

本研究においては、EBV（を中心）に対する免疫細胞を試験管内で誘導する。この誘導細胞の、実際の AIDS リンパ腫の患者における抗腫瘍効果を検討するものである（この免疫細胞の誘導方法と結果については江川の報告を参照）。

実際に「エイズに併発した悪性リンパ腫に対する免疫細胞療法の臨床応用」を検討した症例では HIV 陰性の健常な一卵性双生児の兄が存在していた。このため誘導細胞の供給元を健常な一卵性双生児の兄とした。この症例では悪性リンパ腫の進行が早く、初期に強力な抗癌療法の施行ができなかった。このため 1 回目の化学療法（CHP）は失敗であった。このため Salvage 療法（ESHAP）が施行されたが、やはり抗癌剤に対して抵抗性であった。03 年 10 月 23 日の化学療法を最後に、化学療法は断念された。

当センターでの今までの 8 例の AIDS リンパ腫においては最後の化学療法後の生存期間は 1～93 日（平均 32 日）であった。このため、今回の症例においても短期での死亡が推測された。しかし、この症例では 128 日（04/2/29 現在）後も生存されている。以前の症例との比較では長期生存している可能性がある。この可能性の中には、抗 HIV 療法の効果とともに免疫細胞療法の効果が含まれていると考えられた。

今後はより抗 EBV 効果以外に抗腫瘍効果を有する免疫細胞の誘導が重要であると考えられた。

A. 研究目的

江川のグループが供給する免疫細胞を実際の AIDS リンパ腫の患者において使用し、その抗腫瘍効果を検討する。このことにより、現在非常に予後が不良である AIDS リンパ腫の治療法を開発する。

B. 研究方法

In vitro で誘導された免疫細胞の効果を判定するが、実際には、AIDS リンパ腫患者に対して集学的治療（抗癌療法＋抗 HIV 療法＋免疫細胞療法）の一部として施行される。抗 HIV 療法は世界的なガイドラインに則って施行された。抗癌療法は院内の血液内科と緊密に連携をとりながら施行された。免疫細胞療法は江川グループと検討した細胞を使用した。

（倫理面への配慮）

本研究は患者に対する十分な説明と同意の取得が行われて、実施されている。本研究は国際医療センター及び研究協力者である瀬田クリニックグループ倫理委員会によって各々承認されている。個人情報

報は記号化することで個人の特ができないよう配慮されるとともに、廃棄時には最大限の配慮のもと適切に処分されている。

C. 研究結果：症例検討

1. 症例の臨床経過

患者は 33 歳男性。2003 年 1 月下旬咳、37℃台の発熱を自覚。2 月下旬より 38℃台の発熱あり。3 月 31 日 39℃台の発熱となり、4 月初旬に近医受診。WBC 4000/μl、Hb 9.6g/dl、Plt 6.5 万/μl と、貧血、血小板減少が認められた。この時 HIV スクリーニング検査陽性が認められた。不明熱の精査のため 4 月中旬に国立国際医療センターエイズ治療研究開発センターに入院となった。

HIV 感染症のリスク因子は男性間性的接触であった。入院時所見として、両側頸部、鎖骨上に径 5～10mm 大、両側鼠頸部に径 15mm 大のリンパ節を触知した。Kaposi 肉腫病変は認められなかった。

入院時検査では、WBC 3720/μl (seg 84%, band 1%, lympho 7%, mono 7%, eosino 1%, baso 0%)、RBC

297 × 10⁴/μl、Hb 8.6g/dl、Ht 26.4%、Reti 3.1%、Plt 8.5 × 10⁴/μl、PT 活性 71%、PT-INR 1.22、APTT 33.9sec、TP 6.0g/dl、Alb 3.0g/dl、T-Bil 0.3mg/dl、AST 21 IU/l、ALT 22 IU/l、LDH 236 IU/l、CRP 3.87mg/dl であった。HIV 関連検査としては CD4 数 71/μl(9.8%)、CD8 数 480/μl(66.2%)、CD4/8 0.1、HIV-RNA 定量：4.2μ10⁴copies/μl であった。免疫不全の進んだ状態であった。

日和見関連検査として CMV アンチゲネミア陰性であったが、血漿中の EBVDNA 量の検査では 1 × 10⁴copies/ml と上昇が認められた。この結果より悪性リンパ腫の合併が強く疑われた。

Ga シンチ (4/14)、CT 検査、小腸造影、上下部消化管内視鏡等で右副鼻腔、胸骨下端、胃、小腸、下部胸椎に悪性リンパ腫の病変の存在が疑われた。特に上部消化管内視鏡にて胃部病変の生検より病理学的に悪性リンパ腫と診断された。この部分の病理の結果は以下の結果であった (図 2)。

病理結果：悪性リンパ腫。

組織型；未分化大細胞型リンパ腫 (ALCL)。

免疫染色：CD30(+)、LMP-1(+)、CD20、CD79a、CD3、CD5、CD15、SI00、EBNA2 は

いずれも陰性。EBER1-ISH は施行できず。

悪性リンパ腫精査の過程で 5 月初旬に腸閉塞を発症した。原因は小腸腫瘍を先進部とする腸重積と診断され外科的開腹術が施行された。小腸全域に渡る多発する腫瘍性病変を認め、一部は漿膜に達していた。全ての病巣の外科的切除は侵襲も強く、術後の

縫合不全のリスクも高い為不可能であり、腸重積の原因となりうる病変を二箇所切除し、端端吻合を行った。腫瘍は 3 から 4cm 大のものがトライツ靱帯から約 30cm、約 190cm,250cm,280cm,310cm,340cm の部位に認められた。またしょう膜面への変化は認められないまでも、0.5 から 2cm 大のポリープを多数触知した。同病変の病理組織学的検査は以下の結果であった。

病理結果：悪性リンパ腫。

組織型；未分化大細胞型リンパ腫 (ALCL)。

免疫染色：CD301(+)、一部 EMA1(+)、

一部 granzyme B(+)、LMP-11(-)、ALK、

CD15、CD5、CD3、CD20、CD45RA、

CD10、CD38、CD56 はいずれも陰性。

臨床病期は stage、(B)。入院時での判定では PS0 (ECOG)、LDH は正常値 (入院時) より Prognostic index では「high intermediate risk」であった。

2. 治療経過

悪性リンパ腫の治療としては、①抗 HIV 療法と②抗悪性リンパ腫療法の 2 つが重要である。

(1) 抗 HIV 療法について

抗 HIV 療法の導入は、以下の理由が考えられた。

① HIV 感染症に対して抗 HIV 療法を開始するという意味、②抗 HIV 療法による免疫能の回復による抗 EBV 効果、③抗 HIV 療法による抗腫瘍効果、④抗 HIV 療法による骨髄機能の強化とその結果の十

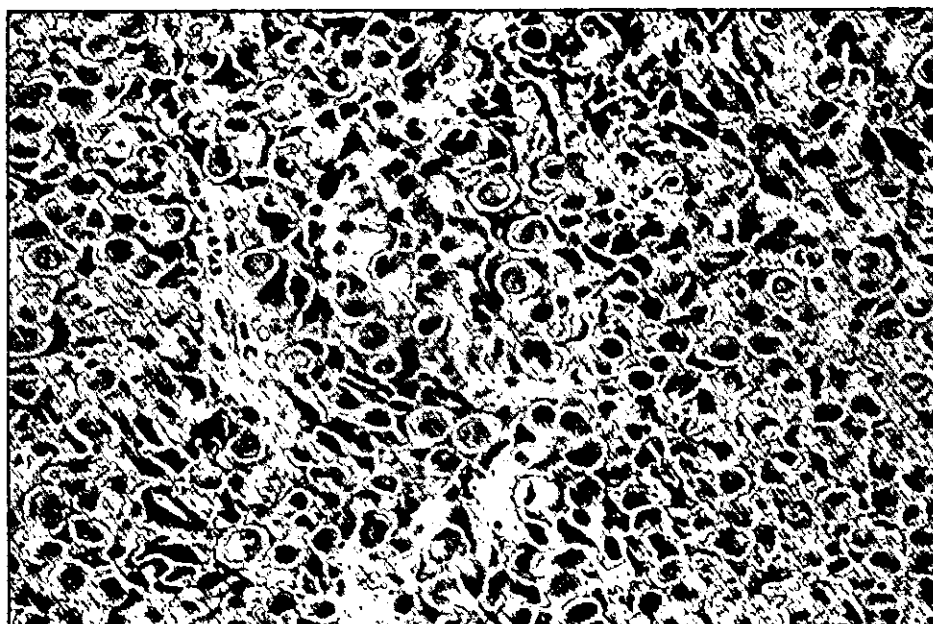


図 2. 胃悪性リンパ腫の病理 (HE 染色 400X)

