

200830049 A

平成20年度

**厚生労働科学研究費補助金  
エイズ対策研究事業**

標準的治療法の確立を目指した  
急性HIV感染症の病態解析

独立行政法人国立病院機構  
大阪医療センター

**渡邊 大**



厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業

標準的治療法の確立を目指した急性 HIV 感染症の病態解析

平成 20 年度 研究報告書

独立行政法人国立病院機構 大阪医療センター

渡邊 大

# 目 次

## ■ 総括研究報告

- 1 標準的治療法の確立を目指した急性 HIV 感染症の病態解析…………… 7  
 研究代表者：渡邊 大（国立病院機構大阪医療センター 臨床研究センター エイズ先端  
 医療研究部 HIV 感染制御研究室 室員）

## ■ 分担研究報告

- 2 急性感染期での抗 HIV 療法の導入の意義…………… 13  
 研究代表者：渡邊 大（国立病院機構大阪医療センター 臨床研究センター エイズ先端  
 医療研究部 HIV 感染制御研究室 室員）
- 3 急性感染例の血清サイトカイン値の測定による HIV 感染症の病態解析…………… 17  
 研究分担者：白阪 琢磨（国立病院機構大阪医療センター臨床研究センター エイズ先端医療  
 研究部 部長）
- 4 大阪医療センターにおける急性 HIV 感染症の入院例の分析…………… 21  
 研究分担者：上平 朝子（国立病院機構大阪医療センター 免疫感染症科 医長）
- 5 標準的治療法の確立を目指した急性 HIV 感染症の病態解析…………… 25  
 研究分担者：濱口 元洋（国立病院機構名古屋医療センター エイズ・感染症診療部長）
- 6 検体の解析…………… 27  
 研究分担者：金田 次弘（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）

## 総括研究報告

## 1

## 標準的治療法の確立を目指した急性HIV感染症の病態解析

研究代表者：渡邊 大（国立病院機構大阪医療センター 臨床研究センター エイズ先端医療研究部 HIV感染制御研究室 室員）

研究分担者：白阪 琢磨（国立病院機構大阪医療センター臨床研究センターエイズ先端医療研究部 部長）

上平 朝子（国立病院機構大阪医療センター免疫感染症科 医長）

濱口 元洋（国立病院機構名古屋医療センター統括診療部エイズ・感染症診療部 総括診療部エイズ・感染症診療部長）

金田 次弘（国立病院機構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）

## 研究要旨

HIV 感染症の新規治療法の開発のために、標準的な治療指法が確立されていない急性感染に注目した。特に、急性期に抗 HIV 療法を導入した症例の末梢血 CD4 陽性 T リンパ球中のプロウイルス量の測定、急性感染期における血中サイトカイン値の測定、急性 HIV 感染症と診断された症例の臨床情報の解析を行い、急性 HIV 感染症の病態解析と早期抗 HIV 療法の意義の解明を目的とした。急性 HIV 感染症と診断された入院例は大阪医療センターで 5 例、名古屋医療センターで 4 例あり、いずれもスクリーニング検査で陽性となっており、多彩な臨床症状を呈していた。抗 HIV 療法を導入した症例でのプロウイルス量は 8 例で測定し、測定感度未満の症例が半数以上を占めた。慢性期に抗 HIV 療法を導入した 63 例と比較し、8 例のプロウイルス量は低値であった。慢性期の 63 例の解析からは CD4 数が  $91/\mu\text{l}$  低下すればプロウイルス量が 2 倍に拡大することが示唆され、このことは急性期における治療導入がプロウイルス量の確立の抑制につながることを間接的に意味していた。感染早期における血清サイトカインとしては IL-18 と Interferon- $\gamma$  の発現異常が指摘された。症例数を増すとともに、これらの結果についてさらに検討を行いたい。

## 研究目的

抗 HIV 薬の多剤併用療法 (HAART) の開発により HIV 感染症は不治の病からコントロール可能な慢性疾患に移行した。しかし、寿命が長い潜伏感染細胞を駆逐するのに平均 73.4 年要する (Science 272:1167-1170, 1996) との報告からも、身体的・精神的・経済的負担の大きい抗 HIV 薬の内服を長期間継続することが必要とされる。さらには計画的に治療を中断 (STI) する臨床試験も行われたが、治療継続の方が好ましいとの結果であった (N. Engl. J. Med. 355:2283-6, 2006)。従って抗 HIV 薬の長期内服の負担を軽減する方法としては新規治療薬の開発や合併症対策などが一般的に考慮されるが、我々は急性感染に注目した。急性感染期から病態に介入することにより、免疫学的修

飾による無症候期の延長や早期の抗 HIV 療法導入による潜伏感染細胞の減少などが得られる可能性もある。そのようなメリットが得られた場合は治療ストラテジーにも大きな変更が加えられることになる。HIV 感染症の新規治療法の開発のためにも、まず標準的治療法が確立されていない急性 HIV 感染症の病態を、免疫学およびウイルス学的な視点から解析を行う。

我々は本研究に先駆け、HIV 感染症の各病期にて種々の血清サイトカイン値を測定し病態に関与するサイトカインを明らかにした。特に他のサイトカインや過去の報告とは発現様式が大きく異なるサイトカインを同定した。また、金田らによって開発された新規の高感度法 (J. Virol. Methods. 124:157-65, 2005) によるプロウイル



ス量の測定のデータも蓄積されつつある。このような先行研究のデータを基に、急性期症例の臨床データの解析、血清サイトカイン値の変動と臨床データとの相関、急性期に抗 HIV 療法導入となった症例でのプロウイルス量の測定と検討を行い、急性 HIV 感染症の病態解析と早期抗 HIV 療法導入の意義を明らかにする。

## 研究方法

本研究では上記の目的のために以下の研究を実施する。大阪医療センターと名古屋医療センターに入院した急性 HIV 感染症患者を対象に診療録から臨床情報を収集し、その経過に関して分析を行い特徴を抽出した。文書で同意が得られた 20 歳以上の HIV 感染患者より血清を採取し、Interferon- $\gamma$ 、Interleukin(IL)-6、IL-18、IL-10 の 4 種のサイトカインを ELISA 法にて測定した。症例を感染早期群、無症候群、免疫低下群、治療継続群に分類し、その血清サイトカイン値の特徴について検討した。急性期に HAART を導入し血漿 HIV-RNA 量が感度未満で維持されている症例に対しては、末梢血 CD4 陽性リンパ球中の細胞内 HIV-DNA 量（プロウイルス量）の測定を行った。具体的には全血を溶血後、negative selection にて CD4 陽性リンパ球を分離、DNA を精製後、realtime PCR 法にてコピー数を決定した。 $\beta 2$  ミクログロブリンのコピー数も同時に測定することによって、プロウイルス量を CD4 陽性リンパ球 100 万個あたりのコピー数として算出した。慢性期で HAART を導入した症例のプロウイルス量との比較を Wilcoxon の順位と検定にて行った。プロウイルス量については大阪医療センターおよび九州医療センターにて抗 HIV 療法を継続している症例を対象とした。

### (倫理面への配慮)

研究の実施にあたっては、疫学研究に関する倫

理指針を遵守した。研究対象者に対する人権擁護上の配慮、研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除に留意し、実施に当たっては患者への分かりやすい説明を行いながら十分な理解を得た。検体採取にあたっては、各施設の倫理委員会の承認を得た後に実施し、個人情報の管理は厳重に行うこととした。

## 研究結果

今年度の主な結果を次に記す。大阪医療センターに急性 HIV 感染症で入院した症例は 19 症例であり、今年度は 2008 年 12 月 31 日時点で 5 例の入院があった。入院 19 症例中 9 例が入院中に抗 HIV 療法を導入され、7 例が現在も継続中である。入院中に抗 HIV 療法を導入されなかった 10 例のうち 4 例は平均 2.3 年後に抗 HIV 療法を導入されており、残りの 6 名の無治療期間は 0.8 年であった。名古屋医療センターでは 4 例の入院症例があった。いずれもスクリーニング検査陽性で診断されており、髄膜炎・血球貪食症候群、肝炎、リンパ節炎など多彩な症状を呈していた。

当院で急性期から抗 HIV 療法を継続している 4 例と九州医療センターで継続している 4 例でプロウイルス量の測定を実施した。8 症例中 5 症例においてプロウイルス量は感度未満となり、残りの 3 症例においても 2、8、8 (単位はコピー/ $10^5$  CD4 陽性リンパ球) であった。慢性期に抗 HIV 療法を開始し血漿中 HIV-RNA 量が感度未満を継続している症例 (63 例) における末梢血中のプロウイルス量を対照としたが、これらのプロウイルス量 (中央値 34、最小 2 未満、最大 3224 で単位はいずれも同上) は、治療開始前の CD4 陽性リンパ球数に逆相関 (Spearman 順位相関係数検定:  $r = -0.48$ ,  $p = 0.0008$ ) しており、治療開始前の CD4 陽性リンパ球数が  $91/\mu l$  低下すればプロウイルス量が 2 倍に増加されることが予想された。これは病期が進行することによって潜伏感染細胞が増加する

ことを意味している。急性期で抗 HIV 療法を導入した 8 例と慢性期で開始した 63 例のプロウイルス量を比較したところ急性期で導入した群において有意に低値を示していた ( $p = 0.0001$ )。

血清サイトカイン値の測定は 11 症例から同意を取得して測定を行った。発熱といった急性期症状が緩和された後においては、Interferon- $\gamma$  が単独で高値となった 2 症例と Interleukin (IL)-18 が高値となる 9 症例に分類可能であった。IL-18 は経過とともに有意に低下した。一方、Interferon- $\gamma$  が最も高値となった症例は低下することなく持続し、血漿中 HIV-RNA 量も数百から数千コピーでコントロールされていた。以上のことから測定を行ったサイトカインのうち、Interferon- $\gamma$  と IL-18 が感染早期に関わるサイトカインと考えられた。

## 考察

今年度はプロウイルス量に関する研究結果が中心であった。8 例の解析から、急性期に抗 HIV 療法を導入した場合、慢性期と比較してプロウイルス量が低いことが明らかとなった。特に測定した 8 症例中半数以上の 5 症例でプロウイルス量は感度未満であったため、慢性期で導入した症例よりどのレベルまで減少しているかは算出不能であった。

慢性期の症例の解析では、プロウイルス量は治療期間より治療開始前の CD4 陽性リンパ球数に強い逆相関を示していた。すなわち病期の進展に伴い潜伏感染細胞は増加し、抗 HIV 療法を導入してもプロウイルス量を減少させるためには時間がかかることを意味している。この 1) 急性期での治療によりプロウイルス量は低値を示すこと、2) HIV 感染症の進展によりプロウイルス量は上昇すること、3) 治療期間とプロウイルス量は弱い逆相関を示すのみであったことの 3 点より、抗 HIV 療法により HIV が体内から完全に駆除されうると

すれば急性期に治療が開始された症例が可能性のひとつとして期待される。測定した症例の半数以上が金田らによって開発された高感度法をもってしても感度未満となったため、詳細の分析のためにさらなる高感度法の開発を行う必要性がある。

血清サイトカイン値の解析に関しては、Interferon- $\gamma$  がほぼ単独で高値をとるという特徴を示した 2 例を同定した。無症候期や抗 HIV 療法が施行されている症例においても同様なパターンをとる症例が 1 割前後存在していることが先行研究から明らかとなっている。臨床情報の解析とこの血清サイトカイン値の解析に関する詳細な分析のためには、今後の症例の蓄積がと分析項目の検討が必要である。

## 結論

急性 HIV 感染症について当院の症例についてレビューを行い、血清サイトカイン値と抗 HIV 療法を継続している症例に関しては末梢血 CD4 陽性リンパ球中のプロウイルス量を測定した。急性期で治療開始した症例の半数以上においてプロウイルス量は感度未満であった。この意義を確立するために、プロウイルス量測定のためのさらなる高感度法を開発する必要がある。

## 健康危険情報

該当なし

## 研究発表

和文

- 1) 渡邊 大. 内科臨床医のための HIV 感染症の知識. 大阪府内科医会誌 17(2), p131-137, 2008

口頭発表

国内

- 1) 富成伸次郎、矢嶋敬史郎、谷口智宏、渡邊

- 大、上平朝子、白阪琢磨、HIV 感染症患者の入院治療の臨床的検討。第 22 回日本エイズ学会学術集会・総会、2008 年、大阪
- 2) 渡邊 大、小川吉彦、坂東裕基、矢嶋敬史郎、谷口智宏、富成伸次郎、大谷成人、上平朝子、白阪琢磨。Parvovirus B19 による輸血依存性貧血をきたし、抗 HIV 療法にて軽快した AIDS の一例第 22 回日本エイズ学会学術集会・総会、2008 年、大阪
- 3) 渡邊 大、 内科臨床医のための HIV 感染症の知識～他人事ではない HIV 感染症～、大阪府内科医会定例講演会（大阪） 2008 年

#### 知的財産権の出現・登録状況

該当なし



## 分担研究報告

## 2

## 急性感染期での抗HIV療法の導入の意義

研究代表者：渡邊 大（国立病院機構大阪医療センター 臨床研究センター エイズ先端医療研究部 HIV感染制御研究室 室員）

研究分担者：白阪 琢磨（国立病院機構大阪医療センター臨床研究センターエイズ先端医療研究部 部長）

上平 朝子（国立病院機構大阪医療センター 免疫感染症科）

## 研究要旨

急性期での抗HIV療法の意義を明らかにするために、当院での急性期での治療例について末梢CD4陽性Tリンパ球中のプロウイルス（HIV-DNA）量を測定した。対象は慢性期でARTを導入した63例とした。急性期にARTを導入した4症例中2症例はHIV-DNA量が感度未満であり、慢性期で導入した63症例と比較し統計学的有意にプロウイルス量が低下していた。また、慢性期で導入した症例のプロウイルス量は治療開始前のCD4陽性リンパ球数と逆相関を示し、病期の進展によってプロウイルス量が増えることが示唆され、急性期での治療によってプロウイルス量が抑えられる結果が支持された。

## 研究目的

HIVに感染して2から4週間後に発熱、咽頭炎、下痢、皮疹などの症状や、白血球減少・血小板減少・高LDH血症などの検査異常が出現する。これら一連の病態を急性HIV感染症という。この急性期は無治療の場合は2週間程度持続して軽快し、いわゆる無症候性キャリア期に入る。したがって、急性感染期の治療は一般には対症療法とされている。症状が遷延化する場合や、髄膜炎・血球貪食症候群などを発症し重症化する場合も知られており、そのような症例においては抗HIV療法（ART）が著効する。しかし、その開始基準は定まったものではなく、現状では個々の症例で判断せざるおえないのが実情である。また、治療を開始してもいつ中断すべきか、それとも中断することなく継続すべきかについてもエビデンスが存在しない。急性期でARTを開始するデメリットとしては、抗HIV薬服薬の必要性とその副作用出現の可能性や薬剤耐性変異株の出現の可能性が考えられ、メリットとしては症状の改善および免疫系の破壊の少ないうちに治療が開始されることが挙げられる。

一方、慢性期においてはCD4陽性リンパ球数が

どこまで低下すれば開始すべきかの課題は残されているものの、ARTの開発によってHIV感染者の血漿中ウイルス量（VL）は検出感度を下回るまで抑制されるようになった。数十年の抗HIV薬服薬による毒性の蓄積や、薬剤耐性変異株の出現などが問題視されるほど、HIV感染症はコントロール可能な慢性疾患になったといえる。HIV感染細胞の半減期に関する研究からは感染細胞をすべて駆逐するには平均73.4年の内服期間が必要とされ、生涯の抗HIV薬の服用の根拠とされている。しかし、それらの研究でも半減期には幅があり、個々の患者の感染細胞数の違いもあるため、感染細胞の存続期間も一律でよいのかは十分な議論がされていないのが実状である。すなわち潜伏感染として感染している細胞数が少ない症例などは73.4年を待たずに治癒されるはずである。HIV感染症の自然歴のうち、この潜伏感染細胞がいつ樹立するかは明らかではない。感染早期から樹立すると考えられる一方、無症候期においてもプロウイルス量が検出されない症例も存在している。従い、急性期に治療を開始した場合はプロウイルス量が低いことが予想される。

本研究では当院で急性感染期にARTを導入した

症例について診療録からデータを収集し、ARTを継続している症例においては末梢CD4陽性Tリンパ球中のHIV-DNA量(プロウイルス量)を測定し、その特徴を明らかにする。

## 研究方法

当院免疫感染症科に入院した急性HIV感染症の症例について診療録からCD4陽性リンパ球数、血漿HIV-RNA量(VL)などの情報について収集を行った。また、急性期でARTが導入され現在まで継続している症例(急性群)に関しては、informed consentのもとに採血を行い、末梢CD4陽性Tリンパ球中のHIV-DNA量を測定した。検体は感染性物質としてシーリングなどの防御を行ったうえで名古屋医療センターまで空輸した。名古屋医療センターで血液検体からCD4陽性Tリンパ球を分離し、細胞内のDNAを精製した。精製した核酸から、HIV-DNA量を金田らによって開発された高感度のrealtime PCR法にて決定した。HIV-DNA量はCD4陽性Tリンパ球10の6乗個に含まれるコピー数として算出した。対象として慢性期にARTが導入され、VLが感度未満を持続している症例(慢性群)からも同様に末梢CD4陽性Tリンパ球中のHIV-DNA量を測定した。

### (倫理面への配慮)

プロウイルス量の測定に関しては疫学研究に相当し、院内の倫理委員会に相当する受託研究審査委員会に研究課題「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」を提出し承認を取得した。この審査委員会が審査・受理された方法で研究を遂行し、具体的には文書での同意の取得や、検体処理やデータ管理の際の匿名化などを行った。

## 研究結果

急性HIV感染症で当院に入院した症例は19例で

あった。そのうち9例に入院中にARTが導入された。2例はStructured Treatment Interruptionsとして抗HIV薬が投与されていたため、7例がARTが適応として投与されていた。この7例の適応は髄膜炎・脳症が4例、血球貪食症候群が3例、呼吸不全が1例、発熱の遷延化が2例(重複含む)であった。治療が開始された症例の急性期のCD4陽性リンパ球数は最低68/ $\mu$ l、最高315/ $\mu$ l、中央値169/ $\mu$ lであり、ARTが施行されなかった10例(最低239、最高925、中央値463/ $\mu$ l)と比較し有意に低値であった(Mann-WhitneyのU検体、 $p=0.0009$ )。ARTが導入されなかった10例のうち4例は現在ARTが導入されているが、その無治療の期間は平均2.3年であった。一方、導入されていない症例の多くは観察期間が短く、無治療期間の平均は0.8年であった。

次に末梢CD4陽性Tリンパ球中のプロウイルス量について検討した。急性群は4例、慢性群は63例、長期未発症群は3例から検体を採取した。急性群の背景は表1に示される通りである。まず、コントロールである慢性群に関してのプロウイルス量に関して分析を行った。プロウイルス量は平均187コピー/ $10^6$ CD4+lymphocytes(以下単位はコピー数のみ記載)で中央値38コピー、最大3224コピー、最少は2コピー未満(感度未満)であった。次にHIV-DNA量とART導入前のCD4陽性リンパ球数の相関に関して解析を行った。図1に示されるようにこれらは統計学的有意な逆相関を示した(Spearman's rank test、 $\rho=-0.48$ 、 $p=0.0008$ )。一方、ART導入前のVLとの相関は認めなかった(図は略)。VL感度未満の持続期間との相関関係について検討した。ウイルス学的治療失敗歴のある症例に関しては治療期間を決定することが困難なため解析から除外した。図2(Spearman's rank test、 $\rho=-0.33$ 、 $p=0.0016$ )に示されるように弱いながらも有意な逆相関を認めた。以上の結果から病期の進行とともに、プ



ロウイルス量が増加し、治療の継続によりゆっくり低下することが示唆された。これは急性期にARTを開始した場合、プロウイルス量が低値になりうることも示唆している。

慢性群、急性群の3群のプロウイルス量は図3に示した。急性群の4例中2例が感度未満となり、残りの2例が8コピーであった。この4例と慢性期の63例についてWilcoxonの順位検定を行ったところ、急性感染例にて有意にプロウイルス量が低下していた ( $p=0.0095$ )。症例70059はARTを導入してから定期的にプロウイルス量の測定を行っているが、VLが感度未満到達後56日目ではプロウイルス量が検出されていたが、77日目以降で感度未満が持続していた (図4)。

## 考察

当院に入院した急性HIV感染症について、ARTが開始された症例に関して検討を行った。CD4が低値の症例が多く、髄膜脳炎もしくは脳症が原因でARTが開始される症例が多数を占めた。一方、対症療法で経過をみた症例に関しても2年程度で治療が開始されており、近年の治療開始基準の引き上げを考慮すると、ART導入を先延ばしにする意義は少ないと考えられた。

当院もしくは他院にて急性期にARTが導入された4症例について末梢血プロウイルス量の測定を行った。うち2症例は複数回の測定によっても感度未満が持続していた。慢性群のほうが治療期間が長い症例が占めている割合が多いにも関わらず、急性群でプロウイルス量が統計学有意差をもって低値であった。この説明の一つとして、潜伏感染細胞が樹立される前にARTが開始されることがあげられる。このような潜伏感染細胞がいつどのように樹立されるかは明らかではないが、治療開始前のCD4陽性リンパ球数と今回測定したプロウイルス量が逆相関することから、病期の進展に伴い徐々に増加すると考えられる。もう一つのメ

カニズムとしては、ARTによりHIVの逃避変異の進展と免疫系の破壊を防ぐことがあげられる。ARTにより新規のウイルス粒子の形成や、ウイルスゲノムの組み込みが抑える事によって、潜伏感染細胞が保有するHIVは逃避変異のないHIVに限定することになる。従い、ARTにてHIVの増殖が抑えられ免疫力が回復した場合、免疫細胞による潜伏感染細胞の監視がより有効になる可能性がある。今回は急性期で治療を開始したのは4症例 (現在新規の1症例が測定中) のみであったが、九州医療センターの5症例に関してもプロウイルス量は低値であった (金田らの項を参照)。

潜伏感染細胞の解析からARTによって体内のHIVが駆逐されるには50年以上必要と報告されている。その報告と本研究の方法は異なるが、急性期で治療を開始した症例の潜伏感染細胞が少ないとなれば、当然50年を待たずして体内から駆逐されることになり、完治の恩恵に預かれるHIV感染者も出現することになる。もしそのような可能性が強く提示されれば、急性期の治療方針は原則経過観察から、速やかに治療開始に変更されることになる。今後はさらなるプロウイルス量測定の高感度法を開発し、急性期の治療を開始した症例の解析を行っていく。

## 健康危険情報

該当なし

## 結論

急性感染期でARTを導入した4症例は、慢性期でARTを導入した63症例と比較しプロウイルス量は低値であった。特に2症例は複数回の測定で感度未満であった。今後の解析にはさらなるプロウイルス量測定の高感度法が必要である。

## 研究発表

該当なし

知的財産権の出現・登録状況

該当なし

表1. 急性群の背景

症例	急性期のCD4 (/u1)	急性期のVL (cp/ml)	ART開始理由	ARTの内容	UD持続期間 (日)
70059	125	$3.8 \times 10^6$	脳症、HPS	TDF, FTC, LPV/r	77 (56)
70286	86	$1.1 \times 10^6$	髄膜炎	AZT, 3TC, EFV	2877
71084	180	$4.7 \times 10^6$	IM様症候群	TDF, FTC, LPV/r	231
71164	219	$2.7 \times 10^6$	髄膜炎、呼吸不全、HPS	AZT, 3TC, LPV/r	1257

HPS: 血球貪食症候群。IM: 伝染性単核球症。70059はVLが感度未満に到達56日目でも検体を採取したが、解析は77日目以降とした。

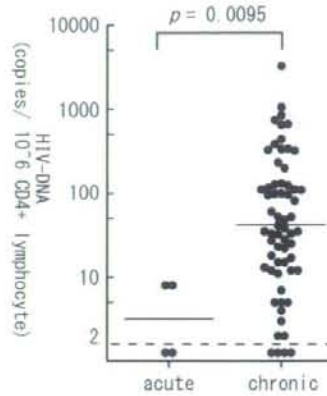


図3. HIV-DNA量とVLのUD持続期間との相関

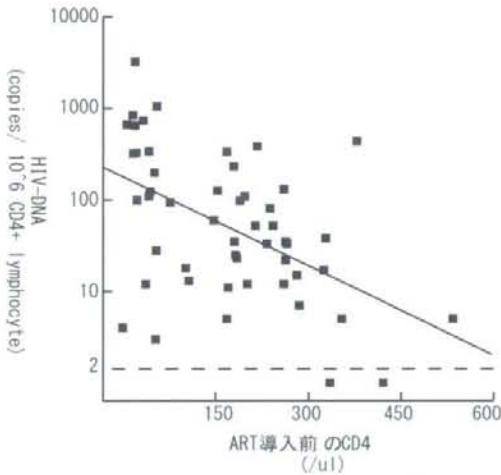


図1. HIV-DNA量とART導入前のCD4数の相関

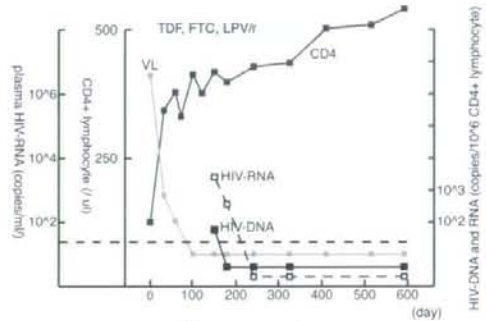


図4. 症例70059の経過

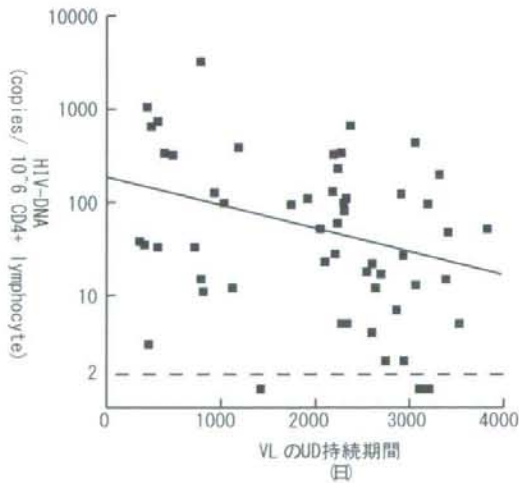


図2. HIV-DNA量とVLのUD持続期間との相関



## 3

## 急性感染例の血清サイトカイン値の測定によるHIV感染症の病態解析

研究分担者: 白阪 琢磨 (国立病院機構大阪医療センター臨床研究センターエイズ先端医療研究部 部長)

