

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 30 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：24790153

研究課題名(和文) 抗HIV薬服用患者における脂質代謝異常の発現メカニズムの解明

研究課題名(英文) The mechanism of anti-HIV drug-related dyslipidemia in patients with HIV infection

## 研究代表者

津金 麻実子 (Tsugane, Mamiko)

大阪大学・薬学研究科(研究院)・招へい教員

研究者番号：00469991

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では抗HIV薬の長期服用で起こる脂質代謝異常の発現メカニズム解明を目的とし、HIV感染症患者を対象として、診療記録をもとに背景情報や臨床検査値、使用薬等を調査し、尿検体におけるグルココルチコイド活性化酵素11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1(11 $\beta$ -HSD1)の活性をLC/MS/MSで評価した。その結果、脂質異常症治療薬を併用した患者および抗HIV薬使用後に血中LDLコレステロール値が上昇した患者においては、尿中代謝産物で推測する11 $\beta$ -HSD1の活性が高く、抗HIV薬による脂質代謝異常には11 $\beta$ -HSD1が関与することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The principal aim of the present study was to determine the mechanism of dyslipidemia, which occurs during the long-term use of anti-HIV drugs. We investigated patient background information based on medical records, clinical test values, and drug use in HIV-infected patients, and evaluated the activity of the glucocorticoid-activating enzyme, 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11 $\beta$ -HSD1) in urine samples using liquid chromatography/mass spectrometry. Our results revealed high activity of 11 $\beta$ -HSD1 according to the urine metabolite data in patients who used antidyslipidemic drugs combined with anti-HIV drugs and in patients with increased blood low-density lipoprotein levels after the use of anti-HIV drugs. These results suggest that 11 $\beta$ -HSD1 is involved in anti-HIV drug-related dyslipidemia.

研究分野：臨床薬学

キーワード：抗HIV薬 脂質代謝異常 11 $\beta$ -HSD1 臨床薬学

### 1. 研究開始当初の背景

HIV (human immunodeficiency virus) 感染症・エイズに対する治療として、抗 HIV 薬の多剤併用療法である Highly active anti-retroviral therapy (HAART) が登場以降、HIV 感染症は致死的ではない長期に渡りコントロール可能な慢性疾患となり、患者の生命予後は劇的に改善された。現在、HAART では抗ウイルス活性を有する核酸系逆転写酵素阻害薬、非核酸系逆転写酵素阻害薬、プロテアーゼ阻害薬などを 3~4 剤併用する。HAART は強力に HIV の増殖を抑制し、免疫不全に陥ることを防ぐが、感染者体内の HIV を完全に排除することは困難である。HIV の排除に要する期間は 70 年以上とされ、内服中断でも HIV 量は上昇することから、感染者は一生涯、抗 HIV 薬の服用を継続する必要がある。そこで問題となるのが、抗 HIV 薬の長期服用に伴う副作用の出現である。代表的な副作用に代謝異常や体脂肪の分布異常であるリポアトロフィーが挙げられる。代謝異常として、HAART 施行中の患者では高コレステロール血症、高トリグリセリド血症などの脂質代謝異常、インスリン抵抗性増大に伴う糖代謝異常の出現頻度が高く、HAART が長期に及ぶことを考えると、心疾患や動脈硬化のリスクが高まると予想される。これらの副作用は、患者の生命予後の不良や QOL (Quality of life) の著しい低下につながるにもかかわらず、発症メカニズムは不明なのが現状である。

抗 HIV 薬の副作用と病態が類似しているメタボリックシンドロームは、肥満、インスリン抵抗性を基盤とし、脂質異常症や耐糖能異常、高血圧などが合併して、動脈硬化性疾患の危険因子となる病態である。また、グルココルチコイドの分泌過剰による症候群であるクッシング症候群がメタボリックシンドロームの病態と酷似していることから、細胞内のグルココルチコイド活性化酵素である 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11 $\beta$ -HSD1) の活性上昇が脂肪細胞の機能異常に関与することが明らかとなっている。以上の知見をふまえると、抗 HIV 薬服用中の患者では 11 $\beta$ -HSD1 の活性が変化するのではないかと推察される。

