

第10回日本エイズ学会賞（シミック賞）受賞研究

薬剤耐性 HIV 検査の確立とその実用化

Development of Drug Resistance HIV Genotyping for Supporting Antiretroviral Treatment in Japan

杉 浦 互^{1,2)}Wataru SUGIURA^{1,2)}¹⁾ 国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター感染・免疫研究部,²⁾ 名古屋大学大学院医学系研究科免疫不全統御学講座¹⁾ Department of Infectious Diseases and Immunology, Clinical Research Center, Nagoya Medical Center,²⁾ Department of AIDS Research, Nagoya University Graduate School of Medicine

The 10th Academy Honorarium Award of Japanese Society for AIDS Research (Cmic Award) was given to Dr. Wataru Sugiura for his contribution in establishment of an *in-house* HIV drug-resistance genotypic assay, which has been recognized and implemented as a standard protocol in Japan as well as some of the Asian countries, and for providing drug-resistance genotypic tests for HIV/AIDS clinics to help guide treatment for HIV/AIDS patients. To date, more than 9,000 HIV samples have been sequenced in his laboratory. In addition to drug-resistance testing in treated patients, in 2003, he started a surveillance of transmitted drug resistance among newly diagnosed HIV/AIDS patients in Japan, which involves an analysis of patient samples for HIV protease, reverse transcriptase, integrase, and envelope sequences as well as demographic data. The surveillance network grew over time, and now over 20 major HIV/AIDS clinics and Virology Laboratories in Japan have joined, enabling the network to observe nearly 50% of newly diagnosed HIV/AIDS cases reported to Japan's national HIV surveillance committee.

日本エイズ学会誌 16: 143-147, 2014

このたびは第10回日本エイズ学会賞（シミック賞）という荣誉ある賞を受けることになり感激に耐えられません。わが国では1997年のプロテアーゼ阻害剤の承認に合わせて多剤併用療法が標準的な治療法として導入されましたが、私はその少し前の1996年9月に米国留学より帰国し、国立予防衛生研究所（現国立感染症研究所）エイズ研究センターに赴任するとともに多剤併用療法の導入に備えるために薬剤耐性 HIV 遺伝子検査（耐性検査）の開発と実用化に取り組み始めました。以来今日まで薬剤耐性 HIV に関する検査技術の開発、疫学調査そして基礎的研究に従事してきました。本稿では私の受賞に繋がりました研究について紹介させていただきます。

1. 多剤併用療法の始まりと薬剤耐性 HIV 検査の開発

1997年の多剤併用療法（combination antiretroviral therapy: ART）導入以降、ARTの進化・発展に伴い薬剤耐性（drug resistance: DR）の獲得により治療に失敗する症例の頻度と

検出される耐性変異のパターンは大きく変化していった。DR症例の観察頻度とパターンを大まかに（1）1996年以前のヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤（nucleoside analogue RT inhibitor: NRTI）単剤あるいは2剤療法が行われていたART導入前の「ART前期」、（2）1997年PIが承認され、また治療効果モニタリングのための血中ウイルスRNA定量検査の保険償還が承認された「導入期」、（3）非ヌクレオシド系RT阻害剤（non-nucleoside RT inhibitor: NNRTI）、ヌクレオチド系RT阻害剤（nucleotide analogue RT inhibitor: NtRTI）など抗HIV薬の種類が増えて治療の選択肢が広がり、また治療ガイドライン等が整備されてきた「成熟期」、（4）一日一回の服薬が可能な抗HIV薬が登場してきた「完成期」の4期に分けて見ていく（図1）。

まず「ART前期」におけるDR症例の頻度は47%であり、当然のことながらNRTIに対する耐性変異が主体であった。「導入期」になるとプロテアーゼ阻害剤（protease inhibitor: PI）が登場しARTが始まり、積極的に抗HIVYAKUが投与されるようになるが、その結果ART導入から2年後の1999年にはDR症例の頻度は実に71%という高い頻度に達した。このようにDR症例が急増した背景としては、使用できるNRTIとPIの種類が限られてい

著者連絡先：杉浦 互（〒460-0001 名古屋市中区三の丸4-1-1
国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター
感染・免疫研究部）

2014年7月17日受付

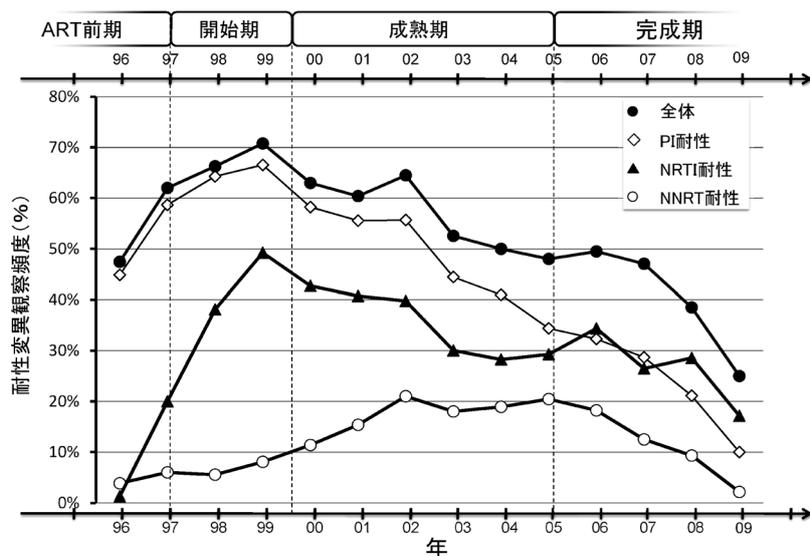


図 1 治療失敗症例に見る薬剤耐性 HIV の推移

たこと、すでに NRTI 単剤もしくは 2 剤療法を受け NRTI 耐性を獲得していた症例に PI を追加投与した症例が多く見られたこと、使用される役の血中半減期が短く、有効血中濃度の維持には一日 3 回の服薬が求められ、服薬負担が大きくアドヒアランスの維持が困難であったこと、そして使用されていた NRTI や PI そのものが容易に耐性を獲得 (low genetic barrier) しやすかったことがあげられる。その後「成熟期」に入り抗 HIV 薬の選択肢が増え、さらに治療ガイドラインの整備により適切に ART が実行されるようになると、DR 症例の頻度は徐々に減少に転じ、インテグラーゼ阻害剤 (integrase strand transfer inhibitor : INSTI) が登場した「完成期」には DR 症例の観察頻度は「ART 前期」と同程度の 40% まで落ちてきた。ただし、「完成期」と「ART 前期」とでは薬剤耐性 HIV 株は質的に大きく異なり、「ART 前期」には NRTI 耐性ウイルスのみが観察されたのに対して、「完成期」になると 2 クラス以上の抗 HIV 薬に対して DR を獲得した多剤耐性症例がおよそ 3 割を占めていた。このように薬剤耐性 HIV による治療失敗症例数が減少してきた要因としては、(i) 抗 HIV 薬の種類が増え初回治療に失敗しても代替レジメの構築が容易になったこと、(ii) 既存の薬剤耐性 HIV に対して有効な抗 HIV 薬が開発されたこと、そして何より (iii) Ritonavir boost の導入と血中半減期の長い抗 HIV 薬が開発され、少ない服薬回数で有効血中濃度が維持できるようになり、服薬への負担が軽減されアドヒアランスが維持しやすくなったことがあげられる。

ここまで述べてきた DR 症例の動向は耐性検査のデータに基づく分析であり、DR と診断された症例中には、その

後の治療レジメの変更により制御可能であった症例も含まれている。そこで、臨床的な見地から既存の抗 HIV 薬では十分な制御ができない治療難渋症例の状況把握を目的に、書面アンケートによる現状調査を実施した。調査では HIV/AIDS 診療に携わる全国の医療機関 344 施設にアンケートを配布し、調査の時点で国内承認されている抗 HIV 薬 (既承認薬) の使用のみでは、DR 獲得等の理由により HIV の増殖抑制が不十分である治療難渋症例数を調査した。その結果 211 施設 (56%) からの回答が得られ、総計 9,044 症例の HIV/AIDS 症例の治療情報が得られた。調査時点で ART を受けている症例数は 6,296 例 (70%) であり、そのうち 97 例 (1.5%) が、既承認薬ではコントロールできない治療難渋症例であることが明らかにされた¹⁾。治療難渋症例頻度が 1.5% という数値は欧米諸国からの報告に比べると小さいが、これは本邦における HIV 感染者に対するケアが十分に行きわたり、かつ効率よく機能している総合的な成果と考えられる。

