

3) EFdA 耐性変異株の感受性：EFdA 耐性ウイルスは、M184V を介して耐性となる 3TC などとしか交差耐性を示さなかった。また、これまで報告されてきた種々の多剤耐性ウイルスを試験管内で作製したものに対しても大きな耐性を示すことはなかった。Excision を起こすものとしては考えられる変異としてもっとも効果的な変異を導入したウイルス

(TAMs 集積およびに 69 アミノ酸近傍の 2 アミノ酸挿入変異など) であっても複製を抑制することができた。また、N348I を導入したウイルスに対しても感受性変化はなかった (Table 1)。これらのことから EFdA は非常に優れた抗ウイルス活性を持つ化合物であることが明らかとなった。

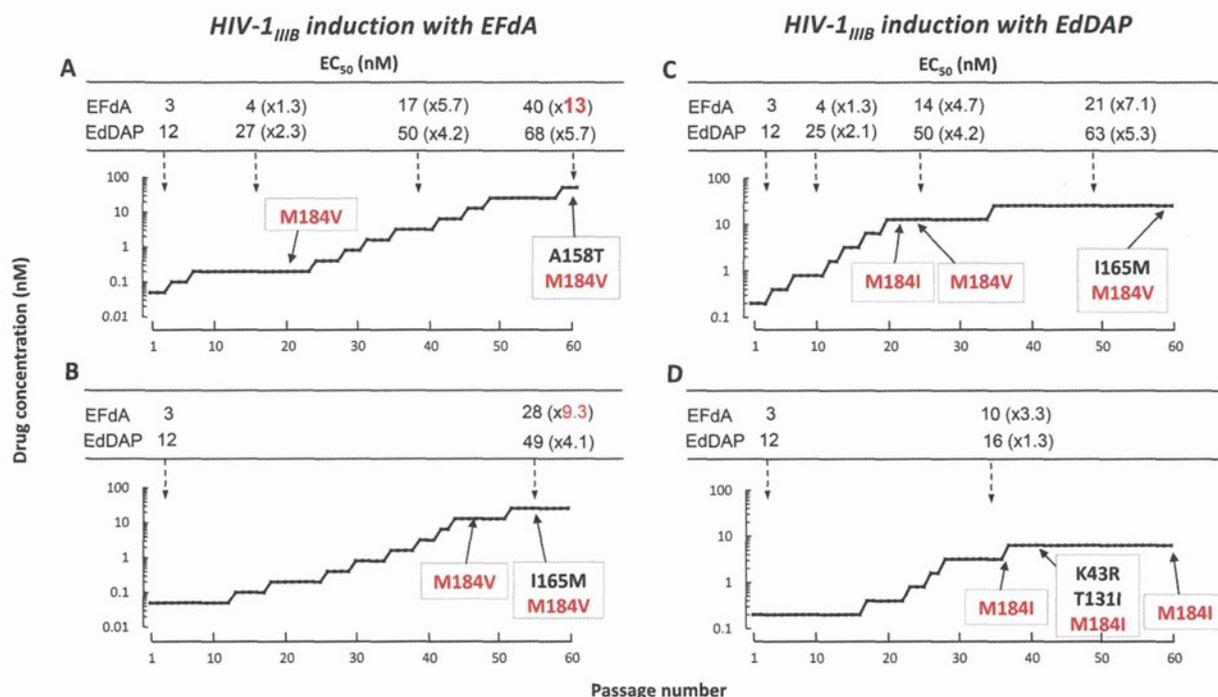


Figure 4 Dose-escalating induction of EFdA- or EdDAP-resistant HIV-1.

HIV-1<sub>III</sub>B was independently passaged in MT-2 cells in the presence of increasing concentration of EFdA (A, B) or EdDAP (C, D). At the indicating passages, proviral DNA from the lysates of infected cells was sequenced. EC<sub>50</sub> values of HIV-1 variants were determined using the MAGI assay and degree of resistance (*n*-fold of the EC<sub>50</sub>) compared to HIV-1<sub>wt</sub> is shown in parentheses.

Table 1 Antiviral activity against multi-drug resistant HIV-1 variants.

	EC <sub>50</sub> (μM) (fold increase) <sup>a</sup>					
	EFdA	EdDAP	AZT	ddl	3TC	TDF
WT <sup>b</sup>	0.004±0.001	0.029±0.002	0.2±0.1	2.9±0.3	0.4±0	0.017±0.004
151 complex <sup>c</sup>	0.0008±0.0002 (0.2)	0.008±0.003 (0.3)	10.7±5.2 (53)	27.9±7.3 (9.6)	1.6±0.6 (4.0)	0.022±0.008 (1.3)
151 complex/M184V	0.012±0.007 (3.0)	0.035±0.010 (1.2)	33.1±10.0 (166)	61.9±13.2 (21)	>100 (>250)	0.023±0.004 (1.4)
TAM <sup>d</sup> /69 ins	0.027±0.008 (6.8)	0.078±0.008 (2.7)	46.2±26.4 (231)	7.0±1.3 (2.4)	3.1±1.6 (7.8)	0.216±0.084 (13)
TAM/69 ins/N348I	0.016±0.014 (4.0)	0.057±0.026 (2.0)	35.7±34.5 (179)	6.7±3.5 (2.3)	4.5±1.3 (11)	0.305±0.030 (18)
TAM/69 ins/M184V	0.063±0.018 (16)	0.064±0.019 (2.2)	3.8±0.5 (19)	5.9±0.9 (2.0)	>100 (>250)	0.068±0.017 (4.0)
TAM/69 ins/M184V/N348I	0.149±0.033 (37)	0.228±0.040 (7.9)	42.1±31.7 (211)	11.3±7.2 (3.9)	>100 (>250)	0.160±0.077 (9.4)
151 complex/M184V/N348I	0.020±0.006 (5.0)	0.043±0.014 (1.5)	53.5±21.2 (268)	64.1±15.0 (22)	>100 (>250)	0.035±0.007 (2.1)

<sup>a</sup> The data shown are mean values standard deviations obtained from the results of at least three independent experiments, and the relative increase in the EC<sub>50</sub> values for recombinant viruses compared with WT is shown in parentheses. Bold indicates an increase in EC<sub>50</sub> value greater than 10-fold relative to the WT.

<sup>b</sup> WT contains K172R in the pol gene.

<sup>c</sup> 151 complex contains a set of mutations A62V/V75I/F77L/F116V/Q151M in the pol gene.

<sup>d</sup> TAM contains M41L/D67N/K70E/V75M/L210W/T215Y in the pol gene.

<sup>e</sup> 69 ins means T69SSG, which is the fingers insertion mutation, a 2-amino acid insertion at codon 69.

## D. 考察

本研究は耐性HIVを克服するための新薬の創製を目的としていることから、昨年度はHIV感染症治療薬の効果判定のために小動物評価系を確立し、我々のグループが創製したHIV侵入阻害剤の*in vivo*検討をした。その結果、*in vitro*で活性を示すものはラット血清中でもT-20同様に効果を示すことを明らかとしている。本年は*in vitro*における評価を中心に行い、耐性変異の獲得に関連するこれまで注目されてこなかった172K/R polymorphismの解析と2012年にMerck社にライセンスされた核酸系逆転写酵素阻害剤EFdAについてその耐性変異と耐性HIVに対する活性を検討した。

172K/Rはサブタイプを越えて広く観察されるpolymorphismであるが、K(Lys)はAAAでコードされ、R(Arg)はAGAでコードされる。R(Arg)のほうが頻度は高く、あえて言うならR(Arg)-AGAがWTと言えるかもしれない。このAGAが例えばapobec3G/3Fによって逆転写中のcDNAのシトシンがdeaminationされるとするとK(Lys)-AAAとなると考えられる。核酸配列の特性からすればVifによる回避ができないapobec3FによってAAAに変換されたと考えられる。複製速度がほとんど変わらないため、特に不都合もなく広く分布したものと思われる。

この172番は逆転写酵素の立体構造からすると $\alpha$ -helix Eに位置し、M184がある $\beta$ -sheet構造と近接しており (Fig. 5)、M184Vの耐性度に何らかの影響を与えると考えられる。しかし3-TCでは完全耐性と

なり、その影響を確認することはできなかった。一方、EFdAで見られたT165M/R変異も同じ $\alpha$ -helix Eの同一面に存在し、182との関連が認められている。これらのことから、関連性のない耐性誘導から新たな逆転写酵素における意義が見出される可能性がある。これらの影響に関しては現在検討中である。

