

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

安全かつ効果的な抗HIV療法開発のための研究



研究代表者 湯永 博之

(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24(2012)年3月

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

安全かつ効果的な抗HIV療法開発のための研究
—平成23年度 総括・分担研究報告書—

抗HIV薬の適正使用と効果・毒性に関する基礎的研究

分担	研究者名	所属	職名
研究代表者	瀧永 博之	(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	治療開発室 医長
研究分担者	太田 康男	帝京大学医学部内科学講座	教 授
研究分担者	杉浦 互	(独) 国立病院機構名古屋医療センター 臨床研究センター感染・免疫研究部	部 長
研究分担者	吉村 和久	熊本大学エイズ学研究センター 吉村プロジェクト研究室	准教授
研究分担者	川村 龍吉	山梨大学医学部附属病院皮膚科	講 師
研究分担者	児玉 栄一	東北大学病院内科・感染症科	助 教
研究分担者	横幕 能行	(独) 国立病院機構名古屋医療センター エイズ治療開発センター	医 長
研究分担者	本田 元人	(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	医 師
研究分担者	塚田 訓久	(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	医療情報室長

目 次

◆総括研究報告書

安全かつ効果的な抗HIV療法開発のための研究.....	2
湯永 博之 (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 治療開発室医長	

◆分担研究報告書

抗HIV薬の効果と毒性の解析.....	6
湯永 博之 (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 治療開発室医長	

抗HIV薬の毒性メカニズムの解明 —HIV感染と骨代謝異常—	10
太田 康男 帝京大学医学部内科学講座 教授	

抗HIV薬の耐性メカニズムの研究.....	14
杉浦 互 (独) 国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター感染・免疫研究部 部長	

侵入阻害薬に対する耐性機構の解明.....	22
吉村 和久 熊本大学エイズ学研究センター吉村プロジェクト研究室 准教授	

抗HIV薬の感染予防効果の解析	26
川村 龍吉 山梨大学医学部附属病院皮膚科 講師	

耐性HIVを克服する新規薬剤の開発.....	30
児玉 栄一 東北大学病院内科・感染症科 助教	

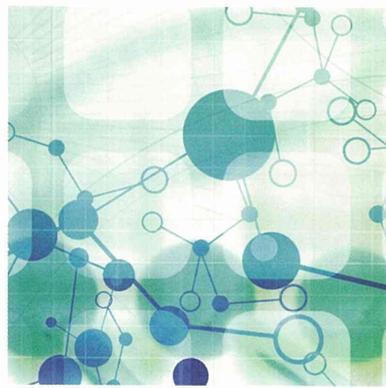
薬剤耐性症例に対する治療の研究.....	36
横幕 能行 (独) 国立病院機構名古屋医療センターエイズ治療開発センター 医長	

抗HIV薬の心血管系への影響の解析.....	42
本田 元人 (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 医師	

新規薬剤の臨床効果の解析.....	44
塚田 訓久 (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 医療情報室長	

刊行物一覧.....	47
------------	----

I. 総括研究報告書



安全かつ効果的な抗HIV療法開発のための研究

研究代表者

潟永 博之

(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 治療開発室医長

研究分担者

太田 康男

帝京大学医学部内科学講座 教授

杉浦 亙

(独) 国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター

感染・免疫研究部 部長

吉村 和久

熊本大学エイズ学研究センター吉村プロジェクト研究室 准教授

川村 龍吉

山梨大学医学部附属病院皮膚科 講師

児玉 栄一

東北大学病院内科・感染症科 助教

横幕 能行

(独) 国立病院機構名古屋医療センターエイズ治療開発センター 医長

本田 元人

(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 医師

塚田 訓久

(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

医療情報室長

研究要旨

安全で効果的な日本人のための抗HIV療法の開発のため、副作用回避の研究、薬剤耐性克服の研究、抗HIV薬の感染予防効果の解析を行った。副作用回避の研究では、テノホビル腎毒性について、低体重がリスク因子として重要であることを明らかにし、また、アバカビル投与群と比較し、有意にeGFRが低下することを見出した。また、プロテアーゼ阻害薬による糖代謝異常の分子機序について、インスリン受容体直下のIRS-1が主たる標的であることを示した。更に、心血管系評価について、201人のHIV感染者に頸動脈エコーを行い、80人に血管壁肥厚等の所見を認めた。薬剤耐性克服の研究では、*in vitro*の継代培養によるマラビロク耐性選択実験により、HIVのサブタイプによらず、CCR5低発現細胞への馴化の後、高度耐性変異の獲得が起こることを示した。また、強力な抗HIV作用を持つ融合阻害薬の新規デザインについて示した。更に、HIV-1の多剤耐性臨床症例・HIV-2の治療失敗症例については、それぞれの耐性HIVのmolecular cloneを作成した。抗HIV薬の感染予防効果の解析では、HIVに対する感染予防効果については、健常ボランティアより得た表皮水疱蓋を*in vitro*でマラビロクに暴露した後、更にHIVに暴露する系において、マラビロクは濃度依存的にHIV感染阻害効果を示した。また、HBVに対する感染予防効果については、HBc抗体を含むHBV血清学的マーカーがすべて陰性のHIV感染男性同性愛患者357人について、その後のHBVマーカーを調べたところ、44人で陽転化していることを見いだした。

A. 研究目的

抗HIV療法は様々な新規薬剤の登場により複雑化している。感染者一人一人のHIVの薬剤感受性状況に基づいて抗HIV効果を予測し、生じ得る副作用・併用薬との相互作用などを考慮しながら、最適と思われる組み合わせを選び出すこととなる。複数存在する治療ガイドラインは、主に欧米で行われた臨床試験の結果に基づいており、小柄な日本人にそのまま当てはめられるものではない。本研究の目的は、日本人における副作用症例・薬剤耐性症例などの臨床症例を解析し、その原因となる機序の解明・新たな治療法を開発し、安全で効果的な日本人のための抗HIV療法を開発し実践可能にすることである。この目的を達成するため、「柱1：副作用回避のための研究」、「柱2：薬剤耐性克服のための研究」を行う。これらの抗HIV薬の研究とともに、日本における新規感染者の一方的な増加に歯止めをかけるため、また、現在臨床的に問題となっているHIV感染者のB型肝炎ウイルス（HBV）の重複感染を防ぐため、「柱3：抗HIV薬の感染予防効果の解析」を行う。

B. 研究方法

「柱1：副作用回避のための研究」日本人感染者における副作用の解析・毒性回避法の探索のために、テノホビルの腎毒性の解析（渦永）、プロテアーゼ阻害薬の糖・脂質代謝・骨代謝への毒性メカニズムの解明（太田）、プロテアーゼ阻害薬およびアバカビルの心血管系への影響の評価（本田）、副作用回避のために新規薬剤に治療変更した症例の解析（塚田）に課題を分割して遂行した。

