

700500590 A
厚生労働科学研究費補助金
エイズ対策研究事業

エイズ脳症の発症病態と 治療法に関する研究

平成17年度 総括・分担研究報告書

平成18(2006)年3月

主任研究者
出 雲 周 二

目 次

I 総括研究報告

HIV 脳症の発症病態と治療法に関する研究	2
主任研究者	
鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科 難治ウイルス病態制御研究センター 出雲周二	

II 分担研究報告

1. HIV 脳症・神経障害の臨床病態：Retrospective にみた HIV 脳症 (HIV 痴呆) の臨床的予後	14
東京都立駒込病院 神経内科	岸田修二、他
2. エイズ脳症に関するワークショップ報告	21
京都府立医科大学 神経内科	中川正法
3. エイズ脳症大脳皮質病変における EAAT-2 の発現低下とミクログリアの活性化： —ヒト剖検例での検討—	25
鹿児島大学大学院 難治ウイルス病態制御研究センター 出雲周二、他	
4. HIV-1 感染者中枢神経系における iNOS 発現に関する免疫組織学的検討	33
東京都立駒込病院 病理科	船田伸顕
5. 1) エイズ脳症のバイオマーカーについて 2) Indoleamine-2, 3-dioxygenase (IDO) の炎症性サイトカインによる酵素誘導と エイズ脳症	41
岐阜大学大学院 臨床検査医学	清島 満、他
6. HIV 感染に伴う中枢神経障害：14-3-3 蛋白質の機能と神経細胞障害の考察	51
徳島大学分子酵素学研究センター・酵素分子化学部門	木戸 博、他
7. SIV のマクロファージ指向性と宿主における感染	58
国立感染症研究所 エイズ研究センター	森 一泰、他
8. マイクロアレイを用いたヒトアストロサイト遺伝子発現の解析： —マクロファージ培養上清が与える影響について—	66
鹿児島大学大学院 難治ウイルス病態制御研究センター 馬場昌範、他	
9. <i>N</i> -Myristoyltransferase-1 阻害による HIV-1 複製制御とエイズ脳症	76
熊本大学大学院 薬学生化学分野	三隅将吾、他
10. エイズ脳症の疾患感受性：—HAM との対比—	82
熊本大学医学部附属病院 医療情報経営企画部	宇宿功市郎、他

III 研究成果の刊行に関する一覧表	85
--------------------	----

総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）
総括研究報告書

研究課題：エイズ脳症の発症病態と治療法に関する研究
(H-15-エイズ-004)

主任研究者 出雲周二 鹿児島大学 難治ウイルス病態制御研究センター 教授

研究要旨：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。本研究では、平成12-14年度の研究成果をふまえ、「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、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と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して平成15年度より3ヶ年の計画で研究をすすめた。その成果として、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。発症病態として、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、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こと、14-3-3蛋白はエイズ脳症の神経傷害に抑制的に働くことを明らかにした。今後エイズ脳症はエイズ末期の亜急性脳症から緩徐進行・遷延性の認知障害、精神・運動障害へと変貌することが想定され、臨床の現場でのきめ細かい対応が必要である。

分担研究者：

都立駒込病院	内科医長	岐阜大学大学院 臨床検査	教授
	岸田修二		清島 満
都立駒込病院	病理科部長	徳島大学分子酵素研	教授
	船田伸顕		木戸 博
京都府立医大神経内科	教授	熊本大学大学院 薬学生化学	助教授
	中川正法		三隅将吾
国立感染研	主任研究員	熊本大学医療情報経営企画部	教授
	森 一泰		宇宿功市郎
鹿児島大学大学院 難治ウイルス研	教授		
	馬場昌範		

A. 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、① HIV 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。

B. 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。

C. 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。この結果をふまえ、岸田らは AIDS 患者の予後不良因子であったエイズ脳症の HAART 導入前後で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 39 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 歳で働き盛りの年齢である。発症時 CD4 リンパ球数 $17/\mu\text{L}$ 、HIV-RNA 245,500 コピー/ml と高度にエイズが進行した段階で発症しており、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。

