

中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 HIV 感染者における薬剤耐性の解析～

研究分担者 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
 研究協力者 齋藤 誠司 広島大学病院輸血部助教・エイズ医療対策室
 山崎 尚也 広島大学病院輸血部医科診療医・血液内科

研究要旨

本院受診中の未治療 HIV 感染者 16 人，治療中断者 1 人，ウイルス学的治療失敗者 1 人において HIV 薬剤耐性関連変異について解析・検討し，考察した。特にプロテアーゼ領域における変異は，数年前本邦で頻用されていた薬剤に対するものであり，今後は最近使用頻度の少なくなった薬剤の耐性関連変異株が流行する可能性が示唆された。また並行して行ったサブタイプと指向性検査では，全例サブタイプ B であるものの X4 指向性が増加している。

A. 研究目的

国内で流行している薬剤耐性ウイルスを全国レベルで把握するために，広島大学病院における未治療 HIV 感染者において薬剤耐性検査を行い，中国ブロックにおいて流行している HIV 遺伝子型（サブタイプ）や薬剤耐性株を推定することを本研究の目的とした。また未治療時または治療経過中におけるウイルス指向性の変化も把握する目的で，ウイルスジェノタイプ指向性検査も追加して行った。

B. 研究方法

平成 26 年 1 月 1 日から平成 26 年 12 月 31 日までに広島大学病院を受診した HIV 感染者を対象とした。対象者に対して本研究の目的や方法などを文書によって事前に説明し，初回は本人から書面で，2 回目以降は口頭で同意を得て末梢血約 7ml の EDTA 採血を行った。採血検体は著者または研究協力者が連結可能匿名化処理を行い，患者のプライバシーを保護するように配慮した。採血検体は国立病院機構名古屋医療センターに送付し，そこで HIV のサブタイプ解析及び薬剤耐性遺伝子型検査，またジェノタ

イプ指向性検査を行った。測定方法は既報の方法で行われた。結果について患者のプロファイルと照らし合わせ，本院で一部統計学的処理を行い解析した。

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，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. 8 を参照した。

ウイルスジェノタイプ指向性検査についても同様に口頭で説明し，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，Beerenwinkel らの用いた遺伝子型より指向性を類推するものであり，遺伝子型から X4 指向性の確率を評価する Geno2Pheno を用いて，CXCR4(X4) 指向性の確率を False Positive Rate(FPR) として表示した。今年度から 2011 年 European ガイドラインに従い，3 重測定の場合は，その最低値が 10% 未満 (cut off index) であれば CXCR4 (X4) 指向性と判定し，得られたサンプルが少なく 1 重測定の場合は，20% 未満を X4 と判定した。

期間中，検体採取し結果を得た症例数は，新規未治療 16 例，未治療再検 1 例，ウイルス学的治療失

敗例 1 例の計 18 例であった【表 1】。

(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、分担研究者また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抵触しないように配慮した。

C. 研究結果

(1) 対象者の概略

期間内の本院初診患者は 20 人であり、そのうち 6 人がエイズ発病の患者であった。そのうち本院受診時未治療者は 15 人で、うち 14 人より研究の同意を得て検体採取を行った。2013 年本院初診患者で 2014 年に同意取得し研究に参加した者が 2 人いた。さらに、半年以上抗 HIV 療法を自己中断し再受診を始めた者 1 人、未治療患者 1 人にも、再度文書によって説明し同意を得て検査を行った。また 2013 年に治療を開始したが、服薬アドヒアランス良好にも関わらず、血漿ウイルス量が数百コピー/ml を推移している者がおり、それも対象に加えた。性別は全員男性で、出生地も全員日本であった。現在の居住地は沖縄、徳島が、1 人ずつで、その他は全て広島県内であった。

(2) 薬剤耐性遺伝子変異について

薬剤耐性遺伝子変異のプロファイルを表 1 に示

す。HIV 薬剤耐性検査ガイドライン ver, 8 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は、今年は 1 例も認められなかった。しかし、プロテアーゼ領域に耐性関連変異を持たないものはなかった。平均薬剤耐性関連変異数は 3.88 であり昨年度より多かった。比較的頻度の多い変異は、L10V/I (5 例), I15V (9 例), I62V (7 例), L63P/A/T/S (14 例), A71V/T (8 例), V77I (7 例) であった。エイズ発病と未発病とで、変異数に特に有意な差は認めなかった (P=0.223)。

また逆転写酵素領域では、10 例に耐性関連変異を認め、うち 8 例が V179 の変異であった。エイズ発病者 6 例のうち 3 例が V179D の変異を有していた。また 1 例 L210W があったが、M41L, T215Y は伴っていなかった。インテグラーゼ領域は V74I/M が 2 例であり、他の意味のある耐性関連変異は認めなかった。

