



## カポジ肉腫とHHV-8感染の疫学

研究分担者：片野 晴隆 国立感染症研究所感染病理部

研究協力者：菅野 隆行、佐多 徹太郎 国立感染症研究所感染病理部

### 研究要旨

エイズの代表的な合併症であるカポジ肉腫(Kaposi's sarcoma; KS)は、HAARTの導入により欧米では減少している。しかし、日本においては男性同性愛者のHIV-1感染者が増加していることから、エイズ関連KSはこの数年、漸増傾向にある。一方で、日本には非エイズ関連KS症例も少数ながら存在している。本研究では、増加する日本国内のKS対策のため、KSの原因ウイルスであるヒトヘルペスウイルス8(HHV-8/KSHV)が関連した75症例について、年齢、性別、HIV感染の有無などの臨床病理学的特徴とHHV-8の遺伝子型について検討した。KS症例は68例で、そのうちエイズ関連は53例(平均45.8歳)、非エイズ関連が13例(平均71.8歳)であり、発症年齢に有意差が認められた。エイズ関連KSは全例男性であるのに対し、非エイズ関連KSでは約半数が女性であり、エイズ関連KSの極端な性差が確認された。HHV-8の遺伝子型の解析からは、遺伝子型C、Dは日本由来のウイルスであり、遺伝子型Aは米国エイズ患者由来であることが推察された。

### A. 研究目的

カポジ肉腫 (Kaposi's sarcoma: KS)はエイズの合併症としては代表的なものであるが、HAART (Highly active antiretroviral therapy) 導入後、欧米において激減した。しかし、日本においては、この数年でエイズ患者におけるKSの発症率は数倍に増加しており、現在もエイズ患者の5-10%がKSを合併している。エイズ患者におけるKSの発症は男性同性愛者にほぼ限られ、近年の男性同性愛者におけるHIV-1感染の増加が、KSの増加につながっている。本研究では、増加するKS症例対策に役立てるため、日本のKSの症例について臨床病理学的に検討し、KSの原因ウイルスであるヒトヘルペスウイルス8 (human herpesvirus 8, HHV-8, またはKSHV) の感染疫学について調べることを目的とした。

KSは1872年ハンガリーの皮膚科医であるモーリッツ・カポジ博士によって特発性多発性の色素

沈着を伴う肉腫として報告された。現在では、地中海沿岸などの高齢者にみられる古典型、アフリカに多い風土病型、免疫抑制治療を受けている移植患者などに見られる医原性型、HIV-1感染男性同性愛者に見られるエイズ型の4型に大きく分類される。1980年以前の日本では、KSはきわめて稀な腫瘍のひとつであり、九州、沖縄などで成人T細胞白血病に関連した症例が少数報告される以外は、その他の地域で散発的に古典型KSの報告があるのみであった。1980年以降、全世界的にエイズの流行が始まると、日本でもエイズの流行とともにエイズ関連KSが増加した。1995年頃より欧米でHAARTが導入されると、多くのHIV-1感染者のエイズの発症が抑えられるとともに、エイズ関連KSは激減した。しかし、日本では2000年以降もエイズ関連KSは増加し続けている。これは日本の男性同性愛者の間でHIV-1感染が拡大していることが関係している。

HHV-8は1994年にエイズ関連KSから発見され、その後、すべての病型のKSから検出されることが明らかになり、現在ではKSの原因ウイルスとして認識されている。ウイルス学的にはガンマヘルペスウイルス亜科に属し、Epstein-Barr virusなど、他の発癌ヘルペスウイルスと高い相同性を持つ。HHV-8はKSだけでなく、Primary effusion lymphoma (PEL) や多巣性キャスルマン病 (Multicentric Castleman's disease: MCD) の一部の症例からも検出されている。海外では男性同性愛者間にHHV-8が広く感染していることが推測されており、HHV-8既感染の男性同性愛者がHIV-1に感染し、免疫不全状態になって、KSを発症する。日本でも、新規HIV感染者の約7割が男性同性愛者であり、KSのみならず、PELやMCDもこの10年で増加している。エイズ関連KSの増加を防ぐためには日本におけるHHV-8関連疾患の臨床病理学的特徴を把握することが重要である。これまで日本のエイズ関連KSの臨床病理に関する報告は少数例の症例報告のみであり、多数例を解析した研究はない。本研究では、HHV-8関連疾患(KS、PEL、MCD)の臨床例をなるべく多く収集し、その臨床病理学的、HHV-8のウイルス学的解析を試みた。

HHV-8の遺伝子型については170 kbp余りの全長のうち、変異の頻度の高いK1遺伝子配列を基に、これまでにAからFまでの6つの遺伝子型が報告されている。Aは主に北米で、Bはアフリカで、Cはユーラシアと地中海地方で、Dは太平洋の島々で、Eはブラジルのアメリディアンに、Fはウガンダのバンツ族に主に認められる。本研究では日本におけるHHV-8の遺伝子型を調べるとともに、疾患との関連性についても合わせて検討した。

## B. 研究方法

### 1. 検体

1995年から2009年まで国立感染症研究所感染病理部に検査依頼があったHHV-8関連疾患75症例の検体(凍結ブロックおよびパラフィン切片)を用いた。HHV-8関連疾患の内訳は、KS 68例、PEL 5例、MCD 5例である。このうち、PEL 1例とMCD 2例はKSを併発していた。

### 2. 組織学的分類と免疫組織化学

パラフィン切片をヘマトキシリン・エオジン染

色し、斑状期、局面形成期、結節期に分類した。また、HHV-8潜伏感染蛋白であるLANA-1 (Latency-associated nuclear antigen-1)を検出する免疫組織化学を行い、HHV-8感染について検討した。

### 3. 核酸の抽出

21症例では凍結組織からフェノールクロロホルム法にて行った。他の症例についてはパラフィン切片から核酸抽出を試みた。5 $\mu$ mのパラフィン切片3-4枚を1.5 ml チューブに入れ、キシレン、エタノールで脱パラフィン後、プロテアーゼK処理を行い、フェノールクロロホルム法、あるいはDNeasy kit (キアゲン社)を用いてDNAを抽出した。

### 4. PCR法によるHHV-8ゲノムの増幅とシーケンス

HHV-8のK1遺伝子には可変領域(variable region: VR) 1、2があり遺伝子型とよく相関する。160bpのVR1をPCR法にて増幅し、直接シーケンス法にて遺伝子配列を決定した。

### 5. 系統樹解析によるHHV-8遺伝子型の同定

得られたK1 VR1遺伝子のシーケンスのうちプライマー部分を除いた120bpを用いて、これまで報告されているHHV-8のA、B、C、D、Eの遺伝子配列とともに系統樹解析を行い、遺伝子型に分類した。系統樹解析にはGenetyx ソフトウェア(ゼネティックス社)を用いた。さらに遺伝子型と臨床データとの関係について検討した。

### (倫理面への配慮)

剖検組織の検討は剖検承諾書を得た上で行われた。また、生検組織についての種々の検討は診断の過程で行われた。なお本研究は国立感染症研究所ヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会の審査、承認を得て行った。(承認番号 158)

## C. 研究結果

### 1. 日本におけるHHV-8関連疾患の臨床的、組織学的特徴

HHV-8関連疾患75例の臨床データを表に示した(表)。KS 68例中52例(76.4%)がエイズ関連、13例(19.1%)が非エイズ関連であった。なお、HIV-1感

染の有無について不明な症例が3例(4.4%)あった。エイズ関連KSは全例男性であり、平均年齢は45.8歳であった。対照的に、非エイズ関連KSでは13例中6例(46%)のみが男性であり、女性の比率が54%と高かった。非エイズ関連KS症例の平均年齢は71.8歳とエイズ関連に比べて有意に高かった(マン・ホイットニーテスト、 $P<0.01$ )。さらに非エイズ関連PELの平均年齢は97.5歳で、この疾患が主に高齢者にのみおこる疾患であることを示している。非エイズ関連KSのうち9例は古典型、4例は免疫能の低下した患者に発症した医原性型と考えられた。皮膚病変について組織学的分類を行ったところ、斑状期27%、局面形成期36%、結節期34%であった。エイズ関連KSでは3病期がほぼ同等の頻度であった。

## 2. HHV-8の系統樹解析

HHV-8関連疾患33症例について、HHV-8 K1 遺伝子の可変領域の塩基配列を基に系統樹解析を行い、遺伝子型の分類を行った。KSは30症例、PEL

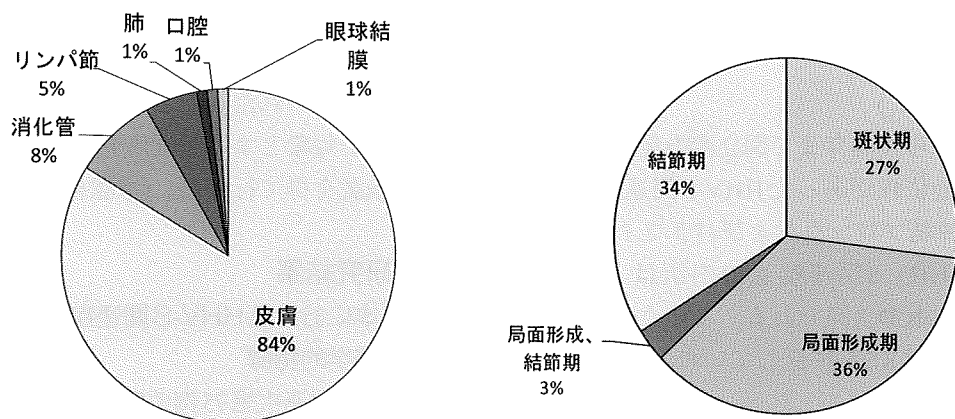
とMCDはそれぞれ3症例である。PELの2例とMCDの1例はKSを併発している。この33例には過去に報告された16症例が含まれている(KS 14例、PEL 1例、MCD 1例、Meng et al., J Gen Virol 2001;82:499-506)。日本のHHV-8関連疾患の症例からはAとCとDが検出された。エイズ関連KSからはAとCが、非エイズ関連からはA、CとDが検出された。遺伝子型Dは非エイズ関連KSにのみ観察された。PELの3例は全例C、MCDの3例は1例がA、2例がCであった。エイズ関連KSと非エイズ関連KSを比較すると、Aがより多く検出されたのはエイズ関連KSであったが、有意差は認められなかった( $P=0.28$ 、イエーツの補正を伴う $\chi^2$ 検定)。Cはエイズ関連KS、非エイズ関連KSともに検出率は高かった。A、C、Dが検出された症例の平均年齢はそれぞれ48、56、77歳であった。Dが検出された症例はA、Cが検出された症例に比べ、年齢が高かった( $P<0.05$ 、マン・ホイットニー検定)。これらの結果からDは非エイズ関連KSと関連性が高いことを示唆している。またCは日本に

表

疾患	数	平均年齢	年齢域	男性	HIV 陽性
カボジ肉腫	68	50.7	(23 - 87)	61 (89.7%)	52/65 (80.0%)
エイズ関連	52	45.8	(23 - 82)	52 (100%)	-
非エイズ関連	13	71.8	(52 - 87)	6 (46.1%)	-
不明	3	46	(33 - 53)	3 (100%)	-
Primary effusion lymphoma	5*	50.7	(23 - 87)	61 (89.7%)	52/65 (80.0%)
エイズ関連	3	45.5	(42 - 49)	3* (100%)	-
非エイズ関連	2	97.5	(94 - 101)	2 (100%)	-
エイズ関連多巣性キャッスルマン病	5**	38.8	(27 - 56)	5** (100%)	5**/5 (100%)
総計	75	51.2	(23 - 101)	68 (90.7%)	52/72 (79.2%)

\* カボジ肉腫症例1例を含む。

\*\* カボジ肉腫症例2例を含む。



(A) KSの発生部位としては皮膚が多く、消化管、リンパ節なども少数ではあるが認められた。  
(B) 組織学的な病期は、斑状期、局面形成期、結節期がほぼ同等の頻度で認められた。

図1. KSの発生部位と組織分類



連KSについてはこれまでも免疫抑制、高齢者、医原性に関連した症例が報告されている。近年の調査では、新たなHIV-1感染者の70%が男性同性愛者であり(平成20年度厚生労働省エイズ動向委員会の発表による)、HAARTによってHIV-1感染者のKS発症率は減少したにもかかわらず、日本においてKS症例が増加している背景には、日本の男性同性愛者間でHIV-1感染が拡大していることが関係していると考えられる。HHV-8もHIV-1とともに男性同性愛者間で拡大していると考えられるが、感染ルート等、HHV-8拡大の原因を明らかにするためには、さらに多くのHIV感染者、非感染者に対するHHV-8の疫学的調査が必要であり今後の課題である。

HHV-8のAからFまでの遺伝子型のうち、AとCは世界中に広く分布している。Cは日本だけでなく台湾、韓国、中国などのアジアの国々に一般的な遺伝子型である。この遺伝子型が中国の西、新疆ウイグル自治区の人々から検出されること、新疆ウイグル自治区がローマと西安を結ぶシルクロードの中間に位置することから、遺伝子型Cはヨーロッパからシルクロードを伝わり、アジアの国々に伝播したと考えられる。オセアニア地域に多いDはこれまでに日本の非エイズ関連KSの3例から検出されている。今回さらに1例の非エイズ関連KSからDが検出されたことから、日本における非エイズ関連KSと遺伝子型Dとの関連性が支持される結果となった。遺伝子型Aはエイズ関連、非エイズ関連KS双方から検出されたが、非エイズ関連KSからAが検出されたとの報告は今回が初めてである。遺伝子型AがエイズKSで、より、頻繁に検出されることから、アメリカなどの男性同性愛者を介して日本に広がったのではないかと考えられる。遺伝子型Aが非エイズ関連KSから低い比率ではあるが検出されたことから、Aも、Cと同様、日本において一般的な遺伝子型と考えられる。

PELやMCDは大変稀なHHV-8関連疾患であり、日本におけるこれらの疾患について遺伝子型の報告はほとんどない。日本のMCDについてはこれまでの研究でエイズ関連MCDだけがHHV-8感染との関連があるとされている (Suda T, et al., *Pathol Int* 2001, 51:671-679)。今回調べたPEL、MCDからはCおよびAが検出されているが、症例数が少ないことから、PEL、MCD発症との関連を

考察するにはさらに多数例の検討が必要である。なお、これらHHV-8遺伝子型と疾患の臨床病態や組織型との間には明らかな相関は認められなかった。

## E. 結論

日本におけるHHV-8関連疾患について臨床病理学的、分子疫学的な検討を加えた。エイズ関連KSと非エイズ関連KSの症例では発症年齢に有意差があり、非エイズ関連症例が高齢者に多いことが確認された。HHV-8の遺伝子型ではA、C、Dが検出されたがDは非エイズ関連症例のみで検出された。Cはもともと日本で広く分布しているウイルスであり、Aは北米などから男性同性愛者を介して日本のエイズ患者に広がったことが推察された。遺伝子型と病態との明らかな関係は認められなかった。日本におけるKSの増加は男性同性愛者にHIV-1感染が拡大していることが背景にある。HHV-8の拡大の原因を明らかにするためには、さらなるHHV-8感染の疫学調査が必要である。

## F. 健康危険情報

なし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Cheng B, Martinez FP, Katano H, Tang Q. Evidence of inability of human cytomegalovirus to reactivate Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus from latency in body cavity-based lymphocytes. *J Clin Virol*. 2009;46:244-8.
- 2) Dabaghmanesh N, Matsubara A, Miyake A, Nakano K, Ishida T, Katano H, Horie R, Umezawa K, Watanabe T. Transient inhibition of NF-kappaB by DHMEQ induces cell death of primary effusion lymphoma without HHV-8 reactivation. *Cancer Sci*. 2009;100:737-46.
- 3) Hoshino Y, Katano H, Zou P, Hohman P, Marques A, Tying SK, Follmann D, Cohen JI. Long-Term Administration of Valacyclovir Reduces the Number of Epstein-Barr Virus (EBV)-Infected B Cells but Not the Number of EBV DNA Copies per B Cell in Healthy Volunteers. *J Virol*. 2009;83:11857-61.
- 4) Katano H, Ito H, Suzuki Y, Nakamura T, Sato Y, Tsuji T, Matsuo K, Nakagawa H, Sata T. Detection of Merkel cell polyomavirus in Merkel

cell carcinoma and Kaposi's sarcoma. J Med Virol. 2009;81:1951-8.

- 5) Takahashi-Makise N, Suzu S, Hiyoshi M, Ohsugi T, Katano H, Umezawa K, Okada S. Biscoclaurine alkaloid cepharanthine inhibits the growth of primary effusion lymphoma *in vitro* and *in vivo* and induces apoptosis via suppression of the NF-kappaB pathway. Int J Cancer. 2009;125:1464-72.
- 6) Hatano B, Kojima A, Sata T, Katano H. Virus detection using viro-adembeads, a rapid capture system for viruses, and plaque assay in intentionally virus-contaminated beverages. Jpn J Infect Dis. 2010;63:52-4.
- 7) Kanno T, Sato Y, Nakamura T, Sakamoto K, Sata T, Katano H. Genotypic and clinicopathological characterization of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection in Japan. J Med Virol. 2010;82:400-6.
- 8) Sakamoto K, Asanuma H, Nakamura T, Kanno T, Sata T, Katano H. Immune response to intranasal and intraperitoneal immunization with Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in mice. Vaccine. 2010;(in press).

