計畫編號：MOHW108-CDC-C-114-000105

衛生福利部疾病管制署 108 年委託科技研究計畫

計畫名稱：台灣地區治療中愛滋病毒感染者之抗藥性發生率追蹤研究

全 程 研 究 報 告

執行機構：高雄醫學大學醫學檢驗生物技術學系

計畫主持人：王聖帆 副教授

研究人員：巴家寶

執行期間：107 年 1 月 1 日至 108 年 12 月 31 日

＊本研究報告僅供參考，不代表本署意見，如對媒體發布研究成果應事先徵求本署同意*

目　　錄

	頁碼
壹、 計畫中文摘要	**3**
貳、 計畫英文摘要	**4**
參、 計畫內容	
一、前言	6
二、材料與方法	9
三、結果	15
四、討論	21
五、結論與建議	23
六、重要研究成果及具體建議	25
七、參考文獻	26
肆、附錄	**28**

壹、計畫中文摘要

我國近年來感染愛滋病毒之患者人數仍持續增加中。疾病管制署的報告顯示，截至 2019 年 8 月，台灣已有 39,160 人感染 HIV-1。自 1997 年起我國開始提供 HIV-1 感染者使用高效能抗病毒藥物療法(highly active antiretroviral therapy, HAART)後，治療成效獲得極大的進步，但隨之而來抗藥性病毒株的出現與傳播，使 HAART 的治療效益受到減損，進而增加治療失敗的風險。為因應世界衛生組織在 2012 年公布之 HIV 抗藥性流行情形建議預警指標，我們於 107 年度委託計畫建立一以台灣南部地區為中心，並涵括全台數間醫療院所之台灣 HIV-1 感染者抗藥性追蹤世代，除了初步監測治療前的原生抗藥性(pretreatment drug resistance, PDR)，也針對初診斷後服藥一個月內未產生抗藥性者，定期追蹤評估其服藥後 12 個月的抗藥性發生情形。若患者之血液檢查結果曾發生病毒檢測量大於 1,000 copies/ml 之情事者視為治療失敗(virologic failure)，並續行對 HAART 藥物之抗藥性監測。

本計畫截至 108 年 12 月止，共計與 10 間指定醫療院所合作，收入符合條件之個案 113 件，並完成抗藥性檢測共 103 人次。其中 90 人次之檢驗結果為未帶有治療前抗藥性，納入抗藥性發生情形追蹤清單。去年納入追蹤之個案達到服藥後第一個時間點(12-15 個月)的個案共計 39 人次，完成追蹤 21 人次，且皆無發生病毒量檢測大於 1,000 copies/ml 之情事。

本研究對於台灣 HIV 感染者的基因多變性和藥物易感受性提供重要的資訊，不僅能及時回饋臨床作為醫療處置之參考，亦能做為未來防治政策擬定之重要資訊。

關鍵詞：人類後天免疫缺乏病毒，高效能抗反轉錄病毒療法，抗藥性監測與追蹤，抗藥性基因型，早期預警指標

貳、計畫英文摘要

Taiwan is facing a new era of HIV/AIDS epidemics owing to new HIV recombinant strain occurrences and predominant population changes. Until the end of Aug. 2019, there are total 39,160 people infected with HIV-1 according to the record from Centers for Disease Control (CDC), Taiwan. However, the HIV infectious numbers still keep increasing yearly. Highly active anti-retroviral therapy (HAART) has been conducted to treat HIV-infected patients in clinical in Taiwan since 1997. This therapy successful suppressed the viral load, reduced morbidity and improved patients' quality of live. Unfortunately, the drug resistant strains have become the major obstacle of HAART treatment in HIV-1 patients.

In these two years, we have established a national surveillance to monitor the phenomenon of drug resistance in a clinical cohort from several medical centers and hospitals around Taiwan. Until December 2019, we have recruited 113 HIV/AIDS subjects who started to receive HAART no longer than one month. 103 times of drug resistance testing has been accomplished among these subjects. 90 of 103 subjects were confirmed without pre-treatment drug resistance of reverse transcriptase inhibitors (RTI), protease inhibitors (PI), and integrase strand transfer inhibitor (INSTI). Additionally, we followed up on the hematology tests of the patients without pretreatment drug resistance who have taken HAART therapy for 12-15 months for the surveillance of acquiring drug resistance(ADR).

This project can improve the treatment outcome and provide the drug response information for clinic-side in real-time. Meanwhile, our research will also give an insight into the genetic diversity and drug susceptibility of Taiwanese, and be helpful for the future anti-retroviral treatment strategies.

Keywords: Human Immunodeficiency Virus type 1 (HIV-1), Highly Active Anti-Retroviral Therapy (HAART), surveillance and monitoring of drug resistance, genotypes of drug resistance, early warning indicators

參、計畫內容

一、 前言

愛滋病已被聯合國明定為二十一世紀造成人類健康極大威脅的三大疾病之一。根據聯合國愛滋病規劃署(Joint United Nations Programme on HIV and AIDS, UNAIDS 的統計資料顯示，截至西元 2018 年 12 月止，全球估計感染 HIV/AIDS 的人數，約有三千七百九十萬人(三千二百七十萬人~四千四百萬人)。其中，成年人(15 歲以上)約有三千六百二十萬人(三千一百三十萬人~四千二百萬人)，約佔總數的 95.5%；而孩童感染人數則為一百七十萬人(一百三十萬人~兩百二十萬人)，約佔總數的 4.5%。另外，於 2018 年估計當年 HIV-1 的新感染人數，約為一百七十萬人(一百四十萬人~二百三十萬人)；死於 AIDS 的人數則約有七十七萬人左右(五十七萬人~一百一十萬人)[1]。而根據我國行政院衛生署疾病管制局的統計資料顯示，截至 2019 年 8 月底止台灣 HIV-1 感染者人數為 40,410 人，本國籍者為 39,160 人，占總人數的 96.93%；本國籍男性感染者為 37,084 人，佔本國籍感染總人數的 94.7%。年齡方面則以 25-34 歲最多，佔 2019 年 8 月通報數的 52.8%，以及 2019 年截至 8 月總個案數的 47.4%[2]。

高效能抗反轉錄病毒療法(HAART)，俗稱「雞尾酒療法」是指使用三種以上抗反轉錄病毒藥物合併治療的方法，也被稱為三合一療法，此療法能降低病毒量，提高免疫力，改善存活率和減少抗藥性病毒產生。這些抗病毒藥物可根據其所阻斷的步驟來分類，常見的藥物有三大類：反轉錄酶抑制劑 (Reverse Transcriptase Inhibitors, RTI)、蛋白酶抑制劑 (Protease Inhibitors, PI) 、嵌入酶抑制劑 (integrase strand transfer inhibitor, INSTI) 等。目前的雞尾酒療法，是根據 HIV-1 感染者的疾病進程、臨床症狀、免疫功能狀況、生活及職業型態等，將數種同類或不同類的抗病毒藥物加以適當組合，以達到最大的抗病毒療效及避免 HIV-1 產生抗藥性[3-5]。

台灣從 1997 年 4 月起，即免費提供 HAART 予愛滋病病患服用，成為全世界少數免費提供 HAART 的國家。最初，針對愛滋病患者的治療方式，包括了抗反轉錄病毒藥物治療、廣泛地使用預防及治療伺機性感染的藥物，但十幾年下來，感染者的存活率並沒有獲得明顯的改善，直到 1995 年底，新抗反轉錄病毒藥物－蛋白酶抑制劑的上市，及高效能抗反轉錄病毒藥物療法的提出，用以治療感染者後，才真正提升了患者的存活率[6]。但伴隨而來的抗藥性病毒株的出現，對於愛滋病的治療產生極大的衝擊。抗藥性病毒株的篩選，可以在治療的過程中，及時調整藥物的劑量或是改變給予第二線抗病毒藥物，才能達到最好的治療效果。根據 WHO 2017 年發布的 2017-2021 HIV 抗藥性全球行動計畫書 (Global Action Plan on HIV Drug Resistance 2017-2021) 資料顯示，PDR (包括未曾接受藥物治療者及曾暴露過 ART 藥物者偵測到之抗藥性) 的盛行率呈現逐年攀升的趨勢。截至 2016 年，在亞洲地區已有高達 11% 的人感染抗非核苷酸反轉錄酶抑制劑 (Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NNRTI)抗藥性病毒株，而東非地區的感染者則更高達 29%[7]。台灣 2014 年亦有研究指出在尚未接受藥物治療的感染者中對 RTI、PI 及 INSTI 任一抗病毒藥物有抗藥性基因型之盛行率為 10.6%[8]。

本研究團隊利用衛生福利部健康加值中心健保資料庫數據分析得出，截至 2014 底，在台灣地區所有 HIV 感染者中已使用 HAART 進行治療者的比率為 72.78% (20,895/28,710)。進一步以「使用 HAART 藥物後一年之病毒量大於 1,000 copies 」此一 WHO 針對病毒量抑制 (Viral Load Suppression) 訂定之標準初步進行潛在的獲得性抗藥性 (Acquired Drug Resistance, ADR) 病毒株感染篩選[7]，發現在此標準上初步符合病毒學治療失敗 (Virologic Failure) 定義者之比率為 11.41%。換言之，全台灣地區可能有將近兩千四百位使用 HAART 治療之 HIV 感染者其感染之病毒株已

有 ADR 產生，此一數據值得相關單位及學術研究者之重視。

世界衛生組織於 2016 年發布之早期預警指標 (Early Warning Indicators, EWIs) 報告中即指出，早期病毒量抑制 (Viral load suppression at 12 months)、患者依從性 (adherence) 與臨床 loss to follow-up (LTFU) 情形等 EWIs 皆與 HIV 抗藥性有密切關聯性，並建議各國建立針對 PDR 及 ADR 之監測戰略 [9]。因此本研究希望可以藉由建立 HIV/AIDS 感染者之臨床世代，探討 HIV-1 PDR 之盛行情形，並針對治療早期未表現有抗藥性者進行追蹤，以監測 HIV-1 ADR 之發生情形，並深入探討其發生原因。本計劃之成果不僅能及時回饋臨床作為醫療處置之參考，亦能做為未來防治政策擬定之重要資訊。

二、 材料與方法

一) 研究方法與設計：

- 收案來源：全台各地數間醫療院所。由本計畫三位協同主持人協助各別進行台灣北部、中部、南部及東部地區醫療院所聯繫與個案招募事宜。
- 收案條件：年滿 20 歲以上，初確診感染有 HIV-1，並開始接受 HAART 治療未超過一個月。
- 收案個數：預期收取 HIV-1 陽性的病人共 60 人次/年。包含其病歷資料與血液檢體。
- 研究設計：

1. 個案選取與資料收集：經主治醫師確認個案符合納入條件之 HIV-1 陽性的病人且同意參與研究後，由臨床醫師向病人解釋研究內容與流程，再由專責之研究助理、個案管理師或護理師協助個案填寫知情同意書，並詳細收集個案之病歷資料，包括年齡、性別、最後一次血清陰性時間點、第一次檢測出 HIV-1 陽性的時間點、發病時間、開始使用高效能抗病毒藥物日期、藥物種類、用藥情況、起始病毒量、$CD4^+$ cell 數目、相關伺機性感染與疾病病史，以及病毒、血清、微生物等各種檢驗資料和其他身體健康狀態。輸入電腦後進行加密保護，建立長期世代資料庫以利後續分析。穩定的長期回診個案則每 6 個月追蹤一次血液檢查，新個案則每 3 個月追蹤一次血液檢查。所有病歷資料及檢體皆以代碼辨識。
2. 採集病人全血液檢體於 EDTA 管中。血液檢體將送至高雄醫學大學王聖帆老師實驗室進行後續分析及儲存。
3. 抗藥性基因型測定：萃取血漿中病毒 RNA 或淋巴球 DNA，利用病毒基因序列定序，分析其可能突變的基因位點，上傳至 Stanford Drug Resistance Database 進行比對，檢測是否為抗藥性病毒株，並計算原生抗藥性之盛行率。