分量の化学療法の投与の可能性、であった。抗 HIV 療法は stavudine・lamivudine・lopinavir/ritonavir の多剤併用療法として 04 年 5 月下旬より開始した。治療開始前 (04/5/20) には CD4 数 48/μl (15.3%)、HIVRNA 量 42,000copies/ml であった。途中、lopinavir/ritonavir は副作用の出現のため nelfinavir に変更された。

途中にイレウスの合併による内服中止などの期間を含むが抗 HIV、効果は良好であった。化学療法断念後の悪性リンパ腫再燃によるイレウスが再出現し、04 年 2 月 28 日には抗 HIV 療法は断念となった。尚、04/2/24 時点での抗 HIV 療法の効果は、CD4 数 97/μl、HIVRNA 量 50copies/ml 未満と良好であった。

(2) 悪性リンパ腫の治療について

悪性リンパ腫の治療に関しては化学療法が当然必須であった。Little らは 2003 年に、Etoposide、Doxorubicin、Vincristine、Cyclophosphamide (Dose-adjusted) による治療 (Dose-adjusted EPOCH) により寛解率 74% という非常に優れた結果を報告している。しかしこの症例においては、①術中所見より小腸に一部漿膜に達する病変が多発しており化学療法による小腸穿孔の危険性が非常に高かった、②進行した免疫不全のため造血機能の低下が疑われた、ことより初回に full dose の化学療法は困難と判断された。このため化学療法として CHOP 療法 (ただし、lopinavir/ritonavir との相互作用で Vincristine による麻痺性イレウスの可能性のため Vincristine は投与から除かれた: CHP 療法) が選ばれ、しかも 1/3 量での開始とした。

① CHP (vincristine 抜き) 1/3dose 6 月 4 日。

② CHP (vincristine 抜き) 1/2dose 6 月 25 日。

③ CHP (vincristine 抜き) 1/2dose 7 月 16 日。

注: 3 コース目終了後一時的にイレウス発症した。

④ CHOP (vincristine 抜き) full dose 8 月 6 日。

上記 4 コース目終了後治療の効果判定では、胸骨腫瘍の増大より CHOP は効果不良と判断された。

このため salvage 療法として 8 月 27 日より ESAHP 療法が選択された。ESAHP 療法は以下の薬剤、ETP40mg/m²(day1-4)、CDDP250mg/m²(day1-4)、Ara-C(day5)2g/body、mPSL(day1-5)500mg/body であった。

⑤ ESHAP full dose 8 月 27 日。

⑥ ESHAP full dose 9 月 24 日。

⑦ ESHAP full dose 10 月 23 日。

ESHAP 3 コース終了後の効果判定では、Ga シンチにて右大腿内側、右臼蓋に集積増加部が新たに認められ salvage 療法としても不十分と判断された。

このため 11 月下旬より患者との相談において化学療法を断念することとなった。

(3) 免疫療法について

この症例の特異点は HIV 陰性の健常な一卵性双生児の兄 (HLA A : 1101/3303, B : 1501/4801, Cw : 0303/0803, DRB1 : 1501/0405, DQB1 : 0602/0401) の存在であった。患者とその一卵性の兄に「AIDS 関連悪性リンパ腫に対する免疫療法に関する臨床研究」の説明をおこない、同意を得た。今回は予想外の一卵性双生児の存在より、一卵性双生児をドナーとすることに関して新たに倫理委員会の承認を得た。一卵性双生児をドナーとしてリンパ球を回収し、それを用いた免疫療法が検討された。化学療法開始時に full dose での治療が不能であり非常に予後不良と判断したため、化学療法と平行して免疫療法を開始した。

免疫細胞療法は以下の 3 種類の方法が用いられた。以下の方法は準備が整う順序に従い可能となった。最も早くは、活性化リンパ球輸注療法 (LAK) であった。次に腫瘍 lysate を刺激に用いた CTL では、腫瘍が臨床検体であったことより培養中の汚染が認められ、中断となった。最終的には peptide を刺激に用いた CTL となった。これは、患者受診後に患者 HLA を調べ、その HLA と適合する EBV 由来の peptide の合成に時間がかかるため臨床での使用は最後の順序となった。

① 活性化リンパ球輸注療法 (LAK) : これは一卵性双生児リンパ球を CD3 抗体と IL-2 にて培養する方法である。この症例においては、 4×10^9 個まで増殖させた培養細胞を、LAK として投与した。03/6/18、7/2、7/23、7/30、8/12、8/21、9/3、9/10 と 8 回投与された。

② DC-腫瘍 lysate CTL 療法: これは一卵性双生児の DC (樹状細胞) とリンパ球を使用したものであった。一卵性双生児の PBMC 中の接着細胞を GM-CSF と IL-4 にて培養した。この培養細胞 (immature DC) に対して、手術時に採取した悪性リンパ腫の分解物 (lysate) を 200μg/ml で共培養し、これを抗原パルス iDC とした。この抗原パルス iDC と一卵性双生児リンパ球とを 3 から 5 日間 IL-2 (700IU/ml)

にて培養し、その後 CD3 抗体と IL-2 にてさらに培養した。3 × 10⁹ 個まで増殖させた培養細胞を DC-腫瘍 lysate CTL として投与した。しかしこの培養の過程で細菌感染症の汚染が認められたため、DC-peptide CTL 療法に変更された。03/9/22、10/14、10/29、11/29 と 4 回投与された。

③ DC-peptide CTL 療法：これは DC の刺激として用いる抗原に peptide を用いる方法である。患者 HLA の A11 に対する抗原誘起性の高い peptide (AVFDRKSDAK、IVTDFSVIK、SSCSCPLSKI) を合成して用いる方法である。方法はほぼ②と同様であり、腫瘍 lysate の代わりに peptide (5μg/ml) が添加された。03/12/9、12/25、04/1/8、1/22、2/19、2/24 と 6 回投与された。

最終的には化学療法・抗 HIV 療法が断念された後も、免疫細胞療法のみが継続して試みられた。今回の免疫細胞療法投与による有害事象は認められなかった。

(4) 臨床経過総括

報告書提出時点 (04 年 2 月末) の時点では、化学療法も断念され抗 HIV 療法も断念され、患者は癌末期の状態である。

D. 考察

今回の症例に関する「免疫細胞療法」の効果は以下のように考えられた。全体の経過表 2 に示す。

- ELISPOT 法により免疫応答を判定することが可能であった。入院時患者血中に認められなかった EBV-peptide (AVFDRKSDAK、IVTDFSVIK、SSCSCPLSKI) に対する IFN- γ 産生細胞数は、後半より徐々に増加した。この増加の傾向は化学療法の終了との関連が考えられた。即ち、強力な抗 HIV 療法の導入後の効果が、化学療法後に顕在化している可能性が考えられた。この免疫能の増加に免疫細胞療法がどれだけ関与したかは、この data のみからは判定不能であった。
- 悪性リンパ腫の EBV 感染症としての側面をフォローするマーカーとして、血中 EBV DNA 量測定という方法を用いた。多くの EBV 関連リンパ腫では、この血中 EBV DNA 量が悪性リンパ腫の病勢を反映している。この血中 EBV DNA 量も化学療法に反応している。しかし、通常は化学療法断念後には、進行性に増加する。この患

