

回) 内服している患者をリクルートした。ラルテグラビルを内服後12時間でヘパリン化試験管に採血し、血漿を分離し保存した。臨床的な目的でラルテグラビル内服後3-4時間に採取し保存された髄液も解析対象とした。血漿中および髄液中のラルテグラビル濃度は、逆相HPLCで測定した。末梢血単核細胞からDNAを抽出し、TaqMan Drug Metabolism Assays キットを用いて、ABCB1遺伝子の1236 C>T, 2677 G>T/A, 3435 C>T, 4036 A>G, ABCB2遺伝子の421 C>Aを解析した。

(倫理面への配慮)

国立国際医療研究センターの倫理委員会において承認を得た。患者の理解と協力を得るため、研究の必要性和意義について十分に説明し、それぞれの施設の倫理規定に従い同意書に自筆のサインを得た。サインされた同意文書はカルテに綴じ込み保存した。また、研究への参加の同意・不同意に関わらず、診療上の不利益は被らないように配慮した。個人情報保護するため、個人を特定できるような情報は外部には出さないこととした。

C. 研究結果

1) 観察研究にくみ入れた患者のベースラインの体重の平均値は63kgであった。テノホビルの使用は、上記3つのエンドポイントのいずれに対してもリスクを上昇させていた(糸球体濾過率の10ml/min per 1.73m²以上の低下についてadjusted odds ratio = 2.1, 糸球体濾過率の25%以上の低下についてadjusted odds ratio = 2.1, 糸球体濾過率の60ml/min per 1.73ms以下への低下についてadjusted odds ratio = 3.9)。テ

ノホビル使用群の糸球体濾過率は、対照群と比較して、1年後に3.8ml/min per 1.73m²、2年後に3.6ml/min per 1.73m²、3年後に5.5ml/min per 1.73m²、4年後に6.6ml/min per 1.73m²、5年後に10.3ml/min per 1.73m²ほど平均して低下しており、長期に亘る経時的な腎機能の低下が示された(図1)。

2) ラルテグラビル常用量を内服中の31人の血漿と14人の髄液のラルテグラビル濃度を測定し、ABCB1とABCB2の遺伝子のSNPとの相関を調べた。血漿中濃度はいずれのSNPとも関連はなかった。髄液中濃度は、ABCB2遺伝子の421 C>Aと関連していた。14人の髄液のうち、4人でラルテグラビルが検出限界以下となったが、421 C>Aのhomozygoteである3人全員が検出限界以下(<10 ng/mL)であり、残る1人はheterozygoteであった。

D. 考察

1) 欧米人と比較し小柄な日本人を中心とする我々のコホートでは、長期に亘るテノホビルの腎機能への影響が明らかとなった。低体重は、テノホビルの腎障害のリスク因子であり、アジア人やアフリカ人でも同様にテノホビルの長期使用については腎機能に注意すべきと思われる。更に、テノホビルの腎障害は投与開始初期に見られると考えられていたが、本研究では、長期使用により、糸球体濾過率の低下が大きくなって行くことが示された。

2) 中枢神経系へ移行性がよいと言われているラルテグラビルであるが、14人中4人で髄液中に検出できず、しかもABCB2遺伝子のSNPと関連していた。このSNPは比較的日本人に多いため、我々が世界に先駆けて発見できたものと思われる。

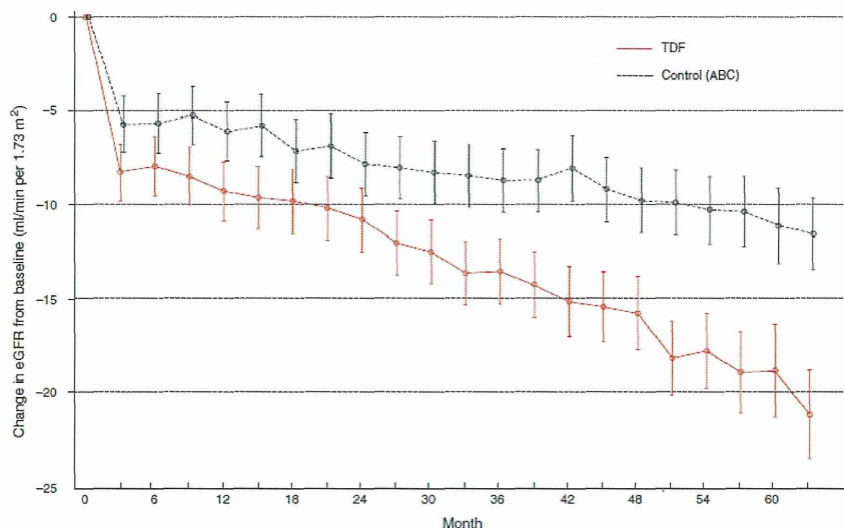


図1 糸球体濾過率の推移
テノホビル(TDF)群とコントロール(ABC)群のベースラインからの平均糸球体濾過率の推移

E. 結論

小柄な日本人を中心とする我々のコホート研究で、テノホビルの長期使用による腎機能への影響が明らかになった。ラルテグラビルは髄液移行性がよいとされているが、髄液で検出できない症例も存在し、注意が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kuse, Akahoshi, Gatanaga, Ueno, Oka, Takiguchi. Selection of T18-8V mutant associated with long-term control of HIV-1 by cross-reactive HLA-B*51:01-restricted cytotoxic T cells. *Journal of Immunology*. 193(10):4814-4822. 2014.
- 2) Mizushima, Tanuma, Dung, Trung, Lam, Gatanaga, Kikuchi, Van Kinh, Oka. Low body weight and tenofovir use are risk factors for renal dysfunction in Vietnamese HIV-infected patients. A prospective 18-month observation study. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 20(12):784-788. 2014.
- 3) Nishijima, Kawasaki, Tanaka, Mizushima, Aoki, Watanabe, Kinai, Honda, Yazaki, Tanuma, Tsukada, Teruya, Kikuchi, Gatanaga, Oka. Long-term exposure to tenofovir continuously decrease renal function in HIV-1-infected patients with low body weight: results from 10 years of follow-up. *AIDS*. 28(13):1903-1910. 2014.
- 4) Nishijima, Tsuchiya, Tanaka, Joya, Hamada, Mizushima, Aoki, Watanabe, Kinai, Honda, Yazaki, Tanuma, Tsukada, Teruya, Kikuchi, Oka, Gatanaga. Single-nucleotide polymorphisms in the UDP-glucuronosyltransferase 1A-3' untranslated region are associated with atazanavir-induced nephrolithiasis in patients with HIV-1 infection: a pharmacogenetic study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 69(12):3320-3328. 2014.
- 5) Nishijima, Gatanaga, Teruya, Tajima, Kikuchi, Hasuo, Oka. Brain magnetic resonance imaging screening is not useful for HIV-1-infected patients without neurological symptoms. *AIDS Research and Human Retroviruses*. 30(10):970-974. 2014.
- 6) Watanabe, Nagata, Sekine, Watanabe, Igari, Tanuma, Kikuchi, Oka, Gatanaga. Asymptomatic intestinal amebiasis in Japanese HIV-1-infected individuals. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 91(4):816-820. 2014.
- 7) Ishikane, Watanabe, Tsukada, Nozaki, Yanase, Igari T, Masaki N, Kikuchi, Oka, Gatanaga. Acute Hepatitis C in HIV-1 Infected Japanese Cohort: Single Center Retrospective Cohort Study. *PLoS One*. 9(6):e100517. 2014.
- 8) Sun, Fujiwara, Shi, Kuse, Gatanaga, Appay, Gao, Oka, Takiguchi. Superimposed epitopes restricted by

the same HLA molecule drive distinct HIV-specific CD8+ T cell repertoires. *Journal of Immunology*. 193(1):77-84. 2014.

- 9) Tsuchiya, Hayashida, Hamada, Kato, Oka, Gatanaga. Low raltegravir concentration in cerebrospinal fluid in patients with ABCG2 genetic variants. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. 66(5):484-486. 2014.
- 10) Tanuma, Quang, Hachiya, Joya, Watanabe, Gatanaga, Van Vinh Chau, ChinhT, Oka. Low prevalence of transmitted drug resistance of HIV-1 during 2008-2012 antiretroviral therapy scaling up in Southern Vietnam. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. 66(4):358-364. 2014.
- 11) Eguchi, Takatsuki, Soyama, Hidaka, Nakao, Shirasaka, Yamamoto, Tachikawa, Gatanaga, Kugiyama, Yatsushashi, Ichida, Kokudo. Analysis of the hepatic functional reserve, portal hypertension, and prognosis of patients with human immunodeficiency virus/hepatitis C virus coinfection through contaminated blood products in Japan. *Transplantation Proceedings*. 46(3):736-738. 2014.
- 12) Rahman, Kuse, Murakoshi, Chikata, Gatanaga, Oka, Takiguchi. Raltegravir and elvitegravir-resistance mutation E92Q affects HLA-B*40:02-restricted HIV-1-specific CTL recognition. *Microbes and Infection*. 16(5):434-438. 2014.
- 13) Gatanaga, Nishijima, Tsukada, Kikuchi, Oka. Clinical importance of hyper-beta-2-microglobulinuria in patients with HIV-1 infection on tenofovir-containing antiretroviral therapy. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. 65(4):e155-157. 2014.
- 14) Chikata, Carlson, Tamura, Borghan, Naruto, Hashimoto, Murakoshi, Le, Mallal, John, Gatanaga, Oka, Brumme, Takiguchi. Host-specific adaptation of HIV-1 subtype B in the Japanese population. *Journal of Virology*. 88(9):4764-4775. 2014.

2. 学会発表

- 1) 湯永博之. 「HIV感染症における最新の治療戦略」 HIV/HBV共感染におけるTDFを含むARTの意義 第88回日本感染症学会学術講演会 2014年6月 福岡
- 2) 湯永博之. 「臨床医が知っておきたいHIV感染症の治療」最新の抗HIV治療ガイドラインの解説 第88回日本感染症学会学術講演会 2014年6月 福岡
- 3) 石金正裕、青木孝弘、湯永博之、照屋勝治、菊池嘉、岡慎一. 播種性ノカルジア症とPMLが疑われたAIDSの一例 第88回日本感染症学会学術講演会 2014年6月 福岡
- 4) 西島健、湯永博之、柳川泰昭、水島大輔、青木孝弘、渡辺恒二、本田元人、矢崎博久、田沼順子、塚田訓久、照屋勝治、菊池嘉、岡慎一. 新

