

す。したがって、治療の基本骨格は変わっていく可能性があると考えています。

満屋 AZT が日本に導入されたとき、AZT は毒だから投与したくないという先生方がいらっしゃるということを聞いたことがあります。それからもう 20 年、その進歩には隔世の感がありますね。

木村 副作用の少ない投与量を見いだしました。いまだに AZT がバックボンドラッグとして使われているのは、素晴らしいことだと思いますね。

満屋 現在の治療の基本方針を具体的にご説明願えますでしょうか。

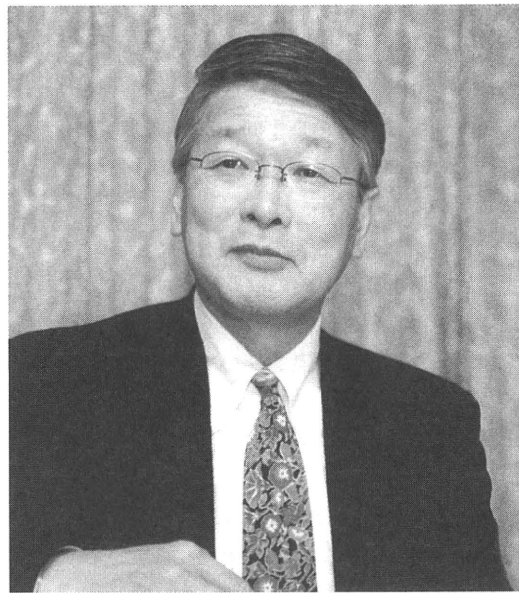
2. 基本方針

岡 今の基本方針は、キードラッグとバックボンドラッグの組み合わせで成り立っています。キードラッグとはより強力なものというイメージでしょうか。基本的には、キードラッグとして非核酸系逆転写酵素阻害薬あるいはプロテアーゼ阻害薬から 1 つ採用し、それにプラス、バックボンドラッグとして逆転写酵素阻害薬から 2 剤採用するというものです。キードラッグのほうは選択の余地があり、バックボンドラッグのほうは必ず逆転写が入るという組み合わせが、今の治療の基本ガイドラインになっています。

満屋 組み合わせということになると、薬剤の選択が難しいと思うのですが、専門家の意見を聞く必要はどれくらいあるのでしょうか。

3. 専門家の意見の必要性

岡 初回治療が最も効果が期待できるので、非常に大事になってきます。しかし、幾つかある組み合わせの中で、どれが最も効果的な組み合わせかは、どんどん変化しているので、治療を始めるときには専門家の意見を聞くべきだと思います。初回治療に失敗すると、予後への影響が大きく、患者にとって不幸なことになります。初回治療をどうすれば良いのかは、ぜひ専門家に聞いて欲しいと思います。特に、ほかに何か薬を飲んでいる人の場合、薬の相互作用が非常に複雑で、専門家で



満屋 裕明先生

も覚え切れないくらいですから、やはり専門家の意見はぜひ聞いて欲しいと思います。

木村 そうですね。初回のレジメンが一番大事ですからね。それをできるだけ長く有効に保っていかなくてはいけない。そのためには耐性ウイルスをつくらないように薬服用のアドヒアランスを高く保つ必要があります。そのためのノウハウをいろいろ心得ている専門家に、最初のレジメンはお任せしてスタートするほうが、患者のためにはメリットが大きいと思います。

岡 次の段階として、治療薬が決まり、病態も安定したら地元に戻っていくという体制が理想ではないかと思います。仕事に戻り治療が継続できるように、家の近くの開業医や土日・夕方でも診てくれる診療所で診てもらうのが良いのではないのでしょうか。

木村 そういった病診連携は大事ですね。診療所やクリニックが担当できる場面が 2 回考えられます。1 つは、まだ治療の必要がない時期、すなわち定期検査でフォローアップしていれば良い時期、幾つかのちょっとしたポイントさえ押さえおけば、そういう時期は比較的楽に診療ができると思います。もう 1 つは、岡先生が言われたように、初回のレジメンが始まって副作用など問題

ないとなれば、何年間かそのレジメンで行くわけですから、診療所やクリニックで十分診ることができます。

満屋 先ほど、1日1回1錠の話がありました。1日1回の処方を与えるインパクトについてはいかがでしょうか。

4. 1日1回処方のインパクト

木村 HAARTも1日1回処方が主流になってきました。患者の話聞いても、非常に楽でアドヒアランスも保ちやすいということで、1日1回処方のインパクトは非常に大きいと思います。しかも食事と関係なく飲んで良いという薬が出てきましたので、かなり良好なアドヒアランスを維持できるのではないのでしょうか。95%のアドヒアランスがないと耐性ウイルスができると言われており、1日3回処方の場合だと1週間で1回飲むのを忘れても95%になってしまうので大変でした。

岡 現在、アメリカで1日1回、なおかつ1錠でよいAtriplaという薬が支持を得て非常に勢いで増えています。1回というだけではなくて1錠の合剤が良いということですが、どの組み合わせにするかが非常に大事になってきます。また問題は、治療につまづいたときにどの薬が悪かったのか分からないことです。将来的にはいろいろな組み合わせの1剤というのができると思います。薬によりメーカーが違うので難しいかも知れませんが、選択肢が広がりますからね。

木村 客観的にはそうですね。

満屋 1錠3合剤の場合は、飲みやすいが、問題もあるということですね。ところで、HAARTの登場でHIV感染症の臨床像は一変しました。CD4陽性T細胞数が50個/mm³以下となり、死の危機に直面していた患者が社会復帰できるようになりました。また、1981年の最初のAIDSの症例報告以降、増加の一途をたどっていた死亡者数は、1997年以降減少に転じています。さらに、HIV感染した母体から新生児への感染件数も、少なくとも先進諸国では激減して、日本ではゼロに近い状態になっています。しかし現在、治

療の失敗が大きな問題になっています。それを防ぐためには、どのようなことが必要でしょうか。

5. 治療の失敗の克服

木村 定期的な検査ですね。ウイルス量をチェックし、CD4陽性T細胞数を測定することです。その結果、レベルは低いけれどもウイルス量が増えたりするとアドヒアランスが落ちている可能性があります。耐性ウイルスができる可能性があるのです。受診のたびに「飲んでいますか」だけではなく、残りの薬の量を詳しく聞くなどして、きちんと服薬しているかを確認することが最も大事なことです。

満屋 そうですね。薬剤耐性株の出現は大きな問題です。HIVは複製の際に不断に塩基の置換を起すという固有の特性があるので、HIVは抗ウイルス薬が標的としている酵素に突然変異を起し、抗ウイルス薬から巧みに逃れて、しかも本来の酵素活性を維持しながら自己の増殖・複製を続けることができることから、HAARTを長期間続けるときには特に注意しなければいけないことだと思います。

さて、最近の新薬開発のインパクト、今後の治療薬に求められる特性についてお聞かせ願えますでしょうか。

岡 耐性問題という点から、新しい機序の薬が出てきたことは、治療をもう1回リセットできるという大きなメリットがあります。最近の新薬、侵入阻害薬やインテグラーゼ阻害薬などのインパクトは、特に長く治療してきた人にとっては、非常に大きなものがありますね。また、求められる特性としては、より強力で、1日1回でよく、副作用が少ないというごく当たり前のことになると思います。

ワクチンとmicrobicideとカウンセリング

満屋 次に、ワクチンの話に移りたいと思いますが、ワクチン開発は本当に困難を極めています。2007年の9月、期待されたメルク社のワクチンの第II相試験(STEP study)の結果が報告されましたが、予防効果をもたらさないどころか、ワ

クチン投与群のほうがプラセボ群よりも HIV 感染の頻度が高かったというショッキングな内容で、この臨床試験関係のプロジェクトはすべて中止され、HIV 感染予防戦略は、方針の転換を強いられることになりました。巨額を投じた HIV ワクチンが全くと言ってよいほど効果がなかったことから、感染を減らすのであれば low-tech (低い技術) な方法でも追求すべきだとの声が上がったのは驚きではありません。コンドームの配布や性道徳の強化などが改めて議論されるようになっていきます。もう 1 つの方向は microbicide (抗 HIV 局所投与薬) の開発だと思いますが、microbicide 開発の重要性についてはどうお考えでしょうか。また safe sex といったことについてはどのようにお考えでしょうか。

木村 Microbicide については評価が 2 つに分かれています。かえって粘膜傷害を起して感染が起りやすくなるという所見もあり、microbicide で高率に感染を予防するというのは難しいのではないかと考えています。従来からの物理的バリアであるコンドームのほうが、正しく使えば、microbicide よりは予防力が強いと考えています。もちろん safe sex が大変大事ですが、他方、早期に感染を知って、相手に伝播しないようにする必要があります。したがって、検査と予防の両面が大切だということになります。

満屋 HIV 検査の重要性とカウンセリングの必要性についてどのようにお考えでしょうか。

岡 検査には自発検査と病院での検査の 2 つがあるわけですが、自発検査のときには検査を受ける前の段階からカウンセリングや教育が非常に大事だと思います。現在、日本には大ざっぱに言って年間 1,500 人の新規 HIV 感染者がいるわけですが、そのうち自発検査で見つかった人は 500 人くらいで、残り約 1,000 人は医療機関を受診して見つかっています。ですから、自発検査をもっと増やさないといけないのですが、保健所での検査は飽和状態に達しており、今以上に増やせるかは疑問です。そこで、病院での検査ということになるのですが、病院では検査に際して個別に同意を得たり、カウンセリングをする必要があり、敷

