudo N, Koike K: Living Donor Liver Transplantations in HIV- and Hepatitis C Virus- Coinfected Hemophiliacs: Experience in a Single Center. *Transplantation* 91: 1261- 1264, 2011.
- 11) Nishijima T, Tsukada K, Nataga N, Watanabe K, Teruya K, Gatanaga H, Kikuchi Y, and **Oka S**: Antiretroviral therapy alone resulted in successful resolution of large idiopathic esophageal ulcers in a patient with acute retroviral syndrome. *AIDS* 25: 1677-1679, 2011.
- 12) Nishijima T, Komatsu H, Gatanaga H, Aoki T, Watanabe K, Kinai E, Honda H, Tanuma J, Yazaki H, Tsukada K, Honda M, Teruya K, Kikuchi Y and **Oka S**: Impact of small body weight on Tenofovir-associated renal dysfunction in HIV-infected patients: A retrospective cohort study of Japanese patients. *PLoS One* 6: e22661, 2011.
- 13) Han SH, Zhou J, Saghayam S, Vanar S, Phanuphak N, Chen YM, Sirisanthana T, Sungkanuparph S, Lee CK, Pujari S, Li PC, **Oka S**, Saphonn V, Zhang F, Merati TP, Law MG, Choi JY: Prevalence of and risk factors for lipodystrophy among HIV-infected patients receiving combined antiretroviral treatment in the Asia-Pacific region: results from the TREAT Asia HIV Observational Database (TAHOD). *Endocr J* 58: 475-484, 2011.
- 14) Watanabe K, Gatanaga H, Cadiz A, Tanuma J, Nozaki T, and **Oka S**: Amebiasis in HIV-infected Japanese men: Clinical features and response to therapy. *PLoS Neglect Trop Dis* 5: e1318, 2011.
- 15) Hamada Y, Watanabe K, Aoki T, Arai N, Honda M, Kikuchi Y, **Oka S**: Primary HIV Infection with Acute Transverse Myelitis. *Intern Med* 50(15):1615-7, 2011.
- 16) Nishijima T, Tsukada K, Takeuchi S, Chiba A, Honda M, Teruya K, Gatanaga H, Kikuchi Y and **Oka S**: Antiretroviral Therapy for Treatment-naive Chronic HIV-1 Infection with an Axonal Variant of Guillain-Barre Syndrome Positive for Anti-ganglioside Antibody: A Case Report. *Intern Med* 50: 2427-2429, 2011.
- 17) Goto N and **Oka S**: *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in kidney transplantation. *Transplant Infect Dis* (review) 13: 551-558, 2011.
- 18) Hayashida T, Gatanaga H, Takahashi Y, Negishi F, Kikuchi Y, and **Oka S**: Trends in early identification of HIV-1 infection in Tokyo from 2002 to 2009 analyzed with BED assay. *Int J Infect Dis* 2012 Jan 9 [Epub ahead of print]
- 19) Hamada Y, Nagata N, Honda H, Asayama N, Teruya K, Ikari T, Kikuchi Y, and **Oka S**: Epstein-Barr virus associated colitis in an HIV-infected patient. *AIDS* 26: 400-402, 2012.
- 20) Akahoshi T, Chikata T, Tamura Y, Gatanaga H, **Oka S**, and Takiguchi M: Selection and accumulation of an HIV-1 escape mutant by three types of HIV-1-specific CTLs recognizing wild-type and/or escape mutant epitopes. *J Virol* 2011 Dec 7 [Epub ahead of print]
- 21) Nishijima T, Gatanaga H, Komatsu H, Tsukada K, Shimbo T, Aoki T, Watanabe K, Kinai E, Honda H, Tanuma J, Yazaki H, Honda M, Teruya K, Kikuchi Y, and **Oka S**: Renal function declines more in tenofovir- than abacavir-based antiretroviral therapy in low-body weight treatment-naïve patients with HIV infection. *PLoS One* 7: e29977, 2012.
- 22) Takano M, Okada M, **Oka S**, and Wagastuma Y: The relationship between HIV testing and CD4 counts at HIV diagnosis among newly diagnosed HIV-1 patients in Japan. *Int J STD AIDS* (in press)
- 23) Sassi M, Ripamonti C, Muller NJ, Yazaki H, Kutty G, Ma L, Huber C, Gogineni E, **Oka S**, Goto N, Fehr T, Gianella S, Konrad R, Sing A, and Kovacs JA: Outbreaks of *Pneumocystis pneumonia* in two renal transplant centers linked to a single strain of *Pneumocystis*: Implications for transmission and virulence. *Clin Infect Dis* (in press)
- 24) Nishijima T, Tsukada K, Teruya K, Gatanaga H, Kikuchi Y, and **Oka S**: Efficacy and safety of once-daily ritonavir-boosted darunavir plus abacavir/lamivudine for treatment-naïve patients: A pilot study. *AIDS* 2012 Jan 10 [Epub ahead of print]

