



## *Mycobacterium avium* complex による 免疫再構築症候群の原因解明と治療法の開発

分担研究者：塚田 弘樹  
(新潟大学医学部 第二内科)

研究協力者：山崎 善隆  
(信州大学医学部附属病院 内視鏡診療部)  
田邊 嘉也  
(新潟大学医学部 第二内科)

### 研究要旨

HIV 感染症患者において強力な抗 HIV 療法開始後に CD4 リンパ球が回復する過程で、顕在化していなかった病原体への過剰な反応を呈する免疫再構築症候群の発症が新たに認識されてきた。*Mycobacterium avium* complex (MAC)は免疫再構築症候群に關与する代表的な起因菌で、CD4 リンパ球が急速に回復した症例で多く見られ、肺およびリンパ節に MAC 感染症を生じる。そこで、免疫再構築症候群は MAC が上皮細胞侵入することにより、上皮細胞から惹起される炎症物質が、マクロファージなどを介して、急速に回復する CD4 リンパ球を刺激して、発症するのではないかと推定し、本研究を行った。我々は以前、MAC が気管支上皮培養細胞(BEAS-2B)に侵入し、さらに粘膜下にトランスロケーションする感染経路を報告した。そこで、今回 BEAS-2B 細胞に侵入した MAC が細胞内で増幅できるか検討した。MAC が侵入した BEAS-2B 細胞を 5 日間にわたって培養を続けたところ、細胞内で約 5 倍まで増幅できることが明らかになった。さらに、マクロライド系抗菌薬であるクラリスロマイシンを最小発育阻止濃度(MIC)に調整した培養上清液を用いると第 5 日目に殺菌効果を示し、さらにクラリスロマイシン 1/4 MIC に調整した培養上清液を用いると静菌効果を示した。次に、MAC が増幅した細胞が発現する mRNA とクラリスロマイシンにより殺菌した細胞が発現する mRNA とをマイクロアレイを用いて解析を行い、TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, MCP-1 mRNA が有意に発現することを確認した。また、培養上清中の IL-8 濃度を測定したところ、クラリスロマイシンの MIC および 1/4 MIC で共に第 5 日目に有意に低下した。

以上の結果より、MAC が BEAS-2B 細胞内で増幅すると、サイトカインおよびケモカイン産生を惹起し、さらに、クラリスロマイシンは細胞内で殺菌及び静菌作用を発揮することにより、IL-8 の産生を抑制した。クラリスロマイシンは MAC による上皮細胞の炎症を低下させることにより、免疫再構築症候群発症を抑制する可能性が示唆された。今後、MAC による免疫再構築症候群に対する適切なクラリスロマイシンの予防投与量を臨床的に検討する予定である。

## 研究目的

1990年代後半から可能となった強力な抗 HIV 治療 (highly active antiretroviral therapy: HAART) は HIV 感染症の予後を改善した一方で、免疫再構築症候群と呼ばれる病態を起こすことが指摘されている<sup>1-4)</sup>。免疫再構築症候群は HAART によって免疫不全が改善する過程で、顕在化していなかった病原体への炎症反応や自己免疫疾患を発症してくる病態と考えられ、様々な臨床症状が報告されている<sup>1-4)</sup>。Mycobacterium avium complex (MAC) は AIDS における重要な日和見感染起因菌であり、さらに免疫再構築症候群にも関与する。小西らの報告では、免疫再構築症候群を起こす病原体の中で、帯状疱疹に次いで報告が多い<sup>5)</sup>。MAC は環境常在菌で、水道水中に存在し、経口的あるいは経気管支的に感染を起こす。感染部位としては、腸管がすでに報告されているが<sup>6)</sup>、我々は MAC が気管支上皮細胞に進入し、さらに粘膜下にトランスロケーションする感染経路を明らかにした<sup>7,8)</sup>。そこで、本研究ではヒトの上皮細胞内に侵入した MAC がその後、細胞内で増幅できるかどうかを検討し、さらに、気管支上皮培養細胞の中で増幅することにより惹起される炎症性蛋白質 mRNA をマイクロアレイにより解析を行う。さらに、免疫再構築症候群に対する予防・治療法を確立するために、MAC が感染した気管支上皮培養細胞を用いて、クラリスロマイシンが発揮する殺菌・静菌作用を解析し、さらに炎症性蛋白質産生を抑制できる濃度などについて検討を行う。

## 研究方法

### 1. Invasion assay

ヒト正常気管支上皮培養細胞 (BEAS-2B) は抗菌薬を含まない bronchial epithelium growth media (BEGM) を用いて培養した。BEAS-2B 細胞は 24 ウェル組織培養プレートを用いて、5% CO<sub>2</sub>, 37 °C の条件で confluent まで培養した (約 4 日間)。MAC 104 strain は Middlebrook 7H11 agar に 10 日間培養した。MAC 104 strain は Hank's buffered salt solution (HBSS) を用いて、約  $3 \times 10^6$  CFU/mL を各 well に接種した。24 時間後、各 well を HBSS で 3 回洗浄し、次に、amikacin 200 µg/mL の濃度 (細胞外に浮遊・付着する MAC を殺菌するのに十分な濃度) に調整した BEGM に交換し、さらに 2 時間培養した。その後、HBSS で 3 回洗浄し、

Triton X 溶液を用いて harvest した。Voltex して、菌をよく浮遊させ、希釈系列を作成して、細胞内に侵入した MAC 104 strain を 7H11 agar 上でコロニーカウントした。

### 2. Replication assay

24 ウェル組織培養プレートで BEAS-2B 細胞を confluent まで培養し、MAC 104 strain を接種 (約  $3 \times 10^6$  CFU/mL)、24 時間後に細胞外に存在する浮遊・接着菌を洗浄、アミカシン (2 時間) で殺菌した後、細胞内侵入した MAC104 strain の菌量を 1、3、5 日目に細胞内の菌量をカウントする。次に、この実験系を用いて、MAC 104 strain (クラリスロマイシン (CAM) に対する MIC2 µg/ml) が侵入した BEAS-2B 細胞の培養上清中にクラリスロマイシンを添加し、5 日間にわたり細胞内で増菌した MAC 104 strain の菌量をカウントし、細胞内殺菌・静菌作用について検討を行った。

### 3. DNA array

Replication assay の一部変更し、組織培養用 25cm<sup>2</sup> フラスコに BEAS-2B 細胞を confluent まで培養し、MAC 104 strain を  $3 \times 10^7$  CFU 接種した。それぞれのフラスコの BEGM 中クラリスロマイシン濃度は 0 および 2 µg/mL に調整し、BEGM は day 0, day 1, day 3 にそれぞれ交換した。5 日目まで培養した後、Flask 中の上清を捨て、冷蔵した PBS で 3 回 flask を洗浄し、よく水分を切り、β-Mercaptoethanol (2ME) 入り RLT buffer を加えて、細胞成分を回収し、細胞懸濁液を液体窒素で瞬間凍結した。Biomatrix Laboratory, Co., へ送付し、GeneChip® Array (Affymetrix Co.) を用いて解析した。

### 4. IL-8 の経時的変化

上清中の IL-8 濃度を経時的に測定した。BEGM は MAC 104 strain を接種して、接種後 24 時間、後に BEGM のクラリスロマイシン濃度を 0、0.5、2、8 µg/mL に調整して、それぞれ第 1、3、5 日目に採取し、-78 °C で凍結保存した。上清中の IL-8 は ELISA を用いて測定した。各実験は 3 回繰り返した。

## 研究結果

### 1. Invasion assay/Replication assay (図 1)

24 時間 invasion assay では、MAC 104 strain を平均  $4.9 \pm 1.2 \times 10^6$  CFU 接種した。BEAS-2B 細胞内に平均  $3.2 \pm 1.2 \times 10^5$  CFU 侵入した。さらに、5 日目に BEAS-2B 細胞内の菌量は平均 5.4 ± 1.7 倍に増加した。次に、MAC 104 strain を感染させた BEAS-2B 細胞培養上清中にクラリスロマイシンを添加して培養したところ、5 日目にそれぞれ MIC では  $0.32 \pm 0.04$  倍、 $0.25 \pm 0.04$  倍と殺菌し、また、1/4 MIC では 5 日目に  $1.42 \pm 0.68$  倍と静菌した。