中川らは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。

清島らはエイズ脳症の臨床病態を反映するバイオマーカーとしてのキノリン酸の好感度で簡便な定量法を開発し、エイズ脳症を発症した患者で HAART ほかの治療前後での髄液中キノリン酸を測定した。治療によって脳症が軽快したケースの全例において、脳症に伴って上昇の見られた髄液キノリン酸濃度は、治療後に減少していた。したがって、髄液キノリン酸濃度の測定は、エイズ脳症のバイオマーカーとして極めて有用であると思われる。

病理解剖例での神経病理学的解析：

出雲らはウィーン大学の 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ー 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 の変性が先行していること、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限局して発現していた。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とともに、大脳皮質でのび慢性ミクログリア活性化は、アストロサイトの障害に伴う神経保護作用の低下をミクログリアが代償していることを示唆している。

船田らの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：

出雲、森らはサルエイズモデルで、大脳皮質の変性病態について 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。森らはエイズウイルスの細胞指向性がエイズ発症、脳症や脳炎の発症などの感染後の病態に与える意義を検討することを目的に、細胞指向性の異なる SIV (T 細胞指向性の SIV239、強マクロファージ指向性の MERT、弱マクロファージ指向性の $\Delta 5G$) のサルでの初期感染における各リンパ系組織での感染細胞の分布、リンパ球サブセットの動態を解析した。3 種のウイルスは *in vitro* の細胞指向性は違うにもかかわらず、リンパ系組織における初期感染の標的組織は腸管であり、感染細胞は T 細胞であることが明らかになった。SIV239 感染サルでは様々なリンパ系組織での感染が持続し感染細胞数が多く、CD4+CCR5+細胞の減少も顕著であったが、MERT と $\Delta 5G$ 感染サルでは感染細胞数が SIV239 感染より少なく、組織における CD4+CCR5+細胞も維持されていた。これらの結果は初期感染の制御と関連していると考えられた。

清島らはマウスエイズモデルを用い、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

馬場らは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う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。

木戸らは 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。本年度の研究ではさらに、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-myristoyl transferase (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。そこで三隅らは、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。宇宿ら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おり、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-alpha -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。

D. 考察

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、脳原発悪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に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。

E. 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。
- 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。

F. 健康危険情報

未治療者の初発症状の 78%が神経合併症で、神経合併症の発症で HIV 感染が判明する例が増加している。

G. 研究発表

出雲周二

1. Xing HQ, Hayakawa H, Mori K, Gelpi E, Sugimoto C, Ono F, Izumo K, Kuboda R, Budka H, Izumo S. Two independent pathogenetic events take place in retroviral brain damage: SIV/HIV-1 encephalitis mainly involving cerebral white matter and primary astrocytic injury in the cortex. *Am J Pathol.* submitted.
2. Izumo S, Xing HQ, Hayakawa H, Kasai T, Budka H. HIV encephalitis and degeneration of the cerebral cortex occur independently in the brain of AIDS patients. *J Neurol Sci* 2005, 238: S98.
3. Xing HQ, Hayakawa H, Kasai T, Budka H, Izumo S. Reduced expression of excitatory amino acid transporter-2 (EAAT-2) and activation of microglia in the cerebral cortex of AIDS patient. *J Neurol Sci* 2005, 238: S318.
4. Furukawa Y, Tara M, Izumo S, Arimura K, Osame M. HTLV-I viral escape and host genetic changes in the development of adult T cell leukemia.

Int J Cancer. 2006, 118:381-7.

5. Matsuzaki T, Saito M, Usuku K, Nose H, Izumo S, Arimura K, Osame M. A prospective uncontrolled trial of fermented milk drink containing viable *Lactobacillus casei* strain Shirota in the treatment of HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Neurol Sci.* 2005, 237:75-81.

