

原 著

HIV-1 感染急性期におけるサイトカインのプロファイル解析

重見 麗¹⁾, 蜂谷 敦子^{1,2)}, 松田 昌和¹⁾, 岡崎 玲子¹⁾, 小川慎太郎³⁾, 伊藤 恭子³⁾,
健山 正男⁴⁾, 今村 顕史⁵⁾, 柳澤 邦雄⁶⁾, 矢野 邦夫⁷⁾, 藤井 輝久⁸⁾, 上田 敦久⁹⁾,
今村 淳治¹⁾, 渡邊 綱正^{1,10)}, 田中 靖人³⁾, 横幕 能行¹⁾, 杉浦 互¹⁾, 岩谷 靖雅^{1,11)}

¹⁾ 独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター感染・免疫研究部, ²⁾ 同 臨床研究事業部,

³⁾ 名古屋市立大学大学院医学研究科病態医学ウイルス学分野,

⁴⁾ 琉球大学大学院医学研究科感染症・呼吸器・消化器内科学, ⁵⁾ 東京都立駒込病院感染症内科,

⁶⁾ 群馬大学医学部附属病院血液内科, ⁷⁾ 浜松医療センター感染症内科,

⁸⁾ 広島大学病院輸血部, ⁹⁾ 横浜市立大学付属病院リウマチ・血液・感染症内科,

¹⁰⁾ 聖マリアンナ医科大学消化器・肝臓内科, ¹¹⁾ 名古屋大学大学院医学系研究科免疫不全統御学講座

目的: HIV-1 感染早期に治療導入が進む昨今, 感染急性期の病態を把握するためのバイオマーカーが求められている。本研究はサイトカインに着目し, HIV-1 感染急性期群と慢性期群における血漿中サイトカインのプロファイルを比較することにより, 急性期に特徴的なサイトカインを探索することを目的とした。

方法と結果: 新規未治療 HIV-1 症例検体を対象とし, ウェスタンブロット法の判定が陰性もしくは判定保留の症例を急性期群 (42 検体) に, 陽性を慢性期群 (98 検体) に分け層別抽出を行った。Bio-Plex 200 システムを用い, 血漿中のサイトカイン量 (48 種) を測定した。急性期群では, 慢性期群に比べ IFN- γ , IL-1ra, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-9, IL-10, IP-10, および G-CSF の 10 種のサイトカイン量が有意に高いことが分かった ($p < 0.0001$)。IP-10 については, ウイルス量と正の相関が, CD4 陽性 T 細胞数と負の相関が認められた。

考察: CD4 陽性 T 細胞数とウイルス量に相関が認められた IP-10 は, 肝炎ウイルス感染においても急性期で上昇することが報告されている。そのため, IP-10 単独では HIV-1 感染急性期の特異的なマーカーとして活用することは困難であるが, 他の複数のサイトカインを組み合わせることでバイオマーカーとして活用できると考えられる。

キーワード: HIV-1, サイトカイン, 急性感染, バイオマーカー

日本エイズ学会誌 18: 154-162, 2016

序 文

HIV-1 感染では, ウイルスは粘膜から消化管リンパ網内系に達する。感染後およそ 7~14 日間は, 血中からウイルスが検出されない暗黒期 (eclipse phase) となる。その後, ウイルスに特異的な指標として HIV-1 RNA (Fiebig stage I), p24 抗原 (Fiebig stage II), HIV-1 特異的抗体 (Fiebig stage III-IV) が順次検出される。しかし, 生体応答の側面からウイルス感染をみた場合, 暗黒期である感染 3~5 日に血清アミロイド A などのタンパク質が放出される¹⁾。これらのタンパク質は HIV-1 感染急性期に検出されるものの, その病原特異性は低い。これらの非特異的な免疫応答は, その後のインターロイキン (IL)-1 といった炎症性サイトカインの産生につながり, さまざまなサイトカインの過剰産生 (サイトカインストーム) を誘発する^{1,2)}。HIV-1 感染急

性期における血中サイトカインの上昇は二峰性で, 一峰目には IL-15 とインターフェロン (IFN)- α , IP-10 が一過的に上昇し, ついで IL-18 と TNF, IFN- γ , IL-22 が持続産生されるという特徴をもつ³⁾。感染急性期に産生されるこれらのサイトカインは多面的効果をもつことが多く, 免疫応答とウイルス増殖において対照的な効果をもたらす。たとえば, 炎症性サイトカインである TNF- α は抗ウイルス効果を示す一方で, NF- κ B の産生を誘引するために HIV-1 プロウイルスの転写活性を増強する^{2,4,5)}。また, IL-15 は HIV-1 に対するナチュラルキラー細胞や CD8 陽性 T 細胞の免疫応答を活性化する一方で, ウイルス増殖を促進する^{6~8)}。そのため多面的な効果を示すサイトカインとその機能バランスは病態とも深く関連すると考えられている。

これまでウイルス学的セットポイントとサイトカインに関連した研究が多くなされている。IL-7 と IL-15 濃度が高い場合にはウイルス学的セットポイントが高く, それに対して IL-12 や INF- γ が高い場合ではセットポイントが低い傾向にあるということが報告されている^{2,9)}。また, HIV-1 に対する HLA クラス I 拘束性 CD8 陽性 T 細胞の応答性と

著者連絡先: 蜂谷敦子 (〒460-0001 名古屋市中区三の丸 4-1-1 独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター感染・免疫研究部)

2015 年 8 月 28 日受付; 2015 年 12 月 7 日受理

病態との間に強い相関性があることも知られている^{10,11)}。しかし、血中サイトカイン量と病態との関連性についてあまり知られておらず、特に急性期におけるサイトカインプロファイルの全容はいまだ明らかになっていない。

そこで、本研究では、新規 HIV-1 感染者を対象に血漿中のサイトカイン産生量を網羅的に測定し、急性期群と慢性期群との間でサイトカインプロファイルの比較をした。さらに、病態把握に適用可能なサイトカインを探索した。これらの研究成果は急性期におけるサイトカインプロファイルの全容解明の一助となり、HIV-1 感染者の病態を把握するためのバイオマーカーの開発にもつながると期待される。

対象と方法

1. 対象サンプル

2009 年から 2014 年の間に国内で新規 HIV 感染者より収集された血漿を対象とした。検体採取時に同意を得た。本研究は名古屋医療センターの倫理委員会から承認を得ている（承認番号 2010-310）。その症例のなかで HIV-1 感染初期と診断された症例を対象に Western blot test ([WB] New LAV BLOT 1, Bio-Rad) を行い、判定 (WHO の基準) が陰性もしくは判定保留であった 42 例を急性期群とし、陽性であった 98 例を慢性期群とした。各グループの患者背景 (性別、年齢、CD4 陽性 T 細胞数、HIV-1 RNA 量、HBs-Ag, hepatitis C virus (HCV)-Ab, HIV-1 サブタイプ、細胞指向性および感染経路) は Table 1 に示す。

2. サイトカイン解析

サイトカインの多項目同時測定を行うため、xMAP (Multiple-analyte Profiling) テクノロジーによる Bio-Plex 200 システム (Bio-Rad) を用い、Bio-Plex Pro ヒトサイトカイン Group I アッセイ (GI 27-Plex) と Group II アッセイ (GII