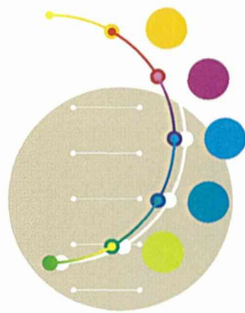
- たなC型肝炎感染が注射薬物を使用しないHIV感染男性同性愛者で増加 第88回日本感染症学会学術講演会 2014年6月 福岡
- 5) 柳川泰昭、田沼順子、照屋勝治、塚田訓久、瀧永博之、菊池嘉、岡慎一、片野晴隆. 当院で経験したHIV感染合併原発性滲出性リンパ腫の4例 第88回日本感染症学会学術講演会 2014年6月 福岡
 - 6) 水島大輔、西島健、青木孝弘、渡辺恒二、矢崎博久、田沼順子、塚田訓久、照屋勝治、瀧永博之、菊池嘉、岡慎一. MRIにて異常を認めたエイズ脳症11例に関する臨床的検討 第88回日本感染症学会学術講演会 2014年6月 福岡
 - 7) 塚田訓久、瀧永博之、水島大輔、西島健、青木孝弘、源河いくみ、渡辺恒二、矢崎博久、田沼順子、照屋勝治、菊池嘉、岡慎一. 当センターにおけるElvitegravir/Cobicistat/Tenofovir/Emtricitabine配合錠の使用成績 第88回日本感染症学会学術講演会 2014年6月 福岡
 - 8) 瀧永博之. HIV感染症「新・治療の手引き」Regimen変更時の留意点と変更後のFollow-up 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
 - 9) 瀧永博之. HIV感染症とAging「Agingと長期合併症」～高齢化の現状と長期治療の問題点～ 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
 - 10) 瀧永博之. ARTの将来展望～INSTI based Regimenの臨床的有用性～ 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
 - 11) 瀧永博之. 抗HIV治療のターニングポイント～ドルテグラビルの臨床的位置づけ～ 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
 - 12) 椎野禎一郎、服部純子、瀧永博之、吉田繁、石ヶ坪良明、近藤真規子、貞升健志、横幕能行、古賀道子、上田幹夫、田邊嘉也、渡邊大、森治代、南留美、健山正男、杉浦互. 国内感染者集団の大規模塩基配列5：MSMコミュニティへのサブタイプB感染の動態 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
 - 13) 仲里愛、木内英、渡邊愛祈、小松賢亮、大金美和、池田和子、小林泰一郎、柳川泰昭、水島大輔、源河いくみ、西島健、青木孝弘、渡辺恒二、本田元人、矢崎博久、田沼順子、照屋勝治、塚田訓久、瀧永博之、菊池嘉、岡慎一. 認知機能低下が疑われた患者における認知障害の関連因子の検討 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
 - 14) 大岸誠人、四柳宏、堤武也、瀧永博之、森屋恭壘、小池和彦. HIVとHCVの重複感染を有する血友病患者における、複数の遺伝子型のHCVバリエーションの潜在的な混合感染に関する次世代シーケンサーを用いた検討 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
 - 15) 岡崎玲子、蜂谷敦子、服部純子、瀧永博之、渡邊大、長島真美、貞升健志、近藤真規子、南留美、吉田繁、森治代、内田和江、椎野禎一郎、加藤真吾、千葉仁志、伊藤俊広、佐藤武幸、上田敦久、石ヶ坪良明、古賀一郎、太田康男、山元泰之、福武勝幸、古賀道子、岩本愛吉、西澤雅子、岡慎一、岩谷靖雅、松田昌和、重見麗、保坂真澄、林田庸総、横幕能行、上田幹夫、大家正義、田邊嘉也、白阪琢磨、小島洋子、藤井輝久、高田昇、山本政弘、松下修三、藤田次郎、健山正男、杉浦互. 新規HIV/AIDS診断症例における薬剤耐性HIVの動向 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
 - 16) 青木孝弘、柴田怜、柳川泰昭、小林泰一郎、水島大輔、西島健、木内英、渡辺恒二、本田元人、田沼順子、塚田訓久、照屋勝治、瀧永博之、菊池嘉、岡慎一. 当センターにおけるRaltegravirの耐性症例の検討 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
 - 17) 青木孝弘、柴田怜、柳川泰昭、小林泰一郎、水島大輔、西島健、木内英、渡辺恒二、本田元人、田沼順子、塚田訓久、照屋勝治、瀧永博之、菊池嘉、岡慎一. 当センターにおけるRaltegravir耐性症例の検討 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
 - 18) 大木桜子、土屋亮人、林田庸総、増田純一、瀧永博之、菊池嘉、和泉啓司郎、岡慎一. 日本人HIV感染者におけるラルテグラビル薬物動態の検討 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
 - 19) 土屋亮人、林田庸総、濱田哲暢、加藤真吾、菊池嘉、岡慎一、瀧永博之. HIV患者におけるラルテグラビル髄液中濃度と薬物トランスポーターの遺伝子多型についての検討 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
 - 20) 塚田訓久、増田純一、赤沢翼、水島大輔、西島健、青木孝弘、木内英、渡辺恒二、本田元人、矢崎博久、源河いくみ、田沼順子、照屋勝治、瀧永博之、菊池嘉、岡慎一. 当センターにおける初回抗HIV療法の動向と新規インテグラーゼ阻害薬の使用経験 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
 - 21) 西島健、田中紀子、松井優作、川崎洋平、古川恵太郎、柴田怜、柳川泰昭、谷崎隆太郎、小林泰一郎、水島大輔、青木孝弘、渡辺恒二、木内英、本田元人、矢崎博久、田沼順子、塚田訓久、照屋勝治、瀧永博之、菊池嘉、岡慎一. 尿β2ミクログロブリンのTDF腎障害の予測における有用性の検討 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
 - 22) 柳川泰昭、田里大輔、照屋勝治、柴田怜、古川恵太郎、谷崎隆太郎、小林泰一郎、水島大輔、西島健、木内英、青木孝弘、渡辺恒二、本田元人、田沼順子、塚田訓久、瀧永博之、菊池嘉、岡慎一. 当院におけるART時代のKaposi肉腫症例の治療成績・予後 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
 - 23) 柴田怜、青木孝弘、西島健、古川恵太郎、谷崎

- 隆太郎、柳川泰昭、林泰一郎、水島大輔、渡辺恒二、木内英、本田元人、田沼順子、塚田訓久、瀧永博之、照屋勝治、菊池嘉、岡慎一。 HIV 感染症合併ニューモシスチス肺炎の治療におけるステロイド併用期間の検討 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
- 24) 阪井恵子、近田貴敬、長谷川真理、瀧永博之、岡慎一、滝口雅文。 無治療の日本人 HIV 感染者における Gag-Protease 依存のウイルス増殖能と病態進行性の網羅的解析 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
- 25) 林田庸総、土屋亮人、瀧永博之、菊池嘉、岡慎一。 血友病の HIV slow progressor 6例を対象とした deep sequencing による tropism 解析 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
- 26) 大金美和、塩田ひとみ、小山美紀、柴山志穂美、久地井寿哉、岩野友里、柿沼章子、大平勝美、池田和子、瀧永博之、岡慎一。 HIV 感染血友病患者の健康関連 QOL の実態調査 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
- 27) 塩田ひとみ、大金美和、渡部恵子、坂本玲子、伊藤ひとみ、川口玲、石塚さゆり、山田三枝子、高山次代、羽柴知恵子、鍵浦文子、木下一枝、長與由紀子、城崎真弓、池田和子、瀧永博之、岡慎一。 HIV 感染血友病患者の医療と福祉の連携へのアプローチ～療養支援アセスメントシートの検討～ 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
- 28) 木内英、加藤真吾、細川真一、田中瑞恵、中西美紗緒、定みみゆき、田沼順子、瀧永博之、矢野哲、菊池嘉、岡慎一。 成人と新生児における AZT リン酸化物細胞内濃度の比較 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
- 29) 水島大輔、田沼順子、瀧永博之、菊池嘉、Nguyen Kinh、岡慎一。 ハノイの腎機能障害を有する HIV 感染者におけるテノフォビル使用による腎機能予後 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
- 30) 木内英、瀧永博之、水島大輔、西島健、渡辺恒二、青木孝弘、矢崎博久、本田元人、田沼順子、源河いくみ、塚田訓久、照屋勝治、菊池嘉、岡慎一。 プロテアーゼ阻害薬の骨密度低下メカニズムに関する研究 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
- 31) 本田元人、遠藤元誉、古川恵太郎、柴田怜、谷崎隆太郎、柳川泰昭、小林泰一郎、水島大輔、西島健、青木孝弘、木内英、渡辺恒二、矢崎博久、田沼順子、塚田訓久、瀧永博之、照屋勝治、菊池嘉、尾池雄一、岡慎一。 HIV 感染者における新たな慢性炎症マーカーと動脈硬化症 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
- 32) 渡邊愛祈、仲里愛、小松賢亮、高橋卓巳、木内英、大金美和、池田和子、田沼順子、照屋勝治、塚田訓久、瀧永博之、加藤温、関由賀子、今井公文、菊池嘉、岡慎一。 当院の HIV 感染者における適応障害患者の HIV 治療状況とカウンセリング介入についての検討 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
- 33) 小松賢亮、仲里愛、渡邊愛祈、塩田ひとみ、大金美和、西島健、矢崎博久、田沼順子、照屋勝治、塚田訓久、瀧永博之、菊池嘉、岡慎一。 HIV 感染者のターミナルケアー HIV 治療に消極的な感染者との心理面接ー 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
- 34) 土屋亮人、瀧永博之、岡慎一。 新規に開発されたイムノクロマトグラフィー法による第4世代 HIV 迅速診断試薬の臨床的有用性の検討 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
- 35) 中家奈緒美、小山美紀、木下真里、塩田ひとみ、伊藤紅、杉野祐子、大金美和、池田和子、塚田訓久、田沼順子、照屋勝治、瀧永博之、菊池嘉、岡慎一。 当院における受診を中断した HIV 感染症患者の傾向 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
- 36) 木下真里、池田和子、中家奈緒美、塩田ひとみ、小山美紀、伊藤紅、杉野祐子、大金美和、塚田訓久、田沼順子、照屋勝治、瀧永博之、菊池嘉、岡慎一。 (独) 国立国際医療研究センターエイズ治療・研究開発センターにおける外国人患者対応ー 初診時のコミュニケーションについてー 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
- 37) 谷崎隆太郎、青木孝弘、西島健、古川恵太郎、柴田怜、柳川泰昭、小林泰一郎、水島大輔、渡辺恒二、木内英、本田元人、田沼順子、塚田訓久、瀧永博之、照屋勝治、菊池嘉、岡慎一。 HIV 患者の梅毒治療におけるアモキシシリンの治療効果 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
- 38) 渡辺恒二、永田尚義、柳川泰昭、小林泰一郎、水島大輔、西島健、青木孝弘、木内英、本田元人、田沼順子、塚田訓久、瀧永博之、照屋勝治、菊池嘉、岡慎一。 HIV 感染患者における赤痢アメーバ潜伏感染についての検討 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
- 39) 小林泰一郎、渡辺恒二、古川恵太郎、柴田怜、柳川泰昭、谷崎隆太郎、水島大輔、西島健、青木孝弘、木内英、本田元人、田沼順子、照屋勝治、塚田訓久、瀧永博之、菊池嘉、岡慎一。 HIV 合併アメーバ性肝膿瘍の発症リスクとしての HLA 対立遺伝子の解析 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
- 40) 佐藤麻希、早川史織、増田純一、和泉啓司郎、瀧永博之、菊池嘉、岡慎一。 Dolutegravir と Rilpivirine による Small tablet への剤形変更がアドヒアランスの改善につながった症例 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
- 41) 古川恵太郎、柴田怜、谷崎隆太郎、水島大輔、

- 西島健、渡辺恒二、青木孝弘、本田元人、矢崎博久、田沼順子、塚田訓久、木内英、湯永博之、照屋勝治、菊池嘉、岡慎一. 免疫再構築症候群による縦隔リンパ節炎を発症し、気管・食道瘻孔形成を認めたが保存的に治療し得た非結核性抗酸菌症の1例 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
- 42) 本田元人、中川堯、山本正也、谷崎隆太郎、柴田怜、古川恵太郎、柳川泰昭、小林泰一郎、水島大輔、西島健、木内英、青木孝弘、渡辺恒二、矢崎博久、田沼順子、塚田訓久、湯永博之、照屋勝治、菊池嘉、原久男、岡慎一. 血友病Aに合併した狭心症に対し冠動脈形成術後の抗血小板療法2剤併用期間短縮を目的としてZotarolimus薬剤溶出ステントを用いた一例 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪
- 43) Rahman Mohammad Arif、Kuse Nozomi、Murakoshi Hayato、Chikata Takayuki、Tran Van Giang、Gatanaga Hiroyuki、Oka Shinichi、Takiguchi Masafumi. Different effects of drug-resistant mutations on CTL recognition between HIV-1 subtype B and subtype A/E infections 第28回日本エイズ学会学術講演会 2014年12月 大阪

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし



安全な治療法開発のための研究 抗HIV薬による有害事象の解析

担当責任者

太田 康男 帝京大学医学部 内科学講座 感染症内科 教授

研究協力者

北沢 貴利 帝京大学医学部 内科学講座 感染症内科 講師

古賀 一郎 帝京大学医学部 内科学講座 感染症内科 助教

若林 義賢 帝京大学医学部 内科学講座 感染症内科

研究要旨

HIV感染者は、健常人と比較すると、骨密度が低下することが認識されつつある。その危険因子として、抗HIV治療によりもたらされた患者の高齢化に加え、HIV感染自体も骨密度への低下に寄与している可能性が報告されている。さらに近年、一部の抗HIV薬により骨代謝障害がもたらされる可能性も示唆されている。しかしながら、その分子メカニズムの詳細は全く不明である。本研究は、HIV感染者における骨代謝異常に焦点をあて、以下の2つの点から研究を行った。臨床研究として、帝京大学医学附属病院に通院中でcART導入時のHIV患者40名を対象に、DXA法を用いて骨密度を測定した。また骨密度低下と相関のある因子の解析を行った。基礎研究としては、骨芽細胞に焦点をあて、抗HIV薬による骨形成やその他の機能変化への影響に関する基礎研究を行った。

臨床研究では、cART導入時に過半数の症例で、腰椎または大腿骨頸部での骨密度の低下が認められた。腰痛に比べ、大腿骨頸部での骨密度の低下がより顕著であった。骨密度の低下は年齢との相関が認められた。基礎研究では、抗HIV薬のRTVを添加した骨芽細胞において、コントロール細胞および他の抗HIV薬を添加した細胞に比べ、分化抑制がみられることが示された。その分子機序の一つとして、RUNX2という転写因子の活性化抑制が関与していた。

A. 研究目的

HIV感染に対する抗ウイルス治療は、血液中のHIVウイルス量を減少させ、日和見疾患の合併率を下げ、生命予後に大きな改善をもたらした。その一方で、近年HIV感染者は、健常人と比較すると、骨密度が低下することが認識されつつある。その結果、HIV患者において骨折のリスクが高まっていることが報告されている。実際、当院に通院中のHIV患者の中で、骨折を認めた症例も存在する。このことは、HIV感染者の高齢化を考えると、ADL低下の重大な要因として今後ますます懸念される。さらに、抗HIV薬によって骨密度低下作用がもたらされる可能性も示唆されている。

HIV感染症患者における骨密度の低下や骨折に関する報告のほとんどは、欧米を中心とする海外からのものであり、国内はもとよりアジアからの報告も

乏しい。我々は日本人のHIV患者の骨密度の解析を行い、以下の点を平成23-25年度の「安全かつ効果的な抗HIV療法開発のための研究」班の分担研究として報告した。

1) 帝京大学医学部附属病院に通院中のHIV感染症患者を対象に、ある時点で横断的に骨密度の解析を行うと、腰椎の骨密度で判断すると約47%が骨減少症、約7%が骨粗鬆症であり、大腿骨頸部で判断すると約61%が骨減少症、約13%が骨粗鬆症と診断された。骨密度が正常であったのは、わずか約26%であった。

2) 腰椎と比較すると、大腿骨頸部で測定した骨密度の低下の割合が高かった。

3) 骨密度低下のハイリスク群として、40歳以上、身長170cm以下、体重60kg以下、10年を超えるcARTがあげられた。

4) 骨密度低下の詳細な推移を明らかにするため、6か月以上cARTを行っているHIV患者を対象に、経時的にDXA法を用いて骨密度を測定し、骨密度の変化を2-3年(観察期間中央値2.8年)観察したが、ほとんど骨密度の変化は認めなかった。

今年度はcART導入時の症例を対象にして、骨密度の解析を行い、合わせて骨密度低下と関連のある臨床マーカーの解析を試みた。

また基礎研究においては、各HIV薬が、骨吸収・骨形成機能に細胞レベルで変化をもたらしているか否か、さらに変化をもたらしている場合、その分子メカニズムを明らかにすることを目的として研究を行い、特に骨芽細胞に焦点を当て、各HIV薬の骨芽細胞分化に対する影響の解析を試みてきた。その結果、RTVでは他の抗HIV薬に比べ、骨芽細胞の分化が抑制されることを示してきた。今年度は、従来の研究結果をさらに発展させ、RTVによる骨芽細胞の分化抑制の分子機序の解明を行った。

B. 研究方法

(臨床研究)

帝京大学医学部附属病院通院中の日本人男性のHIV感染症患者のうち、cART導入開始時の40症例を対象とした。骨密度は、dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) scanを用いて測定した。骨密度の測定は、第二、第三、第四腰椎および両側大腿骨頸部で行った。骨密度からT-scoreを算出し、WHO分類に従って、 $-1.0 > T\text{-score} > -2.5$ を骨減少症、 $T\text{-score} \leq -2.5$ を骨粗鬆症と診断した。

骨密度低下と関連のある臨床マーカーを探索するため、cART導入時の年齢、身長、体重、CD4、HIV RNA量などを測定し、骨密度との相関を解析した。

(基礎研究)