岸田修二

1. 岸田修二 : HIV 脳症の治療. 日本医事新報 NO. 4250 P.89 2005
2. 岸田修二 : AIDS 患者に伴う中枢神経日和見感染症: 診断と治療. *Neuroinfection* 10:24-30, 2005
3. Yoritaka A, Ohta K, Kishida S: Herpetic lumbosacral radiculoneuropathy in patients with human immunodeficiency virus infection. *Eur Neurol* 53:179-181, 2005.
4. 岸田修二 : HIV 脳症 .*Clinical Neuroscience* 23:788-791, 2005.

船田信顕

1. 船田信顕. AIDS にみられる感染症の病理. 2005年6月18日第16回日本臨床寄生虫学会(東京)

清島 満

1. Fujigaki H, Saito K, Fujigaki S, Takemura M, Sudo K, Ishiguro H, Seishima M. The signal transducer and

- activator of transcription 1 α and interferon regulatory factor 1 are not essential for induction of indoleamine 2,3-dioxygenase by lipopolysaccharide: involvement of p38 mitogen-activated protein kinase and nuclear factor κ B pathways, and synergistic effect of several proinflammatory cytokines. *J Biochem.* (In Press)
2. Fujigaki H, Saito K, Lin F, Fujigaki S, Takahashi k, Martin BM, Chen CY, Masuda J, Kowalak J, Takikawa O, Seishima M, Markey SP. Nitration and inactivation of indoleamine 2,3-dioxygenase by peroxynitrite. *J. Immunol.* 176: 372-379 (2006)
 3. Zhu Y, Saito K, Murakami Y, Asano M, Iwakura Y, Seishima M Early increase in mRNA levels of pro-inflammatory cytokines and their interaction in the mouse hippocampus after transient global ischemia *Neurosci Lett.* 393(2-3):122-126 (2006)
 4. Murakami Y, Saito K, Hara A, Zhu Y, Sudo K, Niwa M, Fujii H, Wada H, Ishiguro H, Mori H, Seishima M Increases in TNF- α following transient global cerebral ischemia do not contribute to neuron death in mouse hippocampus *J. Neurochem.* 93(6): 1616-1622 (2005)
 5. Sudo K, Ymada Y, Moriwaki H, Saito K, Seishima M. Lack of tumor necrosis factor receptor type 1 inhibits liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in mice. *Cytokine*, 29: 236-244, (2005)
 6. Miyoshi M, Nadai M, Nitta A, Ueyama J, Shimizu A, Takagi K, Nabeshima T, Takagi K, Saito K, Hasegawa T. Role of tumor necrosis factor-alpha in down-regulation of hepatic cytochrome P450 and P-glycoprotein by endotoxin. *Eur J Pharmacol.* 507:229-37, 2005
 7. Nakai M, Sudo K, Yamada Y, Kojima Y, Kato T, Saito K, Moriwaki H, Seishima M. The Role of the Tumor Necrosis Factor Receptor in 2,4,6-Trinitrobenzene Sulfonic Acid (TNBS)-Induced Colitis in Mice. *Dig Dis Sci.* 2005 Sep;50(9):1669-76. (2005)
- 木戸 博
1. Shiga Y, Wakabayashi H, Miyazawa K, Kido H and Itoyama Y. 14-3-3 Protein levels and isoform patterns in the cerebrospinal fluid of Creutzfeldt-Jakob disease patients in the progressive and terminal stages. *J. Clin. Neurosci.* In press (2006)
 2. Yao D, Kuwajima M, Chen Y, Shiota M, Okumura Y, Yamada H and Kido H. Impaired long-chain fatty acid metabolism in mitochondria causes brain vascular invasion by a non-neurotropic epidemic influenza A virus in the newborn/suckling period: implications for influenza-associated encephalopathy. *Mol. Cell Biochem.* In press (2006)

3. Chen Y, Mizuguchi D, Yao D, Ide M, Kuroda Y, Shigematsu Y, Yamaguchi S, Yamaguchi M, Kinoshita M and Kido H. Thermolabile phenotype of carnitine palmitoyltransferase II variations as a predisposing factor for influenza-associated encephalopathy. *FEBS Lett.* 579, 2040-2044 (2005)
3. Tanaka H, Haraguchi K, Kumamoto H, Baba M, Cheng Y-C. 4'-Ethinylstavudine (4'-Ed4T) has potent anti-HIV-1 activity with reduced toxicity and shows a unique activity profile against drug-resistant mutants. *Antiviral Chem. Chemother.* 16: 217-221 (2005).