4. 將未檢測出原生抗藥性病毒株的個案納入追蹤清單，納入追蹤清單之個案將建立一臨床流行病學世代資料庫，持續追蹤個案的疾病發展情況。服用 HAART 治療滿 12 個月後，若追蹤期間之病毒量檢驗值曾發生大於 1,000 copies 之情形者，重新進行抗藥性基因型測定。
5. 抗藥性發生原因之探討：確認於追蹤期間發生抗藥性情形者，透過比對臨床病歷資料、藥物使用情形與患者依從性等抗藥性相關早期預警指標，探討抗藥性發生之成因。
6. 使用之檢體或其剩餘檢體之處理方式暫存，保存年限 3 年。
7. 受試者資料保護措施及安全監測計畫：
   A.經由簽署受試者同意書，讓受試者瞭解亦同意研究者與人體試驗委員會皆有權檢視受試者的醫療記錄，以確保臨床研究過程與數據符合相關法律及法規要求。我們也承諾在法律所規範之程度內絕對視受試者的資料為機密並負有保密之義務。
   B.有關辨認受試者身份之紀錄在相關法律及法規要求下不會予以公開。如果發表研究結果，受試者的身份仍將被保密。
   C.個案的病歷資料不會公開洩露給不相關的第三者，只會在預期的目的下使用。

二) 實驗步驟：

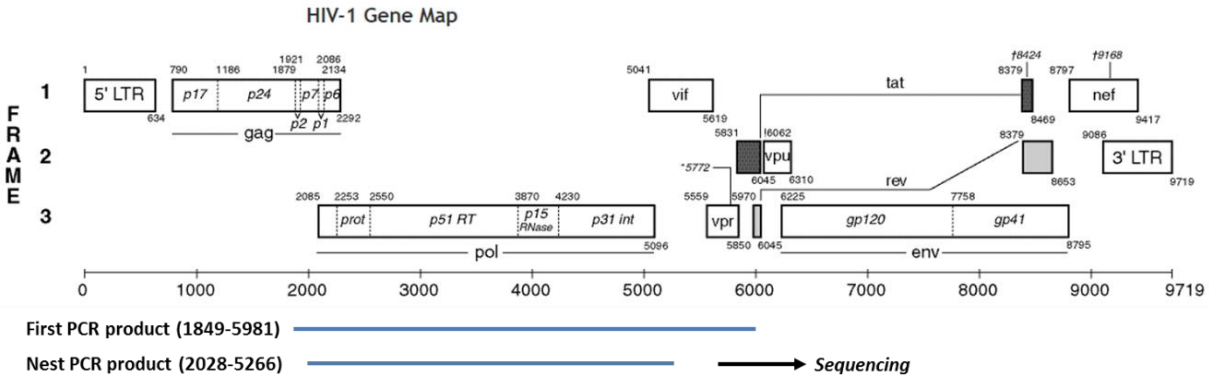
(1) 檢體採集：利用 EDTA 管抽 5~10c.c 的血液，保存於 4℃，三天內分離血漿及白血球。血漿保存於-80℃，白血球保存於-20℃，依據實驗需要萃取病毒 RNA 與淋巴球 DNA。

(2) 淋巴球 DNA 萃取：將 EDTA 管分離出的週邊血液單核球 (PBMCs)，利用苯酚 (Phenol)及氯仿 (Chloroform)萃取淋巴球 DNA，經由酒精沉澱後存放於-20℃冰箱，待進行聚合酶鏈鎖反應(Polymerase chain reaction,

PCR)分析時再取出使用。

(3) 病毒 RNA 萃取：將 EDTA 管分離出的血漿，利用 QIAamp Viral RNA Kit 抽取血漿病毒 RNA。最後的 RNA 產物保存於-80°C。將病毒 RNA 利用 random hexamer 或 R-3500 pol 基因特異性引子進行反轉錄步驟(42°C 60 分鐘，70°C 10 分鐘)，最後的 cDNA 產物保存於-80°C。

(4) 基因片段擴增：針對抗藥性部份，我們將分析 pol 基因，以監測抗藥性病毒株的盛行情形，並參考國際期刊設計相關引子[10]，進行巢式聚合酶連鎖反應(Nested polymerase chain reaction, Nested PCR)(如圖一)。



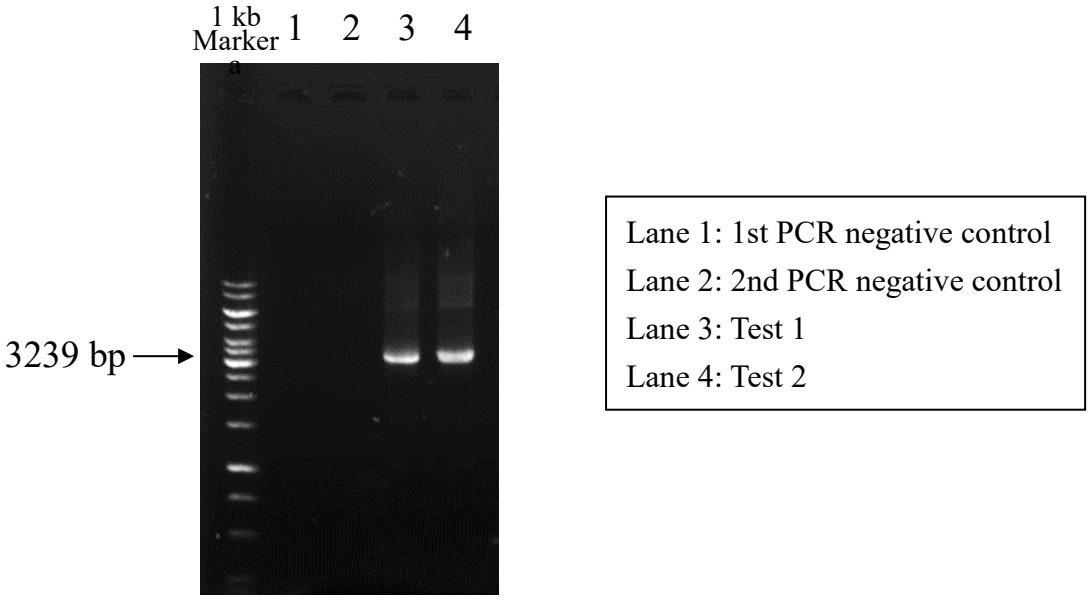
▲圖一、以 Nested PCR 放大 HIV-1 pol 基因序列以進行定序之設計策略

在第一次 PCR 中我們會以 F-1849/KVL069 這對引子，以病毒 RNA 轉錄的 cDNA 或是以原病毒 DNA 當模板，分別先將個案本身約 3.2 Kb 的 pol 片段大量複製出來。接著再以此產物作為第二次 PCR 時所需的模板，利用 MAW26/ KVL084 引子將特定區域大量擴增。進行 PCR 反應時，引子及反應溫度如表一：