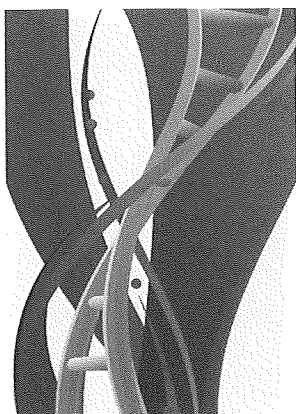
## 2. 学会発表

### 国内

- 1) 片野晴隆、坂本康太、浅沼秀樹、中村智之、菅野隆行、佐多徹太郎 KSHV のワクチン開発に関する基礎研究—KSHV 粘膜ワクチン開発の可能性。第6回EBウイルス研究会 2009年6月 東京
- 2) 片野晴隆 HHV-8感染とカポジ肉腫、primary effusion lymphoma の発症病理。基礎系シンポジウム「エイズ発症の危険因子としての微生物間相互作用」第23回日本エイズ学会学術集会 2009年11月 名古屋
- 3) 片野晴隆 カポジ肉腫の臨床病理とHHV-8感染。臨床系シンポジウム2「HIV-1感染と悪性腫瘍」第23回日本エイズ学会学術集会 2009年11月 名古屋
- 4) 坂本康太、浅沼秀樹、中村智之、菅野隆行、佐多徹太郎、片野晴隆。KSHV のワクチン開発に関する基礎研究?KSHV 粘膜ワクチン開発の可能性 第57回日本ウイルス学会学術集会 2009年10月 東京
- 5) 菅野隆行、中村智之、坂本康太、佐藤由子、佐多徹太郎、片野晴隆 日本におけるKSHV 関連疾患の臨床病理とKSHV サブタイプ解析 第57回日本ウイルス学会学術集会 2009年10月 東京

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



## 日和見感染症の診断／治療およびそれを端緒とするHIV感染者の早期発見に関する研究

研究分担者：山本 政弘 国立病院機構九州医療センター免疫感染症科

研究協力者：高濱 宗一郎 国立病院機構九州医療センター免疫感染症科

### 研究要旨

HIV患者の早期発見に関する研究として。1) STDを端緒とする早期発見、2) 早期発見に寄与する検査値異常の解析を行った当院における、新規HIV感染者に関してはSTDの割合は10～30%であった。また福岡市内のSTD診療9施設でのアンケートの結果、STDを契機にHIV抗体検査を勧めた患者数は、137人であり、うち40人が検査を行い1名陽性が判明した。STD診療施設でのさらなる抗体検査推進として、STD患者への抗体検査の保険適応、陽性判明時の患者への対処方法をどのようにしていくかが今後の課題となった。またHIV患者では約30%で高ガンマグロブリン血症を認めており、HHV-8との関連も明らかとなった。

### A. 研究目的

HIV感染症においても早期発見、早期治療が必要であることはいうまでもないが、無症候期が長期間続くHIV感染症においては、急性期を除き、特徴的な症状を呈することは少なく、VCT (Voluntary Counseling and Testing) でなければ早期からの診断は困難である。そこで本研究においては、HIV感染者の早期発見に役立ち、なおかつHIV感染に合併しやすいSTDなど軽微な感染症の解析やそれらの感染症に伴うスクリーニングとして役立つ検査値異常などの解析を行なうことを目的としている。

### B. 研究方法

新規に感染が判明した患者背景の解析を行ない、感染判明の端緒となった軽微な感染症、STDなどの解析、またその際の症状や検査値異常などの解析を行なった。本研究においては下記の2点を中心に検討した。

#### 1. STDを端緒とする早期発見

##### (1) 新規HIV感染者の感染判明契機の解析

当院における新規HIV感染者のうち、感染判明契機としてのSTDを平成17年から平成21年までの過去5年間調査した。

##### (2) STDクリニックにおけるHIV検査の実態

福岡市内にてSTD診療を行っている9施設にアンケートを依頼し、年間STD患者受診数、HIV検査を勧めた例数および契機をパイロット調査した。

#### 2. 早期発見に寄与する検査値異常の解析

##### 高ガンマグロブリン血症の解析

当院におけるHIV感染患者での平成17年7月から9月までの3ヶ月間の高ガンマグロブリン血症の頻度を調査した。また、当院通院中の患者125名 {年齢:37.8±10.4歳 (20-69)、性別:男性117名、女性8名、治療歴:未治療患者67名、治療患者58名、感染経路:性行為感染、除外基準:B型急性肝炎、HCV抗体陽性} における血清HHV-8との関連も検討した。

C. 研究結果

1. STDを端緒とする早期発見

(1) 新規HIV感染者の感染判明契機の解析

STDを契機にHIV感染が判明した年毎の割合は、10～30%であった。また、その内訳は、梅毒、尖圭コンジローマ、赤痢アメーバ症、クラミジア・淋菌感染の順であった(図1)。

(2) STDクリニックにおけるHIV検査の実態

9施設の1年間の受診目的を示す(図2)。年間STD患者受診数は、平均135.7±240.3人であった。またSTDを契機にHIV抗体検査を勧めた患者数は、137人(平均15.2±32.5人)であり、うち40人が検査を行い1名陽性が判明した。STDとしては、泌尿器科が含まれているため、その影響も否定はできないが、尿道炎が最多であった(図3)。

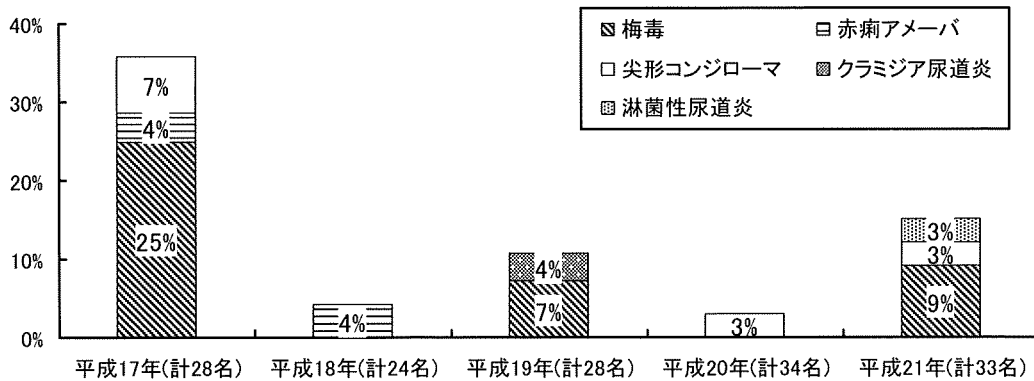


図1 新規HIV感染者における感染判明契機としてのSTDの割合

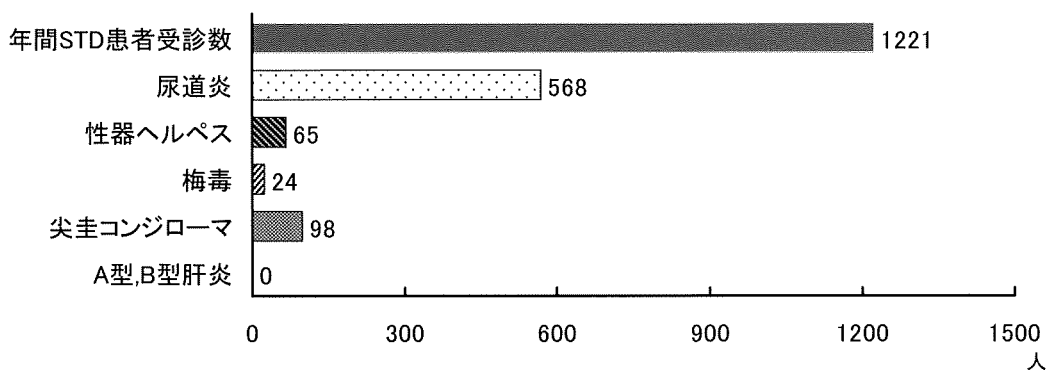


図2 STDクリニック9施設のアンケート結果

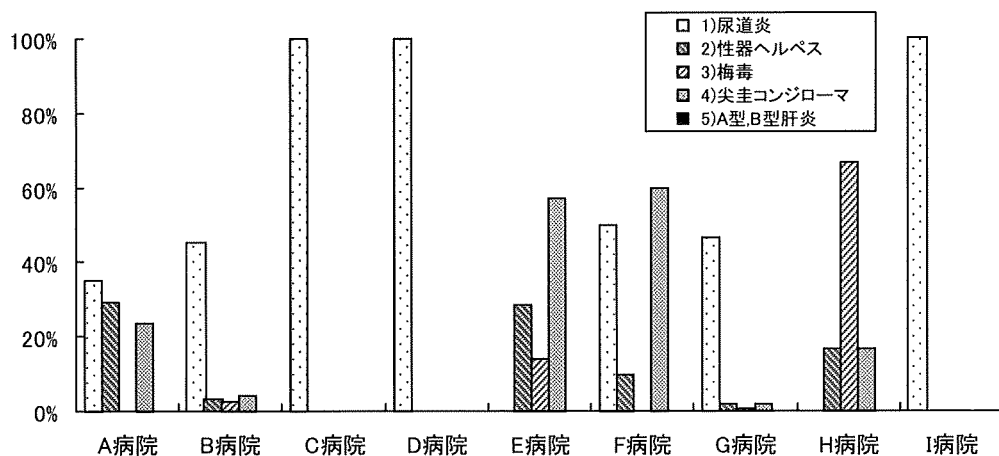


図3 各施設でのSTDの内訳



その内訳はクラミジア尿道炎がほぼ過半数であったが、淋菌性との合併例も10%程度認められた(図4)。

2) 早期発見に寄与する検査値異常の解析

高ガンマグロブリン血症の解析

当院でのHIV感染患者の約30%に高ガンマグロブリン血症を認めた。

また、当院通院中の患者125名の血清HHV-8陽性率は28.8%であり、そのうち57.5%は高γグロブリン血症(≥20%)と有意差をもって認められた(図5)。

D. 考察

日和見感染症発症を防ぐためにも、HIV感染の早期発見、早期治療が必要となってくる。また無症候期では特徴的な症状を呈することは少なく早期からの診断は困難である。そこで本研究においては、HIV感染に合併しやすいSTDなど軽微な感染症の解析やそれらの感染症に伴うスクリーニ