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

該当なし

日本人に適したバックボーンを比較する多施設臨床試験 (ET study)

～ HAART 関連腎障害－テノホビルによる尿細管障害のメカニズム～

研究分担者 田邊 嘉也 新潟大学医歯学総合病院准教授 感染管理部

研究協力者 竹田 徹朗 獨協医科大学 越谷病院腎臓内科教授

影向 晃 新潟大学大学院医歯学総合研究科 総合地域医療学講座特任助教

研究要旨

HAART 時代にはいって HIV 感染症患者の生命予後は改善したが、日本人における最適な治療薬選択に関して他施設共同研究によって証明されたエビデンスは少ない。HAART の長期的副作用対策・長期予後に関する研究 (H19-エイズ一般-002) 班において多施設共同研究の基盤を構築したがさらに今回の研究班に引き継ぎエビデンス発信を目指した。

日本人に最も適した 1 日 1 回投与による治療法を検証するために、現在の治療ガイドラインにおいてバックボーン的第一選択薬であるツルバダ (TVD) の日本人における腎毒性に関する検証のため ATV/RTV を固定しエプジコム (EPZ) もしくは TVD の無作為割付を行った他施設共同研究 (ET 試験) を継続した。さらに副次的な目的となるがテノホビル (TFV) は腎障害 (Fanconi 症候群) を起こし得る薬剤として特徴があり、TFV の腎障害発生機序を探るため、近位尿細管由来培養細胞を用いて特異的分子の発現・機能変化を腎尿細管由来細胞を用いた基礎的実験によって解析した。代表的な尿細管障害を来すアミノグリコシド系抗菌薬 (ゲンタマイシン) と比較してテノホビルは薬剤添加後の近位尿細管細胞特有膜担体 (メガリン) のエンドサイトーシス機能レベルでの障害が顕著であり、またその障害は可逆性であるという点で有意な違いを見出した。

A. 研究目的

分担課題として日本人に最も適した 1 日 1 回投与による治療法を検証することを最終目標としている。現在の治療ガイドラインにおいて、アタザナビル (ATV) + ツルバダ (TVD) の組み合わせは第一選択薬の一つであるが、TVD の日本人における腎毒性に関する情報は不足している。テノホビル (TFV) は重篤な腎 (尿細管) 障害を起こし得るが、その機序についてはまだ不明な点が多い。とくに腎障害発症初期であれば可逆性が認められるともいわれている。したがって、TFV の尿細管障害の機序を探るため近位尿細管由来培養細胞を用いて、特異的分子の発現変化など基礎的検討を行う (図 1)。

