

II. 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）

課題番号：H25-エイズ-一般-001

- 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
- 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

長期治療を考え NRTI を使用しない治療法の有効性安全性を検討するための無作為割り付け多施設共同臨床試験を国内 11 施設で行った。主要評価項目である腎機能の改善は差が見られなかったが、副次評価項目であるウイルス学的有効性は保たれていた。96 週までのすべてのフォローを終了し、この分担研究は、H26 年度ですべて終了した。

A. 研究目的

HIV 感染症の標準的な治療は核酸系逆転写酵素阻害薬（NRTI）2 剤とキードラッグ 1 剤の計 3 剤にて構成される。当研究は、これら NRTI を含まない薬剤の組合せによる抗 HIV 療法の有効性と安全性、特に頻用される NRTI である tenofovir の代表的有害事象である腎機能障害の可逆性に焦点をあてて検討することを目的とする。

B. 研究方法

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り付け、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。

（倫理面への配慮）

全参加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。

C. 研究結果

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、下図）。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

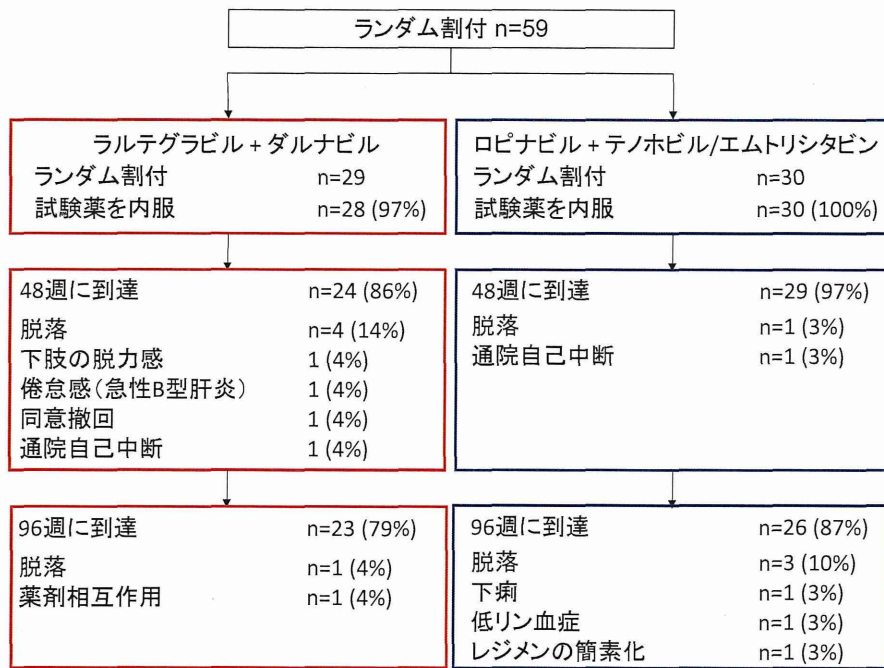


図 1

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。

D. 考察

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。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。

自己評価

Raltegravir と darunavir/ritonavir による NRTI sparing レジメンの HIV-1 ウイルスが抑制された症例における有用性を示した。プロトコールで規定された96週までの予定された臨床試験をすべて終了し、本研究は、H26年度ですべて終了した。

E. 結論

Raltegravir と darunavir/ritonavir による NRTI sparing レジメンは HIV-1 ウイルスが抑制された症例において有用なレジメンである可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 西島 健、瀧永博之、新保卓郎、内藤俊夫、井戸田一朗、鄭 真徳、満屋裕明、岡 慎一. ウイルス抑制例における NRTI スペアレジメン (RAL+DRV/r) と TDF/FTC+LPV/r の比較検討—多施設ランダム化比較試験 96 週結果—. 第 24 回抗ウイルス療法研究会総会、2014 年、5 月、山梨.
- Sax PA, Saag S, Yin MT, Oka S, Koenig E, Trottier B, Villanueva JA, Cao H, and Fordyce MW. Renal and Bone Safety of Tenofovir Alafenamide vs Tenofovir Disoproxil Fumarate. CROI 2015, February, Seattle, USA
- Hayashida T, Tsuchiya K, Gatanaga H, Kikuchi Y, and Oka s. CXCR4 tropic HIV-1 is a cause of but not a result of CD4+ T cell count depression. 8thIAS Conference on HIV Pathogenesis Treatment & Prevention Vancouver, Canada, July, 2015.

