

バクマイ病院感染症科での夫婦間 HIV 感染に関する研究

長崎大学熱研内科 博士課程 島田郁美

2010年4月、臨床医を一旦離れ、熱帯医学修士課程の学生として長崎にやってきました。この研修課程では、前期に熱帯医学全般について学び、後期では日本人学生は海外臨床研究の機会を与えられます。私は、ベトナム、ハノイ市に約4カ月滞在し、市内南部にある病床数1000床を超える国立バクマイ病院でHIV感染症に関する研究を行いました。そこで得た結果を元に、さらなる研究に発展させるべく2011年4月から博士課程に進学し、引き続き研究に励んでいます。

バクマイ病院は1911年にフランス政府によって建設された歴史ある病院です。ベトナム戦争時代には甚大な被害を受けましたが、1975年終戦後はフランス、日本、アメリカ等各国からの支援が入り、現在はベトナム三大国立病院の一つ、かつベトナム北部拠点病院として大きな機能を担っています。

1986年にドイモイ政策により市場経済が導入されて以降、ベトナムは急激な経済成長を遂げ、現在では戦争の面影を残すところは市内では博物館くらいなものです。その半面、ベトナム戦争時代に軍人間で蔓延した薬物中毒は、未だに尾を引いて、ベトナム社会が抱える問題点となっています。戦後一旦は減少した薬物中毒者数は、経済発展にともなって1980年代後半から再度上昇に転じ、2008年時点で薬物中毒者は100万人中200人程度と推定されます。特に、北部ベトナムは中毒者の多い地域を複数抱えており、中には100万人中1000人を超す県もあります。そのような状況下で、経静脈的薬物使用を介したHIV感染症の蔓延は深刻さを帯び、現在は経静脈的薬物使用者(IDU)の約40%がHIV陽性と言われています。2000年以降、HIV感染症はIDUから性産業従事者を介して一般人口に広がり、HIV陽性者数は急増、2010年時点でHIV罹患率は0.44%と推定されています。(比較：日本0.08%、タイ1.3%, 2009年)

発展の著しいハノイ市内
開発が進んでいる様子がよくわかります。



バクマイ病院正面から
ここに見える正面病棟の奥には、さらにたくさんの病棟が並んでいます。



緑の多いバクマイ病院敷地内



バクマイ病院の感染症科は HIV 専門病床 8 床、IDU 2 床を含め全 72 床を抱え、現時点（2011 年 12 月）での HIV 外来通院患者数は約 750 名です。

バクマイ病院感染症科外観



HIV 外来にて

週に 3 回、患者さん向けのレクチャーがあります。毎回たくさんの患者さんご家族が参加しています。医師、看護師、患者支援団体の方などが協力してレクチャーをしています。



HIV 外来処置室にて。

結核性リンパ節炎の AIDS 患者さん。リンパ節穿刺をしているところです。採取検体は抗酸菌培養検査に出されます。

バクマイ病院では、かなり高度な検査が可能で、各種検体からの細菌培養の他にも、ウイルス PCR、CT、MRI、PET 検査まで行われることもあります。

ただし、医療費の支払いが困難な患者さんも多く、医療行為の制限はまだ多いのが実情です。幸いながら、HIV 治療は無料で受けられるようサポートされています。



HIV 外来カンファレンス室にて。

感染症科ドクターやナース達とお昼ご飯。この日はハノイ 1000 年祭の記念日で、お祝いムードでした。



VCT サイト前にて。

バクマイ病院の中には VCT (Voluntary Counseling and Testing) サイトがあります。HIV 感染症が心配な人は無料で HIV 検査、カウンセリングを受けることができ、結果は数日中にわかります。ここから感染症科に紹介されてくる患者さんも少なくありません。月に 450~500 人程がこの VCT サイトで検査を受けています。



病棟前にて。

バクマイ病院創立 100 周年記念の日、女性スタッフ達がアオザイを持参して記念写真を撮っていました。とってもカラフルなアオザイの女性達が並んだ様は壮観です。感染症科スタッフにアオザイを借りて私も着せてもらいました。



修士課程での研究の結果から、通院患者のほとんどが既婚者であることがわかりました。しかしながら、彼らの配偶者全員が HIV に感染しているというわけではありませんでした。一生つきあう病気である HIV 感染症において、1 人の予防は 1000 人の治療に勝るとも言われます。これらの HIV 陰性配偶者を HIV 感染から予防するために、ベトナムにおける HIV 感染症蔓延の行動学的、ウイルス学的メカニズムを探ることが、博士課程での研究目的です。