### 2. DNA array の結果 (表 1)

DNA array は MAC 104 strain が侵入した BEAS-2B 細胞を用いて行った。クラリスロマイシン濃度を 0 および  $2 \mu\text{g}/\text{mL}$  に調整し、第 5 日目に mRNA 発現を回収し、DNA array を解析した。サイトカイン・ケモカインでは表 1 に示すように、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、MCP-1、IL-8 が 3 倍以上の発現亢進を

認めた。

### 3. IL-8 の産生の経時的な変化 (図 2)

MAC 104 strain が侵入した BEAS-2B 細胞を 5 日目まで培養継続し、第 1、第 3、第 5 日目において培養上清中の IL-8 濃度を測定したところ、第 5 日目において、クラリスロマイシンが MIC ( $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ ) における IL-8 産生能は、クラリスロマイシンを添加しないものに比し、有意に低下した。さらに、1/4 MIC ( $0.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ ) における IL-8 産生能も同様にクラリスロマイシンを添加しないものに比し、有意に低下した。

## 考 察

MAC はエイズ患者に全身性播種性 MAC 感染症を起こし、難治性下痢を生じたり、リンパ節腫大、肝・脾腫を呈するが、肺病変を呈することは稀である<sup>9,10)</sup>。一方、MAC は HIV など免疫不全を有さない中高年の女性に肺 MAC 感染症を起こすことが知られ、細気管支および気管支周囲に多発性す

表 1 DNA array 解析: BEAS-2B 細胞内で MAC 104 strain 増幅に伴って発現が亢進する mRNA

Description	Common	Gene bank	Fold
Tumor necrosis factor, alpha-induced protein 6	TNFAIP6	AW188198	4.31
Chemokine (C-C motif) ligand 2 (MCP-1)	CCL2	S69738	3.92
Interleukin 8	IL8	NM_000584	3.83
Chemokine (C-X-C motif) ligand 6	CXCL6	NM_002993	3.79
Tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 7	TNFSF7	NM_001252	3.62
Tumor necrosis factor, alpha-induced protein 6	TNFAIP6	NM_007115	3.55
Interleukin 6 (interferon, beta 2)	IL6	NM_000600	3.34
Interleukin 8	IL8	AF043337	3.33
Interleukin 1 receptor-like 1	IL1RL1	NM_003856	3.15

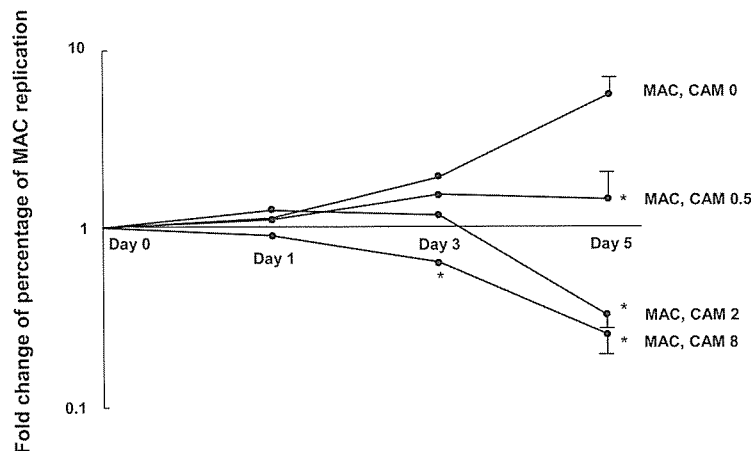


図 1 BEAS-2B 細胞内 MAC 増幅とクラリスロマイシンによる抑制効果

\* $p < 0.05$ 、それぞれの日において、クラリスロマイシンを添加せず、MAC が細胞内で増幅した群に比し、有意に低下した群。

る小肉芽腫を認め、画像上、多発小結節を呈し、病変の進行は緩徐である<sup>11,12)</sup>。MACによる免疫再構築症候群は両者に類似した臨床所見を呈し、播種型、リンパ節炎型、肺感染型などに分けられる<sup>13,14)</sup>。この中で、肺感染型は胸部画像上、肺内に多発小結節を呈することが多く<sup>5)</sup>、MACにより生じる免疫再構築症候群発症に、気管支上皮細胞を介して侵入したMACが気管支周囲に肉芽腫性病変をきたす。

我々は以前、MACがBEAS-2B細胞に侵入することができ、さらに、トランスロケーションして、粘膜下へ移動できることを報告した<sup>8)</sup>。今回の研究では、MACがBEAS-2B細胞内へ侵入し、さらにその中で増幅できることを明らかにし、さらに、培養上清中にMICのクラリスロマイシンを添加すると殺菌作用を示し、さらに1/4 MICのクラリスロマイシンを添加すると、静菌作用を有することを明らかにした。すなわち、MACが侵入し、細胞内で増幅することにより放出されるサイトカイン・ケモカインが、マクロファージや急速に回復したCD4リンパ球を気道上皮上あるいは粘膜下で刺激し、過剰な細胞免疫反応が起きることが免疫再構築症候群発症のメカニズムではないかと推定される。

そこで、MACが細胞内に侵入し、増幅した群とMICと同濃度のクラリスロマイシンを用いて細胞内殺菌を行った群に対してDNA arrayを解析したところ、3倍以上TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、MCP-1そしてIL-8 mRNAの発現が亢進していた。TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6はマクロファージを活性化させ、MCP-

1は単核球を遊走させ、MAC感染症に関連した重要な炎症性サイトカイン・ケモカインである<sup>15)</sup>。本研究においても細胞内でMACが増幅する過程でもこれらが産生されることが明らかになり、マクロファージやリンパ球活性化に重要な役割を果たす可能性がある。

また、IL-8は好中球を遊走・活性化させる代表的なケモカインである。上清中の経時的な濃度変化を評価した。クラリスロマイシンを添加しない群では、上清中の第5日目には上清中のIL-8濃度は著明に増加していた。一方、クラリスロマイシンが殺菌作用を有するMIC (2 $\mu$ g/mL)に調整したところ、細胞内のMACの菌量は0.2倍まで有意に減少するとともに、IL-8産生はCAMクラリスロマイシンを添加しないものと比較して、有意に低下した(第5日目)。さらに、MACに対するクラリスロマイシンの1/4 MIC (0.5 $\mu$ g/mL)では細菌学的には静菌作用を有するが、IL-8産生が抑制される。すでにいくつか報告されているマクロライドの抗炎症作用が推定される<sup>16-18)</sup>。すなわち、マクロライドには抗炎症作用を有することが報告されている<sup>16-18)</sup>。今後、細胞内におけるIL-8の活性化・抑制化の経路について明らかにする必要がある。

クラリスロマイシンを500mg分2、2日間内服した場合、血清濃度が1.2 mg/Lに対して、気道上皮被覆液濃度では10.4 mg/Lと、著しく上昇すると報告されている<sup>19)</sup>。また、長谷川らは、気道上皮被覆液中の濃度は、1日400mg内服(分2)で7.52  $\pm$  2.58 $\mu$ g/mL、800mg内服(分2)で17.24  $\pm$

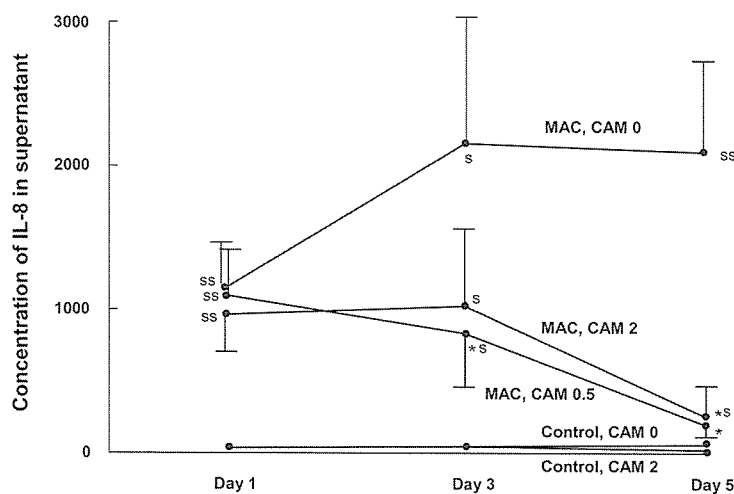


図2 MAC感染BEAS-2B細胞から産生されるIL-8、およびクラリスロマイシンによる抑制効果  
<sup>§</sup>p<0.05, <sup>ss</sup>p<0.01、それぞれの日において、MACを接種しないコントロールに比し有意に上昇した群。  
<sup>\*</sup>p<0.05、各日において、クラリスロマイシンを添加せず、MACが細胞内で増幅した群に比し、有意に低下した群。

7.64 µg/mLに達すると報告している<sup>20)</sup>。以上より、クラリスロマイシンは気道上皮被覆液中に移行しやすく、血液中濃度に比し、かなり高値になることが明らかになった。我々の *in vitro* の研究から、クラリスロマイシンの気管支上皮細胞内へ優れた移行性を有することから、上皮細胞内へ侵入した MAC の治療にはクラリスロマイシンは有効であるといえる。今後、MAC による免疫再構築症候群発症の治療および予防に対するクラリスロマイシンの臨床的な効果を検討していく必要がある。

## 参考文献

- 1) Shelburne SA 3rd, et al. Immune reconstitution inflammatory syndrome : Emergence of a unique syndrome during highly active antiretroviral therapy. *Medicine* 61, 213-227, 2002.
- 2) Stoll M, et al. Immune restoration inflammatory syndrome : The dark side of successful antiretroviral treatment. *Current Infect Dis Rep* 5: 266-276, 2003.
- 3) Shelburne SA 3rd, et al. The immune reconstitution inflammatory syndrome. *AIDS Rev* 5 : 67-79, 2003.
- 4) Hirsch HH, et al. Immune reconstitution in HIV-infected patients. *Clin Infect Dis* 38 : 1159-1166, 2004.
- 5) 小西満、他：免疫再構築症候群の発症状況調査。厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業「HAART時代の日和見合併症に関する研究」平成 16 年度総括・分担研究報告書：84-92, 2004.
- 6) Sangari FJ, et al. *Mycobacterium avium* enters intestinal epithelial cells through the apical membrane, but not by the basolateral surface, activates small GTPase Rho and, once within epithelial cells, expresses an invasive phenotype. *Cell Microbiol* 2000, 2, 561-8.
- 7) Yamazaki Y, et al. *Mycobacterium avium* Genes Associated with the Ability to Form Biofilm. *Appl Environ Microbiol* 72, 819-25, 2006
- 8) Yamazaki Y, et al. The ability to form biofilm influences *Mycobacterium avium* invasion and translocation of bronchial epithelial cells. *Cell Microbiol* 8; 806-814, 2006.
- 9) Bermudez LE, Yamazaki Y. Effects of macrolides and ketolides on mycobacterial infections. *Curr Pharma Des* 10, 3221-8, 2004.
- 10) El-Solh AA, et al. Clinical and radiographic manifestations of uncommon pulmonary nontuberculous mycobacterial disease in AIDS patients. *Chest* 1998, 114, 138-145.
- 11) Fujita J, et al. Pathological and radiological changes in resected lung specimens in *Mycobacterium avium* intracellulare complex disease. *Eur J Respir* 1999, 13, 535-40.
- 12) Yamazaki Y, et al. Markers indicating deterioration of pulmonary *Mycobacterium avium*-intracellulare infection. *Am J Respir Crit Care Med* 1999, 160, 1851-5.
- 13) French MA, et al. Immune restoration disease after the treatment of immunodeficient HIV-infected patients with highly active antiretroviral therapy. *HIV Med* 1: 107-115, 2000.
- 14) Shelburne SA, et al. Incidence and risk factors for immune reconstitution inflammatory syndrome during highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 19: 399-406, 2005.
- 15) Bermudez LE, et al. The efficiency of the translocation of *Mycobacterium tuberculosis* across a bilayer of epithelial and endothelial cells as a model of the alveolar wall is a consequence of transport within mononuclear phagocytes and invasion of alveolar epithelial cells. *Infect Immune* 2002, 70, 140-6.
- 16) Desaki M, et al. Molecular mechanisms of anti-inflammatory action of erythromycin in human bronchial epithelial cells: possible role in the signaling pathway that regulates nuclear factor-kappaB activation. *Antimicrob agents chemother* 48, 1581-1585, 2004.
- 17) Koyama T, et al. Fourteen-member macrolides inhibit interleukin-8 release by human eosinophilus from atopic donors. *Antimicrob Agents Chemother* 43, 907-911, 1999.
- 18) Suzuki H, et al. Inhibitory effect of macrolide on interleukin-8 secretion from cultured human nasal epithelial cells. *Laryngoscope* 107, 1661-1666, 1997.
- 19) Honeybourne D, Baldwin DR. The site concentrations of antimicrobial agents in the lung. *J Antimicrob Chemother* 1992, 30, 249-260.
- 20) 長谷川直樹、他：クラリスロマイシンの気道上皮被覆液への移行性とその臨床的意義。感染と抗菌薬 2006, 9, 177-81.

## 研究発表

### 発表論文

- 1) Yamazaki Y, Danelishvili L, Wu M, MacNab M, Bermudez LE. *Mycobacterium avium* Genes Associated with the Ability to Form Biofilm.

- Appl Environ Microbiol 72, 819-25, 2006
- 2) Yamazaki Y, Danelishvili L, Wu M, Hidaka E, Katsuyama T, Stang B, Petrofsky M, Bildfell R, Bermudez LE. The ability to form biofilm influences *Mycobacterium avium* invasion and translocation of bronchial epithelial cells Cell Microbiol 8; 806-814, 2006.
  - 3) Patel D, Danalishvili L, Yamazaki Y, Alonson M, Paustlan MI, Bannantine JP, Goddik I, Bermudez LE. The ability of *Mycobacterium avium* subsp. Paratuberculosis to enter bovine epithelial cells is influenced by preexposure to a hyperosmolar environment and intracellular passage in bovine mammary epithelial cells. Infect Immne 74, 2849-2855, 2006.

#### 学会発表

- 1) 山崎善隆： *Haemophilus influenzae* との共存は *Mycobacterium avium* complex の気管支上皮培養細胞への侵入に影響を及ぼすか？（80 回日本感染症学会・総会 2006. 4. 20 東京）



# HIV 感染症における QuantiFERON-TB 第 2 世代の有用性についての検討

分担研究者：永井 英明  
(国立病院機構東京病院 呼吸器科)

研究協力者：有賀 晴之、川辺 芳子  
(国立病院機構東京病院)

## 研究要旨

リンパ球の IFN- $\gamma$  産生能を測定することによって結核感染の診断を行う方法(QFT-2G)が開発された。細胞性免疫機能が著しく低下する HIV 感染症では、判定不可例の増加、感度の低下等が予想されるので、HIV 感染症例における QFT-2G の有用性について検討した。

### 対象と方法

HIV 感染症合併結核例において、QFT-2G、CD4 数、ツ反等について検討した。

### 結果

HIV 感染症合併結核例 11 例では、QFT-2G の感度は 72.7% でツ反の感度：発赤 36.4%(硬結 18.2%) に比べ有意に高かった。判定不可例が 1 例あり CD4 数は  $16/\mu\text{l}$  と最も低値であった。

### 結論

HIV 感染症において QFT-2G は CD4 数の著減例では判定不可となる可能性があるが、CD4 数の著減例でなければ HIV 感染症合併結核における QFT-2G の感度は高く、十分有用であると考えられた。

## 背景

わが国の結核の罹患率は結核対策により低下し 2005 年の結核罹患率は 10 万対 22.2 となったが、欧米先進国の結核罹患率の 10 以下と比較すれば、わが国は結核については中進国である。また、HIV 感染者数は増加傾向にあり、2005 年には 2 年連続で 1000 名を越えた。当院でも両者合併例は 1992 年以来徐々に増加し 2005 年末までに 55 例を経験している。このような状況では今後 AIDS 合併結核の増加が予想される。免疫機能が低下した HIV 感染者において結核を合併した場合、重篤な粟粒結核や診断の困難な肺外結核の合併が多くなる。結核の診断の遅れは HIV 感染者では非 HIV 感染者以上に致命的であり、早期診断・早期治療開始がきわめて重要である。最近、結核の感染診断において新しい方法が開発された。それは結核菌

由来の特異蛋白抗原 ESAT-6 と CFP-10 の刺激による末梢血リンパ球のインターフェロン  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 産生を測定する検査法で [QuantiFERON-TB 第 2 世代(QFT-2G)]、BCG 接種の影響を受けず、結核感染の診断有用性は高い。QFT-2G の結核感染診断における感度は 89.0%、特異度は 98.1% といずれも高く、結核感染診断のために広く用いられつつある。