ングとして役立つ検査値異常などの解析を行った。新規HIV感染者においてはSTDの割合は高く、STD診療での早期発見が重要となってくる。しかし、今回のSTD診療施設へのアンケートの結果、STDを契機にHIV抗体検査を勧めた患者数は、137人であり、うち40人が検査を行い1名陽性が判明した。少数例ではあるものの、STD患者におけるHIV検査では、かなりの高確率で陽性がみられる可能性が示された。しかし9施設での年間総受診者数は1221名であり、HIV抗体検査を勧めた患者数は11%に留まっている。その原因および問題点として、HIV感染判明は『死』という誤った概念、陽性判明時の患者への対処方法といった事が挙げられていた。また不明熱、発疹、体調不良者への抗体検査の推奨および抗体検査の保険適応に関しても今後の課題となった。またHIV患者では高ガンマグロブリン血症が約30%と多く、HHV-8との関連も明らかになっており、原因不明

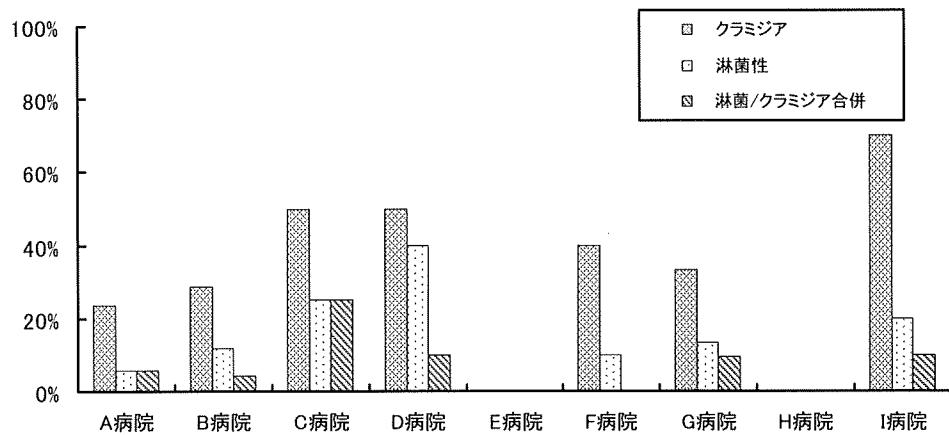


図4 各施設での尿道炎の原因菌

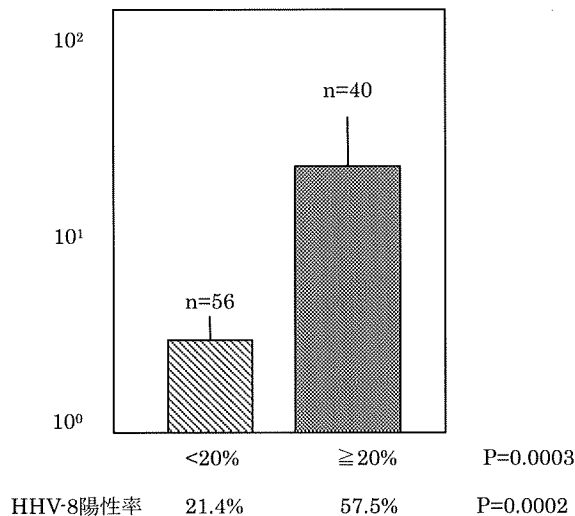


図5 HHV-8 DNA (/ $10^6$  cells)と高ガンマグロブリン血症との関係

も高ガンマグロブリン血症を呈する患者では積極的にHIV検査を行う必要性が示唆された。今後さらなる解析を行っていく必要がある。

## E. 結論

HIV感染者においては、STDなど軽微な感染症の罹患率が高く、STDクリニック受診者からHIV感染が判明することもある。またHIV感染者の検査値異常として、高ガンマグロブリン血症を認めた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

#### 原著欧文

- 1) Minami R, Yamamoto M, Takahama S, Ando H, Miyamura T, Suematsu E. High molecular weight form of adiponectin in antiretroviral drug-induced dyslipidemia in HIV-infected Japanese individuals based on *in vivo* and *in vitro* analyses Intern Med. 2009;48(20):1799-875. Epub 2009 Oct 15.
- 2) Minami R, Takahama S, Ando H, Miyamura T, Suematsu E, and Yamamoto M. Human herpesvirus 8 DNA load in the leukocytes correlates with thrombocytopenia in HIV-1 infected individuals AIDS Res Hum Retroviruses. 25(1), 1-8, 2009

#### 原著和文

- 1) 南留美、高濱宗一郎、安藤仁、山本政弘 治療後ウエスタンプロット法にて抗HIV抗体が陰性化し持続しているHIV感染症の一例 感染症学会雑誌 83 (3)、251-255、2009

### 2. 学会発表

- 1) Minami R, Takahama S, Ando H, Yamamoto M The effect of antiretroviral drug on the lipid metabolism in hepatocytes with and without HCV infection 9th International Congress on AIDS in Asia and the Pacific (ICAAP), in Bali, Indonesia from 9-13 August 2009
- 2) Shingae A, Kaneko N, Shiono S, Makizono Y, Kawamoto D, Nino T, Hamada S, Hashiguchi S, Kitamura K, Yamamoto M, Ichikawa S Characteristics of MSM who are 'Inconsistent' and 'Non-Condom Users': Findings of the Gay Bar Survey in Fukuoka, Japan ICAAP 2009. 8. 14, Bali, Indonesia
- 3) 安藤仁、高濱宗一郎、南留美、山本政弘

- Poncet's disease 合併が疑われた HIV 感染症の 1 例 第83回日本感染症学会総会・学術講演会 平成21年4月23日 東京
- 4) 山本政弘 シンポジウム「HIV感染対策におけるパートナーシップ-自治体とNGOの協働」 「NGOと地方行政の連携」 第23回日本エイズ学会学術総会 平成21年11月28日 名古屋
  - 5) 山本政弘 サテライトシンポジウム「HIV陽性者のメンタルヘルスへのアプローチ～心理職が目指す予防とケアについての検討 その1～」～精神科の連携について～内科医の立場から 第23回日本エイズ学会学術総会 平成21年11月26日 名古屋
  - 7) 川本大輔、樋脇弘、高橋真梨子、南留美、山本政弘 福岡地域におけるHIV感染者およびAIDS患者から分離されたHIVの遺伝子解析 第23回日本エイズ学会学術総会 平成21年11月28日 名古屋
  - 8) 高濱宗一郎、安藤仁、南留美、山本政弘 RAL/ATV/RTVによるダブルブースト療法が奏効した吸収不良HIV感染症の1例 第23回日本エイズ学会学術総会 平成21年11月28日 名古屋
  - 9) 新ヶ江章友、金子典代、塩野徳史、牧園裕也、川本大輔、新納利弘、濱田史朗、橋口卓、北村紀代子、山本政弘、市川誠一 福岡におけるゲイ向け商業施設利用者を対象とした質問紙調査 第23回日本エイズ学会学術総会 平成21年11月28日 名古屋
  - 10) 服部順子、湯永博之、吉田繁、(略)、南留美、山本政弘、(略)、杉浦互 2003-2008年の新規HIV/AIDS診断症例における薬剤耐性頻度の動向 第23回日本エイズ学会学術総会 平成21年11月28日 名古屋
  - 11) 菊池嘉、岩本愛吉、佐藤典宏、伊藤俊広、田邊嘉也、横幕能行、上田幹夫、渡邊大、藤井輝久、南留美、宮城島拓人、建山正男 多施設共同疫学調査におけるHAARTの有効率 第23回日本エイズ学会学術総会 平成21年11月28日 名古屋
  - 12) 南留美、高濱宗一郎、安藤仁、山本政弘 抗HIV剤はHBV感染肝細胞における肝脂質代謝を促進する 第23回日本エイズ学会学術総会 平成21年11月28日 名古屋

表1 使用したアンケート回答票

## 【アンケート】

病院名

## 1. 貴院での現在の年間STD患者受診数（概算で結構です）

約（ ）名

（可能であれば以下もご記入ください）

うち

- |             |       |
|-------------|-------|
| 1) 尿道炎      | 約（ ）名 |
| うち クラミジア    | 約（ ）名 |
| 淋菌性         | 約（ ）名 |
| 淋菌/クラミジア合併  | 約（ ）名 |
| 2) 性器ヘルペス   | 約（ ）名 |
| 3) 梅毒       | 約（ ）名 |
| 4) 尖圭コンジローマ | 約（ ）名 |
| 5) A型, B型肝炎 | 約（ ）名 |