ほとんどのベトナム人は英語を話すことができません。全ての書類はベトナム語に翻訳し、ベトナム人スタッフ達から患者さんに研究参加に際しての説明をしてもらいます。研究参加に同意頂いた患者さんにはアンケート調査を実施し、血液検体を採取させてもらいます。簡単なように聞こえますが、実際には、英語のわかるベトナム人の方に通訳をお願いして、スタッフに手順を説明をするだけでも大変なことです。研究経験のないスタッフ達に、どうしてこのような調査をするのか、どういう方法であるのか、してはいけないことは何なのか、どのようにアンケート用紙やデータを管理するのかを説明するのはとても時間がかかります。同じ説明を何回も繰り返すこともあります。

また、私はベトナム語のカルテを読めないので、情報収集にはスタッフ達の協力が必要です。最初の数カ月は本当に大変でしたが、徐々にベトナム語を覚え、今では一部だけならカルテも理解できるようになりました。一方、ベトナム語の発音はとても難しく、話すことは今でもできませんが。

HIV 外来横のカンファレンス室にて。

スタッフ達と研究のためのデータ収集中。机いっぱい患者さんのカルテが積み重ねられています。このカルテから必要な情報をデータ化していきます。



Microbiology department にて。

バクマイ病院の検査部技師さん達に、血液検体から単核球の採取方法を説明しているところです。



さらに、バクマイ病院感染症科のとてもいいところは国際的なところです。アメリカ、ハーバード大学 HAIVN (Harvard Medical School AIDS Initiative in Vietnam) のサポートを受けており、症例検討会、勉強会が盛んに行われています。また、アメリカ、ワシントン大学やスウェーデン、カロリンスカ大学の先生方がそれらの勉強会に参加されることも多く、世界のエキスパート達の意見を直に聞くこともでき、大変勉強になります。昨年からは HAIVN 主導の元で新たな研究も始まり、今後の更なる発展が期待されます。

このような環境に曝されているスタッフ達は向上意識が強く、真面目な人が多いこともバクマイ病院の長所です。研究をする上で、言語や文化の違いなど壁も多くありますが、それ以上に有意義で大変刺激的な環境です。このような機会に恵まれたことは非常に光栄であり、教授をはじめ、熱研内科と熱帯医学研究所臨床感染症学分野の先生方、その他関わって下さっている方々、バクマイ病院のスタッフ達には深く感謝しています。

Intracellular cytokine staining (ICS)について

私が現在、主に取り組んでいる事は Intracellular cytokine staining (ICS)と呼ばれる実験手法の取得です。

ICS は、細胞内で産生される物質(タンパク質:主にサイトカイン)を細胞内で染色して同定する手法です。細胞質内で産生されたタンパク質は小胞体、ゴルジ体を経て細胞膜、あるいは細胞外に運ばれるわけですが、ICS ではまず golgi blocker と呼ばれる試薬を用いて細胞内のタンパク質輸送経路を遮断します。これにより産生されたタンパク質が細胞内に留め置かれる事になります。

輸送経路を遮断した状態で細胞の固定と、後から細胞内に抗体が進入出来るように試薬を用いて細胞膜の透過性を亢進させます。

最後に、調べたいタンパク質に対し特異的な抗体に蛍光色素を結合したもので染色を行います。

このようにして染色した細胞を解析する機械がフローサイトメトリーです。

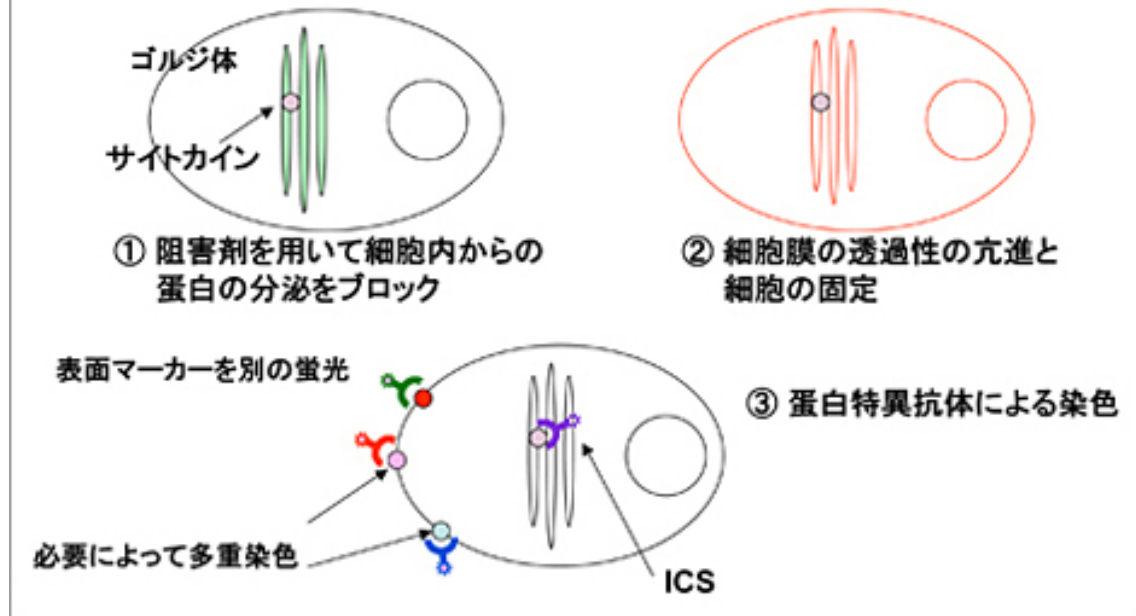
血清中のタンパク質を計測する手法では果たして計測したタンパク質が、産生している予想される細胞に由来しているのかが問題でしたが、ICS ではタンパク質と産生細胞の関係が明確にわかるという利点があります。

ICS は感染症や呼吸器疾患などの分野での臨床応用が期待され、またその方法をさぐる事が私の当面の課題と言えます。

松木 啓

ICS (Intracellular Cytokine Staining)

細胞で産生された物質(蛋白:主にサイトカイン)を細胞内で染色することによって、それを証明する方法。



「計算化学的手法を用いた HIV 特異的細胞障害性 T 細胞(CTL)認識エピトープの Fine Mapping」について

HIV 特異的細胞傷害性 T 細胞(CTL)による HIV の認識と、HIV の CTL からの逃避の関係を解明するためには、HIV 由来のエピトープ(8~11 残基程度の長さ)と MHC-class I 分子との結合状態を詳細に調べることが不可欠です。

そこで各種の HLA-Class I とそれに結合する HIV 由来の CTL エピトープの組み合わせを探していくのですが、これを実験的に行くと、最適な CTL エピトープを同定するまでに多大なコストと労力が必要となります。また、計算によりエピトープを予測するプログラムがいくつか公表されていますが、いずれも予測の精度や対応できる HLA-Class I の種類がまだ不十分です。そこで我々は、CCG 社(カナダ)の統合計算化学システム MOE (Molecular Operating Environment)を用いて MHC-class I とエピトープ候補のペプチドとの結合シミュレーションを行い、その親和性を求めることにより最適な CTL エピトープの予測を試みています。

松木 啓

「北タイにおける HIV コホート研究」

有吉は教授就任前まで JICA 専門家としてタイに滞在し、タイ国立衛生研究所研究(NIH)チームを指導して、北タイに HIV 感染者とその配偶者を対象にしたコホート研究を運営してきた。長崎赴任後もその指導的立場にある。この研究は 2000 年 7 月より開始、タイ北部ランパン県の中核病院であるランパン病院 HIV 外来を受診する HIV 感染者および配偶者を対象にしたコホート研究である。これまでコホートに参加した総人数は 1,374 名、2004 年 10 月時点での追跡率は 93%と高い率を維持している。このコホートには 300 組以上の夫婦が参加し、155 名の HIV に暴露されたが感染していない配偶者が含まれている点で新規性が高い。また、ランパン病院内にフィールドラボラトリーを設置してコホート開始時から患者検体を保存し、コホート研究を臨床疫学から宿主遺伝子多型・分子免疫学・分子疫学・ウイルス学等の基礎科学研究への展開を可能にした。このことは、国立感染症研究所・大阪大学微生物学研究所・近畿大学免疫学教室・東京大学医科学研究所など日本の研究者とタイ人研究者との共同研究を促進し、結果として数多くのタイ人研究者が育成されている。

現在進行中の研究分野は、HIV 感染の自然経過と死亡リスク因子解析、HIV 感染者を親に持つ子供を取り巻く社会環境調査、抗 HIV 薬普及による HIV 感染者生存率への影響、抗 HIV 薬治療の成功に影響する薬剤服用行動パターン、北タイエイズ患者の中枢神経系ウイルス感染、HIV 感染者に重複感染した B 型および C 型肝炎ウイルスの影響、HIV 感染抵抗性に関連する宿主遺伝子因子、エイズ進行遅延に関連する宿主遺伝子因子、HIV 特異的細胞障害性 T リンパ細胞認識部位の分子レベルでの解析、タイ流行株クローンウイルスを標的に用いた中和抗体、タイに流行する HIV の分子疫学、HIV 伝播前後のウイルス進化、HIV タイ流行株の薬剤耐性などである。今後も現地の研究チームの育成を尊重した共同研究を促進させ、アジアの HIV 感染者に対する治療・ケアの向上と、フィールドとサイエンスを結びつけた研究を継続することにより、現状では打開策のない HIV 感染防御のための新しい概念の発見を目指す。

