

部位の検討では、本年度は反応条件とデータ検索方法の検討を中心に展開したが、幾つか有用な示唆が得られた。又解析数 69 クローンのうち 43 クローンがデータベースで同定でき、挿入部位の約 50% はイントロン部であることが確認された。

B インヒビタ：予め抗マウスリンパ球抗体で既存 FVIII 反応性末梢 T 細胞を除去したが、FVIII 抗原の胸腺直接投与では寛容は誘導されなかった。しかし、新生児寛容誘導マウスの脾細胞を注入したマウスでは約 60% に寛容誘導が確認された。

4. 考察

A (I) AAV ベクターを用いて、標的臓器に血友病因子を発現させる技術は、マウスではほぼ確立した。しかし、ヒト応用には、日本ではサルでの長期安全性の検討が必要と考えられる。しかし、AAV ベクターがサル由来であるために AAV 利用は容易ではない。AAV8 に対する抗体価の低いサルを選んで、選択的カテーテルとバルーンを用いて、血液と接しない形でサル肝臓にベクターを投与する為の投与方法の検討を始めている。少なくとも解決すべき問題点は明らかになった。(II) 成熟肝細胞を uPA/SCID マウスで選択的に増殖させたが、イヌでもヒト細胞でも可能なことから、細胞移植治療の有力な武器になることが期待される。骨髄巨核球に FVIII を発現させ、血小板に出血部位へ運搬させることは、理に適っており、又半減期も延長（血小板寿命 7 日間）し、インヒビタが存在しても出血部位で放出されるために殆どインヒビタの影響も受けない優れた方法である。実用化には SIV ベクターの一層の安全性確立と、自殺遺伝子の同時組み込みなどが必要である。B インヒビタ対策：独創的な仕事ではあるが、胸腺に投与した脾細胞のどの細胞が免疫寛容を誘導したかなど、これから解決すべき課題は多い。

5. 自己評価

1) 達成度について

10 年遅れの研究開始であり、技術中心の極めて論文にしにくいプロジェクトではあるが、基礎的技術的には欧米と同じレベルに、又一部では凌駕していると考えている。マウスを用いた遺伝子治療基礎技術に関しては、世界の最先端グループの一つである。前臨床試験としてのサルの実験については、使用できるサルの入手が困難などの研究以前の問題があるが、解決すべき問題点は明らかになったので、技術的には克服可能と考える。成熟肝細胞移植、及び幹細胞を用いた血小板系への FVIII 発現に関しては期待以上の成果が得られた。臨床研究開始にはまだ安全性確認の研究が不十分であるが、極めて近いところに来ていると確信している。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義

サルを用いた前臨床試験や、マウスでは脂肪細胞への遺伝子導入（世界初）、成熟肝細胞異所性移植と移植細胞のための生体工場の確立、血小板系への FVIII 発現による有効止血の工夫とインヒビタからの防御などに関しては、いずれも国際的に評価されており、学術的価値も高い。遺伝子治療に関しては、臨床応用が可能になった段階で、患者の cure、キャリアの精神的解放、製剤の使用量の減少など社会的意義ははかりしれない。インヒビタ対策については、新生児 FVIII 免疫寛容誘導法 (JTH, 2004) が、欧米の色々な施設で種々の形で応用されている。又、担当した教室の窓岩が日本人で初めて Bayer の Special Project Hemophilia Award を本年度獲得し、オーストラリアで表彰された。

3) 今後の展望について

サルの実験は AAV ベクターに対する既存抗体対策が鍵となる。既に幾つか解決法を考案しており、展望はあるものと思われる。又、滞っていた血友病イヌのメーティングが進みコロニー化が進みつつあり、前臨床試験としての利用も考えられる。生体内ベクター投与方法では切除可能な臓器を中心にさらに基礎検討を続けて行きたいと考えている。長期発現と安全性の問題を常にバランスにかけながら、直接生体内ベクター投与方法が良いか、体外遺伝子導入細胞移植法がよいかを決定し臨床研究を開始したいと考えている。ベクターの特許問題、ヒトに投与可能なベクター作製のためのカンパニーの協力などについては、厚労省他の協力が不可欠であると考えている。

6. 結論

遺伝子治療技術は直接ベクターを生体内に投与する方法においても又体外で遺伝子を導入した細胞を移植する方法でも効率の面ではマウスレベルでは確立出来た。しかし、安全性確保のための十分な基礎的実験はなお必要である。サルを用いた前臨床試験は AAV に対して抗体を持つサルが殆どであるために現時点でめざましい結果が得られていないが、問題点が明らかになっているので、克服は時間の問題と考える。インヒビタに対する免疫寛容誘導法に関しては新生児では一定の成果が得られたが、成人に対する有効な治療の確立が今後の課題である。

7. 知的所有権の出願・取得状況

「血液凝固異常の治療方法」(D4-A0506)

状態：出願中（未公開）(2005/10/28)

「RNA ウイルスのスパイクタンパク質でシュードタイプ化したレンチウイルスベクターを用いた気道上皮幹細胞への遺伝子導入」(D4-A0510)

状態：出願中（未公開）(2005/10/28)

研究課題名: HIV-1遺伝子を広域に持つ新規SHIVとサルを用いたエイズ治療薬開発の研究

課題番号: H15-エイズ-002

主任研究者: 井戸 栄治 (京都大学ウイルス研究所 助手)

分担研究者: 伊吹 謙太郎 (京都大学ウイルス研究所 助手)

1. 研究目的

エイズ治療については、HAART療法などが開発され、一時本疾患の制圧は遠くないという楽観的観測が流れたこともあった。しかし、この療法では確かに延命はできるものの、高価な薬剤を大量に摂取し続けねばならず、副作用の問題や投薬を止めれば新たにウイルスが再増殖し始め、しかも通常の薬剤では抑えることができないという多剤耐性株の出現の問題、さらには治療中の免疫系再構築の間に既存の日和見感染症が悪化するいわゆる免疫再構築症候群などの問題が指摘されている。治療薬自体の開発が押し進められるべきであることは言うまでもないが、種々の治療薬の最適な組み合わせの探索を始めとして、他の抗ウイルス活性がある物質あるいは免疫システム自体を活性化する薬剤との併用など、従来試みられていない実験的療法の開拓が強く要望されている。しかしながら、人を対象としてそのような治療効果が保証されない、場合によっては症状増悪のリスクが否定できない実験的治療を安易に試みることは倫理的に許されない。そこで本研究では、先ず、前臨床の基礎研究として、人に近い動物であるサルを用いてエイズ治療法を実験的に開拓する系を確立することを目的とする。次にその系を用いて、種々の薬剤や新たな治療法の効果判定を行い、人のためのより良い治療法を提示することを最終目標とする。

2. 研究方法

人への治療法として提示するためには、薬剤の標的がエイズの病原ウイルス HIV-1 そのものであることが望ましい。ところが HIV-1 は、ヒト以外にはチンパンジーなど一部の例外を除いて、通常の医学実験用のサルには感染しない。そこで我々は、HIV に類似のサルウイルス(SIV) と HIV-1 とのキメラウイルス(SHIV)を作成し、これとサルを用いてエイズの病態を研究してきた。しかし、従来サル感染実験に用いられた SHIV は、主に env 遺伝子とその周辺付属遺伝子のみが HIV-1 由来で、その他は SIV 由来であるものに限定されていた。これでは人への治療薬の効果判定に適してはいない。なぜなら、市販されているウイルス複製阻害剤の中には、NNRTI のように pol 遺伝子産物を標的として HIV-1 のみに特異的に作用するものも多いからである。そこで我々は、pol 遺伝子が HIV-1 由来である一連の新規 SHIV を作成し、そのサル感染実験を行うことにした。本研究では 3 年間に、1) HIV-1 の protease (PR) を持つ SHIV(SHIV-pr)のサル感染実験と PR 阻害剤の効果判定、2) HIV-1 の reverse transcriptase (RT) と integrase (INT) を持つ SHIV(SHIV-rti) のサル感染実験、3) HIV-1 の pol (PR, RT, INT) を持つ SHIV(SHIV-prti)のサル感染実験、4) pol の RT と INT 領域及び env を HIV-1 由来にした SHIV(SHIV-rti/3rn)のサル感染実験、5) SHIV の持続感染に与える IL-15 の治療効果の検討、等の研究を主に行った。

(倫理面への配慮)

本研究では、治療薬開発にサルを用いている。従って差し当たって人権上の問題は該当しない。実験動物としてサルを使用する点については、動物愛護の配慮を怠ることなく主任研究者の所属する京都大学ウイルス研究所のサルの飼育と使用に関する委員会(通称「霊長類委員会」)に定める規定・指針に則して研究を行っている。

3. 研究結果

1) HIV-1 の protease (PR) を持つ SHIV(SHIV-pr)のサル感染実験と PR 阻害剤の効果判定

SHIV-pr をアカゲザルに静脈内接種すると、血中ウイルス量は接種後 2 週目で 10^5 copies/ml 程度にまで上がり、その後 $10^3 \sim 10^4$ copies/ml と低いながら半年以上の長期に渡りウイルスを産生し続けた。このサルからウイルスを含む血漿を新たなサルに接種し、4代まで継代したところ、ウイルス量も安定して 10^5 copies/ml 程度の持続感染状態になることが判った。次に、これらのサルに PR 阻害薬カレトラ(ロピナビル/リトナビル)の中身を水に懸濁して 4 週間毎日経口投与(1カプセル分/日/頭)したところ、試みた 3 頭いずれも血中ウイルス量が検出限界(10^3 copies/ml)あるいはそれ以下に減少した。薬剤投与を停止すると、血中ウイルス量は直ちに元のレベルあるいはそれ以上に戻り、ウイルス分離もできた。投与前後でウイルス遺伝子に顕著な変異は認められなかった。

2) HIV-1 の reverse transcriptase (RT) と integrase (INT) を持つ SHIV(SHIV-rti) のサル感染実験

SHIV-rti を 2 頭のアカゲザルに静脈内接種した結果、共にウイルス分離・抗体反応が見られ、感染が成立した。血中ウイルス量は 10^{3-4} copies/ml と高くはなかったが、ウイルス分離が一時中断の後再開し続けた。

3) HIV-1 の pol (PR, RT, INT) を持つ SHIV(SHIV-prti) のサル感染実験

サル細胞で馴化の後、増殖能の向上したものを 2 頭のアカゲザルに静脈内接種した結果、両頭よりウイルスが分離され、弱い抗体反応も見られ、感染は成立したものと考えられる。ただし、接種してまだ 3 ヶ月程度しか経過していないので、今後の経過が注目される。

4) pol の RT と INT 領域及び env を HIV-1 由来にした SHIV(SHIV-rti/3rn)のサル感染実験

SHIV-rti/3rn は、SIVmac のゲノムに HIV-1 の RT と INT 遺伝子および ENV 遺伝子を組み込んだキメラウイルスである。このプロウイルスプラスミドを培養細胞にトランスフェクションすると、感染性のウイルスが産生される。しかしこのウイルスは、ヒト由来の細胞株ではよく増殖するもののサル由来の細胞株(HSC-F)では増殖が極めて弱かった。そこで、サル細胞への adaptation をねらって HSC-F で 26 週間継代を続けることにした。その結果、HSC-F ならびにアカゲザル PBMC において明らかな増殖能の向上が見られたので、この継代ウイルスを 3 頭のアカゲザルに

iv接種したところ、いずれのサルにおいても接種後1週目に血中ウイルス量が $10^5 \sim 10^6$ copies/mlのピークに到達し、2週目からは抗体応答も認められ、ウイルス分離、PCRの成績からも感染の成立は明らかであった。サル細胞への馴化に際し、どのような変異が生じたかを解析した結果、継代前と後のウイルスではゲノム全体に渡って全部で11ヶ所（GagのMAとCA、PolのINT、gp120に4ヶ所、gp41に3ヶ所、他にPBSに1ヶ所）の変異（PBSを除いてアミノ酸の置換を伴う変異）が認められたが、この内GagのCA（p27）領域とgp41領域の内一つ、都合2ヶ所の変異が最もサル細胞における増殖能向上に寄与していることが判明した。

5) SHIVの持続感染に与えるIL-15の治療効果の検討

エイズ治療においてウイルスの持つ各酵素に対する種々の阻害剤の目覚ましい成果については言うまでもない。しかし、治療効果が保証されない新しい薬剤や物質となるとヒトへの試用の前にどうしても動物レベルでの評価が必須と考えられる。そうした物質の一つとして免疫系の特に innate の免疫系を活性化することで注目されているサイトカインの一つ、IL-15 のエイズウイルスに対する影響を調べた。ヒト精製 IL-15 は、in vitro でヒト並びにアカゲザル PBMC の培養液中に添加（25ng/ml）すると、24 時間以内に K562 細胞を標的とした NK 活性を顕著に上昇させ、しかもこの NK 活性の昂進は in vitro では少なくとも 4 日程度は持続することが分かった。そこで SHIV89.6p が持続感染しているアカゲザル 2 頭に、IL-15 を 1 回当たり $5 \mu\text{g}$ 、隔日で 4 回血中に投与したところ、2 頭共に一過的な NK 活性の上昇が見られ、内 1 頭では血中ウイルス量が one order 減少することを観察した。