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



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

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

研究要旨

HIV 感染合併肝硬変症例に対する自己骨髄細胞投与量法の有効性と安全性を検討した。計 5 例に対して処置を行ったが、非 HIV 感染者で報告されている有効性を HIV 感染者で証明することはできなかった。処置に関連する重篤な有害事象や、処置後の発癌はみられなかった。

A. 研究目的

他に有効な治療法の存在しない HIV 感染合併肝硬変症例において、自己骨髄細胞投与療法により、安全に肝機能および肝線維化の改善が得られるかを検討する。

B. 研究方法

Child-Pugh スコア 7 点以上の HIV 感染合併肝硬変症例を対象とする。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う。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する。血友病症例においては、術中から術翌朝にかけて必要量の凝固因子製剤補充を行う。プロトロンビン活性低下例では、必要に応じ新鮮凍結血漿も投与する。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。

研究実施に先立って「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に従い、厚生労働省再生医療委員会の承認と厚生労働大臣の研究実施許可を取得す

る。安全性を最優先としつつ、研究期間を通じて 10 例の処置を行うことを目標とする。

(倫理面への配慮)

研究結果の公表にあたっては個人を特定できる情報を含めない。

C. 研究結果

2011 年 1 月に厚生労働大臣の研究実施許可を得て自己骨髄細胞投与研究を開始した。2011 年 3 月の第 1 例以降、2013 年度末までに 5 例に対して自己骨髄細胞採取・投与を施行した。研究計画上の経過観察期間は 48 週であったが、幹細胞研究であることに鑑み、それ以降も同様の厳重な経過観察を継続した。

自己骨髄細胞投与療法の有効性について

自己骨髄細胞投与療法を行った 5 例の Child-Pugh スコア (図 1)、血清アルブミン (図 2)、プロトロンビン活性 (図 3) の推移を示す。一次エンドポイントである 24 週間時点での Child-Pugh スコアは、改善 1 例、不変 2 例、悪化 2 例の結果であった。