森 一泰

1. Mori K, Sugimoto C, Ohgimoto S, Nakayama EE, Shioda T, Kusagawa S, Takebe Y, Kano M, Matano T, Yuasa T, Kitaguchi D, Miyazawa M, Takahashi Y, Yasunami M, Kimura A, Yamamoto N, Suzuki Y, Nagai Y Influence of glycosylation on the efficacy of an Env-based vaccine against simian immunodeficiency virus SIVmac239 in a macaque AIDS model. *J Virol.* Aug;79(16):10386-96, 2005
4. Nitanda T, Wang X, Kumamoto H, Haraguchi K, Tanaka H, Cheng Y-C, Baba M. Anti-human immunodeficiency virus type 1 activity and resistance profile of 2',3'-didehydro-3'-deoxy-4'-ethinylthymidine in vitro. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49: 3355-3360 (2005).
5. Takashima K, Miyake H, Kanzaki N, Tagawa Y, Wang X, Sugihara Y, Iizawa Y, Baba M. Highly potent inhibition of human immunodeficiency virus type 1 replication by TAK-220, an orally bioavailable small molecule CCR5 antagonist. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49: 3474-3482 (2005).

馬場昌範

1. Baba M. Cellular factors as targets for anti-HIV-1 chemotherapy. In: Butera ST (Ed), *HIV Chemotherapy: A Critical Review*, pp.241-260. Horizon Scientific Press/Caister Academic Press, Norfolk, UK (2005).
2. Wang X, Baba M. A role of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in the cellular resistance to HIV-1 nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antiviral Chem. Chemother.* 16: 213-216 (2005).
6. Okamoto M, Wang X, Baba M. HIV-1-infected macrophages induce astrogliosis by SDF-1 α and matrix metalloproteinases. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 336: 1214-1220 (2005).
7. Baba M, Takashima K, Miyake H, Kanzaki N, Teshima K, Wang X, Shiraishi M, Iizawa Y. TAK-652 inhibits CCR5-mediated HIV-1 infection in vitro and has favorable

pharmacokinetics in human. *Anti-microb. Agents Chemother.* 49: 4584-4591 (2005).

8. Baba M. Recent status of HIV-1 gene expression inhibitors. *Antiviral Res.* in press.

三隅将吾

1. Shogo Misumi, Daisuke Nakayama, Masashi Kusaba, Takaaki Iiboshi, Ryouzaburo Mukai, Kuniomi Tachibana, Tadashi Nakasone, Mamoru Umeda, Hideaki Shibata, Masafumi Endo, Nobutoki Takamune, and Shozo Shoji Effects of Immunization with CCR5-Based Cycloimmunogen on Simian/HIVSF162P3 Challenge. *J. Immunol.* 176, 463-471. (2006)
2. Daisuke Nakayama¹, Shogo Misumi¹, Ryouzaburo Mukai, Kuniomi Tachibana, Mamoru Umeda, Hideaki Shibata, Nobutoki Takamune and Shozo Shoji Suppression of Multiclade R5 and X4 Human Immunodeficiency Virus Type-1 Infections by a Coreceptor-Based Anti-HIV Strategy. *J. Biochem.* 138, 1-12 (2005)

宇宿功市郎

1. Nobuhara Y, Usuku K, Saito M, Izumo S, Arimura K, Bangham CR, Osame M. Genetic variability in the extracellular matrix protein as a determinant of risk

for developing HTLV-I-associated neurological disease. *Immunogenetics.* 2006 57:944-52.