EFdAはこれまで想定される多剤耐性ウイルスに対しても十分な効果を示すことが予想される。Excisionで耐性化する変異としては69近傍での2アミノ酸の挿入変異、TAMの蓄積、N348Iの導入などがあり、これらがお互いに追加されることによりその耐性度を増強する。そのため我々はこれらの耐性変異をすべて併せもつウイルスに対する効果を判定したが、その活性はAZTの野生型に対するものよりも依然低いままであることを確認している。Exclusionに関してもQ151Mを有する耐性ウイルスにM184Vを導入してみたが、その耐性に及ぼす影響は軽微であった。そのため、EFdAは現在蔓延しているほとんどの耐性株に有効であることが予想される。

## E. 結論

耐性HIVを克服するための新薬の創製を目的とし、昨年度は新規抗HIV阻害剤の迅速かつ簡便な小動物評価系を確立させた。本年度は、新しいpolymorphismが耐性獲得に影響を与えること、EFdAの耐性変異の同定と耐性ウイルスへの効果を検討し、効果を維持できることを明らかとした。

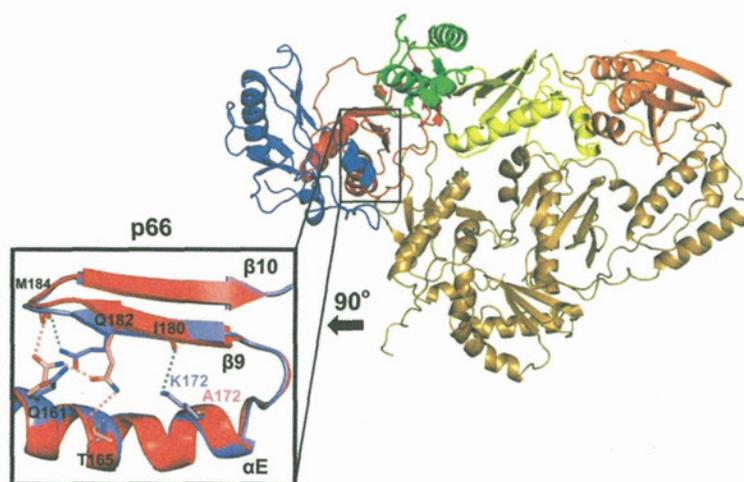


Figure 5 Structure of unliganded HIV-1 RT.

HIV-1 RT with 172 mutated to alanine (PDB code 4DG1) is shown superposed to HIV-1 RT containing a 172K (PDB code 1DLO). Noticeable changes are observed in the hydrogen bond network between residues from  $\alpha$ -helix E (161, 165, and 172) and from  $\beta$ 9-strand (180, 182, and 184). The p66 palm subdomains of RT containing 172K or 172A are shown in *light blue* and *red*, respectively.

## F. 研究発表

## 1. 論文発表

- 1) Tanyaradzwa P. Ndongwe, Adeyemi O. Adedeji, Eleftherios Michailidis, Yee Tsuey Ong, Atsuko Hachiya, Bruno Marchand, Emily M. Ryan, Devendra K. Rai, Karen A. Kirby, Angela S. Whatley, Donald H. Burke, Marc Johnson, Shilei Ding, Yi-Min Zheng, Shan-Lu Liu, Ei-Ichi Kodama, Krista A. Delviks-Frankenberry, Vinay K. Pathak, Hiroaki Mitsuya, Michael A. Parniak, Kamalendra Singh, Stefan G. Sarafianos. Biochemical, inhibition, and inhibitor resistance studies of xenotropic murine leukemia virus-related virus reverse transcriptase. *Nucleic Acids Research* 40:345-359, 2012.
- 2) Ryo Masuda, Shinya Oishi, Noriko Tanahara, Hiroaki Ohno, Akira Hirasawa, Gozoh Tsujimoto, Eiichi Kodama, Masao Matsuoka and Nobutaka Fujii. Development and application of fluorescent SDF-1 derivatives. *Future Medicinal Chemistry* 4:837-844, 2012.
- 3) Xiaoguang Li, Hua Qian, Fusako Miyamoto, Takeshi Naito, Kumi Kawaji, Kazumi Kajiwara, Toshio Hattori, Masao Matsuoka, Kentaro Watanabe, Shinya Oishi, Nobutaka Fujii, Eiichi N. Kodama. A simple, rapid, and sensitive system for the evaluation of anti-viral drugs in rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 424:257-261 2012.
- 4) Atsuko Hachiya, Bruno Marchand, Karen A. Kirby, Eleftherios Michailidis, Xiongying Tu, Krzysztof Palczewski, Yee Tsuey Ong, Daniel T. Griffin, Matthew M. Schuckmann, Junko Tanuma, Shinichi Oka, Kamalendra Singh, Eiichi N. Kodama and Stefan G. Sarafianos. HIV-1 reverse transcriptase (RT) polymorphism 172K, suppresses the effect of clinically relevant drug resistance mutations to both nucleoside and nonnucleoside RT inhibitors. *Journal of Biological Chemistry* 287:29988-29999, 2012.
- 5) Michailidis E, Singh K, Ryan EM, Hachiya A, Ong YT, Kirby KA, Marchand B, Kodama EN, Mitsuya H, Parniak MA, Sarafianos SG. Effect of translocation defective reverse transcriptase inhibitors on the activity of n348i, a connection subdomain drug resistant hiv-1 reverse transcriptase mutant. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 58:187-195, 2012.
- 6) Kazuki Izumi, Kumi Kawaji, Fusako Miyamoto, Kazuki Shimane, Kazuya Shimura, Yasuko Sakagami, Toshio Hattori, Kentaro Watanabe, Shinya Oishi, Nobutaka Fujii, Masao Matsuoka, Mitsuo Kaku, Stefan G. Sarafianos, and Eiichi N. Kodama. Mechanism of Resistance to S138A Substituted Enfuvirtide and its Application to Peptide Design. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 45:908-915, 2013.

- 7) Fusako Miyamoto and Eiichi N. Kodama. Development of small molecule HIV-1 fusion inhibitors: linking Biology to Chemistry. *Current Pharmaceutical Design*, in press 2013.
- 8) 児玉栄一, 宮本綾子. 新しい抗ウイルス剤開発の考え方. *臨床と微生物*. 40:51-55, 2013.

## 2. 学会発表

- 1) Masahiro Watanabe, Koichi Hashimoto, Yusaku Abe, Eiichi Kodama, Ryota Nabika, Shinya Oishi, Nobutaka Fujii, Mitsuaki Hosoya A novel peptide derived from measles virus fusion protein inhibits the replication of subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) virus *in vitro* and *in vivo*. 25th International Conference on Antiviral Research. Sapporo, Japan, April 16 - 19, 2012
- 2) Atsuko Hachiya, Bruno Marchand, Eleftherios Michailidis, Eiichi N. Kodama, Michael A Parniak, Hiroaki Mitsuya, Shinichi Oka, Stefan G Sarafianos. The Combination of 4'-Ethynyl-2-Fluoro-2'-Deoxyadenosine with Rilpivirine Shows Synergistic Anti-HIV-1 Activity *In Vitro*. 25th International Conference on Antiviral Research. Sapporo, Japan, April 16 - 19, 2012
- 3) Eleftherios Michailidis, Jordan Wilkins, Emily M. Ryan, Atsuko Hachiya, Eiichi N. Kodama, Hiroaki Mitsuya, Michael A. Parniak, Stefan G. Sarafianos. Effect of 4'- and 2'-NRTI Substitutions on the Inhibition Mechanism of HIV Reverse Transcriptase and Toxicity. 25th International Conference on Antiviral Research. Sapporo, Japan, April 16 - 19, 2012
- 4) Fusako Miyamoto, Kumi Kawaji, Toshio Hattori, Hiroaki Mitsuya, Stefan G. Sarafianos, Eiichi N. Kodama. Sustained Activity of 4'-Ethynyl Nucleosides to Variants with M184V Mutation in HIV-1 Reverse Transcriptase. 25th International Conference on Antiviral Research. Sapporo, Japan, April 16 - 19, 2012
- 5) Hiroaki Mitsuya, Eiichi Kodama, Hiroto Nakata, Shinichiro Hattori, Seiji Okada, Kenji Maeda, Michael A. Parniak, and Stefan G. Sarafianos. 4'-Ethynyl-2-fluoro-2'-deoxyadenosine (EFdA), a translocation defective reverse transcriptase inhibitor with highly potent activity against diverse multi-drug-resistant HIV-1 variants. 13th Kmamoto AIDS Seminar-GCOE Joint International Symposium, Kumamoto, Japan, Oct 24-26, 2012
- 6) Atsuko Hachiya, Bruno Marchand, Eleftherios Michailidis, Yee Tsuey Ong, Karen A. Kirby, Maxwell D. Leslie, Shinichi Oka, Eiichi N. Kodama, Michael A. Parniak, Hiroaki Mitsuya, and Stefan G. Sarafianos. Combinations of 4'-ethynyl-2-fluoro-2'-deoxyadenosine with rilpivirine show synergistic anti-HIV activity *in vitro*. 13th Kmamoto AIDS

Seminar-GCOE Joint International Symposium,  
Kumamoto, Japan, Oct 24-26, 2012

- 7) 服部俊夫、鈴木定彦、山岡昇司、井戸栄治、一瀬休生、仲宗根正、久保 亨、白澤基紀、垣本和弘、福本学、児玉栄一。サハラ以南アフリカにおけるエイズ・結核研究ネットワーク構築の試み。第27回日本国際保健医療学会学術大会。岡山、Nov3-4, 2012.
- 8) 宮本総子、満屋裕明、児玉栄一。EFdAおよびEdDAPに対する耐性変異が耐性度と複製能力に及ぼす影響。第26回日本エイズ学会学術集会。横浜、Nov3-4, 2012.