▼表一、Nested PCR 溫度與時間條件一覽

引子	溫度	時間	循環
第一次 PCR **F-1849/KVL069**	94℃	5 分鐘	1
	94℃ 60℃ 72℃	30 秒 30 秒 4 分鐘	40
	72℃	10 分鐘	1
第二次 PCR **MAW26/KVL084**	94℃	5 分鐘	1
	94℃ 60℃ 72℃	30 秒 30 秒 4 分鐘	40
	72℃	10 分鐘	1

而後取 5 μl 第二次 PCR 產物以 1.0 %洋菜凝膠電泳(agarose gel electrophoresis)分析，以確定複製後產物大小同預期的 DNA 片段 (3.2 Kb) (如圖二)。



▲圖二、經 Nested PCR 擴增基因產物之洋菜凝膠電泳結果

最後再利用不同的引子(表二)進行基因定序，將長度約 3.2 Kb 的基因序列判讀出。

▼表二、巢式聚合酶連鎖反應及基因定序使用引子一覽

引子	序列
PCR 引子	
F1849	5`-GATGACAGCATGTCAGGGAG-3`
KVL069	5`-TTCTTCCTGCCATAGGARATGCCTAAG-3`
MAW26	5`- TTGGAAATGTGGAAAGGAAGGAC -3`
KVL084	5`-CCTGTATGCARACCCCAATATG-3`
定序引子	
POL-2	5`-TTCTCTTCTGTGTCAATGGCCATTGTTT-3`
POL-7	5`-CATTTATCAGGATGGAGTTCA-3`
RT-a	5`- GTTGACTCAGATTGGTTGCAC-3`
RT-b	5`-CCTAGTATAAACAATGAGACAC-3`
KVL072	5`-GATTCACTYTTATCTGGTTG-3`
KVL076	5`-GCACAYAAAGGRATTGGAGGAAATGAAC-3`
KVL082	5`-GGVATTCCCTACAATCCCCAAAG-3`
KVL083	5`-GAATACTGCCATTTGTACTGCTG-3`

(5) 基因定序：將前述所得之 pol 片段 PCR 產物送至坊間核酸定序廠商，進行基因序列定序。完成校直排序之基因序列將上傳至 Stanford University “HIV Drug Resistance Database” 進行分析比對(圖三)，以了解是否有抗藥性病毒株之產生。

Drug Resistance Interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations:	None
NNRTI Resistance Mutations:	**A98G**
Other Mutations:	V35T, V60I, K102Q, K104R, D121Y, K122E, I135L, I142V, E169D, K173D, Q174K, I178L, Q207H, R211K, V245E, A272P, T286R_P, I293V, P313T, R356K, K366R, A400T, K431S, K451R, H483Q, L491A, V531I, A554S

Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors		Non-nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors	
abacavir (ABC)	Susceptible	**doravirine (DOR)**	Low-Level Resistance
zidovudine (AZT)	Susceptible	**efavirenz (EFV)**	Low-Level Resistance
emtricitabine (FTC)	Susceptible	**etravirine (ETR)**	Potential Low-Level Resistance
lamivudine (3TC)	Susceptible	**nevirapine (NVP)**	Intermediate Resistance
tenofovir (TDF)	Susceptible	**rilpivirine (RPV)**	Low-Level Resistance

RT Comments

NNRTI

- **A98G** is a non-polymorphic accessory mutation associated with low-level reduced susceptibility to each of the NNRTIs.

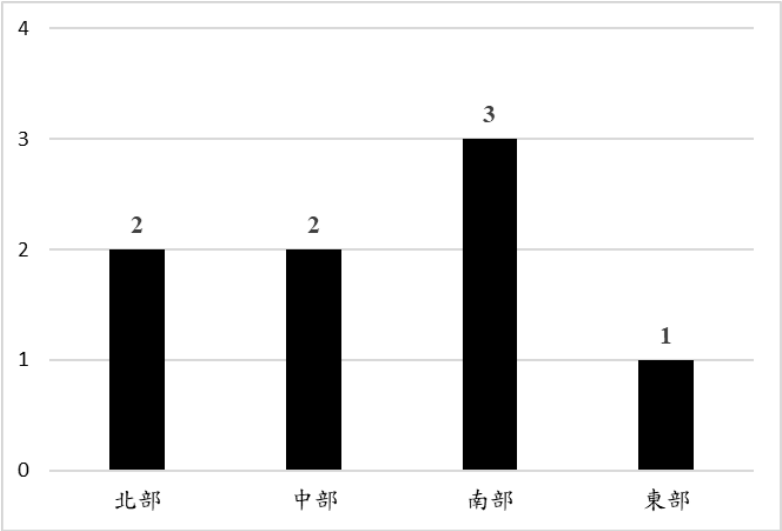
▲圖三、Reverse transcriptase 基因序列抗藥性相關突變檢測之範例

(6) 抗藥性發生成因之探討：檢測出抗藥性病毒株之個案，依據 WHO EWIs 之建議，比對臨床病歷資料、藥物使用情形與患者依從性等抗藥性相關早期預警指標 (包括 12 個月內是否有 LTFU 之情形、是否按時服用藥物、是否確實複診等 EWIs)，探討抗藥性發生之成因。

三、結果

全台抗藥性追蹤網絡及個案招募機制之確立

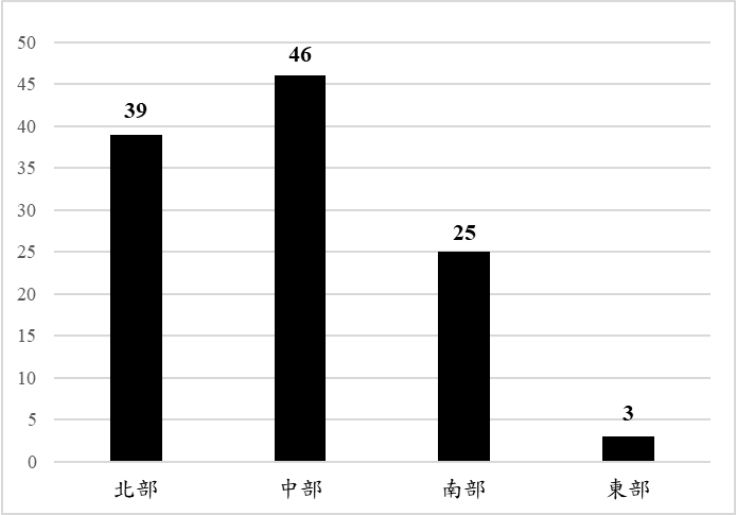
本計畫已與多間指定醫療院所攜手合作，如台北市立聯合醫院陽明院區，新竹馬偕紀念醫院，中國醫藥大學附設醫院，彰化基督教醫院、嘉義榮民總醫院，高雄醫學大學附設中和紀念醫院，高雄市立大同醫院，花蓮慈濟醫院等，建立起範圍涵蓋全台北、中、南、東四大區域之抗藥性追蹤聯繫網絡(圖四)。同時與各家院所確立個案之篩選、招募與資料傳遞之制式流程，並建立中心與各院所臨床人員之橫向聯絡機制，以最佳化追蹤程序，於未來進行受試者獲得性抗藥性追蹤時，可即時更新個案治療狀況之相關資訊。



