

廖偉志 王任賢

中國醫藥大學附設醫院 內科部感染科

前 言

反轉錄病毒藥物的合併使用，在病控制人類免疫抑制病毒(HIV)疾病的進展與延長存活率方面，已經被證實有顯著的效果；但是這些好處卻因病毒抗藥性的發展而漸漸消失。因為具抗藥性的 HIV 通常存在著多種抗病毒藥物的抗藥性，而同一種類藥物間的交互抗藥性也很頻繁。抗藥性的出現總是使得控制病毒複製變得更加困難。本篇文章主要翻譯自參考文獻[1,3]，其重點放在抗藥性 HIV 的抗藥作用機轉，以及未來在 HIV 感染方面的發展與病毒抗藥性所產生的影響之間的關係。

藥物治療 HIV 的原則

這些現在正在使用治療 HIV type 1(HIV-1)感染的藥物分為四個不同的種類：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 反轉錄成爲 DNA，而這過程在病毒生活週期(life cycle)的早期是個極重要的事件；二、非核苷酸反轉錄酶抑制劑(nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitors; NNRTIs)，結合與抑制反轉錄酶，而此病毒酵素會促成反轉錄(reverse transcription)；三、蛋白酶抑制劑(protease inhibitors; PIs)，主要作用在病毒的蛋白酶(tease)，此酵素在切割先驅蛋白質(precursor protein)(gag 與 gag-pol)，使其在病毒顆粒內核(inner core)組裝的時候是有需要的；四、entry inhibitors，其阻止了 HIV virions 穿入它的目標細胞。抗病毒藥物合併使用現在正用來治療 HIV 感染——稱爲高效能抗反轉錄病毒療法(highly active antiretroviral therapy; HAART)。現在的 HAART 處方大部分包含三種抗反轉錄病毒藥物，通常是兩個 nucleoside analogues 以及蛋白酶抑制劑或是非核苷酸反轉錄酶抑制劑[2]。合併使用這些不同種類的藥物對抗藥性產生的控制是有幫助的，但是有些藥物合併使用有拮抗作用，而在實驗室中並沒有證據證明任何現今用藥的組合有很強的協同作用。

抗藥性的發生

被誘發的抗藥性：兩個假設在了解藥物抗藥性發生方面是重要的。首先，HIV 感染的特徵是大量的病毒製造與替代。因為被感染細胞的半衰期明顯地變短(一到二天)，維持此一穩定期需要 HIV 以非常高的比率感染新的目標細胞。再來，在受到感染的患者身上的病毒族群有著高度的異質性。高比率的 HIV 感染，加上在每個感染循環中高比率的缺陷，使得病人擁有複雜且多種的病毒類種類 (quasispecies)混合。

經過一個簡單的達爾文選擇過程之後，數量相當的 quasispecies 能夠超越其他 quasispecies。我們相信存在著少量 viral quasispecies 會攜帶任何單一缺陷，甚至在開始治療前就已經存在了，所以高抗藥性的基因缺陷的產生能夠在幾個星期內發生。對於其他藥物，一個缺陷只有導致較低程度的抗藥性，而比較高程度的抗藥性或是完全的抗藥性需要其他缺陷逐漸地累積。

合併藥物治療能夠阻止這一選擇過程是由於兩個因素。首先，對於所有處方用藥都產生抗藥性需要許多機轉(每種機轉需要不同的基因缺陷)。再者，多種用藥對於抑制病毒複製比起單一用藥來的有效。在缺少病毒繼續複製的情形下，產生新的基因變異也會停止。值得重視的是，在 HAART 使用中，抗藥性的產生常是開始治療失敗的結果而不是原因。一旦抗藥性開始產生，一個增加治療失敗與增加抗藥程度的循環將會導致所有現行用藥都不能夠控制病毒複製。

抗藥性的作用機轉

一、對於核甘酸反轉錄酶抑制劑(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。在被 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，而病毒 DNA 的合成就會被終止了。兩個參與 HIV 對這些藥物具抗藥性的不同作用機轉：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。

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 mutation，Q151M complex of mutations，以及 K65R mutation。M184V mutation 包括在反轉錄酶的位置 184 處用 valine 取代 methionine，這是對 lamivudine 具抗藥性的主要 mutation。而 Q151M complex 的 mutation 群常會在包含 stavudine 與 didanosine 的失敗處方使用過程中產生。K65R mutation 在 nucleoside 或是 nucleotide analogues 治療失敗的病人身上愈來愈常見，尤其當此處方中含有 tenofovir 或 abacavir 的時候，造成除了 zidovudine 以外大部分 analogues 的抗藥性

2.從 terminated DNA chain 上移除 the analogue

一群基因缺陷 mutations，Thymidine analogue mutations 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 mutation 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 鏈結，造成 analogue 的移除。有趣的是，這個過程的效力，能夠明顯地減少其他在反轉錄酶 mutations 的存在。