「柱2：薬剤耐性克服のための研究」感染個体内の進化に伴う薬剤感受性変化の解析（渦永）、インテグラーゼ阻害薬などの新規薬剤に対する薬剤耐性の解析（杉浦）、マラビロクなどの侵入阻害薬に対する薬剤耐性の解析（吉村）、多剤耐性症例に対する実際の治療戦略の開発（横幕）、耐性HIVを克服する新薬の開発（兄玉）に課題を分割して遂行した。

「柱3：抗HIV薬の感染予防効果の解析」日本における新規HIV感染者の増加に歯止めをかけることを目指して、抗HIV薬による非感染者のHIV感染予防効果の解析を行った（川村）。また、現在臨床的に問題となっているHIV感染者のHBV重複感染を防ぐため、抗HIV薬によるHBV感染予防効果を解析した（渦永）。

（倫理面への配慮）

国立国際医療研究センター、国立病院機構名古屋医療センター、帝京大学医学部付属病院の患者の臨床経過やHIVを解析することとなる。いずれも、それぞれの施設で倫理委員会の承認を得た。患者の理解と協力を得るため、研究の必要性と意義について十分に説明し、それぞれの施設の倫理規定に従い同意書に自筆のサインを得た。サインされた同意文書はカルテに綴じ込み保存している。また、研究への参加の同意・不同意に関わらず、診療上の不利益は被らないように配慮する。個人情報を保護するため、個人を特定できるような情報は外部には出さないこととする。HIV感染実験のための健常者からの表皮水疱蓋の採取については、山梨大学の倫理委員会で承認を得た。表皮を提供する健常者の理解と協力を得るため、研究の必要性と意義について十分に説明し、山梨大学の倫理規定に従い同意書に自筆のサインを得た。

C. 研究結果

「柱1：副作用回避のための研究」テノホビルの腎毒性の解析については、低体重がリスク因子として重要であることを明らかにし、また、アバカビル投与群と比較し、有意にeGFRが低下することを報告した。プロテアーゼ阻害薬による糖代謝異常の分子機序については、インスリン受容体直下のIRS-1が主たる標的であることを示した。心血管系評価については、201人のHIV感染者に頸動脈エコーを行い、80人に血管壁肥厚等の所見を認めた。

「柱2：薬剤耐性克服のための研究」*in vitro*の継代培養によるマラビロク耐性選択実験により、HIVのサブタイプによらず、CCR5低発現細胞への馴化の後、高度耐性変異の獲得が起こることを示した。強力な抗HIV作用を持つ融合阻害薬の新規デザインについて示した。HIV-1の多剤耐性臨床症例・HIV-2の治療失敗症例については、それぞれの耐性HIVのmolecular cloneを作成した。

「柱3：抗HIV薬の感染予防効果の解析」HIVに対する感染予防効果については、健常ボランティアより得た表皮水疱蓋を*in vitro*でマラビロクに暴露した後、更にHIVに暴露する系において、マラビロクは濃度依存的にHIV感染阻害効果を示した。HBVに対する感染予防効果については、HBc抗体を含むHBV血清学的マーカーがすべて陰性のHIV感染男性同性愛患者357人について、その後のHBVマーカーを調べたところ、44人で陽転化していることを見いだした。

D. 考察

欧米人と日本人で、抗HIV薬の副作用出現頻度が大きく異なることが徐々に明らかになりつつある。欧米で提唱されている治療ガイドラインをそのまま日本人に応用することは困難であり、エビデンスに基づいた日本人のための治療ガイドラインの作成が急務である。本研究の目的とするところは、日本人に起こり得る副作用の頻度、その回避法、薬剤耐性症例の治療法開発など、日本人のための治療ガイドラインを作成する際の基になるデータ・エビデンスを提供することである。日本人のための安全で効果的な抗HIV療法が開発され実践可能となれば、日本におけるHIVの治療成績が向上し、感染者の服薬アドヒアランスが向上することが期待される。それに伴って、多くの感染者で血中HIV量を検出限界以下にコントロールすることが可能となり、その感染者から新たに感染する確率を著しく低くし、結果として日本におけるHIV感染者の著しい増加傾向に歯止めをかけることが期待される。

また本研究では、抗HIV薬の有効性に関する研究の一つとして、そのHIVとHBVの感染予防効果の解析も行った。これらにより、抗HIV薬の内服によるHIV感染予防が可能になれば、更に直接的に新たな感染を防止できる。HBVに関しては、HBV感染予防効果のある治療法を積極的に投与することにより、現在問題となっているHIV・HBVの重複感染症例数を減少させることが期待できる。

E. 結論

臨床現場に即座にフィードバックできる研究目標を掲げ、初年度は順当な成果を挙げている。次年度以降の計画も具体的で実現性があり、「日本人のための治療ガイドライン」作成時に大きく資することが期待される。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

各研究分担者の頁参照。

H. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

なし

II. 分担研究報告書



抗HIV薬の効果と毒性の解析

研究分担者

潟永 博之 (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
治療開発室医長

研究協力者

土屋 亮人 (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
治療開発専門職

林田 庸総 (財) エイズ予防財団 リサーチレジデント

研究要旨

安全で効果的な日本人のための抗HIV療法の開発を目的とし、副作用回避のための研究と、抗HIV薬のHBV感染予防効果の解析を行った。副作用回避のための研究では、テノホビルの腎毒性について、低体重がリスク因子として重要であることを明らかにし、また、アバカビル投与群と比較し、有意にeGFRが低下することを見出した。抗HIV薬のHBV感染予防効果の解析として、HBc抗体を含むHBV血清学的マーカーがすべて陰性のHIV感染男性同性愛患者357人について、その後のHBVマーカーを調べたところ、44人で陽転化していることを見いだした。今後はHBV感染とHIV治療の相関について解析する。

A. 研究目的

本研究の目的は、日本人における副作用の頻度・重篤度を解析し、安全で効果的な日本人のための抗HIV療法を開発し実践可能にすることである。今年度は①「テノホビルの腎毒性の解析」を行った。また、現在臨床的に問題となっているHIV感染者のB型肝炎ウイルス(HBV)の重複感染を防ぐため、②「抗HIV薬のHBV感染予防効果の解析」を行った。

B. 研究方法

①495人のテノホビル投与患者について、eGFRが25%以上低下する関連因子を多変量解析で解析した。また、503人の未治療HIV感染者に対して初回治療としてテノホビルを用いた群(199人)とアバカビルを用いた群(304人)でeGFRが25%以上の低下を示すまでの期間をKaplan-Meier法で解析した。

