

G. 研究発表

論文発表

1. Yanagisawa Y, Sato Y, Asahi-Ozaki Y, Ito E, Honma R, Imai J, Kanno T, Kano M, Akiyama H, Sata T, Shinkai-Ouchi F, Yamakawa Y, Watanabe S, Katano H. 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
2. Minoda H, Usui N, Sata T, Katano H, Serizawa H, Okada S. Human Herpesvirus-8 in Kaposi's Sarcoma of the Conjunctiva in a Patient with AIDS. *Jpn J Ophthalmol.* 2006;50:7-11
3. Kanno T, Sato Y, Sata T, Katano H. 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. Dewan MZ, Terunuma H, Toi M, Tanaka Y, Katano H, Deng X, Abe H, Nakasone T, Mori N, Sata T, Yamamoto N. Potential role of natural killer cells in controlling growth and infiltration of AIDS-associated primary effusion lymphoma cells. *Cancer Sci.* 2006;97:1381-1387
5. Abe Y, Matsubara D, Gatanaga H, Oka S, Kimura S, Sasao Y, Saitoh K, Fujii T, Sato Y, Sata T, Katano H. Distinct expression of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-encoded proteins in Kaposi's sarcoma and multicentric Castlemans disease. *Pathol Int.* 2006;56:617-624
6. Ishak Mde, O., Martins, R.N., Machado, P.R., de Souza, L.L., Machado, L.F., Azevedo, V.N., Katano H, Sata, T., Hasegawa, H., Vallinoto, A.C., and Ishak, R. High diversity of HHV-8 molecular subtypes in the Amazon region of Brazil: Evidence of an ancient human infection. *J. Med. Virol.*, 79: 1537-1544, 2007.
7. Katano H, Sato, Y., Hoshino, S., Tachikawa, N., Oka, S., Morishita, Y., Ishida, T., Watanabe, T., Rom, W., Mori, S., Sata, T., Weiden, M., and Hoshino, Y. Integration of HIV-1 caused STAT3-associated B cell lymphoma in an AIDS patient. *Microbes Infect.* 9: 1581-1589, 2007.
8. Kuhara, T., Yoshikawa, T., Ihira, M., Watanabe, D., Tamada, Y., Katano H, Asano, Y., and Matsumoto, Y. Rapid detection of human herpesvirus 8 DNA using loop-mediated isothermal amplification. *J. Virol. Methods*, 144: 79-85, 2007.
9. Ueno, T., Mitsuishi, T., Kimura, Y., Kato, T., Hasegawa, H., Katano H, Sata, T., Kurane, S., and Kawana, S. Immune reconstitution inflammatory syndrome associated with Kaposi's sarcoma: successful treatment with interferon-alpha. *Eur. J. Dermatol.*, 17: 539-540, 2007.

10. Dewan, MZ, Takamatsu, N, Hidaka, T, Hatakeyama, K, Nakahata, S, Fujisawa, J, Katano H, Yamamoto, N, Morishita, K. Critical role for TSLC1 expression in the growth and organ infiltration of adult T-cell leukemia cells in vivo. *J Virol.* 82:11958-11963, 2008.
11. Dewan, MZ, Tomita, M, Katano H, Yamamoto, N, Ahmed, S, Yamamoto, M, Sata, T, Mori, N, Yamamoto, N. An HIV protease inhibitor, ritonavir targets the nuclear factor-kappaB and inhibits the tumor growth and infiltration of EBV-positive lymphoblastoid B cells. *Int J Cancer.* 124: 622-629, 2009.

学会発表

国内

1. 片野晴隆、比島恒和、小柳津直樹、藤井丈士、林幸子、松原大祐、笹尾ゆき、齊藤澄、森茂郎、船田信顕、佐多徹太郎。エイズ関連リンパ腫の臨床病理学的解析。第95回日本病理学会総会（東京）2006.4
2. 片野晴隆、森茂郎、佐多徹太郎。HIVインテグレーションにより発症したSTAT3関連リンパ腫。第95回日本病理学会総会（東京）2006.4
3. 菅野隆行、佐多徹太郎、片野晴隆。カポジ肉腫の臨床病理学的検討。第95回日本病理学会総会（東京）2006.4
4. 片野晴隆。エイズ関連リンパ腫におけるEBV陽性率の減少。第3回EBウイルス研究会（名古屋）2006.6
5. 片野晴隆、加納基史、菅野隆行、佐多徹太郎。エイズ剖検例の各臓器におけるヒトヘルペスウイルスの定量。第22回ヘルペスウイルス研究会2007年6月、福岡。
6. 片野晴隆、加納基史、菅野隆行、佐多徹太郎。エイズ剖検例の各臓器におけるDNAウイルスの感染プロファイル。第55回日本ウイルス学会学術集会2007年10月、札幌。
7. 菅野隆行、佐多徹太郎、片野晴隆。サイトカインによるカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス(KSHV)遺伝子の誘導。第55回日本ウイルス学会学術集会2007年10月、札幌。
8. 片野晴隆。エイズ関連悪性腫瘍の感染病理に関する研究。第53回日本病理学会秋期特別総会。2007年12月、東京。
9. 片野晴隆、菅野隆行、佐多徹太郎。定量的PCRによる網羅的ウイルス検出法の開発とエイズ剖検例の各臓器におけるウイルス感染プロファイル。第97回日本病理学会総会2008.4 金沢。
10. 菅野隆行、佐多徹太郎、片野晴隆。RTA発現レベルの異なるKSHV感染細胞におけるウイルス感染維持。第56回日本ウイルス学会学術集会2008年11月、岡山。

11. 片野晴隆、加納基史、中村智之、菅野隆行、浅沼秀樹、佐多徹太郎。定量的PCRによる網羅的ウイルス検出法の開発とエイズ剖検例の各臓器におけるウイルス感染プロファイルの解析。第56回日本ウイルス学会学術集会2008年11月、岡山。
12. 片野晴隆、中村智之、菅野隆行、佐藤由子、佐多徹太郎。KSHV感染におけるKSHV全遺伝子発現プロファイルの解析。第56回日本ウイルス学会学術集会2008年11月、岡山。
13. 片野晴隆、佐多徹太郎。エイズ関連リンパ腫およびエイズ剖検例の各臓器における多種類ウイルスの定量。第22回日本エイズ学会学術集会2008年12月、大阪。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



HIV合併原虫症の診断と新規治療薬の開発に関する研究成果概要

研究分担者：竹内 勤（慶應義塾大学医学部）

研究協力者：浅井隆志（慶應義塾大学医学部熱帯医学・寄生虫学教室）

所 正治（金沢大学大学院医学系研究科 寄生虫感染症制御学教室）

研究要旨

日和見原虫感染症のうちHIV合併原虫症の中からトキソプラズマ症とクリプトスポリジウム症の診断法の開発と新規治療薬の開発を検討した。トキソプラズマとクリプトスポリジウムのPCRによる診断を開発し、診断に有用であることを確認した。トキソプラズマに特異的な酵素NTPaseの阻害剤を15万種類の化合物から見出し動物実験を行ったが、既存の治療薬であるピリメサミン以上の治療効果は得られなかった。そこでNTPaseとその他の酵素の結晶化による阻害剤の発見を試みている。クリプトスポリジウム症においてはアデノシンアナログの殺原虫作用（特許登録第04061410号）を見いだしたが、毒性が強いため既存治療薬のコンビネーション治療の方法を検討した。その結果、鉄代謝関連基質による抗クリプトスポリジウム効果（特願2008-175517）が見いだされ、現在治療効果を判定中である。

