

HIV薬剤耐性検査ガイドライン

VER. 10



平成28年度 日本医療研究開発機構 エイズ対策実用化研究事業

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

研究代表者：吉村 和久 国立感染症研究所

はじめに・・・4

薬剤耐性遺伝子（ジェノタイプ）検査推奨事例・・・5

解説・・・6

1. 新規診断時（急性感染症例および慢性経過症例を含む）
2. 治療開始時
3. 治療開始後十分な治療効果が認められない時（不完全なウイルス抑制）
4. 治療中薬剤耐性 HIV の出現が疑われた時（一旦抑制後ウイルスリバウンドの出現）
5. 明らかな治療失敗以外の理由で薬剤を変更する時
6. 何らかの理由で治療を中断した時
7. HIV 感染妊婦において予防投与を行う時

補足 1: 薬剤耐性獲得症例の減少

補足 2: 血中 HIV RNA コピー数が 10^2 のレベルで持続して検出される場合

補足 3: 針刺し事故など感染者血液に曝露した場合の予防的措置

付録・・・11

- 薬剤耐性遺伝子検査法
- 薬剤耐性関連アミノ酸変異リストと参考事項
- 指向性検査 Gene2pheno [coreceptor]
- 1. 「Trofile」から遺伝子型による判定へ
- 2. Cut-off 値
- 3. サブタイプによる判定基準の違いについて
- 4. Geno2pheno 以外の判定アルゴリズム
- 5. 指向性検査のタイミングと検体

参考文献・・・16

HIV 薬剤耐性遺伝子検査に関する問い合わせ先・・・19

はじめに

HIV/AIDSの治療を進める際に治療薬剤を選択する指標として薬剤耐性遺伝子検査が有効であることは多くの研究により実証されている。従来薬剤耐性遺伝子検査は全国各地の衛生研究所等で実施されてきたが、平成18年4月の薬剤耐性遺伝子検査の保険収載＊に伴い民間検査会社等に委ねられる事になった。

近年、治療薬の長足の進歩により、毎年のように推奨治療薬の組み合わせが移り変わってきている。特に新たに加わったインテグラーゼ阻害剤を中心とした治療薬の組み合わせは、STR(Single Tablet Regimen)と呼ばれる1日1回1錠の内服薬の推進と相まって、ここ数年で急速に広まってきている。本ガイドライン10版では、このような治療薬の変遷を踏まえた上で、改訂を行った。

2017年2月

謝 辞

本ガイドラインの作成に当たっては下記の先生方をはじめ多くの先生方にご意見を頂きました。この場を借りて御礼申し上げます。

岡田 清美（株式会社北里大塚バイオメディカルアッセイ研究所）
潟永 博之（国立国際医療研究センター）
加藤 真吾（慶應義塾大学医学部）
鯉渕 智彦（東京大学医科学研究所）
齊藤 浩一（株式会社LSIメディエンス）
杉浦 互（株式会社グラクソ・スミスクライン）
蜂谷 敦子（国立病院機構名古屋医療センター）
松下 修三（熊本大学エイズ学研究センター）
松田 昌和（国立病院機構名古屋医療センター）
南 留美（国立病院機構九州医療センター）
宮崎 菜穂子（東京大学医科学研究所）
横幕 能行（国立病院機構名古屋医療センター）
吉田 繁（北海道医療大学）
渡邊 大（国立病院機構大阪医療センター）

敬称略・五十音順

平成28年度 日本医療研究開発機構 エイズ対策実用化研究事業 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

研究代表者：吉村和久（国立感染症研究所）

＊ 保険上の規定

HIV－薬剤耐性遺伝子（ジェノタイプ）検査は、抗HIV治療の選択及び再選択の目的で行った場合に、3ヶ月に1回を限度として算定できる。保険点数6000点。

薬剤耐性遺伝子（ジェノタイプ）検査推奨事例（図1）

以下の項目の事例では薬剤耐性遺伝子検査の実施が望ましい。

-  **1** HIV感染の新規診断時（急性感染症例および慢性経過症例を含む）
-  **2** 治療開始時
-  **3** 治療開始後十分な治療効果が認められない時
（不完全なウイルス抑制）
-  **4** 治療中薬剤耐性HIVの出現が疑われた時
（一旦抑制後ウイルスリバウンドの出現）
-  **5** 明らかな治療失敗以外の理由で薬剤を変更する時
-  **6** 何らかの理由で治療を中断した時
-  **7** HIV感染妊婦において予防投与を行う時

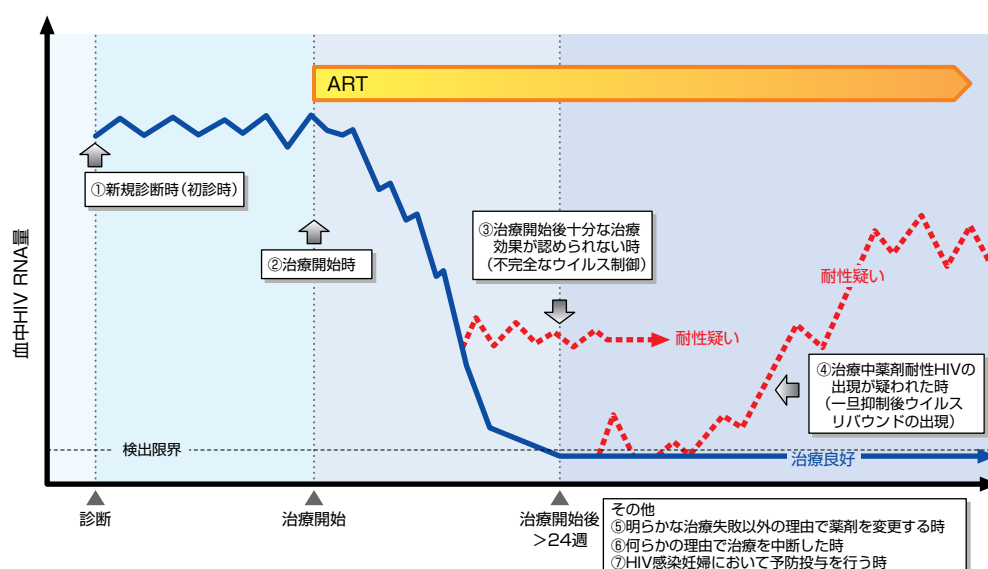


図1 HIV感染症の経過と薬剤耐性遺伝子検査を行うタイミング

この図は典型的なHIV感染症例の経過と薬剤耐性遺伝子検査の実施ポイントを示したものである。

青実線：治療が成功した時のVLの変動

赤点線：治療開始後6ヶ月を経ても十分な治療効果が認められず、薬剤耐性が疑われる場合のVLの変動

赤実線：一旦治療が成功しVLが検出限界以下に抑え込まれたが、その後再びVLが増加を始め、薬剤耐性の出現が疑われた場合のVLの変動

解説

薬剤耐性遺伝子検査は治療を適切に進める指標として必要な検査である。薬剤耐性遺伝子検査の治療における有用性については今まで多くのコホート研究が行われてきたが、その多くが薬剤耐性遺伝子検査の実施が良い治療成績に繋がったと報告している^[1-9]。我が国では多剤併用療法（Antiretroviral therapy: ART）の導入と時を同じくして国立感染症研究所エイズ研究センターや各地の衛生研究所等において、本研究班を中心として、薬剤耐性遺伝子検査が実施されてきた。平成18年4月に保険収載されたことに伴い、薬剤耐性遺伝子検査は、治療開始や変更の際に本遺伝子検査を必要とする感染者に広く供給されることになった（註1）。ただし、検査の実施はむやみに行うのではなく、治療決定に必要な有効な時期を選んで行うことが重要である。これらの経緯を踏まえ、本ガイドラインは耐性検査の適切な実施を目指して作成されている。以下に検査実施が推奨されるそれぞれの状況について解説をしていく。

註1：医療費などの問題で薬剤耐性遺伝子検査の実施が困難な場合は本ガイドライン巻末に記載されている検査実施施設などに相談することを推奨する。

1

新規診断時（急性および慢性感染症例のどちらも含む）

ARTが標準的な治療法として定着して20年余りとなるが、治療薬剤に対して耐性を獲得したウイルス（薬剤耐性ウイルス）の出現が、適切な治療の障害として問題となっている。近年、未だ治療を始めていない新規に感染あるいは感染が診断された者の中にも薬剤耐性を獲得した症例が確認されており、治療感染者集団からの薬剤耐性ウイルスの感染拡大が危惧されている。キードラッグにインテグラーゼ阻害剤の使用が増加しており、それに伴いインテグラーゼ阻害剤に対する耐性ウイルスの感染拡大が懸念されている。欧米のガイドライン（DHHS, <https://aidsinfo.nih.gov/guidelines>）においてもインテグラーゼ領域の薬剤耐性遺伝子検査を推奨している。新規診断症例における薬剤耐性ウイルスの出現頻度の疫学的調査研究は欧米各国で行われており、その頻度は地域や集団により数%～24.1%と広い分布を示す（図2）^[10-36]。我が国においても2003年より新規診断症例における薬剤耐性症例の全国調査が行われており、年ごとに増減はあるものの、現在では新規診断症例の8%前後に何らかの薬剤耐性変異が観察される（図3）^[27, 28, 36]。



治療前における薬剤耐性の有無を確認することは初回治療の選択に極めて重要な情報であるが^[37-39]、薬剤耐性を獲得したウイルスは往々にして薬に対して感受性を保持したウイルスよりも増殖能力などが劣ることなどから、未治療の環境下では野生型に隠れて通常の検査法では確認されない場合がある。この事実は高感度検出法を用いた研究により確認されている^[40-43]。従ってHIV感染診断確定後は直ちに抗HIV療法を開始しない場合でも、将来の適切な抗HIV療法選択の指標の一つとして薬剤耐性遺伝子検査を行うことが医学的に望ましい。事実Littleら⁴⁴は診断時に薬剤耐性変異の有無を確認することが、治療開始後の治療の成否に影響を及ぼすと報告している^[44]。

但し、当該患者にとって診断確定時の薬剤耐性遺伝子検査に緊急性があるとは言えないことから薬剤耐性遺伝子検査を実施の際は費用やその意義について患者に十分な説明を行い、了承を得ることは必須である。早期に医療費助成制度を利用することを考える場合には、その後に薬剤耐性遺伝子検査を行う選択肢もある。本研究班では新規診断症例における薬剤耐性ウイルスの長期動向調査を研究の柱の一つとしており、薬剤耐性遺伝子検査を無料で実施している。検査を希望される場合には薬剤耐性HIVインフォメーションセンター（<http://www.hiv-resistance.jp>）を介して申し込みをしていただきたい。あるいは巻末に示した薬剤耐性遺伝子検査の実施施設に相談をすることも検討されたい。

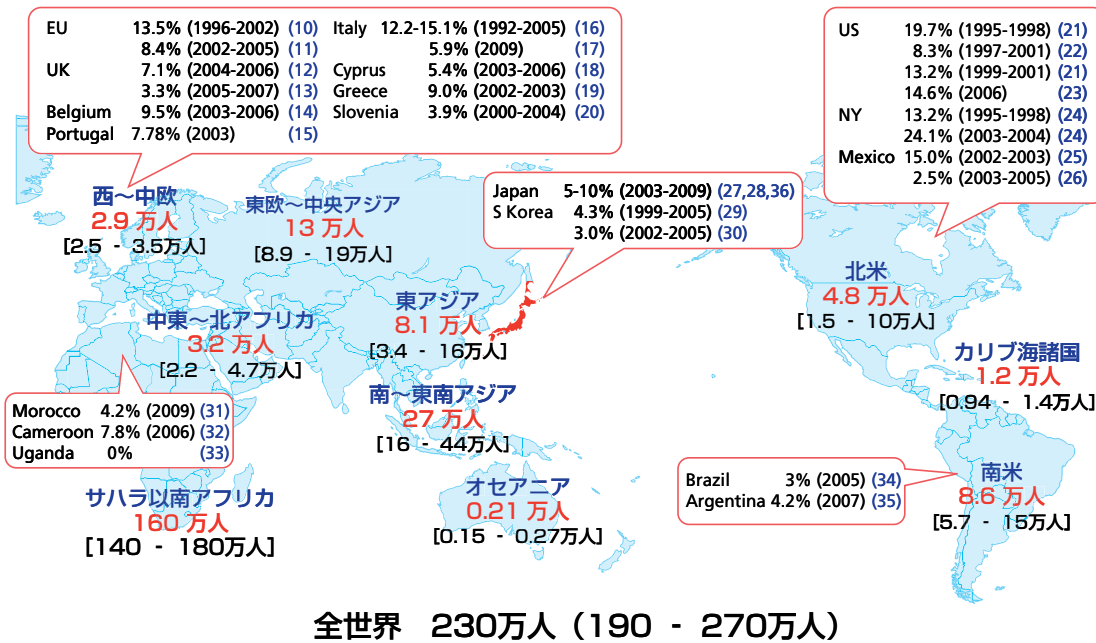


図2 2012年 新たにHIV/AIDSが判明した症例数および報告されている薬剤耐性HIV検出頻度

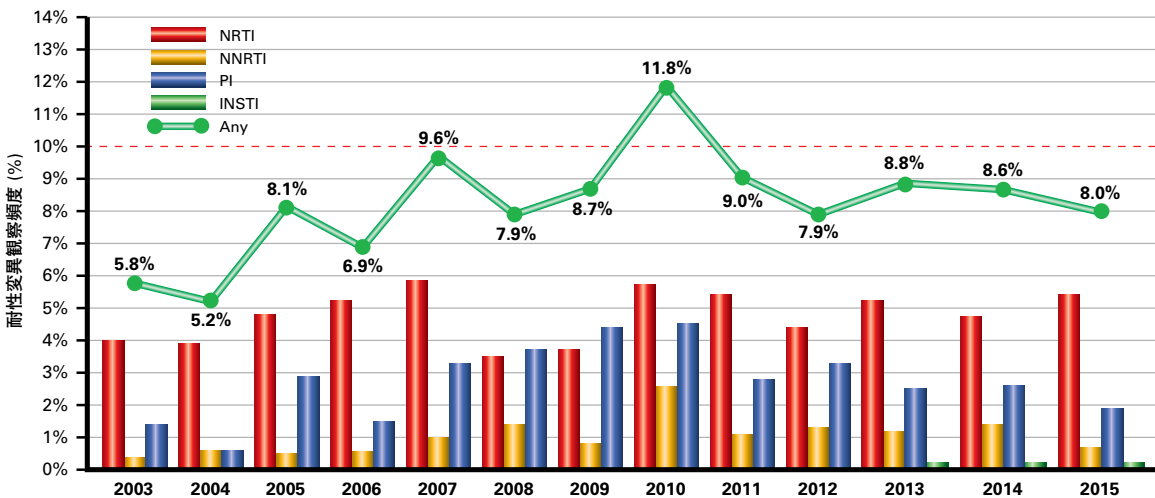


図3 新規HIV/AIDS診断症例における薬剤耐性変異の検出頻度 (2003-2015)

2 治療開始時

治療開始時に薬剤耐性遺伝子検査を実施する事は急性、慢性感染を問わず治療薬剤投与前の基本的な臨床情報として必要であり、またこの時点での薬剤耐性獲得の有無の確認は適切な抗HIV薬剤を選択する上において重要な情報となる^[37-39]。但し、薬剤耐性遺伝子検査の結果を待つためという理由で治療の開始を遅らせることは避けるべきである。



3 治療開始後十分な治療効果が認められない時（不完全なウイルス抑制）

治療開始後24週を経過しても2回以上の測定において血中HIV RNAコピー数が500コピー/mL以上を示す場合薬剤耐性ウイルスの存在が疑われる。このような場合は、薬剤耐性遺伝子検査を行い至適な薬剤を選択するための指標にすることが推奨される。またDHHSのガイドラインによると臨床的な治療失敗と判断されるウイルス量は200コピー/mL以上と定義されているが、検査室レベルにおける薬剤耐性遺伝子検査を考慮する目安は現実的な標的遺伝子の増幅の可能性から、本ガイドラインでは500コピー/mLを対応の目安として採用している（図4）。



4 治療中薬剤耐性HIVの出現が疑われた時（一旦抑制後ウイルスリバウンドの出現）

血中HIV RNAコピー数が検出限界以下に到達していたが、治療中に増加して500コピー/mL以上となった場合（註2）には、速やかに薬剤耐性遺伝子検査を行い、薬剤耐性変異の有無とそのパターンを判定し、効果の高い薬剤を選択するための参考とすることが推奨される。

特に血中HIV RNAコピー数が500～1000コピー/mLの場合は薬剤耐性遺伝子検査の成功率が1000コピー/mL以上の場合に比して低くなるが（註3）、その場合でも薬剤耐性遺伝子検査を試みて耐性の有無を確認することが推奨される（図4）。

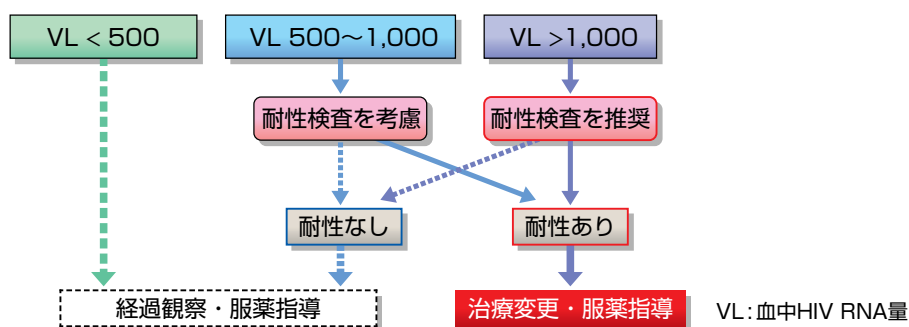


図4 血中HIV RNA量が検出感度以上の時の対応の目安

註2：薬剤の継続的な投与による薬剤耐性の獲得および関連する変異の集積のみならず、アドヒアランスが低下した事態も考えられることから、患者の服薬状況を確認することが必要である。また稀な事例として薬剤耐性ウイルスによる重感染も考えられる。血中HIV RNAコピー数のモニタリングでは、時に一過性の上昇を経験することがある（blip）。上昇が一過性である場合、その次の採血機会に薬剤耐性遺伝子検査が施行されたとしてもHIV遺伝子の検出ができないことがある。従って、血中HIV RNAコピー数の上昇を観察した場合には、どの時点で薬剤耐性遺伝子検査を行うか、慎重な判断が要求される。専門家の意見を聞くことも考慮すべきである。

註3：薬剤耐性遺伝子検査はPCRによるプロテアーゼ、逆転写酵素およびインテグラーゼ遺伝子増幅産物の配列解析を基本とする検査法である（図5）。このため目的とする遺伝子産物の増幅に成功しないと解析を行うことはできない。DHHSのガイドラインおよび本ガイドラインで検査実施の閾値として記載している1000コピー/mLは現在用いられているHIV RNA定量検査の実状と薬剤耐性遺伝子検査を行う際の実用感度の目安を示すものである。＜1000 コピー/mLの場合でも超遠心操作等の濃縮により遺伝子配列解析は可能になることもあるが、それでも遺伝子産物増幅の成功率は低い。反対に＞1000コピー/mLの場合でも遺伝子産物の増幅ができず、解析できないこともある。これはHIV本来の特性である遺伝的多様性等による（『薬剤耐性遺伝子検査法』参照）。いずれの場合も巻末に示した薬剤耐性遺伝子検査を実施可能な施設に相談をすることも検討されたい。

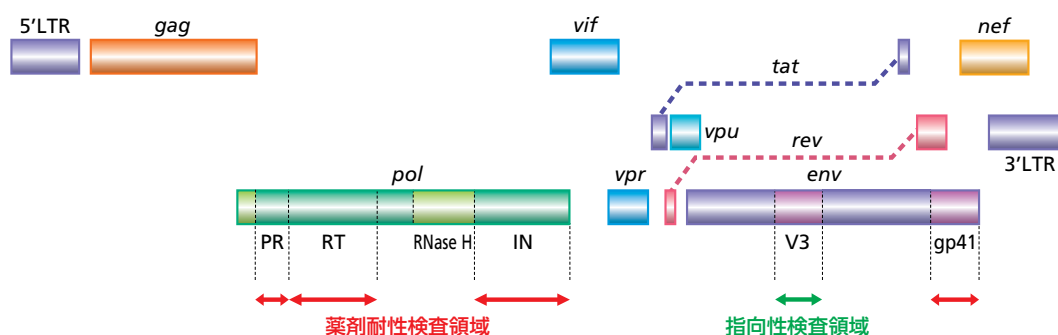


図5 HIV-1 遺伝子と薬剤耐性遺伝子検査と指向性検査の解析領域

5 明らかな治療失敗以外の理由で薬剤を変更する時

副作用、生活リズムへの適応（服薬回数を1日2回から1回へ、食後から食事無関係の薬へなど）、新規薬剤への切り替え等、明らかなウイルス学的失敗以外の理由で抗HIV薬を変更する場合も、万が一変更後の治療でウイルス学的失敗に陥った際に過去の耐性変異情報が次の治療薬選択の指標になることから、変更前に薬剤耐性遺伝子検査を実施することが望ましい。このような事例では血中HIV RNAコピー数が低いために検査が困難なことも想定されるので検査会社あるいは巻末の薬剤耐性遺伝子検査の実施施設等に相談することが望ましい。



6 何らかの理由で治療を中断した時

1. 中断時：

何らかの理由により治療が中断された場合は、（血中HIV RNAコピー数＞500コピー/mLと考えられるので）、将来の治療再開の際の治療薬選択の指標として薬剤耐性遺伝子検査を行うことが推奨される。中断してから検査実施までの期間が長ければ野生型に隠れて薬剤耐性変異の有無が確認されないことがあるため、中断から早い時期（4週間以内）の検査を強く推奨する。中断時期が明確でない場合も検査を行うことが望ましい。



2. 再開時：

治療再開時も薬剤耐性遺伝子検査を実施することが推奨される。しかし、現在の保険上の規定では薬剤耐性遺伝子検査の頻度は3ヶ月に一度までとなっていることに留意する。尚、再開時の薬剤選択の際には薬剤耐性遺伝子検査の結果だけでなく、治療中断に至った理由も重要な情報となる。

あるいは巻末の薬剤耐性遺伝子検査の実施施設等に相談することが望ましい。

7 HIV感染妊婦において予防投与を行う時

垂直感染予防を目的として母親に抗HIV薬の予防投与を行う際には薬剤耐性遺伝子検査を実施し、治療歴と併せて至適薬剤選択の指標にすることが推奨される（HIV母子感染予防対策マニュアル[<http://api-net.jfap.or.jp/library/guideLine/boshi/>]）。また予防投与歴のある母親の治療を開始する際には予防投与で使用した薬剤歴および薬剤耐性遺伝子検査を実施し、その結果を参考にして治療薬剤を選択することが推奨される。

児への感染が確認された際は薬剤耐性遺伝子検査を実施し、母親の治療歴と併せて至適な薬剤選択の指標にすることが推奨される。



補足1：薬剤耐性獲得症例の減少

近年のARTの進歩により、薬剤耐性の獲得によるウイルス学的失敗に陥る症例は激減している。2014年に我々が実施した全国調査では臨床的に問題となるレベルの薬剤耐性を獲得していた症例はART患者の1.1%の頻度であることを明らかにしている^[45, 46]。

補足2：針刺し事故など感染者血液に曝露した場合の予防的措置

血中HIV RNAコピー数が 10^2 のレベルで持続して検出される場合

十分な服薬にも関わらず、血中HIV RNAコピー数が数百コピーのレベルで持続的に検出されるものの薬剤耐性遺伝子検査で耐性変異が確認されない症例に遭遇する事が稀にある。その場合は通常の薬剤耐性遺伝子検査法以外の方法で精査をする必要があるため、専門研究機関に相談することを推奨する。

補足3：針刺し事故など感染者血液に曝露した場合の予防的措置

針刺し事故などHIV感染血液への曝露が発生した場合は、抗HIV治療ガイドライン「医療従事者におけるHIVの暴露対策」（<http://www.haart-support.jp/guideline.htm>）に準ずる対応を基本とする。但し、薬剤耐性症例の血液に曝露した場合は、事故の状況に応じて、個別に対応していく。この事例は検査の主目的が薬剤耐性遺伝子検査被験者の診断・治療ではないことから補足とした。薬剤耐性遺伝子検査に基づく被曝後薬剤予防投与薬剤の選択が感染予防にどれほど有効であるかは、現時点では報告事例がほとんどないことから明確ではない。今後の事例の収集が肝心である。。

薬剤耐性遺伝子検査法

薬剤耐性遺伝子検査は体内で増殖しているHIVの遺伝子解析を行い、検出したアミノ酸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して薬剤耐性の度合いを間接的に評価する方法である。

測定手順は、まず検体からのウイルス核酸（RNA）の抽出を行い、RT-PCR法により標的遺伝子の増幅を行った後、ダイレクトシーケンスで塩基配列を決定するのが一般的である。

現在、検査対象となっているのは*pol*領域のプロテアーゼ（PR）、逆転写酵素（RT）N末端側、及びインテグラーゼ（IN）である（図5）。

通常、血中HIV RNAコピー数が1000コピー/mL以上であればサブタイプに関係なく200～500 μ Lの血漿（血清も可）で検査可能である。血中HIV RNAコピー数が1000コピー/mLより低値の場合でも検査は可能ではあるが、成功率は低くなる。また、超遠心操作等の濃縮により、検査が可能になることもあるが、その場合1～1.5 mLの血漿（血清）が必要となる。尚、PCR法の限界、そしてHIV本来の特性である遺伝的多様性の理由により、血中HIV RNAコピー数の高低に関係なくプライマーのミスマッチのため遺伝子増幅が出来ないことがある。

次に、薬剤耐性遺伝子検査により検出されたアミノ酸変異がどの抗HIV薬に対し耐性を示すのかを判定する必要がある。様々な臨床試験や*in vitro*試験によりそれぞれの抗HIV薬とそれにより誘導されるアミノ酸変異のパターンが報告されている。その報告には、大別すると以下の3種類がある。

- a) 抗HIV薬とそれにより誘導される薬剤耐性関連アミノ酸変異を示したもの
- b) 臨床試験により確認された抗HIV薬で誘導される薬剤耐性関連アミノ酸変異と耐性度を示したもの
- c) 独自のアルゴリズムにより検出された薬剤耐性関連アミノ酸変異を総合的に評価し耐性度を示したもの

また薬剤耐性遺伝子検査法の外部精度評価を本研究班で行っており、国内で行われている医療機関、検査機関の結果の質の向上に努めている^[47]。

薬剤耐性関連アミノ酸変異リストと参考事項（表1）

各薬剤とそれに対する薬剤耐性変異をまとめた薬剤耐性変異リストがInternational Antiviral Society-USAよりほぼ毎年更新・報告されている^[48, 49]。但し、この表では耐性レベルの評価は考慮されていないことに留意することが必要である。

a) 逆転写酵素阻害剤

	codon No.	41	65	67	70	74	115	184	210	215	219
	A.A in wild type	M	K	D	K	L	Y	M	L	T	K
NRTIs	Abacavir(ABC)		R/E/N			V	F	V			
	Didanosine(ddI)		R/E/N			V					
	Emtricitabine(FTC)		R/E/N					V/I			
	Lamivudine(3TC)		R/E/N					V/I			
	Stavudine(d4T)	L	R/E/N	N	R				W	Y/F	Q/E
	Tenofovir(TDF)		R/E/N		E						
	Zidovudine(ZDV,AZT)	L		N	R				W	Y/F	Q/E

b) 非核酸系逆転写酵素阻害剤

	codon No.	90	98	100	101	103	106	108	138	179	181	188	190	221	225	227	230
	A.A in wild type	V	A	L	K	K	V	V	E	V	Y	Y	G	C	P	F	M
NNRTIs	Efavirenz(EFV)			I	P	N/S	M	I			C/I	L	S/A		H		L
	Etavirine(ETR)	I	G	I	E/H/P		I		A/G/K/Q	D/F/T	C/W		S/A				L
	Nevirapine(NVP)			I	P	N/S	A/M	I			C/I	C/U/H	A				L
	Rilpivirine(RPV)			I	E/P				A/G/K/Q/R	L	C/W	L		Y		C	I/L

c) プロテアーゼ阻害剤

codon No.		10	11	16	20	24	30	32	33	34	36	43	46	47	48	50	53	54	58	60	62	63	64	69	71	73	74	76	77	82	83	84	85	88	89	90	93		
A.A in wild type		L	V	G	K	L	D	V	L	E	M	K	M	I	G	I	F	I	Q	D	I	L	I	H	A	G	T	L	V	V	N	I	I	N	L	L	I		
PIs	Atazanavir(ATV+/r)	V/F/V/C		E			I		I	V/F/V	Q	I/L/V	I/L		V	L	LY	L/N/MT/A		E	V					V/W/T/L	C/S/T/A					A/T/F/I		V	V	S		M	L/N
	Darunavir(DRV/r)		I						I	F					V		V	M/L										P	V					V			V		
	Fosamprenavir(FPV/r)	F/V/R/V							I				I/L	V		V	L/V/M									S	V				A/F/I/S/T		V				M		
	Indinavir(IDV/r)	I/R/V			M/R	I		I			I	I/L					V								V/T	S/A		V	I	A/F/I		V				M			
	Lopinavir(LPV/r)	F/V/R/V			M/R	I		I	F			I/L	V/A		V	L	V/L/A/M/T/S					P			V/T	S		V		A/F/I/T/S		V			D/S	M			
	Nelfinavir(NFV)	F/I					N				I	I/L														V/T				I	A/F/I/S/T		V				M		
	Saquinavir(SQV/r)	I/R/V				I									V		V/L			V					V/T	S			I	A/F/I/T/S		V				M			
	Tipranavir(TPV/r)	V							F		I/L/V	T	L	V				A/M/V	E						K/R			P			L/T	D	V			I/M/V			

一次変異：薬剤投与後最初に出現することが多い変異であり、且つ薬剤感受性に大きく影響を及ぼすもの。

二次変異：一次変異に続いて出現してくる変異であり、一次変異と組み合わせることにより耐性レベルを上げる。

d) インテグラーゼ阻害剤に対する耐性変異

	codon No.	66	74	92	97	121	138	140	143	147	148	155	263
	A.A in wild type	T	L	E	T	F	E	G	Y	S	Q	N	R
INSTIs	Dolutegravir(DTG)					Y	A/K	A/S			H/K/R	H	K
	Elvitegravir(EVG)	I/A/K		Q/G	A	Y				G	H/K/R	H	K
	Raltegravir(RAL)		M	Q	A	Y	A/K	A/S	R/H/C		H/K/R	H	K

e) 融合阻害剤に対する耐性変異

	codon No.	36	37	38	39	40	42	43
	A.A in wild type	G	I	V	Q	Q	N	N
FI	Enfuvirtide(ENF)	D/S	V	A/M/E	R	H	T	D

表1 抗HIV-1薬剤と誘導される耐性変異のまとめ
(2017版IAS-USAを元にした)

耐性変異のレベルについては以下、一般に公開され使用が可能なアルゴリズムを参照されたい。

1. スタンフォード薬剤耐性データベース (<http://hivdb.stanford.edu/>)
2. he Agence Nationale de Recherche sur le SIDA (ANRS)薬剤耐性評価 (<http://www.hivfrenchresistance.org/table.html>)
3. Rega Institute in Leuven、Belgiumの研究グループが開発したも (<https://rega.kuleuven.be/cev/avd/software/rega-algorithm>)
4. 薬剤耐性インフォメーションセンター (<http://www.hiv-resistance.jp>) 耐性変異の読み方

スタンフォード薬剤耐性データベースの評価は薬剤耐性に寄与する度合いによって変異毎に点数が決められており、これを合計することによる総合点数の大小で耐性レベルを判定する（スコアリング）。これに対して、ANRSとREGAのものは耐性変異の組み合わせのパターンに基づき耐性を推定する。尚、薬剤耐性インフォメーションセンターは推定アルゴリズムではなく耐性変異既報論文の検索ができる。

使用する評価方法により同じアミノ酸配列であっても異なる結果が導き出されることがある。今までに幾つかの研究グループがアルゴリズム間の違いを解析し報告をしている。Revela等は4つのアルゴリズム（ANRS, Stanford, Rega and Bayer）を用いて同じアミノ酸配列の評価を行った^[50]。その結果評価が4つのアルゴリズム全てで一致したものは66.4%、結果が多少乖離したもの（感受性が軽度耐性、軽度耐性が耐性）は29.2%であった。つまり95%はどの方法を用いても概ね一致した評価が得られたことになる。その一方で5%については全く異なる評価結果（感受性が耐性）が得られており、更なる解析プログラムの精度の向上が必要と思われる。現在のところいずれの評価アルゴリズムもサブタイプBを主に作られており、サブタイプの違いが評価の結果を左右することが指摘されている^[51]。我が国ではサブタイプBに次いでCRF01_AE症例が多いことから、今後CRF01_AEの評価方法について取り組んでいくことが必要と思われる。

指向性検査 Geno2pheno[coreceptor]

1. 「Trofile」から遺伝子型による判定へ

CCR5阻害剤（侵入阻害剤：マラビロク）の使用にあたっては「指向性検査」を行いCCR5指向性（R5）ウイルスの感染であることを確認する必要がある。しかしながら薬剤耐性遺伝子検査と異なり、指向性検査は保険収載されていない。これまで、指向性検査として米国モノグラムサイエンス社が「Trofile」というフェノタイプ試験を行ってきたが、現在日本国内からは使用ができない。Beerenwinkel 等[52]は遺伝子型と表現型が一致した1100例のデータをもとに、遺伝子型からX4指向性の確率を評価するGeno2pheno[coreceptor]（以下、G2P）を構築した（<http://coreceptor.bioinf.mpi-inf.mpg.de/>）。このサイトでは、HIVのgp120のV3領域を含む塩基配列を入力すると自動的にCXCR4指向性(X4)が誤ってCCR5指向性と判定される確率をFalse Positive Rate(FPR)として表示する。また指定したFPR cut offに従い、CCR5阻害剤が有効かどうかの結果を表示する。

日本国内では、「国内流行HIVおよびその薬剤耐性株の長期的動向把握に関する研究」班でGeno2Phenoを用いた指向性検査を無料で実施しているため、この検査を希望される場合には薬剤耐性HIVインフォメーションセンターを介して申し込みをしていただきたい。

2. Cut-off値

Cut offに関してMOTIVATE[53]、Study1029^[54]、あるいはMERIT studyの症例再解析[55]では5.75%、European guidelinesでは10%^[56]など複数の数値が提案されているが、臨床的なデータに基づく根拠があるのは現時点ではMOTIVATE/1029 再解析研究の5.75%しかない。尚、この再解析研究では2～5.75%の症例群も5.75%以上の症例群と互角の臨床成績を呈しており2～5.75%の範囲でもマラビロクの使用が考慮に値すると思われる。しかしながら2%以下の症例の臨床成績はTrofileでX4と判定されたものと一致しており、マラビロク使用には一考が必要であろう。一方European guidelinesの10%という閾値に関しては原文にも「Although a G2P cutoff (false-positive rate) of 5.75% was a good predictor of a sustained response in retrospective analyses of clinical trial data, the panel has concerns for direct translation of these data into routine clinical practice and prefers to advise a more conservative higher false-positive rate cutoff.」とあるように科学的、臨床的な根拠はなく、あくまでも5.75%という数値を基点に、より安全な数値を選んだに過ぎない。また、FPRの数値の評価は感染初期と病気が進行した状況では異なる可能性があり、さらには血清中のHIV RNAで検査した場合と末梢血単核球から抽出されたproviral DNAで検査した場合とでも評価が変わってくる可能性がある。いずれにせよ、FPRと治療効果の関連を示す臨床情報が不足している現状ではこれ以上の議論は困難であり、本ガイドラインではFPRの判定を図6のように提案する。

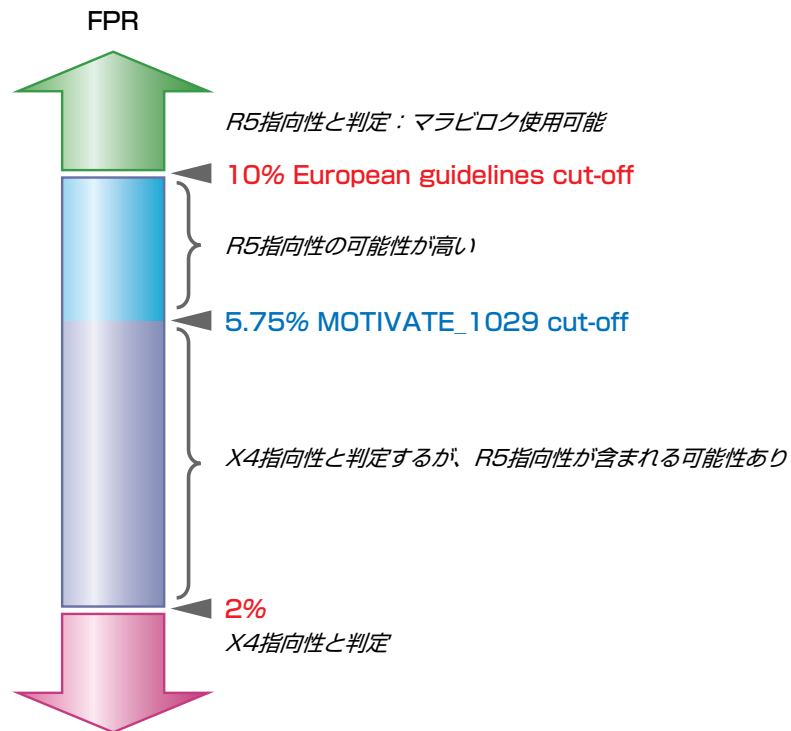


図6 指向性検査の判定に用いられるcut-off値のまとめ

3. サブタイプによる判定基準の違いについて

本邦ではサブタイプBに次いでCRF01_AEによる感染が多いが、CRF01_AEにおいてG2Pの判定が適用できるか結論が出ていない。Los Alamos HIV Sequence Databaseに登録されたV3配列および我々が検査した範囲ではCRF01_AEはG2PでX4指向性と判定される割合がサブタイプBよりも高いことがわかっているため、より注意が必要である。

4. Geno2pheno以外の判定アルゴリズム

遺伝子型により指向性を推定する方法としては、G2P以外にも数種類が知られており、ウェブサイトから自由に利用することができる。Fortinbras PSSM (<http://fortinbras.us/cgi-bin/fssm/fssm.pl>)では、Jensen等が構築したPSSM (position-specific scoring matrices) [57, 58]とPoveda等によるその改良法[59]が利用可能である。PSSMはMOTIVATEにおいてG2Pと並んで指向性評価に用いられた。

5. 指向性検査のタイミングと検体

指向性検査は以下のタイミングで施行することが推奨される。

- 1) CCR5阻害剤の使用を考慮する時
- 2) CCR5阻害剤の使用で十分なウイルス抑制が認められない時

指向性遺伝子検査は血中HIV RNA、末梢血単核球中のHIV DNAいずれからも実施をすることは可能であるが、一般的には血中HIV RNAで判断する。ただし1000コピー/mLを下回る場合はDNAからの解析を推奨する。

参考文献

1. Durant J, Clevenbergh P, Halfon P, Delgiudice P, Porsin S, Simonet P, *et al.* Drug-resistance genotyping in HIV-1 therapy: the VIRADAPT randomised controlled trial. *Lancet* 1999;353:2195-2199.
2. Clevenbergh P, Durant J, Halfon P, del Giudice P, Mondain V, Montagne N, *et al.* Persisting long-term benefit of genotype-guided treatment for HIV-infected patients failing HAART. The Viradapt Study: week 48 follow-up. *Antivir Ther* 2000;5:65-70.
3. Baxter JD, Mayers DL, Wentworth DN, Neaton JD, Hoover ML, Winters MA, *et al.* A randomized study of antiretroviral management based on plasma genotypic antiretroviral resistance testing in patients failing therapy. CPCRA 046 Study Team for the Terry Bein Community Programs for Clinical Research on AIDS. *AIDS* 2000;14:F83-93.
4. Cingolani A, Antinori A, Rizzo MG, Murri R, Ammassari A, Baldini F, *et al.* Usefulness of monitoring HIV drug resistance and adherence in individuals failing highly active antiretroviral therapy: a randomized study (ARGENTA). *AIDS* 2002;16:369-379.
5. De Luca A, Di Giambenedetto S, Cingolani A, Bacarelli A, Ammassari A, Cauda R. Three-year clinical outcomes of resistance genotyping and expert advice: extended follow-up of the Argenta trial. *Antivir Ther* 2006;11:321-327.
6. Tural C, Ruiz L, Holtzer C, Schapiro J, Viciano P, Gonzalez J, *et al.* Clinical utility of HIV-1 genotyping and expert advice: the Havana trial. *AIDS* 2002;16:209-218.
7. Cohen CJ, Hunt S, Sension M, Farthing C, Conant M, Jacobson S, *et al.* A randomized trial assessing the impact of phenotypic resistance testing on antiretroviral therapy. *AIDS* 2002;16:579-588.
8. Meynard JL, Vray M, Morand-Joubert L, Race E, Descamps D, Peytavin G, *et al.* Phenotypic or genotypic resistance testing for choosing antiretroviral therapy after treatment failure: a randomized trial. *AIDS* 2002;16:727-736.
9. 宮崎菜穂子、松下修三、藤井毅、杉浦互、. 抗 HIV 療法を受けている患者における薬剤耐性 HIV の現状と問題点. *日本エイズ学会誌* 2009;11:146-151
10. Wensing AM, van de Vijver DA, Angarano G, Asjo B, Balotta C, Boeri E, *et al.* Prevalence of drug-resistant HIV-1 variants in untreated individuals in Europe: implications for clinical management. *J Infect Dis* 2005;192:958-966.
11. Vercauteren J, Wensing AM, van de Vijver DA, Albert J, Balotta C, Hamouda O, *et al.* Transmission of drug-resistant HIV-1 is stabilizing in Europe. *J Infect Dis* 2009;200:1503-1508.
12. Booth CL, Garcia-Diaz AM, Youle MS, Johnson MA, Phillips A, Geretti AM. Prevalence and predictors of antiretroviral drug resistance in newly diagnosed HIV-1 infection. *J Antimicrob Chemother* 2007;59:517-524.
13. Payne BA, Nsutebu EF, Hunter ER, Olarinde O, Collini P, Dunbar JA, *et al.* Low prevalence of transmitted antiretroviral drug resistance in a large UK HIV-1 cohort. *J Antimicrob Chemother* 2008;62:464-468.
14. Vercauteren J, Derdelinckx I, Sasse A, Bogaert M, Ceunen H, De Roo A, *et al.* Prevalence and epidemiology of HIV type 1 drug resistance among newly diagnosed therapy-naïve patients in Belgium from 2003 to 2006. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2008;24:355-362.
15. Palma AC, Araujo F, Duque V, Borges F, Paixao MT, Camacho R, *et al.* Molecular epidemiology and prevalence of drug resistance-associated mutations in newly diagnosed HIV-1 patients in Portugal. *Infect Genet Evol* 2007;7:391-398.
16. Riva C, Lai A, Caramma I, Corvasce S, Violin M, Deho L, *et al.* Transmitted HIV Type 1 drug resistance and Non-B subtypes prevalence among seroconverters and newly diagnosed patients from 1992 to 2005 in Italy. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2010;26:41-49.
17. Alteri C, Svicher V, Gori C, D'Arrigo R, Ciccozzi M, Ceccherini-Silberstein F, *et al.* Characterization of the patterns of drug-resistance mutations in newly diagnosed HIV-1 infected patients naïve to the antiretroviral drugs. *BMC Infect Dis* 2009;9:111.
18. Kousiappa I, van de Vijver DA, Demetriades I, Kostrikis LG. Genetic analysis of HIV type 1 strains from newly infected untreated patients in cyprus: high genetic diversity and low prevalence of drug resistance. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2009;25:23-35.
19. Paraskevis D, Magiorkinis E, Katsoulidou A, Hatzitheodorou E, Antoniadou A, Papadopoulos A, *et al.* Prevalence of resistance-associated mutations in newly diagnosed HIV-1 patients in Greece. *Virus Res* 2005;112:115-122.
20. Babic DZ, Zelnikar M, Seme K, Vandamme AM, Snoeck J, Tomazic J, *et al.* Prevalence of antiretroviral drug resistance mutations and HIV-1 non-B subtypes in newly diagnosed drug-naïve patients in Slovenia, 2000-2004. *Virus Res* 2006;118:156-163.
21. Simon V, Vanderhoeven J, Hurley A, Ramratnam B, Louie M, Dawson K, *et al.* Evolving patterns of HIV-1 resistance to antiretroviral agents in newly infected individuals. *AIDS* 2002;16:1511-1519.
22. Weinstock HS, Zaidi I, Heneine W, Bennett D, Garcia-Lerma JG, Douglas JM, Jr., *et al.* The epidemiology of antiretroviral drug resistance among drug-naïve HIV-1-infected persons in 10 US cities. *J Infect Dis* 2004;189:2174-2180.
23. Wheeler WH, Ziebell RA, Zabina H, Pieniazek D, Prejean J, Bodnar UR, *et al.* Prevalence of transmitted drug resistance associated mutations and HIV-1 subtypes in new HIV-1 diagnoses, U.S.-2006. *AIDS* 2010;24:1203-1212.
24. Shet A, Berry L, Mohri H, Mehndru S, Chung C, Kim A, *et al.* Tracking the prevalence of transmitted antiretroviral drug-resistant HIV-1: a decade of experience. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006;41:439-446.
25. Escoto-Delgadillo M, Vazquez-Valls E, Ramirez-Rodriguez M, Corona-Nakamura A, Amaya-Tapia G, Quintero-Perez N, *et al.* Drug-resistance mutations in antiretroviral-naïve patients with established HIV-1 infection in Mexico. *HIV Med* 2005;6:403-409.
26. Viani RM, Hsia K, Hubbard P, Ruiz-Calderon J, Lozada R, Alvelais J, *et al.* Prevalence of primary HIV-1 drug resistance in pregnant women and in newly diagnosed adults at Tijuana General Hospital, Baja California, Mexico. *Int J STD AIDS* 2007;18:235-238.
27. Gatanaga H, Ibe S, Matsuda M, Yoshida S, Asagi T, Kondo M, *et al.* Drug-resistant HIV-1 prevalence in patients newly diagnosed with HIV/AIDS in Japan. *Antiviral Res* 2007;75:75-82.