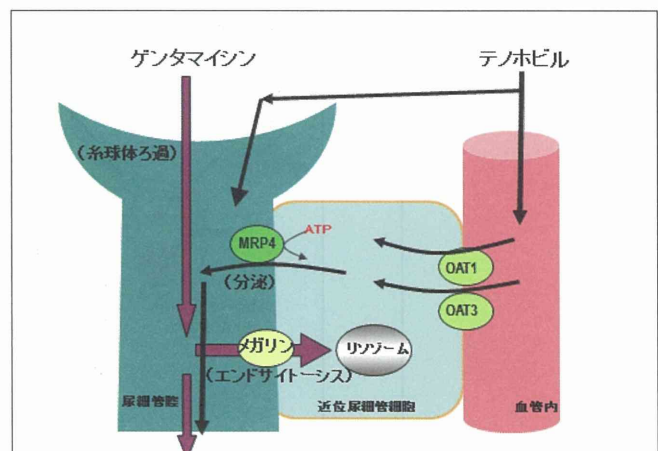


図 1

テノホビルおよびゲンタマイシンの腎尿細管での排泄、再吸収経路

B. 研究方法

1) HAART の長期的副作用対策・長期予後に関する研究 (H19-エイズ一般-002) 班において検討、開始した ATV/RTV を固定しエプジコム (EPZ) もしくは TVD の無作為割付を行い、EPZ+ATV/RTV 併用療法 (EPZ 群) の TVD+ATV/RTV 併用療法 (TVD 群) に対するウイルス学的効果と安全性の比較検討試験 (ET study) について継続して経過観察した。

2) 近位尿管由来培養細胞を収集し、特有のトランスポーター (OAT1、OAT3、MRP4、NHE3、NaPi II a、SGLT2、URAT1) やスカベンジャー受容体メガリンなど膜機能担体の有無を RT-PCR 実験で検討する。尿管障害を来す代表的な薬剤であるアミノグリコシド系薬 (ゲンタマイシン: GM) との比較でその機序の違いを検討する。各濃度のテノホビル (TFV) や GM を培養細胞に添加し、添加 24 時間時点と、さらに添加除去後 24 時間時点での細胞毒性やその可逆性の有無を比較検討する。また、real-time RT-PCR 実験により各膜担体の発現レベルでの変動を、ウェスタンブロット法により蛋白レベルでの変動を、さらにアイソトープ標識リガンドを用いた実験により細胞機能レベルでの変動を、その可逆性も含めて検討する。

(倫理面への配慮)

臨床試験についてはヘルシンキ宣言および厚生労働省の臨床研究に関する倫理指針に従って実施する。基礎的研究に関しても遺伝子組み換え実験を行う予定はない。

C. 研究結果

1) ET study では、H23 年度で観察期間を終了、データの固定を行った。組み入れ数は 109 例であり、この組み入れ期間に予定症例数の 240 例に到達できず、2 群間の非劣性を証明することは不可能である。したがって、日本人における NRTI の副作用解析に主目的を変更した。一方、副作用解析は、症例数が必要なため、retrospective 解析も本臨床試験とは別に行い、やはりツルバダの方が腎機能低下の大きいことが明らかとなった。ET 試験を行うきっかけとなったツルバダの日本人に対する腎障害に関し、やはり同様に retrospective な解析を行ったが、体重の軽い日本人では欧米に比べ腎機能の低下する比率が高いことが明らかとなった。

2) ヒト由来近位尿管培養細胞の HK-2 細胞、ACHN 細胞などの検討では、RT-PCR 実験で近位尿管細胞特有のエンドサイトーシス受容体メガリン (図 2) の mRNA 発現を認めたが、ほか各種の近位尿管細胞特有トランスポーター類の発現は認めなかった。フクロネズミ由来 OK 細胞においてはこれらの各膜担体の発現がほぼ全て確認できたため、以後の実験には OK 細胞を用いた。OK 細胞に TFV もしくは GM を添加し、どちらもミトコンドリア障害やリソゾーム障害などが濃度依存的に起こることを確認したが、その細胞毒性の傾向には有意な差は認めなかった。real-time RT-PCR による発現解析では、GM 添加時には低濃度でメガリン、NaPi II a、NHE3、SGLT の発現がいずれも上昇し、高濃度では濃度依存的に減少に転じたのに対し、TDF 添加時には逆の傾向が示唆された。毒物排泄トランスポーターである MRP4 についてはどちらの薬剤負荷でも濃度依存