なお、この調査結果からは DR に関する事項以外にもいくつかの興味深い事実が読み取れる。まず調査時点における本邦の HIV/AIDS 患者数が 16,903 (厚生労働省エイズ動向委員会) であることから、9,044 例という数が全体の約半数に留まっているという点である。アンケートに回答した 211 施設には各地域で HIV/AIDS 診療の核となる医療機関がほとんど含まれており、これを考慮すると 54% という捕捉率は存外少ないように思われる。楽観的にみれば HIV/AIDS の診療が今回アンケートを送付しなかった個人の医院あるいは中小の医療機関に分散していると考えられるが、悲観的には HIV/AIDS と診断された後の医療機関に

新規HIV/AIDS診断症例を中心に疫学情報、
遺伝子配列データを収集
40-50%の補足率

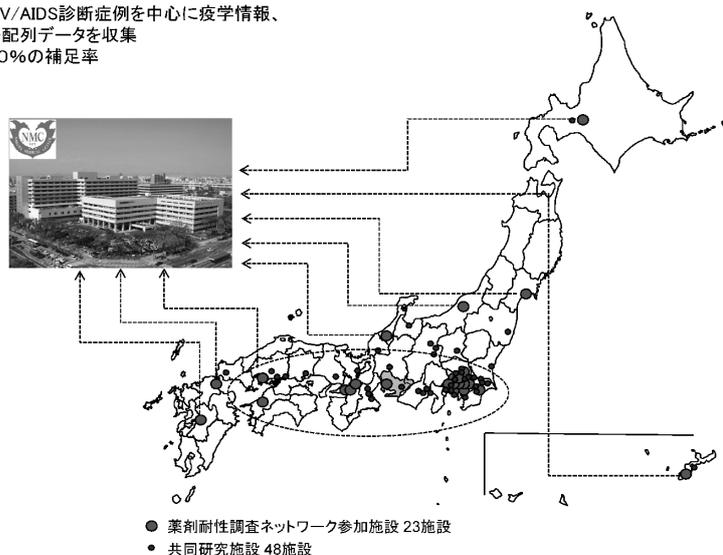


図 2 全国薬剤耐性 HIV 調査ネットワーク

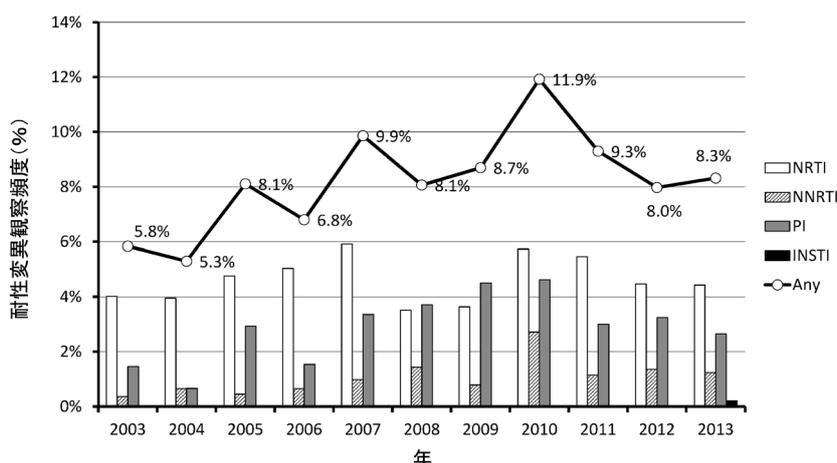


図 3 新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性変異の年次推移

における追跡が十分出きておらず多数の感染症例を見失っている可能性がある。これは HIV 感染症におけるわが国の「cascade of care」を考える上で興味深いデータである。

2. 全国薬剤耐性 HIV 調査ネットワークの構築と疫学調査

高所得国では ART の導入後間もなく新規未治療 HIV/AIDS 症例からの薬剤耐性 HIV (Transmitted Drug Resistance : TDR) の検出が報告されるようになった。TDR の頻度は調査の時期および調査国により差があり、高所得国では 10~15% 程度、中・低所得国では 0~5% と報告されている。これは抗 HIV 薬の普及率と TDR に正の相関があることを示している。わが国の状況については、2003 年よりエイ