居が高いのです。STD をたくさん診ている先生にとっては、それが足かせになって、検査したくても大変過ぎるという状況があります。

木村 当院では手術前にルーチンに HIV 検査をやっています。内視鏡の場合はほとんどやらないのですが、手術前の検査の中でときどき陽性者が出てくる場合がありますのでね。AIDS を発症して初めて HIV 感染症が判明した患者に聞いてみると、HIV 感染と診断される前に STD や帯状疱疹で何回も受診しているのですが、検査をしていない、見落とされているケースもかなりの割合であるのです。ですから、一般の市中病院でも手術前などに限定することなく、何か疑わしいところがあれば、もっと積極的に検査を進めていくべきだと思います。

今後の課題

満屋 ところで、日本の AIDS 研究者数は、1990 年代から増えるどころか、むしろ減少しているのではないかと思います。AIDS 拠点病院でも専門医数は、患者の増加に対応できない、いわばパンク状態が続いていると思いますが、今後どのように対応していくべきでしょうか。

岡 日本におけるこの病気に対する関心の低さには寂しさを感じています。今後も治療法の研究の進歩を止めてはならないのであり、非常に面白い分野だと思うので、若手の医師や研究者がどんどんこの分野に入ってきてくれることを期待しています。

木村 これまで HIV の研究者は臨床家も含めて固定化していて、それが次第に高齢化してきている印象があります。ですから、厚生労働省の科学研究班にも若い人にどんどん入ってもらって、世代交代していかないと沈滞してしまうのではないかと心配しています。

満屋 日本は諸外国に比べて感染症専門医が少ないように思いますが、これから感染症専門医になって食べていけるのでしょうか。

木村 食べていけるようにしないといけないですね。現在、日本の感染症専門医の数は 1,000 人弱です。例えば、病床数が 350 以上の病院には

感染症専門医が少なくとも1人は必要だとすると、全体では最低1,500人必要なわけです。ただし、首都圏や大都市への偏在を考えれば、3,000～4,000人の専門医が必要だろうと思います。したがって、もっと養成しなくてはいけない。いろいろな機会に感染症専門医の重要性をアピールしていく必要があります。それが国民のためにも良いことです。

岡 実は、感染症に興味があると言って学生実習に来る人が結構います。そして、研修医として国際医療センターを希望する人もまた多いのですが、2年経って専門のレジデントになるときは誰もいなくなるのです。多分、感染症で食べていけないのかという心配があるのだと思います。しかし、インフルエンザのことがあったりして来年度は5人くらい入ってくれそうです。

木村 国立国際医療センターはACCがあるので感染症の人が集まるし、そこで食べていけるわけです。ところが、感染症科とか感染症内科のある病院は比較的少ないので、病院に感染症科などを設けてもらうように働きかけることも大事だなと思いますね。

満屋 地域医療を担っておられる病院や開業医の先生方の外来を、HIV感染に気づかずAIDSを発症して初めて受診する患者の数はこれからも増え続けるだろうと思います。しかし、正しい診断と治療が行われれば、AIDSは“治療可能な慢性感染症”であることに疑いはありません。つまり、この感染症で無駄死にする必要はなくなったと言えます。一方、残念ながらHIVはいったん感染すると、現在の科学では治療は不可能とされています。患者はともすれば臨床的に対応しにくい種々の副作用に悩まされ、また薬剤耐性のHIV変異株の出現で命を落とす危険性に絶えずおびえることにもなりかねません。「HIVに感染しない、感染させない」という行動とキャンペーンが必要であることは強調し過ぎることがないと思います。そろそろ予定の時刻になりましたので、これで終わりにしたいと思います。有意義なお話をお聞きすることができました。本日はありがとうございました。

(とき：平成21年10月20日 ところ：東京山の上ホテル)

小特集 1 HIV 感染とインテグラーゼ阻害薬の位置づけ

序

～最新の抗 HIV 療法における
ラルテグラビルの意義～

木村 哲*

最近、HAART (highly active antiretroviral therapy) に大きな変化が起きてきている。第一は新たにインテグラーゼ阻害薬 (ラルテグラビル) が登場したこと、第二に1日1回 (QD) 処方 が普及したこと、第三に治療開始時期が急速に早期化してきたことである。ラルテグラビルによる血中 HIV-RNA (human immunodeficiency virus-ribonucleic acid) の低下速度は他の抗 HIV 薬より急速であり、プロテアーゼ阻害薬と異なり脂質代謝や糖代謝に対する副作用がなく、薬物相互作用も少ない。最新の DHHS (米国保健福祉省) のガイドラインでは、優先処方に選ばれている。治療開始時期は早まり、CD4 陽性リンパ球が $350/\mu\text{L}$ 未満で開始するよう改訂された。しかも、 $350 \sim 500/\mu\text{L}$ での治療を、強く、あるいは中程度に推奨している。さらに、 $500/\mu\text{L}$ を超えている患者に対する治療にも、かなり前向きな姿勢が示された。

1. はじめに

現在地球上で 3,340 万人前後が HIV (human immunodeficiency virus) 感染症状態にあり、これまでに 7,000 万人程度が HIV に感染したと考えられ、新興感染症の中では最大の広がりを見せている。特にサハラ砂漠以南のアフリカに感染者・エイズ患者が多い。しかし、新規の感染者は、これらの国々を含め世界的には 1996 年前後で頭打ちとなり、その後減少傾向が見られている。エイズ発症者数も減ってきている。(UNAIDS [国際連合エイズ合同計画]: AIDS epidemic update, Dec, 2009)。これに対し、日本では後述するように、未だに感染者・エイズ発症者が増加し続けている。

世界的に感染症・エイズが減少してきたのは感染予防・啓発の普及とともに、強力な抗 HIV 療

法 (HAART; highly active antiretroviral therapy) の普及があつてのことであろうと思われる。HAART 先進国である米国において HAART が始まったのは 1995 年のことで、日本に導入され一般化したのは 1997 年である。途上国でも 2003 年以降、3 by 5 計画 (2005 年までに 300 万人の HIV 感染者に治療薬を供与する) あるいは Universal Access (必要な人は誰でも HIV/エイズの予防、治療、ケア・サービスを受けられること) などの施策が広まり、エイズによる死亡も減少してきたことは UNAIDS の疫学データからも明らかである。

この HAART に最近、大きな変化が起きてきている。第一はこれまでになかった新しいクラスの治療薬、すなわち、インテグラーゼ阻害薬 (ラルテグラビル) の登場、第二は 1日1回 (QD) 処方の普及、第三は治療開始時期の早期化である。

*東京通信病院・院長 (きむら・さとし)

■小特集1・HIV感染とインテグラーゼ阻害薬の位置づけ

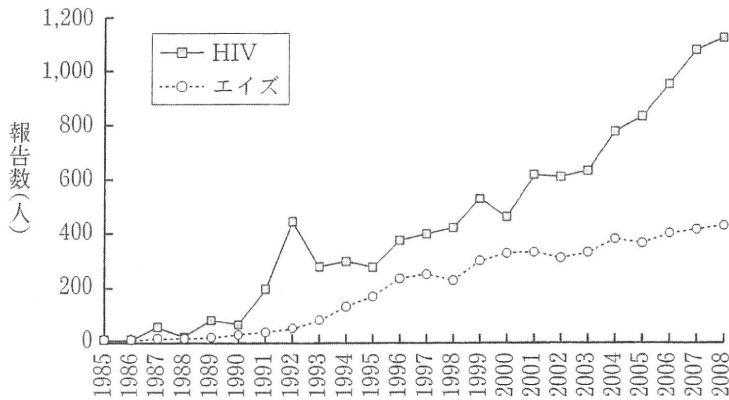


図1 日本の HIV 感染者およびエイズ患者報告数の年次推移

2009年のデータは表示していない。

HIV : human immunodeficiency virus

(筆者作成)

2. 日本の HIV 感染症・エイズ

わが国では性的接触による感染者・発症者が増加の一途をたどっている。血液製剤による感染を除く動向調査によれば、2008年1年間の HIV 感染者報告数は1,126人で、他にエイズ発症状態で HIV 感染が確認された症例が431人と報告されている。つまり1年間で合計1,557人の HIV 感染が新規に報告されたことになる。

しかもこの数字は1985年の動向調査以来、ほぼ毎年記録を更新している。(図1)。2009年分の確定値は感染者数は1,021人で微減、エイズ患者数は431人で横ばいとなっている。感染者の報告数が減少した理由としては、新型インフルエンザの影響で抗体検査を受けた人が減ったためと考えられ、実際の感染者数が減ったとは言えない。

しかも、この数字は HIV の抗体検査を受けて陽性と判明し報告された人数であり、感染しているものの検査を受けていない人も多いと推測されている。橋本らの推計¹⁾によれば、2007年の未報告(未検査)の日本人 HIV 感染者(エイズ未発症)は6,400人と推計され、実際の報告数(967人)は全体の13%でしかない。すなわち、感染者の13%程度しか検査を受けていないと推定されるのである。周知のように、適切な HAART を継続していればエイズを発症することはないのに、検査を受けていないためエイズを発症するまで放置される結果となっている。感染予防とともに、早期発見(検査)とこれに連動した時宜を得た HAART の開

