

課題番号 : 28指1102
研究課題名 : HIV感染者におけるウイルス性肝炎とその他の性感染症の診断と治療のための研究
主任研究者名 : 湯永博之
分担研究者名 : 渡辺恒二

キーワード : HIV、B型肝炎、C型肝炎、梅毒、赤痢アメーバ

研究成果 : 抗 HIV 薬・抗 B 型肝炎ウイルス (hepatitis B virus: HBV) 薬の両方として使われている tenofovir disoproxil fumarate (TDF) は、核酸合成におけるチェーンターミネーターとして働くが、血中 interferon (IFN)- λ 3 を上昇させる作用もあることを示した。すなわち、HIV 単独感染患者・HIV/HBV 重複感染患者の両者で、TDF 内服後に血中 IFN- λ 3 の上昇が認められたが、対照薬の抗 HIV 薬である abacavir (ABC) の内服後にはそのような効果は認められなかった。TDF の抗 HBV 効果はチェーンターミネーターとしての作用であるが、他に副次的なメカニズムも存在する可能性が示された。

HIV 感染者に重複感染している C 型肝炎ウイルス (hepatitis C virus: HCV) は、その遺伝子型が、感染経路により大きく異なる。男性同性愛者を中心とする血友病以外の日本人 HIV 感染者では、そもそも HCV の重複感染率が低く 3-4% くらいで、遺伝子型は 1b、2a、2b がほとんどで比較的単純である。従って、保険承認されている通り、1b に対しては sofosbuvir + ledipasvir で、2a と 2b に対しては sofosbuvir + ribavirine で治療することができる。一方、血友病患者の HCV は、アメリカで製造された血液由来の凝固因子製剤により感染しているため、他の日本人患者よりも、遺伝子型が多様で、39 人調べたところ、1a が 9 人、1b が 20 人、1a または 1b が 2 人、2a が 1 人、2b が 1 人、3a が 4 人、4 が 2 人だった。このうち、他院で HCV に対して Direct Acting Antivirals (DAA) による治療予定の 6 人と、人工透析中やアドヒアランスなどの問題で治療対象にならない 6 人を除く、27 人に対して、HCV 遺伝子型に応じて ACC で DAA 治療を行った。1 型の 22 人に対しては sofosbuvir + ledipasvir で、2 型の 1 人に対しては sofosbuvir + ribavirine で保険診療に従って施行した。3 型の 3 人に対しては、保険適応となる DAA 治療が存在しないため、倫理委員会の承認の後、患者本人の同意を得て、sofosbuvir + daclatasvir による治療を行った。4 型の 1 人に対しては血清型で 1 型であったため、sofosbuvir + ledipasvir による治療を行った。合計 27 人の HIV/HCV 重複感染血友病患者の HCV に対して DAA 治療を行い、全例で治療終了後 12 週の HCV-RNA 陰性化 (SVR12) が持続していることを確認できた。

HIV 感染者における梅毒感染から眼梅毒発症までの潜伏期間を調べるために、1997 年 8 月から 2015 年 7 月に眼梅毒と診断された症例について、単施設の診療録レビューを行った。20 人の男性同性愛者 (中央値 41 歳) の 30 眼が対象となり、そのうち 8 人の宣布期間が算出可能であった。潜伏期間の中央値は 11 か月であり、8 人のうち 7 人が梅毒感染から 2 年以内に眼梅毒を発症していた。HIV 感染者においては、感染早期の梅毒であっても眼梅毒を発症することが多く、眼症状を伴う梅毒の場合には眼梅毒を積極的に疑うべきと考えられた。

赤痢アメーバ (*Entamoeba histolytica*) は、途上国においては飲料水や食物がそのシストにより汚染しているために伝播する病原体だが、先進国においては男性同性愛者の間で伝播する性感染症としての性格を持ち、そのため、HIV 感染者の間にも流行する病原体である。赤痢アメーバ腸炎には無症状のものから致命的なものまで様々であり、重症度には腸内細菌叢の関与が示唆されている。そこで、赤痢アメーバが検出されたバングラディッシュの小児の便の細菌叢と腸炎症状の相関を解析した。下痢症状のある小児の便は、無症状の小児の便と比較し、腸内細菌叢の多様性が有意に乏しかった。更に、赤痢アメーバ腸炎のモデルマウスに抗菌薬を投与し、その影響を観察した。抗菌薬を投与されたマウスの腸内細菌叢は多様性が乏しく、体重はより減少し、腸炎の重症度が大きく、便潜血の陽性率も高かった。腸内細菌叢の多様性が乏しくなると、赤痢アメーバ感染による腸炎症状は重症化することが示唆された。

Subject No. : 28-SI-1102

Title : Study for diagnosis & treatment of viral hepatitis and other STDs in HIV patients

Researchers : Hiroyuki Gatanaga, Koji Watanabe

Key word : HIV, hepatitis B, hepatitis C, syphilis, *Entamoeba histolytica*

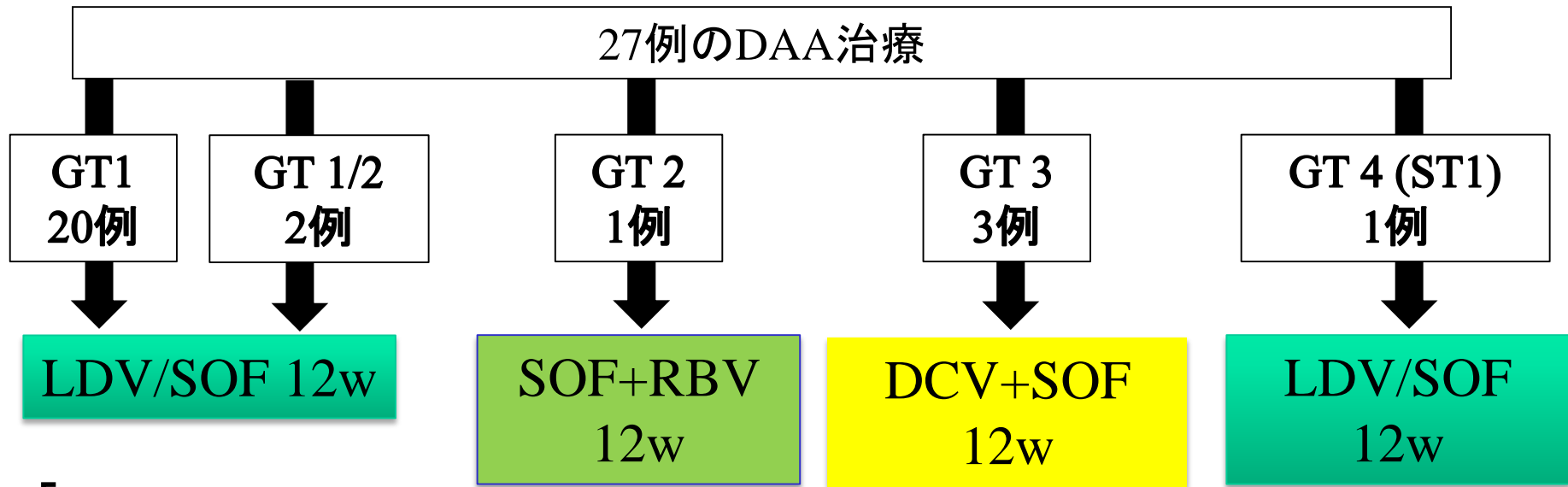
Abstract : Tenofovir disoproxil fumarate (TDF), which is used as anti-HIV and anti-hepatitis B virus (HBV), usually works as a chain-terminator. We found that TDF increases serum interferon (IFN)- λ 3. The increased serum concentration of IFN- λ 3 was observed after TDF administration in HIV-mono-infected and HIV/HBV-co-infected patients but it was not observed after abacavir (ABC) administration. These results suggest that another mechanism of anti-HBV effects of TDF than a chain-terminator.

The genotype (GT) of co-infected hepatitis C virus (HCV) in HIV-1-infected patients was various in hemophiliacs, which is different in men who have sex with men (MSM). We successfully introduced sofosbuvir + ledipasvir in 22 GT1-infected and 1 GT4-infected, sofosbuvir + ribavirine in 1 GT2-infected, and sofosbuvir + daclastavir in 3 GT3-infected hemophiliacs, resulting in undetectable HCV-RNA 12 weeks after the completion of the treatment.

In order to delineate the incubation time from syphilis acquisition to development of ocular syphilis, we performed a single-center retrospective chart review of ocular syphilis in patients infected with HIV-1 diagnosed between August 1997 and July 2015. The study subjects were 30 eyes of 20 MSM (median age, 41). In 8 cases among them, the incubation time was able to be estimated by using medical review and serological analysis of stocked sera. The median incubation time was 11 months, and 7 out of the 8 cases had developed ocular syphilis within 2 years of syphilis acquisition. Ocular syphilis should be suspected when ocular symptoms are associated in syphilis infection because ocular syphilis can develop even in early phase of syphilis infection in HIV-infected individuals.

The severity of colitis caused by *Entamoeba histolytica* (*E. histolytica*) are various from asymptomatic to fatal, and it is suggested the relation between the severity of *E. histolytica* colitis and the diversity of intestinal microbiome. Then, we compared gut microbiome diversity in stools collected from children with symptomatic amebic colitis with those from children who showed asymptomatic *E. histolytica* colonization. The Shannon diversity index during *E. histolytica* infection was lower in symptomatic cases than with colonization. We confirmed that ages of children when stool samples were collected were not different between two groups. Next, we used the murine model of amebic colitis to assess whether prior dysbiosis with decreased microbiome diversity has an impact on disease severity of amebic colitis. Wild type C57BL/6 mice were treated with an antibiotic cocktail consisting of ampicillin, neomycin, metronidazole and vancomycin for 2 weeks prior to *E. histolytica* challenge. We confirmed the microbiome diversity was decreased by antibiotic pre-treatment before *E. histolytica* challenge. Antibiotic pre-treated mice showed more severe weight loss and higher clinical scores than untreated control mice. These results indicated that antibiotic-induced dysbiosis increased susceptibility to amebic colitis in the mouse model, consistent with what had been observed in infants.

(28指1102)「HIV感染者におけるウイルス性肝炎とその他の性感染症の診断と治療のための研究」 主任研究者: 湯永博之



「HCV」

HIV/HCV(HCV-RNA陽性)に重複感染している薬害血友病患者27人に対して、IFNを使わない新規経口薬 direct-acting antivirals (DAA) によるHCV治療を行った。DAAの内訳は、ledipasvir(LDV)/sofosbuvir(SOF) 23症例、sofosbuvir+ribavirine 1症例、daclatasvir(DCV)+sofosbuvir(SOF) 3症例で、DCV+SOF は保険適応がないため、臨床研究として行った。いずれの症例も重篤な有害事象はなく、sustained viral response (SVR) を達成した。薬害血友病患者という多剤耐性HIVに感染しているため抗HIV薬の選択肢が限られDAAとの併用に困難を来す症例においても、抗HIV療法のレジユメを工夫することで抗HIV療法を失敗させることなく、DAAを成功させることができることを示した。

「HBV」

抗HIV薬・抗HBV薬の両者として使われている Tenofovir Disoproxil Fumarate (TDF) は、核酸合成におけるチェーンターミネーターとして働くが、血中 interferon (IFN)- λ 3 を上昇させる作用もあることを示した。すなわち、HIV単独感染患者・HIV/HBV重複感染患者の両者で、TDF内服後に血中IFN- λ 3の上昇が認められた。対照薬である abacavir (ABC) ではそのような作用は認められなかった。新たな抗HBV効果のメカニズムと思われる。

「梅毒」

HIV感染者において、梅毒感染から眼梅毒発症までの潜伏期間を、臨床データと保存血清を用いて後方視的に算出した。

Clinical characteristics, laboratory results and incubation period to ocular syphilis in HIV-infected patients.

No.	Age (yrs)	Sex	CD4 (μ L)	HIV-RNA (copies/mL)	ART	Ocular symptoms	Anatomical location	Duration of ocular symptoms before diagnosis (months)	Neurosyphilis	Change of syphilis status (RPR/TPHA)	Incubation period (months)
1	41	M	828	140000	-	Blurred vision/myodesopsia	Intermediate uveitis/ON	1	+	N/N \rightarrow 1:256/1:20480	2.5
2	47	M	703	300	-	Hyperemia/FB sensation	Panuveitis	1	-	N/P \rightarrow 1:64/1:20480	8
3	41	M	888	<20	+	Defect of visual fields/photophobia	Posterior uveitis	1	+	1:4/1:320 \rightarrow 1:32/1:10240	5
4	60	M	251	<20	+	Hyperemia	Scleritis	7	NA	N/1:2560 \rightarrow 1:256/1:>20480	17
5	45	M	659	<20	+	Loss of vision	Posterior uveitis	1	+	1:2/1:1280 \rightarrow 1:64/1:20480	21
6	56	M	678	40	+	Loss of vision	Posterior uveitis/ON	9	-	N/N \rightarrow 1:64/1:1280	14
7	42	M	581	<20	+	Blurred vision/myodesopsia	Posterior uveitis/ON	0.75	-	N/N \rightarrow 1:64/1:>20480	3
8	51	M	528	590	+	Hyperemia/pain	Scleritis	5	-	1:8/1:10240 \rightarrow 1:32/1:10240	45

ART: antiretroviral therapy, FB: foreign body, N: negative, NA: not available, ON: optic neuritis, P: positive, RPR: rapid plasma reagin, TPHA: *Treponema pallidum* hemagglutination test.

All of the patients, except for Patient No. 4 who were treated with oral amoxicillin plus probenecid, have been treated with intravenous benzylpenicillin with or without other medications, such as oral amoxicillin plus probenecid before or after intravenous benzylpenicillin as described in our previous study [6].

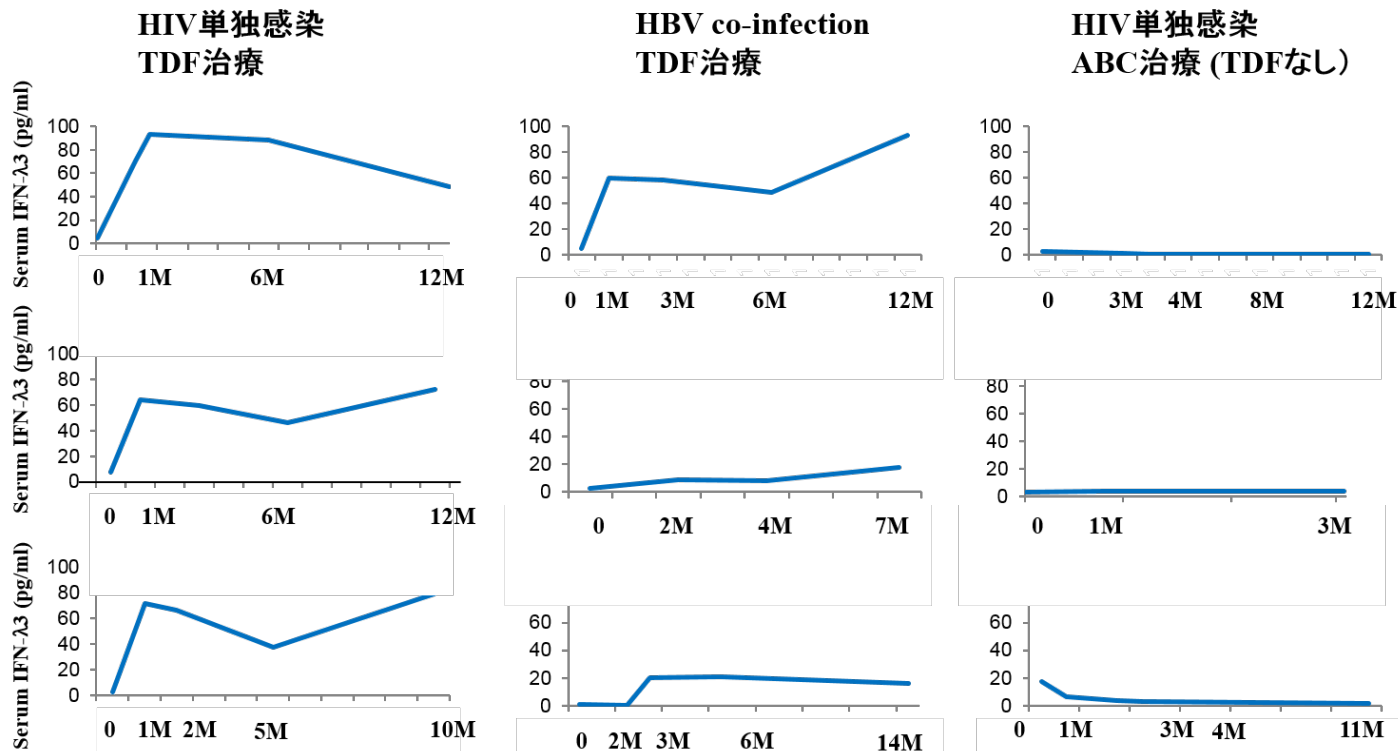
1997年8月から2015年7月までにACCで20人のHIV感染者が眼梅毒を発症しており、そのうち、8人の潜伏期間が算出可能であった。潜伏期間の中央値は11か月であり、8人のうち7人が梅毒感染から2年以内に眼梅毒を発症していた。HIV感染者においては、感染早期の梅毒であっても眼梅毒を発症することが多く、眼症状を伴う梅毒は眼梅毒を積極的に疑うべきと考えられた。

(28指1102)「HIV感染者におけるウイルス性肝炎とその他の性感染症の診断と治療のための研究」 分担研究者: 湯永博之

分担課題「HIV感染者におけるウイルス性肝炎の治療のための研究」

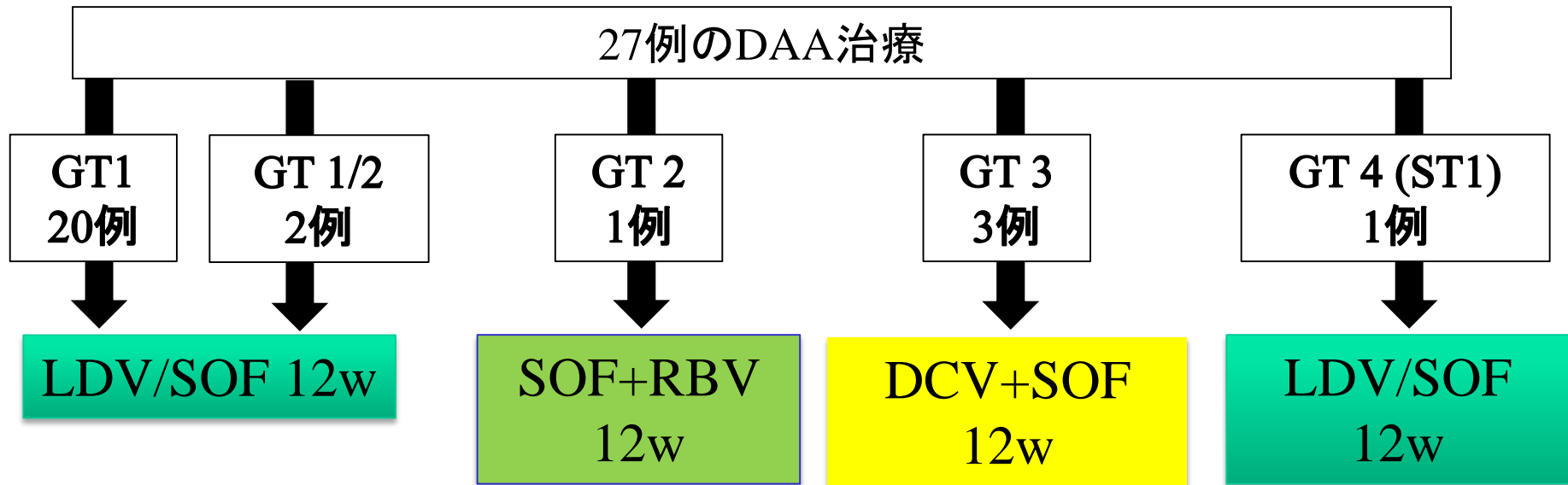
「HBV」

抗HIV薬・抗HBV薬の両者として使われている Tenofovir Disoproxil Fumarate (TDF) は、核酸合成におけるチェーンターミネーターとして働くが、血中 interferon (IFN)-λ3 を上昇させる作用もあることを示した。新たな抗HBV効果のメカニズムと思われる。



HIV単独感染患者・HIV/HBV重複感染患者の両者で、TDF内服後に血中IFN-λ3の上昇が認められた。対照薬である abacavir (ABC) ではそのような作用は認められなかった。

「HCV」



HIV/HCV(HCV-RNA陽性)に重複感染している薬害血友病患者27人に対して、IFNを使わない新規経口薬 direct-acting antivirals (DAA) によるHCV治療を行った。DAAの内訳は、ledipasvir(LDV)/sofosbuvir(SOF) 23症例、sofosbuvir+ribavirine 1症例、daclatasvir(DCV)+sofosbuvir(SOF) 3症例で、DCV+SOF は保険適応がないため、臨床研究として行った。いずれの症例も重篤な有害事象はなく、sustained viral response (SVR) を達成した。薬害血友病患者という多剤耐性HIVに感染しているため抗HIV薬の選択肢が限られDAAとの併用に困難を来す症例においても、抗HIV療法のレジユメを工夫することで抗HIV療法を失敗させることなく、DAAを成功させることができることを示した。

(28指1102)「HIV感染者におけるウイルス性肝炎とその他の性感染症の診断と治療のための研究」 分担研究者: 渡辺 恒二

分担課題「HIV感染者における性感染症の診断と治療のための研究」

「梅毒」

HIV感染者において、梅毒感染から眼梅毒発症までの潜伏期間を、臨床データと保存血清を用いて後方視的に算出した。

Clinical characteristics, laboratory results and incubation period to ocular syphilis in HIV-infected patients.

No.	Age (yrs)	Sex	CD4 (μL)	HIV-RNA (copies/mL)	ART	Ocular symptoms	Anatomical location	Duration of ocular symptoms before diagnosis (months)	Neurosyphilis	Change of syphilis status (RPR/TPHA)	Incubation period (months)
1	41	M	828	140000	-	Blurred vision/myodesopsia	Intermediate uveitis/ON	1	+	N/N → 1:256/1:20480	2.5
2	47	M	703	300	-	Hyperemia/FB sensation	Panuveitis	1	-	N/P → 1:64/1:20480	8
3	41	M	888	<20	+	Defect of visual fields/photophobia	Posterior uveitis	1	+	1:4/1:320 → 1:32/1:10240	5
4	60	M	251	<20	+	Hyperemia	Scleritis	7	NA	N/1:2560 → 1:256/1:>20480	17
5	45	M	659	<20	+	Loss of vision	Posterior uveitis	1	+	1:2/1:1280 → 1:64/1:20480	21
6	56	M	678	40	+	Loss of vision	Posterior uveitis/ON	9	-	N/N → 1:64/1:1280	14
7	42	M	581	<20	+	Blurred vision/myodesopsia	Posterior uveitis/ON	0.75	-	N/N → 1:64/1:>20480	3
8	51	M	528	590	+	Hyperemia/pain	Scleritis	5	-	1:8/1:10240 → 1:32/1:10240	45

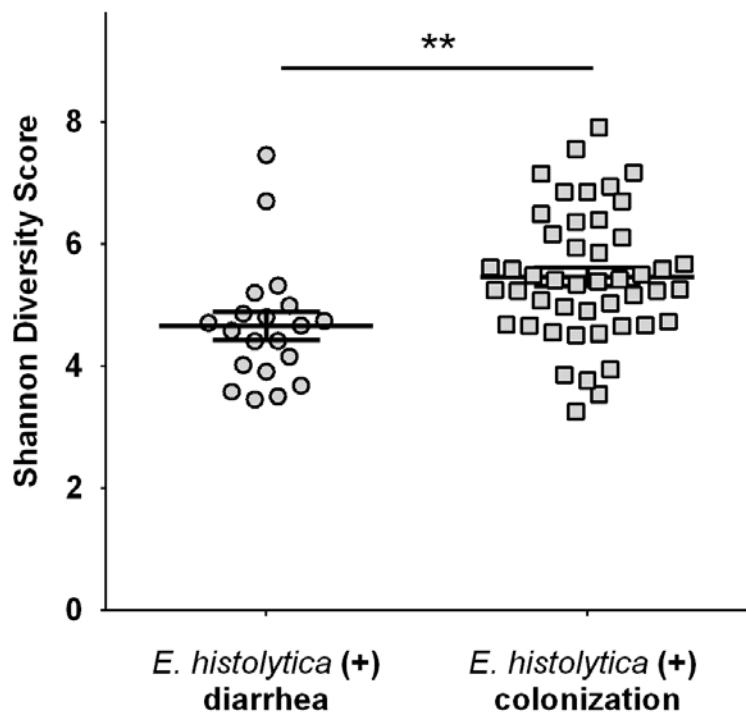
ART: antiretroviral therapy, FB: foreign body, N: negative, NA: not available, ON: optic neuritis, P: positive, RPR: rapid plasma reagin, TPHA: *Treponema pallidum* hemagglutination test.

All of the patients, except for Patient No. 4 who were treated with oral amoxicillin plus probenecid, have been treated with intravenous benzylpenicillin with or without other medications, such as oral amoxicillin plus probenecid before or after intravenous benzylpenicillin as described in our previous study [6].

1997年8月から2015年7月までにACCで20人のHIV感染者が眼梅毒を発症しており、そのうち、8人の潜伏期間が算出可能であった。潜伏期間の中央値は11か月であり、8人のうち7人が梅毒感染から2年以内に眼梅毒を発症していた。HIV感染者においては、感染早期の梅毒であっても眼梅毒を発症することが多く、眼症状を伴う梅毒は眼梅毒を積極的に疑うべきと考えられた。

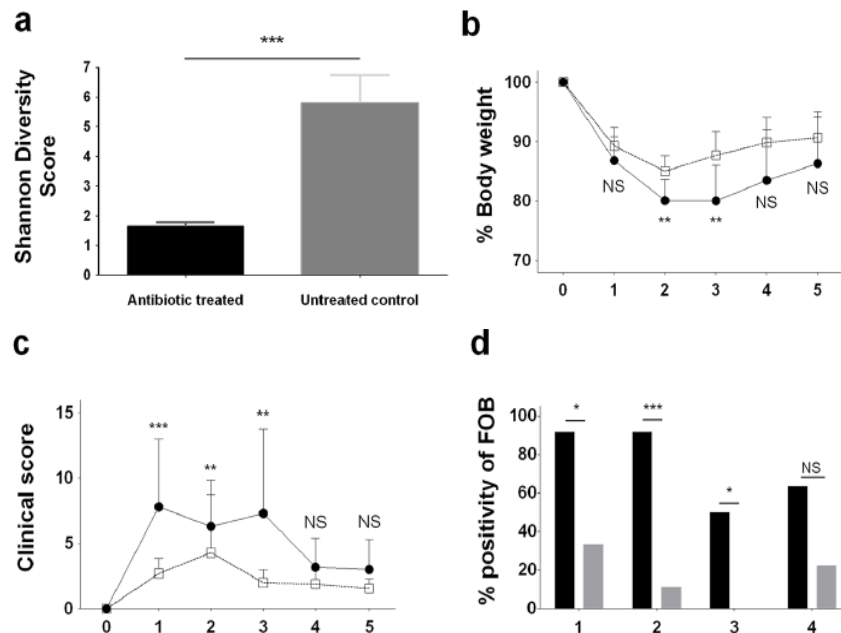
「赤痢アメーバ」

赤痢アメーバ腸炎には無症状のものから致死的なものまで様々であり、重症度には腸内細菌叢の関与が示唆されている。赤痢アメーバ (*Entamoeba histolytica*) が検出されたバングラディッシュの小児の便の細菌叢と腸炎症状の相関を解析した。



下痢症状のある小児の便は、無症状の小児の便と比較し、腸内細菌叢の多様性が有意に乏しかった。

赤痢アメーバ腸炎のモデルマウスに抗菌薬を投与し、その影響を観察した。



抗菌薬を投与されたマウスの腸内細菌叢は多様性が乏しく(a)、体重はより減少し(b)、腸炎の重症度が大きく(c)、便潜血の陽性率も高かった(d)。腸内細菌叢の多様性が乏しくなると、赤痢アメーバ感染による腸炎症状は重症化することが示唆された。

研究発表及び特許取得報告について

課題番号： 28指定1102

研究課題名： HIV感染者におけるウイルス性肝炎とその他の性感染症の診断と治療のための研究

主任研究者名： 瀧永博之

論文発表

論文タイトル	著者	掲載誌	掲載号	年
Induction of IFN-lambda3 as an additional effect of nucleotide, not nucleoside, analogues: a new potential target for HBV infection.	Murata K, Asano M, Matsumoto A, Sugiyama M, Nishida N, Tanaka E, Inoue T, Sakamoto M, Enomoto N, Shirasaka T, Honda M, Kaneko S, Gatanaga H, Oka S, Kawamura YI, Dohi T, Shuno Y, Yano H, Mizokami M.	Gut	2	2018
Interferon-free therapy with direct acting antivirals for HCV/HIV-1 co-infected Japanese patients with inherited bleeding disorders.	Uemura T, Tsukada K, Mizushima D, Aoki T, Watanabe K, Kinai E, Teruya K, Gatanaga H, Kikuchi Y, Sugiyama M, Mizokami M, Oka S.	PLoS One	10	2017
Time to development of ocular syphilis after syphilis infection.	Tsuboi M, Nishijima T, Yashiro S, Teruya K, Kikuchi Y, Katai, Gatanaga H, Oka S.	Journal of Infection and Chemotherapy	1	2018
Microbiome-mediated neutrophil recruitment via CXCR2 and protection from amebic colitis.	Watanabe K, Gilchrist CA, Uddin MJ, Burgess SL, Abhyankar MM, Moonah SN, Noor Z, Conowitz JR, Schneider BN, Arju T, Ahmed E, Kabir M, Alam M, Haque R, Pramoongjago P, Mehrad B, Petri WA Jr.	PLoS Pathogen	8	2017
Entamoeba species in South Africa: correlations with the host microbiome, parasite burdens, and first description of entamoeba bangladeshi outside Asia.	Ngobeni R, Samie A, Moonah S, Watanabe K, Petri WA Jr, Gilchrist C.	Journal of Infectious Diseases	12	2017

学会発表

タイトル	発表者	学会名	場所	年月
HIV患者における梅毒罹患から眼梅毒発症までの期間についての検討.	坪井基行、西島健、照屋勝治、瀧永博之、菊池嘉、岡慎一.	日本感染症学会	東京	2017年4月
梅毒の治療効果判定における倍数希釈法と自動化法の比較検討.	西島健、瀧永博之、上村悠、柳川泰昭、小林泰一郎、水島大輔、青木孝弘、木内英、矢崎博久、源河いくみ、田沼順子、塚田訓久、照屋勝治、菊池嘉、岡慎一.	日本感染症学会	東京	2017年4月
HCV/HIV-1重複感染血友病患者におけるDAA治療後の腫瘍マーカーと肝線維化マーカーの推移.	上村悠、塚田訓久、柳川泰昭、水島大輔、青木孝弘、渡辺恒二、木内英、田沼順子、照屋勝治、瀧永博之、菊池嘉、岡慎一.	日本エイズ学会	東京	2017年11月
日本国内のHIV/HCV重複感染者におけるHCV分子疫学的研究.	石田裕樹、上村悠、林田庸総、土屋亮人、菊池嘉、瀧永博之、岡慎一.	日本エイズ学会	東京	2017年11月

研究発表及び特許取得報告について

その他発表(雑誌、テレビ、ラジオ等)

タイトル	発表者	発表先	場所	年月日
該当なし				

特許取得状況について ※出願申請中のものは()記載のこと。

発明名称	登録番号	特許権者 (申請者) (共願は全記載)	登録日(申請日)	出願国
該当なし				

※該当がない項目の欄には「該当なし」と記載のこと。

※主任研究者が班全員分の内容を記載のこと。