

## G. 研究発表

## 1) 原著論文

1. Matsushita, S., Yoshimura, K., Ramirez, K.P., Pisupati, J., Murakami, T. Passive transfer of neutralizing monoclonal antibody KD-247 reduces plasma viral load in patients chronically infected with HIV-1. *AIDS*, 29(4): 453-462, 2015.
  2. Ramirez, K.P., Kuwata, T., Maruta, Y., Tanaka K., Muntasir, A., Yoshimura, K., Matsushita, S. Complementary and synergistic activities of anti-V3, CD4bs and CD4i antibodies derived from a single individual can cover a wide range of HIV-1 strains. *Virology*, 475:187-203, 2015.
  3. Kirby, K.A., Ong Y.T., Hachiya, A., Laughlin, T.G., Chiang, L.A., Pan Y., Moran, J.L., Marchand, B., Singh, K., Gallazzi, F., Quinn, T.P., Yoshimura, K., Murakami, T., Matsushita S., Sarafianos, S.G. Structural basis of clade-specific HIV-1 neutralization by humanized anti-V3 monoclonal antibody KD-247. *The FASEB Journal*, 29:1-11, 2015.
  4. Yoshimura, K., Harada, S., Boonchawalit, S., Kawanami, Y., Matsushita, S. Impact of maraviroc-resistant and low-CCR5- adapted mutations induced by in vitro passage on sensitivity to anti-envelope neutralizing antibodies. *J. Gen. Virol.* 95, 1816-1826, 2014.
- 2) 学会発表
    1. Boonchawalit, S., Harasda, S., Matsushita, S., Yoshimura, K.: Impact of Maraviroc (MCV)-resistant mutations in C1 and C4 regions of gp120 on sensitivity to antibody-mediated neutralization. 20th International AIDS Conference. Melbourne, Australia. July 20-25, 2014.
    2. Matsushita, S., Ramirez, K.P., Maruta, Y., Tanaka, K., Muntasir, A., Kuwata, T., Pisupait, J., Murakami, T., Yoshimura, K. Therapeutic application of neutralizing antibodies based on the recent data on complementary and synergistic activities against a wide range of HIV-1 strains. 15th Kumamoto AIDS Seminar. October 1-3, 2014. Kumamoto.
    3. Kuwata, T., Enomoto, I., Baba, M., Matsushita, S. Acquisition of resistance to the CCR5 antagonist cenicriviroc renders HIV-1 sensitive to neutralizing antibodies. 15th Kumamoto AIDS Seminar. October 1-3, 2014. Kumamoto.
    4. Ramirez, K.P., Kuwata, T., Maruta, Y., Tanaka K., Muntasir, A., Yoshimura, K., Matsushita, S. Evaluation of complementarity and synergy of conventional anti-HIV-1 antibodies derived from a single individual, 15th Kumamoto AIDS Seminar. October 1-3, 2014. Kumamoto.
    5. Muntasir, A., Kuwata, T., Ramirez, K., Enomoto, I., Maruta, Y., Tanaka K., Rahman K., Nakahara, Y., Egami, Y., Kawanami, Y., Murayama, H., Shimura, K., Matsuoka, M., Matsushita, S. Mutations in gp41 that confer resistance to fusion inhibitors enhance the neutralization sensitivity to antibodies against both gp41 and gp120. 15th Kumamoto AIDS Seminar. October 1-3, 2014. Kumamoto.
    6. Maruta, Y., Kuwata, T., Tanaka K., Nakahara, Y., Ramirez, K., Alam, M., Egami, Y., Hirata I., Suwa, Y., Morioka, H., Matsushita, S. Mechanism of post-attachment neutralization of single-chain variable fragment (scFv) from anti-V3 monoclonal antibody against HIV-1. 15th Kumamoto AIDS Seminar. October 1-3, 2014. Kumamoto.
    7. Tanaka K., Kuwata, T., Maruta, Y., Ramirez, K., Muntasir, A., Egami, Y., Enomoto, I., Kawanami, Y., Matsushita, S. Construction of neutralizing antibody fragment against V3 with a broad cross-reactivity. 15th Kumamoto AIDS Seminar. October 1-3, 2014. Kumamoto.
    8. Maruta, Y., Kuwata, T., Tanaka K., Nakahara, Y., Ramirez, K., Alam, M., Egami, Y., Hirata I., Suwa, Y., Morioka, H., Matsushita, S. Mechanism of post-attachment neutralization of single-chain variable fragment (scFv) from anti-V3 monoclonal antibody against HIV-1. HIV R4P 2014. October 28-31, 2014. Cape Town, South Africa.
    9. Kuwata, T., Yoshimura, K., Wu, F., Ourmanov, I., Hirsch, V.M., Yokoyama, M., Sato H., and Matsushita, S. Mutations in gp41 is Critical to Escape from B404, a Broad Neutralizing Antibody Against SIV, Which Recognizes a V3/V4 Conformational Epitope. 32nd Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS. November 11 - 14, 2014. Portland, Oregon, USA.
    10. Matsushita, S., Ramirez, K.P., Maruta, Y., Tanaka, K., Muntasir, A., Kuwata, T., Pisupait, J., Murakami, T., Yoshimura, K. Therapeutic application of neutralizing antibodies based on the recent data on complementary and synergistic activities against a wide range of HIV-1 strains. the 17th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID) Emerging Infectious Diseases Meeting Jan. 26-27, 2015. Taipei, Taiwan
    11. Muntasir, A., Kuwata, T., Ramirez, K., Maruta, Y., Tanaka K., Shimura, K., Oishi, S., Fujii, N., Matsuoka, M., Matsushita, S. Enhanced Neutralization of HIV-1 with Fusion Inhibitor Resistant Mutations. The annual Conference on

Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI 2015). February 23-26, 2015. Seattle, Washington, USA.

12. Ramírez, K.P., Kuwata, T., Maruta, Y, Tanaka K., Muntasir, A., Yoshimura, K., Matsushita, S. Complementary effect of anti-V3, CD4bs and CD4i antibodies accounts for cross-neutralizing and non-neutralizing activities against HIV-1. 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会. 2014 年 12 月 3 日 -5 日, 大阪.
13. 江上由華、丸田泰広、田中和樹、Muntasir A., Ramirez K., 桑田岳夫、松下修三. V3 エピトープへの交叉反応性をもつ中和抗体の遺伝子組み換えによる小型化の試み. 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会. 2014 年 12 月 3 日 -5 日, 大阪.
14. 桑田岳夫、松下修三. 強力な抗 SIV 中和抗体 B404 からの逃避メカニズムの解析. 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会. 2014 年 12 月 3 日 -5 日, 大阪.

#### H. 知的所有権の出願・取得状況 なし

## 九州ブロックにおける薬剤耐性 HIV の動向調査研究

～九州地区における薬剤耐性 HIV-1 の動向～

研究分担者 南 留美 国立病院機構九州医療センター 免疫感染症科 医長

研究協力者 山本 政弘 国立病院機構九州医療センター AIDS/HIV 総合治療センター  
センター長

### 研究要旨

近年、内服薬の改善（内服回数、内服錠数、サイズ、副作用の軽減）および genetic barrier の高い薬剤の開発により抗 HIV 療法経過中に薬剤耐性を獲得する比率は以前に比べ減少している。しかし一方で、未治療の新規感染者において薬剤耐性変異を持つ症例は全国的に毎年 10% 前後認められる。当院では 2003 年以降、九州地区の新規感染患者における薬剤耐性変異の頻度を評価するため、新規感染患者の薬剤耐性変異の解析（RT 領域、PR 領域、インテグラーゼ領域）およびサブタイプの解析を行っている。さらに 2011 年度より HIV 指向性検査（genotype）も行っている。今年度の登録症例は 40 例。サブタイプは AE 1 例、残りは全例 B であった。耐性変位に関しては、NRTI に関する変異（T215D:1 例）、NNRTI に関連する耐性変異（V108I:1 例、V179D:3 例）、およびインテグラーゼ領域に関する変異（E157Q:2 例）が認められた。プロテアーゼ領域は minor mutation のみであった。指向性検査は登録症例中 40 例で解析し、33 例（82.5%）が CCR5 指向性であった。急性感染は 20% 前後で経過していたが今年度は 6 例（15.0%）で例年より少なかった。一方、AIDS 発症例は 12 例（30.0%）と昨年度に比して増加していた。

### A. 研究目的

九州地区における急性 HIV-1 感染者および未治療慢性 HIV-1 感染者における薬剤耐性変異の頻度を調査し、薬剤耐性 HIV-1 伝播の疫学的動向を明らかにする。同時にウイルスサブタイプおよびウイルス指向性の解析を行い九州におけるこれらの頻度について考察する。

### B. 研究方法（倫理面への配慮）

2014 年に HIV 感染が判明し当院免疫感染症科を受診した未治療慢性 HIV-1 感染患者および急性 HIV-1 感染患者を対象に informed consent のもとに採血を行い、血清中 HIV-1 のプロテアーゼ（PR）領域、逆転写（RT）領域、インテグラーゼ領域の薬剤耐性遺伝子解析を行う。薬剤耐性変異の評価は IAS-USA（June/July:2014）および Shafer's criteria を参考にした。同時に EnvC2V3 領域、Gag p17 領域、Pol（protease, RT）領域の遺伝子解析を行い、サブタイ