## 研究要旨

急性HIV感染症の病態形成に関与するサイトカインを明らかにするために、感染早期群・無症候群・免疫低下群・治療継続群の4群に分け、血清IFN- $\gamma$ 、IL-6、IL-10、IL-18値をELISA法にて測定した。IL-6、IL-10、IL-18は無症候群、免疫低下群と病期の進行に伴って上昇が認められ治療継続群で低下したが、感染早期群においてはIL-18の上昇が主体であった。このIL-18の上昇は経過とともに低下していた。感染早期群においてはIL-18が上昇する9名とIFN- $\gamma$ が上昇する2名に分類可能であり、IFN- $\gamma$ が高値をとった1名はその後も低下することなく高値が持続し、血中HIV-RNA量は低値でコントロールされていた。以上の結果からIL-18とIFN- $\gamma$ が急性感染期に関わるサイトカインである可能性が示唆された。

## 研究目的

HIV感染症はHIVがCD4陽性細胞に感染することによって引き起こされる感染症である。持続的なウイルス産生によりCD4陽性Tリンパ球が破壊され機能不全におちいり、後天性免疫不全症候群、いわゆるAIDSを発症することになる。HIV感染症は単一のウイルスによる感染症であるが、その臨床経過は同一のものではなく、様々な経過をたどることが知られている。急性期から治療導入後までの期間にそれらの例は数多く挙げることができる。具体的には急性期症状が強い症例と全く出現のない症例、急性感染後に良好なウイルスの増殖のコントロールが可能であり長期未発症者となる症例とセットポイントのウイルス量が高く感染後1-2年で治療が必要となる症例、CD4陽性リンパ球数が200/ $\mu$ L以上あるにもかかわらずAIDSを発症する症例とCD4陽性リンパ球数が極度に低下しているにもかかわらず日和見感染症を認めない症例、抗HIV療法にですぐに免疫能が回復する症例とCD4陽性リンパ球数の上がり幅が少ない症例などである。

このようなウイルス学的、免疫学的な個体差がある原因として、宿主側、ウイルス側、それぞれ多くの要因が推定されているが、未だに明らかにはされていない。本研究では、そのような免疫学的効果の差異の宿主側要因を明らかにするために血中のサイトカインに着目した。サイトカインにはインターロイキン、インターフェロンなどがあり、いずれも免疫応答において重要な細胞間伝達物質である。サイトカインはそれ

ぞれに特異的な細胞表面受容体に結合して細胞内にシグナルを伝え遺伝子発現に変化をもたらす。1つのサイトカイン産生が他のサイトカイン産生や応答にも影響を及ぼす事も知られており、サイトカイン産生は免疫の複雑なネットワークを形成し、巧みに免疫応答制御に関与しているとされている。本研究に先立ち、感染症に関連したサイトカインの主なものについて、無症候期、AIDS発症期もしくはHAART導入前、HAARTを導入し安定期の症例について評価を行った。その結果をふまえて、急性HIV感染症における血清サイトカイン値の測定を行い、その意義について検討した。

## 研究方法

20歳以上のHIV-1感染患者のうち同意が得られたものを対象とした。同意取得の後、血清を採取し、IFN- $\gamma$ 、IL-6、IL-10、IL-18の4種のサイトカインをELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) 法で測定した。患者を感染早期群 (early)、無症候群 (AC)、免疫低下群 (preART)、治療継続群 (underART) の4群にわけ、血清サイトカイン値を比較した。感染早期群は「急性HIV感染症と診断されてから1~3ヶ月以内」の症例、無症候群は「CD4陽性リンパ球数が300/ $\mu$ L以上に保たれており、症状を有さず、抗HIV療法も未実施」の症例とした。免疫低下群とは「CD4陽性リンパ球数が300/ $\mu$ L未満であるが、活動性の日和見感染症は有しておらず、HAART導入が適応となった」症例、治療継続群とは「1年間以上HAARTが継続されており、しか

も、血中HIV-RNA量が50copies/ml未満を持続している」症例とした。それぞれの群間比較についてWilcoxon検定を用い、有意水準を5%とした。サイトカイン値と血中CD4陽性リンパ球数、血中HIV-RNA量との相関に関しては、Spearman's rank検定を用い、有意水準を5%とした。

#### (倫理面への配慮)

本研究は国立病院機構大阪医療センターの倫理委員会に相当する受託研究審査委員会で審査・承認を受けた。具体的には文書をもって同意を得ること、資料は匿名化の処理を行うこと、個人情報の管理は厳重に行うこととした。

#### 研究結果

HIV-1感染症の病期の進行との関連性をみるために、感染早期群 (early)、無症候群 (AC)、免疫低下群 (preART)、治療継続群 (underART) の4群での比較検討を行った (図1)。感染早期群に関しては、急性期症状がある程度終息し、無症候期への移行時に測定を行った。感染早期群は11例で、無症候群に7例、免疫低下群に19例、治療継続群に11例が相当した。以上の症例において4群間比較を行った。IFN- $\gamma$  (図1A) はいずれの群においても、高値をとる症例が存在し、統計学的有意差は認めなかった。IL-6 (図1B) とIL-10 (図1C) は免疫低下群において有意に上昇を示した。感染早期群は無症候群や治療継続群よりも高値で免疫低下群より低値である傾向を認めたものの有意差は認めなかった。IL-18 (図1D) は感染早期群と免疫低下群において有意に上昇していた。

次にCD4陽性リンパ球数、血中HIV-RNA量との比較を行った。まず、感染早期群に関しては急性期 (図2) およびその3-6ヶ月後 (データは省略) のCD4陽性リンパ球数と血中HIV-RNA量との相関関係について解析を行ったが一定の傾向は認められなかった。一方、慢性期すなわち無症候群・免疫低下群および治療継続群においては、血清サイトカイン値とCD4陽性リンパ球数、血中HIV-RNA量に有意な関連を認めた。血中HIV-RNA量の相関についてはバイアスとなりうる治療継続群は除外し、無症候群および免疫低下群の2群間で検定した。IL-6、IL-10、IL-18がCD4陽性リンパ球数と有意な逆相関を示し (図3A)、IL-10とIL-18が血

