

## 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 横幕能行<sup>1</sup>、中山智之<sup>1</sup>、杉浦 亘<sup>1</sup>、安岡 彰<sup>2</sup>、  
福本 瞳<sup>3</sup>、菅野隆行<sup>3</sup>、佐多徹太郎<sup>3</sup>、新ヶ江 章友<sup>4</sup>、  
市川誠一<sup>4</sup>

<sup>1</sup>国立病院機構 名古屋医療センター

<sup>2</sup>長崎大学病院感染制御教育センター

<sup>3</sup>国立感染症研究所感染病理部

<sup>4</sup>名古屋市立大学大学院看護学研究科

### 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) が、この数年、MSMのHIV陽性者の増加とともに、漸増傾向にある。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) についての疫学調査を行った。まず、HHV-8関連疾患、75症例の臨床病理学的解析を行い、エイズ関連KSの極端な性差を明らかにし、日本に見られるHHV-8の遺伝子型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を示した。また、日本人MSM 227名におけるHHV-8抗体陽性率を調査し、27名 (11.9%) がHHV-8抗体陽性であることを明らかにした。この陽性率は欧米並みであり、対照群 (5%) よりも有意に高いことから、日本でもMSMの間でHHV-8感染が広がっていることが推察された。

### 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。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、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

- (1) 日本のKSの症例について臨床病理学的検討
- (2) 日本人MSMにおけるHHV-8抗体陽性率の調査の2点を行った。

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。HHV-8はKSだけでなく、

Primary effusion lymphoma (PEL) や多巣性キャッスルマン病 (Multicentric Castleman's disease: MCD) の一部の症例からも検出されている。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。そこで、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。

また、HHV-8のMSMにおける疫学調査も行った。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。日本人MSMにおけるHHV-8感染の疫学調査はほとんどなされていない

状態であり、日本人MSMにおけるHHV-8抗体陽性率の調査はKS予防、対策のための重要な基礎資料になる。

## 研究方法

### 1. 病理組織検体

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。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。

### 2. PCR法によるHHV-8遺伝子型の決定

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。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。

### 3. 血清検体

2011年に中部地域で開催された、MSMを対象とする無料匿名HIV検査会に来場し、同意の得られたMSM 227名の血液で、HIVなどの検査の残りの検体を用いた。また、対照群として、同性、同年齢、かつ、ほぼ同地域に居住する健常者の血清400人分を国立感染症研究所血清バンクから供与を受け、MSMの血清と同様の方法で検討した。

### 4. 血清中HHV-8抗体検査

血清中の抗HHV-8抗体検査は免疫蛍光染色法 (immunofluorescence assay, IFA) とEnzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) の2つの方法で行い、どちらかの方法で陽性であれば陽性とした。

### (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、228、303)

## 研究結果

### 1. 日本のKSの症例について臨床病理学的検討

HHV-8関連疾患75例を検討した。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、 $P < 0.01$ )。

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。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。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)。これらの結果は、遺伝子型Dが非エイズ関連KSと関連性が高いことを示唆している。またCは日本に広く分布しており、Aはエイズ患者に広がっていることを示唆している。

### 2. 日本人MSMにおけるHHV-8抗体陽性率の調査

HIV無料検査会に来場し、HHV-8検査の同意が得られたMSM 227名のうち27名 (11.9%) がELISAまたはIFAで抗HHV-8抗体陽性であった。HIV、梅毒、HBV、HCVなどの検査結果との関連は認められなかった。400名の対照群血清も調査

した。対照群の構成はMSM群とほぼ同じ構成になるように数を揃えた。また、対照群の居住地も多くは中部地区で関東、関西が混ざる構成とした。結果は20名が陽性であり、対照群の陽性率は5%であった。MSM血清の値と比較したところ、統計学的有意差を持って、MSM群のHHV-8抗体陽性率が高いと判定された。(P=0.001629、カイ2乗検定)

## 考察

日本におけるHHV-8関連疾患の臨床病理学的特徴とHHV-8遺伝子型について調査した。日本のKS例の多くは男性同性愛者に発症したエイズ関連であり、非エイズ関連HHV-8関連疾患は主として高齢者に発症することが確認された。遺伝子型の解析の結果、遺伝子型Cが広く分布していること、Dが非エイズ関連KSと関連が深く、Aがエイズ患者の間で広がっていることが示唆された。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。一方、遺伝子型Aはエイズ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。

MSMに対するHHV-8の血清疫学調査は対照群をおいた日本人MSMの抗HHV-8抗体の陽性率に関する初めての調査である。調査の結果からは日本のMSMの間でHHV-8が広く感染していることが推定され、大変意義深い。11.9%という陽性率は欧米のMSMと変わらぬ陽性率であり、HHV-8が欧米各国と同様にMSMの間で広がっていることが予想される。また、前回の調査同様、HIV、HBV、HCV、梅毒の検査が行われた。これらの感染症とHHV-8の関連は認められなかったが、HHV-8の抗体陽性率は他の感染症よりも高く、HHV-8抗体検査がSTD感染の早期マーカーになる可能性を示している。

## 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。KS症例のHHV-8の遺伝子型の検索ではA, C, Dが検出され、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。また、日本のMSMにおけるHHV-8の感染率は約12%と欧米並みであることがわかった。この数値は対照群(5%)よりも高く、MSMの間でHHV-8感染が有意に広がっていることが予想された。感染経路の解明や、ワクチンなどの予防措置を検討する必要性が示唆された。

## 健康危険情報

なし。

## 研究発表

### 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) Yamamoto K, Ishikawa C, Katano H, Yasumoto T, Mori N: Fucoxanthin and its deacetylated product, fucoxanthinol, induce apoptosis of primary effusion lymphomas. *Cancer Lett* 2011 300:225-234.
- 7) Katano H, Kano M, Nakamura T, Kanno T, Asanuma H, Sata T: A novel real-time PCR system for simultaneous detection of human viruses

in clinical samples from patients with uncertain diagnoses. *J Med Virol* 2011 83: 322-30.

