

総説

未治療HIV感染者における薬剤耐性株の動向

近藤真規子

Surveillance of Drug-resistant HIV in patients newly diagnosed with HIV/AIDS in Japan

Makiko KONDO

Key Words : HIV, drug-resistance, mutation,
combination antiretroviral therapy,
Transmitted drug resistance HIV

はじめに

HIV感染者の治療は多剤併用療法 (combination antiretroviral therapy: cART) の普及により飛躍的に進歩し、HIV感染者の病態の進行をコントロールすることが可能となった。その一方で、薬剤の長期投与に伴い薬剤耐性HIV株を保有する感染者が増加し、新規感染者が薬剤耐性株に感染している症例も見つかってきている。新規HIV診断症例における薬剤耐性ウイルスの疫学的調査研究は欧米各国で行われているが、その頻度は地域や集団により異なり、数%から24%と広い分布を示している¹⁾。日本では「HIV薬剤耐性研究班」が2003年に立ち上がり、新規診断症例における薬剤耐性症例の全国調査が実施されている。検出される薬剤耐性変異には年ごとに増減はあるものの徐々に増加し、現在では新規感染症例の10%前後に何らかの耐性変異が観察されている^{2,3,4)}。神奈川県衛生研究所では2004年より本調査に参加し、首都圏を中心とする未治療のHIV感染者について薬剤耐性検査を実施し、国内におけるHIV耐性変異株の実態把握に貢献している。本稿では薬剤耐性検査の変遷とともに当所でこれまで実施してきた調査結果を合わせて紹介する。

薬剤耐性検査の必要性

HIVは感染者体内で活発に増殖し、その産生量は1日当たり $10^9 \sim 10^{10}$ に達するが⁵⁾、逆転写の精度が低いため、複製エラーが高い頻度 ($10^{-4} \sim 10^{-5}$) で起こる⁶⁾。そのため、未治療下においても何らかの変異を有するウイルスが日々生まれ、この中には薬剤耐性変異を持つクローンも潜在しており、ARTsを行うことにより耐性クローンが選択されて顕在化すると考えられている。

HIVの治療には、次の4つの作用機序に働く抗HIV薬が実用化されている (図1, 表1)。

①HIV粒子と宿主細胞表面に発現しているケモカインレセプターCCR5との結合を阻害する。

②ウイルスRNAからDNAに逆転写する逆転写酵素を阻害する。

③HIV・DNAを宿主細胞DNAに組み込むインテグラーゼを阻害する。

④プロテアーゼによるウイルス蛋白の切断・成形を阻害する。

薬剤耐性検査は主に血液中に存在するHIVの薬剤感受性を推測する検査であり、genotype (遺伝子型) 検査と phenotype (表現型) 検査の2つの方法がある。現状では genotype 検査が主流であり、本法は患者血液中のHIV粒子から直接HIV・RNAを抽出し、ウイルス遺伝子のターゲット領域をRT-PCR法で増幅後、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定し、各種データベースや評価アルゴリズムを用いて、アミノ酸の変異パターンから各種薬剤に対する耐性の度合いを評価する方法である。抗HIV薬剤に関連する薬剤耐性変異リストが International Society USA⁷⁾より報告されており、ほぼ毎年更新されている。また、耐性レベルの評価については、いくつかのアルゴリズムがインターネット上で一般に公開¹⁾されており、当所ではスタンフォード大学HIV薬剤耐性データベース⁸⁾を用いて評価を行っている。

phenotype 検査は感染者から分離されたHIVを薬剤存在下で培養し、増殖能力を解析する方法である。本法はHIV分離株を用いるためバイオセーフティレベル3 (BSL3) としての取り扱いが必要であり、かつ操作法が煩雑、検査に時間がかかる、コストが高い等の理由から、限られた研究機関で行われているに過ぎない。