中HIV-RNA量と正の相関を示した (図3B)。

同一症例において血中サイトカイン値の変動について解析を行った。感染早期群は2回以上の測定を行った症例に対して、初回と2回目のサイトカイン値の変動の解析を行ったところ、IL-18において有意に低下が認められた (図4)。免疫低下群に対しては抗HIV療法導入後の変動について解析した (図5)。すべてのサイトカインでは30日後に導入前と同等か、やや増加する傾向を示し、90から120日後に低下する傾向を示した。統計学的有意な低下はIL-10で60日後 (図5C)、IFN- $\gamma$  とIL-18で90日および120日後 (図5AとD) に認められた。多くの症例においてHAART導入後に血清サイトカイン値は低下した。しかしながら、症例によっては抗HIV療法導入後にIL-10が上昇を認めたり、IFN- $\gamma$  が高値な例にもかかわらずHAART導入にともなわず低下しないなど異なるパターンを示した例も一部に認めた。

最後に感染早期群の個々の症例について検討した (図6)。多くの症例でIL-18が上昇していた。一方IFN- $\gamma$  の上昇が主体であり、その他のサイトカインに関しては上昇の程度が少ない2例を同定した (図6の\*1と\*2)。特にIFN- $\gamma$  が最も高い数値をとった\*1の症例は1年間の観察期間中にIFN- $\gamma$  低下をみることなく、また血中HIV-RNA量も65から1600copies/mlと良好なHIV-RNAの増殖抑制を認めた。

#### 考察

本研究によってHIV-1感染症においてサイトカインの発現異常がある事を明らかにした。慢性期においてはサイトカインの変動の理解は容易であり、無症候性キャリアの症例においては図1に示したIL-6・IL-10・IL-18に加えTNF- $\alpha$  やIL-7 (データは省略) といったサイトカインも低値であり、病期の進行とともに上昇し、抗HIV療法の施行によって低下していた。このパターンに当てはまらないものがIFN- $\gamma$  である。図5Aにおいては抗HIV療法の経過時期とともに血清中の濃度は確かに低下している。しかし、ほとんど低下せず、はずれ値となりうる高値の症例の存在は箱ひげ図から容易に推測され、実際2症例が50-100pg/ml前後で推移している。また、無症候群および治療継続群においても図1のAで示されるように20pg/ml以上の症例が存在している。従い、IFN- $\gamma$  は病期や治療に関係なく血清中の濃度上昇を示す症例が存在していた。



このような慢性期の結果に基づき、感染早期群について検討した。図1に示されるように感染早期においてはIL-18の上昇が主体であり、同一症例の解析(図4D)においても有意に低下していることが示されている。一方、IL-6やIL-10に関しても同様な傾向が認められるが、有意差を認めるまでには至らなかった。これらの結果は急性感染期から無症候性キャリア期への移行時にはIL-18が重要な役割を担っている可能性を示唆している。IL-18は活性化マクロファージによって産生され、T細胞からのIFN- $\gamma$ の産生を強力に誘導する作用があるサイトカインとして同定された。このことから、Th1サイトカインとして考えられたが、解析が進むとともに、IL-12の非存在下ではTh2サイトカインとして機能すること、好塩基球や肥満細胞に作用してアレルギーの発症に関与することが明らかとなった。このようにIL-18の多彩な機能を有し、状況によっては反対の表現系を持つ複雑な細胞外情報伝達物質である。図6に示されるようにIFN- $\gamma$ とIL-18の上昇は逆相関を認めることから、HIVの感染早期においては少なくともIL-18はTh1サイトカインとして機能はしていないと考えられる。

一方、IFN- $\gamma$ が単独で高値をとる症例を認めた。そのうちの1例は血中ウイルス量も低値であった。無症候群においても似たような血清サイトカイン値のパターンをとる症例を1症例認めており、この症例のウイルス量も感度未満から2000cp/mlで推移している。IFN- $\gamma$ の生理的な意味は不明であるが、HIVの増殖のコントロールの根源に関わる可能性が考えられる。免疫低下群においても2例、治療継続群においても1例に同様なIFN- $\gamma$ の単独高値の症例がいるため、HIVに対するヘルパーT細胞に関与しない強力な免疫反応の存在が示唆される。

今回の検体は、超急性期の検体ではなく、急性期の症状が収束した時の検体を用いて解析を行った。急性期の解析も重要であるが、多くのサイトカイン値が異常高値をとることや、症例数が少ないために解析が困難であった。今年度の研究にてIL-18とIFN- $\gamma$ の2つが急性感染期で重要であることが示唆されたが、来年度は急性期に対しても症例の蓄積とともに他のサイトカインの解析やその意義に関する分析を進めていきたい。

## 結論

本研究にてHIV感染症におけるサイトカインの発現異常を明らかにした。感染早期に関してはIL-18が高値となり、無症候キャリア期にはいるとともに正常化することが明らかとなった。一方、一部の症例でIL-18はあまり上昇せずIFN- $\gamma$ の上昇が主体となる症例も見いだした。これらの症例のうち1症例は血中HIV-RNA量も低く、HIVに対する強力な免疫反応に関与している可能性が考えられた。以上のことから、IL-18とIFN- $\gamma$ が急性期に関わる重要なサイトカインである可能性が示唆された。