(3) ウイルス遺伝子型 (サブタイプ) について

サブタイプは全例 B であった。ここ何年か検出された O1_AE はなかった。症例 16 はプロテアーゼ領域の M36I を有していたが、これもサブタイプ B であった。

(4) ウイルス指向性について

18 例中 6 例が X4 指向性で、残りは全て R5 指向性であった。未治療再検例とウイルス学的治療失敗例はいずれも X4 指向性であり、かつ初診時(未治療)

表 1 期間中に研究班にて薬剤耐性検査を行った患者

No	Age	発病	Subtype	プロテアーゼ領域関連変異	#	RT領域 ^{*1}	#	I領域 ^{*2}	#	指向性 ^{*3}
1	43	○	B	I15V	S	V179D	S	-	S	R5(32.0%)
2	25	×	B	L10V, H69K/N/Q, L63P, A71T, V77I	S	V179I	S	-	S	R5(48.4%)
3	38	○	B	L10I, L63S, V77I	S	V179D	S	-	S	R5(31.0%)
4	40	×	B	I15V, L63P	S	V179E	S	-	S	X4(8.6%)
5	31	×	B	L10I, M36I, I62V, L63P, A71V,	S	V106I	S	-	S	R5(27.3%)
6	34	○	B	I15V, I62V, L63A/T	S	-	S	-	S	R5(17.3%)
7	48	×	B	I62V, A71T, V77I	S	V179E	S	-	S	R5(11.7%)
8	30	×	B	I15V, I62V, A71V	S	V179E	S	L74I/M	S	R5(19.4%)
9	43	×	B	I15V, I62V, L63A/T, A71T, L10V,	S	L210W	S	-	S	R5(26.2%)
10	32	×	B	I15V, M36I, L63T	S	V179E	S	-	S	R5(71.7%)
11	56	○	B	I15V, L63A/T, A71V	S	V179D	S	-	S	X4(5.1%)
12	40	×	B	L63P, H69R	S	-	S	-	S	X4(7.8%)
13	67	×	B	I15V, L63A	S	-	S	L74I/M	S	R5(95.8%)
14	30	×	B	I15V, D60E, L63T	S	-	S	-	S	R5(17.1%)
15	42	×	B	I62V, L63P, V77I	S	-	S	-	S	X4(7.8%)
16 ^{*4}	39	×	B	M36I, L63P, H69K, A71T, V77I	S	-	S	-	S	X4(7.4%)
17 ^{*5}	49	○	B	L63P, V77I	S	-	S	-	S	X4(0.8%)
18 ^{*6}	48	○	B	L10I, I62V, L63P, A71T, V77I	S	-	S	-	S	R5(86.2%)

感受性: S; sensitive, R; resistant

*1 逆転写酵素領域耐性関連変異, *2 インテグラーゼ領域耐性関連変異, *3 () 内は false positive rate

*4 未治療再検例 *5 ウイルス学的治療失敗例 *6 治療中断例

表 2 R5 → X4 指向性の患者プロフィール

No (年)	18 (2012)	19 (2012)	16 (2014)	17 (2014)
年齢	29	36	39	49
感染期間, 地域*1	約2年 大阪	約1年 広島	約2年 東京	約10年 不明(国内)
指向性変化の 期間	9ヵ月	9ヵ月	1年6ヵ月	10ヵ月
サブタイプ	AE	AE	B	B
耐性関連 変異(PI)	L10I, G16E, D60E, I62V	L10I, G16E, D60E, I62V	M36I, L63P, H69K, A71V, V77I	L63P, V77I
VL(c/ml)	280	310,000	10300	289
CD4(/ μ l)	496	693	664	64
ART	無	無	無	有
その他	9ヵ月前の変異 RT; V179I PI; K20R, M36I, L63P, D60E	9ヵ月前の変異 RT; V179I PI; G16E, M36I, D60E	1年6ヵ月前はウイ ルス量少なく耐性 変異は解析不可	10ヵ月前の変異 RT; V179D PI; I15V, I62V, L63P, H69Y, V77I

*1患者からの聴取による

には R5 指向性であった。治療自己中断例は R5 指向性であったが、未治療初診時にはウイルス指向性検査は施行できない時期だったため、以前との比較はできなかった。

エイズ発病例と未発病例の false positive rate を比較したが、両群に有意な差は認めなかった ($p=0.925$)。また年齢と false positive rate, プロテアーゼ領域の変異数に有意な相関は認めなかった。表 2 に、2012 年からの 3 年間に 2 回以上指向性検査を行い、R5 から X4 指向性に変化した 4 例のプロファイルを示す。4 例中 2 例はサブタイプ AE であった。