#### G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし





## 薬剤耐性症例に対する治療の研究

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 感染症内科医長

研究協力者

大出 裕高

(財) エイズ予防財団リサーチレジデント

鬼頭 優美子

(独) 国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター

### 研究要旨

薬剤耐性症例の治療等に使用頻度の増加が予想されるシーエルセントリ (maraviroc: MVC) の適正利用のため、指向性遺伝子型検査法 (Geno2Pheno法) と指向性表現型検査法による指向性検査の有用性の検討を行った。FPR10%未満の4検体から60クローンを分離し指向性を検討したところ、指向性を評価可能な50クローン中、4検体由来36クローン (72%) がR5、2検体由来14クローン (28%) がR5/X4と判定された。薬剤耐性症例に対する salvage療法に MVCを用いる場合、FPR低値であっても有効性が期待できる場合もあるが、X4指向性の minor cloneの存在などに十分留意して治療レジメンを構築する必要がある。

### A. 研究目的

CCR5阻害薬である MVCは、MERIT studyにおいて CCR5指向性 HIV-1感染者で EFVと抗ウイルス効果を比較検討した場合非劣性であることが示されており key drugとして使用可能な薬剤に位置づけられている。副作用が少ないことも知られており、薬剤耐性症例の salvage療法における key drugとしてのみならず NRTI sparing regimenでも使用される可能性がある。

MVCを使用する場合、感染者の HIVが R5指向性であることを確認する必要がある。現在、指向性の確認方法としては、表現型検査として Monogram Biosciences社の Profile®、遺伝子型検査としては Geno2Pheno (G2P) がある。日本ではコスト、簡便性の問題から主に遺伝子型検査である G2Pが用いられている。G2Pでは、false positive rate (FPR) を指標にして指向性を推定するが、cut offは明確には定まっておらず、non-subtype B HIV-1での実用性を含め、その妥当性についてはまだ知見の蓄積が必要である。

これまで、クローンレベルで簡便に指向性表現型検査を実施するためことを目的に、Gateway cloning systemを用いて臨床検体由来 env領域をもつ recombinant HIV-1作製系および NP-2 cell lineを用いた指向

性表現型検査法を確立した。さらに、G2Pで高い 95%以上の FPRを示す、すなわち高い確立で R5指向性と考えられる患者検体において Trofile®と同時に表現型を検討したところ、同等に R5と判定し得ることを確認した。

今後、予後の改善に伴って、薬剤耐性症例や副作用で他剤の使用が困難にもかかわらず G2Pで低い FPR値が示され MVCの使用を躊躇する例が増えることが予想される。そこで、今年度の研究では、MVCの使用に高度な判断を有することになる G2Pで FPRが 10%未満を示した患者の検体を用いて表現型検査を行い、MVCの適応について考察することとした。

### B. 研究方法

#### 1. 指向性遺伝子型検査 (G2P)

患者血漿中から抽出した HIV genome RNAおよび PBMCから抽出した proviral DNAを鋳型として、env領域を PCR法で増幅し sequence解析を行った後、V3領域の塩基配列から G2Pを用いて指向性を決定した。また、env全長の sequenceをもとに MEGAを用いて系統樹解析を行った。

## 2. X4指向性と判定された患者の臨床情報

Geno2Pheno法でFPR 10%未満を示しX4指向性と判定された5名の患者の臨床情報を表1に示す。

## 3. 指向性表現型検査

5名の患者検体由来 *env* 領域を pFG02 Rluc に cloning し recombinant HIV-1 を作製した。これを、CD4、CD4+CXCR4、CD4+CCR5 を発現している NP-2 細胞に感染させ、36時間後に *Renilla luciferase* (Rluc) 活性を測定し、感染の有無を評価した。感染の有無は、CD4のみを発現している NP-2 の Rluc 活性値に対する CD4+CXCR4 または CD4+CCR5 の Rluc 活性値の比を求め、10以上を有意とした。検査は duplicate で3回実施し、平均値をデータとして使用した。また、CXCR4指向性 HIV-1 として HXB2、CCR5指向性 HIV-1 として JRCSF の *env* 領域を組み込んだ recombinant virus を用いた。

### (倫理面への配慮)

検体はインフォームドコンセントを得て採取した。また、検体は連結匿名化し、個人が特定されないように配慮した。

## C. 研究結果

### 1. 指向性遺伝子型検査でX4と判定された患者

V3領域の direct sequence による塩基配列情報をもとにした薬剤耐性遺伝子型検査でX4と判定された5名について表現型による指向性検査を行うこととした。表1に検体採取時の状況を示す。全例同性間性交渉により HIV-1 に感染した男性であった。急性感染で食道カンジダ症を発症した例 (NMC339) を除く4例が無症候キャリアであり、CD4数は、516/μl

(NMC434)、392/μl (NMC471) と高い例も存在した。罹病期間は特定できない場合が多かったが1例 (NMC339) は明らかに急性感染であった。

### 2. クローニングと指向性遺伝子型検査の結果

direct sequence により X4 と判定された患者由来の血漿から抽出した RNA および PBMC から抽出した DNA を鋳型に *env* 領域を増幅しクローニングを行った。得られた60クローンの塩基配列を解析したところ、premature stop codon があつたものは1クローンのみであった。解析したクローンの *env* 全長を用いた系統樹解析の結果を図1-a、V3領域の塩基配列から G2P により指向性遺伝子型検査を行った結果を図1-bに示す。各クローン名の G もしくは g は proviral DNA 由来を意味する。分離したクローンの FPR は 0.1 から 4.8 を示し、direct sequence の結果に基づく FPR とほぼ一致していた。

### 3. 指向性表現型検査の結果

NP-2 CD4 の Rluc 活性を測定し、NP-2 CD4CXCR4、NP-2 CD4CCR5 の Rluc 活性が NP-2 CD4 の Rluc 活性の10倍以上を示す場合、それぞれ R5 指向性、X4 指向性と判定した結果を図1-bに示す。N.A. は評価可能な感染性ありと判断し得る Rluc 値を示さなかったために指向性を評価できなかったことを示す。59クローンを NP-2 cell line に感染させたところ、50クローンで感染性を認めた。検体別では、NMC339、NMC434 が R5、その他3症例は R5/X4 と判定された。また、クローン別では指向性が判定し得た50クローン中、4検体由来36クローン (72%) が R5、2検体由来14クローン (28%) が R5/X4 と判定された。

