

200727013A

厚生労働科学研究費補助金

エイズ対策研究事業

末梢CD4陽性Tリンパ球中の残存プロウイルス量とその活動指数は
治療中断の指標となりうるかを明らかにする研究

平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 金田 次弘

平成20(2008)年3月

目 次

I. 総括研究報告	
末梢CD4陽性Tリンパ球中の残存プロウイルス量とその活動指数は 治療中断の指標となりうるかを明らかにする研究	1
金田次弘	
II. 分担研究報告	
1. HAART著効患者末梢血CD4陽性Tリンパ球中のプロウイルス量と全長HIV-1 mRNA量の定量	5
金田次弘	
2. 末梢CD4陽性Tリンパ球中の残存プロウイルス量とその活動指数は 治療中断の指標となりうるかを明らかにする研究	15
濱口元洋	
3. HAART著効患者における末梢CD4陽性Tリンパ球中に残存する プロウイルスコピー数と全長HIV-1 mRNAの検討	20
鈴木康弘	
4. プロウイルス量測定の臨床的意義についての検討	23
白阪琢磨	
5. 末梢CD4陽性Tリンパ球中の残存プロウイルス量とその活動指数は 治療中断の指標となりうるかを明らかにする研究	26
南 留美	
6. 末梢CD4陽性Tリンパ球中の残存プロウイルス量とその活動指数は 治療中断の指標となりうるかを明らかにする研究	29
伊藤俊広	
7. プロウイルス活動指数測定法の一般検査化のための基礎検討	32
伊部史朗, 近藤恭子, 加堂真由, 和山行正, 岡田清美, 廣部雅美, 魚住利樹	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	37
IV. 研究成果の刊行物・別刷	41

I. 総括研究報告

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

末梢 CD4 陽性 T リンパ球中の残存プロウイルス量とその活動指数は治療中断の指標となりうるかを明らかにする研究

主任研究者 金田 次弘 (独)国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター
客員研究員

研究要旨

HAART 著効患者 123 症例、146 検体を対象にプロウイルス量と全長 HIV-1 mRNA を定量した。このうち転写活性が低く (mRNA 量が検出感度以下) を示す症例は 20 例、かつ、残存プロウイルス量が 100 コピー/10⁶ 以下の症例は 15 例存在した。次年度にこれらの内より治療中断候補症例を選び臨床試験を開始する予定である。

分担研究者	近藤 恭子 (独) 国立病院機構名古屋医療センター
濱口 元洋 (独) 国立病院機構名古屋医療センター・止血血栓研究部長	藤崎彩恵子 (独) 国立病院機構名古屋医療センター
鈴木 康弘 東北大学大学院医学系研究科・講師	間宮 均人 (独) 国立病院機構名古屋医療センター
白阪 琢磨 (独) 国立病院機構大阪医療センター・HIV/AIDS 先端医療開発センター長	横幕 能行 (独) 国立病院機構名古屋医療センター
南 留美 (独) 国立病院機構九州医療センター・免疫感染症・膠原病・医師	A. 研究目的
伊藤 俊広 (独) 国立病院機構仙台医療センター・血液内科/HIV 感染症・内科医長	多剤併用療法 (HAART) が開始されてから HIV-1 感染者の予後は大きく改善され、その結果エイズによる死亡症例は減少した。しかし、末梢 CD4 陽性 T リンパ球中の HIV-1 プロウイルスの経時的測定研究によると感染細胞の駆逐には数十年の歳月を要し、感染患者は一生抗 HIV 薬を服用し続けなければならないという結果が報告され、それ以後 “HAART は一生継続” がコンセンサスになっている。HAART を一生継続しなければならないとすると、患者の精神的、肉体的、経
協力研究者	
立川 夏夫 国立国際医療センター・エイズ治療・研究開発センター	
和山 行正 北里大塚バイオメディカルアッセイ研究所	
伊部 史朗 (独) 国立病院機構名古屋医療センター	

済的負担は多大であることは論を待たないが、社会的負担も大きい。その意味で、ある一定の条件を満たしたとき HAART を中断できるという根拠を提供できるエビデンスの開発、実用化が待たれている。本研究の目的は、HAART 著効患者を対象にして末梢 CD4 陽性 T リンパ球中に残存しているプロウイルスコピー数と全長 HIV-1 mRNA を定量し、1 コピー当りのプロウイルスの HIV-1 mRNA 転写能（活動指数）を算出し、活動指数と残存プロウイルス量が HAART 中断のエビデンスになるかを検討することである。

B. 研究方法

研究対象：HAART により血漿ウイルス量（VL）が検出感度以下に抑制された著効例である。これに加えて様々な経緯で治療中断を行った成功例と失敗例も対象とする。CD4 陽性細胞の精製：EDTA 加末梢血より StemSep14052 を用い精製した。DNA と RNA の抽出および精製：DNA はキアゲン Blood mini kit を用いて抽出・精製した。RNA はトリゾールにて抽出した。定量法：末梢 CD4 陽性 T リンパ球中に残存している HIV-1 プロウイルスコピー数と全長 HIV-1 mRNA のコピー数は検出限界は 2 コピー/ 10^6 細胞の高感度リアルタイム PCR 法により定量した。プロウイルスの活動度は残存プロウイルス 1 コピー当りの HIV-1 mRNA 転写活性を活動指数（全長 HIV-1 mRNA コピー数/プロウイルスコピー数）で表現した。

（倫理面への配慮）

本研究を進める上で患者の協力は不可欠である。研究の必要性と意義を十分説明し理解と協力を得ることを前提とする。分担研究者は当該医療機関倫理委員会に研究計画書を提出

し、審査・承認を経た上で研究を開始するものとする。研究参加同意書には患者の自筆でサインをお願いし、同意書原本は主治医もしくは各施設の担当責任者の下で保管することを義務とする。検査結果は個人情報保護の観点から漏出しないよう厳重に管理する。また、名古屋医療センター、九州医療センター、大阪医療センター、国立国際医療センターで、研究課題名「HAART 著効例における末梢 CD4 陽性 T リンパ球中の残存プロウイルス量とその転写活性の把握」の倫理審査申請を行い承認を受けるなど倫理面配慮の点でも進展を見ている。治療中断臨床試験に関しては臨床試験課題、「HIV-1 プロウイルス量とその活動指数により HAART 治療を中断する臨床試験 (AI study)」の承認を名古屋医療センター臨床研究審査委員会より得た。

C. 研究結果

3. 研究結果

① プロウイルス量と全長 HIV-1 mRNA の定量：ルーチン作業として定量を行なえる体制を作ることが出来、現在までに 123 症例 146 検体について、プロウイルス量と全長 HIV-1 mRNA の定量を行なうことができた。このうち転写活性が低値（mRNA 量が検出感度以下）を示す症例は 20 例存在し、かつ残存プロウイルス量が 100 コピー/ 10^6 細胞以下の症例は 15 例存在した（図 1）。なお、低値を示した症例を対象にプライマーやプローブのミスマッチによる誤判定かのチェックを塩基配列の決定により行なったが、全ての症例でミスマッチは検出されなかった。

② 一般検査化への技術改良：プロウイルスの定量法：nested リアルタイム PCR 法から通常リアルタイム PCR 法に切り替えること

ができた (Cv 値 5%以下の精度で 5 コピーを検出)。全長 HIV-1 mRNA の定量については RNA 標準物質の長期保存法の確立により可能になったが、3 ステップ法から 1 ステップ法への改善の目処は立っていない。2 ステップ法への改善は可能である。

③ 治療中断臨床試験開始への展望：治療中断臨床試験のコンセプトの基本は以下の通りである：長期にわたり HAART が奏功し残存プロウイルス量が微少で、かつプロウイルスの活動指数が低値を示し、CD4 リンパ球数が 500/ μ l 以上を確保できている症例に対して患者の同意の下に治療を中断する。このコンセプトに基づき、まず名古屋医療センターで先行実施することにした。服薬中断後 2 年間有意の血中ウイルス量のリバウンドが観察されなかった服薬中断症例 2 例が名古屋医療センターに存在しているが、2 例共に昨年 1 年間も有意なリバウンドが見られず、現在、中断 4 年目に入った。

D. 考察

HAART 著効患者のプロウイルスに関しても潜伏感染レベルの低活性のものから持続感染細胞を凌ぐ高活性を有するものまで広範囲に分布すること示した昨年度の結果を確認することが出来た。治療中断臨床試験との関連で言えば、残存プロウイルス量が微少かつそ

の転写活性が低い 15 症例を抽出することが出来た。即ち、治療中断候補症例を選び臨床試験を開始できる段階へと研究が進展したといえる。今後の慎重な検討を待たねばならないが、残存プロウイルス量とその活動指数が治療中断のエビデンスになりうる可能性は高いと期待される。

E. 結論

「HIV-1 プロウイルス量とその活動指数が HAART 中断の有効な指標となるか」の評価確定について、治療中断臨床試験の開始により科学的評価を下せる研究段階に到達した。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

各分担研究者の項参照

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

特願 2005-327417 発明の名称：人免疫不全ウイルス-1 遺伝子検出又は定量用材料、検出又は定量方法、治療用遺伝子断片、および治療方法 発明者：金田次弘、永井裕美、水野善文、 出願人：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

II. 分担研究報告

HAART 著効患者末梢血 CD4 陽性 T リンパ球中のプロウイルス量と全長 HIV-1 mRNA 量の定量

分担研究者：金田 次弘 名古屋医療センター 臨床研究センター 血液免疫研究部
客員研究員

研究協力者：伊部 史朗 名古屋医療センター 臨床研究センター 血液免疫研究部 研究員
藤崎彩恵子 名古屋医療センター 臨床研究センター 血液免疫研究部 研究員
近藤 恭子 名古屋医療センター 臨床研究センター 血液免疫研究部 研究員

研究要旨

HAART 著効患者 123 症例、146 検体を対象にプロウイルス量と全長 HIV-1 mRNA を定量した。このうち転写活性が低く（mRNA 量が検出感度以下）を示す症例は 20 例、かつ、残存プロウイルス量が 100 コピー/ 10^6 以下の症例は 15 例存在した。また、19 例に於いて経時的に 2 回以上測定ができたが残存プロウイルス量、mRNA 共に減少傾向を示す経過良好群の存在が明らかになった。次年度には治療中断候補症例を選び臨床試験を開始する予定である。

A. 研究目的

多剤併用療法（HAART）が開始されてから HIV-1 感染者の予後は大きく改善され、その結果エイズによる死亡症例は減少した。しかし、末梢 CD4 陽性 T リンパ球中の HIV-1 プロウイルスの経時的測定研究によると感染細胞の駆逐には数十年の歳月を要し、感染患者は一生抗 HIV 薬を服用し続けなければならないという結果が報告され、それ以後“HAART は一生継続”がコンセンサスになっている。本当に HAART を一生継続しなければならないとすると、患者の精神的、肉体的、経済的負担は多大であることは論を待たないが、社会的負担も大きい。その意味で、ある一定の条件を満たしたとき HAART を中断できるという根

拠を提供できるエビデンスの開発、実用化が待たれている。初年度は① 研究対象とする HAART 著効患者の抽出 ② HAART 著効患者を対象にして末梢 CD4 陽性 T リンパ球中に残存しているプロウイルスコピー数と全長 HIV-1 mRNA を定量し、1 コピー当りのプロウイルスの HIV-1 mRNA 転写能（活動指数）を算出し、活動指数と残存プロウイルス量どの様な分布を示すかを明らかにすることを目的にして研究を行った。

B. 研究方法

CD4 陽性 T リンパ球の精製

患者末梢血より白血球を分離した後、StepSep human CD4+ T cell enrichment cocktail（ベリタス社）を用いて CD4 陽性 T

リンパ球を精製した。

DNA、RNAの精製

CD4陽性Tリンパ球のDNA精製は、DNA blood mini kit (QIAGEN社)を用いて行った。CD4陽性Tリンパ球のtotal RNA精製は、TRIzol LS reagent (Invitrogen社)を用いて行った。

HIV-1 DNA、全長 HIV-1 mRNAの定量

末梢CD4陽性Tリンパ球中に残存しているHIV-1プロウイルスコピー数と全長HIV-1 mRNAのコピー数は検出限界は2コピー/10⁶細胞の高感度リアルタイムPCR法により定量した。プロウイルスの活動度は残存プロウイルス1コピー当りのHIV-1 mRNA転写活性を活動指数(全長HIV-1 mRNAコピー数/プロウイルスコピー数)で表現した。

(倫理面への配慮)

本研究を進める上で患者の協力は不可欠である。研究の必要性和意義を十分説明し理解と協力を得ることを前提とする。分担研究者は当該医療機関倫理委員会に研究計画書を提出し、審査・承認を経た上で研究を開始するものとする。研究参加同意書には患者の自筆でサインをお願いし、同意書原本は主治医もしくは各施設の担当責任者の下で保管することを義務とする。検査結果は個人情報保護の観点から漏出しないよう厳重に管理する。また、名古屋医療センター、九州医療センター、大阪医療センター、国立国際医療センターで、研究課題名「HAART著効例における末梢CD4陽性Tリンパ球中の残存プロウイルス量とその転写活性の把握」の倫理審査申請を行い承認を受けるなど倫理面配慮の点でも進展を見ている。治療中断臨床試験に関しては臨

床試験課題、「HIV-1プロウイルス量とその活動指数によりHAART治療を中断する臨床試験(AI study)」の承認を名古屋医療センター臨床研究審査委員会より得た。

C. 研究結果

① プロウイルス量と全長 HIV-1 mRNAの

定量：現在までに123症例146検体について、プロウイルス量と全長HIV-1 mRNAの定量を行なうことができた。施設毎の症例数の内訳は図1に示した。プロウイルス量とHIV-1 mRNA量は昨年度得られた分布領域中に分布した(図2)。HIV-1 DNAと活動指数のプロットは図3に示したが、このうちで転写活性が低値(mRNA量が検出感度以下)を示す症例は20例存在し、かつ残存プロウイルス量が100コピー/10⁶細胞以下の症例は15例存在した(図4)。これらの症例が治療中断臨床試験の候補症例である。なお、低値を示した症例を対象にプライマーやプローブのミスマッチによる誤判定かのチェックを塩基配列の決定により行なっているが現在までにミスマッチが検出された症例は無い。服薬中断後2年間有意の血中ウイルス量のリバウンドが観察されなかった服薬中断症2例が名古屋医療センターに存在しているが、2例共に昨年1年間も有意なリバウンドは見られず、現在、中断4年目に入った。

② プロウイルス量、全長mRNA量、活動指数の経時変化：19例について複数回の測定機会に恵まれた。

典型的な経時変化を示す症例を図5に示した。3パラメーター共に減少を示すパターンである。一方、少数ではあるがプロウイルス量の上昇を示す症例も存在した。いず

れにせよ、経時的に複数回の測定を実施し、慎重に残存プロウイルス量とその活性をフォローしなければならない。

③ 一般検査化への技術改良：プロウイルスの定量法：nested リアルタイム PCR 法から通常リアルタイム PCR 法に切り替えることができた (Cv 値 5%以下の精度で5コピーを検出)。全長 HIV-1 mRNA の定量については RNA 標準物質の長期保存法の確立により可能になったが、3 ステップ法から 1 ステップ法への改善の目処は立っていない。2 ステップ法への改善は可能である。

④ 治療中断臨床試験開始への展望：治療中断臨床試験のコンセプトの基本は以下の通りである：長期にわたり HAART が奏功し残存プロウイルス量が微少で、かつプロウイルスの活動指数が低値を示し、CD4 リンパ球数が 500/ μ l 以上を確保できている症例に対して患者の同意の下に治療を中断する。このコンセプトに基づき、まず名古屋医療センターで先行実施することにした。

D. 考察

HAART 著効患者のプロウイルスに関しても潜伏感染レベルの低活性のものから持続感染細胞を凌ぐ高活性を有するものまで広範囲に分布すること示した昨年度の結果を確認することが出来た。残存プロウイルス量が微少かつその転写活性が低い 15 症例を抽出することが出来た。これらの中から治療中断候補症例を選び臨床試験を開始できる段階へと研究を進めることが出来た。今後の慎重な検討を待たねばならないが、残存プロウイルス量とその活動指数が治療中断のエビデンスになりうる可能性は高い

と期待される。

E. 結論

「HIV-1 プロウイルス量とその活動指数が HAART 中断の有効な指標となるか」の評価確定について、治療中断臨床試験の開始により科学的評価を下せる研究段階に到達した。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. J. Hattori, N. Okumura, Y. Yamazaki, M. Uchiyama, M. Hamaguchi, Y. Nishiyama and T. Kaneda Beneficial Effect of GB Virus C Co-Infection in Human Immunodeficiency Virus Type 1-Infected Individuals. *Microbiology & Immunology*, 51(2), 193-200, 2007.
2. 高橋昌明、藤崎誠一郎、伊部史朗、久高祐一、奥村直哉、平野 淳、鈴木達男、横幕能行、間宮均人、濱口元洋、金田次弘 HIV・HCV 重複感染に対するリバビリン併用ペグ・インターフェロン療法により CD4, CD8 陽性リンパ球数が減少した 1 症例. *新薬と臨床*, 56, 112-115, 2007.
3. Fujisaki S., Fujisaki S., Ibe S., Asagi T., Ito T., Yoshida S., Koike T., Oie M., Kondo M., Sadamasu K., Nagashima M., Gatanaga H., Matsuda M., Ueda M., Masakane A., Hata M., Mizogami Y., Mori H., Minami R., Okada K., Watanabe K., Shirasaka T., Oka S.,

- Sugiura W. and Kaneda T.
Performance and Quality Assurance of Genotypic Drug-Resistance Testing for Human Immunodeficiency Virus Type 1 in Japan.
Japanese Journal of Infectious Diseases, 60, 113-117, 2007
4. 藤崎誠一郎、藤崎彩恵子、伊部史朗、浅黄 司、伊藤俊広、吉田 繁、小池隆夫、大家正泰、渡邊香奈子、正兼亜季、上田幹夫、瀧永博之、松田昌和、貞升健志、長島真美、岡田清美、近藤真規子、秦 眞美、溝上泰司、森 治代、南 留美、白阪琢磨、岡 慎一、杉浦 互、金田次弘 日本における HIV-1 遺伝子型薬剤耐性検査のコントロールサーベイ
日本エイズ学会誌、9 (2), 136-146, 2007
 5. M. Takahashi, S. Ibe, Y. Kudaka, N. Okumura, A. Hirano, T. Suzuki, N. Mamiya, M. Hamaguchi and T. Kaneda No observable correlation between central nervous system side effects and EFV plasma concentration in Japanese HIV-1 infected patients treated with EFV containing HAART.
AIDS Research and Human Retroviruses, 23(8), 983-987, 2007
 6. 平野 淳、奥村直哉、久高祐一、寺畑奈美、高橋昌明、坂野和英、横幕能行、安岡 彰、間宮均人、濱口元洋、金田次弘 サイトメガロウイルス感染症を発症した日本人エイズ患者に対するバルガンシクロピルの効果および安全性についての評価
日本病院薬剤師会雑誌、43(10), 1397-1399, 2007
 7. M. Takahashi, Y. Kudaka, N. Okumura, A. Hirano, K. Banno and T. Kaneda
Determination of Plasma Tenofovir Concentrations using a Conventional LC-MS Method. Biol. Pharm. Bull. 30(9), 1784-1786, 2007
 8. M. Takahashi, Y. Kudaka, N. Okumura, A. Hirano, K. Banno and T. Kaneda The Validation of Plasma Darunavir Concentrations determined by the HPLC Method for Protease Inhibitors.
Biol. Pharm. Bull. 30(10), 1947-1949, 2007
 9. 小柏 均、永井裕美、近藤恭子、加堂真由、伊部史朗、一三武二郎、玉村和規、間宮均人、金田次弘 リアルタイム PCR 法による Pneumocystis jirovecii 迅速定量法の確立
医学検査、56 (12), 1527-1534, 2007
 10. M. Takahashi, Y. Kudaka, N. Okumura, A. Hirano, K. Banno and T. Kaneda Pharmacokinetic parameters of lopinavir determined by moment analysis in Japanese HIV-1-infected patients
AIDS Research and Human Retroviruses, 24, 114-115, 2008
 11. S. Ibe, J. Hattori, S. Fujisaki, U. Shigemi, S. Fujisaki, K. Shimizu, K. Nakamura, T. Kazumi, Y. Yokomaku, N. Mamiya, M. Hamaguchi and T. Kaneda Trend of Drug-Resistant HIV-1 Emergence among

Therapy-Naïve Patients in Nagoya, Japan: an 8-Year Surveillance from 1999 to 2006
AIDS Research and Human Retroviruses, 24, 7-14, 2008

2. 学会発表

1. 伊部史朗、金田次弘

拡がり始めた薬剤耐性エイズウイルス
市民公開シンポジウム・エイズとの闘い—その最前線 2007 (2007年3月)。
名古屋

2. T. Kaneda, S. Fujisaki, T. Shiino, K. Shimizu, K. Nakamura, J. Hattori, S. Fujisaki, S. Ibe, U. Shigemi, M. Hamaguchi, N. Mamiya, Y. Yokomaku Identification of a unique form of subtype B HIV-1 in Nagoya, Japan
4th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention
Sydney Australlia July 22-25, 2007

3. M. Takahashi, S. Ibe, Y. Kudaka, N. Okumura, A. Hirano, T. Suzuki, N. Mamiya, M. Hamaguchi, T. Kaneda
No observable correlation between central nervous system side effects and EFV plasma concentrations in Japanese HIV-1 infected patients treated with EFV containing HAART
4th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention
Sydney Australlia July 22-25, 2007

4. 平野 敦、久高祐一、寺畑奈美、高橋

昌明、坂野和英、横幕能行、安岡 彰、
間宮均人、濱口元洋、金田次弘 CMV
感染症を発症した日本人エイズ患者に
対するバルガンシクロビルの効果およ
び安全性についての評価

第 61 回国立病院総合医学会 (2007 年
11 月)。 名古屋

5. 伊部史朗、服部純子、藤崎誠一郎、重
見 麗、藤崎彩恵子、清水香代子、中
村和代、一三武二郎、横幕能行、間宮
均人、濱口元洋、金田次弘 名古屋地
区の未治療 HIV-1 感染患者における薬
剤耐性ウイルスの出現傾向
第 61 回国立病院総合医学会 (2007 年
11 月)。 名古屋

6. 鈴木匡弘、早川恭江、寺田さと子、安
永さおり、加藤 稔、多和田行男、間
宮均人、中野 学、鈴木啓仁、林由美
子、金田次弘 PFGE に代わる MRSA
の迅速分子疫学解析法の開発 (国立病
院機構多施設共同研究)
第 61 回国立病院総合医学会 (2007 年
11 月)。 名古屋

7. 一三武二郎、服部純子、横幕能行、間
宮均人、濱口元洋、玉村和規、金田次
弘 HIV-1 血中ウイルス量のモニタリ
ング：検体数の推移と検査の現状
第 61 回国立病院総合医学会 (2007 年
11 月)。 名古屋

8. 藤崎誠一郎、伊部史朗、服部純子、重
見 麗、清水香代子、中村和代、藤崎
彩恵子、横幕能行、間宮均人、濱口元
洋、金田次弘 名古屋医療センターを
受診した未治療患者における HIV-1 サ
ブタイプの変遷
第 61 回国立病院総合医学会 (2007 年

- 11月)。 名古屋
9. 小柏 均、近藤恭子、加堂真由、伊部史朗、一三武二郎、玉村和規、間宮均人、金田次弘 MSG gene を用いた Real-time PCR 法 による Pneumocystis jirovecii 迅速定量法の確立
第 61 回国立病院総合医学会 (2007 年 11 月)。 名古屋
 10. 久高祐一、高橋昌明、奥村直哉、平野敦、寺畑奈美、坂野和英、横幕能行、間宮均人、濱口元洋、金田次弘 テノホビル服用患者の血中濃度と腎障害との関係
第 61 回国立病院総合医学会 (2007 年 11 月)。 名古屋
 11. 奥村直哉、平野 敦、久高祐一、寺畑奈美、高橋昌明、横幕能行、間宮均人、安岡 彰、金田次弘、濱口元洋
名古屋医療センターにおける FPV の使用経験【第 2 報】
第 21 回日本エイズ学会総会(2007 年 11 月)。 広島
 12. 星野 伸、村松友佳子、関水匡大、井上孝実、瀧本哲也、美濃和茂、金田次弘、堀部敬三 母子感染予防目的で投与した 26 例におけるジドブジンシロップ内服による副作用
第 21 回日本エイズ学会総会(2007 年 11 月)。 広島
 13. 高橋昌明、久高祐一、奥村直哉、平野敦、坂野和英、金田次弘
HPLC を用いたプロテアーゼ阻害剤ダルナビルの血中濃度測定
第 21 回日本エイズ学会総会(2007 年 11 月)。 広島
 14. 久高祐一、高橋昌明、奥村直哉、平野敦、寺畑奈美、坂野和英、横幕能行、間宮均人、濱口元洋、金田次弘 日本人 HIV-1 感染患者におけるテノホビル血中濃度の腎機能に及ぼす影響
第 21 回日本エイズ学会総会(2007 年 11 月)。 広島
 15. 伊部史朗、岡田清美、近藤恭子、廣部雅美、魚住利樹、加堂真由、和山行正、金田次弘プロウイルス活動指数測定法の一般検査化のための基礎検討
第 21 回日本エイズ学会総会(2007 年 11 月)。 広島
 16. 金田次弘、藤崎誠一郎、藤崎彩恵子、伊部史朗、服部純子、清水香代子、中村和代、横幕能行、間宮均人、濱口元洋 ウイルス増殖を抑制しているにも拘らず、CD4 陽性 T リンパ球の回復が不十分な症例の原因の探索
第 21 回日本エイズ学会総会(2007 年 11 月)。 広島
 17. 服部純子、重見 麗、伊部史朗、奥村直哉、一三武二郎、横幕能行、間宮均人、濱口元洋、金田次弘 薬剤耐性 HIV-1 の出現と伝播
第 21 回日本エイズ学会総会(2007 年 11 月)。 広島
 18. 伊部史朗、藤崎誠一郎、清水香代子、中村和代、服部純子、重見 麗、藤崎彩恵子、横幕能行、間宮均人、濱口元洋、金田次弘 名古屋地区の未治療患者に検出された HIV-1 の分子疫学解析
第 21 回日本エイズ学会総会(2007 年 11 月)。 広島
 19. 藤崎誠一郎、椎野禎一郎、清水香代子、中村和代、伊部史朗、服部純子、重見

麗、藤崎彩恵子、横幕能行、間宮均人、濱口元洋、金田次弘 名古屋で検出されたユニークサブタイプ B HIV-1 第21回日本エイズ学会総会(2007年11月)。 広島

用材料、検出又は定量方法、治療用遺伝子断片、および治療方法 発明者：金田次弘、永井裕美、水野善文、 出願人：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

20. 大出裕高、横幕能行、松山 翔、伊部史朗、藤崎誠一郎、間宮均人、濱口元洋、金田次弘、星野忠次コンピュータ・シミュレーションで薬剤耐性 HIV-1 に対する薬効の予測は可能か？ 第21回日本エイズ学会総会(2007年11月)。 広島

21. 杉浦 互、潟永博之、吉田 繁、千葉仁志、小池隆夫、伊藤俊広、原 孝、佐藤武幸、石ヶ坪良明、上田敦久、近藤真規子、今井光信、貞升健志、長島真美、福武勝幸、山元泰之、田中理恵、加藤信吾、宮崎菜穂子、岩本愛吉、藤野真之、仲宗根正、巽 正志、椎野禎一郎、岡 慎一、林田庸総、服部純子、伊部史朗、藤崎誠一郎、金田次弘、濱口元洋、上田幹夫、正兼亜季、大家正義、下条文武、田邊嘉也、渡辺香奈子、白阪琢磨、桑原 健、森 治代、小島洋子、中桐逸博、高田 昇、木村昭郎、南 留美、山元政弘、松下修三、健山正男、藤田次郎

2003-2006年の新規 HIV-1 感染者における薬剤耐性頻度の動向

第21回日本エイズ学会総会(2007年11月)。 広島

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

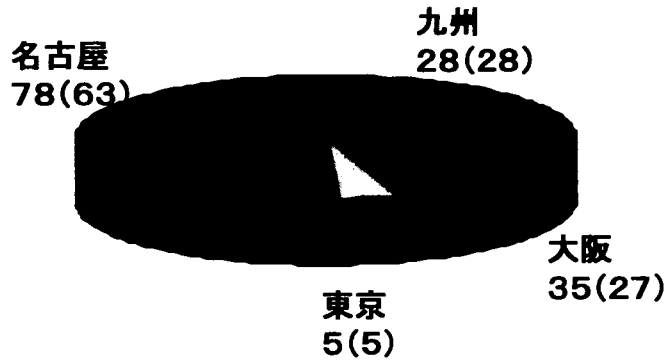
1. 特許取得

特願 2005-327417 発明の名称：人免疫不全ウイルス-1 遺伝子検出又は定量

図1

HIV-1 DNAとHIV-1 mRNAを測定した症例のまとめ

146検体(123症例)



検体数(症例数)