- 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 28:3325-3332.
- 9) 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 82:400-406.
- 10) 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 63:52-54.
- 11) Nakano K, Katano H, Tadagaki K, Sato Y, Ohsaki E, Mori Y, Yamanishi K, Ueda K: Novel monoclonal antibodies for identification of multicentric Castleman's disease; Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-encoded vMIP-I and vMIP-II, *Virology* 2012, in press
- 12) Goto H, Kariya R, Shimamoto M, Kudo E, Taura M, Katano H, Okada S: Antitumor effect of berberine against primary effusion lymphoma via inhibition of NF-kappaB pathway, *Cancer Sci* 2012,
- 13) Nakai H, Sugata K, Usui C, Asano Y, Yamakita T, Matsunaga K, Mizokuchi Y, Katano H, Iwatsuki K, Yoshikawa T: A case of erythema multiforme associated with primary epstein-barr virus infection, *Pediatr Dermatol* 2011, 28:23-25
- 14) Fukumoto H, Kanno T, Hasegawa H, Katano H: Pathology of Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus Infection, *Front Microbiol* 2011, 2:175

#### 和文

- 1) 片野晴隆, 佐多徹太郎: 「Primary effusion lymphoma原発性滲出液リンパ腫」 癌診療指針のための病理診断プラクティス リンパ球増殖疾患 中山書店 大阪 2010. 11
- 2) 岡本 尚, 木村 宏, 片野晴隆, 塚田訓久, 今井健一, 高折晃史: 「エイズ発症の危険因子としての微生物間相互作用」 *日本エイズ学会誌* 12:59-66 2010
- 3) 岡田誠治, 片野晴隆, 萩原将太郎, 永田安伸, 安岡 彰: 「HIV-1感染と悪性腫瘍」 *日本エイズ学会誌* 12:81-88 2010
- 4) 片野晴隆: 「Epstein-Barr ウイルス (EBV) とカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV,

HHV-8)」 特集 ヘルペスウイルスのウイルス学 ウイルス 60: 237-246 2010

- 5) 大田泰徳, 比島恒和, 望月 眞, 児玉良典, 片野晴隆: カレントトピックス エイズ関連リンパ腫の病理診断 病理と臨床 2012 30: 195-203.

#### 学会発表

##### 海外

- 1) Katano H, Sakamoto K, Asanuma H, Nakamura T, Kanno T, Sata T: Immune response to intranasal and intraperitoneal immunization with Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in mice 35th International Herpesvirus Workshop. (Salt Lake City, U.S.A.) 2010.7.

##### 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
- 6) 坂本康太, 福本 瞳, 佐藤由子, 水谷隆太, 佐多徹太郎, 片野晴隆: ヒトヘルペスウイルス8関連疾患におけるウイルスmicro RNAの発現 第58回日本ウイルス学会学術集会 2010年11月 徳島
- 7) 菅野隆行, 佐多徹太郎, 片野晴隆: 自発的再活性化が亢進したKSHV感染細胞株の解析 第58回日本ウイルス学会学術集会 2010年11月 徳島
- 8) 片野晴隆, 坂本康太, 武内恵梨香, 菅野隆行,

- 福本 瞳、佐多徹太郎：HHV-8がコードするマイクロRNA miRK12-3はRapGef2の発現を抑制し潜伏感染維持に貢献する 第58回日本ウイルス学会学術集会 2010年11月 徳島
- 9) 福本 瞳、坂本康太、佐多徹太郎、片野晴隆：ヒトヘルペスウイルス8がコードするmiRNAの血清診断への応用 第58回日本ウイルス学会学術集会 2010年11月 徳島
- 10) 片野晴隆、坂本康太、福本 瞳、菅野隆行、佐藤由子、佐多徹太郎：HHV-8がコードするmiRNAの発現とその診断への応用 第7回EBウイルス研究会 2010年7月 札幌
- 11) 片野晴隆、坂本康太、福本 瞳、菅野隆行、佐藤由子、佐多徹太郎：HHV-8がコードするmiRNAの発現とその診断への応用 第25回ヘルペスウイルス研究会 2010年6月 浜松
- 12) 菅野隆行、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遺伝子型解析 第99回日本病理学会総会 2010年4月 東京
- 13) 片野晴隆：KSHV関連疾患の病理とウイルスがコードするmiRNA 第100回日本病理学会総会 横浜 (2011.4)
- 14) 片野晴隆、横幕能行、菅野隆行、福本 瞳、中山智之、新ヶ江章友、杉浦 互、市川誠一、安岡 彰：日本人MSMにおけるカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV/HHV-8) 抗体保有率について 第25回 日本エイズ学会学術集会総会 東京 (2011.11)
- 15) 片野晴隆、坂本康太、関塚剛史、黒田 誠：KSHVがコードしている16 baseのunusual small RNAの発現 第8回 EBウイルス研究会 大阪 (2011.7)

#### 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。

当院を受診した新規HIV感染者の受診契機を7年間調査した。そのうちSTDを契機にHIV感染症が判明した患者は、5～30%であった。また初年度はパイロット調査として、福岡市内のSTD診療9施設でのアンケートを行い、2年度にSTD診療および消化器科専門診療25施設でのアンケートを行った。その結果、総受診者数は4883人であった。STDを契機にHIV抗体検査を勧めた患者数は、216人であり、うち177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負担費用や保険適応の明確化、陽性判明時の患者への対処方法、保健所での検査を勧めるパンフレットをどのように広く配布するかなど主な今後の課題として指摘された。

また早期発見に寄与する検査値として、高ガンマグロブリン血症、血清HHV-8と血小板数および血清尿酸値と新規HIV感染者との関連性を調査し、各々の関連性が認められた。

### 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。

### 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点を中心に検討を行った。

#### 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、肝染判明契機としてのSTDを平成17年から平成23年までの過去7年間を引き続き調査した。

##### (2) STDクリニックおよび消化器科専門施設におけるHIV検査の実態

福岡市内にてSTD診療を行っている25施設（うち、消化器科専門は2施設）での年間STD患者受診者数、HIV検査を勧めた例数および契機の多施設調査を行った。

2) 早期発見に寄与する検査値異常の解析

(1) 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ヵ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。

(2) 血清HHV-8と血小板数の解析

HIV感染症においては特発性血小板減少性紫斑病の合併がよく知られている。このうちHIV感染に合併しやすいHHV-8感染との関連について解析を行なった。

ある月の当院通院中の患者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と血小板数の関連を検討した。

(3) 血清尿酸値と新規HIV感染者との関連性

過去4年間に初診時からART導入までの血清尿酸値の最高値とその時点でのCD4陽性T細胞数およびHIVRNA量、またART導入後にHIVRNA量が40copies/mL未満の時点での血清尿酸値を比較検討した。

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

新規HIV感染者のうちSTDを契機に感染が判明した例数は5~30%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、クラミジア尿道炎、B型肝炎、淋菌性尿道炎、伝染性軟属腫の順であった(図1)。

(2) STDクリニックおよび消化器科専門施設におけるHIV検査の実態

25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195.3±413.9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、216人(平均8.6±14.1人)であり、うち177人が検査を行い1名陽性が判明した。STDの受診

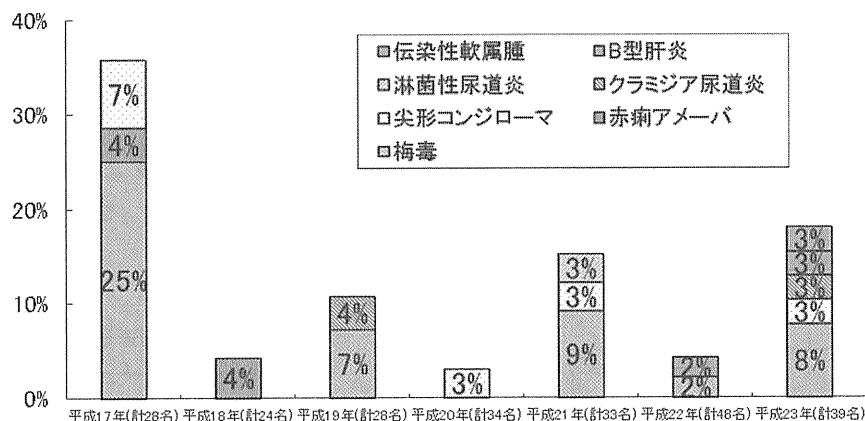


図1 新規HIV感染における感染判明契機としてのSTDの割合

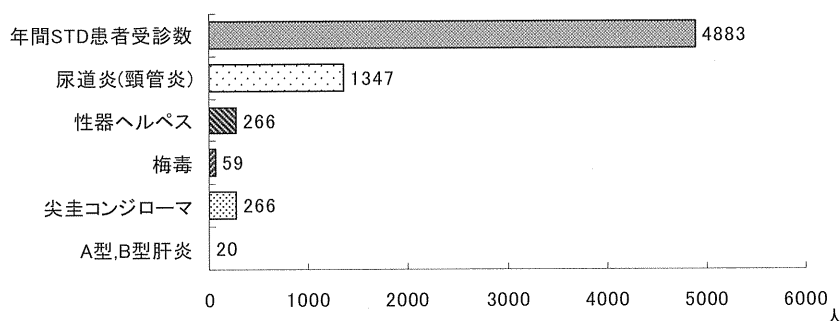


図2 STDクリニックおよび消化器科専門25施設のアナケート結果



契機としては、尿道炎（頸管炎）が最多であった（図2、3）。尿道炎で原因が判明した病原体のうち最も多かったのは、クラミジア感染症で57.5%であったが、淋菌性との合併例も10%程度認めた（図4）。

2) 早期発見に寄与する検査値異常の解析

(1) 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（ $\geq 20\%$ ）と有意差をもって認めた（図5）。

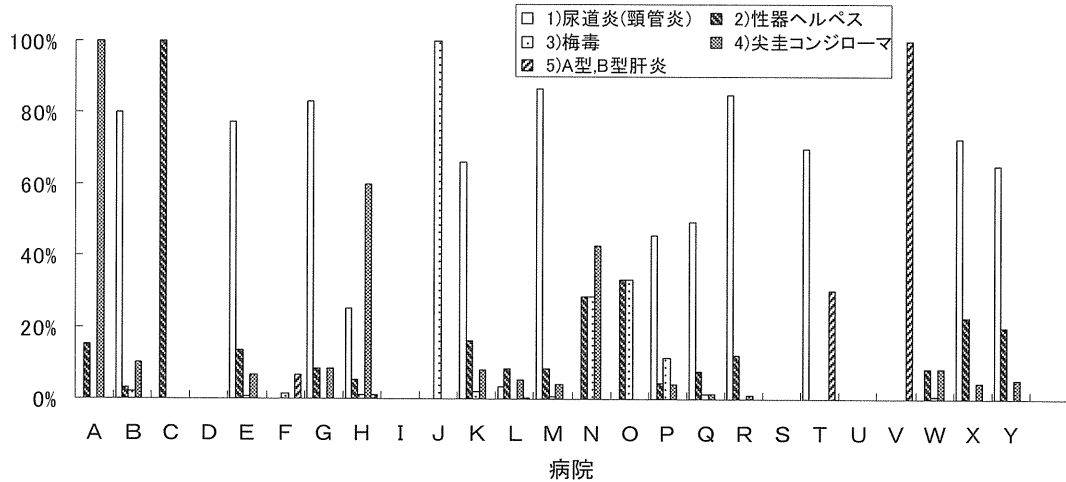


図3 各施設でのSTDの内訳

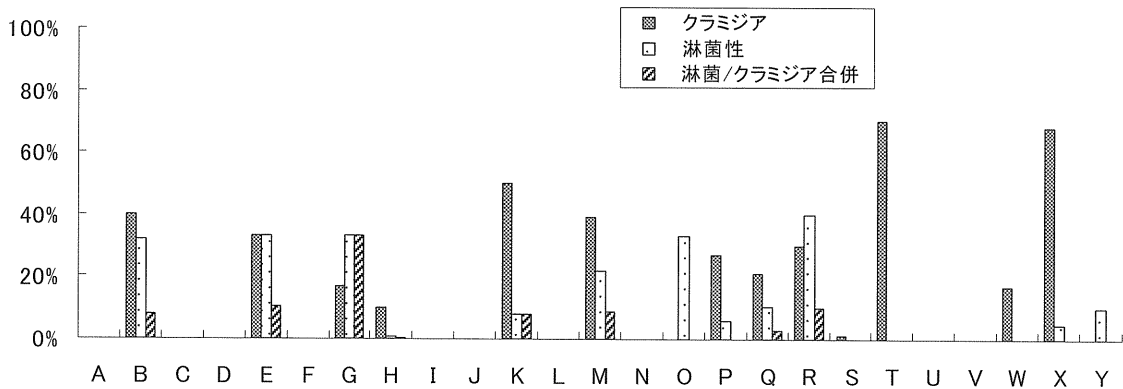


図4 各施設での尿道炎の原因菌

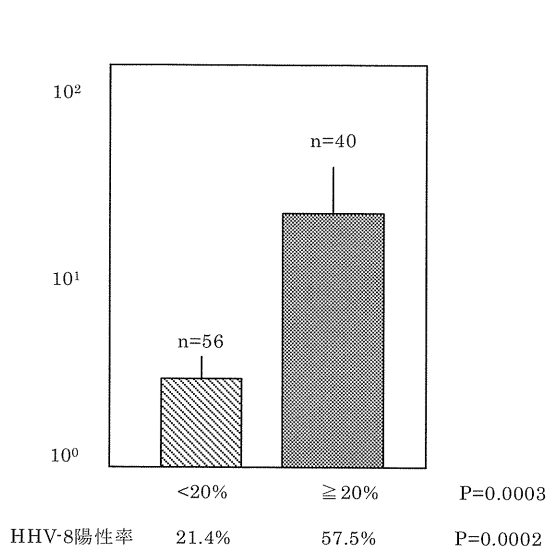


図5 HHV-8 DNA ( $/10^6$  cells) と高ガンマグロブリン血症

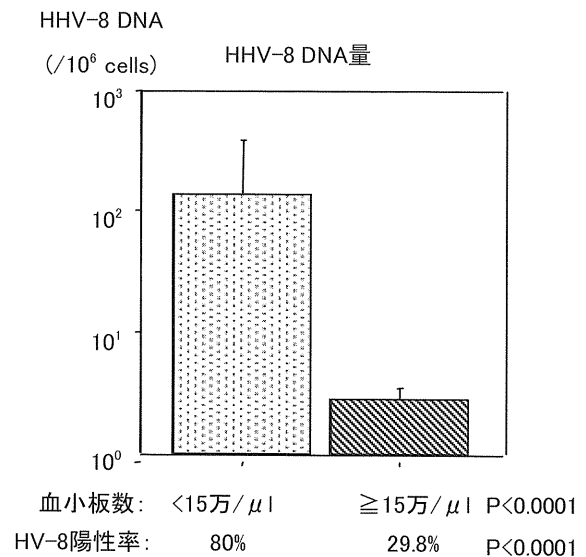


図6 血小板数15万/ $\mu</math>l で分けたHHV-8DNA量との関係$

(2) 血清HHV-8と血小板数の解析

ある月における当院通院中の患者数は125名であり、血清HHV-8陽性率は28.8%であった。血小板低値 ( $<15 \times 10^4 / \mu\text{L}$ ) の患者では、血清HHV-8値は血小板正常値の患者より有意に高く、血清HHV-8陽性率は80%であった (図6)。また血清HHV-8陽性者では陰性者と比較し、有意に血小板数は低値であった (図7)。

