未曾接觸過抗病毒藥物之愛滋病毒感染者病毒抗藥性趨勢

林德宇　王甯祺

三軍總醫院　內科部感染科

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抗病毒藥物上市不久後出現，隨著廣泛使用愛滋病抗病毒藥物合併療法後，新發現具有抗藥性的愛滋病毒株的比例也愈來愈高，特別是在非核甘酸反轉錄酶抑制劑抗病毒藥物。本文將帶領讀者了解愛滋病抗病毒藥物治療的原則、愛滋病毒產生抗藥性的機轉、實驗室測定抗藥性的方法，以及在台灣地區未服用抗病毒藥物的愛滋病患者感染帶有抗藥性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愛滋病毒與抗藥性現況及未來趨勢。（**感控雜誌 2019:29:307-316**）

關鍵詞： 人類免疫缺乏病毒、愛滋病毒抗藥性機轉、抗藥性趨勢

前　言

愛滋病是人類安全中健康安全最重要議題，且其嚴重性已威脅到國家安全，聯合國安全理事會通過第1308 號決議案表示：愛滋病可能對國家穩定與安全產生威脅。這是聯合國首次將一個疾病列為安全威脅，其嚴重性也成為全球安全的新焦點。依地區別而言，以非洲撒哈拉沙漠以南的地區疫情最為嚴重，而亞洲存活愛滋病毒成染人數約 487 萬人，其疫情嚴峻程度，僅次於非洲撒哈拉沙漠以南地區，台灣第一例愛滋病毒感染是在 1984 年間診斷，自此以後，被診斷通報到疾病管制署的案例數逐年增加。根據台灣疾病管制署通報資料，本國愛滋病毒感染者截至 108 年 2 月已累積通報 38,132 例本國籍個案，其中已發展為愛滋病累積個案共有

民國 108 年 9 月 2 日受理
民國 108 年 9 月 9 日修正
民國 108 年 10 月 23 日接受刊載

通訊作者：林德宇
通訊地址：台北市內湖區成功路二段325號
連絡電話：(02) 8792-7257

DOI: 10.6526/ICJ.201912_29(6).0004

18,002 例；目前存活人數共計 31,629 例。男與男之間的性行為已經成為感染愛滋病毒最主要的途徑。愛滋病毒 (HIV-1) 感染者在台灣有逐年增加且年輕的趨式。

HIV 在分類上屬於反錄病毒科 (Retroviridae) 中的緩慢病毒 (lentivirus) 之一，HIV-1 病毒為 110 nm 具有糖化蛋白外套膜的的球型顆粒。其內含有雙股 RNA 及病毒複製時所需要的酵素，如反轉錄酶 (reverse transcriptase, RT)，嵌合酶 (integrase)，蛋白酶 (viral protease) 及一些調節蛋白。HIV 病毒分為第一型 (HIV-1) 及第二型 (HIV-2)，分別源自於非洲東部及非洲西部，兩者在血清學反應上差異極大。

現有用於治療 HIV type 1 (HIV-1) 感染的藥物分為下列五大類[1]：

一、核苷酸反轉錄酶抑制劑 (nucleoside reverse-transcriptase inhibitors, NRTIs)，他們作用在 DNA 鏈的 terminators，抑制病毒的 RNA genome 反轉錄成為 DNA，而這過程在病毒生活週期 (life cycle) 的早期是個極重要的步驟。

二、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；反轉錄酶會促成反轉錄 (reverse transcription) 將愛滋病毒的 RNA 轉變為 DNA，接著才能產生蛋白質與下一代的病毒 RNA。

三、蛋白酶抑制劑 (protease inhibitors, PIs)，主要作用在病毒的蛋白酶 (protease)，蛋白酶功能在在切割先驅蛋白質 (precursor protein) (gag 與 gag-pol)，蛋白酶抑制劑使病毒顆粒內核 (inner core) 組裝的時候無法完成。

四、嵌入酶抑制劑 (integrase inhibitor)，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 嵌合至人類細胞的 DNA。