②同意のもとに保存された血清が2検体以上存在するHIV感染男性同性愛者の症例について、そのHBV血清学的マーカーの推移を解析した。

(倫理面への配慮)

国立国際医療研究センターの患者の臨床経過やHIVを解析することとなるため、倫理委員会の承認

を得た。患者の理解と協力を得るため、研究の必要性と意義について十分に説明し、倫理規定に従い同意書に自筆のサインを得た。サインされた同意文書はカルテに綴じ込み保存している。また、研究への参加の同意・不同意に関わらず、診療上の不利益は被らないように配慮する。個人情報と保護するため、個人を特定できるような情報は外部には出さないこととする。

C. 研究結果

①テノホビルの腎毒性の解析については、低体重がリスク因子として重要であることを明らかにした。初回治療としてテノホビルを用いた群は、アバカビルを用いた群と比較し、有意にeGFRが低下することを報告した。

②HBVに対する感染予防効果については、HBc抗体を含むHBV血清学的マーカーがすべて陰性のHIV感染男性同性愛患者357人について、その後のHBVマーカーを調べたところ、44人で陽転化していることを見いだした。H24-25年度は、HBV感染と抗HIV薬による治療との相関を解析する。

D. 考察

欧米人と日本人で、抗HIV薬の副作用出現頻度が大きく異なることが徐々に明らかになりつつある。欧米で提唱されている治療ガイドラインをそのまま日本人に応用することは困難であり、エビデンスに基づいた日本人のための治療ガイドラインの作成が急務である。本研究の目的とするところは、日本人に起こり得る副作用の頻度、その回避法、日本人のための治療ガイドラインを作成する際の基になるデータ・エビデンスを提供することである。日本人のための安全で効果的な抗HIV療法が開発され実践可能となれば、日本におけるHIVの治療成績が向上し、感染者の服薬アドヒアランスが向上することが期待される。それに伴って、多くの感染者で血中HIV量を検出限界以下にコントロールすることが可能となり、その感染者から新たに感染する確率を著しく低くし、結果として日本におけるHIV感染者の著しい増加傾向に歯止めをかけることが期待される。

また本研究では、抗HIV薬の有効性に関する研究の一つとして、そのHIVとHBVの感染予防効果の解析も行った。HBV感染予防効果のある治療法を積極的に投与することにより、現在問題となっているHIV・HBVの重複感染症例数を減少させることが期待できる。

E. 結論

テノホビルの腎毒性は、低体重がリスク因子であり、このような患者に対してはアバカビルの投与を積極的に考慮してよいと考えられる。HBV曝露歴のない男性同性愛者の経過観察期間中に驚くほど多くの患者(12.3%)がHBVの重複感染を起こしており、不顕性感染が多いことが示唆される。更なる解析が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Watanabe K, Gatanaga H, Escueta-de Cadiz A, Tanuma J, Nozaki T, Oka S: Amebiasis in HIV-1-infected Japanese men: clinical features and response to therapy. *PLoS Negl Trop Dis*. 5(9):e1318, 2011.
- 2) 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, 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(7):e22661, 2011.

- 3) Nakamura H, Teruya K, Takano M, Tsukada K, Tanuma J, Yazaki H, Honda H, Honda M, Gatanaga H, Kikuchi Y, Oka S: Clinical symptoms and courses of primary HIV-1 infection in recent years in Japan. *Intern Med*. 50(2):95-101, 2011.

2. 学会発表

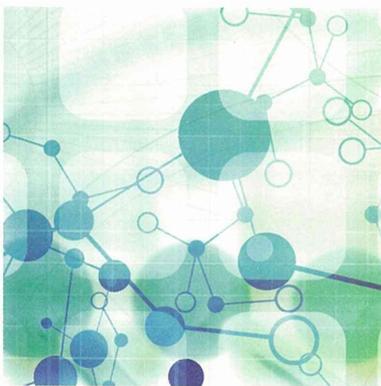
- 1) 濱田洋平、橋本亜希、千葉明生、水島大輔、青木孝弘、西島 健、渡辺恒二、本田元人、木内英、田沼順子、矢崎博久、塚田訓久、本田美和子、照屋勝治、湯永博之、菊池 嘉、岡 慎一：梨状筋膿瘍の一例 第85回日本感染症学会総会・学術講演会 2011年4月 東京
- 2) 加藤麻美、田沼順子、千葉明生、濱田洋平、橋本亜希、水島大輔、西島 健、青木孝弘、渡辺恒二、木内 英、本田元人、矢崎博久、塚田訓久、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、菊池 嘉、岡 慎一：HAART時代のHIV陽性非結核性抗酸菌症例の検討 第85回日本感染症学会総会・学術講演会 2011年4月 東京
- 3) 青木孝弘、橋本亜希、濱田洋平、千葉明生、水島大輔、西島 健、木内 英、渡辺恒二、本田元人、矢崎博久、田沼順子、塚田訓久、本田美和子、照屋勝治、湯永博之、菊池 嘉、岡 慎一：HIV陽性患者における神経梅毒の臨床的検討 第85回日本感染症学会総会・学術講演会 2011年4月 東京
- 4) 西島 健、濱田洋平、橋本亜希、千葉明生、水島大輔、青木孝弘、渡辺恒二、木内 英、本田元人、塚田訓久、田沼順子、矢崎博久、本田美和子、湯永博之、照屋勝治、菊池 嘉、岡 慎一：日本人初回治療HIV感染者におけるTenofovir disoproxil fumarateによる腎機能障害の検討 第85回日本感染症学会総会・学術講演会 2011年4月 東京
- 5) 湯永博之：次世代新薬の最新情報－非核酸系逆転写酵素阻害薬：NNRTI 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京
- 6) 湯永博之：最新の情報を明日の臨床に活かす - Year in Review 2011-：難治性合併B型肝炎の治療 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京
- 7) 湯永博之：HIV診療とウイルス検査の重要性：診断のタイミングとHIV診療 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京
- 8) 湯永博之：抗HIV療法のガイドラインを斬る (backbone編) 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京
- 9) 赤星智寛、近田貴敬、田村美子、湯永博之、岡 慎一、滝口雅文：HIV-1特異的細胞傷害性T細胞(CTL)による逃避変異の選択と蓄積の機序の解明 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京
- 10) 遠藤貴子、八鍬類子、池田和子、島田 恵、湯永