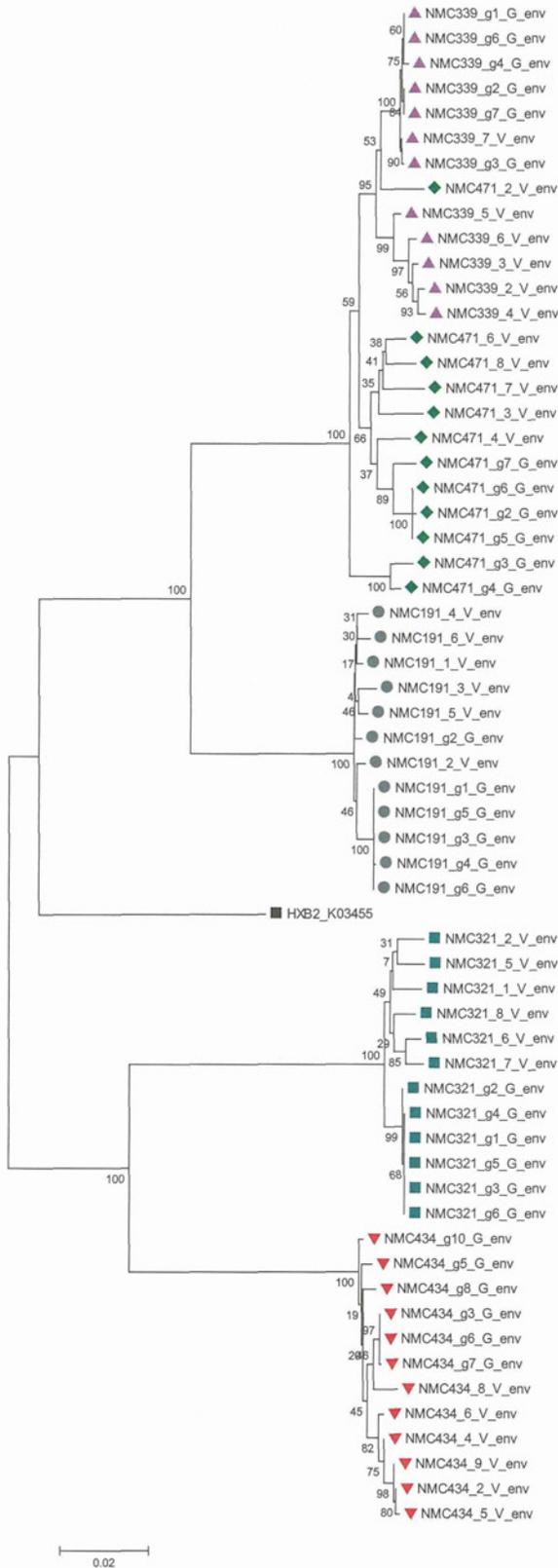
表1 Geno2PhenoでX4と判定された症例の検討

検体 ID	年齢	性別	性指向	病期	nadir CD4 <sup>#1</sup>	peak viral load <sup>#2</sup>	罹病期間
NMC191	54	男性	homo	AC	75	1.05×10 <sup>5</sup>	不詳
NMC321	29	男性	bi	AC	179	1.11×10 <sup>4</sup>	6年未満
NMC339	20	男性	homo	AIDS (acute)*	28	1×10 <sup>7</sup> 以上	3ヶ月以内
NMC434	32	男性	homo	AC	516	1.2×10 <sup>5</sup>	不詳
NMC 471	22	男性	homo	AC	392	1.15×10 <sup>5</sup>	3年

Subtype B で G2P にて FPR 10% 未満で X4 と判定された 5 検体を実験に用いた。罹病期間は検査陰性履歴をもとに推定した。それぞれの検体の HIV-1 genome RNA、proviral DNA それぞれから 6 クローンの組み替え HIV-1 を作成し指向性を検討した。

Homo: homosexual, bi: bisexual, \* 食道カンジダ症, <sup>#1</sup> / μl, <sup>#2</sup> copies / ml

【a】 env 全長塩基配列を基にした系統樹解析



【b】 Geno2Phenoと表現型検査の比較

Clone ID.	Geno2Pheno		Phenotypic assay
	FPR	判定結果	
HXB2(K03455)	0	X4	X4
NMC339_g1	1.7	X4	R5
NMC339_g6	1.7	X4	R5
NMC339_g4	1.7	X4	N.A.
NMC339_g2	1.7	X4	R5
NMC339_g7	1.7	X4	R5
NMC339_7	1.7	X4	R5
NMC339_g3	1.7	X4	R5
NMC471_2	1.7	X4	R5
NMC339_5	1.7	X4	N.A.
NMC339_6	1.7	X4	R5
NMC339_3	1.7	X4	R5
NMC339_2	1.7	X4	R5
NMC339_4	1.7	X4	R5
NMC471_6	1.7	X4	R5
NMC471_8	1.7	X4	R5
NMC471_7	1.7	X4	N.A.
NMC471_3	2.6	X4	N.A.
NMC471_4	1.7	X4	R5
NMC471_g7	1.7	X4	R5
NMC471_g6	1.7	X4	R5
NMC471_g2	1.7	X4	N.A.
NMC471_g5	1.7	X4	R5
NMC471_g3	0.1	X4	R5/X4
NMC471_g4	0.1	X4	N.A.
NMC191_4	1.7	X4	N.A.
NMC191_6	1.7	X4	R5/X4
NMC191_1	1.7	X4	R5/X4
NMC191_3	1.8	X4	N.A.
NMC191_5	1.8	X4	R5/X4
NMC191_g2	1.8	X4	R5/X4
NMC191_2	1.7	X4	R5/X4
NMC191_g1	1.7	X4	R5/X4
NMC191_g5	1.7	X4	R5/X4
NMC191_g3	1.7	X4	R5/X4
NMC191_g4	1.7	X4	R5/X4
NMC191_g6	1.7	X4	R5/X4
HXB2(K03455)	0	X4	X4
NMC321_2	4.2	X4	R5/X4
NMC321_5	4.8	X4	R5
NMC321_1	4.8	X4	R5/X4
NMC321_8	4.8	X4	R5
NMC321_6	4.8	X4	R5
NMC321_7	4.8	X4	R5
NMC321_g2	4.2	X4	R5
NMC321_g4	4.2	X4	R5
NMC321_g1	4.2	X4	R5
NMC321_g5	4.2	X4	R5
NMC321_g3	4.2	X4	R5
NMC321_g6	4.2	X4	R5/X4
NMC434_g10	4.6	X4	R5
NMC434_g5	4.6	X4	R5
NMC434_g8	4.6	X4	R5
NMC434_g3	4.6	X4	N.A.
NMC434_g6	4.6	X4	R5
NMC434_g7	4.6	X4	R5
NMC434_8	2.9	X4	N.A.
NMC434_6	4.6	X4	R5
NMC434_4	4.6	X4	R5
NMC434_9	4.6	X4	R5
NMC434_2	4.6	X4	R5
NMC434_5	4.6	X4	R5

図 1

## D. 考察

Gateway cloning systemを用いたenv領域のクローニングおよびrecombinant HIV-1作製システムおよびNP-2 cell lineを用いた指向性表現型検査は、比較的短時間かつ簡便に指向性判定を可能にすることが明らかになった。今回、G2PでX4と判定された5検体から分離した60クローン中、env中にstop codonのない症例が59クローン得られた。50クローンで十分な感染性が認められ、指向性は36クローンがR5、14クローンがX4/R5と判定された。今回検討した中にはX4指向性のクローンはなかった。

指向性表現型検査において、R5もしくはX4指向性と判断するthresholdの設定は重要である。N. A.と判定したクローンには、感染性が低く、基準に達していないものが多く含まれる。今回はCD4のみを発現するNP-2 cellの10倍以上のRluc活性を示す場合に感染性ありと判定したが、thresholdを設定するよりもR5阻害剤、X4阻害剤存在下で感染性が阻害されるかどうかを検討した方がR5、X4指向性をより正確に判定できるかもしれない。

臨床現場ではG2Pによる指向性遺伝子型検査の結果をもとにMVCの適応を考慮することがほとんどである。今回の5検体由来60クローンの検討の結果は、G2PでFPR低値の場合はMVCの使用は慎重に検討する必要があることを示す。逆に、FPR低値の場合もMVCの有効性を期待できる場合があることも示された。また、症例によってはR5/X4を示すクローンがminor populationとして存在する可能性も示された。

今回の検討では各検体でHIV-1 genome RNAおよびproviral DNAからそれぞれ6クローン程度を分離して詳細な検討を行った。各検体のminor cloneの評価のためには何クローンの検討が望ましいか等さらに検討をする必要がある。また、今後、より確実かつ正確にMVCの適応を判定するためには、minor cloneを検出し、病態との関係を詳細に検討する必要があると考えられる。

## E. 結論

HIV-1の指向性表現型検査を確立した。FPR10%未満の4検体から60クローンを分離し指向性を検討したところ、指向性を評価可能な50クローン中、4検体由来36クローン(72%)がR5、2検体由来14クローン(28%)がR5/X4と判定された。薬剤耐性症例にMVCを用いる場合、FPR低値であっても有効性が期待できる場合もあるが、X4指向性のminor cloneの存在などに十分留意して治療レジメンを構