D. 考察

未治療 HIV 感染者の結果について、今年の薬剤耐性率は昨年に続き 0% であり、薬剤耐性株は広島県その周辺では少ないことが想像される。しかし、一方で primary mutation ではないものの、プロテアーゼ領域の薬剤耐性関連変異は多くの症例で認められている。今年よく見られたのは、L10, I15, I62, L63, A71, V77 の変異であった。特に I15V, I62V, V77I の増加は大きな特徴である。昨年 9 例と多く見られた L63P は lopinavir に特異的な耐性関連変異であるが、今年も 8 例で、かつ P 以外への変異も多く見られた。これはカレトラに使用歴のある者からの感染を疑わせる事象である。カレトラは genetic barrier が高く耐性を獲得しにくいとされるが、近年その副作用から敬遠され、かつ DHHS や日本のガイ

ドラインからも第一選択ではなくなっている。そのため、現在の使用頻度は低いと予想されるが、逆に未治療者においては当分の間多く見られる耐性変異かも知れない。同様に V77I は、以前第一選択で頻用された saquinavir, indinavir, nelfinavir 耐性関連変異であるが、現在これらの薬剤の使用は皆無に近い。

一方 L10V は nelfinavir, darunavir 以外の非特異的なプロテアーゼ阻害剤耐性関連変異であるが、現在頻用されているプロテアーゼ阻害剤は darunavir であり、他のプロテアーゼ阻害剤の使用は減少していることから、治療選択に困ることはない。

以上を踏まえると、プロテアーゼ領域の耐性変異の推移は、数年前の本邦での使用頻度が高い「トレンド」な薬剤を見ている可能性が示唆される。この仮説が正しければ、今後は atazanavir 耐性関連変異である G16 や D60, I64 の変異が増えて行くかも知れない。また今年多く報告された I15V については、米国スタンフォード大学の HIV DRUG RESISTANCE DATABASE では耐性関連変異とは見なされていない。ただ耐性関連変異数が少ない症例において(表 1: No.1,4,13 など) よく見られ、変異数が増えると消失していくように見える(表 1: No.2,5,18 など)。プロテアーゼ領域における耐性関連変異の始まりを示すものかも知れず、今後症例を蓄積して注視すべき変異と言えよう。

逆転写酵素領域の耐性関連変異がみられたものは 10 例で、うち 8 例が V179 である。HIV DRUG RESISTANCE DATABASE によると V179D は、

efavirenz 治療歴のある患者における polymorphic なアクセサリ遺伝子としている。そのため etravirine のみならず、強さの違いはあれ他の非核酸系逆転写酵素阻害剤全てに耐性を有している可能性がある。Efavirenz は 10 年以上にわたり、抗レトロウイルス療法キードラッグの第一推奨薬であり使用経験者は多い。しかし日本ではその副作用から敬遠されている薬剤であり、前述の各種プロテアーゼ阻害剤同様、使用頻度は減少している。とはいえ、無条件第一推奨ではないもののその飲みやすさより使用量が増えている rilpivirin や、救済療法の薬剤として不可欠な地位を持つ etravirine に耐性を獲得している、またはする可能性が高いと考えられ、注目すべき変異である。また今年には V106I が初めて検出された。これは etravirine に特異的な耐性関連変異であるが、今後 179 の変異などいくつかの変異が重なれば耐性を獲得する可能性がある。

インテグラーゼ領域であるが、今年には L741/M が 2 例検出された。これは 2013 年版 IAS-USA では raltegravir 耐性関連変異とされており、かつ in vitro では elvitegravir 耐性関連とも言われている。いずれにしても中～高度耐性ではないが、raltegravir の使用量が 2-3 年前多かったことを考えると、今後同様の耐性関連変異が出現、蓄積される可能性を示唆している。

X4 指向性は 6 例であり、前年度に比べ例数、比率とも増加したが、特にエイズ発病との関連性は見いだせなかった。昨年サブタイプ AE は容易に R5 指向性から X4 指向性へ変化しうる、といった仮説を提唱した。しかし、今年度はサブタイプ AE の症例はおらず、症例の蓄積は次年度へ先送りとなった。但し同一症例で観察期間中に R5 指向性から X4 指向性へ変化した例を検討した。2 年弱の経過の中で、該当例は 4 例で 2 例がサブタイプ AE であり、2 例は B であった (表 2)。サブタイプ AE 2 例はゲイのカップルであり、患者からの聴取より No.18 より No.19 へウイルス伝播があったことが確認された珍しいケースである。薬剤耐性関連変異も酷似しており、前述のことを示唆する所見が得られているが、ウイルス量は No.19 が非常に多い。しかし、その 1 例を除けばウイルス量が非常に少ないのが特徴と言える。昨年の報告書で「R5 指向性例に比べ高ウイルス量かどうかの検討は、症例の蓄積を待たないといけない。」としたが、逆の結果を出る可能性はある。

