

201518001A

厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業（エイズ対策政策研究事業）
平成27年度総括・分担研究報告書

HIV感染症とその合併症に対する 新規治療法の開発に関する研究



平成28(2016)年3月

研究代表者 岡 慎一

国立研究開発法人 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

平成 27 年度
厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業
(エイズ対策政策研究事業)

HIV 感染症とその合併症に対する
新規治療法の開発に関する研究

—平成 27 年度 総括・分担研究報告書—

研究代表者 岡 慎一

平成 28(2016)年 3 月

研究代表者

岡 慎一 国立研究開発法人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
センター長

研究分担者

塚田 訓久 国立研究開発法人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
医療情報室長

吉村浩太郎 自治医科大学医学部外科学講座
(形成外科部門) 教授

目次

総括研究報告書

HIV 感染症とその合併症に対する新規治療法の開発に関する研究	1
研究代表者： 岡 慎一	
国立研究開発法人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 センター長	

分担研究報告書

HIV/HCV 重複感染者の肝硬変に対する自己骨髄を用いた肝再生療法	10
研究分担者： 塚田 訓久	
国立研究開発法人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 医療情報室長	
d4T を含んだ治療の副作用としての顔面のやせに対する治療法開発	14
研究分担者： 吉村 浩太郎	
自治医科大学医学部外科学講座（形成外科部門）教授	

研究成果の刊行に関する一覧.....	19
--------------------	----

1. 総括研究報告書





HIV 感染症とその合併症に対する新規治療法の開発に関する研究

- 研究代表者： 岡 慎一 国立研究開発法人 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 センター長
- 研究分担者： 塚田 訓久 国立研究開発法人 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 医療情報室長
- 吉村浩太郎 自治医科大学 形成外科 教授
- 研究協力者： 西島 健 国立研究開発法人 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
- 高野 操 国立研究開発法人 国立国際医療研究センター
バイオバンク科臨床研究試料管理室
- 小形 幹子 国立研究開発法人 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
- 田中 和子 国立研究開発法人 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
- 中野 彰子 国立研究開発法人 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

3つの柱でスタートした研究班であるが、柱①は、H26年度で終了したため、H27年度は、柱②と③の報告になる。②肝再生療法は、再生治療ということで、4年にわたる安全性の長期フォローを行った。懸念された発癌誘発はなかった。③顔のやせに対する治療法開発は、6例に対し実施、今後1年後で効果判定を行う。対象患者からとった脂肪細胞は、形態的にも表面マーカー的にも異常があり、NRTIの副作用が遷延していることを推定させた。。

A. 研究目的

HIV 感染症とその合併症に対する新規治療法の開発を目的として、次にあげる3つの研究を行った。

① HIV 感染症に対する新しい治療法開発に関する研究（SPARE 試験）、② HIV/HCV 重複感染者の肝硬変に対する自己骨髄を用いた肝再生療法、③ d4T を含んだ治療の副作用としての顔面のやせ（Facial Lipatrophy: FL）に対する治療法開発。

ただし、①は、H26年度で終了しているので、H27年度は、②と③の研究に関する報告をする。

B. 研究方法

① SPARE 試験

H26年度で終了

② 肝再生療法

H25年以降新規組み入れは無いが、再生医療という特性から、予定した48週を超えた長期の経過観察により安全性と有効性を判定した。

③ FL に対する治療法開発

本研究は、HIV 関連顔面脂肪萎縮に対する形成外科的手法を用いた修復術の安全性と有効性を検索す

研究名	過去の実施状況	H25年度 (2013)	H26年度 (2014)	H27年度 (2015)
① SPARE試験 (多施設共同RCT) NRTIを使用しない治療法の腎機能改善と有効性を検討	厚労科研にて開始 H22計画、 H23組み入れ終了 H24経過観察	48週での経過報告。 96週までの経過観察	96週での経過報告。 研究終了。	
② 肝再生治療 HIV/HCV重複感染 肝硬変患者に対する自己骨髄を用いた肝再生治療	国際開発費重点研究にて開始 H23開始、2例実施 H24年2例実施、 2例スクリーニング	H25年度1例実施、2例実施説明 (合計5例実施)	H26年も観察継続。	再生医療として最長4年間経過観察を継続した。 研究終了。
③ FL治療 Facial lipoatrophy (FL) に対する治療法の開発		当初RCTでの研究を予定していたが、研究計画を再検討	自己脂肪移植術を開始。	2016年1月までに6例実施。