- 博之、菊池 嘉、岡 慎一、西垣昌和、数間恵子：日本人男性における抗HIV療法開始前後での血清脂質値の変化 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京
- 11) 青木孝弘、橋本亜希、濱田洋平、田村久美、水島大輔、小林泰一郎、西島 健、山内悠子、木内英、渡辺恒二、本田元人、矢崎博久、田沼順子、塚田訓久、本田美和子、照屋勝治、瀧永博之、菊池 嘉、岡 慎一：当センターにおけるHIV合併梅毒患者の検討 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京
 - 12) 渡辺恒二、山内悠子、小林泰一郎、田村久美、濱田洋平、橋本亜希、水島大輔、西島 健、青木孝弘、本田元人、木内英、田沼順子、矢崎博久、塚田訓久、本田美和子、瀧永博之、照屋勝治、菊池 嘉、岡 慎一：HIV感染合併赤痢アメーバ症の病態とシスト駆除有用性の検討 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京
 - 13) 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、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、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、渡辺 大、白阪琢磨、小島洋子、森 治代、中桐逸博、藤井輝久、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：新規HIV/AIDS診断症例における薬剤耐性HIVの動向 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京
 - 14) 大出裕高、本村和嗣、横山勝、瀧永博之、佐藤裕徳：Roche-454 Genome Sequencer FLX TitaniumによるHIV準種解析系の構築 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京
 - 15) 田沼順子、濱田洋平、橋本亜希、水島大輔、青木孝弘、西島 健、渡辺恒二、本田元人、矢崎博久、塚田訓久、本田美和子、瀧永博之、照屋勝治、菊池 嘉、萩原将太郎、岡 慎一：当院におけるエイズ関連非ホジキンリンパ腫の治療状況 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京
 - 16) 濱田洋平、橋本亜希、田村久美、小林泰一郎、山内悠子、水島大輔、西島 健、青木孝弘、渡辺恒二、木内英、本田元人、矢崎博久、田沼順子、塚田訓久、本田美和子、照屋勝治、瀧永博之、菊池 嘉、岡 慎一：Atazanavirによる尿路結石の検討 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京
 - 17) 塚田訓久、西島 健、叶谷文秀、林田庸総、土屋亮人、瀧永博之、菊池 嘉、岡 慎一：ARaltegravir/boosted Darunavir 併用によるNRTI sparing regimenの臨床成績（第2報） 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京
 - 18) 橋本亜希、濱田洋平、田村久美、小林泰一郎、山内悠子、水島大輔、西島 健、青木孝弘、渡辺恒二、本田元人、矢崎博久、田沼順子、塚田訓久、本田美和子、照屋勝治、瀧永博之、菊池 嘉、岡 慎一：当センターにおける初回療法で選択された抗HIV薬の変遷とRAL選択例の治療成績について 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京
 - 19) 西島 健、高野 操、石坂美千代、瀧永博之、菊池 嘉、遠藤知之、堀場昌英、金田暁、藤井 毅、内藤俊夫、吉田正樹、立川夏夫、横幕能行、藤井輝久、高田清式、山本政弘、松下修三、健山正男、田邊嘉成、満屋裕明、岡 慎一：HIV感染症の初回治療でアタザナビル/リトナビルを固定したエブリコムとツルバダを無作為割付するオープンラベル多施設臨床試験：ET study 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京
 - 20) 水島大輔、濱田洋平、橋本亜希、田村久美、山内悠子、小林泰一郎、西島 健、青木孝弘、渡辺恒二、本田元人、田沼順子、矢崎博久、塚田訓久、本田美和子、瀧永博之、照屋勝治、菊池 嘉、岡 慎一：サイトメガロウイルス網膜炎の臨床的検討 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京
 - 21) 田村久美、青木孝弘、濱田洋平、橋本亜希、水島大輔、小林泰一郎、山内悠子、西島 健、渡辺恒二、木内英、本田元人、矢崎博久、田沼順子、本田美和子、照屋勝治、塚田訓久、瀧永博之、菊池 嘉、岡 慎一：HIV感染者におけるQuantiFERON-TB Gold（QFT-3G）の有用性の検討 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京
 - 22) 木内英、細川真一、五味淵秀人、田村久美、濱田洋平、橋本亜希、水島大輔、西島 健、青木孝弘、渡辺恒二、本田元人、田沼順子、矢崎博久、塚田訓久、本田美和子、瀧永博之、照屋勝治、菊池 嘉、岡 慎一、加藤真吾：新生児におけるAZT-TP細胞内濃度 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京
 - 23) 田村久美、渡辺恒二、木内英、福田友彦、折戸征也、榎谷法生、野村耕太郎、細川真一、松下竹次、植田知幸、親泊あいみ、加藤真吾、瀧永博之、菊池 嘉、岡 慎一：妊娠35週にHIVスクリーニング陽性が判明したが、血中HIV-RNAが検出されないために、診断と予防内服適応の判断に苦慮した1例 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京
 - 24) 本田美和子、田村久美、橋本亜希、濱田洋平、水島大輔、山内悠子、小林泰一郎、西島 健、木内英、青木孝弘、渡辺恒二、本田元人、矢崎博久、田沼順子、塚田訓久、瀧永博之、照屋勝治、菊池 嘉、岡 慎一：プライマリケアの現場で発見されるHIV感染症の現状 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京

- 学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京
- 25) 林田庸総、瀧永博之、菊池 嘉、岡 慎一：東京におけるHIV感染の早期診断についてBEDアッセイを用いた動向解析 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京
- 26) 小林泰一郎、田村久美、山内悠子、濱田洋平、橋本亜希、水島大輔、西島 健、木内 英、青木孝弘、渡辺恒二、本田元人、矢崎博久、田沼順子、塚田訓久、本田美和子、照屋勝治、瀧永博之、菊池 嘉、岡 慎一：トキソプラズマ脳炎23例の臨床的検討 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京
- 27) 矢崎博久、濱田洋平、橋本亜希、田村久美、小林泰一郎、山内悠子、水島大輔、西島 健、木内 英、青木孝弘、渡辺恒二、本田元人、田沼順子、塚田訓久、本田美和子、瀧永博之、照屋勝治、菊池 嘉、岡 慎一：HIV感染者の*Helicobacter pylori*新規感染について 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京
- 28) 中村真衣、土屋亮人、林田庸総、増田純一、千田昌之、瀧永博之、水野宏一、菊池 嘉、三上二郎、岡 慎一：日本人HIV感染者におけるダルナビル血中濃度の検討 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京
- 29) Roy Chandra Nath、鈴木康弘、今村淳治、権田幸祐、瀧永博之、大内憲明：3D and continuous single quantum dot tracking reveals that HIV-1 Tat transduces into the living cells by two distinct active transportation systems 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京
- 30) 高橋圭子、池田和子、今井公文、瀧永博之、金沢吉展、岡 慎一：HIV感染症患者における離職意向と身体的・精神的自覚症状の関連に関する研究 第25回日本エイズ学会総会・学術講演会 2011年11-12月 東京