また今年度から、false positive rate (FPR) の考え方を変更し、従来の German-Austrian ガイドラインから、2011 年 European ガイドラインに準拠することとした。そのため X4 指向性が症例数、比率共に

増加したとする反論はあるかも知れない。しかし FPR の値を見ると、従来の cut off 値 (20%) を使用しても全例 X4 指向性となっていた。2011 年 European ガイドラインは cut off 値が下がっており、むしろ R5 指向性と判定しやすい基準である。さらに、cut off 値を 5.75% とすべき専門家もいる。しかし、元来指向性検査は、CCR5 阻害剤である Maraviroc を使用すべきかどうか臨床医が判断するために必要な検査である。そのため、実際には Maraviroc の効果が低いにも関わらず有用性が高い (X4 指向性なのに R5 指向性)、と誤判定されるリスクをなくすためにも、現在の基準がよいのではないかと思われる。今後検討されるべき事項である。

E. 結論

本院を受診中の HIV 感染症患者において、そのウイルスサブタイプや指向性、薬剤耐性関連変異パターンについて考察した。プロテアーゼ領域の耐性関連変異は、数年前第一推奨とされた薬剤に対するものが多く出現しており、今後は atazanavir や efavirenz 耐性関連変異が出現する可能性を示唆された。今後もさらに研究を継続・発展させるために、中国ブロック内のエイズ拠点病院、中核拠点病院に、この研究の意義をよく理解していただき、参加する施設を増やしていく必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) 学会発表

1. 齊藤誠司、山崎尚也、藤井輝久、鍵浦文子、藤井健司、藤田啓子、畝井浩子、大毛宏喜：診断の遅れからエイズ指標疾患を発症し、輸血前感染症検査にて診断に到った HIV/AIDS の 3 症例 . 第 88 回日本感染症学会学術講演会 . [感染症学会誌 .2014;88:362]2014 年 6 月 18 日 -19 日 . 博多
2. 鍵浦文子、木下一枝、山崎尚也、齊藤誠司、藤井輝久、高田昇：広島大学病院に通院する HIV 感染者の梅毒治療の現状 . 第 88 回日本感染症学会学術講演会 . [感染症学会誌 .2014;88:364]2014 年 6 月 18 日 -19 日 . 博多
3. 藤田啓子、藤井健司、畝井浩子、鍵浦文子、藤井輝久、齊藤誠司、山崎尚也、高田昇、木平健治：広島大学病院における抗 HIV 療法のレジメン変更状況～バックボーンについて～ . 第 88 回日本感染症学会学術講演会 . [感染症学会誌 .2014;88:365]2014 年 6 月 18 日 -19 日 . 博多
4. 藤井健司、藤井輝久：当院におけるスタリビルド配合錠使用例の報告 . 第 24 回日本医療薬学会年会 .2014 年 9 月 27 日 -28 日 . 名古屋