るための、非対照、探索的研究である。対象者から同意を取得したのち、腹部、腰背部、大腿部などの自家脂肪が利用できる症例（一般的にはBMI = 20以上）においては、全身麻酔下に自家脂肪移植術を行う（A群）。それ以外の症例においては、局所麻酔下に架橋ヒアルロン酸注射剤（Restylane SubQ®）注入術を行う（B群）。いずれの群においても、処置は日本形成外科学会専門医の資格を有する医師が行う。血友病症例が対象となる場合には、術前に適切な凝固因子製剤投与を行う。予定登録数は10例で、治療後約48週間を観察期間とし、安全性と有効性を検討する。治療成績は、術前と術後で、写真、CT（もしくはMRI）を用いた3次元画像解析により、12か月後に最終評価する。同意があれば、手術時に組織生検を行い、AIDS 脂肪萎縮症患者の脂肪組織特性の分析を行う。患者から採取した吸引脂肪組織、生検組織を、健康患者のサンプルと比較し、分析する。包埋切片の組織染色（幹細胞数や炎症所見）、採取した間質血管細胞群に含まれる細胞組成分析、などを比較検討する。

（倫理面への配慮）

本研究②は「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」を、③は「臨床研究に関する倫理指針」を遵守した。なお、これらの臨床研究の国立国際医療研究センターにおける倫理委員会の承認番号は、②（NCGM-G-732）、③（NCGM-G-1598）である。サンプル、個人情報、および解析結果は、匿名化して厳重に保管している。結果や学術論文や学会の報告

で、顔の写真を出す場合にも患者のプライバシー保護に十分注意する。

C. 研究結果

① SPARE 試験

H26年度で終了

② 肝再生療法

自己骨髄細胞投与療法を行った5例のChild-Pughスコア（図1）、の4年間の推移を示す。全体として自己骨髄細胞投与の有効性を判断できるだけのデータは得られていないが、1例のみ実施後の肝機能の悪化が止まり、やや改善傾向である。しかし、5例のうち2例は肝移植適応と判断され、観察期間終了後に脳死肝移植、生体肝移植がそれぞれ1例に対して行われた。長期経過観察していた1例もSOF+LDVによる治療でHCVが治癒したため、経過観察を打ち切った。4年の観察期間で、再生医療で危惧された発癌はなかった。

③ FL に対する治療法開発

合計4例において脂肪移植術を、2例においてヒアルロン酸注入術を行った。現在、術後経過を慎重に観察中である。12か月まで経時的に観察し、最終臨床結果の評価を行う予定である。残りの予定症例（4例）においても、今後に行う予定である。

AIDS 脂肪萎縮症患者5名より、皮膚皮下組織、吸引脂肪のサンプルを採取した。および健常患者2

名より、正常組織を採取した。それぞれの吸引脂肪組織から酵素処理により血管間質細胞群を採取し、フローサイトメトリ（FACS）にて細胞成分の組成について分析するとともに、包埋組織切片の組織学的分析、RNA の抽出を行った。吸引脂肪の FACS 解析による細胞組成分析結果からは、AIDS 脂肪萎縮症患者においては、健常人に比べて、①脂肪由来幹細胞が少ないこと、②M2 マクロファージが少なく M1 マクロファージが多いこと、③正常脂肪では通常見られない細胞集団（CD45-/CD14+/CD206-/CD34+）が認められた。骨髄由来の fibrocyte（間葉系の前駆細胞）の遊走・浸潤を疑わせる所見と考えられる（図 2）。

脂肪組織の免疫染色の所見では、AIDS 脂肪萎縮症においては脂肪組織局在のマクロファージ（とくに M2 マクロファージ）の数が全体的に少ない、血管内皮マーカーとマクロファージマーカーを共発現する細胞（通常は見られない）が見られる、という所見が得られた（図 3）。

