

発表は研究班の研究成果を発表することが目的であり、内容としては1) わが国における妊婦HIVスクリーニングの現状 2) HIV感染妊婦の実態 3) HIV母子感染の実態と予防対策 4) HIV感染妊婦から生まれた児の予後 5) HIV感染予防マニュアル6) HIV感染妊娠の将来予測 7) 性感染症とHIVなどについて発表してきた。また、スクリーニング検査に関しては実際の検査実施率や陽性率などのほかに、偽陽性の問題について毎回言及した。これはHIV抗体検査では0.3%の頻度で偽陽性がみられるので、スクリーニング陽性という段階で即感染と誤解されることが無いように、スクリーニングを担当する産科医を中心に啓発をおこなってきた。多くの都道府県でマスメディアが発表会の開催について取上げた。これらの内容は巻末に掲載する。

研究成果発表会実施地区のその後の検査実施率

表4. に発表を実施した都道府県の妊婦HIV検査実施率の年次推移を示した。平成17年度までの15回の発表会のうち11ヵ所の開催都道府県の発表会翌年度の検査実施率が、各年度の全国平均検査実施率の伸び率を上回った。全国平均実施率の変化の年次推移(平成13年度→14年度:2.4%, 14年→15年度:4.7%, 15年度→16年度1.4%, 16年度→17年度:3.6%, 17年度→18年度:0.7%)に比べて、特に岩手県(15.2%増、59.5%→74.7%)熊本県(15.2%増、68.5%→83.7%)福岡県(11.7%増、56.9%→68.6%)山形県(11.2%増、79.8%→91.0%)で検査実施率の大幅な上昇がみられた。このことから現在までの研究成果発表会は全国検査実施率上昇のた

めの啓発活動として十分な意義をもつと考えられた。

図1. には検査実施率の低い県の実施率の推移を全国平均と比較して示した。

研究成果発表会についての考察

妊婦HIV検査実施率は年度を重ねるにつれて上昇してきた要因として、従来大都市中心に発生しそして外国人が多かった妊婦HIV感染者は近年地方都市においても発生し、しかも日本国籍の妊婦の増加がみられるようになったため医療サイド及び妊婦自身のHIVへの関心が高まったことや、平成14年に日本産科婦人科学会が会員に対して妊娠初期におけるHIV検査実施にむけた推薦文を出したことが挙げられる。また、われわれの調査で行政による検査費用負担がなされた秋田県、埼玉県、沖縄県などでは当然のように検査実施率は高くなっている。さらに今回われわれが行ってきた啓発活動も検査実施率の上昇に貢献してきたと考えられる。

国民向け研究成果発表会の企画は、できるだけ医療関係以外の一般聴衆にも理解してもらえる発表内容であることが望ましいわけであるが、実際には一般の方の関心が薄く医療関係者の聴衆が多くなっているのが実状である。そのため内容は医療関係者向けで多少専門的となる傾向がみられた。しかし、各地での発表会ではその地区におけるHIV関連の行政担当者や医療従事者による活発な討論がなされたことでHIV感染に関する関心が高まることや、現場での問題点が浮き彫りになるなどの効果があった。また、前年まで検査率の低かった都道府県での開催では、マスメディアの関心

表4. 研究成果発表会と都道府県別の妊婦 HIV 検査実施率 (全国病院調査)

	平成12年度	13年度	14年度	15年度	16年度	17年度	18年度
東京	91.5	96.5	→ 93.8	95.2	92.9	→ 97.2	96.3
大阪	83.3	81.1	→ 87.0	93.4	95.6	97.5	98.0
福岡	36.0	34.8	→ 40.5	56.9	→ 68.6	84.4	88.4
宮城	95.1	95.7	88.8	→ 95.4	96.5	95.1	97.0
熊本	60.8	68.0	68.5	→ 83.7	73.3	82.6	89.2
広島	76.8	81.1	78.6	→ 83.3	88.2	98.6	97.2
岩手	56.6	58.9	58.3	59.5	→ 74.7	77.3	76.3
愛知	83.6	90.9	89.9	95.0	→ 88.4	97.5	98.7
大分	31.0	74.6	50.2	68.3	77.8	→ 81.5	84.3
山形	49.7	64.2	66.3	74.6	79.8	→ 91.0	90.7
北海道	69.8	71.5	79.9	81.9	88.5	91.4	→ 90.7
山口	32.2	38.0	64.6	70.4	75.6	87.5	→ 86.9
沖縄	20.5	30.3	36.8	72.0	74.8	82.7	→ 92.2
全国平均	79.7	82.6	85.0	89.7	91.1	94.7	95.3

下線は研究成果発表会を実施した年度の検査実施率

も高く、全国の妊婦HIV検査実施率について詳細な発表がなされ、地域における検査実施率の向上を促す報道がなされることによって、翌年からの検査実施率の上昇に良い影響が現れた。発表会の開催自体が啓発活動のひとつとなる例であった。

一方、国民向け研究成果発表会の目的として、われわれは広く市民の中で啓発活動をおこなうため沖縄や神奈川における市民や高校生によるエイズフォーラムにも積極的に参加してきた。平成17年度の沖縄県名護市での人権フォーラムには、講演のほか演劇、歌など多彩な内容で参加者には中学生、高校生が多く、パネルディスカッションでは医療関係者でなくとも理解が得られるよう工夫した発表がおこなわれ、参加者は約200余名にのぼり、内容についても十分な理解が得られたと思う。同様の発表は神奈川県大和市での高校生エイズフォーラムでもおこなった。

こういった市民フォーラムでは、妊婦のHIV感染問題のみならず若者の性教育、性感染症の問題についても言及されたので、若者がエイズ、性感染症の問題を身近に考える非常によい機会であったと考える。またフォーラムでは、治療法の進歩によって延命が可能となったHIV感染児の問題について触れることによって、HIVが社会実生活のなかに身近にあることが理解されたと思われた。

わが国においては妊娠初期にHIVをスクリーニングすることにより、感染が判明しても十分な予防対策によって母子感染はほとんど予防可能となっている現状を考えると、今後とも100%検査実施を目標として啓発活動を続けるべきであろう。特に近年、かかりつけ

医のない妊婦が突然救急来院することが社会問題となっており、このような妊婦の場合、当然感染症のスクリーニングはおこなわれていないので、妊婦健診を受けていない妊婦が少しでも減少するための啓発や支援活動も必要と考える。

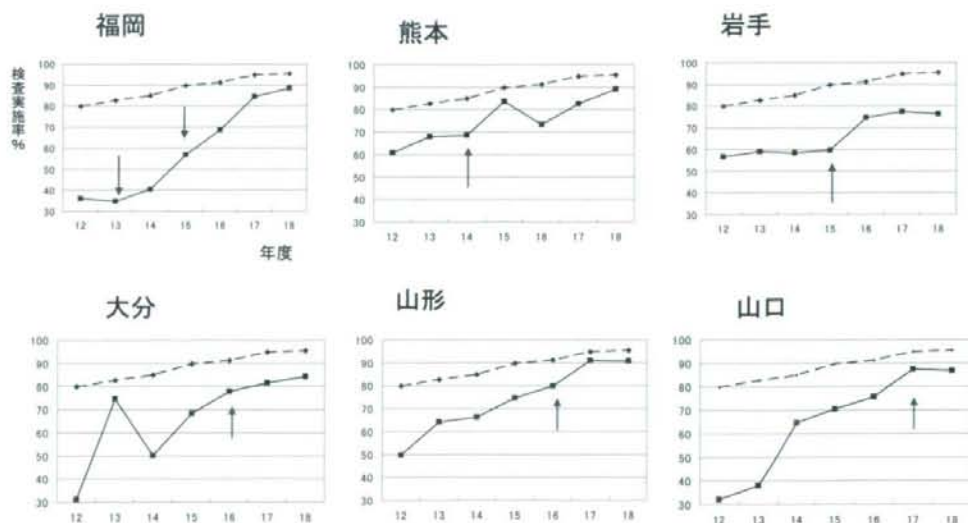
参考文献:

厚生労働省:平成11年度～18年度HIV母子感染全国調査研究報告書 1999～2007
 厚生労働省:「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」班(主任研究者:稲葉憲之) 平成17年度総括・分担報告書 2005
 厚生労働省:「周産期・小児・生殖医療におけるHIV感染対策に関する集学的研究」班(主任研究者:稲葉憲之) 平成18年度総括・分担報告書 2006

報道:

1) 盛岡タイムス
 題名:「妊婦のHIV抗体検査」
 エイズ予防財団盛岡で研究成果発表会
 平成15年(2003)11月24日
 2) 大分合同新聞(朝刊)
 題名:「妊婦の早期診断が重要」HIV研究発表会
 平成16年(2004)10月3日
 3) 山口新聞(朝刊)
 題名:「HIVと妊婦」あす研究発表
 平成17年(2005)11月18日
 4) 宮崎日日新聞
 題名:「妊婦のHIV検査実施率本県全国最低56%」
 平成19年(2007)2月12日

図1. 検査実施率の低かった県と全国平均検査実施率の比較



注1: 矢印は研究成果発表会の開催

注2: 実線は当該県検査実施率、破線は全国平均検査実施率を示す

(5) クリニカルカンファレンス(3)：産婦人科と感染症を考える

5) HIV の垂直感染とその予防

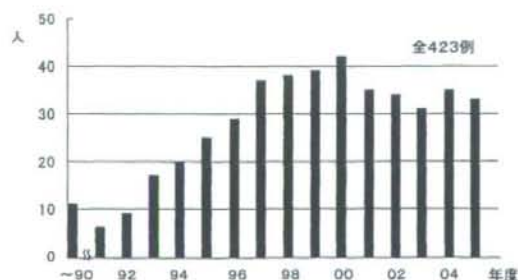
座長：江東病院顧問
松田 静治独立行政法人国立病院機構
仙台医療センター総合成育部長
和田 裕一獨協医科大学教授
稲葉 憲之