## 研究目的

QFT-2G は結核感染診断に有用な検査法であるが、HIV 感染症では CD4 陽性 T リンパ球(CD4)数が減少しているため、結核を合併した場合の QFT-2G 陽性率が低下することが予想される。またわが国では HIV 感染者における QFT-2G のデータはない。そこで、HIV 感染症合併結核における QFT-

2G の結核感染診断における有用性について検討した。

ているものとし、特異的免疫応答による測定値には信頼性がないとして、判定不可とする。

研究対象と研究方法

対象は結核菌を確認できた HIV 感染症合併結核患者。結核の治療開始直前か、治療開始後 1 週間以内に QFT-2G、ツベルクリン反応(ツ反)等を行い、結核感染診断の有用性を検討した。

刺激抗原 ESAT-6、CFP-10 により産生誘導された IFN- $\gamma$  値から陰性コントロールの IFN- $\gamma$  産生値を差し引いた値のうち高値を選択する。0.35IU/ml 以上を陽性、0.1IU/ml 未満を陰性とする。その間の 0.1 以上 0.35IU/ml 未満は判定保留とし、感染のリスクの度合いを考慮して経過観察、再測定などして総合的に判断する。また、刺激抗原による IFN- $\gamma$  産生値が 0.35IU/ml 未満で、陽性コントロールから陰性コントロールを差し引いた値が 0.5IU/ml 未満の場合は細胞性免疫応答が脆弱化し

研究結果(表 1)

症例は 11 例であり、CD4 数は 16 ~ 319/ $\mu$ l(中央値 60)であった。結核病変は粟粒結核 5 例、肺結核 5 例、リンパ節結核 1 例であった。QFT-2G の結果は、陽性：11 例中 8 例(72.7%)、判定保留：11 例中 2 例(18.2%)、判定不可：11 例中 1 例(9.0%)であった。ツ反の陽性率は発赤で判定した場合 36.4%(10mm 以上を陽性)、硬結で判定した場合 18.2%(ATS/CDC の基準<sup>2)</sup>により HIV 感染者の場合、硬結 5mm 以上を陽性)であった。QFT-2G の感度はツ反硬結の感度よりも有意に高かった(p<0.01, Fisher exact test)。

QFT-2G の経時的変化を追うことができた 1 例(図 1)は結核の治療開始前には QFT-2G 陽性であったが、結核の治療とともに IFN- $\gamma$  産生は低下し、4

表 1 結核診断時に QFT-2G を行えた症例

Case	CD4 counts (/ $\mu$ l)	Tuberculin skin test	QFT-2G
1. Miliary TB	16	0 $\times$ 0/3 $\times$ 3	判定不可
2. Miliary TB	25	0 $\times$ 0/0 $\times$ 0	陽性
3. Pulmonary TB	27	0 $\times$ 0/0 $\times$ 0	判定保留
4. Pulmonary TB	48	11 $\times$ 10/61 $\times$ 41	陽性
5. Miliary TB	60	0 $\times$ 0/0 $\times$ 0	判定保留
6. Miliary TB	63	0 $\times$ 0/15 $\times$ 13	陽性
7. Pulmonary TB	68	0 $\times$ 0/0 $\times$ 0	陽性
8. Miliary TB	81	0 $\times$ 0/5 $\times$ 5	陽性
9. Pulmonary TB	101	0 $\times$ 0/0 $\times$ 0	陽性
10. Lymph node TB	245	15 $\times$ 17/20 $\times$ 20(40 $\times$ 57)	陽性
11. Pulmonary TB	319	0 $\times$ 0/16 $\times$ 21	陽性

陽性率 発赤 36.4%(硬結 18.2%) 72.7%

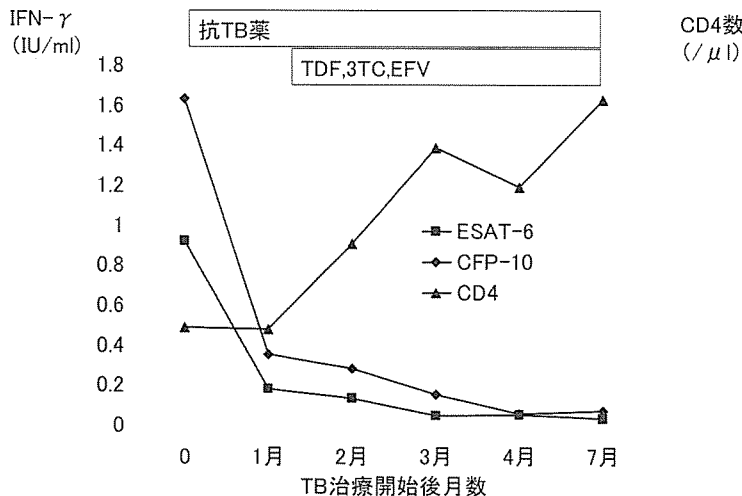


図 1 治療経過を追えた QFT 陽性例：肺結核(40 歳代、男性) TB 治療開始時の CD4: 48/ $\mu$ l



か月目には陰性化した。その間、HAARTを開始し、CD4数は48から118に上昇した。

判定不可例のCD4数は16/ $\mu$ lと最も低値であった。この症例はHAARTを開始後、CD4数が増加し、陽性コントロールが認められるようになった。しかし、その時点のQFT-2Gは陰性であった。

## 考 察

結核感染の診断はツ反で行われてきたが、ツ反の反応性は細胞性免疫機能と相関する。したがって、活動性結核であっても細胞性免疫機能が低下した状態ではツ反の陽性率は低下し、偽陰性例が増加する。特に細胞性免疫機能が著しく低下するHIV感染症では、ツ反の診断能力は低下する。Johnsonら<sup>3)</sup>によれば活動性結核を合併したHIV感染者の30%、AIDS発病例の60%以上はツ反硬結径が10mm以下であったという。したがって、HIV感染症では結核感染の診断法としてツ反の有用性は低下する。そこで、近年開発され結核感染の診断において高い感度を示す血中IFN- $\gamma$ 産生能を測定する方法が期待される。

今回、結核感染の診断のためのIFN- $\gamma$ 産生測定法としてわが国で承認されているQFT-2Gを用いたが、欧米ではもう一つのIFN- $\gamma$ 産生測定法も行われている。それはex-vivo enzyme-linked immunospot (ELISPOT) assayで測定する方法である(T-SPOT.TB)。この方法はESAT-6およびCFP-10の両特異抗原を利用してリンパ球を刺激し、反応性のIFN- $\gamma$ の産生を測定する方法であるという点ではQFT-2Gと同じであるが、測定法としてELISPOTアッセイ法を用いている。活動性結核での感度は92~96%、BCG接種を受けている結核感染の危険性の低い集団での特異度は100%と報告<sup>4,5)</sup>されている。IFN- $\gamma$ 産生細胞自体を検出することから、HIV感染症等の免疫不全症患者でも高感度に感染を診断できる可能性がある。

IFN- $\gamma$ 測定法を用いてHIV感染症における結核診断を行う際に注意が必要な点は、細胞性免疫機能が低下しているため、PHAによる陽性コントロールが確実に得られるかという点である。これが得られない場合は判定不可となる。当院の症例では結核合併例における判定不可例が1例(9.0%)あり、この症例は11例中CD4数が最も低値(16/ $\mu$ l)であった。やはり免疫機能が著しく低下した症例は判定不可となる可能性があるため、この点につ

いては認識しておくべきである。

Brockら<sup>6)</sup>によれば590名のHIV感染者にQuantiFERON-TB In-Tube test (In-Tube version)を行ったところ、陽性者には潜在結核症のリスクを持った症例や結核の既往のある症例が多かった。しかし、CD4数が少ないほど判定不可例が多かった。T-SPOT.TBについてはHIV感染症においても十分にPHAに反応し、CD4数に影響を受けないという報告<sup>7)</sup>がある。QFT-2GとT-SPOT.TBを比較した報告<sup>8)</sup>では、判定不可例はQFT-2G 11%、T-SPOT.TB 3%とQFT-2Gのほうが多かった。特に5歳以下ではQFT-2Gでは判定不可が多かった。南アフリカのHIV感染症も結核も非常に多い地域での活動性結核を発病していない160名(HIV陽性者74名、陰性者86名)に対して、T-SPOT.TB、QFT-2G、ツ反を施行した報告<sup>9)</sup>がある。HIV陽性者は陰性者に比べ、ツ反の陽性率は有意に低かった。しかし、T-SPOT.TB(52%対59%)もQFT-2G(43%対46%)もHIV陽性・陰性に差が無かったという。両者とも中等度に進んだHIV感染症では感度が落ちないとしている。ただし、判定不可例はELISPOTで1%、QFT-2Gで7%認められている。上記の報告<sup>8,9)</sup>をみるとT-SPOT.TBに比べ、QFT-2Gは免疫機能が低下した状態では判定不可例が生じやすい可能性があるため注意が必要である。