## 健康危険情報

該当なし

## 研究発表

該当なし

## 知的財産権の出現・登録状況

該当なし

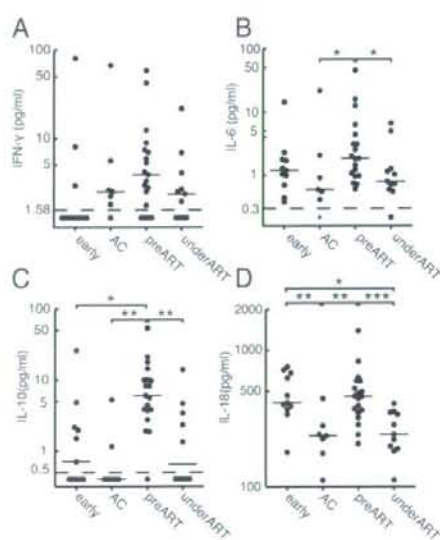


図1. 各群における血中サイトカイン値の比較

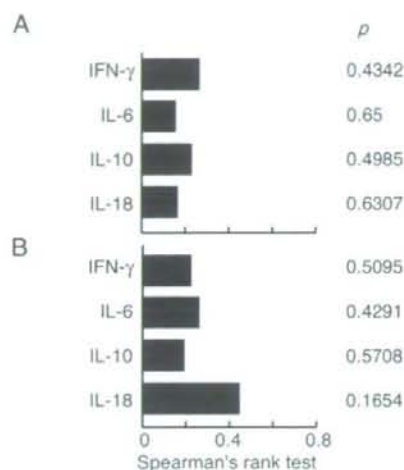


図 2. 感染早期群における CD4 数 (A) と HIV-RNA 量 (B) との相関

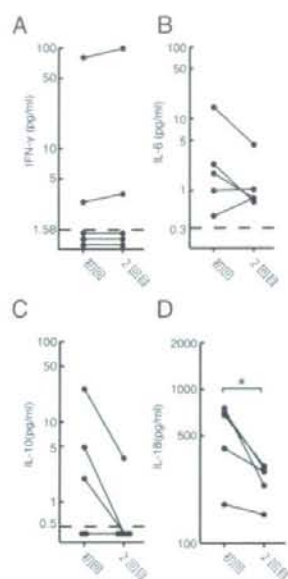


図 4. 感染早期群におけるサイトカイン値の変動

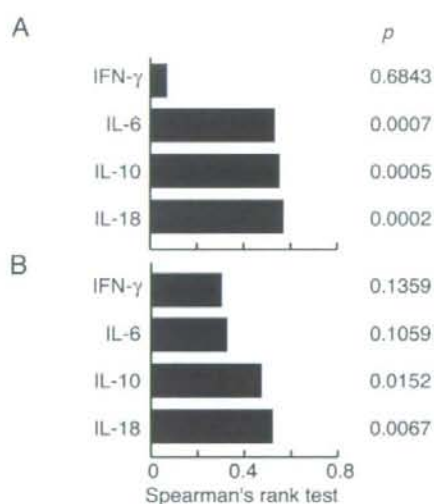


図 3. 慢性期における CD4 数 (A) と HIV-RNA 量 (B) との相関

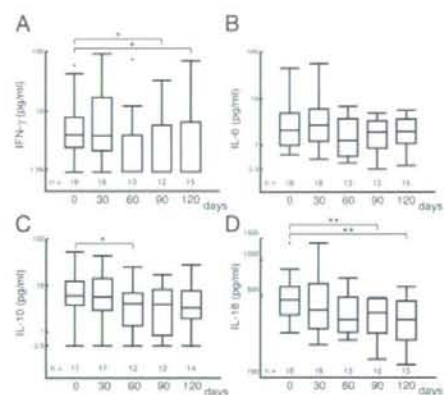


図 5. 免疫低下群における抗 HIV 療法導入後の血中サイトカイン値の変動

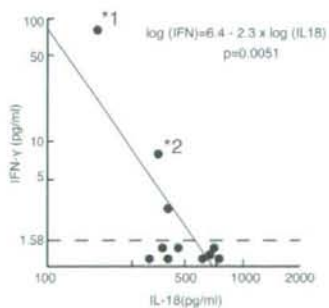


図 6. 感染早期群の IFN- $\gamma$  と IL-18 の相関

## 4

## 大阪医療センターにおける急性HIV感染症の入院例の分析

研究分担者：上平 朝子（国立病院機構大阪医療センター 免疫感染症科 医長）

## 研究要旨

急性HIV感染症は、慢性期と診断方法が異なることもあり、診断がつかないまま無症候性キャリア期に移行している例も多いと考えられる。そのため確定診断に至る症例数も少なく、いまだ標準的な治療法は確立されていない。急性HIV感染症の病態を明らかにするために、当院の入院症例について解析を行った。2008年1月から12月までに5例の入院症例があった。いずれもスクリーニング検査が陽性的のためにPCR法を追加することで診断が可能であった。髄膜炎、血球貪食症候群、急性肝炎、急性リンパ節炎のほか、潰瘍性大腸炎様の急性腸炎を呈した症例も認めた。急性期のCD4陽性リンパ球数が低い症例ほど、早期に抗HIV療法が導入される傾向にあった。急性HIV感染症の病態は多種多様であり、治療の適応も含め、症例の蓄積は必要であると考えられた。

## 研究目的

急性HIV感染症は診断方法が慢性期と異なることもあり、その多くが見逃されていると考えられている。従い、国内においてHIV感染者数が増加しているにもかかわらず、急性期で診断される症例数が少ないがために、標準的治療法も存在しないのが実情である。通常は無治療で改善するが、症状が遷延化、重症化した場合は抗HIV療法が有効である。しかし、実際の開始基準は個々の症例で判断せざるをえない。また、急性期で入院加療が必要であったHIV感染者は感染後1-2年で抗HIV療法が適応となることも多い。加えて、高レベルのウイルス血症のために感染力も高くスーパープレッダーとなる可能性も報告されている。そのため急性期での確実な診断が求められる。以上のことから、当院で2008年度に急性HIV感染症と診断された症例についてデータ蓄積を行い、診断および治療適応につながる因子について検索した。

## 研究方法

国立病院機構大阪医療センターを受診したHIV感染者のうち、急性HIV感染症と診断された症例および急性HIV感染症との鑑別に苦慮した症例について臨床データの解析を行った。

## （倫理面への配慮）

個人が特定されないように、臨床情報の取り扱いには注意を行った。収集した臨床情報は氏名・住所・カルテ番号などの個人情報を削除して、解析を行った。HLAの測定にあたっては、倫理委員会の承認のもと、文書にて患者同意を頂いたうえ施行した。

## 研究結果

急性HIV感染症と診断された入院症例数は、表1に示した通りで、2008年1月から12月までは5名の入院があった。

症例1) 30歳代の男性。推定感染経路は同性間。定期的にHIV検査を受けており、最終陰性日は症状出現の約2ヶ月前であった。発熱・腹痛・下痢が出現し、近医受診。急性脾炎として通院にて点滴加療を受けていた。1週間経過するも改善がないため当直帯に当院消化器科入院。血液検査は表2に示した。血清AMYの上昇はなく、腹部エコー・CTでも脾炎は否定。大腸ファイバーを施行。盲腸から下部直腸までの粘膜の浮腫と発赤を認め、組織ではびまん性の炎症細胞浸潤と陰窩炎を認め、潰瘍性大腸炎としても矛盾しない所見であった。脾炎が否定されたため感染症科医師よりHIV検査の提案があった。症状出現10日



後に抗原抗体検査陽性・WB法陰性であったため、急性HIV感染症と診断。CD4陽性リンパ球数（CD4数）は372/uIで、血漿HIV-RNA量（VL）は $8 \times 10^6$  copies/mlで、感染前の数値も含めその推移を図1に示した。症状は全経過で2週間で軽快し、症状出現1.5ヶ月後にWB法は陽転化した。

症例2) 30歳代の男性。推定感染経路は同性間。HLA-B51陽性。発熱、咽頭炎、皮疹が出現し、他院に入院。患者希望により症状出現10日後にHIV検査を施行して陽性のため当院転院。CD4数は97/uI、VLは $4.9 \times 10^7$  copies/mlで、WB法は陰性のため急性HIV感染症と診断。血液検査結果は表2に示した。症状の改善がなくLDHは上昇し続けるため、症状出現21日後よりTDF+3TC+LPV/rで抗HIV療法を開始。以後速やかに症状は改善。

