

た症例が4例(31%)あったことから、M8代謝比が高い症例では、血中HIV-RNA量を1年以上検出限界以下に保った症例においても、血中HIV-RNA量が再上昇する可能性があると思われた。アドヒアランスの確認、血漿中濃度のモニタリングを強化するなど、注意深い観察が必要であると思われた。NFV未変化体群とNFV+M8群の治療失敗例の傾向に差は認められなかったことから、NFV・M8の治療効果は同等と推察され、NFV/M8代謝比の違いが抗ウイルス効果に及ぼす影響はないものと思われた。日本人におけるNFVの血漿中濃度は米国でのデータに比べ、高い傾向を認めたことから、日本人でのNFVの治療効果は、米国に比べ高いと予想された。採血ポイントはNFV服薬前と服薬4時間後の2ポイントで評価が可能であると考えられた。治療をより確実なものとするためにも、M8代謝物を含めたNFVの血漿中濃度測定は重要である。

3. LPV/rの薬物動態についての検討(国立大阪、京都薬科大学)

検討した8例中3例は、投与後血漿中濃度が上昇し2~4時間後にピークを迎えているが、他の5例は投与後見かけ上血中濃度は低下し、4~6時間後にピークを迎えていることから、日本人における吸収の遅延が確認された。また、他のPIと同様、外国人に比べLPVの血中濃度は高値を示した。LPVとRTVの血中濃度が関連したことから、RTVの血中濃度が低下すると、LPVの血中濃度は急速に低下する可能性が示唆された。投与数時間後にCminを示す症例が認められたことから、最低血中濃度を評価する際の、血中濃度測定のポイントはLPV/r投与前と投与2時間後の2ポイントを測定することが望ましい。

4. LPV/r+EFV併用療法におけるLPV血中濃度の検討(国立国際医療センター)

図11におけるLPV/r群の結果で、平均血中濃度がフラットな曲線を描いたのは、Cmaxにバラツキがあり、平均値を算出すると、結果的にフラットな曲線が得られたためと考えられた。表6の海外データとの比較において、AUC0-8hとCmaxに大きな差は認められなかったものの、Cpredoseが高かったことから、日本人におけるLPVの吸収が遅延している可能性が考えられた。海外データで

はLPV/rとLPV/r+EFVのAUCに差がないことから、EFV併用におけるLPV/rの増量の妥当性は認められるものの、日本人でのデータではAUCに差が認められたことから、今後、日本人におけるLPV/rの増量の必要性について、副作用の出現と抗ウイルス効果の影響を考慮しつつ、LPV/rの減量についてさらに詳細な検討が必要と考えられた。

E. 結論

血中濃度については、外国人でのデータとの違いが明らかになってきていることから、今後さらに臨床データを収集し、日本人における薬物動態を検討し、臨床へのフィードバックを行うことが重要である。また、血中濃度測定の実用と抗HIV薬の血中濃度関連情報の集約が必要である。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表学会発表

1. Kuwahara T, et al.: High frequencies of slow metabolizers of nelfinavir (NFV) in Japanese people infected with HIV. XIV International AIDS Conference, Abstract TuPeB4550, Barcelona, 2002.
2. 栗原健, 他. 名古屋: 第16回日本エイズ学会総会; 11月. 2002. 抄録番号 S4-1.
3. 高田寛治. 名古屋: 第16回日本エイズ学会総会; 11月. 2002. 抄録番号 S4-2.
4. 芝田信人. 名古屋: 第16回日本エイズ学会総会; 11月. 2002. 抄録番号 S4-4.
5. 吉野宗宏. 福岡: 第57回国立病院療養所総合医学会; 10月. 2002. 抄録番号 S14-7.

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

5

新規抗 HIV 薬の開発に関する臨床研究

分担研究者：松岡雅雄（京都大学ウイルス研究所感染免疫研究領域）

研究要旨

今年度、分担研究者は、新規治療標的であるヒト免疫不全症ウイルス（HIV）の細胞融合を阻害する gp41 由来ペプチドに関して、その作用機序と耐性機構の解明を行った。gp41 由来のペプチド C34 は N および C 末端側それぞれの haptad repeat (HR) が結合することを阻害し、結果としてウイルスの細胞進入を阻害すると考えられている。この仮説を検証するために C34 耐性ウイルスの分離を試みた。C34 耐性ウイルスで最終的に N 末端側の HR に 2 個、C 末端側の HR に 1 個、さらに細胞膜貫通ドメインに 1 個のアミノ酸変異が導入されていた。C 末端側 HR の誘導体である T-20 に対する耐性 HIV においても N 末端側 HR に変異が導入されることが既に報告されており、我々の実験結果は現在提唱されている gp41 を介した細胞融合機構を強く裏付ける結果となった。また、耐性ウイルスで置換されたアミノ酸は HR において重要な役割を果たしていることが予想され、これらのアミノ酸を標的とした小分子化合物の開発に役立つと考えられる。さらに C34 誘導体の合成も行い、C34 と比較し強い抗 HIV 効果(約 12 倍)を示すのみでなく C34 耐性ウイルスに対しても有効なペプチドを同定することに成功した。これらの研究成果からウイルス生理学的機能を薬剤耐性という観点から解析することで今後の薬剤開発標的の決定に重要な情報を供したと考えられた。

A. 研究目的

不治の病と考えられた後天性免疫不全症候群 (acquired immunodeficiency syndrome: AIDS) は、逆転写酵素 (reverse transcriptase: RT) 阻害剤とプロテアーゼ阻害剤の併用による多剤併用療法 (highly active anti-retroviral therapy: HAART) の著しい効果によりコントロール可能な疾患へと変貌しつつある。しかし、現時点では HAART によっても完全なヒト免疫不全症ウイルス(HIV)の駆逐は不可能であるばかりでなく、HAART 中にも持続する僅かなウイルス複製が薬剤耐性を付与しているという報告がある。耐性ウイルスの制圧には、新規の RT 阻害剤やプロテアーゼ阻害剤の開発および新しい分子標的に対する薬剤の開発が必要不可欠である。

今年度はウイルス進入を阻害する HIV gp41 由来ペプチドに対する耐性機序を解明し、細胞進入

機序の更なる解明と融合に必要なアミノ酸部位を同定することで HIV 細胞融合阻害剤の小分子化合物化に役立たせることを研究目的とした。

B. 研究方法

培養細胞と使用したウイルス

細胞には、MT-4 細胞と HeLa CD4/LTR-beta-Gal 細胞(MAGI 細胞)を使用した。各々の細胞は、それぞれ 10 % 牛胎児血清添加 RPMI 培地または同添加 DMEM 培地を用いた。抗生物質としてストレプトマイシンとペニシリンを培地に添加したが、MAGI 細胞を維持するときのみ、上記抗生剤に変えて G418 とハイグロマイシンを使用した。

ウイルスは全長の HIV-1 cDNA を組替えたプラスミド pNL101 を用いて作製した。このプラスミドに含まれている gp41 領域をプラスミド pSL301

にサブクローニングし、site directed mutagenesis 法にて変異を導入した。目的の変異が導入された DNA 断片を pNL101 に戻し、感染性ウイルスを Cos-7 細胞に遺伝子導入して作製した。

抗 HIV 効果測定 (MAGI 法)

アッセイの前日に MAGI 細胞を 96 well plate に移し、種々の濃度に希釈したペプチドと HIV を同時に加えてアッセイを行った。培養 2 日後に培地を除き、X-Gal を加え、一時間イ反応させた後、青く染色された細胞を感染成立細胞として顕微鏡下で測定した。

薬剤耐性株の誘導

薬剤に対する耐性変異を誘導するために MT-2 細胞と HIV-1_{NL101} を用いた。EC₅₀ の濃度から開始し、HIV 感染によって多数のシンシチウムが観察されるようになったらその上清を回収し、2 倍濃度の薬剤を加えた新しい MT-2 細胞に回収した上清を加え、培養を続けることで耐性を誘導した。

C. 結果

1. C34 耐性 HIV の誘導と塩基配列の決定(図 1)

Dose escalating 法にて C34 に対する耐性 HIV を誘導した。薬剤濃度は C34 の EC₅₀ から開始した。C34 存在下で培養を続け、passage 14 にて Q40H 変異が gp41-N 末端側に導入された。しかし、この変異は passage 20 では消失し、N127K が出現した。passage 40 にて A31V 変異が導入され、I38 は I と T の混合となった (A31V/I38I or T/N127K)。Passage 50 にて I38 は完全に T に変異し、さらに D38G 変異も加わった (A31V/D37D or G/I38T/N127K)。Passage 76 になって変異は A31V が消失し、I38T は K へ変異した。さらに細胞膜貫通部位近傍に L205I が導入されてきた (D37G/I38K/N127K/L205I)。最終的に passage 92 において gp120 領域に 5 つのアミノ酸欠落 (V4 領域 FNSTW) した HIV が観察された (DV4/D37G/I38K/N127K/L205I)。

2. アミノ酸変異と耐性との関連

7 つのアミノ酸変異が耐性誘導中に見られたが、どの変異が耐性に関連しているかを明らかにするために各々の変異を有する感染性クローンを作製し、その各々の EC₅₀ を測定した。Los Alamos Sequence Data Base で polymorphism として報告されていた変異、A31V、D37G、Q40H をそれぞれ有するクローンの EC₅₀ の変化は 3 倍以下で耐性に

関与していないと考えられた (表 1)。一方 I38T または K は EC₅₀ がそれぞれ 13 倍に増加しており、N127K においても 7 倍の増加が認められた。L205I は polymorphism として報告されていなかったが、EC₅₀ に対する影響は見られなかった。しかし、最終的に分離した変異株 D37G/I38K/N127K/L205I は C34 に対して 54 倍の耐性を有しており、単独の変異のみが耐性を付与しているとは考えられなかった。そこでこれらの耐性変異を組み合わせたところ、D37G/I38K/N127K 変異を持つ HIV の EC₅₀ が 72 に倍に増加していた。また、I38K/N127K 変異を持つウイルスでも 34 倍になっており、耐性には I38K と N127K が重要な役割を果たし、D37G が加わることでさらに耐性が強くなると考えられた。I38K は T-20 に対しても 212 倍という高度な耐性を示しており、I38K が primary mutation であると考えられた。過去に報告されていた T-20 耐性変異 D37S/V39M は弱い耐性(7 倍)しか示さなかった(表 1)。

C34 誘導体の効果

gp41C-末端由来のペプチドは水溶性が悪いことが知られているが、この水溶性を増加させるために塩基性アミノ酸に置換したペプチド SC34 を合成した。このペプチドは C34 と比べ、4 倍活性が増加していた。また C34 耐性 HIV に対しても耐性度が C34 の場合 54 倍であったが、SC34 は 7 倍と交叉耐性度が低下していた。この SC34 をさらに改変し、 α -helix 構造をより安定化する変異を導入したところ活性は C34 と比べ、12 倍増加した(表 2)。交叉耐性も 54 倍から 14 倍と低く抑えることが可能であった。これらの結果から gp41 由来のペプチドのアミノ酸配列を変化させることで活性や耐性のプロファイルを変更させることができることが明らかとなった。

D. 考察

本研究では耐性変異導入から、I38 と N127 アミノ酸が細胞融合阻害ペプチド感受性に重要な働きをしていることが明らかになったが、興味深いことに X 線構造解析の結果から、これらのアミノ酸は阻害ペプチドが結合する部位に存在しておらず、結合面の反対側に位置している。さらに現在、米国で臨床治療研究が進められている T-20 に対する in vitro 耐性変異に関して現在 2 つの報告 (D37V/V39M と L45K) があるが、本研究で得ら

図1 C34 耐性 HIV の誘導と gp120/gp41 領域のアミノ酸配列の変化

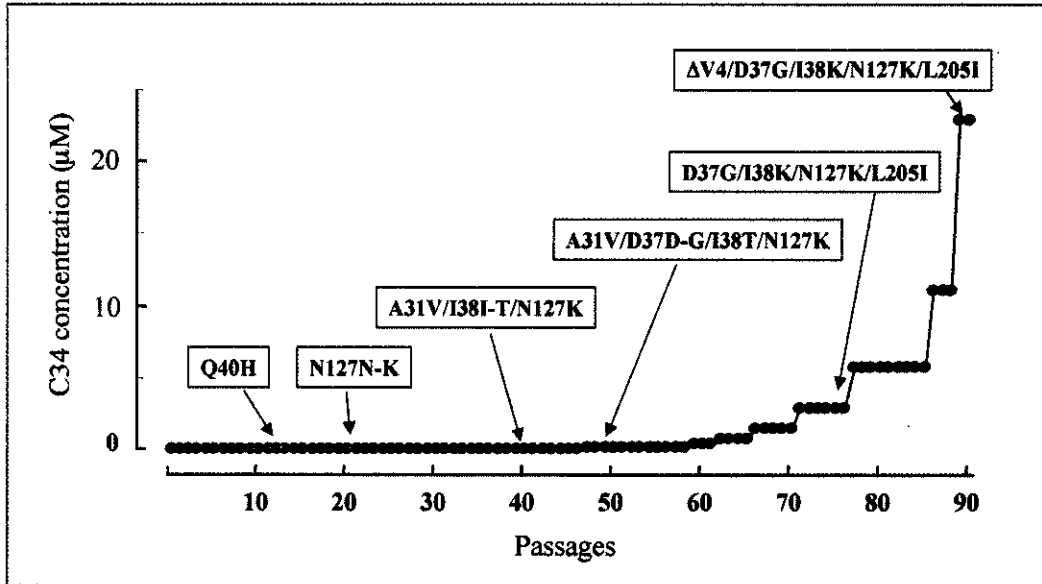


表1 HIV gp41 由来ペプチドの抗ウイルス活性

Virus	Polymorphism	DDC	T-20	N36	C34	
WT (NL101)		0.26	0.012	0.067	0.002	} µM
A31V	(+)	x 0.8	x 0.5	x 0.7	x 3.4	
D37G	(+)	x 0.7	x 0.1	x 1.7	x 0.8	} Fold of resistance
I38T		x 1	x 13	x 0.9	x 13	
I38K		x 1.2	x 212	x 2	x 13	
Q40H	(+)	x 1	x 0.2	x 3.2	x 2	
N127K		x 1	x 2	x 2.7	x 7	
L205I		x 0.9	x 1.1	x 2	x 2	
I38T/N127K		x 1	x 14	x 0.7	x 15	
I38K/N127K		x 1.2	x 185	x 0.9	x 34	
A31V/I38T/N127K		x 1.5	x 17	x 2.3	x 11	
D37G/I38K/N127K		x 1.2	x 23	x 3	x 72	
D37G/I38K/N127K/L205I		x 0.8	x 10	x 1.2	x 54	
D37S/V39M (T-20)		x 1.1	x 5.1	x 0.9	x 7.7	
D37G/I38K/N127K/L205I		x 0.8	x 10	x 1.2	x 54	

Controlとして逆転写酵素阻害剤であるDDCおよびN末端由来ペプチドのN36を用いた。10倍以上の耐性を示したものを太字で示した。

表2 C34 誘導体の抗 HIV 効果



virus	EC ₅₀ (nM)					
	DDC	T-20	C34	SC34	SC34EK	
WT	264	12	2.1	0.49	0.17	} nM
D37S/V39M	x 1.1	x 5.1	x 7.7	x 5.2	x 8.1	} Fold of resistance
D37G/I38K/N127K/L205I	x 0.8	x 10	x 54	x 7	x 14	

Controlとして逆転写酵素阻害剤であるDDCおよびN末端由来ペプチドのN36を用いた。10倍以上の耐性を示したものを太字で示した。

れた結果と同様にこれらの変異も結合面に存在していない。これらの結果から、C34 は decoy として細胞融合を阻害するという当初考えられた仮説は疑わしいといわざるを得ない。つまり、未だ提唱されていない細胞融合機序が存在する可能性がある。今後、この直接結合に関与しないアミノ酸変異の意義について解明を進め、新たな細胞融合機序を提唱したい。これと併せて新規ペプチドのデザインも継続する。本研究成果から水溶性を増加させること、 α -helix 構造を強固にすることによって抗 HIV 活性を増加させることが可能であることが明らかとなった。この結果を有効に利用し、更に有効なペプチドを合成する。

本邦において現在 T-20 による HIV 感染症治療には月額約 200 万円の治療費がかかると推定されている。本研究で得られた SC34EK は T-20 の 70 倍効果があることから、投与量を大幅に減らすことが可能であり、医療費を劇的に低下させることが可能となる。また、耐性を抑えることも可能となり、さらに新規治療標的であることから現在問題となっている RT 阻害剤やプロテアーゼ阻害剤耐性ウイルスに対しても効果を示すものと期待される。

E. 結論

HIV 細胞融合阻害剤の耐性機序の解析から新しい融合機序が存在することを示唆し、耐性を克服するペプチドのデザイン法を確立した。今後、耐性化しにくい薬剤の開発に繋がるものと期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Otaka A, Nakamura M, Nameki D, Kodama E, Matsuoka M, Uchiyama S, Nakamura S, Nakano H, Tamamura H, Kobayashi Y, Matsuoka M, Fujii N. Remodeling of gp41-C34 peptide leads to highly effective inhibitors of the fusion of HIV-1 with target cells. *Angew Chem Int Ed Eng* 41: 2937-2940, 2002.

2. 学会発表

- Kodama E, Ikeuchi M, Matsuoka M, Mitsuya M. Generation of HIV variants resistant to 4'-ethynyl-2'-deoxynucleosides: A role of T165 and M184 in reverse transcriptase (RT) function.

Ninth Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Seattle, WA, 2002.

- Kodama E, Nameki D, Ikeuchi M, Otaka A, Tamamura H, Fujii N, Matsuoka M. Development of a Novel fusion inhibitors, SC34EK: High susceptibility to HIV variants resistant to fusion Inhibitors *in vitro*. Tenth Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Boston, MA, 2003.
- 新規阻害剤 (Fusion and RT Inhibitors) に対する耐性機序
児玉栄一、松岡雅雄、原田恵嘉、満屋裕明 第 5 回白馬シンポジウム 長野 2002 年 7 月 26 日
- 新規感染患者から検出された新たなネビラピン(NVP)耐性変異について
蜂谷敦子、児玉栄一、池内美恵子、松岡佐織、土屋亮人、立川夏夫、安岡彰、満屋裕明、松岡雅雄、木村哲、岡慎一 第 5 回白馬シンポジウム 長野 2002 年 7 月 26 日
- HIV-1 gp41 N 末端由来のペプチド N36 に対する耐性化機序の解明
行木大輔、児玉栄一、松岡雅雄 第 16 回日本エイズ学会学術集会・総会 愛知 2002 年 11 月 28 日-30 日
- 新規感染患者から検出された新たなネビラピン(NVP)耐性変異について
蜂谷敦子、児玉栄一、池内美恵子、松岡佐織、土屋亮人、立川夏夫、安岡彰、満屋裕明、松岡雅雄、木村哲、岡慎一 第 16 回日本エイズ学会学術集会・総会 愛知 2002 年 11 月 28 日-30 日
- HIV fusion inhibitor に対する耐性機序の解明
児玉栄一、行木大輔、池内美恵子、松岡雅雄 第 13 回抗ウイルス化学療法研究会 千葉 2003 年 1 月 27 日-29 日
- 新規感染患者から検出された新たなネビラピン(NVP)耐性変異について
蜂谷敦子、児玉栄一、池内美恵子、松岡佐織、土屋亮人、立川夏夫、安岡彰、満屋裕明、松岡雅雄、木村哲、岡慎一 第 13 回抗ウイルス化学療法研究会 千葉 2003 年 1 月 27 日-29 日

H. 知的所有権

- 特願 2000-137982 発明の名称: 4'-C-エチニルプリンヌクレオチド
- 特願 2002-038078 発明の名称: 4'-C-シアノ-2'-デオキシプリンヌクレオシド
- 特願 2001-297963 発明の名称: 抗 HIV 剤

(治療導入)

治療は3剤以上を用いた併用療法を行う。治療導入後、2ヶ月を終了した時点から月1回、HIV-RNA量を測定し、検出限界以下(50copies/ml)になった時点から1ヶ月以上経過して後に以下のSTIを実施する。

(計画的治療中断)

3週間の治療中断(STI)→4週間治療を1セットとし、原則としてこれを計5回繰り返す。治療再開は原則として治療導入時と同じ組合せで行う。副作用等で、内服継続が困難な場合には、治療薬剤の変更も考慮する。治療再開後3週目でHIV-RNA量の測定を行い、検出限界以下(50copies/ml)となっているのを確認する。検出限界以下になっていない場合、治療期間を延長して1週毎にHIV-RNA量を測定する。検出限界以下となった時点から最低1週間以上は治療を継続する。一回のSTIの期間は一律3週間に固定する。

(観察期間)

STIプロトコルを終了後、治療は完全に中止し、以後1年間の経過観察を行う。

(倫理面への配慮)

急性期患者に対するSTI臨床試験(H13-10)は、国立国際医療センターの倫理委員会の承認を得た。本臨床研究の開始に当たり、すべての患者より文書による同意を得ている。また、すべての研究結果において、個人が特定できるような情報は省いた。

C. 研究結果

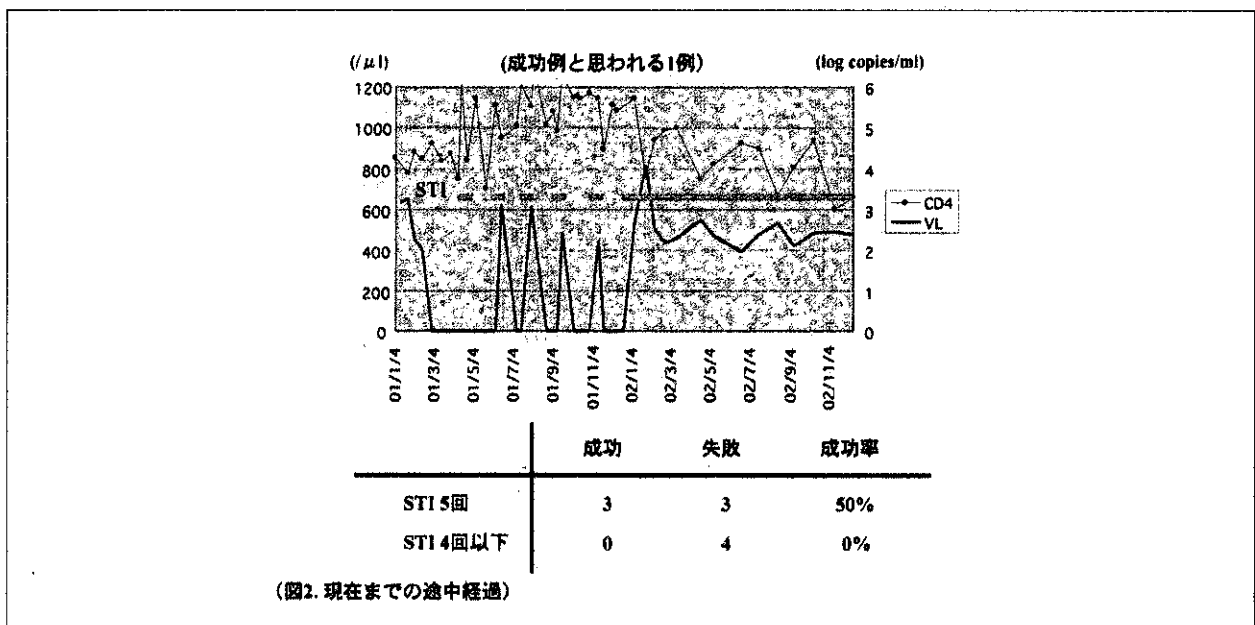
現在までの途中経過を図2に示す。

- 1) 28例中14例がSTIプロトコルを終了し観察期間に入っている。
- 2) STIプロトコル終了後3ヶ月以上経過観察できているのは10例である。ウイルス量が5000copies/mlの低値に抑えられているのを成功と定義すると、STIプロトコル完遂例の成功率は50%であり、中途脱落例では0%であった。成功例のCD4とウイルス量の推移を図2に示した。一部症例においては、STIによるウイルス量の低下に伴いCTLの増加が認められた。
- 3) 6例は副作用等により5回のSTIプロトコルを完遂できなかった。

D. 考察

多剤併用による強力な抗ウイルス治療HAART (highly active anti-retroviral therapy)はHIV患者の予後を劇的に改善させた。しかしながらHAARTでもHIV感染症の治癒がもたらされるわけではなく、一方で長期的内服によるlipodystrophy syndromeやlactic acidosisといった長期毒性の問題が表面化してきており、HAARTの限界も指摘されるようになってきている。ここにきてHIV診療は新たな治療戦略が求められてきており、今回のテーマであるSTIはその回答になりうる一つとして注目を集めている。

STIとは、HAARTを計画的に中止したり再開したりすることで、意図的に小規模なウイルス血症



を起こさせ、自分自身のもつ HIV ウイルスに定期的に暴露させることにより HIV 特異的免疫機構を刺激・活性化してウイルス抑制能を高めようというものである。これまでに急性感染例の STI において有望な成績が報告されている。我々の結果においても 50% の症例で臨床的に有効であり、臨床経過と一致して CTL の上昇がみられていることから今後の経過が期待される。