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし



抗HIV薬の毒性メカニズムの解明

—HIV感染と骨代謝異常—

研究分担者

太田 康男 帝京大学医学部内科学講座 教授

研究協力者

北沢 貴利 帝京大学医学部内科学講座

古賀 一郎 帝京大学医学部内科学講座

研究要旨

HIV感染者においては、健常人と比較すると、糖代謝、脂質代謝などと同様に、骨代謝も影響を受けうる生体制御系であることが、主として欧米からの報告により認識されつつある。その危険因子として、抗HIV治療によりもたらされた患者の高齢化に加え、HIV感染自体も骨密度への低下に寄与している可能性が報告されている。さらに近年、一部の抗HIV薬により骨代謝障害がもたらされる可能性が示唆されている。しかしながら、その分子メカニズムの詳細は全く不明である。本研究は、HIV感染者における骨代謝異常に焦点をあて、以下の2つの点から研究を行った。第一に、帝京大学医学附属病院に通院中のHIV患者を対象として、DXA法を用いて骨密度の低下の程度を解析した。第二に、抗HIV薬による骨代謝障害の機序を解明するため、骨代謝において中心的役割を演じている破骨細胞および骨芽細胞を各HIV薬で処理し、それらの細胞の活性の中心的指標であるTRAP5b活性およびRANKLの発現を解析した。大腿骨頸部で測定した骨密度で判断すると、約60%の患者が骨減少症、約10%の患者が骨粗鬆症と診断され、非HIV感染者と比較して、骨密度の低下が顕著であることが示された。破骨細胞においては、各HIV薬の処理によるTRAP5bの発現亢進は認められなかったが、骨芽細胞においては、抗HIV薬の処理によりRANKLの発現が亢進し、特にEFVの投与で発現が増強した。以上から、抗HIV薬は骨吸収の亢進の機序に関連している可能性が示唆されたが、今後その分子メカニズムについて更なる解析が重要であると考えられた。

A. 研究目的

HIV感染に対する抗ウイルス治療は、HIVウイルス量を減少させ、日和見疾患の合併率を下げ、生命予後に大きな改善をもたらした。しかしながら、長期の抗ウイルス治療により、代謝系、循環器系、神経系、腎臓系など多臓器にわたる機能障害がもたらされる事実が明らかとなってきた。

骨は身体の支持組織であるだけでなく、カルシウムやリンなどのミネラルの調節や、血球細胞を造る骨髄を保持するなど腎臓・内分泌系、造血・免疫系に深く関与する組織である。その調節機能は、生涯を通じて行われ、骨にかかる外力やホルモンなどに対して動的に制御され続けている。骨の代謝調節は、破骨細胞による骨吸収と、骨芽細胞による骨形成に分けられる。骨粗鬆症をはじめとする骨密度の低下に起因する疾患は、破骨細胞の骨吸収の亢進、もし

くは骨芽細胞による骨形成の低下、更にはその両者の機序により発症する。

近年、HIV感染者において、骨代謝が糖代謝、脂質代謝などと同様に、健常人と比較して、きわめて影響を受けうる生体制御系であることが、主として認識されつつある。欧米で施行された疫学的な検討で、HIV感染者は非感染者に比較し、骨密度の低下がみられ、かつその進行も早く、その結果として骨折のリスクも高まっていることが明らかになった。従来から骨密度の低下の危険因子とされる、喫煙、活動性の低下などはHIV感染者での合併頻度が高いことに加え、抗HIV治療がもたらした延命に伴う高齢化もHIV感染者の骨密度低下の危険因子であることは言うまでもない。一方、HIV感染自体も骨密度への低下に寄与している可能性も報告されている。さらに近年、抗HIV薬によって骨密度低下作用がもたらされる可能性が示唆されている。以上のように、

HIV感染者においては、治療の有無、治療効果の適否によらず、骨代謝異常が将来的な問題となることが危惧されつつあり、そのリスクを軽減させることが、今後のHIV感染者に対する診療の課題の一つとなることは間違いない。

現行のHIV治療においては抗HIV薬を複数投与することが前提となるため、抗ウイルス効果に加え、長期毒性の少ない薬剤が選択される傾向にある。抗HIV薬の中でどの薬剤が骨代謝への影響が強いのかという観点からは、まだ十分な検証が得られていないのが実状である。*in vitro*の解析で、一部のプロテアーゼ阻害薬、非核酸系逆転写酵素阻害薬、核酸系逆転写酵素阻害薬が骨形成、骨吸収に影響を与えるという報告がいくつかなされているが、その分子メカニズムについてはほとんど解明がすすんでいない。

そこで本研究では、日本人のHIV患者を対象とした骨密度低下に関する報告がほとんどないことから、日本人のHIV患者の骨密度の低下の程度を明らかにすることを第一の目的とした。さらに、抗HIV薬が、骨吸収・骨形成機能に細胞レベルで変化をもたらしているかを解析し、その分子メカニズムを明らかにし、抗HIV治療がもたらす骨代謝障害に対して、有効な作用点をもつ治療薬が存在するかを解明することを最終目標に掲げた。

B. 研究方法

(1) 日本人のHIV患者の骨密度の解析

帝京大学医学部附属病院に通院中の日本人HIV男性患者のうちの31例を対象とし、DXA法を用いて、腰椎および大腿骨頸部の骨密度を測定した。骨密度の低下についてはT-scoreを用い、WHOの基準に準拠し、-1以下から-2.5未満を骨減少症、-2.5以下を骨粗鬆症と判定した。

(2) 抗HIV薬が骨代謝（骨芽細胞、破骨細胞）に与える影響およびその分子機序

マウス由来の破骨細胞の前駆細胞としてRAW264.7細胞を用い、RANKLを添加し破骨細胞に分化させた。対象薬剤としてTDF、ABC、DRV、RTV、EFV、ETV、RALを選択した。各30 μ Mを24時間処理した後、上清および細胞の可溶化液を抽出した。TRAP5b活性をELISA法にて測定した。

マウス由来の骨芽細胞の細胞分離株であるMC3T3-L1細胞を上記薬剤30 μ Mで24時間処理し、細胞を可溶化しRANKLのタンパク発現をWB法にて解析した。

(倫理面への配慮)

臨床研究においては、帝京大学医学部倫理委員会の承認を得た後、研究を施行した。対象患者からは、すべて文書による同意を得た。基礎研究に関しては、特に配慮する点はない。

C. 研究結果

(1) 日本人のHIV患者の骨密度の解析

腰椎での骨密度で判断すると、30例中14例(47%)が骨減少症、2例(7%)が骨粗鬆症であった(表1および図1)。大腿骨頸部で判断すると、31例中19例(61%)が骨減少症、4例(13%)が骨粗鬆症と診断された。骨密度が正常であったのは、わずか8例(26%)であった。腰椎と比較すると、大腿骨頸部で測定した骨密度の低下の割合が高かった。

(2) 抗HIV薬が骨代謝（骨芽細胞、破骨細胞）に与える影響およびその分子機序

破骨細胞に分化させたRAW264.7細胞に対して各HIV薬を処理し、細胞可溶化液のTRAP5bの活性を解析したが、Controlと比較して明らかな活性の亢進は認められなかった(図2A)。抗HIV薬の処理後の培養上清のTRAP5bの活性化についてもcontrolに比べ亢進は認められなかった(図2B)。

各HIV薬でのRANKLの発現はやや亢進していた。特にEFV処理によるRANKLの発現は他剤よりも亢進していた(図3)。

D. 考察

欧米からの報告と同様、日本人男性を対象とした我々の研究でも、大多数のHIV患者で、骨密度の低下が認められた。HIV患者の骨密度の低下は、若年者でも認められ、今後長期管理を行う上で、重要な問題になり得ると考えられる。また腰椎と大腿骨頸部を比較すると、大腿骨頸部を用いた骨密度の方が、より鋭敏に骨密度の低下を示していると考えられた。今後その要因について検討する必要がある。

抗HIV薬による破骨細胞の寄与としてTRAP5bの活性の変化を解析した結果、対象7薬剤において、明らかな亢進作用は認められなかった。過去にはAZTでTRAP5bの発現が亢進したという報告があるが、今回の検討では、TDFやABCといったNRTIを含め、いずれの抗HIV薬でも機能変化は確認されなかった。しかし、抗HIV薬での骨での影響を考えた場合、投与状態における破骨細胞への抗HIV薬濃度が重要になるが、現在のところ、骨での各薬剤の組

表 1：帝京大学医学部附属病院通院中の HIV 患者の骨密度の比較（腰椎、大腿骨頸部）

The prevalence of Osteopenia and osteoporosis in two different sites and numbers(%) of corresponding participants						
		by T-score of Lumbar spines		by T-score of Femoral necks		
Normal		>-1.0	14(46.7)	>-1.0	8(25.8)	
Osteopenia		≤-1.0	14(46.7)	≤-1.0	19(61.2)	
Osteoporosis		<-2.5	2(6.7)	<-2.5	4(12.9)	

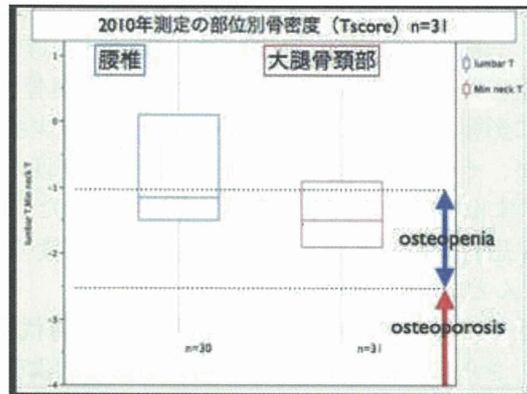
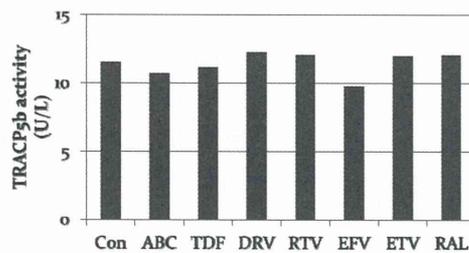


図 1：帝京大学医学部附属病院通院中の HIV 患者の骨密度 (Tscore)

A) 抗 HIV 薬処理後の破骨細胞の可溶性タンパクにおける TRAP5b 活性



B) 抗 HIV 薬処理後の破骨細胞の培養上清における TRAP5b 活性

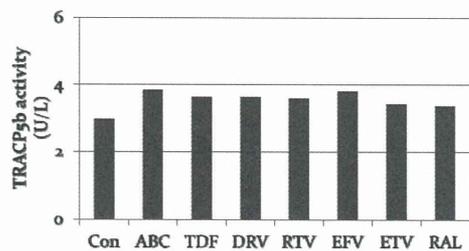


図 2： A) 抗 HIV 薬処理後の破骨細胞の可溶性タンパクにおける TRAP5b 活性
B) 抗 HIV 薬処理後の破骨細胞の培養上清における TRAP5b 活性

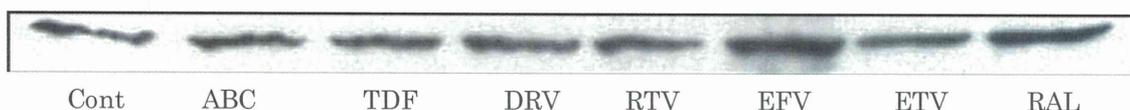


図 3：抗 HIV 薬処理による骨芽細胞における RANKL の発現

織Pharmacokineticsは明らかとなっていないため、今回の検討濃度が生理的条件に近似しているのかについての適性を判断できなかった。今後は破骨細胞での各薬剤での濃度、作用時間におけるTRAP5bの活性変化を検証する方針である。

抗HIV薬処理後の骨芽細胞でのRANKLの発現をウェスタンブロット法で検討したところ、抗HIV薬の処理のされていない無処理の細胞に比べ、抗HIV薬の処理されている骨芽細胞でRANKLの発現が亢進していた。特にEFVにてその発現の亢進が強かった。過去の報告ではRANKLの発現の影響について、tipranavirの処理にてRANKLの発現は低下しており、他のプロテアーゼ阻害薬では影響は認められなかったことから、今回の結果はこれまでの報告と異なる機序により影響を示している可能性が考えられる。RANKLの発現亢進に寄与するシグナルとしてはWntシグナルの関与の可能性が示唆され、ritonavirによってWntの発現が抑制されていくことが報告されている。次の検証として今回検討した薬剤においてWntシグナルでの抑制がみられるかについて解析をすすめる方針である。

E. 結論

HIV患者の大部分で骨密度の低下が認められた。今後HIV患者の長期管理の上で重要な問題となると考えられる。

抗HIV薬の処理による破骨細胞のTRAP5bの活性において、薬剤間での活性亢進は確認されなかったが、抗HIV薬の処理による骨芽細胞のRANKLの発現はcontrolに比べ発現の亢進がみられ、特にEFVにて亢進が強かった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kogure H, Tsujino T, Yamamoto K, Mizuno S, Yashima Y, Yagioka H, Kawakubo K, Sasaki T, Nakai Y, Hirano K, Sasahira N, Isayama H, Tada M, Kawabe T, Omata M, Harada S, Ota Y, Koike K: Fever-based antibiotic therapy for acute cholangitis following successful endoscopic biliary drainage. *J Gastroenterol.* Dec; 46(12): 1411-7.2011
- 2) Yoshino Y, Kitazawa T, Ikeda M, Tatsuno K, Yanagimoto S, Okugawa S, Ota Y, Yotsuyanagi H: Clinical features of *Bacteroides* bacteremia and their association with colorectal carcinoma. *Infection.* 2011 (published on line on Jul 20).
- 3) Atsukawa Y, Kawakami S, Asahara M, Ishigaki S, Tanaka T, Ono Y, Nishiya H, Fujisaki R, Koga I, Ota Y, Miyazawa Y: The usefulness of changing

focus during examination using Gram staining as initial diagnostic clue for infective tuberculosis. *Infect Chemother.* 17: 571-4. 2011.