観察期間終了後に 2 例が肝移植適応と判断され、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。

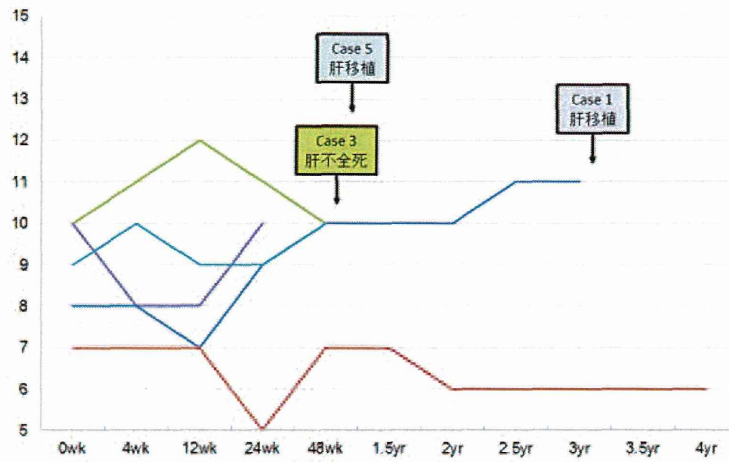


図1 Child-Pugh Score

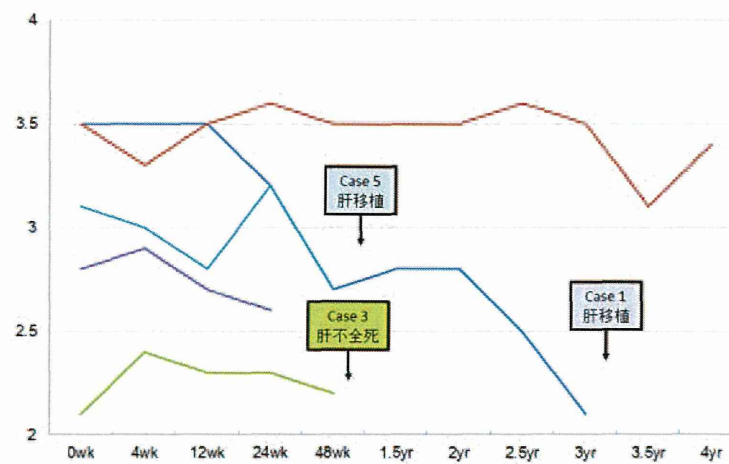


図2 Albumin (g/dL)

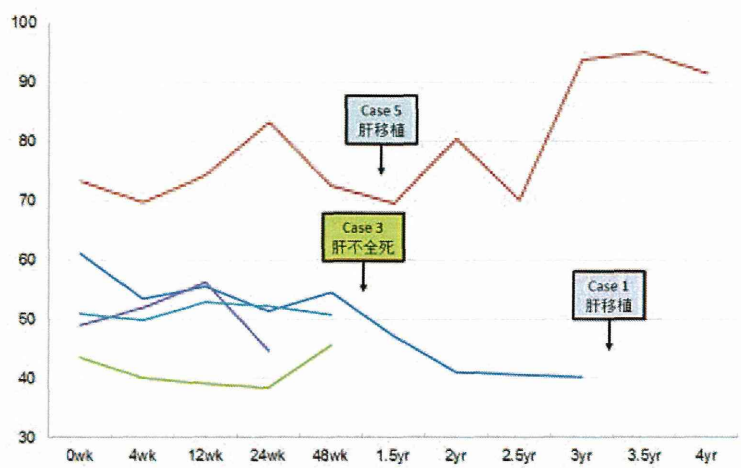


図3 Prothrombin Time (%)

自己骨髄細胞投与療法の安全性について

処置を行った5例のすべてで、周術期に重篤な合併症は生じなかった。

観察期間中に生じた有害事象は以下のとおり。周術期の新鮮凍結血漿輸血に関連する皮疹を除き、いずれも本研究参加との関連はないものと判断された。

- ・大腿部蜂窩織炎（week 17, Grade II）
- ・血友病性消化管出血（week 47, Grade III）
- ・冠動脈狭窄（week 30, Grade III）
- ・胆石嵌頓発作（week 6, Grade III）
- ・胆嚢摘出術後の播種性血管内凝固（week 15, Grade III）
- ・慢性硬膜下血腫（week 19, Grade II）
- ・痙攣発作（week 19, Grade II）
- ・転倒・後頭部表皮剥離（Grade I）
- ・過量服薬（week 30, Grade IV）

第3例が観察期間終了後（54週）に腸炎症状に引き続き敗血症・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た。

最長4年の経過観察中、全5例のいずれにおいても発癌は確認されていない。

D. 考察

非 HIV 感染者を対象とした山口大学消化器内科の先行研究において骨髄細胞投与療法の有効性が示されていたが、我々が処置を行った5例においては有効性を証明するには至らなかった。有効性に差があると仮定した場合、その原因としては骨髄中の単核球分離手技の相違、HIV 感染症自体の影響、抗 HIV 薬の影響、長期にわたる抗 HIV 療法の影響など様々なものが想定され、症例ごとの臨床背景や処置時の肝臓の状態が大きく異なることから症例数を増やしての検討が必要と考えられたが、本研究の対象となる Child-Pugh スコア 7 点以上の HIV/HCV 重複感染症例において 2012 年に医学的緊急度が引き上げられ脳死肝移植が現実的な選択肢となったことも影響して、症例数を増やすことができなかった。

今後、奏効率が非常に高く有害事象の少ない抗 HCV 療法の普及により、HCV による線維化進行が問題となる症例数は減少すると予想される。しかし、特に血友病例では肝炎罹患期間が長く、既に肝線維化が進行している症例も多い。肝不全に至った症例においては依然として肝移植が唯一の根治療法であ