## 2. 上記STD患者のうちHIV検査を勧めた人数

約（ ）名

うち実際にHIV検査を行なった人数

約（ ）名

うちHIV陽性だった人数

約（ ）名

## 3. HIV陽性だった患者の検査の契機となった疾患は？

- |             |       |
|-------------|-------|
| 1) 尿道炎      | 約（ ）名 |
| うち クラミジア    | 約（ ）名 |
| 淋菌性         | 約（ ）名 |
| 淋菌/クラミジア合併  | 約（ ）名 |
| 2) 性器ヘルペス   | 約（ ）名 |
| 3) 梅毒       | 約（ ）名 |
| 4) 尖圭コンジローマ | 約（ ）名 |
| 5) A型, B型肝炎 | 約（ ）名 |
| 6) その他      | 約（ ）名 |

## 4. 以下のあてはまるものに○を付けて下さい

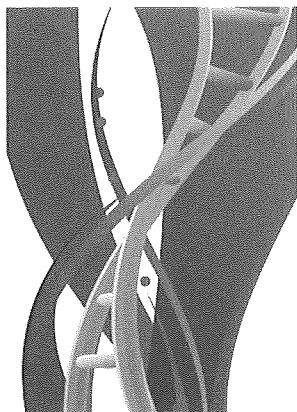
- (1) STD患者には積極的にHIV検査を勧めている
- (2) STD患者でもあまり積極的にHIV検査を勧めていない
- (2)の回答をされたかたにお聞きします。

積極的に勧めない理由は？

- |               |     |
|---------------|-----|
| 1) 査定の問題      |     |
| 2) 同意をとることが困難 |     |
| 3) その他        | ( ) |

## 5. 今後STD患者のHIV検査推進のためにはどのような方策が必要だと思いますか？自由にお書きください。

アンケートに御協力いただきまして有り難うございました。



## 免疫再構築症候群に関する情報収集と提供

研究分担者：古西 満 奈良県立医科大学感染症センター

研究協力者：善本 英一郎 奈良厚生会病院感染制御室

宇野 健司 奈良県立医科大学感染症センター

### 研究要旨

免疫再構築症候群（immune reconstitution inflammatory syndrome：IRIS）の発症機序を解明するために、抗HIV治療がTh1/Th2バランスに与える影響とIRIS発症におけるTh1/Th2バランスの役割について評価した。新規に抗HIV治療を開始したHIV感染者15名の末梢血を用いて、CD4<sup>+</sup>細胞内のIFN- $\gamma$ とIL-4をフローサイトメトリーで測定した。抗HIV治療後には有意なCD4<sup>+</sup>細胞数の増加・HIV-RNA量の低下を認め、有効な治療であったことが評価できた。IRISを発症しなかった14例では、Th1/Th2比が抗HIV治療開始前に比べ1ヵ月後で有意な低下を認めたが（ $p < 0.05$ ）、IRISを発症した1例では、Th1/Th2比の著明な上昇がみられた。また、Graves病のIRISが強く疑われた症例も病状安定時に比べ、IRIS発症時にはTh1/Th2比が上昇していた。

以上から、IRISを発症しない症例では、抗HIV治療1ヵ月後にはTh1/Th2比は低下し、3ヵ月後には回復傾向となることが認められた。一方、IRIS発症時にはTh1/Th2比が上昇する可能性が示唆された。

### A. 研究目的

免疫不全が進行した状態で抗HIV治療を開始した後に、日和見感染症などが発症、再発、再増悪することを経験する。これは、抗HIV治療によって急速なHIV-RNA量の減少と免疫能の改善が起こり、体内に存在する病原体に対する免疫応答が誘導されるために生じると考えられている。そのため、この現象は免疫再構築症候群（immune reconstitution inflammatory syndrome：IRIS）と呼ばれている。

しかし、IRISに関するエビデンスは十分でなく、解明すべき課題が数多く残っている。IRIS発症は抗HIV治療がもたらす免疫系の再構築に起因するが、抗HIV治療がTh1/Th2バランスに対してどのような影響を与えるかについては十分に検討されていない。そこで我々は、CD4<sup>+</sup>細胞内サイトカインを染色してTh1細胞・Th2細胞を判別する方法を用いて、抗HIV治療前後のTh1/Th2バラン

スを解析するとともに、IRIS発症におけるTh1/Th2バランスの役割について考える。

### B. 研究方法

1) 新規に抗HIV治療を開始したHIV感染者15名を対象として、抗HIV治療の開始前と1ヵ月後、3ヵ月にTh1/Th2バランスを測定した。Th1/Th2バランスの評価には、全血をphorbol 12-myristate 13-acetate（PMA）とionomycinで刺激した後に産生されたCD4<sup>+</sup>細胞内のinterferon(IFN)- $\gamma$ 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。IFN- $\gamma$ 陽性CD4<sup>+</sup>細胞をTh1細胞、IL-4陽性CD4<sup>+</sup>細胞をTh2細胞とし、その比をTh1/Th2バランスとした。

対象症例の平均年齢は41.5歳（26～63歳）で、男性11例・女性4例であった。既にAIDSを発症している症例は4例で、HIV感染リスクは異性間性的接触が6例・同性間性的接触が9例であった。

抗HIV治療開始前の平均CD4<sup>+</sup>数は144.3/ $\mu$ L (2~261/ $\mu$ L)、平均HIV-RNA量は $8.1 \times 10^4$ コピー/mL ( $8.2 \times 10^3 \sim 1.6 \times 10^5$ コピー/mL)であった。抗HIV治療内容は表の通りであった。IRISは症例15のみに発症した(表1)。

2) 経過中にIRISを発症した症例でTh1/Th2バランスを測定し、その経時的な変化を観察する。

### C. 研究結果

1) 新規に抗HIV治療を開始した15例中1例(症例15)にIRISを発症した。同症例の概要を紹介する(図1)。

症例は54歳・男性。平成21年3月に発熱、呼吸困難で他院に入院し、ニューモシスチス肺炎(PCP)を発症したHIV感染症と診断されたため当

表1 解析対象の概要

症例	年齢	性別	病期	感染リスク	CD4 <sup>+</sup> 数	HIV-RNA量	抗HIV治療	IRIS
1	34歳	女性	AC	異性間	2	$1.5 \times 10^5$	d4T+3TC+LPV/rit	(-)
2	35歳	女性	AIDS	異性間	8	$8.2 \times 10^3$	d4T+3TC+LPV/rit	(-)
3	49歳	男性	AC	異性間	127	$5.0 \times 10^4$	d4T+3TC+LPV/rit	(-)
4	39歳	男性	AC	同性間	218	$1.6 \times 10^5$	TDF/FTC+ATV+RTV	(-)
5	28歳	男性	AIDS	同性間	59	$9.5 \times 10^4$	TDF/FTC+FPV+RTV	(-)
6	48歳	男性	AC	同性間	214	$9.9 \times 10^4$	ABC/3TC+ATV+RTV	(-)
7	28歳	男性	AC	同性間	252	$3.4 \times 10^4$	TDF/FTC+EFV	(-)
8	61歳	女性	AC	異性間	156	$7.1 \times 10^4$	ABC/3TC+ATV	(-)
9	63歳	女性	AC	異性間	175	$2.7 \times 10^4$	TDF/FTC+ATV+RTV	(-)
10	30歳	男性	AC	異性間	169	$1.1 \times 10^5$	TDF/FTC+FPV+RTV	(-)
11	26歳	男性	AC	同性間	185	$9.6 \times 10^4$	TDF/FTC+FPV+RTV	(-)
12	27歳	男性	AC	同性間	261	$2.5 \times 10^4$	ABC/3TC+ATV+RTV	(-)
13	28歳	男性	AC	同性間	190	$5.5 \times 10^4$	ABC/3TC+FPV+RTV	(-)
14	29歳	男性	AIDS	同性間	108	$1.4 \times 10^5$	ABC/3TC+LPV/rit	(-)
15	54歳	男性	AIDS	異性間	41	$9.9 \times 10^4$	ABC/3TC+LPV/rit	(+)
平均	41.5				144.3	$8.1 \times 10^4$		