症例3) 20歳代の男性。推定感染経路は同性間。発熱・咽頭炎・軽症の髄膜炎が出現し他院入院。血液検査結果は表2に示した。骨髄生検にて血球貪食像を認め、プレドニンが初期量40mgで投与され、速やかに症状は改善。血球貪食症候群の原因検索のため、症状出現10日後にHIVスクリーニング検査施行し陽性で、WB法は陰性であった。その2週間後にはWB法のP24のバンドが陽性となり、HIV-RNA陽性と併せて急性HIV感染症と診断され、当院転院。CD4数は239/uI、VLは $7.4 \times 10^6$  copies/ml。症状出現2ヶ月後にWB法は陽転化するも、CD4数の回復は認めず200前後で推移し、近日抗HIV療法導入予定。

症例4) 20歳代の男性。推定感染経路は同性間。発熱・咽頭炎・下痢・皮疹・リンパ節腫脹が出現し他院入院。セクシャリティの間診後に医師のすすめで、症状出現13日後にHIV検査を施行。陽性のため当院転院。CD4数は629/uI、VLは $9.3 \times 10^6$  copies/ml。WB法は陰性のため、急性HIV感染症と診断。二峰性の発熱を認めるも、2週間強で症状は軽快。セットポイントのCD4数は629/uIで、VLは $2.3 \times 10^5$  copies/ml。症状出現3ヶ

月後にWB法は陽転化。

症例5) 10歳代の男性。推定感染経路は同性間。発熱・咽頭炎・皮疹、肝逸脱酵素の上昇が出現し他院入院。12日前後で症状は軽快するも、急性肝炎の検索ため行ったHIVスクリーニング検査が陽性であった。症状出現14日後に当院転院。CD4数は513/uI、VLは $1 \times 10^7$  copies/ml以上で、WB法は陰性のため、急性HIV感染症と診断。現在無症候性キャリアとして経過観察中。

一方、急性HIV感染症と鑑別に苦慮した症例もあり、以下に提示する。

症例6) 40歳代の男性。推定感染経路は同性間。発熱や全身倦怠感にて他院入院。胸部レントゲンにて右下葉に浸潤影を認めた。HIVスクリーニング検査陽性、WB法判定保留、VL  $2.1 \times 10^6$  copies/mlのため、急性HIV感染症の診断で当院に転院となった。転院後、気管支鏡検査にてニューモシスチス肺炎と診断。体重減少・高ガンマグロブリン血症なども認めたため、慢性感染を疑いWB法を再検査したところ、入院2週間後には陽性バンド数が減少し、入院6週間後には陽性バンドがすべて消失した。以上の経過から急性感染は否定した。WB法陰性でしばらく経過したが、抗HIV療法導入6ヶ月後にWB法は陽転化した。

## 考察

エイズ動向委員会からの報告では、HIV感染者およびエイズ患者の報告数は年々増加している。国立病院機構大阪医療センターの新規受診患者も同様に年々増加傾向であり、2004年頃から急性HIV感染症の入院患者も認めている。しかし、新規患者数と比較すると急性感染症の症例はごく一部であり、多くの症例が診断されずに見逃されていると考えられる。その原因としては、急性HIV感染症の症状が多岐にわたることがあげられる。発熱・咽頭炎・皮疹はありふれた症状である。発熱はほぼ全例に認められるが、咽頭炎・皮疹・下

病やリンパ節腫脹も比較的多く認められるも全例ではない。一方、重症化した場合は、髄膜炎・血球貪食症候群・急性肝炎をきたすことも多い。今回経験した症例3は髄膜炎と血球貪食症候群を呈した。4例に白血球減少症、3例に血小板減少症、2例に高フェリチン血症を認めたことから、他の症例も骨髓検査を行うことによって血球貪食像を指摘できた可能性はあると考えられる。また、肝逸脱酵素も100以上に上昇している症例が3例あり、LDHにいたっては全例で高値であった。これらの症候群、検査異常は重要な徴候と考えられる。また、症例1は腹痛と下痢を伴い、大腸ファイバーの肉眼的所見と生検所見では潰瘍性大腸炎として診断可能な所見であった。急性HIV感染症で下痢は比較的多い症状であるが、大腸ファイバーを施行したのは当院では本症例のみである。このことは、HIV感染者で過去に潰瘍性大腸炎の診断をうけたことがある症例が多いことを加味すると、その診断は潰瘍性大腸炎ではなく急性感染による腸炎であった可能性も示唆している。髄膜炎、血球貪食症候群、急性肝炎、リンパ節炎や伝染性単核球症様症候群に加えて、潰瘍性大腸炎様の急性腸炎も青年男性に認めた場合はHIV感染症の診断を念頭に置くべきだと考えられる。

急性HIV感染症の診療上の問題点としては、診断は慢性期とは異なることにある。特に発熱などの症状を認める超急性期において、WB法は陰性もしくは、p24のバンドのみ陽性（判定保留）となる。従い最も信頼のおける検査法はPCR法である。特に急性期では高レベルのウイルス血症を伴うことが多く、Taqman PCR法が導入されて以後、10の7乗以上の検査値もたびたび認めるようになった。スクリーニング検査に関しても、第4世代の抗原・抗体検査が導入され、ほぼ全例陽性と診断されるようになった。一部の診療機関においてはIC法（第3世代）のみ採用となっているが、急性期での診断の重要性を考慮すると、第4世代、で

きればCLIA法で検査を行い、陽性もしくは判定保留の場合はWB法とPCR法を同時に施行する方針が好ましいと考えられる。

WB法が陽性でない慢性感染症を認めた。検索できた範囲では、もう1例同様な症例を認め、その症例もニューモシスチス肺炎でAIDSを発症し、抗HIV療法導入後にWB法が陽転化していた。決して頻度の多い病態ではないが、日常診療ではこのような症例の存在には注意が必要であった。

今年度の5症例のなかで、急性期に抗HIV療法を導入したのは1例であった。その症例のCD4陽性リンパ球数（97/ $\mu$ l）が5症例の中で最も低値であった。その次に低い値をしめした症例3（239/ $\mu$ l）もCD4数の回復がなく、感染約半年後に抗HIV療法が必要となった。急性期で治療開始となった過去の症例も急性期でのCD4陽性リンパ球数が低い傾向であった。急性期のCD4陽性リンパ球数と治療の適応に関しては、今後も症例を積み重ねることによって検討していく必要がある。

## 結論

平成20年に当院に入院した急性HIV感染症および急性HIV感染症が疑われた症例について検討した。髄膜炎、血球貪食症候群、急性肝炎、リンパ節炎のほか、潰瘍性大腸炎様の急性腸炎においても急性HIV感染症を念頭におく必要性があると考えられた。また、急性期のCD4陽性リンパ球数と治療の関連について、今後検討することが必要である。

## 健康危険情報

該当なし

## 研究発表

該当なし