

中国四国ブロックにおける薬剤耐性HIVの調査研究

—広島大学病院で検出された未治療HIV感染者の薬剤耐性遺伝子変異とその特徴—

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** 広島大学病院輸血部准教授・エイズ医療対策室 室長
齋藤 誠司 広島大学病院輸血部助教・エイズ医療対策室
高田 昇 広島文化学園大学看護学部 教授

研究要旨

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。本年度解析分より、明らかな耐性株保有者は1名のみであった。しかし経年で見てみるとプロテアーゼ領域に、直接耐性に関与しないが既知の耐性変異と連動して出現する変異が分かってきた。またインテグラーゼ阻害薬やCCR5阻害薬についての検討も今後重要になっていくことが予想された。

A. 研究目的

未治療HIV感染者における薬剤耐性検査の遺伝子型結果について、後方視的に変異部位別の発生状況を集計し、考察を行った。

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。

B. 研究方法

平成22年1月1日から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24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、書面にて同意を得た者のみより末梢血約7mlを採血した。採血検体を国立感染症研究所に送付し、そこでHIV薬剤耐性検査を行った。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、昨年度本研究事業報告書であるHIV薬剤耐性検査ガイドラインver.4を参照した。

(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24名全てより同意が得られた。

C. 研究結果

(1) 対象者の概略

対象者はHIV感染症患者24名で検査回数は27回であった。外国人が1人で他は全て日本国籍であった。検査時の血中ウイルス量は、1,100コピー/mlから500,000コピー/mlに分布しており、全ての患者でHIV薬剤耐性遺伝子検査を施行し得た。重複3名を含む薬剤耐性遺伝子変異のプロファイルを表1に示す。

(2) 薬剤耐性遺伝子変異について

24名、27検体のうち、明らかに薬剤耐性ウイルスであったものは、1名1件のみであった。これはプロテアーゼ領域にM36I、H69K、L89Mの変異があり、Tiplranavir耐性と考えられた。またサブタイプはAであった。逆転写酵素領域では、前年度薬物治療で問題となると報告したT69Sが今年も1例検出された。

また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、別の患者で1例検出された。TDF耐性と言われるK65Rや3TC、FTC耐性と言われるM184V、NVP、EFV耐性と言われるK103の変異などは、未治療者であるため検出されていない。全体の傾向として耐性変異はほとんどなく、実際に変異検出率の低下にも反映している (図1)。一方で、プロテアーゼ領域では多くの変異が検出された。しかし前述したとおり、明らかな耐性変異は1例のみであった。今年度の症例で特に多い変異は、I15V、R41K、I62Vであった。I62VはSQV、ATVの二次変異であるが、I15V、R41Kは既知の耐性関連変異ではない。しかし、それぞれ8名、6名に検出され未治療者の約1/3、1/4に当たる。

インテグラーゼ領域の変異は、E157Q1名のみであった。
表2に主な耐性関連変異の年次推移を示す。

D. 考察

未治療HIV感染者の結果について、今年度の薬剤耐性株は24例中1例であったが、耐性関連変異を持つ割合はプロテアーゼ領域に特に多く16例に及んだ。それでも経時的に見るとこの2、3年では減少傾向である。逆転写酵素領域の変異が格段に減っているが、プロテアーゼ領域も今後減少するのかどうか注視する必要がある。一方で、東海・名古屋地域での患者で耐性変異が増えてきており、この現象は一時的なものかも知れない。その中でも既知の薬剤耐性変異ではないI15V、R41Kが増えており、それらは既知の耐性関連変異であるM36やL63などの変異を伴いやすい傾向が見られた。このことは一次変異のない

表1 2010年に薬剤耐性検査を施行した未治療HIV患者の一覧とその変異

| Case No. | VL (c/ml) | P変異領域 | RT領域変異 | I領域変異 |
|----------|-----------|--|---------|-------|
| 1 | 20,000 | - | - | - |
| 2 | 6,100 | - | - | - |
| 3 | 11,000 | - | - | - |
| 4 | 6,100 | L10I, L63P, V77I | - | E157Q |
| 5 | 500,000 | - | - | - |
| 6 | 370,000 | M36I, R41K, M46I, I62V | - | - |
| 7 | 9,000 | E35D, R41K, L63P | T69S | - |
| 8 | 140,000 | L10F, D30N, L33F, E35D, M36I, I62V, L63P, N88D | - | - |
| 9 | 1,100 | M36I, R41K, M46I | L210L/F | - |
| 10 | 6,300 | I62V | - | - |
| 11 | 260,000 | - | - | - |
| 12 | 180,000 | L10V, I15V | - | - |
| 13 | 24,000 | M36I, H69K, L89M | - | - |
| 14 | 280,000 | I15V, I62V, A71T | - | - |
| 15 | 970 | I15V, V77I | - | - |
| 16 | 4,100 | I15V, I62V | - | - |
| 17 | 53,000 | - | - | - |
| 18 | 4,400 | I15V, E35D, M36I, R41K, D60E, I62I/V, L63C | - | - |
| 19 | 300,000 | - | - | - |
| 20 | 23,000 | I15V, A71V | - | - |
| 21 | 96,000 | I15V, A71T, G37S | - | - |
| 22 | 61,000 | - | - | - |
| 23 | 230,000 | L10V, I15V | - | - |
| 24 | 99,000 | I15V, I62I/V, A71V | - | - |