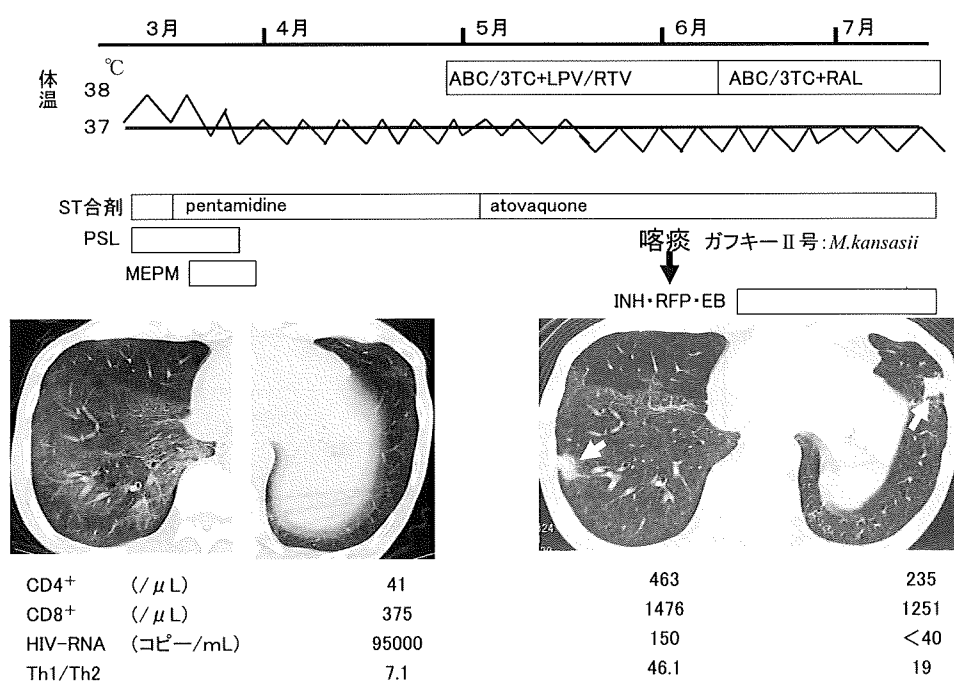


図1 症例15 (IRIS発症例) の臨床経過

科へ転院となった。転院後、sulfamethoxazole/trimethprim (ST合剤)、その後pentamidine点滴でPCP治療を行なうとともに、併発した細菌性肺炎に対してmeropenem (MEPM) を投与し、病状は安定した。4月末から抗HIV治療(ABC/3TC+LPV/RTV)を開始した。抗HIV治療開始前のCD4+数は41/ $\mu$ L、HIV-RNA量は $9.5 \times 10^4$ コピー/mLであり、1ヵ月後にはCD4+数は463/ $\mu$ L、HIV-RNA量は $1.5 \times 10^2$ コピー/mLとなった。胸部画像検査のフォローのために実施した胸部CTでスリガラス影は改善していたが、右下葉、左舌区に新たな小斑状影を認めた。喀痰抗酸菌検査で塗抹ガフキーII号・培養で*Mycobacterium kansasii*を分離したことから、非結核性抗酸菌による肺感染症型のIRISと診断した。抗HIV治療をABC/3TC+RALに変更するとともに、isoniazid (INH)+rifampicin (RFP)+ethambutol (EB)で抗抗酸菌治療を開始した。

新規に抗HIV治療を開始した15例では、治療後

にはCD4+数は有意に増加、HIV-RNA量は有意に低下しており、実施した抗HIV治療は有効であった(図2、3)。IRISを発症しなかった14例では、治療1ヵ月後のTh1/Th2比が有意に低下していたが、IRISを発症した症例15は1ヵ月後のTh1/Th2比は著明に増加していた(図4)。

2) 抗HIV治療中にGraves病のIRISを発症した症例を経験し、Th1/Th2バランスを測定することが出来たので、紹介する。

症例は46歳・男性。平成10年から抗HIV治療を開始したが、仕事のため生活が不規則となり、服薬や受診が途切れがちであった。平成16年頃からCD4+数は減少し、帯状疱疹などの日和見疾患を起こすようになった。平成19年にはPCPでAIDSを発病し、各クラスの抗HIV薬への耐性があるため、平成19年9月に“MK-0518 Expanded Access Program”に参加してd4T+DRV+RTV+RALの抗HIV治療に変更した。変更後の治療効果は良好で、HIV-RNA量の急速な低下、CD4+数の

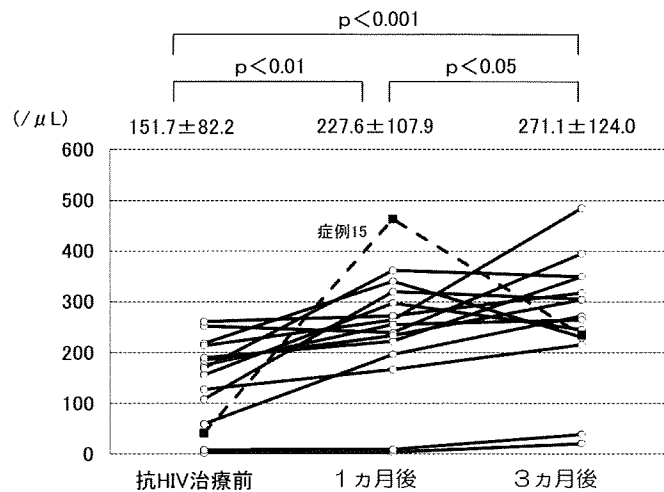


図2 抗HIV治療前後のCD4+数の変化

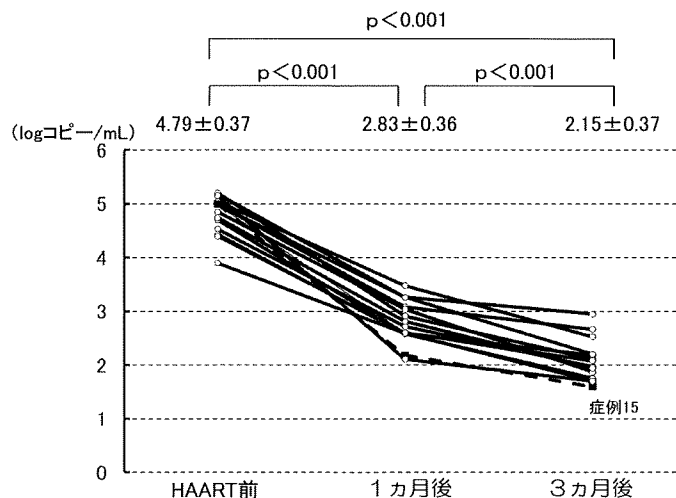


図3 抗HIV治療前後のHIV-RNA量の変化

回復を認めた。一時PCPによるIRISを発症したが、PCPの再治療を行なうことで、病状、検査所見は安定した。

ところが、平成21年11月中旬頃から食欲亢進、

動悸、下痢、頻尿、微熱、体重減少が出現した(図5)。12月の受診時に検査を行なったところ、甲状腺機能亢進所見を認め、各種甲状腺関連抗体は陽性であった。CRP上昇、赤沈亢進はなく、総

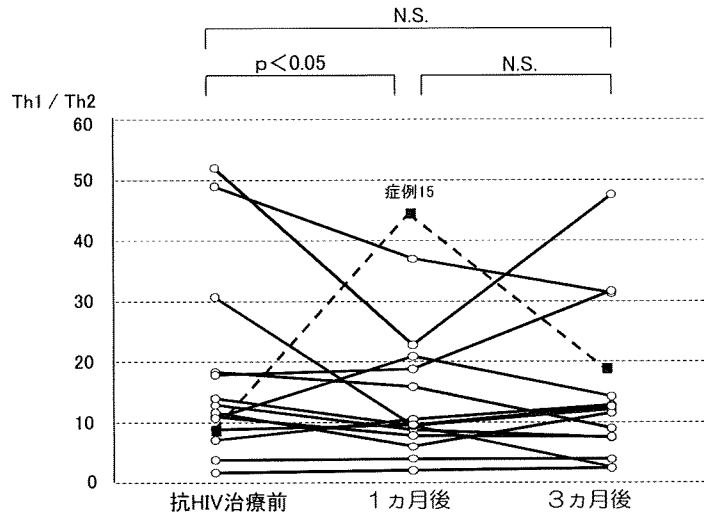


図4 抗HIV治療前後のTh1/Th2バランスの変化

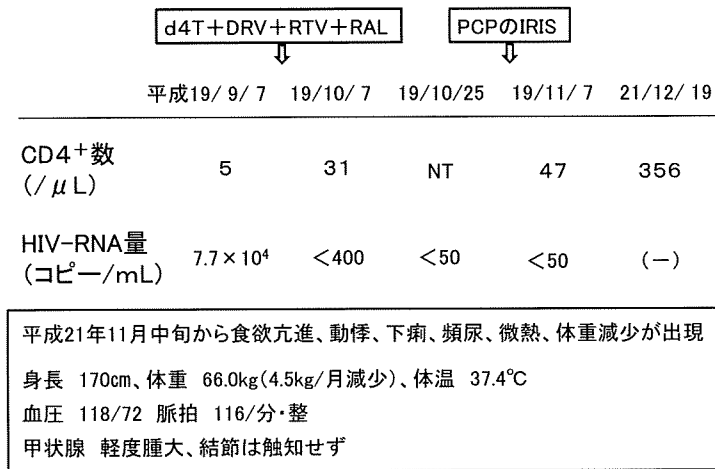


図5 Graves病のIRISを発症した症例の臨床経過

表2 Graves病のIRISを発症した症例での甲状腺関連検査とTh1/Th2バランス

TSH	<0.03	μU/mL
FT3	19.4	pg/mL
FT4	6.04	ng/mL
TRAb(human)	18.0	IU/L
抗TPO抗体	8.5	U/mL
抗Tg抗体	≤0.3	U/mL
甲状腺刺激抗体	350	%
CRP	0.2	mg/dL
ESR	10	mm/1h
T.cho	127	mg/dL