### 2. 研究の目的

本研究では、抗 HIV 薬の長期服用により起こる脂質代謝異常出現状況等について診療記録をもとに調査するとともに、患者の尿検体を用いてグルココルチコイド活性化酵素を解析することにより、その発現メカニズムを解明することを目的とする。それにより、抗 HIV 薬による副作用発現のリスクファクターを明らかとし、将来的には副作用発現把握に役立つ診断マーカーとしての利用、および副作用回避のための予防法・治療法開発への貢献を目標とする。

### 3. 研究の方法

#### (1) 対象患者

大学病院において HIV 感染症と診断された 20 歳以上の日本人患者を対象とし、妊婦・授乳婦、HIV 急性感染、過去に HIV 治療の経験があり、抗 HIV 薬の併用禁忌薬服用中の患者は対象から除外した。

#### (2) 患者背景

採尿時における年齢、性別、身長、体重、BMI、ウエスト周囲径、ヒップ周囲径、抗 HIV 使用の有無および HAART の種類、脂質異常症・糖尿病の有無、HAART 開始から採尿日までの治療期間について調査した。

#### (3) 生化学的検査値

HAART 開始前および開始後採尿時において血中 LDL コレステロール (LDL)、血中トリグリセリド (TG) を測定した。また、HAART 開始後採尿時には 1.5-アンヒドログルシトール (1.5-AG) も測定した。

#### (4) 酵素活性の測定

グルココルチコイド活性化酵素 11 $\beta$ -HSD1 は細胞内で、不活性型のコルチゾンを活性型のコルチゾールに変換する。最終代謝産物としてコルチゾールは tetrahydrocortisol (THF) と allo-tetrahydrocortisol (A-THF)、コルチゾンは tetrahydrocortisone (THE) の形で尿中に排出される。11 $\beta$ -HSD1 の活性は尿中比と呼ばれる THF と A-THF の濃度の和を THE の濃度で除した値 (THF+A-THF) / (THE) で評価できる (図 1)。そこで、被験者から採取した尿について、尿中の THF、A-THF、THE の濃度を LC-MS/MS で測定し、尿中比を算出した。尿検体に内部標準物質の D3-PGD (5 $\alpha$ -Pregnane-3 $\alpha$ -21-diol-20-one-17,21,21-D3) 代謝産物のグルクロン酸抱合体や硫酸抱合体を分解する  $\beta$ -Glucuronidase/Arylsulfatase を添加後インキュベートし、固相抽出による前処理を行って LC-MS/MS により測定した。また、日間変動および日内変動の確認のため、健康成人男性の尿に対し、被験者尿と同様の処理を施して測定した。

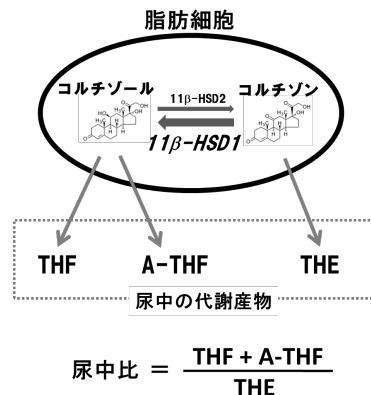


図1. 脂肪細胞内における11 $\beta$ -HSD1と尿中比

#### 4. 研究成果

##### (1)患者背景

本研究における対象患者は 62 名で、すべて男性だった。HAART 開始後採尿時の患者背景を表 1 に示す。

表 1

	n	Mean ± SD (range)
年齢 (歳)	62	39.53 ± 9.15 (22-65)
身長 (cm)	42	169.87 ± 6.15 (158-190)
体重 (kg)	42	67.34 ± 10.53 (48-108)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	42	23.30 ± 3.17 (18.8-36.5)
ウエスト周囲径 (cm)	41	85.02 ± 9.17 (68-118)
ヒップ周囲径 (cm)	41	98.29 ± 6.19 (85-114)
HAART開始から採尿日までの期間 (月)	51	43.02 ± 51.00 (0-208)
血中LDLコレステロール (mg/dL)	58	104.21 ± 31.92 (32-182)
血中トリグリセリド (mg/dL)	61	175.39 ± 129.30 (45-603)
1,5-AG (µg/mL)	55	22.77 ± 9.80 (5-62.5)