築する必要がある。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Tsuzuki T, Iwase H, Shimada M, Hirashima N, Hibino Y, Ryuge N, Saito M, Tamaki D, Kamiya A, Yokoi M, Yokomaku Y, Fujisaki S, Sugiura W, Goto H. Clinical evaluation of peginterferon alpha plus ribavirin for patients co-infected with HIV and HCV at Nagoya Medical Center. *Nihon Shokakibyō Gakkai zasshi = The Japanese journal of gastroenterology*. 109(7):1186-1196. 2012.
- 2) Miyamoto T, Nakayama EE, Yokoyama M, Ibe S, Takehara S, Kono K, Yokomaku Y, Pizzato M, Luban J, Sugiura W, Sato H, Shioda T. The Carboxyl-Terminus of Human Immunodeficiency Virus Type 2 Circulating Recombinant form 01\_AB Capsid Protein Affects Sensitivity to Human TRIM5α. *PLoS one*. 7(10):e47757. 2012.
- 3) Kitamura S, Ode H, Nakashima M, Imahashi M, Naganawa Y, Kurosawa T, Yokomaku Y, Yamane T, Watanabe N, Suzuki A, Sugiura W, Iwatani Y. The APOBEC3C crystal structure and the interface for HIV-1 Vif binding. *Nature structural & molecular biology*. 19(10):1005-1010. 2012.
- 4) Hirano A, Ikemura K, Takahashi M, Shibata M, Amioka K, Nomura T, Yokomaku Y, Sugiura W. Short communication: lack of correlation between UGT1A1\*6, \*28 genotypes, and plasma raltegravir concentrations in Japanese HIV type 1-infected patients. *AIDS research and human retroviruses*. 28(8):776-779. 2012.
- 5) 都築智之、岩瀬弘明、島田昌明、平嶋昇、日比野祐介、龍華庸光、齋藤雅之、玉置大、神谷麻子、横井美咲、横幕能行、藤崎誠一郎、杉浦互、後藤秀実。当院におけるhiv、Hcv重複感染症例に対するペグインターフェロン、リバビリン併用療法の治療成績。日本消化器病学会雑誌。109(7):1186-1196. 2012.

### 2. 学会発表

- 1) J. Hattori, U. Shigemi, M. Hosaka, R. Okazaki, Y. Iwatani Y, Yokomaku, W. Sugiura. Socio-demographic analysis of treatment-naïve HIV-1-POSITIVE POPULATIONS WITH RECENT OR LONG-TERM INFECTION ESTIMATED BY BED assay in Japan. XIX International AIDS Conference, Seattle, Washington, USA, Jul 22-27, 2012.
- 2) K Suzuki, H Ode, M Fujino, T Masaoka J, Hattori, Y Yokomaku, Y Iwatani, A Suzuki, N Watanabe, W Sugiura. Molecular and Structural analysis of darunavirresistant HIV-1 protease. International Workshop on HIV&Hepatitis Virus Drug Resistance

- and Curative Strategies, Sitges, Spain, Jun 5-9, 2012.
- 3) S. Kitamura, H. Ode, M. Nakashima, M. Imahashi, Y. Naganawa, Y. Yokomaku, A. Suzuki, N. Watanabe, W. Sugiura aYI. The APOBEC3C Crystal Structure and the Interface for HIV-1 Vif Interaction. Cold Spring Harbor Laboratory Meetings - Retroviruses, New York, USA, May 21-26, 2012.
  - 4) 松岡和弘、田邊史子、重見麗、服部純子、正岡崇志、森下了、澤崎達也、横幕能行、岩谷靖雅、杉浦 互. コムギ無細胞蛋白質合成系を利用したHIV-1逆転写酵素の*in vitro*薬剤感受性解析法の開発. 第26回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2012年11月24-26日.
  - 5) 大出裕高、鈴木康二、藤野真之、前島雅美、木村雄貴、正岡崇志、服部純子、横幕能行、鈴木淳巨、渡邊信久、岩谷靖雅、杉浦 互. 耐性誘導により得た高度ダルナビル耐性HIV-1プロテアーゼの構造学的解析. 第26回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2012年11月24-26日.
  - 6) 今橋真弓、泉泰輔、今村淳治、松岡和弘、金子典代、市川誠一、高折晃史、内海 眞、横幕能行、直江知樹、杉浦 互、岩谷靖雅. HIV-1感染伝播・病勢に対するAPOBEC3B遺伝子型の影響に関する解析. 第26回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2012年11月24-26日.
  - 7) 松田昌和、服部純子、今村淳治、横幕能行、岩谷靖雅、杉浦 互. Plasma RNAとProviral DNAによるHIV指向性遺伝子型の比較解析. 第26回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2012年11月24-26日.
  - 8) 鬼頭優美子、松田昌和、服部純子、伊部史朗、大出裕高、松岡和弘、今村淳治、岩谷靖雅、杉浦 互、横幕能行. 臨床検体由来*env*全長組み換えHIV-1による指向性検査法の確立. 第26回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2012年11月24-26日.
  - 9) 服部純子、湯永博之、渡邊 大、長島真美、貞升健志、近藤真規子、南留美、吉田繁、森治代、内田和江、椎野禎一郎、加藤真吾、千葉仁志、佐藤典宏、伊藤俊広、佐藤武幸、上田敦久、石ヶ坪良明、古賀一郎、太田康男、山元泰之、福武勝幸、古賀道子、岩本愛吉、西澤雅子、岡慎一、伊部史朗、松田昌和、林田庸総、横幕能行、上田幹夫、大家正義、田邊嘉也、白阪琢磨、小島洋子、藤井輝久、高田昇、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26回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2012年11月24-26日.
  - 10) 伊部史朗、横幕能行、前島雅美、松岡和弘、正岡崇志、岩谷靖雅、杉浦 互. 薬剤感受性プロファイリングに裏づけされた新規HIV-2組換え流行株CRF01\_AB感染例の良好な治療経過. 第26回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2012年11月24-26日.
  - 11) 羽柴知恵子、福山由美、伊藤明日美、長谷川真奈美、渡邊智子、藤谷和美、小川恵子、杉浦 互、横幕能行. HIV陽性者への外来トリアージの必要性に向けて. 第66回国立病院総合医学会、神戸、2012年11月16-17日.
  - 12) 永見芳子、塚本弥生、杉本香織、杉浦 互、福山由美、横幕能行. 長期に療養が必要となったHIV感染症患者への支援体制の現状と課題. 第66回国立病院総合医学会、神戸、2012年11月16-17日.
  - 13) 丸山笑里佳、羽柴知恵子、福山由美、杉浦 互、横幕能行. 違法薬物使用歴を持つHIV陽性者に対する内科外来での心理的支援の検討. 第66回国立病院総合医学会、神戸、2012年11月16-17日.
  - 14) 榊原美穂、福山由美、羽柴知恵子、長谷川真奈美、伊藤明日美、渡邊智子、藤谷和美、小川恵子、杉浦 互、横幕能行. 外来看護師によるHIV陽性者受診継続のための看護介入判断基準の標準化に向けて. 第66回国立病院総合医学会、神戸、2012年11月16-17日.
  - 15) 渡邊英恵、福山由美、羽柴知恵子、伊藤明日美、長谷川真奈美、渡邊智子、藤谷和美、小川恵子、杉浦 互、横幕能行. HIV陽性女性が安心して将来の妊娠について考えられる外来看護支援に向けて. 第66回国立病院総合医学会、神戸、2012年11月16-17日.
  - 16) 福山由美、大林由美子、杉浦 互、横幕能行. 医療機関からみる愛知県内HIV陽性判明の動向～いきなりエイズ減少に向けて～. 第66回国立病院総合医学会、神戸、2012年11月16-17日.
  - 17) 北村紳悟、大出裕高、中島雅晶、今橋真弓、長縄由里子、黒沢哲平、横幕能行、山根 隆、渡邊信久、鈴木淳巨、杉浦 互、岩谷靖雅. APOBEC3Cの構造解析とHIV-1 Vif結合インターフェイスの同定. 第60回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2012年11月13-15日.
  - 18) 大出裕高、鈴木康二、藤野真之、前島雅美、木村雄貴、正岡崇志、服部純子、横幕能行、鈴木淳巨、渡邊信久、岩谷靖雅、杉浦 互. 高度ダルナビル耐性HIV-1の分子機序の解明. 第60回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2012年11月13-15日.
  - 19) 中島雅晶、北村紳悟、大出裕高、今橋真弓、長縄由里子、黒沢哲平、横幕能行、山根 隆、渡邊信久、鈴木淳巨、杉浦 互、岩谷靖雅. APOBEC3間におけるHIV-1 Vif結合インターフェイスの違い. 第60回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2012年11月13-15日.
  - 20) 岩谷靖雅、前島雅美、北村紳悟、大出裕高、中島雅晶、今橋真弓、長縄由里子、黒沢哲平、伊部史朗、横幕能行、杉浦 互. APOBEC3Gの酵素活性非依存的な抗HIV-1作用メカニズム. 第60回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2012年11月13-15日.