2. Matsuzaki T, Saito M, Usuku K, Nose H, Izumo S, Arimura K, Osame M. A prospective uncontrolled trial of fermented milk drink containing viable *Lactobacillus casei* strain Shirota in the treatment of HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Neurol Sci.* 2005 237:75-81.
3. Saito M, Eiraku N, Usuku K, Nobuhara Y, Matsumoto W, Kodama D, Sabouri AH, Izumo S, Arimura K, Osame M. ApaI polymorphism of vitamin D receptor gene is associated with susceptibility to HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis in HTLV-1 infected individuals. *J Neurol Sci.* 2005 232:29-35.
4. Sabouri AH, Saito M, Usuku K, Bajestan SN, Mahmoudi M, Foroughipour M, Sabouri Z, Abbaspour Z, Goharjoo ME, Khayami E, Hasani A, Izumo S, Arimura K, Farid R, Osame M. Differences in viral and host genetic risk factors for development of human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis between Iranian and Japanese HTLV-1-infected individuals. *J Gen Virol.* 200586:773-81.

5. Mori S, Mizoguchi A, Kawabata M, Fukunaga H, Usuku K, Maruyama I, Osame M. Bronchoalveolar lymphocytosis correlates with human T lymphotropic virus type I (HTLV-I) proviral DNA load in HTLV-I carriers. *Thorax*. 2005 60:138-43.

H. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許出願中

三隅将吾

ヒト N-ミリスチルトランスフェラーゼ各アイソザイム特異的抑制: siRNA による各種疾病治療戦略の考案。

分 担 研 究 報 告 書

HIV 脳症・神経障害の臨床病態：

Retrospective にみた HIV 脳症（HIV 痴呆）の臨床的予後

分担研究者	岸田修二	東京都立駒込病院神経内科
研究協力者	味澤 篤	東京都立駒込病院感染症科
	赤穂理恵	同 神経科
	鎌田憲子	同 放射線科

研究要旨：目的：HIV/AIDS 患者の予後不良因子であった HIV 脳症について、HAART 導入後のわが国での臨床的予後を自例験を用い解析した。方法：1985～2005年11月までに都立駒込病院で経験した HIV 脳症 40 例のうち HIV 痴呆 39 例の臨床的、生命的予後を解析した。結果：HIV 痴呆は全 AIDS 患者の 7.6%、2.3%は HIV 痴呆が AIDS の初発であった。HIV 痴呆患者は HAART 導入以前には年々増加傾向にあったが、導入以後は数人にとどまっている。HIV 痴呆患者の発症年齢は 45 歳（中間値）と働き盛りの年齢である。HIV 痴呆発症時の CD4(+)リンパ球数は HAART 導入前後とも $20/\mu\text{L}$ 以下と低値であり、HIV-RNA $2.46 \times 10^5/\text{ml}$ （中央値）と高値を示し、HIV 感染が高度に進行した時期であった。HIV 痴呆の診断において髄液 $\beta 2$ マイクログロブリンの上昇（中央値 3.3mg/L ）、脳 MRI は約 70%に異常を認め有用な情報を与えた。臨床症状は認知機能障害>行動異常>運動障害>精神症状を高率に認め、HAART 施行者では 9/15 例で何らかの改善を認めた。HIV 痴呆の生命予後は、HIV 痴呆で HAART 施行例中生存 8 名、死亡 6 名、転院 1 名であり、生存期間中間値は 38 ヶ月、HAART なしでは全員死亡（中間値 5 ヶ月）していた。HAART 施行中 HIV 痴呆で死亡者と生存者を比較した場合、死亡者は HAART 中断例や免疫回復不良例であった。結論：これまでの HIV 痴呆は免疫不全の進行した時期に発症し、認知、行動、運動障害を高率に発症し、生命予後不良の疾患で、髄液中免疫活性指標や画像が診断に有用な情報を与えた。HAART は臨床症状の軽快だけでなく、生命予後も免疫回復に応じて延長してきたことから、HAART は HIV 痴呆に有効な治療法である。HAART による延命は機能障害を残したままの延命で、服薬の低下から脳症の再燃の可能性があり、また HAART 下で発症すると考えられる新たな脳症の把握に関しては今後 sensitive な統一した評価基準で前向きに研究しなければ、病態把握は出来ない。