るが、手術侵襲、術後の生涯にわたる免疫抑制療法の必要性の問題に加え、本邦においては脳死グラフトの絶対的不足もあり、希望したとしても全員が移植を受けられるという状況にはない。自己骨髄細胞投与療法により肝線維化を改善させることができれば、このような症例の将来的な肝移植の必要性を低下させることができる可能性が高い。過去に使用された抗 HIV 薬の一部による門脈圧亢進症を合併している症例が存在するが、本症に対して確立した治療はなく、骨髄細胞投与がこれに奏功するかどうか興味深い課題である。

今回の5症例の処置を通じて、血友病例においても自己骨髄細胞採取・投与処置自体を安全に行うことが可能であることは確認されたと考えているが、全身麻酔下での骨髄採取と同日中の単回投与は侵襲が大きく、繰り返しの処置には馴染まない。将来的に局所麻酔下での少量骨髄採取と体外での培養を組み合わせるにより少ない侵襲による繰り返しの投与が可能となった暁には、全身麻酔に耐えられないような進行例を対象に加え、さらなる検討を行いたい。

E. 結論

症例数の問題もあり、非 HIV 感染者で報告されている自己骨髄細胞投与療法の有効性を HIV 感染者で証明することはできなかった。血友病合併例においても、事前の厳重な評価と綿密な出血管理により自己骨髄細胞採取・投与処置自体を安全に行えることが確認された。

F. 研究発表

研究代表者の業績に含む

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



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

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

研究要旨

内服治療の副作用としての顔面脂肪萎縮症に対する臨床研究を、平成 26、27 年度において計 6 例に対して行った。内訳は、脂肪移植 4 例、ヒアルロン酸注入 2 例である。1 年の経過を見て、最終的な評価を行う予定で、現在まだ経過観察中である。患者から採取した脂肪組織試料の分析では、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、③ 正常脂肪では通常見られない細胞集団（CD45⁻/CD14⁺/CD206⁻/CD34⁺）を認める、などの所見が得られた。今後、さらなる詳細な分析を加える予定である。

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、d4T を含んだ治療の副作用としての顔面の脂肪萎縮症に対する治療法の開発。

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、ビデオ、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。必要に応じて、組織生検を行う。

B. 研究方法

1) HIV 関連顔面脂肪萎縮症患者（図 1）に対する

脂肪移植術、ヒアルロン酸注入術の臨床研究

倫理審査委員会の承認と患者のインフォームドコンセントに基づき、HIV 関連顔面脂肪萎縮症患者（BMI = 20 以上）5 名の大腿部、腰背部、腹部より、脂肪吸引法により皮下脂肪を採取し、顔面の脂肪萎縮部位に全身麻酔下に自家脂肪移植術を行う（A 群）。また同様に HIV 関連顔面脂肪萎縮症患者（BMI = 20 未満）5 名においてヒアルロン酸注入剤（レスチレンリド®）による再建を行う。採取した脂肪組織の一部を研究目的に使用する。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う。予定登録数は 10 例で、治療後約 48 週間を観察期間と

2) HIV 関連顔面脂肪萎縮症患者の脂肪組織特性の分析

上記、倫理審査委員会の承認と患者のインフォームドコンセントに基づき、HIV 関連顔面脂肪萎縮症患者から採取した吸引脂肪組織の一部を、非 AIDS 患者で脂肪吸引を受けた患者 5 名の吸引脂肪組織と比較し、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、培養した脂肪間質細胞に含まれる有コロニー形成能細胞（幹細胞数）、Muse 細胞数などを比較検討する。

（倫理面への配慮）

本研究は、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守した。なお、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、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。

結果や学术论文や学会の報告で、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

これまでに顔面脂肪萎縮症の計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(図2)。今後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。すでに顔面脂肪萎縮症患者6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3)。