日和見原虫感染症のうちトキソプラズマ症とクリプトスポリジウム症はHIV合併原虫症の中でも多発する難治性の原虫感染症である。トキソプラズマは一度感染すると一生慢性的に感染しているため、ヒトへの感染率は非常に高い。現在使用されている治療薬は治療効果が低く副作用も強いことから、より治療効果の高い副作用のない薬剤が求められている。またクリプトスポリジウム症は特効的な治療薬が無く、急性発症での新規治療薬の開発が求められている。

薬剤開発の標的となるトキソプラズマの酵素として、トキソプラズマと近縁の原虫であるネオスポーラにのみ特異的に、しかも大量に存在する酵素（NTPase）、その他の酵素としてビルビン酸キナーゼ-IおよびII型、ホスホグルコムターゼ-IおよびII型を標的とした。ビルビン酸キナーゼ-Iはグルコース6-リン酸をアロステリックエフェクターとする特異な性質があり他の生物の酵素とは根本的に異なっている。この酵素はトキソプラズマの

解糖系における最も重要な酵素であると考えられている。ビルビン酸キナーゼ-IIはその存在がトキソプラズマやマラリア原虫などに限られ、トキソプラズマではミトコンドリアにも存在する。ミトコンドリアに存在するビルビン酸キナーゼは今までどの生物にも知られていない。我々が報告したこの酵素は今後名称の変更も考えられる。ビルビン酸キナーゼ-II型は寄生原虫（孢子虫）に特異な酵素であることが確認され、新たな創薬の標的であることが期待される。

我々はNTPaseの特異的な阻害物質を検索してきた。その結果15万種の化合物より特異な阻害剤（2-(1-Naphthalenylthio)-1-H-indole）を見出した。この化合物は毒性が低く治療薬候補として考えられたが、動物実験の結果、既存の治療薬であるピリメサミンに比べて治療効果が低いことが判明した。そこで類似の化合物をいくつか検討したが、これもピリメサミン以上の効果のある化合物は見出されなかった。より良い酵素の阻害剤を発見す

るために、NTPaseとその他の酵素の結晶化による構造解析の検討を行うことにした。その結果、NTPaseの構造解析の初歩的な結晶が得られた。トキソプラズマのNTPaseの結晶が解析可能な3オンゲストロームに近い分解能が得られた。その他にビルビン酸キナーゼI型、およびII型の結晶が得られ、特にI型は構造解析可能な分解能を有する結晶が得られた。現在解析中である。またホスホグルコムターゼの結晶構造解析が進行中である。今後は立体構造の解析による新規の治療薬の発見が課題である。診断法においては、トキソプラズマのrDNAを標的にしたPCRにおいていくつかの症例で有効であることが確認された。今後症例数を増やして、その有効性を検討して行く予定である。

クリプトスポリジウム症における数値処理可能な原虫の定量法を確立し、診断法の開発と既存の治療薬の有効性について検討を加えた。クリプトスポリジウム属の種を網羅的に検出可能なユニバーサルプライマーと、ヒト症例の97%を占める*C. hominis*と*C. parvum*を各々特異的に検出可能な特異プライマーの開発を行った。通常のPCR法では、網羅的検出と特異検出を実現し、また、リアルタイムPCRでは、ユニバーサルプライマーによる半定量的な検出法を確立した。リアルタイムPCRによる原虫の定量方法を応用し、実際の患者サンプルからの検出を試みた。糞便検体からのクリプトスポリジウムのPCR検出が一般検査室で簡便に実施可能であることが確認され、また、免疫不全患者から顕微鏡的に検出不能な呼吸器クリプトスポリジウム症を検出することに成功した。

治療に関しては、アデノシンアナログの殺原虫作用（特許登録第04061410号）を見いだした。この化合物は*in vitro*での殺原虫作用はとても強いが毒性も強く治療薬としては難があった。そこで現実的な選択として既存の治療薬の組み合わせによる原虫増殖に与える効果を調べた。その結果、既存薬の組み合わせによる原虫増殖の抑制方法が判明し、鉄代謝関連基質による抗クリプトスポリジウム効果（特願2008-175517）が見いだされた。現在SCIDマウスを用いた免疫不全症を想定した実験系が確立し、リアルタイムPCRを用いた評価実験系を構築している。今後はこれらの薬剤としての可能性を検討する予定である。



免疫再構築症候群に関する調査および情報提供

研究分担者：古西 満¹、照屋勝治²、永井英明³、
堀場昌英⁴、山崎 善隆⁵

¹ 奈良県立医科大学感染症センター

² 国立国際医療センター戸山病院エイズ治療・研究開発センター

³ 国立病院機構東京病院呼吸器科

⁴ 国立病院機構東埼玉病院呼吸器科

⁵ 信州大学医学部附属病院内視鏡診療部

研究協力者：善本英一郎⁶、小田原 隆⁷、今村顕史⁸、藤 純一郎⁹、
後藤哲志¹⁰、日笠 聡¹¹、原永修作¹²、健山正男¹²
矢嶋敬史郎¹³、上平朝子¹³

⁶ 奈良厚生会病院感染制御室

⁷ 東京大学医科学研究所先端医療研究センター感染症分野

⁸ 都立駒込病院感染症科

⁹ 東京女子医科大学感染症科

¹⁰ 大阪市立総合医療センター感染症センター

¹¹ 兵庫医科大学血液内科

¹² 琉球大学医学部感染症制御学

¹³ 国立病院機構大阪医療センター免疫感染症科

研究要旨

- 1) ニューモシスチス肺炎治療後の20歳代・男性に抗HIV治療（antiretroviral therapy：ART）を開始したところ、5日後に虫垂炎発症した。虫垂炎と免疫再構築症候群（immune reconstitution inflammatory syndrome：IRIS）を関連づけた文献は1件あったが、わが国14施設にIRISを疑う虫垂炎症例は他にはなかった。
- 2) ロジスティック解析結果では、IRISの発症に関連した臨床的因子としてART開始前のCD4+数が50/μL未満ではオッズ比が5.780、HIV-RNA量が 1.0×10^5 コピー/mL以上ではオッズ比が3.096であった。
- 3) 抗HIV治療がTh1/Th2バランスに与える影響について新規にARTを開始したHIV感染者10名で評価した。Th1/Th2比は、ART開始前（ 19.4 ± 17.3 ）に比べ1ヵ月後（ 11.8 ± 9.9 ）で有意な低下を認めた（ $p < 0.05$ ）。今回Th1/Th2比を測定した症例ではIRISを発症しなかった。
- 4) 本研究班での成果や国内外の情報をまとめ、冊子「免疫再構築症候群 診療のポイント Ver.2」を作成した。冊子は全国エイズ拠点病院の診療医へ配布するとともに、冊子をPDFで奈良県立医科大学感染症センターホームページ上に掲載した。

