

厚生労働科学研究費補助金(エイズ対策政策研究事業)
分担研究報告書

血友病 HIV 感染者に対する癌スクリーニング法と非侵襲的治療法の確立に関する研究

研究分担者氏名：石坂 幸人

所属機関名・部署・職名：国立研究開発法人 国立国際医療研究センター
難治性疾患研究部・部長

研究要旨 抗ウイルス療法(cART)の普及と共に AID 関連癌の罹患率の大幅な減少など、患者予後は著しく改善したが、一定割合残る AIDS 関連癌に加えて非 AIDS 関連癌罹患が顕在化してきている。我々は、cART コントロール下でも患者末梢血中に存在するウイルス蛋白の一つである Vpr に着目し、その DNA 損傷作業から癌化リスク因子としての可能性を検証した。癌を発症した HIV 患者の、半数以上で Vpr 陽性を認め、癌でない HIV 患者と比較して有意に高いことを見出した。さらに、胃癌や大腸癌、リンパ腫といった癌で高い Vpr 陽性率を認め、特定の種類の癌でのリスク因子の可能性が示唆された。長い HIV 罹患期間を持ち、高い発癌率を示す血友病患者における Vpr 陽性率は、血友病でない HIV 患者と同等であったが、上記の理由から Vpr 陽性を認めた血友病患者のフォロー診療における特定の種類の癌の早期発見・早期治療が重要であると考えられる。

A. 研究目的

HIV に対する cART が奏功し、HIV 感染者の予後は著しく改善され、生存率が大幅に増加した。cART 導入後は、主たる死因であった(AIDS)に関連したカポジ肉腫・非ホジキンリンパ腫・子宮頸癌の罹患率は大幅に減少したが下げ止まり、cART コントロール下においても依然として一定の罹患率を示しているのに加えて、AIDS とは関連しない肺癌・乳癌・大腸癌・前立腺癌などの罹患率が非感染者と比較して高いことが明らかになってきた。HIV 感染者における癌は、非感染者より若年での発症が多く、診断時に進んだ癌のステージであることも特徴となっている。その誘因として、cART によるコントロール下であっても十分な濃度の薬物が到達出来ず局所的にウイルスの複製・感染が起こっている所謂「聖域(Sanctuary)」が形成され、ここで持続的に産生されるウイルス蛋白や

サイトカインが、癌化に関与している可能性が考えられる。我々は、血中に検出されるウイルス蛋白の中でも、特にゲノム DNA 二重鎖切断活性を示す Viral protein R(以下 Vpr)に着目し、その検出系を ELISA 法で確立し、患者末梢血を解析した。その結果、血中ウイルス価が検出限界以下の症例においても、およそ 22%に Vpr が検出されることが分かった。そこで、本課題では、血中 Vpr 陽性が長い HIV 罹患期間を持つ血友病患者の高発癌性に関連する可能性の真偽を明らかにすることを目的として、血友病 HIV 患者だけでなく一般の HIV 感染者の血中 Vpr を解析することで、Vpr の癌化リスク因子としての可能性を明らかにする。

B. 研究方法

先行研究において、HIV 感染者の末梢血中にフリーに存在する HIV-1 Vpr を検出定量可能な ELISA システム(Vpr-ELISA)を確立した。この Vpr-ELISA

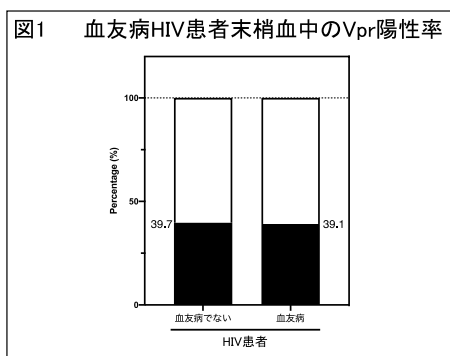
を用いて、血友病 HIV 感染者の Vpr 定量測定を行い、血中 Vpr と癌化との関連性について解析を行う。同時に ACC バイオバンクに保存されている血友病以外の HIV 感染者で癌を発症した患者または癌でない HIV 感染者の血清中の Vpr 定量測定を行い、癌化との関連性について解析を行う。

(倫理面への配慮)

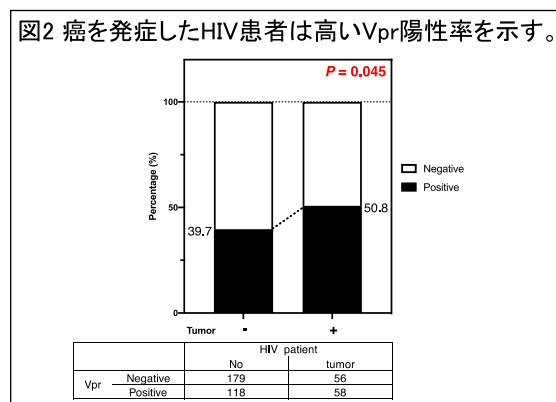
本課題は厚生労働省の定める「医学研究に関する指針」の「ヒト組織を用いた研究開発の在り方」に該当する。解析対象検体の臨床情報の収集を行うにあたって、提供者個人が特定されない情報のみ研究開発に用いている。ACC バイオバンク検体の使用にあたって、バイオバンク検体利用審査の承認、ならびに国立国際医療研究センター患者検体倫理委員会に申請、承認を得ている。人の臨床試料を用いる場合は、インフォームドコンセントなど十分配慮している。HIV 感染検体を用いた実験については、既に大臣確認実験承認（17 国文科振 68 号）を得ており、P3 に対応する高度安全検査室で実験を施行している。

C. 研究結果

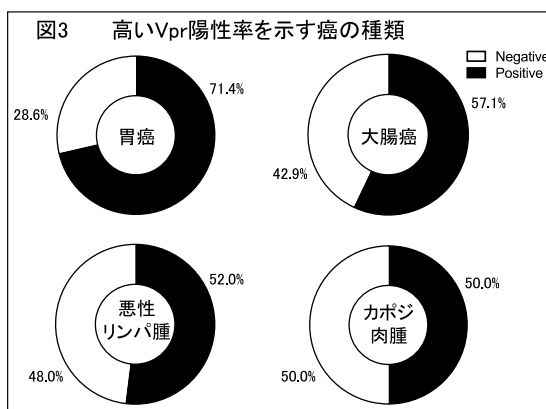
先行研究で確立した Vpr-ELISA の測定手順の最適化を行うことで、37 pg/mL だった検出感度を 15 pg/mL まで上げることが出来た。この測定条件を用いて、HIV 感染者 297 例について末梢血中の Vpr を解析したところ、約 40% で Vpr が検出された（図 1）。現時点でリクルート済の血友病 HIV 感染者の血清を用いて Vpr-ELISA 解析を行ったところ、約 40% で陽性を認め、血友病でない HIV 感染者と同等の陽性率であった（図 1）。



これらの血友病 HIV 感染者 69 名のうち、癌患者は 2 名であり、癌化との関連性解析のためには検体数が不十分である。そこで、ACC バイオバンクに保管されている HIV 感染者（血友病でない）で癌を発症した 114 例に対して Vpr-ELISA 解析を行った。結果は、58 例（50.8%）で Vpr 陽性を認め、癌発症 HIV 感染者では有意に Vpr 陽性が多かった（Fisher exact test $P=0.045$ ）（図 2）。



癌の種類別に見ると、Vpr 陽性率は胃癌で最も高く 71.4%（7 例中 5 例）、次いで大腸癌（57.1%、14 例中 8 例）、悪性リンパ腫（52.0%、25 例中 13 例）、カポジ肉腫（50.0%、22 例中 11 例）であった（図 3）。



また、症例数は少ないが、咽頭癌(66.7%, 3 例中 2 例)、ホジキンリンパ腫(50.0%, 4 例中 2 例)も高い Vpr 陽性率を示した。一方で、肝臓癌(4 例中 4 例で陰性)や皮膚癌(2 例中 2 例で陰性)では Vpr 陽性 HIV 感染者は確認されなかった。

D. 考察

血友病 HIV 患者の末梢血中 Vpr 陽性率は、血友病でない HIV 感染者と同等であり、血友病 HIV 患者における高発癌率を説明するものでは無かった。一方で、バイオバンクに保存されている癌を発症した HIV 患者末梢血中の Vpr 陽性率は有意に高く、末梢血中の HIV-1 Vpr と癌の関連性を示した。様々な癌の種類の中でも、胃癌・大腸癌・悪性リンパ腫・カポジ肉腫などで Vpr 陽性率が高いことから、癌の種類ごとに異なる可能性が示唆された。このことから、血友病 HIV 患者において、癌の種類を考慮して解析を行う必要が有ると考えられる。一方で、Vpr 陽性をしめした 40%の血友病 HIV 患者に対して、定期的に末梢血中の Vpr 量をモニターするなど、癌化リスクを注視することが重要と考えられる。

E. 結論

HIV 感染者末梢血中の HIV-1 Vpr は、胃癌や大腸癌、リンパ腫といった癌において高い陽性率を示すことから、特定の種類の癌でのリスク因子と考えられる。血友病 HIV 患者全体としては、血友病でない HIV 患者と変わらない Vpr 陽性率であったが、Vpr 陽性をしめした約 40%の患者における、特定の種類の癌を対象とした早期発見・早期治療は重要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ueno M, Matsunaga A, Teratake Y, Ishizaka Y. Retrotransposition and senescence in mouse heart tissue by viral protein R of human immunodeficiency virus-1. *Exp. Mol Pathol.* 114:104433. 2020.
- 2) Makoto Inada, Masahiro Ishikane, Mari Terada, Akihiro Matsunaga, Kenji Maeda, Kiyoto Tsuchiya, Kenji Miura, Yu Sairenji, Noriko Kinoshita, Mugen Ujiie, Satoshi Kutsuna, Yukihiro Ishizaka, Hiroaki Mitsuya, Norio Ohmagari. Asymptomatic COVID-19 re-infection in a Japanese male by elevated half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀) of neutralizing antibodies. *Journal of Infection and Chemotherap*, in press.
- 3) Kutsuna S, Asai Y, Matsunaga A, Kinoshita N, Terada M, Miyazato Y, Nakamoto T, Suzuki T, Saito S, Endo M, Kanda K, Maeda K, Takasaki J, Hojo M, Ishizaka Y, Norio Ohmagari N. Factors associated with anti-SARS-CoV-2 IgG antibody production in patients convalescing from COVID-19. *J. Infect. Phram.* In press.
- 4) Matsunaga A, Oka M, Iijima K, Shimura M, Gatanaga H, Oka S, Ishizaka Y. A quantitative system for monitoring blood-circulating viral protein R of human immunodeficiency virus-1 detected a possible link with pathogenic indices. *AIDS Res Hum Retroviruses.* Jul;35(7):660-663, 2019.

2. 学会発表

- 1) 石坂 幸人. Transient suppression of PD-1 by artificial transcription regulators, 石坂幸人, 第 79 回日本がん学会学術総会、2020 年、広島。

H. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

該当なし