	17/12/12	21/12/25
Th1/Th2比	2.9	10.8

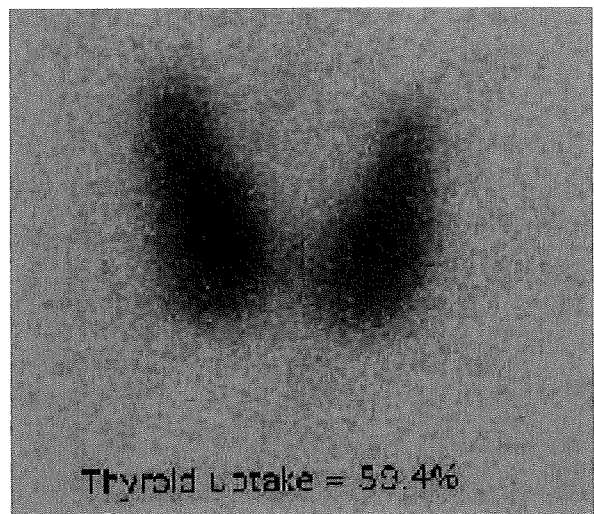


図6 Graves病のIRISを発症した症例における甲状腺シンチグラフィ

コレステロールはやや低値であった(表2)。甲状腺シンチグラフィではヨード摂取率の上昇を認めた(図6)。以上からGraves病と診断し、経過からIRISによるものを強く疑った。Th1/Th2バランスを測定すると、10.8であり、平成17年12月の病状が安定している時期に測定していたTh1/Th2比の2.9と比較すると、高値になっていた(表2)。thiamazole(MMI)によって甲状腺機能は正常化し、自覚症状も改善した。

## D. 考察

IRISの発症頻度は抗HIV治療例全体では15~25%<sup>1)</sup>、日和見感染症を起こした症例に限ると7~63%となる<sup>2-8)</sup>と報告されている。IRISは患者にとって苦痛であり、臨床医にとって治療遂行の妨げとなり、抗HIV治療を行なう上で重要な問題の一つである。IRISの発症は抗HIV治療による免疫能の改善が誘因となっているが、免疫能が改善しても発症しない症例も多く、その根本的な発症機序は明確ではない。また、IRISの診断基準<sup>9)</sup>は現時点では除外診断的な色合いが強く、IRISの診断に有効なバイオマーカーが必要である。

ヘルパーT(Th)細胞(CD4<sup>+</sup>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。主に細胞性免疫機構を活性化するIL-2やIFN- $\gamma$ などを産生するTh1細胞と、主に液性免疫機構を活性化するIL-4、IL-5、IL-10などを産生するTh2細胞が存在する。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、HIV感染症の病態との関連についても注目されている。

今回我々は、抗HIV治療がTh1/Th2バランスに与える影響を治療後1、3ヵ月で検討したところ、IRISを発症しなかった症例では1ヵ月後にはTh1/Th2比が低下し、その後回復傾向になることを見出した。Reubenら<sup>9)</sup>は、小児例の検討で抗HIV治療によってIFN- $\gamma$ 産生能が回復し、IL-10産生能が低下することを指摘している。しかし、この検討は15ヵ月以上の抗HIV治療を継続した症例を対象にしており、治療後早期のTh1/Th2バランスとは異なる可能性がある。Clericiら<sup>10)</sup>も抗HIV治療の効果は、初期効果としてウイルス量の低下とCD4<sup>+</sup>細胞数の増加があり、その後に長期効果としてCD4<sup>+</sup>細胞の抗原特異的な反応とサイトカ

イン産生の回復がみられると指摘している。IRISは抗HIV治療開始後6ヵ月以内に発症することが多いことを考えると、抗HIV治療開始後早期のTh1/Th2バランスの変化をみることが重要であると考ええる。

IRISとTh1/Th2バランスとの関連は検討症例数が少なく、結論を出す段階にはない。現時点でIRISを発症した症例2例では、発症時のTh1/Th2比は発症していない時に比べ、上昇していた。このことから、Th1細胞優位にシフトすることがIRIS発症に関与している可能性が示唆された。しかし、結核のIRISを対象とした検討では、Th1細胞優位へのシフトがIRIS発症に関連するという報告<sup>11)</sup>と関連がないとする報告<sup>12)</sup>があり、今後のさらなる研究成果が待たれる。

## E. 結論

- 1) 新規に抗HIV治療を行ない、IRISを発症しなかった症例では、治療1ヵ月後にTh1/Th2比が有意に低下し、3ヵ月後に回復傾向を示した。
- 2) IRIS発症時にはTh1/Th2比が上昇する可能性が示唆された。

## F. 参考文献

- 1) Shelburne SA, Montes M, Hamill RJ. Immune reconstitution inflammatory syndrome: more answers, more questions. *J Antimicrob Chemother.* 57: 167-170, 2006.
- 2) Murdoch DM, Venter WDF, Van Rie A, Feldman C. Immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS): review of common infectious manifestations and treatment options. *AIDS Res Ther.* 4: 9, 2007.
- 3) Lawn SD, Bekker L-G, Miller RF. Immune reconstitution disease associated with mycobacterial infections in HIV-infected individuals receiving antiretrovirals. *Lancet Infect Dis.* 5: 361-373, 2005.
- 4) 小河原光正、坂谷光則、木村 剛. 日和見疾患合併HIV感染症の多剤併用療法に関する研究. 厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業 多剤併用療法服薬の精神的、身体的負担軽減のための研究班 平成17年度研究報告書. 69-77, 2006.
- 5) Feller L, Wood NH, Lemmer J. Herpes zoster infection as an immune reconstitution inflammatory syndrome in HIV-seropositive subjects: a review. *Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 104: 455-460, 2007.



- 6) 中村哲也、岡 慎一、永田洋一、蕪城俊克. CMV感染症における免疫再構築症候群の臨床的検討. 厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業 HAART時代の日和見合併症に関する研究 平成16年度総括・分担研究報告書. 40-42, 2005.
- 7) Sungkanuparph S, Jongwutiwes U, Kiertiburanakul S. Timing of cryptococcal immune reconstitution inflammatory syndrome after antiretroviral therapy in patients with AIDS and cryptococcal meningitis. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 45: 595-596, 2007.
- 8) Miralles P, Berenguer J, Lacruz C, Cosina J, López JC, Padilla B, Muñoz L, García-de-Viedma D. Inflammatory reactions in progressive multifocal leukoencephalopathy after highly active antiretroviral therapy. *AIDS*. 15: 1900-1902, 2001.
- 9) 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.
- 10) Clerici M, Seminari E, Maggiolo F, Pan A, Migliorino M, Trabattoni D, Castelli F, Suter F, Fusi ML, Minolo L, Carosi G, Maserati R. Early and late effects of highly active antiretroviral therapy: a 2 year follow-up of antiviral-treated and antiviral-naive chronically HIV-infected patients. *AIDS* 16: 1767-1773, 2002.
- 11) Elliott JH, Vohith K, Saramony S, Savuth C, Dara C, Sarim C, Huffam S, Oelrichs R, Sophea P, Saphonn V, Kaldor J, Cooper DA, Vun MC, French MA. Immunopathogenesis and diagnosis of tuberculosis and tuberculosis-associated immune reconstitution inflammatory syndrome during early antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 200: 1736-1745, 2009.
- 12) Tieu HV, Ananworanich J, Avihingsanon A, Apateerapong W, Sirivichayakul S, Siangphoe U, Klongugkara S, Boonchokchai B, Hammer SM, Manosuthi W. Immunologic markers as predictors of tuberculosis-associated immune reconstitution inflammatory syndrome in HIV and tuberculosis coinfecting persons in Thailand. *AIDS Res Hum Retroviruses* 25: 1083-1089, 2009.

## G. 健康危険情報

特になし

## H. 研究発表

### 論文発表

- 1) 古西 満、宇野健司：抗HIV療法後にみられる免疫再構築症候群、*BIO Clinica* : 24 : 625 - 629, 2009.
- 2) 古西 満、善本英一郎、宇野健司、小川 拓、忽那賢志、中川智代、米川真輔、笠原 敬、前田光一、三笠桂一：HAART時代におけるHIV感染者のTh1/Th2バランス. *総合臨床*、56 : 1474 - 1477, 2009.
- 3) 善本英一郎、古西 満、宇野健司、米川真輔、中川智代、笠原 敬、前田光一、三笠桂一、若月幸平、中島祥介：HAART開始後短期間に急性虫垂炎を発症したHIV感染者の1例. *総合臨床*、58 : 531 - 534, 2009.
- 4) 古西 満、菊池 嘉、小田原 隆、富成伸次郎、永井英明、今村顕史、田沼順子、善本英一郎：抗HIV治療をいつ、どの薬剤で始めるかー症例経験から考えるー (第22回日本エイズ学会シンポジウム記録). *日本エイズ学会誌*、11 : 75 - 80, 2009.