(3) 血清尿酸値と新規HIV感染者との関連性

ART導入前では血清尿酸値は、喫煙および飲酒と相関は認めなかったが、BMIとの相関を認めた。

ART導入前に高尿酸血症を認めた患者数は18名 (23%) であり、ART導入後HIVRNA量が40copies/mL未満の時点での血清尿酸値が正常化したのは12名 (67%) であった (図8)。ARTの内容による、血清尿酸値の変化に有意差は認めなかった。

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。

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、216人であり、うち177人が検査を行い1名陽性が判明した。しかし25施設での年間総受診者数は4876名であり、HIV抗体検査を勧めた患者数は4.5%にも満たなかった。この原因および問題点としては、STD患者への抗体検査の負担費用の無料化や保険適応の明確化 (HIV抗体検査の実施回数が多いと査定にあう)、また同意取得の困難さが挙げられた。さらに抗体検査推進の方策としては、HIV感染の疑いがあれば検査が行える環境を整えること、関連機関にパンフレットを広く配布し、保健所での検査を勧めること、学校での性教育で性病の存在と予防法を徹底すること等が挙げられた。以上のような原因や問題点が解決されることで、今後STDを契機にHIV抗体検査を勧める施設が多くなり、さらなるHIV感染者を早期に発見できると推測された。

また、早期発見に寄与する検査値異常の解析としてのまたHIV患者では高ガンマグロブリン血症が約30%と多く血清HHV-8と血小板数に相関関係を認めてられた。血清尿酸値と新規HIV感染者との関連性においては、ART導入前の血清尿酸値の平均は基準範囲ではあったが、約23%で高尿酸血症を認めた。またART導入までに高尿酸血症を認めた18名のうち12名は、ART導入によりHIVRNA量が40copies/mL未満時点での血清尿酸値は正常化し、全体的にも有意差を持って血清尿酸値の低下を認めた。

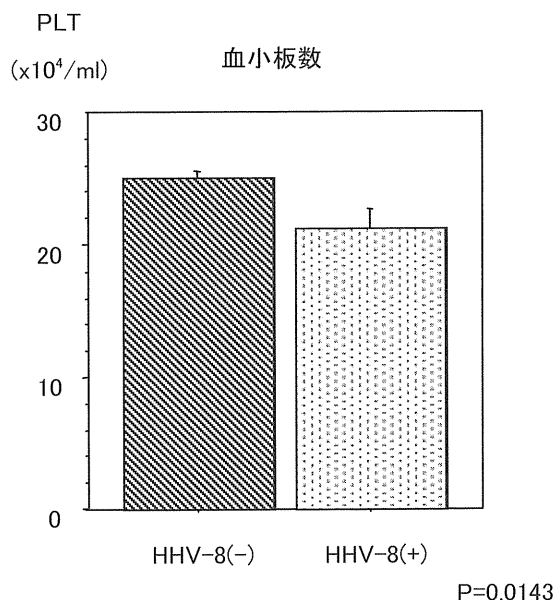


図7 HHV-8の有無と血小板数との関係

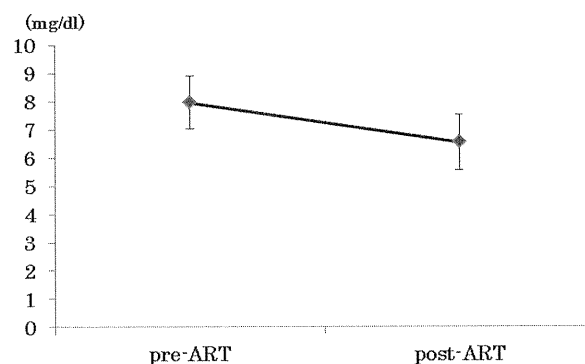


図8 ART導入前に高尿酸血症を認めた18名の経過

## 謝辞

本実態調査アンケートは福岡市内のSTDクリニックを含む関連施設の協力により継続することができた。御多忙の中、アンケートに御協力頂いた事に心より感謝申し上げます。

## 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クリニック受診を契機にHIV感染が判明することもあった。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および血小板減少を認めた。またHIV感染者においては、治療前に高尿酸血症を認めることが多く、治療により改善することが認められたが、非感染者と比較してそれほど有意に血清尿酸値が高いわけではなく、残念ながら血清尿酸値が高いだけでは早期診断の助けにはならないと考えられた。なおHIV感染者における高尿酸血症の原因は不明である。

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：宇野健司<sup>1</sup> 善本英一郎<sup>2</sup>

<sup>1</sup>奈良県立医科大学感染症センター

<sup>2</sup>奈良厚生会病院感染制御室

### 研究要旨

免疫再構築症候群（immune reconstitution inflammatory syndrome：IRIS）の発症機序におけるTh1/Th2バランスの役割を検討した。新規に抗HIV治療を開始したHIV感染者28名の末梢血を用いて、CD4<sup>+</sup>細胞内のIFN- $\gamma$ とIL-4を染色後フローサイトメトリーで測定した。抗HIV治療開始3ヵ月以内にIRISを発症しなかった症例26名では抗HIV治療開始時に比べ1、3ヵ月後のTh1/Th2比が有意に低下していた。1ヵ月後に抗酸菌によるIRISを発症した2例では抗HIV治療開始前に比べ1ヵ月後（IRIS発症時）のTh1/Th2比が著明に上昇していた。帯状疱疹とGraves病のIRISを発症した症例では発症時にもTh1/Th2比の上昇はなかった。以上から、抗酸菌によるIRISの発症ではTh1/Th2バランスが関与する可能性が示唆された。

MAC症によるIRIS症例の経験がある14施設に調査票を送付し、臨床像・臨床経過に関する情報を収集、解析した。60例（男性57例・女性3例、平均年齢40.0歳）の情報を収集した。IRIS発症前にMAC症を発症していた症例は19例（32%）で、IRIS発症時にMAC症治療中が17例、予防中が14例、中断中が2例、実施なしが27例であった。ART開始からIRIS発症までの期間は平均49.9日（4～360日）であった。IRISの病型は播種型18例、リンパ節炎型19例、肺感染型17例などであった。IRISの対応として、副腎皮質ステロイド薬は25例で使用され、ARTは12例で中断されていた。転帰は3例が死亡したが、MAC症が死亡原因であったのは1例のみであった。最終観察時に2年以上のIRISへの対応が必要であった症例は14例あり、7例がリンパ節炎型であった。