五、融合抑制劑 (fusion inhibitors)，主要作用在阻止愛滋病毒穿入目標細胞 CD4 淋巴球。

自 1996 何大一博士提出高效能抗反轉錄病毒療法 (highly active antiretroviral therapy, HAART) 之後，由於三合一雞尾酒療法比使用單一病毒抑制劑更能有效地抑制宿主內病毒複製，新的抗病毒藥物不僅副作用較過去的藥物低，對於提高愛滋病病患的存活率與生活品質療效更好。由於組合式抗愛滋病毒藥物治療比使用單一病毒抑制劑更能有效而長期地抑制病毒的複製，使用兩種或者三種不同類別的抗愛滋病毒藥物治療病人已經是臨床的常規。但是，在服用藥物過程中，可能因為病毒快速產生變異、病人沒有定時定量服藥或者因為藥物交互作用等因素，病毒會在患者體內衍生出抗藥性病毒株。這些抗藥性病毒株的產生，已知與病人體內的病毒量快速增加，有極高的相關性，它會

使得患者體內的病毒無法被完全地抑制，進而嚴重地影響到治療的效果與治療所需的時間。更嚴重的是這些抗藥性病毒株的產生後，會因為繼續傳播造成原生抗藥性病毒株的流行。根據最近歐美的研究指出，在北美及歐洲分別有 1~11% 及 9~21% 的患者，是被原生抗藥性病毒株所感染[2]。而這些被原生抗藥性病毒株所感染的病人，其接受藥物療法的成效，比被一般無抗藥性病毒株所感染的病人為差。這些抗藥性病毒株的產生，會使得患者體內的病毒無法被完全地抑制，進而嚴重地影響到治療的效果與治療所需的時間。更嚴重的是這些抗藥性病毒株的產生，會因為病患不採取安全性行為，造成抗藥性病毒株的傳播與流行。

抗藥性的發生

病毒的快速複製以及複製的低準確性 (每個複製週期大約一個核酶酸突變) 皆會造成抗藥性的產生[3-4]。高突變率造就每個受感染個體中可蒐集到許多種的病毒株種類 (quasispecies) 混合，這些病毒株提供 HIV 快速適應藥物壓力的能力。病毒抗藥性分成下列二種：

一、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。

二、原發的抗藥性

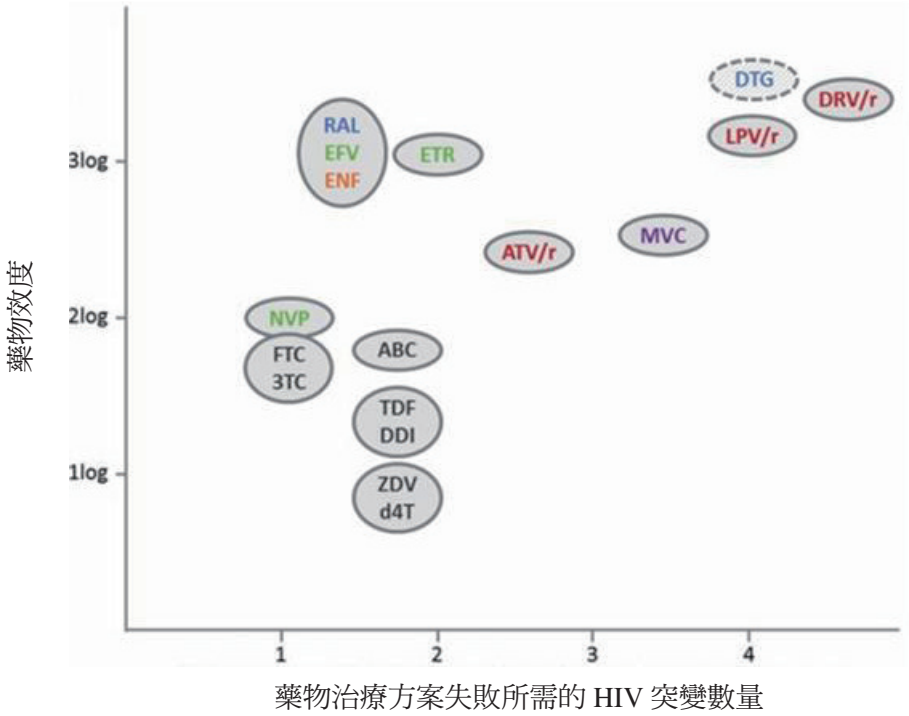
指愛滋病毒先天對某些類抗病毒藥物具有先天的抗藥性。例如第二型愛滋病病毒 (HIV-2) 對許多非核酶酸反轉錄酶抑制劑具有先天抗藥性；第一型愛滋病病毒 (HIV-1) 非 B 亞型病毒比起 B 亞型對非核酶酸反轉錄酶抑制劑及蛋白酶抑制劑有較高的抗藥性。