当院のAIDS合併結核におけるQFT-2Gの感度は72.7%であり、ツ反に比べ有意に高率であり、HIV感染症においても結核感染の診断には有用な検査法と考えられた。

HIV感染症合併結核におけるIFN- $\gamma$ 産生能測定法の有用性についての報告は少なく、ELISPOTについての報告が散見される。Chapmanら<sup>10)</sup>は39例のHIV感染症合併結核におけるELISPOTの感度は90%と非常に高く、有用であったと報告している。Liebeschuetzら<sup>11)</sup>によるAfricaの小児の前向き研究では、ELISPOTの結核診断の感度は83%であり、ツ反の感度の63%に比較し有意に高かった。免疫機能が低下していると考えられる3歳以下の小児、HIV感染症、低栄養状態における結核感染に対するツ反の感度は51%、36%、44%であった。これに対してELISPOTはそれぞれ、85%、73%、78%と高値であり、ELISPOTは免疫機能の低下にも影響を受けにくいという結果であった。この2報告はELISPOTについてであるが、当院のHIV感染症合併結核の感度72.7%はほぼ同等の結

果であった。今後さらに症例を増やし検討したい。

## 結 論

- (1) HIV 感染症合併結核例の 11 例中 1 例に QFT-2G 判定不可例を認め、CD4 数が著しく低下した症例では判定不可例が出現する可能性がある。しかし、CD4 数が軽度から中等度低下例では QFT-2G は十分機能すると思われた。
- (2) HIV 感染症合併結核における QFT-2G の感度は 72.7% であり、ツ反の 18.2% よりも有意に高かった。HIV 感染症合併結核においても QFT-2G は十分有用であると考えられた。

## 文 献

- 1) Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, et al: Specific detection of tuberculosis infection: an interferon-gamma-based assay using new antigens. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;170:59-64.
- 2) The American Thoracic Society (ATS) and the Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *MMWR.* 2000; 49(RR-6):1-51
- 3) Johnson MP, Coberly JS, Clermont HC, et al: Tuberculin skin test reactivity among adults infected with human immunodeficiency virus. *J Infect Dis.* 1992;166:194-198.
- 4) Lalvani A, Pathan AA, McShane H, et al: Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection by enumeration of antigen-specific T cells. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;163:824-828.
- 5) AA, Wilkinson KA, Klenerman P, et al: Direct *ex vivo* analysis of antigen-specific IFN-gamma-secreting CD4 T cells in *Mycobacterium tuberculosis*-infected individuals: associations with clinical disease state and effect of treatment. *J Immunol.* 2001; 167:5217-5225.
- 6) Brock I, Ruhwald M, Lundgren B, et al: Latent tuberculosis in HIV positive, diagnosed by the *M. tuberculosis* specific interferon-gamma test. *Respir Res.* 2006 ;7:56.
- 7) Dheda K, Lalvani A, Miller RF, et al: Performance of a T-cell-based diagnostic test for tuberculosis infection in HIV-infected individuals is independent of CD4 cell count. *AIDS.* 2005;19:2038-2041.
- 8) Ferrara G, Losi M, D'Amico R, et al: Use in routine clinical practice of two commercial blood tests for diagnosis of infection with *Mycobacterium tuberculosis*: a prospective study. *Lancet.* 2006;367:1328-1334.
- 9) Rangaka MX, Wilkinson KA, Seldon R, et al: The

Effect of HIV-1 Infection on T cell Based and Skin Test Detection of Tuberculosis Infection. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006 Dec 7; [Epub ahead of print]

- 10) Chapman AL, Munkanta M, Wilkinson KA, et al: Rapid detection of active and latent tuberculosis infection in HIV-positive individuals by enumeration of *Mycobacterium tuberculosis*-specific T cells. *AIDS.* 2002;16:2285-2293.
- 11) Liebeschuetz S, Bamber S, Ewer K, et al: Diagnosis of tuberculosis in South African children with a T-cell-based assay: a prospective cohort study. *Lancet.* 2004;364:2196-2203.



## ニューモシスチス肺炎の 早期診断に関する臨床研究

分担研究者：堀場 昌英

(国立病院機構東埼玉病院 呼吸器科)

### 研究要旨

ニューモシスチス肺炎(PCP)は日本の AIDS 指標疾患の中で最も頻度が高く、HIV 感染症の増加に伴い発症頻度が増加してきている。早期 PCP の診断は本疾患を経験したことのない医師にとっては困難なことがあり、診断の遅れによって重症化した症例を経験することがある。本研究は HIV 感染症と診断される前に発症した PCP 症例を早期に診断するために必要な手がかりを明らかにすることである。対象は平成 15 年 9 月から平成 18 年 11 月の間に当院にて入院治療を行った HIV 感染症に合併した PCP 17 症例。診療録より当院入院までの経緯、既往症や検査結果を検討した。前医における診断の遅れがあったのは 4 例で、3 例は間質性肺炎、1 例は過敏性肺臓炎と診断されステロイド治療を施行されていた。間質性肺炎を疑われた症例では LDH や KL-6 が高値であることは必ずしも PCP 診断の手がかりとはなり得ない。一方、当院で施行した血中  $\beta$ -D-グルカン値は平均 241.9 pg/mL (17.3-2110)で、検査数値と肺炎の程度とは関連はないものの、全例で陽性であることから PCP を間質性肺炎から鑑別するのに有用と思われた。胸部画像所見では約半数の症例において PCP としては非典型的な画像所見であり、鑑別診断が容易ではない症例が認められた。PCP の画像診断が困難と思われた症例にも関わらず、速やかに当院へ紹介があった症例では入院時に HIV 抗体検査が施行されていた場合や、前医が PCP の診断経験を有しており、初診時すぐに PCP を疑い HIV 抗体検査を施行した場合であった。HIV 感染症に合併する PCP の診断には胸部画像所見が重要であるが、現病歴、既往歴を含めた臨床所見から HIV 感染症の存在を疑うことがより重要と思われた。

### 研究目的

ニューモシスチス肺炎 (PCP) は本邦において AIDS 指標疾患の中で最も多いことから、一般医療機関において遭遇する可能性が高い疾患である。本邦における発症頻度は毎年徐々に増加しているものの、一般医療現場においては本疾患の発症頻度が高くなっているとの認識が低いために診断の遅れが生じる場合がある。このような現状を鑑みて、本研究の目的は HIV 感染症の診断がなされる前に発症した PCP 症例をレトロスペクティブに検

討し、早期に診断するために重要な臨床的な特徴や検査成績などの手がかりを明らかにすることである。

### 研究方法

対象は平成 15 年 9 月から平成 18 年 11 月までの間に国立病院機構東埼玉病院において入院治療を行った HIV 感染症に合併した PCP 17 症例とした。診療録から当院入院までの経緯、既往症や入院時の検査結果を検討した。

## 研究結果

平均年齢は 43.4 歳（30 歳から 61 歳）で、男性 15 例、女性 2 例であった（図 1）。感染経路は男性同性間感染 8 例、異性間感染 9 例で、国籍は日本国籍 15 例、外国籍 2 例であった。既往症には带状疱疹 2 例、口腔カンジダ症 2 例、A 型肝炎 2 例、急性 B 型肝炎 3 例、梅毒 6 例があった。当院での検査成績では PCP 17 症例の平均 CD4 数は 30.5/ $\mu$ L

で平均 CD4 比率は 4.2 % と著明に低下していた（図 2）。平均 HIV RNA 定量は  $1.1 \times 10^5$  copies/mL であった。

前医における入院当初、PCP とは診断されず、他疾患の診断のもとに治療を行われていた症例は 4 例であった。3 例は間質性肺炎と診断され（図 3）、1 例は過敏性肺臓炎と診断されて（図 4）、全例においてステロイド治療が施行されていた。間