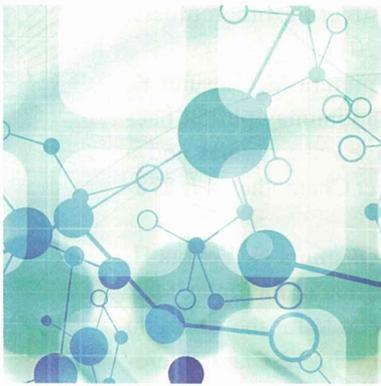
- 4) Yoshino Y, Kitazawa T, Kamimura M, Tatsuno K, Ota Y, Yotsuyanagi H: *Pseudomonas putida* bacteremia in adult patients: five case reports and a review of the literature. *J Infect Chemother.* 17: 278-82. 2011
- 5) Nagai R, Saito R, Koyano S, Okamura N, Yokota H, Kitazawa T, Moriya K: Evaluation of multiplex PCR using dual-priming oligonucleotide for the detection of *vanA* and *vanB* in vancomycin-resistant enterococci. *Clin Chem Lab Med.* 49(4):751-2, 2011.
- 6) Nukui Y, Hatakeyama S, Kitazawa T, Mahira T, Shintani Y, Moriya K: Pandemic 2009 Influenza A (H1N1) Virus among Japanese Healthcare workers: Seroprevalence and Risk Factors. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 33:58-62, 2012 .

2. 学会発表 (国際学会)

- 1) Yoshino Y, Kitazawa T, Ikeda M, Tatsuno K, Yanagimoto S, Okugawa S, Yotsuyanagi H, Ota Y: *Clostridium Difficile* Flagellin Activates Intestinal Epithelial Cells via Toll-like Receptor 5. 13th International Union Microbiological Societies, Sep 6-16, 2011, Sapporo,
- 2) Kitazawa T, Yoshino Y, Yamamoto T, Kuyama Y, and Ota Y: Does use of proton pump inhibitors increase incidence of *Clostridium difficile*-associated diarrhea?: a Japanese study. The 51st Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Sep. 17-20, 2011, Chicago.

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

なし



抗HIV薬の耐性メカニズムの研究

研究分担者

杉浦 亙

(独) 国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター感染・免疫研究部
部長

研究協力者

伊部 史朗

(独) 国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター感染・免疫研究部
流動研究員

松岡 和弘

(独) 国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター感染・免疫研究部
流動研究員

研究要旨

抗HIV薬剤耐性獲得機序を理解するために (a) RT阻害剤耐性を簡便・迅速に評価できる新規 *in vitro* アッセイ系の構築を無細胞反応系の構築に成功した。(b) HIV-2薬剤耐性を理解するために ABC+3TC+LPV/r治療に失敗して薬剤耐性を獲得したHIV-2 CRF01_AB症例をクローン化し、主要な19種類の抗HIV薬に対する薬剤感受性を評価し薬剤耐性の責任変異を明らかにした。さらに (c) IN遺伝子の多様性の解析とそのウイルス抑制効果に対する効果の評価を行い、IN活性中心近傍の変異がウイルスの増殖能力に影響する事を明らかにした。

A. 研究目的

抗HIV薬剤耐性は近年の優れた薬剤の登場により以前ほどは問題にならなくなっているが、それでも治療に難渋するレベルの薬剤耐性症例が治療を受けている患者の2%程度いるとされる。また、薬剤耐性HIVによる新たな感染が新規にHIV/AIDSと診断される症例の10%を占めており、初回治療を導入する際の薬剤耐性検査の重要性が増している。本邦でHIV/AIDS症例が初めて確認されてからおよそ30年、抗HIV療法が導入されてからおよそ20年が経ち、宿主免疫によるある種の淘汰そして抗HIV薬による選択等の影響を受けて感受性株あるいは野性株とされるウイルスは変貌しつつある。それに伴い、かつては薬剤耐性変異とは認識されていなかったもの、反対に薬剤耐性変異とされていたものが再評価されつつある。このことから、薬剤耐性の理解を更新するためには遺伝子型と感受性の比較検討および基礎的研究を続ける事が必要である。本研究では臨床検査としての感受性検査を目指して、細胞培養ではなく、酵素学的技術を応用した新しい逆転写酵素阻害剤の薬剤耐性検査技術の実用化を目標とする。

さらに、2008年に登場したインテグラーゼ (IN) 阻害剤ラルテグラビル (RAL) の薬剤耐性獲得機序の解明と近年日本でも散見されるようになっているHIV-2の薬剤耐性についても解析を行った。

B. 研究方法

a. 逆転写酵素阻害剤耐性を簡便・迅速に評価できる新規 *in vitro* アッセイ系の構築

開発を進めている逆転写酵素 (RT) のDNAポリメラーゼ活性の新規検出系 Cell-free Phenotypic Assay (CFPA) の原理を図1に示す。薬剤耐性RTの場合、RT活性が阻害されないためDIG標識プライマーに結合した acceptor beadsと取り込まれた biotin 標識の dUTPに結合した donor beadsとの間でエナジートランスファーによって発光シグナルが検出される。一方で、薬剤感受性RTでは、RT阻害剤を添加するとDIG及びビオチン標識されたcDNAを合成できないため、発光シグナルは検出されない。本検出法とHIV感染性分子クローンよりPCR法により転写鑄型を作成し、コムギ無細胞合成したRTを用いて、薬剤耐性評価を行った。

b. HIV-2 薬剤耐性の解析

ABC+3TC+LPV/r治療に失敗して薬剤耐性を獲得したHIV-2 CRF01_AB症例 (図2) よりウイルスを分離し、クローン化した後に主要な19種類の抗HIV薬に対する薬剤感受性をR5-MaRBLE細胞を利用した *in house* 感受性検査法で評価した。HIV-1 実験株NL4-3の薬剤感受性と比較した。25TCID₅₀で感染力