感染から AIDS への進展まで 10 年ちかくかかる本疾患で、早期に治療を導入することは極めて長期間にわたる内服治療を行うことを意味し患者の QOL を大きく損なう可能性があることと、冒頭に述べた内服による長期毒性が早期治療導入の問題点となっていた。しかし最近、急性感染期に HAART を導入し一度ウイルス量を抑制したあと、STI を行うことで強い HIV 特異的ヘルパー T 細胞機能が誘導され、その後 HAART を中断しても、ウイルスの抑制が維持されたという報告がでてきたことで、感染早期の積極的治療介入が有用である可能性がでてきた。STI を行った後は HAART を中止するため長期内服に関連した問題も解決することになる。

急性期感染者の本試験への参加は、時間的制約から必ずしも十分な服薬指導が行われたケースばかりではない。このため 6 例の脱落例が出ている。今後この点も含め、よりよい STI 療法のプロトコル作成の必要がある。

E. 結論

28 名の急性期 HIV 感染者患者に対し STI 療法を行った。途中経過ではあるが、一部有望な結果が得られつつある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. Fukuda K, Tomiyama H, Wasi C, Matsuda T, Kusagawa S, Sato H, Oka S, Takebe Y, and Takiguchi M. Cytotoxic T cell recognition of HIV-1 cross-clade and clade-specific epitopes in HIV-1-infected Thais and Japanese. *AIDS* 16: 701-711, 2002.
2. Ida S, Tachikawa N, Nakajima A, Daikoku M, Yano M, Kikuchi Y, Yasuoka A, Kimura S, and Oka S. Influence of HIV-1 infection on acute hepatitis A virus infection. *Clin Infect Dis* 34: 379-

385, 2002

3. Oka S, Yasuoka A. Current status of HIV infection in the AIDS Clinical Center. *Intern Med* 41: 58-59, 2002.
4. Fukuda K, Sobao Y, Tomiyama H, Oka S, and Takiguchi M. Functional expression of the chemokine receptor CCR5 on virus epitope-specific memory and effector CD8+ T cells. *J Immunol* 168: 2225-2232, 2002.
5. Kikuchi Y, Genka I, Ishizaki A, Sunagawa K, Yasuoka A, and Oka S. Serious bradyarrhythmia that was possibly induced by lopinavir/ritonavir in 2 patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Clin Infect Dis* 35: 488-490, 2002
6. Yamaguchi T, Hashimoto S, Oka S, Yoshizaki K, Kimura S, Fukutake K, and Shirasaka T. Physical condition and activity of daily living among HIV-infected patients through blood products in Japan. *J Epidemiol* 12: 383-393, 2002.
7. Tsuchiya K, Matsuoka-Aizawa S, Yasuoka A, Kikuchi Y, Tachikawa N, Genka I, Teruya K, Kimura S, and Oka S. Primary nelfinavir (NFV)-associated resistance mutations during a follow-up period of 108 weeks in protease inhibitor naïve patients treated with NFV-containing regimens in an HIV clinic cohort. *J Clin Virol* 2003 (in press)
8. Matsuoka-Aizawa S, Sato H, Hachiya A, Tsuchiya K, Takebe Y, Gatanaga H, Kimura S, and Oka S. Isolation and molecular characterization of a nelfinavir (NFV)-resistant human immunodeficiency virus type 1 that exhibits NFV-dependent enhancement of replication. *J Virol* 77: 318-327, 2003.
9. The HIV Lipodystrophy Case Definition Study Group. An objective case definition of lipodystrophy in HIV-infected adults. *Lancet* 2003 (in press)
10. Yamamoto Y, Teruya K, Katano H, Niino H, Yasuoka A, Kimura S., and Oka S. Rapid progressive human herpes virus 8-associated solid lymphoma in a patient with AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *Leuk Lymphoma* 2003 (in press)
11. Watanabe M, Nishimura K, Kimura S, and Oka S. A discriminative study of health-related quality of life assessment in HIV-1 infected persons living in Japan using the Multidimensional Quality of Life Questionnaire for Persons with HIV/AIDS. *Int J STD AIDS* 2003 (in press)

H. 知的財産の出願・登録状況

特になし

7

治療ガイドラインの作成

分担研究者：太田康男（東京大学医学部附属病院・助手）

研究協力者：森澤雄司¹、中村哲也²（¹東京大学医学部附属病院・助手、²東京大学医科学研究所・助教授）

研究要旨

平成 12 年度より、「HIV 感染症の治療に関する研究」班（岡慎一班長）において「抗 HIV 治療ガイドライン」の作成に携わってきた。平成 12 年度の研究事業として、「抗 HIV 治療ガイドライン」（2001 年 3 月版）を、平成 13 年度の研究事業として「抗 HIV 治療ガイドライン」（2002 年 3 月版）作成し、全国 500 ヶ所以上のエイズ診療拠点病院や国や都道府県、市区などの感染症（エイズ）対策部門に送付した。

HIV 感染症の治療は、急速に変遷を遂げていることから、HIV 感染症の治療に関する最新情報を提供するため、平成 14 年度においても「抗 HIV 治療ガイドライン」の改定を行った。これは、2002 年 3 月版を基にし、平成 14 年度中に新たに公表された国内外の主要論文、重要な学会発表などの多くを検討し、エビデンスを集積するとともに、国内の多くのエイズ診療専門家の意見を参考にし、分担研究者および研究協力者間で調整の上、最新の情報を織り込んで改定を行った。また今年度は、抗 HIV 治療情報の多くを欧米のガイドラインに依存するものの、我が国の独自性を最大限盛り込んだガイドラインを作成した。2003 年 3 月版として、2003 年 3 月末頃に、本年度も全国のエイズ拠点病院や国や都道府県、市区などの感染症（エイズ）対策部門に送付予定である。

A 研究目的

我が国における HIV 診療の裾野を広げ、かつ HIV 感染症の治療法の向上を行っていくためには、HIV 感染症の治療に関する情報をわかりやすい形で、全国の診療従事者や国や都道府県、市区などの感染症（エイズ）担当者に提供していく必要があると考えられる。平成 10 年度より厚生科学研究費補助金（エイズ研究事業）により、「抗 HIV ガイドライン」が東京大学岩本教授を中心に作成され、全国のエイズ診療従事者や行政部門の感染症（エイズ）対策職員等に対し、HIV 感染症の最新の治療情報を提供し、わが国における HIV 感染症の治療の向上に重要な役割を果たしてきた。平成 12 年度より、「HIV 感染症の治療に関する研究」班（岡慎一班長）がこの研究事業を引き継ぎ、分担研究者を中心に、平成 12 年度の研究事業とし

て、「抗 HIV 治療ガイドライン」（2001 年 3 月版）を作成した。また平成 13 年度の研究事業として「抗 HIV 治療ガイドライン」（2002 年 3 月版）を分担研究者の中村（東大）らと作成し、全国のエイズ診療拠点病院や国や都道府県、市区などの感染症（エイズ）対策部門に送付した。本ガイドラインは、特に行政部門の感染症（エイズ）対策職員などから大きな反響が寄せられた。

HIV 感染症の治療は、めまぐるしい速さで変遷を遂げていることから、常に最新情報を提供していく必要があり、平成 14 年度の研究事業として、「抗 HIV 治療ガイドライン」（2002 年 3 月版）を基に、平成 14 年度中に新たに公表された国内外の HIV 感染症の主として治療に関するエビデンスを加え、最新版のガイドラインへの改定を試みた。

B 研究方法

「抗 HIV 治療ガイドライン」(2002年3月版)を基に、平成14年度中に新たに公表された国内外の主要論文、重要な学会発表などの多くを検討し、エビデンスを集積した。同時に、国内の多くのエイズ診療専門家の意見を参考にし、改定すべき項目について検討を加えた。その結果、1 慢性感染者の治療開始時期、2 医療従事者における HIV の曝露、3 薬剤情報(副作用ならびに薬剤相互作用など)の充実、4 抗 HIV 薬の選択の実際、5 免疫再構築症候群の5項目が重点改定項目となった。項目4、5に関しては、「HIV 感染症の治療に関する研究」班(岡慎一班長)の分担研究者である中村(東大)が中心に担当することになり、主として項目1、2、3を中心に改定作業を行った。2に関しては、研究協力者の森澤が主として担当した。分担研究者および研究協力者間で調整を加え、最新の情報を織り込んで最新版の作成を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、国内外の学会発表、論文、ガイドライン等を基に、エビデンスを集積して行われる研究のため、倫理面への配慮は特に必要ないと考えられる。