ピングも施行した。感染時期を推定する BED assay（抗体陽転後 155 日以内であるかを鑑別）に関しては Calypte® HIV-1 BED Incidence EIA（IgG-Capture HIV-EIA）を用いた。指向性検査に関しては EnvC2V3 領域が解析可能であった症例において指向性を予測する解析ソフト（Geno2Pheno）を用いて検討した。なお、当院では FPR の cut off 値を 10% に設定している。

解析結果は、九州医療センターにて連結可能匿名化したデータとして、そのデータを研究代表施設（名古屋医療センター）に集約し解析を行うので、個人の人権を侵害することは無く、個人の人権は確実に守られる。

### C. 研究結果

2014 年において検討した新規未治療患者数は 40 名であった。解析症例数は 2010 年以降 40 名前後で経過している。（2003 年:10 名、2004 年:12 名、

2005年:25名、2006年:26名、2007年29名、2008年33名、2009年38名、2010年48名、2011年43名、2012年37名、2013年43名)。急性感染者の割合は2009年をピークに減少し20%前後で経過していたが、今年度は40名中6名(15%)が急性感染であり例年より減少した。BED assayにて recent と診断された症例は36例中7例(19.4%)であった。BED assay に用いていた Calypte® HIV-1 BED Incidence EIA (IgG-Capture HIV-EIA) が発売中止になったため40例中4例はBED assay を行うことが出来なかった。また今年度はAIDS発症例が12例と頻度が高かった。

【耐性変異の頻度】RT領域ではV108I 1例、V179D 3例、T215D 1例、PR領域では全例に何らかの変異を認めたが、polymorphism がほとんどであった。I62V, V77I, I93Lの頻度は例年通り高く、それぞれ35%, 67.5%, 65%でありV77Iに関しては年々比率が上昇している。インテグラーゼ領域ではE157Q 2例、L74I 2例(副次変異)を認めた。また流行株の1つとして関東～近畿にかけて認められているT215X, M46I/L, K103N変異は、当施設では散発的にしか認められていない。(T215Xは2006年に2例、2007年、2010年に1例、M46Lは2009年に1例、K103Nは2007年、2010年に1例)

なお、今年度はカポジ肉腫の発症を4例に認めた(2例は新規症例、2例は過去登録例)。過去のカポジ肉腫症例(4例中2例で解析可能)と今回の4症例でHIVとHHV-8の関連を調べるためenv領域で系統樹解析を行った(2009-2013年の当院登録症例にて検討)がいずれの症例も同一cluster内に存在することはなかった。

サブタイプに関しては、40例で解析しAEが1例、残りは全例Bであった。AEの1例は中国籍のMSMであり、近年AEが増加傾向にある中国国内での感染であった。

【BED assayについて】BED assayによる感染時期の推定では、7名がrecent infectionであった。最終抗体検査陰性日およびWBによる結果から判定した場合、急性感染は6名であった。当院で施行したBED assayの感度は67%、特異度は90%であった。BED assayに使用していたkitの発売中止に伴い、今後当施設ではBED assayを行うことが出来なくなる可能性がある。

【CCR5指向性検査】EnvC2V3領域の解析が可能であった症例40例において指向性検査を施行した。33名がCCR5指向性、7名がCXCR4指向性であった。CCR5指向性の割合は80%前後で経過しており、今年度もほぼ同等であった。指向性検査については、

前年までは他施設からの依頼が多かったが、CCR5阻害剤新規導入例が減少したことが影響し、今年度は4件と減少した。

【その他】HBV感染合併例は6例であった。Genotypeを6例で検討し5例がAe、1例がBjであった。Genotype Gの合併に関しては、今年度は認めなかったが、昨年の新規登録症例においてgenotypeAFとgenotypeGとのリコンビナントが認められた。

#### D. 考察

【耐性変異について】：NRTI領域においては2006年以降、T215の変異が散発的に認められており、今年度もT215Dが一例に認められた。NNRTI領域の変異に関しては、2009年以降増加傾向にある。V179の変異は2011-2012年に12%まで上昇したがそれ以降は5-10%で経過している。PR領域に関しては、例年と同様polymorphismと考えられるものが主体であった。関東～近畿にて流行が見られるM46I/Lに関しては当院では2003年以降今まで1例のみの報告であり今年度も認められなかった。九州においては関東～近畿からのウイルスの伝播が少ない可能性がある。インテグラーゼ領域のL74I、E157Qは2012年以降年間1-3例認められる。いずれの領域もmajorな耐性変異を認めることはないが、副次変異の頻度が上昇傾向にある。このことから伝播するウイルスが変化していることが示唆された。また、カポジ肉腫発症例でのenv領域の系統樹解析にてHIVとカポジ肉腫発症例との間に関連は認めなかったことよりHIVとHHV-8は別経路にて感染が広がっていることが示唆された。

サブタイプについては、今年度1例がAEであった。中国での感染例である。2010年以降、アジアから福岡への留学生が増え、また2011年以降、同じくアジアから福岡への旅行者が増加している。新規感染者のサブタイプがこれらの人の動態に影響を受けるかどうか、今後解析していく予定である。

【BED assayについて】試薬販売中止に伴い、当施設では測定出来なくなる。今後の方針に関しては、半全体の方針に沿って決定していく予定である。

【CCR5指向性検査について】：他施設からの依頼は今年度減少し、来年度以降も同様の傾向が続くと予想される。当施設の新規患者に関しては来年度以降も継続して解析を行っていくが、臨床像との関連を、より詳細に検討していきたいと考えている。

【その他】当施設で長年使用してきたシーケンサーを変更した(ABI PRISM 310 Genetic Analyzer → 3500 Genetic Analyzer)。また、HIV薬

剤耐性推奨法 2014 (JEQS\_RM2014B/C) に基づき、従来使用していた primer が「使用が好ましくない primer」であったため、推奨されている primer に変更した。現在、条件を調整中であり、来年度の外部精度管理検査の際に確認を行う予定である。

## E. 結論

- NNRTI 領域の変異が増加傾向にある。
- プロテアーゼ領域の変異は polymorphism がほとんどである。
- CCR5 指向性ウイルスはほぼ 80% で推移している。
- シークエンサーおよび primer を更新した。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

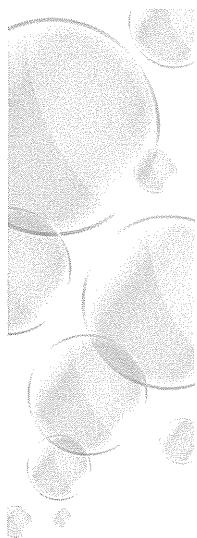
### 1) 原著論文

1. Exacerbation of microcytic anemia associated with cessation of anti-retroviral therapy in an HIV-1-infected patient with beta thalassemia. Furukawa Y, Hashiguchi T, Minami R, Yamamoto M, Takashima H. J Infect Chemother. ;20(6):387-9, 2014.
- 2) 学会、講演会
  1. The influence of adiponectin and glucokinase regulatory protein polymorphisms on antiretroviral therapy-induced hyperlipidemia. Minami R, Takahama S, Kaku Yu, Yamamoto M, 20th International AIDS Conference, 24 July, 2014, 20-25 July, 2014, Melbourne
  2. HIV 感染者における白血球テロメア長測定の意義—慢性脳虚血性変化との関連、南留美、小松真梨子、高濱宗一郎、郭 悠、辻麻理子、阪木淳子、曾我真千代、城崎真弓、長与由紀子、中嶋恵理子、山本政弘、第 28 回日本エイズ学会総会、2014.12.4、2014.12.3-5、大阪
  3. 国内感染者集団の大規模延期配列解析 5: MSM コミュニティへのサブタイプ B 感染の動態 椎野禎一郎、服部順子、瀧永博之、吉田繁、石ヶ壺良明、近藤真規子、貞升健志、横幕能行、古賀道子、上田幹夫、田邊嘉也、渡邊大、森治代、南 留美、健山正男、杉浦互、第 28 回日本エイズ学会総会、2014.12.3、2014.12.3-5、大阪
  4. HIV 患者の認知機能低下と炎症性サイトカインの解析 郭 悠、辻麻理子、阪木淳子、曾我真千代、城崎真弓、長与由紀子、高濱宗一郎、中嶋恵理子、南 留美、山本政弘、第 28 回日本エイズ学会総会、2014.12.5、2014.12.3-5、大阪

