

4

HIV薬剤耐性とその検査

1 薬剤耐性HIVとその現状

抗 HIV 薬剤（antiretroviral drug; ARV）に対して耐性を獲得した HIV を薬剤耐性 HIV という。HIV は増殖速度が非常に速く、ゲノムの複製エラーが高率に起こる（ $10^{-4} \sim 10^{-5}$ 、1 回の複製につき 1 カ所変異する）ため、ARV の標的酵素（プロテアーゼ、逆転写酵素、インテグラーゼ）に変異が生じることで薬剤耐性を獲得する。多剤併用療法（combination antiretroviral therapy; cART）の開始以前もしくは初期には、服薬アドヒアランス低下による獲得性薬剤耐性 HIV の出現が治療継続の大きな障害であったが、インテグラーゼ阻害薬などの新しい ARV の登場により治療失敗症例は減少した。近年では新規未治療陽性者から薬剤耐性関連変異を有する伝播性薬剤耐性 HIV が検出されており、我が国における頻度は 8% 前後であるが世界的には地域によって数%～24.1% と幅があることが報告されている^{1)~3)}。

2 HIV薬剤耐性検査

(1) 薬剤耐性検査の特徴と意義

HIV 薬剤耐性検査とは、血液中に存在する HIV の ARV に対する感受性を評価する検査であり、適切な治療薬選択の指標となる。多くのコホート研究で薬剤耐性検査による治療薬の選択が良い治療効果を得る上で有効であることが報告されている^{4)~6)}。薬剤耐性検査にはジェノタイプ検査（遺伝子型解析）とフェノタイプ検査（表現型解析）の 2 種類あるが、ジェノタイプ検査が主流である。

(2) ジェノタイプ検査

ジェノタイプ検査は HIV ゲノム配列から薬剤感受性を推測する検査である。ARV はいくつかの決まったアミノ酸変異を誘導するため、変異のパターンをデータベースや評価アルゴリズムと照合することで薬剤感受性を推測することができる。具体的には血漿中 HIV より抽出した RNA を RT-nested PCR にてプロテアーゼ、逆転写酵素、インテグラーゼ領域を増幅し、DNA sequencing により塩基配列を決定し、耐性変異アミノ酸の有無を調べる。フェノタイプ検査に比べて簡便かつ短時間に結果が得られることから世界中で実施されている。ただし、血漿中 HIV RNA 量が低いもしくは検出限界以下の場合、PCR による増幅がされず結果が得られないことがある。その場合、HIV-1 プロウイルス DNA を対象としたジェノタイプ検査が有用である可能性がある。また、外部精度評価により結果に施設間差があることが報告されている⁷⁾。

ジェノタイプ検査の結果を解釈する際には、以下の事を考慮する必要がある。

- 1) 長期間の薬剤使用により耐性変異が集積された場合、変異同士の相互作用により変異と薬剤の対応関係が崩れ、ジェノタイプ検査による評価と実際の臨床経過の間に乖離が生じる場合がある。
- 2) 血液中に優位（約 20% 以上）に存在する HIV の耐性変異しかみることができない。
- 3) 検査可能な血漿中 HIV RNA 量の目安としては 500 ～ 1000 コピー /mL 以上である。500 コピー /mL 未満では検査の成功率は低い。

- 4) 抗 HIV 薬投与中止後は野生株が増殖し、薬剤耐性 HIV の割合が減少しているため正確な結果が得られないことがある。
- 5) 治療継続中であってもかつて投与したことがある抗 HIV 薬に対する耐性株は検出できないことがある。

3 薬剤耐性検査をいつおこなうか

薬剤耐性検査は、抗 HIV 薬剤を開始または変更する際に有効である。しかし、高額な検査であるため、適切なタイミングで検査を行うことが重要である。DHHS ガイドラインで推奨されている実施のタイミングを以下に示す。

- (1) 急性 HIV 感染症：治療開始前に拘わらず耐性検査が推奨される。
 - (2) 未治療の HIV 感染症：ART 開始時に耐性検査が推奨される。治療開始を延期する場合は、抗ウイルス薬を開始するときに再度耐性検査を行うべきである。
 - (3) ART 下でウイルス学的効果が失われた場合（HIV RNA 量 >1000 コピー /mL）。HIV RNA 量が 1000 コピー /mL 未満の場合は結果が得られない可能性があるが、実施を考慮すべきである。
 - (4) 治療開始後のウイルス抑制が不十分な場合
 - (5) HIV 感染妊娠：治療開始前および治療中に HIV RNA 量が検出限界以上で妊娠した女性に推奨される。
- (DHHS ガイドライン .2019)

4 薬剤感受性の判定

判定は耐性変異と薬剤との関係が記載されている耐性変異表や薬剤耐性評価アルゴリズムを用いた WEB での解析によりおこなう。耐性変異表には IAS-USA (International AIDS Society-USA) が作成している Drug Resistance Mutations in HIV-1、WEB 解析には Stanford HIV Drug Resistance Database が広く用いられている。詳細は HP (IAS-USA: <http://www.iasusa.org/> , Stanford HIV Drug Resistance Database: <http://hivdb.stanford.edu/>) を参照。薬剤耐性アルゴリズムは薬剤耐性検査結果の解釈を容易にするためのものであり、上記以外に Agence Nationale de Recherche sur le SIDA (ANRS) や REGA HIV Subtype Tool が公開されている。これらのアルゴリズムによる主要な耐性変異の判定はほぼ一致するが、完全には一致しないため、解釈が困難な場合については専門医に相談することが望ましい。