4. 考察

SHIV-pr 感染サルのカレトラ投与実験において、ウイルス量が顕著に下がったことは、本研究で作成した一連の SHIV とサルを用いて、PR 阻害剤を始めとする種々の抗ウイルス薬剤について経口投与での in vivo 評価が現実的に可能であることを示している。ほぼ 1 ヶ月間の薬剤投与前後において PR 領域含めて周辺遺伝子に顕著な変異が認められなかったことは、耐性変異がこの期間では殆ど生じないことを示唆しており、今後より長期の薬剤投与実験など様々な実験計画の可能性が考えられる。

SHIV-rti さらには SHIV-prti がサルに感染することが確かめられたことは、これら新規 SHIV が PR や RT 阻害剤を組み合わせた HAART 治療の検証に使用できることを示唆しており、まず継代による安定化が必要と考えられた。RT 阻害剤は水溶性も高く、経口投与も PR 阻害剤よりは容易に行なえるものと考えられる。

SHIV-rti/3rn のサル細胞への adaptation において critical な変異が同定され、その分子クローンが得られたことは、同ウイルスが現時点で世界的に見ても最も HIV-1 の領域を広く持つ SHIV であることから意義が大きいと思われる。またその主要な変異が HIV-1 に代えた RT や INT 領域ではなく CA 並びに env 領域であったことは、CA の変異が PIC (pre-integration complex) 全体の整合性を保つ上で必須の変化であったとも考えられ、後者の役割と共に興味深い知見であると考えている。

IL-15 による NK 活性の増強効果はサルでは初めて示されたものである。IL-15 の血中投与により、1 頭ではあったがウイルス量を下げることがあったことは、今後こうした新しい治療法の可能性が示唆された意義は大きい。

5. 自己評価

1) 達成度について

エイズ治療薬の多くが標的とする pol 遺伝子を HIV-1 由来とした SHIV を作成し、それとサルを用いた新しい動物モデル系を確立するという第一の目的に関しては、かなり達成されたのではないかと考えている。また現在 HIV-1 の領域が最も広い SHIV の分子クローンが得られた意義も大きいと思われる。ウイルス宿主域という種の壁を超える要因の解明に寄与すると考えられるからである。薬剤処理に関しては、PR 阻害剤であるカレトラ剤の効果をサルで実証できたことは大きな成果であるが、その他の開発中の薬剤等の検証にまで着手できなかったことは悔やまれる。また新しいエイズ治療法として NK 活性を昂進する IL-15 の可能性が浮きあがったことも一つの成果と考えられるが、これももっと様々な治療法の検討ができなかったことが不満として残っている。ただし、限られた人力と予算の中で、以上の点をすべて遂行することは至難であり、全体としての達成度はまずまずだったのではと自己評価している。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

欧米の研究者らが使用している SHIV の遺伝子構成は、当グループが 10 年以前に発表した SHIV のそれと基本的に同じもので、env 遺伝子とその周辺のみが HIV-1 由来である。我々は HIV-1 領域の拡張、特に pol 領域について成功しており、その利用度は高く、当面世界に先駆ける仕事ができるのではないかと自負している。

3) 今後の展望について

当初、望むらくは HIV-1 由来の領域がなるだけ広いものをと期待した。が、現時点では env 領域も置換すると感染初期はよいとして、サル個体内で持続感染するのが難しく、今後薬剤評価のためと HIV-1 領域拡大の努力は一応別個の研究と割り切るべきであると考えている。

幸い pol 領域が HIV-1 由来の SHIV がサルに感染することが確かめられたので、今後はこれらの安定化を図ること、そしてそれを利用した実験的治療法の開拓をより積極的に進める予定である。またサルを使える最大の利点は、ヒトに対しては絶対に不可能な研究ができることである。以上のことを念頭に置いて、可能であれば新たな研究助成を受けて次の研究を行いたいと考えている。

1) INT 阻害剤など新規薬剤の in vivo 評価

将来 NNRTI のように HIV-1 特異的な新規薬剤が続々と開発作成されるものと思われる。そうした薬剤の HAART レベルの評価には、本研究で開発した SHIV とサルの系はうってつけである。

2) HAART 中断後に再び活発なウイルス産生をする臓器の解明

薬剤処理中にウイルスがどこに潜んでいるのか、治療中断後にウイルスが活発に動き出したり耐性ウイルスが生産されるのはどこの臓器なのか、などの疑問を解明することは本疾病の根治療法を探る上で重要な問題である。新規 SHIV と薬剤の系はこうした研究に利用できる。

6. 結論

当初期待していた新しいモデル系確立という目標はかなり達成された。今後この系を利用して、より効果的な治療法の探索を重点的に進め、ヒトへの臨床に向けて提案できるよう研究を進展させなければならない。

7. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

なし。

研究課題名: HIV-1遺伝子を広域に持つ新規SHIVとサルを用いたエイズ治療薬開発の研究

課題番号: H15-エイズ-002

主任研究者: 井戸 栄治 (京都大学ウイルス研究所 助手)

分担研究者: 伊吹 謙太郎 (京都大学ウイルス研究所 助手)

1. 研究目的

エイズ治療については、HAART療法などが開発され、一時本疾患の制圧は遠くないという楽観的観測も流れたこともあった。しかし、この療法では確かに延命はできるものの、高価な薬剤を大量に摂取し続けねばならず、副作用の問題や投薬を止めれば新たにウイルスが再増殖し始め、しかも通常の薬剤では抑えることができないという多剤耐性株の出現の問題、さらには治療中の免疫系再構築の間に既存の日和見感染症が悪化するいわゆる免疫再構築症候群などの問題が指摘されている。治療薬自体の開発が押し進められるべきであることは言うまでもないが、種々の治療薬の最適な組み合わせの探索を始めとして、他の抗ウイルス活性物質あるいは免疫システム自体を活性化する薬剤との併用など、従来試みられていない実験的療法の開拓が強く要望されている。しかしながら、人を対象としてそのような治療効果が保証されない、場合によっては症状増悪のリスクが否定できない実験的治療を安易に試みることは倫理的に許されない。そこで本研究では、先ず、前臨床の基礎研究として、人に近い動物であるサルを用いてエイズ治療法を実験的に開拓する系を確立することを目的とする。次にその系を用いて、種々の薬剤や新たな治療法の効果判定を行い、人のためのより良い治療法を提示することを最終目標とする。

2. 研究方法

人への治療法として提示するためには、薬剤の標的がエイズの病原ウイルスHIV-1そのものであることが望ましい。ところがHIV-1は、ヒト以外にはチンパンジーなど一部の例外を除いて、通常の医学実験用のサルには感染しない。そこで我々は、HIVに類似のサルウイルス(SIV)とHIV-1とのキメラウイルス(SHIV)を作成し、これとサルを用いてエイズの病態を研究してきた。しかし、従来サル感染実験に用いられたSHIVは、主にenv遺伝子とその周辺付属遺伝子のみがHIV-1由来で、その他はSIV由来であるものに限られていた。これでは人への治療薬の効果判定に適してはいない。なぜなら、市販されているウイルス複製阻害剤の中には、NNRTIのようにHIV-1のpol遺伝子産物を特異的に標的としているものも多いからである。そこで我々は、pol遺伝子がHIV-1由来である一連の新規SHIVを作成し、そのサル感染実験を行うことにした。本研究計画最終年度では主に、1) HIV-1のprotease(PR)を持つSHIV(SHIV-pr)のサル感染実験とPR阻害剤処理前後における遺伝子変異解析、2) HIV-1のreverse transcriptase(RT)とintegrase(INT)を持つSHIV(SHIV-rti)のサル感染実験、3) HIV-1のpol(PR, RT, INT)を持つSHIV(SHIV-prti)のサル感染実験、4) polのRTとINT領域及びenvをHIV-1由来にしたSHIV(SHIV-rti/3rn)のサル感染実験のfollow up、の研究を行った。

(倫理面への配慮)

本研究では、治療薬開発にサルを用いている。従って差

し当たって人権上の問題は該当しない。実験動物としてサルを使用する点については、動物愛護の配慮を怠ることなく主任研究者の所属する京都大学ウイルス研究所のサルの飼育と使用に関する委員会(通称「霊長類委員会」)に定める規定・指針に則して研究を行っている。

3. 研究結果

1) HIV-1のprotease(PR)を持つSHIV(SHIV-pr)のサル感染実験とPR阻害剤処理前後における遺伝子変異解析

10^5 TCID₅₀のSHIV-prをアカゲザルに静脈内接種すると、血中ウイルス量は接種後2週目で 10^5 copies/ml程度にまで上がり、その後 $10^3 \cdot 10^4$ copies/mlと低いながら半年以上の長期に渡りウイルスを産生し続けた。さらにこのサルからウイルスを含む血漿を新たなサルに4代まで継代したところ、ウイルス量も安定して 10^5 copies/ml程度の持続感染状態になることが判った。次にこれらのサルにPR阻害薬カレトラ(ロピナビル/リトナビル)の中身を水に懸濁して4週間毎日経口投与(1カプセル分/日/頭)したところ、試みた3頭いずれも血中ウイルス量が検出限界(10^3 copies/ml)あるいはそれ以下に減少した。薬剤投与を停止すると、血中ウイルス量は処理停止後1週目から元のレベルに近く戻り、その後高値を持続、またウイルス分離もできた。カレトラ投与直前と停止後1週目で血中に再出現したウイルスについて、RT-PCRで遺伝子解析したところ(測定可能であった2頭分のみ)、特に顕著な変異は認められなかった。

2) HIV-1のreverse transcriptase(RT)とintegrase(INT)を持つSHIV(SHIV-rti)のサル感染実験

2×10^5 TCID₅₀のSHIV-rtiを2頭のアカゲザルに静脈内接種した結果、共にウイルス分離・抗体反応が見られ、感染が成立した。viral RNA loadは 10^{3-4} copies/mlと高くはなかったが、一時中断の後、接種6ヶ月頃よりウイルス分離が再び見られた。CD4/8値などに大きな変化はまだ観察されていない。

3) HIV-1のpol(PR, RT, INT)を持つSHIV(SHIV-prti)のサル感染実験

SHIV-prtiはカニクイザル由来の株化T細胞であるHSC-F細胞およびアカゲザルサル細胞で感染増殖能を示すが、ピークの出現が遅く、そのままサル個体へ接種するにはその増殖能では弱いと考えられた。そこで先ずHSC-F細胞で馴化することにした。10代ほどpassageしたところ、ピークが現れるのが早くなり、この増殖能の向上した $10^{4.5}$ TCID₅₀のSHIV-prti(p)を2頭のアカゲザルに静脈内接種した。その結果、両頭よりウイルスが分離され、弱い抗体反応も見られ、感染は成立したと考えられる。ただし、接種してまだ3ヶ月程度しか経過していないので、今後の経過が注目される。

4) polのRTとINT領域及びenvをHIV-1由来にしたSHIV(SHIV-rti/3rn)のサル感染実験のfollow up

SHIV-rti/3rnは、SIVmacのゲノムに、HIV-1のRTとINT遺伝子およびENV遺伝子を組み込んだキメラウイルスである。

このプロウイルスプラスミドを培養細胞にトランスフェクションすると、感染性のウイルスが産生される。しかしこのウイルスは、ヒト由来の細胞株ではよく増殖するもののサル由来の細胞株HSC-Fでは増殖が極めて弱かった。そこで、サル細胞へのadaptationをねらってHSC-Fで26週間継代を続けた結果、HSC-FならびにアカゲザルPBMCにおいて明らかな増殖能の向上が見られたので、この継代ウイルスを3頭のアカゲザルに静脈内接種したところ、いずれのサルにおいても接種後1週目に血中ウイルス量が 10^5 ~ 10^6 copies/mlのピークに到達し、2週目からは抗体応答も認められ、ウイルス分離、PCRの成績からも感染が成立したと考えられることを前年度までに報告した。このサル細胞への馴化に際し、どのような変異が生じたかを解析した結果、継代前と後のウイルスではゲノム全体に渡って全部で11ヶ所(GagのMAとCA、PolのINT、gp120に4ヶ所、gp41に3ヶ所、他にPBSに1ヶ所)の変異(PBSを除いてアミノ酸の置換を伴う変異)が認められたが、この内GagのCA(p27)領域とgp41領域の内の一つ、都合2ヶ所の変異が最もサル細胞における増殖能向上に寄与していることが明らかとなった。また、それぞれの変異を持つフルゲノムの分子クローンも作成した。

4. 考察

SHIV-pr感染サルのカレトラ投与実験において、ウイルス量が顕著に下がったことは、本研究で作成した一連のSHIVとサルを用いて、PRを初めとする種々の抗ウイルス薬剤の経口投与でのin vivo評価が現実的に可能であることを示している。ほぼ1ヶ月間のカレトラ投与前後においてPR遺伝子を含めて周辺に顕著な変異が見られなかったことは、耐性変異がこの期間では生じないことを示唆しており、この薬剤が極めて有効であることを確認できたものと考えられる。今後より長期の投与実験など様々な実験計画の可能性が考えられる。

SHIV-rtiさらにはSHIV-prtiがサルに感染することが確かめられたことは、これらSHIVが将来的にPRやRT阻害剤を組み合わせたHAART治療の検証に使用できることを示唆しており、利用価値は高いものと考えられた。RT阻害剤は水溶性も高く、経口投与もPR阻害剤よりは容易に行なえるものと思われる。ただし、実用化するためには現在のままではウイルスロードの値がやや低いので、継代による安定化、可能であれば分子クローン化が必要と考えられ、それが今後の課題である。