C 研究結果 および D 考察

1 ガイドライン編集方針

「抗 HIV 治療ガイドライン」は、わが国におけ

る HIV 感染症の診療の向上への寄与を目的として、主として全国のエイズ診療拠点病院ならびに行政官庁の感染症(エイズ)対策部門に送付を行ってきた。従って、ガイドラインの使用者には、エイズ診療の専門家も対象としているが、多くはエイズ診療の専門家でない医療従事者や行政部門の担当職員である。従って、ガイドラインの作成にあたっては、最新の HIV 感染症の診療情報をなるべくわかりやすい形で提供することを心がけた。このため平成12年度から、各項目ごとに要約を設け、内容に関し明確な形で伝えることを行った。さらに本年度は、図表を前年度よりもさらに充実した。また本年度は抗 HIV ガイドラインをカラー印刷にて作成中であり、HIV 感染症患者の診療に際し、いつでも手元において活用できることを目標として編集を行った。

2 慢性感染者の治療開始時期(表1)

2001年に CD4 陽性 T リンパ球数が治療開始時期を決定する主要な因子であるとの研究が報告された。CD4 陽性 T リンパ球数が 200/ μ l 以下で治療を開始する場合とそうでない場合とを比較すると、CD4 陽性 T リンパ球数が 200/ μ l 以下で開始された場合、死亡率の有意な増加が認められた。従ってこの報告を基に考えれば、CD4 陽性 T リンパ球数が 200/ μ l 以下の場合には治療が必要であり、また CD4 陽性 T リンパ球数が 200/ μ l 以下になる前に治療を開始した方が良いという結論になる。しかし

表1 抗 HIV 療法の開始時期の目安

(治療開始が強く推奨される場合)

- 1 HIV に伴う症状が認められる場合
- 2 無症状の場合は、CD4 陽性 T リンパ球数が 200/ μ l 未満

(治療開始が考慮される場合)

- 1 CD4 陽性 T リンパ球数が 350/ml 以下の場合
- 2 血漿中 HIV RNA 量が RT-PCR 法で 55,000 コピー/ml 以上の場合
ただし、
 - ① CD4 陽性 T リンパ球数およびその変動
 - ② 血漿中 HIV RNA 量およびその変動
 - ③ 患者の希望ならびにアドヒアランス
 - ④ 治療薬の副作用ならびに相互作用
 などを考慮して治療開始すべきかどうか個別に考慮することが望ましい。

ながら、CD4 陽性 T リンパ球数が 200/μl を越える場合、いつから治療を開始すべきかという明確な臨床研究がないのが現状である。

これらをふまえ、本ガイドラインでは従来のガイドラインと同様、最新の米国 DHHS のガイドライン、および 2002 年 7 月に公表された International AIDS Society-USA Panel の提言を参考にして、治療の開始基準を決定した。HIV 感染症に関連した症状のある場合は治療を開始すべきである。また無症状の場合は CD4 陽性 T リンパ球数が 200/μl 以下の場合、治療を強く推奨すると提言させていただいた。CD4 陽性 T リンパ球数が 350/μl 以下の場合あるいは血漿中 HIV RNA 量が RT-PCR 法で 55,000 コピー/ml 以上の場合には治療開始が考慮されるが、その場合① CD4 陽性 T リンパ球数およびその変動、② 血漿中 HIV RNA 量およびその変動、③ 患者の希望ならびにアドヒアランス、④ 治療薬の副作用ならびに相互作用などを考慮して治療開始すべきかどうか個別に考慮することが望ましいと提言させていただいた。

3 医療従事者における HIV の曝露

本邦では 2002 年 12 月の時点で HIV 職業感染の報告例はないが、HIV 感染患者数は増加を続けており、今後も感染事例が起こる前に対策を立て

ておくことが極めて重要である。米国・疾病管理予防センター (CDC: Centers for Disease Control and Prevention) が 2001 年にガイドラインを改訂しており、これを受けて最新の情報に改定を行った。要約すれば、

医療機関に独自の医療従事者の職業上曝露 (針刺し・切創) 対策マニュアルを作成して、その実施も含めて、すべての職員に周知徹底する。

血液媒介病原体による職業感染対策の最も重要な方法は血液・体液曝露予防である。

HIV 職業感染のリスクが認められる場合は、曝露後に抗レトロウイルス薬剤の服薬を開始して、4 週間の予防内服を継続することが推奨される。(表 2)

予防投与をすべきかどうかについては最終的に被曝露者が判断すべきであるが、専門医によるカウンセリングと効果と副作用に関する十分な情報提供が確保されていなければならない。

抗レトロウイルス剤耐性 HIV による曝露後予防は専門医による事例に個別の判断が必要である。の 5 点に集約される。

4 薬剤情報の充実 (表 3、4)

強力な抗 HIV 治療薬の出現により、現時点では多くの症例で、HIV の増幅を抑制することが可能となったが、ひとたび抗 HIV 治療薬を服用し始め

表 2 HIV 曝露後予防内服

HIV 曝露後予防の標準的レジメン

レトロビル[®] (ZDV) 200 mg 経口 1 日 2 回 (4 カプセル、分 2)
+ エピビル[®] (3TC) 150 mg 経口 1 日 2 回 (2 錠、分 2)
+ ビラセプト[®] (NFV) 1000 mg 経口 1 日 2 回 (10 カプセル、分 2)
または 750 mg 経口 1 日 3 回 (9 カプセル、分 3)

米国 CDC による HIV 曝露後予防 (文献 4. より一部抜粋)

標準レジメン

レトロビル[®] (ZDV) 200 mg 経口 1 日 2 回 (4 カプセル、分 2)
+ エピビル[®] (3TC) 150 mg 経口 1 日 2 回 (2 錠、分 2)

標準レジメンの代替選択肢

ゼリット[®] (d4T) 40 mg 経口 1 日 2 回 (4 カプセル、分 2)
+ エピビル[®] (3TC) 150 mg 経口 1 日 2 回 (2 錠、分 2) ;
ゼリット[®] (d4T) 40 mg 経口 1 日 2 回 (4 カプセル、分 2)
+ ヴァイデックス EC[®] (ddI) 400 mg 経口 1 日 1 回

拡大レジメン

上記の標準レジメンに加えて以下のいずれかを追加
ビラセプト[®] (NFV) 1000 mg 経口 1 日 2 回 (10 カプセル、分 2)
または 750 mg 経口 1 日 3 回 (9 カプセル、分 3) ;
ストックリン[®] (EFV) 600 mg 経口 1 日 1 回 眠前 (3 カプセル、分 1)

ると、長期間（通常は一生）服用せねばならない。そのため、最近2－3年は、抗HIV治療薬の有効性よりも、副作用や薬剤相互作用といった側面が特に重視されてきている。従ってどのような治療薬を用いて有効に治療を行うかという情報を提供することはもちろんであるが、同時に副作用や（抗HIV治療薬はP450を代謝経路として主に使用するため、薬剤相互作用のある薬剤が多く）、薬剤相互作用に関して十分に情報を提供することはきわめて重要である。この見地から、HIV感染症診療においていつでも活用できることを目標として、わかりやすい図表の形で治療薬の副作用、相互作用などに関して昨年度と同様に提示を行った。さらにこの目的のため、今年度は副作用等の薬剤情報欄に、抗HIV治療薬の写真を合わせて提示する予定としている。

E 結論(まとめ)

抗HIV治療ガイドラインを最新のものに改定した。今年度は特に、1 慢性感染者の治療開始時期、2 医療従事者におけるHIVの曝露、3 薬剤情報（副作用ならびに薬剤相互作用など）の充実、4 抗HIV薬の選択の実際、5 免疫再構築症候群の5項目を重点的に改定した。ガイドラインをさらに身近なものにするため、多くの読者にわかりやすいように十分な配慮を行った。また今年度は特に我が国独自のデータも随所に盛り込んだガイドラインの作成に心がけた。2003年3月版ガイドラインは、2003年3月末頃に送付予定である。

F 研究危険情報

なし

G 研究発表

1. 太田康男、抗HIV治療ガイドライン（厚生労働省研究班）、日本臨床（新世紀の感染症学）、2002、61：670－677.