遺傳屏障在抗藥性領域中，可定義為該藥物治療方案失敗所需的 HIV 突變數量 (圖一)，低遺傳屏障藥物是導致愛滋病治療失敗的關鍵因素，只要一、二個位點改變就能影響此類藥物抑制病毒能力。抗藥性機制可能是非常複雜的，其中涉及突變與其相關路徑之間的交互作用，這些交互關係對抗愛滋病病毒藥物類別交叉抗藥性的影響，在選擇治療方案時是重要的參考因素。

抗病毒藥物抗藥性的作用機轉

一、對於核苷酸反轉錄酶抑制劑 (NRTIs) 的抗藥性

Nucleoside analogues 與



圖一　各種抗病毒藥物 HIV 病毒的基因屏障

nucleotide analogues 經由反轉錄酶而阻止病毒 DNA 的合成。在 cellular kinases 磷酸化 (phosphorylation) 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 [5]。

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 mutation。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) 的時候；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。TAMs 僅發生於選擇壓力下，利用胸腺嘧啶類似物來度過選擇壓力，例如 zidovudine (ZDV)、stavudine，並且藉由此機制賦予交叉抗性以影響隨後使用的 tenofovir (TFV)、abacavir 和 didanosine [6]。

二、對非核苷酸反轉錄酶抑制劑 (nNRTIs) 的抗藥性

不同於保存反轉錄酶的活化位或是反轉錄酶的 dNTP 結合位，nNRTI 結合在反轉錄酶的疏水位，使反轉錄酶作用時，可以忍受低基因保存度而不破壞酵素活性，許多第一代的 nNRTI 藥物在結構忍受度上較低，所以只要 nNRTI 的目標疏水結合位產生點突變，就會對藥物效果產生很大的影響，像是降低結合率而造成抗藥性。由於抗藥性的產生只需要點突變發生，所以極易在體內發展，例如使用單劑量的 nevirapine (NVP)。在第一代 nNRTI (NVP 和 efavirenz) 的選擇壓力，最常見的突變位為 K103N (位於疏水結合位邊緣) 和 Y181C (疏水結合位內)，這些突變通過改變疏水結合位、芳香環的堆積與增加空間位阻來影響分子間的交互作用[7]。

第二代的 nNRTIs 展現出更高的遺傳屏障，可保留活性來抵抗常見的 NNTRIs 抗藥性，常見的有：rilpivirine (RPV)、etravirine，以 RPV 為例，它能在 K103N 突變點存在的情況下保留活性。增加下一代的 nNRTIs 與反轉錄酶的結合效率以及結合的靈活性，可以有效增強這個藥物類別的適應性。

三、對蛋白酶抑制劑 (PIs) 的抗藥性

Protease inhibitors (PIs) 的抗病毒能力主要是抑制 HIV 病毒的天冬胺醯蛋白酶，但這會同是抑制病毒生命週期中的多個步驟[8]。抑制 HIV 蛋白酶成熟會導致病毒釋放未成熟的病毒顆粒，這些病毒顆粒新感染的宿主細胞會因為其他複製週期同樣被抑制而無法進行複製。此類藥物對於病毒進入步驟的抑制有最大的潛力。

上述的機制或許對於沒有蛋白酶突變的情況下，有時會發生 PI 的治療失敗案例，提供一種可能的解答。

PI 類藥物的抗藥性是多重步驟所造成的，一開始突變會發生在藥物的活化結合位，進而去修飾整個蛋白酶結構，來達成預防 PI 結合的目的。結構改變對於 HIV-Gag 的鍵結帶來不利的影響，從而通過降低病毒複製來降低病毒適應性。蛋白酶與 Gag 的突變可能會進一步增強抗藥性，並可能會產生補償性突變，來克服喪失複製能力的屏障[9]。

由 ritonavir-boosted PIs (PI/r) 促進的高強度抗藥性通常需要不止一種抗藥性突變，其中還至少需要發生一次蛋白酶的代償性突變以及 Gag 切割位突變的互相組合，這也造就 PI/r 擁有較高的遺傳屏障。在常用的 PIs 中，ritonavir-boosted lopinavir (LPV/r) 以及 ritonavir-boosted darunavir (DRV/r) 展現出在此類藥物中最高的遺傳屏障，大約需要至少三到四個突變才能導致治療失敗。