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1
HIV 関連顔面脂肪萎縮症の外観の例



図2
脂肪移植の1例 術前(左)と術後1か月(右)の外観

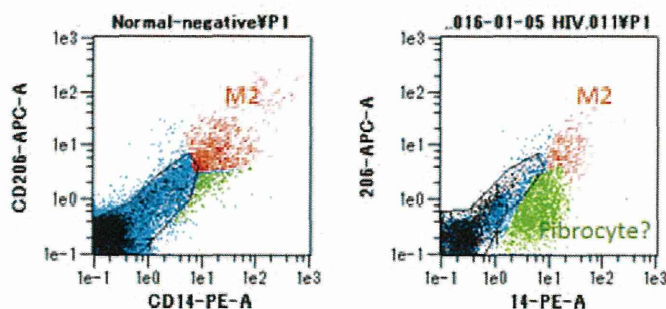


図3
FACS 所見の一部 正常(左)とAIDS脂肪萎縮症(右)

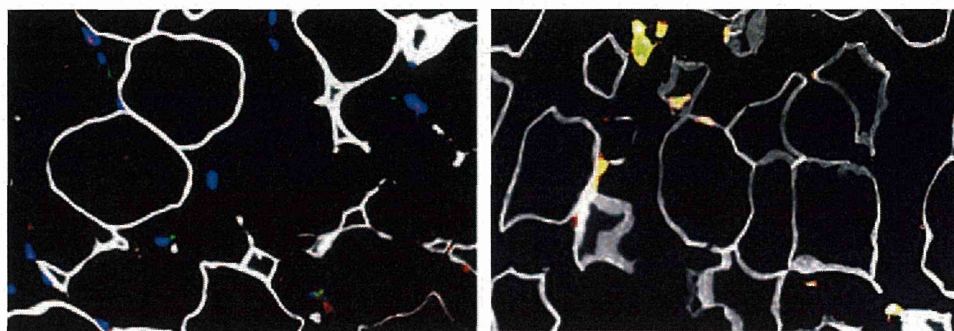


図 4

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）

D. 考察

脂肪萎縮症に対する治療法の開発に関する臨床研究では、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、HIV 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

脂肪萎縮症に対する治療法の開発に関する臨床研究では、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。最終的な評価には、12 か月後までの経過観察・評価と 10 症例の終了を待つ必要がある。HIV 脂肪萎縮症の脂肪組織は、正常組織と比較して明らかに相違する所見が得られており、現在詳細な解析を行っている。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Saito A, Koga K, Osuga Y, Harada M, Takemura Y, Yoshimura K, Yano T, Kozuma S. Individualized management of umbilical endometriosis: A report of seven cases. *J Obstet Gynaecol Res* 40: 40-45, 2014.
- 2) Nishimura S, Manabe I, Takaki S, Nagasaki M, Otsu M, Yamashita H, Sugita J, Yoshimura K, Eto K, Komuro I, Kadowaki T, Nagai R. Adipose natural regulatory B cells negatively control adipose tissue inflammation. *CellMetab*18: 759 – 766, 2013.
- 3) Doi K, Kuno S, Kobayashi A, Hamabuchi T, Kato H, Kinoshita K, Aoi N, Eto H, Yoshimura K. Enrichment of adipose-derived stem/stromal cells from the liquid portion of liposuction aspirates using an adherent column. *Cytherapy*, 16: 381-391, 2014.
- 4) Kato H, Mineda K, Eto H, Doi K, Kuno S, Kinoshita K, Kanayama K, Yoshimura K. Degeneration, regeneration, and cicatrization after fat grafting: Dynamic total tissue remodeling during the first three months. *Plast Reconstr Surg* 133: 303e-313e, 2014.
- 5) Mineda K, Kuno S, Kato H, Kinoshita K, Doi K, Hashimoto I, Nakanishi H, Yoshimura K. Chronic inflammation and progressive calcification as a result of fat necrosis: the worst end in fat grafting. *Plast Reconstr Surg* 133: 1064-1072, 2014.
- 6) Mashiko T, Minabeb T, Shiokawa I, Mineda K, Yoshimura K. Heterotopic ossification in cauliflower ear. *J Plast Reconstr Aesthe Surg* 67: e93-e94, 2014.
- 7) Araki J, Kato H, Doi K, Kuno S, Kinoshita K, Mineda K, Kanayama K, Yoshimura K. Therapeutic potential of normobaric hyperoxygenation (NBO): experimental application to an ischemic skin flap