薬剤耐性変異の有無が治療効果に影響及ぼすことから、薬剤耐性検査は治療開始時^{9,10,11)}、薬剤耐性HIVの出現が疑われる時、十分な治療効果が得られない時等に実施が推奨されている¹⁾。その一方で、新規HIV感染者から薬剤耐性変異株も見つかってきており、新規感染者における耐性株の蔓延状況を調査し、実態を把握することが重要となっている。

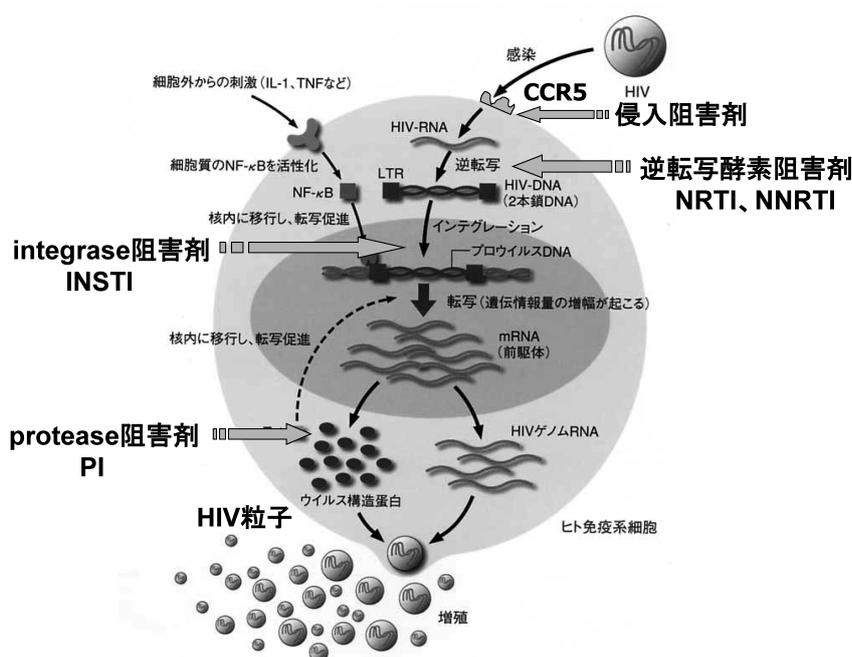


図1 HIVのライフサイクルと薬剤作用機序

表1 日本で承認されている抗HIV薬 (2018年3月現在)

	薬剤名	承認時期
核酸系 逆転写酵素阻害剤 (NRTI)	AZT	1987年
	ddI	1992年
	3TC	1997年
	d4T	1997年
	AZT/3TC合剤	1999年
	ABC	1999年
	TDF	2004年
	ABC/3TC合剤	2005年
	FTC	2005年
	TDF/FTC合剤	2005年
TAF/FTC合剤	2016年	
非核酸系 逆転写酵素阻害剤 (NNRTI)	NVP	1998年
	EFV	1999年
	ETR	2009年
	RPV	2012年
	RPV/TDF/FTC合剤	2014年
プロテアーゼ 阻害剤 (PI)	IDV	1997年
	SQV	1997年
	NFV	1998年
	RTV	1999年
	LPV	2000年
	ATV	2004年
	FPV	2005年
	DRV	2013年
DRVc合剤	2016年	
インテグラーゼ 阻害剤 (INSTI)	RAL	2008年
	EVG/TDF/FTC合剤	2013年
	DTG	2014年
	DTG/ABC/3TC合剤	2015年
EVG/TAF/FTC合剤	2016年	
侵入阻止剤	MVC	2009年