四、對嵌入酶抑制劑 (integrase inhibitor) 的抗藥性

嵌入酶抑制劑 (integrase inhibitor) 的出現為感染抗藥性病毒患者提供了額外的治療選項，然而，此類藥物在第一線治療上，正逐步取代 PIs 與 nNRTIs。第一代 INSTIs 產生抗藥性的起始途徑不同，大多數突變發生在整合酶的活化位，使其抑制與 INSTI 結合。其抗藥性的產生主要在三個不同的位置，分別是 Q148, N155, and Y143。在此藥物長期失效時，可觀察到這三種突變會和其他的突變結合[10]，而這些突變影響病毒的適應性，且常被發現是補償性調控被抑制的整合酶活性的二次突變。

目前已被批准使用的三種 INSTI 藥物中，屬於第一代的 raltegravir (RAL) 與 elvitegravir (EVG) 展現出對抗藥性有較低的遺傳屏障，且在排除抗藥性產生後會在 RAL 及 EVG 之間切換的可能性的情況下，當突變產生時，可能會產生交互抗藥性的情形[11]。INSTI 的第二代藥物—Dolutegravir (DTG)，其具有多種模式對抗抗藥性以及更高的遺傳屏障，只要在少數的代謝路徑中有被鑑定出抗藥性。而 DTG 優於其他 INSTI 藥物的原因，可能是基於其有較高的效價強度，能夠延長和整合酶的結合時間及降低具有 DTG 抗藥性之病毒的複製能力[12]。

五、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 (distal hydrophobic region)，HR2，褶疊到更近端恐水區 (proximal hydrophobic region)，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。