研究目的

免疫再構築症候群 (immune reconstitution inflammatory syndrome: IRIS) は、抗 HIV 治療 (antiretroviral therapy: ART) によって免疫が回復する過程で日和見感染症などが発症、再発、再増悪する病態である。しかし、その実態解明は不十分であり、まとまった情報も少ないのが現状である。そこで、本研究では IRIS に関する調査を実施するとともに、その結果などを情報提供することを目的とする。

研究方法

- ART 開始数日後に虫垂炎を発症した症例を経験したので、その経過をまとめるとともに同様の症例があるかを 14 施設で調査した。
- IRIS 発症に関連する臨床的因子を明らかにするため、IRIS 発症例と未発症例の臨床像について 10 施設の協力を得て調査した。
- 新規に ART を開始した HIV 感染者 10 名を対象として、ART 開始前と 1 ヶ月後の Th1/Th2 バランスを比較した。Th1/Th2 バランスの評価には、CD4⁺ 細胞内の interferon (IFN)- γ と interleukin (IL)-4 をフローサイトメトリーで測定する方法を用いた。
- 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」班 (主任研究者: 安岡 彰) で平成 17 年度に作成した「免疫再構築症候群 診療のポイント」を参考にして、情報提供の方法等について検討した。

研究結果

- 20 歳代・男性。ニューモシチス肺炎の治療後、TDF + 3TC + FPV + RTV を投与し、5 日

後に嘔気・心窩部痛が出現した。翌日に虫垂炎と診断し、緊急手術を行い、腫大した虫垂内に糞石を認めた。ART 前から CD4⁺ 数は 23/ μ L から 46/ μ L、HIV-RNA は 2.2×10^5 コピー/mL から 1.0×10^4 コピー/mL となっていた。虫垂炎と IRIS との関連を指摘した文献は 1 件あったが、わが国 14 施設に IRIS を疑う虫垂炎症例は本症例以外にはなかった。

- IRIS 発症例 66 名と未発症例 162 名の ART 開始前の臨床データ、治療 1 ヶ月後の効果を比較したところ、ロジスティック多変量解析で ART 前の CD4⁺ 数 50/ μ L 未満 (オッズ比: 5.780, $p < 0.001$)、HIV-RNA は 1.0×10^5 コピー/mL 以上 (オッズ比: 3.096, $p < 0.01$) が発症リスクとして重要であった (表 1)。
- 解析症例の平均年齢は 41.5 歳 (28 ~ 63 歳) で、男性 6 例・女性 4 例であった。ART 開始前の CD4⁺ 数は 138.0/ μ L (2 ~ 252/ μ L)、HIV-RNA 量は 8.04×10^4 コピー/mL (8.2×10^3 ~ 1.6×10^5 コピー/mL) であった。ART 1 ヶ月後の CD4⁺ 数は有意に増加し、HIV-RNA 量は有意に低下しており、有効な ART が実施されていた。Th1/Th2 比は有意に低下していた (図 1)。
- 平成 17 年度に作成した「免疫再構築症候群 診療のポイント」を改訂する形で、「免疫再構築症候群 診療のポイント Ver.2 (改訂版)」を作成した (図 2)。内容は、IRIS の発症機序、診断、発症率、発症時期、発症リスク、各疾患の臨床像・診断、対応、経過、症例の実際、参考文献から構成した。作成した冊子は、全国のエイズ診療拠点病院担当医宛で送付し、Web 版として奈良県立医科大学感染症センターのホームページ上に PDF で掲示した。現在、本 Web 版をリンクしてくれる HIV 感染症関連サイトを確保した。

表 1 IRIS 発症に関連する臨床的因子の解析法 2 (多変量解析)

	p 値	Odds 比 (95%CI)
年齢	ns	1.316 (0.949 ~ 1.826)
性別	ns	0.439 (0.126 ~ 1.523)
AIDS	ns	1.878 (0.764 ~ 4.617)
CD4 ⁺ < 50	$p < 0.001$	5.780 (2.381 ~ 14.085)
RNA $\geq 10^5$	$p < 0.01$	3.096 (1.383 ~ 6.929)
Hb < 11.0	ns	1.745 (0.840 ~ 3.623)
CD4 ⁺ Δ	ns	1.032 (0.972 ~ 1.095)
LogRNA Δ	ns	1.434 (0.820 ~ 2.513)

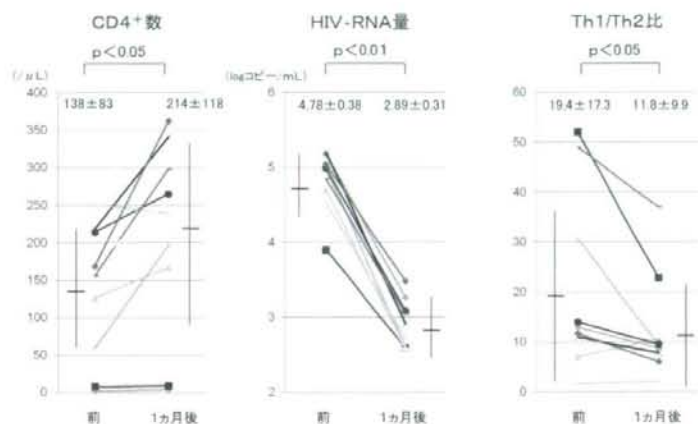


図1 抗HIV治療前後のCD4+数、HIV-RNA量、Th1/Th2バランスの変化



図2 作成した冊子の表紙

考察

今回経験した虫垂炎症例は、ART開始後短期間で虫垂炎を発症したが、この病態はIRISであるのだろうか。これまでにIRISの発症リスクとして、免疫能低下の期間や程度、免疫再構築のスピードと程度、CD8+細胞数、IL-6の高値、IFN- γ 産生細胞数、ポリクロナールな高 γ グロブリン血症などが指摘されている¹⁾。本例では、ART開始前は高度な免疫不全状態であるにもかかわらず、CD8+細胞数は高く、しかもARTの効果がとても良好であり、IRISが起りやすい症例であったことが推察される。また、虫垂には糞石が形成されており、ART開始前から炎症を生じやすい状況にあったと思われる。したがって、糞石による不顕性の炎症が存在し、ARTによる免疫再構築によって炎症が顕在化し、虫垂炎を発症したと考えると、IRISであったと考えることもできる。Aldeenら²⁾は、HAART(highly active antiretroviral therapy)時代になり、HIV感染者に発症する虫垂炎が増えていることと、HAART開始6ヵ月以内に虫垂炎を発症した症例4例について報告し、虫垂炎もIRISの一病型である可能性を指摘している。また、HIV感染者に発症する虫垂炎には、サイトメガロウイルスが原因となることも指摘されている³⁾。そこで、IRISの一病型としての虫垂炎症例が他の施設に存在するかを調査したが、調査した14施設でIRISを疑う虫垂炎症例はなかった。しかし、今後日和見感染症などによる虫垂炎としてのIRISが起る可能性も考慮する必要がある。