D. 考察

- ① SPARE 試験
H26 年度で終了

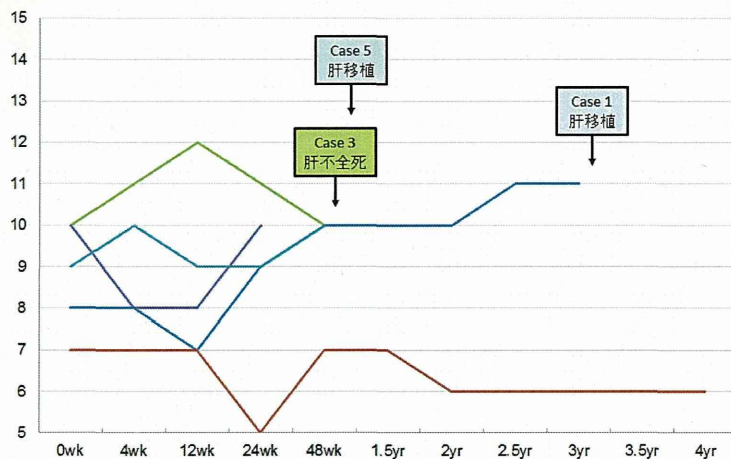


図 1

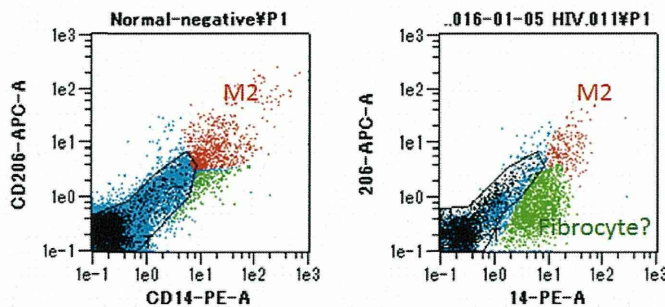


図 2

FACS 所見の一部 正常（左）と AIDS 脂肪萎縮症（右）

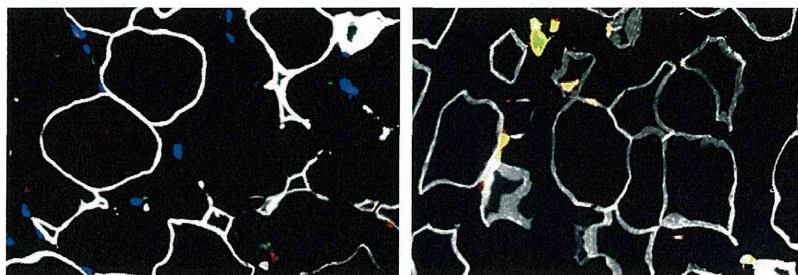


図 3

免疫染色の一部 正常（右）と AIDS 脂肪萎縮症（左）

白（ペリリピン：脂肪細胞）、青（ヘキスト：核）、赤（MAC2：マクロファージ）、緑（CD206：M2 マクロファージ）

② 肝再生療法

幹細胞研究であることに鑑み、本研究においてはプロトコルに規定された48週の観察期間を終了した後も、同様の嚴重な経過観察を続けてきた。第3例が観察期間終了後（54週）に腸炎症状に引き続く敗血症・呼吸不全のため死亡したが、経過から本研究参加との関係はないものと判断されている。

③ FL に対する治療法開発

臨床研究では、脂肪移植、HA 注入ともに、短期的には良好な改善が見られている。しかし、長期的な組織増大効果は落ちることが予想され、正確には長期経過観察・評価を待つ必要がある。また問題点としては、脂肪移植については患者が痩せているために期待するほど移植のための十分量の脂肪組織が得られないことがあること、HA 注入の場合には頬部中心部の注入では骨床がないために長期残存が期待できないために効果が得られないこと、があげられる。

組織の解析結果からは、AIDS 脂肪萎縮症の患者においては、正常脂肪では見られない慢性炎症所見やそれに対する適応反応によると思われる現象が認められた。骨髄から炎症細胞や前駆細胞や遊走して浸潤し、一方では急性期に見られるはずの幹細胞やM2マクロファージの増殖はなく、むしろ枯渇している状況が疑われる所見であった。

E. 結論

今年度は、①、②の研究は終了し、③FL に対する治療法開発の研究を集中的に行った。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

研究代表者

岡 慎一

- 1) Mizushima D, Nishijima T, Yashiro S, Teruya K, Kikuchi Y, Katai N, Oka S, and Gatanaga H. Diagnostic utility of quantitative plasma cytomegalovirus DNA PCR for cytomegalovirus end-organ diseases in patients with HIV-1 infection. *JAIDS* 68 (2): 140-146, 2015.