者においては、その血中 EBV DNA 量の再上昇がやや抑えられている印象がある。しかしこの効果も抗 HIV 療法の導入後の免疫能回復が関与していると考えられた。この免疫能の増加 (血中 EBV DNA 量の再上昇の抑制) に免疫細胞療法がどれだけ関与したかは、この data のみからは判定不能であった。

- ただし、腫瘍の再燃は 03/11/29 よりあり、しかし、その腫瘍の再燃は血中 EBV DNA 量の再上昇と相関していない。これは、現在患者の体内に残る腫瘍の重要な部分が EBV 感染症の関与しない腫瘍となっている可能性が考えられた。治療前の病理診断においても、胃のリンパ腫では EBV 由来の LMP1 蛋白が陽性であったが、小腸リンパ腫では LMP1 蛋白は陰性であった。抗 HIV 療法の導入後の免疫能回復 (+? 免疫療法) により、EBV 関連腫瘍は抑制されている可能性が考えられた。
- では抗 HIV 療法の導入後の免疫能回復は実在するのであろうか。多くの今までの報告はそれを強く示唆している。実際、患者は入院時 (03/4/21) には EBNA 抗体が 10 未満と陰性であった。EBNA 抗体は免疫能が EBV 感染症に対する免疫反応を獲得した場合に出てくる抗体といわれている。04/2/19 にはこの EBNA 抗体が 160 倍と陽性化していた。この抗体獲得は、免疫細胞療法による影響というよりも、抗 HIV 療法による全般的な免疫能の回復の結果と考える方が自然と考えられる。
- 今まで当センターで EBV 関連悪性リンパ腫の患者はこの患者を含めて 9 例となる。この患者以外は全例悪性リンパ腫が原因で死亡されている。この 8 例においては最後の化学療法後の生存期間は 1 ~ 93 日 (平均 32 日) であるが、この患者では 128 日 (04/2/29 現在) 後も生存されている。以前の症例との比較では長期生存している可能性がある。この可能性の中には、抗 HIV 療法の効果とともに免疫細胞療法の効果が含まれていると考えられる。

E. 結論

今回の症例にては化学療法 + 抗 HIV 療法 + 免疫細胞療法により救命にするに至らなかった。免疫能の回復によりコントロールが期待できる悪性腫瘍の

表2

日時	HAART	化学療法	免疫療法	血中EBV DNA (copies/ml)	ELISPOT (/10 ⁶ PBMC)	コメント
4/9				10,000		不明熱で来院
5/1					10	
5/8						腸閉塞で手術
5/25				50,000		
5/30	d4T/3TC/LPV					HAART開始
6/4	d4T/3TC/LPV	CHP(1)				CHP開始
6/18	d4T/3TC/LPV		LAK(1)	8,000		LAK1回目
6/25	d4T/3TC/LPV	CHP(2)		8,000		
7/2	d4T/3TC/LPV		LAK(2)			
7/4	d4T/3TC/LPV			300		
7/16	d4T/3TC/LPV	CHP(3)		2,000		
7/23	d4T/3TC/LPV		LAK(3)			
7/30	d4T/3TC/LPV		LAK(4)			
7/31	中止			20,000		腸閉塞再燃
8/6		CHP(4)				
8/12			LAK(5)	200		
8/21			LAK(6)	1,000		
8/28		ESHAP(1)		10,000		化学療法ESHAPIに変更
9/3	LAK(7) <200					
9/10	LAK(8) <200					
9/13	d4T/3TC/LPV					HAART再開
9/17	d4T/3TC/NFV					HAART変更(LPV徐脈)
9/22	d4T/3TC/NFV		lysate CTL(1)		6	免疫療法の変更
9/24	d4T/3TC/NFV	ESHAP(2)	<200			
10/14	d4T/3TC/NFV		lysate CTL(2)		2	
10/24	d4T/3TC/NFV	ESHAP(3)				
10/29	d4T/3TC/NFV		lysate CTL(3)			
11/5	d4T/3TC/NFV			<200		
11/12	d4T/3TC/NFV			3,000	18	
11/29	d4T/3TC/NFV		lysate CTL(4)			化学療法中断
12/9	d4T/3TC/NFV		Peptide CTL(1)	3,000	195	免疫療法の変更
12/25	d4T/3TC/NFV		Peptide CTL(2)	<200	76	
1/8	d4T/3TC/NFV		Peptide CTL(3)	800	95	
1/22	d4T/3TC/NFV		Peptide CTL(4)	4,000	845	
2/5	d4T/3TC/NFV			20,000	516	
2/19	d4T/3TC/NFV		Peptide CTL(5)	4,000	545	
2/24	d4T/3TC/NFV		Peptide CTL(6)		306	
2/28	中止					HAART中止

部分はEBV感染症の側面が強いリンパ腫の部分と考えられる。この患者のように polyclonal な腫瘍の存在 (LMP1 陽性細胞と陰性細胞) が予想される場合には、基本的に強力な抗癌療法の併用が不可欠である。この強力な抗癌療法と抗 HIV 療法と免疫細胞療法との関係を整理することが今後必要と考えられる。

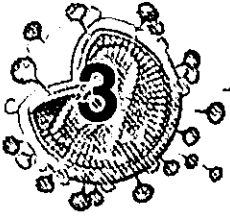
F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表
論文発表

1. 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* 27; 252-262, 2003.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし



免疫療法における各種ウイルスに対する細胞性免疫応答の解析

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：上野 貴将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、²国立国際医療センターエイズ治療・研究開発センター）

研究要旨

AIDS に合併するウイルス疾患あるいは HIV-1 自体に対する免疫療法の可能性を検討するために、まず機能を反映した CD8T 細胞の詳細な分画を試みた。その結果、CD28 と CD45RA の定性的発現と CD27 の半定量的発現に基づいたフェノタイプの分類によって、naïve, memory, effector CD8T 細胞の分類が可能となった。さらにテトラマーを用いて、EB ウイルス (EBV) 及びヒトサイトメガロウイルス (HCMV) 特異的 CD8T 細胞を検出し、抗体を用いてフェノタイプ解析したところ、健康成人では、EBV 及び HCMV 特異的 CD8T 細胞はそれぞれ memory 及び effector T 細胞である事が明らかになった。AIDS に合併した EBV リンパ腫患者の一卵性双生児 (HIV-1 非感染者) の末梢血単核球を EBV エピト-プペプチドで刺激して、EBV 特異的 CD8T 細胞の誘導した。今後この EBV 特異的 CD8T 細胞を患者に移入する治療法を検討する。

A. 研究目的

HIV-1 感染者では、免疫不全が進行するにしたがって HIV-1 にだけでなく、様々なウイルスに対する免疫応答が働かなくなり、EB ウイルス (EBV) によるリンパ腫、ヒトサイトメガロウイルス (HCMV) による網膜炎、肺炎などが起こり、患者の予後に重大な影響を及ぼす。そこで、HIV-1 に加えて、EBV 及び HCMV 特異的 CD8T 細胞の解析とそれを用いた免疫療法の基盤を確立するために、これらのウイルスに対する細胞傷害性 T 細胞 (CTL) の解析をおこなう。これらの基盤的研究によって得られた成果をもとに、AIDS 患者で発症する EBV リンパ腫の治療法に関する研究をおこなう。

B. 研究方法

1. ヒト CD8T 細胞の分化に関する解析

健康成人の CD8T 細胞の機能を反映したフェノタイプ分類をおこなうために、CD27、CD28、CD45RA、perforin に対する抗体、及び CCR5、CCR7 に対する抗体を用いて、フローサイトメトリーによる多重染色解析をおこなった。

2. 健康成人における EBV 特異的及び HCMV 特異的 CD8T 細胞の解析

健康成人における EBV 特異的及び HCMV 特異的 CD8T 細胞を解析するために、EBV 及び HCMV 特異的 CD8T 細胞を検出する HLA クラス I テトラマー (EBV: 2 種類のエピト-プを結合した HLA-A*1101 テトラマー、HCMV: 1 種類のエピト-プを

