



研究要旨

中国四国ブロックにおける薬剤耐性 HIV の動向調査研究 ～広島大学病院における未治療 HIV 感染者における薬剤耐性の解析～

研究分担者 **木村 昭郎** 広島大学原爆放射線医科学研究所血液・腫瘍内科 教授

研究協力者 **藤井 輝久**¹、**齋藤 誠司**²、**高田 昇**³

¹ 広島大学病院輸血部准教授・エイズ医療対策室 室長

² 広島大学病院輸血部助教・エイズ医療対策室

³ 広島文化学園大学看護学部 教授

未治療 HIV 患者における HIV の薬剤耐性関連変異について解析、検討した。本年度解析分では、明らかな耐性株保有者は 3 名であり、昨年より多かった。また今年はパートナー同士の薬剤耐性を検査する機会があり、それらの変異よりウイルスの自然変異のパターンを推測する可能性が示唆された。またインテグラーゼ領域には、あらたな耐性変異が多く出現していた。今後薬剤耐性のみならず指向性検査を行うにあたり、患者のウイルス量や結果の解釈が問題となることが予想された。

A. 研究目的

我々は、厚生労働省研究班「国内で流行する HIV 遺伝子型及び薬剤耐性株の動向把握と治療法の確立に関する研究」に参加している。そこで広島大学病院における新規 HIV 感染者において薬剤耐性検査を行い、中国四国ブロックにおいて流行している HIV 遺伝子型や薬剤耐性株を把握する目的で本研究を行った。また初診時におけるウイルス指向性も把握する目的で、年度途中よりウイルスジェノタイプ指向性検査も追加して行った。遺伝子型や薬剤耐性、指向性の結果について、後方視的に集計し考察を行った。

B. 研究方法

平成 22 年 12 月 1 日から平成 23 年 12 月 31 日までに広島大学病院を受診した HIV 感染者のうち、未治療者 14 名を対象とした。対象者に対して本検査の目的や方法などを文書によって検査前に説明し、初回は本人から書面で、2 回目以降は口頭で同意を得た。検体は研究協力者が記号化を行い、患者のプライバシーに触れることがないように配慮した。同意取得者より末梢血約 7mL を採血し、採血検体を国立病院機構名古屋医療センターに送付し、そこで HIV 薬剤耐性遺伝子型検査を行った。測定方法は既

報の方法で行われた。結果については本院で解析した。

解析の際、米国スタンフォード大学の HIV DRUG RESISTANCE DATABASE (<http://hivdb6.stanford.edu/index.html>) と、昨年度本研究事業成果の一部である HIV 薬剤耐性検査ガイドライン ver.5 を参照した。

さらに平成 23 年 8 月以降の新規未治療患者について、ウイルスジェノタイプ指向性検査についても口頭で説明し、承諾が得られた場合には前述の名古屋医療センターに検査を追加依頼した。検査の方法は、米国モノグラムバイオサイエンス社のフェノタイプ試験ではなく、Beerwinkel らの用いた遺伝子型より指向性を類推するものである。遺伝子型から X4 指向性の確率を評価する Geno2Pheno (coreceptor) (<http://coreceptor.bioinf.mpi-inf.mpg.de/>) を使い、CXCR4 (X4) 指向性の確率を False Positive として表示し、その値が 5% 以上 (cut off index) であれば CCR5 (R5) 指向性とした。

(倫理面への配慮)

検査が同一対象者で 2 回以上にわたる場合には、その都度説明し同意を得た。検体送付に際しては、研究協力者が連結可能匿名化を行い、患者のプライバシーに触れることのように配慮した。このため、

対象者 14 名全てより同意が得られた。

C. 研究結果

対象者の概略

期間内の初診患者は 16 名であり、そのうち 5 名が既に前医で治療中であり 11 名が未治療患者であった。対象者 14 名であるが、そのうち 3 名は前年初診であり、治療前 2 回目の検査であった。全員日本国籍であり、全ての患者で HIV 薬剤耐性遺伝子検査を施行し得た。またジェノタイプ指向性検査は 5 名施行した。薬剤耐性遺伝子変異のプロファイルを表 1 に示す。

薬剤耐性遺伝子変異について

14 検体のうち、HIV 薬剤耐性検査ガイドライン ver.5 などと照らし合わせ、明らかに薬剤耐性ウイルスであったものが 3 例見られた (表 1)。そのうち No. 6 と No. 7 は両者ともプロテアーゼ領域に L10I, G16E, D60E, H69K, L89I の変異があり、Atazanavir, Tipranavir 耐性と考えられた。また薬剤耐性関連変異ではないものの、プロテアーゼ領域の変異は両者同一であり、かつ逆転写酵素領域、インテグラーゼ領域の変異も酷似していた。それらの領域における両者の差は、逆転写酵素領域で、No.6 が I47F, E204K、No.7 が D237N、インテグラーゼ領域で、No. 6 が Y83N, W108R の付加が見られるのみで、他は同一であった。さらにこの両者のウイルスサブタイプは AE であった。