##### (2)HAART 施行と代謝異常、尿中比の関連

本研究では、代謝異常として脂質代謝異常と糖代謝異常に着目し、その発症と HAART 施行との関連性、ならびにそれらと尿中比 (THF+A-THF/THE) との関連性について調査した (表 2)。HAART 未施行群における脂質異常症罹患率は 0 名 (0%) であったのに対し、施行群における脂質異常症罹患率は 9 名 (14.5%) であり、HAART 施行患者の方が脂質異常症を罹患しやすい傾向がみられた。一方で、HAART 未施行群における糖尿病罹患率は 1 名 (1.6%) であったのに対し、施行群における糖尿病罹患率は 3 名 (4.8%) であったが、HAART の有無による差異は有意ではなかった。また、THF+A-THF/THE 平均値が脂質異常症罹患群では 1.64、非罹患群では 1.43 であり、脂質異常症罹患群の方が高値を示す傾向がみられた。糖尿病罹患群、非罹患群においては両群間に有意な差はみられなかった。

表 2

	HAART 施行				THF+A-THF/THE		
	n	+	-	p	n	Median ± CI	p
脂質異常症	+	9 (14.5%)	0 (0%)	0.15 <sup>1)</sup>	9	1.64 ± 0.31	0.09 <sup>2)</sup>
	-	53 (67.7%)	11 (17.7%)		38	1.43 ± 0.27	
糖尿病	+	4 (4.8%)	1 (1.6%)	0.86 <sup>1)</sup>	3	1.27 ± 0.25	0.27 <sup>2)</sup>
	-	58 (77.4%)	10 (16.1%)		44	1.50 ± 0.24	

1) Fisher's exact test

2) Mann-Whitney U test (one-side test)

##### (3)HAART 施行前後における LDL 値と TG 値の変動

HAART 施行前と開始後における LDL 値、TG 値を比較した (表 3)。両時点ともに尿検体を採取できたのは、HAART 施行患者 51 名中 21 名であった。LDL 値は、HAART 施行前は平均 88.8 mg/dL であったが、開始後では 106.7 mg/dL と有意に上昇していた。一方、TG 値は HAART 施行前と開始後で同程度の値だった。

表 3

	n	Mean ± SD		p
		HAART施行前	採尿時	
LDL (mg/dL)	21	88.8 ± 30.1	106.7 ± 37.0	0.04 <sup>1)</sup>
TG (mg/dL)	21	161.5 ± 92.2	162.2 ± 98.8	0.97 <sup>2)</sup>

1) Paired t-test

2) Wilcoxon rank sum test

##### (4)LDL 値上昇群と維持・低下群における患者背景因子と尿中比の比較

HAART 施行前と開始後の 2 回、尿検体を採取できた患者 21 名について、HAART 施行前と開始後の LDL 値をもとに LDL 値上昇群と維持・低下群に分類し、HAART 開始後採尿時における背景因子や治療期間を比較した (表 4)。LDL 値上昇群では、平均 LDL 値が 115.0 mg/dL であったのに対し、維持・低下群では 85.8 mg/dL と LDL 値上昇群の方が有意に高値を示した。また、THF+A-THF/THE については、LDL 値上昇群が 1.59、維持・低下群では 1.21 と LDL 値上昇群の方が高値を示す傾向がみられた。HAART 開始から採尿時までの治療期間については、LDL 値上昇群が 13.9 ヶ月だったのに対し、維持・低下群は 10.2 ヶ月であり LDL 値上昇群の方が長い傾向がみられた。ウエスト径についても、LDL 値上昇群の方が高値を示す傾向がみられた。一方で、BMI、TG、1,5-AG については両群間で同等の値を示した。

表 4

	n	Mean ± SD	p	
THF+A-THF/THE	LDL 上昇	14	1.59 ± 0.44	0.06 <sup>1)</sup>
	LDL 維持・低下	5	1.21 ± 0.43	
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	LDL 上昇	10	22.7 ± 2.8	0.56 <sup>1)</sup>
	LDL 維持・低下	3	23.0 ± 2.3	
LDL (mg/dL)	LDL 上昇	15	115.0 ± 34.9	0.05 <sup>1)</sup>
	LDL 維持・低下	6	85.8 ± 36.4	
TG (mg/dL)	LDL 上昇	15	167.6 ± 95.1	0.49 <sup>1)</sup>
	LDL 維持・低下	6	166.5 ± 142.3	
ウエスト周囲径 (cm)	LDL 上昇	10	85.5 ± 5.5	0.10 <sup>2)</sup>
	LDL 維持・低下	2	80.5 ± 4.9	
1,5-AG (µg/mL)	LDL 上昇	15	23.4 ± 8.6	0.49 <sup>1)</sup>
	LDL 維持・低下	4	23.3 ± 9.3	
HAART開始から採尿時までの期間 (月)	LDL 上昇	15	13.9 ± 9.01	0.07 <sup>2)</sup>
	LDL 維持・低下	6	10.2 ± 16.4	

