

(1) 薬剤耐性変異の推移

溝上泰司 松永加奈江 常松裕子
 佐子 肇 山下保喜 吉崎悦郎
 福原吉典 白阪琢磨*

TREND OF DRUG-RESISTANT HIV-1 VARIANTS

Yasushi MIZOGAMI, Kanae MATSUNAGA, Yuko TSUNEMATSU,
 Hajime SAKO, Yasuki YAMASHITA, Etsuo YOSHIKAZAKI,
 Yoshifumi FUKUHARA and Takuma SHIRASAKA*

HIV 感染症の治療には、逆転写酵素 (RT) 阻害薬やプロテアーゼ阻害薬などに分類される多くの抗 HIV 薬が用いられるようになり、これらの多剤併用療法で血中ウイルス量を検出感度以下まで低下させることが可能となった。しかし一方では、抗 HIV 薬に対する耐性獲得株の出現が報告され¹⁾、臨床上新たな問題となっている。当院では、平成 9 年度厚生科学研究エイズ対策研究事業 HIV 耐性検査に関する講習会²⁾への参加を機に、平成 10 年 2 月より遺伝子型による抗 HIV 薬耐性検査を開始した。それ以降平成 13 年度までの解析結果から若干の知

見を得たので報告する。

方 法

血漿中の HIV 遺伝子を核酸抽出剤 (セパジーン RV-R・三光純薬) で抽出し、RT 前半、後半遺伝子とプロテアーゼ遺伝子の 3 つの領域に分け、杉浦らのプライマーを用い RT-PCR で増幅した。それぞれの増幅遺伝子を nested PCR で再度増幅し、ダイレクトシーケンス法 (Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit・ABI) で塩基配列を決定し解析した³⁾。

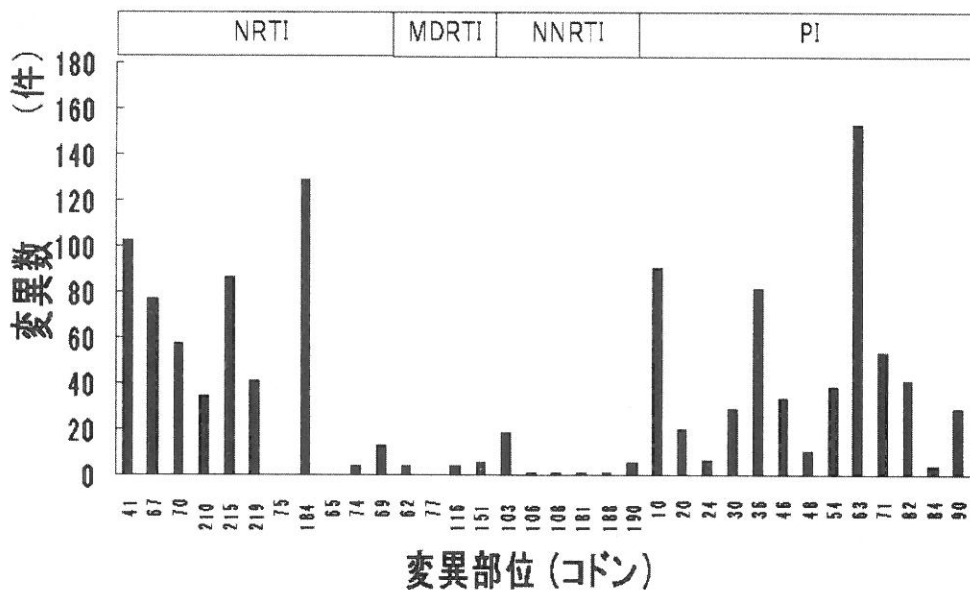


図 1 薬剤耐性アミノ酸変異の検出

国立大阪病院 (現: 国立病院大阪医療センター) Osaka National Hospital 臨床検査科 * 臨床研究部
 Address for reprints: Yasushi Mizogami, Division of Laboratory Medicine, Osaka National
 Hospital, 2-1-14, Houenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006 JAPAN
 Received March 25, 2003
 Accepted September 19, 2003