ズ対策研究事業として筆者らが全国の治療拠点病院、衛生研究所等の協力のもとに TDR の全国調査を進めている (図 2)。その結果は図 3 に示すように 2003 年から 2009 年にかけては明らかに増加傾向を示しており、2010 年の 11.9% をピークにその後はやや減少傾向に転じ、現在は 8~9% の間を推移している^{2,3)}。すなわちわが国では新規に HIV/AIDS と診断された症例の 10 人に一人は何らかの DR を獲得した HIV に感染していることになる。観察される DR のクラスは NRTI が最も多く、ついで PI、そして NNRTI となっている。憂慮すべきことに毎年必ず検出される変異が存在する。NRTI 耐性の T215revertant、NNRTI 耐性の K103N、そして PI 耐性の M46I/L は毎年必ず検出されており、これらの DR を有する HIV 株はすでに流行株として

定着していると危惧される³⁾。幸いなことにほとんどの症例において TDR は単一の変異として観察されており、複数の変異の集積や高度耐性の症例は稀である。ただし K103N は単一で高度の NNRTI 耐性を示すことから、治療レジメの決定に際してはその有無の確認が必要である。近年、微小集族に潜む DR 株も耐性変異の種類によっては治療に影響することが報告されており、TDR の診断にはダイレクトシーケンシング（通常法）より DR の検出感度が高い手法が用いられることがある。筆者らも米国 CDC の研究グループとの共同研究で定量 PCR を応用した高感度検出系を開発し、TDR の検出率を通常法と比較したが、その結果、高感度法では通常法よりも TDR 検出率が 1.5 倍高まった⁴⁾。この結果は微小集族も含めて耐性検査を行うことが望ましいことを示しており、筆者等は現在行われている通常法から次世代シーケンサ等、より収集情報の多い手法に切り替えることを検討している⁵⁾。

3. 薬剤耐性 HIV 検査技術の普及

筆者は前述の薬剤耐性 HIV 検査技術の開発と調査ネットワークの構築に加えて、その基盤となる薬剤耐性 HIV 検査技術の普及にも取り組んできた。国立感染症研究所エイズ研究センターは 1999 年以来年一回、地方衛生研究所の技官を対象に「HIV 検査法（PCR 法等）技術研修会」を開催してきたが、筆者は 1999 年度の第 10 回から 2013 年度の第 25 回までの研修会において、薬剤耐性 HIV 検査技術を主テーマに取り上げてきた。この 16 年間に 1 都 1 道 2 府 37 県から合計 239 名が研修会に参加して薬剤耐性 HIV 検査技術を学んだ。研修会では薬剤耐性 HIV 検査技術のみならず基礎ウイルス学から実践的な診断と治療に関するものまで幅広く内容を取り上げてきた。参加者による事後評価では毎年実習と講義ともに高い評価をいただき、本研修会の有益性については明白である。また、現在各地の地方衛生研究所において HIV 検査を担当する者の多くが本研修会の参加生であり、本研修会がわが国の HIV 検査を支える人材の育成システムとして確実に成果をあげてきたことは喜ばしいことである。

4. 今後の課題

筆者が 1996 年に薬剤耐性 HIV の研究に取り組むようになってから、この 18 年間に ART は劇的に進歩し、薬剤耐性 HIV の臨床現場における重要性は以前に比して低下しつつあることは幸いである。しかしながら、低い頻度ながらも DR による治療に難渋する症例は存在していること、長期間にわたる ART 中に薬剤耐性 HIV が再興するリスクはつねにあること、約 10% の TDR が観察され、いくつかの耐性 HIV 株がすでに流行株として定着しつつあること、

そして中・低所得国における DR の問題等、解決すべき課題が残されている。今後もこれらの課題の克服に向けて基礎的・臨床研究に取り組んでいきたい。

おわりに

本稿を締め括るにあたり改めて今回の受賞について御礼を申し上げますとともに、研究にご協力くださった患者さん、共同研究者の先生方、1996 年以来今日に至るまで筆者の研究をご指導くださった吉倉廣先生、そして 2004 年に他界される直前までご指導・ご鞭撻くださった故山田兼雄先生に深謝いたします。最後に、これまで筆者と一緒に研究に取り組んでくれた国立感染症研究所エイズ研究センター第 2 研究グループと現在の名古屋医療センター臨床研究センター感染・免疫研究部のメンバー達に感謝を申し上げます。