抗HIV治療ガイドライン2018年3月版より改変

薬剤開発と薬剤耐性との闘い

HIV/AIDSの治療薬として1986年に始めて核酸系逆転写酵素阻害剤 (nucleoside reverse transcriptase inhibitor: NRTI) としてazidothymidine (AZT) が開発された¹²⁾。それまでHIV/AIDSが致死的病であった時代にAZTの開発は、感染者や医療関係者に希望を与えた。しかし、AZT治療中の症例から耐性ウイルスが検出され、耐性には逆転写酵素の215番アミノ酸がスレオニン (T) からチロシン (Y)、あるいはフェニールアラニン (F) への変異 (T215Y/F) が関与していることが報告された¹³⁾。続いて同じNRTIに属する薬剤ddI, ddC, 3TC, ABC等が開発されたが、AZT耐性を獲得した症例においては交差耐性が見られた。その後NVP, EFV等の非核酸系逆転写阻害剤 (non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor: NNRTI) も複数開発されたが、薬剤効果は限定的であった。

1995年にはRTIとは作用機序が異なるプロテアーゼ阻害剤 (protease inhibitor: PI) が登場した。PIも単剤使用ではRTIと同様に比較的早期に薬剤耐性を獲得¹⁴⁾したが、PI, NRTI及びNNRTIのcART導入により効果的な治療を行うことが可能となった¹⁵⁾。しかし、過去の治療失敗例については効果が十分ではなく、新しい薬剤の開発が待ち望まれていた。

2007年にはインテグラーゼ阻害剤 (integrase strand transfer inhibitor: INSTI) のraltegravir (RAL) が実用化された¹⁶⁾。RALを含むcARTの導入により病態の進

表 2 新規HIV感染者における伝播性薬剤耐性変異 (Transmitted drug resistance : TDR) の動向

診断年	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
症例数	32	31	56	47	69	74	80	87	97	92	98	40	65	57
耐性変異	2	1	3	3	4	4	6	5	6	10	9	4	8	9
検出率(%)	6.3	3.2	5.4	6.4	5.8	5.4	7.5	5.7	6.2	10.9	9.2	10.0	12.3	15.8
NRTI	6.3	3.2	3.6	4.2	1.5	1.4	2.5	2.3	4.1	5.4	8.2	7.5	7.7	7.0
T215X	3.1	3.2	3.6	2.1	1.5	1.4	2.5	2.3	3.1	3.3	7.1	5.0	7.7	7.0
other	3.1		(1.8)	2.1			1.3	1.1	1		1.1			
NNRTI	0	0	0	0	1.5	1.4	2.5	2.3	0	4.3	1.1	0	(3.0)	5.3
K103N					1.5	1.4	1.3	0		3.3	1.1		(1.5)	3.5
other							1.3	2.3		1			1.5	1.8
PI	0	0	1.8	2.1	3.0	2.7	1.3	0	2.1	1.1	0	2.5	(3.0)	3.5
M46I/L			1.8	2.1	0	2.7	1.3		2.1	1.1		2.5	(1.5)	3.5
D30N					3.0								1.5	
INSTI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

()内は重複検出

行を抑えることが可能となり、特に過去に治療経験が無い症例については劇的な治療効果を示し、治癒の可能性も期待されたが、残念ながら導入から20年以上経過した今日もcARTによって体内からHIVを完全に排除した症例は報告されていない。

RAL耐性にはY143R/H/C, Q148H/K/R, N155Hの3つの異なる薬剤耐性獲得経路⁷⁾が知られているが、RALを含むcARTにおいて耐性獲得頻度は著しく少ないことが報告されている¹⁷⁾。その後 INSTIとして EVG, DTG, BIC 等が開発されている。

薬剤の開発が進み、効果的なcARTが積極的に進められてきた日本では、治療に失敗する症例は減少し、病態の進行をコントロールできるようになってきた。日本の2014年の調査ではINSTIを含むcARTを受けている患者での薬剤耐性獲得率は1.1%と報告されている^{18,19)}。また、欧米での大規模コホート研究によれば、2008年から2010年にcARTを開始した群での平均寿命は一般と変わらないまでになっている²⁰⁾。

薬剤開発の進歩は目覚ましく、新しい薬剤の他にも複数の薬剤を組み合わせた配合剤も承認されてきており、治療の選択肢が増えてきた。治療に用いる抗HIV薬の選択、組み合わせについては「抗HIV治療ガイドライン」²¹⁾が発行されており、毎年更新されている。

