

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 29 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461572

研究課題名(和文) 小児の抗HIV治療による免疫状態の改善と至適マーカーの同定

研究課題名(英文) Immune improvement after anti-retroviral therapy (ART) initiation and identification of appropriate markers for ART monitoring in HIV-infected children

研究代表者

畢 袖晴 (Bi, Xiuqiong)

金沢大学・医学系・助教

研究者番号：50565413

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ベトナムのヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染小児において、抗HIV療法(ART)が小児の免疫活性化、Th1/Th2/Th17/Tregのバランスに及ぼす影響を横断的並びに経時的に調べた。横断的調査では、ART導入後、CD4細胞数、Th2/Th17/Treg細胞数、およびCD4/CD8比は徐々に上昇し、正常化までに4.8-8.3年を要したが、Th1細胞数とCD8細胞の活性化状態は1年以内に正常化した。経時的調査でARTによる早期(1年以内)のTh1細胞数とCD8細胞活性化状態の正常化が確認された。また、CD4/CD8比はARTモニタリングに有用なマーカーであることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to investigate the impact of ART on the immune status of HIV-infected Vietnamese children. The peripheral CD4 cells, their subsets Th1/Th2/Th17/Treg, and CD8 cell activation were analyzed cross-sectionally and longitudinally. Cross-sectional study revealed that after ART initiation, the total CD4 cell and Th2/Th17/Treg subset counts and the CD4/CD8 ratio gradually increased, with estimated ART periods of normalization being 4.8-8.3 years, whereas Th1 counts and the CD8 cell activation status normalized within 1 year of ART. Longitudinal study confirmed the rapid Th1 recovery and early CD8 cell activation normalization after ART initiation. The CD4/CD8 ratio could be an additional marker for ART monitoring.

研究分野：ウイルス学・免疫学

キーワード：HIV 抗HIV療法 免疫状態

1. 研究開始当初の背景

ヒト免疫不全ウイルス(HIV)は主に CD4⁺T 細胞に感染し、その数を減らし、また機能を障害することにより免疫不全を引き起こす。最近、HIV 感染者では慢性的な免疫活性化が病態進行と予後に関与していることが明らかとなってきた。抗 HIV 療法(ART)は HIV の複製を抑制し、CD4⁺T 細胞数を回復するが、成人では免疫活性化の改善が遅れることが分かっている。このため、治療効果を判定するには血中ウイルス量や CD4⁺T 細胞数だけではなく、他の適切な免疫系マーカーのモニタリングが必要である。

2. 研究の目的

本研究はベトナムの HIV 感染小児を対象とし、ART 開始後の細胞免疫活性化、Th1/Th2/Th17/制御性 T 細胞(Treg)のバランスを経時的に解析し、ART が免疫状態に及ぼす影響を明らかにし、ART の効果判定と予後に関連する適切な免疫系マーカーを探ることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究はベトナム小児を対象とし、横断的および前向き調査を行った。(1)横断的調査：ART 治療期間が異なる HIV 感染小児 29 名「男女 17 : 12 ; 中央年齢 6.1 才 (レンジ 3.6-8.6 才) ; 中央 ART 期間 3.5 年 (レンジ 0.8-5.8 年) ; 未治療の HIV 感染小児 31 名「男女 14 : 17 ; 年齢 6.2 才 (2.0-11.0 才) ; および対照群として HIV 非感染小児 20 名 (男女 8 : 12、中央年齢 4.1 才、2.0-8.3 才)を用いた。(2)前向き調査：未治療の HIV 感染小児を ART 開始前から、そして開始後 6 ヶ月毎に解析した。これらの小児の末梢血を用いて、リンパ球の表面マーカーにて免疫細胞の活性化状態 (CD4⁺と CD8⁺細胞サブセットの割合とその活性化) および Th1/Th2/Th17/Treg の割合、血漿中 sCD14 のレベル(単球活性化マーカー)、CD4⁺T 細胞数と血中 HIV ウイルス量を測定した。使用した細胞表面マーカーは Th1 (CXCR3⁺CCR6⁻CD4⁺)、Th2 (CXCR3⁻CCR6⁺CD4⁺)、Th17 (CXCR3⁻CCR6⁺CD4⁺)、Treg (CD25^{high}CD4⁺) ; activated CD8 cells (CD38⁺HLA-DR⁺CD8⁺)であった。