結合させた HLA-A*0201 及び HLA-A*0206 テトラマー) を作製した。これを用いて、健康成人末梢血中の EBV 特異的 CD8T 細胞及び HCMV 特異的 CD8T 細胞を検出し、さらに CD27、CD28、CD45RA に対する抗体を用いて、それぞれのウイルス特異的 CD8T 細胞の性格を解析した。

3. EBV リンパ腫治療のための EBV 特異的 CD8T 細胞の誘導

EBV リンパ腫を合併した患者の一卵性双生児の兄弟 (HIV-1 非感染) の末梢血から、ペプチド刺激して EBV 特異的 CD8T 細胞の誘導をおこなった。さらに、この患者の末梢血をテトラマーで解析し、特異的 CD8T 細胞が出現するかを検討した。

(倫理面への配慮)

患者及びその兄弟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。健康成人の血液の使用に関しては、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て、さらに熊本大学の倫理委員会での承認を得た。

C. 研究結果

1. ヒト CD8T 細胞の分化に関する解析

健康成人 10 人の末梢血リンパ球を、CD27、CD28、CD45RA の 3 つの細胞表面マーカーと per-

forin に対する抗体を用いて解析したところ、CD27 の発現と perforin の発現には逆相関が見られた。そこで、CD28 と CD45RA の定性的発現、CD27 の半定量的発現に基づいて分類し、その各分画の perforin と CCR5、CCR7 の発現を解析した(図 1)。CCR5 は、memory CD8T 細胞の大部分と一部の memory/effector、effector CD8T 細胞にまた CCR7 は naive CD8T 細胞と一部の memory CD8 T 細胞に発現している事から、これらのマーカーで分類される分画による分類は、図 1 で示したように機能を反映した分類と考えられた。

2. 健康成人における EBV 特異的及び HCMV 特異的 CD8T 細胞の解析

HLA-A*1101 を保有している健康成人(10 名)の末梢血単核球中の EBV 特異的 CD8 T 細胞の数を、テトラマーと抗 CD8 抗体を用いて、フローサイトメトリーで解析した。二つのテトラマーに対して CD8T 細胞中 0.1%以上陽性の方は、それぞれ 5 名と 6 名見られ、0.1%-0.6%の範囲であった。これらの EBV 特異的 CD8T 細胞を抗 CD27、抗 CD28、抗 CD45RA 抗体で染色して多重染色解析したところ、ほとんどの EBV 特異的 CD8T 細胞は、CD27⁺CD28⁺CD45RA⁻ のフェノタイプを示した(図 2A)。

一方、HLA-A*0201 もしくは HLA-A*0206 を保有している健康成人(20 名)の末梢血単核球中の HCMV 特異的 CD8T 細胞の数を、テトラマーと抗 CD8 抗体を用いて、フローサイトメトリーで解析した。これらのテトラマーに対して CD8T 細胞中 0.1%以上

		Perforin	CCR7	CCR5
naive	CD27 ^{high} CD28 ⁺ CD45RA ⁺	—	100	0
	CD27 ^{low} CD28 ⁺ CD45RA ⁺	—	80	10
memory	CD27 ^{high} CD28 ⁺ CD45RA ⁻	—	50	50
	CD27 ^{low} CD28 ⁺ CD45RA ⁻	—	10	80
Memory/effector	CD27 ^{low} CD28 ⁻ CD45RA ⁻	+	0	30
	CD27 ^{low} CD28 ⁻ CD45RA ⁺	+	10	20
effector	CD27 ⁻ CD28 ⁻ CD45RA ⁻	++	0	20
	CD27 ⁻ CD28 ⁻ CD45RA ⁺	+++	0	10

図 1. ヒト CD8T 細胞の CD27CD28CD45RA を用いた分類

陽性の方は 20 名中 13 名であり、0.1-1.6% の範囲であった。これらの HCMV 特異的 CD8 T 細胞を抗 CD27、抗 CD28、抗 CD45RA 抗体で染色して多重染色解析したところ、 $CD27^+CD28^+CD45RA^{+/-}$ 、 $CD27^{low}CD28^+CD45RA^{-}$ 、 $CD27^{low}CD28^+CD45RA^{+/-}$ のフェノタイプを示した(図 2B)。これらのフェノタイプのうち $CD27^+CD28^+CD45RA^{+/-}$ 、 $CD27^{low}CD28^+CD45RA^{+/-}$ のフェノタイプを示す 4 つの分画をソーターを用いて分離し、HCMV エピト-プペプチドをパルスした標的細胞に対する細胞傷害活性を調べたところ、全て強い細胞傷害活性を示した。これらの事から、この 4 つの分画は細胞傷害活性を持った、effector 及び memory/effector T 細胞と考えられた。

3. EBV リンパ腫治療のための EBV 特異的 CD8T 細胞の誘導

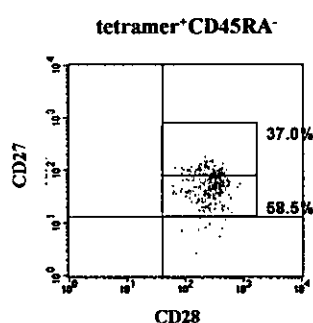
AIDS 患者 (HLA - A*1101 保有者) の EBV リンパ腫に対する細胞移入療法による治療法を検討するために、患者の一卵性双生児である兄弟の末梢血リンパ球をエピト-プペプチドで刺激し、その誘導を試みた。その結果、一つのエピト-プペプチドのより効率的に特異的 CD8T 細胞が誘導できた(図 3)。

D. 考察

CD27, CD28, CD45RA を用いたフェノタイプ解析により、機能をより反映した CD8T 細胞の分類が可能になった。これらのマーカーを用いた EBV 特異的 CD8 T 細胞と HCMV 特異的 CD8 T 細胞のフェノタイプ解析と機能的解析の結果、健康成人の末梢血中では EBV 特異的 CD8T 細胞は memory T 細胞であり、一方 HCMV 特異的 CD8T 細胞では、effector T 細胞である事が明らかになった。これらの結果から、健康成人では、HCMV は絶えず粘膜などの上皮系組織で増殖しており、CTL を中心とした細胞性免疫を刺激し、effector T 細胞を誘導していると考えられた。一方、健康人ではこれらの CTL によって HCMV の増殖は抑制され発症が抑えられていると考えられた。また、EBV 特異的 CD8T 細胞は、memory T 細胞の状態である事から、EBV の増殖は免疫系が接触しやすい臓器ではほとんどおこっていないと考えられた。

AIDS 患者では、末期には EBV ウイルスが血中に出現し、EBV リンパ腫がおこる事が知られている。これは、AIDS による免疫低下のため、新たに浸入してくる EBV に対して細胞性免疫が誘導できないためかもしれない。AIDS のリンパ腫の治療法として、細胞性免疫を移入する細胞療法が考えられる。