IRISの発症に関連する臨床的因子に関する検討は、海外においても散見される程度であり、それらの報告^{4)~7)}では、男性、若年齢、ART開始時の低CD4+数・高CD8+数、高HIV-RNA量、低ヘモグロビン値、日和見感染症の治療開始からART開始までの期間が短いことなどが臨床的因子として指摘されている。今回の多変量解析(ロジスティック解析)を用いた検討では、ART開始前のCD4+数が低いこと、HIV-RNA量が高いことおよびART1ヵ月後のHIV-RNA量の減少量が大きいことが重要であった。特に、ART開始前のCD4+数が50/ μ L未満(オッズ比:5.780)とHIV-RNA量が 1.0×10^5 コピー/mL以上(オッズ比:3.096)がIRIS発症と有意な関連があり、該当する症例にARTを開始する前にはIRISを意識した対応が求められる。

ヘルパーT(Th)細胞(CD4+細胞)は、サイトカインの産生様式にもとづいて機能的に異なるTh1細胞とTh2細胞とに分類することができる。このTh1細胞とTh2細胞とのバランス(Th1/Th2バランス)が様々な疾患の病態に関連することが知られており、IRISの発症との関連についても注目されている。今回の検討は少数例ではあるが、有効なART後1ヵ月目にはTh1/Th2比は有意な低下を示している。この結果から、ARTによってCD4+細胞は増加しているが、Th2細胞が優位に増えるために日和見感染症を引き起こしやすくなるという推察ができる。しかし、検討症例の中にはIRISを発症した症例がないことから、一般的に

はARTによりTh1/Th2比が低下するにもかかわらず、Th1/Th2比が上がる症例でIRISを発症すると考えることもできる。Reubenら⁸⁾は、小児例ではあるが、抗HIV治療によってIFN- γ 産生能が回復することと同時にIL-10産生能も高くなっている事実を指摘している。したがって、IRIS発症におけるTh1/Th2バランスの意義については、検討症例数を増やし、IRIS発症例を含めた解析を進めていく必要がある。

HIV感染症診療に関わる情報は、日進月歩であり、ARTのガイドラインは毎年のように改訂されている。一方、IRISに関するエビデンスの蓄積はまだ乏しく、有力な情報源が確立されていない状況である。そこで、3年前に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」班（主任研究者：安岡彰）では「免疫再構築症候群診療のポイント」という冊子を作成し、全国のエイズ診療拠点病院へ配布した。今回は冊子の改訂を行ない、全国のエイズ診療拠点病院へ配布するとともに、奈良県立医科大学感染症センターホームページ上に冊子内容のPDFを掲示した。3年前も同様にWeb版をアップしたが、そのことを知る機会が少なく、アクセスすることができなかったというご意見を頂いた。その点を改善するために、HIV感染症関連の有力なサイトで本Web版へのリンクして頂くことができ、情報提供に役立つことを期待している。

結論

IRISに関するエビデンスは未だ不十分である。そのため、今後も多角的な調査、研究が必要である。また、臨床の現場にはIRISに関する情報提供が不足しており、その点も今後の課題の一つである。

参考文献

- 1) Stoll M, et al. Immune restoration inflammatory syndromes: The dark side of successful antiretroviral treatment. *Current Infect Dis Rep* 5: 266-276, 2003.
- 2) Aldeen T, et al. Is acute appendicitis another inflammatory condition associated with highly active antiretroviral therapy (HAART)? *HIV medicine* 1: 252-255, 2000.
- 3) Flum DR, et al. Appendicitis in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *J Am Coll Surg* 184: 481-486, 1997.
- 4) French MA, Lenzo N, John M, Mallal SA,

McKinnon EJ, James IR, Price P, Flexman JP, Tay-Kearney M-L. Immune restoration disease after the treatment of immunodeficient HIV-infected patients with highly active antiretroviral therapy. *HIV Medicine*. 1: 107-115, 2000.

- 5) Robertson J, Meier M, Wall J, Ying J, Fichtenbaum J. Immune reconstitution syndrome in HIV: Validating a case definition and identifying clinical predictors in persons initiating antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis*. 42: 1639-1646, 2006.
- 6) Shelburne SA, Visnegarwala F, Darcourt J, Graviss EA, Giordano TP, White Jr AC, Hamill RJ. Incidence and risk factors for immune reconstitution inflammatory syndrome during highly active antiretroviral therapy. *AIDS*. 19: 399-406, 2005.
- 7) Ratnam I, Chiu C, Kandala N-B, Easterbrook PJ. Incidence and risk factors for immune reconstitution inflammatory syndrome in an ethnically diverse HIV type 1-infected cohort. *Clin Infect Dis*. 42: 418-427, 2006.
- 8) Reuben JM, Lee BN, Paul M, Kline NM, Cron SG, Abramson S, Lewis D, Kozinetz CA, Shearer WT. Magnitude of IFN-gamma production in HIV-1-infected children is associated with virus suppression. *J Allergy Clin Immunol* 110:255-261, 2002.

健康危険情報

特記すべきことなし

研究発表

- 1) 古西 満、善本英一郎、宇野健司、笠原 敬、森 啓、三笠桂一、前田光一、笠井孝彦、河村 基：特発性食道潰瘍が診断契機となったHIV感染症の1例。日内会誌、95：2539-2541、2006。
- 2) Shigeki Hoshino, Binlian Sun, Mitsuru Konishi, Mari Shimura, Tatsuya Segawa, Yoshiaki Hagiwara, Yoshio Koyanagi, Aikichi Iwamoto, Jun-ichi Miyama, Hiroshi Terunuma, Shigeyuki Kano, Yukihito Ishizaka: Vpr in plasma of HIV type 1-positive patients is correlated with the HIV type 1 RNA titers. *AIDS Res Hum Retrov*, 23: 391-397, 2007.
- 3) 澤口博千代、中島宏和、中島重徳、古西 満：間質性肺炎発症から後天性免疫不全症候群と判明した2症例。感染症誌、81：67-71、2007。
- 4) Kenji Uno, Mitsuru Konishi, Eiichiro Yoshimoto,

- Kei Kasahara, Kei Mori, Koichi Maeda, Eiwa Ishida, Noboru Konishi, Koichi Murakawa, Keiichi Mikasa : Fatal cytomegalovirus-associated adrenal insufficiency in an AIDS patient receiving corticosteroid therapy. *Intern Med*, 46 : 617-620, 2007.
- 5) Kenji Uno, Mitsuru Konishi, Eiichiro Yoshimoto, Kei Kasahara, Kei Mori, Koichi Maeda, Keiichi Mikasa : A case of gynecomastia associated with efavirenz. *J Nara Med Associ*, 58 : 141-145, 2007.
- 6) Yoshinari Morimoto, Mitsuru Konishi, Yuichiro Imai, Koutaro Inagake, Satoru Fukutsuji, Tadaaki Kirita : Resistant recurrent aphthous stomatitis in an AIDS patient-Efficacy and problems of long-term corticosteroid therapy-. *Oral Therapeutics and Pharmacology*, 26 : 55-60, 2007.
- 7) Masaaki Takahashi, Mitsuru Konishi, Yuichi Kudaka, Naoya Okumura, Atsushi Hirano, Nami Terahata, Kazuhide Banno, Tsuguhiro Kaneda: A conventional LC-MS method developed for the determination of plasma raltegravir concentrations. *Biol Pharm Bull*, 31: 1601-1604, 2008.
- 8) 古西 満、善本英一郎：免疫再構築症候群。呼吸器症候群（第2版）Iーその他の呼吸器疾患を含めて。日本臨牀（別冊）新領域別症候群シリーズNo8：345-348, 2008.
- 9) 善本英一郎、古西 満、宇野健司、中川智代、米川真輔、笠原 敬、前田光一、三笠桂一：Tenofovir過量内服を含むHAART開始後短期間に急性腎不全をきたしたHIV感染者の1例。感染症誌, 82 : 650-653, 2008.