はじめに

HIV 感染妊娠はスクリーニングされずに分娩に至ると、その約1/4に垂直感染が起こり、生まれた児の予後は極めて不良となる。しかし、妊娠初期にスクリーニングされ HIV 感染と診断されれば、妊娠中期から抗レトロウイルス薬を投与し選択的帝王切開術を施行、出産後は断乳のうえ児に zidovudine(AZT)シロップを6週間予防的に投与することによって垂直感染を起こす例は極めて少ない。わが国では厚生省エイズ対策研究事業「HIV 母子感染予防の臨床的研究」班(平成12~14年度、主任研究者：戸谷良造)、「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」班(平成15~17年度、主任研究者：稲葉憲之)が全国調査を実施してその実態を明らかにしてきた。本稿ではそれらの結果を中心に述べる。

HIV 垂直感染

HIV の垂直感染は、妊娠中は経胎盤性に分娩時には産道で起こる。出生後は授乳時に母乳から児に感染する。このうち妊娠期間中の感染は主に妊娠後期の陣痛発来によって胎盤の微細な血管が破綻し母体血の胎児血への輸血が起こることによって発生すると考えられている。垂直感染の危険因子としては慢性の絨毛羊膜炎、母体の高ウイルス血症、CD4陽性Tリ



(図1) わが国における HIV 感染妊婦の年次推移
文献1より

Prevention of HIV Vertical Transmission

Yuichi WADA

Department of Obstetrics and Gynecology, National Hospital Organization, Sendai Medical Center, Sendai

Key words: HIV · Vertical transmission · Prevention

ンパ球の低下、陣痛、破水からの時間的経過などが挙げられている。

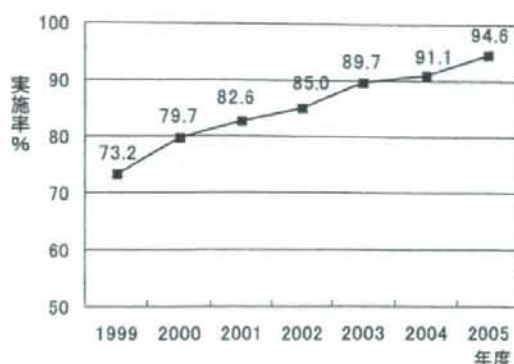
わが国における HIV 感染妊婦の実態

研究班の調査¹⁾は妊婦については産科グループで、出生児に関しては小児科グループで行われてきたが、両者の統合データでは平成16年度までに HIV 感染妊婦423例が確認されている。この調査での感染妊婦の年次推移を図1に示した。1997年以降は年間約30~40例の感染妊婦が確認されている。地域別にみるとやはり東京を中心とした関東・甲信越地区での感染妊婦発生が圧倒的に多いが、近年は全国各地での感染報告も増えている。妊婦の国籍は産科側調査で確認された375例のうち日本国籍は145例で他はタイを中心とした東南アジア145例、南米34例などとなっている。

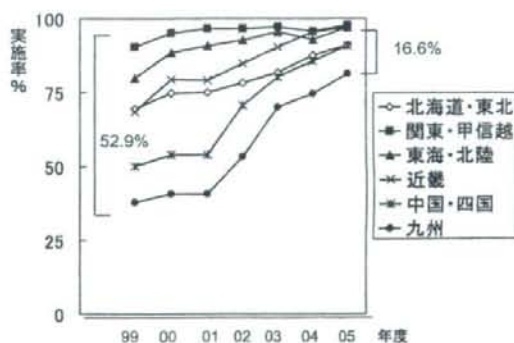
HIV 垂直感染と予防対策

1) 妊娠初期における感染妊婦のスクリーニング

研究班の全国病院調査による妊娠初期の HIV スクリーニングの実施率を図2に示した。調査を開始した平成11年度の73.2%から17年度には94.7%まで上昇しており感染妊婦がスクリーニングされ垂直感染予防対策を講じやすくなっている。しかし、実施率をみると地域格差がみられ(図3)、診療所でやや実施率が低いこと(平成15年度調査:病院89.7%,診療所80.8%)も確認されており²⁾、今後さらに100%実施に向けた努力が必要である。



(図2) わが国における妊婦 HIV 検査実施率(全国病院調査) 文献1より



(図3) 妊婦 HIV スクリーニング検査実施率の地域格差(全国病院調査) 文献1より

(表1) わが国の HIV 感染妊婦に対する抗レトロウイルス薬の投与状況

抗ウイルス薬	症例数	投与年次
1剤 AZT	66 61	1996~ 1999年 中心
3剤 AZT + 3TC + NFV d4T + 3TC + NFV	87 53 11	2000年 ~現在
4剤 AZT + 3TC + LPV/RTV	14 8	2003年 ~現在

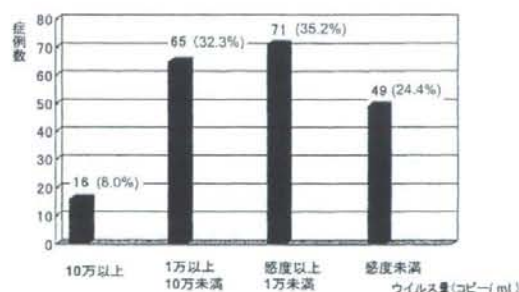
文献1より

2) 妊娠中の抗 HIV 療法

1994年に Pediatric Aids Clinical Trial Group(PACTG)の protocol 076 study(prospective study)が妊婦への抗 HIV 療法について報告した³⁾。CD4が比較的低下していない(200cell/mm³以上)HIV 感染妊婦を対象として妊娠中期から予防的に AZT500mg/day を連日投与、分娩時には AZT を静注～点滴で投与し、生まれた児に生後 6 週間 AZT シロップを 2mg/kg で 6 時間毎に 6 週間投与した場合、placebo 群で母子感染率が 25.5% だったのに対して、投与群では母子感染率は 8.3% に低下した。その後、プロテアーゼ阻害薬の登場によって妊婦にも 3 剤以上の多剤併用療法(HAART)が適応されるようになった。わが国における妊婦に対する抗レトロウイルス薬の投与状況を表 1 に示す。2000 年以降は多剤併用療法が中心となっている。図 4 はわが国における感染妊婦の最高血中ウイルス量を示したものであるが、抗レトロウイルス薬を投与することによるウイルス量の変動をみると表 2 に示すごとく、AZT 単剤では投与後に十分にウイルス量が低下する例が少ない一方、多剤併用療法を行った場合には顕著にウイルス量が減少する例が多く母体にとっても垂直感染予防上も多剤併用療法の有効性が確認されている。いずれにしろ感染妊婦に対しては抗ウイルス療法が実施されるが、一方これらの抗レトロウイルス薬の毒性については逆転写酵素阻害剤による児のミトコンドリア機能障害や多剤併用療法による催奇形性の問題、新生児に対する予防的 AZT 投与による貧血の問題など解決すべき課題も残されている。

3) 分娩様式

The International Pediatric HIV Group は 1999 年に分娩様式と抗レトロウイルス薬投与の有無と垂直感染について発表した⁴⁾。その結果を図 5 に示す。この多施設調査では、血中ウイルス量は測定されていないが、抗レトロウイルス薬(AZT)の投与がなされなくとも予定帝王切を施行することによって垂直感染率は経膈分娩または緊急帝王切の 19.0% から 10.4% に、さらに AZT が投与されていた場合には 7.3% から 2.0% に低下した。その後現在まで HIV 感染妊婦には特にヨーロッパを中心に選択的帝王切が適応されることが多い。わが国における垂直感染を分娩方式別にみた調査結果を表 3 に示した。この結果をみても選択的帝王切での垂直感染率は 0.6% と極めて低く、陣痛発来前の帝王切に



(図 4) わが国の HIV 感染妊婦血中ウイルス量の最高値 文献 1 より

(表 2) 抗ウイルス薬投与による血中ウイルス量の変化(%)

ウイルス量の変化	1/100 以下に減少	1/10 以下に減少	やや減少	測定感度未満維持	増加	総計
AZT 群	0(0.0)	5(20.0)	14(56.0)	2(8.0)	4(16.0)	25(100)
HAART 群	25(36.8)	21(30.9)	6(8.6)	15(22.1)	1(1.5)	68(100)

文献 1 より

よって垂直感染が予防されることは明白である。HIV 感染妊婦の多い米国では HAART で母体血中ウイルス量を十分に減少させれば経陰分娩でも垂直感染は予防できるとの見解が出されているが、多数例での検討結果に基づくエビデンスはない。したがって、現状では陣痛発来以前の37～38週に帝王切開を選択するべきである。

HIV 感染児の予後

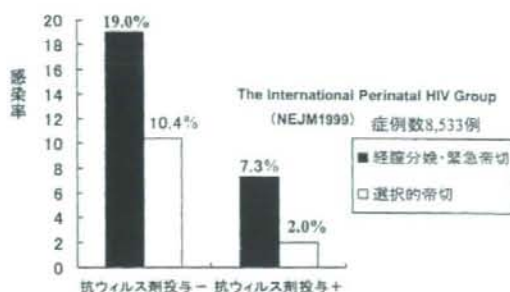
1) 出生児の感染の診断と AZT 投与

臍帯血は垂直感染の診断には用いない。生後48時間以内、14日目、1～2カ月、3～6カ月目に採血し RT-PCR による HIV RNA 定量や DNA PCR などのウイルス検査を行う。生後14日までに93%の症例で感染の診断が可能である。最終的には生後18カ月目にウイルス抗体検査で、非感染を確定する。児に対しては出生後8～12時間までに AZT の予防的経口投与(AZT シロップ 2mg/Kg)を6時間ごとに生後6週間継続する。