66名のHIV診療医に対して日と見合併症治療後の抗HIV治療導入時期を調査し、1ヵ月以内を「早期導入」、1ヵ月以降を「待機導入」して集計した。早期導入と考える者は、非結核性抗酸菌症が47%、サイトメガロウイルス感染症が45%、ニューモシスチス肺炎が38%、結核症が44%、クリプトコッカス症が33%、カポジ肉腫が77%であった。平成17年度の調査結果と比較すると、いずれの疾患も合併症の安定後に抗HIV治療を導入すると考えている者が減少し、早期導入の傾向になっていた。

平成20年度に改訂した「免疫再構築症候群 診療のポイントVer.2」を再改訂する形で、「免疫再構築症候群 診療のポイントVer.3」を作成し、全国のエイズ診療拠点病院診療医宛に送付した。また、奈良県立医科大学感染症センターホームページにも掲載し、他施設のホームページでリンクしてもらった。

研究目的

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、免疫再構築症候群（immune reconstitution inflammatory syndrome：IRIS）発症におけるTh1/Th2バランスの役割について考える。

わが国では *Mycobacterium avium complex* (MAC) 症によるIRISの頻度が高く、しかもその対応に難渋することが多い。今回は長期経過も含めたMAC症によるIRISの臨床像をより詳細に解析するために、多施設での調査を実施する。

海外では日和見感染症治療後に抗HIV治療導入を遅らせるとAIDS指標疾患の発症や死亡率が高くなるため、抗HIV治療の早期導入を勧める報告<sup>1,2)</sup>がみられるようになってきている。そこで、わが国のHIV診療医が、免疫不全の進行時に発症した日和見感染症の治療開始後抗HIV治療をどの時期に導入したら良いと考えているかについて調査する。

HIV診療医へのIRISに関する情報提供不足の可能性があり、情報提供の方法を考える。

研究方法

1) 新規に抗HIV治療を開始したHIV感染者28名を対象として、治療開始前と1ヵ月後、3ヵ月後、IRIS発症時にTh1/Th2バランスを測定した。Th1/Th2バランスは、CD4<sup>+</sup>細胞内のinterferon(IFN) - $\gamma$ とinterleukin(IL) -4を識別する方法を用いた。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。

対象の平均年齢は40.4歳（26～72歳）で、男性22例・女性6例であった。AIDS症例は10例で、抗HIV治療開始前の平均CD4<sup>+</sup>数は163/ $\mu$ L（2～357/ $\mu$ L）、平均log HIV-RNA量は4.59コピー/mL（3.08～5.73コピー/mL）であった。IRISは抗HIV治療開始後5ヵ月目の帯状疱疹、33ヵ月目のGraves病、1ヵ月目の肺非結核性抗酸菌症（*Mycobacterium kansasii*）、1ヵ月目の結核症の4例に発症した。

2) MAC症によるIRISの臨床像・臨床経過を明らかにするために、調査票を作成し、14施設に送付した。調査内容は、IRIS発症前のMAC感染症の有無、IRIS発症時のMAC感染症治療・予防状況、IRISでのMAC感染症の病型、抗HIV治療開始からIRIS発症までの期間、IRISへの対応およびIRISの転帰などであった。

3) わが国の16施設のHIV診療医66名に対して、免疫不全進行後に日和見合併症を発症したHIV感染者に対する抗HIV治療の開始時期に関する調査票を送付、回収した。

4) 厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業「重篤な日和見感染症の早期発見と最適治療に関する研究」班（主任研究者：安岡 彰）で平成20年度に改訂した「免疫再構築症候群 診療のポイントVer.2」を参考にして、情報提供の方法等について検討した。

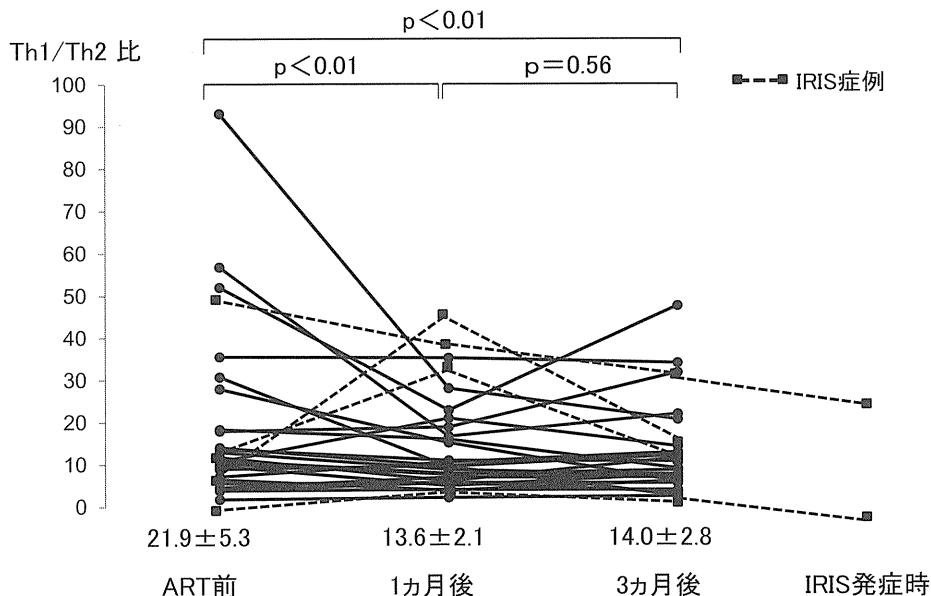


図1 抗HIV治療前後と免疫再構築症候群発症時のTh1/Th2比

## 研究結果

1) 抗HIV治療開始3ヵ月以内にIRISを発症しなかった26例でTh1/Th2比の推移をみると、治療開始前20.0、1ヵ月後12.6、3ヵ月後13.1と有意に低下していた ( $p < 0.01$ )。1ヵ月後に抗酸菌によるIRISを発症した2例では治療開始前が各々7.1、12.5で、1ヵ月後 (IRIS発症時) が各々46.1、33.2とそれぞれ著明に上昇していたが、帯状疱疹とGraves病のIRISを発症した症例では発症時にもTh1/Th2比の上昇はみられなかった (図1)。

2) 60例 (男性57例・女性3例、平均年齢40.0歳) のMAC症-IRIS症例を集積した。

IRIS発症時にMAC症の治療中が17例 (28%)、予防中が14例 (23%)、中断中が2例、実施なしが27例であった。IRISの病型は播種型18例、リンパ

節炎型19例、肺感染型17例、消化管感染型4例、その他2例であった。抗HIV治療開始からIRIS発症までの期間は、平均49.9日 (4~360日) で、42例 (70%) は抗HIV治療開始後30日以内、53例 (88%) は3ヵ月以内にIRISを発症していた。CD4<sup>+</sup>数は抗HIV治療開始時が  $22.0 \pm 23.2/\mu\text{L}$ 、IRIS発症時が  $110.9 \pm 89.9/\mu\text{L}$  であり、HIV-RNA量は抗HIV治療開始時よりも低下していた。