始が重要と言える。

最新の DHHS (米国保健福祉省) の治療ガイドラインの考え方を中心に HAART の新しい流れを解説する。

3. 逆転写酵素阻害薬からインテグラーゼ阻害薬まで

抗 HIV 薬の最初の薬は核酸系逆転写阻害薬の AZT (アジドチミジン) で、1987年に米国で上市され、日本でも同年末に承認された。その後、同じく核酸系の逆転写酵素阻害薬である ddI (ジダノシン) や d4T (サニルブジン) が承認されたが、長期にわたり血中 HIV が抑制できるようになったのはプロテアーゼ阻害薬が開発され、かつ核酸系逆転写酵素阻害薬2剤とプロテアーゼ阻害薬1剤、計3剤を同時併用するレジメが考案²⁾されてからのことであった。これがいわゆる HAART の始まりで、米国では1995年から、日本では1997年から可能となった³⁾。

初めの頃はいずれの薬も副作用や服用回数、服用回数が多く、服用を継続することは容易ではなかったが、AZTのように日本人に合った服薬量・回数が工夫され⁴⁾、あるいは副作用、服薬回数、服薬回数の少ない薬剤が次々と開発されてきた。

プロテアーゼ阻害薬は重要な抗 HIV 薬であるが、脂質代謝や糖代謝に対する副作用が無視できない上、出血傾向がある、薬物相互作用が広範囲に及ぶなどの難点がある。この課題を克服したのが新しいクラスであるインテグラーゼ阻害薬、ラルテグラビルの出現(2008年承認)である。ラル

表1 抗 HIV 薬の開発状況 (2010年5月現在)

核酸系逆転写酵素阻害薬では AZT/3TC, ABC/3TC, TDF/FTC などの配合剤がある。

逆転写酵素阻害薬		プロテアーゼ 阻害薬	インテグラーゼ 阻害薬	侵入阻害薬 (CCR5 阻害)
核酸系	非核酸系			
AZT, ZDV	Nevirapine (NVP)	Saquinavir (SQV)	Raltegravir (RAL)	Maraviroc (MVC)
ddI	Delavirdine (DLV)	Ritonavir (RTV)		
[ddC]	Efavirenz (EFV)	Indinavir (IDV)		
d4T	Etravirin (ETR)	Nelfinavir (NFV)		
3TC		[Amprenavir] (APV)		
ABC		Lopinavir/RTV (LPV/r)		
TDF		Atazanavir (ATV)		
FTC		Fosamprenavir (FPV)		
		Darunavir (DRV)		

() 内は略号, [] 内は現在, 発売中止中

HIV: human immunodeficiency virus, AZT: アジドチミジン, ZDV: ジドブジン

ddI: ジダノシン, ddC: ジデオキシシチジン, d4T: サニルブジン, 3TC: ラミブジン

ABC: アバカビル, TDF: テノホビル, FTC: エムトリシタピン, RTV: リトナビル

(筆者作成)

テグラビルは HIV の増殖抑制作用が強く, 血中 HIV-RNA の低下速度は他の抗 HIV 薬より急速である。しかも, プロテアーゼ阻害薬と異なり脂質代謝や糖代謝に対する副作用がなく, 薬物相互作用もリファンピシン以外は認められず, この場合も用量の変更を要しない程度である。他の副作用も少ないため極めて使いやすい抗 HIV 薬である。良好な服薬アドヒアランスが必要であることは, 他の薬と変わらない。

現在日本で承認されている抗 HIV 薬は表1に示すように 20 種類を超えるようになった。この中には新しいクラスの薬として最近承認された HIV 侵入阻害薬も含まれているが, 適応症例の選択に特殊な検査が必要なため, 余り普及していない。

4. 初回 HAART の組み合わせ

HIV は服薬アドヒアランスが低下すると容易に変異し, 薬剤耐性を獲得する。しかも, 同じクラスの薬剤に対し交差耐性が生じやすいので, いったん耐性ができてしまうと同一系統の薬が使えなくなる場合が多い。このことから, 初回治療にはできるだけ効果が確実で, 副作用も少なく継続しやすい組み合わせを選択し, 長期にアドヒアランスが維持できるものとする必要がある。初回治療

をいかに長く保たせられるかが治療成功の秘訣である。

最新の米国 DHHS のガイドライン⁹⁾では, 初回治療として選ぶべき HAART を, ① 推奨される組み合わせ (優先処方), ② 代替 (次善) の組み合わせ, ③ 容認できる組み合わせ, ④ 容認できるがデータがまだ十分でない組み合わせ, ⑤ 容認できるが慎重に使用すべき組み合わせ, の5段階に分け, それぞれをレジメとして示した点が, これまでのガイドラインと大きく異なる点である。表2には推奨される組み合わせ (優先処方) と代替 (次善) の組み合わせ, 容認できる組み合わせを示す。

表2の核酸系逆転写酵素阻害薬2剤の組み合わせが AZT を除き QD 処方であることもあり, 新しく使われるのは QD 処方が中心となっている。ラルテグラビルは1日2回の服薬が必要であるが, それを上回る利点があることから, 優先処方に選ばれている。

5. HAART の開始時期

現在の HAART では HIV の増殖を強力に抑えることはできるものの, HIV を体内から完全に除去することができないため, 薬を中断するとたちまち HIV が増殖し, 治療前の状態に戻ってしまう。HIV はリンパ球の DNA に取り込まれ, 長期間潜

■小特集1・HIV感染とインテグラーゼ阻害薬の位置づけ

表2 最新のHAART組み合わせ

DHHSのガイドラインによるHAARTのレジメのうち、推奨度が高いものを示した。

1. 推奨される組み合わせ (優先処方)
EFV + TDF/FTC
ATV/r + TDF/FTC
DRV/r + TDF/FTC
RAL + TDF/FTC
妊婦の場合: LPV/r + AZT/3TC
2. 代替 (次善) の組み合わせ
EFV + (ABC or AZT)/3TC
NVP + AZT/3TC
ATV/r + (ABC or AZT)/3TC
FPV/r + (ABC or AZT)/3TC または FPV/r + TDF/FTC
LPV/r + (ABC or AZT)/3TC または LPV/r + TDF/FTC
SQV/r + TDF/FTC
3. 容認できる組み合わせ
EFV + ddI + (3TC or FTC)
ATV + (ABC or AZT)/3TC

注) /r はブースターとしてのRTV併用。ただし、LPV/rは配合剤である。

DHHS: 米国保健福祉省

HAART: highly active antiretroviral therapy

EFV: エファビレンツ, TDF: テノホビル

FTC: エムトリシタピン, ATV: アタザナビル

DRV: ダルナビル, RAL: ラルテグラビル

LPV: ロピナビル, AZT: アジドチミジン

3TC: ラミブジン, ABC: アバカビル

NVP: ネビラピン, FPV: ホスアンプレナビル

SQV: サキナビル, ddI: ジダノシン

RTV: リトナビル

(文献5より)

伏するため、HAARTは70年以上続けなければならない⁶⁾とされており、実質的には一生服薬することになる。余り早くからHAARTを開始すると耐性ウイルスの出現を許してしまう心配があることから、これまで、CD4陽性リンパ球が200~350/ μ Lになるまで(多くの医師は200/ μ L近くになるまで)治療を見合わせていた。

しかし、長期にわたり服薬しやすい1日1回もしくは2回で済むレジメが可能となり、副作用の少ない薬ができてきたことから、アドヒアランス

の維持に対する懸念が少なくなり、これまでより早い時期からHAARTを始めても長期にわたって耐性ウイルスの出現を抑えられる見通しとなってきた。そのことを反映し、DHHSのガイドラインはCD4陽性リンパ球が350/ μ Lになったら治療を開始するよう改訂された。CD4陽性リンパ球が下がり過ぎないうちに治療を開始する方が、免疫力の回復が良好であることは事実で、DHHSガイドライン作成の委員全員がCD4陽性リンパ球が350~500/ μ Lでの治療を、強く、あるいは中程度に推奨している。さらに、CD4陽性リンパ球が500/ μ Lを超える患者に対する治療にも委員の半数が前向きな姿勢を示しており、残る半数の委員もオプションとしての治療開始を認めている。次の改訂版でどのような基準が示されるか興味が持たれる。

文 献

- 1) 橋本修二, 川戸美由紀: エイズ発生動向調査の報告・未報告のHIV感染者数とAIDS患者数における近未来予測の試み. 日本エイズ学会誌 **11**: 152-157, 2009.
- 2) Gulick RM, et al: Treatment with indinavir, zidovudine, and lamivudine in adults with human immunodeficiency virus infection and prior antiretroviral therapy. N Engl J Med **337**: 734-739, 1997.
- 3) 木村 哲, 山田兼雄, 浅香正博ほか: HIV感染症に対するindinavir sulfate ethanolate (MK-639: IDV)の臨床試験成績. 化学療法の領域 **14** (10): 1821-1834, 1998.
- 4) Kimura S, et al: A randomized trial of reduced doses of azidothymidine in Japanese patients with human immunodeficiency virus type 1 infection. Intern Med **31**: 871-876, 1992.
- 5) DHHS: Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. December 1, 2009. <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentsGL.pdf>
- 6) Sciliciano JD, et al: Long-term follow-up studies confirm the stability of the latent reservoir for HIV-1 in resting CD4+ T cells. Nature Med **9**: 727-728, 2003.