A.目的

HAART 導入により HIV/AIDS 患者の一般的日和見感染の発生率は減少し、神経合併症も同様に発生頻度が

減少し、さらに延命効果が認められてきている。HAART 導入以前には HIV 脳症は、発症後数ヶ月以内に致死的となる独立した生命予後不良因

子として認められてきたが、HAART 導入後において同じような予後不良因子かどうかについては報告が少ない。今回 HAART 導入前後での自験例の HIV 脳症例を臨床面、生命予後面などから解析し、今後当研究のとるべき方策を検討した。

B.研究方法

1987 年から 2005 年 11 月末までに経験し、解析の出来た HIV 痴呆例 39 例について、その臨床像と検査成績、脳症に対する治療成績、生命予後などを HAART 治療の有無で解析した。

(倫理面への配慮)

本研究には個人情報は一切含まれていない。

C.結果

患者背景として、当駒込病院でこれまでであった HIV 感染者数は 1,599 例であり、そのうち AIDS 発症者数は 513 例であった。HIV 脳症の診断例は 40 例で、AIDS 指標疾患としての HIV 痴呆は 39 名、男性 36 例、女性 3 例であった。HIV 痴呆で AIDS を発症した症例は 12 例、AIDS の初発としては 2.3%であった。12 例以外は他の AIDS 指標疾患で AIDS を発症した後に HIV 痴呆と診断されており、全 AIDS 患者の 7.6%に HIV 痴呆が認められた。HIV 脳症の年度別発症推移をみると (図 1)、1996 年までは漸増傾向にあったが、それ以後は減少傾向にある。HIV 痴呆の発症

年齢をみると 24 歳～ 66 歳 (中間値 45 歳) (図 2) であり、HAART 導入前 43 歳 (中間値)、導入後 42 歳 (中間値) と HAART 導入前後で変わりなく中年期に発症していた。HIV 痴呆診断時の検査所見では、CD4(+)リンパ球数は中央値 17 (0～281) / μ L であり、HAART 導入前 13.5/ μ L、導入後 20.0/ μ L、HIV 痴呆で AIDS 発症時の CD4(+)リンパ球数平均値 53.5/ μ L、他の AIDS 指標疾患が先行した後での HIV 痴呆発症時の CD4(+)リンパ球数平均値 18.8/ μ L と CD4(+)リンパ球数で見ると HIV 痴呆は HIV 感染症の高度に進行した時期に発症しており、また血液中の HIV-RNA 負荷量は中央値 2.46×10^5 ($1.3 \times 10^3 \sim 2.2 \times 10^6$) コピー/ml と血液負荷量も高値を呈していた。髄液検査では髄液蛋白は 42mg/dl (中央値、範囲 14～200mg/dl) とほとんど正常範囲内にあるが、髄液 β 2 マイクログロブリンは中央値 3.8 (0.9～9.1)mg/L と上昇していた。画像所見の検討では脳 CT では萎縮を認めるもの 13/20 例、脳 MRI では萎縮を認めるもの 23/31 例、白質異常を認めるもの 12/31 例と約 70%で脳 MRI 異常を認め、ECD-SPECT で検討した 15 例中 12 例で脳血流量の低下を認めた (図 3)。HIV 痴呆 39 例の神経学的所見 (図 4) では行動異常 59%、精神障害 31%、運動異常 64%、知的レベル低下 69%を認めた。抗レトロウイルス剤との関係では、AZT、ddI の単剤を投与していたにもかかわらず 5