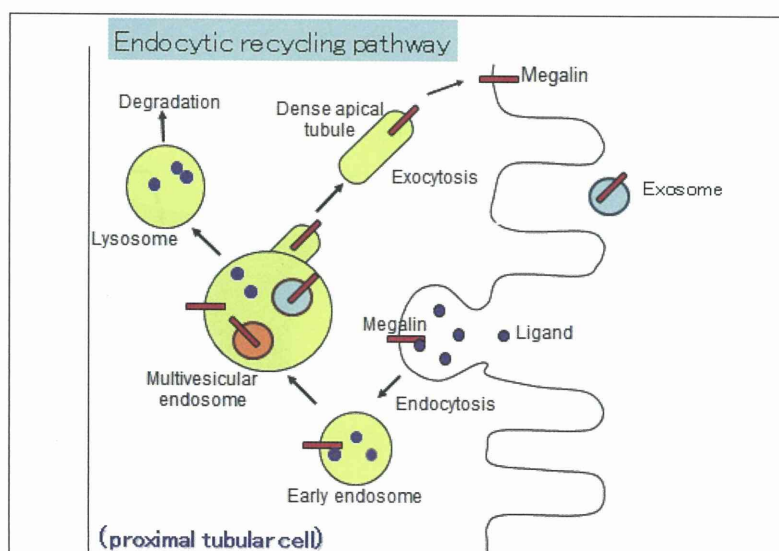


図 2 近位尿管のメガリンによるエンドサイトーシス機能の模式図

的に発現の上昇傾向を認めた。メガリンに関してはどちらも濃度依存性に、発現レベル及び蛋白レベルでの低下傾向を認めた。GM 添加除去後にはその回復性は認めないのに対し、TFV 添加除去後には回復傾向が認められるようであったが、その変動程度は軽度であった。次にメガリンのリガンドである β 2-ミクログロブリン (β 2-MG) を ^{125}I で標識し、そのエンドサイトーシス機能レベルの変動を検討したところ、TFV 添加時には GM 添加時に比較して著明な機能低下を認め、また TFV 添加除去後においてのみ、エンドサイトーシス機能の回復傾向が認められた (図3)。

D. 考察

1) ET 試験では、日本で初めての非劣性を証明する RCT として計画、実施してきたが、症例数が目標に達することが出来ず、副作用を中心に解析することになってしまった。

2) TFV 及び GM は共に近位尿管細胞障害を来すが、細胞内への取り込み経路、排泄経路などは異なっており、臨床的な毒性の違いも関わっていると思われる。近年いわれているミトコンドリアの障害傾向などに関しては特別な相違点を認めなかったが、TFV 添加時には GM 添加時に比較してメガリンによる近位尿管細胞エンドサイトーシス機能の著明な低下 (臨床的には尿中 β 2-MG の排泄量増加に該当する) 及びその回復性といった点が際立って見出し、これは TFV による細胞の休眠様 (一過性)

の機能低下状態を捉えている可能性が考えられた。細胞機能レベルでの毒性障害の可逆性を検証した実験は稀であり、また今回の実験結果は TDF による腎 (尿管) 障害が臨床的に可逆性であるという特徴を裏付けている可能性がある。今後も継続的に検討をつづけていく予定である。

E. 結論

1) ET については、到達目標を変更したが、データ解析に関しては順調に経過している。

2) 今年度の基礎的解析から、TFV による尿管細胞機能レベルの低下及びその可逆性を見出した。TFV による尿管毒性の特徴や機序を明確にできれば、投与方法の改善、阻害薬による副作用予防、新規薬剤開発などへの応用発展も期待される。今後も臨床的検討と基礎的検討を組み合わせより詳細なエビデンス構築を可能とするために継続的に解析を行う。