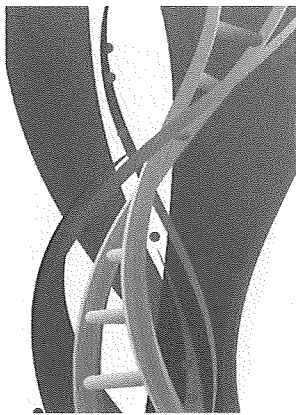
### 学会発表

- 1) 古西 満：感染症診療のピットフォールーHIV感染症事例から学ぶー. 第52回日本感染症学会中日本地方会/第57回日本化学療法学会西日本支部総会 (教育セミナー12)、2009. 11. 26 ~ 28. (名古屋).
- 2) 古西 満、善本英一郎、宇野健司、小川 拓、忽那賢志、中川智代、米川真輔、笠原 敬、前田光一、三笠桂一：HIV感染者の酸化ストレス/抗酸化力に関する臨床的解析. 第83回日本感染症学会総会、2009. 4. 23 ~ 24. (東京).
- 3) 善本英一郎、古西 満、宇野健司、小川 拓、忽那賢志、中川智代、米川真輔、笠原 敬、前田光一、三笠桂一、安岡 彰：免疫再構築症候群に関する臨床的因子の検討. 第83回日本感染症学会総会、2009. 4. 23 ~ 24. (東京).
- 4) 古西 満、善本英一郎、宇野健司、忽那賢志、小川 拓、中川智代、米川真輔、笠原 敬、前田光一、三笠桂一：抗HIV治療のTh1/Th2バランスへの影響. 第57回日本化学療法学会総会、2009. 6. 3 ~ 5. (東京).
- 5) 古西 満、善本英一郎、宇野健司、片浪雄一、忽那賢志、小川 拓、中川智代、米川真輔、前田光一、三笠桂一：HIV感染症における酸化ストレス/抗酸化力. 第23回日本エイズ学会総会、2009. 11. 26 ~ 28. (名古屋).

- 6) 古西 満、善本英一郎、宇野健司、片浪雄一、忽那賢志、小川 拓、中川智代、米川真輔、前田光一、三笠桂一：HIV感染者における脈波伝播速度の変化－5年間の観察－. 第23回日本エイズ学会総会、2009. 11. 26～28. (名古屋).
- 7) 善本英一郎、古西 満、宇野健司、笠原 敬、三笠桂一、安岡 彰：Th1/Th2バランスは免疫再構築症候群の診断に役立つか. 第23回日本エイズ学会総会、2009. 11. 26～28. (名古屋).
- 8) 宇野健司、古西 満、善本英一郎、小川 拓、忽那賢志、片浪雄一、前田光一、三笠桂一：肺血栓塞栓症・深部静脈血栓症をきたしたAIDSの1症例. 第23回日本エイズ学会総会、2009. 11. 26～28. (名古屋).

#### 1. 知的財産権の出願・登録状況

なし



## AIDS合併結核診断およびHIV感染者の結核発病予測における QuantiFERON®-TB 2G、ELISPOT assay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

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 $\gamma$ 応答測定法（Interferon-Gamma Release Assays：IGRAs）が開発された。IGRA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。これまで我々はHIV感染症を含めた免疫抑制者におけるIGRAの有用性について検討してきた。今年度は、免疫抑制状態の指標として、末梢血リンパ球数に着目し、ELISPOTと QuantiFERON®-TB 2G（QFT-2G）の比較解析を行った。

全体の感度はQFT-2Gで74%(95%CI:68-80%)に対しELISPOTで92%(95%CI:89-96%)と有意にELISPOTで高値を示した( $p<0.0001$ )。末梢血リンパ球数が1000/ $\mu$ l以上であれば、QFT-2Gで88%(95%CI:82-94%)、ELISPOTで97%(95%CI:94-100%)と、ともに良好な感度を示した。しかし、末梢血リンパ球数が低下するに従い、ELISPOTの感度は比較的保たれているものの、QFT-2Gの感度は著しく低下する傾向を認めた。HIV感染者などのリンパ球数の低下した患者において、ELISPOTはQFT-2Gと比較しより高感度であると考えられた。

### A. はじめに

HIV感染症や免疫抑制剤投与患者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。

結核感染診断にはツベルクリン反応（ツ反）が従来用いられてきたが、BCG接種に積極的に取り組んできたわが国では、BCGの影響が非常に大きい。最近では、結核感染診断法としてBCG接種の影響を受けないインターフェロン $\gamma$ 応答測定法（Interferon-Gamma Release Assays：IGRAs）が普及しつつあり、結核の接触者健診ではツ反に代えてIGRAが推奨されている。

IGRAsは感度も特異度も良好であるが、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。当院での活動性結核患者におけるQFT-2Gの解析では、免疫正常例（ $n=379$ ）、何

らかの免疫抑制因子を有する例（ $n=376$ ）におけるQFT-2G陽性率はそれぞれ77.3%、64.9%であり、免疫抑制例でQFT陽性率は有意に低い。

現在、わが国で承認されているIGRAはクオンティフェロン®-TB-2G（第2世代、以下QFT-2G）とクオンティフェロン®-TBゴールド（第3世代）である。その他に、わが国では認可されていない新しいIGRAとしてT-SPOT®.TB（T-SPOT）がある。T-SPOTはELISPOT assayを用いている。ELISPOT検査技術的に煩雑であるが、一般的にQFT-2Gよりも感度が良好と考えられている。

今年度は、免疫抑制者の結核感染症診断におけるQFT-2GおよびELISPOT assayの有用性について末梢血リンパ球数に着目し、比較検討した。また、HAARTを行っているHIV患者に対して、定期的にQFT-2GとELISPOT法を行い、経時的変化

に関して検討を行った。

## B. 方法

- (1) 2008年1月から2009に当院を受診した患者で、QFT-2GおよびELISPOT (QFT-2G抗原を使用)を同時に測定した602名のうち、細菌学的検査により活動性肺結核と確定し、治療開始14日以内に測定した220例(中央値67歳、IQR: 50、79歳、男性72.7%)を対象とする。この対象には、HIV陰性のimmunocompromised hostも含めた。IGRAを測定した日と同日か前後3日以内に測定した末梢血リンパ球数によって対象を層別化し、それぞれの層におけるQFT-2GおよびELISPOT analysisの感度を求める。
- (2) 当院の外来に通院しHAARTを行っているHIV患者に対して、定期的にQFT-2GとELISPOT法を行い、経時的変化に関して検討した。

## 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- $\gamma$ 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- $\gamma$ が分泌され、その場所で直ちにPVDF膜上の抗ヒトIFN- $\gamma$ 抗体と結合する。分泌されたIFN- $\gamma$ を染色することで、IFN- $\gamma$ 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- $\gamma$ 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。

## C. 結果

- (1) 全体の感度はQFT-2Gで74%(95%CI:68-80%)に対しELISPOTで92%(95%CI:89-96%)と有意にELISPOTで高値を示した( $p<0.0001$ )。末梢血リンパ球数が1000/ $\mu$ l以上と高値であれば、QFT-2Gで88%(95%CI:82-94%)、ELISPOT analysisで97%(95%CI:94-100%)とともに良好な感度であった。しかし、末梢血リンパ球数が低下するに従い、ELISPOTの感度は比較的

保たれているものの(exact for linear trend  $p=0.007$ )、QFT-2Gの感度は著しく低下した(exact for linear trend  $p<0.0001$ )。末梢血リンパ球数500/ $\mu$ l未満では、ELISPOTが81%(95%CI:66-96%)であるのに対しQFT-2Gでは39%(95%CI:21-57%)まで低値となった。

- (2) 当院に通院中のHAART中のHIV患者において、QFT-2G/ELISPOTをfollow中、両者ともに陽転化した症例を1例経験した。30歳代、男性。2007年8月にニューモシスチス肺炎で当院初診。QFT/ELISPOTともに陰性であった。PCPは治癒し、HAART (TDF/FTC + EFV)にて順調に経過した。2010年1月にQFT/ELISPOTともに陽性となった。自覚症状はなく、CTにて肺野病変は認めなかった。

## D. 考察

BCG接種が普及している日本においてQFT-2Gを用いることにより、ツ反を用いた場合に比べ、接触者の予防内服対象者数を減少させることが可能となった。接触者健診においてQFT-2Gがツ反に比べ、その後の結核発病をより正確に予測すること認められている。

しかし、IGRAsは細胞性免疫応答を利用した検査法であり、免疫脆弱状態では偽陰性が問題となる。今年度の当院のデータでは、末梢血リンパ球数が低い場合でも、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。

しかし、現時点で、本邦ではQFT-2Gのみが普及しており、免疫健全者にまで全てT-SPOT TBを適用する必要性はないと考えられるが、結核感染が強く疑われ発病のリスクの高い免疫抑制者においてはQFT-2GよりもT-SPOT TBなどのELISPOT法が有用であると考えられる。日本ではT-SPOT TBは現時点で保険の適応はない。また、PBMCを分離するという工程が加わり、技術的に煩雑である。スポットをカウントするシステムを要するため、機器整備などハード面の問題もある。特に高蔓延の途上国での使用は現実的ではないかもしれない。さらには、T-SPOT TBの特異度や費用対効果については十分なデータがなく、今後の研究課