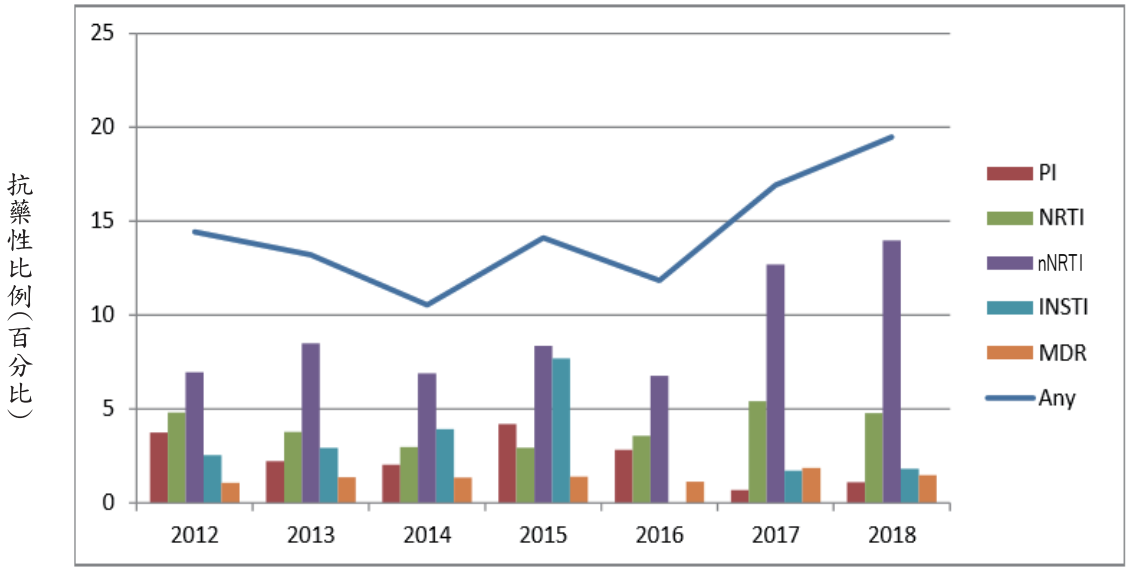
愛滋病藥物抗藥性的檢驗方法

一般鑑定抗藥性病毒株的方法，可分為表現型的分析 (phenotypic assay) 及基因序列的分析 (genotypic assay)。表現型的分析，是經由細胞培養的方法分離病毒，再以類似細菌檢測藥物感受性實驗 (drug susceptibility test) 的方式來鑑定藥物的抗藥性。但是目前抗藥性表現型之測試，在不同實驗室間仍無一套標準與共識，此外表現型分析實驗之再現性也一直為人所垢病，需在生物安全第三級實驗室操作，且操作實驗需要用活病毒，故既耗費成本又耗時。此外，病患體內原生病毒群體中若僅存在少量的抗藥性病毒，表現型分析因靈敏度不足，也難以顯示正確抗藥性的結果。目前全球最常使用檢測 HIV-1 抗藥性病毒株的方法為基因序列分析。基因序列的分析是利用病毒基因定序方法，直接與病毒抗藥性相關之病毒基因上的變化，藉由分析經治療無效的病人檢體及細胞培養產生的抗藥性病毒株，已經陸續發現許多與抗藥性相關的基因變異。目前常用的資料庫有國際愛滋病學會與美國之抗藥突變小組委員會 (International AIDS Society-USA Mutations Panel) 所訂定，與人類免疫不全病毒抗藥性相關的基因變異 (http://www.iasusa.org/)、the Stanford University HIV Drug Resistance Database (http://hivdb.stanford.edu) 和 Geno2pheno (http://www.genafor.org/index.php) 的抗藥性基因型分析。基因序列分析的優點是成本較低，並且操作時間較短，也有較充分的資料庫可以進行比對。缺點是靈敏度較差，只能針對已知的抗藥性突變進行檢測，無法解釋在資料庫以外之突變位點造成的影響。

次世代定序 (Next-generation sequencing, NGS) 是一種通過物理性質分離對多個個別模板分子，使其能同時進行定序的強大方法，為檢測低頻率突變和預測趨向提供了更高的靈敏度。隨著 NGS 技術的可用性和成本效益的提高，全基因體分析 (Whole genome sequencing, WGS) 將成為更容易獲得的可行性選擇，有可能改變抗藥性測試的領域[13]，而隨著技術的發展使 WGS 成為可行性的選項之一，了解如何最佳地利用 WGS 將是非常重要的，雖然 WGS 的相關性和臨床應用仍有待確定，但有多種途徑初步支持使用 WGS。WGS 能夠更準確的確定細胞趨向，這使得它成為表現型分析和常規定序的一個有吸引力的替代方法[14-15]。WGS 也具有科學價值，例如：該技術已經能辨識出影響早期免疫反應的低頻率變異，這些變異是常規定序方法無法檢測到的。這種研究提供了更具潛力的途徑來了解人體對早期病毒血症的反應[16]。

台灣抗藥性現況

根據臺大醫院張淑媛老師針對2018 年新診斷的愛滋病病患且未接受過愛滋病治療藥物的族群，收到272 件血液檢體進行基因型抗藥性檢測，並已完成 HIV-1 病毒基因型抗藥性分析。這些患者對於任一類藥物具有抗藥性的比例為 19.5%；其中針對蛋白酶抑制劑 (protease inhibitors, PIs)、核苷酸反轉錄酶抑制劑 (nucleoside or nucleotide reverse-transcriptase inhibitors, NRTIs)、非核苷酸反轉錄酶抑制劑 (non-nucleoside reverse-transcriptase inhibitors, nNRTIs) 藥物的抗藥性基因型盛行率分別為 1.1%、4.8%、及 14.0%；對於嵌合酶抑制劑 (Integrase inhibitors, INSTIs) 的抗藥性基因型盛行率為 1.8%。對於兩類以上藥物具抗藥性的抗藥性基因型盛行率是 1.5%。相較於 2017 的抗藥性盛行率調查，任一類藥物具有抗藥性的比例、PI、nNRTI、及 INSTI 抗藥性盛行率上升；NRTI 及對於兩類以上藥物具抗藥性的抗藥性基因型盛行率則是下降 (圖二)。從張淑媛老師的研究發現台灣地區未接受藥物的愛滋病病患對非核酶酸反轉錄酶抑制劑 (nNRTIs) 的抗藥性最高，因為台灣衛生福利部疾病管制署於 2016 年六月一日起推動一天一顆的處方藥物為第一線的治療選擇；其中兩種藥物是以兩個 NRTI 藥物搭配一個 nNRTI 藥物 (TDF/FTC/EFV 及 TDF/FTC/RPV)，建議目前如果要接受包含 nNRTI 藥物的抗反轉錄病毒藥物治療前，應進行抗藥性檢測以確定病人沒有帶有 nNRTI 藥物的基因突變，以免影響藥物治療效果。