2) わが国における HIV 感染妊婦から生まれた児とのその予後

小児科側の調査では現在まで41例の HIV 感染児が報告されている。表4に感染児の背景を示

した。出生の状況は経陰分娩例が多く、帝王切開例は他の産科的適応での帝王切開がほとんどであった。母乳投与例が多いことは、新生児の受診まで感染に気づかれなかった例が多いことを示しており、これらの症例は妊娠初期に感染が確認され十分な対応がなされていれば垂直感染を予防できたものと推測される。表5に出生時の状況が確認されている感染・非感染児の在胎週数、出生体重、Apgar score を比較した。感染児は経陰分娩例が多いこともあるため在胎週数が長く、出生体重も大きい。Apgar score には有意差は無かった。表6には HIV 感染児の転帰を示した。41例中11例が死亡しているように予後不良な例が少なくない。一方、無症状であっても、その21例の中には就学年齢に達している例もあり、告知や社会生活指導など困難な問題も新たに出てきている状況である。



(図5) 分娩様式と垂直感染 文献4より

(表3) わが国における HIV 感染妊婦の分娩様式と垂直感染

分娩様式	非感染	感染	感染率
選択的帝王切開	172	1	0.6%
緊急帝王切開	13	1	7.1%
経陰分娩	17	5*	22.7%
合計	202	7	3.3%

*児の異常による受診を機に母親の感染が判明した7例を除く

文献1より

(表4) わが国における HIV 感染児41例の背景

分娩様式	症例数	妊娠中の抗 HIV 薬投与例	母乳投与例
経陰分娩	25	0	18
帝王切開	10	2	4
様式不明	6	0	2
合計	41	2	24

文献1より

結 語

以上述べたように、HIVの自然垂直感染率が20%を越える中で、感染妊婦への抗ウイルス療法、妊娠37～38週での選択的帝王切開、児への予防的AZTの投与によってわが国では垂直感染が予防可能となっている状況を考えるとき、妊娠初期のスクリーニング検査のいっそうの充実が予防対策の原点と考える。

「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」班員主任研究者：稲葉憲之(獨協医科大学)分担研究者：喜多恒和(防衛医科大学校)、塚原優巳(成育医療センター)、外川正生(大阪市立総合医療センター)、戸谷良造(和合病院)、和田裕一(仙台医療センター)

主な研究協力者：谷口晴紀(三重県立総合医療センター)、山田里佳(金沢大学)、明城光三(仙台医療センター)、葛西健郎(岩手医科大学)、林 公一(関門医療センター)、国方徹也(国際医療センター)、蓮尾泰之(九州医療センター)、尾崎由和(大阪医療センター)、

大島敦子(獨協医大)、大場 悟(聖隷三方原病院)、西川正能(獨協医大)、吉野直人(岩手医科大学)、岡崎隆行(獨協医大)、矢永由里子(エイズ予防財団)、佐久本薫(琉球大学)、高野政志(防衛医科大学校)、箕浦茂樹(国際医療センター)、井上孝実(名古屋医療センター)、小早川あかり(国際医療センター)、松田秀雄(防衛医科大学校)

《参考文献》

1. 厚生労働省「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」班(班長 稲葉憲之)：平成17年度 HIV 母子感染全国調査研究報告書：2006；10—84
2. 厚生労働省「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」班(班長 稲葉憲之)：平成15年度 HIV 母子感染全国調査研究報告書：2004；1—10
3. Connor EM, Sperling RS, Gelber R, et al. Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. *N Engl J Med* 1994；331：1173—1180
4. The International Perinatal HIV Group. The mode of delivery and the risk of vertical transmission of human immunodeficiency virus type 1—A meta-analysis of 15 prospective cohort studies. *N Engl J Med* 1999；340：977—987

(表5) HIV感染妊婦から生まれた児の出生の状況

	HIV感染群	HIV非感染群	P
在胎週数	37.8±2.6 (n=29)	36.1±1.7 (n=179)	<0.0001
Range	29~41	29~43	
出生体重	3,099±581 (n=33)	2,579±413 (n=183)	<0.0001
Range	1,568~4,000	1,322~4,350	
Apgar score (5分)	9.4±0.5 (n=11)	9.0±0.9 (n=171)	N.S
Range	9~10	5~10	

文献1より

(表6) わが国における HIV 感染児の転帰

転帰	症例数	
無症状	21	15例に抗レトロウイルス療法
AIDS～有病	5	
死亡	11	
不明・帰国	4	
合計	41	

文献1より

原著論文

アロマテラピーに用いられる芳香物質の
HIV 感染に及ぼす影響—MAGIC-5 細胞を用いた *in vitro* での検討—長 縄 聡¹, 早 川 智*¹, 相澤志保子¹, 清水一史², 北村勝彦³,
本多三男⁴, 陳 旺全⁵, 鄭 瑞棠⁶Anti-HIV-1 (human immunodeficiency virus type 1)
activities of essential oil preparations commonly
employed for aromatherapy—*In vitro* screening with MAGIC-5 cell assay—

Abstract

AIDS/HIV infection is one of the most serious and widespread viral infections which emerged during the 20th century. Recently, the morbidity and mortality associated with AIDS are declining with the use of highly active anti-retroviral therapy (HAART). On the other hand, patients are requested to take multiple anti-retroviral drugs and often suffer from various side effects. The emergence of drug-resistance caused by frequent mutation of HIV genomes is another important clinical problem. There are several reports suggesting the clinical usefulness of alternative/complementary medical therapy on HIV infection and AIDS patients, although most of them lack a scientific background.

In the present study, we screened 35 representative essential oils and tinctures employed in aromatherapy for anti-HIV-1 activity using a highly sensitive MAGIC-5 assay. MAGIC-5 cells were delivered from MAGI (HeLa-CD4-LTR-β-gal) cells by transfection of the human CCR5 gene and were sensitive to both X4 and R5 HIV-1 substrains. Cells were treated with/without various concentrations (0.01–1000 ppm) of sample preparations for 24 hours before exposure to HIV-1. Cells cultured in the presence of HIV were stained with X-gal to identify HIV replication after 48 hours of culture.

It was found that most of the herb representative essential oils and tinctures elicit strong inhibition of HIV-1 infectivity. The effective concentrations of the essential oils and tinctures were 100 to 1000 times lower than cytotoxic concentrations. Among 35 samples, we identified strong anti-HIV-1 activity in bergamot, lemon, lemongrass, myrrh, milk thistle and rose-otto preparations. Noteworthy is the fact that most essential oil samples did not show effectiveness with a maximal dose suggesting the presence of multiple agonists with different pharmacological modes or the co-existence of agonist(s) and antagonist(s) in the same preparations. In conclusion, we identified strong anti-HIV-1 activities in the essential oil and tincture preparations employed for aromatherapy.

Key words: HIV, aromatherapy, MAGIC-5

- ¹ Satoshi NAGANAWA 日本大学医学部先端医学講座感染制御科学部門/Department of Infectious Disease Control, Nihon University Advanced Medical Research Center, Tokyo
- *¹ Satoshi HAYAKAWA 日本大学医学部先端医学講座感染制御科学部門/Department of Infectious Disease Control, Nihon University School of Medicine, Tokyo
- ¹ Shihoko AIZAWA 日本大学医学部先端医学講座感染制御科学部門/Department of Infectious Disease Control, Nihon University Advanced Medical Research Center, Tokyo
- ² Kazufumi SHIMIZU 日本大学医学部微生物免疫学教室/Department of Microbiology and Immunology, Nihon University School of Medicine, Tokyo
- ³ Katsuhiko KITAMURA 横浜市立大学医学部公衆衛生学教室/Department of Public Health, Yokohama City University, Kanagawa
- ⁴ Mitsuo HONDA 国立感染症研究所エイズ研究センター第一研究グループ/AIDS Research Center, National Institute of Infectious Diseases, Toyama, Tokyo
- ⁵ Wang-Chuan CHEN 台北市立仁愛病院/Department of Oriental Medicine, Taipei Municipal Jen Ai Hospital Taipei, Taiwan
- ⁶ Juei-Tang CHENG 国立成功大学医学院薬理/Department of Pharmacology, School of Medicine, National Cheng Kung University, Tainan, Taiwan

受理日: 2006年1月13日

1. はじめに

エイズは、レトロウイルスの一つである HIV の感染により生体防御系の荒廃と日和見感染から致命的な経過をたどる疾患である。1981 年、米国で最初の症例が報告され 1983 年に、Montagnier と Gallo により HIV が同定されてから 22 年になる。その間 HIV 感染者は世界中に広まり、2003 年末の時点で感染者は 4200 万人、年間の死者は 250~350 万人に達している。しかしながら他方では、分子生物学ならびに免疫学の進歩により、HIV の感染機構とエイズ発症のメカニズムが明らかにされ、さらには多剤併用療法 (highly active antiretroviral therapy: HAART) により、感染者あるいはエイズを発症した患者でも免疫機能の再構築と予後の改善が可能となってきた。我が国では今日のところ幸いなことに全人口中の HIV 感染者が多発国と比較して少数である。しかし、先進国の中では唯一感染者が増加している国であり、社会的な対応が求められている。HIV は感染 2 週間前後に頭痛、発疹、筋肉痛、関節痛などの急性期症状を発症するが、その後は長い無症候期に入る。この間 HIV は、生体内で活発に増殖するが、血中の CD4 陽性リンパ球数も代償的に増殖するので自覚症状や他覚症状を欠き、通常の臨床検査では感染症として診断できない症例が多い。しかし、感染後平均 10 年間を経過して細胞性免疫不全が進行し、CD4 陽性リンパ球数が 300 個/ μ l 前後になると、表在リンパ節の腫脹のほか、発熱、下痢、体重減少などの症状が見られ、さらに減少して 200 個/ μ l 以下となると、日和見感染の発症頻度が高くなる。

現在では、いったん免疫系が荒廃した患者でも HAART により免疫能の再構築が可能であるが、強い副作用や耐性ウイルス出現の問題があり、HAART の開始時期や薬剤の選択にはいまだ議論のあるところである。

一方、代替医療により AIDS 患者の自覚症状ならびに他覚症状を軽減したり、合併症を予防する可能性が報告されている。すなわち Styles は、HIV 陽性の小児に、エッセンシャルオイルマッサージを施すことにより、苦痛と不安を取り除き、全身状態を改善できる可能性があるとして述べており¹⁾、Buckle はアロマテラピーが HIV 陽性者および AIDS 患者に真菌、原虫による日和見感染を防止すると報告している²⁾。

