

201518001B

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25-27年度総合研究報告書

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 25-27 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 25-27 年度 総合研究報告書—

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

潟永 博之 国立研究開発法人国立国際医療研究センター
H25年のみ エイズ治療・研究開発センター
治療開発室医長

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 感染症に対する新しい治療法開発に関する研究 (SPARE 試験).....	8
研究分担者： 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

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	

研究協力者一覧	19
---------------	----

研究成果の刊行に関する一覧.....	23
--------------------	----

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

瀧永 博之 国立研究開発法人 国立国際医療研究センター
H25 年のみ エイズ治療・研究開発センター 治療開発室医長

研究要旨

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 3 つの柱で実施した研究班である。柱①は、NRTI を使用しない治療法の試みであるが、H25 年度に 48 週目の主要評価項目に関し論文化し、H26 年度で 96 週の経過観察をすべて終了した。②の肝再生療法は、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い今年度で終了した。期待された有効性は見られなかったが、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。可能であれば、10 例を目標に継続する。

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。実際には、臨床研究には企画から実施、終了まで 5 年以上を要するので、柱①と②は、前研究班からのロールオーバーである。研究の全体像と各柱の実施経過を図 1 にまとめておく。

B. 研究方法

① SPARE 試験

国内 11 施設による多施設オープンラベルランダム化比較試験。標準治療（プロテアーゼ阻害薬 lopinavir/ritonavir と NRTI (tenofovir/emtricitabine) 内服により HIV ウイルスが抑制された治療経験症例を、インテグラーゼ阻害薬 raltegravir とプロテアーゼ阻害薬 darunavir/ritonavir による逆転写酵素阻害薬を含まない治療群（NRTI Sparing）と標準治療の継続群に無作為に割付け、96 週観察した。主要エンドポイントは 48 週時における試験開始時と比較した腎機能の 10 % 以上の改善とし、さらに 96 週までのウイルス学的有効性、安全性について検討した。

② 肝再生療法

Child-Pugh スコア 7 点以上の HIV 感染合併肝硬変例を対象とした。自己骨髄細胞採取は、血液内科領域で行われている骨髄移植と同様の方法で行った。全身麻酔下に両腸骨より骨髄液約 400mL を採取し、ボーンマロウコレクションシステムを用いて骨片等の除去を行った後、血球分離装置を用いて閉鎖回路内で単核球分離を行い、得られた細胞分画を経静脈的に投与した。処置後 1 週間は入院下で経過観察し、以後 48 週までの規定の時期に経過観察を行う。一次エンドポイントは処置後 24 週間時点での有効性とし、主に Child-Pugh スコアを用いて判定する。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

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った（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®）注入術を行った（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、周術期に適切な凝固因子製剤投与を行った。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し

た。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った。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、分析した。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、などを比較検討した。

（倫理面への配慮）

柱①では、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守し、全参加 11 施設において適切な倫理委員会の承認を受け、試験参加者より同意書への署名を得た。NCGM での倫理委員会の承認番号は、NCGM-969 である。臨床試験登録（ClinicalTrials.gov NCT01294761）

柱②では、NCGM 倫理委員会の承認の後（NCGM-G-732）、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」を遵守し実施した。また、実施に当たり、H23 年 1 月 4 日細川律夫厚労大臣より認可を受けている。

柱③では、NCGM 倫理委員会の承認の後（NCGM-G-1598）、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守し実施した。

なお、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。

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。

図 1

C. 研究結果

① SPARE 試験

ランダム割付けされ治療を開始した 58 例を解析した（NRTI Spare 群 28 例、標準治療群 30 例、図 2）。10%以上の eGFR の回復は NRTI Spare 群で 25%、標準治療群の 11%で、両群に差はなかった(p=0.272)。NRTI Spare 群での割付レジメンの有害事象による薬剤中断は 1 例（下肢の脱力感）のみであった。Per protocol 解析で 96 週時に NRTI Spare 群の 96%、標準治療群の 96%で HIV RNA <50 copies/mL を達成した。

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 3）、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。

