

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)の普及により、AIDS 関連癌(ADM)の罹患率は大幅に減少したが、一定割合残っているエイズ関連悪性腫瘍 ADM(AIDS-defining malignancy)に加えて非 AIDS 関連癌 (NADM)の罹患が多くなっている。我々は、cART により血中ウイルス価が検出限界以下にコントロールされている HIV 患者でも、末梢血中に検出されるウイルス蛋白の一つである Vpr に着目した。Vpr は DNA 損傷作用や染色体異常といった癌形質誘導能を持ち、癌化リスク因子の可能性が考えられる。癌を発症した HIV 患者(癌発症例)では、癌非発症 HIV 患者(非癌例)と比較して血中 Vpr 陽性率が有意に高く、胃癌や膵臓癌といった特定の癌で高い陽性率を認めた。また、非癌例と比較して癌発症例では抗 Vpr 抗体保有率が低く、特に胃癌、膵臓癌、肝癌、肺癌発症例で低い傾向を認めた。これらの結果から、血中 Vpr は癌リスク因子である可能性が強く示唆された。血友病 HIV 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、Vpr 陽性者に対するフォローアップを行うことで、癌の早期発見・早期治療が可能になるものと期待される。

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 導入直後は、主たる死因であった AIDS 関連癌であるカポジ肉腫・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、その後下げ止まり、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。これらの癌に加えて、非 AIDS 関連癌である肺癌・胃癌・大腸癌・前立腺癌などの罹患率が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、診断時にはより進んだ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、DNA 損傷作用・レトロトランスポジション誘導・染色体異常といった作用を示す Viral protein R(以下 Vpr)に着目し、その検出 ELISA 法を確立した後、患者末梢血を解析した。

その結果、cART により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、長い HIV 罹患期間を持つ血友病患者の発癌への Vpr の関与の有無を明らかにすることを目的として、血友病 HIV 患者や癌を発症した HIV 患者の血中 Vpr 解析を行った。

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 感染者の末梢血中の Vpr 定量測定を行い、癌化との関連性について解析を行なった。同時に国立国際医療研究センター(NCGM)に設置されているバイオバンクに保存されている血友病以外の癌発症例または非癌例の血中の Vpr 定量測定を行い、癌化との関連性について解析を行なった。

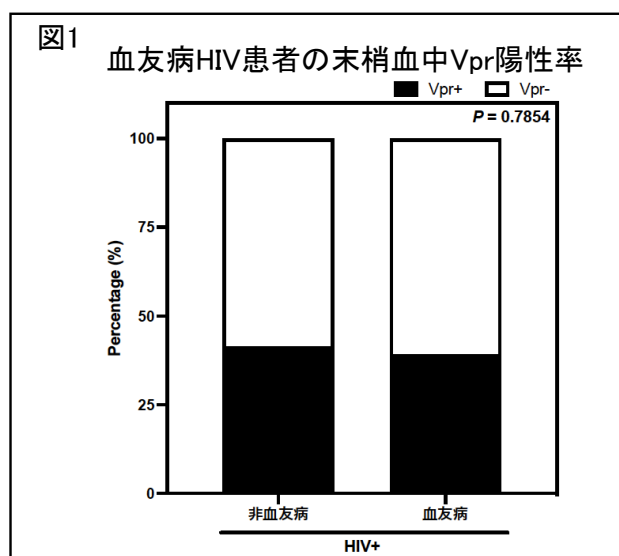
(倫理面への配慮)

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ついては、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、承認を得た(承認番号: NCGM-G-003183-00、承認日: 2019年2月14日、課題名「HIV-1 患者血中 Vpr に関するデータベースの構築とエイズ病態理解への応用」)。ヒト臨床試料を用いる場合は、研究内容を充分説明した上で、自由意思に基づいたインフォームドコンセントの取得に努めた。解析は、P3 に対応した高度安全検査室で施行した。