F. 研究発表

原著論文による発表

口頭発表

未発表

G. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

該当なし

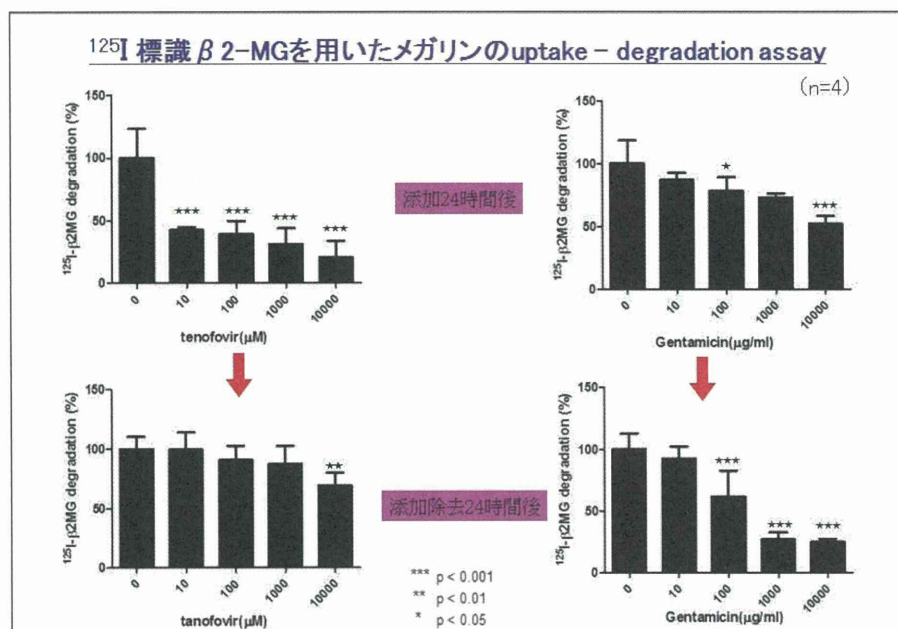


図3 TFVによる近位尿管細胞エンドサイトーシス機能の低下及び可逆性

多施設による急性期患者病状進行解析研究

研究分担者 田沼 順子

(独) 国立国際医療研究センターエイズ治療・研究開発センター専門外来医長

研究要旨

HIV 感染者コホート研究において、今年度、国立国際医療研究センターを含む 3 施設で「急性期患者病状進行解析研究」の研究計画に対し倫理委員会の承認を得て、当初の目的通り国内で多施設共同研究を開始した。また、多施設化に伴い、効率的なデータ収集方法を探索し、データベースの改訂、運営規則やマニュアルの整備を行った。今後は、より多くの患者を組み入れつつ、長期予後（5 年以上）を評価する予定である。来年度は更に参加施設を拡大し、ベースライン調査を実施する予定である。

A. 研究目的

世界の HIV 治療ガイドラインは、欧米人を対象にした研究をもとにして作られてきたが、近年人種の違いが副作用や血中濃度等に影響することが分かかってきた。本研究は、それらの知見を検証し本邦における最適な治療ガイドラインを作成するため、多施設共同の患者コホートを設立し臨床研究基盤を整備することを目標としている。

一方、最近ウイルス自体が宿主の免疫機構から効率的に逃避する変異を獲得し、病状を早く進行させるような進化を遂げたことが分かかってきた^{1), 2)}。病状の進行と HLA には相関があり、特に HLA-B*5101 などは病状の進行を遅らせることで知られているが、日本では HLA-B*51 拘束性の CTL から逃避したウイルスが蓄積し、初感染から 3 年程度で治療を必要とするレベルにまで病状が進行し、HLA-B*51 を持つ患者ほど病状の進行が早くなっていることが分かった¹⁻³⁾。CTL の逃避と病状の進行の関連を示した報告はまだ無く、このことが普遍的であれば HIV 感染症の病態を考える上で非常に重要な知見となる。このことを検証するためには、多施設での解析が不可欠である。

また、このような HIV に対する特異免疫やウイルスの免疫逃避機構の研究はワクチン開発に不可欠であるが、免疫能が HIV によって破壊されたり

HIV が体内で変異を獲得したりする以前、つまり感染早期の段階で研究介入し評価しなければならないと考えられている。

一般に HIV に感染しても数年は無症状で感染に気付かないため、感染を起点にした予後の正確な評価のためにも、感染早期と判定された症例を対象にした研究が求められている。

このような背景をふまえ、コホート研究の最初の対象者を早期 HIV 感染症例と設定し、研究を開始するに至った。

B. 研究方法

①研究デザイン

HIV 感染者を対象とした長期的な観察コホート研究である。

②対象

将来的には、慢性感染者を含め多数の参加を見込んでいるが、本年度は、前述のごとく早期 HIV 感染症例を対象とした。「早期 HIV 感染」は、過去 6 ヶ月以内に以下の (a), (b), (c) いずれかが認められた者とした。

- (a) HIV 抗体陰性かつ HIV-RNA 陽性
- (b) WB における経時的な陽性バンドの増加
- (c) 6 ヶ月以内の HIV 抗体陽転化