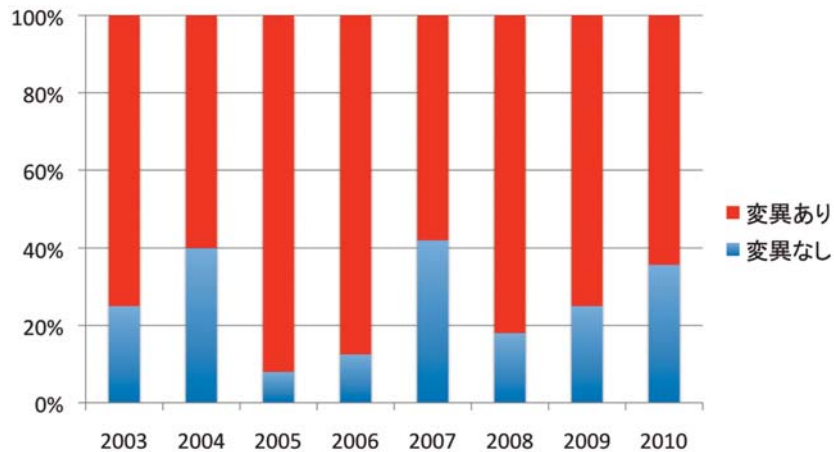


図1 未治療者における薬剤耐性関連変異頻度の年次推移

二次変異の出現に関し、何らかの影響があるのではないかと思われたが、想像の域を出ない。

今年度初めてインテグラーゼ領域にE157Qの変異が検出された。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思われる。

DHHSのガイドラインが2011年1月に改訂され、CCR5阻害剤のMaravirocがacceptable regimenに採用になった。Maravirocは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。今後その使用が増えて来た場合、HIVgp120C2V3領域の変異により獲得すると予想される耐性変異の研究が進むことを期待する。さらに前述の変異の意義についても理解を深めていくためには、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の解析が必要と思われる。

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。経年的に変異が増えていたが今年はその傾向に歯止めが掛かった。しかし一方で、プロテアーゼ領域において直接耐性に関与しないと思われる変異の増加が認められた。今後もさらに研究継続が必要であると考え。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 発表論文

Mihara K, Yanagihara K, Takigahira M, Imai C, Kitanaka A, Takihara Y, Kimura A: Synergistic and persistent effect of T-cell immunotherapy with anti-CD19 or anti-CD38 chimeric receptor in conjunction with rituximab on B-cell non-Hodgkin lymphoma. Br J Haematol 151(1): 37-46, 2010.

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、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、2003～2009年の新規HIV/AIDS診断症例における薬剤耐性頻度の動向、第24回日本エイズ学会学術集会（平成22年11月24日～26日、東京）
- 2) 太刀掛咲子、畝井浩子、関野由希、藤田啓子、齋藤誠司、藤井輝久、高田 昇、木村昭郎、木平

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 | 人 | 逆転写酵素領域 | | | | | | | プロテアーゼ領域 | | | | | | | | | | | | | |
|----|----|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|----------|----------|------------------|----------|----------|----------|------------|----------|----------|----------|----------------|----------|----------|---|
| | | T69 S | K103 N | V179 D | M184 V | L210 W | K219 Q | L10 I/V | I15 V | G16 E | K20 M/ I/R | D30 N | M36 I | R41 K | M46 I/L | D60 E | I62 V | L63 P | A71 V/ T | V77 I | L89 M | |
| 03 | 3 | | | 1 | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | 3 | |
| 04 | 10 | | | 1 | | | | 2 | | | 1 | | 2 | | | | | | | | 3 | 3 |
| 05 | 10 | | | | | | | 2 | | | 1 | | 2 | | | | | | | | 3 | 5 |
| 06 | 3 | | | | | | | 1 | | | | | 1 | 3 | | | | | | | | |
| 07 | 4 | | 1 | | | | | 1 | | | | | | 4 | | | | | | | 1 | 1 |
| 08 | 9 | 1 | | | | | | 1 | 3 | 2 | 1 | | | 1 | 3 | | | | 1 | | 1 | 3 |
| 09 | 12 | 1 | | | | | | | 3 | 3 | 1 | | | | 4 | | 1 | 1 | 2 | | 2 | 3 |
| 10 | 16 | 1 | | | | | | | | 10 | | | | 1 | 4 | 6 | 3 | 1 | 8 | 4 | 5 | 4 |
| 計 | 67 | 3 | 1 | 2 | 0 | 1 | 1 | 14 | 15 | 2 | 2 | 1 | 8 | 16 | 4 | 2 | 11 | 4 | 18 | 19 | 3 | |

健治、広島大学病院におけるラルテグラビルの使用状況と精神症状の副作用調査、第24回日本エイズ学会学術集会（平成22年11月24日～26日、東京）

- 3) 関野由希、藤田啓子、太刀掛咲子、畝井浩子、藤井輝久、齋藤誠司、木村昭郎、高田昇、木平健治、院外処方せん応需薬局における抗HIV薬処方に対する意識調査について、第24回日本エイズ学会学術集会（平成22年11月24日～26日、東京）
- 4) 喜花伸子、品川由佳、内野悌司、兒玉憲一、濱本京子、舩附祥子、鍵浦文子、藤井輝久、木村昭郎、広島県内の新規派遣カウンセラー養成の取り組み—HIV告知直後カウンセリングに携わる不安軽減を目指して—、第24回日本エイズ学会学術集会（平成22年11月24日～26日、東京）
- 5) 齋藤誠司、鍵浦文子、小川良子、藤井輝久、高田昇、木村昭郎、ART施行例における脂質異常症合併例の考察、第24回日本エイズ学会学術集会（平成22年11月24日～26日、東京）

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし