

未服用愛滋病治療藥物的新患者感染抗藥性愛滋病毒的趨勢

林德宇¹ 王甯祺^{1,2}

三軍總醫院 ¹內科部感染科 ²感染管制室

自從愛滋病抗病毒藥物開始廣泛使用後，愛滋病成為可控制的慢性病。然而抗藥性病毒株隨即於愛滋病治療藥物上市不久後，出現在服藥順從性不佳的病人體內；廣泛使用合併愛滋病治療藥物療法後，亦發現具有抗藥性的愛滋病毒株的比例也愈來愈高，特別是在核苷酸反轉錄酶抑制劑及非核苷酸反轉錄酶抑制劑等二種治療藥物具有抗藥性的愛滋病毒株。本文介紹愛滋病治療藥物的使用原則、愛滋病毒產生抗藥性的機轉、實驗室偵測病毒抗藥性的方法，以及在台灣地區未服用抗病毒藥物的愛滋病新患者感染帶有抗藥性基因的愛滋病毒的流行病學現況，希望能讓從事傳染病通報與感染管制的醫療同仁能深入了解抗藥性愛滋病毒現況及未來愛滋病治療趨勢。（**感控雜誌 2013;23:191-199**）

關鍵詞：人類免疫缺乏病毒(愛滋病毒)、愛滋病毒抗藥性機轉、抗藥性趨勢

前 言

全世界每一年大約有兩百七十萬人新感染人類免疫缺乏病毒(human immunodeficiency virus, HIV)；美國每年則有超過五萬名新診斷的愛滋病感染者死亡[1]。根據台灣疾病管制局的通報統計資料，自從得以控制靜脈毒癮者感染愛滋病毒的疫情之後，2007

到2011年台灣每年新診斷的愛滋病感染者大約在1,600到2,000人，而男與男之間的性行為(men sex with men, MSM)已經成為感染愛滋病毒最主要的途徑並且有逐年增加且年輕化的趨勢。

抗愛滋病藥物治療(antiretroviral therapies, ART)能夠有效的控制愛滋病感染者的免疫不全問題

民國102年5月1日受理
民國102年6月5日接受刊載

通訊作者：王甯祺
通訊地址：台北市內湖區成功路2段325號
聯絡電話：(02) 87927257

和治療相關疾病，並延長愛滋病感染者的壽命，但是患者必需規律的追蹤與長期定期服用愛滋病治療藥物。複合式抗愛滋病毒藥物 (combined antiretroviral drugs) 或高效能抗反轉錄病毒療法 (Highly Active Anti-Retroviral Therapies, HAART，俗稱雞尾酒療法) 雖可有效降低病毒量，避免疾病惡化並控制病情，但研究報告指出約只有半數藥物治療的病人能理想的控制病毒量至低於 20 或 50 copies/ml [2-3]；其餘的病人體內的愛滋病毒在治療藥物濃度不足無法完全抑制病毒複製的情形，再加上愛滋病毒複製過程缺乏校正錯誤基因序列的功能，可藉由藥物所造成的壓力 (selection pressure) 篩選出有抗藥性的病毒株群。對於相關藥物使用前後的愛滋病毒抗藥性基因序列各項檢驗，例如定基因亞型 (subtyping)、抗藥性基因突變分析 (drug resistance genotyping) 等，由於高度複雜的技術以及所需設備昂貴，絕大多數接受抗愛滋病毒治療的病患沒有做病毒突變抗藥性基因分析，少數的病患或等到血液採檢時間已過數年後，才能在研究計畫的研究型實驗室完成檢驗，這已失去了防堵抗藥性愛滋病毒疫情擴大與改善治療的重要時效性。

愛滋病治療的新觀念

一、愛滋病毒株的抗藥基因篩檢：目前全球主要的愛滋病學會（北

美、歐洲、澳洲）的共識是在開始使用愛滋病治療藥物前，必需先檢驗病人的病毒株基因是否已有突變的抗藥性基因，以選擇最有效的治療藥物組合，避免無效用藥與爭取治療時機。並且對已使用愛滋病治療藥物的病人，每 3 至 6 個月定期檢測血中愛滋病毒量 (HIV viral load)，如有控制不佳情形，可檢驗 HIV-1 的抗藥性基因；臨床醫師能根據每個案例的檢測結果，給予有效的治療藥物組合。在 2013 年美國衛生部最新公佈的“抗愛滋病毒藥物成年人使用準則” (Department of Health and Human Service guideline, DHHS guideline)，就已經建議在新感染的愛滋病案例，要考慮執行抗藥性基因篩檢[4]。這項建議的部份原因是在於帶有抗藥性突變基因的 HIV-1 病毒株感染傳播力與無抗藥性病毒株是一樣；即時早期發現帶有抗藥的病毒株感染個案，不單能加強公衛防疫而且持續幫助追蹤這些病人的療效。在台灣有限資料顯示，於西元 2004 年臺南、高雄地區約有 9% 的未用藥的愛滋帶原者，已存有至少一個高風險抗藥性基因突變；但已使用愛滋治療藥物的病人缺乏相關數據。

目前台灣治療愛滋病患是以政府公務預算的方式提供治療，平均每人每年的藥物費約新台幣三十五萬元，花費極為昂貴；目前檢驗愛滋抗藥性基因並不是常規項目且無給付費用，所以大部分的愛滋病治療指定醫院的

醫師沒有愛滋病毒抗藥性基因檢驗的數據來做為愛滋治療的投藥的依據；醫師缺乏明確的證據來判斷用藥的正確性。使用已有抗藥性的治療藥物不但浪費金錢，也會耽誤治療與惡化病毒的抗藥性情形。另外，不同基因亞型的 HIV-1 病毒株對於各種愛滋病治療藥物的感受性和發生抗藥突變的情形各有差異[5]，目前已知基因突變與抗藥性表現型的資料庫大多是根據在西歐、北美所盛行的 B 亞型所建立；而在亞洲地區特有或新發現的 HIV-1 基因重組病毒株，如 CRF01_AE、CRF07_BC、CRF08_BC 等，其基因型與表現型關聯的資料則非常少。在 B 亞型所確認抗藥基因突變點，未必能適用到其他亞型上。

接著探討針對愛滋病治療藥物作用方式，說明抗藥性病毒常見的抗藥性機轉：

現有治療 HIV type 1 感染的藥物分為五個不同的種類[6]如後：1. 核苷酸反轉錄酶抑制劑 (nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NRTIs) 作用在 DNA 鏈的 terminators，抑制病毒的 RNA genome 反轉錄成為 DNA，而這在病毒的早期複製週期是個極重要的步驟。2. 非核苷酸反轉錄酶抑制劑 (non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NNRTIs)，與反轉錄酶結合並抑制反轉錄酶功能。反轉錄酶會形成反轉錄步驟，以愛滋病毒的 RNA 為模板，將愛滋病毒的 RNA 轉變為 DNA，接著進入宿主細胞核，嵌入核

內的宿主 DNA 之後，藉由宿主細胞的功能產生病毒的蛋白質與下一代的病毒 RNA。3. 蛋白酶抑制劑 (protease inhibitors, PIs)，主要作用在病毒的蛋白酶，蛋白酶功能在切割先驅蛋白質 gag 與 gag-pol，蛋白酶抑制劑會阻斷病毒顆粒內核組裝的步驟。4. 融合抑制劑 (fusion inhibitors)，主要作用在阻止愛滋病毒進入 CD4 淋巴球，有 2 種治療藥物作用於不同的目標。愛滋病毒先藉由病毒表面的複合醣蛋白 (glycopeptides) 組合的 gp120/gp41 接受器與 CD4 淋巴細胞表面的 CD4 結合後，再與淋巴細胞表面另一類型的接受體族群 (CCR5 或 CXCR4) 結合，接著放出融合蛋白，使愛滋病毒與 CD4 淋巴球融合；Maraviroc 是 co-receptor 阻斷劑，會結合 CCR5，讓 gp120/gp41 接受器無法與 CCR5 結合，阻斷病毒進入 CD4 淋巴球。Enfuvirtide 是皮下注射形態的蛋白質，阻斷融合蛋白作用，使愛滋病毒不能與 CD4 淋巴球融合，是現有治療藥物唯一非口服藥物。5. 嵌入酶抑制劑 (integrase inhibitors)，主要作用機轉為阻斷愛滋病毒核酸嵌入酶活性，進而抑制愛滋病毒的 cDNA (由反轉錄酶以愛滋病毒的 RNA 為板模製造而成的雙股 DNA) 嵌合至人類細胞核的 DNA。

二、合併不同類機轉的抗病毒藥物治療 HIV 感染：稱為高效能抗反轉錄病毒療法。現在的 HAART 處方大部分包含三類抗反轉錄病毒藥物，通

常是兩個核苷酸反轉錄酶抑制劑合併一個蛋白酶抑制劑或是一個非核苷酸反轉錄酶抑制劑。合併使用這些不同種類的藥物對控制抗藥性產生有大幫助。

抗藥性的發生

瞭解藥物抗藥性發生有兩個觀念是重要的；首先，愛滋病毒感染的特徵是大量的病毒複製與更替。因為被愛滋病毒感染的 CD4 淋巴球的半衰期明顯地變短（不到 1 天），愛滋病毒以非常高的效率感染新的 CD4 淋巴細胞。其次，在患者身上的各種愛滋病族群彼此有著高度的異質性。快速的病毒複製，加上在每個愛滋病毒感染 CD4 細胞發生高比率的基因複製缺陷，使得病人擁有複雜且多種的病毒株種類 (quasispecies) 混合，很容易產生抗藥性。病毒抗藥性分成下列二種：誘發的抗藥性：經過數個週期的病毒與抗病毒藥物競爭過程後，帶有某一基因缺陷的病毒逐漸成為優勢病毒族群，形成對某一類抗病毒藥物產生抗藥性的病毒株。所以產生高抗藥性的缺陷基因能夠在幾個星期內發生。對於其他類的藥物，一個基因缺陷只有導致愛滋病毒較低程度的抗藥性，需要逐漸累積其他基因缺陷，才能有較高程度的抗藥性或是完全的抗藥性。原發的抗藥性：指愛滋病毒先天對某些類抗病毒藥物具有先天的抗藥性。例如第二型愛滋病病毒 (HIV-2)

對許多非核苷酸反轉錄酶抑制劑具有先天抗藥性；第一型愛滋病病毒 (HIV-1) 非 B 亞型病毒比起 B 亞型對非核苷酸反轉錄酶抑制劑及蛋白酶抑制劑有較高的抗藥性。

合併不同種類的病毒治療藥物治療能夠阻止病毒抗藥性過程。愛滋病毒需要許多機轉（每種機轉需要不同的基因缺陷）才能對於所有處方用藥都產生抗藥性。再者，用多種類藥對於抑制病毒複製比起單一用藥更有效率。缺少病毒繼續的複製，新的基因變異也會停止。值得重視的是在 HAART 使用中，抗藥性的產生常是初次治療失敗的結果而不是原因。抗藥性若開始產生，將會增加治療失敗機率與增加抗藥程度的循環將會導致現今所有的抗愛滋病毒藥物都不能夠控制病毒複製。

抗藥性的作用機轉

一、對於核苷酸反轉錄酶抑制劑 (NRTIs) 的抗藥性：Nucleoside analogues 與 nucleotide analogues 經由反轉錄酶而阻止病毒 DNA 的合成。在 cellular kinases 磷酸化之後，這些複合物經由反轉錄酶混入病毒 DNA 的初期鏈結中。因為這些藥物缺乏 3' hydroxyl group，沒有額外的 nucleotides 能夠連結上它們，就會終止病毒 DNA 的合成。HIV 對這些藥物具抗藥性有兩個不同機轉：破壞此類似物 analogue 加入 DNA 過程和從

早終止的 DNA 鏈結移除此 analogue [7]。

1. 破壞此類似物 analogue 加入 DNA 過程：在反轉錄酶的幾個基因缺陷或是基因缺陷群，藉由選擇性破壞反轉錄酶將 analogue 帶入 DNA 的能力，能夠促成抗藥性的產生。它們基本上包括 M184V，Q151M complex、以及 K65R 的突變。M184V 突變包括在反轉錄酶的位置 184 處用 valine 取代原本的 methionine，這是對 lamivudine 具抗藥性的主要突變。而 Q151M complex 的突變群常會發生於含有 stavudine (d4T) 與 didanosine (ddI) 的藥物組合治療失敗後的病人。K65R 的基因突變，愈來愈常見於接受過 nucleoside 或是 nucleotide analogues 治療而失敗的病人身上，尤其當此處方中含有 tenofovir (TDF) 或 abacavir (ABC)；造成除了 zidovudine (AZT；ZDV) 以外大部分 analogues 的抗藥性。

2. 從 terminated DNA chain 上移除 analogue：一群基因缺陷突變 (thymidine analogue mutations, TAMs) 藉由 ATP 或 pyrophosphate 促成；將 nucleoside analogues 從終端 terminated DNA 鏈的 3' 端移除而產生抗藥性。ATP 與磷酸 pyrophosphate，thymidine analogue 突變後的反轉錄酶促使它們進入到接近已結合 analogue 的地方。在這個位置，ATP 或是 pyrophosphate 能夠攻擊連結 analogue 與 DNA 的 phosphodiester 鍵結，造成 analogue 的

移除。有趣的是，這個抗藥性基因能夠明顯地減少其他反轉錄酶部位發生突變。

二、對非苷核酸反轉錄酶抑制劑 (NNRTIs) 的抗藥性：NNRTIs 是對反轉錄酶中靠近 catalytic 區域 (domain) 恐水囊 (hydrophobic pocket) 擁有很強親和力小分子，因而阻礙了合成 DNA 的能力。這些經 NNRTIs 治療失敗所選擇出的突變基因位置全部在這些複合物作用的 pocket 上，因而減少藥物的親和力。

三、對蛋白酶抑制劑 (PIs) 的抗藥性：HIV 蛋白酶會作用在特殊地方切割大分子的多蛋白先驅物 polyprotein precursor，釋放出組合感染性病毒顆粒所需的構造蛋白質 (structural proteins) 與酵素。在缺乏功能性蛋白酶 (functional protease) 的情形下，也會製造病毒顆粒，但是它們並不成熟也不具感染力。對蛋白酶抑制劑的抗藥性是發生在酵素內部物質結合區域 substrate-binding domain 或是遠端的胺基酸取代結果。這些胺基酸的改變直接或是間接地修改位於抑制劑和蛋白酶之間接觸點的數目和自然結構，因而減少其對此酵素的親和力。

四、對 fusion inhibitors 的抗藥性；HIV-1 藉由複雜的 HIV 包膜的醣類複合物與特殊細胞表面之間的作用進入目標細胞。在這個步驟中，gp41 的遠端恐水區 (hydrophobic region)，HR2，褶疊到更近端恐水區，HR1 的

上方，有效地縮短此分子的距離。Enfuvirtide 藉由與 HR1 結合使這個過程變得不穩定並阻止 HIV-1 的感染。病毒對 enfuvirtide 的抗藥性通常來自於位在 HR1 之內的 10 個胺基酸基因的突變。

五、對嵌入酶抑制劑的抗藥性：對嵌入酶抑制劑的抗藥性主要為先天的抗藥性，某些位置基因改變即可造成抗藥性。

愛滋病藥物抗藥性的檢驗方法

為了選擇有效的抗病毒藥物組合，已經發展出兩種抗藥性試驗能夠評估 HIV 對個別治療反轉錄病毒藥物的抗藥性。Phenotypic assay，國外在新感染者大型追蹤式研究，發現多個在基因上的胺基酸突變點會導致之後病人對不同類別藥物的病毒量控制不佳、感受性變差、甚至用藥失敗 [8]；分離帶有該突變點的病毒，經細胞培養後，再用該藥測試能夠抑制 50% 病毒複製能力的藥物濃度 (50% inhibitory concentration; log IC 50)，發現需增加 2.5 倍到 10 倍藥量才能抑制此種突變病毒，證實抗藥性與該突變點之關聯性。目前都是先以臨床上觀察用藥失敗案例的突變點，經有設備經費實驗室確認突變序列與 *in vitro* drug sensitivity test 的關係。此種 phenotypic test 針對抗藥性測試需在生物安全 3 級以上實驗室操作且耗費耗時，所以才會發展定基因序列

genotypic tests 檢測抗藥性，並且有美國 FDA 認可的 diagnostic kits 上市 [9]。

這些 kits 定期檢查 drug sensitivity 並修正抗藥基因定義 (drug resistance gene mutation)，是以歐美盛行的 B 型為主，現今台灣在 2005~2009 年間在靜脈毒癮者身上流行的新病毒株 CRF07_BC 與 CRF01_AE，位點改變與表現出的抗藥性 phenotypes 不見得與 B 型的法則完全相同。而 genotypic assays，能夠偵測抗藥性 mutations 的存在。

交互抗藥性 (cross resistance)