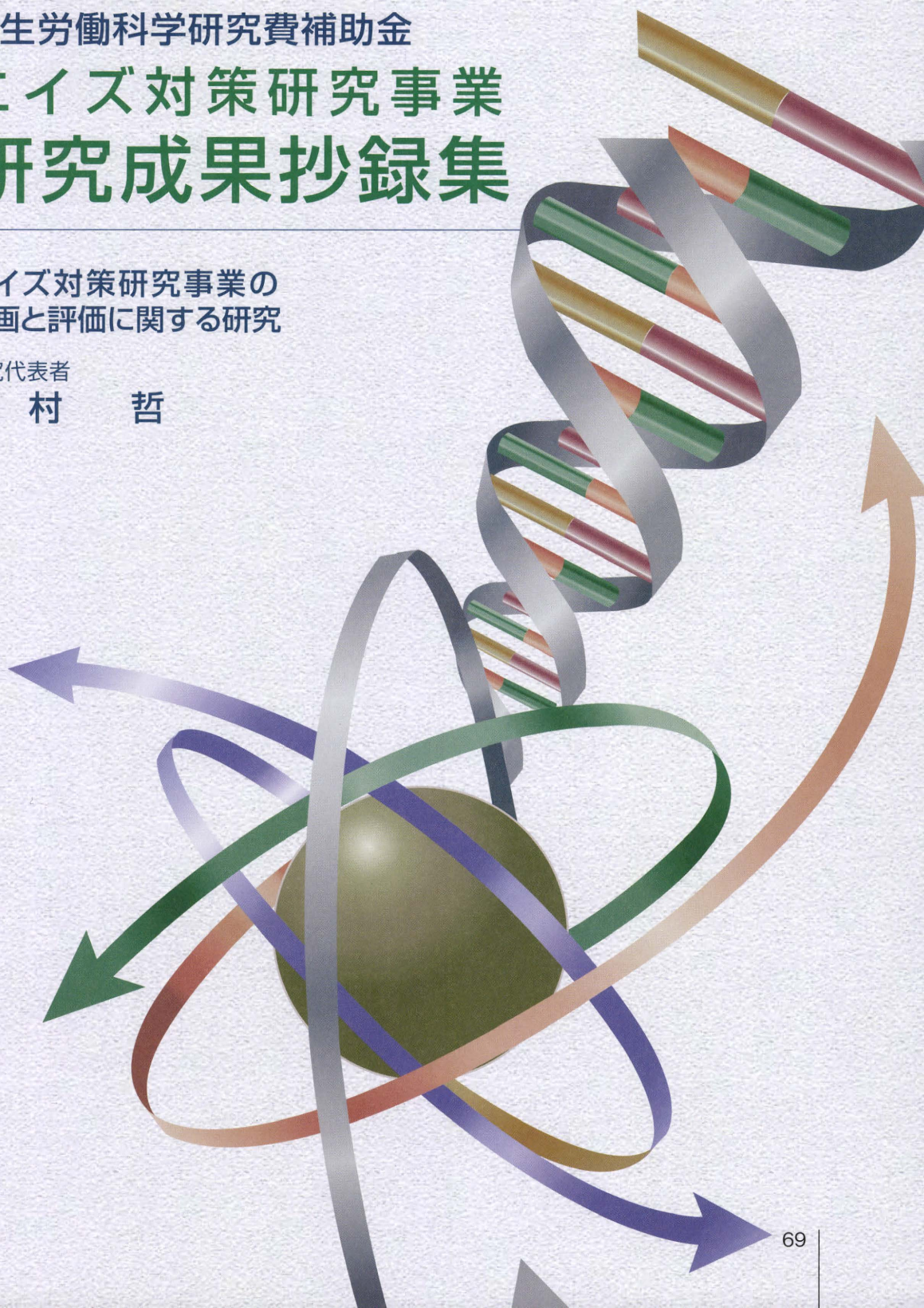
2010

平成22年度

厚生労働科学研究費補助金
エイズ対策研究事業
研究成果抄録集

エイズ対策研究事業の
企画と評価に関する研究

研究代表者
木村 哲



平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金
エイズ対策研究事業
研究成果抄録集

目 次

研究代表者名	課 題 名	研究期間	頁
(1) 秋田 定伯	HIV 関連 Lipodystrophy の克服に向けて	20-22 年度	6
(2) 森 一泰	HIV の感染防止、AIDS 発症防止に関する免疫学的基礎研究	21-23 年度	10
(3) 横田 恭子	HIV 感染病態に関わる宿主因子および免疫応答の解明	21-23 年度	14
(4) 俣野 哲朗	HIV 感染防御免疫誘導に関する研究	21-23 年度	18
(5) 佐藤 義則	HIV 感染モデルマウスの樹立および HIV 特異的細胞傷害性 T 細胞によるエイズ発症遅延機序の解析	20-22 年度	22
(6) 野村 渉	エイズ感染細胞での配列特異的遺伝子組み換えによる効率的な HIV 遺伝子除去法の開発	20-22 年度	26
(7) 高折 晃史	Vif/APOBEC3G の相互作用を標的とした新規抗 HIV-1 薬の開発	20-22 年度	30
(8) 五十嵐 樹彦	エイズ多剤併用療法中のリザーバーの特定および選択的障害に関する研究	20-22 年度	34
(9) 高宗 暢暁	HIV-1 ゲノム産物の翻訳後修飾とその機能に関する研究	21-23 年度	38
(10) 西澤 雅子	高感度薬剤耐性 HIV 検出法を用いた微少集族薬剤耐性 HIV の動態と HAART 治療効果との相関についての研究	21-23 年度	42
(11) 滝口 雅文	難治性 HIV 感染症に対する治療法開発の基礎的研究	21-23 年度	46
(12) 湯永 博之	抗 HIV 薬の適正使用と効果・毒性に関する基礎的研究	20-22 年度	50
(13) 坂田 洋一	血友病とその治療に伴う合併症の克服に関する研究	21-23 年度	54
(14) 渡邊 大	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	20-22 年度	58
(15) 白阪 琢磨	HIIV 感染症及びその合併症の課題を克服する研究	21-23 年度	62
(16) 兼松 隆之	血液製剤による HIV/HCV 重複感染患者に対する肝移植のための組織構築	21-23 年度	66
(17) 加藤 真吾	HIV 検査相談体制の充実と活用に関する研究	21-23 年度	70
(18) 生島 嗣	地域における HIV 陽性者等支援のための研究	20-22 年度	74
(19) 田中 憲一	安全な生殖補助医療を行うための精液よりの HIV ウイルス分離法の確立	21-23 年度	78
(20) 服部 健司	HIV 感染予防個別施策層における予防情報アクセスに関する研究	20-22 年度	82
(21) 東 優子	個別施策層（とくに性風俗に係る人々・移住労働者）の HIV 感染予防対策とその介入効果に関する研究	21-23 年度	86
(22) 嶋田 憲司	地方公共団体 -NPO 連携による個別施策層を含めた HIV 対策に関する研究	21-23 年度	90

研究代表者名	課 題 名	研究期間	頁
(23) 市川 誠一	男性同性間の HIV 感染対策とその介入効果に関する研究	20-22 年度	94
(24) 加藤 慶	沖縄県における男性同性愛者への HIV 感染予防介入に関する研究	20-22 年度	98
(25) 日高 庸晴	インターネット利用層への行動科学的 HIV 予防介入とモニタリングに関する研究	20-22 年度	102
(26) 木原 雅子	ポピュレーション戦略及びハイリスク戦略による若者に対する HIV 予防啓発手法の開発と普及に関する社会疫学的研究	21-23 年度	106
(27) 渋谷 健司	HIV 感染症の疫学的研究：メタ分析とコホート研究	21-23 年度	110
(28) 木原 正博	国内外の HIV 感染症の流行動向及びリスク関連情報の戦略的収集と統合的分析に関する研究	21-23 年度	114
(29) 和田 裕一	HIV 感染妊婦とその出生児の調査・解析および診療・支援体制の整備に関する総合的研究	21-23 年度	118
(30) 安岡 彰	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	21-23 年度	122
(31) 菊池 嘉	HIV 診療支援ネットワークを活用した診療連携の利活用に関する研究	20-22 年度	126
(32) 岡 慎一	多施設共同研究を通じた新規治療戦略作成に関する研究	22-24 年度	132
(33) 岡田 誠治	HIV 感染症に合併するリンパ腫発症危険因子の探索と治療法確立に向けた全国規模多施設共同研究の展開	22-24 年度	136
(34) 佐藤 裕徳	HIV の構造、増殖、変異に関する研究	22-24 年度	140
(35) 杉浦 互	国内で流行する HIV 遺伝子型および薬剤耐性株の動向把握と治療方法の確立に関する研究	22-24 年度	144
(36) 仲尾 唯治	外国人の HIV 予防対策とその介入効果に関する研究	22-24 年度	148
(37) 山本 政弘	HIV 感染症の医療体制の整備に関する研究	22-24 年度	152
(38) 山下 俊一	HIV・HCV 重複感染血友病患者の長期療養に関する患者参加型研究	22-24 年度	156
(39) 武内 寛明	霊長類ゲノム情報を利用した抗エイズウイルス自然免疫因子の探索およびその新規エイズ治療法への応用	22-24 年度	160
(40) 鳴海 哲夫	HIV 侵入の動的超分子機構を標的とするケミカルバイオロジー創薬研究	22-24 年度	164

2年目・3年目研究班

研究課題：HIV 関連 Lipodystrophy の克服に向けて

課題番号：H20-エイズー 一般-001

研究代表者：秋田 定伯（長崎大学病院 形成外科 助教）

研究分担者：白阪 琢磨（大阪医療センターHIV/AIDS 先端医療開発センター センター長）、吉野 宗宏（大阪医療センター薬剤科 調剤主任）、菊池 嘉（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 臨床研究開発部長）、山本 有平（北海道大学 形成外科 教授）、山下 俊一（長崎大学 医歯薬学総合研究科 教授）、上谷 雅孝（長崎大学 医歯薬学総合研究科 教授）、藤岡 正樹（長崎医療センター 形成外科 医長）、吉本 浩（長崎大学病院 形成外科 助教）、宮崎泰司（長崎大学 医歯薬学総合研究科 教授）

1. 研究目的

抗HIV療法の進歩によってHIV感染症は慢性疾患となったが、抗HIV薬の短期、長期の副作用の出現は、QOLの低下、服薬アドヒアランス低下をもたらすことになる。特に長期間内服している患者に、Lipodystrophy（脂肪萎縮、lipoatrophyを含む）と呼ばれる体脂肪の分布異常が生じることが報告されており、高度のLipodystrophy例は頬のやせた特有の顔貌になり、美容上の観点から患者には苦痛となる。明確な原因は不明であるが、NRTIのthymidine analogueのd4TとPI併用のHAARTの期間が長いほどリスクが高くなるとの海外報告がある。しかし、わが国におけるLipodystrophyの実態や要因となる調査は現在まで実施されていない。今回、わが国におけるLipodystrophyの発症状況等調査目的で大阪医療センター、国立国際医療センター エイズ治療・研究開発センター（ACC）通院患者の薬剤歴、臨床像の把握と、長崎大学病院において顔面Lipodystrophy改善目的の自家脂肪幹細胞移植術の経過、手術時検体由来脂肪幹細胞を用いたHAART薬剤の細胞障害惹起の分子機序解析、更に他の手術方法による脂肪細胞組織の影響を検討した。

2. 研究方法

大阪医療センターにて、d” 剤を服用した患者を対象に服薬開始日から平成21年12月までの薬歴を診療録から調査した。d” 剤服薬患者数、併用薬（PI）、服薬期間、d” 剤の変遷、変更理由について調査を行った。ACCでは、血液製剤由来感染患者（血友病）の過去の服薬履歴を全数調査した。長崎大学にて、血液内科の術前、周術期、術後管理指導の下、血友病患者2名（内1名は2回手術）について自家脂肪幹細胞移植実施し、手術時得られた検体細胞の一部を解析研究へ用いた。手術患者について術前から術後

まで臨床写真とともに3次元CTを用いた全身脂肪分布解析と定量検査した。

（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、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た。移植治療に関して、長崎大学大学院医歯薬学総合研究科倫理委員会の承認を得ている（承認番号08070296、08070297）。対象者にはあらかじめ本研究の目的と検査の方法を十分に説明し、検査、診察、出版・公表に関する同意を得た。

3. 研究結果

1. 患者背景

大阪医療センターでは対象患者は207名であり、平均年齢45.3歳、性別（男性187名、女性20名）、感染経路別（血液製剤由来28名、性感染179名）、HAART服薬期間（中央値）：2695日（前医での服薬期間は含めていない）であった。その内、20名は死亡、48名は転院または未来院のため追跡不能であった。

2. 服薬患者数

① d” 剤服薬患者数：当院にて d” 剤を服用した患者207名中、d4T 136名（66%）、ddI 17名（8%）、ddC 2名（1%）、d4T+ddI 45名（22%）、d4T+ddI+ ddC 5名（2%）、d4T+ddC 2名（1%）であった。

②併用薬（PI）：d” 剤とPI（IDV、SQV、RTV、NFV、LPVなど）を併用した患者は111名（54%）であった。

3. 服薬期間

d” 剤の服薬期間（中央値）：771日（6-4379）であった。

4. d” 剤服薬患者の変遷

① d”剤の変遷:d”剤を服薬した患者のうち、200名(97%)は、TVD 56名(31%)、TDF 32名(18%)、EZC 30名(17%)、COM 11名(6%)などの抗HIV薬に変更していた。

②変更理由:変更した主な理由は、「1日1回投与への変更」127名(64%)、「手足・顔のやせ」23名(12%)、「末梢神経障害」13名(7%)、「乳酸値上昇」8名(4%)、「筋力低下」3名(2%)、「その他」26名(13%)であった。

一方ACCでは、2010年度中、定期通院94名の血液製剤由来感染患者中2年以上継続内服者は84名であり、全員が何らかの核酸系逆転写酵素阻害剤の使用歴があり、このうち、いわゆるD-drugs(ddI, ddI-EC, ddC, d4Tのいずれか)の使用歴は71人(85%)であった。プロテアーゼ阻害剤の使用歴は75人(89%)、非核酸系逆転写酵素阻害剤の使用歴は58名(69%)であった。

長崎大学病院にて46歳、30歳(2回目実施の際は31歳)に対して大腿部、腹部、背部からの自家脂肪幹細胞を用いて脂肪減少部位である顔面頬部へ移植した。手術に関連して3次元CTを用いて術前評価及び手術効果について定量検討した。

4. 考察

大阪医療センターでは①d”剤服薬患者の中で、d”剤を2剤以上併用する患者も散見された。また約半数の患者がPIを併用しており、海外で報告されたLipodystrophyのリスク上昇が懸念された。

②d”剤の服薬期間は、対象患者のHAART総服薬期間の約30%を占めており、d”剤の服薬期間とLipodystrophyの関連性が懸念された。

③d”剤を服用した患者の多くは、1日1回投与が可能なTVD、TDF、EZCなどの抗HIV薬に変更していたが、「手足・顔のやせ」が原因とする変更が12%を占めており、d”剤とLipodystrophyとの関連性が推察された。

④今後、d”剤を含むHAARTを服薬した症例とLipodystrophyの相関を検討する必要があると考えた。

一方、ACCではほぼ全例の症例で、lipoatrophyを呈しており、使用薬剤歴は多岐にわたっており、どの薬剤が最もその発生に寄与したかについては断言できかねるが、報告されている原因薬との関係からは、いわゆる

D-drugs 関与が今回調査した血友病関連患者の85%に使用されており、その影響は大きいと考えられた。

自家脂肪幹細胞移植は憂慮された術後出血、二次出血も長崎大学及び長崎医療センターとの連携治療で全く問題なく経過し、移植部位の脂肪定量比較では2例ともに6か月、3か月経過観察で2倍以上の脂肪再生・定着を認めていた。脂肪移植動物実験系では血流の有無に関わらず、術後50%程度の生着であり、脂肪幹細胞の有用性が示唆された。

5. 自己評価

1) 達成度について

Lipodystrophyの要因薬剤と考えられるd”剤の使用状況ならびに服薬患者の抗HIV薬の変遷調査などを大阪医療センター、ACCで検討しており、自家脂肪幹細胞を用いて安全かつ効果的治療を血友病患者に実践できた。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

日本独自のLipodystrophyの実態や要因となる薬剤に関する調査を実施し、本領域で始めて自家脂肪幹細胞移植を安全遂行できており、客観定量評価でも術後数ヶ月で有効であった。

3) 今後の展望について

Lipodystrophyの要因薬剤と考えられるd”剤の使用状況ならびに服薬患者の抗HIV薬の変遷から興味深い結果を得ることができた。今後は、Lipodystrophyと要因薬剤の相関を検討する必要があるものの、一旦完成したlipoatrophyは薬剤変更後も継続する傾向があり、自家脂肪幹細胞移植では安全・有効性が確認された。今後の症例の蓄積が必要と考えられる。

6. 結論

大阪医療センター、ACC通院患者で、d”剤を服用した患者を対象に服薬開始日からの薬歴を診療録から調査した。これら患者は他の抗HIV薬に変更していたが、変更後もlipoatrophyを呈しており、血液製剤由来HIV感染患者への自家脂肪幹細胞は、止血・凝固系管理、厳密な術後管理の下、安全・有効な方法であり、他の手法(血行を伴う脂肪弁、脂肪組織の移植など)と比較して長期的に有用であると考えられた。

7. 知的所有権の出願・取得状況(予定を含む)

無し

研究発表

研究代表者

秋田定伯

- 1) Akita S, Akino K, Hirano A, Ohtsuru A, Yamashita S. Non-cultured autologous adipose-derived stem cells therapy for chronic radiation injury. *Stem cells International*, 2010. in press
- 2) Akita S, Akino K, Yakabe A, Tanaka K, Anraku K, Yano H, Hirano A. Basic fibroblast growth factor is beneficial for post-operative color uniformity in split-thickness skin grafting. *Wound Repair Regen*, 18: 560-5666, 2010.
- 3) Akita S, Akino K, Hirano A, Ohtsuru A, Yamashita S. Mesenchymal stem cell therapy for cutaneous radiation syndrome. *Health Physics*, 09: 858-862, 2010.