5 HIV 薬剤耐性検査の依頼方法

HIV 薬剤耐性検査は、抗 HIV 療法の選択および再選択の目的で行った場合に、3 か月に 1 回を限度として 6,000 点を算定できる（2006 年 4 月 1 日保険適用）。依頼は病院情報システムから行う。

(1) 依頼方法

依頼画面は [6. 感染] → [HIV 確認検査] → [薬剤耐性検査]

依頼種は 2 種類あり、担当医の判断で選択する。

- ① HIV 薬剤耐性検査（保険適用）

治療薬剤選択および再選択を目的とする場合

② HIV 薬剤耐性検査（受託研究費）

- ・3か月に2回以上おこなうとき
- ・治療選択目的以外でおこなうとき（含初診時）

①②いずれの依頼でも検査内容は同じであり、プロテアーゼ、逆転写酵素、インテグラーゼの3領域を解析する運用としている。

(2) 検体採取

採血管は EDTA-2Na（紫オーバーキャップ、5mL 用）に 5mL 採血し、採血後はよく転倒混和する。

検査室では HIV RNA 定量検査済の残余検体（血漿）を検査終了後 5 年間凍結保存しているため、薬剤耐性検査の後追い検査が可能である。保存検体で薬剤耐性検査を行いたい場合は遺伝子検査室（内 5714）に連絡する。必要量あることが確認できたら病院情報システムにてオーダー入力する（バーコードラベルの発行は検査室で行う）。

(3) 検査所要時間と結果参照方法

薬剤耐性検査には HIV RNA 量のデータが必要なため HIV RNA 定量検査を経てから検査を実施する。そのため結果報告までに 7～14 日を要する。ただし所要日数は短縮できることもあるので、緊急を要する場合は遺伝子検査室（内 5714）に連絡する。

耐性判定は IAS-USA と Stanford HIV Drug Resistance Database での判定結果を採用している。検査結果は 2 通りの方法で参照できる。ひとつは、詳細報告書（PDF 形式の電子報告書）であり、画像情報システム（PACS）で参照可能である。もうひとつは簡易報告であり、薬剤ごとの耐性判定のみ（Susceptible、Low-level resistance、Intermediate resistance、High-level resistance、Potential low-level resistance の 5 段階）を通常の検査結果報告画面で参照することができる。ウイルス量が少ないなど検査ができなかった場合には検査結果報告画面で「測定不可」の報告のみとなり、電子報告は行わない。

6 指向性検査

新たな抗 HIV 作用を示す薬剤として CCR5 阻害剤が使用されている。HIV は標的細胞に侵入する際に CD4 とケモカインレセプタ（CCR5、CXCR4）との結合が必要であり、CCR5 阻害剤は CCR5 と結合する HIV（R5）と CCR5 との結合を阻害する抗 HIV 薬剤である。しかしながら、CXCR4 と結合する HIV（X4 ウイルス）には効果がないため、CCR5 阻害剤を使用する際には R5 ウイルスの感染であることを確認する必要がある。指向性検査はどちらのケモカインレセプタに結合するか（指向性）を調べる検査である。今までは指向性を調べるためにはフェノタイプ検査が行われてきたが、HIV の gp120 V3 領域を含む塩基配列から X4 指向性を評価するアルゴリズムが開発されたことで、より簡便に検査をおこなうことが可能となった。しかしながら、複数の判定基準（FPR, false-positive rate）が提案されていること、サブタイプにより判定基準が異なることから、その判定には注意が必要である。本検査は保険適用ではなく院内で実施していないが、研究検査として外部機関に依頼することは可能である。手続きについては、遺伝子検査室（内 5714）に問い合わせる。

■参考文献■

- 1) Gatanaga H et al. Drug-resistant HIV-1 prevalence in patients newly diagnosed with HIV/AIDS in Japan. Antiviral research. 2007 Jul;75(1):75-82,. PubMed PMID: 17194486. eng.
- 2) Hattori J et al. Trends in transmitted drug-resistant HIV-1 and demographic characteristics of newly diagnosed patients: nationwide surveillance from 2003 to 2008 in Japan. Antiviral research. 2010 Oct;88(1):72-9. PubMed PMID: 20692295.
- 3) Hattori J et al. Characteristics of Transmitted Drug-Resistant HIV-1 in Recently Infected Treatment-Naive Patients in Japan. J Acquir Immune Defic Syndr. 2016 Apr 01;71(4):367-73. PubMed PMID: 26428230. Epub 2015/10/03. eng.
- 4) Durant J et al. Drug-resistance genotyping in HIV-1 therapy: the VIRADAPT randomised controlled trial. Lancet. 1999 Jun 26;353(9171):2195-9. PubMed PMID: 10392984. Epub 1999/07/07. eng.
- 5) Tural C et al. Clinical utility of HIV-1 genotyping and expert advice: the Havana trial. AIDS. 2002 Jan 25;16(2):209-18. PubMed PMID: 11807305. Epub 2002/01/25. eng.
- 6) Meynard JL et al. Phenotypic or genotypic resistance testing for choosing antiretroviral therapy after treatment failure: a randomized trial. AIDS. 2002 Mar 29;16(5):727-36. PubMed PMID: 11964529. Epub 2002/04/20. eng.
- 7) Yoshida S et al. Japanese external quality assessment program to standardize HIV-1 drug-resistance testing (JEQS2010 program) using in vitro transcribed RNA as reference material. AIDS Res Hum Retroviruses. 2015 Mar;31(3):318-25. PubMed PMID: 25469535. Pubmed Central PMCID: PMC4347889. Epub 2014/12/04. eng.

(検査・輸血部 藤澤 真一 2020.08)