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

研究分担者：山崎善隆（信州大学附属病院内視鏡診療部）

研究協力者：田邊嘉也（新潟大学第二内科）

塚田弘樹（新潟市民病院）

研究要旨

HIV感染症患者においてHAART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*Mycobacterium avium* complex (MAC)など日和見感染症を発症する免疫再構築症候群が新たに認識されてきた。本研究では、MACが免疫再構築症候群を生じるメカニズムを解明するため、MACがヒトに感染するひとつの侵入門戸である気道上皮培養細胞を用いて検討を行った。MACが侵入したヒト正常気道上皮培養細胞(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。同時に、BEAS-2B細胞から産生されるサイトカイン(IL-6)、ケモカイン(IL-8, MCP-1)をELISA法により測定したところ、クラリスロマイシンに対する1/4×MIC、1×MIC、4×MICいずれでもIL-6、IL-8、MCP-1を抑制することが明らかになった。そこで、MACが細胞内で増幅するBEAS-2B細胞の培養上清液を用いて、ヒト末梢血の単球、好中球に対するケモタクシス・アッセイを行い、実際の培養上清を用いて単球あるいは好中球に対してクラリスロマイシンが同様な抑制効果を有するかどうか検討を行った。クラリスロマイシンに対する1/4×MIC、1×MIC、4×MICともクラリスロマイシンを添加しない群に比し、有意に遊走を抑制することが明らかになった。以上より、BEAS-2B細胞内で増幅するMACをクラリスロマイシンが抑制するだけでなく、炎症性サイトカイン・ケモカインの産生を抑制することによって、単球・好中球の遊走をも抑制することがわかり、クラリスロマイシンがIRIS発症を抑制できる可能性が示唆された。

マクロライド系抗菌薬はMACによる免疫再構築症候群を抗菌および抗炎症作用で抑制する可能性が示された。

はじめに

エイズ患者に対して強力な抗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関与する代表的な起因菌で、HAART後に急速に免疫能が回復した症例に見られ、肺感染症およびリンパ節腫大などを生じる。MACが免疫再構築症候群を発症するメカニズムはまだ明らかになっていない。本研究の目的は、MACの侵入部位と推定される気道上皮細胞を用いて、MACにより惹起される炎症を解析し、免疫再構築症候群の病態と治療法を解明することである。

平成18年度

免疫再構築症候群はMACが上皮細胞侵入して、細胞内で増幅することにより、上皮細胞から惹起される炎症物質が、単球、好中球などを遊走・活性化し、急速に回復するCD4リンパ球と合わさって過剰な免疫反応を生じると推定される。そこで、BEAS-2B細胞に侵入したMACがBEAS-2B細胞内において5日間で約5倍まで増幅できることを明らかにした。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日目に有意に殺菌効果を示し、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明らかに静菌効果を示した。次に、MACが増幅した細胞が惹起する炎症を推定するために、DNA arrayを用いて解析を行った。すなわち、クラリスロマイシンを添加した培養液でMACを殺菌した細胞が発現するmRNAと抗菌薬なしの培養液でMAC増幅させた細胞が発現するmRNAとをDNA arrayを用いて解析を行ったところ、IL-6、IL-8、MCP-1 mRNAが有意に発現することを確認した。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、サイトカイン・ケモカイン産生を抑制する可能性が示された。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。

平成19年度

MACがBEAS-2B細胞内で増幅することによって、惹起される炎症性サイトカイン・ケモカインと、クラリスロマイシンによる抗炎症効果が明らかになってきた。そこで、BEAS-2B細胞内でMACが増幅する時に、発現する炎症性サイトカイン・ケモカインが実際の組織培養プレートの培養上清中に産生されているかどうか、ELISA法を用いて測定した。そこで、クラリスロマイシン濃度を0、1/4x、1x、4x MICに調整した培養液を用いて、5日間細胞内で増幅したMACによって産生される培養上清中IL-6、IL-8、MCP-1濃度をELISA法によって測定した。培養上清中のIL-6、IL-8、MCP-1濃度は、クラリスロマイシンのMICおよび1/4x MICで共に第5日目に有意に産生が低下した。また、1x MIC、4x MICでもコントロールに比し、有意に産生が低下していた。以上の結果より、MACがBEAS-2B細胞内で増幅することにより惹起されるサイトカインおよびケモカイン産生は、クラリスロマイシンにより炎症を抑制され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。

平成20年度

気道上皮培養細胞を用いた実験では、MACがBEAS-2B細胞内で増幅した細胞上清中のIL-6、IL-8、MCP-1を産生し、クラリスロマイシンがその産生を抑制することが明らかになった。そこで、ケモタキシス・アッセイを行って、実際の培養上清を用いてヒトの末梢血由来単球あるいは好中球に対しても、クラリスロマイシンが同様な抑制効果を有するかどうか検討を行った。これは5 μ mのporeを有するポリカーボネイト・メンブレンの上部wellに単球あるいは好中球を5 \times 10⁵個入れ、下部wellに培養上清（一部クラリスロマイシンを含む）を入れ、単球・好中球が十分小さなporeを通過して下wellへ集集させる遊走能を調べた。MACに対するクラリスロマイシンMICが1/4 \times MIC、1 \times MIC、4 \times MICともクラリスロマイシンを添加しない群に比し、有意に遊走を抑制した。以上より、BEAS-2B細胞内で増幅するMACをクラリスロマイシンが抑制するだけでなく、炎症性サイトカイン・ケモカインの産生を抑制することによって、単球・好中球の遊走をも抑制することがわかり、クラリスロマイシンがIRIS発症を抑制できる

可能性が示唆された。

基礎的データをもとに、AIDS患者またはCD4陽性リンパ球が100個以下の症例に対して、HAART開始前、あるいは同時にクラリスロマイシンを200mgまたは400mg投与した。現在まで6例に対して投与を行っているが、MACを含めIRISは発症していない。また、1年以上経過した症例において、ウイルス学的治療失敗例はなかった。今後さらに症例を増やして、マクロライド系抗菌薬によるIRIS予防について検討する必要がある。