▲圖四、參與本計畫抗藥性追蹤聯繫網絡醫療院所之區域分布

收案情形與臨床病例資料分析

截至 108 年 12 月止，本計畫共收取符合條件之個案 113 人次，收案地區涵蓋全台各區域(圖五)。



▲圖五、參與計畫之個案地域分布情形

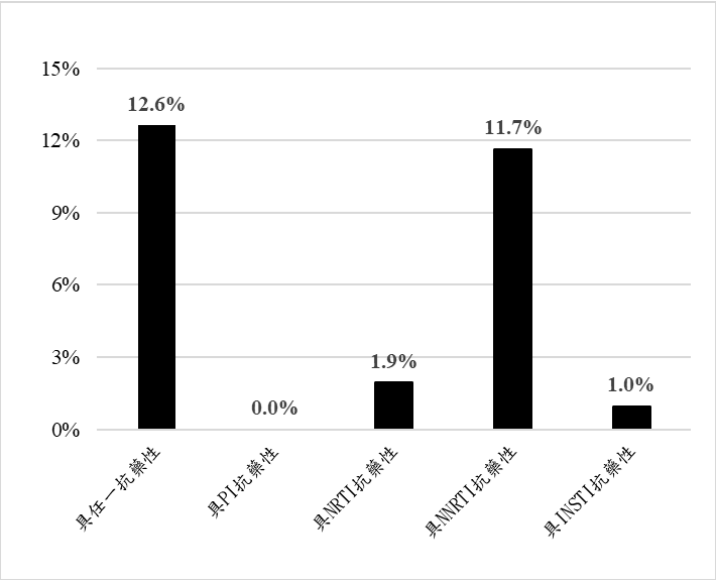
113 名個案中，112 名為男性，1 名為女性，平均年齡為 31.3±7.8 歲。個案治療前的平均 CD4 值為 300±259 cells/mm^3。全數個案皆已開始進行 HAART 治療，其中使用 Triumeq 藥物之個案為最大宗，佔 67.3%，次之則為使用 Genvoya 者佔 14.5%、使用 Atripla 者佔 10.9%，以及使用 Complera 者佔 6.4%(表三)。在當前參與本計畫的個案中，暫無出現用藥處方少於三種藥物之之情事發生。

進一步分析個案之治療成效，其中 83 名個案已收案超過三個月，追蹤其臨床血液檢查數據，在開始 HAART 治療的三個月後，83 位中有 81 位之病毒量皆降至 1,000 copies/ml 以下，占總數的 97.6%。

案件治療前抗藥性檢測結果

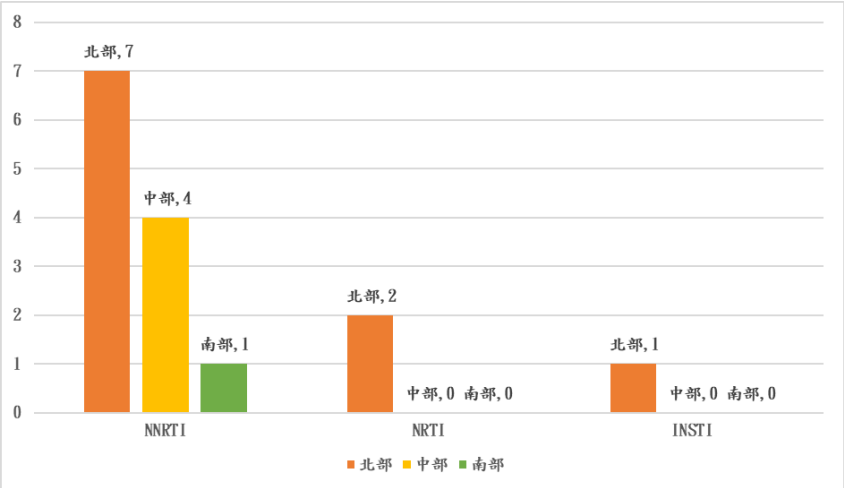
目前共完成 103 人次的抗藥性檢測，其中 13 人次檢測出帶有抗藥性突變基因之病毒株，治療前抗藥性之盛行率為 12.62%(13/103)。將帶抗藥性基因病毒株的 13 名受試者之 pol 基因序列上傳至 Stanford University “HIV Drug Resistance Database” 網頁進行分析比對後，13 名個案中 12

名個案之病毒株基因皆帶有針對 NNRTI 藥物之抗藥性突變位點，NNRTI 藥物之治療前抗藥性盛行率為 11.65%（12/103）。且此 12 名個案中的 2 名同時也帶有 NRTI(nucleoside reverse-transcriptase)藥物之抗藥性突變位點，NRTI 藥物之治療前抗藥性盛行率為 1.94%（2/103）。其餘 1 名個案則是帶有 INSTI 藥物之抗藥性突變，INSTI 藥物之治療前抗藥性盛行率為 0.97%（1/103）（圖六）。