H 知的財産権の出願・登録情報

特許取得

なし

実用新案登録

なし

その他

なし

表3

ヌクレオシド系逆転写酵素阻害薬 NRTI

一般名(略号)	商品名	規格	用法・用量	備考
ジドブジン (AZT, ZDV) 	レトロビル	100mgカプセル	400-600mg 分2	食事に関係なく内服可
ラミブジン (3TC) 	エピビル	150mg錠	300mg 分2	食事に関係なく内服可
スタブジン (d4T) 	ゼリット	15mgカプセル 20mgカプセル	体重60kg以上80mg 分2 体重60kg未満60mg 分2	食事に関係なく内服可
ジダノシン (ddI) 	ヴァイデックスEC	125mgカプセル 200mgカプセル	体重60kg以上400mg 分1 体重60kg未満 250mg分1	食間に内服 (EC錠発売後は、 通常のヴァイデックス 錠を選択する理由は ほとんどない)
	ヴァイデックス	25mg錠 50mg錠 100mg錠	250-400mg分2	
ザルシタピン (ddC)	ハイビッド	0.375mg錠	2.25mg 分3 (8時間毎)	食事に関係なく内服可
アバカビル (ABC) 	ザイアジェン	300mg錠	600mg 分2	食事に関係なく内服可
ジドブジン/ ラミブジン合剤 (AZT/3TC) 	コンビビル	1錠中に ジドブジン300mg ラミブジン150mg を含む	2錠 分2	食事に関係なく内服可

表4 プロテアーゼ阻害薬と併用禁忌とされている薬剤

一般名（略号）	併用禁忌薬
サキナビル（SQV）	テルフェナジン、アステミゾール、シサプリド、ピモジド、リファンピシン、ミダゾラム、トリアゾラム
リトナビル（RTV）	キニジン、ベプリジル、ジアゼパム、クロラゼブ酸二カリウム、エスタゾラム、フルラゼパム
インジナビル（IDV）	テルフェナジン、アステミゾール、シサプリド、トリアゾラム、ミダゾラム、アルプラゾラム、ピモジド、リファンピシン
ネルフィナビル（NFV）	テルフェナジン、アステミゾール、シサプリド、トリアゾラム、ミダゾラム、アルプラゾラム、ピモジド、バッカク誘導体、アミオダロン、硫酸キニジン、リファンピシン
アンブレナビル（APV）	テルフェナジン、アステミゾール、ベプリジル、シサプリド、ジヒドロエルゴタミン、エルゴタミン、ミダゾラム、トリアゾラム、ピモジド、リファンピシン
ロピナビル／リトナビル合剤（LPV/r）	酢酸フレカイニド、塩酸プロパフェノン、ピモジド、アステミゾール、テルフェナジン、シサプリド、酒石酸エルゴタミン、メシル酸ジヒドロエルゴタミン、ミダゾラム、トリアゾラム

8

治療の有効性の評価法の開発に関わる臨床研究

分担研究者：滝口雅文（熊本大学エイズ学研究センター・ウイルス制御分野・教授）

研究協力者：富山宏子¹、岡 慎一²（¹熊本大学エイズ学研究センター・ウイルス制御分野・助手、²国立国際医療センターエイズ治療・研究開発センター・部長）

研究要旨

20種類のHIV-1 CTLエピトープと6種類のHLAクラスI抗原を用いて、20種類のHLAクラスIテトラマーを作製した。これらのテトラマーを用いて、無治療患者23名のHIV-1特異的CD8T細胞を測定したところ、平均2.04エピトープに対して、1.35%のHIV-1特異的CD8T細胞が検出できた。これらのHIV-1特異的CD8T細胞上のマーカーを調べたところ、CD27^{low}CD28⁺CD45RA⁺のフェノタイプを優位にもっており、きわめて特異的なmemory/effector細胞が増加している事が明らかになった。

A. 研究目的

現在行われているHAART療法では、HIV-1に対する細胞性免疫能は改善しておらず、HAART耐性ウイルスが生じるとこれを完全には排除できないと考えられている。そこで、HAART療法はもとより、今後おこなわれると考える様々な治療法によって、患者の細胞性免疫能の改善を正確にかつ安易に評価するシステムの開発が必須である。しかし最も重要な細胞性免疫の一つである細胞傷害性T細胞（CTL）は、⁵¹Crで標識した標的細胞の傷害を調べる機能的なアッセイによって測定するために、アイソトープが使える施設でしか調べることができない。さらに機能的なアッセイであり、また材料が標準化されていないために、必ずしも信頼度が高い、安定したデータが得られるわけでもない。そこで、エピトープペプチドとHLAクラスI分子複合体を4つ結合させたテトラマーを用いて、抗原特異的CD8T細胞（CTL）をフローサイトメトリーで解析することにより、大量のサンプルを安定的に、正確に測定することを試みた。本研究では、約20種類のテトラマーを作

製し、これを用いて患者末梢血中のHIV-1特異的CD8T細胞の数を測定およびその性質の解析をおこない、細胞性免疫能の評価を試みた。

B. 研究方法

20種類のHIV-1 epitopeと6種類のHLAクラスI分子を用いて、20種類のHLAクラスI tetramerを作製した。

作製したtetramerは、それぞれ特異的なCTLクローンあるいはCTL細胞株を用いて、その特異性を確認した。患者の末梢血単核球（PBMC）を、抗CD8抗体とtetramerで染色してHIV-1特異的CD8T細胞の数をflowcytometryで測定した。また、抗CD28、CD27、CD45RA抗体を用いてHIV-1特異的CD8T細胞の性質を調べた。

（倫理面への配慮）

患者の血液の使用については、インフォームドコンセントをおこない書面にて承諾を得た。さらに、国立国際医療センターの倫理委員会での承認を得た。

C. 研究結果

20種類の HIV-1 エピトープおよび6種類の HLA クラス I 分子を用いたテトラマーを作製し (図1)、その特異性をそれぞれのエピトープに特異的な CTL クローンあるいは細胞株を用いて測定し、テトラマーの特異性を確認した。

これらのテトラマーを用いて、無治療患者23名の HIV-1 特異的 CD8T 細胞を測定したところ、平均2.04 エピトープに対して、1.35%の HIV-1 特異的 CD8 T 細胞が検出できた (表1)。これらの

HIV-1 特異的 CD8T 細胞上のマーカーを調べたところ、 $CD27^{low}CD28^{-}CD45RA^{-}$ のフェノタイプを持った細胞が優位であり、特定の memory/effector 細胞が増加している事が明らかになった (図2)。これは、サイトメガロウイルス特異的 CD8 T 細胞が、4つの effector 及び memory/effector 分画 ($CD27^{-}CD28^{-}CD45RA^{-}$, $CD27^{low}CD28^{-}CD45RA^{-}$, $CD27^{low}CD28^{-}CD45RA^{+}$, $CD27^{low}CD28^{+}CD45RA^{+}$) 全てに見られることと比べて、特徴的であった (図3)。

表1. HIV-1 慢性感染者における HIV-1 特異的および総 CD8T 細胞上の CD28, CD45RA 抗原の発現

Subjects	Cells	n	Percentage of each fraction			
			CD28 ⁺ CD45RA ⁺	CD28 ⁺ CD45RA ⁻	CD28 ⁻ CD45RA ⁻	CD28 ⁻ CD45RA ⁺
healthy control	total CD8 ⁺	7	25.8 ± 9.4	27.9 ± 5.6	12.6 ± 4.9	33.4 ± 8.9
HIV-1 seropositive	total CD8 ⁺	10	11.7 ± 9.7	15.1 ± 6.9	37.6 ± 15.7	35.8 ± 15.0
HIV-1 seropositive	tetramer CD8 ⁺	10	7.6 ± 4.8	14.1 ± 11.2	47.4 ± 18.8	30.9 ± 18.8

表2. 無治療 HIV-1 感染者の HIV-1 特異的 CD8T 細胞の数

感染患者数	エピトープの数	平均エピトープの数	HIV-1 特異的 CD8T 細胞数 (総 CD8T 細胞中)	平均 HIV-1 CD8T 細胞数
23	0~4	2.04	0~6.58%	1.35%

図1 作製した HIV-1 テトラマー

HLA-A*0201, -A*0206	
P13 : Gag77-95	
P19 : Pol476-484	
HLA-A*1101	
M79 : Pol313-321	M93 : Env202-210
M54 : Pol894-903	M157 : Nef84-92
M181 : Gag349-359	
HLA-A*2402	
D15 : Env679-687	D17 : Env594-592
G130 : Nef138-147	G169 : Gag28-36
HLA-B*3501	
B4 : Pol773-282	B6 : Nef75-85
C10 : Pol587-595	C18 : Env77-85
HLA-B*5101	
J18 : Pol283-290	
C12 : Pol743-751	
HLA-A*3303	
C110 : Pol549-557	
C104 : Gag144-152	
T48 : Env830-837	