- 2) Ogishi M, Yotsuyanagi H, Tsutsumi T, Gatanaga H, Ode H, Sugiura W, Moriya K, Oka S, Kimura S, and Koike K. Deconvoluting the composition of low-frequency hepatitis C viral quasispecies: Comparison of genotypes and NS3 resistance-associated variants between HCV/HIV coinfecting hemophiliacs and HCV monoinfected patients in Japan. *PLOS One* 10 (3): e0119145, 2015.
- 3) Murakoshi H, Akahoshi T, Koyanagi M, Chikata T, Naruto T, Maruyama R, Tamura Y, Gatanaga H, Oka S, and Takiguchi M. Clinical control of HIV-1 by cytotoxic T cells specific for multiple conserved epitopes. *J Virol* 89 (10): 5330-5339, 2015.
- 4) Sawada I, Tanuma J, Do CD, Doan TT, Luu QP, Nguyen LAT, Vu TVT, Nguyen TQ, Tsuchiya N, Shiino T, Yoshida LM, Pham TTT, Ariyoshi K, and Oka S. High Proportion of HIV Serodiscordance among HIV-affected Married Couples in Northern Vietnam. *PLOS One* 10 (4): e0125299, 2015.
- 5) Kuse N, Rahman MA, Murakoshi H, Chikata T, Giang TV, Kinh NV, Gatanaga H, Oka S, and Takiguchi M. Different effects of NNRTI-resistant mutations on CTL recognition between HIV-1 subtype B and subtype A/E infections. *J Virol* 89 (14): 7363-7372, 2015.
- 6) Ahn JY, Boettiger D, Law M, Kumarasamy N, Yuniastuti E, Chaiwarith R, Lee MP, Sim BL, Oka S, Wong W, Kamarulzaman A, Kantipong P, Phanuphak P, Ng OT, Kiertiburanakul S, Zhang F, Pujari S, Ditangco R, Ratanasuwan W, Merati TP, Saphom V, Sohn AH, and Choi JY. Effects of CD4 monitoring frequency on clinical endpoints in clinically stable HIV-infected patients with viral suppression. *JAIDS* 69 (3): e85-92, 2015.
- 7) Sax PE, Wohl D, Yin MT, Post F, Dejesus E, Saag M, Pozniak A, Thompson M, Podzamczar D, Mollia JM, Oka S, Koening E, Trottier B, Andrade-Villanueva J, Crofoot G, Custodio JM, Plummer A, Zhong L, Cao H, Martin H, Callebaut C, Cheng AK, Fordyce MW, McCallister S, for the GS-US-292-0104/0111 Study Team. Tenofovir alafenamide versus tenofovir disoproxil fumarate, coformulated with elvitegravir, cobicistat, and emtricitabine, for initial treatment of HIV-1 infection: two randomized, double-blind, phase 3, non-inferiority trials. *Lancet* 385 (9987): 2606 - 2615, 2015.
- 8) Tanizaki R, Nishijima T, Aoki T, Teruya K, Kikuchi Y, Oka S, and Gatanaga H. High-dose oral Amoxicillin plus probenecid is highly effective for syphilis in patients with HIV infection. *Clin Infect Dis* 61 (2): 177- 183, 2015.