このようにcARTが成功し薬剤耐性が収束する一方、未治療の新規感染者から検出される薬剤耐性HIV (伝播性薬剤耐性ウイルス, Transmitted drug resistance: TDR) が減少していないことが、HIV薬剤耐性研究班の調査において明らかになってきた。

Transmitted drug resistance (TDR) の動向

当所では2004年から2017年の14年間に主として神奈川県および東京都内の医療機関を受診した未治療の新規

HIV感染者925症例の調査を実施し、74例 (8.0%) からTDRを検出した。TDR検出率の推移を図2に、耐性変異種類別検出率を表2に示した。TDRは調査開始時の2004年には6.3%で、2009年までは多少の増減はあるもののほぼ横ばい状況であった。しかし、2010年 (7.5%) から上昇傾向を示し、2013年には10%を超え、2016年には12.3%、2017年には15.8%まで増加した。全国調査²²⁾においても2003年の5.8%から徐々に増加し2008年から2015年までは9%前後で推移し、2016年には10.2%、2017年13.2%と上昇し、当所の結果に比べ若干低いもののほぼ同様の傾向を示している。

TDRの種類ではNRTI, NNRTI, PIの耐性変異がそれぞれ44例、16例、15例から検出された (内1例はNNRTIとPIの耐性変異同時検出)。個別の耐性変異で最も多かったのは、NRTIのAZT耐性変異である逆転写酵素の215番アミノ酸変異Y/Fのリバータント変異 (T215X : D/E/S/C/L等) であり、35例 (47.3%) に検出された。215Y/FはAZT投与を中止するとさらに変異が生じ、D/E/S/C/L等のアミノ酸に変異しAZTに対する感受性を回復することが報告されている²³⁾。T215Xの検出率の推移を見てみると、2013年までは3%程度で比較的低かったが、2014年以降7%を超えている。全国調査においてT215Xの検出率は2015年までは4~5%程度で推移していたが、2016年以降増加傾向が見られている。

PIであるNFVの耐性変異M46I/Lが12例 (16.2%)、NNRTIであるEFV, NVPの耐性変異K103Nが10例 (13.5%) に検出された。これらの変異は全国調査でも毎年のように検出されている。AZT, NVPやNFVは90年代から2000年代初期によく使用されていたが、現在ではほとんど使用されていない。にもかかわらず、毎年のように検出されているということはつまり、これら

変異を持つHIVが流行株として定着し伝播していることを裏付けている。特に2016年からTDRが増加傾向にあることは注目に値し、引き続き調査する必要があると考えられる。

この他、NRTIの3TC、FTCの耐性変異M184Vが2例確認された。3TCはB型肝炎の治療薬としても使用されており、M184Vが検出された際には、HIVとHBV両方の治療を考慮して薬剤を選択する必要がある。INSTIについては2008年6月に国内での使用が承認され、2012年以降耐性動向調査が開始された。当所においてINSTIに対する耐性変異は検出されず、全国調査でも3例検出されているに過ぎない²⁴⁾。

また、TDRの検出された新規感染者の属性のほとんどが日本人男性、MSM（男性同性愛）で、遺伝子型はサブタイプBであった。

おわりに

我が国において未治療の新規HIV感染者に対する薬剤耐性HIVの動向調査する研究が始まってから14年が経過した。この間、抗HIV薬の進歩は著しく、適切なcARTが行われれば失敗することはほとんどなくなった。新規感染者から検出されるTDRのほとんどが過去に使用されていた薬剤に対する耐性変異であり、しかもTDRの検出率は2016年以降上昇傾向にある。このことはTDRの供給源はcARTを受けている感染者ではなく、他のリスク集団に定着している流行株であることを示唆している。