IRISの対応として、MAC症の治療は29例で新たに開始され、13例で薬剤追加、8例で薬剤変更、9例で継続されていた。副腎皮質ステロイド薬は25例 (42%) で使用され、抗HIV治療は12例 (20%) で中断されていた (表1)。転帰は3例が死亡したが、死亡原因がMAC症であったのは1例 (2%) のみであった。最終観察時に2年以上のIRISへの

表1 MAC症による免疫再構築症候群の病型別にみた経過

	播種型	リンパ節炎型	肺感染型	消化管感染型
1年以上のIRIS対応	4 / 18	8 / 19	5 / 17	1 / 4
18 / 60 (30%)	(22%)	(42%)	(29%)	(25%)
2年以上のIRIS対応	2 / 18	7 / 19	4 / 17	1 / 4
14 / 60 (23%)	(11%)	(37%)	(24%)	(25%)

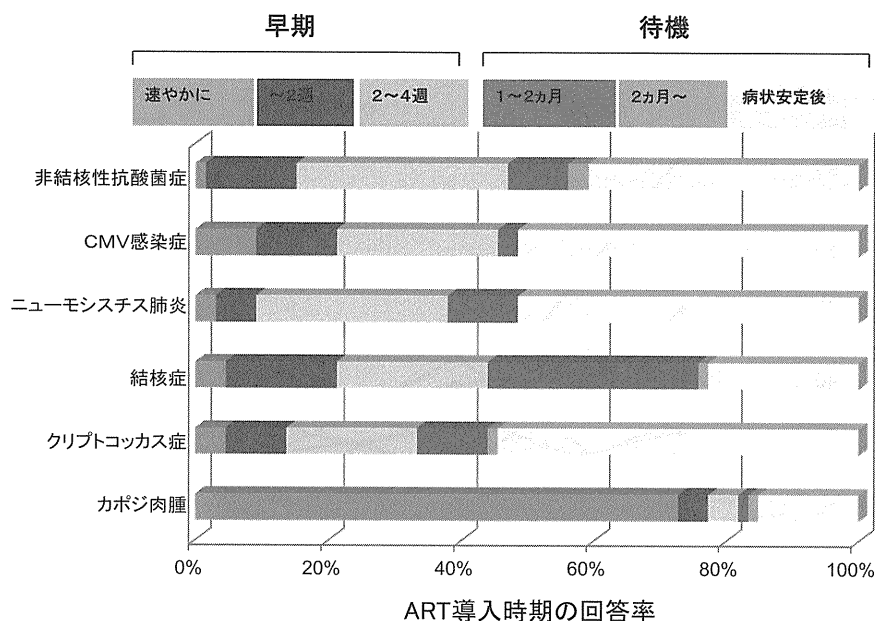


図2 免疫不全の進行した日和見感染症症例での抗HIV治療導入時期の回答

対応が必要であった症例は14例（23%）あり、7例がリンパ節炎型であった。最終観察時のCD4+数は平均 $293.3 \pm 240.8/\mu\text{L}$ 、HIV-RNA量は57例中39例で検出限界未満となっていたが、5例が $1.0 \times 10^4$ コピー/mL以上であった。

3) 疾患別に抗HIV治療導入時期を調査し、1ヵ月以内を「早期導入」、1ヵ月以降を「待機導入」して集計した。早期導入と考える者は、非結核性抗酸菌症が47%、サイトメガロウイルス感染症が45%、ニューモシスチス肺炎が38%、結核症が44%、クリプトコッカス症が33%、カポジ肉腫が77%であった（図2）。平成17年度調査と比較すると、いずれの疾患も合併症の安定後に抗HIV治療を導入すると考えている者が減少し、早期導入の傾向に変化してきていた。

4) 再改訂して、「免疫再構築症候群 診療のポイント Ver.3（改訂版）」を作成し、全国のエイズ診療拠点病院診療医宛に送付した。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、他施設のホームページでリンクを作成してもらった。

## 考察

ヘルパーT（Th）細胞（CD4+細胞）には、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しており、HIV感染症の病態との関連についても注目されている。1ヵ月後に抗酸菌によるIRISを発症した2例では抗HIV治療開始前に比べIRIS発症時にTh1/Th2比は著明に上昇していた。ところが、帯状疱疹とGraves病のIRISを発症した症例では発症時にもTh1/Th2比の上昇はみられなかった。したがって、抗酸菌によるIRIS発症にはTh1優位のシフトが関連するが、IRISの疾患によってはその他の機序が関与している可能性が示唆された。これまでも結核症のIRIS発症ではTh1細胞優位へのシフトが関連するという報告<sup>3,4)</sup>が散見される。Worsleyら<sup>5)</sup>は、IRIS発症前後でサイトカインの変動を測定し、抗酸菌やクリプトコッカスによるIRISではIFN- $\gamma$ 産生が亢進するが、細菌性膿瘍やヘルペスによるIRISではIFN- $\gamma$ 産生が低下すると報告している。

わが国ではMAC症-IRISは頻度が高く、対応に苦慮する症例もあるので、重要なIRISの一つである。今回の調査では、MAC症-IRISの長期経過について調べた。副腎皮質ステロイド薬は25例（42%）で使用され、抗HIV治療は12例（20%）で中断されていた。3例の死亡例があったが、MAC症による死亡は1例（2%）のみで、MAC症-IRISの生命予後は悪くないと考えられた。Phillipsら<sup>6)</sup>の報告でも、MAC症-IRISの死亡率は51例中2例（3.9%）であった。一方で、IRISへの対応が2年以上必要であった症例が14例（23%）存在し、その多くがリンパ節炎型であった。Riddellら<sup>7)</sup>の報告でも難治例頻度は20例中4例（20%）と類似していた。対応に難渋するMAC症-IRIS症例がリンパ節炎型を中心に存在するので、その症例特徴を把握し、有効な対処法を見出すことが重要である。

海外からは日和見感染症治療後早期に抗HIV治療を開始することの意義が報告され始めている。米国保健福祉省（DHHS）ガイドライン<sup>8)</sup>では、結核症で、CD4陽性細胞数が $200/\mu\text{L}$ 未満の場合、抗結核治療後2～4週以内に抗HIV治療を開始することを推奨している。しかし、Makadzangeら<sup>9)</sup>はクリプトコッカス髄膜炎症例で早期に抗HIV療法を導入すると死亡率が高く、生存期間が短いと報告し、その原因としてIRIS発症の関与を考察している。

今回の調査結果では、わが国のHIV診療医も6年前に比べると日和見感染症症例に対して早期に抗HIV治療を導入する傾向になっているが、まだ過半数のHIV診療医は免疫不全進行例に対する日和見感染症治療後の早期抗HIV治療導入には慎重な対応をとっている。

IRISに関するエビデンスはまだ不十分で、有力な情報源が確立されていない状況にある。6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た。その後一度の改訂を経て、今回再改訂し、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、他施設のホームページでリンクを作成していただいた。