逆転写酵素領域では、Thymidine Analog Mutation (TAM) と呼ばれる一連の遺伝子変異 (M41L, D67N, K70R, L210W, T215F/Y, K219Q/E) は、全例検出されなかった。Tenofovir 耐性と言われる K65R

や Lamivudine, Emtricitabine 耐性と言われる M184V, Nevirapine, Efavirenz 耐性と言われる K103 の変異などは、未治療者であるためか検出されていない。しかし 1 例のみ、Etravirine 耐性関連変異と考えられる V179D が検出された。逆転写酵素領域の全体の傾向として耐性変異はほとんど認められなかった。一方で、プロテアーゼ領域では今年も多くの変異が検出された。今年度の症例では、L10V, I15V, M36I/L, I62V が目立つ変異であった。昨年多くの症例で検出された R41K は、今年全く検出されなかった。前述の 2 例以外の薬剤耐性ウイルスは M46I, V77I であり、Indinavir 耐性と判断された。インテグラーゼ領域の変異は E157Q が 1 例であったが、V72I が 8 例認められた。表 2 に主な耐性関連変異の年次推移を示す。

ウイルス指向性について

5 例のうち 4 例でウイルス増幅に成功し検査し得た。増幅不可であった 1 例の血中ウイルス量は 290 コピー /mL と非常に低値であった。4 例全て R5 指向性であった。

D. 考察

未治療 HIV 感染者の結果について、今年の薬剤耐性株は 14 例中 3 例であり、症例数は少ないものの過去最高の頻度であった。しかしうち 2 例はパートナー同士での感染であった (表 1 中 No. 6 と No. 7)。この両者のサブタイプや薬剤耐性関連変異は同一で、かつ耐性関連以外の変異も酷似していた。両者の問診により、No. 6 が先行感染し No. 7 は性行為により No. 6 のウイルスに感染したことが想像された。先行感染と思われる No. 6 の方が、耐性関連以外の

表 1 2011 年に薬剤耐性検査を行った未治療 HIV 感染者の一覧とその変異

Case No.	プロテアーゼ領域変異	判定	逆転写酵素領域変異	判定	インテグラーゼ領域変異	判定
1	-	S	-	S	E157Q	S
2	A71V	S	-	S	-	S
3	-	S	-	S	-	S
4	L10V, M36I, I62V, L63P	S	-	S	-	S
5	M46I, I62V, L63P, V77I, L89I	R*1	V179D	S	V72I	S
6	L10I, G16E, M36L, D60E, I62V, H69K, L89I	R*2	-	S	-	S
7	L10I, G16E, M36L, D60E, I62V, H69K, L89I	R*2	-	S	-	S
8	I15V	S	-	S	V72I	S
9	L10V, I15V, A71V	S	-	S	V72I	S
10	I15V	S	-	S	V72I	S
11	M36I, I15V	S	-	S	V72I	S
12	I15V, V77I	S	-	S	V72I	S
13	I15V, I62V, A71V	S	-	S	V72I	S
14	I15V, I62V, A71T	S	-	S	V72I	S

判定の欄 S;感受性, R;耐性, R*1;Indinavir耐性, R*2;Atazanavir, Tipranavir耐性

表 2 未治療者初回検査における耐性関連変異の年次推移

年	症例数	逆転写酵素領域					プロテアーゼ領域										*1					
		T 69 S	K 103 N	V 179 D	L 210 W	K 219 Q	L 10 I/V	I 15 V	G 16 E	K 20 M/L/R	D 30 N	M 36 I/L	R 41 K	M 46 I/L	D 60 E	I 62 V	L 63 P	A 71 V/T	V 77 I	L 89 M/I	E 15 7Q	V 72 I
03	3			1	1													3				
04	10			1			2			1		2						3	3			
05	10						2			1		2						3	5			
06	3						2					1	3									
07	4						1						4					1	1			
08	9	1	1			1	1	2	1			1	3				1	1	3			
09	12	1					3	3	1			4						2	3			
10	16	1					3	10					6	3	1	2		5	4	2	1	
11	11			1			4	5	2			4			2	5	1	4	1	3	1	7
計	78	3	1	3	1	1	8	20	4	2	1	12	16	4	4	16	5	22	20	6	2	5