1. 抗HIV薬の骨芽細胞分化への影響

マウス由来の骨芽細胞の細胞分離株であるMC3T3-L1細胞を抗HIV薬を添加した分化培地(DMEMにAscorbic acid 1%, Hydrocortisone 0.2%, β -glycero-phosphate 2%を添加)と共に96wellプレートに分注した。抗HIV薬の濃度は、成人が1回1錠内服した際のCmax付近の濃度とした。添加8日目にALP活性と総タンパク量の測定を行った。ALP活性測定にはTakara TRACP/ALP assay kit (MK301)を使用した。総タンパク量はDC protein assay kitを用い、Lowry法に基づき測定した。ALP活性と総タンパク量の比を求め、抗HIV薬によるALP活性の変化を測定した。

2. PTVによる転写因子RUNX2発現抑制

MC3T3-E1細胞をDMEM、前述の分化メディウム、各種抗HIV薬を添加した分化メディウムで刺激を行った。刺激後、細胞溶解液を回収し、Western法にてRUNX2のタンパク発現量を検証した。バンドの強度(intensity)はImage Lab™ softwareを使用し定量化した。各サンプルの細胞数を補正するため、 β -actinのバンド強度との比で表示した。

(倫理面への配慮)

臨床研究においては、帝京大学医学部倫理委員会の承認を得た後、対象患者全員から文章による同意を得た後に施行した。またデータの管理は、すべて匿名化して行った。

C. 研究結果

(臨床研究)

cART導入時、腰椎における骨密度の解析では、約60%が正常であり、約40%が骨減少症であった(図1)。大腿骨頸部の解析では、同様に約60%が正常であったものの、5%の症例で骨粗鬆症と診断された。腰椎あるいは大腿骨頸部のいずれかで骨密度の低下を認めた方は、過半数を超えていた。

またcART導入時の骨密度は、腰椎、大腿骨頸部ともに年齢との相関を認めた(図2)。すなわち、年齢が上がれば上がるほど、骨密度は低下していた。

(基礎研究)

まず骨芽細胞の分化が抗HIV薬で抑制されるか検討を行った。骨芽前駆細胞であるMC3T3-E1細胞を、抗HIV薬あるいはcontrol溶媒を添加した分化メディウム培養した後、添加8日目のALP活性を測定した。RTVを添加した細胞ではcontrolの細胞に比べALP活性が低下していたが、他の抗HIV薬やcontrol細胞でのALP活性には明らかな低下は認められなかった(図3)。以上から、RTVでは他の抗HIV薬に比べ、骨芽細胞の分化が抑制されることが示された。

次にRTVによる骨芽細胞分化抑制の分子機序を明らかにするため、骨芽細胞の分化に必須と考えられているRUNX2の発現へのRTVの影響についてWestern法を用いて解析した。その結果、RTVを添加すると、RUNX2のタンパク発現が著明に抑制されることが示された(図4)。

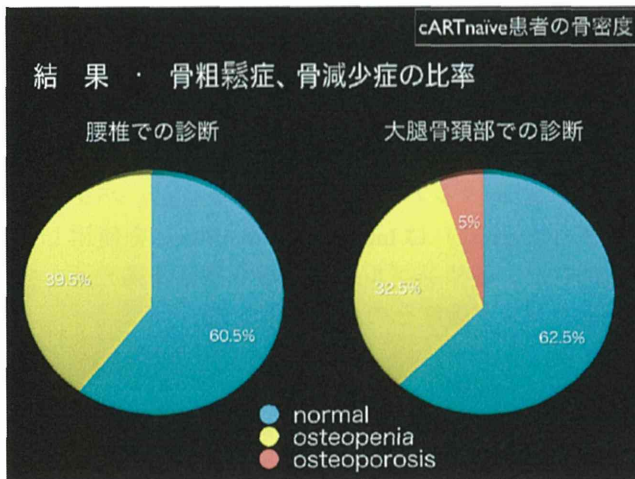


図1 cART導入時の骨密度の分布

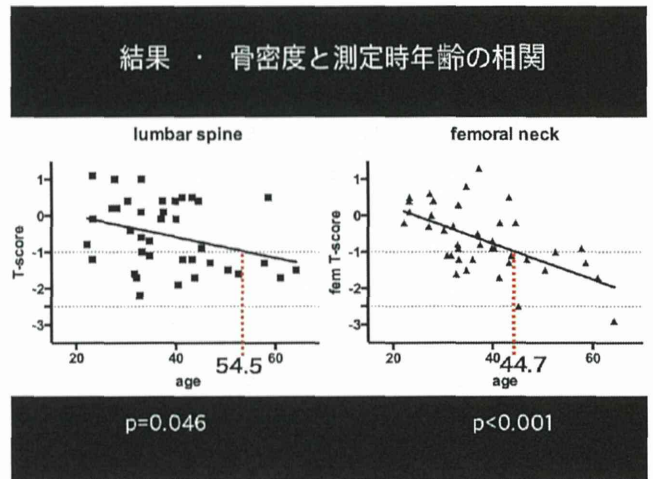


図2 cART導入時の骨密度と測定時年齢との相関

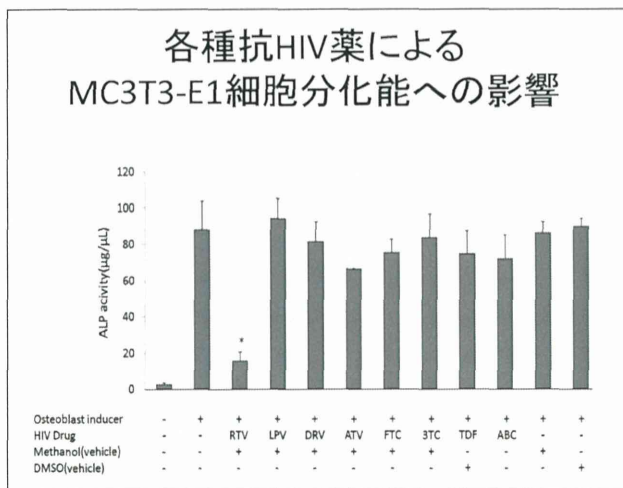


図3 抗HIV薬の骨芽細胞分化への影響 (ALP/総タンパク量)