研究分担者

白阪 琢磨

- 1) Taniguchi T, Ogawa Y, Kasai D, Watanabe D, Yoshikawa K, Bando H, Yajima K, Tominari S, Shiiki S, Nishida Y, Uehira T and Shirasaka T. Three cases of fungemia in HIV-infected patients diagnosed through the use of mycobacterial blood culture bottles. *Intern Med*. 2010;49(19): 2179-83.
- 2) Watanabe D, Uehira T, Yonemoto H, Bando H, Ogawa Y, Yajima K, Taniguchi T, Kasai D, Nishida Y and Shirasaka T. Sustained high levels of interferon-gamma during HIV-1 infection: Specific trend different from other cytokines. *Viral immunology*. in press.
- 3) Watanabe D, Taniguchi T, Otani N, Tominari S, Nishida N, Uehira T, Shirasaka T. Immune reconstitution to parvovirus B19 and resolution of anemia in a patient treated with highly active antiretroviral therapy: A case report. *J Infect Chemother*. in press.
- 4) Hattori J, Shiino T, Gatanaga H, Yoshida S, Watanabe D, Minami R, Sadamasu K, Kondo M, Mori H, Ueda M, Tateyama M, Ueda A, Kato S, Ito T, Oie M, Takata N, Hayashida T, Nagashima M, Matsuda M, Ibe S, Ota Y, Sasaki S, Ishigatsubo Y, Tanabe Y, Koga I, Kojima Y, Yamamoto M, Fujita J, Yokomaku Y, Koike T, Shirasaka T, Oka S, Sugiura W. Trends in transmitted drug-resistant HIV-1 and demographic characteristics of newly diagnosed patients: Nationwide surveillance from 2003 to 2008 in Japan. *Antiviral Res*. 2010 Oct;88(1):72-9.

吉野宗宏

- 1) 吉野宗宏：CYP2B6*6*6 陽性によりエファビレンツの減量を行った症例。薬事。 52:103, 2010.
- 2) 吉野宗宏：後天性免疫不全症候群。薬局。 61:P824-830, 2010.
- 3) 吉野宗宏：治療薬物モニタリング (TDM)。メディカルレビュー。 1:45-48, 2010.
- 4) 吉野宗宏：HIV 感染症患者に対する薬剤師外来の取り組み。薬事。 52:53-57, 2010.

菊池 嘉

- 1) Miyagaki T, Sugaya M, Yokobayashi H, Kato T, Ohmatsu H, Fujita H, Saeki H, Kikuchi Y, Tamaki T, Sato S. High Levels of Soluble ST2 and Low Levels of IL-33 in Sera of Patients with HIV Infection. *J Invest Dermatol*. 2010 Dec 9. [Epub ahead of print]
- 2) Takarabe D, Rokukawa Y, Takahashi Y, Goto A, Takaichi M, Okamoto M, Tsujimoto T, Noto H, Kishimoto M, Kaburagi Y, Yasuda K, Yamamoto-Honda R, Tsukada K, Honda M, Teruya K, Kajio H, Kikuchi Y, Oka S, Noda M. Autoimmune diabetes in HIV-infected patients on highly active antiretroviral therapy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010 Aug;95(8):4056-60. Epub 2010 May 19.

山本有平

- 1) Furukawa H, et al: Microsurgical Lymphaticovenous Implantation Targeting Dermal Lymphatic Back-flow using Indocyanine Green Fluorescence Lymphography in the Treatment of Postmastectomy Lymphedema. *Plast Reconstr Surg*. in press
- 2) Furukawa H, et al : Tailored Excision of In-Transit Metastatic Melanoma Based on Indocyanine Green Fluorescence Lymphography. *European J Plast Surg*. in press.
- 3) Furukawa H, Sasaki S, Oyama A, et al. Ethanol sclerotherapy with 'injection and aspiration technique' for giant lymphatic malformation in adult cases. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2010.
- 4) Furukawa H, Sasaki S, Yamamoto Y. Aesthetic correction of postoperative pectoral deformity after minimally

invasive funnel chest repair. *Plast Reconstr Surg* 2010; 125: 125e-7e.

山下俊一

- 1) Suzuki K, Nakashima M, Yamashita S: Dynamics of ionizing radiation-induced DNA damage response in reconstituted three-dimensional human skin tissue. *Radiat Res* 174(4): 415-423, 2010
- 2) Dzodic R, Stanojevic B, Saenko V, Nakashima M, Markovic I, Pupic G, Buta M, Inic M, Rogounovitch T, Yamashita S: Intraductal Papilloma of Ectopic Breast Tissue in Axillary Lymph Node of a Patient with a Previous Intraductal Papilloma of Ipsilateral Breast: a case report and review of the literature. *Diagn Pathol* 5: 17, 2010
- 3) Ogi T, Limsirichaikul S, Overmeer RM, Volker M, Takenaka K, Cloney R, Nakazawa Y, Niimi A, Miki Y, Jaspers NG, Mullenders LH, Yamashita S, Fousteri MI, Lehmann AR: Three DNA Polymerases, Recruited by Different Mechanisms, Carry Out NER Repair Synthesis in Human Cells. *Mol Cell* 37(5): 714-727, 2010

上谷雅孝

- 1) Chiba K, Ito M, Osaki M, et al: In vivo structural analysis of subchondral trabecular bone in osteoarthritis of the hip using multi-detector row CT. *Osteoarthritis. Cartilage*. 2010 (In press)
- 2) Ito M, Nakata T, Nishida A, et al: Age-related changes in bone density, geometry and biomechanical properties of the proximal femur: CT-based 3D hip structure analysis in normal postmenopausal women. *Bone* 2010 (In press)
- 3) Sueyoshi E, Tsutsui S, Hayashida T, et al: Quantification of lung perfusion blood volume (lung PBV) by dual-energy CT in patients with and without pulmonary embolism: Preliminary results. *Eur. J. Radiol.* 2010 (In press)

藤岡正樹

- 1) Fujioka M, Yakabe A, Masuda K, Imamura Y. Fatty tissue atrophy of free flap used for head and neck reconstruction. *J Microsurgery* 2010. in press
- 2) Fujioka M, Yakabe A, Masuda K, Imamura Y. Reconstruction of clavicular using scapular bone vascularized with the angular branch. *Techniques in Shoulder and Elbow Surgery*.2010; 11

吉本 浩

- 1) Yano H, Suzuki Y, Yoshimoto H, Mimasu R, Hirano A. Linear-type orbital floor fracture with or without muscle involvement. *J Craniofac Surg.* 21(4):1072-8, 2010

宮崎泰司

- 1) Ando K, Miyazaki Y, Sawayama Y, Tominaga S, Matsuo E, Yamasaki R, Inoue Y, Iwanaga M, Imanishi D, Tsushima H, Fukushima T, Imaizumi Y, Taguchi J, Yoshida S, Hata T, Tomonaga M: High expression of 67-kDa laminin receptor relates to the proliferation of leukemia cells and increases expression of GM-CSF receptor. *Exp Hematol.* 2010 Nov 4. [Epub ahead of print]
- 2) Iwanaga M, Hsu WL, Soda M, Takasaki Y, Tawara M, Joh T, Amenomori A, Yamamura M, Yoshida Y, Koba T, Miyazaki Y, Matsuo T, Preston DL, Suyama A, Kodama K, Tomonaga M. Risk of Myelodysplastic Syndromes in People Exposed to Ionizing Radiation: a Retrospective Cohort Study of Nagasaki Atomic Bomb Survivors. *J Clin Oncol.* 2010 in press
- 3) Takahashi N, Wakita H, Miura M, Scott SA, Nishii K, Masuko M, Sakai M, Maeda Y, Ishige K, Kashimura M, Fujikawa K, Fukazawa M, Katayama T, Monma F, Narita M, Urase F, Furukawa T, Miyazaki Y, Katayama N, Sawada K.: Correlation Between Imatinib Pharmacokinetics and Clinical Response in Japanese Patients With Chronic-Phase Chronic Myeloid Leukemia. *Clin Pharmacol Ther.* 2010 Oct 27. [Epub ahead of print]
- 4) Jinnai I, Sakura T, Tsuzuki M, Maeda Y, Usui N, Kato M, Okumura H, Kyo T, Ueda Y, Kishimoto Y, Yagasaki F, Tsuboi K, Horiike S, Takeuchi J, Iwanaga M, Miyazaki Y, Miyawaki S, Ohnishi K, Naoe T, Ohno R.: Intensified consolidation therapy with dose-escalated doxorubicin did not improve the prognosis of adults with acute lymphoblastic leukemia: the JALSG-ALL97 study. *Int J Hematol.* 2010, 92(3):490-502.
- 5) Ohtake S, Miyawaki S, Fujita H, Kiyoi H, Shinagawa K, Usui N, Okumura H, Miyamura K, Nakaseko C, Miyazaki Y, Fujieda A, Nagai T, Yamane T, Taniwaki M, Takahashi M, Yagasaki F, Kimura Y, Asou N, Sakamaki H, Handa H, Honda S, Ohnishi K, Naoe T, Ohno R.: Randomized study of induction therapy comparing standard-dose idarubicin with high-dose daunorubicin in adult patients with previously untreated acute myeloid leukemia: JALSG AML201 Study. *Blood.* 2010 Aug 6. [Epub ahead of print]
- 6) Hishizawa M, Kanda J, Utsunomiya A, Taniguchi S, Eto T, Moriuchi Y, Tanosaki R, Kawano F, Miyazaki Y, Masuda M, Nagafuji K, Hara M, Takanashi M, Kai S, Atsuta Y, Suzuki R, Kawase T, Matsuo K, Nagamura-Inoue T, Kato S, Sakamaki H, Morishima Y, Okamura J, Ichinohe T, Uchiyama T.: Transplantation of allogeneic hematopoietic stem cells for adult T-cell leukemia: a nationwide retrospective study. *Blood.* 2010, 116(8):1369-1376.