まとめ

本研究ではMACによる免疫再構築症候群の発症機序を菌と上皮細胞との相互関係について解明してきた。細胞内寄生菌として知られるMACは細胞内で増幅することによって炎症性サイトカイン・ケモカインを産生し、単球あるいは好中球を遊走させ、活性化させる可能性が明らかになった。また、マクロライド系抗菌薬であるクラリスロマイシンは、MACの細胞内での増幅を抑制して、MACに静菌あるいは殺菌作用を呈するばかりか、これらの効果を通して、IL-6、IL-8あるいはMCP-1といったサイトカイン、ケモカイン産生を抑制して、単球や好中球の遊走・活性化を抑制する可能性が明らかにすることができた。臨床的にCD4リンパ球低値のエイズ患者にマクロライド系抗菌薬を予防的に投与することによってMACによる免疫再構築症候群発症を予防できる可能性が検討されている。今後、症例を増やしてその有用性を検討する必要がある。



HIV 感染症におけるインターフェロン γ 応答測定法 (Interferon-Gamma Release Assays: IGRAs) の有用性についての検討

研究分担者：永井英明 (国立病院機構東京病院)

研究協力者：有賀晴之 (国立病院機構東京病院)

研究要旨

ステロイド、抗 TNF 阻害剤等の免疫抑制剤投与患者、HIV 感染症などの免疫脆弱患者においては、潜在性結核感染や結核発病の早期発見と鑑別診断が重要な課題である。

近年、BCG 接種の影響を受けない新しい結核診断法として、インターフェロン γ 応答測定法 (Interferon-Gamma Release Assays : IGRAs) が開発された。IGRAs は感度も特異度も良好であるが、HIV 感染症などの免疫機能が低下している患者では感度が低下することが指摘されている。われわれは HIV 感染者における IGRAs の有用性について検討してきた。

研究 1 では HIV 感染症合併結核患者における QuantiFERON®-TB 2G (QFT-2G) の有用性について検討し、感度はやや低下するものの、ツベルクリン反応よりも有意に高い感度を示すことが判明した。CD4 数が極めて低値例では、QFT-2G は判定不可例となる可能性が高いこともわかった。

研究 2 では外来通院中の HIV 陽性者に QFT-2G を行い、CD4 数の低値例がなかったため、QFT-2G の判定不可例は認められなかった。結核治療終了後も QFT-2G 陽性が続く症例があり、注意深い観察が必要と考えられた。

研究 3 では結核患者に対して、QFT-2G と新しい IGRA である ELISPOT 法の感度の比較を行った。免疫機能正常者と免疫機能低下者に分けて検討したが、いずれも ELISPOT 法の陽性率が QFT-2G の陽性率を上まわった。

研究 4 では外来通院中の HIV 陽性者における QFT-2G と ELISPOT 法の感度の比較を行った。結核の既往のある群でも、既往のない群でも QFT-2G 陰性、ELISPOT 法陽性例が多く存在し、ELISPOT 法は QFT-2G より感度が良好と考えられた。

以上の研究より、HIV 感染症合併結核においても QFT-2G は結核感染診断に十分有用であると考えられた。しかし、免疫抑制状態の患者では、ELISPOT 法は QFT-2G よりも結核感染診断の感度が高いことが示唆された。IGRAs 陽性の HIV 陽性者については、注意深い経過観察が必要と考えられた。

はじめに

HIV感染症ではCD4陽性Tリンパ球(CD4)が減少し、重篤な細胞性免疫障害が生じる。細胞性免疫は結核の感染防御を担っており、この機能が著しく低下するHIV感染症では結核の感染・発病のリスクは極めて高い。

日本の結核の罹患率は人口10万対19.8(2007年)まで低下したが、欧米先進国の中には罹患率が5前後の国もあり、日本は結核については中まん延国である。また、HIV感染者数は年々増加しており、2007年の報告例は1500名となった。このような状況下では、今後HIV感染症合併結核の症例が増加する可能性が高い。当院では両者合併例は1992年以来徐々に増加し、2008年末までに65例を経験している。

HIV感染者では結核の合併を早期に診断し、治療を行うことが肝要である。

結核感染の診断は従来ツベルクリン反応(ツ反)で行われてきたが、BCG接種に積極的に取り組んできたわが国では、その影響が非常に大きい。BCG接種者においては、ツ反により現われる反応が過去のBCG接種によるものか、最近受けた結核感染によるものかが区別できないという大きな問題がある。そこにBCG接種の影響を受けない新しい結核診断法が開発された。特異的抗原刺激に対するリンパ球のインターフェロン γ (IFN- γ)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である(インターフェロン γ 応答測定法 Interferon-Gamma Release Assays; IGRAs)。

現在、わが国で承認されているIGRAは QuantiFERON®-TB 第2世代(以下QFT-2G)である。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²⁾、結核感染診断のために広く用いられている。しかしながら、免疫抑制状態ではQFT-2Gの感度は低下する可能性があり、そのような場合の有用性についての検討は乏しい。特に細胞性免疫機能が著しく低下するHIV感染症では、QFT-2Gの判定不可例の増加、結核を合併した場合のQFT-2Gの感度の低下が予想される。そこで、平成18-19年度ではHIV陽性者におけるQFT-2Gによるデータを蓄積し発表してきた。研究1ではHIV感染症合併結核患者にQFT-2Gを行い、QFT-2Gの判定不可例の頻度、感度等について検討した。また、研究2では外来通

院中のHIV感染症例(結核の既往例を含む)についてQFT-2Gを行い、QFT-2Gの判定不可例の頻度等について検討した。

近年、QFT-2Gの他に、新しいIGRAとして、QuantiFERON®-TB 第3世代(QFT-3G)とT-SPOT®.TB(T-SPOT)が欧米を中心に用いられるようになってきた。いずれもわが国では承認されていない。T-SPOTはELISPOT法を用いており、結核菌特異抗原ESAT-6およびCFP-10を用いて患者リンパ球を刺激する点ではQFT-2Gと同様であるが、IFN- γ 産生細胞の存在した場所をスポットとして可視化する点が異なる。T-SPOTはQFT-2Gよりも感度が良いといわれている。

平成20年度ではT-SPOTに準じたELISPOT法を行える態勢を整え、QFT-2Gと比較検討した。研究3では免疫機能正常者と免疫機能低下者における結核発病時のQFT-2GとELISPOT法の感度について、および研究4では外来通院中のHIV陽性者におけるQFT-2GとELISPOT法の感度について比較検討した。

方法と対象

研究1: HIV感染症合併結核患者におけるQFT-2G

対象は結核菌を確認できたHIV感染症合併結核のうち、結核の治療開始直前か、治療開始後1週間以内にQFT-2Gを行えた症例である。結核の既往歴がある症例およびすでに抗HIV薬の投与を受けている症例は除いた。対象症例は13例あり、男性12例、女性1例であった。年齢は20~67歳(中央値53歳)であった。

研究2: 外来通院中のHIV陽性者におけるQFT-2G

対象は当院外来通院中で強力な抗HIV療法(highly active antiretroviral therapy: HAART)を行っていたHIV感染症例である。結核既往群と非結核既往群に分けて検討した。結核既往群は、結核診断時にHIV陽性と判明した症例で、当院で結核の治療を開始し、その後HAARTを開始した症例である。結核は治療し、結核の治療を終了し外来にてHAART施行中に対象とした。非結核既往群は病歴上、結核の既往および結核患者との接触が明らかでない症例である。

外来通院中のHIV感染者のうちQFT-2Gを測定できた症例は25例あり、結核既往群11例（男女比9：2、29～58歳；中央値49歳）、非結核既往群14例（男女比14：0、年齢31～65歳；中央値55歳）であった。

研究1および2の症例につきQFT-2G、CD4陽性Tリンパ球（CD4）数、ツ反応等について検討し、QFT-2Gの判定不可例の有無、QFT-2Gとツ反応との感度の比較等を行った。

ツ反応は発赤では発赤径10mm以上を陽性とし、硬結ではATS/CDCの基準³⁾によりHIV感染者の場合、硬結径5mm以上を陽性とした。QFT-2Gの判定基準は後述した。

QFT-2Gの感度とツ反応の感度の比較には、Fisher's exact probability testを用いた。

研究3：免疫機能正常者と免疫機能低下者におけるQFT-2GとELISPOT法の感度の比較

当院を受診した活動性肺結核患者73例（男69.9%、年齢15～97歳、平均60.2歳）に対し、治療開始14日以内にQFT-2GとELISPOT法を同時に行い、感度について比較検討した。免疫抑制因子を有する例は、結核発症前にステロイドや免疫抑制剤を投与、HIV感染症、低栄養状態、糖尿病を認める者とした。

研究4：外来通院中のHIV陽性者におけるQFT-2GとELISPOT法の感度の比較

対象は当院外来通院中でHAART行っていたHIV感染症例である。研究2の対象者と重なるが、症例数はさらに増加し、QFT-2G、ELISPOT法、ツ反を行った。

QFT-2G

Moriら²⁾の方法に準じた。すなわち、被験者から静脈血をヘパリン加採血し、12時間以内にその一定量にESAT-6抗原、CFP-10抗原、陰性コントロールとしての生理的食塩水、陽性コントロールとしてのマイトジェン（phytohemagglutinin: PHA）を添加し、16～24時間37℃で培養した。培養後に上清を採取し、サンドイッチ酵素免疫測定法（ELISA法）でIFN- γ の濃度を測定した。

刺激抗原ESAT-6、CFP-10により産生誘導されたIFN- γ 値から陰性コントロールのIFN- γ 産生値を差し引いた値のうち高値を選択した。0.35IU/ml以上を陽性、0.1IU/ml未満を陰性とした。その間の

0.1以上0.35IU/ml未満は判定保留とした。また、結核特異抗原によるIFN- γ 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低下しているものとし、特異的免疫応答による測定値には信頼性がないとして、判定不可とした。

ELISPOT法

ヘパリン採血した血液より末梢単核球（Peripheral Blood Mononuclear Cells；PBMCs）を分離し、抗ヒトIFN- γ 抗体をコーティングしたpolyvinylidene fluoride（PVDF）膜で底を覆った96穴培養プレートに一定数を分注する。結核菌特異抗原ESAT-6およびCFP-10を添加して、20時間前後培養する。結核感染者のPBMCsからはIFN- γ が分泌され、その場所で直ちにPVDF膜上の抗ヒトIFN- γ 抗体と結合する。分泌されたIFN- γ を染色することで、IFN- γ 産生細胞の存在した場所をスポットとして可視化する。スポット1個が、IFN- γ 産生細胞1個に相当すると考えられる。ELISPOTの判定はT-SPOT TBの基準に準拠し、spot数6個以上を陽性とした。

なお、ELISPOT法を行うに当たり、当院倫理委員会の承認を得た。患者に対しては文書による説明を行い、同意を得た。

結果

研究1

QFT-2Gを行えたHIV感染症合併結核例13例の結核病変は粟粒結核6例、肺結核6例、リンパ節結核1例であった（表1）。CD4数は16～320 μ l（中央値63 μ l）であった。QFT-2Gの結果は、陽性：13例中10例（76.9%）、判定保留：13例中2例（15.4%）、判定不可：13例中1例（7.7%）であった。ツ反応の陽性率は発赤で判定した場合38.5%、硬結で判定した場合15.4%であった。QFT-2Gの感度はツ反応硬結の感度よりも有意に高かった（ $p<0.01$ ）。

判定不可例のCD4数は16 μ 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。

研究2

外来通院中のHIV感染者のうちQFT-2Gを測定できた症例25例は、全例にHAARTが施行され、CD4数は結核既往群124~561/ μ l(中央値348/ μ l)、非結核既往群100~1157/ μ l(中央値496/ μ l)であり、CD4数が著しく低下している例はなかった(表2)。いずれも陽性コントロールに対するIFN- γ 産生は良好で、判定不可例は無かった。非結核既往群14例ではQFT-2G陽性は無く、判定保留2

例、陰性12例であった。結核既往群11例(表3)では、HAARTによりCD4数が増加(中央値63→348/ μ l)し、ツ反応は硬結陽性率が18.2%から90.9%へ上昇した。しかし、QFT-2G陽性者は3例(27.3%)であり、ツ反応の陽性率に比べ低かった。判定保留2例、陰性6例であった。

研究3

活動性肺結核確定73例の両検査の陽性率は、

表1 HIV感染症合併結核患者におけるQFT-2Gの結果

症例	性/年齢	CD4数 (/ μ l)	ツ反応(mm)	QFT-2G
1. 粟粒結核	M/45	18	0×0/3×3	判定不可
2. 粟粒結核	M/60	23	0×0/0×0	陽性
3. 肺結核	M/59	27	0×0/0×0	判定保留
4. 肺結核	M/57	36	0×0/0×0	陽性
5. 肺結核	M/47	48	11×10/61×41	陽性
6. 粟粒結核	M/53	60	0×0/0×0	判定保留
7. 粟粒結核	F/38	63	0×0/15×13	陽性
8. 肺結核	M/66	68	0×0/0×0	陽性
9. 粟粒結核	M/63	81	0×0/5×5	陽性
10. 肺結核	M/36	101	0×0/0×0	陽性
11. 粟粒結核	M/67	199	0×0/15×15	陽性
12. リンパ節結核	M/41	245	15×17/20×20(40×57)	陽性
13. 肺結核	M/20	320	0×0/16×21	陽性
	中央値 53	中央値 63	感度 発赤 38.5% (硬結 15.4%)	感度 76.9%

表2 HAART施行中のHIV感染者におけるQFT-2Gの結果

症例数	QFT-2G			CD4数 (/ μ l) 中央値 (範囲)	
	陽性	判定保留	陰性		
結核既往歴あり (結核治療終了)	11	3	2	6	348 (124-561)
結核既往歴なし	14	0	2	12	496 (100-1157)