A. EBV特異的CD8T細胞



B. HCMV特異的CD8T細胞

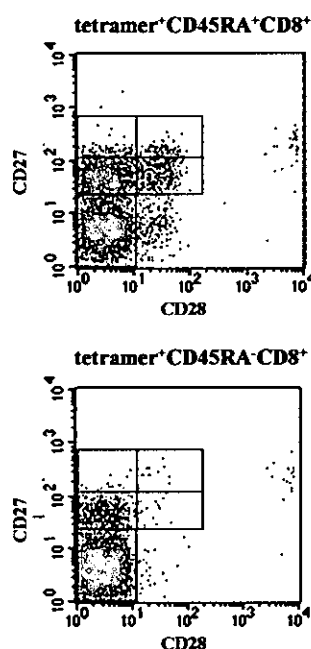


図 2. EBV 特異的 CD8T 細胞及び HCMV 特異的 CD8T 細胞のフェノタイプ解析

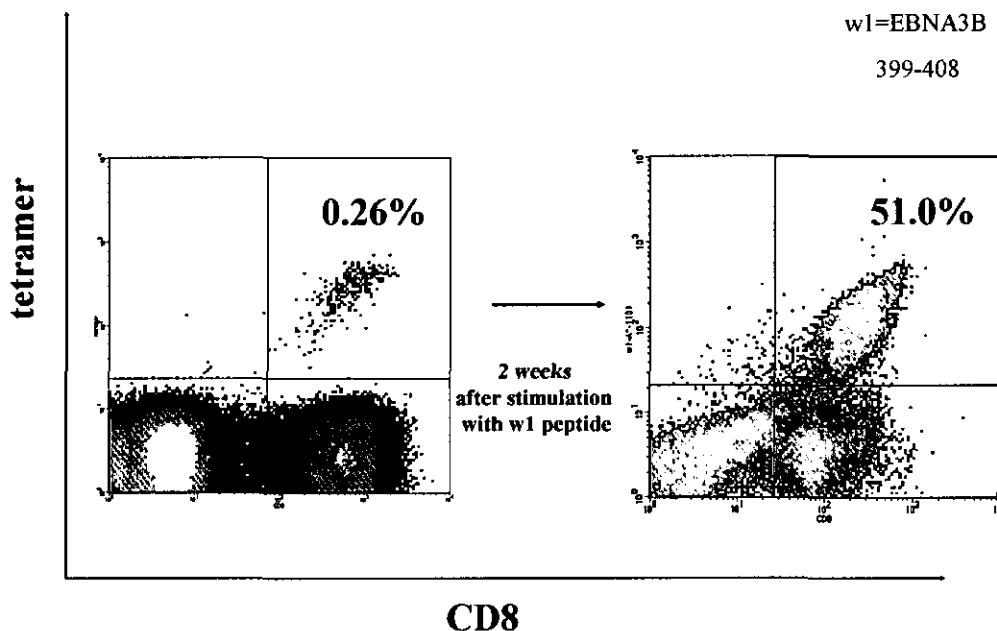


図3. 一卵性双生児兄弟(HIV-1 非感染者)の末梢血単核球からのEBV 特異的 CD8T 細胞の誘導

現在、一卵性双生児の患者兄弟の細胞を移入する事による治療法を検討している。この兄弟の末梢血から、効率的に特異的 CD8T 細胞が誘導できており、今後この細胞野の移入による効果を検討する予定である。

E. 結論

CD28 と CD45RA の定性的発現と CD27 の半定量的発現に基づいたフェノタイプの分類によって、ヒトの CD8T 細胞の naïve, memory, effector T 細胞の分類が可能となった。更にこの分類による解析から、健康成人では EBV 及び HCMV 特異的 CD8T 細胞はそれぞれ memory 及び effector T 細胞である事が明らかになった。AIDS に合併した EBV リンパ腫患者の一卵性双生児 (HIV-1 非感染者) の末梢血単核球を EBV エピトープペプチドで刺激して、EBV 特異的 CD8T 細胞の誘導が出来た。

今後この EBV 特異的 CD8T 細胞を用いた治療法を検討する。

F. 研究発表

論文発表

1. 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. Hum. Retroviruses*. 19:503-510, 2003.
2. Ueno T., Tomiyama H., Fujiwara M., Oka S., and Takiguchi M. HLA class I-restricted recognition of an HIV-derived epitope peptide by a human T cell receptor α chain having a V δ 1 variable segment. *Eur. J. Immunol.* 33:2910-2916, 2003.
3. Yokomaku Y., Miura H., Tomiyama H., Kawana-Tachikawa A., Takiguchi M., Kojima A., Nagai Y., Iwamoto A., Matsuda Z., and Ariyoshi K. Impaired Processing and Presentation of Cytotoxic T-Lymphocyte (CTL) Epitope is a Major Escape Mechanism from CTL Immune Pressure in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection. *J. Virol.* 78: 1324-1332, 2004.
4. Tomiyama H., Takata H., Matsuda T., and Takiguchi M. Phenotypic classification of human CD8+ T cells reflecting their function: An inverse correlation between quantitative expression of CD27 and cytotoxic effector function. *Eur. J. Immunol.* In press.

学会発表

1. Ueno T., Tomiyama H., Fujiwara M., and Takiguchi M. HIV-specific cytotoxic T lymphocyte clone unable to kill HIV-infected cells shows increased binding capacity to peptide-HLA complex. The Second International AIDS Society Conference on HIV Pathogenesis and Treatment (Paris, France) July 13-16, 2003.
2. Takiguchi M. HIV-1 escape from HIV-1-specific CD8 T cells in individuals with HIV-1 infection. 7th Asia-Oceania Hitocompatibility Workshop and Conference (Karuizawa, Japan) September 16-19, 2003.
3. Fujiwara M., Tomiyama M., and Takiguchi M. Effect of Nef-mediated HLA class I down-regulation on ability of HIV-1-specific CD8+ T cells to suppress HIV-1 replication. 7th Asia-Oceania Hitocompatibility Workshop and Conference (Karuizawa, Japan) September 16-19, 2003.
4. Satoh M., Takamiya Y., Oka S., Tokunaga K., and Takiguchi M. Identification of HIV-1 CD8 T cell epitopes presented by HLA-A*2601. 7th Asia-Oceania Hitocompatibility Workshop and Conference (Karuizawa, Japan) September 16-19, 2003.
5. Takata H., Tomiyama H., and Takiguchi M. Characterization of HCMV-specific CD8 T cells using HLA-A*02 tetramers. 7th Asia-Oceania Hitocompatibility Workshop and Conference (Karuizawa, Japan) September 16-19, 2003.
6. Takiguchi M. HIV-1 escape from HIV-1-specific CD8 T cells in individuals with HIV-1 infection. International symposium "Infection and Immunity" in annual meeting of Japanese Society of Immunology (Fukuoka, Japan) December 8-10, 2003.
7. 上野貴将、富山宏子、岡慎一、滝口雅文 (2003) HIV 感染細胞に不応答性を示す HIV エピトープ特異的 CD8 T 細胞の *ex vivo* 解析. 第 51 回日本ウイルス学会 (京都) 平成 15 年 10 月 27 日～29 日
8. 佐藤愛美、高宮裕児、岡慎一、滝口雅文 (2003) HLA-A*2601 に提示される HIV-1 CD8 T 細胞のエピトープ同定. 第 17 回日本エイズ学会 (神戸) 平成 15 年 11 月 27 日～29 日
9. 藤原守、富山宏子、滝口雅文 (2003) 同じ特異性を持つ HIV-1 特異的 CTL クローンのサイトカイン産生プロファイル. 第 33 回日本免疫学会 (福岡) 平成 15 年 12 月 8～10 日
10. 高田比呂志、富山宏子、滝口雅文 (2003) CXCR1/IL8 の獲得免疫での役割: effector CD8+ T 細胞上での CXCR1 の発現. 第 33 回日本免疫学会(福岡) 平成 15 年 12 月 8-10 日
11. 佐藤愛美、高宮裕児、岡慎一、滝口雅文 (2003) Reverse immunogenetics を用いた HLA-A*2601 に提示される HIV-1 CD8 T 細胞のエピトープ同定. 第 33 回日本免疫学会(福岡) 平成 15 年 12 月 8-10 日
12. 富山宏子、藤原守、滝口雅文 (2003) HIV-1 感染細胞に対する HIV-1 特異的 CD8 T 細胞の認識. 第 33 回日本免疫学会(福岡) 平成 15 年 12 月 8-10 日
13. 上野貴将、富山宏子、滝口雅文 (2003) TCR の抗原結合親和性と T 細胞活性化の再検討. 第 33 回日本免疫学会(福岡) 平成 15 年 12 月 8-10 日