研究課題： HIV の感染防止、AIDS 発症防止に関する免疫学的基礎研究

課題番号： H21-エイズ一般-008

研究代表者： 森 一泰（国立感染症研究所エイズ研究センター 主任研究官）

研究分担者： 松尾和浩（日本ビーシージー製造㈱ 研究開発部長）、駒野 淳（国立感染症研究所エイズ研究センター 主任研究官）、高橋秀宗（国立感染症研究所 感染病理部 室長）、庄司省三（熊本大学薬学部 名誉教授）、玉村啓和（東京医科歯科大学生体材料工学研究所 メディシナルケミストリー分野 教授）、志田壽利（北海道大学遺伝子病制御研究所 感染病態分野 教授）、三浦智行（京都大学ウイルス研究所 感染症モデル研究センター 准教授）、保富康宏（医薬基盤研究所 霊長類医学研究センター センター長）、高橋秀実（日本医科大学 微生物学免疫学教室 教授）、高久 洋（千葉工業大学工学部 教授）

1. 研究目的

包括的なエイズ対策において、エイズワクチンの開発は根本的な解決法であり、不可欠である。本研究では、細胞性免疫とともに液性免疫を志向した特異的免疫、さらには自然免疫の概念まで加え、ワクチンによる包括的なHIV感染予防の道を探ることを目的とする。

2. 研究方法

(1) ベクター BCG ベクターの免疫原性向上のため、変異型リステリオライシン O (LLO) と HIV Gag 共発現 BCG 株、高コピープラスミド使用により Gag 発現を増強した組換え BCG 株および Env gp120 を安定に高発現する BCG 株をマウスに接種し、HIV 特異的細胞性免疫誘導能を MHC ペンタマーおよび IFN- γ ELISPOT 法により解析した。またサルでの防御能評価のため種々の SIV 遺伝子の BCG への組み込みを行った (松尾)。SIV の gag と Ag85B の共発現、Ag85B 単独発現、HIV Env と CD40Lm 共発現、CD40Lm 単独発現する各種組み換え VV_{m8 Δ} を作製した。上記 rVV を種々の組み合わせでマウスに DNA ワクチンと prime/boost 法で免疫し、IFN- γ ELISPOT, FACS による分析、細胞障害活性、シュードウイルスの系を用いて抗 HIV 中和抗体の誘導を測定した (志田)。(2) 中和抗体 汎中和能を持つ 20 年以上という長期間にわたりエイズ発症から免れている日本人 HIV-1 感染者から HIV-1 に対する中和抗体クローン分離を試みた (駒野)。コレセプター CXCR4 の N 末端領域と細胞外ループ、gp120 のヘアピン領域、gp41 の N 末側と C 末側の合成ペプチド三量体を基に合成した抗原分子の比較実験による評価を行った。抗体誘導能、誘導された抗体の中和活性を調べた。また、抗 V3 抗体に対して相乗作用をもつ CD4 ミミック等を合成した (玉村)。免疫抗原として gag 及び env 発現ベクター由来のウイルス様粒子の脂質膜を除いて Core-env 抗原を得た。BALB/c マウスへ 3 回免疫し、11 種のモノクローナル抗体 (mAb) を選出誘導した。サブタイプ env を有する、HIV-1 シュードウイルスを使用し中和試験を行った (高橋)。Senju vaccine をアカゲザル (♀) 鼠頸部皮下に multiple antigen を注射により投与するか、もしくは腸溶カプセルに封入後経口投与し、血清、糞便、および膈分泌液中の抗 ENV 抗体と抗 CCR5 抗体価を調べ、それらの抗体の抗ウイルス効果を評価した。さらに、抗 ENV 抗体を常時粘膜面に誘導するための交叉免疫抗原単独でブーストを行い、抗 ENV 抗体の誘導能を調べた (庄司)。(3) アジュバント・自然免疫 SHIV の nef 欠損ウイルス (SHIV Δ nef) に抗酸菌分泌抗原 Ag85B を組み込み SHIV-Ag85B を作製した。この SHIV-Ag85B およびオリジナルの SHIV をカニクイザルに接種し、ウイルス学的ならびに免疫学的な比較を行った (保富)。HIV-1 gag 発現バキュロウイルス (BV) を作製し、マウス骨髄由来樹状細胞 (BMDC) へ感染させた。感染後、各種サイトカイン産生を ELISA にて定量した。HIV-1 gag 発現 BV 感染 BMDC と

脾臓細胞を共培養し、NK 細胞および CD8⁺T 細胞の活性化マーカー CD69 の発現を検討した。(高久)。HAART 療法により末梢血液中のウイルス量が検出感度以下となった症例において、回腸末端部から細胞を分離採取し、HIV 感染細胞を調べると共に、粘膜に潜伏するウイルスの V3 領域を遺伝子レベルで解析した (高橋)。(4) 生ワクチンモデル 糖鎖変異 SIV 生ワクチンが誘導する極めて強力な感染防御宿主応答を明らかにするために CD8⁺細胞依存性免疫の役割について検討した。まずチャレンジ感染制御ザルへの CD8 抗体投与実験を行い CD8⁺細胞依存性について検討した。次に感染防御に働く CD8⁺細胞の性質・機能として SIV 抗原特異性およびサイトカイン応答性と感染制御との相関について調べた。さらに ex vivo での SIV 感染阻害機能を解析した (森)。(5) ワクチン評価モデル ゲノム改変により種々の病態を呈する SIV/SHIV を得た。霊長類モデル系の感染実験により粘膜部位における防御効果や治療効果の評価基準を確立する (三浦)。異サブタイプチャレンジ実験で出現した高病原性のサブタイプ間組み換え SIV のクローン化と短期発症モデルの作成を行った (森)。(倫理面への配慮)

人材料の取り扱いに関しては、各研究施設の倫理委員会における指針をもとに研究を行う。動物実験は、各施設の諸内規や作業方式に従って、動物愛護の精神で動物に与える苦痛の軽減と排除に勤める。

3. 研究結果

(1) ベクター マウスでの Gag および Env 特異的 CD8 陽性細胞誘導能解析のための MHC pentamer 測定系を確立した。Gag と変異型 LLO 共発現 BCG 株および Env gp120 発現株の免疫誘導能評価実験が進行中である。また SIV_{mac} 由来 Gag (コドン最適化)、Env (gp120) および Rev-Tat-Nef 融合蛋白質を安定に発現する組換え BCG 株の構築に成功した (松尾)。p7.5 promoter 下流で CD40Lm を発現する m8 Δ と Env 発現 m8 Δ を混合して免疫することにより IFN- γ 産生細胞、抗 Env 抗体誘導の両方が増強された。しかし、Ag85B は効果がなかった (志田)。(2) 中和抗体 長期末発症 HIV-1 感染者から PBMC を分離して、EBV-transformed B-LCL を作出し、HIV-1 NL4-3 を中和する培養上清を有する細胞から抗体遺伝子を回収し遺伝的解析を行った。複数の感染者から独立したクローンを得たにもかかわらず抗体遺伝子の選択には一定の指向性があることが明らかとなった。(駒野)。CXCR4 の N 末端領域と細胞外ループにおいて、顕著な抗体誘導、およびその誘導された抗体に中和活性を示すものがあつた。gp41 の C 末側の三量体は N 末側の三量体と同様な抗体誘導および抗体の中和活性を示した。gp120 のヘアピン領域については Fab ファージディスプレイライブラリーから、これを認識する mAb 得た。種々の CD4 ミミック等を合成し、抗 V3 抗体の認識を増強させることを見出した (玉村)。Core-env 粒子の免疫により誘導した mAb 群の中に、サブ

タイプ A, B, C, D, AE, AG の env シュードウイルスに対し、1 ug/mL で ID50 (50% inhibitory dose) 以上の阻害を示す抗体を見出した (高橋)。Senju vaccine をアカゲザル(♀)に経皮もしくは経口免疫した結果、gp140 および CCR5 に対する抗体の誘導が確認できた。また得られた抗血清は SIVmac239 の感染を阻害した。特に、Senju vaccine を経口免疫することにより粘膜面に CCR5 に対する IgA を誘導でき、その IgA は SIVmac239 の感染を阻害した。さらに、Senju vaccine を免疫することにより誘導された抗 ENV 抗体を持続的に誘導するための交叉免疫抗原を見出した (庄司)。(3) アジュバント・自然免疫 SHIV-Ag85B は親株 SHIV に比べ血漿中のウイルス量のピークが低く、早期に検出感度以下となった。SIV 特異的な細胞性免疫の誘導が非常に強く感染初期から認められ、感染の制御における細胞性免疫の関与が示唆された (保富)。HIV-1 gag 発現 BV 感染 BMDC に MHC I、MHC II、CD80 および CD86 の発現上昇が認められ、IFN- α 、IL-6 および IL-12 の産生が認められた。HIV-1 gag BV 感染 BMDC と脾臓細胞を共培養により NK 細胞および CD8⁺T 細胞の活性化マーカー CD69 の発現上昇が認められたことからワクチンへの応用が可能と考えられる (高久)。HAART 治療により血中 HIV が消失した状態においても、小腸粘膜組織では CD4⁺T 細胞ではなく、自然免疫を担う CD4⁺DC や NKT 細胞に HIV を確認した。また、HIV V3 の解析から R5-HIV のみならず X4-HIV が確認され、それぞれの細胞内で亜群化 (compartment) されていた (高橋)。(4) 生ワクチンモデル チャレンジ感染を制御した生ワクチン感作ザル 10 頭に CD8 抗体を投与し感染制御への影響を調べた。3 頭ではチャレンジ SIV は検出されなく感染防御が確認された。7 頭では CD8⁺細胞依存性に一過性の SIV 増殖が起こった。一方、SIVsm543 チャレンジ実験では、11 頭中 4 頭で慢性期において感染制御が破綻した。感染制御と関連する CD8⁺細胞として末梢血中の IL-15 反応性の CD8⁺T 細胞と NK 細胞が同定された。しかし SIV 特異的 CD8⁺T 細胞と感染制御との相関は見られなかった (森)。(5) ワクチン評価モデル 相同組換えを利用して簡便で効率の良い新規組換えウイルス作製技術を開発した。この方法により CCR5 指向性のクレード C 型新規 SHIV-97ZA012 を作製した。SHIV-97ZA012 は末梢血単核球で SIVmac239 と同程度に複製した。SHIV-97ZA012 は、接種したアカゲザル 3 頭全てで急性期に高いピーク (10^6 - 10^8 copies/ml) を伴って複製した。肺胞 (エフェクターサイト) 中での CD4 陽性 T 細胞割合の減少 (40~50% から 8~25%) が確認された。(三浦)。