価をそろえてR5-MaRBLE細胞を各ウイルスで感染させ、その後1週間後にルシフェラーゼ活性の測定を行った。

c. IN遺伝子の多様性の解析とそのウイルス抑制効果に対する効果の評価

INの有する遺伝的多様性がその後のRALの治療効果に及ぼす影響について理解するために、IN内に複数の変異を（特に活性中心近傍に）獲得している多剤耐性2症例から増幅したIN配列にRAL耐性変異Y143CとG140S+Q148Hを導入したリコンビナント・ウイルスを作成しそれぞれの増殖性、RAL感受性を評価した。

(倫理面への配慮)

本研究で行われている薬剤耐性検査および解析は名古屋医療センター研究倫理委員会において承認を受けている。

C. 研究結果

a. 逆転写酵素阻害剤耐性を簡便・迅速に評価できる新規*in vitro*アッセイ系の構築

図1に示すRT活性の新規検出系の基礎的な至適反応条件の決定を行った。その後、4種類の感染性分子クローン由来のRTと、3種類のRT阻害剤（AZT, 3TC, EFV）を用いて、各阻害剤濃度におけるRT活

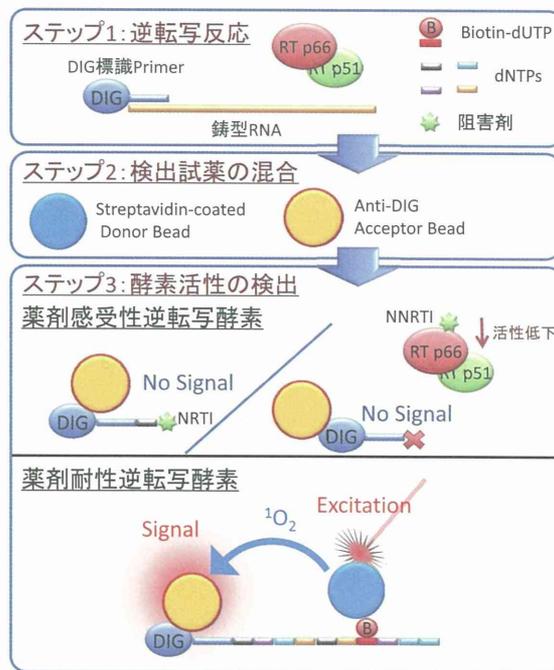
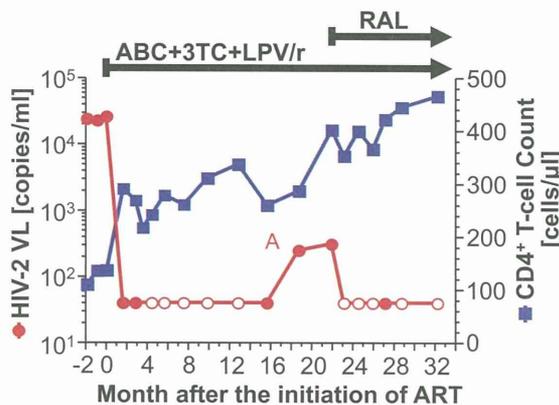


図1：AlphaScreenを用いたRTのDNAポリメラーゼ活性の検出法



Point Aで観察された変異
 PI: R70K
 RT: M184V, D192N, R200K, D345N
 IN: V133I

図2：HIV-2 CRF01_AB症例の臨床経過

性を指標にIC₅₀を導き出すことに成功し（図3）、野生型（NL4-3）と比較して各クローンの薬剤耐性の検討を行った。その結果、12サンプル中10サンプルについて遺伝子型検査法とよく一致することが認められた（表1）。さらに、CFPAはATPを添加することによって、RTのExcision活性の検出にも成功した。

b. HIV-2 薬剤耐性の解析

HIV-2 CRF01_AB株は、3種類の非核酸系逆転写酵素阻害薬（エファビレンツ、エトラビリン、ネビラピン）全てに高度な自然耐性（>339.0倍耐性）を示すと共に、3種類のプロテアーゼ阻害薬（アンブレナビル、アタザナビル、ダルナビル）に対しても97.8、13.9、7.7倍という自然耐性を示した（表2）。同時に、HIV-2 CRF01_AB株に対してもHIV-1 実験株NL4-3とほぼ同等の効果を示す有効な薬剤を同定することができた。

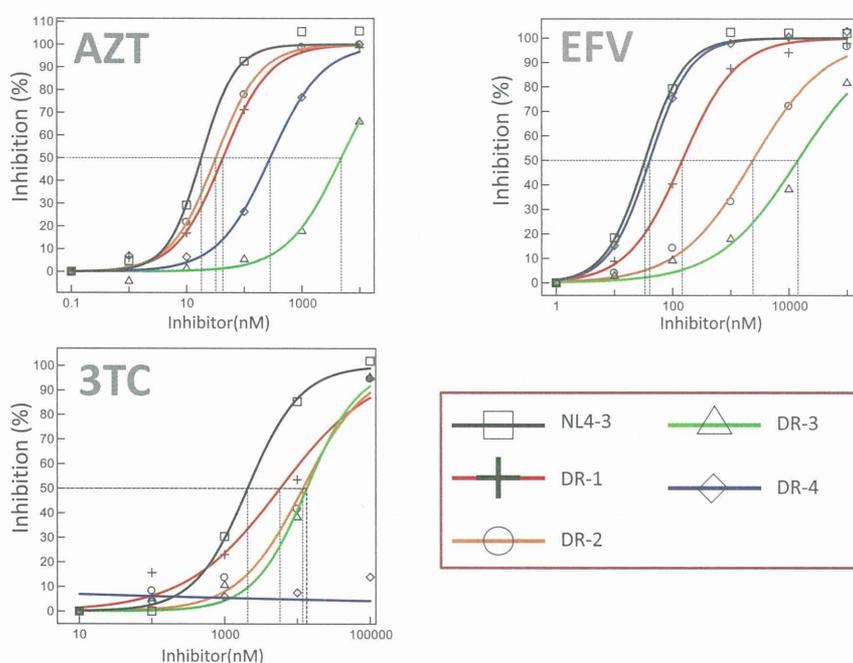


図3：AlphaScreen法を用いたHIV RTの薬剤耐性の評価結果

表1：CFAPによる感受性検査の結果

	AZT			3TC			EFV		
	CFPA		Stanford	CFPA		Stanford	CFPA		Stanford
	IC ₅₀	FR		IC ₅₀	FR		IC ₅₀	FR	
NL4-3	18.1	-	S	2077.7	-	S	33.4	-	S
DR-1	42.5	2.4	High	5773.9	2.8	P-Low	146.4	4.4	S
DR-2	32.0	1.8	High	11888.6	5.7	Low	2398.2	71.8	High
DR-3	4797.6	265.4	High	13464.0	6.5	High	14313.3	428.3	High
DR-4	280.5	15.5	S	>100000	>50.0	High	40.4	1.2	S