図2. HIV-1 特異的 CD8T 細胞の phenotype patient KI-108: HLA-A*2402/-, B*5201/-

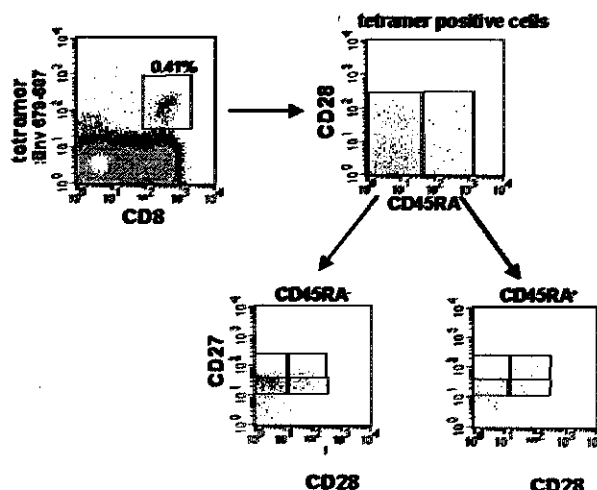


図3. HIV-1 特異的CD8T細胞およびHCMV特異的CD8T細胞のフェノタイプ解析

subsets	percentage of each CD27 ^{hi} CD28 ^{hi} CD45RA ⁺ subset in total CD8 ⁺ T cells from healthy individuals (n=6)	percentage of each CD27 ^{hi} CD28 ^{hi} CD45RA ⁺ subset in HCMV-specific CD8 ⁺ T cells from healthy individuals (n=6)	percentage of each CD27 ^{hi} CD28 ^{hi} CD45RA ⁺ subset in total CD8 ⁺ T cells from HIV-1 ⁺ individuals (n=4)	percentage of each CD27 ^{hi} CD28 ^{hi} CD45RA ⁺ subset in HIV-1 specific CD8 ⁺ T cells from HIV-1 ⁺ individuals (tet ⁺ ; n=7)
CD27 ^{hi} CD28 ^{hi} CD45RA ⁺	32.3 ± 17.0	0.6 ± 0.4	6.9 ± 7.3	0.8 ± 1.3
CD27 ^{low} CD28 ^{hi} CD45RA ⁺	2.0 ± 2.6	0.3 ± 0.3	1.3 ± 1.6	2.0 ± 2.2
CD27 ^{hi} CD28 ^{lo} CD45RA ⁺	1.3 ± 1.2	0.3 ± 0.6	3.1 ± 2.6	0.0 ± 0.0
CD27 ^{low} CD28 ^{lo} CD45RA ⁺	2.5 ± 2.0	7.3 ± 6.7	4.9 ± 3.0	7.0 ± 5.6
CD27 ^{lo} CD28 ^{hi} CD45RA ⁺	20.2 ± 14.3	21.0 ± 13.8	19.0 ± 2.0	2.3 ± 2.0
CD27 ^{hi} CD28 ^{hi} CD45RA ⁻	5.6 ± 3.0	1.7 ± 1.4	2.9 ± 1.8	1.6 ± 2.0
CD27 ^{low} CD28 ^{hi} CD45RA ⁻	9.4 ± 6.2	9.6 ± 11.4	8.5 ± 7.5	13.6 ± 9.5
CD27 ^{hi} CD28 ^{lo} CD45RA ⁻	0.8 ± 0.5	0.7 ± 0.7	5.0 ± 5.8	9.6 ± 9.5
CD27 ^{low} CD28 ^{lo} CD45RA ⁻	2.1 ± 0.5	18.6 ± 14.7	20.2 ± 10.8	43.7 ± 8.5
CD27 ^{lo} CD28 ^{lo} CD45RA ⁻	12.6 ± 11.5	29.0 ± 15.0	19.7 ± 9.4	9.3 ± 2.9

D. 考察

20 種類以上のテトラマーを同時に用いて測定する事が可能となり、約 50% の HIV-1 特異的 CD8T 細胞の測定が可能となった。しかし、最大 6% を超える患者もいたが、中には HIV-1 特異的 CD8T 細胞が全く検出できなかった患者も少数ながらいる事から、さらにエピトープ数を増やしていく必要もあると考えられた。特に欧米人でよく見られるエピトープを用いて作製した HLA-A2 のテトラマーでは、HIV-1 特異的 CD8T 細胞を検出することが難しく、日本人対象の患者では新たにエピトープの再評価が必要であると考えられる。

未治療の HIV-1 感染者での HIV-1 特異的 CD8T 細胞は平均 1.35% で、血友病患者である慢性 HIV-1 感染者での以前の我々の解析結果と比べて、50% 以下の結果である。これらの血友病患者は長期予後良好な患者も多く、そのため HIV-1 特異的 CD8T 細胞数が多いことも予想される。一方、今回解析に使った未治療患者では、感染後 6 ヶ月以内の患者も含まれおり、このような患者では HIV-1 特異的 CD8T 細胞数がそれほど多くないのかもしれない。

5-color flowcytometry analysis を用いた HIV-1 特異的 CD8T 細胞のフェノタイプ解析で、CD27^{low}CD28^{hi}CD45RA⁺ 分画の特徴的な増加が見られた。我々は、以前に CD27^{low}CD28^{hi}CD45RA⁺ 分画の特徴的な増加が、HIV-1 特異的 CD8T 細胞に見られることを報告した(AIDS 14::2049-2051,2000) が、今回この増加している CD8T 細胞が、CD27 の

発現が低い CD27^{low}CD28^{hi}CD45RA⁺ 分画であることが明らかになった。このことは、4-color での解析による間接的な実験により他の研究者によって報告されているが、今回我々は 5-color での解析で直接証明できた。この分画が増大する機序やエイズ発症との関係は大変興味深い。

今回作製したテトラマーを用いて、計画的 HAART 中断療法 (STI) での HIV-1 特異的 CD8T 細胞の解析をおこなっており、STI 療法有効患者と無効患者でのどのような差が出るか、興味深い。

E. 結論

20 種類の HIV-1 特異的エピトープを用いてテトラマーを作製し、HIV-1 感染者での細胞傷害性 T 細胞を測定する方法を確立した。さらにこれを用いる事により、治療による HIV-1 特異的 CD8T 細胞の量的および質的変動を調べる事が可能となった。さらに多染色解析により、HIV-1 特異的 CD8T 細胞では CD27^{low}CD28^{hi}CD45RA⁺ 分画の特徴的な増加が見られることを、明らかにした。

G. 研究発表

① 論文発表

- Hossain MS., Tomiyama H., Inagawa T., Ida S., Oka S., and Takiguchi M. Identification and characterization of HLA-A*3303-restricted, HIV-1 Pol-and Gag-derived cytotoxic T cell epitopes. AIDS Res. Huma. Retroviruses. in press.
- Ueno T., Tomiyama H., Takiguchi M. Single T cell receptor-mediated recognition of an identical HIV-derived peptide presented by multiple HLA