4. 考察

rBCG, rVV ベクターはその安全性から開発中の他ベクターと同等以上の評価が期待される。広域中和抗体の期待は高い。今後、広域中和抗体の作成、ウイルス多様性に対する効果の検討、ワクチンとしての抗原発現など困難な課題が待ち構えている。感染制御に働く CD8⁺細胞の性質・機能の解明は細胞性免疫誘導ワクチンの効果増強への応用が期待される。自然免疫と獲得免疫を調節する DC 等の性質・機能制御等の解明が求められる。分担研究者の個々のプロジェクトはワクチン開発に繋がるそれぞれの課題を担うことから、今後のワクチン開発にとって、貴重な研究資料となるであろう。

5. 自己評価

1) 達成度について

マウスでの Gag および Env 特異的 pentamer assay 系を確立できた。LLO と Gag 共発現 BCG 株および Env 発現株の評価については年度中に結果が出る予定である。SIV Gag, Env および Rev-Tat-Nef 融合蛋白質高発現 BCG 株を構築し、サル実験への供給を可能にした (松尾)。VVm8 Δ から CD40Lm を発現させることにより、細胞性、液性免疫の両方に増強効果を示すことが分かった (志田)。中和抗体の誘導には特定の germ line が選択される必要がある事が強く示唆された。この情報はワクチン開発の基盤情報に繋がると期待される (駒野)。4 種の抗体誘導のアプローチにおいて、いずれも結果が順調に出てきている (玉村)。Core-env 粒子構造を有する抗原は広域中和抗体誘導において有効であったと考える。また誘導した mAb 群の多くは Fc レセプターによる中和能のエンハンスが認められ、生理学的に有用な抗原である可能性があると考えた (高橋)。アジュバント活性を持つ異種タンパクを発現するウイルスを作製した。このウイルスの生体内での動向を検討していく。また、エイズウイルスの制御に細胞性免疫が重要であることがウイルスそのものにアジュバント活性を付加することで確認され、弱毒生ワクチンに関する新たな知見が得られると考えられた。(保富)。エイズ患者では末梢血のみならず粘膜組織における HIV 感染自然免疫担当細胞群を制圧することの重要性が判明し、当初の予測が正しいことが裏付けられた (高橋)。IL-15 反応性 T 細胞、NK 細胞のレベルと慢性期の感染制御との相関は、DC、NK 細胞等の自然免疫による獲得免疫の制御の重要性を示唆する。ワクチンに求められる自然免疫誘導の課題を示唆する。今後、感染制御の個体差を決定する遺伝的性質の同定を行う (森)。新規組換えウイルス作製技術の開発によりアカゲザルで良く増殖する CCR5 指向性の非クレード B 型 SHIV を短期間で新規に作製することができた。よりよいワクチン評価系の確立が期待できた (三浦)。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

現在、抗レトロウイルス薬の役割に大きな関心が向けられているが、エイズの世界的な蔓延をもっとも効率よく防ぐにはワクチンしかない。本研究班からの感染防御免疫に関する研究成果が感染予防ワクチン、感染制御治療法の開発につながる事が期待される。

3) 今後の展望について

HIV 感染制御には多重の宿主応答が働いていると推測される。個々の感染防御に働く宿主応答の解明と評価モデルでの検証を行うことにより有効な免疫治療、予防ワクチン開発の実現に貢献することが期待される。

6. 結論

班員の密な協力と情報交換のもと、HIV 感染予防ワクチンの開発研究を総合的に行った。特に、プライムブースト新規ベクター開発、広域中和抗体、アジュバント自然免疫、生ワクチンモデル、ワクチン評価モデルの研究を精力的に行い、有用な結果が得られた。

7. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

特許 志田 壽利 1 件、保富康宏 1 件

研究発表

研究代表者

森 一泰

- 1) Sugimoto C, Watanabe S, Naruse T, Kajiwara E, Shiino T, Umamo N, Ueda K, Sato H, Ohgimoto S, Hirsch V, Villinger F, Ansari A, Kimura A, Miyazawa M, Suzuki Y, Yamamoto N, Nagai Y, Mori K. Protection of Macaques with Diverse MHC Genotypes against a Heterologous SIV by Vaccination with a Deglycosylated Live-Attenuated SIV by Vaccination with a Deglycosylated Live-Attenuated SIV. *PloS ONE*. 5(7): e11678-e11691. 2010.
- 2) Naruse TK, Chen Z, Yanagida R, Yamashita T, Saito Y, Mori K, Akari H, Yasutomi Y, Miyazawa M, Matano T, Kimura A. Diversity of MHC class I genes in Burmese-origin rhesus macaque. *Immunogenetics*. 62(9): 601-611. 2010.

研究分担者

松尾和浩

- 1) Matsuo K, Yamamoto N. Paradigm change in immune correlation: cellular or humoral? *Expert Rev. Vaccines*. 9(9):985-987. 2010.
- 2) Yoshino N, Kanekiyo M, Hagiwara Y, Okamura T, Someya K, Matsuo K, Ami Y, Sato S, Yamamoto N, Honda M. Intradermal delivery of recombinant vaccinia virus vector DIs induces gut-mucosal immunity. *Scand. J. Immunol*. 72(2):98-105. 2010.

志田壽利

- 1) Mika Nagai-Fukataki, Takashi Ohashi, Iwao Hashimoto, Tominori Kimura, Yoshiyuki Hakata, Hisatoshi Shida. Nuclear and Cytoplasmic Effects of Human CRM1 on HIV-1 Production in Rat Cells. *Genes to Cells*. In press.
- 2) Xianfeng Zhang, Mariko Kondo, Jing Chen, Hiroyuki Miyoshi, Hajime Suzuki, Takashi Ohashi, Hisatoshi Shida. Inhibitory effect of human TRIM5a on HIV-1 production. *Microbes and Infection*. 12:768-777. 2010.

駒野 淳

- 1) Aoki T, Shimizu S, Urano E, Futahashi Y, Hamatake M, Tamamura H, Terashima K, Murakami T, Yamamoto N, Komano J. Improvement of lentiviral vector-mediated gene transduction by genetic engineering of the structural protein Pr55^{Gag}. *Gene Therapy*. 17(9):1124-33. 2010.
- 2) Hamatake M, Komano J, Urano E, Maeda F, Nagatsuka Y, Takekoshi M. Inhibition of HIV replication by a CD4-reactive Fab of an IgM clone isolated from a healthy HIV-seronegative individual. *Euro J Immunol*. 40(5):1504-1509. 2010.
- 3) Kariya Y, Hamatake M, Urano E, Yoshiyama H, Shimizu N, Komano J: A dominant-negative derivative of EBNA1 represses EBNA1-mediated transforming gene expression during the acute phase of Epstein-Barr virus infection independent of rapid loss of viral genome. *Cancer Sci*. 101(4):876-81. 2010 .
- 4) Urano E, Ichikawa R, Morikawa Y, Yoshida T, Koyanagi T, Komano J: T cell-based functional cDNA library screening for cellular regulatory genes of human immunodeficiency virus replication. *Vaccine, Vaccine*. 28 Suppl 2:B68-74. 2010.

高橋秀宗

- 1) Ichinohe T, Aina A, Nakamura T, Akiyama Y, Maeyama J, Odagiri T, Tashiro M, Takahashi H, Sawa H, Tamura S, Chiba J, Kurata T, Sata T, Hasegawa H. Induction of cross-protective immunity against influenza A virus H5N1 by an intranasal vaccine with extracts of mushroom mycelia. *J Med Virol*. Jan;82(1):128-37. 2010.
- 2) Ohtaki N, Takahashi H, Kaneko K, Gomi Y, Ishikawa T, Higashi Y, Kurata T, Sata T, Kojima A. Immunogenicity and efficacy of two types of West Nile virus-like particles different in size and maturation as a second-generation vaccine candidate. *Vaccine*. 28(40):6588-6596. 2010.

庄司省三

- 1) Misumi S, Inoue M, Dochi T, Kishimoto N, Hasegawa N, Takamune N, Shoji S: Uncoating of human immunodeficiency virus type 1 requires prolyl isomerase Pin1. *J Biol Chem*. 285:25185-25195, (2010).
- 2) Takamune N, Kuroe T, Tanada N, Shoji S, Misumi S. Suppression of human immunodeficiency virus type-1 production by coexpression of catalytic-region-deleted N-myristoyltransferase mutants. *Biol Pharm Bull*. 33:2018-2023 (2010).
- 3) Endo M, Gejima S, Endo A, Takamune N, Shoji S, Misumi S. Treatment of breast cancer cells with proteasome inhibitor lactacystin increases the level of sensitivity to cell death induced by human immunodeficiency virus