例の発症をみたが、HAART 施行者には一例の発症も認めていない。HIV 痴呆に対し 15 例 HAART を導入したところ、9 例に改善傾向が認められ、その内訳は認知機能障害 4/9 例、行動異常 5/9 例、精神症状 3/8 例、運動障害 3/8 例に改善がみられた。HIV 痴呆と診断した 39 例の生命予後を検討すると、死亡例 27 例 (69.2%)、通院中 8 例 (20.5%)、転院 4 例 (10.2%) と半数異常は死亡していたが、HAART 施行の有無でみると (図 5)、HAART 施行 HIV 痴呆 15 例中通院中 8 例、死亡 6 例、転院 1 例であり、生存期間中間値 38 ヶ月 (4 ~ 99 ヶ月)、死亡者の生存期間中間値 19.5 ヶ月 (4 ~ 78 ヶ月) であるに比べ、HAART 施行前の HIV 痴呆 24 例では死亡 21 例、転院 3 例で、生存期間中間値 5 ヶ月 (0.4 ~ 28 ヶ月) と HAART 施行例は生存期間が著明に延長していた。HAART 施行者 HIV 痴呆で死亡者と生存者を比較した場合、死亡者は HAART 中断者や免疫回復の不良例であった (図 6)。また HIV 痴呆で発症した場合と、他の AIDS 指標疾患が先行した HIV 痴呆で、それぞれ HAART 施行の有無で生存期間を検討したところ (図 7)、HAART 施行例は HIV 痴呆で発症した場合の生存期間中央値 27.5 ヶ月、他の AIDS 指標疾患が先行した場合の生存期間中央値 56.5 ヶ月であり、HAART 以前 (それぞれ 10 ヶ月、2 ヶ月) に比べ、HIV 痴呆で発症したかどうかにかかわらず HAART 施行例は生存期

間が著しく延長していた。

D. 考察

HIV-1 感染に伴う認知機能障害の最も重症型である HIV 痴呆は、臨床的には 7.8 ~ 16.3% の AIDS 患者に認められ、3% 前後が AIDS の初発となるの報告¹⁾があるが、駒込病院では全 AIDS 患者の 7.6%、AIDS 初発として 2.3% に認めており、1 施設での検討ではあるが、欧米とほぼ発生頻度には変わりはない。臨床的検討でも認知障害、行動異常、運動障害、精神症状などを高率に認め、さらに免疫学的指標としての CD4(+) 細胞数は HIV 痴呆発症時の CD4(+) リンパ球数平均値 $18.8/\mu\text{L}$ 、血液中の HIV-RNA 負荷量は中央値 2.46×10^5 ($1.3 \times 10^3 \sim 2.2 \times 10^6$) コピー/ml と血液負荷量も高値を呈し、HIV 痴呆は高度に細胞性免疫が低下し、さらに高度にウイルス負荷量が増加した末期に出現する病態である。診断的には臨床症状のほかに、髄液中の免疫活性指標である $\beta 2$ マイクログロブリンは高値を示し、さらに画像検査では脳 MRI で約 70% に脳萎縮や特徴的な白質異常を認めるなどこれらが補助診断として有用であることが示された。これらのことは HAART 導入以前の HIV 痴呆で既にいわれてきていることであり、それらに矛盾する成績ではない。

ところで HAART の導入は HIV 痴呆の発症頻度を著しく減少させ、さらに HIV 脳症に対しての HAART は

免疫機能の改善に従い臨床症状の改善効果を示し、さらに生命予後の改善をもたらしたとの報告が多い^{2,3,4)}。ところでわが国では今のところ HIV 痴呆に対して HAART がどの程度有効か、あるいは HAART 下にあっても HIV 脳症が独立した生命予後不良因子のままであるのかなどについての報告はなかった。これまでの HIV 脳症の年度別推移をみると、わが国に HAART が本格的に導入された 1997 年以降の HIV 脳症患者の発生は下降傾向にあり、また HAART 療法施行者には HIV 痴呆は 1 例も経験がない。これらは HAART が HIV 痴呆発症を抑制していることを端的に現している。さらに HIV 痴呆に対する HAART の有効性は、使用した 15 例中 9 例と高率に臨床症状の改善を認めている。また生命予後に関しても HAART 導入以前の症例は HIV 痴呆患者の生命予後は数ヶ月であったものの、HAART 施行者では明らかに生命予後が延長している。HIV 痴呆発症者で HAART 施行にかかわらず死に至った例と生存中の例を比較検討すると、死亡者は全例 CD4(+) リンパ球の回復が不良であり、またウイルス負荷も抑制出来ていない患者であった。即ち HAART の反応性が HIV 痴呆の生命予後に関係しており、HIV 痴呆は HAART 下にあっても生命予後不良因子ではないことを示唆している。HIV 感染患者の前向きな調査を行った Tozzi らの検討⁴⁾では base line で認知機能障害の有無にか