- class I molecules. *J. Immunol.* 169; 4961-4969, 2002.
3. Tomiyama H., Akari H., Adachi A., and Takiguchi M. Different effects of Nef-mediated HLA class I down-regulation on HIV-1-specific CD8⁺ T cell cytokine activity and cytokine production. *J. Virol.* 76; 7535-7543, 2002.
 4. Tomiyama H., Matsuda T., and Takiguchi M. Differentiation of human CD8⁺ T cells from a memory to memory/effector phenotype. *J. Immunol.* 168; 5538-5550, 2002.
 5. Fukada K., Sobao Y., Tomiyama H., Oka S., Takiguchi M. Functional expression of the chemokine receptor CCR5 on virus epitope-specific memory and effector CD8⁺ T cells. *J. Immunol.* 168; 2225-2232, 2002.
 6. Fukada K., Tomiyama H., Chantapong W., Matsuda T., Kusagawa S., Sato H., Oka S., Takebe T., Takiguchi M. Cytotoxic T cell recognition of HIV-1 cross-clade and clade-specific epitopes in HIV-1-infected Thais and Japanese. *AIDS.* 16; 701-711, 2002.
- ② 学会発表
1. Ueno T., Tomiyama H., Takiguchi M. A single T cell receptor-mediated recognition of an identical peptide in the context of multiple HLA molecules. XIII International Congress of Histocompatibility & Immunogenetics (Seattle, Washington, USA) May 18-22 (2002).
 2. Tomiyama H., Akari H., Adachi A., Takiguchi M. Different effects of Nef-mediated HLA-class I down-regulation on HIV-1-specific CD8⁺ T cell cytolytic activity and cytokine production. XIV International AIDS Conference (Barcelona, Spain) July 7-12, 2002.
 3. Fukada K., Sato H., Oka S., Takebe Y., and Takiguchi M. Cytotoxic T cell recognition of HIV-1 cross-clade and clade-specific Epitopes in HIV-1-infected Thais and Japanese. XIV International AIDS Conference (Barcelona, Spain) July 7-12, 2002.
 4. 滝口雅文 (2002) HIV-1 の CD8 T 細胞からの逃避機序の解析. 第 5 回白馬シンポジウム最新エイズ研究 2002、白馬、平成 14 年 7 月 26 日
 5. 藤原守、富山宏子、滝口雅文 (2002) 抗原刺激による HIV-1 特異的 CTL クローンの各種サイトカイン産生能の差異. 第 5 回白馬シンポジウム最新エイズ研究 2002、白馬、平成 14 年 7 月 26 日
 6. 滝口雅文 (2002) HLA テトラマーによる抗原特異的 CD8 T 細胞の解析. 第 11 回日本組織適合性学会大会、埼玉、平成 14 年 9 月 23 日～25 日
 7. 上野貴将、富山宏子、藤原守、滝口雅文 (2002) HIV による免疫逃避機構の新たな可能性. 第 50 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、平成 14 年 10 月 16 日～18 日
 8. 滝口雅文 (2002) HIV-1 特異的 CD8 T 細胞からの HIV-1 逃避機序. 第 16 回日本エイズ学会、名古屋、平成 14 年 11 月 28 日～30 日
 9. 富山宏子、松田智子、滝口雅文 (2002) ウイルス抗原特異的 CD8 T 細胞の分化：メモリー細胞からターミナルエフェクターへの分化経路の解析. 第 32 回日本免疫学会総会、東京、平成 14 年 12 月 4 日～6 日
 10. 藤原守、富山宏子、滝口雅文 (2002) TCR からのシグナルを介した HIV-1 特異的 CTL clone の各種サイトカインの産性能の差異. 第 32 回日本免疫学会総会、東京、平成 14 年 12 月 4 日～6 日
 11. 上野貴将、富山宏子、藤原守、滝口雅文 (2002) HLA テトラマーに高親和性を示す HIV 特異的 CTL クローンの解析. 第 32 回日本免疫学会総会、東京、平成 14 年 12 月 4 日～6 日
 12. 上野貴将、滝口雅文 (2002) エピトープペプチド・HLA 四量体 (HLA テトラマー) を用いた HIV 特異的 T 細胞の解析. 第 25 回日本分子生物学会年会、横浜、平成 14 年 12 月 11 日～14 日
- H. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

9

治療ガイドラインの作成

(1) 抗 HIV 薬選択の実際

(2) 免疫再構築症候群について

分担研究者：中村哲也（東京大学医科学研究所附属病院 感染免疫内科、助教授）

研究要旨

(1) これまでのガイドラインでは、抗 HIV 薬を選ぶ際の選択肢が多すぎて経験の浅い医師には意志決定しづらい内容であった。そこで今年度は、本研究班の HIV 診療の専門医の意見を集約した章を設け、個々の症例で薬剤を選ぶ際の具体的な判断材料を提供した。専門医が重視することは 2 点あり、1 つは抗 HIV 薬の錠剤数と内服方法の点から服薬しやすい組み合わせを選ぶことであった。またもう 1 つは、治療前のウイルス量が高い症例では、十分な抗ウイルス活性を持つ薬剤を選択することであった。(2) また抗 HIV 療法を続行を妨げる免疫再構築症候群についても新たな章を設けた。非定型抗酸菌症、結核、カリニ肺炎、サイトメガロウイルス網膜炎を有した患者では、抗 HIV 療法開始後早期に免疫再構築症候群を呈することが少なくない。抗 HIV 療法を続行するためには、免疫再構築症候群の診断を的確に行い、その重症度に応じて場合によっては副腎皮質ホルモンを併用しながら抗 HIV 療法を行う必要性を示した。

A. 研究目的

これまで、本研究班班員 太田康男と協同で、本邦における抗 HIV 療法のガイドラインを作成してきた。昨年度までのガイドラインでは、推奨される抗 HIV 薬の組み合わせが 30 通りあり、HIV 診療の経験の浅い医師にとって実際の薬剤選択が難しい内容となっていた。そこで、平成 14 年度は、HIV 診療の経験の豊かな医師たちの意見を取り入れ、薬剤選択の判断を容易にさせる材料を提供することを目指した。また、抗 HIV 療法を開始した後に発症する免疫再構築症候群は、抗 HIV 療法の続行に大きな支障となる。そこで、これについても新たな章を設け情報提供した。

B. 研究方法

実際の臨床の現場で専門医がどのようにして抗 HIV 薬を選択するかについて、本研究班に属する HIV 診療の専門医たちの意見を集約した。また、日本における抗 HIV 薬の使用状況と副作用について、HIV 感染症治療薬共同使用成績調査 五年次報告書（HRD 共同調査協議会）の内容を引用した。免疫再構築症候群については、自験例および文献的考察を行った。

C. 研究結果

(1) 抗 HIV 薬選択の実際

平成 13 年度の HRD の調査では、本邦で頻用される抗 HIV 薬の組み合わせの上位 3 つは d4T+3TC+NFV、d4T+3TC+EFV、AZT+3TC+NFV であった。抗 HIV 薬を選択するにあたり各症例ごとに考慮すべきことは、以下の 2 点と考えられた。

1) 服薬率

服薬率が抗 HIV 療法の成績を左右することが複数の報告で明らかになっており、いかに内服を継続しやすい組み合わせを選択するかが重要なポイントである。Bartlettらは、各種組み合わせの抗 HIV 療法についてのメタ解析を行ったところ、その長期成績にもっとも影響が強かったのは内服する錠剤・カプセルの数であったと報告している。したがって、可能であれば錠剤数の少ない組み合わせを選択し、良好な服薬率を維持することが必要である。また、各組あわせに特徴的な副作用があり、予想される副作用についてあらかじめ患者に十分説明を行っておくことも服薬率の維持に重要である。

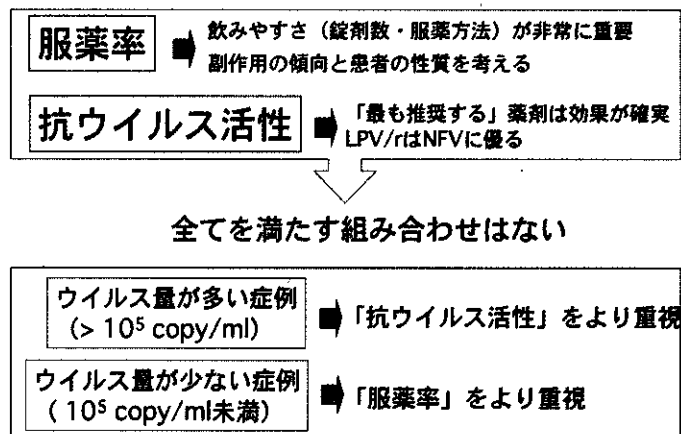
2) 抗ウイルス効果

末梢血中の HIV RNA 量が高値 (10^5 copy/ml 以上) の症例では、抗ウイルス効果の高い薬剤の組み合わせを選択しないと薬剤耐性を生じ治療に失敗する可能性がある。このような症例では、確実な抗ウイルス効果が証明されている薬剤を選択することが必要である。DHHS のガイドラインで「も

国際臨床試験に参加する上での問題点

1. 言語 (書類の日本語訳)
2. 契約 (患者報酬など金銭を伴う契約の締結)
3. 薬剤師、治験コーディネーターなどの治験のためのスタッフ

薬剤選択にあたり考えること



免疫再構築症候群のまとめ (1)

日和見疾患	発生率	発生時期	効果
MAC 感染症 ¹⁾	50 %	13 日	あり
結核 ²⁾	36 %	15 日	あり
カリニ肺炎 ³⁾	症例報告	15 (5-30)日 (n=7)	あり
クリプトコッカス感染症 ⁶⁾	症例報告	7, 11, 15 日	不明
進行性多巣性白質脳炎 ⁷⁾	11 %	4, 4, 7 週	不明
CMV 網膜炎(硝子体炎) ⁴⁾	63 %	2-80 週	不明
帯状疱疹 ⁵⁾	7 %	4-16 週	不明
Graves 病 ⁸⁾	症例報告	19(19-22)ヶ月(n=9)	不明

- 1) 自験例
- 2) Am J Respir Crit Care Med. 158:157, 1998.
- 3) Clin. Infect. Dis. 35:491-493, 2002, HIV Medicine. 3:207, 2002
- 4) J Infect Dis. 179: 697, 1999.
- 5) Clin Infect Dis. 27: 1510, 1998.
- 6) AIDS 12: 1491, 1998.
- 7) AIDS 15:1900-1902, 2001.
- 8) Lancet. 352: 1906, 1998., Endocrino. Metabol. 85: 4254, 2000.