しかしながら、その効果の科学的根拠についての基礎的研究は少なく、アロマテラピーそのものが HIV の複製に何らかの影響を与えるや否やについての研究

もない。アロマテラピーの効果を確認する医学者の間でも直接的な効果については疑問視されている。

我々は、*in vitro* において効率的に、HIV 感染に及ぼす薬剤の効果をスクリーニングできる MAGIC-5 法を用いて、アロマテラピーに用いられるエッセンシャルオイルおよびチンキ剤の抗 HIV 活性を検討し、複数のエッセンシャルオイルおよびチンキ剤にその活性を認めたので報告する。

2. 対象と方法

株式会社グリーンフラスコより提供された 35 種類のエッセンシャルオイルおよびチンキ剤を用いて検討した。サンプルのうち、エッセンシャルオイル (Table 1, #1~#31) は DMSO にいったん溶解して、チンキ剤はそのまま培養液に加え検討を行った。

HIV 感染阻害の効果は MAGIC-5 アッセイによって検討した³⁾。MAGIC-5 は、HIV 非感受性である Hela 細胞に、HIV 感染するためのレセプターである CD4、さらに感染する細胞の指向性を決定するレセプターである CXCR4 および CCR5 を強制発現させた細胞株である。そのため R5 (マクロファージ指向性)、X4 (T 細胞指向性) 両ウイルスに感受性である。これまでに、HIV 複製の指標としては、培養液中に放出される HIVp24 の定量が多く用いられてきたが、ウイルス蛋白質量と感染効率とが必ずしも相関しないことが報告されている。

原法である blue focus assay⁴⁾ では、MAGI 細胞 (Hela-CD4-LTR, Gal) を HIV 存在下で一定時間培養した後、1% formaldehyde と 0.2% glutaraldehyde とを含む生理食塩水で固定し、X-gal で染色することにより感染細胞は青色に染色される。また MAGIC-5 では、さらに CCR5 を発現させ、R5 ウイルスでも X4 ウイルスと同様に検討できるという利点がある。

本実験では 96 穴マイクロプレートを用い、5%CO₂ の存在下で、37°C の環境において各ウエルに 10⁴ 個の MAGIC-5 細胞を 2.5% FCS 加 Dulbecco MEM [DMEM] 液中で培養した。この細胞を用いて、一定の濃度のエッセンシャルオイルおよびチンキ剤を含む培養液で 24 時間培養した後、一定量の HIV/LAI 株 (X4 ウイルス: 2×10² cfu/ウエル) を感染させた。対照としてサンプルを含まない培養液での染色細胞数を 100 とし、サンプルを含む培養液で染色数の逆数を阻害効果 (%) とし、阻害効果 50% の濃度 ppm (ID₅₀) を算出した。

また、この効果が細胞毒性によるものかどうかクリスタルバイオレット染色法により培養したウエル基底

Table 1. エッセンシャルオイルおよびチンキ剤の細胞毒性効果と HIV 感染阻害効果

	CT ₅₀ ppm	ID ₅₀ ppm
1 イランイラン	100	>100
2 オレンジ	10	>1
3 カモミール	128	>100
4 クラリセージ	4.2	>1
5 グレープフルーツ	30.8	>10
6 コバイバ	32.8	>10
7 サイプレス	32.8	>10
8 サンドルウッド	30.1	>10
9 ジュニパー	23.3	>10
10 ゼラニウム	25	>10
11 ティートリー	>100	>100
12 ニアウリ	2.6	>1
13 ネロリ	23	>10
14 ブチゲレン	192	>100
15 フランキセンス	0.478	>0.1
16 ベバミント	23.6	>1
17 ベルガモット	3.12	<0.01
18 マージョラム	31.6	>10
19 マンダリン	79.8	>10
20 ミルラ	0.344	<0.01
21 メリッサ	292	>10
22 ユーカリ	>100	>100
23 ラベンダー	>100	>100
24 レモン	363	<0.01
25 レモングラス	87.6	<0.01
26 ローズオットー	25.8	<0.01
27 ローズマリー	2.54	>0.1
28 モミ	>100	>100
31 ゲットウ	>100	>100
32 キャットクロー	2343	100
33 ミルクシスル	2328	<0.1
34 エキナセア	>10000	>10000
35 セントジョンズワート	260	>1000

HIV 感染阻害効果 (ID₅₀) が認められた数値を斜体で示した。

面の細胞数を定量し、コントロールを 100% としたとき、50% 培養基底面に細胞が残る濃度を CT₅₀ (ppm) として、細胞毒性効果を算出した。

3. 結 果

3.1 エッセンシャルオイルおよびチンキ剤の HIV に対する感染阻害効果

HIV 阻害効果が見られたものはベルガモット (#17)、ミルラ (#20)、レモン (#24)、レモングラス (#25)、ローズオットー (#26)、キャットクロー (#32) およびミルクシスル (#33) であった (Table 1)。また、CT₅₀ と比較してかなりの低濃度で HIV 阻害効果が確認でき、この阻害効果が細胞毒性によるものでないことが伺えた。

本研究で検討した濃度範囲は、エッセンシャルオイル (Table 1, #1~#31) で 1000~0.01 ppm、チンキ剤 (#32~#35) で 10000~0.1 ppm としたが、上記の 7 サンプルのうち、キャットクローを除く、いずれにお

いても最低濃度でも阻害効果が 50% 以上認められ、50% の阻害効果が認められる濃度である ID₅₀ は算出できなかった。

3.2 感染阻害効果の濃度依存性

前述のサンプルに関し、ロットを変更して再現性の検討を行った。このうちキャットクロー (ID₅₀ が 100 ppm) は、代表的な抗 HIV 剤である AZT (ID₅₀ が 0.006~0.001 ppm) と比較した場合、HIV 感染阻害効果が認められるのは著しく高濃度であることから、薬剤として開発するには不相当であると判断し、低濃度で活性が見られた、ベルガモット (#17)、ミルラ (#20)、レモン (#24)、レモングラス (#25)、ローズオットー (#26)、およびミルクシスル (#33) で別ロットのサンプルを用いて、それぞれについてさらに 2 回、同一の検討を行った。

それぞれのサンプルの濃度と HIV 感染阻害効果 (%) については Fig. 1 に示す。ベルガモット (#17)、ミルラ (#20)、レモン (#24) およびレモングラス (#25) で AZT に近い HIV 感染阻害効果が観察された。ローズオットー (#26)、およびミルクシスル (#33) では ID₅₀ を算出できなかったが、特定の濃度では、HIV 感染阻害効果が 50% に近い値として認められた。また、いずれのサンプルにおいても特定の濃度で HIV 感染阻害効果が最大となり、高濃度では阻害効果が低くなる傾向が見られた。

4. 考 察

これまでに抗 HIV 活性をもつ天然物のスクリーニングが広く行われてきた。実際、*in vitro* では、抗 HIV 活性のある生薬やその抽出物が多数見つまっているが^{(5)~(7)}、製剤化には至っていない。その理由として、有効濃度と毒性濃度が近いこと、生薬抽出物のみでは完全な HIV の複製抑制が得られない点にある。

本研究でも、サンプルの濃度を上げて、100% 抑制を達成するエッセンシャルオイルやチンキ剤はなく、これらが従来の抗 HIV 剤に代わるものとは考えられない。しかし、6 サンプルのいずれのエッセンシャルオイルやチンキ剤でも細胞毒性量の 1/100 以下で HIV 複製抑制を認めたことから、HIV 感染者および AIDS 患者に安全に使用できるものと考えられる。また、濃度を上昇させると活性が逆に低下する原因として、エッセンシャルオイルやチンキ剤中に抗 HIV 作用を阻害する物質が混在している可能性がある。すなわち、通常、HIV の感染を阻害する物質の阻害効果は、濃度が低下すると低下する。しかし、天然物から

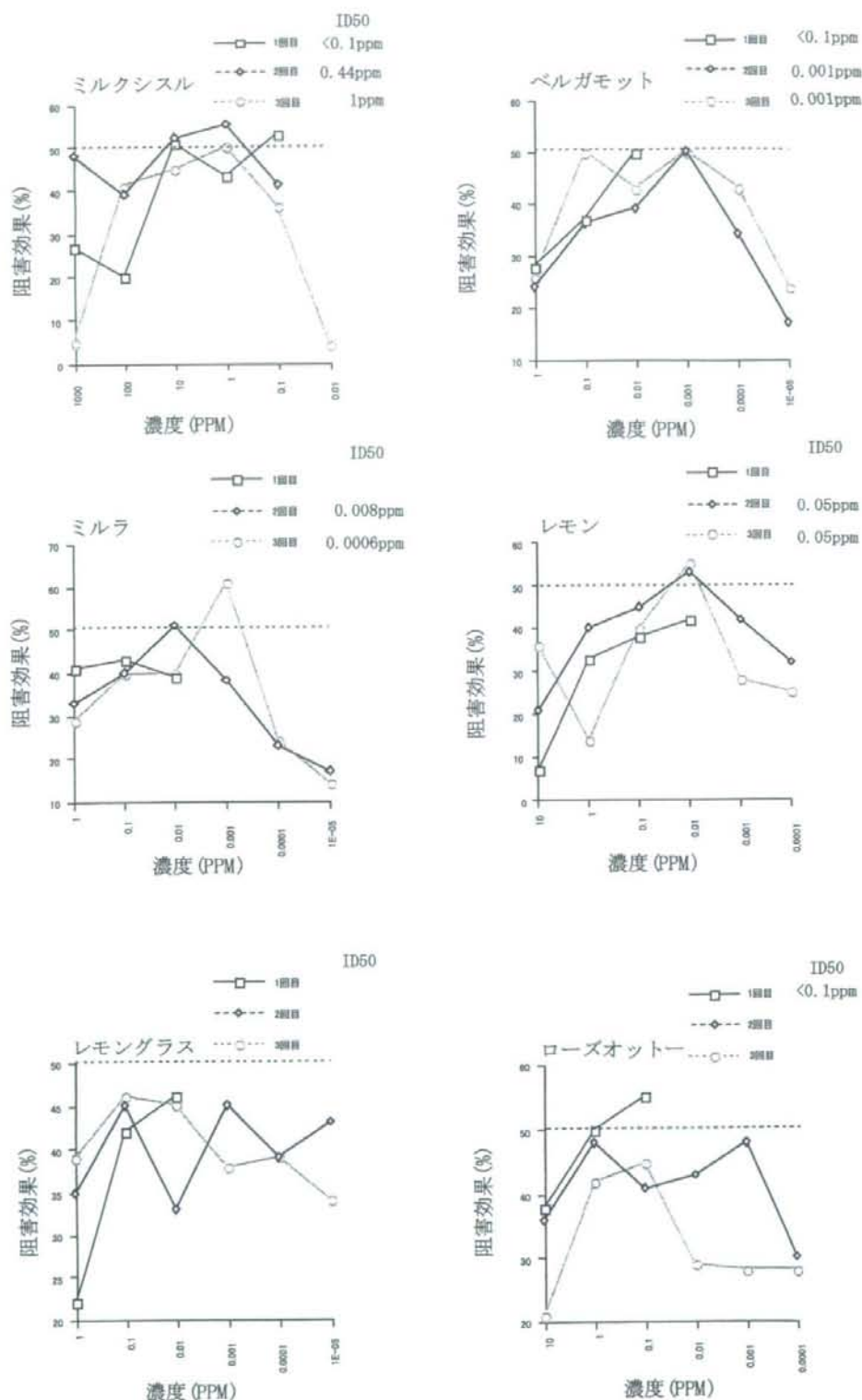


Fig. 1. ベルガモット, ミルラ, レモン, レモングラス, ローズオットーおよびミルクシスルの濃度依存性 HIV 感染阻害効果

の純化しない粗抽出物中には HIV 複製を阻害する物質と拮抗する物質が共存していることを想定した場合、サンプルが高濃度であると、感染を阻害する効果も高いが、その効果を阻害する物質の濃度も濃くなる。濃度が低下するとともに、先に拮抗物質の効果が低下し、阻害効果の方が高いため、見かけ上、感染阻害効果が高く観察される。さらに濃度が低下すると、阻害効果も低下する。この考え方から、将来的にはハーブエキスの中から活性成分のみを分離し、さらに活性成分の構造から推定してより活性の高い有効な薬剤を創出していくというアプローチが期待できる。また、ロットや保存方法によって、阻害効果はかなり変動しているが、これらサンプルが揮発性物質を含むため、感染阻害物質やその拮抗物質の含有量が変動している可能性がある。

本研究の中で最も比活性の高かったベルガモットは、地中海地方に広く分布する蜜柑様の果物で、生食よりは紅茶の着香(アールグレイ)に用いられ、抗不安作用や消化促進作用、駆虫作用などが知られている⁸⁾。葉には4種の flavonoid (rutin, hyperoside, quercitrin, luteolin, quercetin) が知られ、これらの中に有効成分が存在する可能性がある。実際、flavonoid には抗 HIV 活性を有するものが報告されており^{9), 10)}、創薬の可能性はある。

また、同じ柑橘類であるレモンには、抗酸化作用、発癌抑制作用¹¹⁾や殺菌作用¹²⁾が報告されており、アフリカでは、避妊の目的で陰部をレモンで洗浄する種族で HIV 感染のリスクが低下しているという報告もある^{13), 14)}。柑橘類からの抽出物には、抗インフルエンザウイルス活性¹⁵⁾や EBV など¹⁶⁾他のウイルスの複製を阻害する作用¹⁷⁾が知られている。

レモングラスは、植物学的にはレモンとは類縁関係の低いイネ科の植物であるが、Citral を含有することで柑橘類と共通している。レモングラス由来の Citral には抗真菌作用が報告されている¹⁸⁾。しかし、Citral には Caspase-3 の誘導効果が報告され¹⁹⁾、HIV による中枢神経細胞や免疫細胞の apoptosis を促進する可能性がある。さらに、柑橘類の芳香に長期間暴露すると NK 細胞の活性をはじめとする細胞性免疫能が低下するという²⁰⁾。また、類縁のグレープフルーツジュースは、抗 HIV 薬の一つである saquinavir²¹⁾ を肝臓で分解する酵素チトクローム P456 3A4 の活性を阻害することから、その有効性を高めうる可能性があるが、酵素の活性そのものや吸収に個人差があることから予期しない副作用を起こす可能性があり、saquinavir の製造元ロシュ社はグレープフルーツを

含む柑橘類と併用しないよう警告している。

ミルクシスル (Milk thistle) は、ヨーロッパに自生するキク科の2年草マリアアザミの種子から抽出され、毒キノコの解毒剤や健康増進作用があるとして中欧で古くから広く使用されてきた。近年、肝機能障害に対する治療効果²²⁾や紫外線による皮膚の発癌予防²³⁾、あるいはシスプラチンによる腎障害の予防効果が報告されている^{24), 25)}。しかしこれまでに HIV に対する効果や、AIDS 治療に関する報告がないので筆者らの報告が最初のものと考えられる。生薬の中には、セント・ジョンズワルトのように、抗レトロウイルス剤との相互作用を有するものがあり、HAART との併用は禁忌であるが、ミルクシスルは相互作用がないと報告されており、通常の抗ウイルス療法に併用できる可能性がある。マウス脾細胞に対する mitogen 活性²⁶⁾やヒト末梢血リンパ球の ConA による細胞増殖反応の増強やリンパ球混合培養によるサイトカイン産生の増強 (Th1 および Th2 細胞が共に増強する)²⁷⁾、など免疫系の機能を調節活性する作用も報告されており、臨床応用の可能性がうかがわれる。

ローズオットー (Rosse otto) はブルガリア原産のダマスカスバラの花の抽出物であり、香水の主要成分の一つであり、鎮静作用が知られているが、免疫機能の調節や抗微生物作用についての報告はない。

ミルラは別名没薬ともいわれ、アラビア半島、エチオピア、ソマリアにかけて生産されている生薬である。主成分はコミフォリックス酸、コミフォリニクス酸などで、血流改善作用のほか、強い殺菌作用があり、「没薬チンキ」として口腔炎、歯根炎に使用されることがある。古代エジプトではミララりに用いられたという。エジプトでは現在でもマンソン住血吸虫の治療に用いられ、その作用機序は寄生虫に対する免疫応答の是正であるという²⁸⁾。

現在、HIV 感染者に対し、既存の漢方薬の投与や代替療法が広く行われている。臨床的検討では、Weber ら²⁹⁾は HIV キャリア 68 名について、漢方薬投与群とコントロールの間にウイルスの検出量、症状、ことに QOL に有意差は見られず、臨床検査でも異常も見られなかったが、漢方薬を服用している患者の方がプラセボ投与を受けている患者よりも有意に多く胃腸症状を訴えた (79% vs. 38%; $p=0.003$) としており、Zhou ら³⁰⁾は、鍼治療で AIDS 患者の不定愁訴が緩和されたことと述べているが、Power らは多数の報告を検討して代替医療は AIDS 患者の治療に有用ともそうでないともいえないとしている³¹⁾。

多くの報告では患者の症状や体質を全く無視してお

り、個々の患者に合わせた処方により、より優れた臨床効果が得られる可能性があるという。しかし、HIV感染者やAIDS患者では致命的経過をたどる疾患であり、また現在、HAARTで大幅な延命が可能であることから、代替医療を主体とする治療は倫理的に許されないのであろう。しかし、HAARTには副作用や耐性の問題があり、漢方薬やアロマテラピーなど代替医療を併用することによる副作用の軽減や、ワクチンとの併用によるアジュバンド効果を目指すことは十分可能であると考えられる。

本研究により、いくつかのエッセンシャルオイルやチンキ剤において、HIVの感染に対する阻害効果が確認できた。しかし、これらの効果は、あくまでウイルス複製に対する直接効果を検討したものであり、皮膚、鼻粘膜や気道の粘膜における免疫系、さらに芳香により活性化された中枢神経を介した免疫系ならびに内分泌系に及ぼす効果については完全に除外している。本研究で効果なしと判定したエッセンシャルオイルやチンキ剤の中には他の経路を介して作用するものがあるとも考えられるので、他の実験系を介した検討も今後考慮に入れる必要があるであろう。

謝辞

本研究は一部日本アロマテラピー協会・(現：(社)日本アロマ環境協会) 学術調査研究委員会研究助成金制度による助成を受けて行われた。エッセンシャル標品をご提供いただきました(株)グリーンフラスコの林 眞一郎氏に厚く御礼申し上げます。