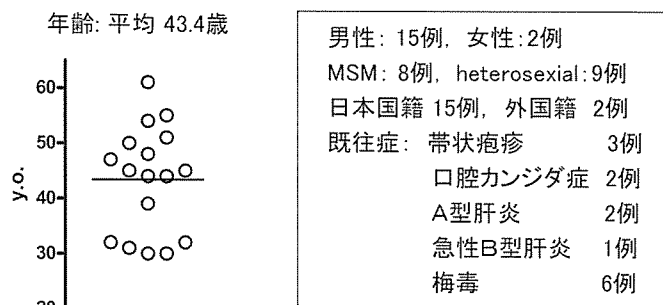


図 1 対象症例

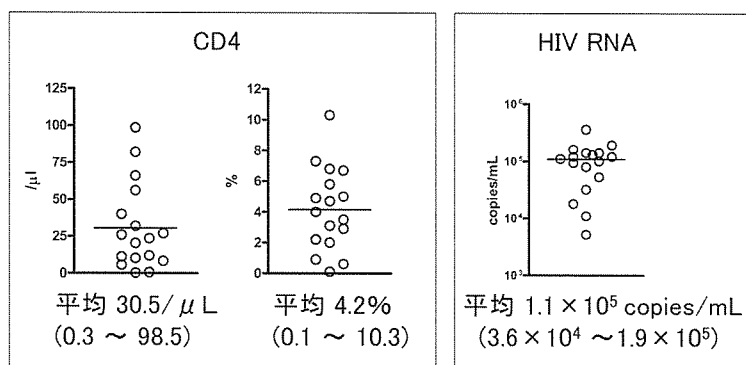


図 2 入院時検査

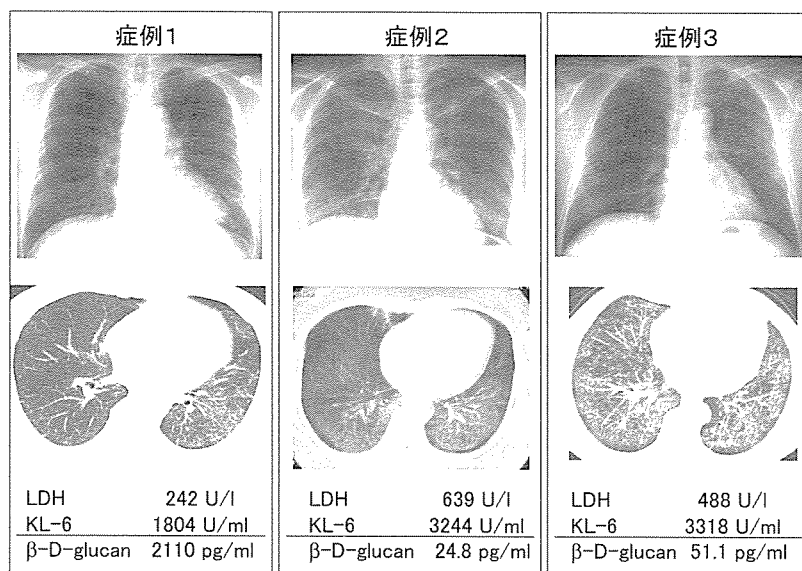


図 3 前医にて間質性肺炎と診断された 3 症例

質性肺炎3例の診断には胸部CTによる画像診断と、血液検査においてLDH, KL-6が高値であることが診断根拠となっていたが、気管支鏡検査やβ-D-グルカン検査は施行されていなかった。これら3例においては、当院入院時に施行したβ-D-グルカン値は全例で高値を示していた(図3)。過敏性肺臓炎と診断された症例は前医において気管支鏡検査を施行されたが、気管支肺胞洗浄液中のニューモシスチスの検索は行われず、放射線科医による胸部CTの読影結果と気管支肺胞洗浄液中の

CD4/CD8比の低下所見が過敏性肺臓炎の診断根拠となった。

当院にて経験したPCP 17例の入院時の血液検査では、PCPで増加することが示されているLDH、KL-6、β-D-グルカンの各マーカーの平均値はLDH 405.7 U/L、KL-6 2636.9 U/mL、β-D-グルカン 241.9 pg/mLで、全例で高値をしめした(図5)。胸部単純Xp及びCTの画像所見では両肺の中枢側優位にすりガラス陰影を呈したものが15例で最も多く、この内10例が中下肺野中心の肺野病

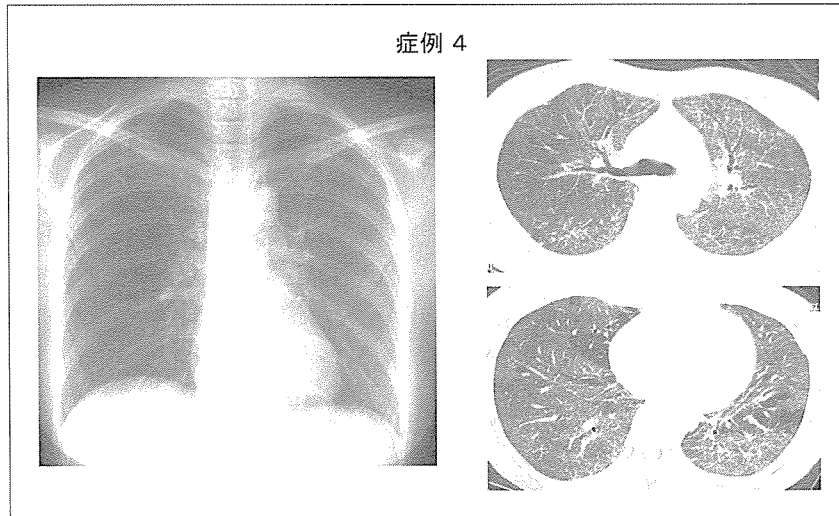


図4 前医にて過敏性肺臓炎と診断された1例

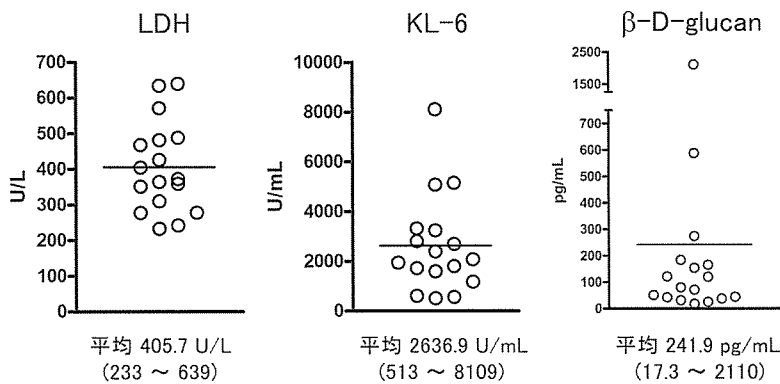


図5 入院時検査

両肺のすりガラス陰影:	15例
中下肺野中心の病変:	10例
網状陰影:	6例
小粒状陰影:	3例
嚢胞性病変:	2例
不規則な分布:	2例
片側優位な病変:	2例

図6 胸部CT画像所見の特徴

変で、6例では網状陰影を含み、3例では小粒状陰影、2例が嚢胞性病変を、2例では不規則な分布の肺野病変を認めた(図6)。片側優位な病変を呈した症例は2例であった。PCPの典型的な画像所見は全肺野に及ぶ中枢側優位なすりガラス陰影であるが(図7)、実際には様々なバリエーションがあるために画像診断による他疾患との鑑別診断は容易でないことが多い。一つの例として図8に胸部CT所見上ではPCPに特徴的な中枢側優位のすりガラス陰影を呈したが、経気管支肺胞生検にてcryptogenic organizing pneumonia (COP)と診断された非HIV感染症例を示す。

以上のことから胸部CT所見による画像診断のみでPCPと診断することは必ずしも容易ではないと思われる。肺野末梢がスベアされる特徴的な分布のすりガラス陰影が明瞭でない画像所見であったり、網状陰影が主体となった所見や、主として片側だけに病変を認める場合などもあり(図9-11)、画像上nonspecific interstitial pneumoniaや

COPなどを含むびまん性肺病変を呈する他疾患との鑑別が困難な症例が認められた。

## 考 察

当院にて近年経験したHIV感染症に合併したPCP症例について、当院に紹介前に診断の遅れがあった症例を中心に血液検査及び画像所見などについて検討した。診断の遅れがあった症例ではPCPが鑑別診断されておらず、間質性肺炎と診断された3例では血液検査と画像診断のみにて診断されていた。過敏性肺臓炎と診断された1例では気管支鏡検査を施行されたもののPCPの鑑別診断がなされなかったために気管支肺胞洗浄液中のニューモシスチスの検索が行われなかった。これら4症例に共通していた点は画像所見と一般的な検査結果が診断根拠となったことで、びまん性肺病変の鑑別診断において当初からPCPを鑑別に入れなければ、気管支鏡検査まで施行されたとしても見逃される可能性がある。鑑別診断時にHIV感染