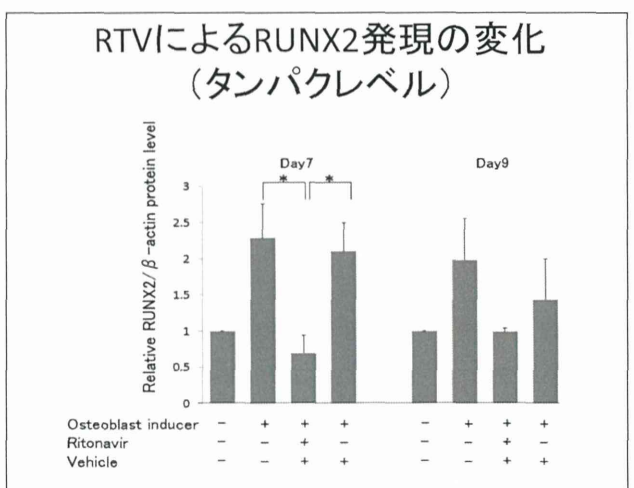


図4 RTVによるRUNX2発現の変化

D. 考察

前年度の研究をさらに発展させ、cART導入時における骨密度を解析した。その結果、抗HIV薬の影響を認めないcART導入時においても、過半数の症例で、腰椎あるいは大腿骨頸部のいずれかにおいて、骨密度の低下が確認された。従って、HIV感染自体によっても、骨密度の低下を来し得ると考えられる。抗HIV薬が骨密度に及ぼす影響を解析する際には、この事実をふまえて判断する必要があると思われる。また骨密度の低下は年齢との相関が認められたことから、年齢が高くなればなるほど、骨折のリスクも増すものと推測された。今後HIV感染症患者はますます高齢化していくが、その際に骨密度低下がQOLの低下をもたらす可能性があると思われる。

種々の抗HIV薬が骨の各構造においてpharmacokineticsが異なるのか、あるいは長管骨や扁平骨など部位の異なる骨によってpharmacokineticsが異なるのかなどの点は明らかとなっていない。骨への作用を検討する上で抗HIV薬の適正な濃度において検討

することが重要ではあるが、現時点では骨での pharmacokinetics の情報がないため、今回の検討では抗HIV薬の血清でのCmaxを基準として、いくつかの濃度で検討した。

RTVの処理により骨芽細胞の分化が抑制されることが、ALP活性の低下をもって確認された。骨芽細胞は類骨を形成し、そこにリン酸カルシウムを沈着させるが、沈着に際して骨芽細胞表面に存在するALPが重要な役割を担っており、ALP活性は骨芽細胞の分化マーカーとして使用できることがわかっている。今回の解析結果は、プロテアーゼ阻害薬のブースター効果を期待して併用されることの多いRTVに、骨芽細胞の分化の抑制作用がみられることが*in vitro*の系で確認されたということであり、このことがプロテアーゼ阻害薬をキードラッグとしたcARTにおいて、骨密度の低下を認めた際の骨密度の低下を説明する一因なのか興味深い結果と考える。

RTV以外の他のプロテアーゼ阻害薬、逆転写酵素阻害薬、インテグラーゼ阻害薬では、ALP活性の低

下は認められなかった。RTVはプロテアーゼ阻害薬のブースターの効果を期待して、現在でも未治療の第一選択薬の中に含まれるプロテアーゼ阻害薬であるが、ブースト量RTVを加えたDRV/r, ATV/r, LPV/rでもALP活性の低下は認められなかった(data not shown)。従って、今回我々の基礎的研究で得られた知見を、臨床的知見に結び付けるのはさらなる検討が必要であると考ええる。

今回の解析で、RTV添加により転写因子RUNX2のタンパク発現が抑制されていることが示された。従って、RTVが骨芽細胞分化を抑制する際の作用点は、RUNX2あるいはその上流の分子であると考えられるが、骨芽細胞分化に関与するシグナルはきわめて複雑であり、その解明は単純ではない。今後の詳細な解析が必要である。

E. 結論

HIV感染症患者の骨密度は、cART導入時にすでに過半数の症例で、脊椎あるいは大腿骨頸部のいずれかで骨密度が低下していた。また骨密度の低下は、年齢との強い相関が認められた。

RTVが骨芽細胞の分化を抑制することを確認した。またRTVによりRUNX2のタンパク発現が抑制されていた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yoshino Y, Wakabayashi Y, Seo K, Koga I, Kitazawa T, Ota Y. Hyaluronic Acid concentration in pleural fluid: diagnostic aid for tuberculous pleurisy. *J Clin Med Res*. 2015 7:41-4.
- 2) Kitazawa T, Yoshino Y, Suzuki S, Koga I, Ota Y. Lopinavir inhibits insulin signaling by promoting protein tyrosine phosphatase 1B expression. *Exp Ther Med*. 2014 8:851-855.
- 3) Yoshino Y, Abe M, Seo K, Koga I, Kitazawa T, Ota Y. Multifocal Cellulitis due to Disseminated Neisseria Gonorrhoeae in a Male Patient. *J Clin Med Res*. 2014 6:215-7.
- 4) Yusuke Yoshino, Yoshitaka Wakabayashi, Satoshi Suzuki, Kazunori Seo, Ichiro Koga, Takatoshi Kitazawa, Shu Okugawa, Yasuo Ota. Clinical features of catheter-related candidemia at disease onset. *Singapore Med J*. 2014 55: 579-582.