SHIV-rti/3rnのサル細胞へのadaptationにおいてcriticalな変異が同定され、その分子クローンが得られたことは、同ウイルスが現時点で世界で最もHIV-1の領域を広く持つサル個体に感染するSHIVであることから意義が大きいと思われる。またその変異の一つがHIV-1に代えたRTやINT領域ではなくCA領域であったことは、HIV-1の種特異性がサル細胞内でのPIC(pre-integration complex)形成の段階にあることを思えば、CAの変異がPIC全体の整合性を保つ上で必須の変化とも考えられ、興味深い発見と考えられた。

5. 自己評価

1) 達成度について

ヒトのエイズ治療薬の多くが標的とするpol遺伝子をHIV-1由来としたSHIVを作成し、それがサルに感染する新しい動物モデル系を確立するという研究計画に掲げた第

一目標に関しては、かなり達成されたのではないかと自負している。また現在HIV-1の領域が最も広いSHIVの分子クローンが得られた意義も大きいと思われる。ウイルスの宿主域という種の壁を超える要因を解明することに寄与するものと考えられるからである。もっともウイルス酵素阻害剤の薬剤評価に関して言えば、SHIV-prを始めとしてSHIV-prtiなど、pol領域がHIV-1由来であるSHIVで十分であるので、それらの実用化の目処が立ったことの意義が大変大きいと考えられる。薬剤処理に関しては、PR阻害剤であるカレトラ剤の効果をサルで実証できたことは大きな成果であるが、その他の開発中の薬剤等の検証にまで発展させることができなかったことは悔やまれる。しかしながら、限られた人力と予算の中で、以上の点すべてを遂行することは至難であり、全体としての達成度はまずまずだったのではないかと自己評価している。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

欧米の研究者らが使用しているSHIVの遺伝子構成は、当グループが10年以前に発表したSHIVのそれと基本的に同じもので、env遺伝子とその周辺のみがHIV-1由来である。我々はHIV-1領域の拡張、特にpol領域について成功しており、その利用度は高く、当面世界に先駆けた仕事ができるのではないかと自負している。

3) 今後の展望について

当初、望むらくはHIV-1由来の領域がなるだけ広いものをと期待した。が、現時点ではenv領域も置換すると感染初期はよいとして、サル個体内で持続感染するのが難しく、今後薬剤評価のためとHIV-1領域拡大の努力は一応別個の研究と割り切るべきであると考えている。

幸いpol領域がHIV-1由来のSHIVがサルに感染することが確かめられたので、今後はこれらの安定化を図ること、そしてそれを利用した実験的治療法の開拓をより積極的に進める予定である。またサルをさせる最大の利点は、ヒトに対しては絶対に不可能な研究ができることである。以上のことを念頭に置いて、可能であれば新たな研究助成を受けて次の研究を行いたいと考えている。

1) INT阻害剤など新規薬剤のin vivo評価

将来NNRTIのようにHIV-1特異的な新規薬剤が続々と開発作成されるものと思われる。そうした薬剤のHAARTレベルの評価には、本研究で開発したSHIVとサルの系はうってつけである。

2) HAART中断後に再び活発なウイルス産生をする臓器の解明

薬剤処理中にウイルスがどこに潜んでいるのか、耐性ウイルスが活発に動き出すのはどこの臓器なのか、などの疑問を解明することは本疾病の根治療法を探る上で重要な問題である。新規SHIVと薬剤の系はこうした研究に利用できる。

6. 結論

当初期待していた新しいモデル系確立という目標はかなり達成された。今後この系を利用して、より効果的な治療法の探索を重点的に進め、ヒトへの臨床に向けて提案できるよう研究をさらに発展させなければならない。

7. 知的所有権の出願・取得状況(予定を含む)

なし。

研究課題：HIV 感染症の治療開発に関する研究

課題番号：H15・エイズ-003

主任研究者：岡田 則子（名古屋市立大学大学院医学研究科 助教授）

分担研究者：金田 次弘（（独）国立病院機構名古屋医療センター血液免疫研究部 部長）、岡田 秀親（福祉村病院長寿医学研究所 顧問研究員）、飛沢笑山（神戸市環境保健研究所 研究職員）

1. 研究目的

HIV 感染細胞に反応するヒト IgM モノクローナル抗体（9F11 抗体など）を作成することができた。これらのヒト IgM 抗体は HIV 感染細胞に補体と共に働いて細胞障害を起こす。これらのヒト抗体が HIV 感染患者の血液中に含まれる感染細胞や潜伏感染細胞を障害除去できる可能性を検証する。また、Nef に対するヒト IgM 抗体（CF8 など）を作用させたときの効果も検討する。患者末梢血リンパ球から潜伏感染細胞を除去できれば、抗 CD3 抗体と IL-2 で刺激増殖させた LAK-T リンパ球を治療に応用する為の基礎的知見も集積する。補体反応に起因する炎症副作用の制御も想定し炎症抑制ペプチド剤の併用による効果を検討する。

2. 研究方法

ヒト IgM 抗体である 9F11 抗体の抗原を同定するために抗体スクリーニングで cDNA クローニングを行う。その cDNA で作成したリコンビナント蛋白質をウサギに免疫して作成した抗体でも、HIV 感染細胞などでの発現状況を解析する。一方、9F11 抗体アフィニティーカラムなどを用いて 9F11 抗原の精製も行い、抗原分子の同定を試みる。精製分離した抗原断片のアミノ酸配列を解析して抗原分子の特定を行う。HIV 感染患者末梢血細胞での 9F11 抗原の分布を蛍光抗体染色法で解析する。HIV 感染患者の末梢血リンパ球の初代培養に 9F11 抗体等のヒト IgM 抗体と新鮮ヒト血清を補体源として添加することにより HIV プロウイルスを保有した感染リンパ球の排除を試みる。感

染細胞の抑制は P24 の ELISA、HIV 遺伝子の PCR で解析する。Nef に対するヒト IgM 抗体 CF8 の効果も検討する。9F11 抗体の SIV 感染細胞などへの反応性も解析する。9F11 抗体を効率よく大量に作製するために、抗体遺伝子を CHO 細胞に導入しリコンビナント抗体の作製も試みる。また、過剰な補体反応による副作用に対処するために開発した C5a 阻害ペプチドの活用法についての検討も行う。

（倫理面への配慮）

HIV 感染患者の末梢血の解析は、（独）国立病院機構名古屋医療センター倫理委員会の承認のもとに、実験目的などを明確に説明して、書面による同意を得た上で実験を実施した。個人情報も適切に管理する。

3. 研究結果

9F11 抗体で SWAP70 の cDNA がクローニングされた。リコンビナント SWAP70 で作成した抗 SWAP70 抗体は、HIV 感染細胞膜に SWAP70 が発現していることを示した。しかし 9F11 抗原は 30 kD であるので、9F11 抗原を精製し、N 末 10 個のアミノ酸配列を解析した。その配列はデータベースにはみつからず、新規なタンパク質と考えられ SWAP70 との関連性を解析中である。HIV 感染患者 CD4 陽性細胞における 9F11 抗原陽性率は 4～29%（平均 12%）の分布を示した。9F11 抗原陽性率は CD4 リンパ球数との逆相関を認めた。HIV 感染患者末梢血リンパ球に 9F11 抗体を新鮮ヒト血清補体と共に反応させた後 IL2 存在下で増殖培養の検討を 200 症例以上で行った。HARRT

治療の影響によりウイルス産生を検出できた症例は全体の5%であった。ウイルス産生が検討できた症例の内、40%の症例で上清中 P24 が完全に抑えられた。それらの症例においてプロウイルス DNA 量が激減する症例も確認された。Nef に対する IgM 抗体である CF8 抗体及び 3B4B 抗体においても感染拡大実験において上清中 P24 の抑制効果が認められた。SHIV や SIV を感染させたサル末梢血にも 9F11 抗原陽性細胞の出現が認められた。しかし、NK 細胞の一部などに 9F11 抗原陽性細胞が確認された。SIV 感染で AIDS 病態を呈する3頭のサルに 5mg/kg の 9F11 抗体を1週間に3回のスケジュールで静脈内投与を試みた。最初のサルでは、異常症状は認められなかったが、2回目では2回目の投与で免疫複合体形成によると思われるショック症状を呈して死亡した。3回目でも軽度のショック症状が認められた。ショック死したサルの組織や血漿を用いてその原因を追究すると共に、過剰補体活性化反応に伴うショック症状を制御するために開発した C5a 阻害ペプチド剤の救命効果及び AIDS 病態の改善に関する検討を行った。

4. 考察

9F11 抗体の抗原遺伝子として SWAP70cDNA がクローニングされ、SWAP70 に対する抗体での解析でも HIV 感染細胞膜上で SWAP70 の発現が認められた。しかし 9F11 抗原は 30 kD を示し、SWAP70 との異同の解析を進めている。精製した 9F11 抗原の N 末 10 個のアミノ酸配列に一致するものはデータベースには見つからず、SWAP70 と 9F11 抗原との関連性を解析中である。患者末梢血の感染細胞を 9F11 と補体血清の処理すると 40% の患者において p24 の産生を完全に抑えることが出来た。プロウイルス陽性細胞が激減する症例も確認されているがプロウイルス陽性細胞は完

全に消失しない症例も存在するので、LAK-T 細胞、抗 Nef 抗体、化学療法剤などの併用で、プロウイルス陽性細胞を完全に排除する方法を開発したい。補体活性化による過剰炎症反応の制御には C5a 阻害ペプチドの活用が可能であり、副反応の制御によりヒト IgM 抗体 9F11 やヒト抗 NefIgM 抗体 CF8 の AIDS 治療における有用性が期待できる。

5. 自己評価

1) 達成度について

感染患者の末梢血リンパ球初代培養に対する有効性が認められたことは心強い。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

IgM 抗体治療の有用性が高まり、社会的意義も大きい成果と考えている。

3) 今後の展望について

複数の IgM 抗体や化学療法剤を組み合わせ、プロウイルス陽性細胞を完全に排除する条件を究明したい。

6. 結論

IgM 抗体が有用である可能性が高まった。

7. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

- ・特許第 3463143 号「糖鎖認識抗体及び HIV 感染症資料剤」（平成 15 年 8 月 22 日）特許権者：岡田秀親；発明者：岡田秀親、岡田則子。
- ・特願 2003-74316（平成 15 年 3 月 25 日提出）「HIV 感染細胞にアポトーシスを誘導するヒト IgM 抗体及び HIV 感染症治療剤」出願人：岡田秀親、岡田則子；発明者：岡田秀親、岡田則子
- ・国際出願番号 PCT/JP03/08305（2003 年 6 月 30 日）
- ・特願 2003-74312（平成 15 年 3 月 25 日提出）「活性化リンパ球を同種補体を介して溶解させるヒト IgM 抗体」出願人：岡田秀親、岡田則子；発明者：岡田秀親、岡田則子
- ・国際出願番号 PCT/JP03/08306（2003 年 6 月 30 日）

研究課題：HIV 感染症の治療開発に関する研究

課題番号：H15・エイズ-003

主任研究者：岡田 則子（名古屋市立大学大学院医学研究科 助教授）

分担研究者：金田 次弘（（独）国立病院機構名古屋医療センター血液免疫研究部 部長）、岡田 秀親（福祉村病院長寿医学研究所 顧問研究員）、飛沢笑山（神戸市環境保健研究所 研究職員）

1. 研究目的

HIV 感染細胞に反応するヒト IgM モノクローナル抗体（9F11 抗体など）を作成することができた。これらのヒト IgM 抗体は HIV 感染細胞に補体と共に働いて細胞障害を起こす。これらのヒト抗体が HIV 感染患者の血液中に含まれる感染細胞や潜伏感染細胞を障害除去できる可能性を検証する。また、Nef に対するヒト IgM 抗体（CF8 など）を作用させたときの効果も検討する。患者末梢血リンパ球から潜伏感染細胞を除去できれば、抗 CD3 抗体と IL-2 で刺激増殖させた LAK-T リンパ球を治療に応用する為の基礎的知見も集積する。補体反応に起因する炎症副作用の制御も想定し炎症抑制ペプチド剤の併用による効果を検討する。

2. 研究方法

ヒト IgM 抗体である 9F11 抗体の抗原を同定するために抗体スクリーニングで cDNA クローニングを行う。その cDNA で作成したリコンビナント蛋白質をウサギに免疫して作成した抗体でも、HIV 感染細胞などでの発現状況を解析する。一方、9F11 抗体アフィニティーカラムなどを用いて 9F11 抗原の精製も行い、抗原分子の同定を試みる。精製分離した抗原断片のアミノ酸配列を解析して抗原分子の特定を行う。HIV 感染患者末梢血細胞での 9F11 抗原の分布を蛍光抗体染色法で解析する。HIV 感染患者の末梢血リンパ球の初代培養に 9F11 抗体等のヒト IgM 抗体と新鮮ヒト血清を補体源として添加することにより HIV プロウイルスを保有した感染リンパ球の排除を試みる。感

染細胞の抑制は P24 の ELISA、HIV 遺伝子の PCR で解析する。Nef に対するヒト IgM 抗体 CF8 の効果も検討する。9F11 抗体の HIV 感染細胞などへの反応性も解析する。9F11 抗体を効率よく大量に作製するために、抗体遺伝子を CHO 細胞に導入しリコンビナント抗体の作製も試みる。また、過剰な補体反応による副作用に対処するために開発した C5a 阻害ペプチドの活用法についての検討も行う。

（倫理面への配慮）

HIV 感染患者の末梢血の解析は、（独）国立病院機構名古屋医療センター倫理委員会の承認のもとに、実験目的などを明確に説明して、書面による同意を得た上で実験を実施した。個人情報には適切に管理する。

3. 研究結果

9F11 抗体で SWAP70 の cDNA がクローニングされた。リコンビナント SWAP70 で作成した抗 SWAP70 抗体は、HIV 感染細胞膜に SWAP70 が発現していることを示した。しかし 9F11 抗原は 30 kD であるので、9F11 抗原を精製しアミノ酸配列の解析を試みた。解析されたアミノ酸配列には SWAP70 との相同性が検出されなかった。HIV 感染患者末梢血リンパ球に 9F11 抗体を新鮮ヒト血清補体と共に反応させた後 IL2 存在下で増殖培養の検討を 200 症例以上について行った。HARRT 治療の影響によりウイルス産生を検出できた症例は全体の 5% であった。ウイルス産生が検出できた症例の内、40% の症例で上清中 P24 が完全に抑えられた。それらの症例においてプロウイルス

DNA 量が激減する症例も確認された。Nef に対する IgM 抗体である CF8 抗体及び 3B4B 抗体においても感染拡大実験において上清中 P24 の抑制効果が認められた。SHIV や SIV を感染させたサルの上梢血にも 9F11 抗原陽性細胞の出現が認められた。しかし、NK 細胞の一部などに 9F11 抗原陽性細胞が確認された。SIV 感染で AIDS 病態を呈する 3 頭のサルに 5mg/kg の 9F11 抗体を 1 週間に 3 回のスケジュールで静脈内投与を試みた。最初のサルでは、異常症状は認められなかったが、2 頭目では 2 回目の投与で免疫複合体形成によると考えられるショック症状を呈して死亡した。3 頭目でも軽度のショック症状が認められた。ショック死したサルの組織や血漿を用いてその原因を追究中である。9F11 抗体を HIV 感染 MOLT 4 細胞に作用させると TNF α を産生させる作用が認められたので、この現象もショック症状の発現に関与している可能性もある。過剰補体活性化反応に伴うショック症状を制御するために C5a 阻害ペプチド (AcPepA) の効果を検討した。C5a は強力な起炎因子であり HIV 産生増強作用がある。そこで C5a 阻害ペプチドが抗 HIV 効果を示すことを検証した。

4. 考察

9F11 抗体の抗原遺伝子として SWAP70cDNA がクローニングされ、SWAP70 に対する抗体での解析でも HIV 感染細胞膜上で SWAP70 の発現が認められた。しかし 9F11 抗原は 30 kD を示し、SWAP70 との異同の解析を進めている。精製した 9F11 抗原の N 末 10 個のアミノ酸配列に一致するものはデータベースには見つからず、SWAP70 と 9F11 抗原との関連性を解析中である。患者末梢血リンパ球を 9F11 と補体血清で処理すると 40% の患者において p 24 の産生を完全に抑えることが出来た。プロウイルス陽性細胞が激減する症例も確認されているがプロウイルス陽性細胞は完全に

は消失しない症例も存在するので、LAK-T 細胞、抗 Nef 抗体、化学療法剤などの併用で、プロウイルス陽性細胞を完全に排除する方法を開発したい。補体活性化による過剰炎症反応の制御には C5a 阻害ペプチドの活用が可能であり、副反応の制御によりヒト IgM 抗体 9F11 やヒト抗 NefIgM 抗体 CF8 の AIDS 治療における有用性が期待できる。

5. 自己評価

1) 達成度について

感染患者の上梢血リンパ球初代培養に対する有効性が認められたことは心強い。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

IgM 抗体治療の有用性が高まり、社会的意義も大きい成果と考えている。

3) 今後の展望について

複数の IgM 抗体や化学療法剤を組み合わせ、プロウイルス陽性細胞を完全に排除する条件を究明したい。

6. 結論

IgM 抗体が有用である可能性が高まった。

7. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

- ・特許第 3463143 号「糖鎖認識抗体及び HIV 感染症資料剤」(平成 15 年 8 月 22 日) 特許権者: 岡田秀親; 発明者: 岡田秀親、岡田則子。
- ・特願 2003-74316 (平成 15 年 3 月 25 日提出) 「HIV 感染細胞にアポトーシスを誘導するヒト IgM 抗体及び HIV 感染症治療剤」出願人: 岡田秀親、岡田則子; 発明者: 岡田秀親、岡田則子
- ・国際出願番号 PCT/JP03/08305 (2003 年 6 月 30 日)
- ・特願 2003-74312 (平成 15 年 3 月 25 日提出) 「活性化リンパ球を同種補体を介して溶解させるヒト IgM 抗体」出願人: 岡田秀親、岡田則子; 発明者: 岡田秀親、岡田則子
- ・国際出願番号 PCT/JP03/08306 (2003 年 6 月 30 日)

研究課題：エイズ脳症の発症病態と治療法に関する研究

課題番号：H15・エイズ・004

主任研究者：出雲 周二（鹿児島大学大学院難治ウイルス研 教授・センター長）

分担研究者：

馬場 昌範（鹿児島大学大学院難治ウイルス研 教授）

森 一泰（国立感染症研究所主任研究員）

岸田 修二（都立駒込病院神経内科 医長）

中川 正法（京都府立医大神経内科 教授）

船田 信頭（都立駒込病院病理科 部長）

宇宿功市郎（鹿児島大学大学院 助教授）

木戸 博（徳島大学分子酵素研究センター 教授）

清島 満（岐阜大学医学部 教授）

三隅 将吾（熊本大学大学院 助教授）

1. 研究目的

HAARTの導入によりHIV感染症は長期間コントロールしうる慢性疾患へと変貌している。しかし現在の3剤併用療法では脳症の治療としては不十分で、さらに本邦では新規感染者は増加の傾向が続いており、HAARTによる感染者の長期生存と合わせて、HIV脳症への対応はエイズ対策の中での緊急の課題の一つとなっている。本研究組織は、HIV脳症の病態の解明と治療法の開発をめざしてH12-14年度の3カ年の研究をすすめ、①HIV脳症にはエイズの末期に亜急性に進行する脳症と、HAMと類似の病態による緩徐進行性の神経疾患としてのHIV脳症の独立した二つの神経傷害機構が存在すること、②全国疫学調査とHAART導入前後の剖検例の比較検討により、HAART導入によりエイズ脳症の病態が「エイズ末期の亜急性致死性脳症」から免疫不全を伴わずに発症する「緩徐進行性神経疾患」へ推移する可能性があること明らかにした。

本研究では、この成果をふまえ、「HIV脳症には独立した二つの神経傷害機構が存在する」という視点で、①我国でのHAART導入後のHIV脳症及び他の神経合併症の詳細な実態を明らかにする、②それぞれの病態の発症機序を明らかにし、病態に則した診断法・治療法の開発を目指す、③増加が予想されるHIV感染者の将来の神経系病態を予測し、HIV脳症発症予防の方策を探る、ことを目的としている。

2. 研究方法

本研究の柱として、1)エイズ脳症の臨床病態、特に本邦の神経合併症の動向、2)剖検例を用いた神経合併症の解析、3)エイズ動物モデルの開発とそれを用いた発症病態の解明、4) *In vitro* の系を用いた中枢神経障害の病態機序の解析、5)予防・治療の薬剤の開発、6)HIV脳症発症に関連する内的・外的要因の解析、の研究テーマを設定し、分担研究を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は患者試料を用いているが、各研究機関の承認を得ておこなわれた。また、試料は匿名化し、振当て番号によって取り扱われ、結果の公表に当たっては個人が特定できないよう配慮されている。また、動物実験に際しては動物愛護の精神に沿って、各研究機関の指針に従って適切な疼痛緩和などの方策をおこない実施された。

3. 研究結果

HIV脳症の臨床病態：

まず全国のエイズ拠点病院368施設を対象に2002年、2003年の実態について第2次疫学調査を実施した（回答率52%）。AIDS患者数987名で、神経合併症は97名9.8%にみられ、その比率は以前の調査結果よりも低下していたが、他のHIV関連疾患の低下傾向よりも緩やかで、相対的な神経合併症の頻度は増加していた。78.3%は神経症状がAIDSの初発であった。HIV脳症は14名で、いずれもHAART未治療群で発症していた。HAART治療群では、サイトメガロウイルス脳炎、PML、脳原発悪性リンパ腫がHAART治療下でCD4が保たれた低ウイルス量の段階で発症しており、HAART治療下の神経合併症対策上注目すべき疾患であることが明らかとなった。

今年度は駒込病院のHIV痴呆39例について、HAART導入前後でのHIV痴呆の臨床的予後を検討した。発症時の年齢は中間値45歳。発症時CD4リンパ球数 $17/\mu\text{L}$ 、HIV-RNA 245,500コピー/ml。HAART療法中での発症者はなかった。HAARTによる治療効果は施行例15例中9例のみで長期改善を得た。生命予後はHAART未施行患者の中間値5ヶ月に比し、施行例では38ヶ月で、HAARTにより神経症状を持ったまま長期生存する例が多かった。

さらに大阪にてワークショップを開催し、関西地区、関東地区、東海地区のNeuroAIDSの動向について詳細に検討した。わが国のHIV感染者増加にともないNeuroAIDSも増加する可能性が高いことが指摘されるとともに、エイズ脳症患者の障害を残したままの長期生存に伴い医療の現場で様々な困難が生じている実態が明らかとなった。

病理解剖例での神経病理学的解析：

ウィーン大学の1983年以降の剖検台帳の閲覧より、429例のHIV感染者の剖検例をピックアップし、中から脳に日和見疾患のないエイズ剖検大脳20例を抽出し、前頭葉皮質におけるミクログリアの活性化、astrocyteのグルタミントランスポータEAAT-2の発現、astrocyteの増生、HIV陽性細胞との関連性を検討した。HIV脳炎の病理所見とは独立して、大脳皮質にミクログリアの活性化とEAAT-2の発現低下が生じていること、astrocyteの変性は先行していること、EAAT-2の低下とミクログリアの活性化は相関して生じていることを見出した。また、炎症性サイトカインTNF- α 、IL-1 β は慢性活性化ミクログリアではなく、HIV脳炎を形成するマクロファージに局限して発現していた。サルエイズの検索で示唆された「独立した二つの神経傷害機構」がヒトでも存在することを示す所見である。

駒込病院剖検例の検討では、HIV脳症における細胞傷害に関与する酸化ストレスとの関連を明らかにすることを目的とし、HIV陽性剖検例の前頭葉パラフィン切片をもちいて抗iNOS/NOS type II抗体で免疫染色を行った。iNOS陽性細胞は主に白質に慢性に認められ、皮質では少数で反応性も弱かった。陽性細胞はほとんどがastrocyteと判断されたが、血管周囲の多核および単核細胞にも陽性所見が認められた。HIV感染者では、脳症例、非脳症例ともに陽性細胞が多数出現しており、大きな差異はないと考えられた。また、対照例に比較し脳症例を含むHIV感染例にiNOS発現がより強い傾向がみられ、脳症非発症例にも脳症例とほぼ同程度のiNOSの発現が認められたことから、HIV脳症の組織像が明らかとなる以前にastrocyteの活性化が生じている可能性が示唆された。

動物モデルを用いたHIV脳症の発症機序に関する研究：

サルエイズモデルで、大脳白質の炎症性病態と大脳皮質の変性病態を区別して病理組織学的解析を行った。大脳皮質の変性病態についてはT細胞指向性ウイルス感染サルを用いて検索し、免疫不全に伴ってミクログリアの活性化とastrocyteのアポトーシス、EAAT-2発現低下が生じており、これらの病変局所にはウイルス感染細胞の浸潤は伴っていないことを明らかにした。ヒト剖検例と一致する結果である。炎症性病態については脳に存在するマクロファージ系細胞での感染が病態の指標となるため、細胞指向性、病原性が異なる3種のウイルスをアカゲザルに感染し、細胞指向性、病原性、組織での感染細胞について初期感染期での消化管、主要リンパ組織での感染細胞の局在を検討した。SIVmac239感染ではいずれの組織でも多くのT細胞が感染しており、さらに腸管膜リンパ節や結腸の一部のマクロファージにも感染が見られた。それに対して、MERT感染では感染後14日目に腸管のT細胞に著明な感染、リンパ節にもT細胞の感染が認められたが、マクロファージの感染は見られなかった。一方、MERT、 $\Delta 5\text{G}$ のマクロファージ指向性ウイルス感染で、感染14日目に大脳白質血管周囲細胞への感染がすでに生じていた。

マウスエイズモデルを用いた解析では、TNF- α などのサイトカインによって誘導され、エイズ脳症発症の1つの原因物質と考えられているキノリン酸合成の律速酵素であるindoleamine-2,3-dioxygenase (IDO)とエイズ脳症との関連について検討した。脳症が発症することが確認されている感染

後 10 週後の肺および脳の IDO 活性は著明に増加し、その代謝産物であるキノリン酸合成は著しく増加した。IDO の阻害剤 1 メチルトリプトファン の投与により、その上昇が有意に抑制された。IDO の主な誘導因子であるインターフェロンガンマの上昇はほとんど見られず、インターフェロンガンマ非依存性 IDO 誘導を検討するため、TNF- α などの炎症性サイトカインとの関係について THP-1 細胞を用いて検討した。その結果、TNF- α 、IL-6、IL-1 β は THP-1 細胞において相乗的に IDO を誘導しており、NF- κ B や p38MAPK との関係が明らかとなった (J. Biochem. Fujigaki & Saito Revised)。IDO はエイズ脳症の指標、治療の標的分子として注目される。

In vitro の系を用いた中枢神経障害の病態機序の解析

エイズ脳症の病態におけるアストロサイトの役割を明らかにする目的で、ヒトアストロサイト初代培養細胞と HIV-1 非感染および感染ヒトマクロファージの培養上清を用い、上清がアストロサイトの増殖と遺伝子発現などに与える影響について検討した。その結果、1) HIV-1 感染・非感染マクロファージの培養上清は、in vitro においてヒトアストロサイトの有意な増殖の活性化を引き起こし、その作用は HIV-1 感染マクロファージにおいてより顕著であった。2) HIV-1 感染・非感染マクロファージの培養上清は、ヒトアストロサイトにおいて、SDF-1 α 産生、MMP および TIMP 発現の有意な増加を引き起こした。3) マイクロアレー解析により、非感染および感染上清によって影響を及ぼすアストロサイトの遺伝子に大きな違いは認められなかったが、5 倍以上発現が増強した遺伝子が 2 つ認められ、いずれも angioprotein-like 4 遺伝子であった。

14-3-3 蛋白質がエイズ脳症患者の脳脊髄液中に特異的に検出されることから、ADC の脳内病変の進行状況を的確に把握できるマーカーとして提唱してきた。本研究ではさらに、エイズ脳症の発症への関与が想定されている HIV gp120 による細胞死における 14-3-3 蛋白質の役割、HIV gp120 による脳血管内皮細胞のタイトジャンクション構築障害における 14-3-3 蛋白質の役割について解析した。その結果、1) 14-3-3 蛋白質は gp120 による細胞死経路において、Bad と結合して細胞死に抑制的に働く重要な制御因子である事、2) gp120 による脳血管内皮細胞の細胞間接着構造の破綻は gp120 が Par-PKC 複合体から 14-3-3 蛋白質を解離する事で引き起こされる事を明らかにした。HIV 脳症発症機序においては、主に 2 つのプロセス、感染細胞を含むウイルスの脳内進入とこれによって引き起こされる神経細胞死が重要と考えられるが、今回の解析から、このいずれのプロセスでも 14-3-3 蛋白質が重要な役割を担う事が判明した。

予防・治療の薬剤の開発 :

タンパク質の N-ミリスチル化はその活性発現に重要であり、N-myristoyltransferase (NMT) はその触媒酵素として知られている。N-ミリスチル化阻害剤によって Pr55gag の N-ミリスチル化が阻害された結果、HIV-1 複製が抑制されることは周知の事実で、N-ミリスチル化阻害剤は疎水性の高い誘導体が多いことから脳組織への移行が比較的容易であると予想され、脳内における HIV-1 複製阻害効果が期待される。しかしながら、宿主タンパク質の N-ミリスチル化もまた同時に阻害されるため、細胞毒性が問題点であった。近年、ヒト NMT (hNMT) には 2 つの遺伝子 hNMT1 および hNMT2 が細胞内で複数の isozymes として存在することが明らかとなった。そこで本研究では、hNMT isozyme 特異的な機能抑制が低毒性の HIV-1 複製阻害を可能にするかを検討した。hNMT isozyme 特異的な siRNA を用いた結果、hNMT1 の特異的抑制による HIV-1 複製阻害が観察され、また各 isozyme シングルノックダウンはダブルノックダウンよりも細胞増殖抑制が低かった。以上の結果から、hNMT isozyme 特異的機能抑制は低毒性の HIV-1 複製阻害が達成できることが明らかとなった。またその機序として、NMT1 isozyme のノックダウンにより Pr55gag の raft への適切な移行が影響を受けるためウイルスの感染性が低下することが示唆された。各 hNMT isozyme 特異的阻害剤の開発が必要である。

発症に関わる内的・外的因子の検索 :

HAART 導入以後 HIV 脳症の疫学的背景の変化は著しく、HIV 脳症の発症機序が変化してきていることを伺わせる。HIV 脳症は HIV 感染者全てに発症するわけではなく一部に発症するた

め、発症要因として宿主因子の解析が必須である。我々はレトロウイルス持続感染により起こる HAM 発症宿主因子の解析を行っているが、その要因と報告されている HIV 脳症発症要因の関連を検討した。両疾患で発症危険度を増していると考えられるのは TNF- α -863A allele であったが、SDF-3' +801 AA genotype と IL-10 -592A allele は HAM で危険度を減じ、HIV 脳症では危険度が増すことが推定された。MCP-1 promoter -2578A/G 多型は HAM では発症危険度には関連がなかったが、HIV 脳症の危険度を増していた。この結果をもとに、全国疫学調査により得られていた感染者をコホートとした前向き調査の準備を開始した。

4. 考察・自己評価

1) 達成度について :

ヒト症例を対象にした臨床的解析に関して、第 2 次全国疫学調査、ワークショップを実施し、HAART 治療下で HIV 関連疾患が減少する中、患者の長期生存に伴い神経合併症の相対的頻度の増加と診療現場での様々な困難が増している実態を明らかにした。HAART 治療下で免疫不全の進行を伴わずにサイトメガロウイルス脳炎、PML、脳原発性リンパ腫が発症しており、HIV 脳症自体は緩徐進行性潜在性の病態をとることを予想しており、神経内科医、精神科医、臨床心理士等のグループによる長期前向き調査体制が必要である。発症病態についてはウィーン大学剖検例、駒込病院剖検例の解析により、ヒトにおいても HIV 脳炎と大脳皮質の変性病態は独立して生じていることを検証すると共に、発症病態としてアストロサイトの傷害とミクログリアの活性化の関与が重要であることを明らかにした。ミクログリアの活性化が神経保護に働いている可能性は新たな視点であり、さらに研究をすすめたい。モデル動物、in vitro の解析からは、病態に関与し治療の標的となりうる分子として、Tat の亜鉛結合 cysteine-rich domain、14-3-3 蛋白、インドールアミン 2,3 ジオキシゲナーゼ、N-ミリスチル転移酵素、TNF- α がリストアップされ、治療薬の開発の足がかりを得た。治療薬の開発につなげたい。

2) 研究成果の学際的・国際的・社会的意義について :

本研究組織で行われた研究のほとんどは過去の研究の継続ではなく、新たにスタートしたものであるが、すでにその幾つかが国際誌に掲載され、また多くが投稿ないし投稿準備中である。また、国際神経病理学会、世界神経学会の数少ない口演発表に採択されるなど、関連学会で積極的に発表され、高い評価を受けている。研究協力者の岡本美佳は本年の日本エイズ学会総会にてエイズ脳症の研究で学術賞を受賞、日本神経学会では出雲が教育講演、岸田がシンポジストとして研究成果を報告し、マスコミ報道されるなどエイズ脳症の重要性を社会的にアピールした。

3) 今後の展望について :

HAART によりエイズ脳症を含めた神経合併症を抱えたまま長期生存する状態がすでに始まっており、HIV 感染が社会的に生産活動をなう成人を中心に広がっていることは、今後、エイズ脳症が医療行政のみならず、社会的・経済的にも HIV 感染症対策の最重要課題となることが想定される。本研究のさらなる推進が必要と思われる。

本研究で得られた知見は、学術的には、HIV 感染の神経傷害機序の解析を通じて、ウイルス学的貢献のみならず、他の難治性神経変性疾患、免疫性疾患の発症機序解明の糸口となる可能性を秘めている。また、ミクログリアやアストロサイトの細胞生物学的研究の発展にも貢献できる。

5. 結論

- HAART 治療下で神経合併症の相対的頻度が増し、医療現場での対応が問題となり始めた。
- ヒトにおいても HIV 脳炎と大脳皮質の変性病態は独立して生じている。
- 大脳皮質の変性病態にはアストロサイトの傷害が重要で、ミクログリアの活性化は神経保護作用と関連している。
- 14-3-3 蛋白はエイズ脳症の神経傷害に抑制的に働く。

6. 知的所有権の出願・取得状況

なし

研究課題：エイズ脳症の発症病態と治療法に関する研究

課題番号：H15・エイズ・004

主任研究者：出雲 周二（鹿児島大学大学院難治ウイルス研 教授・センター長）

分担研究者：

馬場 昌範（鹿児島大学大学院難治ウイルス研 教授）

森 一泰（国立感染症研究所主任研究員）

岸田 修二（都立駒込病院神経内科 医長）

中川 正法（京都府立医大神経内科 教授）

船田 信顕（都立駒込病院病理科 部長）

宇宿功市郎（鹿児島大学大学院 助教授）

木戸 博（徳島大学分子酵素研究センター 教授）

清島 満（岐阜大学医学部 教授）

三隅 将吾（熊本大学大学院 助教授）

1. 研究目的

HAARTの導入によりHIV感染症は長期間コントロールしうる慢性疾患へと変貌している。しかし現在の3剤併用療法では脳症の治療としては不十分で、さらに本邦では新規感染者は増加の傾向が続いており、HAARTによる感染者の長期生存と合わせて、HIV脳症への対応はエイズ対策の中での緊急の課題の一つとなっている。本研究組織は、HIV脳症の病態の解明と治療法の開発をめざしてH12-14年度の3カ年の研究をすすめ、①HIV脳症にはエイズの末期に亜急性に進行する脳症と、HAMと類似の病態による緩徐進行性の神経疾患としてのHIV脳症の独立した二つの神経傷害機構が存在すること、②全国疫学調査とHAART導入前後の剖検例の比較検討により、HAART導入によりエイズ脳症の病態が「エイズ末期の亜急性致死性脳症」から免疫不全を伴わずに発症する「緩徐進行性神経疾患」へ推移する可能性があること明らかにした。

本研究では、この成果をふまえ、「HIV脳症には独立した二つの神経傷害機構が存在する」という視点で、①我国でのHAART導入後のHIV脳症及び他の神経合併症の詳細な実態を明らかにする、②それぞれの病態の発症機序を明らかにし、病態に則した診断法・治療法の開発を目指す、③増加が予想されるHIV感染者の将来の神経系病態を予測し、HIV脳症発症予防の方策を探る、ことを目的としている。

2. 研究方法

本研究の柱として、1)エイズ脳症の臨床病態、特に本邦の神経合併症の動向、2)剖検例を用いた神経合併症の解析、3)エイズ動物モデルの開発とそれを用いた発症病態の解明、4) In vitro の系を用いた中枢神経障害の病態機序の解析、5)予防・治療の薬剤の開発、6)HIV脳症発症に関連する内的・外的要因の解析、の研究テーマを設定し、分担研究を行った。特に昨年度の中間評価で指摘されたHAART導入による神経合併症の変容について、実態の把握のためにHIV感染者が集中する東京、大阪、名古屋地区のエイズ拠点病院の神経診療担当者による具体的な事例報告と対策を考えるワークショップを開催した。また、ヒト剖検例についてウィーン大学との共同研究をさらに推進し、発症病態に関する具体的研究成果の発信に努めた。

（倫理面への配慮）

本研究は患者試料を用いているが、各研究機関の承認を得ておこなわれた。また、試料は匿名化し、振当て番号によって取り扱われ、結果の公表に当たっては個人が特定できないよう配慮されている。また、動物実験に際しては動物愛護の精神に沿って、各研究機関の指針に従って適切な疼痛緩和などの方策をおこない実施された。

3. 研究結果

HIV脳症の臨床病態：

全国のエイズ拠点病院368施設を対象にした昨年度までの第2次疫学調査により、神経合併症の相対的な増加、未治療者の初発症状の78%が神経合併症であること、HAART治療下でCD4が保たれた低ウイルス量の段階でサイトメガロウイルス脳炎、PML、脳原発悪性リンパ腫が発症していることを明らかにした。今年度はHAART導入前後でエイズ脳症の臨床的病態

の変化を明らかにするため、エイズ脳症と診断された駒込病院症例についてretrospectiveに予後を調査し、HAARTの有無による差を検討した。発症時の年齢は中間値45歳。発症時CD4リンパ球数 $17/\mu\text{L}$ 、HIV-RNA 245,500コピー/ml。HAART療法中での発症者はなかった。HAARTによる治療効果は施行例15例中9例のみで長期改善を得た。生命予後はHAART未施行患者の中間値5ヶ月に比し、施行例では38ヶ月で、HAARTにより神経症状が軽症化すると共に、一方で症状を持ったまま長期生存する例が多くなっていることが明らかとなった。

さらに大阪にてワークショップを開催し、関西地区、関東地区、東海地区のNeuroAIDSの動向について詳細に検討した。わが国のHIV感染者増加にともないNeuroAIDSも増加する可能性が高いことが指摘されるとともに、具体的な例として、エイズ脳症患者が障害を残したまま長期生存することに伴い、医療の現場で様々な困難が生じている実態が報告された。エイズ脳症の制御がHIV感染症対策の重要な課題であることが明らかとなった。

病理解剖例での神経病理学的解析：

ウィーン大学との共同研究を推進した。昨年度までの研究で、HIV脳炎の病理所見とは独立して、大脳皮質にミクログリアの活性化とEAAT-2の発現低下が生じていること、astrocyteの変性が先行していることを明らかにし、サルエイズの検索で示唆された「独立した二つの神経傷害機構」がヒトでも存在することを示した。今年度は大脳皮質において定量的解析を加え、EAAT-2の低下とミクログリアの活性化は相関して生じていることを見出した。また、炎症性サイトカインTNF- α 、IL-1 β はび慢性活性化ミクログリアではなく、HIV脳炎を形成するマクロファージに局限して発現していた。エイズ脳症においてミクログリアの活性化は神経保護的に機能していることが示唆される。