●引用文献

- 1) Styles J. L.: The use of aromatherapy in hospitalized children with HIV disease, *Complement Ther. Nurs. Midwifery*, **3**, 16-20 (1997).
- 2) Buckle J.: Clinical aromatherapy and AIDS, *J. Assoc. Nurses AIDS Care*, **13**(3): 81-99 (2002).
- 3) Hachiya A., Aizawa-Matsuoka S., Tanaka M., Takahashi Y., Ida S., Gatanaga H., Hirabayashi Y., Kojima A., Tatsumi M., Oka S.: Rapid and simple phenotypic assay for drug susceptibility of human immunodeficiency virus type 1 using CCR5-expressing HeLa/CD4(+) cell clone 1-10 (MAGIC-5), *Antimicrob. Agents Chemother.*, **45**, 495-501 (2001).
- 4) Kimpton J., Emerson M.: Detection of replication-competent and pseudotyped human immunodeficiency virus with a sensitive cell line on the basis of activation of an integrated beta-galactosidase gene, *J. Virol.*, **66**, 2232-2239 (1992).
- 5) Piras G., Makino M., Baba M.: Sho-saiko-to, a traditional Kampo medicine, enhances the anti-HIV-1 activity of lamivudine (3TC) *in vitro*, *Microbiol. Immunol.*, **41**, 835-839 (1997).
- 6) Zhao J., Ben L. H., Wu Y. L., Hu W., Ling K., Xin S. M., Nie H. L., Ma L., Pei G.: Anti-HIV agent trichosanthenin enhances the capabilities of chemokines to stimulate chemotaxis and G protein activation, and this is mediated through interaction of trichosanthenin and chemokine receptors, *J. Exp. Med.*, **190**, 101-111 (1999).
- 7) Kitamura K., Honda M., Yoshizaki H., Yamamoto S., Nakane H., Fukushima M., Ono K., Tokunaga T.: Baicalin, an inhibitor of HIV-1 production *in vitro*, *Antiviral Res.*, **37**, 131-40 (1998).
- 8) Savickiene N., Dagilyte A., Barsteigiene Z., Kazlauskas S., Vaiciuniene J.: Analysis of flavonoids in the flowers and leaves of *Monarda didyma* L., *Medicina (Kaunas)*, **38**, 1119-1122 (2002).
- 9) Liu S., Lu H., Zhao Q., He Y., Niu J., Debnath A. K., Wu S., Jiang S.: Theaflavin derivatives in black tea and catechin derivatives in green tea inhibit HIV-1 entry by targeting gp41, *Biochim. Biophys. Acta*, **1723**(1-3): 270-281 (2005).
- 10) Asres K., Seyoum A., Veeresham C., Bucar F., Gibbons S.: Naturally derived anti-HIV agents, *Phytother. Res.*, **19**, 557-581 (2005).
- 11) Miyake Y., Murakami A., Sugiyama Y., Isobe M., Koshimizu K., Ohigashi H.: Identification of coumarins from lemon fruit (*Citrus limon*) as inhibitors of *in vitro* tumor promotion and superoxide and nitric oxide generation, *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 3151-3157 (1999).
- 12) Samy R. P.: Antimicrobial activity of some medicinal plants from India, *Fitoterapia*, **76**, 697-699 (2005).
- 13) Short R. V.: The HIV/AIDS pandemic: new ways of preventing infection in men, *Reprod. Fertil. Dev.*, **16**, 555-559 (2004).
- 14) Potts M., Short R. V.: Using microbicides to fight the spread of HIV, *Science*, **300**, 431 (2003).
- 15) Nikolaeva O. V., Karasev A. V., Powell C. A., Garnsey S. M., Lee R. F.: Modulation of the antigenic reactivity of the citrus tristeza virus coat protein, *J. Immunol. Methods*, **206**(1-2): 97-105 (1997).
- 16) Iwase Y., Takemura Y., Ju-ichi M., Kawaii S., Yano M., Okuda Y., Mukainaka T., Tsuruta A., Okuda M., Takayasu J., Tokuda H., Nishino H.: Inhibitory effect of Epstein-Barr virus activation by Citrus fruits, a cancer chemopreventor, *Cancer Lett.*, **139**, 227-236 (1999).
- 17) Li S., Yu H., Ho C. T.: Nobilitin: efficient and large quantity isolation from orange peel extract, *Bio-med. Chromatogr.*, **20**, 133-138 (2005).
- 18) Abe S., Sato Y., Inoue S., Ishibashi H., Maruyama N., Takizawa T., Oshima H., Yamaguchi H.: Anti-*Candida albicans* activity of essential oils including Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) oil and its component, citral, *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi*, **44**, 285-291 (2003).
- 19) Dudai N., Weinstein Y., Krup M., Rabinski T., Ofir R.: Citral is a new inducer of caspase-3 in tumor cell lines, *Planta Med.*, **71**, 484-488 (2005).
- 20) Delaney B., Phillips K., Buswell D., Mowry B., Nickels D., Cox D., Wang H. B., Mantley J.: Immunotoxicity of a standardized citrus polymethoxylated flavone extract, *Food Chem. Toxicol.*, **39**, 1087-1094 (2001).

- 21) James J. S.: Grapefruit juice and saquinavir AIDS. *Treat News*, Nov, 17, 235, 5-6 (1995).
- 22) Hoofnagle J. H.: Milk thistle and chronic liver disease. *Hepatology*, 42, 4 (2005).
- 23) Singh R. P., Agarwal R.: Mechanisms and preclinical efficacy of silibinin in preventing skin cancer. *Eur. J. Cancer*, 41, 1969-1979 (2005).
- 24) Karimi G., Ramezani M., Tahoonian Z.: Cisplatin nephrotoxicity and protection by milk thistle extract in rats. *Evid. Based Complement Alternat. Med.*, 2, 383-386 (2005).
- 25) Rainone F.: Milk thistle. *Am. Fam. Physician*, 72, 1285-1288 (2005).
- 26) Wilasrusmee C., Kittur S., Siddiqui J., Bruch D.: Wilasrusmee *in vitro* immunomodulatory effects of ten commonly used herbs on murine lymphocytes. *J. Altern. Complement Med.*, 8, 467-475 (2002).
- 27) Wilasrusmee C., Kittur S., Shah G., Siddiqui J., Bruch D., Wilasrusmee S., Kittur D. S.: Immunostimulatory effect of *Silybum Marianum* (milk thistle) extract. *Med. Sci. Monit.*, 8, BR439-443 (2002).
- 28) Soliman O. E., El-Arman M., Abdul-Samie E. R., El-Nemr H. I., Massoud A.: Evaluation of myrrh (*Mirradid*) therapy in fascioliasis and intestinal schistosomiasis in children: immunological and parasitological study. *J. Egypt Soc. Parasitol.*, 34, 941-966 (2004).
- 29) Weber R., Christen L., Loy M., Schaller S., Christen S., Joyce C., Ledermann U., Ledergerber B., Cone R., Luthy R., Cohen M.: Randomized, placebo-controlled trial of chinese herb therapy for HIV-1-infected individuals. *J. Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 22, 56-64 (1999).
- 30) Zhou W., Sun Y., Wu Z.: Acupuncture ameliorates AIDS symptoms in 36 cases. *J. Tradit. Chin Med.*, 220, 119-121 (2000).
- 31) Power R., Gore-Felton C., Vosvick M., Israelski D. M., Spiegel D.: HIV: effectiveness of complementary and alternative medicine. *Prim. Care*, 29: 361-378 (2002).

【要 旨】

AIDSは新興感染症の中でも致死率の高い疾患であり、現時点では、HIV感染やAIDS発症を確実に予防する方法がない。近年HAARTの導入により、予後は改善しているが、長期服用による副作用や耐性の問題がある。そうしたなか、代替医療にはAIDS発症を遅らせたり、日和見感染を予防したり、食欲を増進させるなど全身状態の改善効果が報告されている。我々は、アロマセラピーに用いられている芳香物質がHIV感染にどのように効果があるか *in vitro* で検討した。

方法として35種類のエッセンシャルオイルおよびチンキ剤をMAGIC-5アッセイ法によって検討した。

その結果、使用した35サンプル中7サンプルに細胞毒性濃度と比較して10~100倍希釈した低濃度でHIV感染阻害効果を確認することができ、この阻害効果が細胞毒性によるものではないことが判明した。その中でもベルガモット、ミルラ、レモン、ローズオットーおよびレモングラスでは特に高い阻害効果が見られた。興味深いことに、感染阻害作用には単純な濃度依存性がなく、特定の濃度で最大限の感染抑制が見られた。

結論としてアロマセラピーに用いられるエッセンシャルオイルやチンキ剤の一部にHIVの感染を抑制する作用が認められ、従来から知られている抗HIV剤とは異なる作用機序による可能性や複数の感染抑制活性物質や拮抗物質が共存するのではないかという可能性が示唆された。

キーワード: HIV, AIDS, アロマセラピー, MAGIC-5

連絡先: 早川 智

日本大学医学部先端医学講座感染制御科学部門
〒173-8610 東京都板橋区大谷口上町30-1
TEL: 03-3972-8111 (内線2611)
E-mail: satoshih@med.nihon-u.ac.jp

HIV 垂直感染と胎盤関門

相澤(小峯)志保子* 早川 智* 長縄 聰*

永石(石井)真木** 本多三男† 砂川恵伸†† 根本則道††

HIV 感染妊婦における胎児、新生児に対する垂直感染の予防は人類保健上重要な課題の 1 つである。国際連合エイズ委員会の推定では、2004 年 1 年間だけでも全世界で 60 万人の小児がエイズに感染し、その大部分は垂直感染によるとされている。無治療の場合、小児エイズの子後は不良であることから、早急な対策が必要である。先進国においては、HIV 陽性妊婦は妊娠中の抗ウイルス薬の投与と選択的帝王切開により垂直感染率を 1%以下にまで下げることが可能となっている。しかしながら、南アジアやアフリカにおける無治療妊婦でも垂直感染の程度は 25~35%程度であり、不完全ながら胎盤関門が存在すると考えられている。また、脱落膜・胎盤における局所の免疫機構が子宮内感染の成立を左右するうえで重要な役割を果たしている。

はじめに

HIV 感染による AIDS は 20 世紀における新興感染症のなかで、最も感染者が多く、また致命率の高い疾患のひとつである。CCR 5Δ32 などきわめてまれな遺伝的背景を有する場合や、さらにまれな特異的免疫が成立する場合を除き、無治療で放置すれば、数年から十年程度で免疫機能の荒廃か

ら日和見感染をきたして死に至る。わが国における HIV 感染者は諸外国に比較して少数であるが、先進国のなかで唯一、依然として増加傾向にあり、今後生殖年齢に達する HIV 感染女性の数も増加することが予想される。したがって HIV 垂直感染機構の解析は生殖免疫学のみならず臨床的にも非常に重要である。

1. HIV 垂直感染の管理

臨床的には、妊娠中の抗 HIV 薬の内服、陣痛発来前の選択的帝王切開術、断乳(人工栄養)により HIV の垂直感染率は 1%以下に抑えることが可能である¹⁾。厚生労働省研究班の作成した管理方針は、抗 HIV 薬の選択などは米国疾病予防管理センター(CDC)の基準に準拠しながら、わが国の実情を加味したものである(図 1)。詳細はインターネットからダウンロード可能であるが²⁾、わが国においては、妊婦検診における HIV 抗体スクリーニングのほぼ全数検査(2005 年の検査実施率 94.7%)と、感染が疑われた場合の二次施設へ

【キーワード】

HIV
AIDS
胎盤関門
垂直感染
局所免疫

* AIZAWA (KOMINE) Shihoko, HAYAKAWA Satoshi, NAGANAWA Satoshi/日本大学医学部先端医学講座・感染制御科学部門

** NAGAISHI (ISHII) Maki/日本大学医学部産婦人科学教室
† HONDA Mitsuo/Vaccine Research Center/NIAID/NIH

†† SUNAGAWA Keishin, NEMOTO Norimichi/日本大学医学部病理学教室

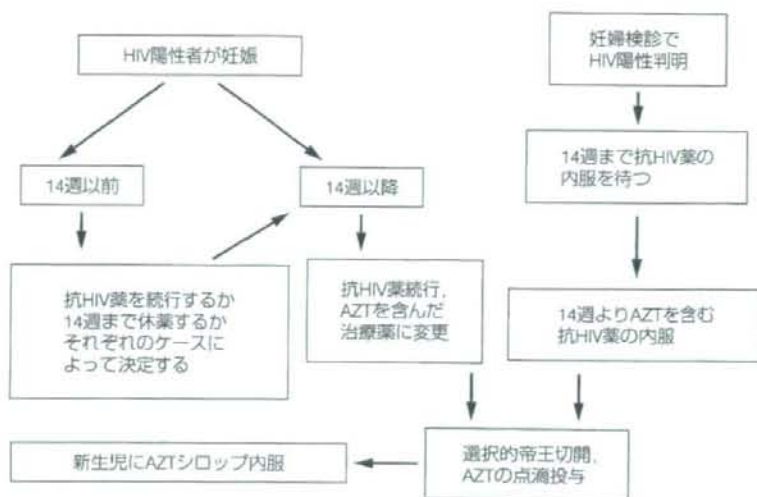


図 1. HIV 陽性妊婦の管理方針

の転送と妊娠・分娩管理により、世界で最高の予防率を達成しているといっても過言ではない。しかし、いかに厳重な産科管理をおこなっても子宮内感染を完全に防御することは困難である。臨床的には、患者の末梢血 CD4 値の低下や HIV ウイルス量の増加に加えて、絨毛羊膜炎や切迫流産、妊娠高血圧症候群、マラリア感染⁹⁾(日本ではまずみられないが)などがあると子宮内感染率が高まるという。

HIV の治療薬は大なり小なり、胎児に対する副作用を有する。アジドチミジン(AZT)は小児の就学期までの安全性が確認されている唯一の抗 HIV 薬であり、数年前までは妊婦に対しては AZT の単独療法が推奨されていた。しかし、現在では耐性ウイルス出現の危険性も高く、また多剤併用療法(HAART)と比較して母体のウイルス量を十分に下げることが困難であるため、母体に対する治療として推奨されるとはいえない。一方、HAART に使用する抗 HIV 薬は、妊娠中の投与による児の安全性が確認されていないものが多い。催奇形性のあるエファピレンツや乳酸アシドーシスをおこしやすいサニルブジン(d4T)+ジダノシン(ddI)といった組み合わせは避けるこ

とが望ましい。また、HAART によって早産が増加する危険性や、胎児死亡、骨髄抑制などの重篤な副作用の報告もある。しかし、最近の統計では、HAART の児に対する影響は少なく、一時的な休業は再開後の母体治療を困難なものとする可能性が指摘されているので、当該妊娠のみならず母体の長期予後を勘案し、十分なインフォームド・コンセントを得たうえで治療薬の選択をおこなう。

Camus らは、HIV 感染者の胎盤では multi-drug resistance 1(MDR-1)mRNA 発現が非感染者に比較して 3~4 倍となることを報告している。胎盤の MDR-1 のコードする P-glycoprotein は HIV 患者に投与されるヌクレオシド系逆転写酵素阻害薬やプロテアーゼ阻害薬の結合蛋白であり、これにより胎盤局所で大部分の抗レトロウイルス薬は不活化されると考えられる⁴⁾。臨床的に、垂直感染の生じる機会の最も多いのは分娩時の母体血への曝露であり、母体血中のウイルス量を低下させることが最も重要であるという⁶⁾。これは、経腔分娩を前提とした途上国の多くで投与される、分娩前数週間の short course program の臨床的意義を裏付けるものであろう。

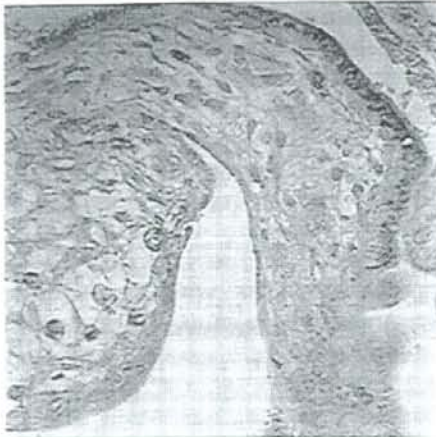


図 2. HIV 陽性妊婦(37 週)の胎盤
酵素抗体法により, HIV p24 が染色される(右強拡大).

2. 胎盤関門の本態

胎盤には, 胎児循環と母体循環を分別する物理的関門のみならず, Fc γ レセプターを介した母体血中の IgG 抗体の胎児側への選択的取り込みや, 母体血中の薬物やホルモンの選択的な取り込み, あるいは局所における分解などをおこなう機能的関門が存在する. HIV 感染者の胎盤を病理組織学的に検討すると, 脱落膜免疫細胞や胎盤の絨毛細胞, Hofbauer 細胞(胎児由来のマクローファージ)に HIV 関連抗原が染色される(図 2). 無治療, あるいは治療が不十分で血中ウイルス量が多い患者では, 十分なコントロールを受けた患者に比較して, より強い染色性がみられる. CD4 を発現しない絨毛細胞に HIV が感染する機構として, 白血球機能関連抗原(LFA-1)を介したリンパ球と絨毛細胞の直接接触⁹⁾やトランスサイトシスが関与するらしい.

われわれ⁷⁾は, 胎盤絨毛が発生の初期から種々のケモカインレセプターを発現し, ケモカインによってヒト絨毛性ゴナドトロピン(hCG)分泌や細胞の増殖といった基本的な機能の調節を受けていることを明らかにした. 同様の所見は Dolcini ら⁸⁾

や, Maldonado-Estrada ら⁹⁾により追試証明された. CCR5 や CXCR4 はおのこの R5 ウイルス, X4 ウイルス感染のコレセプターとして必須のものであり, *in vitro* でも絨毛細胞は CD4 非依存性に HIV に感染しうること¹⁰⁾から, CD4 非依存性の感染モデルとなると考えられる. しかし, Parry らは初代培養した trophoblast を TNF- α 処理すると HIV の侵入が著しく増強するが, これは CD4 のみならず CCR5 にも CXCR4 にも依存しないという知見を発表しており¹¹⁾, 更なる検討が必要である. 絨毛組織内の Hofbauer 細胞は CD4, CCR5, CXCR4 すべて陽性であり古典的経路による感染を説明しやすいが, HIV が母体血中から二重の栄養芽細胞層を乗り越えていきなり Hofbauer 細胞に到達するとは考えがたい.

HIV 陽性妊婦の胎盤では, Moussa らが MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES, IL-6 の発現がコントロールに比較して著しく低下していることを報告している¹²⁾が, すべての患者が AZT など抗ウイルス薬の投与を受けており, 治療の影響を否定できない. 局所の炎症性サイトカインが栄養膜細胞への感染成立に必須であるとする報告もある¹³⁾. これら炎症性サイトカインは絨毛羊膜炎で上昇す

ることから、サイトカイン自体の作用というよりも、HIV 垂直感染のリスク因子である絨毛羊膜炎の存在を示唆するものかもしれない。しかし、分娩前に抗生物質で絨毛羊膜炎を治療しても、脱落膜の炎症細胞浸潤の程度や、垂直感染率は変化がみられなかったとする報告もある¹⁴⁾。

3. 内在性レトロウイルスの意義

ヒトのゲノムには、進化の過程でレトロウイルスが生殖細胞系列の遺伝子内に組み込まれ宿主のゲノムの一部になったいわゆる内在性レトロウイルス (HERVs) が全ゲノムの 10~15% 含まれる。これらの多くは不活性であるが、胎盤や生殖巣では生理的な発現がみられ、胎盤形成や減数分裂に係る未知の生理的意義が示唆される。ヒト胎盤では、syncytiotrophoblast (合胞体栄養細胞層) の形成を担う蛋白 syncytin は HERV-W に由来する¹⁵⁾ため、合胞体形成に必須である。

近年、いくつかの実験系において内在性レトロウイルスが外部から侵入するウイルス感染に対して防御因子として作用するのではないかという仮説が提唱されているが¹⁶⁾、ヒトにおける実証はほとんどなされていない。最近、Nagy ら¹⁷⁾はヒト末梢血に発現する新たな内在性レトロウイルス産物 HRES-1/Rab 4 が HIV-1 Tat の遺伝子導入や HIV 感染によって up-regulation されること、これが HIV gag 24 の転写を抑制し、また CD4 発現を調節することで HIV の感受性を抑制することを明らかにした。胎盤では HERV-W 以外にも複数の内在性レトロウイルスを発現しており、これが局所の感染制御に作用している可能性がある。

4. 胎児・新生児の HIV 感受性と HIV 陽性母から生まれた非感染児の免疫応答

先に述べたように、HIV 陽性母においても子宮内で胎児に感染することは少ない。むしろ、HIV 陽性妊婦より生まれた新生児では本人が HIV に感染していないにもかかわらず、HIV に対する細

胞性免疫応答が誘導されていることが多い^{18)~20)}。かつては、胎児の免疫系は未熟で子宮内で曝露された抗原に対しては寛容になると信じられていたが、これは二卵性双胎やウシの free-martin など特殊な場合であり、子宮内でのウイルス感染に対しても CD8 細胞を主体とする免疫応答が生じることが明らかとなった²¹⁾。