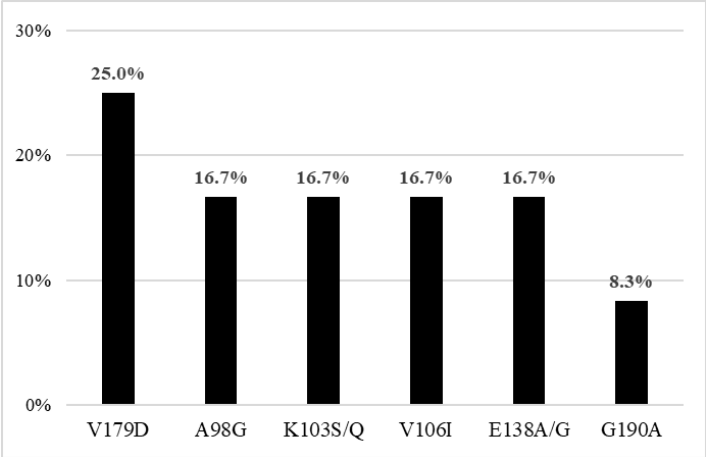
▲圖六、具治療前抗藥性 13 名個案之抗藥性類型統計

此 13 名帶有治療前抗藥性病毒株之個案中，北部地區之個案 8 名，中部地區之個案 4 名，南部地區之個案 1 名。



▲圖七、具治療前抗藥性 13 名個案之地區分布

進一步分析帶有NNRTI藥物抗藥性病毒株之個案,12名中共有3名（25%）之 pol 基因的 RT 段落中表現突變位點 V179D，預期對 NNRTI 藥物 Doravirine(DOR), Efavirenz(EFV), Etravirine(ETR), nevirapine(NVP), Rilpivirine(RPV)具有低度至中度的抗藥性。此外，在pol基因的RT段落中表現突變位點A98G及V106I的個案各2名（16.67%)，預期分別對NNRTI藥物 Doravirine(DOR), Efavirenz(EFV), nevirapine(NVP), 及 Rilpivirine(RPV)具有低度至中度的抗藥性，以及對Doravirine(DOR)具有低程度的抗藥性。其餘記錄到個案針對 NNRTI 藥物的抗藥性突變位點另有 K103S/Q(16.7%), E138A/G(16.7%)以及G190A(8.3%)（圖八)。



▲圖八、NNRTI抗藥性之基因突變位點發生率

帶有NRTI藥物抗藥性病毒株的兩名個案皆在pol基因的RT段落中表現突變位點T215D/S，並預期會對Zidovudine (AZT)具有低度抗藥性。而具INSTI藥物抗藥性之病患則是在pol基因的IN段落表現出突變位點G163K，其對於Elvitegravir(EVG)及Raltegravir(RAL)藥物具有低度抗藥性。

以上檢測之結果全數已即時回報予臨床主治醫師，以作為治療方針及藥物處方制定之參考。

案件抗藥性發生情形追蹤

在當前完成抗藥性檢測的 98 名個案中，除具有治療前抗藥性之個案之外，其餘 85 名個案皆納入追蹤清單，續行 ADR 發生情形之追蹤。截至目前，共有 39 名受試者已接受 HAART 治療滿 12 個月，追蹤其中 21 名血液檢查之結果，所有個案之病毒量皆小於 20 copies/ml，推測皆未產生抗藥性的基因變異。其中有 1 名個案發生 LTFU 之情況，而因其他原因轉院之個案 1 名。

項目	數值（%）
性別占比	
男	112（112/113; 99.1%）
女	1（1/113; 0.9%）
平均年齡 n=112	31.3±7.8
治療前平均 CD4 count（cells/mm3）n=112	300±259
治療三個月後病毒量 <1,000 copies/ml	81（81/83; 97.6%）
當前用藥處方	
TRIUMEQ	74（74/110; 67.3%）
ATRIPLA	12（12/110; 10.9%）
GENVOYA	16（16/110; 14.5%）
COMPLERA	7（7/110; 6.4%）
處方用藥少於三種	0（0/110; 0.0%）
已完成抗藥性檢測	98（98/113; 86.7%）
具任一種藥物抗藥性相關突變	13（13/98; 13.3%）
具 NNRTI 藥物抗藥性相關突變	12（12/98; 12.2%）
具 NRTI 藥物抗藥性相關突變	2（2/98; 2.0%）
具 INSTI 藥物抗藥性相關突變	1（1/98; 1.0%）
具 PI 藥物抗藥性相關突變	0（0/98; 0.0%）

治療滿一年之追蹤個案數*	21 (21/39; 53.8%)
治療滿一年個案病毒量<1,000	21 (21/21; 100.0%)

*接受治療滿一年且有滿一年之血液檢查資料的個案數/接受治療滿一年的個案數

▲表三、綜合臨床病歷資料分析及抗藥性檢測結果

四、 討論

台灣 2014 年有研究文獻指出在台灣南部區域尚未接受藥物治療的感染者中對 RTI、PI 及 INSTI 任一抗病毒藥物有抗藥性基因型之盛行率為 10.6% [8]。另於 2016 年有學者研究分析來自臺大醫院自願諮商與檢驗措施(voluntary counseling and testing, VCT) MSM 族群 (men who have sex with men) HIV-1 亞型 B 的受試者，其結論指出具有至少一種 RTI、PI 抗藥性相關基因突變 (resistance-associated mutation, RAM)的愛滋病毒感染者比率為 11.1%[11]。

本研究為使研究結果更具台灣全區域的代表性，與不同地區的指定醫療院所洽談合作，收案範圍含括台灣北、中、南、東部各區的醫院(圖四)。我們透過合作的醫院端收集服用 HAART 藥物治療未滿一個月之病人的全血液檢體，並萃取血漿中病毒 RNA 或淋巴球 DNA，利用巢式聚合酶連鎖反應擴增病毒 pol 基因片段，再送至坊間廠商進行序列定序，最後將序列上傳至 Stanford Drug HIV Resistance Database 進行比對，檢測是否為抗藥性病毒株。分析 98 名受試者之抗藥性基因的結果，對 RTI、PI、INSTI 任一藥物具有抗藥性的盛行率為 12.62%，且 NRTI、NNRTI、PI、INSTI 藥物的盛行率分別為 1.94%、11.65%、0%、0.97% (圖七)

由上述的結果可以發現，本研究的抗藥性盛行率與過去其他的研究結果相近 [8,10]，僅在個別藥物抗藥性的盛行率上稍有出入，考慮到研究樣本數較少可能造成的誤差，我們期待未來能夠增加受試者數，為台灣地區愛滋病治療前抗藥性盛行率提供更完整的統計數據。

值得一提的是，INSTI 藥物為近年才引進使用的藥物，但不僅本研究中已發現一例 INSTI 藥物的抗藥性病毒株，在近期的其他研究中同樣有出現帶有對 INSTI 藥物具抗藥性病毒株的感染者 [11,12]。