表3 結核の治療歴があるHIV感染者におけるQFT-2G

QFT-2G	性/年齢	結核診断からQFT-2G 測定までの期間(月)	CD4数(/ μ l) (結核診断時)	ツ反応 (硬結: mm) (結核診断時)
1. 陽性	F/40	19	218 (63)	20 (0)
2. 陽性	M/42	48	234 (11)	13 (0)
3. 陽性	F/29	67	396 (72)	25 (6)
4. 判定保留	M/57	12	124 (27)	12 (0)
5. 判定保留	M/58	93	367 (423)	8 (0)
6. 陰性	M/46	30	178 (2)	9 (0)
7. 陰性	M/55	42	320 (106)	16 (0)
8. 陰性	M/43	50	549 (188)	13 (31)
9. 陰性	M/53	55	348 (31)	8 (0)
10. 陰性	M/50	77	561(111)	13 (0)
11. 陰性	M/49	85	518 (35)	0 (0)
陽性率 27.3%	中央値 49	中央値 50	中央値 348 (63)	陽性率 90.9 (18.2%)

QFT-2G 70.6%、ELISPOT 89.0%であった。このうち、免疫抑制因子を有する28例ではQFT-2G陽性率は57.1%、ELISPOT陽性率は85.7%、免疫抑制因子を有しない45例ではQFT-2G陽性率は84.1%、ELISPOT陽性率は93.3%であった。いずれもELISPOTの陽性率がQFT-2Gの陽性率を上まわった。

研究4 (表4)

両検査を行うことができた32例のうち、結核の既往がある症例は11例で、結核の既往がない症例が21例であった。結核既往のある11例中QFT-2G陽性は2例に過ぎなかったが、ELISPOT陽性はこの2例を含んだ10例に認められた。また、結核の既往がない21例中、QFT-2G陽性は2例であり、ELISPOT陽性はこの2例を含んだ5例に認められた。すなわち、QFT-2G陰性、ELISPOT陽性例が多く存在し、ELISPOTはQFT-2Gより感度が良好であった。結核既往例に高率にELISPOT陽性者が認められた。

考察

IGRA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ない場合がある点である。これが得られない場合は判定不可となる。当院の症例(研究1)では結核合併例における判定不可例が1例(7.7%)あり、この症例は13例中CD4数が最も低値(16/μl)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。しかし、外来通院中のHAART施行例25例におけるQFT-2G検査(研究2)では、判定不可例はなかった。25例のCD4数値は100~1157/μl(中央値396/μl)であり、CD4数が著しく低下していな

ればQFT-2Gは判定不可にならないと考えられた。

当院のAIDS合併結核におけるQFT-2Gの結核感染診断の感度は76.9%であり、ツ反応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。また、判定保留症例が2例あったが、いずれもCD4数が27/μl、60/μlと低値であることを考慮すると、この2例においても結核感染を示している可能性が高い。免疫低下状態における判定保留症例の扱いについてはさらに症例を集め検討すべきである。

研究2では、HAART施行中の結核既往群では、HAARTによりCD4数が増加し細胞性免疫が回復し、ツ反応が90.9%と高率に陽転化していたが、QFT-2G陽性者は27.3%と少なかった。結核の治療歴がある非HIV感染者におけるQFT-2G陽性率については、当院で行った検討⁴⁾では、結核の治療終了後1年以上経過している患者43例中、QFT-2G陽性20例(46.5%)、判定保留9例(20.9%)、陰性14例(32.6%)であった。非HIV感染者に比べ、HIV感染者では結核の治療終了後のQFT-2G陽性率はやや低い傾向があった。結核の治療終了後もQFT-2Gが陽性であることの意味付けは難しく、依然として結核菌が存在することを示すのか、免疫の記憶だけが残っているのか議論の多いところである。QFT-2G陽性者についてはQFT-2Gの変動、結核再燃の有無などについて経過を注意深く追う必要がある。

ELISPOT法は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⁵⁾がある。QFT-2GとT-SPOT.TBを比較した報告⁶⁾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。

ELISPOT法を加えた研究3では、QFT-2Gに比べELISPOT法の感度が高いことが判明した。HIV感染者においても、QFT-2Gに比べELISPOT法を用いたIGRAがより高感度に結核感染を検出する

表4 HAART施行中のHIV感染者におけるQFT-2GおよびELISPOT法の結果

	症例数	QFT-2G陽性	ELISPOT陽性
結核既往歴あり (結核治療終了)	11	2	10 (QFT-2G陽性を含む)
結核既往歴なし	21	2	5 (QFT-2G陽性を含む)

ことがわかり、免疫抑制因子をもつ症例についてはELISPOT法が有用であると言える。

QFT(-2Gと-3G)とT-SPOTとツ反を比較した最新のsystematic review⁷⁾ではQFT vs T-SPOT vs ツ反で解析すると、感度、特異度はそれぞれ78% vs 90% vs 77%、99% vs 93% vs 97% (BCG接種なし) 59% (BCG接種あり)と報告されており、特異度はQFTが優れているが、感度はQFTよりT-SPOTの方が高いという特徴があった。

当院に通院中のHAART中のHIV陽性者について、毎年、QFT-2Gを施行しており、H20年度からはELISPOT法も加えた。研究⁴⁾では、結核既往群および結核非既往群いずれにおいても、QFT-2G陰性・ELISPOT陽性者がおり、QFT-2GよりもELISPOT法のほうが結核感染の診断については感度が良いことが示唆された。IGRA陽性者については、結核を発病してくるのか、両者陰性者についてはIGRAが陽転化した場合、結核を発病してくるのか、注意深い観察を続ける方針である。特に、結核既往者にELISPOT陽性者を高率に認めた点については、慎重に経過観察を行わなければならないと考えている。今後のデータの集積から、INHの予防投与を行う判断基準を構築したいと考えている。

ELISPOT法はHIV感染者においても判定不可例が少なく、感度・特異度ともに良好で、期待される検査法であるが、QFT-2Gに比べ検査法が煩雑であり、現時点では容易にわが国で利用できる状況にはない。QFT-2GはHIV感染者においてもツ反に比べより有用な結核感染診断法であることは明らかであり、その特徴を十分理解して適切に用いるべきである。

結論

HIV感染症合併結核においてもQFT-2Gは結核感染診断に十分有用であると考えられた。

QFT-2GはELISPOT法より検査手技において技術的により簡便であるが、免疫抑制状態の患者では、ELISPOT法によるIGRAが結核感染診断上、有用である可能性が示唆された。しかし、ELISPOT法は現時点で保険適応ではなく、検査可能な施設も限られることなどが今後の課題である。IGRA陽性のHIV陽性者については、注意深い経過観察を行う方針である。

参考文献

- 1) 永井英明, 蛇沢晶, 赤川志のぶ, 他. Human Immunodeficiency Virus(HIV)感染症における結核. 日胸疾会誌 35:267-272, 1997.
- 2) 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.
- 3) 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
- 4) 有賀晴之, 川辺芳子, 永井英明 他: 結核既往者における QuantiFERON-TB 2 G test の検討. 日本呼吸器学会雑誌 2005;43 (増刊):154.
- 5) 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.
- 6) 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.
- 7) Pai M, Zwerling A, Menzies D. Systematic review: T-Cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: An update. Ann Intern Med 2008; 149:177-184