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし



免疫再構築症候群への対処法開発に関する研究

分担研究者：白阪 琢磨（国立病院大阪医療センター臨床研究部免疫感染研究室
室長）

研究協力者：上田 千里¹、上平 朝子²

（¹国立病院大阪医療センター臨床研究部免疫感染研究室、²国立病院大阪医療センター免疫感染症科）

研究要旨

HAART によって免疫が再構築される事が知られている。HAART により免疫機能が回復すると日和見感染症の予防薬投与も不要となる。しかし、HAART による免疫再構築の過程で、治癒していた日和見感染症が増悪し、新たな日和見感染症が出現する場合があります。これを免疫再構築症候群（以下 IRIS）と呼んでいる。IRIS については諸家の報告があるが、病態が明らかにされたとは言い難い。本研究では IRIS への対処法を検討するために、まず、本症候群の病態を明らかにすることとした。研究の初年度である本年は、国立病院大阪医療センターに入院した HIV 感染症患者において、IRIS 症例の抽出を行うため、日和見感染症が出現した 56 症例につき検討を行った。HAART 後の日和見感染症発症群 21 例）と未発症群（35 例）の二群間の比較では HAART 開始時の CD4 値に有意な差を認めた。次に限られた症例で HAART 前後での血中のサイトカインにつき測定を行った。症例数が少ないため、明らかではないが、HAART 治療前の血中サイトカイン値が、いわゆる免疫再構築症候群の出現を予測する可能性が示唆された。以下、二つのテーマについて、それぞれ記述する事とする。

1. テーマ：当院における日和見感染症発症例での検討について

A. 背景と研究目的

HAART の継続的实施によって体内での HIV 複製は抑制され、血中ウイルス量が低下する。さらに、血中ウイルス量が検出限界域以下を持続できると CD4 値は上昇し、免疫が再構築される事が知られており、これらの病状改善によって日和見感染症の予防薬投与も不要となる。しかし、HAART により血中ウイルス量の十分な抑制と CD4 値の上昇が認められるにも関わらず、臨床症状がむしろ増悪（paradoxical deterioration）する場合は観察され、免疫再構築症候群（以下 IRIS）と呼ばれている。本症候群

に対する定義は定められておらず、種々の英語名が同義で使用されている（表 1）。このような HAART 後に出現する症状は、治癒した（と考えられた）、あるいは新たな日和見感染病原体に対する炎症反応の増悪の結果と考えられる。IRIS として報告された日和見感染症には、MAC リンパ節炎や肺、CNS での結核の奇異的増悪などが掲げられている（表 2）。感染症は病原体による症状と宿主の炎症反応に基づく症状からなるので、一見 IRIS と考えられた病態にも、HAART 開始時の日和見疾患の治療が不十分であったために病原体が残存していて再発した例や、HAART 開始時に未診断であった新たな病原体が存在し出現した例が含まれている可能性も考えられる。IRIS については諸家の報告があるが、これらの可能性を含んでおり、病態が明らかにされたとは

表 1

免疫再構築症候群 IRS/IRIS

Immune restoration syndrome
Immune reconstruction syndrome
Immune restoration disease
Immune reconstitution inflammatory syndrome
Immune restoration inflammatory syndrome

表 2

免疫再構築症候群

- HAARTにより血中ウイルス量の十分な抑制とCD4値の上昇が認められるにも関わらず、臨床症状がむしろ増悪（paradoxical deterioration）する場合があります、免疫再構築症候群と呼び、既に診断されたあるいは未診断の日和見病原体に対する炎症反応の増悪の結果と考えられる。
- 主なIRIS
 - MACリンパ節炎
 - 肺やCNSでの結核の奇異的増悪
 - Cryptococcus neoformans髄膜炎の奇異的増悪
 - Cytomegalovirus網膜炎の奇異的増悪
- 治療
 - 抗原量の減少 日和見感染症の治療
 - HAART継続
 - 抗炎症剤（副腎皮質ホルモン剤など）の使用

Shelburne & Hamill AIDS Review 2003 5(2):67-79

言い難い。本研究では IRIS への対処法を検討するために、まず、本症候群の病態を明らかにすることを本年度の研究の目的とした。

B. 研究方法

平成 9 年 4 月～平成 15 年 10 月の期間、当院で日和見感染症（AIDS 指標疾患）を発症して入院した 56 症例を対象に検討した。これらの症例を、あ）HAART 開始後に新たな日和見感染症を発症した例、い）治癒した日和見感染症が HAART 開始後に再発した症例、う）治癒した日和見感染症が HAART 開始後に再発しなかった症例の 3 群に分類し、それぞれの HAART 開始時の CD4 値、HIV-RNA 量、および HAART 開始 4 週後、8 週後、12 週後の CD4 値、CD8 値、CD4/8 比を診療録で調査し、有意差検定 (Unpaired-t-test) を行い比較した。なお、早期死亡例と評価不能例を除いた。

C. 研究結果

1) 患者背景

当院において日和見感染症を発症した 56 例の患者背景は、男性 49 例、女性 7 例、平均年齢は 38.1 歳であった。HAART 開始時の平均 CD4 数は、平均 53.4/mm³ で、HIV-RNA 量は平均 5.0 ± 0.1 log コピー/ml であった。日和見感染症疾患の内訳は、カリニ肺炎 26 例（他疾患合併 11 例を含む）、サイトメガロウイルス感染症 15 例（他疾患合併 9 例を含む）、結核 6 例、カンジダ症 4 例、クリプトスポリジウム症 3 例、PML2 例であった（図 1）。これら 56 例のうち、HAART 開始後に日和見感染症を発症（以下、IRIS 発症例とする）したのが 21 例、発症しなかったのが 35 例であった。IRIS 発症 21 例の疾患別内訳では、サイトメガロウイルス感染症が 11 例（網膜炎が 7 例）と最も多く、次いで、カリニ肺炎が 7 例、ヘルペスウイルス感染症 4 例、非定型抗酸菌症 3 例、

当院における日和見感染症発症例の患者背景

症例数 (性別)	n= 56 (男性 49 女性 7)		
平均年齢	38.1 歳		
HAART開始前CD4値	53.4 (/mm ³)		
HAART開始前HIV-RNA量	5.0 ± 0.1 (log copies/ml) mean ± S.E		
疾患の内訳			
カリニ肺炎	n= 14	クリプトスポリジウム症	n= 3
カリニ肺炎/CMV感染症	n= 9	PML	n= 2
カリニ肺炎/PML	n= 1	反復肺炎	n= 2
カリニ肺炎/Cryptococcus	n= 1	悪性腫瘍	n= 2
結核	n= 6	無し	n= 2
CMV感染症	n= 4	サルモネラ菌血症	n= 1
消耗症候群	n= 4	HIV脳症	n= 1
食道カンジダ症	n= 4		

図 1

日和見感染症の発症例の中で、
HAART後に日和見感染症の発症例と未発症例の
HAART開始時所見の比較

	未発症	発症
症例数 (人)	n= 35	n= 21
年齢 (歳)	38.7	37.0
CD4値 (/mm ³)	73 ± 12	19 ± 5 *
中央値 (range)	45 (3~268)	7 (1~104)
HIV-RNA量 (log copies /ml)	5.0 ± 0.1	5.2 ± 0.1

図 2

カンジダ症、結核はそれぞれ1例であった。

2) HAART 開始時所見の比較

HAART 開始時の CD4 値は、IRIS 未発症例は平均 73 ± 12/mm³、IRIS 発症例は平均 19 ± 5/mm³ と、IRIS 発症例では IRIS 未発症例と比較し HAART 開始時の CD4 値が有意に低値であった (図 2)。HIV-RNA 量、年齢では有意差は認めなかった。図 3 に日和見感染症を発症した 56 例での、IRIS 症例と IRIS 未発症例の HAART 開始時の CD4 値と HIV-RNA 量を示した。この両群の HAART 開始後の CD4 値および CD8 値は、IRIS 発症例も IRIS 未発症例も共に増加を認めたが、IRIS 発症例では HAART 開始 4 週後の CD4/8 比の増加が高い傾向がみられた (図 3 右)。次に、IRIS を発症した 21 例の HAART