- 21) 北村紳悟、大出裕高、中島雅晶、今橋真弓、長縄由里子、横幕能行、鈴木淳巨、渡邊信久、杉浦 互、岩谷靖雅. APOBEC3Cの結晶構造解析とHIV-1 Vif結合インターフェイスの同定. 第12回日本蛋白質科学会年会、名古屋、2012年6月20-22日.
- 22) 伊部史朗、横幕能行、前島雅美、松岡和弘、正岡 宗、岩谷靖雅、杉浦 互. 新規HIV-2組換え流行株CRF01\_AB感染例の治療経過と薬剤感受性ポロファイリング. 第14回白馬シンポジウム in 京都、京都、2012年6月7-8日.
- 23) 松田昌和、服部純子、今村淳治、横幕能行、杉浦 互. 遺伝子配列解析によるHIV-1指向性の判定とその動向. 第86回日本感染症学会総会、長崎、2012年4月25-26日.
- 24) 今村淳治、横幕能行、服部純子、伊部史朗、天羽清子、塩見正司、杉浦 互. Enofovir + Darunavir/r + Etravirineによるサルベージ療法が著効した多剤耐性HIV感染児の一例. 第86回日本感染症学会総会、長崎、2012年4月25-26日.
- 25) 今村淳治、横幕能行、片野晴隆、安岡 彰、杉浦 互. 名古屋医療センターにおけるカポジ肉腫発症エイズ患者数の動向. 第86回日本感染症学会総会、長崎、2012年4月25-26日.
- 26) 伊部史朗、近藤真規子、今村淳治、横幕能行、杉浦 互. HIV-1/HIV-2 重複感染疑い例における血清学および遺伝子学的精査解析. 第86回日本感染症学会総会、長崎、2012年4月25-26日.

#### G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 抗HIV薬の心血管系への影響の解析

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

### 研究要旨

HIV患者とnon-HIV患者の冠動脈疾患につき、当院にて待機的初回冠動脈造影検査（CAG）を施行された151例（HIV患者：9例 non-HIV患者：142例）を対象として後ろ向きに比較検討を行った。今回の検討では、HIV感染患者はnon-HIV感染患者に比べ冠動脈疾患を有する年齢が低く、冠動脈疾患の有病率が有意に高かった。多変量解析の結果、classicalなrisk factorよりも、HIV感染が冠動脈疾患において、より強い予測因子を示した。

### A. 研究目的

HIV感染者はHIV感染そのものや抗HIV薬の副作用等により動脈硬化や虚血性心疾患の発症割合が高いとされる。当院でのHIV患者とnon-HIV患者の冠動脈疾患につき、比較検討を行った。

### B. 研究方法

2010年4月1日から2012年3月31日まで当院にて待機的初回冠動脈造影検査（CAG）を施行された151例（HIV患者：9例 non-HIV患者：142例）とし、急性冠症候群は除外した。CAGの結果、心血管危険因子等のデータは診療録より後ろ向きにデータを抽出した。なおCAGで75%以上の狭窄を冠動脈疾患と定義した。

#### (倫理面への配慮)

本研究は後ろ向き研究である。データを抽出する際には個人を特定できないように実施した。

### C. 研究結果

患者背景を表1に示す。HIV群の冠動脈疾患有病率は88.9%でnon-HIV群（48.6%）と比較し、 $p=0.019$ と有意な差を認めた。また冠動脈疾患を有する患者の平均年齢はHIV群60.37歳、non-HIV群70.36歳（ $P=0.03$ ）とHIV群の方が若年であった。心

疾患イベントのリスクとなる項目について多変量解析を行ったところ、年齢/性別/糖尿病/脂質代謝異常症/HIVが冠動脈病変のリスクとなる結果となった。中でも、HIV感染のOdds ratioは14.8倍と高く、他の年齢・性別・糖尿病・脂質代謝異常症の因子と比較しても高い結果であった（表2）。

### D. 考察

HIV群とnon-HIV群の冠動脈疾患有病率については、HIV群では冠動脈CTや運動負荷心筋シンチなどの非観血的検査にてCAGを施行する患者を絞るなど観血的検査であるCAGを施行する患者の選択に違いがあると考えられた。本検討は単施設で少数での検討であるため今後もさらなる検討が必要である。

### E. 結論

今回の検討では、HIV感染患者はnon-HIV感染患者に比べ冠動脈疾患を有する年齢が低く、冠動脈疾患の有病率が有意に高かった。多変量解析の結果、classicalなrisk factorよりも、HIV感染が冠動脈疾患において、より強い予測因子を示した。

表1 患者背景

Variable	HIV (n=9)	non-HIV (n=142)	p-value
Age (year)	58±13	68±12	0.02
Male (%)	100	70.4	0.06
Diabetes mellitus (%)	44.4	39.4	0.77
Hypertension (%)	66.7	66.9	0.99
Dislipidemia (%)	22.2	40.1	0.29
Total cholesterol (mg/dl)	193±23	191±37	0.88
High density low cholesterol (mg/dl)	50±13	53±16	0.67
Low density low cholesterol (mg/dl)	111±19	111±33	0.98
Triglyceride (mg/dl)	167±84	134±64	0.14
HbA1c (%)	5.9±1.3	6.0±1.3	0.80
Glucose (mg/dl)	135±60	126±47	0.59
Creatinine (mg/dl)	1.11±0.33	1.19±1.34	0.87

表2 心疾患リスクの多変量解析

Variable	Multivariate		
	Odds ratio	95%CI	p-value
Age	1.06	1.02-1.10	0.002
Male	4.32	1.79-10.44	0.001
Diabetes mellitus	2.84	1.30-6.21	0.009
Hypertension	0.88	0.39-2.02	0.770
Dislipidemia	2.33	1.06-5.14	0.035
Creatinine	1.07	0.79-1.44	0.669
HIV infection	14.80	1.41-156.50	0.025

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Honda H, Gatanaga H, Aoki T, Watanabe K, Yazaki H, Tanuma J, Tsukada K, Honda M, Teruya K, Kikuchi Y, Oka S. Raltegravir can be used safely in HIV-1-infected patients treated with warfarin. Int J STD AIDS 23:903-4, 2012

### 2. 学会発表

- 1) 本田元人：HIV感染者における虚血性心疾患  
第26回日本エイズ学会 2012 横浜

## G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 新規薬剤の臨床効果の解析

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

### 研究要旨

2012年6月に日本で承認された新しい非核酸系逆転写酵素阻害薬リルピピリン RPVの効果と有害事象を解析した。当センターでは2013年1月までに日本人55症例に対してRPVが投与されており、うち54例が過去に抗HIV療法を受けていた。治療薬変更にあたりRPVを選択した主な理由は既存薬の有害事象の回避と服薬の簡便性の向上であった。他剤からの変更例ではRPV投与開始時点での血中HIV-RNA量は良好に抑制されており、観察期間は最長210日と短いものの、初回抗HIV療法前の血中HIV-RNA量が $10^5$  copies/mL以上と高い症例も含め、変更に伴うウイルス学的失敗は確認されていない。有害事象としては精神神経症状や肝逸脱酵素値の上昇が認められたが、おおむね軽度であった。RPVとの関連を否定できない有害事象による中止例は6例であった。

### A. 研究目的

新規抗HIV薬、あるいはこれを用いた有害事象軽減のための新しい組み合わせに関する臨床試験のほとんどが海外で行われており、日本人における有効性・安全性のデータは少ない。本研究は新規薬剤を用いた治療の日本人における有効性・安全性の検証を目的とした。

### B. 研究方法

本年度は2012年6月に承認されたリルピピリン(RPV)の使用成績について検討を行った。国立国際医療研究センター エイズ治療・研究開発センターにおいてRPVを含む多剤併用療法を行ったHIV感染者における薬剤選択理由・ウイルス学的効果・有害事象を、診療録を用いて後方視的に解析した。

#### (倫理面への配慮)

研究結果の公表にあたっては個人を特定できる情報を含めない。

### C. 研究結果

2013年1月時点で当センターからRPVが処方され

ていた日本人55症例のうち、54症例は抗HIV療歴を有していた。初回治療1例および中断後の治療再開の際にRPVを選択した2例を除く52例で、変更時点でのHIV-RNA量は100 copies/mL未満(48例では検出感度未満)と良好にコントロールされていた。変更の際には、多くの例でNRTI backboneは変更せずKey DrugのみがRPVに変更されていた。主な変更理由は脂質異常症、EFV内服に伴う精神神経症状、服用錠剤数・錠剤サイズの問題、1日1回内服希望であった。RPV内服開始後の観察期間は21-210日(中央値105日)であった。精神神経症状(倦怠感・ふらつき・異夢等)が9例で、ALT上昇(Grade 1-3)が6例でみられた。投与に伴う新たな心電図異常は確認されなかった。6例でRPV投与が中止されていたが(表1)、初回抗HIV療法開始前のウイルス量が $10^5$  copies/mL以上であった26例を含めても、ウイルス学的失敗による中止例はなかった。