圖二　2012~2018 年原生性抗藥性盛行率的趨勢圖

結　語

HIV 病毒與人類是永無止盡的戰爭，當愛滋病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，了解複合式療法的抗藥性遺傳屏障和病毒抗藥性機轉，運用對抗藥性突變的準確鑑定和適當運用，選擇最佳的愛滋病用藥以提升病患服藥順從性與治療效果，增進愛滋病照護的品質。

參考文獻

1. Kilby JM, Eron JJ: Novel therapies based on mechanisms of HIV-1 cell entry. N Engl J Med 2003;348:2228-38.
2. Grant RM, Hecht FM, Warmerdam M, et al: Time trends in primary HIV-1 drug resistance among recently infected persons. JAMA 2002;288:181-8.
3. Abram ME, Ferris AL, Shao W, et al: Nature, position, and frequency of mutations made in a single cycle of HIV-1 replication. J Virol 2010;84:9864-78.
4. Tang MW, Shafer RW: HIV-1 antiretroviral resistance: scientific principles and clinical applications. Drugs 2012;72:e1-25.
5. Clavel F, Hance AJ: HIV drug resistance. N Engl J Med 2004:350;10.
6. Marcelin AG, Delaugerre C, Wirden M, et al: Thymidine analogue re-verse transcriptase inhibitors resistance mutations profiles and association to other nucleoside reverse transcriptase inhibitors resistance mutations observed in the context of virological failure. J Med Virol 2004;72:162-5.
7. Das K, Arnold E: HIV-1 reverse transcriptase and antiviral drug resistance. Part 2. Curr Opin Virol. 2013;3:119-28.
8. Rabi SA, Laird GM, Durand CM, et al: Multi-step inhibition explains HIV-1 protease inhibitor pharmacodynamics and resistance. J Clin Invest 2013;123:3848-60.
9. Dam E, Quercia R, Glass B, et al: Gag mutations strongly contribute to HIV-1 resistance to protease inhibitors in highly drug-experienced patients besides compensating for fitness loss. PLoS Pathog 2009;5:e1000345.
10. Mbisa JL, Martin SA, Cane PA: Patterns of resistance development with integrase inhibitors in HIV. Infect Drug Resist 2011;4:65-76.
11. Malet I, Fourati S, Morand-Joubert L, et al: Risk factors for raltegravir resistance development in clinical practice. J Antimicrob Chemother 2012;67:2494-500.
12. Cahn P, Pozniak AL, Mingrone H, et al: Dolutegravir versus raltegravir in antiretroviral-experienced, integrase-inhibitor-naive adults with HIV: week 48 results from the randomised, double-blind, non-inferiority SAILING study. Lancet 2013;382:700-8.
13. Van Laethem K, Theys K, Vandamme AM: HIV-1 genotypic drug resistance testing: digging deep, reaching wide? Curr Opin Virol 2015;14:16-23.
14. Saliou A, Delobel P, Dubois M, et al: Concordance between two phenotypic assays and ultradeep pyrosequencing for determining HIV-1 tropism. Antimicrob Agents Chemother 2011;55:2831-6.
15. Daumer M, Kaiser R, Klein R, et al: Genotypic tropism testing by massively parallel sequencing: qualitative and quantitative analysis. BMC Med Inform Decis Mak 2011;11:30.
16. Henn MR, Boutwell CL, Charlebois P, et al: Whole genome deep sequencing of HIV-1 reveals the impact of early minor variants upon immune recognition during acute infection. PLoS Pathog 2012;8:e1002529.

Drug Resistant HIV-1 virus in Treatment naive HIV-1 infected Patients

Te-Yu Lin, Ning-Chi Wang

Division of Infectious Diseases and Tropical Medicine, Department of Internal Medicine,
Tri-Service General Hospital,Taipei, Taiwan

Human immunodeficiency virus infection could be controlled after combination antiretroviral therapy. Drug-resistant strains of HIV-1 emerged soon after antiretroviral therapy was introduced. With the widespread use of combination antiretroviral therapy, the rate of resistance has increased rapidly, especially to and non-nucleoside reverse-transcriptase inhibitors (nNRTIs). The antiretroviral therapy principle, antiretoviral drug resistance mechanism, laboratory techinique and trends of drug resistance in Taiwan were reviewed in this report.

Key words: HIV; drug resistance mechanism, trends of drug resistance