図2 HARRT著効例のHIV-1 DNA、全長HIV-1 mRNA及び活動度指数の分布

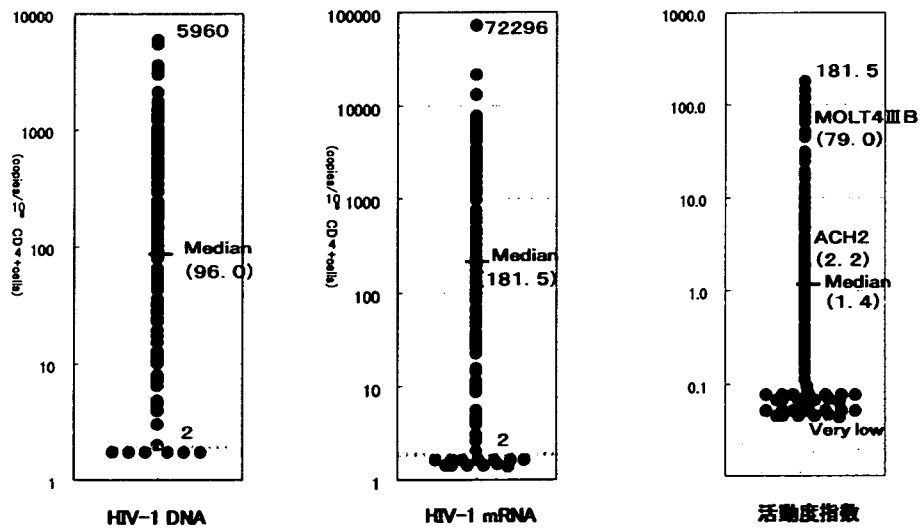


図3

HIV-1 DNAと活動度指数

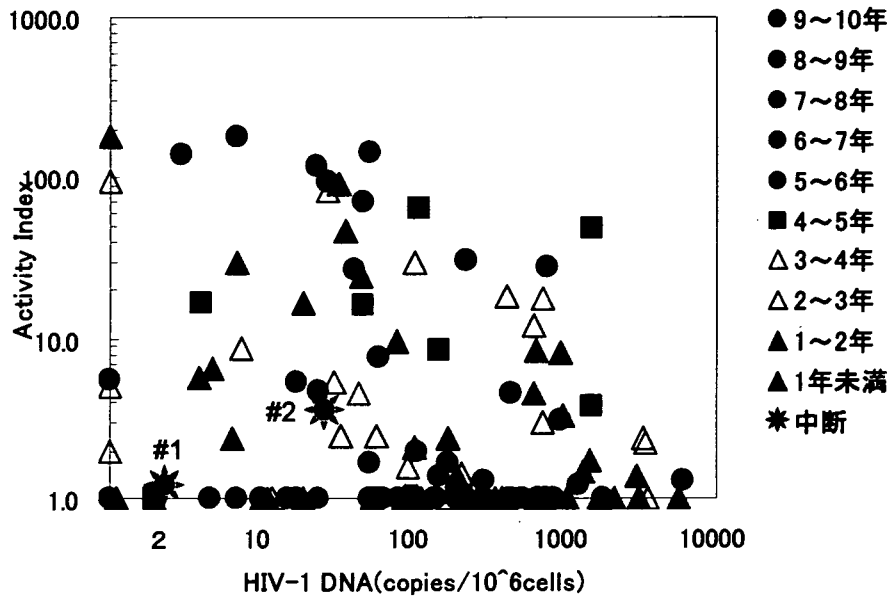


図4

プロウイルス、活動度指数からみた治療中断候補症例

AI: Very low

名古屋、7 九州、2



大阪、14

AI: Very low + DNA < 100

名古屋、3 九州、1

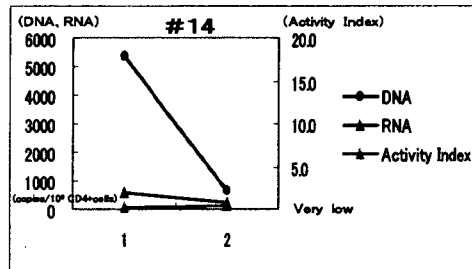
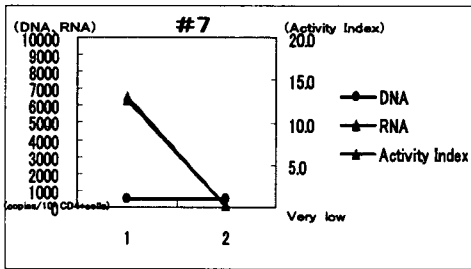
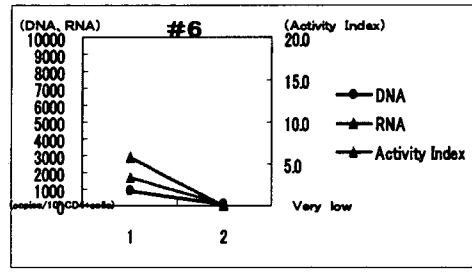
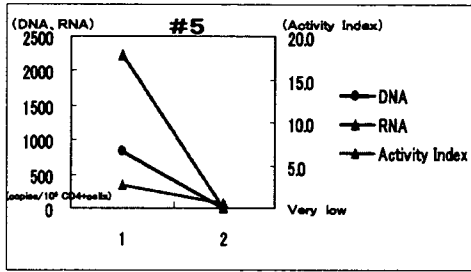


大阪、11

名古屋		大阪		九州	
DNA値	RNA値	DNA値	RNA値	DNA値	RNA値
<dl	<dl	<dl	<dl	2	<dl
2	<dl	2	<dl	210	4
92	<dl	5	<dl		
113	<dl	7	<dl		
347	<dl	10	<dl (2回測定)	#16	
1030	<dl	11	<dl		
2111	26	12	<dl		
		15	<dl		
		17	<dl		
		56	<dl		
		60	<dl		
		88	3 (2回測定)	#19	
		175	<dl (3回測定)	#3	
		198	5	(copies/10 ⁶ CD4+ cells)	

図5

2回測定例の経時変化(1)



研究課題

「末梢 CD4 陽性 T リンパ球中の残存プロウイルス量とその活動指数は治療中断の指標となりうるかを明らかにする研究」

分担研究者 氏名 国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター
止血・血栓研究部長 濱口元洋

研究要旨

抗 HIV 療法 (多剤併用療法: HAART) 著効の HIV-1 感染症患者において末梢 CD4 陽性 T リンパ球中に残存するプロウイルスと mRNA を定量し、1 コピーあたりのプロウイルスの HIV-1 mRNA 転写能 (活動指数) を算出する。その活動指数が極めて低値の患者において、HIV-1 ウイルスが治療中断後も増殖していないかどうか、さらに治療中断の妥当性について検討する。血中 HIV-1 RNA 量 (viral load, VL) が長期にわたり (3 年以上) 検出限度 (50 copies/mL) 以下の HAART 著効 HIV-1 感染症患者で、且つ、プロウイルス量が 100copies/10⁶cells 以下ならびに活動指数が 2.0 以下、CD4 陽性 T リンパ球数が 500/ μ L 以上を維持されている患者を対象とする治療中断の臨床研究計画書を作成し、臨床研究審査委員会に提出した。

A. 研究目的

多剤併用療法 (HAART) 著効の HIV-1 感染症患者を対象にして末梢 CD4 陽性 T リンパ球中に残存しているプロウイルスコピー数と全長 HIV-1 mRNA を定量し、1 コピー当りのプロウイルスの HIV-1 mRNA 転写能 (活動指数) を算出する。本研究の目的は、残存プロウイルス量、全長 HIV-1 mRNA 量、活動指数などが HAART 中断の指標となるかを検討することである。

B. 研究対象と方法

以下のすべての基準を満たす患者に同意のもと中断する。目標症例数は 2 年間で 4 例とする。

① 血中 HIV-1 RNA 量 (viral load, VL) が長期にわたり (3 年以上) 検出限度 (50 copies/mL) 以下の HAART 著効 HIV-1 感

染患者。且つ、プロウイルス量が 100copies/10⁶cells 以下ならびに活動指数が 2.0 以下、CD4 陽性 T リンパ球数が 500/ μ L 以上を登録 1 年前より維持されている患者。

② HAART 中断後 96 週まで経過観察が可能な患者

③ 20 歳以上の成人であること

④ 本人から文書で同意が得られていること

以後注意深く患者の HIV-1-RNA、CD4 リンパ球数を計測する。HIV-1 ウイルスの増加が認められれば速やかに HAART を再開する。

C. 研究結果

我々が経験した 2 症例は以下のごとくであり、活動指数の値により臨床経過の相違があることが示唆された。症例 1. 1990

年より AZT+ddc の治療を開始されていたが、2003年に内服アドヒアランスが30%と判明したため、治療中断とした(薬剤耐性遺伝子変異は認めなかった)。その時点の HIV-RNA=50 > copies/mL (感度以下)、CD4=562/ μ L。中断後も HIV-RNA の増加を認めていない。活動指数は 3.5。