## 結論

- 1) 抗酸菌によるIRIS発症にはTh1優位へのシフトが関連するが、IRISの疾患によってはその他の機序が関与している可能性が示唆された。
- 2) MAC症によるIRISの予後は悪くないが、リンパ節炎型を中心に一部経過が長期化する症例が存在し、このような症例への有効な対応法が求められる。
- 3) 6年前に比べると、わが国のHIV診療医も日和見感染症症例に対して早期に抗HIV治療を導入する傾向になっているが、過半数は早期の抗HIV治療導入に慎重であった。
- 4) 「免疫再構築症候群 診療のポイントVer.3」を作成し、全国のエイズ診療拠点病院診療医宛に送付した。Web版をホームページにも掲載した。

## 参考文献

- 1) Zolopa AR, Andersen J, Komarow L, Sanne, Sanchez A, Hogg E, Suckow C, Powderly W: Early antiretroviral therapy reduces AIDS progression/death in individuals with acute opportunistic infections: A multicenter randomized strategy trial. PLoS ONE. 4: e5575, 2009.
- 2) Abdool Karim SS, Naidoo K, Grobler A, Padayatchi N, Baxter C, Gray AL, Gengiah T, Gengiah S, Naidoo A, Jithoo N, Nair G, El-Sadr WM, Friedland G, Abdool Karim Q: Integration of antiretroviral therapy with tuberculosis treatment. N Engl J Med. 365: 1492-1501, 2011.
- 3) Bourgarit A, Carcelain G, Martinez V, Lascoux C, Delcey V, Gicquel B, Vicaut E, Lagrange PH, Sereni D, Autran B: Explosion of tuberculin-specific Th1-responses induces immune restoration syndrome in tuberculosis and HIV co-infected patients. AIDS. 20: F1-F7, 2006.
- 4) 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.
- 5) Worsley CM, Suchard MS, Stevens WS, Van Rie A, Murdoch DM: Multi-analyte profiling of ten cytokines in South Africa HIV-infected patients with immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS). AIDS Rev Ther. Oct 7; 7: 36, 2010.
- 6) Phillips P, Bonner S, Gataric N, Bai T, Wilcox P, Hogg R, O' Shaughnessy M, Montaner J: Nontuberculous mycobacterial immune reconstitution syndrome in HIV-infected patients: Spectrum of disease and long-term follow-up. Clin Infect Dis. 41: 1483-1497, 2005.
- 7) Riddell J IV, Kaul DR, Karakousis PC, Gallant JE, Mitty J, Kazanjian PH: *Mycobacterium avium* complex immune reconstitution inflammatory syndrome: Long term outcomes. J Transl Med 2007, Oct 15; 5: 50.
- 8) Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-infected Adults and Adolescents (米国DHHS, January 11, 2011版).
- 9) Makadzange AT, Ndhovu CE, Takarinda K, Reid M, Kurangwa M, Gona P, Hakim JG: Early versus delayed initiation of antiretroviral therapy for concurrent HIV infection and cryptococcal meningitis in sub-Saharan Africa. Clin Infect Dis. 50: 1532-1538, 2010.

## 健康危険情報

特になし

## 研究発表

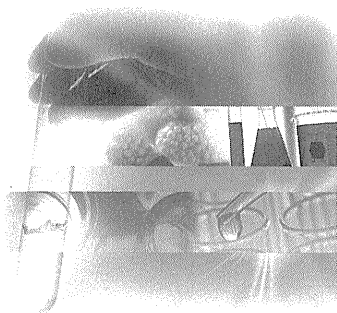
- 1) 古西 満、宇野健司：抗HIV療法後にみられる免疫再構築症候群 BIO Clinica：24：625-629 2009.
- 2) 古西 満、善本英一郎、宇野健司、小川 拓、忽那賢志、中川智代、米川真輔、笠原 敬、前田光一、三笠桂一：HAART時代におけるHIV感染者のTh1/Th2バランス 総合臨牀 56：1474-1477 2009.
- 3) 善本英一郎、古西 満、宇野健司、米川真輔、中川智代、笠原 敬、前田光一、三笠桂一、若月幸平、中島祥介：HAART開始後短期間に急性虫垂炎を発症したHIV感染者の1例 総合臨牀 58：531-534 2009.
- 4) 古西 満、菊池 嘉、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.
- 5) 古西 満、宇野健司、善本英一郎：免疫再構築症候群への対応 日本臨牀 68：508-511 2010.
- 6) 古西 満、宇野健司：HIV感染者における骨代謝異常 HIV感染症とAIDSの治療 1：24-29 2010.
- 7) 治田匡平、古西 満、乾比砂野、生駒貴世子、森田幸子、北 啓二、宇野雅之：HIV感染者の

薬疹に関する臨床的検討 日本病院薬剤師会雑誌 46：215-218 2010.

- 8) Hoshino S, Konishi M, Mori M, Shimura M, Nishitani C, Kuroki Y, Koyanagi Y, Kano S, Itabe H, Ishizaka Y : HIV-1 Vpr induces TLR4/MyD88-mediated IL-6 production and reactivates viral production from latency. J Leukoc Biol, 87 : 1133-1143, 2010.
- 9) Nagai H, Odawara T, Ajisawa A, Hagiwara S, Watanabe T, Uehira T, Uchiumi H, Yotsumoto M, Miyakawa T, Watanabe A, Kambe T, Konishi M, Saito S, Takahama S, Tateyama M, Okada S : Whole brain radiation alone produces favourable outcomes for AIDS-related primary central nervous system lymphoma in the HAART era. Eur J Haematol. 84 : 499-505, 2010.
- 10) 古西 満、米川真輔、宇野健司、善本英一郎、三笠桂一：急性Ebstein-Barrウイルス感染症を発症したHIV感染症の1例 内科 105：344-346 2010.
- 11) 古西 満：各論Ⅱ H. 真菌感染症 5. ニューモシスチス肺炎 感染症専門医テキスト第Ⅰ部解説編（編集 社団法人日本感染症学会）1088-1092 南江堂 東京 2011.
- 12) 古西 満：第三章 エキスパート編 16. pentamidine吸入継続中に発熱、咳嗽が出現した31歳男性 感染症専門医テキスト第Ⅱ部ケーススタディ編（編集 社団法人日本感染症学会）346-353 南江堂 東京 2011.
- 13) 古西 満、宇野健司、善本英一郎、治田匡平、片浪雄一、忽那賢志、小川 拓、中川智代、笠原 敬、前田光一、三笠桂一：抗HIV治療が酸化ストレス/抗酸化力に与える影響 日本エイズ学会誌 13：105-108 2011.
- 14) 古西 満、宇野健司、善本英一郎、笠原 敬、前田光一、三笠桂一：HIV感染者の骨血管相関に関する検討 感染症学雑誌 85：384-385 2011.
- 15) 治田匡平、古西 満、宇野健司、松島紫乃、今中比砂野、森田幸子、北 啓二、宇野雅之：ラルテグラビルの選択理由に関する検討 Pharma Medica 29：99-103 2011.
- 16) 古西 満、宇野健司、善本英一郎、治田匡平、三笠桂一：抗HIV薬による瘰癧性歩行が疑われた1例 Modern Physician 31：139-142 2011.