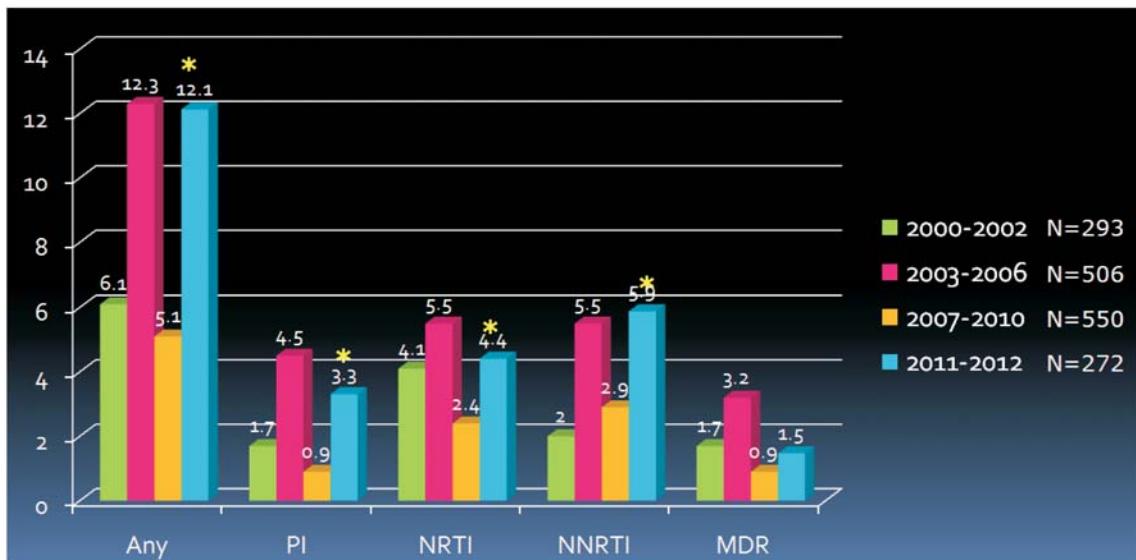
交互抗藥性，定義為病毒對尚未接觸過的藥物產生抗藥性，導因於使用另一藥物所篩選出來的突變基因。交互抗藥性總是侷限於對一類抗反轉錄病毒的藥物產生抗藥性，但是全部三類抗反轉錄病毒藥物都會受到影響。在感染到具有低量交互抗藥性的病毒株，使用有效的替換用藥，只需極少數的基因改變就會伴隨著快速篩選出高抗藥性的變異株。

台灣抗藥性現況

根據臺大醫學院張淑媛老師針對 2000 年至 2012 年新診斷的愛滋病患且未接受過愛滋病治療藥物的族群作抗藥性調查[10-11]的研究，成果呈現第一時期 (2000~2002 年) 發現在 293

位病患中對任一藥物抗藥性比率為 6.1%，對核苷酸反轉錄酶抑制劑 (NRTIs)、非核苷酸反轉錄酶抑制劑 (NNRTIs) 及蛋白酶抑制劑 (PIs) 的抗藥性分別為 4.1%、2% 及 1.7%，多重抗藥性比率為 1.7%；第二時期 (2003~2006 年) 發現在 506 位病患中對任一藥物抗藥性比率為 12.3%，對核苷酸反轉錄酶抑制劑 (NRTIs)、非核苷酸反轉錄酶抑制劑 (NNRTIs) 及蛋白酶抑制劑 (PIs) 的抗藥性分別為 5.5%、5.5% 及 4.5%，多重抗藥性比率為 3.2%；第三時期 (2007~2010 年) 發現在 550 位病患中對任一藥物抗藥性比率為 5.1%，對核苷酸反轉錄酶抑制劑 (NRTIs)、非核苷酸反轉錄酶抑制劑 (NNRTIs) 及蛋白酶抑制劑 (PIs) 的抗藥性分別為 2.4%、2.9% 及

0.9%，多重抗藥性比率為 0.9%；第四時期 (2011~2012 年) 發現在 272 位病患中對任一藥物抗藥性比率為 12.1%，對核苷酸反轉錄酶抑制劑 (NRTIs)、非核苷酸反轉錄酶抑制劑 (NNRTIs) 及蛋白酶抑制劑 (PIs) 的抗藥性分別為 4.4%、5.9% 及 3.3%，多重抗藥性比率為 1.5%（圖一）。從張淑媛老師的研究發現台灣地區未接受藥物的愛滋病患對非核苷酸反轉錄酶抑制劑 (NNRTIs) 的抗藥性最高，核苷酸反轉錄酶抑制劑 (NRTIs) 次之，蛋白酶抑制劑 (PIs) 相對較低；這符合之前已知的 NNRTIs 抗藥門檻較低，在反轉錄酶基因上約有 9 到 11 個胺基酸位點，任一個突變都足夠造成對 nevirapine 或與 efavirenz 抗藥性。