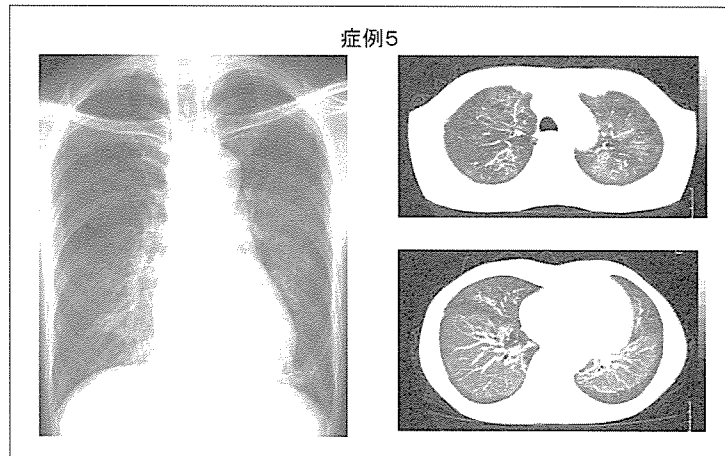


図7 PCP 典型例

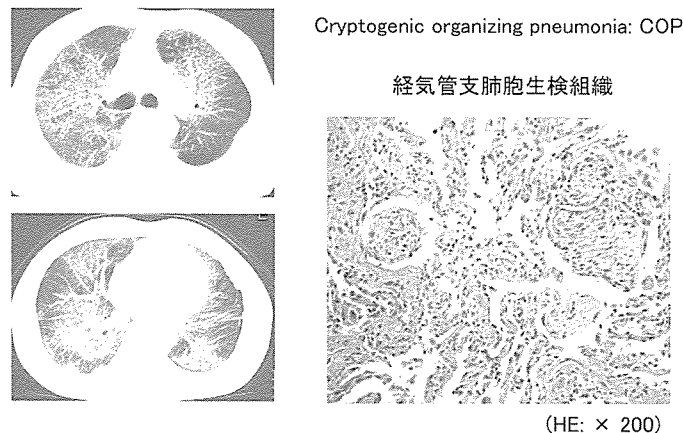


図8 胸部CT画像上PCPに類似した非HIV感染症例

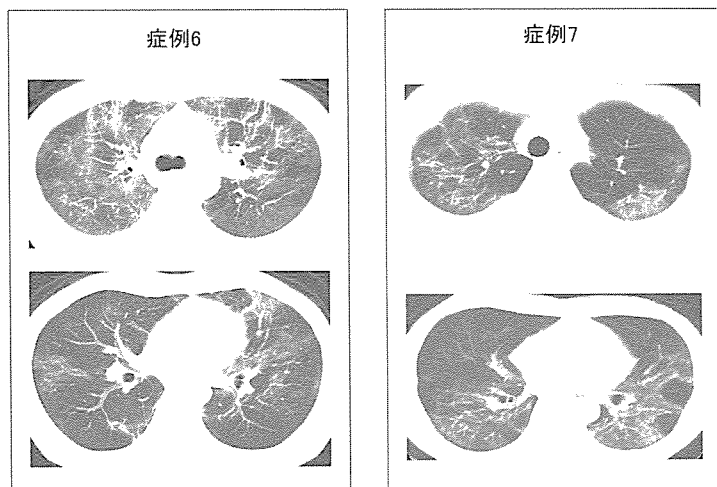


図9 不規則な分布の病変

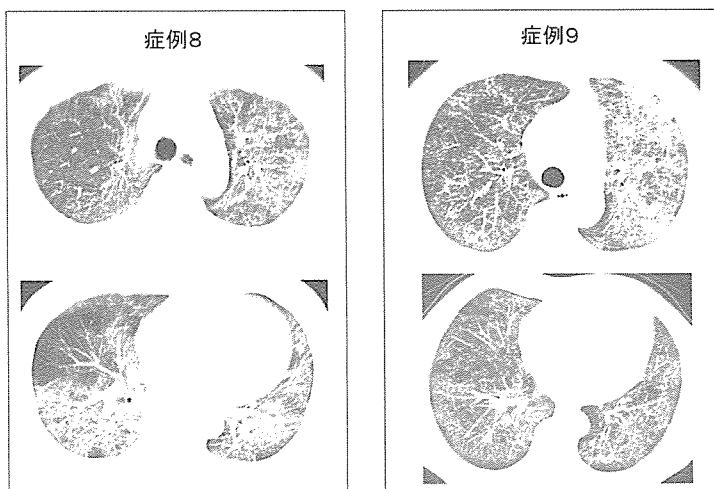


図10 網状陰影が主体な病変

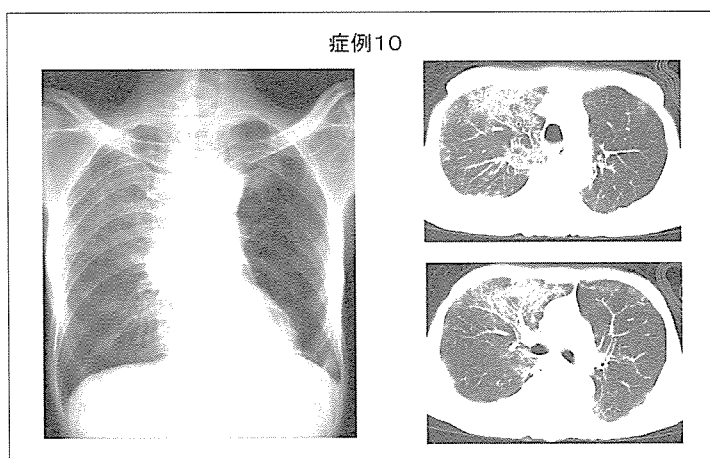


図11 片側優位な病変

症が判明していれば HIV 感染症に合併する肺疾患として PCP は容易に鑑別に入れられるため、びまん性肺病変の診断時には HIV 感染症の有無を調べることが重要である。

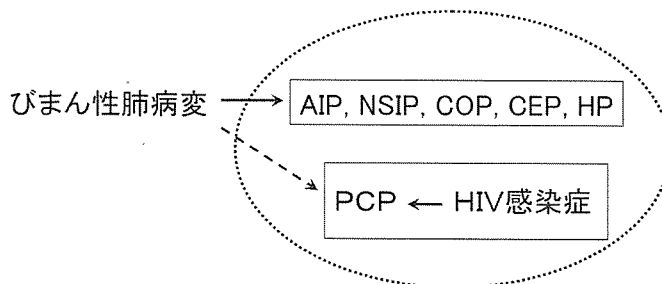
HIV 感染症例では特徴的な既往症を有することが多いため、それらの既往症を有する事が判明すれば PCP の診断への近道となることがある。今回検討した症例においても免疫機能低下による带状疱疹、口腔カンジダ症、または性感染症としての A 型肝炎、急性 B 型肝炎、梅毒等が多くの症例に認められた。従って、これらの既往症が判明した場合には HIV 感染症の検索が必要と思われる。診断の遅れのあった症例中 2 例にも带状疱疹、口腔カンジダ症、梅毒の既往があり、これらの既往症により HIV 感染症の存在が疑われていれば PCP の診断が早期についた可能性があったと思われる。

血液検査においては、間質性肺炎の疑いのある場合には通常 KL-6 が検査されており、一般生化学検査の一つである LDH とともに間質性肺炎の活動性を示すマーカーとなる。両マーカーとも PCP においても高値を示すものの、PCP が鑑別診断にあがってなければこれらのマーカーは間質性肺炎としての根拠にしかなり得ない。PCP では  $\beta$ -D-グルカンが高値であることから、PCP の診断には血中  $\beta$ -D-グルカンの測定が有用である。今回検討して症例においても全例で高値であった。KL-6 や LDH と共に  $\beta$ -D-グルカンが高値であれば PCP を疑うこととなるが、一般的には  $\beta$ -D-グルカン検査は真菌感染症を疑わなければ検査されることがないために、間質性肺炎のみを疑った場合には必ずしも本検査は施行されない。また、PCP 病巣の広がりや程度と  $\beta$ -D-グルカン値が必ずしも比例しないことなどから、 $\beta$ -D-グルカン値が軽微な上昇であった場合には診断の根拠になり難い可能性も