駒込病院剖検例の検討では、HIV脳症における細胞傷害に関与する酸化ストレスとの関連を明らかにすることを目的とし、HIV陽性剖検例の前頭葉パラフィン切片をもちいて抗iNOS/NOS type II抗体で免疫染色を行った。iNOS陽性細胞は主に白質にび慢性に認められ、皮質では少数で反応性も弱かった。陽性細胞はほとんどがastrocyteと判断されたが、血管周囲の多核および単核細胞にも陽性所見が認められた。HIV感染者では、脳症例、非脳症例ともに陽性細胞が多数出現しており、大きな差異はないと考えられた。また、対照例に比較し脳症例を含むHIV感染例にiNOS発現がより強い傾向がみられ、脳症非発症例にも脳症例とほぼ同程度のiNOSの発現が認められたことから、HIV脳症の組織像が明らかとなる以前にastrocyteの活性化が生じている可能性が示唆された。

動物モデルを用いたHIV脳症の発症機序に関する研究：

HAART導入後の主要な病態となることが想定される炎症性病態に重要なマクロファージ系細胞での感染病態を検索するため、サルエイズモデルをもちいて、細胞指向性、病原性が異なる3種のウイルス感染系で、初期感染期での消化管、主要リンパ組織での感染細胞の局在を検討した。SIVmac239感染ではいずれの組織でも多くのT細胞が感染しており、さらに腸管膜リンパ節や結腸の一部のマクロファージにも感染が見られた。それに対して、MERT感染では感染後14日目に腸管のT細胞に著明な感染、リンパ節にもT細胞の感染が認められたが、マクロファージの感染は見られなかった。一方中

枢神経では、MERT、 $\Delta 5G$ のマクロファージ指向性ウイルス感染で、感染14日目に大脳白質血管周囲細胞への感染がすでに生じていた。

マウスエイズモデルを用いた解析では、サイトカインによって誘導され、エイズ脳症発症の1つの原因物質と考えられているキノリン酸合成の律速酵素 indoleamine-2,3-dioxygenase (IDO)とエイズ脳症との関連について検討した。昨年度、脳症の発症する感染10週後の肺および脳でIDO活性が著明に増加し、その代謝産物であるキノリン酸合成も著しく増加し、IDOの阻害剤1メチルトリプトファン¹の投与により、その上昇が有意に抑制されたが、IDOの主な誘導因子であるインターフェロンガンマの上昇はほとんど見られないことを見いだした。本年度はインターフェロンガンマ非依存性IDO誘導を検討するため、TNF- α などの炎症性サイトカインとの関係についてTHP-1細胞を用いて検討した。その結果、TNF- α 、IL-6、IL-1 β はTHP-1細胞において相乗的にIDOを誘導しており、NF- κ Bやp38MAPKとの関係が明らかとなった(J. Biochem. Fujigaki & Saito Revised)。IDOはエイズ脳症の指標、治療の標的分子として注目される。

In vitroの系を用いた中枢神経障害の病態機序の解析

エイズ脳症の病態におけるアストロサイトの役割を明らかにする目的で、ヒトアストロサイト初代培養細胞とHIV-1非感染および感染ヒトマクロファージの培養上清を用い、上清がアストロサイトの増殖と遺伝子発現などに与える影響について検討した。昨年度までにHIV-1感染マクロファージの培養上清は、in vitroにおいてヒトアストロサイトの有意な増殖の活性化、SDF-1 α 産生、MMPおよびTIMP発現の有意な増加を引き起こすことを明らかにした。本年度はマイクロアレイ解析により、非感染および感染上清によって影響を受けるアストロサイトの遺伝子に大きな違いは認められなかったが、5倍以上発現が増強した遺伝子が2つ認められ、いずれもangioprotein-like 4遺伝子であった。

14-3-3蛋白質がエイズ脳症患者の脳脊髄液中に特異的に検出されることから、ADCの脳内病変の進行状況を的確に把握できるマーカーとして提唱してきた。本研究ではさらに、エイズ脳症の発症への14-3-3蛋白質の役割を解析してきた。昨年度までにエイズ脳症へ関与が想定されているHIV gp120による細胞死において、14-3-3蛋白質はBadと結合して細胞死に抑制的に働く重要な制御因子である事を明らかにした。本年度はHIV gp120による脳血管内皮細胞のタイトジャンクション構築障害における14-3-3蛋白質の役割について解析した。その結果、gp120による脳血管内皮細胞の細胞間接着構造の破壊はgp120がPar-PKC複合体から14-3-3蛋白質を解離する事で引き起こされる事を明らかにした。HIV脳症発症機序においては、主に2つのプロセス、感染細胞を含むウイルスの脳内進入とこれによって引き起こされる神経細胞死が重要と考えられるが、今回の解析から、このいずれのプロセスでも14-3-3蛋白質が重要な役割を担う事が判明した。

予防・治療の薬剤の開発：

N-ミリスチル化はタンパク質の活性発現に重要であり、その触媒酵素N-myristoyltransferase (NMT)の阻害によってHIV-1複製が抑制されることは周知の事実である。N-ミリスチル化阻害剤は疎水性の高い誘導体が多く脳組織への移行が容易であると予想され、脳内におけるHIV-1複製阻害効果が期待される。昨年度の研究では、複数のisozymesとして存在するhNMTのisozyme特異的な機能抑制が低毒性のHIV-1複製阻害を可能にするかを検討し、hNMT1の特異的抑制によりHIV-1複製が阻害され、細胞増殖抑制が低かった。本年度はsiRNAを用いてNMT1およびNMT2の発現をノックダウンさせ、myristoyl化をうけるウイルス構成タンパク質であるPr55gag、およびnefタンパク質に与える影響を検討した。その結果、control細胞およびNMT2をノックダウンした細胞と比べてNMT1をノックダウンした細胞では、non-raft/raftにおけるPr55gagの検出比が大きくなっており、NMT1ノックダ

ウンすることによりPr55gagのraftへの移行が正常に行われなくなり、それに伴ってウイルスの感染価が低下していることが示唆された。Pr55gagのraftへのtrafficが影響を受けることによってEnv自身のtrafficも影響を受けると考えられ、ENVのウイルス取り込みも検討したい。

4. 考察・自己評価

1) 達成度について：

ヒト症例を対象にした臨床的解析に関して、今年度はワークショップを実施し、HAART治療下でHIV関連疾患が減少する中、患者の長期生存に伴い神経合併症の相対的頻度の増加と診療現場での様々な困難が増している実態を明らかにした。また全国疫学調査でHAART治療下で免疫不全の進行を伴わずにサイトメガロウイルス脳炎、PML、脳原発悪性リンパ腫が発症していたが、駒込病院のレトロスペクティブな解析でHIV脳症自体はHAARTにより軽症化と共に緩徐進行性潜在性の病態をとることが明らかとなった。軽度の認知障害や性格変化を検出できる神経内科医、精神科医、臨床心理士等のグループによる、長期前向き調査体制が必要である。

発症病態についてはウィーン大学剖検例、駒込病院剖検例の解析により、ヒトにおいてもHIV脳炎と大脳皮質の変性病態は独立して生じていることを検証すると共に、発症病態としてアストロサイトの傷害とミクログリアの活性化の関与が重要であることを明らかにした。ミクログリアの活性化が神経保護に働いている可能性は新たな視点であり、さらに研究をすすめたい。モデル動物、in vitroの解析からは、病態に関与し治療の標的となりうる分子として、Tatの亜鉛結合cysteine-rich domain、14-3-3蛋白質、インドールアミン2,3ジオキシゲナーゼ、Nfミリスチル転移酵素、TNF- α がリストアップされ、治療薬の開発の足がかりを得た。治療薬の開発につなげたい。

2) 研究成果の学際的・国際的・社会的意義について：

本研究組織で行われた研究のほとんどは過去の研究の継続ではなく、新たにスタートしたものであるが、すでにその幾つかが国際誌に掲載され、また多くが投稿ないし投稿準備中である。また、国際神経病理学会、世界神経学会の数少ない口演発表に採択されるなど、関連学会で積極的に発表され、高い評価を受けている。研究協力者の岡本美佳は本年の日本エイズ学会総会にてエイズ脳症の研究で学術賞を受賞、日本神経学会では出雲が教育講演、岸田がシンポジストとして研究成果を報告し、マスコミ報道されるなどエイズ脳症の重要性を社会的にアピールした。

3) 今後の展望について：

HAARTによりエイズ脳症を含めた神経合併症を抱えたまま長期生存する状態がすでに始まっており、HIV感染が社会的に生産活動をにやう成人を中心に広がっていることは、今後、エイズ脳症が医療行政のみならず、社会的・経済的にもHIV感染症対策の最重要課題となることが想定される。本研究のさらなる推進が必要と思われる。

本研究で得られた知見は、学術的には、HIV感染の神経傷害機序の解析を通じて、ウイルス学的貢献のみならず、他の難治性神経変性疾患、免疫性疾患の発症機序解明の糸口となる可能性を秘めている。また、ミクログリアやアストロサイトの細胞生物学的研究の発展にも貢献できる。

5. 結論

- HAART治療下で神経合併症の相対的頻度が増し、医療現場でその対応が問題となり始めた。
- HIV脳炎と大脳皮質の変性病態は独立して生じ、変性病態にはアストロサイトの傷害が重要で、ミクログリアの活性化は神経保護作用と関連している。
- 14-3-3蛋白質はエイズ脳症の神経傷害に抑制的に働く。

6. 知的所有権の出願・取得状況

本年度は特にない

研究課題：HIV 感染妊婦の早期診断と治療および母子感染予防に関する臨床的・疫学的研究

課題番号：H15 - エイズ -007

主任研究者：稲葉 憲之（獨協医科大学 大学病院長）

分担研究者：戸谷 良造（医療法人和合会和合病院 副院長）、喜多 恒和（防衛医科大学校病院 講師）、外川 正生（大阪
市立総合医療センター 副部長）、和田 裕一（国立病院機構仙台医療センター 医長）、塚原 優己（国立成育医
療センター 医師）、北村 勝彦（横浜市立大学医学部公衆衛生学教室 助教授）、名取 道也（告知成育医療
センター 副院長）、牛島廣治（東京大学医学部国際保健学専攻発達医学 教授）

1. 研究目的

わが国における HIV 感染は依然として増加傾向にあり、この傾向は先進国の中では唯一の例外である。特に日本国籍の女性感染者の増加が顕著であり、近未来において感染妊婦と母子感染の急増が危惧される。本研究は HIV 母子感染ゼロを目指して、①周産期における HIV 感染対策の現状把握、②日本の国情に合致した最も有効な母子感染防止対策の確立と標準化、③HIV 母子感染及びその対策に関する啓発教育・広報活動の推進、④母子感染のメカニズム解明や母乳哺育の実現化、に関する臨床的、疫学的研究を行う。

2. 研究方法

(1) 周産期における HIV 感染対策の現状把握 (3 項目)

①妊婦 HIV スクリーニングの実施状況の一次、二次アンケート調査研究(産科施設 1570-1611、小児科施設 3142-3600) (和田分担)、②HIV 感染妊婦並びにその出生児の後方視的調査研究(喜多、外川分担)、③HIV 母子感染予防対策未施行例の社会疫学的解析と予防対策に関する研究(戸谷分担)

(2) 日本の国情に合致した最も有効な母子感染防止対策の確立と標準化 (5 項目)

①妊婦 HIV スクリーニングの実施率向上と医療経済的検討(和田分担)、②わが国における HIV 感染妊娠発生数の将来予測(塚原分担)、③妊婦 HIV スクリーニング検査における偽陽性率の検討と偽陽性例への対応(塚原分担)、④感染女性の性行動と妊娠にかかわる問題の整理と妊娠前支援体制の強化(塚原分担)、⑤経膈分娩を可能にする妊婦血中ウイルス量の同定(喜多分担)

(3) 啓発教育・広報活動の推進 (4 項目)

①「HIV 母子感染予防対策マニュアル」の改訂・配布(塚原分担)、②妊婦・感染女性・産科施設向け小冊子作成・配布(塚原分担)、③研究成果発表会(エイズ予防財団主催)(和田分担)、④学会活動、マスコミを通じた報道・広報活動(稲葉分担)

(4) 母子感染のメカニズムや母乳哺育の実現に関する研究 (2 項目)

①HIV 母子感染における α -defensin の役割に関する検討(稲葉分担)、②母乳より HIV 除去における酸化チタン添加+UV 照射の有効性検討(名取分担)

(倫理面への配慮)