C. 研究結果

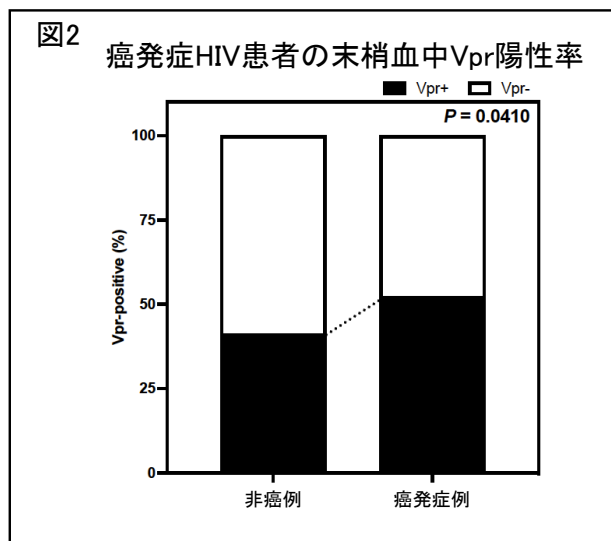
先行研究で確立した Vpr-ELISA の測定手順の最適化を行うことで、37 pg/mL だった検出感度を 15 pg/mL まで上げることが出来た。この測定条件を用いて、HIV 感染者(癌でない、かつ血友病でない) 287 例について末梢血中の Vpr を解析したところ、約 40% で Vpr が検出された(図 1)。また、血友病 HIV 感染者 69 名の末梢血中 Vpr の測定を行ったところ、約 40% で陽性を認め、同等の陽性率であった(図 1)。

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った。そこで、NCGM バイオバンクに保管されている癌発症例 126 例の血中 Vpr 測定を行った。非癌例 287 例と比較して、癌発症で



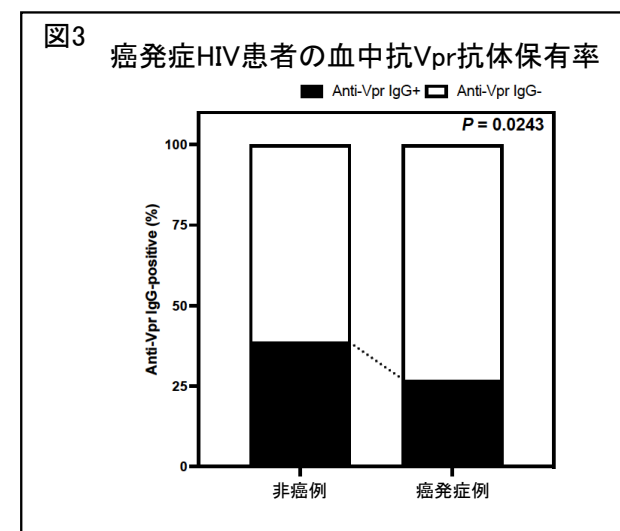
は血中 Vpr 陽性率が有意に高い結果を得た(図 2; Fisher exact test $P = 0.0410$)。また、HIV 患者の中には Vpr に対する抗体(抗 Vpr 抗体) 保有者

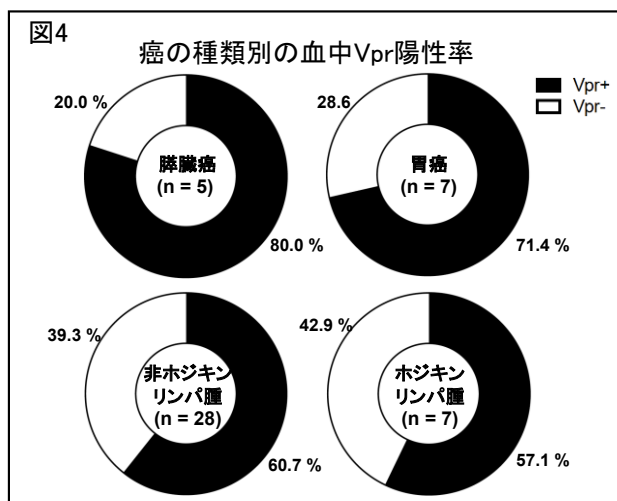
が報告されており、血中 Vpr の阻害作用が期待される。そこで、新たに抗 Vpr 抗体測定 ELISA 系を