症例 2. CD4=140/ μ L となった時点で抗 HIV 療法開始 (d4T+3TC+NFV)。その後 CD4 = 500/ μ L 以上、HIV-RNA=50 > copies/mL (感度以下) が 3 年間持続したため、1 日 1 回法への治療変更も考慮し、一旦 HAART を中断。しかし、1 ヶ月後に頭痛など症状出現、HIV-RNA=4.6x10⁵copies/mL と急上昇、CD4=295/ μ L と低下した。直ちに HAART (TDF+3TC+EFV) 導入し、再び CD4=500/ μ L 以上を継続している。活動指数 29.6。

そこで、潜伏感染細胞の AI より低いレベル (AI : 2.0 以下) の症例を選択し、且つ、臨床的に治療経過が良好と判断できる血中 HIV-1RNA 量 (viral load, VL) が長期にわたり (3 年以上) 検出限度 (50 copies/mL) 以下、CD4 陽性 T リンパ球数が 500/ μ L を維持されている症例を対象とし、治療中断可能かどうかを判定する臨床試験を計画した。平成 19 年度は全国レベルでの多施設共同臨床試験について討議がなされたが、活動指数 (Activity Index: AI) が臨床的に論文で認知されていないことを理由に多施設での検討は見送られた。

したがって、まずは国立病院機構名古屋医療センターでの単独施設によるパイロットスタディという位置づけで臨床研究計画書を作成した。

D. 考察

長期にわたり HAART が著効し、HIV-RNA が感度以下と低値であり、且つ CD4 リンパ球数が 500 以上/UL を確保できている患者で、活動指数 (DNA/mRNA) が低値であれば治療中断できる可能性があること示唆された。

E. 結論

プロウイルス量が 100copies/10⁶cells 以下ならびに活動指数が 2.0 以下、CD4 陽性 T リンパ球数が 500/ μ L 以上を維持されている患者を対象とする治療中断の臨床研究計画書を作成し、臨床研究審査委員会に提出した。

F. 健康危険情報

なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

G. 研究発表

原著論文による発表

欧文

- 1) Ibe S, Hattori J, Fujisaki S, Shigemi U, Fujisaki S, Shimizu K, Nakamura K, Kazumi T, Yokomaku Y, Mamiya N, Hamaguchi M, Kaneda T: Trend of drug-resistant HIV type-1 emergence among therapy-naïve patients in Nagoya, Japan: An 8-year

- surveillance from 1999 to 2006. *AIDS Res Human Retroviruses* 24: 7-14, 2008.
- 2) Gatanaga H, Ibe S, Matsuda M, Yoshida S, Asagi T, Kondo M, Sadamasu K, Tsukada H, Masakane A, Mori H, Takata N, Minami R, Tateyama M, Koike T, Itoh T, Imai M, Nagashima M, Gejyo F, Ueda M, Hamaguchi M, Kojima Y, Shirasaka T, Kimura A, Yamamoto M, Fujita J, Oka S, Sugiura W: Drug-resistant HIV-1 prevalence in patients newly diagnosed with HIV/AIDS in Japan. *Antiviral Res.* 75: 75-82, 2007.
- 3) Takahashi M, Ibe S, Kudaka Y, Okumura N, Hirano A, Suzuki T, Mamiya N, ○ Hamaguchi M, Kaneda T: No observable correlation between central nervous system side effects and EFV plasma concentrations in Japanese HIV type 1-infected patients treated with EFV containing HAART. *AIDS Res. Human Retroviruses* 23: 983-987, 2007.
- 4) Gatanaga H, Hayashida T, Tsuchiya K, Yoshino M, Kuwahara T, Tsukada H, Fujimoto K, Sato I, Ueda M, Horibe M, Hamaguchi M, Yamamoto M, Takata N, Kimura A, Koike T, Gejyo F, Matsushita S, Shirasaka T, Kimura S, Oka S: Successful efavirenz dose reduction in HIV type-1-infected individuals with cytochrome P450 2B6*6 and *26. *Clin Infect Disease* 45: 1230-1237, 2007.
- 和文
- 5) 高橋昌明、藤崎誠一郎、伊部史朗、久高祐一、奥村直哉、平野淳、鈴木達男、横幕能行、間宮均人、濱口元洋、金田次弘：HIV・HCV重複感染に対するリバビリン併用ペグ・インターフェロン療法により CD4,CD8 陽性リンパ球数が減少した1症例。新薬と臨床 56: 332-335, 2007.
- 6) 濱口元洋：免疫再構築症候群とその対応。J. AIDS Res. 9: 98-101, 2007.
- 7) 平野淳、奥村直哉、久高祐一、寺畑奈美、高橋昌明、坂野和英、横幕能行、安岡彰、間宮均人、濱口元洋、金田次弘：サイトメガロウイルス感染症を発症した日本人エイズ患者に対するバンガンシクロピルの効果および安全性についての評価。日病薬誌 43: 1397-1399, 2007.
- 学会発表
- 国内
- 1) 奥村直哉、平野淳、久高祐一、寺畑奈美、高橋昌明、横幕能行、間宮均人、安岡彰、金田次弘、濱口元洋。名古屋医療センターにおける FPV の使用経験【第2報】。第21回日本エイズ学会学術集会・総会（広島）（平成19年11月）
- 2) 内海眞、市川誠一、菊池恵美子、濱口元洋。MSMを対象にした名古屋における無料 HIV 抗体検査会。第21回日本エイズ学会学術集会・総会（広島）（平成19年11月）
- 3) 福山由美、濱口元洋、山田由美子、野口明子、市川誠一。HIV 陽性判明後