二、對非核甘酸反轉錄酶抑制劑(NNRTIs)的抗藥性

NNRTIs 是對反轉錄酶中靠近 catalytic 區域(domain)疏水囊(hydrophobic pocket)擁有很強親和力小分子，因而阻礙了其合成 DNA 的能力。這些經 NNRTIs 治療失敗所選擇出的 mutations 全部位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 蛋白西每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 pr-oteins)與酵素。在缺乏功能性蛋白西每的(functional protease)情形下，病毒顆粒也會被製造，但是它們並不成熟也不具感染力。

對蛋白西每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正了 位於抑制劑和蛋白西每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【HIV envelope glycoprotein(gp)complex(gp120-gp41)】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 (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 個胺基酸直線狀的 mutations。

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 mutations。交互抗藥性總是侷限於對一個指定抗反轉錄病毒的 藥物種類產生抗藥性，但是全部三類抗反轉錄病毒藥物都會受到影響。在感染到有低量交互抗藥性的病毒株，使用明顯有效的替換用藥會伴隨著快速篩選出高抗藥性的變異株，只需極少數的進化改變。

抗藥性的發展

抗藥性並不是個全有全無的情形，而是隨著時間慢慢地上升的。單一的 mutation 很少會造成對抗反轉錄病毒藥物完全的抗藥性。因為抗藥性會損害病毒 的複製能力，優勢病毒族群所採用的解決方式可能需要在抗藥程度方面作讓步。維持 HIV 在些許藥物壓力下可能可以減少其致病的潛力。

在病毒複製與致病方面的抗藥作用

與抗藥作用相關的病毒複製能力缺失之臨床作用是目前密切研究的主題。有些 觀察顯示具抗藥性的病毒已經喪失了它們的毒性。在極大部分 HAART 治療失敗 的病人身上，CD4 T 細胞仍然明顯地比治療前還高。但是，利用抗藥性所造成的 病毒複製力的喪失，來獲得治療益處的策略仍需被確認。

少數已建檔的病毒群

少量表現出多種不同的抗藥性 mutations 的病毒群普遍存在而且持續在進化。此外，病毒 genomes 的資料一直與休眠細胞潛在性結合在一起。當病人身上病毒 抗藥性已經發展並用替代藥物治療一段時間後，這些對

先前使用藥物具抗藥性的 相關 mutations 通常在血漿樣本病毒中不再可以偵測到。然而，如果用這些藥物 重新開始治療，當懷有這些病毒的細胞再被活化的時候，已潛伏的抗藥病毒株可 以再發生作用。

藥物抗藥性的試驗

爲了試圖選擇有效的替代處方，我們已經發展了能夠評估 HIV 對個別抗反轉 錄病毒藥物的抗藥性試驗。我們現在可以運用兩種試驗：genotypic assays，能夠 偵測抗藥性 mutations 的存在，以及 phenotypic assays，能夠測量病毒在 tissue-culture systems 中對不同藥物的感受性。大量的 retrospective 試驗試著去證 實抗藥性測試在臨床上的關聯性，而大部分都顯示 genotypic 試驗至少能夠提供 中等程度的益處。

未來觀點

當抗反轉錄病毒用藥不能完全地抑制 HIV-1 病毒複製這個不可避免的結果出 現時，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，而抗藥病毒 株的傳播變成一個重要的問題。預防抗藥性的產生需要 優先考慮確實地教育病人 抗藥性產生的危險因子以及使用改進的，能夠保證最佳的耐受性，藥物順從性與 藥物效用的藥物處方。一旦抗藥性建立了，發展進化出來，且多樣化之後，可能 就不可逆了。

有趣的是，抗藥性會損害病毒的複製能力，有些觀察顯示具抗藥性的病毒已經 喪失了它們的毒性。臨床上 常可見使用抗病毒用藥的病患病毒負荷量控制得不是 很好，但是病患本身卻沒有覺得不舒服。是否如此篇 所言，抗藥性病毒較不具毒 性仍需研究。如果上述理論屬實，我們在治療 HIV 時是否可以只是維持 HIV 在 些許藥物壓力下減少其致病的潛力即可，而不再追蹤病毒負荷量。在國外， Kaletra(LPV/r)單一治療 naive 病人已被廣泛的討論，但此藥物已有抗藥性病毒 株 (L63C mutation, L63A mutation, V77I mutations)的產生。繼續使用抗病毒藥物， 即使病毒已對其具抗藥性，是否能夠控制病情仍需再研究。

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. Yeni PG, Hammer SM, Carpenter CC, et al: Antiretroviral treatment for adult HIV infection in 2002; updated recommendations of the International AIDS Society-USA Panel. *JAMA* 2002;288:222-35.
3. Clavel F, Hance AJ: HIV drug resistance. *N Engl J Med* 2004;350:10.
4. Kresge K: European AIDS Conference Sheds Illusions about HIV Therapy. *amfAR Global Link* Feb 2004. vol 4. No.1.