構築し、癌発症例と非癌例を対象に保有率の解析を行った。非癌例と比較して、癌発症例では有意に抗 Vpr 抗体保有率が低い結果であった(図 3; $P = 0.0243$)。

癌の種類別に見ると、Vpr 陽性率は膵臓癌で最も高く 80.0% (5 例中 4 例)、次いで胃癌(71.4%, 7 例中 5 例)、非ホジキンリンパ腫(60.7%, 28 例中 17 例)、ホジキンリンパ腫(57.1%, 7 例中 4 例)であった(図 4)。また、カポジ肉腫(50.0%, 22 例中 11 例)、大腸癌(50.0%, 12 例中 6 例)、肛門癌(50.0%, 8 例中 4 例)、症例数は少ないが、咽頭癌(66.7%, 3 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。また、抗 Vpr 抗体は非癌例と比較して、ホジキンリンパ腫を除くすべての種類の癌で低い保有率を示し、中でも膵臓がん(20%), 胃癌(14.3%)で、肝癌、咽頭癌、肺癌、前立腺癌例では保有者は確認されなかった。





D. 考察

癌発症例の HIV 患者末梢血中の Vpr 陽性率は非癌例と比較して有意に高く、かつ抗 Vpr 抗体保有率が有意に低い結果を示した。癌の種類別では、膵臓がん・胃癌・非ホジキンリンパ腫・ホジキンリンパ腫などで Vpr 陽性率が高く、抗 Vpr 抗体保有率も低い傾向が得られた。これらの結果から、血中 Vpr は特定の種類の癌のリスク因子である可能性が示唆される。血友病 HIV 患者の末梢血中 Vpr 陽性率は、非血友病の HIV 感染者と同等の約 40% であるが、長期間の血中に Vpr が存在することで癌化リスクが高まっている可能性が考えられる。このことから、本解析で Vpr 陽性を示した血友病 HIV 患者に対して、フォローアップ診療を行い、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 陽性率は、癌発症例で有意に高く、膵臓癌、胃癌、リンパ腫といった癌において特に高い陽性率を示すことから、特定の種類の癌のリスク因子と考えられる。血友病 HIV 患者は、血友病でない HIV 患者と同等の Vpr 陽性率であったが、約 40% の陽性例に対して、定期的癌検診を行うなど、早期発見・早期治療を目的としたフォローアップ診療が重要である。

F. 健康危険情報

該当なし

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) 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.
- 3) Matsunaga A, Ando N, Yamagata Y, Shimura M, Gatanaga H, Oka S, Ishizaka Y. Blood-circulating HIV-1 Vpr is a possible risk factor for particular types of HIV-associated malignancies. Manuscript preparation, 2022.

2. 学会発表

- 1) 松永 章弘. HIV 関連リンパ腫発症前の異常な DNA メチル化変動とリスクマーカーの導出. 第 29 回抗ウイルス療法学会学術集会・総会、第 21 回白馬シンポジウム、2019 年、東京
- 2) 松永 章弘、石坂 幸人、志村 まり. The earlier DNA methylation alteration as a potential risk marker before the symptom onset of HIV-associated lymphomas. 第 78 回日本癌学会学術総会、2019 年、京都
- 3) 松永 章弘、岡 雅子、飯島 健太、志村 まり、瀧永 博之、岡 慎一、石坂 幸人. A quantitative system for monitoring blood-circulating Vpr of human immunodeficiency virus-1 detected a possible link with HIV-associated neurocognitive disorders. 第 42 回日本分子生物学会年会、2019 年、福岡

7. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

該当なし