至於 ADR 的追蹤，因服用 HAART 藥物滿一年，且未有治療前抗藥性的個案,已完成血液檢查追蹤的 21 名個案中,病毒量皆小於 30 copies/ml，無回彈超過 1000 copies/ml 之情事發生，推斷未有抗藥性基因的出現。其中 1 名個案 LTFU(loss to follow-up)，後續若有回診，將會特別注意其血液檢查結果，以及在失聯其間是否有停藥等情形發生。另因其他原因轉院之個案有 1 名，因此無法繼續追蹤。

五、 結論與建議

本計畫執行兩年,截至目前共計招募 113 名受試者,受試者來自北、中、南、東部各地區之指定醫事機構，其中完成抗藥性檢測共 103 人次，90 人次之檢驗結果為未帶有治療前抗藥性，治療前抗藥性之盛行率為 12.6%。去年納入追蹤之個案達到服藥後第一個時間點的個案共計 39 人次，完成追蹤 21 人次，無獲得性抗藥性之發生。

本研究致力於邀請各地區之指定醫療院所加入,以期達到更完整且更具有代表性的抗藥性盛行率監測結果。參與本計畫的醫師及護理人員們秉持著科學研究的精神,同時希望透過抗藥性檢測來為患者提供更精確的治療，而與我們互惠合作。然而，實際上因合作醫院與我們為不同體系的單位，在此情形下的執行並不容易。例如在合作邀約方面，許多醫院對於長期合作的意願不高，其原因可能為 IRB 的申請作業繁複，或是有些單位的檢體運送程序較為複雜等，皆導致醫護人員的合作意願低，而使得有些原本合作的醫院結束合作關係，必須再另尋其他合作對象。

另外,由目前研究結果來看,收案人數僅剛好達到最初預計之收案個數,且在獲得性抗藥性的追蹤較不完整。因本計畫收案希望增加合作對象，並未對各醫院設立收案件數的門檻，雖有提供收案臨時工資的補助，但因醫護人員本身工作繁忙，每年收案數量較不穩定，而不在同一醫療體系下，較難在第一時間更新病患的最新狀況，也容易出現病資歷料不齊全的情形。

對此，我們已積極將招募、篩檢、資料傳遞的程序精簡標準化，我們計劃未來將加強與各院之間的聯繫溝通，盡可能使抗藥性的追蹤網絡更加順暢。然而，上述所提及的問題依然存在，而我們尚未得出更佳的解決方案。期待在這方面能夠獲得貴署的協助討論與改善，以建立完善的愛滋病抗藥

性追蹤網絡，創建更加穩定的收案機制，使個案的資料傳遞更即時，並且優化追蹤程序。

本計畫未來的研究方向將同樣持續收取新個案，續行治療前抗藥性盛行率的追蹤，並將進一步釐清具抗藥性個案之間是否有地緣、群聚關係。此外將著重於追蹤獲得性抗藥性發生的部分，針對今年有失聯情形發生之個案加強後續觀察。若有確認發生抗藥性情形者，將透過臨床病歷資料、藥物使用情形與患者依從性等抗藥性相關 EWIs，深入探討抗藥性發生之成因。

六、 重要研究成果及具體建議

本研究結果指出在 103 名治療未滿一個月的愛滋病毒感染者的抗藥性篩檢，有 13 名帶有含抗藥性基因的病毒株(12.6%)，其中以 NNRTI 藥物的抗藥性盛行率為最高(11.6%)。由此推測在台灣地區，接受治療前的愛滋病患者中約十名就會有一名帶有對任一種抗病毒藥物的抗藥性。由於抗藥性病毒株的產生與傳播會大幅影響 HAART 的療效,使得治療效益受到減損，進而增加治療失敗的風險。對此，我們建議可將治療前的抗藥性篩檢制度納入未來政策制定的考量，使臨床醫師能夠以患者之抗藥性檢測結果做為醫療處置之參考，在治療的過程中，即時調整藥物的劑量或是改變給予第二線抗病毒藥物，使得治療用藥效果最佳化，進一步防治愛滋病毒抗藥性的發展與傳播。

在 ADR 的評估結果，發現個案接受治療滿 12 個月之受試者皆無病毒量回彈的現象，推斷在治療一年的愛滋病毒感染者中沒有 ADR 之發生。根據此結果，我們推論 ADR 出現需要更長時間的追蹤及監控，建議將此研究設定為更長期的追蹤計畫，並且擴大收案範圍及人數以捕捉到少數依從性較差的患者，以達到更完善的監測成果。

七、 參考文獻

1. AIDSinfo, The Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). Available at: http://aidsinfo.unaids.org/
2. HIV/AIDS monthly report 107-08, Centers for Disease Control (CDC), R.O.C. (Taiwan). Available at: https://www.cdc.gov.tw/professional/downloadfile.aspx?fid=5D30A5B238076635
3. Barth RE et al. Effectiveness of highly active antiretroviral therapy administered by general practitioners in rural South Africa. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2008;27(10):977-84.
4. Dianzani F et al. Interferon may prevent HIV viral rebound after HAART interruption in HIV patients. *J Interferon Cytokine Res.* 2008;28(1):1-3.
5. Granich R et al. Highly active antiretroviral treatment for the prevention of HIV transmission. *J Int AIDS Soc.* 2010;13:1.
6. Perelson AS et al. Decay characteristics of HIV-1-infected compartments during combination therapy. *Nature*. 1997;387(6629):188-91.
7. Global Action Plan on HIV Drug Resistance 2017-2021, World Health Organization (WHO). Available at: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/255883/1/9789241512848-eng.pdf?ua=1
8. Weng YW et al.: Prevalence and associated factors for HIV-1 transmitted drug resistance in voluntary clients for counseling and testing in Southern Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect.* 2016;49(4):487-93.
9. Global Report on Early Warning Indicators of HIV Drug Resistance, World Health Organization (WHO). Available at: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/246219/1/9789241511179-eng.pdf?ua=1
10. Che-Feng Liao, Sheng-Fan Wang et al. Identification of the

DC-SIGN-interactive domains on the envelope glycoprotein of HIV-1 CRF07_BC. AIDS Research and Human Retroviruses. 2011;27(8): 831-839.