また、HIV薬剤耐性研究班では新規感染者から得られたpol領域の塩基配列について系統樹解析を行っているが、TDRの変異ごとにクラスターが形成され、これらクラスターには地域特異性があることが見いだされている²²⁾。特定のリスク集団が地域ごとに薬剤耐性HIVを維持し、流行の一端を担っているとも考えられ、今後も引き続きTDRの動向を調査・分析するとともに感染者への教育と啓蒙を粘り強く行っていく必要がある。

日本のTDRの動向は、高所得諸国に共通しているが、低・中所得国では耐性を獲得しやすい抗HIV薬が第一選択薬剤として使用され、薬剤耐性ウイルスが高頻度で検出されている。海外からのTDRの持ち込みにも注意を払い、耐性ウイルスの蔓延を防ぐ必要がある。

また、薬剤耐性の変異リストや評価アルゴリズムのほとんどは欧米や日本での主流流行株であるサブタイプBを主に作成されており、サブタイプの違いが評価の結果に影響することが指摘されている²⁵⁾。日本ではサブタイプBに次いでCRF01_AEが多いこと、低・中所得国ではサブタイプB以外が主流流行株であることが多く、特に日本

周辺諸国のアジア地域においてはCRF01_AEが多いことから、CRF01_AEの評価方法について取り組んでいく必要がある。

謝辞

本研究（HIV薬剤耐性に関する研究）は、厚生労働省科学研究エイズ対策事業として2003年から始まり、2015年からは日本医療研究開発機構により引き継がれ、現在は「国内流行HIV及びその薬剤耐性株の長期的動向把握に関する研究」として実施されています。この間研究代表者を務められました杉浦互先生、吉村和久先生及び研究分担（協力）者の先生方に深謝いたします。また、当所での研究にご協力いただきました横浜市立市民病院感染症科の立川夏夫先生、吉村幸浩先生、しらかば診療所の井戸田一朗先生に深謝いたします。

参考文献

- 1) 吉村和久. HIV薬剤耐性検査ガイドライン ver.10 (2017年2月)
<https://www.hiv-resistance.jp/resistance04.htm>
- 2) Gatanaga H, Ibe S, Matsuda M, Yoshida S, Asagi T, Kondo M, et al. Drug-resistant HIV Prevalence in patients newly diagnosed with HIV/AIDS in Japan. *Antiviral Res.* 75,75-82(2007)
- 3) Hattori J, Shiino T, Gatanaga H, Watanabe D, Minami R, Kondo M, et al. Trends in transmitted drug-resistant HIV and demographic characteristics of newly diagnosed patients: nationwide surveillance from 2003 to 2008 in Japan. *Antiviral Res.* 88,72-79(2010)
- 4) Hattori J, Shiino T, Gatanaga H, Mori H, Uchida K, Kondo M, et al. Characteristics of transmitted Drug-resistant HIV in recently infected treatment-naïve patients in Japan. *J. Acquir Immune Defic Syndr.* 71,367-373(2016)
- 5) Perlson AS, Neumann AU, Marcowitz M, Leonald JM, and Ho DD. HIV dynamics *in vivo*: virion clearance rate, infected cell line-span, and viral generation time. *Science.* 271,1582-1586(1996)
- 6) Mansky LM. Retroviral mutation rates and their role in genetic variation. *J Gen Virol.* 79,1337-1345(1998)
- 7) International antiviral society USA,
<https://www.iasusa.org/content/drug-resistance->