2. 学会発表

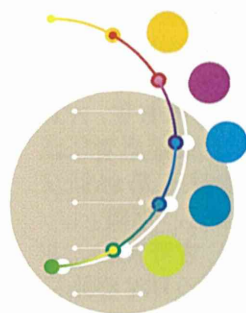
- 1) I. Koga, K. Seo, Y. Wakabayashi, S. Suzuki, Y. Yoshino, T. Kitazawa, I. Kurahashi, Y. Ota. Increased urinary NTX predicts progressive decreas-

es in bone mineral density among HIV patients on CART. 24th ECCMID. May, 2014, Barcelona, Spain.

- 2) 古賀一郎, 妹尾和憲, 若林義賢, 鈴木智史, 吉野友祐, 北沢貴利, 太田康男. HIV感染症患者に認めた脆弱性骨折とその対策の検討. 第88回日本感染症学会学術集会. 2014年6月、福岡。
- 3) 古賀一郎, 妹尾和憲, 若林義賢, 吉野友祐, 北沢貴利, 太田康男. cART開始前のHIV感染症患者における骨密度低下の頻度と臨床マーカーの解析. 第28回日本エイズ学会学術集会. 2014年12月、大阪。
- 4) 岡崎玲子, 蜂谷敦子, 服部純子, 瀧永博之, 渡邊大, 長島真美, 貞升健志, 近藤真規子, 南留美, 吉田繁, 森治代, 内田和江, 椎野禎一郎, 加藤真吾, 千葉仁志, 伊藤俊広, 佐藤武幸, 上田敦久, 石ヶ坪良明, 古賀一郎, 太田康男, 山元泰之, 福武勝幸, 古賀道子, 岩本愛吉, 西澤雅子, 岡慎一, 岩谷靖雅, 松田昌和, 重見麗, 保坂真澄, 林田庸総, 横幕能行, 上田幹夫, 大家正義, 田邊嘉也, 白阪琢磨, 小島洋子, 藤井輝久, 高田昇, 高田清式, 山本政弘, 松下修三, 藤田次郎, 健山正男, 杉浦互. 新規HIV/AIDS診断症例における薬剤耐性HIVの動向. 第28回日本エイズ学会学術集会. 2014年12月、大阪

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし



安全な治療法開発のための研究

抗HIV療法の循環器系への影響の解析—心血管系への影響の解析—

担当責任者

本田 元人 (独) 国立国際医療研究センター エイズ治療・研究開発センター

研究要旨

日本人HIV感染者における動脈硬化症の発症機序解明を目的に頸動脈超音波検査および炎症マーカー（ANGPTL2）を用いて評価した。血中HIV-RNA陽性例において動脈硬化ありの場合血清ANGPTL2値が高いがnon-HIVと違いANGPTL2と肥満（BMI）との相関はなく、HIV感染者でのANGPTL2の上昇のメカニズムはnon-HIVとは違い脂肪組織以外のところに主座があり、HIVによる慢性炎症で上昇しているものと推察された。

A. 研究目的

抗HIV薬の進歩はHIV感染者の予後を大幅に改善したが、その一方で各種の副作用が問題となっている。特にプロテアーゼ阻害薬による脂質異常症は大きな課題で、PI投与により心筋梗塞のリスクが上昇するとの報告が存在する。今後はHIV感染者における動脈硬化症の改善、すなわち心・脳血管リスクを軽減させ、イベントを回避することがHIV感染者の長期療養上で非常に重要な課題となると考えられる。またAngptlファミリーはヒトにおいて7種類同定されており、その多くが血管新生制御に作用するとされる。そのなかでAngptl2は慢性炎症に関与する重要な因子と考えられており冠動脈疾患患者、特に多枝病変患者において血中濃度が有意に高く、血管局所の慢性炎症、動脈硬化の進展への関与を示している。今回HIV感染者における動脈硬化症の発症機序解明を目的にHIV感染者におけるAngptl2について検討した。

B. 研究方法

頸動脈超音波検査および高感度CRP（hs-CRP）、血中ICMA-1、VCAM-1、HIV関連項目、心脳血管危険因子といったデータを横断的に収集した。動脈硬化の評価として頸動脈超音波検査により両総頸動脈の内膜中膜複合体厚（carotid intima media thick-

ness (IMT)のうち最大IMT（max-IMT）とプラークの有無、高感度CRP（hs-CRP）、血中ICMA-1、VCAM-1、血清ANGPTL2を検討した。本研究では頸動脈超音波検査の精度向上と検査者によるバイアスを避けることを目的としてmax-IMTは頸動脈超音波検査画像解析ソフトIntimaScopeにより計測した。

実施にあたっては国立国際医療研究センター倫理委員会の承認を得て実施した。

C. 研究結果及びD. 考察

日本人HIV感染者412名（男性405名、女性7名20-75歳 平均年齢45.1歳）が対象となった。血中HIV-RNA陽性例（HIV-RNA>20copy/ml）で血清ANGPTL2値が高く（陽性例3.790ng/ml n=340,陰性例3.235 ng/ml n=72 p=0.017）、血中HIV-RNA量は血清ANGPTL2値と相関した（R=0.384 p=0.006）。また血中HIV-RNA陽性例で動脈硬化ありの例（n=32）では動脈硬化なしの例（n=60）よりも血清ANGPTL2値が高かった（陽性例3.790 ng/ml n=340, 陰性例3.235 ng/ml n=72 p=0.017）が血清hs-CRPや血清ICAM1で同様の検討をしたところ有意差はみられなかった。ANGPTL2は血管のほか主に脂肪組織に豊富に発現しており、肥満の脂肪組織において生じる低酸素状態や飽和脂肪酸による小胞体ストレスで発現が亢進するとされ、実際にANGPTL2とBMIは相関することが報告されている。しかしHIV