ある。気管支鏡検査においてニューモシスチスの検索を行うことや血中  $\beta$ -D-グルカンの測定を行うことは特殊検査の範ちゅうに入ることから、当初より PCP が鑑別診断にあがらなければ必ずしも施行されるとは限らない。

画像診断において最初に PCP のを疑うことは、典型的な画像所見であったりびまん性病変の中に嚢胞性病変を有する場合には比較的容易であるかもしれない。しかし、今回検討した症例の中で約半数においては病変の分布が不規則であったり、網状陰影が主体であったりすることから必ずしも PCP を鑑別にあげることが容易ではないと思われた。このような非典型例であっても早期に PCP を疑いすみやかに当院に紹介された症例では、入院時検査の時点で感染症検査の一つとして HIV 感染症の有無が調べられ、HIV 感染症を有することから PCP が疑われた例や、これまでに HIV 感染症合併 PCP を経験したことのある施設において、病状などから初診時に HIV 感染症を疑われて早期に HIV 検査が行われていた例であった。従って、これらの PCP の画像診断が困難と思われた症例では HIV 感染症の診断が PCP の早期診断につながっていた。

びまん性肺病変の診断においては、これまでの本邦における疾患頻度により間質性肺炎等を中心とした鑑別診断を元に検査が進められることが多い (図 12)。PCP の頻度が増加してきた現状においては従来の診断指針を続けていては、PCP の診断の遅れを減らすことは困難と思われる。HIV 感染症を有することが判明していれば、肺炎の鑑別診断に PCP が最初にあげられることから、びまん性肺病変を有する症例には早期に HIV 抗体検査を施行し、HIV 感染症の有無を明らかにすることが有用であると思われた。



AIP: acute interstitial pneumonia, NSIP: nonspecific interstitial pneumonia,  
COP: cryptogenic organizing pneumonia, CEP: chronic eosinophilic pneumonia,  
HP: hypersensitivity pneumonitis

図 12 びまん性肺病変の鑑別診断



## 結 語

画像所見から PCP を早期に診断することは容易ではなく、画像で PCP が鑑別診断にあがらなければ PCP 診断のための検査も施行されない。従って、びまん性肺病変を有する症例については早期に HIV 感染症の検索を行うことが PCP の早期診断にとって有用である。今後、HIV 感染症例の増加に伴い、いわゆる間質性陰影を呈する肺炎の鑑別診断において PCP を想定する必要性が増していくと思われる。

## 健康危険情報

特記すべき事なし。

## 研究発表

### 論文発表

1. Horiba M, Martinez L, Buescher JL, Sato S, Limoges J, Jiang Y, Jones C, Ikezu T.: OTK18, a zinc finger protein, regulates human immunodeficiency virus type 1 long terminal repeat through two distinct regulatory regions. *J General Virol* 88: 236-241, 2007
2. Yamamoto M, Kiyota T, Horiba M, Buescher JL, Walsh SM, Gendelman HE, Ikezu T.: Interferon- $\gamma$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  regulate amyloid- $\beta$  plaque deposition and  $\beta$ -secretase expression in Swedish mutant APP transgenic mice. *Am J Pathol* 170: 680-692, 2007

### 学会発表

1. 堀場昌英、木村琢磨、芳賀孝之、米丸 亮、青木 誠： HIV 感染症に合併した結核症例の臨床的検討。第 80 回日本感染症学会総会、東京、2006 年 4 月。
2. 堀場昌英、野澤 誠、白井 哲、諸井文子、芳賀孝之、脇 泰裕、高杉知明、米丸 亮、川城丈夫： HIV 感染症に合併したニューモシスチス肺炎の臨床的検討。第 46 回日本呼吸器学会総会、東京、2006 年 6 月。
3. 堀場昌英：多剤耐性結核の治療中にバーキットリンパ腫を合併した 1 例。第 20 回日本エイズ学会総会、東京、2006 年 12 月。

## 知的財産権の出願・登録状況

なし。



## 研究成果の刊行物に関する一覧表

## 安岡 彰

1. 安岡 彰：Q25 医療器具の消毒法について教えてください。改訂版 HIV Q&A 2006; 81-82.
2. 安岡 彰：Q44 現在の日和見感染症はどうなっていますか。改訂版 HIV Q&A 2006; 134-136.
3. 安岡 彰：Q5 HIV 感染で問題となる真菌症は。深在性真菌症 Q&A 2006; 22-24.
4. 安岡 彰：Q36 口腔・食道カンジダ症の治療法は。深在性真菌症 Q&A 2006; 112-114.
5. 安岡 彰：医療機器の消毒法。治療 2006; 88: 2985-2987.
6. 安岡 彰：呼吸器感染症の脅威 ニューモシスチス肺炎はなぜ起こるのか。最新医学 2006; 61: 273-278.
7. 安岡 彰：HAART 施行時の副作用の頻度とその発現時期。薬局 2006; 57: 23-28.
8. 安岡 彰：ニューモシスチス症の診断と治療。血液・腫瘍科 2006; 53: 308-313.
9. 安岡 彰：新興・再興感染症の感染制御の実際 2 エボラ出血熱。治療学 2006; 40: 169-172.
10. 安岡 彰：HIV における真菌症。Jpn. J. Med. Mycol. 2006; 47: 161-166.
11. 安岡 彰：HIV (ヒト免疫不全ウイルス)。Drug Delivery System 2006; 21: 458-459.

## 片野晴隆

1. Yasuhisa Abe, Daisuke Matsubara, Hiroyuki Gatanaga, Shinichi Oka, Satoshi Kimura, Yuki Sasao, Kiyoshi Saitoh, Takeshi Fujii, Yuko Sato, Tetsutaro Sata and Harutaka Katano: Distinct expression of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-encoded proteins in Kaposi's sarcoma and multicentric Castleman's disease. Pathology International 2006; 56: 617-624.
2. Md. Zagudybbabu Dewan, Hiroshi Terunuma, Masakazu Toi, Yuetsu Tanaka, Harutaka Katano, Xuewen Deng, Hiroyuki Abe, Tadashi Nakasone, Naoki Mori, Tetsutaro Sata and Naoki Yamamoto: Potential role of natural killer cells in controlling growth and infiltration of AIDS-associated primary effusion lymphoma cells. Cancer Sci 2006; 97: 1381-1387.
3. Takayuki Kanno, Yuko Sato, Tetsutaro Sata, Harutaka Katano: Expression of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-encoded K10/10.1 protein in tissues and its interaction with poly(A)-binding protein. VIROLOGY 2006; 352: 100-109.
4. Hiroshi Minoda, Norio Usui, Tetsutaro Sata, Harutaka Katano, Hiromi Serizawa and Shinya Okada: Human Herpesvirus-8 in Kaposi's Sarcoma of the Conjunctiva in a Patient with AIDS. Jpn J Ophthalmol 2006; 50: 7-11.
5. Y Yanagisawa, Y Sato, Y Asahi-Ozaki, E Ito, R Honma, J Imai, T Kannno, M Kano, H Akiyama, T Sata, F Shinkai-Ouchi, Y Yamakawa, S Watanabe and H Katano: Effusion and solid lymphomas have distinctive gene and protein expression profiles in an animal model of primary effusion lymphoma. J Pathol 2006; 209: 464-473.

## 竹内 勤

1. KHALIFA S.A.M., IMAI E., KOBAYASGU S., HAGHIGHI A., HAYAKAWA E. & TAKEUCHI T.: GROWTH-PROMOTING EFFECT ON IRON-SULFUR PROTEINS ON AXENIC CULTURES OF *ENTAMOEBIA DISPAR*. Parasite 2006; 13: 51-58.
2. 鈴木 淳、村田理恵、柳川義勢、小林正規、竹内 勤：知的障害者厚生施設における赤痢アメーバ等腸管寄生原虫の感染実態調査(2)－ E. dispar の施設内感染を中心として－. Clinical Parasitology 2006; 17: 52-55.
3. Masaharu Tokoro, Kentaro Nakamoto, Amjad I. A. Hussein, Tomoko Arai: Genotyping of Cryptosporidium species: current status and future direction. Parasitic Zoonoses in Asian-Pacific Regions, 3-7, 2006.