臨床研究においては、文部科学省・厚生労働省「疫学研究の倫理指針」を遵守し、必要があれば研究施設の倫理委員会の承認を得ることとした。

3. 研究結果

(1) 周産期における HIV 感染対策の現状把握

①妊婦 HIV スクリーニング実施率は平成 15 年度 89.7%、平成 16 年度 91.1%で調査開始の平成 11 年度から 17.9%上昇した。実施率のもっとも高い関東甲信越ブロックと最も低い九州ブロックの地域較差は平成 11 年度の 52.9%から平成 16 年度は 21.1%に減少した。②平成 16 年度までの HIV 陽性妊婦は総数 346 例となり(平成 17 年度分含まず)、その内訳は帝切分娩 179 例、経膈分娩 33 例、中絶・流産 84 例、妊娠中・不明などが 50 例であった。③HIV 感染妊婦 346 例の地域分布は東京 88 例、千葉 46 例、愛知 28 例で、国籍別には日本 129 例(37.3%)、タイ 110 例(31.8%)、次いでブラジル 26 例(7.5%)であった。④帝切分娩は 179 例中結果不明の 30 例を除いた 149 例中 2 例(1.3%)のみが母子感染を認め、経膈分娩では分娩前に母 HIV 陽性が分かっていた 20 例中 5 例(25.0%)に母子感染が生じた。⑤HIV 感染妊婦への抗ウイルス薬の投与は、帝切分娩 179 例の 72.6%に、一方経膈分娩では 33 例中 4 例(12.1%)に止まり、平成 16 年以降は HAART (3、または 4 剤)が主流であった。⑥HIV 母子感染集積症例 35 例中 33 例(94%)は HIV 母子感染対策未施行例で、21 例(60%)が母乳哺育であった。

(2) 日本の国情に合致した最も有効な母子感染防止対策の確立と標準化

①HIV 母子感染児の 94%が妊婦 HIV スクリーニング未施行であり、同スクリーニングの重要性が再認識された。HIV 陽性児の治療費(300 万円)と治療期間 (20 年) と仮定した推定検討では、妊婦 HIV 陽性頻度が 0.03%未満であった場合でも全妊婦 HIV スクリーニングの経済的有効性が示された。②昨年、産婦人科 2 次調査のデータに基づいた HIV 感染妊婦数の近未来、中長期予測推計にて感染妊婦数の増加傾向を示したが、現在更に正確な外挿法による予測推計を実施中である。③4,424 件の妊婦血液検体中スクリーニング検査陽性 13 例うち確認検査陽性 1 例で、偽陽性率 0.3%、陽性的中率 7.7%で、確認試験の重要性が示された。④個別アンケート調査により、女性感染者 32 名中 30 名 (93.8%) が特定のパートナーとのみ性交渉を行い、24 名 (75.0%) は常にコンドームを使用していた。20 歳代の感染者の 14 人中 8 人 (57.1%)、30 歳代の 21 人中 7 人 (33.3%) が育児希望ありと回答しており、女性感染者カップルが、感染の危険を回避しかつ妊娠可能な方法 (人工授精や体外受精など) の情報提供が急務である。⑤経膈分娩をした妊婦 33 例中 3 例のみが ART を受けたが、児の転帰に関しては 2 名が未感染、1 名が不明、経膈分娩選択の理由も明らかでない。経膈分娩による母子感染の安全性に関する検討は更なる調査が必要である。

(3) 啓発教育・広報活動の推進

①「HIV 母子感染予防対策マニュアル」は既に二回改訂したが(7,000 部)、最終年度の成果を加えて現在作成中である。②「妊婦向け小冊子」は昨年産科施設に 40,000 部を配布したが、更に改訂し 60,000 部を印刷中である。更に、わが国独自のそしてわが国初めての感染女性向け小冊子「女性のための Q&A—あなたと赤ちゃんのためにできること—」を作成し、5,000 部を全国 HIV/AIDS 拠点病院に配布した。③研究成果発表会をエイズ予防財団主催のもと、この 3 年間に計 9 回開催した (平成 15 年:福岡市、盛岡市、名古屋市、16 年:大分市、東京都、山形市、17 年:札幌市、下関市、名護市)。④3 年間に以下の学会・広報活動を行った。国際学会:計 13 題 (2 題:シンポジウム)、国内学会:計 94 題 (12 題:シンポジウム)、新聞報道:12 回、テレビ放送:2 回

(4) 母子感染のメカニズムや母乳哺育の実現に関する研究

① α -defensin 1-3 は直接的な抗 HIV 作用を有しており、母体血中ウイルス量と同様、経膈分娩の選択基準の一つになり得る可能性が示唆された。②母乳中の HIV-1 は酸化チタン添加及び UV 照射により破壊されるとの実験結果を得た。

4. 考察

この 3 年間、当班は持続して周産期における HIV 感染対策の現状把握に努め、日本の国情に合致した最も有効な母子感染防止対策の確立と標準化並びに啓発・広報活動に努力してきた。その結果、妊婦 HIV スクリーニングの実施率は増加し、地域差も解消されてきた。班是である「先ず、スクリーニングありき」が公認されつつある証拠であり、全妊婦スクリーニングの医療経済性が証明された現在、この班是は国是でもある予防医学重視に合致するものである。また、近・中長期未来における HIV 感染妊婦 (日本国籍) は増加するとの予測推計結果は極めて重要な成果で、中国の例を出すまでもなく改めて「持続する」HIV 対策の重要性を支持している。

HIV 母子感染に対する HAART と予定帝王切開の有用性は当研究により明らかになったが、HAART の児に対する影響と経膈分娩の可能性は今後の長期フォローアップを待たねばならない。

5. 自己評価

(1) 達成度について

当初の研究目的 (①-④) をこの 3 年間でほぼ達成できたと考える。

(2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

当研究班の研究は厚労省エイズサーベイランス委員会や他の研究班では行われておらず、われわれの研究成果の学術的・社会的意義は非常に高いと考えている。また、先進諸国の中で唯一 HIV 感染者数が増加しつつある現状より、当研究班の成果は国際的にも国内的にも影響度が高いと考えられる。

(3) 今後の展望について

わが国では若年者を中心に HIV 感染が増加しているが、HIV 感染妊婦は微増である。これは当班の啓発教育と広報活動に拠るところが大きいと考えている。今後は本研究を継続すると共に少子化の現状を鑑みて HIV 感染者の「生殖領域」にも研究を拡大すべきである。

6. 結論

HIV 母子感染予防は先ず全妊婦 HIV スクリーニングから始まり、次いでわが国に合致した予防対策のマニュアル作成と最新知識に基づいた改訂、さらにその啓発教育活動に尽きる。この事実が当班の研究成果より明らかになった。

7. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

現在、予定を含めて特にありません。

研究課題：HIV 感染妊婦の早期診断と治療および母子感染予防に関する臨床的・疫学的研究

課題番号：H15 - エイズ -007

主任研究者：稲葉 憲之（獨協医科大学 大学病院長）

分担研究者：戸谷 良造（医療法人和合会和合病院 副院長）、喜多 恒和（防衛医科大学校病院 講師）、外川 正生（大阪
市立総合医療センター副部長）、和田 裕一（国立病院機構仙台医療センター 医長）、塚原 優己（国立成育医
療センター 医師）

1. 研究目的

わが国における HIV 感染は依然として増加傾向にあり、この傾向は先進国の中では唯一の例外である。特に日本国籍の女性感染者の増加が顕著であり、近未来において感染妊婦と母子感染の急増が危惧される。本研究は HIV 母子感染ゼロを目指して、①周産期における HIV 感染対策の現状把握、②日本の国情に合致した最も有効な母子感染防止対策の確立と標準化、③HIV 母子感染及びその対策に関する啓発教育・広報活動の推進、④母子感染におけるリスク因子に関する検討、などの疫学的、臨床的研究を行う。

2. 研究方法

(1) 周産期における HIV 感染対策の現状把握 (3 項目 4 分担班)

①妊婦 HIV スクリーニングの実施状況の一次、二次アンケート調査研究(産科施設 1570、小児科施設 3500) (和田分担)、②HIV 感染妊婦並びにその出生児の後方視的調査研究と産科小児科統合ファイル作成 (喜多、外川分担)、③HIV 母子感染予防対策未施行例の社会疫学的解析と予防対策に関する研究 (戸谷分担)

(2) 日本の国情に合致した最も有効な母子感染防止対策の確立と標準化 (5 項目 3 分担班)

①妊婦 HIV スクリーニングの実施率向上と医療経済的検討 (和田分担)、②わが国における HIV 感染妊娠発生数の将来予測 (塚原分担)、③妊婦 HIV スクリーニング検査における偽陽性率の検討と偽陽性例への対応 (塚原分担)、④感染女性の性行動と妊娠にかかわる問題の整理と妊娠前支援体制の強化 (塚原分担)、⑤経膈分娩を可能にする妊婦血中ウイルス量の同定 (喜多分担)

(3) 啓発教育・広報活動の推進 (4 項目 3 分担班)

①「HIV 母子感染予防対策マニュアル」の改訂・配布 (塚原分担)、②妊婦・感染女性・産科施設向け小冊子作成・配布 (塚原分担)、③研究成果発表会 (エイズ予防財団主催) (和

田分担)、④学会活動、マスコミを通じた報道・広報活動 (稲葉分担)

(4) 母子感染におけるリスク因子に関する検討 (2 項目 1 分担班)

①HIV 母子感染における α -defensin の役割に関する検討 (稲葉分担)、②分娩周辺時、母体血中・頸管粘液中の HIV ウィルスコピー数に関する検討 (稲葉分担班)

(倫理面への配慮)

臨床研究においては、文部科学省・厚生労働省「疫学研究の倫理指針」を遵守し、必要があれば研究施設の倫理委員会の承認を得ることとした。

3. 研究結果

(1) 周産期における HIV 感染対策の現状把握

①妊婦 HIV スクリーニング実施率は、平成 16 年度 91.1%で調査開始の平成 11 年度から 17.9%上昇した。実施率のもっとも高い関東甲信越ブロックと最も低い九州ブロックの地域較差は平成 11 年度の 52.9%から平成 16 年度は 21.1%に減少した。②平成 16 年度までの HIV 陽性妊婦は総数 346 例となり、その内訳は帝切分娩 179 例、経膈分娩 33 例、中絶・流産 84 例、妊娠中・不明などが 50 例であった。③HIV 感染妊婦 346 例の地域分布は東京 88 例、千葉 46 例、愛知 28 例で、国籍別には日本 129 例 (37.3%)、タイ 110 例 (31.8%)、次いでブラジル 26 例 (7.5%) であった。④帝切分娩では 179 例中結果不明の 30 例を除いた 149 例中 2 例 (1.3%) のみに母子感染を認め、経膈分娩では分娩前に母 HIV 陽性が分かっていた 20 例中 5 例 (25.0%) に母子感染が生じた。⑤HIV 感染妊婦への抗ウイルス薬の投与は、帝切分娩 179 例の 72.6%に、一方経膈分娩では 33 例中 4 例 (12.1%)に止まり、平成 16 年以降は HAART (3、または 4 剤) が主流であった。⑥HIV 母子感染集積症例 35 例中 33 例 (94%) は HIV 母子感染対策未施行例で、21 例 (60%) が母乳哺育であった。

(2) 日本の国情に合致した最も有効な母子感染防止対策の確立と標準化

①HIV 母子感染児の 94%が妊婦 HIV スクリーニング未施行であり、同スクリーニングの重要性が再認識された。HIV 陽性児の治療費(300 万円)と治療期間 (20 年) と仮定した推定検討では、妊婦 HIV 陽性頻度が 0.03%未満であった場合でも全妊婦 HIV スクリーニングの経済的有効性が示された。②産婦人科 2 次調査のデータに基づいた HIV 感染妊婦数の近未来、中長期予測推計にて感染妊婦数の増加傾向が示されたが、更に正確な外挿法による予測推計を計画中である。③4, 424 件の妊婦血液検体中スクリーニング検査陽性 13 例うち確認検査陽性 1 例で、偽陽性率 0.3%、陽性的中率 7.7%で、確認試験の重要性が示された。④個別アンケート調査により、女性感染者 32 名中 30 名 (93.8%) が特定のパートナーとのみ性交渉を行い、24 名 (75.0%) は常にコンドームを使用していた。20 歳代の感染者の 14 人中 8 人 (57.1%)、30 歳代の 21 人中 7 人 (33.3%) が挙児希望ありと回答しており、女性感染者カップルが、感染の危険を回避しかつ妊娠可能な方法 (人工授精や体外受精など) の情報提供が急務である。⑤経膈分娩をした妊婦 33 例中 3 例のみが ART を受けたが、児の転帰に関しては 2 名が未感染、1 名が不明、経膈分娩選択の理由も明らかでない。経膈分娩による母子感染の安全性に関する検討は更なる調査が必要である。

(3) 啓発教育・広報活動の推進

①「HIV 母子感染予防対策マニュアル」は既に二回改訂したが(7,000 部)、最終年度の成果を加えて現在作成中である。

②「妊婦向け小冊子」は昨年産科施設に 40,000 部を配布したが、更に改訂し 60,000 部を印刷中である。また、全国 HIV/AIDS 拠点病院配布用の感染女性向け小冊子「女性のための Q&A—あなたと赤ちゃんのためにできること—」を作成中である。③研究成果発表会をエイズ予防財団主催のもと、札幌市、下関市、名護市にて開催した。④平成 17 年度は以下の学会・広報活動を行った。国際学会：7thICAAP 計 4 題、国内学会：計 29 題 (9 題：シンポジウム)、新聞・メディア報道：4 回、テレビ放送：1 回

(4) 母子感染におけるリスク因子に関する検討

①、②子宮頸管中 α -defensin 1-3、HIV ウイルスコピー数は母体血中値と相関しない例があり、両因子が経膈分娩選択の判定基準の一つになり得る可能性が示唆された。