### D. 考察

RPVは現時点では初回治療症例を対象にのみ承認されている。しかしHIV感染者の生命予後が改善し、抗HIV薬の長期毒性や服薬に伴う生活の質(QOL)の低下が問題とされる現在、RPVの長期毒性の少な

表1 RPV中止に至った6例の経過

症例	RPV 中止理由	中止時期	経過詳細
30代男性	薬物相互作用	4週	消化器症状があり、PPI 併用による H. pylori 除菌が必要と判断されたため（消化器症状と RPV は無関係と判断）
40代男性	精神神経症状・筋肉痛	24週	RPV 開始後に精神神経症状・筋肉痛の訴えがあり、関連を否定できないため中止（中止後も筋肉痛には変化がなく、RPV とは無関係と判断）
60代男性	CD4 陽性 T リンパ球数低下	8週	RPV 投与開始前と比較して CD4 陽性 T リンパ球数が低下したため他剤に変更（RPV との関連は不明）
60代男性	皮膚症状	24週	RPV 開始後頭頸部に湿疹・皮膚掻痒が出現、改善しないため中止（RPV との関連は不明）
30代男性	精神神経症状	9週	EFV 不耐例であり NVP による治療を継続していた。1日1回内服希望があり RPV に変更したが、EFV 投与中と同様のふらつき・めまい・悪夢の訴えがあり中止。
40代男性	ALT 上昇	6週	もともと肥満・糖尿病・脂質異常症・脂肪肝があり、血糖・脂質値の改善を期待して PI から RPV への薬剤変更を行った。内服時に十分量の食事摂取が必要との服薬指導を受け食事摂取量が過剰となった結果体重増加（84.0 kg → 87.6 kg）がみられ、併行して ALT が上昇した（99 IU/L → 2週後 203 IU/L → 4週後 274 IU/L）。元の PI に変更し食事指導を行ったところ体重は減少、ALT も元値に復した。ALT 上昇が脂肪肝の悪化によるものか RPV 自体の肝障害かの判定は困難

さ（特に脂質代謝異常を惹起しないこと）、臨床試験における自覚的有害事象の少なさや錠剤サイズの小ささは、むしろ既存治療による有害事象が問題となっている症例においてより大きな利益をもたらすものと考えられる。実際に海外においても、多剤併用療法で安定した状態にある症例を対象として治療薬をプロテアーゼ阻害薬（PI）から RPV に変更する臨床研究（SPIRIT 試験）が進行しており、48週時点の時点でのウイルス学的効果の維持に加え、脂質値が改善したことが報告されている。実際に我々の施設においても、観察期間は短いものの、治療効果を維持しながら服薬負荷の軽減や QOL の改善、一部の症例では脂質値の改善が得られている。しかし初回治療例を対象とした臨床試験（ECHO/THRIVE）の96週成績において、RPV は治療開始前のウイルス量が高い症例でウイルス学的失敗とそれに引き続く薬剤耐性変異獲得が多いことが明らかとなっている。ウイルス学的にコントロールされた状態での変更例における初回治療開始前の高ウイルス量の意義は明らかでないが、RPV が genetic barrier が低い薬剤であることを踏まえ、引き続き厳重な経過観察が必要である。

有害事象に関してはおおむね軽微であったが、同クラスの EFV に類似した精神神経症状が一部の症例でみられた。変更前と比較して ALT が上昇する例が約1割存在したが、ALT の軽度上昇例（Grade 1）については、服薬を継続してもそれ以上の悪化は解析

時点では確認されていない。また服薬の際に求められる十分量の食事摂取が困難であるとの訴えも一部より聞かれた。内服の際に必要な摂取量に関しては薬物動態試験の際の量（標準食=533kcal）がインタビューフォームに記載されており、服薬指導の際に参考とされていると考えられるが、これより少ない食事しか摂取できない場合の経口吸収への影響や日本人における薬物動態に関してはデータが存在しない。

今後薬剤変更の際に RPV を選択する症例は増加すると予想されるが、既存治療で安定している症例においても、薬剤変更当初はこれらの有害事象や食事摂取状況に関する確認を早い時期に行う必要があると考えられる。

## E. 結論

RPV は全体的には有害事象が少なく服薬も簡便な薬剤であり、既存治療による有害事象が問題となっている症例における変更時の選択肢として有用な薬剤と思われるが、日本人における投与経験は十分でなく、治療効果および有害事象に関してさらなる検討が必要である。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

- 1) 塚田訓久、橋本亜希、矢崎博久、水島大輔、西島健、小林泰一郎、青木孝弘、渡辺恒二、木内英、本田元人、田沼順子、照屋勝治、瀧永博之、菊池嘉、岡慎一. 当センターにおいて初回抗HIV療法の際に選択された抗HIV薬の変遷. 日本エイズ学会、2012年11月、横浜.

## G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

## 刊行物一覽

## 研究業績リスト

研究代表者 瀧永 博之 (研究分担者 塚田訓久含む)

1. Akahoshi T, Chikata T, Tamura Y, **Gatanaga H**, Oka S, Takiguchi M. Selection and accumulation of an HIV-1 escape mutant by three types of HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes recognizing wild-type and/or escape mutant epitopes. *Journal of Virology* 2012 Vol.86 (1971-1981)
2. Nishijima T, **Tsukada K**, Teruya K, **Gatanaga H**, Kikuchi Y, Oka S. Efficacy and safety of once-daily ritonavir-boosted darunavir plus abacavir/lamivudine for treatment-naïve patients: a pilot study. *AIDS* 2012 Vol.26 (649-651)
3. Hayashida T, **Gatanaga H**, Takahashi Y, Negishi F, Kikuchi Y, Oka S. Trends in early and late diagnosis of HIV-1 infections in Tokyoites from 2002 to 2010. *International Journal of Infectious Diseases* 2012 Vol.16 (e172-177)
4. 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, 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* 2012 Vol.7 (e29977)
5. Hasan Z, Carlson JM, **Gatanaga H**, Le AQ, Brumme CJ, Oka S, Brumme ZL, Ueno T. Minor contribution of HLA class I-associated selective pressure to the variability of HIV-1 accessory protein Vpu. *Biochemical Biophysical Research Communications* 2012 Vol.421 (291-295)
6. Naruto T, **Gatanaga H**, Nelson G, Sakai K, Carrington M, Oka S, Takiguchi M. HLA class I-mediated control of HIV-1 in the Japanese population, in which the protective HLA-B\*57 and HLA-B\*27 alleles are absent. *Journal of Virology* 2012 Vol.86 (10870-10872) (# contributed equally)
7. Hamada Y, Nishijima T, Watanabe K, Komatsu H, **Tsukada K**, Teruya K, **Gatanaga H\***, Kikuchi Y, Oka S. High incidence of renal stones among HIV-infected patients on ritonavir-boosted atazanavir than in those receiving other protease inhibitor-containing antiretroviral therapy. *Clinical Infectious Diseases* 2012 Vol.55 (1262-1269)
8. Nishijima T, Komatsu H, Higasa K, Takano M, Tsuchiya K, Hayashida T, Oka S, **Gatanaga H\***. Single nucleotide polymorphisms in ABCC2 associated with tenofovir-induced kidney tubular dysfunction in Japanese patients with HIV-1 infection: a pharmacogenetic study. *Clinical Infectious diseases* 2012 Vol.55 (1558-1567)
9. Matthews PC, Koyanagi M, Kloverpris HN, Harndahl M, Stryhn A, Akahoshi T, **Gatanaga H**, Oka S, Juarez Molina C, Valenzuela Ponce H, Avila Rios S, Cole D, Carlson J, Payne RP, Ogwu A, Bere A, Ndung'u T, Gounder K, Chen F, Riddell L, Luzzi G, Shapiro R, Brander C, Walker B, Sewell AK, Reyes Teran G, Heckerman D, Hunter E, Buus S, Takiguchi M, Gpulder PJ. Differential clade-specific HLA-B\*3501 association with HIV-1 disease outcome is linked to immunogenicity of a single Gag epitope. *Journal of Virology* 2012 Vol.86 (12643-12654)
10. Nishijima T, Yazaki H, Hinoshita F, Tasato D, Hoshimoto K, Teruya K, **Gatanaga H\***, Kikuchi Y, Oka S. Drug-induced acute interstitial nephritis mimicking acute tubular necrosis after initiation of tenofovir-containing antiretroviral therapy in patient with HIV-1 infection. *Internal Medicine* 2012 Vol.51 (2469-2471)
11. Kinai E, Hosokawa S, Gomibuchi H, **Gatanaga H**, Kikuchi Y, Oka S. Blunted fetal growth by tenofovir in late pregnancy. *AIDS* 2012 Vol.26 (2119-2120)