圖一 台灣未使用抗病毒藥物 HIV 病毒感染者抗藥性盛行率 (2000~2012 年) [11]

結 論

當抗反轉錄病毒用藥出現不能完全地抑制 HIV 病毒複製，抗藥性對於在接受抗反轉錄病毒治療的病人是個永遠的惡夢，抗藥性對正在使用抗反轉錄病毒治療的病人是個永遠的惡夢，而抗藥性的病毒株藉由不安全的性行為與共用針具的傳播變成一個重要的問題。未來醫療團隊在執行愛滋病毒藥物治療前，先需要考慮執行抗藥性基因的篩檢，如同治療細菌感染症必須收集細菌培養，並依據抗生素感受性報告調整治療藥物。預防抗藥性的發生需要優先考慮落實教育病人明瞭愛滋病毒產生抗藥性的危險因子以及合併使用抗愛滋病毒藥物，才能夠有最佳的病患服藥順從性與治療效果。

參考文獻

- Hall HI, Song R, Rhodes P, et al: Estimation of HIV incidence in the United States. *JAMA* 2008;300:520-9.
- May MT, Sterne JA, Costagliola, et al: HIV treatment response and prognosis in Europe and North America in the first decade of highly active

- antiretroviral therapy: a collaborative analysis. *Lancet* 2006;368:451-8.
- Zolopa AR: Incorporating drug-resistance measurements into the clinical management of HIV-1 infection. *J Infect Dis* 2006;194:S59-64.
 - DHHS (2012, August 15). AIDSinfo: offering information on HIV/AIDS treatment prevention and research. U.S. Department of Health and Human Services. Available <http://www.aidsinfo.nih.gov/Guidelines>.
 - Mascolini M, Boucher C, Larder B, et al: Key reports from the XV International HIV Drug Resistance Workshop 2006. *Antivir Ther* 2007;12:131-45.
 - Kilby JM, Eron JJ: Novel therapies based on mechanisms of HIV-1 cell entry. *N Engl J Med* 2003;348:2228-38.
 - Clavel F, Hance AJ: HIV drug resistance. *N Engl J Med* 2004;350:10.
 - Little SJ, Holte S, Routy JP, et al: Antiretroviral-drug resistance among patients recently infected with HIV. *N Engl J Med* 2002;347:385-94.
 - Kuritzkes DR, Grant RM, Feorino P, et al: Performance characteristics of the TRUGENE HIV-1 Genotyping Kit and the Opengene DNA Sequencing System. *J Clin Microbiol* 2003;41:1594-9.
 - Chang SY, Chen MY, Lee CN, et al: Trends of antiretroviral drug resistance in treatment-naïve patients with human immunodeficiency virus type 1 infection in Taiwan. *J Antimicrob Chemother* 2008;61:689-93.
 - Lai CC, Hung CC, Chen MY, et al: Trends of transmitted drug resistance of HIV-1 and its impact on treatment response to first-line antiretroviral therapy in Taiwan. *J Antimicrob Chemother* 2012;67:1254-60.

Drug-resistant HIV-1 in Treatment-naïve HIV-1-infected Patients

Te-Yu Lin¹, Ning-Chi Wang^{1,2}

Division of Infectious Diseases and Tropical Medicine, ¹Department of Internal Medicine, ²Infection Control Office, Tri-Service General Hospital, Taipei, Taiwan

With the introduction of combination antiretroviral therapy, human immunodeficiency virus (HIV) infection became controllable. Soon after antiretroviral therapy was introduced, however, drug-resistant strains of HIV-1 emerged. The rate of resistance, especially to nucleoside/nucleotide and non-nucleoside reverse-transcriptase inhibitors (NRTIs and NNRTIs), has increased rapidly with the widespread use of combination antiretroviral therapy. In this study, the antiretroviral therapy principle, antiretroviral drug resistance mechanisms, laboratory techniques, and drug resistance trends in Taiwan were reviewed.

Key words: HIV, drug resistance mechanisms, drug resistance trends