かわらず HAART でウイルス学反応が生命予後に影響していることを述べており、我々の後ろ向き検討と同様な見解をのべている。どの観点からでも HAART は HIV 痴呆に有効な治療法であることは明らかである。

HAART の導入は HIV 脳症の発症率は減少させたが、臨床的、病理的に有病率には変化がないか、却って増加しているとの報告^{5,6,7,8)}があるし、HAART による延命はこれまでとは異なった慢性遷延性脳症へと変化する可能性が指摘されている^{7,9)}。これらが本当かどうか、あるいは HIV 脳症が HAART 下で変わっていくのかどうかに関しては、引き続き疫学調査を行う必要があるが、わが国には未だ統一した sensitive な評価基準で cohort study を行うシステムがない。この態勢を作らない限りわが国での HIV 脳症の臨床研究は進まない。

E. 結論

HIV 痴呆を retrospective に臨床研究を行った。これまでの HIV 脳症は免疫不全の進行した時期に発症し、認知、行動、運動障害を高率に発症する生命予後不良の疾患であった。診断には髄液免疫活性指標や画像が有力であった。HAART 導入後臨床症状の軽快がみられるだけでなく、生命予後も免疫回復に応じて延長してきたことをみると、HAART は HIV 痴呆に有効な治療法である。しかし HAART での機能障害を残存したままの延命は服薬アドヒアランス

の低下から HIV 痴呆が再燃する可能性があるだけでなく、HAART 療法中に発症することが危惧されている新たな脳症の把握については、今後 sensitive な統一した評価基準で前向き調査を行わなければ、病態把握は出来ない。

文献

- 1) 岸田修二 : HIV-1,HIV2. 日本臨床 : 別冊 領域別症候群シリーズ 26、 神経症候群 I ,p513-520、1999 年
- 2) 岸田修二 : HAART 療法後の HIV 脳症. 脳神経 56:301-310,2004
- 3) d'Arminio Monforte A,et al:Changing incidence of central nervous system diseases in the EuroSIDA cohort. Ann Neurol 55:320-328,2004
- 4) Tozzi V,et al:Neurocognitive impairment and survival in a cohort of HIV-infected patients treated with HAART.AIDS Res Hum Retroviruses 21:706-713,2005
- 5) Dore GJ, et al : Marked improvement in survival following AIDS dementia complex in the era of highly active antiretroviral therapy. AIDS17:1539-1545,2003
- 6) Neuenburg JK,et al:HIV-related neuropathology,1985 to 1999:Rising prevalence of HIV encephalopathy in the era of highly active antiretroviral therapy. J Acquir Immune Defic Syndr 2002;31:171-177
- 7) McArthur JC,et al:Human immunodeficiency virus-associated dementia:an evolving disease.J Neurovirol 9:205-221,2003
- 8) Sperber K, et al. : Neurologic consequences

of HIV infection in the era of HAART.

AIDS Patient Care STDS. 17:509-18.2003

- 9) Brew BJ:Evidence for a change in AIDS dementia complex in the era of highly active antiretroviral therapy and the possibility of new forms of AIDS dementia complex.AIDS 18:S75-S78004

F.健康被害情報

特になし

G.研究発表

1.論文発表

岸田修二 : HIV 脳症の治療. 日本医事新報 N0. 4250 P.89 2005

岸田修二 : AIDS 患者に伴う中枢神経日和見感染症 : 診断と治療.

Neuroinfection

10:24-30,2005

Yoritaka A,Ohta K,Kishida S:Herpetic lumbosacral radiculoneuropathy in patients with human immunodeficiency virus infection.Eur Neurol 53:179-181,2005

岸田修二 : HIV 脳症 .Clinical Neuroscience 23:788-791

2.学会発表

頼高朝子、大田恵子、岸田修二 : HIV 陽性患者の神経合併症の疫学. HAART 導入後第二次全国疫学調査から. 第46回日本神経学会総会.2005 年

H.知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

なし