文 献

- 1) 宮崎菜穂子, 杉浦互 (2010) 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.
- 2) Gatanaga H, Ibe S, Matsuda M, Yoshida S, Asagi T, Kondo M, Sadamasu K, Tsukada H, Masakane A, Mori H, Takata N, Minami R, Tateyama M, Koike T, Itoh T, Imai M, Nagashima M, Gejyo F, Ueda M, Hamaguchi M, Kojima Y, Shirasaka T, Kimura A, Yamamoto M, Fujita J, Oka S, Sugiura W (2007) Drug-resistant HIV-1 prevalence in patients newly diagnosed with HIV/AIDS in Japan. *Antiviral Res* 75 : 75-82.
- 3) Hattori J, Shiino T, Gatanaga H, Yoshida S, Watanabe D, Minami R, Sadamasu K, Kondo M, Mori H, Ueda M, Tateyama M, Ueda A, Kato S, Ito T, Oie M, Takata N, Hayashida T, Nagashima M, Matsuda M, Ibe S, Ota Y, Sasaki S, Ishigatsubo Y, Tanabe Y, Koga I, Kojima Y, Yamamoto M, Fujita J, Yokomaku Y, Koike T, Shirasaka T, Oka S, Sugiura W (2010) Trends in transmitted drug-resistant HIV-1 and demographic characteristics of newly diagnosed patients : nationwide surveillance from 2003 to 2008 in Japan. *Antiviral Res* 88 : 72-79.
- 4) Nishizawa M, Hattori J, Shiino T, Matano T, Heneine W, Johnson JA, Sugiura W (2013) Highly-sensitive allele-specific PCR testing identifies a greater prevalence of transmitted HIV drug resistance in Japan. *PLoS One* 8 : e83150.
- 5) Ode H, Matsuoka M, Matsuda M, Hachiya A, Hattori J, Yokomaku Y, Iwatani Y, Sugiura W (2014) HIV-1 near full-length genome analysis by next-generation sequencing : evaluation of quasispecies and minority drug resistance. *Antiviral Therapy* 19 : A80.

著者寸描

杉浦 互 (すぎうら わたる)



現職：

独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター 感染・免疫部 部長，臨床検査科部長
名古屋大学大学院医学系研究科免疫不全統御学講座客員教授
国立感染症研究所エイズ研究センター研究員（併任）

略歴：

昭和 60 年 浜松医科大学医学部医学科卒業，同附属病院第 2 内科入局
昭和 61 年 藤枝市立志太総合病院内科
平成 4 年 浜松医科大学大学院医学研究科修了（医学博士）
平成 4 年 国立静岡病院内科医長
平成 6 年 米国立衛生研究所アレルギー感染症研究所客員研究員
平成 8 年 国立感染症研究所エイズ研究センター研究官
平成 10 年 国立感染症研究所エイズ研究センター第 2 研究グループ長
平成 20 年 独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター，臨床研究センター感染・免疫部長
平成 21 年 名古屋大学医学部大学院感染統御学講座客員教授
平成 25 年 独立病院機構国立病院機構名古屋医療センター臨床検査科部長（併任）

受賞歴：

平成 12 年 日本エイズ学会 第 1 回 ECC 山口メモリアル賞受賞
平成 14 年 11th International HIV Drug Resistance Workshop, Chairmen's Poster Award, Seville, SPAIN

研究概要

昭和 60 年に浜松医科大学を卒業後，同附属病院第 2 内科に入局し呼吸器内科医師として研鑽を積む。平成 6 年に渡米，米国立衛生研究所アレルギー感染症研究所の Bernard Moss 博士に師事し HIV-1 のサブユニットワクチンの開発・研究に取り組んだ。平成 8 年国立感染症研究所エイズ研究センターに赴任し，HIV 薬剤耐性検査法の開発とその実用化に取り組む。平成 18 年に薬剤耐性 HIV 遺伝子検査が保険収載されるまでの 10 年間，さらに保険収載以降も今日に至るまで臨床現場に薬剤耐性の情報提供を行っている。平成 15 年からは全国規模の調査ネットワークを組織して国内における薬剤耐性 HIV の疫学調査に取り組み，わが国で流行する HIV 株の動向を追跡している。平成 20 年に，臨床研究の発展と実効性のあるトランスレーショナル・リサーチの必要性を痛感し，ベッドサイドに近い活動の場を求めて名古屋医療センター臨床研究センターに併任し現在に至る。