

第22回日本エイズ学会シンポジウム記録

HAART と NeuroAIDS

HAART and NeuroAIDS

中川 正法¹⁾, 上平 朝子²⁾, 橋本 里奈³⁾, 岸田 修二⁴⁾,
三浦 義治⁵⁾, 邢 惠琴⁶⁾, 出雲 周二⁶⁾

*Masanori NAKAGAWA¹⁾, Tomoko UEHIRA²⁾, Rina HASHIMOTO³⁾,
Shuji KISHIDA⁴⁾, Yoshiharu MIURA⁵⁾, Hui Qin XING⁶⁾
and Shuji IZUMO⁶⁾*

¹⁾ 京都府立医科大学神経内科

²⁾ 国立病院機構 大阪医療センター免疫感染症科

³⁾ 国立病院機構 名古屋医療センター神経内科(現 名古屋大学医学部神経内科)

⁴⁾ 東京都立駒込病院脳神経内科

⁵⁾ 埼玉県立総合リハビリテーションセンター内科(現 土浦協同病院神経内科科長)

⁶⁾ 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 難治ウイルス病態制御研究センター分子病理病態研究分野

はじめに

HIV 感染症は、高活性抗レトロウイルス療法 (HAART) により「死に至る病い」から「コントロール可能な慢性疾患」へと変貌した。HAART によりエイズ脳症を含む HIV 感染による神経合併症 (NeuroAIDS) の頻度は著明に低下したが¹⁾、免疫再構築症候群、薬剤耐性例での日和見感染、薬剤関連末梢神経障害、脳血管障害などが増加しており、その病態の解明・治療戦略が今後の重要な課題である。また、エイズ脳症の病態もいまだ未解明な点が多い²⁾。

本稿では、以上の点を踏まえて、臨床的立場から、1) 神経病変を示す HIV 症例の診断の進め方、2) HAART 下における神経日和見感染症、3) 免疫再構築症候群とエイズ脳症に関して、診療の現場を踏まえた研究を、基礎研究の立場からは、1) エイズ脳症の小動物モデル、2) ヒト剖検例、サルエイズモデルにおける中枢神経サイトカインの動態に関して、第一線で活躍している研究者に述べて頂いた。なお、本稿の内容は、第22回日本エイズ学会学術集会（2008年11月、大阪）のシンポジウムで発表された内容をまとめたものである。

中枢神経病変のある症例の診断の進め方

(国立病院機構大阪医療センター 免疫感染症科 上平朝子)

HIV 感染症患者に合併する脳内病変は多彩で、難治性の疾患から治癒が可能な疾患まであり、適切な診断と治療が

著者連絡先：中川正法（〒602-0841 京都市上京区河原町通広小路上ル梶井町465 京都府立医科大学大学院医学研究科神経内科学）

2009年4月20日受付

患者の予後を大きく左右する。しかし、いずれも画像所見は類似しており、確定診断が困難な場合も多い。血液、髄液、画像検査を実施しても確定診断が困難な場合では、脳生検で重要な情報が得ることができれば、適切な治療方針の選択に役立つと考えられる。当院でも、画像上は脳原発リンパ腫と思われたケースでも、脳生検で悪性リンパ腫が否定された例もあり、脳生検は非常に有用であった。しかし、脳生検を実施できない症例や、脳生検でも確定診断が難しい症例もある。そこで、脳内病変の診断に際し、血液、髄液、画像検査に加えて脳生検を施行した症例を紹介し、中枢神経病変の診断の進め方について考える。

画像検査の必要性

HIV 関連で中枢神経病変をきたす疾患の診断をすすめていくにあたり、頭痛、意識障害、認知機能低下、麻痺、不明熱など何らかの神経疾患の存在が疑われる場合や特に症状がなくても CD4 値が非常に低値 (CD4 値 < 100~200) の症例では日和見疾患の合併を疑い、脳 MRI、CT 検査などの画像検査を行うことがすすめられる。

中枢神経病変の診断の進め方（図1）

まず、画像検査で脳に占拠性病変の有無を見る。占拠性病変無い例の多くは髄膜炎疾患であり、髄液検査が診断に有用である。

次に、脳占拠性病変が有る例では、腫瘍による周辺部位への Mass effect の有無を見る。Mass effect を認めない疾患では、主として進行性多巣性白質脳症（以下 PML）、脳血管病変がある。これらは、特徴的な画像所見を呈するが、PML では髄液検査で JCV が検出されることも診断に役立

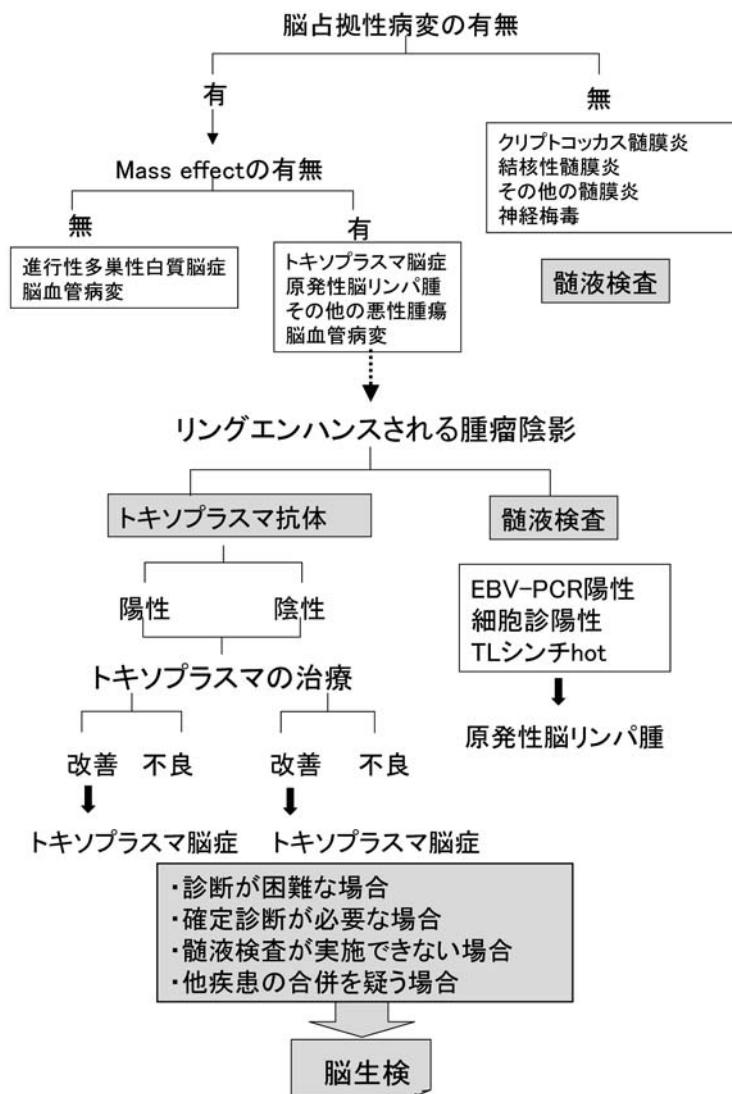


図 1 中枢神経病変の診断の進め方

つ。当院の PML 症例でも、10 例中 7 例で JCV-PCR が陽性と判明し診断に至っている。

一方、Mass effect を伴う疾患では、いずれも造影剤による造影増強効果を認めることが多い。特にトキソプラスマ脳症と原発性脳リンパ腫は、ともに脳 MRI でリングエンハンス像を認めるため、しばしば鑑別に難渋する。造影剤によりエンハンスされる腫瘍陰影をみた場合、トキソプラスマ抗体を測定し、実施可能であれば髄液検査も行う。トキソプラスマ抗体陽性の場合で、抗トキソプラスマ治療が奏効すれば、トキソプラスマ脳症である可能性が非常に高いと考えられる。しかし、原発性脳リンパ腫を含む他疾患の合併があることを忘れてはならない。

トキソプラスマ抗体陰性の場合は、原発性脳リンパ腫である可能性が高くなるが、トキソプラスマ抗体陰性のトキ

ソプラスマ脳症もあるため注意が必要である。従って、トキソプラスマ抗体が陽性あるいは陰性のいずれでも、治療をすることになる。その結果、治療効果が不良の場合は、他疾患の合併や原発性脳リンパ腫の疑いが強くなる。また髄液中の EBV-PCR は、原発性脳リンパ腫では感度特異度とも高く診断に役立つ。EBV-PCR 陽性で、細胞診でも悪性所見が見られ、タリウムシンチも陽性であれば、原発性脳リンパ腫である可能性が高いと考えられる。

しかし、いずれの検査においても診断がつかない場合、髄液検査が実施できない場合、他疾患の合併が疑われる場合などでは、開頭脳生検の実施を考慮しなくてはならない。そこで、当院で脳生検を実施し確定診断ができた症例について述べる。

開頭脳生検による診断（図2）

頭部の画像検査で造影剤によるリングエンハンス像を呈した5症例を示した。いずれもトキソプラスマ抗体は陰性であったが、A, B, Cの3例はトキソプラスマ脳症に対する治療を行った。しかし、治療効果は不良であった。髄液検査では、DとEは腫瘍陰影が大きいため施行できなかったが、検査を施行できた3例（A, B, C）も確定診断には至らなかった。症例BとCでは、髄液中のEBV-PCRが陽性であった。また、タリウムシンチに関しては、施行できた症例（B, C, D）ではいずれも集積を認めなかった。

5例の開頭脳生検による病理診断の結果は、原発性脳リンパ腫が3例で、トキソプラスマ脳症が1例、脳血管炎が1例であった。症例Aは、トキソプラスマ抗体が陰性で、トキソプラスマ症に対する治療効果も不良であったが、脳生検の病理診断はトキソプラスマ脳症であった。これは他疾患も合併していたことから診断が非常に困難であったと考えられた。また、症例Cは髄液中のEBV-PCRも陽性で原発性脳リンパ腫が疑われたが、病理診断は血管炎であった。現在、2年半以上経過しているが、抗HIV療法とステロイド治療で病状は改善している。

HIV感染症における中枢神経病変のうち、髄膜炎疾患では画像所見に加えて、髄液検査が診断に有用である。また、脳に占拠性病変のある疾患のうち、PMLや脳血管病変は、画像所見と髄液検査で診断をつけることができる。しか

し、造影剤による造影増強効果のある脳の腫瘍性病変では、画像所見が類似し、病態も多彩であることから、その他の検査でも診断に苦慮する。ひとつの病変に複数の疾患が合併している例もある。当院で経験した脳占拠性病変を認めた5例は、いずれも脳生検によって確定診断をつけることができた。脳MRI、TLシンチ、髄液検査は、それぞれの疾患に対して典型的な所見は示していない例もあったことから、確実な診断と治療の選択には開頭脳生検が非常に有用であると考えられた。従って、CD4値、画像所見、トキソプラスマ抗体の有無とその治療効果、髄液検査などの結果をふまえ、実施可能な症例には、早い段階で積極的に脳生検を念頭におきながら、診断をすすめていくとよいのではないかと考える。

HAARTと神経日和見感染症

(国立病院機構名古屋医療センター神経内科 橋本里奈)

HAART登場以後、HIV/AIDSにおける日和見感染症の発症頻度は減少を認めている。名古屋医療センターにおける検討においても、1995年から2000年7月の間にHIV感染症106例（AIDS 19例）中の7例（AIDSのうち36.8%）に中枢神経合併症を認めたのに対し、2000年8月から2007年12月の間ではHIV 614例（AIDS 199例）中の31例（AIDSの14.6%）であった³⁾。しかし、中枢神経合併症の発症頻度は減少しているものの、HIV感染症の増加を背景に絶対数は増加している。当院での中枢神経合併症の内訳を表1に

トキソplaスマ抗体陰性					
トキソplaスマに対する治療効果が不良					
A	B	C	D	E	
CD4 (/mm ³)	1	20	33	54	20
VL (cp/ml)	28000	120000	440000	2700	<50
髄液検査	クリプトコッカス 抗原陽性	EBV-PCR + 細胞診陰性 集積無し	EBV-PCR + 細胞診陰性 集積無し	実施できず	実施できず
TLシンチ				集積無し	
脳生検	トキソplaスマ 脳症	原発性 脳リンパ腫	脳血管炎	原発性 脳リンパ腫	原発性 脳リンパ腫

図2 リングエンハンスされる腫瘍陰影を呈した症例

表 1 名古屋医療センターにおける中枢神経合併症の内訳

疾 患	～2000年7月	2000年8月～2007年12月
トキソプラズマ脳炎	3 例	5 例
HIV 脳症		6 例
進行性多巣性白質脳症	2 例	3 例
脳原発リンパ腫	1 例	4 例
クリプトコッカス髄膜炎	1 例	3 例
無菌性髄膜炎		2 例
結核性髄膜炎		1 例
HSV 髄膜炎		1 例
VZV 髄膜炎		1 例
CMV 脳炎		1 例
アメーバ脳炎		1 例
海綿静脈洞症候群		1 例
水頭症		1 例
原因不明		1 例
計	7 例	31 例
HIV 症例数（うち AIDS）	106 (19) 例	614 (199) 例
AIDS での中枢神経合併率	36.8%	14.6%

示した。最多はトキソプラズマ脳炎 8 例、以下 HIV 脳症 6 例、進行性多巣性白質脳症 5 例、クリプトコッカス髄膜炎 4 例、悪性リンパ腫 4 例と、日和見感染症が大きな比重を占めている。これら中枢神経日和見感染症の実地臨床上の問題点について検討した。

HIV 感染による日和見感染の特徴

第一に、HIV 感染症の前提がないと診断が困難であることが挙げられる。とりわけトキソプラズマ脳炎や進行性多巣性白質脳症、HIV 脳症はいずれの疾患も HIV 感染症という情報がないと、脳腫瘍や細菌性脳膜炎、脳梗塞、ウェルニッケ脳症、ADEM 等と鑑別が難しい。診断に難渋した結果、適切な治療開始が遅れることとなる。逆に、HIV 感染症と診断がついていれば、診断手順に従って鑑別をすすめることができる。

第二に NeuroAIDS をいったん発症した際の予後が不良であることである。自施設での NeuroAIDS 36 例に対し、その転帰について検討したところ、後遺症なく回復した症例は 4 例 (11.1%) に過ぎず、後遺症を残したもののが 16 例

(44.4%)、死亡は 16 例 (44.4%) にのぼった。生命予後について既報告と同様に不良であることはもちろん、機能予後としても不良であるといえる。

トキソプラズマ脳炎

個々の中枢神経疾患について問題点を挙げると、トキソプラズマ脳炎は外国人症例が多く、社会的要因により治療継続が困難となることがあること、治療薬の副反応が挙げられる。トキソプラズマ脳炎の 8 例は、日本人 2 例に対し、南米出身者が 6 例と多数を占めた。その背景として、抗体保有率に注目し検討を行った。当院を継続受診した HIV 感染症例連続 518 例を対象として、トキソプラズマ抗体保有率について検討したところ、トキソプラズマ抗体を測定した 419 症例中、日本人の抗体陽性率は 9.8% であったのに対し、ブラジル人での抗体陽性率は 56.1% と高率であった。抗体保有率の地域差から患者層の地域的な偏りを生じていると推定された。金銭的問題や帰国のタイミング、家族との連絡手段、言語の障壁等、社会的要因から治療継続性を困難なものとしている。後者の治療薬の副反応については、骨髓抑制を 3 例に、輸血を必要とする貧血を 1 例、腎機能障害を 2 例に認めた。また、副反応のため治療を中断したものを 3 例認め、重度の骨髓抑制がその理由であった。サルファジアシンとピリメサミンの併用療法の有効性は確立しているが、副反応のためやむを得ずクリンダマイシンに切り替える際のタイミング、葉酸の補充方法等、検討の余地があると思われた。また、トキソプラズマ脳炎の症例で、転移性脳腫瘍や出血性梗塞と当初診断され、適切な治療のタイミングを逸した症例もあり、HIV 感染症と判明していない状況での診断の難しさが挙げられた。

進行性多巣性白質脳症 (PML)

PML は、HAART 導入後に改善を示し長期生存例が存在する一方で、急速に進行する症例があること、特異的治療がないことが問題である。PML は特異的治療法がないため、当院では PML を強く疑った症例に対して、他の日和見感染症を可及的速やかに除外し HAART を導入している。HAART 時代に経験した PML は 3 例全例で HAART 開始 1 ヶ月間に急激に神経症状が進行した。うち 2 例は死亡し、1 例は剖検を行ったところ、強い炎症細胞浸潤があり、免疫再構築による増悪が示唆された。急性増悪を乗り超えて現在も在宅療養を継続している 1 例については、発症 1 年後の髄液検査で JC ウィルスが検出されなかった。いかに免疫再構築による増悪をおさえるかが PML 診療における今後の課題と考える。

HIV 感染の中枢神経合併症においては、その予後が不良

であるだけに予防に勝るものはないが、不幸にして生じた場合も HIV 感染症自体の早期診断が必要不可欠である。トキソプラズマ脳炎についてはより副反応の軽い治療法を、PML については早期 HAART の導入と免疫再構築の治療についての知見の蓄積が望まれる。HAART により NeuroAIDS についても長期生存が可能となってきており、長期療養を支える仕組みも必要である。

神経免疫再構築症候群とエイズ脳症

(東京都立駒込病院脳神経内科 岸田修二)

HAART が HIV 感染治療に導入された後、抗レトロウイルス剤を服用している患者の神経疾患発症は原発・日和見疾患とも極めて少なくなり、発症者のほとんどが抗ウイルス剤未治療者か治療中断者である²⁾。HAART は HIV 感染患者の日和見感染症発症を抑制し、生命予後を改善する一方、これまでみられた亜急性進行性脳症に替わって慢性脳症の発症や抗レトロウイルス剤の副作用から生じる脳血管障害の増加、延命に伴い老化に関連した疾病などの出現が危惧されている。その上 HAART 開始に伴い HIV が抑制され、免疫が回復してくるとともにこれまで潜伏していた感染症が顕著化したり、すでに治療を受けた感染症が一時的に増悪する病態、すなわち免疫再構築症候群が新たな疾患概念として出現してきた。治療法の進歩とともに HIV/AIDS 患者の病像は臨床・病理学的に複雑に修飾されてきている。1997 年～2008 年 6 月までに経験した NeuroAIDS 症例で HAART により免疫再構築症候群を発症した症例の臨床的検討ならびに他施設で発症した免疫再構築症候群症例の病理学的検討、そして HAART 導入中に発症したエイズ脳症 3 例の病態を検討した（表 2）。

HAART 導入後の神経合併症

① HAART 導入後免疫再構築症候群発症例はエイズ脳症 0/15 例、クリプトコッカス症 3/7 例、サイトメガロウイルス脳炎 2/5 例、トキソプラズマ脳炎 1/9 例、進行性多巣性白質脳症（PML）6/6 例であった。② 神經免疫再構築症候群は、病原体では JC ウィルス、クリプトコッカス、サイトメガロウイルス感染によるものが多かった。③ クリプトコッカス髄膜炎では免疫再構築症候群を発症した症例の HAART 導入前のクリプトコッカス抗原価は 128～1024 倍であり、発症しなかった症例の抗原価 4～64 倍に比べ高い傾向を認め、免疫再構築症候群発症時 HAART 中断が必要であった。④ PML は HAART 導入により全例免疫再構築症候群を発症し、免疫再構築症候群重症例にはステロイドパルス療法の併用が有効であった。さらに免疫再構築症候群は延命と関係していた。⑤ 免疫再構築症候群を発症した症例の髄液では発症時髄液 IL-6 が高値を示し、診断の一助になるものと思われた。⑥ 免疫再構築症候群を発症して死亡した PML 2 例ならびに白質脳症 1 例の神經病理学的検討では血管周囲性に CD8 陽性 T 細胞の顕著な浸潤がみられた。

HAART 治療中エイズ脳症発症者 3 例を経験した。2 例は末梢での HIV 抑制が不十分でうち 1 例は髄液 HIV > 血漿 HIV 負荷量であり、1 例は CD4 が 300 台、末梢 HIV 負荷量は検出限界以下でありながら髄液 HIV は不十分に抑制された状態で発症した。臨床症状は軽症から中等症であるが、髄液中での HIV 抑制不十分例は抑制例に比べ認知障害が高度であった。また画像上白質脳症、髄液検査異常を示すものがあり、慢性脳症を示唆する例があった。中枢神經移行性の高い HAART 処方に変更し、臨床症状の改善をみた。

表 2 1997 年～2008 年 6 月までの主な自験 NeuroAIDS 症例（都立駒込病院）

疾 患	症例数	HAART 導入数	免疫再構築症候群発症数			死亡数	HAART 導入例の死亡数
			顕性化	逆説性	計		
クリプトコッカス髄膜炎	15	8	0	3	3 (40%)	4 不明 4	1 (13%)
サイトメガロ脳炎	11	5	1	1	2 (40%)	10	4 (80%)
トキソプラズマ脳炎	17	9	1	0	1 (11%)	6 不明 3	1 (11%)
進行性多巣性白質脳症	6	6	2	4	6 (100%)	1	1 (HAART 中止) (17%)
HIV 脳症	20	15	0	0	0	9 不明 1	4 (27%) 不明 1

HAART 導入後の問題点

HAART は HIV/AIDS 患者にとって延命効果とともに、様々な合併症をも来す諸刃の剣のような面を持っている。新たな疾患概念として発症した免疫再構築症候群もその一つである。免疫再構築症候群の定義もコンセンサスを得られたものは未だなく、従って免疫再構築症候群の正確な発症頻度やどのような症例に発症する危険性があるのか充分解明されていないし、発症したときの対策も個々の疾患により異なっている。今回の検討では神経免疫再構築症候群はクリプトコッカス性髄膜炎、進行性多巣性白質脳症、サイトメガロウイルス感染症に発症頻度が高く、クリプトコッカス髄膜炎では HAART 導入時点での高抗原価に発症危険性が高いことが示された。免疫再構築症候群の剖検例からは致死的免疫再構築症候群では CD8 陽性細胞傷害性 T 細胞が急速に中枢神経系に浸潤することが重要な役割を演じていると思われた。神経免疫再構築症候群重症例ではステロイド併用が有効かもしれない。一方エイズ脳症は HAART 導入後重篤な脳症が減少してきた。しかしながら米国での ACTG での ALLRT 調査にみると HAART 服用者でも軽症の認知障害患者が相当数いること、免疫の改善により認知機能の改善の見込みがあること、逆に軽症認知障害が残存したり、抗ウイルス療法が成功しても新たに認知障害が発症する場合のあること、特に AIDS の既往のある場合や、CD4 陽性 T 細胞が回復してこない例に多いことなどが指摘されている。今回の検討例はいずれも免疫不全の進行した時期からの HAART 開始であり、さらに末梢や髄液で十分 HIV が抑制されていない状態であった。薬剤選択如何により中枢神経に残存した HIV により神経病理学的異常が進行している可能性があり、特に AIDS 発症後の HAART 処方は中枢神経移行性を考慮する必要性があると考えられた。

わが国では HIV 感染患者が増加、特に HIV 感染を知らないで、あるいは治療を自己中断して AIDS を発症していく患者の割合が増加し続けている。これらの患者は原発性あるいは日和見性神経疾患を初発症状として受診するかも知れない。神経疾患の多彩さは HAART 導入前と同様である。神経障害の発症は致死的あるいは高度に機能障害を後遺症とする率が高く、また HAART 導入により臨床的・病理学的に従来より診断・治療が複雑性を増してきている。神経合併症は今後も重要な HIV 合併症であり、Neuro-AIDS の発症機構の解明と治療戦略は、延命化した HIV 感染症にとって最も重要な課題である。

エイズ脳症の小動物モデル (埼玉県総合リハビリテーションセンター神経内科 三浦義治、京都大学ウイルス研究所ウイルス病態研究領域 小柳義夫、東京医科歯科大学大学院神経病態学分野 水澤英洋)

エイズ脳症とはヒト免疫不全ウイルス (HIV) により引き起こされる認知運動障害であり、主にエイズ発症時期に著明となり、亜急性に進行する。しかし、HAART によりエイズ脳症患者数は著明に減少した。そして近年ではエイズ脳症の軽症型である軽微認知運動障害 (milder cognitive and motor disorder, MCMD) が深刻な問題となってきた⁴⁾。このエイズ脳症の病態の中心は、感染して脳内に侵入した血管周囲に存在する HIV-1 感染マクロファージとミクログリアである。そしてエイズ脳症患者の脳より検出されるウイルスは CCR5 をコレセプターとして使用する R5 ウィルス、マクロファージ指向性 HIV である。ここにおいて神経細胞とオリゴデンдрогリアが主に障害を受ける。このように細胞への直接の感染増殖によらない間接的細胞障害が病態の中心であると考えられている。

マウスを用いたエイズ脳症研究の歴史

HIV-1 はヒトとチンパンジーにしか感染しないことがその特徴である。このウイルスによる脳障害すなわちエイズ脳症はげっ歯類などの小動物モデルで病態の再現が可能かどうかが議論となってきた。これまでマウスを用いたエイズ脳症研究は、① トランスジェニックマウスを用いた研究、② 重症複合型免疫不全マウスである重症複合免疫不全 (severe combined immunodeficiency) SCID マウスを用いた研究があり、他に HIV に近縁のマウス白血病ウイルス (murine leukemia virus, MuLV) を用いた研究に分けられる。トランスジェニックマウスを用いた研究は、ウイルスゲノムあるいはウイルス産生タンパクを遺伝子導入した実験系と、宿主因子であるサイトカイン等を組み込んだマウスに大別される。前者では Tomas らが 1994 年に HIV-1 ゲノム全長を neurofilament protein-L をプロモーターにして神経細胞に発現するマウスと、Toggas らが 1994 年に発表した GFAP をプロモーターとしてアストロサイトに HIV-1X4 ウィルスの産生蛋白である gp120 を発現させたマウスが有名である。他に Wang らが R5 ウィルスである JR-CFS 全長を T 細胞と単球に発現させたマウス、gp160, Tat, Vpr のトランスジェニックが報告されている。サイトカインでは IL-6, TNF, MCP-1 のトランスジェニックマウスが報告されている。

SCID マウスを用いた実験系は脳内移植の実験系と、腹腔内移植の 2 系統の実験系に大別される。1993 年 Tyor らは SCID マウスにヒト末梢血単核球を脳内移植し、その後

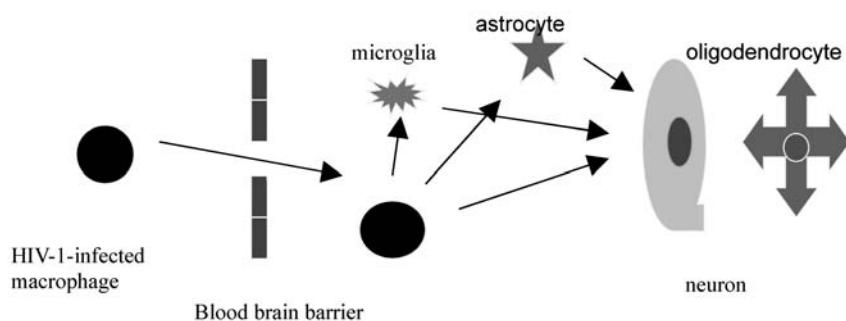


図 3 エイズ脳症の病態

エイズ脳症の病態の中心は HIV-1 に感染したマクロファージが脳血液関門を越えて脳実質内に侵入することで始まると考えられている。このマクロファージから放出される因子により、マイクログリアやアストロサイトの活性化、神経細胞やオリゴデンドロサイトの障害を引き起こす。また、活性化されたマイクログリアやアストロサイトからの因子も細胞障害に関わっており、複雑な病態である。

Persidsky らはヒト単球由来マクロファージを脳内移植した。その一方で、小柳らは 1 型糖尿病モデルマウスである nonobese diabetic (NOD) マウスと SCID マウスを戻し勾配にて NOD-SCID マウスを作製し、さらにヒト末梢血単核球細胞を腹腔内に移植して、hu-PBL-NOD SCID マウスを報告し、このマウスの脳血管ではヒト T 細胞が浸潤していることを報告した。さらに、その後グラム陰性桿菌の細胞表面生理活性物質のひとつであり、かつ単球系細胞に優位に活性化を引き起こす Lipopolysaccharide の腹腔内接種を追加することにより脳解析系のモデルを開発した⁵⁾。

また、一方で 2002 Poluektova らはヒト単球由来マクロファージの脳内接種と、hu-PBL-NOD SCID マウスを組み合わせたマウスを報告した。

これらマウスを用いた研究の特徴は、大型の実験動物に比べて、解析系として非常に有用であることがあげられる。また、特に HIV の場合は、マウス細胞や臓器には直接感染が起こらないため、感染実験系としての工夫が重要となってくる。そして特にヒト細胞を移植した実験系である SCID マウス研究などは、マウスとヒト細胞が混在することから、異種動物細胞間作用があることにも注意しなければならない。そして病態のすべてというよりもその一部を反映していると考えられる。

LPS-i.p.injected hu-PBMC-NOD SCID マウス

我々が報告したマウスモデルである LPS-i.p.injected hu-PBMC-NOD SCID マウスでは、LPS 投与によりヒト単球由来マクロファージのマウス脳内移行が促進され、細胞レベルでの障害、および組織学的变化が検出され、ヒトエイズ脳症の変化に類似していた。そして神経細胞死と TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) 発現マクロファ-

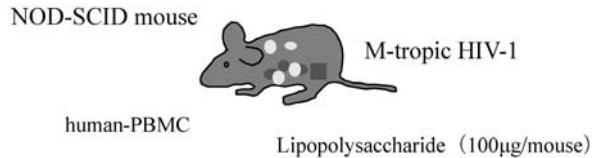


図 4 LPS-i.p.injected hu-PBMC-NOD SCID マウスの作製法

1型糖尿病モデルマウスとして知られる NOD (Non-obese Diabetic) マウスと重症複合型免疫不全 (SCID) マウスを兄妹勾配にて NOD SCID マウスを作製する。このマウスの腹腔内にヒト末梢血単核球細胞 (hu-PBMC)、感染性マクロファージ指向性 HIV-1、Lipopolysaccharide (LPS) を順に投与する。

ジが検出され、中和実験より両者は密接な関係があると考えられた⁵⁾。しかし一方で広範囲な組織障害は再現できず、T-CAT など行動解析では有意な異常が検出できなかった。

マウス実験系結果の検証

次にマウスモデルを用いた解析結果をヒトエイズ脳症解剖脳、そしてマウス脳細胞培養系を用いて検証した。ヒトエイズ脳症剖検脳でも神経細胞のアポトーシス、活性型カスパー陽性の神経細胞が検出された。また血管周囲のウイルス感染マクロファージでは TRAIL が発現していた。また、マウス脳神経細胞培養系に、ウイルス感染マクロファージや TRAIL 発現マウス細胞株を共培養すると、優位に神経細胞死が増加することが証明された⁶⁾。

今後の展望

エイズ脳症マウスモデル LPS-i.p.injected hu-PBMC-NOD

SCID マウスは、病態の一部の反映であると考えられる。従って総合的病態の解明という観点では、マウスマodelの開発は未だ発展途上である。hu-MDM-i.c.transplanted hu-PBL-NOD SCID や hu-CD34+HPC-i.p.transplanted NOD SCID の開発、そして Tg マウスに対する LPS 投与なども報告されており、これらの発展が期待される。そしてこれらのマウスマodelでの病態を、ヒトエイズ脳症剖検例や、in vitro 培養系実験を合わせて総合的に検討してゆくことが重要である。

NeuroAIDS とサイトカイン：ヒト剖検例とサルエイズモデルをもちいた免疫組織学的検討

(鹿児島大学難治ウイルス研 分子病理 那 恵琴、早川仁、出雲周二、国立感染研 森 一泰、ウィーン大学神経学研究所 Herbert Budka)

エイズ脳症の病理像として多核巨細胞を伴う HIV 脳炎と大脳皮質の神經変性病態が知られているが、我々はサルエイズモデル^{7,8)}、ヒト剖検脳⁹⁾を用いた解析をすすめ、この二つの病変はそれぞれ独立して生じうることを明らかにした。どちらの病変についても、ミクログリアやアストロサイトにより產生される炎症惹起性サイトカイン IL-1 β , TNF- α が神經傷害のエフェクターとなることが想定されているが、多くは in vitro の研究結果に基づいており、脳

症病巣部で直接証明した報告は少ない。我々は大脳皮質変性病態ではアストロサイトによるグルタミン酸除去作用を担う EAAT-2 の発現低下とミクログリアの瀰漫性活性化が生じており、それらは相関していることを定量的解析により明らかにした⁹⁾。活性化ミクログリアでは炎症惹起性サイトカイン IL-1 β , TNF- α の発現はみられず、一方で、一部のミクログリアは EAAT-2 を発現しており、アストロサイトの障害により生じた EAAT-2 発現低下を補うためにミクログリアが活性化し、アストロサイトの神經保護作用を代償していることが推察された。これらの結果を踏まえ、もう一つの病態である HIV 脳炎病変について、炎症惹起性サイトカイン IL-1 β , TNF- α の炎症病変形成への関与を免疫組織染色にて解析した。

ヒト剖検脳とサルエイズ脳の検討

マクロファージ指向性ウイルス SIV239env/MERT を感染させたサル 2 頭と、非感染サル 3 頭をコントロールとした。ヒト剖検例はウィーン大学神経病学研究所剖検例について、1983 年以後の剖検台帳を閲覧し、HIV に感染しエイズで死亡した 429 剖検例を抽出、日和見感染症・腫瘍・脳血管性病変が中枢神經の主病変として認められる症例を除外した HIV 脳炎病変群 11 例を対象に、HIV 脳炎病変部位について、CD3, CD20, CD68, IL-1 β , TNF- α , SIVenvgp

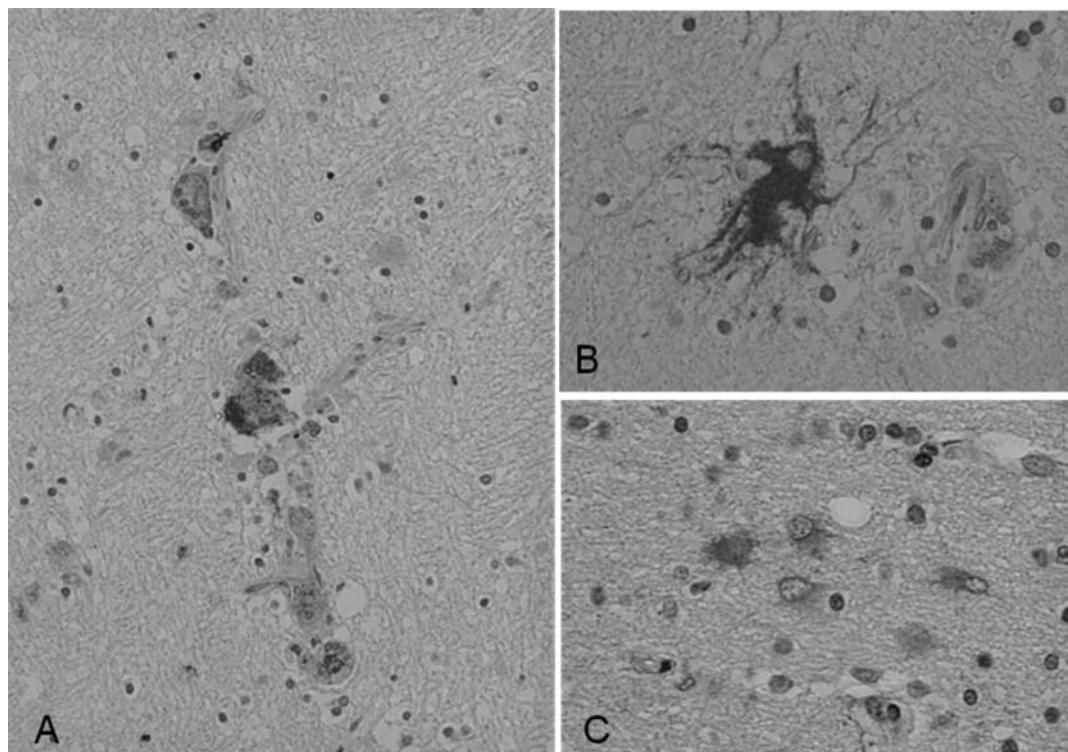


図 5 IL-1 β の免疫組織染色

160/gp32に対する抗体を用いて免疫染色し、さらにミクログリア結節病変についてIL-1 β とSIVenvgp160/gp32の二重免疫染色をおこない、光顕にて観察した。

HIV脳炎群でIL-1 β は脳炎のミクログリア結節を形成するHIV感染多核巨細胞で発現しており、周囲の異型アストロサイトの一部でも発現していた(図5、6)。また、HIV-P24陰性の非感染細胞でも弱い発現がみられた。連続

切片での検討では、IL-1 β 陽性細胞の分布はほぼHIV-p24陽性細胞の分布と類似しており、二重染色による検討でもIL-1 β は主としてHIV-1感染細胞に発現しているものと思われた(図6)。TNF- α 強陽性細胞の分布は血管周囲に集簇するIba1陽性小円形細胞と類似しており、浸潤マクロファージが主なTNF- α 発現細胞であると思われた(図7)。一部の症例ではミクログリア結節周囲のアストロサイトでも発

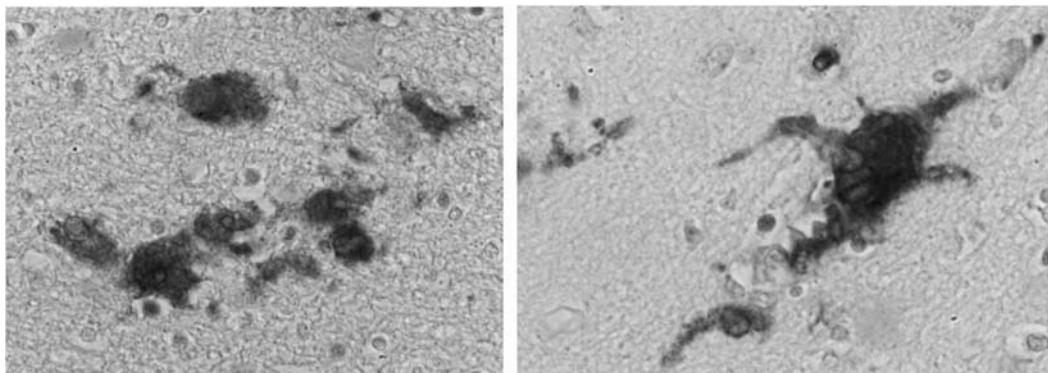


図6 IL-1 β とHIVp24の二重免疫組織染色

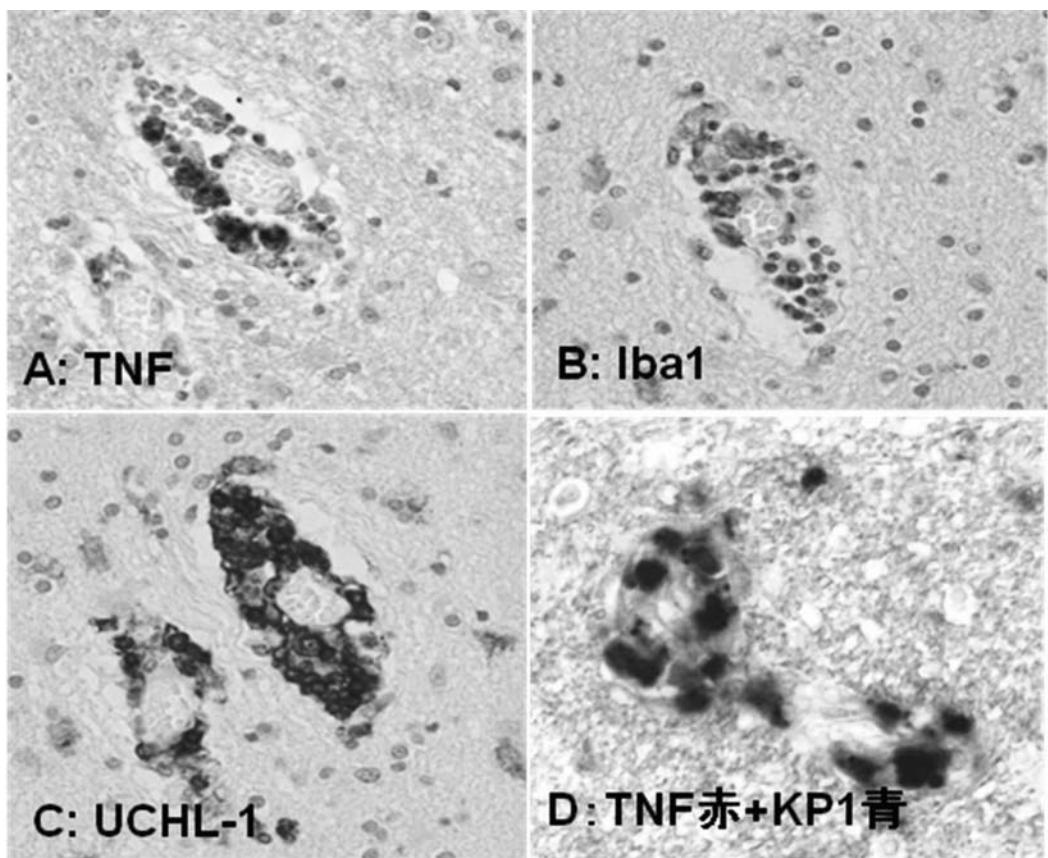


図7 TNF- α の免疫組織化学染色

現していた。一方、炎症病変周囲の活性化ミクログリアは IL-1 β , TNF- α の発現は認められなかった。サルモデルでも TNF- α , IL-1 β は炎症性病変で観察されたが、ウイルス感染細胞とは一致しなかった^{10,11)}。

HIV 脳症の発症病態

脳症の発症病態の一つとして TNF- α , IL-1 β などの炎症惹起性サイトカインの関与が想定されており、その発現は HIV 脳炎病変を形成する細胞であることが報告されている。今回のウィーン大学剖検例の検索でも HIV 脳炎病巣に TNF- α , IL-1 β 発現細胞の存在が確認された。特に IL-1 β は病変を形成する HIV-1 感染細胞の、HIV 脳炎に特徴的な多核巨細胞に一致して強く発現しており、HIV 脳炎の炎症の持続、組織の変性に関与していることが想定される。一方 TNF- α は主に浸潤マクロファージに発現しており、発現がみられる病巣周囲の変性は軽度にとどまっており、TNF- α は必ずしも HIV 脳症を特徴付ける因子ではないようと思われる。大脳皮質に瀰漫性に増勢する Iba1 陽性ミクログリアや HIV 脳炎周囲の非感染ミクログリアに IL-1 β , TNF- α の発現は認められなかった。大脳皮質の変性病変における活性化ミクログリアの役割について我々は神経保護作用を担っている可能性を想定しているが、HIV 脳炎における活性化ミクログリアの役割についても検討が必要である。

最後に

世界的には HIV 感染者数・AIDS 患者数ともに頭打ち傾向にある中で、わが国では HIV 感染者・AIDS 患者数は年々増加している。HAART によって欧米でも NeuroAIDS は減少したが、米国での調査¹²⁾ やヨーロッパの CASCADE でも¹³⁾、抗ウイルス療法が奏功しても神経障害が持続すること、HAART 治療後も軽症認知障害が発症すること、長期生存により認知機能障害のリスクが高まることが指摘されている。われわれが NeuroAIDS 研究班で行った調査でも、神経症状がない HIV 感染者でも比較的初期より脳血流が低下しており、今後、神経内科医、感染症科医、臨床心理士、神経病理医などとの学際的な協力のもと HIV 感染者を感染早期より長期間フォローアップする体制が必要である。

なお、本研究は、厚生労働科学研究費補助金（エイズ研究事業）「NeuroAIDS の発症病態と治療法の開発を目指した長期フォローアップ体制の構築に関する研究（H18—エイズ—一般—009）」の助成を受けて行われた。

文 献

- 1) 中川正法 : HIV 感染と神経合併症. 日本国科学会雑誌 97 : 1690-1696, 2008.
- 2) Yoritaka A, Ohta K, Kishida S : Prevalence of neurological complications in Japanese patients with AIDS after the introduction of HAART. 臨床神経 47 : 491-496, 2007.
- 3) 橋本里奈, 向井栄一郎, 横幕能行, 間宮均人, 濱口元洋 : HIV 脳症 5 例の臨床的特徴と経過. 臨床神経 48 : 173-178, 2008.
- 4) Miura Y, Koyanagi Y : HIV encephalopathy. JMAJ 49 : 212-218, 2006.
- 5) Miura Y, Misawa N, Kawano Y, Okada H, Inagaki Y, Yamamoto N, Ito M, Yagita H, Okumura K, Mizusawa H, Koyanagi Y : Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand induces neuronal death in a murine model of HIV central nervous system infection. Proc Natl Acad Sci USA 100 (5) : 2777-2782, 2003.
- 6) Miura Y, Koyanagi Y, Mizusawa H : TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) induces neuronal apoptosis in HIV-encephalopathy. J Med Dent Sci 50 (1) : 17-25, 2003.
- 7) Xing HQ, Moritoyo T, Mori K, Tadakuma K, Sugimoto C, Ono F, Hayakawa H, Izumo S : Simian immunodeficiency virus encephalitis in the white matter and degeneration of the cerebral cortex occur independently in simian immunodeficiency virus-infected monkey. J Neuropathol Exp Neurol 9 : 508-518, 2003.
- 8) Xing HQ, Mori K, Sugimoto C, Ono F, Izumo K, Kuboda R, Izumo S : Impaired astrocytes and diffuse activation of microglia in the cerebral cortex in simian immunodeficiency virus-infected macaques without simian immunodeficiency virus encephalitis. J Neuropathol Exp Neurol 67 : 600-611, 2008.
- 9) Xing HQ, Hayakawa H, Gelpi E, Kubota R, Budka H, Izumo S : Reduced expression of excitatory amino acid transporter 2 and diffuse microglial activation in the cerebral cortex in AIDS cases with or without HIV encephalitis. J Neuropathol Exp Neurol 68 : 199-209, 2009.
- 10) Xing HQ, Moritoyo T, Mori K, Sugimoto C, Ono F, Izumo S : Expression of proinflammatory cytokines and its relationship with virus infection in the brain of macaques inoculated with macrophage-tropic simian immunodeficiency virus. Neuropathology 29 : 13-19, 2009.
- 11) Xing HQ, Hayakawa H, Izumo K, Kubota R, Gelpi E,

- Budka H, Izumo S : In vivo expression of proinflammatory cytokines in HIV encephalitis : an analysis of 11 autopsy cases. *Neuropathology*. 2009 Jan 7. [Epub ahead of print]
- 12) Robertson KR, Smurzynski M, Parsons TD, Wu K, Bosch RJ, Wu J, McArthur JC, Collier AC, Evans SR, Ellis RJ : The prevalence and incidence of neurocognitive impairment in the HAART era. *AIDS* 21 (14) : 1915–1921, 2007.
- 13) Bhaskaran K, Mussini C, Antinori A, Walker AS, Dorrucci M, Sabin C, Phillips A, Porter K : CASCADE Collaboration. Changes in the incidence and predictors of human immunodeficiency virus-associated dementia in the era of highly active antiretroviral therapy. *Ann Neurol* 63 (2) : 213–221, 2008.