28. Hattori J, Shiino T, Gatanaga H, Yoshida S, Watanabe D, Minami R, 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 Res* 2010;88:72-79.
29. Choi JY, Kim EJ, Park YK, Lee JS, Kim SS. National survey for drug-resistant variants in newly diagnosed antiretroviral drug-naïve patients with HIV/AIDS in South Korea: 1999-2005. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008;49:237-242.
30. Kim CO, Chin BS, Han SH, Lee HS, Jeong SJ, Choi HK, et al. Low prevalence of drug-resistant HIV-1 in patients newly diagnosed with early stage of HIV infection in Korea. *Tohoku J Exp Med* 2008;216:259-265.
31. Bakhouch K, Oulad-Lahcen A, Bensghir R, Blaghen M, Elfilali KM, Ezzikouri S, et al. The prevalence of resistance-associated mutations to protease and reverse transcriptase inhibitors in treatment-naïve (HIV1)-infected individuals in Casablanca, Morocco. *J Infect Dev Ctries* 2009;3:380-391.
32. Vergne L, Diagbouga S, Kouanfack C, Aghokeng A, Butel C, Laurent C, et al. HIV-1 drug-resistance mutations among newly diagnosed patients before scaling-up programmes in Burkina Faso and Cameroon. *Antivir Ther* 2006;11:575-579.
33. Ndembu N, Lyagoba F, Nanteza B, Kushemererwa G, Serwanga J, Katongole-Mbidde E, et al. Transmitted antiretroviral drug resistance surveillance among newly HIV type 1-diagnosed women attending an antenatal clinic in Entebbe, Uganda. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2008;24:889-895.
34. Rodrigues R, Scherer LC, Oliveira CM, Franco HM, Sperhake RD, Ferreira JL, et al. Low prevalence of primary antiretroviral resistance mutations and predominance of HIV-1 clade C at polymerase gene in newly diagnosed individuals from south Brazil. *Virus Res* 2006;116:201-207.
35. Dilelania DA, Lourtou L, Gomez AM, Ebenrsteijn J, Toibaro JJ, Bautista CT, et al. Drug-resistance surveillance among newly HIV-1 diagnosed individuals in Buenos Aires, Argentina. *AIDS* 2007;21:1355-1360.
36. Hattori J, Shiino T, Gatanaga H, Mori H, Minami R, Uchida K, et al. Characteristics of Transmitted Drug-Resistant HIV-1 in Recently Infected Treatment-Naïve Patients in Japan. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2016;71:367-373.
37. Kuritzkes DR, Lalama CM, Ribaudo 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-naïve HIV-1-infected subjects. *J Infect Dis* 2008;197:867-870.
38. 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* 2006;20:21-28.
39. Sax PE, Islam R, Walensky RP, Losina E, Weinstein MC, Goldie SJ, et al. Should resistance testing be performed for treatment-naïve HIV-infected patients? A cost-effectiveness analysis. *Clin Infect Dis* 2005;41:1316-1323.
40. Nishizawa M, Hattori J, Shiino T, Matano T, Heneine W, Johnson JA, et al. Highly-sensitive allele-specific PCR testing identifies a greater prevalence of transmitted HIV drug resistance in Japan. *PLoS One* 2013;8:e83150.
41. Balduin M, Oette M, Daumer MP, Hoffmann D, Pfister HJ, Kaiser R. Prevalence of minor variants of HIV strains at reverse transcriptase position 103 in therapy-naïve patients and their impact on the virological failure. *J Clin Virol* 2009;45:34-38.
42. Metzner KJ, Giulieri SG, Knoepfel SA, Rauch P, Burgisser P, Yerly S, et al. Minority quasiespecies of drug-resistant HIV-1 that lead to early therapy failure in treatment-naïve and -adherent patients. *Clin Infect Dis* 2009;48:239-247.
43. Johnson JA, Li JF, Wei X, Lipscomb J, Irlbeck D, Craig C, et al. Minority HIV-1 drug resistance mutations are present in antiretroviral treatment-naïve populations and associate with reduced treatment efficacy. *PLoS Med* 2008;5:e158.
44. Little SJ, Smith DM. HIV treatment decisions and transmitted drug resistance. *Clin Infect Dis* 2005;41:233-235.
45. 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全国調査. 第 23 回日本エイズ学会学術集会、総会 2009.
46. 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* 2010;31:233-234.
47. Yoshida S, Hattori J, Matsuda M, Okada K, Kazuyama Y, Hashimoto O, 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;31:318-325.
48. Wensing AM, Calvez V, Gunthard HF, Johnson VA, Paredes R, Pillay D, et al. 2015 Update of the Drug Resistance Mutations in HIV-1. *Top Antivir Med* 2015;23:132-141.
49. Wensing AM, Calvez V, Gunthard HF, Johnson VA, Paredes R, Pillay D, et al. 2017 Update of the Drug Resistance Mutations in HIV-1. *Top Antivir Med* 2016;24:In press.
50. Ravela J, Betts BJ, Brun-Vezinet F, Vandamme AM, Descamps D, van Laethem K, et al. HIV-1 protease and reverse transcriptase mutation patterns responsible for discordances between genotypic drug resistance interpretation algorithms. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003;33:8-14.
51. 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* 2006;50:694-701.
52. Sing T, Low AJ, Beerenwinkel N, Sander O, Cheung PK, Domingues FS, et al. Predicting HIV coreceptor usage on the basis of genetic and clinical covariates. *Antivir Ther* 2007;12:1097-1106.
53. Hardy WD, Gulick RM, Mayer H, Fatkenheuer G, Nelson M, Heera J, et al. Two-year safety and virologic efficacy of maraviroc in treatment-experienced patients with CCR5-tropic HIV-1 infection: 96-week combined analysis of MOTIVATE 1 and 2. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010;55:558-564.
54. Saag M, Goodrich J, Fatkenheuer G, Clotet B, Clumeck N, Sullivan J, et al. A double-blind, placebo-controlled trial of maraviroc in treatment-experienced patients infected with non-R5 HIV-1. *J Infect Dis* 2009;199:1638-1647.
55. McGovern RA, Thielen A, Portsmouth S, Mo T, Dong W, Woods CK, et al. Population-based sequencing of the V3-loop can predict the virological response to maraviroc in treatment-naïve patients of the MERIT trial. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2012;61:279-286.



56. Vandekerckhove LP, Wensing AM, Kaiser R, Brun-Vezinet F, Clotet B, De Luca A, *et al.* European guidelines on the clinical management of HIV-1 tropism testing. *Lancet Infect Dis* 2011,11:394-407.
57. Jensen MA, Coetzer M, van 't Wout AB, Morris L, Mullins JI. A reliable phenotype predictor for human immunodeficiency virus type 1 subtype C based on envelope V3 sequences. *J Virol* 2006,80:4698-4704.
58. Jensen MA, Li FS, van 't Wout AB, Nickle DC, Shriner D, He HX, *et al.* Improved coreceptor usage prediction and genotypic monitoring of R5-to-X4 transition by motif analysis of human immunodeficiency virus type 1 env V3 loop sequences. *J Virol* 2003,77:13376-13388.
59. Poveda E, Seclen E, Gonzalez Mdel M, Garcia F, Chueca N, Aguilera A, *et al.* Design and validation of new genotypic tools for easy and reliable estimation of HIV tropism before using CCR5 antagonists. *J Antimicrob Chemother* 2009,63:1006-1010.

HIV薬剤耐性遺伝子検査に関する問い合わせ先

- 札幌** 北海道医療大学
0133-23-1309
吉田 繁 **薬**
- 北海道大学病院 検査・輸血部
011-706-5714
佐藤 かおり **薬**
- 宮城** 独立行政法人 国立病院機構
仙台医療センター
022-293-1111
伊藤 俊広 **薬**
- 新潟** 新潟大学医歯学総合病院感染管理部
025-227-0726
田邊 嘉也 **薬**
- 東京** 東京都健康安全研究センター
微生物部
03-3363-3231
貞升 健志 **薬**
- 国立研究開発法人
国立国際医療研究センター
エイズ治療・研究開発センター
03-3201-7181
潟永 博之 **薬**
- 神奈川** 神奈川県衛生研究所微生物部
0467-83-4400
近藤 真規子 **薬**
- 愛知** 独立行政法人 国立病院機構
名古屋医療センター
052-951-1111
岩谷 靖雅、蜂谷 敦子、松田 昌和 **薬・指**
- 大阪** 独立行政法人 国立病院機構
大阪医療センター
06-6942-1331
白阪 琢磨、渡邊 大 **薬・指**
- 大阪府立公衆衛生研究所ウイルス課
06-6972-1321
森 治代 **薬・指**
- 福岡** 独立行政法人 国立病院機構
九州医療センター
092-852-0700
南 留美 **薬・指**
- 沖縄** 琉球大学大学院
感染症・呼吸器・消化器内科学
098-895-1144
健山 正男 **薬**

薬：薬剤耐性遺伝子検査問い合わせ可能施設
薬・指：薬剤耐性遺伝子検査、
指向性検査問い合わせ可能施設