*1 インテグラーゼ領域

付加変異が多いこと、また No. 7 には No. 6 にはない変異が逆転写酵素領域の一つ付加されていることは興味深い。No. 7 には急性感染症状があった時期があり、感染時期が特定できた。それから逆算すると数ヶ月で一つ自然変異が起きたことになり、このデータは未治療 HIV 感染者における自然耐性獲得のスピードを予測する一つの材料になる可能性がある。今後は、未治療患者において定期的に遺伝子検査を行い、変異の付加をモニターすればさらに踏み込んだ考察ができるかも知れない。

薬剤耐性関連変異を持つ割合はプロテアーゼ領域に多く、全く変異の認められないものは 14 例中わずか 2 例であった。経時的に見るとこの 2、3 年では減少傾向であったが今年も多く、これは症例数の少なさによるものか、逆転写酵素領域の変異が格段に減っているように、プロテアーゼ領域も今後減少するものなのか注視する必要がある。14 例の患者は全て広島県内の患者であり、前述の 2 例を除いて変異パターンは類似しておらず、このエリアにおける耐性株の流行に対して特徴はない。また問診等で多くの感染者は広島県内に在住しているものの、大阪在住の者から、あるいは大阪での感染が疑われている。そのため、大阪の感染者の耐性関連変異プロファイルと照合することが必要と思われる。

昨年初めて E157Q の変異が検出されたインテグラーゼ領域であるが、今年 E157Q が 1 例、V72I が 7 例認められた。共に高度耐性変異ではないが、既知の薬剤耐性変異である Y143, Q148, N155 との関連がいかなるものか、この変異が先んじて出現するのかどうかデータの蓄積が必要になるとと思われる。

CCR5 阻害剤の Maraviroc が DHHS ガイドラインにおいて、未治療患者の ART のキードラッグとして acceptable regimen に追加されて 1 年経過した。本

院ではまだ使用経験はないが、そのウイルス抑制機序から考えると、未治療者特に新規感染者に適した薬剤であると想像される。またエイズ未発症者の多くは R5 指向性であるとする従来のデータもそのことを支持している。使用に当たっては、指向性検査をして R5 指向性を確かめて治療することとなり、従来は日本では実施していないフェノタイプ検査のみであった。しかし、名古屋医療センターがジェノタイプ検査を導入したことにより、より迅速な判定結果を得ることができるようになり、臨床での使用頻度は今後増加すると予想される。本院の症例は全例 R5 指向性であったが、1 例は血中ウイルス量が 290 コピー /mL と低値のため検査・解析し得なかった。そのため本検査研究のためには、それ以上のウイルス量が必要であることが示唆された。低ウイルス量感染者における検査解析をするためには、latent cell に潜む virion、つまりプロウイルス DNA などの細胞内ウイルス genome を template として核酸増幅し解析する必要と思われた。この方法が確立されれば、薬物治療中でウイルス抑制状態のある患者において、R5 指向性から X4 指向性への転換などをモニタリングすることが可能になるかも知れない。

本報告は「中国四国ブロックの…」としているが、実情は本院の患者の解析であり、必ずしも中国四国ブロック全体を示しているものではない。本院の症例は大阪での感染を疑わせる者が多いが、福岡に隣接している山口や四国地方では違った形での感染が想像され、ウイルスの耐性関連変異など差違があると思われる。本院で同様の検査研究を行っていない以上、本研究の意義を中国四国ブロック内のエイズ拠点病院に理解してもらい、研究協力機関を増やすべきであると考え。そのために、今後ホームペー

ジやブロック内での研究会・研修会などを通じて周知していきたい。

E. 結論

本院を受診した未治療 HIV 患者においてその薬剤耐性関連変異パターンを考察した。経年的にみると、今年に変異が増えており、明らかな耐性株保有者も3名認められた。また耐性関連以外の変異やウイルス指向性検査を見ることで、感染からの時間経過や病状進行を予測できる可能性が示唆された。今後さらさら研究を発展・継続するために、ブロック内の診療施設への宣伝活動が必要であると考えた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 発表論文

- 1) 齊藤誠司、鍵浦文子、喜花伸子、船附祥子、藤田啓子、畝井浩子、藤井輝久、高田昇、木村昭郎：HIV/HBV 重複感染症例における HBV に対する治療経験とその考察 日本エイズ学会雑誌 in press.

2. 学会発表

- 1) 服部純子、椎野禎一郎、湯永博之、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、今井光信、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、仲宗根正、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、渡邊 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頻度の動向 第25回日本エイズ学会学術集会（平成23年11月30日～12月2日 東京）
- 2) 齊藤誠司、鍵浦文子、藤井輝久、高田昇、木村昭郎：HIV 感染症に関連した甲状腺機能異常症8例の考察 第25回日本エイズ学会学術集会（平成23年12月30日～12月2日 東京）

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし