

平成21年3月31日現在

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19590477

研究課題名(和文) 低・非病原性ウイルスによる持続感染がタイ北部のエイズ患者に及ぼす影響

研究課題名(英文) Effects of persistent viral infection with no or minimal pathogenicity on AIDS patients in Northern Thailand

研究代表者

森内 昌子 (MORIUCHI MASAKO)

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：60322301

研究成果の概要： GB ウイルス-C の慢性持続性感染が HIV 感染者の予後を改善させる可能性が欧米から報告されたが、アフリカからの報告では必ずしも確認できていない。我々はタイ北部の HIV コホートにおいて、GBV-C 感染者は非感染者より有意に CD4 細胞数が多く HIV load が低く生存率が高いことを示し、かつその効果は欧米型の GBV-C (genotype-2) がアジア型 (genotype-3, 4) よりも強いことを明らかにした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2008年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・ウイルス学

キーワード：個体疫学、ウイルス、感染症、生体分子、微生物、免疫学

## 1. 研究開始当初の背景

HIV感染者には様々な感染症が併発する。エイズに進行し免疫不全に陥ると、低病原性微生物による日和見感染が重篤な疾患を引き起こす。また一方で微生物感染に伴う免疫系の乱れが、HIVの増殖を助長することもある。これに反して、ある種の微生物感染がHIVの増殖を抑え、HIV感染者の予後に好影響をもたらす可能性も報告されている。

近年のトピックスはGBウイルス-C (以下GBV-C) 感染の併発がHIV感染者の予後を改善するという欧米からの報告である。これは微

生物因子による抗HIV戦略の開発を促す重要な発見であるが、追試結果(特にアフリカからの報告)は必ずしも肯定的ではない。

このように研究結果にばらつきが生じる原因として、

- 共感染するウイルスに多型性があり、型が違えば病原性やHIVとの相互作用も異なる(GBV-Cにも顕著な多型性が知られている)
- 研究を行った地域によってウイルスの多型性の分布の違いがあり、研究結果に地域差を生じさせる(GBV-Cは欧米とア

フリカとアジアでは、多型性の分布が異なることが知られている)

- 単に何らかのウイルスと共感染しているかだけではなく、当該ウイルスの量的な違いが大きな影響を及ぼす(個体によってGBV-Cのviral loadは大きく異なる)という可能性が考えられた。

未だ HIV と GBV-C の相互作用をアジアのコホートで調べた研究はなく、多型性や viral load の違いを十分に検討した報告もみられない。

## 2. 研究の目的

本研究では、タイ北部のLampang HIVコホートの患者において、HIVと他のウイルスとの相互作用を明らかにすることを目指した。

対象としては、

- ◆ 感染頻度が高く、
- ◆ リンパ球やマクロファージを標的細胞とし、
- ◆ いったん感染すると持続感染を成立させ、そして
- ◆ エイズのような免疫不全状態においても殆ど病原性を呈さない

という特徴を有する(1) GBV-C、(2) TTウイルス(TTV)、そして(3)ヒトヘルペスウイルス8型(HHV-8)を取り上げ、

- これらのウイルスの共感染の有無
- ウイルスの型(genotypes)の違い
- ウイルス量(viral load)の程度

を解析して、

◇ HIV感染者におけるHIVのウイルス動態や臨床的予後にもたらす影響

◇ HIV感染者のパートナーで未感染の人のコホートにおける新規感染率に及ぼす影響

を明らかにすることを目指した。

## 3. 研究の方法

Lampang cohortは2000年7月にタイ北部のLampang県に、Thai-NIH、Lampang病院、そしてJICAの共同で設立したコホートで、700人超のHIV感染者とこれらの感染者の配偶者で未感染者100人超を有し、きめ細かな疫学的・臨床的・ウイルス学的・免疫学的フォローがなされている。

検体:既にLampang cohort研究の一環として、それぞれの患者に対して経時的に採取され保存されているbuffy coat、末梢血単核球(PBMC) DNAまたは血漿のサンプルを用いて、以下の各種ウイルス学的検索を行った。

### (1) GBV-C

- ① buffy coatからRNAを抽出 → リアルタイムRT-PCR(5'NCR-specific primers)

でウイルス血症の有無を確認しviral loadを測定 → 陽性例について E2領域をPCR 増幅後にsequencingを施行し、genotypeを決定した。

- ② 保存血漿から  $\mu$ Plate anti-HGenV ELISA test (Roche Diagnostic)により抗GBV-C E2抗体の有無を確認した。

### (2) TTV

このウイルスのアジアにおける疫学は不明な点が多く、また研究手法も適切であるかどうかは確かでなかったため、まず日本の健康乳幼児における疫学調査を実施した。検体として、乳幼児検診(1ヶ月、4ヶ月、3歳半)受診時に同意を得て採取した唾液および臍帯血と健康成人末梢血を用い、DNAを抽出してリアルタイムPCR(universal primers)でTTV DNAを検出定量した。陽性例についてはgenogroup 特異的 primer setsを用いて、genogroupを同定した。

### (3) HHV-8

タイ国における疫学状況が全く不明であったため、まずこのコホートにおける抗体保有率を anti-HHV-8 ELISA test (R&D Systems)を用いて同定した。

## 4. 研究成果

### (1) GBV-C

- ① 2000年7月~2002年10月にタイ国ランパン県ランパン病院HIV外来を受診し、コホート研究参加に同意した、多剤併用抗HIV療法未実施の全てのHIV陽性患者756名を対象とした。エントリー時にCD4数、HIVウイルス量を測定し、カルテより患者情報を得た。756名中血漿検体が得られた712名についてウイルス学的検索を行った。その結果、GBV-C陽性率は67名(9.4%)で、G2型が19名(28%)、G3型が33名(49%)、G4型が15名(22%)であった。
- ② これらのGBV-C実験データをコホート患者の臨床データへ連結し、GBV-C共感染がCD4数とHIVウイルス量および生存予後に及ぼす影響を解析した。GBV-C共感染者群は、非共感染者群に比較して有意にCD4数が多く(図1)(251 vs 126;  $p=0.005$ )、HIVウイルス量が低く(図2)(中央値88056 vs 161251;  $p=0.03$ )、生存予後が良好(図3)(Kaplan-Meier生存曲線解析)だった。さらに、GBV-C共感染者の中でもGBVウイルス量が多い(100コピー以上)群とGBV-C陰性者群で比較すると、CD4値で $p=0.0002$ 、HIVウイルス量で $p=0.007$ と結果はさらに強く現れた。また、HIVウイルス量では有意差が出なかったが、G2型はG3、4型に比較し

有意にCD4数が多く (図4) (275 vs 139,  $p=0.01$ )、G2型群においてのみ生存予後が良かった (図5) (K-M生存解析)。

- ③ GBV-C陽性の抗HIV抗体陰性配偶者においては、GBV-C陽性者が多く、またG2型が全体の50%と、G2型が多い傾向にあった。GBV-C既感染、特にG2型はHIV-1感染を抑制することが示唆された。
- ④ 感染性分子クローンを用いたin vitroの実験系において、G2, G3, G4全ての型でGBV-C共感染はPBMC培養におけるHIV感染を抑制したが、その中でG2型が最も強力な抑制作用を示した。

図1

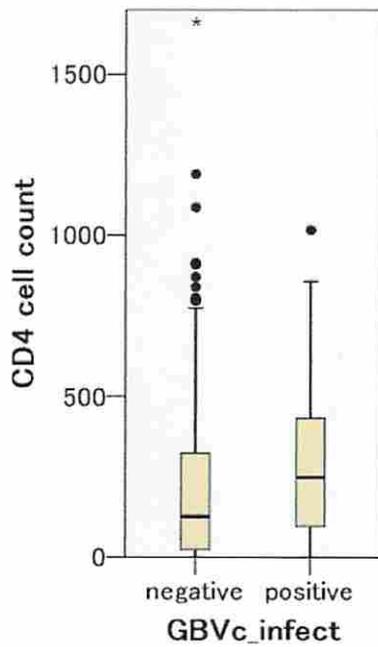


図2

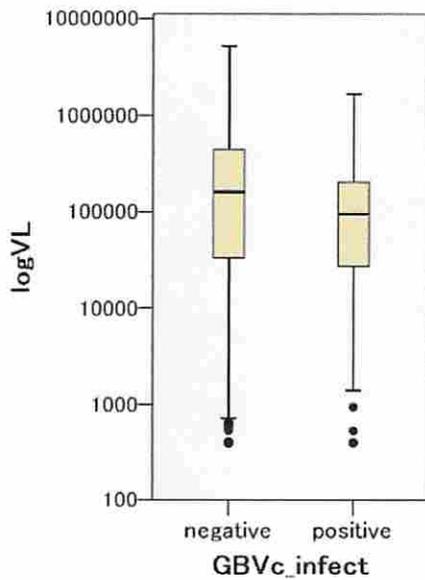
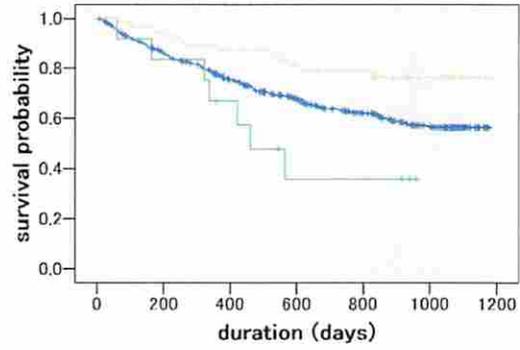


図3



(桃色 : GBV-C high copy群、青色 : GBV-C low copy群、緑色 : GBV-C陰性群)

図4

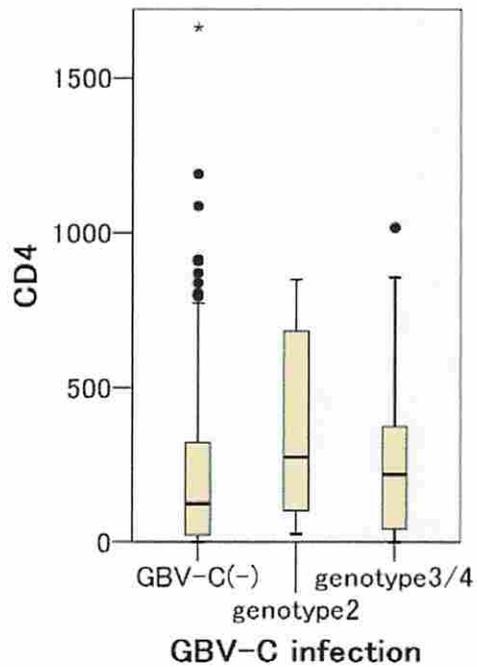
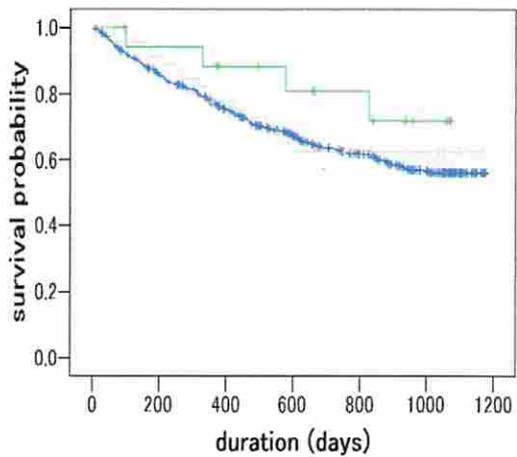


図5



(緑色 : GBV-C genotype-2、桃色 : GBV-C genogroup-3/4、青色 : GBV-C 陰性群)

(2) TTV

- ① TTV陽性率は生後1ヶ月で6%、4ヶ月で34%、3歳半で90%、成人で84%で、幼児期までに殆どの人が感染することがわかった。また臍帯血での陽性率も4%に認められ、胎内感染が少なからず起こることがわかった。
- ② 唾液中のウイルスは幼児において成人より大量に検出された。
- ③ Genogroup別にはG3型が全年齢において最も多く、二番目に多い型は乳幼児期ではG4、それ以降はG1であった。加齢につれて、複数のgenogroupの共感染が増えることがわかった。

(3) HHV-8

このコホート内の HIV 患者における HHV-8 抗体保有率が 5.0%であることが判明した。

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1件)

Naganuma M, Tominaga N, Miyamura T, Soda A, Moriuchi M, Moriuchi H. TT virus prevalence, viral loads and genotypic variability in saliva from healthy Japanese children. *Acta Paediatrica* 2008; 97: 1686-90. 査読有り。

[学会発表] (計2件)

森内昌子、冨永典男、森内浩幸、有吉紅也。タイ北部 HIV コホートにおける GBV-C の分子疫学調査。第 55 回日本ウイルス学会学術集会。2007 年 10 月 21-23 日。札幌。

Masako M, Ariyoshi K, Moriuchi H, 他 7 名。Favorable clinical outcome in HIV-1/GB virus-C-coinfected individuals in the Lampang HIV Cohort in Northern Thailand. Keystone symposium "HIV Pathogenesis/HIV Vaccines". 2008 年 3 月 27 日～4 月 1 日。Banff, Canada.

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

特記事項なし。

6. 研究組織

(1)研究代表者

森内 昌子 (MORIUCHI MASAKO)  
長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教  
研究者番号：60322301

(2)研究分担者

森内 浩幸 (MORIUCHI HIROYUKI)  
長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授  
研究者番号：90315234

有吉 紅也 (ARIYOSHI KOYA)

長崎大学・熱帯医学研究所・教授  
研究者番号：30311400

(3)連携研究者

研究協力者：

冨永典男、長沼成子 (長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科)

土屋菜歩 (長崎大学・熱帯医学研究所)

Hansa Thaisri, Archawin Rojanawiwat, Pathom Sawanpanyalert (National Institutes of Health, Thailand)

Panita Pathipvanich (Lampang Hospital, Thailand)