開始時の CD4 値と IRIS を発症した時の CD4 値を調査した。その結果、CD4 値は IRIS 発症時には HAART 開始時に比べ平均で 57 ± 12/mm³ 上昇していた。また IRIS を発症したのは、HAART 開始後、平均 7 日で、中央値は 18 日であった (図 4)。

3) サイトメガロウイルス網膜炎とカリニ肺炎の症例の検討

サイトメガロウイルス網膜炎を発症していたのは全部で 8 例あったが、このうち IRIS 発症例は 7 例で、HAART 開始時の平均 CD4 値は 37 ± 14/mm³ であった。内訳は、HAART 開始後に新たに網膜炎を発症したのが 3 例、維持療法中に再発あるいは増悪したのが 3 例、維持療法を終了し CD4 値 100/mm³ 以上で再発したのが 1 例であった。カリニ肺炎症例

免疫再構築症候群とHAART開始時のVLおよびCD4値

経過中に日和見感染症を発症した56例中で、HAART開始後に新たな日和見感染症を発症あるいは治療した日和見感染症が再発した症例を検討した。

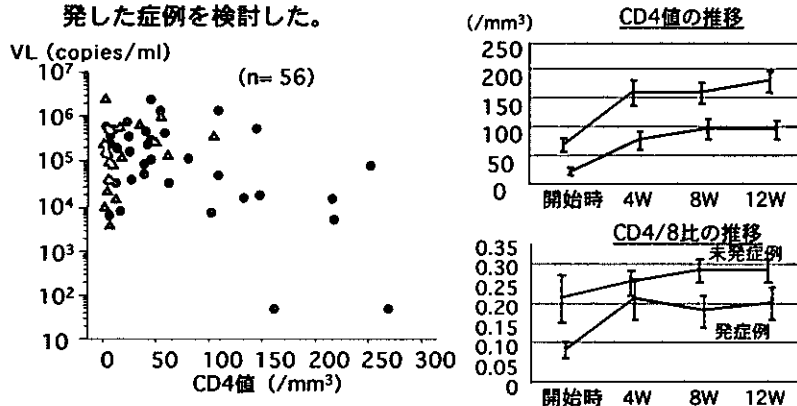


図 3

日和見感染症 発症例のCD4上昇数 (n=21)

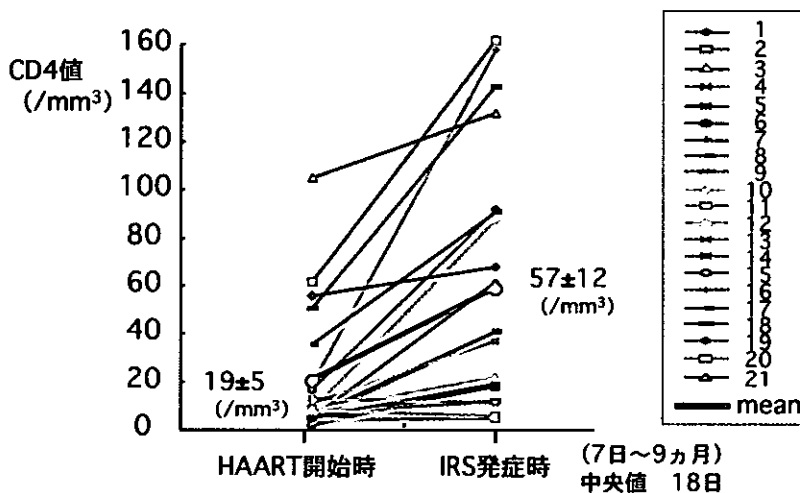


図 4

CMV網膜炎とカリニ肺炎例

	例数	HAART開始時のCD4値	HIV-RNA量
CMV網膜炎	n=8		
○治癒例	n= 1	7	5.8
		・維持療法中	
○発症例 (再発) (新規)	n= 7	37 ±14	5.5 ± 0.1
		・無治療でHART導入後	n=3
		・維持療法中	n=3
		・維持療法終了しCD4値100/mm³以上	n=1
カリニ肺炎	n=23		
○治癒例	n= 16	26 ± 6	5.1 ± 0.1
○再発例	n= 7	17 ± 9	5.1 ± 0.2

図 5

では、IRIS 発症例は 7 例で HAART 開始前 CD4 値は $17 \pm 9/\text{mm}^3$ 、未発症例は 16 例で HAART 開始前 CD4 値は $26 \pm 6/\text{mm}^3$ であった。2 群の CD4 値に有意差はなかったが、発症はすべて再発例であった (図 5)。

D. 考察

HIV 感染症は、強力な抗ウイルス療法 (HAART) により日和見感染症の発症頻度が低下し、死亡者数も著しく減少した。しかし、HAART の開始により反って、臨床的に増悪を示す (paradoxical deterioration) 例があり、免疫再構築症候群 (IRIS) として知られている。

これらは、HAART 開始前の CD4 値が非常に低値の場合 ($50/\text{mm}^3$ 以下) において経験することが多い。しかし、当院のカリニ肺炎やサイトメガロウイルス網膜炎の症例では、HAART 開始前の CD4 値に有意差は認めなかった。カリニ肺炎の IRIS 発症例は 23 例中 7 例であり、すべて再発例であった。一方、サイトメガロウイルス網膜炎の IRIS 発症例は 8 例中 7 例であった。7 例はサイトメガロウイルス感染症に対する維持療法中や維持療法が終了していた例で再発や増悪がみられた例、HAART 開始後に新たに IRIS として網膜炎を発症した例を認めた。今回の検討から、IRIS と考えられた病態が多様であり、解析すべき要因も少なくないと考えられた。今後、IRIS 発症例の診断基準を定める事と、疾患別の発症メカニズムの解明、治療方法、予防法についての検討が必要と考えた。

E. 結論

当院入院中に日和見感染症を発症した 56 例について、HAART 後に日和見感染症状が出現した群としなかった群につき検討した。日和見感染症ではカリニ肺炎とサイトメガロウイルス感染症が多かった。IRIS 発症例では IRIS 未発症例と比較し HAART 開始時の CD4 値が有意に低値であった。今回の検討から、IRIS と考えられた病態が多様であり、解析すべき要因も少なくないと考えられた。今後、IRIS 発症例の診断基準を定める事と、疾患別の発症メカニズムの解明、治療方法、予防法についての検討が必要である。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

①論文発表

なし

②学会発表

第 17 回日本エイズ学会

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

II. テーマ：免疫再構築症候群発症予測方法の検討

A. 研究目的と背景

HIV 感染症は抗ウイルス剤多剤併用療法 (HAART) 実施後、その予後は著しく改善している。しかし HAART 開始後に日和見感染症 (カリニ肺炎 (PCP)、サイトメガロ (CMV) 感染症等) の増悪を認める免疫再構築症候群 (IRIS) が、新たな問題として浮かび上がってきた (1. Sempowski GD, Haynes BF. Immune reconstitution in patients with HIV infection. Annu Rev Med. 2002;53:269-84.)。免疫再構築症候群は、ときに重篤な病態を引き起こし治療に難渋する。IRIS 発症を事前に予測できれば、その影響を最小限にとどめることは可能であると思われる。IRIS 発症を予測する十分な検査は未だ無い。いっぽう種々の感染症において宿主の感染防御免疫機構が働くことは周知の事実であり、その一序であるサイトカインの役割については膨大な検討、報告がある。HIV 感染症、および合併する日和見感染症についても同様である。IRIS の中で日常臨床においてよく経験する病態として PCP がある。最近その防御免疫において IFN- γ を含む Th1 サイトカインの重要性が報告されている (2 Kedzierska K, Azzam R, Ellery P, Mak J, Jaworowski A, Crowe SM. Defective phagocytosis by human monocyte/macrophages following HIV-1 infection: underlying mechanisms and modulation by adjunctive cytokine therapy. J Clin Virol. 2003 Feb;26(2):247-63.)。そこで我々は、血中のサイトカイン量を測定する事が、簡便、迅速な IRIS 発症予測検査になりえないかどうかを検討した。