結果および考察

平成9年度開始時より平成13年度までに327検体（当院280検体，他施設47検体）の検査依頼があった。そのうち269検体（82%）は3つの遺伝子領域すべての塩基配列を決定できたが，一部の遺伝子領域が増幅不能なものが23検体（7%），検出感度以下や採血不備などで増幅できなかつたものが35件（11%）あった。これらの増幅不能で解析できなかつた遺伝子領域は，プロテアーゼ遺伝子が74%と多く，RT前半遺伝子が17%，RT後半遺伝子が9%であった。遺伝子型耐性検査ができた292検体中，何らかの耐性変異が89%の検体で認められた。RT阻害薬に対する耐性変異は，3TC関連のM184Vの変異（44%）が一番多く検出され，次いでAZT関連のM41L（35%），T215Y/Fの変異（30%）など使用頻度の高い薬剤に対する耐性変異が多く検出された。また，多剤耐性変異のA62V，F116Y，Q151Mの変異も低頻度ながら検出された。プロテアーゼ阻害薬では，二次変異のL63Pの変異（52%）が一番多く，次いでL10I/R/V（31%）やM36I（28%）が検出され，一次変異のM46I/L（11%）やV82A/F/Tの変異（14%）なども検出された（図1）。

年度別に見ると検体数は年毎に

増加してきたが，平成11年度をピークに減少傾向に推移している（図2）。それぞれの耐性変異部位の変異数も検体数と同様に推移しており，とくに増加や減少を示している耐性変異は認められなかつた。しかし，耐性変異部位の変異検出率で見ると，近年ほとんどの耐性変異検出率は減少傾向に推移している（図3，4）。患者別に見ると抗HIV薬の変更により新たな耐性変異を獲得していくものや，使用を中止した薬剤の耐性変異が感受性に戻ったものなど投与薬剤と相関するものもあるが，突然耐性傾向になったり感受性傾向になったりするものなど投与薬剤と一致しないものもみうけられた。また，当院では測定開始当初，ヌクレオシド型RT阻害薬とプロテアーゼ阻害薬の耐性変異を調べていたが，非ヌクレオシド型RT阻害薬の使用にともない平成11年度よりそれらに対する耐性変異の報告を追加した。近年幾つかの newly