11. Lai CC, Liu WC, Fang CT, Yang JY, Chang LH, Wu PY, et al. Transmitted drug resistance of HIV-1 strains among individuals attending voluntary counselling and testing in Taiwan. The Journal of antimicrobial chemotherapy. 2016;71(1):226–34. pmid:26404079

12. Hung-Chin Tsai, I-Tzu Chen, Kuan-Sheng Wu,Yu-Ting Tseng, Cheng-Len Sy, Jui-Kuang Chen, Shin-Jung Susan Lee, Yao-Shen Chen: HIV-1 integrase strand-transfer inhibitor resistance in southern Taiwan. Oncotarget. 2018 May 18; 9(38): 24927–24935.

肆、附錄

附錄-圖 1：將受試者病毒 pol 基因序列上傳至 Stanford University HIV drug resistance database 網站比對分析結果之完整範例

Stanford University
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE
A curated public database to represent, store and analyze HIV drug resistance data.

Sequence summary

Sequence includes PR:	codons 1 - 99
Sequence includes RT:	codons 1 - 560
Sequence includes IN:	codons 1 - 288
Subtype:	⊟ B (4.72%)

- **KJ704787: United States (1983); B (4.72%); best match**
- FJ647145: South Africa (1985); B (5.39%)
- L31963: France (1983); B (5.46%)
- AF042100: Australia (1986); B (5.53%)
- AB873942: Japan (2009); B (5.56%)
- HQ026550: Korea, Republic of (1992); B (5.56%)
- AY779554: Canada (1998); B (5.74%)
- U34603: Netherlands (1986); B (5.74%)
- AY173951: Thailand (1990); B (5.81%)
- D10112: United Kingdom (1983); B (5.88%)

Sequence quality assessment

PR

RT

IN

Drug resistance interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations:	None
PI Accessory Resistance Mutations:	None
Other Mutations:	I62V, L63P, K70T, V75I, V77I, I93L

Protease Inhibitors	
atazanavir/r (ATV/r)	Susceptible
darunavir/r (DRV/r)	Susceptible
lopinavir/r (LPV/r)	Susceptible

Mutation scoring: PR

PI	ATV/r	DRV/r	LPV/r
Total	0	0	0

Drug resistance interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations:	None
NNRTI Resistance Mutations:	None
Other Mutations:	E6D, V35I, K103R, K166R, I202V, Q207E, F214L, A272S, K277R, I293V, E297A, E312Q, H315Y, S322A, I329V, Q334L, R356K, M357T, K366R, T369V, Q373H, I382T, K390R, A400T, K431Q, V435A, L491A, E516A, Q524E, V531I, L533M, Q547K, A554N

Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors		Non-nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors	
abacavir (ABC)	Susceptible	**doravirine (DOR)**	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	**efavirenz (EFV)**	Susceptible
emtricitabine (FTC)	Susceptible	**etravirine (ETR)**	Susceptible
lamivudine (3TC)	Susceptible	**nevirapine (NVP)**	Susceptible
tenofovir (TDF)	Susceptible	**rilpivirine (RPV)**	Susceptible

RT comments

Other

- **K103R** is a polymorphic mutation that alone has no effect on NNRTI susceptibility. However, in combination with V179D, it reduces NVP and EFV susceptibility about 15-fold.

Mutation scoring: RT

NRTI	ABC	AZT	FTC	3TC	TDF
Total	0	0	0	0	0

NNRTI	DOR	EFV	ETR	NVP	RPV
Total	0	0	0	0	0

Drug resistance interpretation: IN

IN Major Resistance Mutations:	None
IN Accessory Resistance Mutations:	None
Other Mutations:	D6E, K7R, E11D, K14R, S17T, V31I, V37I, I60M, I72V, L101I, K111T, I113V, T124N, T125A, I135V, V165I, V176L, L234I, S283G

Integrase Strand Transfer Inhibitors	
bictegravir (BIC)	Susceptible
dolutegravir (DTG)	Susceptible
elvitegravir (EVG)	Susceptible
raltegravir (RAL)	Susceptible

Mutation scoring: IN

INSTI	BIC	DTG	EVG	RAL
Total	0	0	0	0

© 1998 - 2019. All Rights Reserved. Questions? Contact HIVdb <hivdbteam@stanford.edu>.

附錄-圖 2：高雄醫學大學附設中和紀念醫院 IRB 審查通過證明書

高雄醫學大學附設中和紀念醫院
Kaohsiung Medical University Chung-Ho Memorial Hospital
人體試驗審查委員會
Institutional Review Board

807高雄市三民區自由一路100號
No. 100, Tzyou 1st Road, Kaohsiung 807, Taiwan
TEL： 886-7-3121101 ext.6646、886-7-3133525
FAX： 886-7-3221408

人體研究新案同意證明書

計畫中文名稱：台灣地區治療中愛滋病毒感染者之抗藥性發生率追蹤研究
計畫主持人：王聖帆
共同及協同主持人：顏永豐、王任賢、盧柏樑
機構名稱：高雄醫學大學
經費來源：衛福部
IRB 編號：KMUHIRB-SV(I)-20180017
核准日期(審查通過日)：2018 年 5 月 11 日
計畫執行期間：自 2018 年 5 月 11 日至 2020 年 12 月 31 日止
計畫書：第一版，2018/5/11
受試者同意書：第一版，2018/5/11

未預期事件或藥品嚴重不良反應通報、後續定期追蹤之程序及應注意事項，請參閱背面。

高雄醫學大學附設中和紀念醫院
第一人體試驗審查委員會
主任委員：顏學偉

西元 2018 年 5 月 11 日

Approval of Clinical Trial/Research

Protocol Title: Surveillance and monitoring of drug resistance phenomenon among HIV-1 infected patients initially treated with HAART from a national cohort in Taiwan.
Principal Investigator(s): SHENG-FAN WANG
Co_Investigator(s): Yung-Feng Yen、Jen-Hsien Wang、Po-Liang Lu
Institution: Kaohsiung Medical University
Source of Funding: Ministry of Health and Welfare
IRB Number:KMUHIRB-SV(I)-20180017
Approval dated: 2018/5/11
Duration of Approval: from 2018/5/11 to 2020/12/31
Protocol：Version 1, 2018/5/11
Informed Consent：Version 1, 2018/5/11

See the back of this page for the procedures for reporting unanticipated problems, or drug serious adverse reactions, or interim, and other important notes.

Hsueh-Wei Yen

Hsueh-Wei Yen, MD
Chairman
Institutional Review Board- I
Kaohsiung Medical University
Chung-Ho Memorial Hospital

Kaohsiung Medical University Chung-Ho Memorial Hospital Institutional Review Board