5. 山崎尚也、齊藤誠司、藤井輝久：細菌性心外膜炎を発症し診断に至った HIV 感染例 . 第 36 回広島感染症研究会 . 2014 年 11 月 29 日 . 広島
 6. 齊藤誠司、木下一枝、小川良子、喜花伸子、浅井いづみ、塚本弥生、藤井健司、藤田啓子、畝井浩子、山崎尚也、藤井輝久、高田昇：広島大学病院における中枢神経病変合併 HIV 感染者の現状と課題 . 第 28 回エイズ学会学術集会 . [日本エイズ学会誌 . 2014;16(4):449] 2014 年 12 月 3 日 -5 日 . 大阪
 7. 岡崎玲子、蜂谷敦子、服部純子、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、内田和江、椎野禎一郎、加藤真吾、千葉仁志、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、岩谷靖雅、松田昌和、重見麗、保坂真澄、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、高田清式、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 28 回エイズ学会学術集会 . [日本エイズ学会誌 . 2014;16(4):453] 2014 年 12 月 3 日 -5 日 . 大阪
 8. 藤井輝久、齊藤誠司、山崎尚也、小川良子、木下一枝、藤井健司、藤田啓子、畝井浩子、高田昇：ART 導入例におけるレジメンとウイルス量及び CD4 数の変化の関係 . 第 28 回エイズ学会学術集会 . [日本エイズ学会誌 . 2014;16(4):465] 2014 年 12 月 3 日 -5 日 . 大阪
 9. 山崎尚也、木下一枝、小川良子、喜花伸子、浅井いづみ、塚本弥生、藤井健司、藤田啓子、畝井浩子、齊藤誠司、藤井輝久、高田昇 広島大学病院における HIV 感染者の骨代謝異常の現状と原因の検討 . 第 28 回エイズ学会学術集会 . [日本エイズ学会誌 . 2014;16(4):469] 2014 年 12 月 3 日 -5 日 . 大阪
 10. 木下一枝、喜花伸子、塚本弥生、齊藤誠司、小川良子、藤井健司、畝井浩子、山崎尚也、藤井輝久、高田昇：知的能力障害を有する HIV 患者への療養支援一週間に HIV 感染を告知しないことを選択した一事例一 . 第 28 回エイズ学会学術集会 . [日本エイズ学会誌 . 2014;16(4):525] 2014 年 12 月 3 日 -5 日 . 大阪
 11. 池田和子、若林チヒロ、岡本学、渡部恵子、遠藤知之、伊藤ひとみ、伊藤俊広、川口玲、田邊嘉也、羽柴知恵子、横幕能行、高山次代、上田幹夫、下司有加、白阪琢磨、木下一枝、藤井輝久、城崎真弓、山本政弘、岡慎一、生島嗣：ブロック拠点病院と ACC における「健康と生活調査」－ HIV 治療と他疾患管理の課題一 . 第 28 回エイズ学会学術集会 . [日本エイズ学会誌 . 2014;16(4):565] 2014 年 12 月 3 日 -5 日 . 大阪
 12. 大金美和、池田和子、若林チヒロ、坂本玲子、遠藤知之、伊藤ひとみ、伊藤俊広、川口玲、田邊嘉也、羽柴知恵子、横幕能行、山田三枝子、上田幹夫、下司有加、白阪琢磨、鍵浦文子、藤井輝久、城崎真弓、山本政弘、岡慎一、生島嗣：ブロック拠点病院と ACC における「健康と生活調査」－自覚症状とメンタルヘルス一 . 第 28 回エイズ学会学術集会 . [日本エイズ学会誌 . 2014;16(4):566] 2014 年 12 月 3 日 -5 日 . 大阪
 13. 岡本学、生島嗣、大金美和、坂本玲子、遠藤知之、伊藤ひとみ、伊藤俊広、川口玲、田邊嘉也、羽柴知恵子、横幕能行、山田三枝子、上田幹夫、下司有加、白阪琢磨、鍵浦文子、藤井輝久、城崎真弓、山本政弘、岡慎一、若林チヒロ：ブロック拠点病院と ACC における「健康と生活調査」－就労と職場環境一 . 第 28 回エイズ学会学術集会 . [日本エイズ学会誌 . 2014;16(4):580] 2014 年 12 月 3 日 -5 日 . 大阪
 14. 生島嗣、岡本学、池田和子、渡部恵子、遠藤知之、伊藤ひとみ、伊藤俊広、川口玲、田邊嘉也、羽柴知恵子、横幕能行、高山次代、上田幹夫、下司有加、白阪琢磨、木下一枝、藤井輝久、城崎真弓、山本政弘、岡慎一、若林チヒロ：ブロック拠点病院と ACC における「健康と生活調査」－薬物使用の状況一 . 第 28 回エイズ学会学術集会 . [日本エイズ学会誌 . 2014;16(4):580] 2014 年 12 月 3 日 -5 日 . 大阪
 15. 岩田倫幸、柴秀樹、松井加奈子、新谷智章、岡田美穂、濱本京子、畝井浩子、齊藤誠司、高田昇、藤井輝久：広島大学病院が実施した HIV 歯科診療体制構築事業後のアンケートから伺える課題 . 第 28 回エイズ学会学術集会 . [日本エイズ学会誌 . 2014;16(4):582] 2014 年 12 月 3 日 -5 日 . 大阪
 16. 若林チヒロ、池田和子、岡本学、渡部恵子、遠藤知之、伊藤ひとみ、伊藤俊広、川口玲、田邊嘉也、羽柴知恵子、横幕能行、高山次代、上田幹夫、下司有加、白阪琢磨、木下一枝、藤井輝久、城崎真弓、山本政弘、岡慎一、生島嗣：ブロック拠点病院と ACC における「健康と生活調査」－基本的属性と感染判明後の生活変化一 . 第 28 回エイズ学会学術集会 . [日本エイズ学会誌 . 2014;16(4):620] 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