5. 新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性 HIV の動向 岡崎玲子、蜂谷敦子、服部順子、瀧永博之、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、杉浦互、他、第 28 回日本エイズ学会総会、2014.12.3、2014.12.3-5、大阪
6. ART 導入における骨代謝マーカーの推移 高濱宗一郎、郭 悠、中嶋恵理子、南 留美、長与由紀子、城崎真弓、山本政弘、第 28 回日本エイズ学会総会、2014.12.4、2014.12.3-5、大阪
7. リルピピリン服用後に著明な精神症状を呈し、血中濃度測定を行った症例 森本清香、西野隆、大石裕樹、阪木淳子、高濱宗一郎、郭 悠、南留美、山本政弘、第 28 回日本エイズ学会総会、2014.12.4、2014.12.3-5、大阪
8. HIV 感染症患者の認知機能低下と鑑別診断 辻麻理子、阪木淳子、郭 悠、曾我真千代、城崎真弓、長与由紀子、高濱宗一郎、南 留美、山本政弘、第 28 回日本エイズ学会総会、2014.12.5、2014.12.3-5、大阪
9. HIV 感染症患者の認知機能低下と鑑別診断—抑うつ傾向との関連および臨床経過— 辻麻理子、阪木淳子、郭 悠、曾我真千代、城崎真弓、長与由紀子、高濱宗一郎、南 留美、山本政弘、第 28 回日本エイズ学会総会、2014.12.5、2014.12.3-5、大阪
10. HIV 感染症患者の認知機能低下と鑑別診断—物質使用との関連および臨床経過— 阪木淳子、辻麻理子、郭 悠、曾我真千代、城崎真弓、長与由紀子、高濱宗一郎、南 留美、山本政弘、第 28 回日本エイズ学会総会、2014.12.5、2014.12.3-5、大阪
11. HIV 患者の認知機能低下とアルツハイマー型認知症 郭 悠、辻麻理子、阪木淳子、曾我真千代、城崎真弓、長与由紀子、高濱宗一郎、中嶋恵理子、南 留美、山本政弘、第 28 回日本エイズ学会総会、2014.12.5、2014.12.3-5、大阪
12. 入院 HAND パス導入のこころみ 山地由恵、犬丸真司、廣末佳子、城崎真弓、長与由紀子、辻麻理子、阪木淳子、曾我真千代、郭 悠、高濱宗一郎、南 留美、山本政弘、第 28 回日本エイズ学会総会、2014.12.5、2014.12.3-5、大阪
13. 介護が必要な状況であるにもかかわらず一人暮らしを継続した事例への対処 首藤美奈子、城崎真弓、阪木淳子、南 留美、高濱宗一郎、郭 悠、長与由紀子、辻麻理子、山本政弘、第 28 回日本エイズ学会総会、2014.12.3、2014.12.3-5、大阪

## H. 知的所有権の出願・取得状況

なし



## 大阪市及び近郊における薬剤耐性 HIV の動向調査研究

研究分担者 森 治代 大阪府立公衆衛生研究所ウイルス課 主任研究員

研究協力者 小島洋子、川畑拓也

大阪府立公衆衛生研究所ウイルス課

### 研究要旨

2014 年に HIV-1 感染が判明し医療機関を受診した新規診断症例 22 例、および当所における HIV 検査で陽性が確認された 99 例中 91 例について、薬剤耐性遺伝子検査を実施した結果、医療機関受診症例 2 例および確認検査陽性検体 7 例において薬剤耐性に関連する一次変異が検出された。プロテアーゼ領域の M46I、逆転写酵素領域の M41L、V108I、E138A、T215X など、いずれも 1 アミノ酸のみの変異であった。確認検査陽性検体について pol および env 領域の塩基配列よりサブタイプ型別を行ったところ、CRF01\_AE が 5 例、サブタイプ C、CRF07\_BC、サブタイプ B と CRF01\_AE のリコンビナントがそれぞれ 1 例ずつで、残りはすべてサブタイプ B であった。

### A. 研究目的

国内で流行する HIV 遺伝子型および新規診断症例における薬剤耐性 HIV の出現頻度の動向について全国規模での疫学調査を実施するにあたり、近畿ブロックとして調査に参加し、大阪府およびその近郊における新規 HIV 診断症例についてウイルスの遺伝子解析を行ない、今後のエイズ対策に有用な情報を集積することを目的とする。

### B. 研究方法

2014 年に HIV-1 感染が判明し医療機関を受診した新規診断症例 22 例、および当所における HIV 確認検査の陽性検体 99 例について、血漿あるいは血清より HIV-1 RNA を抽出し、それを鋳型にして治療薬が標的とするプロテアーゼ (PR) 領域 (297bp)、逆転写酵素 (RT) 領域 (720bp) およびインテグラーゼ (IN) 領域 (864bp) を RT-nested PCR により増幅した。PCR 増幅産物について、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した後、IAS-USA パネル 2014 年版に基づいて薬剤耐性アミノ酸変異の有無を判定した。env-C2V3 領域 (351-357bp) に

ついてもシーケンスを行ない、得られた塩基配列をもとに系統樹を作成し HIV-1 のサブタイプを決定した。さらに、geno2pheno coreceptor 解析プログラム (<http://coreceptor.bioinf.mpi-inf.mpg.de/>) を利用して、env-V3 領域の塩基配列よりウイルスのコレセプター指向性を推定した (False Positive Rate のカットオフ値は 10% に設定)。

また、感染時期 (感染後 155 日または 197 日以内 recent / 以上 not recent) を推測する目的で、Calypste® HIV-1 BED Incidence EIA アッセイ (CALYPSTE BIOMEDICAL Co., OR USA) または Sedia™ BED HIV-1 Incidence EIA アッセイ (Sedia Biosciences Co., OR USA) を添付のマニュアルに従って実施した。

(倫理面の配慮)

医療機関において主治医より研究内容について説明し、本人の同意を得た上で採血を行っている。また、確認検査検体については連結不可能な匿名検査であり、HIV 陽性検体を研究に用いることを当所ホームページ上で広報している。本研究は、大阪府立公衆衛生研究所の倫理審査委員会の承認を受けてい

る。

C. 研究結果

医療機関受診症例 22 例は、同性間性的接触による感染が 20 例(日本人男性 19 例、外国人男性 1 例)、感染経路不明の日本人男性 1 例、異性間性的接触の日本人女性 1 例であった。薬剤耐性遺伝子検査の結果、major mutation として PR 領域の M46I と RT 領域の T215S が 1 例ずつ検出された(表 1)。IN 領域には薬剤耐性に関与する major mutation は認め

られなかった。

一方、確認検査陽性検体は 99 例中 91 例で遺伝子解析が可能であり、そのうちの 7 例(7.7%)において薬剤耐性に関連する major mutation が認められた。その内訳は PR 領域の M46I が 2 例、RT 領域の M41L、V108I、E138A、T215L、T215S がそれぞれ 1 例ずつであった。IN 阻害剤に対する major な耐性変異は検出されなかった(表 1)。

pol および env 領域の塩基配列を用いた系統樹解析によりサブタイプ型別を行ったところ、医療機関

表 1 薬剤耐性関連アミノ酸変異が認められた新規 HIV-1 診断症例 (2014 年)

	性別	国籍	感染リスク	薬剤耐性アミノ酸変異			サブタイプ	BED
				PR	RT	IN		
●医療機関受診例 (2/22例、9.1%)								
1	男性	日本	同性間	I62V,V77I	<u>T215S</u>	-	B	not-recent
2	男性	日本	同性間	<u>M46I</u> ,I62V,L63P,V77I,I93L	-	-	B	recent
●確認検査陽性検体 (7/91例、7.7%)								
1	男性	日本	同性間	I62V,V77I	<u>T215S</u>	-	B	not-recent
2	男性	日本	同性間	<u>M46I</u> ,I62V,L63P,V77I,I93L	-	-	B	recent
3	男性	不明	不明	<u>M46I</u> ,I62V,L63P,V77I,L89I,I93L	V106I,V179D	-	B	not-recent
4	男性	日本	不明	L10V,M36I,I62V,A71T,V77I,I93L	<u>V108I</u>	-	B	not-recent
5	男性	日本	不明	M36L,L63P	<u>M41L</u>	-	B	not-recent
6	男性	日本	不明	I62V	<u>T215L</u>	-	B	recent
7	男性	中国	不明	I62V	<u>E138A</u>	-	B	not-recent

注 医療機関受診症例の 1,2 と確認検査陽性検体の 1,2 はそれぞれ同一人物

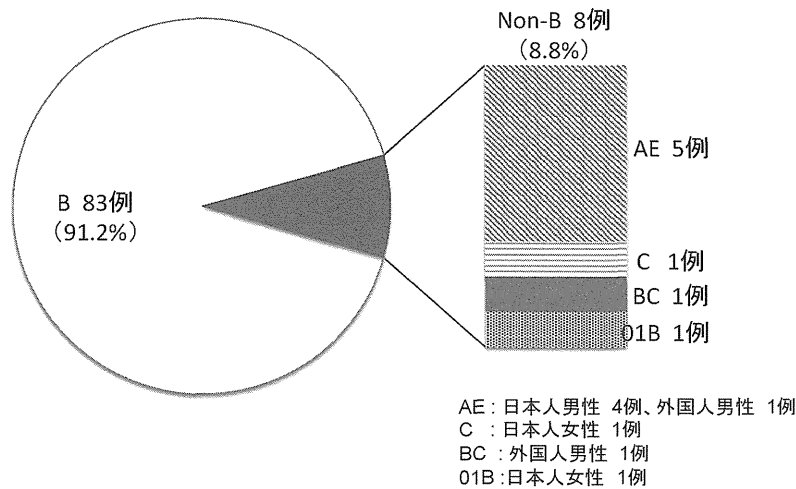


図 1 確認検査陽性検体における HIV-1 遺伝子型 (2014 年)

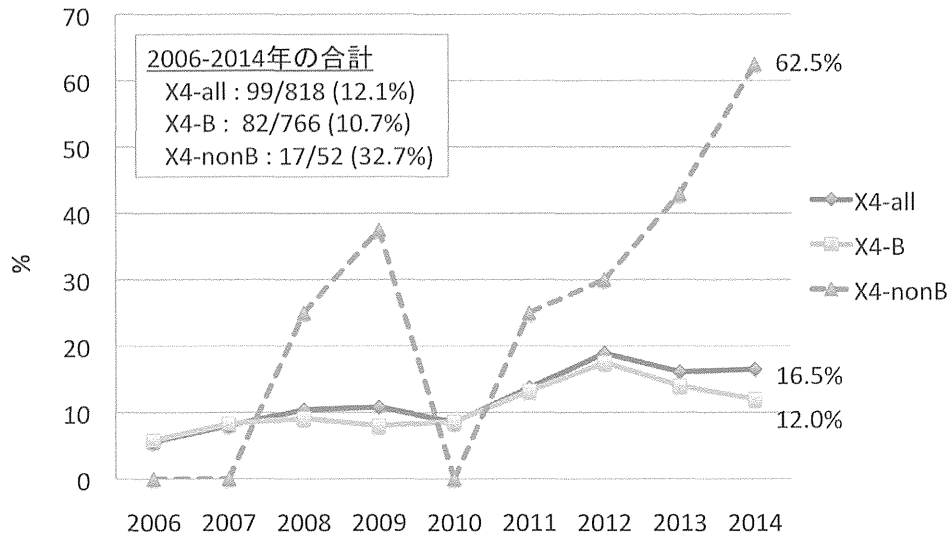


図2 HIV 確認検査陽性検体における X4 ウイルス検出率の年次推移

受診症例では外国人 MSM に CRF02\_AG が 1 例、感染経路不明の日本人男性に CRF01\_AE が 1 例、それ以外はすべてサブタイプ B であった。確認検査陽性検体のうち non-B サブタイプは 8 例 (8.8%) で、その内訳は CRF01\_AE が 5 例 (日本人男性 4 名、外国人男性 1 名)、サブタイプ C が 1 例 (日本人女性)、CRF07\_BC が 1 例 (外国人男性)、サブタイプ B と CRF01\_AE のリコンビナントが 1 例 (日本人女性) であった (図 1)。

興味深いことに、昨年 HIV 感染が確認されたサブタイプ B と CRF01\_AE の重複感染疑い症例について、通常検査とは異なるプライマーを用いて詳細な検討を行ったところ、PR 領域にネルフィナビル (NFV) の高度耐性変異である D30N + L33F + M46I + N88D を有するサブタイプ B 株が検出された。サブタイプ B 株と CRF01\_AE 株のどちらが先に感染したかは不明であるが、本症例は通常検査では野生型の CRF01\_AE 株が dominant で検出されており、耐性変異を持つため増殖力が劣るサブタイプ B が minor population として存在しているものと考えられた。

env-V3 領域の塩基配列を用いた geno2pheno アルゴリズムにより、HIV のコレセプター指向性を検討した。医療機関受診例 22 例中 2 例 (9.1%) および確認検査陽性検体 91 例中 15 例 (16.5%) がコレセプターに CXCR4 を利用する X4 タイプであると判定された。しかし、確認検査検体における X4 ウィ

ルス 15 例中 5 例が non-B サブタイプ (CRF01\_AE 4 例、C 1 例) であり、non-B に限れば 5/8 例 (62.5%) と著しく高い X4 検出率となった。non-B サブタイプは検体数自体が少ないため X4 検出率も年毎の差が大きく、2014 年は例年に比べても飛び抜けて高い値であるが、2006-2014 年のすべての検体を合わせても X4 ウイルスの検出率は non-B サブタイプで有意に高く (図 2)、phenotype と乖離している可能性が考えられた。

BED アッセイにより新規診断症例のおおよその感染時期を推測したところ、医療機関受診症例 22 例中 7 例 (31.8%)、確認検査陽性検体 98 例中 28 例 (28.6%) が感染初期 (感染後約 6 ヶ月以内) と推定され、共に昨年とほぼ同様の値であった。

#### D. 考察

2014 年に HIV-1 感染が判明した新規診断症例 (医療機関受診症例 22 例、確認検査陽性検体 91 例) について薬剤耐性遺伝子検査を実施したところ、医療機関受診症例の 2 例 (9.1%、2 例とも確認検査検体と重複)、確認検査陽性検体の 7 例 (7.7%) において major な薬剤耐性アミノ酸変異が検出された。今回検出された耐性変異は、例年検出される PR 領域の M46I と RT 領域の T215X を含めすべて 1 アミノ酸の単独変異であった。その一方で、昨年 HIV 感染が確認されたサブタイプ B と CRF01\_AE の重複感染疑い症例において、通常検査では検出できな



った NFV 高度耐性変異株の存在がプライマーを変えることにより確認され、同様に fitness の低下を伴う高度耐性変異株が他にも潜んでいる可能性が懸念される。このような微少集属を確実に検出するためには、次世代シーケンサーの導入が必要となるかもしれない。

また、確認検査陽性検体では 15 例が X4 ウイルスと判定されたが、そのうちの 5 例が non-B サブタイプ (CRF01\_AE 4 例、C 1 例) であり、non-B に限れば 5/8 例 (62.5%) と著しく高い X4 検出率であった。non-B サブタイプは検体数自体が少ないため X4 検出率も年毎の差が大きく、2014 年は例年に比べても飛び抜けて高い値であるが、2006-2014 年のすべての検体を合わせても non-B サブタイプにおける X4 ウイルスの検出率 (32.7%) はサブタイプ B に比べて有意に高く (図 2)、phenotype と乖離している可能性が考えられた。non-B サブタイプに対する geno2pheno の判定結果については、さらなる検証が必要であろう。

## E. 結論

2014 年の HIV 新規診断症例について薬剤耐性遺伝子検査を実施した結果、医療機関受診症例 22 例中 2 例、確認検査陽性検体 91 例中 7 例に薬剤耐性 HIV の感染を示唆する major mutation が検出された。また、昨年確認検査陽性検体の中に高度耐性変異を有する株が微少に重複感染している症例が認められ、より検出感度の高い耐性変異検出法の必要性が示唆された。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1) 原著論文

1. 森 治代、川畑拓也、小島洋子、他 6 名、大阪府における HIV/AIDS の現状と対策について、病原微生物検出情報、Vol.35、205-206、2014

### 2) 学会発表

1. Haruyo Mori, Yoko Kojima, Takuya Kawahata, Drug resistance mutations persist in HIV-1 proviral DNA despite 12 years of successful viral suppression, 20th International AIDS Conference. July 20-25, 2014, Melbourne, Australia. (poster presentation)
2. 森 治代、小島洋子、川畑拓也、駒野 淳：急速な病期進行を伴う感染初期症例に検出された新規

変異 HIV-1 の流行実態調査、第 28 回日本エイズ学会学術集会、大阪、2014

3. 川畑拓也、森 治代、小島洋子、他 14 名、診療所を窓口とした MSM 向け検査キャンペーン(2013 年)、第 28 回日本エイズ学会学術集会、大阪、2014
4. 松浦基夫、三田洋子、(他 5 名)、森 治代、川畑拓也、小島洋子、HIV 陽性女性と HIV 陰性産生の夫婦における体外受精 - 胚移植による妊娠出産例、第 28 回日本エイズ学会学術集会、大阪、2014

## H. 知的所有権の出願・取得状況

なし

## 東京医大における薬剤耐性 HIV の動向調査研究

研究分担者 山元 泰之 東京医科大学臨床検査医学講座 准教授

東京医科大学病院臨床検査医学科において、平成 26 年に HIV-1 感染者で薬剤耐性検査を実施した症例について調査した。14 例が該当し、1 例（7%）において主要な薬剤耐性変異が認められた。

### 研究要旨

インテグラーゼ領域の変異を有した症例は認めなかった。サブタイプは全例 B であった。治療開始前の症例における耐性 HIV-1 感染の状態を把握し適切な抗ウイルス療法を実施するため、今後も引き続き薬剤耐性検査を実施する必要があると考えられる。

### A. 研究目的

全国的な薬剤耐性 HIV-1 の動態把握のため、東京医科大学病院で新規に診断された HIV-1 感染者のサブタイプおよび薬剤耐性変異を調べることを目的とする。

（倫理面の配慮）

研究に参加する際に、すべて書面における同意を得ている。拒否は自由であり、拒否することで、診療面での不利益は生じないことを説明している。

### B. 研究方法

治療開始前の HIV 感染者で薬剤耐性検査を行っていた症例につき、診療録を参照し後方視的に調査した。薬剤耐性検査は主治医の判断により、Virco 社の genotyping 検査あるいは独立行政法人国立病院機構名古屋医療センターに依頼し検査を実施した。

### C. 研究結果

平成 26 年において 14 例の未治療 HIV 感染者に対し耐性検査を実施していた。1 例（7%）におい

て主要な薬剤耐性変異が認められた。逆転写酵素領域では K101E が 1 例、V179D が 1 例、M184V が 1 例で認められた。プロテアーゼ領域では L10V が 2 例、I15V が 4 例、M36I が 1 例、L63P が 3 例、A71V が 2 例、A71T が 2 例、V77I が 4 例、I93L が 3 例で認められた。インテグラーゼ領域の変異を有した症例は認めなかった。サブタイプは全例 B であった。

### D. 考察

临床上重要な耐性変異を示す症例は限られており、インテグラーゼ領域の耐性を示す症例は認めない。

### E. 結論

治療開始前の症例における耐性 HIV-1 感染の状態を把握し適切な抗ウイルス療法を実施するため、今後も引き続き薬剤耐性検査を実施する必要があると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的所有権の出願・取得状況

なし

## 抗 HIV 薬の薬物動態に関する臨床研究

～抗 HIV 薬血中濃度モニタリング～

研究分担者 吉野 宗宏 (独) 国立病院機構姫路医療センター薬剤科

研究協力者 加藤 真吾<sup>1</sup>、鯉淵 智彦<sup>2</sup>、矢倉 裕輝<sup>3</sup>、櫛田 宏幸<sup>3</sup>、富島 公介<sup>3</sup>、  
照屋 勝治<sup>4</sup>、土屋 亮人<sup>4</sup>、林田 庸総<sup>4</sup>、増田 純一<sup>4</sup>、水谷 実花<sup>5</sup>、  
高橋 昌明<sup>6</sup>、栞原 健<sup>7</sup>、今村 顕史<sup>8</sup>

<sup>1</sup> 慶應義塾大学医学部微生物学・免疫学教室

<sup>2</sup> 東京大学医科学研究所附属病院感染免疫内科

<sup>3</sup> 独立行政法人国立病院機構大阪医療センター薬剤科

<sup>4</sup> 独立行政法人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

<sup>5</sup> 独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター薬剤科

<sup>6</sup> 独立行政法人国立病院機構静岡てんかん・神経医療センター薬剤科

<sup>7</sup> 独立行政法人国立循環器病研究センター薬剤部

<sup>8</sup> 東京都立駒込病院感染症内科

### 研究要旨

- ① 研究班のホームページは平成 26 年 12 月末現在、通算アクセス数 18727 件、ID、パスワード取得者 266 名。平成 26 年 4 月～平成 26 年 12 月末までに研究班で測定した検体の測定件数は 594 件、27 施設からの利用があった。本研究班が提供する血中濃度測定システムは、臨床医が容易に血中濃度測定にアクセスできたことで、抗 HIV 療法の治療効果を高め、副作用の軽減に寄与できたものと思われた。
- ② LC-MS を用いた DTG の血中濃度測定法を新たに開発し、臨床での応用を開始した。DTG の血中濃度は、Cmin、Cmax : 0.079 ～ 4.012  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の濃度範囲において直線性が得られた。日本人 HIV-1 感染患者を対象とした DTG の血中濃度-時間曲線、Cmax 値、Cmin 値は、外国人を対象としたデータとほぼ一致した。
- ③ DTG、EVG、RPV、RAL、ETR、DRV、MVC 投与時における、日本人の薬物動態の検討を行った。DTG は、日本人健康成人単回投与と C24 値と比較し、ほぼ同様な値を示した。EVG は、現時点において、日本人健康成人単回投与時のデータより低値を示しており、データの集積が必要である。RPV、DRV は、海外データとほぼ同様な値を示す一方で、RAL、ETR は海外データより高値を示しており、今後はより多くのデータを集積・解析することで、長期の臨床効果について検討する必要があると考えられた。
- ④ 臨床現場において、抗 HIV 薬の血中濃度測定を検討する際の資料としての活用を目的に「抗 HIV 薬の血中濃度測定マニュアル」を作成し、ブロック・中核拠点病院へ配布した。今後は、研究班のホームページへ掲載し、ダウンロード可能の予定である。
- ⑤ 粉砕法により投与を行っている症例において、粉砕法および簡易懸濁法投与時のトラフ値、投与後 3,6 および 12 時間値の計 4 ポイントの血中濃度測定を行い、変更前後の薬物動態パラメータについて比較検討を行った。RAL および ETR のパラメータは IF や海外報告と比較して高値を示した。粉砕および簡易懸濁法間の薬物動態パラメータに大きな相違、HIV-RNA 量の上昇および検査値の大きな変動を来さなかったことから、RAL および ETR を粉砕法から簡易懸濁法に投与方法を変更しても、薬物動態に変化を来す可能性は低いものと考えられた。今後も引き続き症例の集積を行い、他の懸濁可能な薬剤についても検討予定である。

## A. 研究目的

プロテアーゼ阻害剤 (PI)、非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤 (NNRTI)、インテグラーゼ阻害剤 (INSTI) は HIV 感染症治療薬として広く使われ、めざましい改善をもたらした薬剤である。しかし、PI、NNRTI、INSTI の体内動態は、主に海外から報告されたもので、日本人でのデータが限られていることが問題とされている。また、近年発売されている抗 HIV 薬は、すべて希少疾病用医薬品として迅速承認の対象とされており、国内での治験を行わずに承認されている。本研究では、これら抗 HIV 薬の薬物動態について調査・検討し、日本人 HIV 感染症患者における抗 HIV 薬の血中濃度の推移について確認し、より適切な治療が行えるよう血中濃度測定に必要なデータを収集することで、抗 HIV 療法の治療効果を高めることを目的とする。

抗 HIV 薬の血中濃度測定は、HPLC や LC-MS 等の高度な専門機器や専門知識を有する人材が必要であることから、一般診療を行う施設での測定が難しい。国内の臨床医が簡便に血中濃度測定を行えるよう、ホームページを利用した血中濃度測定システムを構築・供給し、提供を行うことで抗 HIV 薬を安全に使用し、治療の効果を高めることを目的とした。

### 1. 研究班のホームページ (HP) について

研究班のホームページを開設し、国内で HIV 感染症治療を行う医師・薬剤師を対象として血中濃度測定が容易に測定できるシステムを構築し、血中濃度の臨床応用を可能にすると共に、血中濃度データを広く収集することを目的とした。

### 2. ドルテグラビルの血中濃度測定系の開発その薬物動態に関する検討

抗ドルテグラビルは、第 2 世代のインテグラーゼ阻害剤で 1 日 1 回投与が可能な新しい抗 HIV 薬であり、既存の抗 HIV 薬との組み合わせで高い HIV 増殖抑制効果が認められている。今回、LC-MS を用いたドルテグラビルの血中濃度測定法を新たに開発し、臨床での応用を開始した。

### 3. ドルテグラビル (DTG)、エルビテグラビル (EVG)、リルピビルン (RPV)、ラルテグラビル (RAL)、エトラビルン (ETR)、ダルナビル (DRV)、マラビロク (MVC) の血中濃度に関する検討

抗 HIV 薬は 1998 年 11 月 12 日医薬審発第 1015 号により、国内での治験は行わず、海外データのみで迅速承認申請が可能であることから、発売当初における日本人での体内動態や副作用発現率は不明である。

さらに Protease Inhibitor (PI) や Non Nucleoside

Reverse Transcriptase Inhibitor (NNRTI) は、Cytochrome P450 (CYP) の基質であると同時に、その活性を阻害・誘導する作用があるため、CYP で代謝される併用薬との間で様々な相互作用の問題がある。承認直後の抗 HIV 薬は、国内での安全で有効な使用方法が十分検討されていない上に情報は少ない。国内における均質かつ良質な抗 HIV 薬による治療を提供するためには、抗 HIV 薬の医薬品情報を初めとする様々な情報の収集・提供・共有化が求められる。今回、DTG、EVG、RPV、RAL、ETR、DRV、MVC 投与時における、日本人の薬物動態を明らかにすることを目的に検討を行った。

### 4. 血中濃度測定パンフレット作成

HIV 感染症の治療の成功は、患者の服薬アドヒアランスに大きく依存していることは周知の通りであり、有効な抗 HIV 療法も様々な副作用や薬物相互作用が出現すれば、服薬アドヒアランスが低下し、やがて服薬の中断あるいは治療失敗につながる事となる。また、薬剤耐性を獲得すれば、抗 HIV 薬の変更を余儀なくされ、結果として選択肢が狭まってしまふことになる。従って、抗 HIV 薬の有効性を保ちつつ、副作用・相互作用の出現を最小限度に留めることは臨床的意義がある。薬物動態学的観点から抗 HIV 薬の有効性を維持するためには、抗 HIV 薬の血中濃度を一定値以上に保つことと、副作用が発現した場合でも有効血中濃度内でのコントロールが求められる。抗 HIV 療法は、多剤併用療法が行われることに加え、抗 HIV 薬以外の薬剤を併用する機会も多く見られる。遺伝子多型など個々の薬物動態を十分に把握し、相互作用を理解すると共に、有効性・安全性の最適な管理を実現するためにも治療薬物モニタリング (TDM) は重要である。今回、臨床現場において、抗 HIV 薬の血中濃度測定を検討する際の資料としての活用を目的に「抗 HIV 薬の血中濃度測定マニュアル」を作成した。

### 5. 抗 HIV 薬の粉碎法と簡易懸濁法の体内動態に関する比較臨床研究

抗 HIV 薬は 1 剤あたりの有効成分量が多いため、剤形が非常に大きい。最近では、AIDS 脳症や進行性多巣性白質脳症等により、長期療養が必要な症例も増加傾向にある。このような、嚥下困難もしくは経管栄養の投与を必要とする場合は、従来、粉碎法により白湯等に混合した上で薬剤の投与を行ってきた。粉碎法のデメリットは粉碎する際に乳鉢等に有効成分が付着するため、元の剤形と比較すると投与量にロスが生じることや、粉碎することにより調剤者が飛散した有効成分を吸入するなどして曝露されることなどが考えられる。このようなデメリットを解決

すべく近年、簡易懸濁法による投与方法が考案され実施されている。これは、薬剤を粉砕せず 55℃の温湯 20mL 中に入れ、10 分間放置することにより、崩壊・懸濁させた後、37℃付近になった懸濁液を経管投与方法である。しかし、抗 HIV 薬において簡易懸濁法による有効成分の安定性および体内動態の変化の有無について検討がなされていない。

本研究は、粉砕法により抗 HIV 薬を服用している患者を対象に、服用法を簡易懸濁法に変更することにより、粉砕法との薬物体内動態について比較検討を行うことで、有効血中濃度を維持し、HIV-RNA 量を検出限界未満に抑制可能であることを確認することを目的とした。

## B. 研究方法

### 1. 研究班のホームページ (HP) について

研究班のホームページを利用した血中濃度測定提供システムは次の通り。血中濃度測定を希望する医師は氏名、所属施設等を HP に入力し ID、パスワードを取得する。測定希望薬剤名、本数等を入力し送信する。㊟ BML より測定依頼伝票、採血管等が郵送される。同時に血中濃度測定に関するプロトコール、報告用ケースカードが電子メールにて自動送付される。医師は患者血液を採取後、検体を㊟ BML に送る。同時に報告用ケースカードを研究班事務局に送信。結果は㊟ BML より医師・研究班事務局あてに郵送される。なお、MVC、NVP、RPV、EVG、DTG、COBI は名古屋医療センターで測定を行った (図 1)。

### 2. ドルテグラビルの血中濃度測定系の開発その薬物動態に関する検討

LC-MS を用いた DTG の血中濃度測定法を図 2 に示す。DTG の血中濃度-時間曲線、Cmax 値、Cmin 値を外国人データと比較した。

### 3. ドルテグラビル(DTG)、エルビテグラビル(EVG)、リルピビリン (RPV)、ラルテグラビル (RAL)、エトラビリン (ETR)、ダルナビル (DRV)、マラビロク (MVC) の血中濃度に関する検討

集積した各薬剤のトラフレベルの血中濃度を海外データと比較した。

### 4. 血中濃度測定パンフレット作成

抗 HIV 薬の血中濃度測定、測定方法の実際、CYP2B6 遺伝子多型の測定、血中濃度測定 Q&A、薬剤間相互作用のデータベースの項目について作成した。

### 5. 抗 HIV 薬の粉砕法と簡易懸濁法の体内動態に関する比較臨床研究

60 歳代、男性。糖尿病性腎症および脳出血後遺症のため、錠剤を粉砕した上で胃瘻より RAL および ETR の投与を行っていたが、長期療養先の投薬環境を考慮し簡易懸濁法へ変更。粉砕法および簡易懸濁法による投与時のトラフ、投与後 3,6 および 12 時間値の計 4 ポイントの血中濃度測定を行い、変更前後の薬物動態パラメータについて比較検討を行った。

## C. 研究結果

### 1. 研究班のホームページ (HP) について

研究班が開設したホームページは平成 26 年 12 月末現在、通算アクセス数 18727 件、ID、パスワード取得者 266 名 (図 3)。ホームページは、相互作用と情報掲示板の閲覧件数が多かった (表 1)。平成 26 年 4 月～平成 26 年 12 月末までに研究班が㊟ BML に委託し測定した検体の測定件数は 594 件で、27 施設 (大久保病院、岡山大学病院、沖縄県立中部病院、沖縄県立南部病院、鹿児島大学病院、京都第一日赤病院、京都大学病院、慶應義塾大学病院、国立東京病院、札幌医大病院、仙台医療センター、多摩北部医療センター、千葉大学病院、東京大学病院、獨協医科大学病院、富山県立中央病院、長崎大学病院、兵庫医大病院、広島大学病院、福井大学病院、北海道大学病院、山口大学病院、横浜市立市民病院、横浜市立大学病院、琉球大学病院) からの利用があった。件数の内訳は、RAL:84,DRV:44,TDF:120,RTV:28,ETR:2,RPV:20,MVC:10,EFV:22,LPV:7,EVG:19,ATV:7,FPV:3,COBI:12,DTG:216 であった。血中濃度測定件数の年度別推移と薬剤別血中濃度測定件数の年度別推移は図 4-6 の通りであった。

### 2. ドルテグラビルの血中濃度測定系の開発その薬物動態に関する検討

DTG の血中濃度は、Cmin、Cmax : 0.079 ~ 4.012  $\mu$ g/mL の濃度範囲において直線性が得られた (図 7)。

### 3. ドルテグラビル(DTG)、エルビテグラビル(EVG)、リルピビリン (RPV)、ラルテグラビル (RAL)、エトラビリン (ETR)、ダルナビル (DRV)、マラビロク (MVC) の血中濃度に関する検討

DTG (n=65) 中央値 (範囲) は、880(10 -3632) ng/mL、  
 EVG(n=22) 268(32-647)ng/mL  
 RPV (n=43) 68(23-407)ng/mL  
 RAL (n=288) 180(15-3140)ng/mL  
 ETR (n=50) 627(30-1914)ng/mL  
 DRV (n=211) 1659(95-11101)ng/mL  
 MVC (n=27) 141(12-857)ng/mL であった

(図 8-11)。

#### 4. 血中濃度測定パンフレット作成

作成したパンフレットをブロック・中核拠点病院へ配布した。

#### 5. 抗 HIV 薬の粉碎法と簡易懸濁法の体内動態に関する比較臨床研究

RAL の粉碎時におけるトラフ値および AUC はそれぞれ  $0.353(\mu\text{g/mL})$ 、 $24.3(\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL})$ 、簡易懸濁法による投与時では、 $0.359(\mu\text{g/mL})$ 、 $20.6(\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL})$  であった。ETR の粉碎時のトラフ値および AUC はそれぞれ  $0.464(\mu\text{g/mL})$ 、 $6.68(\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL})$ 、簡易懸濁法による投与時では、 $0.432(\mu\text{g/mL})$ 、 $5.96(\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL})$  であった (図 12-13)。

### D. 考察

#### 1. 研究班のホームページ (HP) について

今年度、研究班に血中濃度測定の依頼があった薬剤は主にドルテグラビル、ラルテグラビル、ダルナビル、テノホビルであった。測定件数の多い薬剤は、国内における治療の中心となる薬剤であることから、治療効果の確認等に貢献できたものと思われた。HP へのアクセス数や血中濃度測定依頼のためのパスワード取得者も年々増加傾向にあり、抗 HIV 薬の血中濃度測定に関する関心の高さが伺えた。新薬の治療効果を確実にするために、本研究班が提供する血中濃度測定システムは、有用な臨床データの提供を行ったものと思われた。臨床医が容易に血中濃度測定にアクセスできたことで、抗 HIV 療法の治療効果を高め、副作用の軽減に寄与できたものと思われた。

#### 2. ドルテグラビルの血中濃度測定系の開発その薬物動態に関する検討

in vitro での HIV-1 に対するドルテグラビルの IC50 値は、約  $0.5\text{nM}$  であり、これより高い血中濃度を維持することが臨床上望ましい。DTG の血中濃度は、外国人 HIV-1 感染患者に対する定常状態での解析結果において  $C_{\text{min}}: 1.11\mu\text{g/mL}$ 、 $C_{\text{max}}: 3.67\mu\text{g/mL}$  と報告されており、今回、 $0.079\sim 4.012\mu\text{g/mL}$  の濃度範囲において直線性が得られたこと、日内及び日間変動係数が小さく正確性も高いことから LC-MS による DTG の血中濃度測定は十分可能であると考えられる。また日本人 HIV-1 感染患者を対象とした DTG の血中濃度一時間曲線、 $C_{\text{max}}$  値、 $C_{\text{min}}$  値は、外国人を対象としたデータとほぼ一致した (図 14)。

#### 3. ドルテグラビル(DTG)、エルビテグラビル(EVG)、

リルピビルン (RPV)、ラルテグラビル (RAL)、エトラビルン (ETR)、ダルナビル (DRV)、マラビロク (MVC) の血中濃度に関する検討

DTG の日本人健康成人単回投与  $C_{24}(\mu\text{g/mL})$  は、 $0.73\pm 0.36$  であり、ほぼ同様な値を示した。EVG は、現時点において、日本人健康成人単回投与時のデータより低値を示しており、データの集積が必要である。RPV、DRV は、海外データとほぼ同様な値を示す一方で、RAL、ETR は海外データより高値を示しており、今後はより多くのデータを集積・解析することで、長期の臨床効果について検討する必要があると考えられた。

#### 4. 血中濃度測定パンフレット作成

抗 HIV 薬の血中濃度測定マニュアル作成により、臨床現場において、抗 HIV 薬の血中濃度測定を検討する際の資料としての活用を期待する。今後は、研究班のホームページへ掲載し、ダウンロード可能の予定である。

#### 5. 抗 HIV 薬の粉碎法と簡易懸濁法の体内動態に関する比較臨床研究

RAL および ETR のパラメータは IF や海外報告と比較して高値を示した。要因として、RAL の血中濃度は個人差が大きいことが報告されていることが考えられた。ETR のパラメータの相違については吸収等の個体差の範囲内であると考えられた。粉碎および簡易懸濁法間の薬物動態パラメータに大きな相違、HIV-RNA 量の上昇および検査値の大きな変動を来さなかったことから、RAL および ETR を粉碎法から簡易懸濁法に投与方法を変更しても、薬物動態に変化を来す可能性は低いものと考えられた。今後更なる症例の集積、検討を行う必要があるが、本検討の結果は RAL および ETR の簡易懸濁法による投与の確立に向けた一歩になるものと考えられた。

### E. 結論

本研究では、国内の臨床医が簡便に血中濃度測定を行えるよう、ホームページを利用した血中濃度測定システムを構築・供給し、提供を行うことで抗 HIV 薬を安全に使用し、治療の効果を高めることを実施することができた。

### F. 健康危険情報

該当なし

### G. 研究発表

#### 1) 原著論文

- Hiroki Yagura, Mayu Shibata<sup>1</sup>, Hiroyuki Kushida, Munehiro Yoshino, Izumi Nakata, Tomoko Uehira,

Shin-ya Morita, Takuma Shirasaka, Reiko Teraoka, Takeshi Kuwahara, Shuji Kitagawa, Thermal Stability of Tenofovir Disoproxil Fumarate in Suspension, Jpn J Pharm Health Care Sci, 40(4), 230-236, 2014.

2. 國本雄介, 吉野宗宏, 大石裕樹, 原田幸子, 井上正朝, 佐藤麻希, 内山真理子, 齋藤直美, 丸山一郎, 下川千賀子, 畝井浩子, 松本俊治, 増田純一, 千田昌之, 和泉啓司郎, 宮本篤: HIV 感染症診療における薬剤師介入が医療者側へもたらす効果に関する実態調査—エイズ治療ブロック拠点病院および ACC における検討—. 医療薬学. 40(8), 2014.

## 2) 口頭発表

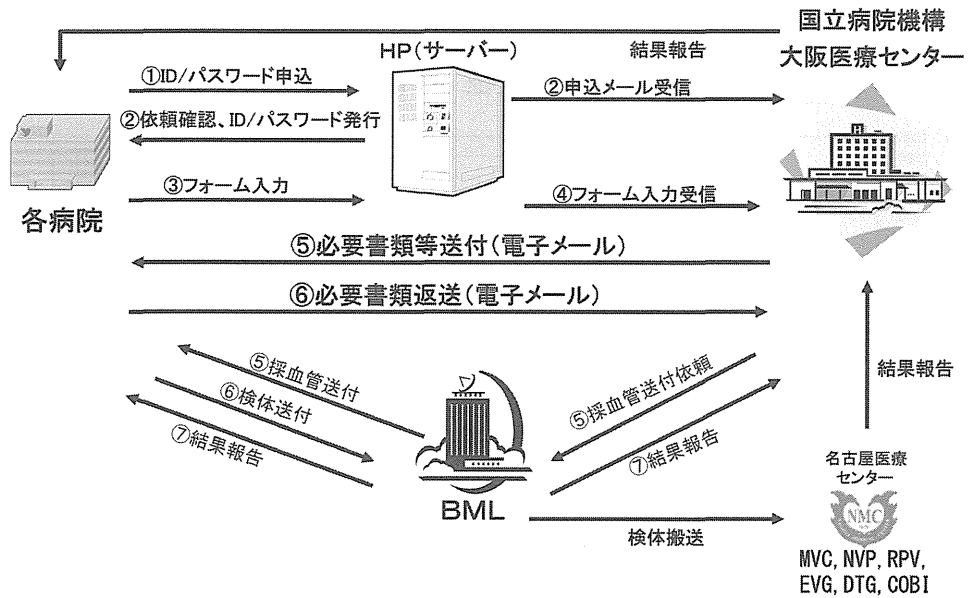
1. 矢倉裕輝, 吉野宗宏, 廣田和之, 伊熊素子, 小川吉彦, 矢嶋敬史郎, 笠井大介, 渡邊大, 西田恭治, 上平朝子, 白阪琢磨: Raltegravir および Etravirine を粉砕法および簡易懸濁法を用いて経管投与した症例の薬物動態に関する検討 第 88 回日本感染症学会学術講演会 第 62 回日本化学療法学会総会 合同学会, 福岡, 2014 年 6 月
2. 國本雄介, 吉野宗宏, 大石裕樹, 原田幸子, 井上正朝, 内山真理子, 齋藤直美, 丸山一郎, 下川千賀子, 畝井浩子, 松本俊治, 千田昌之, 増田純一, 佐藤麻希, 和泉啓司郎, 宮本篤: HIV 感染症診療における薬剤師介入が医療者側へもたらす効果に関する実態調査 第 24 回日本医療薬学会, 名古屋, 2014 年 9 月
3. 田中麻理子, 明石直子, 平岡暖子, 吉野宗宏, 田中三晶, 鏡亮吾: がん化学療法に伴う難治性吃逆に対してプレガバリンが有効であった一例 第 24 回日本医療薬学会, 名古屋, 2014 年 9 月
4. 小西敦子, 田中あゆみ, 金川明裕, 吉野宗宏, 橋本博史, 田中三晶: 当院における悪性神経膠腫治療においてテモゾロミドと放射線療法併用時のリンパ球数減少の傾向について 第 24 回日本医療薬学会, 名古屋, 2014 年 9 月
5. 吉野宗宏: 抗 HIV 薬の院外処方への取り組みと課題 47 回日本薬剤師会学術大会シンポジウム, 山形, 2014 年 10 月
6. 阿部憲介, 佐藤麻希, 小山田光孝, 神尾咲留未, 塚本琢也, 鈴木智子, 伊藤俊広, 畝井浩子, 吉野宗宏: 宮城県における学校薬剤師と病院薬剤師の連携による性感染症に関する予防啓発の検討 47 回日本薬剤師会学術大会, 山形, 2014 年 10 月
7. 明石直子, 田中麻理子, 平岡暖子, 吉野宗宏, 田中三晶: ジェムザ-ルザール注射用からゲムシタピン点滴静注液への変更時における血管痛の発現比較調査 第 8 回日本緩和医療薬学会年会, 愛媛, 2014 年 10 月
8. 保崎有紀, 吉野宗宏, 村田真弓, 藤井希代子, 白石幸子, 鏡亮吾, 勝田倫子, 水守康之, 田中三晶, 望月吉郎: 当院における Dolutegravir の使用成績 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会, 大阪, 2014 年 12 月: 当院における Dolutegravir の使用成績 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会, 大阪, 2014 年 12 月

9. 矢倉裕輝, 櫛田宏幸, 富島公介, 廣田和之, 伊熊素子, 小川吉彦, 矢嶋敬史郎, 笠井大介, 渡邊大, 西田恭治, 吉野宗宏, 上平朝子, 白阪琢磨: 当院におけるリルピビルン塩酸塩の使用成績 第 2 報 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会, 大阪, 2014 年 12 月
10. 山田瑛子, 高木律男, 矢倉裕輝, 吉野宗宏, 加藤真吾: 血中と唾液中のアタザナビル濃度の検討 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会, 大阪, 2014 年 12 月

## H. 知的所有権の出願・取得状況

該当なし





(図1) 依頼から検査結果報告までの流れ

**Chromatographic condition**

- HPLC : Waters Alliance 2695 HPLC
- Column : SunFire C18 column (3.5mm, 2.1×50mm, Waters)
- Column temperature : 40 °C
- Mobile phase :
  - A(%) : 0.1 mM EDTA in 0.1% acetic acid (65)
  - B(%) : 100% acetonitrile (15)
  - C(%) : 100% methanol (20)
- Gradient A%(min) = 65→10(2-10)
- Gradient B%(min) = 15→70(2-10)
- Flow rate : 0.2 mL/min
- Amount of injected sample : 5 μL

**Mass spectrometric condition**

- MS : Waters Micromass ZQ-2000 MS
- Mass spectrometer : Positive ion electrospray mode
- Capillary sprayer voltage : 3.5 kV
- Sample cone voltage : 30 V
- Source temperature : 120 °C
- Desolvation temperature : 350 °C
- Desolvation gas flow-rate : 600L/h
- Cone gas flow-rate : 50L/h

**Sample preparation**

Plasma 0.5 mL + methylene chloride/hexane (50:50, v/v)  
 containing the internal standard (A-86093, 0.328 μg/mL) 2 mL  
 + 0.2 M ammonium acetate 0.3 mL

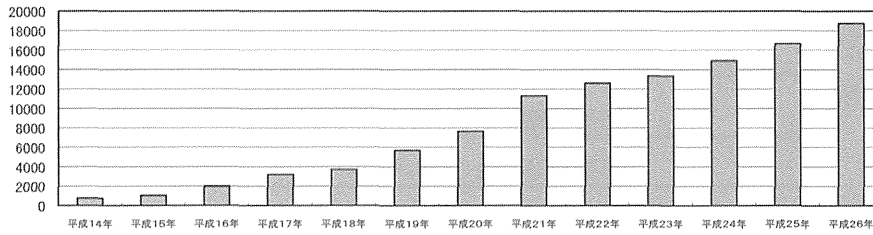
↓ vortex for 5 min  
 ↓ 3500 × g for 5 min

Upper layer  
 ↓ evaporate

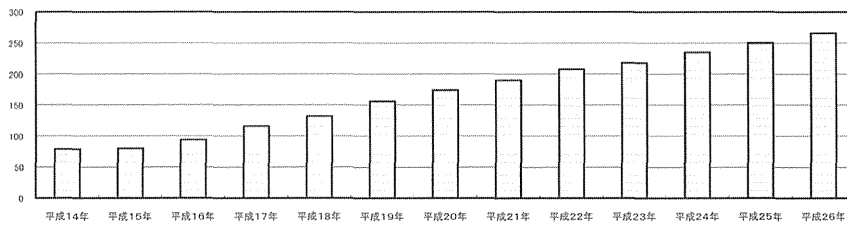
Dissolution in 50 μL of a mobile phase solution  
 ↓  
 5 μL Injection into the LC/MS system

(図2)

平成26年12月末現在 HPアクセス数 18,727

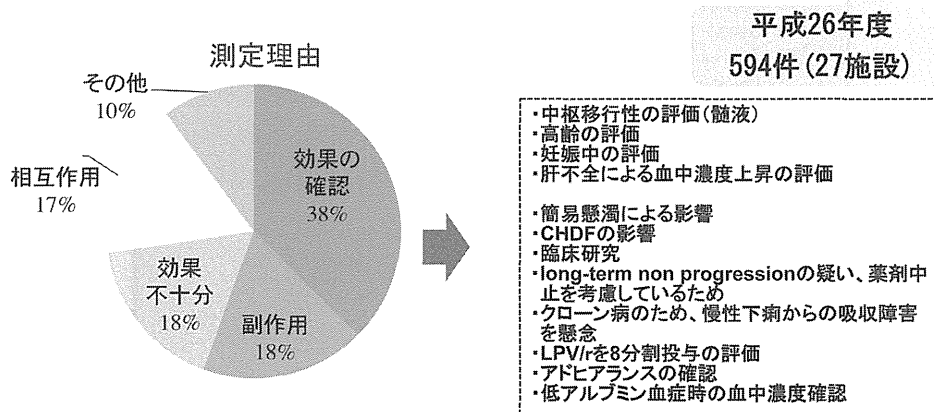
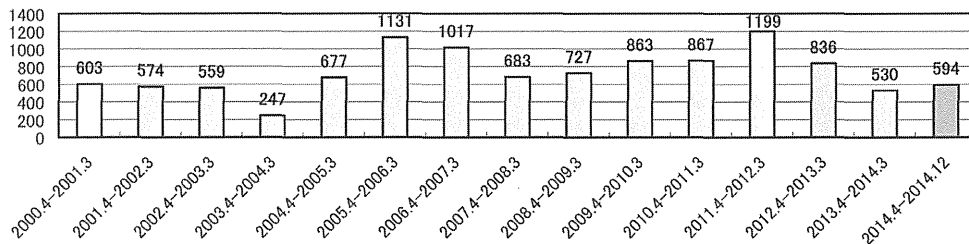


パスワード取得者数：266名

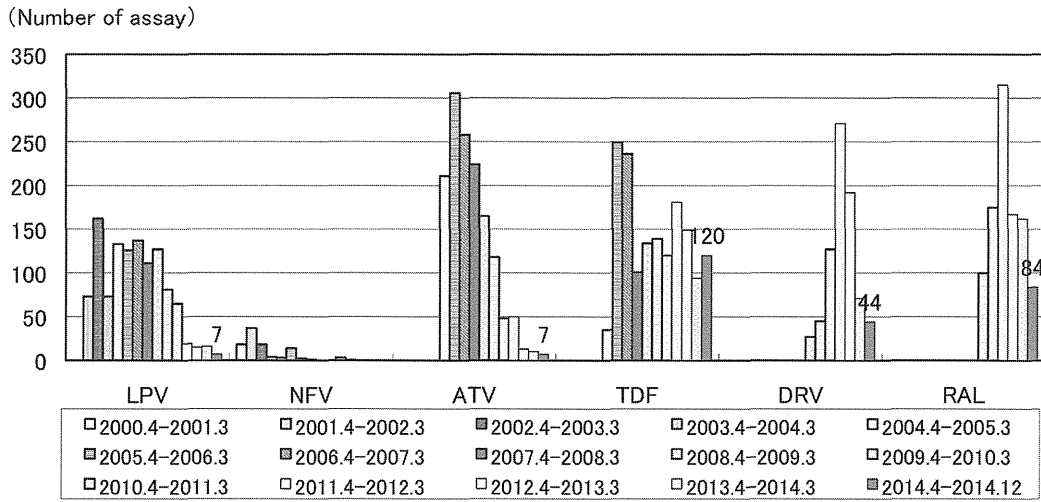


(図3) 研究班で開設したホームページの運用状況

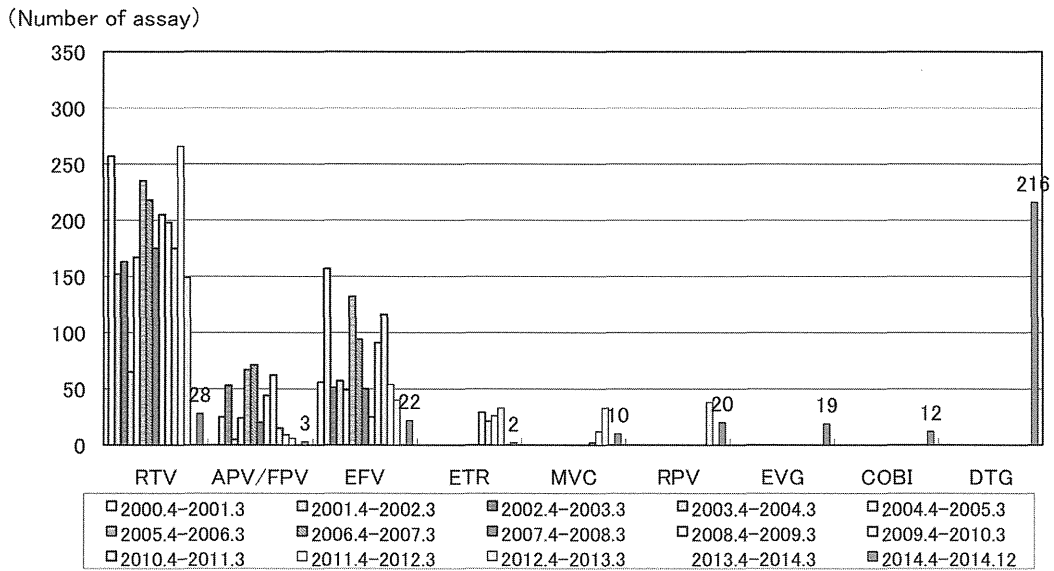
(Number of assay)



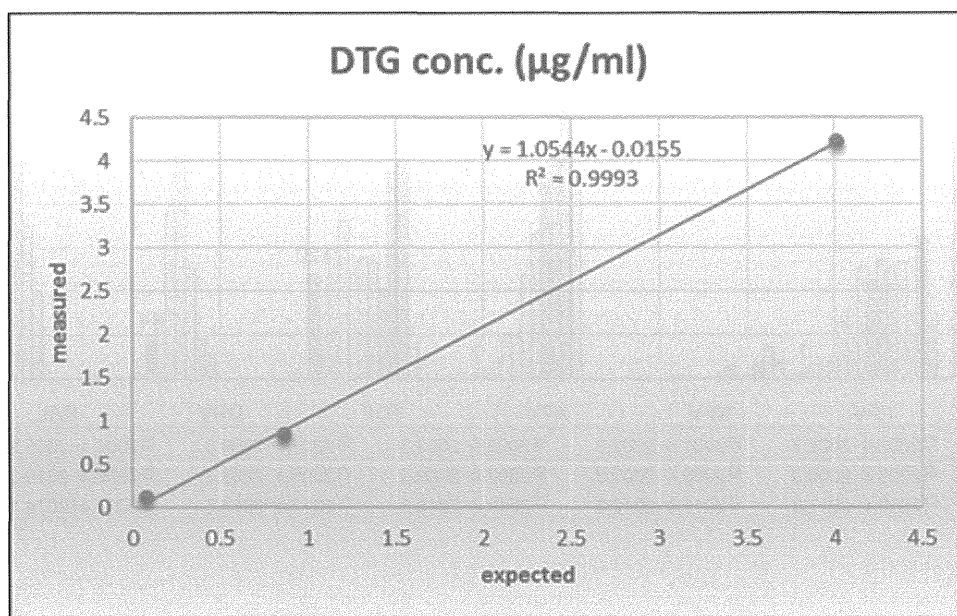
(図4) 血中濃度測定件数の推移 (総数)



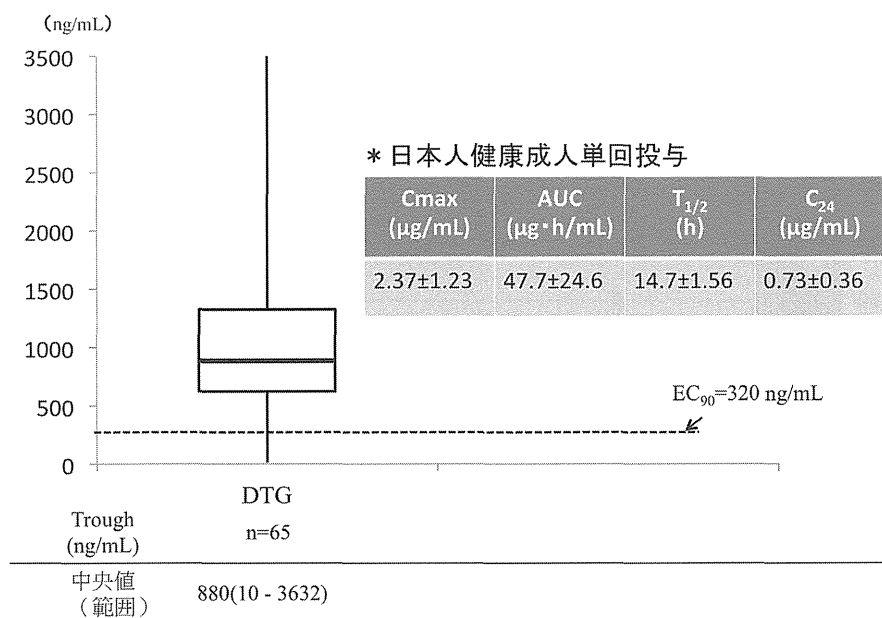
(図5) 血中濃度測定件数の推移 その1 (薬剤別)



(図6) 血中濃度測定件数の推移 その2 (薬剤別)



(図 7)



(図 8) DTG トラフレベルの血中濃度分布