1) Student's t-test (one-side test)

2) Mann-Whitney U test (one-side test)

##### (5) HAART における使用薬剤の種類と尿中比の関連

HAART で使用する薬剤別での 11β-HSD1 の関与を検討した (表 5)。本研究では 51 名に対し 12 種類の抗 HIV 薬が使用されていた。キードラッグとして最も多かったのが、インテグラーゼ阻害薬であるラルテグラビル (RAL) と非核酸系逆転写酵素阻害薬であるエファビレンツ (EFV) で、ともに 11 名に使用されていた (表 5A)。いずれも、バックボーンとしてはテノホビル/エムトリシタビ

ン配合剤 (TDF/FTC) を使用していた。本研究ではバックボーンに注目し、TDF/FTC 使用群とアバカビル/ラミブジン配合剤 (ABC/3TC) 使用群に分類し THF+A-THF/THE 平均値を比較したところ、TDF/FTC 使用群では 1.67、ABC/3TC 使用群では 1.31 と、TDF/FTC 使用群の方が高値を示す傾向がみられた (表 5B)。

表 5

(A)			(B)			
薬剤	n	%	THF+A-THF/THE			
			n	Mean ± SD	p	
RAL+TDF/FTC	11	21.57	35	1.67 ± 0.87	0.15 <sup>1)</sup>	
EFV+TDF/FTC	11	21.57				
FPV/r+TDF/FTC	4	7.84	11	1.31 ± 0.47		
RAL+ABC/3TC	4	7.84				
EFV+ABC/3TC	4	7.84				
LPV/r+TDF/FTC	3	5.88				
FPV+TDF/FTC	3	5.88				
ATV/r+TDF/FTC	3	5.88				
DRV/r+TDF/FTC	2	3.92				
NVP+TDF/FTC	1	1.96				
DRV/r+TDF/FTC	1	1.96				
TDF+3TC+LPV/r	1	1.96				
LPV/r+ABC/3TC	1	1.96				
ATV/r+ABC/3TC	1	1.96				
FPV+ABC/3TC	1	1.96				

1) Mann-Whitney U test (one-side test)

RAL:ラルテグラビル, TDF:テノホビル,  
 FTC:エムトリシタピン, EFV:エファビレンツ,  
 FPV:ホスアンプレナビル, ABC:アバカビル,  
 3TC:ラミブジン, LPV:ロピナビル,  
 ATV:アタザナビル, DRV/r:ダルナビル(薬  
 剤耐性なし), NVP:ネビラピン,  
 DRV:ダルナビル, r:少量リトナビル含有

以上のように、本研究において、脂質異常症を罹患した患者、あるいは、LDL 上昇を示した患者の方が高い THF+A-THF/THE の値を示す傾向がみられたことから、HAART による脂質代謝異常には 11β-HSD1 が関与する可能性が考えられた。また、使用した抗 HIV 薬の種類や、使用期間により代謝異常発現リスクが異なる可能性も示唆された。本研究で得られた知見は、11β-HSD1 が、HAART による脂質代謝異常に対する創薬ターゲットや発現予測マーカーとして有用である可能性を示唆するものである。さらに、尿検体を用いて非侵襲的に 11β-HSD1 活性を測定する本手法は、ウイルスの混入がほとんどないことから、安全性・普及性に優れると考えられる。今後は多施設に規模を広げた臨床試験や検証研究により、HAART による脂質代謝異常に対して 11β-HSD1 を標的とした治療戦略の有用性を評価することが望まれる。

## 5. 主な発表論文等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

津金 麻実子 (TSUGANE, Mamiko)

大阪大学・大学院薬学研究科・招へい教員

研究者番号: 00469991