4. 考察

この 3 年間、当班は持続して周産期における HIV 感染対策の現状把握に努め、日本の国情に合致した最も有効な母子感染

防止対策の確立と標準化並びに啓発・広報活動に努力してきた。その結果、妊婦 HIV スクリーニングの実施率は増加し、地域差も解消されてきた。班是である「先ず、スクリーニングありき」が公認されつつある証拠であり、全妊婦スクリーニングの医療経済性が証明された現在、この班是は国是でもある予防医学重視に合致するものである。また、近・中長期未来における HIV 感染妊婦 (日本国籍) は増加するとの予測推計結果は極めて重要な成果で、中国の例を出すまでも無く改めて「持続する」HIV 対策の重要性を支持している。HIV 母子感染に対する HAART と予定帝王切開の有用性は当研究により明らかになったが、HAART の児に対する影響と経膈分娩の可能性は今後の長期フォローアップを待たねばならない。

5. 自己評価

(1) 達成度について

当初の研究目的 (①-④) を最終年度ではほぼ達成できたと考ええる。

(2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

当研究班の研究は厚労省エイズサーベイランス委員会や他の研究班では行われておらず、われわれの研究成果の学術的・社会的意義は非常に高いと考えている。また、先進諸国の中で唯一 HIV 感染者数が増加しつつある現状より、当研究班の成果は国際的にも国内的にも影響度が高いと考えられる。

(3) 今後の展望について

わが国では若年者を中心に HIV 感染が増加しているが、HIV 感染妊婦は微増である。これは当班の啓発教育と広報活動に拠るところが大きいと考えている。今後は本研究を継続すると共に少子化の現状を鑑みて HIV 感染者の「生殖領域」にも研究を拡大すると共に経膈分娩判定基準の設定や母乳哺育の実現化に研究を広げたい。

6. 結論

HIV 母子感染予防は先ず全妊婦 HIV スクリーニングから始まり、次いでわが国に合致した予防対策のマニュアル作成と最新知識に基づいた改訂、さらにその啓発教育活動に尽きる。この事実が当班の研究成果より明らかになった。

7. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

現在、予定を含めて特にありません。

疫 学 研 究

研究課題：HIV感染症の動向と予防モデルの開発・普及に関する社会疫学的研究

課題番号:H15-エイズ-018

主任研究者

木原正博（京都大学大学院医学研究科社会疫学分野 教授）

分担研究者

橋本修二(藤田保健衛生大学医学部衛生学 教授)、和田 清(国立精神・神経センター精神保健研究所 部長)、小野寺 昭一(東京慈恵会医科大学医学部泌尿器科 教授)、木原雅子(京都大学大学院医学研究科社会疫学分野助教授)

1.研究目的

わが国の HIV/AIDS 流行動向の推計・予測とその特徴の分析、および高リスク層の感染・行動監視を行うと共に、社会疫学的手法に基づいて、わが国の社会文化に適した行政施策に相応しい科学的予防介入モデルの開発と全国的普及を図ることにより、適時適切な行政施策の発展に資する。

2.研究方法と 3.研究結果

A. HIV/AIDS 発生動向解析に関する研究(橋本)

①2002 年末までのエイズ発生動向データを基に、2002 年末現在の HIV/AIDS を 12000/2000 と推計し、逆算法との比較で HAART 療法の発病抑制効果を統計的に算出した。②推計・予測の基本変数として重要な、「感染～自覚の期間(A)」と「自覚～検査の期間(B)」を HIV 感染者 170 名を対象に調査し、A は半数が 9 ヶ月以上、B は 70% が 1 ヶ月未満であること、発病前未検査者が 3/4 に上ることを示した。③先進国(9 ヶ国)の HIV/AIDS サurvey データを感染経路を含め詳細に比較解析することにより、HIV/AIDS の流行曲線の立ち上がり(遅い)、年次推移(AIDS 増加)、年齢分布(若者多い)が先進国中わが国で特徴的であることを示した。

B. ハイリスク層の感染・行動監視に関する研究

(1)薬物乱用・依存者(和田):全国 6 主要薬物依存治療施設の入院患者(全国の 20%相当)及び自助組織協力者の HIV/STI 罹患状況、薬物使用行動、性行動を調査した。例年 400-500 名を調べ、回し打ちは減少傾向だが約 30%と高率で HCV 感染が 40%近いこと、無防備な性行動が活発なこと、HIV 感染者は少数であることを示した。

(2)STD 患者(小野寺):STD 患者における HIV 感染・行動監視を全国 10 以上の STD 診療施設において実施した。1-3%程度の感染率上昇を統計的に有意に検出するために、男/女/カカ/カ各 800 名を目標にサンプル数増加を図り、初年度 302 名から 2 年度は約 1900 名(3 年度は収集中)まで増やした。H16 に、男性で 1.2%の HIV 感染を認めた。

C. 予防介入モデルの開発と普及に関する研究

(1)若者の予防介入研究(木原雅)

3 年間で、社会疫学的諸手法(質・量手法の併用、マーケティング、行動理論、情報伝達理論、教育理論、社会実験法等)を集約した若者予防介入モデル(WYSH モデル)を理論的・実践的にほぼ確立し、同時にその普及・評価を行った。また、若者の性

問題の分析を深め、かつ普及機会の拡大を図るため、多くの性行動調査を実施した。この間に、WYSH モデルは H15 から(社)全国高等学校 PTA 連合会(高 P 連)の全面的支持を得、その研修は H16 から厚生労働省の青少年エイズ対策事業となり、H17 には文部科学省の中央研修に採用されるに至り、極めて多数の学校、自治体から参加希望が寄せられるようになった。そうした背景の下、以下の研究を実施した。

1) 観察的研究: ①全国高校生の性意識・行動調査: 高 P 連と共同で、H16 には性行動実態を、H17 には性行動とコミュニケーションを焦点に、わが国初めての全国 1 万人規模の高校生調査(全国 9 ヶブロック各 5-6 校)を実施した。H16 調査は、性行動が全国等しく活発化、多数化、無防備化している実態を示し、H17 調査では、性行動がコミュニケーション等社会・家族要因に強く規定されていることを示した。②自治体全域の性行動・意識調査: 教育委員会との共同で、H15 には C 市の全中学生(約 7 千人)、H16 には G 県域の高校生(約 24000 人)、H17 には、W 県域の中高生(約 3 万人)を対象に性行動・意識調査を行い、H17 には K 府下の小学生(約 5 千人)を対象に、予防教育への希望調査を行った(H17 年度分は 1-2 月実施予定)。これらの調査により、中学生における大きな意識・知識ギャップの存在、性行動容認意識の高さを示し、また進学校を含めて地方高校生が性的に活発な実態を明らかにした。

2) 予防介入研究: ①中学生・高校生への予防介入研究: H15 には、A 自治体で 22 中学 33 高校(約 13000 名)、H16 は全国から 45 中学 29 高校(約 19000 名)、H17 には、全国から 30 中学、29 高校(8500 名、H17 は厳選)を対象に、WYSH モデルの実施・評価を行った。5-6 月の募集、7 月の事前調査、8 月の研修(H16 以降の研修は青少年エイズ予防対策事業と連動)、9-12 月の介入期間の後、12 月に事後調査を行なって効果を評価した。介入には、社会疫学的に開発したパワーポイント、教育ビデオ(ドラマ/HIV と中絶)、メッセージビデオ(人間関係の大切さ)、地域情報に基づくパンフ・ポスター等の教材を使用した。H17 にビデオをコンピュータグラフィックスを用いて全面改訂し、かつ教材の組み合わせによる中学生用と高校生用授業プログラムを確立した。参加校への質問票調査によって、実際の予防介入のパターンを分析・分類し、パターン別の効果比較を実施した。この結果、中学生では知識が約 30%↑、リスク認知が約 20%↑、性行為容認意識が約 5%↓、コンドーム使用率が 20%↑

変化し、高校生では、それぞれ 20%↑、10%↑、5%↓、10%↑変化することを示した(H17 は集計中)。

(2)滞日外国人の予防介入研究(木原正、岩木)：在日ブラジル人の知識・意識・行動の実態把握のために、H15 より知識・意識・行動へのインタビューを行い、浜松、大泉、名古屋等5つの在日ブラジル人集住地区で質問票調査を行った。H15 はブラジル政府と共同で全メディアを動員した全国キャンペーンを実施したが、行動変容を認めず、H16 からは、新たな介入法開発のために在日ブラジル人学校の生徒等を対象に、フォーカスグループインタビューを実施して質的内容分析を行った。言語障壁による生活空間の制限、性行動への責任感の高さ、学校の位置づけの高さなど日本人の若者とは異なる意識・状況が判明した。

(3)HIV 感染者の予防研究(木原正、井上)：H15 にわが国で初めての HIV 感染者の性行動・意識調査を当事者参加で実施し、3/4 が性的活動を行い、半数がコンドーム非常用であるという重要な事実を示し、共分散構造分析でその関連要因を分析した。また、医療従事者へのフォーカスグループインタビューを行い、感染者支援上の問題点を把握した。H16 には、性生活支援・予防のための感染者と医療従事者向けのパンフレット(「ポジティブな SEX LIFE ハンドブック」、「HIV 感染者のセクシュアルヘルスへの支援」)を当事者参加で作成した。H17 には、11 月~2 月を介入期間として、医療従事者の態度の変化を評価する。

(4)「リパソシオン・スマネジメント(PCM)法の開発に関する研究(木原正、藤原)：個別契約式の予防介入法である PCM 法の文化的咀嚼と人材開発(10 名)を H15 に終え、H16 からパイロット研究を行い、H16 に5名(全員 HIV+で MSM)、H17 に8名(HIV7、MSM6)を対象に介入を行い、対象者の高い満足とコンドームイメージの向上とコンドーム使用上昇効果を確認した。H17 には、普及に必要な研修制度とテキストの開発を行った。

(倫理面での配慮)

疫学研究に関する倫理指針に則って実施した。

4. 考察

アジア流行への強い時局認識のもと、我々は、H11 以来、若者の予防研究の展開を急ぎ、まず一地域で集中的に社会疫学的手法による有効なモデルを(WYSH モデル)開発し、その後全国普及を図るという戦略を取ってきた。WYSH モデルは、授業モデルと社会分業モデルから成るが、幸い、前者は、科学性と社会文化的適切性の面で高く評価され、多数の自治体や学校から参加希望が寄せられ、普及機会の拡大と共に、モデルの進化と多様化が可能となり、良循環が生まれるに至った。教材も H17 に全面改訂し、全国普及の基礎を教材面でもほぼ完成した。今後は、より効率的な普及プログラムの研究が必要である。また、社会分業モデル(ハリスク者支援のための、保健所、医療従事者、民生委員、保護者の連携と役割分担=ソシヤリティ)の確立と評価・普及は今後の最重要課題となるが、その普及が現在の予防教育の混乱の整理に役立つと思われる。一方、滞日外国人の研究では、全国レベルの介入では行動変容効果が見られず、新しいモデルの構築を模索したが、

NGO の人材基盤の不安定もあり、H17 までに予防モデルの開発に至らなかった。

HIV 感染者の予防介入は HAART 療法の普及に伴い、国際的にもエイズ研究の最重要課題とされているが、その困難性故に、わが国には有効な手法が存在しなかった。我々は、この間 PCM 手法の可能性、医療の場での可能性の両面から予防の可能性を追求した。PCM の有効性を確認し、また医療の場で HIV 感染者のセクシュアリティ支援に用いる資料を感染者と共同開発し、その効果を評価しつつある。こうした試みから HIV 感染者の予防の展望が開くことが期待される。STD 患者や薬物静注者(IDU)の監視研究については、最終的に HIV は低率という結果が予想されるが、台湾での IDU 間の流行突発を考えれば、その波及を監視するために、事業化、もしくは研究の継続が必要であろう。

5. 自己評価

1) 達成度について

若者研究は、理論的・実践的に普及可能なモデルとして、教材を含めほぼ確立し、内外での普及が始まると共に、エイズ予防指針策定にも貢献した。滞日外国人研究は人材基盤の不安定性もあり、予防モデル開発まで至らなかった。PCM 法は、HIV 感染者や MSM にわが国でも有効であることを証明した。医療従事者による HIV 感染者への予防介入では、感染者との共同で、医療現場で利用可能な HIV 感染者のセクシュアリティ支援のパンフレットをわが国で初めて完成させた。ハリスク者のモニタリング研究は予定目標を達成した。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

わが国で展開可能な集団・個人対象の予防法の基礎を築くことができた。また、WYSH モデルという内外で評価の高い予防モデルを創出することにより、「社会疫学」という新しい学際的アプローチの有効性を実践的に証明した学術的意義は大きい。また、中国(浙江省)、エドモントンで WYSH プロジェクトが始まるなど国際的に役立つ研究成果となった。

3) 今後の展望について

WYSH モデルは、授業モデルと社会分業モデルからなり前者は、その進化と事業化が鍵となる。社会分業モデルの確立と評価は今後の最重要課題であり、地域単位の効果評価という大規模研究の段階に入る。その成否がわが国の予防の成否を左右すると思われる。PCM 法については HIV 感染者等の行動変容に有効なことを立証した。今後は事業化の推進と、一般的なハリスク層への応用に向けた取り組みが必要である。また、ハリスク集団の感染・行動の監視は、本来行政的課題であるが、アジア流行の接近のため、今後もその必要性は高い。

6. 結論

①HIV/AIDS 動向の解析、②高リスク層の感染・行動監視、③社会疫学的手法に基づく予防介入モデルの開発と普及、④行政施策への貢献という目的をほぼ達成できた。

7. 知的所有権の出願・取得状況 特になし。