12. Yagita Y, Kuse N, Kuroki K, **Gatanaga H**, Carlson JM, Chikata T, Brumme ZL, Murakoshi H, Akahoshi T, Pfeifer N, Mallal S, John M, Ose T, Matsubara H, Kanda R, Fukunaga Y, Honda K, Kawashima Y, Ariumi Y, Oka S, Maenaka K, Takiguchi M. Distinct HIV-1 escape patterns selected by CTLs with identical epitope specificity. *Journal of Virology* 2013 Vol.87 (2253-2263)
13. **Honda H**, **Gatanaga H**, Aoki T, Watanabe K, Yazaki H, Tanuma J, **Tsukada K**, Honda M, Teruya K, Kikuchi Y, Oka S. Raltegravir can be used safely in HIV-1-infected patients treated with warfarin. *International Journal of STD and AIDS* 2012 Vol.23 (903-904)
14. Hamada Y, Nagata N, **Honda H**, Teruya K, **Gatanaga H**, Kikuchi K, Oka S. Idiopathic oropharyngeal and esophageal ulcers related to HIV infection successfully treated with antiretroviral therapy alone. *Internal Medicine* 2013 Vol.52 (393-395)
15. Sudo S, Haraguchi H, Hirai Y, **Gatanaga H**, Sakuragi JI, Momose F, Morikawa Y. Efavirenz enhances HIV-1 Gag processing at the plasma membrane through Gag-Pol dimerization. *Journal of Virology* 2013 (in press)

## 研究分担者

太田 康男

1. Yoshino Y, Seo K, Koga I, Matsunaga N, Kitazawa T, Takamori Y, **Ota Y**. Liver abscess with a markedly high level of carbohydrate antigen 19-9. *Gastroenterol Res* 5: 205-207, 2012.
2. Kitazawa T, Yanagimoto S, Tatsuno K, Fukushima A, Okugawa S, **Ota Y**. Serum Cholesterol Levels at the Onset of Bloodstream Infection Have Prognostic Value. *Advances Infect Dis* 2: 100-105, 2012.
3. Yoshino Y, Okugawa S, Kitazawa T, Koga I, Kimura S, Makita E, Seo K, Matsunaga N, **Ota Y**. Infective endocarditis due to *Enterobacter cloacae* resistant to third- and fourth-generation cephalosporins. *J Microbiol Immunol Infect* S16847-1182, 2012.
4. 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* 40: 63-37, 2012.
5. Koga I, Yoshino Y, Kitazawa T, Kurahashi K, **Ota Y**. Prevalence and risk factors for loss of bone mineral density in male Japanese patients with HIV. *JAIDS; J Acquired Immune Deficiency Syndromes* 62: e25-27, 2013.
6. Yoshino Y, Kitazawa T, Ikeda M, Tatsuno K, Yanagimoto S, Okugawa S, Yotsuyanagi H, **Ota Y**. *Clostridium difficile* flagellin stimulates toll-like receptor 5, and Toxin B promotes flagellin-induced chemokine production via TLR5. *Life Sci* 92: 211-217, 2013.

## 杉浦 亙

1. Bunupuradah T, Imahashi M, Iampornsin T, Matsuoka K, Iwatani Y, Puthanakit T, Ananworanich J, Sophonphan J, Mahanontharit A, Naoe T, Vonthanak S, Phanuphak P, **Sugiura W**. On Behalf Of The Predict Study Team. Association of APOBEC3G genotypes and CD4 decline in Thai and Cambodian HIV-infected children with moderate immune deficiency. *AIDS Res Ther* 24 9(1): 34, 2012.
2. Tsuzuki T, Iwase H, Shimada M, Hirashima N, Hibino Y, Ryuge N, Saito M, Tamaki D, Kamiya A, Yokoi M, **Yokomaku Y**, Fujisaki S, **Sugiura W**, Goto H. Clinical evaluation of peginterferon alpha plus ribavirin for patients co-infected with HIV and HCV at Nagoya Medical Center. *Nihon Shokakibyō Gakkai zasshi = The Japanese journal of gastro-enterology* 109(7): 1186-1196, 2012.

- Ode H, Nakashima M, Kitamura S, **Sugiura W**, Sato H. Molecular dynamics simulation in virus research. *Frontiers in microbiology* 3: 258, 2012.
- Miyamoto T, Nakayama EE, Yokoyama M, Ibe S, Takehara S, Kono K, **Yokomaku Y**, Pizzato M, Luban J, **Sugiura W**, Sato H, Shioda T. The Carboxyl-Terminus of Human Immunodeficiency Virus Type 2 Circulating Recombinant form 01\_AB Capsid Protein Affects Sensitivity to Human TRIM5 $\alpha$ . *PloS one* 7(10): e47757, 2012.
- Matsunaga S, Sawasaki T, Ode H, Morishita R, Furukawa A, Sakuma R, **Sugiura W**, Sato H, Katahira M, Takaori-Kondo A, Yamamoto N, Ryo A. Molecular and enzymatic characterization of XMRV protease by a cell-free proteolytic analysis. *Journal of proteomics* 75(15): 4863-4873, 2012.
- Kitamura S, Ode H, Nakashima M, Imahashi M, Naganawa Y, Kurosawa T, **Yokomaku Y**, Yamane T, Watanabe N, Suzuki A, **Sugiura W**, Iwatani Y. The APOBEC3C crystal structure and the interface for HIV-1 Vif binding. *Nature structural & molecular biology* 19(10): 1005-1010, 2012.
- Hirano A, Ikemura K, Takahashi M, Shibata M, Amioka K, Nomura T, **Yokomaku Y**, **Sugiura W**. Short communication: lack of correlation between UGT1A1\*6, \*28 genotypes, and plasma raltegravir concentrations in Japanese HIV type 1-infected patients. *AIDS research and human retroviruses* 28(8): 776-779, 2012.
- Jahanbakhsh F, Ibe S, Hattori J, Monavari SHR, Matsuda M, Maejima M, Iwatani Y, Memarnejadian A, Keyvani H, Azadmanesh K, **Sugiura W**. Molecular epidemiology of HIV-1 infection in Iran: genomic evidence of CRF35\_AD predominance and CRF01\_AE infection among individuals associated with injection drug use. *AIDS Res Hum Retroviruses* 29: 198-203, 2013.

吉村 和久

- Ong YT, Kirby KA, Hachiya A, Chiang LA, Marchand B, **Yoshimura K**, Murakami T, Singh K, Matsushita S, Sarafianos SG. Preparation of biologically active single-chain variable antibody fragments that target the HIV-1 gp120 V3 loop. *Cell Mol Biol* 58:71-9, 2012.
- Yokoyama M, Naganawa S, **Yoshimura K**, Matsushita S, Sato H. Structural Dynamics of HIV-1 Envelope Gp120 Outer Domain with V3 Loop. *PLoS ONE* 7: e37530, 2012.
- Harada S, **Yoshimura K**\*, Yamaguchi A, Boonchawalit S, Yusa K, Matsushita S. Impact of antiretroviral pressure on selection of primary HIV-1 envelope sequences in vitro. *J Gen Virol* (in press)

川村 龍吉

- Ogawa Y, **Kawamura T**, Matsuzawa T, Aoki R, Gee P, Yamashita A, Moriishi K, Yamasaki K, Koyanagi Y, Blauvelt A, Shimada S. Antimicrobial peptide LL-37 produced by HSV-2-infected keratinocytes enhances HIV infection of Langerhans cells. *Cell Host Microbe* 16;13(1):77-86, 2013.

児玉 栄一

- Ndongwe TP, Adedeji AO, Michailidis E, Ong YT, Hachiya A, Marchand B, Ryan EM, Rai DK, Kirby KA, Whatley AS, Burke DH, Johnson M, Ding S, Zheng YM, Liu SL, **Kodama E**, Delviks-Frankenberry KA, Pathak VK, Mitsuya H, Parniak MA, Singh K, Sarafianos SG. Biochemical, inhibition, and inhibitor resistance studies of xenotropic murine leukemia virus-related virus reverse transcriptase. *Nucleic Acids Research* 40: 345-359, 2012.