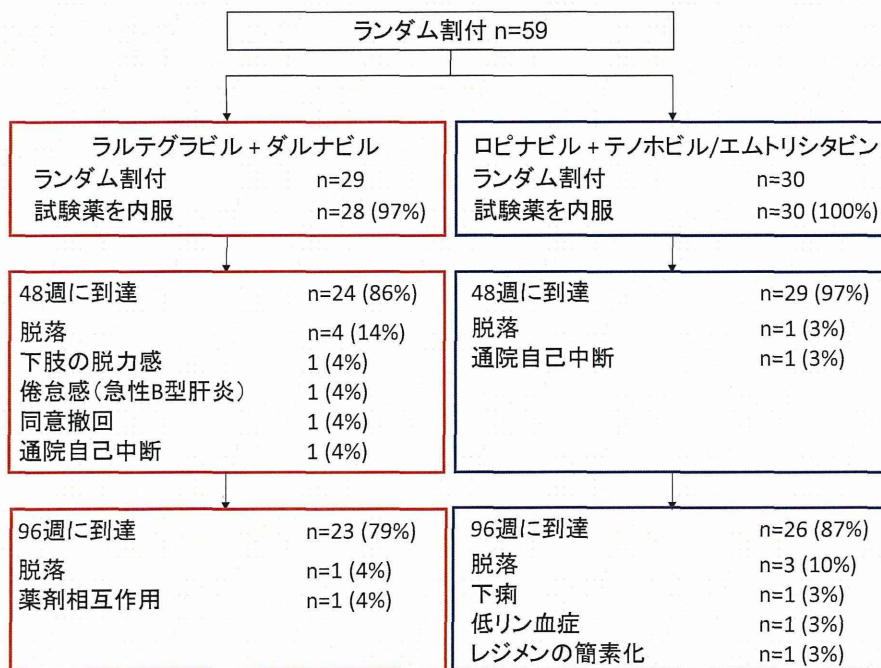


図 2

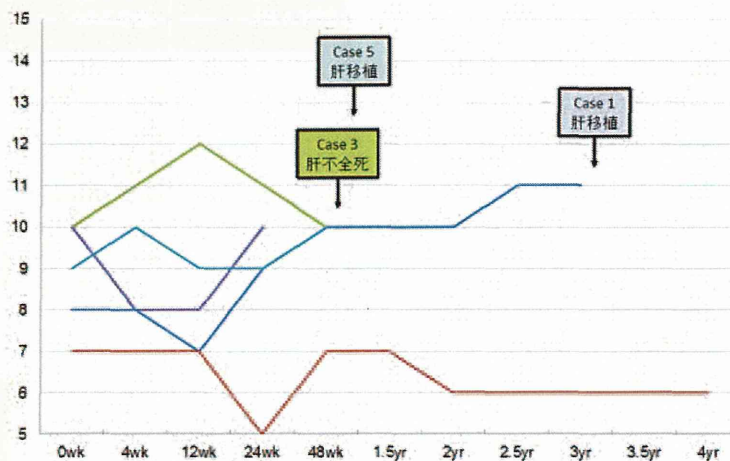


図 3

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、② M2 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 4)。

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 5)。

D. 考察

① SPARE 試験

tenofovir を中止し NRTI sparing レジメンに変更しても eGFR の回復はみられなかった。これは、本研究開始時の組み入れ時点で、LPV+TDF による腎障害の少ない患者がこの治療に残っており、ベースの腎機能が良かったためと推定される。NRTI sparing 群は per protocol 解析で標準治療群と同様に良好な抗ウイルス効果を示した。ただし、有効性の非劣性を証明するには症例数が少なく、参考値となった。一方、患者の高齢化に伴い NRTI sparing の治療法は、その重要性が増してきている。実際、現在は組み合わせが違うが、DTG+RPV による NRTI sparing 治療を行う患者数は増加している。NRTI sparing というくくりでいうと、今回の SPARE 試験での結果が生かされているといっても良い。

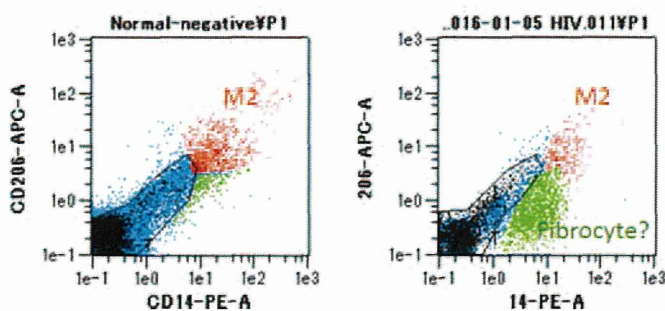


図 4
FACS 所見の一部 正常 (左) と AIDS 脂肪萎縮症 (右)

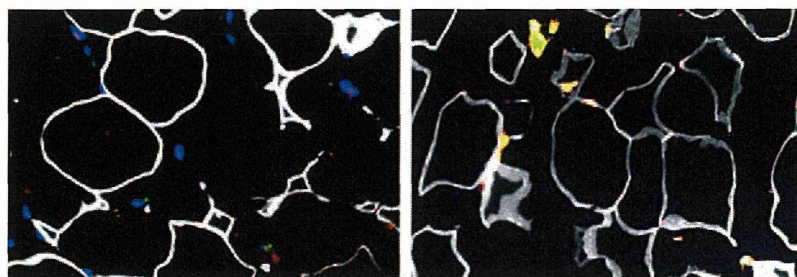


図 5
免疫染色の一部 正常 (右) と AIDS 脂肪萎縮症 (左)
白 (ペリリピン: 脂肪細胞)、青 (ヘキスト: 核)、赤 (MAC2: マクロファージ)、緑 (CD206: M2 マクロファージ)

② 肝再生療法

HIV 陰性者で見られた本治療法の臨床的効果は、HIV 感染者では確認されなかった。これは、骨髄細胞が長年にわたる NRTI 治療により、ミトコンドリア障害を受けていた事による可能性がある。この点は、次の FL 治療の時に脂肪細胞の基礎的解析で検討を加えたい。本研究は、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。また、4 年にわたる経過観察においても危惧されていた発癌は見られなかった。

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。この様な変化は、通常脂肪組織では見られない変化で、HIV 治療薬による副作用、特に NRTI によるミトコンドリア障害による変化と考えられた。これは、柱 2 の肝再生でも HIV 患者と非 HIV 患者の有効性に違いがあったことにつながる結果かもしれない。次の脂肪採取の時には、電顕なども用い、脂肪細胞のミトコンドリア障害の有無を検討したい。

E. 結論

今年度は、①、②の研究は終了し、③ FL に対する治療法開発の研究は継続中である。NRTI sparing 治療のコンセプトは、今後の新しい治療法の参考に

なっている。治療の長期化、患者の高齢化に伴い、NRTI sparing 治療の重要性は増してくると考えられる。肝再生治療は、今後 HCV 治療薬による治療が進み HCV の治癒する患者が増加すると、その必要度は低下してくると考えられる。リポアトロフィーに対する治療法は、もう少し症例を追加して検討していきたい。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 別添

H. 知的財産権の出願・取得状況（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