- 9) Kinai E, Gatanaga H, Kikuchi Y, Oka S, Kato S. Ultrasensitive method to quantify intracellular zidovudine mono-, di- and triphosphate concentrations in peripheral blood mononuclear cells by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Mass Spectrom* 50(6):783-791, 2015.
- 10) Nishijima T, Yashiro S, Teruya K, Kikuchi Y, Katai N, Oka S, Gatanaga H. Routine eye screening by an ophthalmologist is clinically useful for HIV-1-infected patients with CD4 count less than 200 / μ L. *PLOS One* 10 (9), e0136747, 2015.
- 11) Nagata N, Watanabe K, Nishijima T, Tadokoro K, Watanabe K, Shimbo T, Niikura R, Sekine K, Akiyama J, Gatanaga H, Teruya K, Kikuchi Y, Uemura N, and Oka S. Prevalence of anal papillomavirus infection and risk factors among HIV-positive patients in Tokyo, Japan. *PLOS One* 10 (9), e0137434, 2015.
- 12) Hashimoto M, Nasser H, Bhuyan F, Kuse N, Satou Y, Harada S, Yoshimura K, Sakuragi J, Monde K, Maeda Y, Welbourn S, Strebek K, Abd EW, Wahab E, Miyazaki M, Hattori S, Chutiwitoonchai N, Hiyoshi M, Oka S, Takiguchi M, and Suzu S. Fibrocytes differ from macrophages but can be infected with HIV-1. *J Immune* 195 (9): 4341-4350, 2015.
- 13) Shibata S, Nishijima T, Aoki T, Tanabe Y, Teruya K, Kikuchi Y, Kikuchi T. Oka S, and Gatanaga H. A 21-day of adjunctive corticosteroid use is not necessary for HIV-1-infected pneumocystis pneumonia with moderate severity. *PLOS One* 10 (9), e0138926, 2015.
- 14) Matsumoto S, Tanuma J, Mizushima D, Thi CN, Pham TTT, Cuong DD, Tuan Q, Dung T, Dung HTN, Tien L, Kinh V, and Oka S. High treatment retention rate in HIV-infected patients on antiretroviral therapy at two large HIV clinics in Hanoi, Vietnam. *PLOS One* 10 (9), e0139594, 2015.
- 15) Nishijima T, Hayashida T, Kurosawa T, Tanaka N, Tsuchiya K, Oka S, Gatanaga H. Drug transporter genetic variants are not associated with TDF-related renal dysfunction in patients with HIV-1 infection: a pharmacogenetic study. *PLOS One* 10(11): e0141931, 2015.
- 16) Tran GV, Chikata T, Carlson J, Murakoshi H, Nguyen DH, Tamura Y, Akahoshi T, Kuse N, Sakai K, Koyanagi M, Sakai S, Cobarrubias K, Nguyen DT, Dang BT, Nguyen HTN, Nguyen TV, Oka S, Brumme Z, Nguyen KV, and Takiguchi M. A strong association of HLA-associated Pol and Gag mutations with clinical parameters in HIV-1 subtype A/E infection. *AIDS* 2015 Nov 20. [Epub ahead of print]
- 17) Nishijima T, Takano M, Koyama M, Sugino Y, Ogane M, Ikeda K, Kikuchi Y, Oka S, and Gatanaga H. What triggers a diagnosis of HIV infection in Tokyo metropolitan area? Implications for preventing spread of HIV epidemics in Japan. *PLOS One* 10(11): e0143874, 2015.
- 18) Takahashi Y, Nagata N, Shimbo T, Nishijima T, Watanabe K, Aoki T, Sekine K, Okubo H, Watanabe K, Sakurai T, Yokoi C, Mimori A, Oka S, Uemura N, and Akiyama J. Upper Gastrointestinal Symptoms Predictive of Candida Esophagitis and Erosive Esophagitis in HIV and Non-HIV Patients: An Endoscopy-Based Cross-Sectional Study of 6,011 Patients. *Medicine (Baltimore)* 94 (47): e2138, 2015.

研究分担者

塚田訓久

該当なし

研究分担者

吉村浩太郎

- 1) Kinoshita K, Kuno S, Ishimine H, Aoi N, Minoda K, Kato H, Doi K, Kanayama K, Feng J, Mashiko T, Kurisaki A, and Yoshimura K. Therapeutic potential of adipose-derived SSEA-3-positive Muse cells for treating diabetic skin ulcers. *Stem Cells Transl Med* 4: 146-155, 2015.
- 2) Mashiko T, and Yoshimura K. How Fat Survives and Remodels after Grafting? *Clin Plast Surg*, 42:181-190, 2015.
- 3) Kuno S, and Yoshimura K. Condensation of tissue and stem cells for fat grafting. *Clin Plast Surg* 42:191-197, 2015.
- 4) Yoshimura K, and Coleman S. Complications of fat grafting. *Clin Plast Surg* 42: 383-388, 2015.
- 5) Pu L, Yoshimura K, and Coleman S. Future perspective of fat grafting. *Clin Plast Surg* 42: 389-394, 2015.
- 6) Doi K, Ogata F, Eto H, Kato H, Kuno S, Kinoshita K, Kanayama K, Feng J, Manabe I, and Yoshimura K. Differential contributions of graft- and host-derived cells in tissue regeneration/remodeling after fat grafting. *Plast Reconstr Surg* 135:1607-1617, 2015.
- 7) Mashiko T, Abo Y, Kuno S, and Yoshimura K. A novel facial rejuvenation treatment using pneumatic injection of non-cross-linked hyaluronic acid and hypertonic glucose solution. *Dermatol Surg* 41: 755-758, 2015.