「西アフリカにおける HIV-1 の分子疫学的研究」

HIV-1 の起源に地理的に近い西アフリカでは、欧米や日本で流行する HIV-1 に比べてより多様な HIV-1 サブタイプが流行している。有吉が就任していた英国医学研究協議会ガンビア研究所・国立感染症研究所との共同研究で、ガンビアに流行する HIV-1 の分子疫学的研究を HIV-1 単独感染者群と HIV-1/ HIV-2 重複感染者群との比較検討を進めている。特に 1990 年以前から存在する HIV-2 流行が近年増加傾向にある HIV-1 流行にどのような影響を及ぼしたか、その相互作用について解明されることを目指している。

「ウガンダの HIV/AIDS と日和見感染症」

1990 年当時、ウガンダは世界で最も HIV-1 感染率の高い国でした。ウガンダ、マケレレ大学医学部部長のキーリア教授が熱帯医学研究所を訪問されたのを契機に、1991 年から熱研内科と首都カンパラにあるマケレレ大学医学部との共同研究が始まりました。ウガンダの HIV/AIDS 患者における日和見感染症として結核の臨床像、クリプトコッカス髄膜炎の臨

床像を明らかにしてきました。クリプトコッカス髄膜炎については、フルコナゾールとフルサイトシンによる併用治療効果についてはじめて報告しました(Mayanja-Kizza H, et al. *Int. J. Infect. Dis.* 26:1362-1366,1998)。また、ウガンダにおける HIV-1 感染と市中肺炎の起炎菌の実態を明らかにし(Yoshimine H, et al. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 64:172-177), ペニシリン短期治療を推奨しました(写真)。この研究では、マケレレ大学医学部附属病院における喀痰を用いた病原細菌分離培養・同定をルーチン検査化しました。これらの研究において、HIV 感染者に頻繁に肺炎球菌性肺炎が認められました。そこで、私たちは HIV 感染者における易感染性の一因として患者血清中の血清型特異的 IgG 抗体の機能異常が存在するのではないかとの仮説を立てました。その後の検討の結果、患者の血清中肺炎球菌に対するオプソニン活性が HIV ウイルス量の増加とともに低下することを明らかにしました(Takahashi H, et al. *Clin. Infect. Dis.* 37:1534-1540,2003)。現在、抗ウイルス療法を受けていない HIV 感染者において、肺炎球菌コンジュゲートワクチン接種による液性抗体の機能回復が見込めるか否かについて検討中です。

一方、1999 年からはカンパラ市にある Joint Clinical Research Center とも共同研究を進めています。ここでは、HIV-1 感染者の病勢の進行と末梢血 T リンパ球のケモカインレセプター発現について検討し(Oishi K, et al. *J. Interf. Cytok. Res.* 20: 597-602,2000), HIV-1 感染病態が進行に伴い末梢血 CD4 陽性 T リンパ球の CCR4, CCR5 の発現は増加したが、CXCR4 発現増加は認められないことを報告しました。結果として、HIV-1 感染の進行した段階におけるメモリー T 細胞の増加が示唆されましたが、明らかな Th1/Th2 シフトは認められませんでした。その後には HIV の進行と相関する末梢血単核球の遺伝子群を cDNA マイクロアレイを用いて明らかにしました(Motomura K, et al. *Int. Immunopharmacol.* 4:1829-1836, 2004)。この方法で感染者はその遺伝子発現パターンから cluster I, II, III に分類され、この分類はそれぞれの症例の HIV 感染病期に関する CDC 分類とよく一致しました。Cluster III (進行期)の症例で 40 の遺伝子が発現増強もしくは減弱を示した。これらの遺伝子は T 細胞分化、アポトーシスシグナル、HIV 複製の活性化に関与し、HIV-1 複製に付随した成熟 T 細胞の破壊や再生が進行期には関連することが示唆されました。また、症例の経過フォローにおいては、cluster 分類による予後推定が CDC 分類による推定より優れていた。cDNA マイクロアレイによる遺伝子発現の定量的分析は HIV 感染者の免疫病態、病因、病期進行に関する新しい解決法を提示できることを示しました。