近年 PCR を使った研究により、母体と胎児の循環はかつて考えられていたほど完全には分離しておらず、少量の血球細胞が行き来していること (microchimerism) が明らかになってきた。実際、HIV 陽性 (無治療) の母親から 36 週で経産分娩した男児が新生児期に子宮内感染を確認されたにもかかわらず、HIV に対する非常に強い CTL 活性が誘導され無治療で月齢 12 ヶ月にはウイルスが消失した症例が報告されている²²⁾。おそらく、胎児は 280 日の妊娠経過中に何度も少量の HIV ウイルス粒子や HIV 感染細胞の侵入を受けているに違いないが、これを防御する機構が存在すると考えられる。われわれは当初、臍帯血リンパ球は HIV 感染に対して抵抗性があるのではないかと考え *in vitro* でウイルスをチャレンジしたが、成人と差がみられなかった。臍帯血清と臍帯単核球、成人血清と成人末梢血リンパ球を組み合わせを変えて検討したがいずれにおいてもウイルス複製に差を認めず、臍帯血自体の HIV 感受性が低いという仮説は成立しない。Sundaravaradan ら²³⁾は、臍帯血リンパ球、マクロファージを *in vitro* で HIV 処理すると成人末梢血に比較してはるかに感受性が高いことを示し、これは、HIV レセプターである CD4 や コレセプターである CXCR 4、CCR 5 の発現レベルの差ではなく、HIV-1 LTR の転写亢進によるものであるとしている。臍帯血中の PLAP を指標として母体から胎児への microtransfusion の量を定量すると、一定量以上の母体血が胎児循環内に入れば垂直感染が成立するという²⁴⁾。おそらく、胎児は一定量までのウイルスや感染細胞の侵入には耐性であっても、

マラリア感染や絨毛羊膜炎、切迫早産、妊娠高血圧症候群などで胎盤関門が破綻し、許容量を超えた HIV が進入した場合には子宮内感染を避け得ないのであろう。HIV 陽性母から出生した児の臍帯血において、感染が成立していない場合は、HIV-1 env 抗原に対するヘルパーT細胞応答やβケモカイン産生を認めるが、感染をきたした児の場合にはこれが認められないことから、子宮内で HIV に対する有効な免疫応答を誘導できるか否かが垂直感染の成立に重要な要因と考えられる²⁵⁾。また、HIV に対する細胞性免疫応答を獲得した児は産道感染や、母乳を介した感染にも抵抗性であるという²⁶⁾。

Biggar ら²⁷⁾は、HIV 陽性の母から出生した胎児が男児の場合、女児にくらべて子宮内感染の比率が有意に少ないことから、Y染色体に連鎖した組織適合性抗原の認識が重要ではないかという仮説を提唱している。母児双方の HLA ハプロタイプの組み合わせや、ウイルス抗原のバリエーションにより胎児側の免疫応答の質と程度に相違を生じる可能性がある。

5. ウイルス側の要因

Wolinsky らは垂直感染をきたすウイルスは母体内に多数存在する HIV サブクローンのなかでもきわめてかぎられた変異株にすぎないという報告をしているが²⁸⁾、わが国においても HIV 垂直感染の成立した8例のうち6例はV3ループの29DがNに置換していた²⁹⁾。さらに66例の HIV 垂直感染症例を検討したところ、母体内 HIV の集団は様々なサブタイプ(A, B, B', D, E)が混在するが、新生児においてはB, Dのみが存在していた。さらに個々の症例内でも、母親血中には多数のウイルスクローンが存在するのに対して、感染した児の HIV-1 はほぼ単独もしくはきわめて少数のクローンであることから、母体に感染した HIV は変異を繰り返し、そのごく一部が胎児・新生児に感染すると考えられる³⁰⁾。この現象がウイルス

の性状に相違によるものかそれとも単に感染効率がかきわめて低い事実の反映であるのかは現在検討中であるが、日本では垂直感染症例がほとんどないこともあり十分な結論を得ることは困難である(外国の研究者と話す時に“fortunately as a clinician but unfortunately as a researcher”というのが早川の口癖である)。

おわりに

何が胎児を免疫するのか

脱着膜は子宮内膜間質が妊娠に伴う高エストロゲン・高プロゲステロン環境によって変化したものである。リンパ球、マクロファージ、樹状細胞など多くの免疫細胞が集簇するが、その主体をなすものはCD56陽性の未熟なNK細胞(dNK細胞)とNKT細胞である。これらの細胞の性状と内分泌支配については本特集の真島洋子の稿に詳しいが、われわれはこれらの細胞群の HIV 垂直感染に及ぼす影響を現時点における研究の主要テーマの1つにしている。

NK細胞は HIV 感染細胞を破壊するのみならず、複数のCCケモカインを産生して感染を抑制する³¹⁾。一方、HIV に対して感受性であり、潜伏感染をきたすことによって HIV の reservoir となる可能性が指摘されている³²⁾。同様にNKT細胞も HIV に高い感受性を有する³³⁾。筆者らは樹立NK細胞株における HIV 複製が培養条件や液性因子によって調節を受けることを明らかにした(投稿中)。HIV に感染し、抗原を提示しながら複製できない母体側細胞が胎児側に侵入することで胎児に HIV に対する有効な免疫応答が生じているとすれば、“natural vaccine”となっている可能性があり、現時点ではいささか手詰まりとなっている HIV ワクチン開発に新たな展開を期待できるのではないかと考えている。

文献

- 1) Read JS *et al* : Efficacy and safety of cesarean

- delivery for prevention of mother-to-child transmission of HIV-1. *Cochrane Database Syst Rev* **19** : CD 005479, 2005
- 2) http://api-net.jfap.or.jp/mhw/survey/05nenpo/nenpo_menu.htm
 - 3) Whitty CJ *et al* : Malaria in pregnancy. *BJOG* **112** : 1189-1195, 2005
 - 4) Camus M *et al* : Increased expression of MDR1 mRNAs and P-glycoprotein in placentas from HIV-1 infected women. *Placenta* **27** : 699-706, 2006
 - 5) Mock PA *et al* : Maternal viral load and timing of mother-to-child HIV transmission, Bangkok, Thailand. Bangkok Collaborative Perinatal HIV Transmission Study Group. *AIDS* **13** : 407-414, 1999
 - 6) Arias RA *et al* : Transmission of HIV-1 infection between trophoblast placental cells and T-cells take place via an LFA-1-mediated cell to cell contact. *Virology* **307** : 266-277, 2003
 - 7) Ishii M *et al* : Expression of functional chemokine receptors of human placental cells. *Am J Reprod Immunol* **44** : 365-373, 2000
 - 8) Dolcini G *et al* : Cell-free HIV type 1 infection is restricted in the human trophoblast chorioncarcinoma BeWo cell line, even with expression of CD 4, CXCR 4 and CCR 5. *AIDS Res Hum Retroviruses* **19** : 857-864, 2003
 - 9) Maldonado-Estrada J *et al* : Predominant intracellular expression of CXCR 4 and CCR 5 in purified primary trophoblast cells from first trimester and term human placentae. *Am J Reprod Immunol* **50** : 291-301, 2003
 - 10) Al-Harthi L *et al* : Trophoblasts are productively infected by CD 4-independent isolate of HIV type 1. *AIDS Res Hum Retroviruses* **18** : 13-17, 2002
 - 11) Parry S *et al* : Transcytosis of Human immunodeficiency virus 1 across the placenta is enhanced by treatment with tumour necrosis factor alpha. *J Gen Virol* **87** : 2269-2278, 2006
 - 12) Moussa M *et al* : Placental cytokine and chemokine production in HIV-1-infected women : trophoblast cells show a different pattern compared to cells from HIV-negative women. *Clin Exp Immunol* **125** : 455-464, 2001
 - 13) Zachar V *et al* : Role of placental cytokines in transcriptional modulation of HIV type 1 in the isolated villous trophoblasts. *AIDS Res Hum Retroviruses* **18** : 839-847, 2002
 - 14) Goldenberg RL *et al* : HPTN 024 Study Team : HPTN 024 study : histologic chorioamnionitis, antibiotics and adverse infant outcomes in a predominantly HIV-1-infected African population. *Am J Obstet Gynecol* **195** : 1065-1074, 2006
 - 15) Mi S *et al* : Syncytin is a captive retroviral envelope protein involved in human placental morphogenesis. *Nature* **403** : 785-789, 2000
 - 16) Ponferrada VG *et al* : The envelope glycoprotein of human endogenous retrovirus HERV-W induces cellular resistance to spleen necrosis virus. *Arch Virol* **148** : 659-675, 2003
 - 17) Nagy G *et al* : Regulation of CD 4 expression via recycling by HRES-1/RAB 4 controls susceptibility to HIV infection. *J Biol Chem*, 2006 ; [Epub ahead of print]
 - 18) Rowland-Jones SL *et al* : HIV-specific cytotoxic T-cell activity in an HIV-exposed but uninfected infant. *Lancet* **341** : 860-861, 1993
 - 19) Cheynier R *et al* : Cytotoxic T lymphocyte responses in the peripheral blood of children born to human immunodeficiency virus-1-infected mothers. *Eur J Immunol* **22** : 2211-2217, 1992
 - 20) Aldhous MC *et al* : Cytotoxic T lymphocyte activity and CD 8 subpopulations in children at risk of HIV infection. *Clin Exp Immunol* **97** : 61-67, 1994
 - 21) Marchant A *et al* : Mature CD 8⁺T lymphocyte response to viral infection during fetal life. *J Clin Invest* **111** : 1747-1755, 2003
 - 22) Bryson YJ *et al* : Clearance of HIV infection in a perinatally infected infant. *N Engl J Med* **332** : 833-838, 1995
 - 23) Sundaravaradan V *et al* : Differential HIV-1 replication in neonatal and adult blood mononuclear cells is influenced at the level of HIV-1 gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA* **103** : 11701-11706, 2006
 - 24) Kwiek JJ *et al* : Maternal-fetal microtrans-