#### 知的財産権の出願・登録状況

なし



## Compromised hostにおける インターフェロン $\gamma$ 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 (独) 国立病院機構東京病院 呼吸器疾患センター

### 研究要旨

HIV感染症では結核感染のリスクは極めて高い。近年、結核感染診断にはツベルクリン反応に代わって、Interferon-Gamma Release Assays (IGRAs) が用いられるようになった。IGRAsには、QuantiFERON<sup>®</sup>-TB-2G (第2世代、以下QFT-2G)、QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold (第3世代、以下QFT-3G)、enzyme-linked immunospot assay (ELISPOT) がある。この3種類のIGRAsについて、結核患者、HIV感染者における有用性・差異について検討した。

研究1では結核菌培養陽性肺結核患者230名に対し、QFT-2GとELISPOTを同時に行い、感度について比較検討した。全体の陽性率はQFT-2G 74% ELISPOT 92%であった。リンパ球数1000/ $\mu$ L以上の集団では、陽性率はQFT-2G 88%、ELISPOT 97%であったが、リンパ球数500/ $\mu$ L未満の場合、陽性率QFT-2G 39%、ELISPOT 81%とQFT-2Gで著しく陽性率が低下した。

研究2ではさらに症例を増やし、結核菌培養陽性患者727名について、QFT-2Gを施行した。全体のQFT-2Gの結果は、陽性、陰性 (判定保留を含む)、判定不可はそれぞれ68%、25.8%、6.2%であった。リンパ球数正常 (> 1800/ $\mu$ L) では陽性率89.3%、判定不可0%であったが、リンパ球数の減少とともに陽性率は低下、判定不可例は増加した。リンパ球数300~500/ $\mu$ Lでは陽性率49.1%、判定不可14%、リンパ球数300/ $\mu$ L以下では陽性率26.7%、判定不可37.8%であった。

研究3ではHIV感染者においてQFT (QFT-2G、QFT-3G) およびELISPOTの同時測定の比較検討した結果、陽性率はELISPOTが最も高いことが判明した。QFT-2GおよびQFT-3GいずれのQFTでも、判定不可があり、CD4数が低値の症例では検査を行えない可能性があった。これに対してELISPOTでは判定不可はなく、いずれの症例でも陰性あるいは陽性の結果が得られた。

研究4では当院の外来に通院し抗HIV療法を行っている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。QFT-2GとELISPOT両者ともに陽転化した症例を1例経験した。自覚症状はなく、CTにて肺野病変は認めなかった。INH300mg/日の投与を開始したところ、QFTおよびELISPOTは陰性化した。以上より、QFTは末梢血リンパ球数が低下するにつれ、感度は低下するが、ELISPOTでは末梢血リンパ球数に左右されないことが判明し、ELISPOTは免疫機能低下例においても有効と考えられた。HIV患者に定期的にIGRAsを施行する意義、陽転者にINH投与することの有効性については今後も検討を続けたい。

## 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、最近では、Interferon-Gamma Release Assays（IGRAs）が普及しており、結核の接触者健診ではツ反に代えてIGRAs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。当院では、IGRAsが承認される以前から積極的に臨床に用いてきた。

現在、わが国で承認されているIGRAsは、QuantiFERON<sup>®</sup>-TB-2G（第2世代、以下QFT-2G）とQuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold（第3世代、以下QFT-3G）であるが、後者が主流である。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<sup>®</sup>.TBがある。T-SPOT<sup>®</sup>.TBはenzyme-linked immunospot assay（ELISPOT）を用いている。ELISPOTは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。

H21-H23年度では、IGRAsの肺結核患者およびHIV感染者における基本的なデータを集積してきたので、それをまとめ、免疫低下者におけるIGRAsの有用性について報告する。

## 研究1

### 肺結核患者における

#### QFT-2GとELISPOTの感度比較

##### 1) 研究目的

QFT-2Gは全血を直接結核菌抗原で刺激培養し、上清中のIFN- $\gamma$ をELISA法にて測定する。もう一つのIGRAであるELISPOTは、末梢血からperipheral blood mononuclear cell（PBMC）を精製し1ウエル当たりの細胞数を調整、均一化し、特異抗原で刺激、培養しELISPOT法によりIFN- $\gamma$ 産生細胞を可視化、細胞数をカウントする。末梢血からリンパ球分画が濃縮されリンパ球数が培養段階で均一化される点で、患者の末梢血リンパ球数減少の影響を回避でき、細胞性免疫抑制者においても、ELISPOTを用いたIGRAがより高感度に結核感染を検出できる可能性がある。結核患者におけるQFT-2GとELISPOTの感度の比較を行った。

## 2) 研究方法

当院における結核菌培養陽性肺結核患者230例に対し、治療開始14日以内にQFT-2GとELISPOTを同時に行い、感度について比較検討した。全血法とPBMC法、ELISAとELISPOTの違いを明確にすることを目的とし、ELISPOTにおいてQFTと同じ配列のoverlapping peptidesを合成し使用した。末梢血から分離した単核球を250000個/ウエルに調整、AIM-V培地（GIBCO）にて培養し、human IFN- $\gamma$  ELISPOT kit（BD）を用いてassayを行った。Spot解析はKS ELISpot（Carl Zeiss）にて行った。ELISPOTの判定はT-SPOT<sup>®</sup>.TBの製造元の基準に準拠した（抗原刺激スポット数6個以上陽性）。

## 3) 研究結果

全体の陽性率はQFT-2G 74% ELISPOT 92%であった。リンパ球数1000/ $\mu$ L以上の集団では、陽性率はQFT-2G 88%、ELISPOT 97%であったが、リンパ球数500/ $\mu$ L未満の場合、陽性率QFT-2G 39%、ELISPOT 81%とQFTで著しく陽性率が低下した。

## 研究2

### 結核感染者におけるIFN- $\gamma$ 応答値の予測因子

#### 1) 研究目的

IGRAsは宿主の細胞性免疫応答を原理として用いた検査法であり、細胞性免疫が低下した状態では結核感染を適確に検出できない可能性が想定される。免疫抑制が示唆される被検者にQFTを行う場合、臨床検査としての限界をあらかじめ知っておく必要がある。被験者の免疫力と、*in vitro*におけるIGRAsの特異的IFN- $\gamma$ 応答との関連に関して明確な回答は得られていない。全血を用いたQFTにおけるIFN- $\gamma$ の主要な産生源はCD4を主体としたT細胞である。細胞内サイトカイン染色法を用いたフローサイトメトリーによる我々の解析では一部の被検者で、CD8陽性細胞も抗原特異的にIFN- $\gamma$ を産生していることを確認した。細胞性免疫に重要な役割を演じる末梢血リンパ球数の低下やリンパ球機能異常がQFT-2Gの感度に影響する可能性が推察される。研究1では結核患者においてQFT-2Gはリンパ球数が低値の症例では感度が低下することが判明した。さらに症例数を増やし、QFT-2Gの結果に影響を及ぼす因子について検討