4. 研究成果

1) 横断的調査で、ART 導入により、以下の結果が得られた：

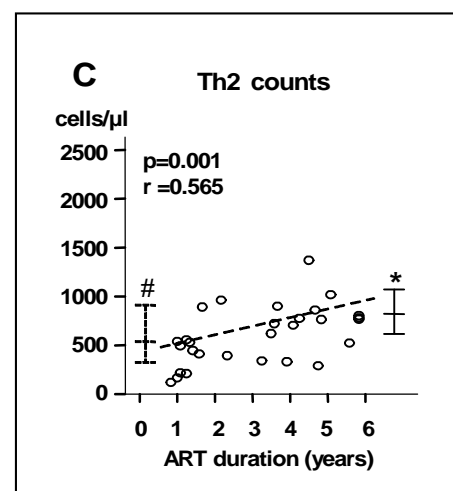
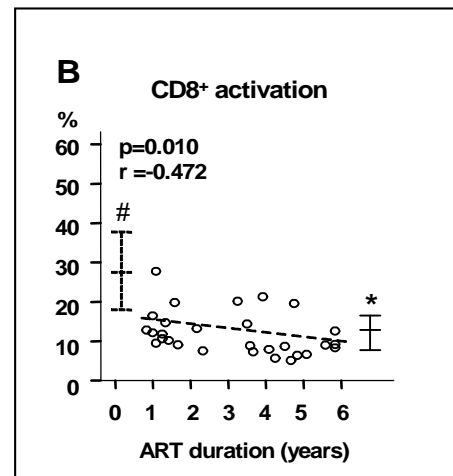
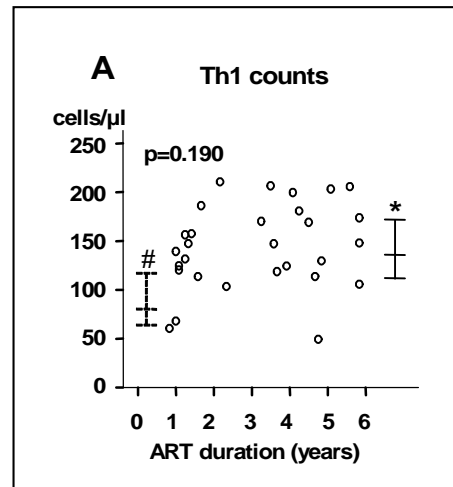
Th1 細胞数と CD8 細胞活性化は ART 開始 1 年後に正常化した (図 1 A-B)。

Th2/Th17/Treg 細胞数徐々に上昇し、正常範囲回復に 4.8-8.3 年の治療が必要であった (図 1 C - E)。

単球の活性化のマーカーとして血漿中の sCD14 レベルは高いままであった (図 3 F)。

CD4/CD8 比は ART の期間と共に徐徐上昇し、また CD8 細胞の活性化と逆相関していたため、CD4/CD8 比は ART 効果をモニタリ

ングするのに有用なマーカーであることが示唆された (図 4)。



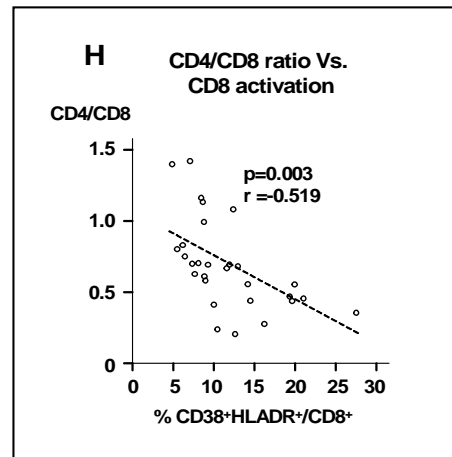
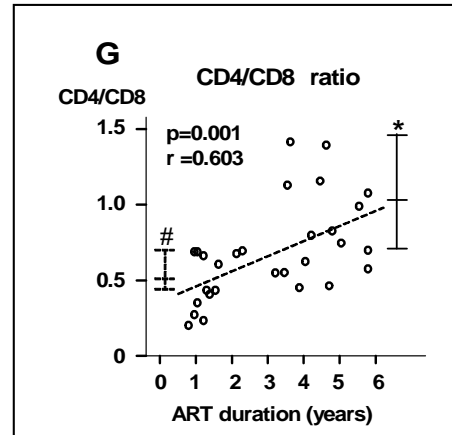
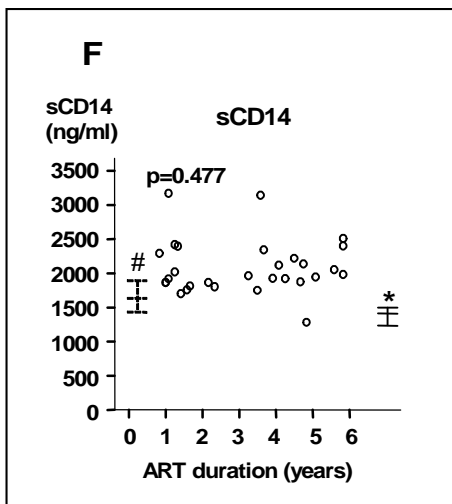
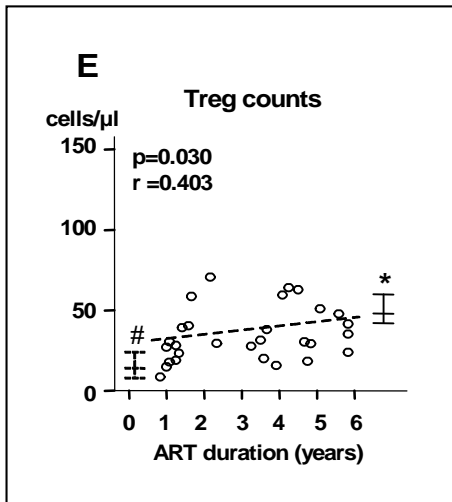
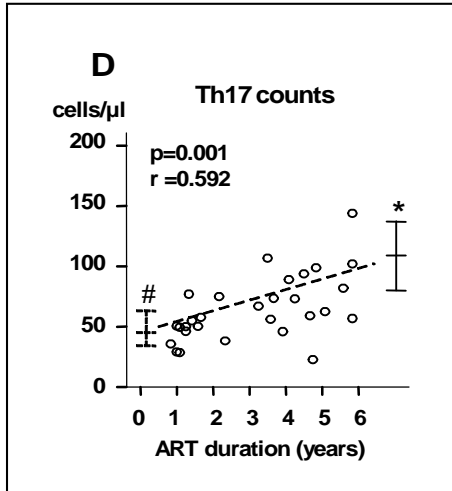


図1 ART 治療期間と免疫マーカーの相関 (A - G) および CD4/CD8 比と CD8 細胞活性化割合の相関 (H) 。 # : 未治療 HIV 感染小児の中央値と 4 分位間の範囲 ; * : HIV 非感染小児中央値と 4 分位間の範囲。

2) 前向き調査

以上の横断的調査で得られた結果を前向き調査で確認している。現在、新規に ART 開始した小児 49 名をリクルートしている。10 名の死亡例と 1 名の転院例を除き、38 名をフォロー中である。ART 開始時に 2 才以上 (非感染小児は 2 才以上であり、これらの小児と比べるため) かつ ART 開始後 6 と 12 ヶ月でフォローできた 9 名を解析した (男女 6 : 3、中央年齢 4.6 才、レンジ 2.1-9.6 才)。

CD4 細胞数および Th1/Th2/Treg は ART 後 6 ヶ月に著しく上昇したが、Th17 は有意に上昇しなかった (図 2 A - E)。

CD8 細胞活性化は 6 ヶ月から低下し、12 ヶ月に有意に低下した (図 5 F)。

CD4/CD8 比は 12 ヶ月に有意に上昇した (図 2 G)。

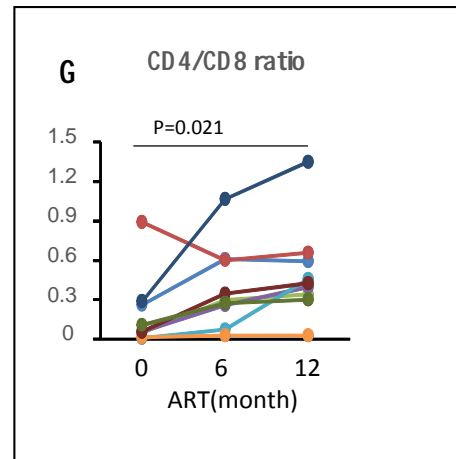
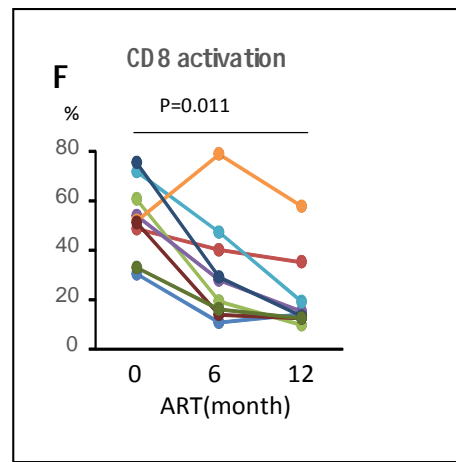
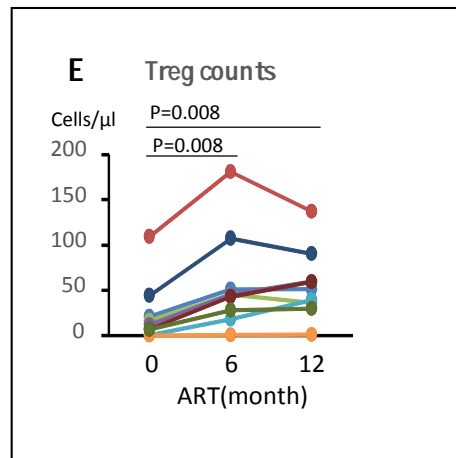
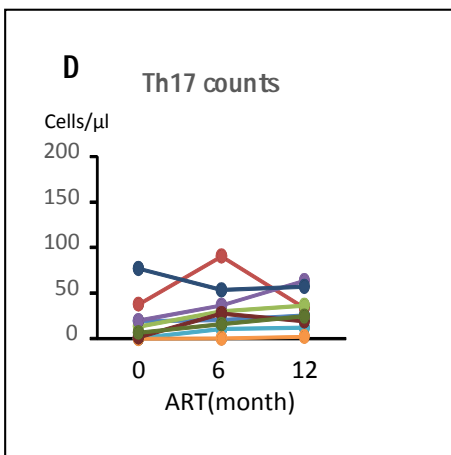
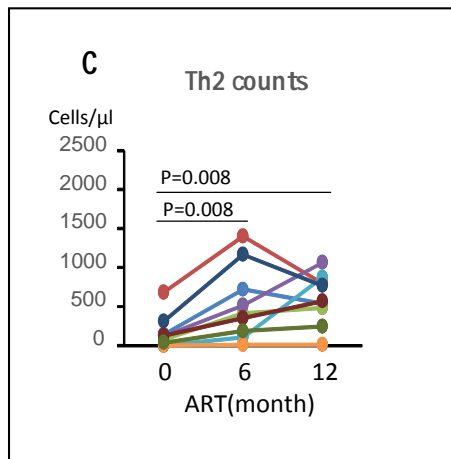
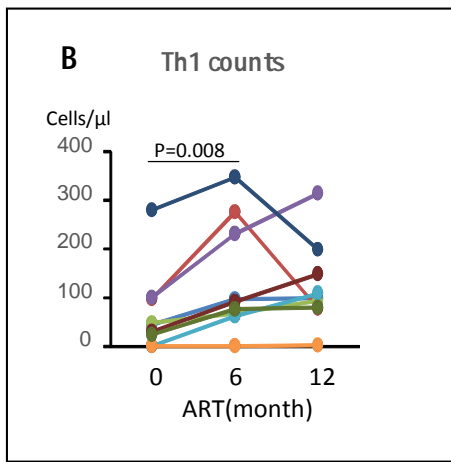
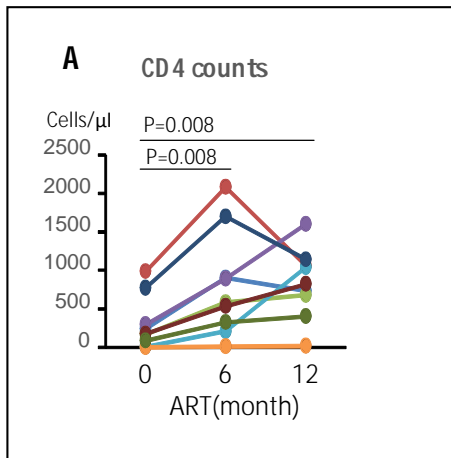


図2 ART 開始前および開始後 6 と 12 ヶ月で CD4, Th1/Th2/Th17/Treg 細胞数(A-D)、CD8 細胞活性化割合(E)、CD4/CD8 比(G)の変化。

HIV 非感染小児と比較して、Th1 は ART 開始後 6 ヶ月に正常化し、横断的調査より速かった。CD8 細胞活性化は横断的調査の結果と同様、ART 開始後 12 ヶ月に正常範囲に抑えられた。

今後、追跡調査を継続し、症例数を増やして、更なる解析をすると共に、長期 ART が小児の免疫状態に及ぼす影響を解明する。

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 9 件)

1. Bi X, Ishizaki A, Nguyen LV, Ichimura H. Impact of HIV infection and anti-retroviral therapy on the immune profile of and microbial translocation in HIV-infected children in Vietnam. Int J Mol Sci. 査読有, 2016, 17:1245.
2. Le HHL, Bi X, Ishizaki A, Ichimura H. Human papillomavirus infection in male patients with STI-related symptoms in Hanoi, Vietnam. J Med Virol. 査読有, 2016, 88 (6): 1059-1066.
3. Matey E, Tokoro M, Bi X, Ichimura H. Lower prevalence of Entamoeba species in children with vertically transmitted HIV infection in western Kenya. AIDS 査読有, 2016, 30 (5):803-805.
4. Matey E, Tokoro M, Mizuno T, Bi X, Ichimura H. Positive correlation of HIV infection with *Giardia intestinalis* assemblage B but not with assemblage A in asymptomatic Kenyan children. AIDS 査読有, 2016, 30 (15):2385-2387.
5. Saina MC, Bi X, Lihana R, Ichimura H. Comparison of HIV-1 nef and gag variations and host HLA characteristics as determinants of disease progression among HIV-1 vertically infected Kenyan children. PLOS One, 査読有, 2015 Aug 28, 10(8):e0137140.
6. Pham HV, Ishizaki A, Bi X, Khu DTK, Ichimura H. Two-year outcome of first-line antiretroviral therapy among HIV-1 vertically infected children in Hanoi, Vietnam. Int J STD AIDS, 査読有, 2015, 26(11):821-830.
7. Phan CTT, Pham HV, Bi X, Ishizaki A, Ichimura H. Genetic analyses of HIV-1 strains transmitted from mother to child in Northern Vietnam. AIDS Res Hum Retroviruses, 査読有, 2015, 3(8) : 797-805.
8. Pham HV, Ishizaki A, Bi X, Pham TV, Ichimura H. Change in the prevalence of HIV-1 and the rate of transmitted drug-resistant HIV-1 in Haiphong, Northern Vietnam. AIDS Res Hum Retroviruses, 査読有, 2015, 31(7):757-759.
9. Kibaya RM, Lihana RW, Bi X, Okoth FA, Ichimura H, Lwembe RM. Characterization of HBV among HBV/HIV-1 co-infected injecting drug users from Mombasa, Kenya. Current HIV Research, 査読有, 2015, 13: 292-299.

[学会発表](計 9 件)

1. 畢袖晴、石崎有澄美、Nguyen LV、市村宏。HIV 感染および抗レトロウイルス療法が小児免疫状態に及ぼす影響、第 30 回日本エイズ学会学術集会・総会、2016.11.24-26, 鹿児島
2. 畢袖晴、石崎有澄美、Nguyen LV、市村宏。HIV 感染および抗レトロウイルス療法が小児免疫状態に及ぼす影響、平成 28 年度北陸腸内細菌研究会、2016.7.9 金沢
3. 畢袖晴、石崎有澄美、Nguyen LV, Matsuda K, Pham HV, 市村宏。Effects of short-term probiotic ingestion in children with HIV-1 infection、第 14

- 回日本予防医学会学術総会、2016.6.18、東京
4. Bi X, Phan CTT, Pham HV, Ishizaki A, Ichimura H. Genetic analyses of HIV-1 strains transmitted from mother to child in Northern Vietnam, 第29回日本エイズ学会学術集会・総会、2015.11.29-12.1、東京
5. Saina MC, Bi X, Lihana R, Ichimura H. Comparison of HIV-1 nef and gag variations and host HLA characteristics as determinants of disease progression among HIV-1 vertically infected Kenyan children, 第29回日本エイズ学会学術集会・総会、2015.11.29-12.1、東京
6. Bi X, Le HHL, Ishizaki A, Ichimura H. Human papillomavirus infection among male STI patients in Hanoi, Vietnam, 第30回日本国際保健医療学会学術大会、2015.11.21, 金沢
7. Bi X, Ishizaki A, Nguyen LV, Matsuda K, Pham HV, Ichimura H. Influence of HIV infection and antiretroviral therapy in the immune status and microbial translocation in HIV-infected children in Vietnam. 8th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention 2015.7.21-23, カナダ バンクーバー
8. Ichimura H, Bi X, Ishizaki A, Nguyen LV, Matsuda K, Pham HV. Effects of short-term probiotic ingestion in children with HIV-1 infection. 8th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention 2015.7.21-23, カナダ、バンクーバー
9. 畢袖晴、石崎有澄美、Nguyen LV, Pham HV, 市村宏. HIV 感染および抗レトロウイルス療法が小児免疫状態に及ぼす影響第

13 回日本予防医学会学術総会、2015.6.20-21, 金沢

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 出願年月日：
 国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 取得年月日：
 国内外の別：

〔その他〕
 ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

畢 袖晴 (BI, Xiuqiong)
 金沢大学・医学系・助教

研究者番号：50565416

(2) 研究分担者

市村 宏 (ICHIMURA, Hiroshi)
 金沢大学・医学系・教授
 研究者番号：10264756

(3) 連携研究者

石崎 有澄美 (ISHIZAKI, Azumi)
 金沢大学・医学系・助教
 研究者番号：30456420

(4) 研究協力者

ベトナム・ハノイ市国立小児病院：
 Khu Thi Khan Dung, M.D., PhD, 副院長
 Pham Nhat An, M.D., PhD, 感染症科 科長
 Nguyen Van Lam, M.D., 感染症科 副科長
 Phung Thi Bich Thuy, PhD, 分子生化学検査室 室長