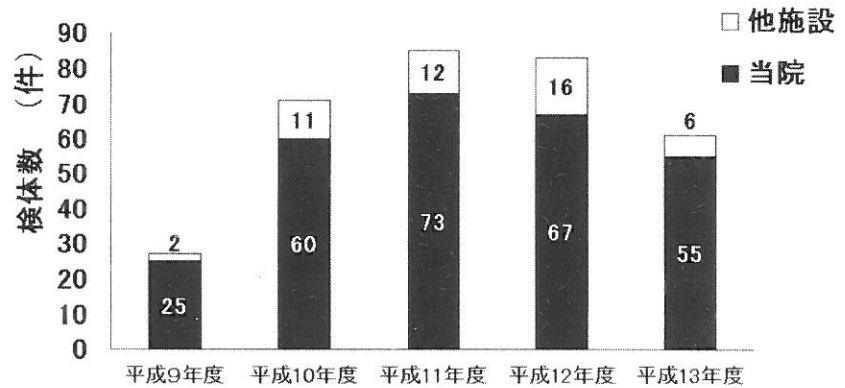


図2 年度別耐性検査依頼数

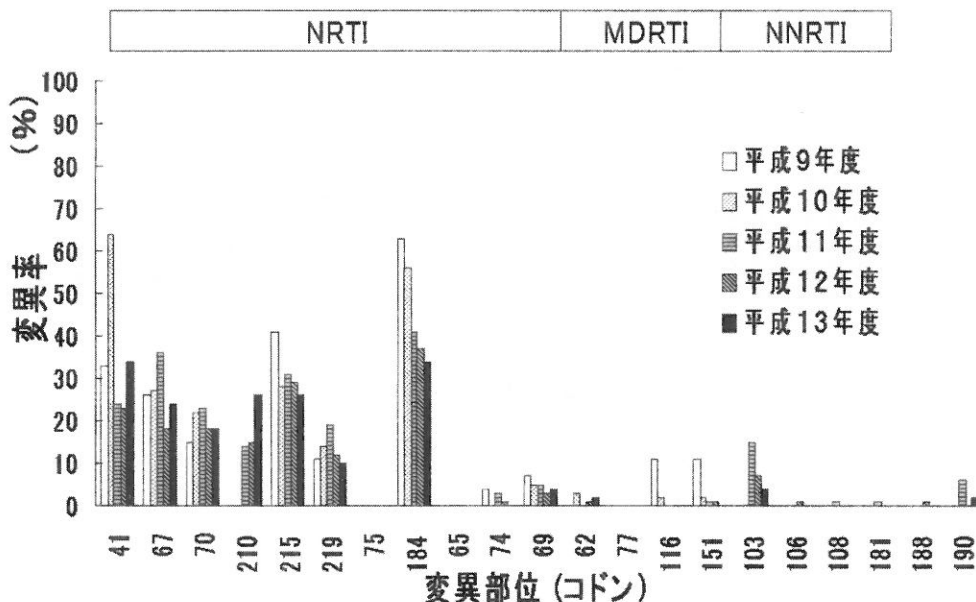


図3 年度別逆転写酵素阻害薬に対する薬剤耐性アミノ酸変異の検出率

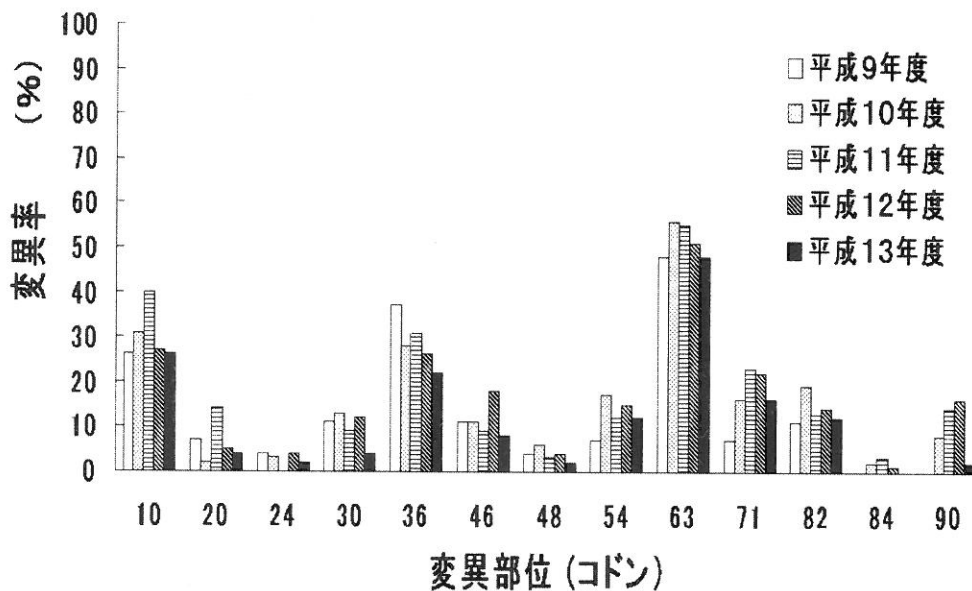


図 4 年度別プロテアーゼ阻害薬に対する薬剤耐性アミノ酸変異の検出率

い抗 HIV 薬が承認されており、これら薬剤についても随時対応していかなければならないと考えている。

抗 HIV 薬耐性検査は、遺伝子型検査と薬剤感受性検査が知られており、遺伝子型検査は安価で、多数検体処理が可能であり、薬剤感受性検査よりも簡便で迅速な検査報告ができるため、耐性変異を獲得したウイルスの増殖抑制のための抗 HIV 薬変更に有用である。しかし、遺伝子型による抗 HIV 薬耐性検査では、ウイルス株とプライマーの相違などにより PCR 法で増幅不能な遺伝子も有り、解析可能であってもその増幅したウイルス株が臨床上有用であるかどうか不明で、部分的な評価しかできないものもある。近年タッチダウン PCR 法やプライマーの改良により解析率が改善することが報告されており、当院の遺伝子型による抗 HIV 薬耐性検査の解析

率の向上に努めなければならないと思われる。

文 献

- 1) Larder BA et al : HIV with reduced sensitivity to Zidovudine (AZT) isolated during prolonged therapy. *Science* **243** : 1731-1734, 1989
- 2) 平成 9 年度厚生科学研究エイズ対策研究事業 抗ウイルス薬剤耐性検査実習資料. 1997
- 3) Martin SH et al : Antiretroviral Drug Resistance Testing in Adults With HIV Infection. *JAMA* **279** : 1984-1991, 1998

(平成15年 3 月25日受付)

(平成15年 9 月19日受理)