B. 研究対象および方法

対象：肺胞洗浄液中にカリニ原虫を検出し診断しえた PCP の 5 症例である。今回の 5 症例中 2 症例は、PCP 軽快後 HAART を開始したところ PCP が再燃、増悪した IRIS 症例である。方法：上記対象において PCP 初発症時早期、HAART 開始時、及び IRIS 発症症例では IRIS 治療前後の血漿中 IFN- γ 、IL-12、-18、TNF- α 濃度を当院保存血漿を用いて ELISA 法により測定した。IFN- γ 、IL-12、-18、TNF- α の測定にはそれぞれ High Sensitivity IFN- γ Human, ELISA Biotrak System (測定感度 > 0.1 pg/ml、アマシャムバイオサイエンス)、Human IL-12+p40 ELISA kit (測定感度 > 2 pg/ml BIO SOUCE), Human IL-18 ELISA kit (測定感度 > 25 pg/ml MBL), Human TNF- α IMMUNOASSAY (測定感度 > 0.4 pg/ml R&D systems) を用い添付操作手順に従い測定した。結果の一部は平均値 ± 標準誤差で表した。

C. 研究結果

IRIS 発症を伴った PCP 合併 2 症例において血中 IFN- γ 濃度は、PCP 初発症時測定感度以下であり、それ以降上昇を認め、IRIS 発症時に高く IRIS 軽快後に低下した。一方、IRIS 未発症である PCP 合併 3 症例において血中 IFN- γ 濃度は、すでに PCP 初発症時 2.6 ± 0.5 pg/ml と上昇し、HAART 開始時以後低下傾向にあった (図 6)。また我々の検討範囲内では PCP を含む日和見感染を合併していない CD4 陽性 T 細胞数 200/ml 以下の未治療 HIV 感染症患者血中 IFN- γ 濃度は 1.0 ± 0.1 pg/ml (n = 3) であり、

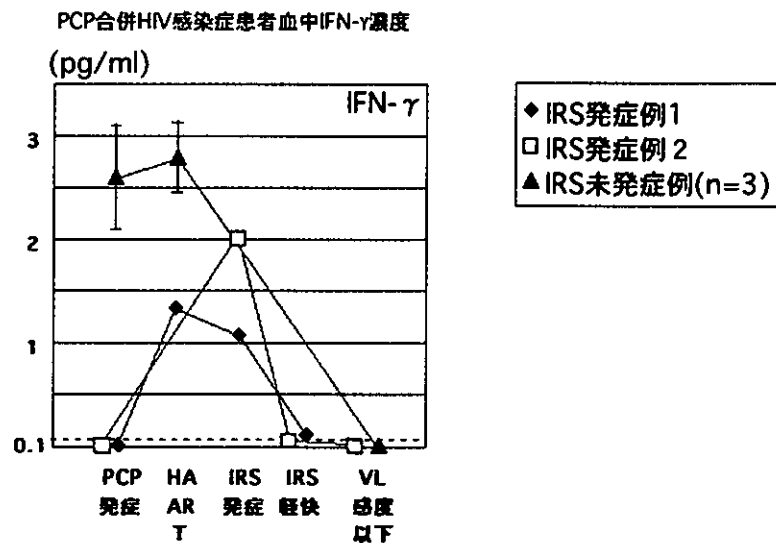


図 6

健常成人 (n=10) の多くは測定感度 (0.1 pg/ml) 以下であった。このように IRIS 合併症例では IRS 未発症症例と比べ PCP 初発症時血中 IFN- γ 濃度は低い傾向にあった。次に IFN- γ 産生に参与すると報告されている種々のサイトカイン IL-12、-18、TNF- α の血中濃度を測定した。IRIS 発症症例の血中 IL-12 濃度は、PCP 初発症時には低く、その後 IRIS 発症まで漸増した。血中 TNF- α 濃度についても同様の傾向を認め、血中 IL-12、TNF- α 濃度は PCP 初発症時と比較し IRIS 発症時において高くなっていた。逆に未発症症例では経過と共に血中 IL-12、-18、TNF- α 濃度は低下した (図7)。

D. 考察

IRIS 発症症例においては未発症症例に認めた PCP 初発症時血中 IFN- γ 濃度上昇を認め無かった。もしこの結果が主たる感染巣である肺病変を反映しているとするならば、カリニ感染に際し重要な防御免疫物質である IFN- γ の産生が遅延し、有効にカリニ原虫を排除出来ない可能性が考えられた。Rudmann DG は TNF-receptor-IFN- γ double knockout mouse を用いたカリニ原虫感染実験で IFN- γ / TNF 作用の非存在下では治癒しないことを報告している (3 Rudmann DG, Preston AM, Moore MW, Beck JM. Susceptibility to *Pneumocystis carinii* in mice is dependent on simultaneous deletion of IFN-gamma and type 1 and 2 TNF receptor genes. *J Immunol*. 1998 Jul 1;161(1):360-6.)。これは、進行した HIV 感染症にあ

ると考えられている Th2 優位な状態であったためか (4 Kedzierska K, Crowe SM Cytokines and HIV-1: interactions and clinical implications. *Antivir Chem Chemother*. 2001 May;12(3):133-50.)、あるいは、カリニ原虫感染に際していわゆる naive な状態、初感染であったためかもしれない。その結果として治療が遅れ、炎症過程は遷延していると推定され、IRIS 発症症例における遷延した血中 IFN- γ 、IL-12、TNF- α 濃度の上昇はそれを反映していると考えられた。炎症が遷延し、微少な病原体が残存している時に、HAART 後の CD4 陽性 T 細胞の増加は炎症の拡大につながり、IRIS 発症につながる可能性があると考えられた。今回は Th1 サイトカインを中心に報告したが、我々は Th2 サイトカインである血中 IL-10 濃度が IRIS 発症症例において特異な経緯をたどるという知見も得ている。このような事から PCP 合併 AIDS 患者の経時的な血中サイトカイン濃度測定は IRIS 発症を予測する有望な検査であると考えられた。

E. 結論

HAART 前後で経時的に、血中のあるサイトカイン濃度を測定し、IRIS 発症を予測できる可能性が示された。

PCP合併症例における IFN- γ 産生に参与する種々のサイトカイン血中濃度

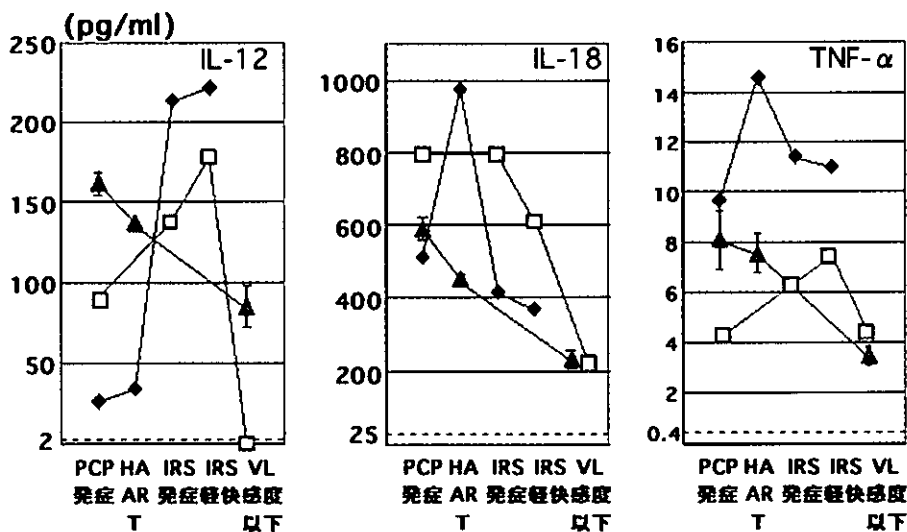


図7