- mutations-in-HIV
- 8) Stanford university HIV drug resistance data base, <https://hivdb.stanford.edu/>
 - 9) Kuritzkes DR, Lalama CM, Ribaldo HJ, Marcial M, Meyer WA 3rd, Shikuma C, et al. Preexisting resistance to nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitors predicts virologic failure of an efavirenz-based regimen in treatment-naive HIV-infected subjects. *J Infect Dis.* 197,867-870 (2008)
 - 10) Pillay D, Bhaskaran K, Jurriaans S, Prins M, Masquelier B, Dabis F, et al. The impact of transmitted drug resistance on the natural history of HIV infection and response to first-line therapy. *AIDS.* 20, 21-28 (2006)
 - 11) Sax PE, Islam R, Walensky RP, Losina E, Weinstein MC, Goldie SJ, et al. Should resistance testing be performed for treatment-naive HIV-infected patients? A cost-effectiveness analysis. *Clin Infect Dis.* 41,1316-23 (2005)
 - 12) Mitsuya H, Weinhold KJ, Furman PA, St Clair MH, Lehrman SN, Gallo RC, et al. 3'-Azido-3'-deoxythymidine (BW A509U): an antiviral agent that inhibits the infectivity and cytopathic effect of human T-lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA.* 82,7096-7100(1985)
 - 13) Larder BA, Kemp SD. Multiple mutations in HIV reverse transcriptase confer high-level resistance to zidovudine (AZT). *Science.* 246(4934),1155-1158(1989)
 - 14) Condra JH1, Schleif WA, Blahy OM, Gabryelski LJ, Graham DJ, Quintero JC, et al. In vivo emergence of HIV-1 variants resistant to multiple protease inhibitors. *Nature.* 74(6522),569-571 (1995)
 - 15) Perelson AS, Essunger P, Cao Y, Vesanen M, Hurley A, Saksela K, et al. Decay characteristics of HIV-infected compartments during combination therapy. *Nature.* 387(6629),188-91(1997)
 - 16) Markowitz M1, Morales-Ramirez JO, Nguyen BY, Kovacs CM, Steigbigel RT, Cooper DA, et al. Antiretroviral activity, pharmacokinetics, and tolerability of MK-0518, a novel inhibitor of HIV integrase, dosed as monotherapy for 10 days in treatment-naive HIV-infected individuals. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 43, 509-515(2006)
 - 17) 杉浦 互, 横幕能行, 我が国におけるインテグラーゼ阻害剤耐性の動向, *IASR,* 35, 211-212 (2014)
 - 18) 宮崎菜穂子, 松下修三, 藤井毅, 岩本愛吉, 杉浦互. 多剤耐性症例治療を目的とした新規抗HIV薬使用症例に対する緊急調査. 第23回日本エイズ学会・総会2009
 - 19) 宮崎菜穂子, 杉浦互. 我が国における抗HIV治療と多剤耐性症例の現状. *IASR,* 31,233-234 (2010)
 - 20) Antiretroviral Therapy Cohort Collaboration. Survival of HIV-positive patients starting antiretroviral therapy between 1996 and 2013: a collaborative analysis of cohort studies. *Lancet HIV,*4. e349-e356 (2017)
 - 21) 鯉淵智彦, 白坂琢磨. 抗HIV治療ガイドライン2018年3月 (2018)
<https://www.haart-support.jp/guideline.htm>
 - 22) 杉浦 互, 日本における薬剤耐性HIVの動向Update. *IASR.* 36,171-173 (2015)
 - 23) Violin M, Cozzi-Lepri A, Velleca R, Vincenti A, D'Elia S, Chiodo F, et al. Risk of failure in patients with 215 HIV revertants starting their first thymidine analog- containing highly active antiretroviral therapy. *AIDS.*18,227-35(2004)
 - 24) 蜂谷敦子, 日本における薬剤耐性HIVの動向Update. *IASR.* 38,181-182 (2017)
 - 25) Snoeck J, Kantor R, Shafer RW, Van Laethem K, Deforche K, Carvalho AP, et al. Discordances between interpretation algorithms for genotypic resistance to protease and reverse transcriptase inhibitors of human immunodeficiency virus are subtype dependent. *Antimicrob Agents Chemother.* 50, 694-701(2006)

Surveillance of Drug-resistant HIV in
patients newly diagnosed with
HIV/AIDS in Japan

Makiko KONDO

A survey of transmitted drug resistance mutations in newly HIV-infected patient was conducted between 2003 and 2017 in Japan. In this review, we introduce the results and findings obtained on the resistance mutations against reverse transcriptase inhibitor, protease inhibitor and integrase strand transfer inhibitor in this 14-year study.