21-Plex) を行った。血漿中の 48 種類のサイトカイン産生量 (Group I : Eotaxin, FGF-2, G-CSF, GM-CSF, IFN- γ , IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17, IP-10, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , PDGF-BB, RANTES, TNF- α および VEGF, Group II : CTACK, GRO- α , HGF, IFN- α 2, IL-1 α , IL-2R α , IL-3, IL-12p40, IL-16, IL-18, LIF, MCP-3, M-CSF, MIF, MIG, β -NGF, SCF, SCGF- β , SDF-1 α , TNF- β および TRAIL) の測定を行った。2 群間のサイトカイン産生量の比較にはマンホイットニーの U 検定を行い、有意水準は 0.01% とした。また、病態を反映するサイトカインを探索するため、HIV-1 RNA 量あるいは CD4 陽性 T 細胞数と血漿中サイトカイン産生量との相関性について、スピアマンの順位相関係数を求めた。

結 果

1. 急性期と慢性期群でのサイトカイン産生の比較

急性期群と慢性期群ともに全員男性であり、年齢中央値は 34~36 歳で両群間に差異は認められなかった ($p=0.184$) (Table 1)。感染経路は両群ともに 90% 以上が性的接触によるものであった。血漿採取時における CD4 陽性 T 細胞数は、急性期群と慢性期群で中央値がそれぞれ 245 と 231.5 cells/ μ L であり、両群間に差異は認められなかった ($p=0.414$)。血漿中の HIV-1 RNA 量は、急性期群で有意に高かった ($p<0.0001$)。肝炎ウイルスの罹患率は、hepatitis B virus (HBV) について 2~5%、HCV では 0~3% であった。HIV-1 のサブタイプは両群ともに CRF01_AE が 1 例ずつ検出され、ほかはすべてサブタイプ B であった。感染ウイルスの細胞指向性は CCR5 指向性が急性期群で 86% ($n=36$)、慢性期群では 82% ($n=80$) を占めていた。

血漿中のサイトカイン産生量について、急性期群と慢性

Table 1 Demographics of the subjects enrolled in this study

	Acute stage group ($n=42$)	Chronic stage group ($n=98$)	p -values ^b
Female/Male (n)	0/42	0/98	—
Median age (years)	34 (20-62)	36.5 (17-74)	0.184
Median CD4 ⁺ T-cell counts (cells/ μ L)	245 (36-840)	231.5 (5-672)	0.414
Median plasma HIV-1 RNA levels (copies/mL)	1,873,480 (2,660-47,600,000)	86,000 (40-8,990,000)	<0.0001
HBs-Ag (-/+ /NT ^a)	37/1/4	89/5/4	—
HCV-Ab (-/+ /NT ^a)	38/0/4	91/3/4	—
Subtype (B/CRF01_AE/NT ^a)	40/1/1	96/1/1	—
Tropism (R5/X4/NT ^a)	36/6/0	80/11/7	—
Transmission (sexual/sexual and drug/unclear)	38/2/2	89/7/2	—

^a NT, Not tested. ^b p -values for comparison between acute stage group and chronic stage group were determined by Mann-Whitney U -test.

期群を比較した (Table 2)。測定した 48 種のサイトカインのうち, 12 種 (Group I : IL-2, IL-15 および IL-17, Group II : GRO- α , IL-1 α , IL-3, IL-12p40, LIF, MCP-3, M-CSF, β -NGF

および TNF- β) は測定値が測定許容範囲を下回ったため比較解析から除外した。

解析可能な 36 種類のサイトカインのうち, 炎症性サイ

Table 2 Comparison of the level cytokine in plasma between acute and chronic HIV infection

Cytokine	Acute stage group (<i>n</i> = 42)		Chronic stage group (<i>n</i> = 98)		<i>p</i> -values	
	Median	Range	Median	Range		
Inflammatory	IL-1 β	11.1	(2.6–27.7)	5.7	(0.6–22.9)	<0.05
	IL-6	35.9	(4.3–119.3)	18.5	(6.3–71.8)	< 0.0001
	IL-12p70	86.3	(13.9–192.7)	43.3	(1.6–1,103.7)	<0.05
	TNF- α	195.5	(33–517.8)	107.9	(9.2–344.3)	<0.05
	TRAIL	215.4	(13.8–711.7)	131.4	(35–1,208.5)	<0.05
Chemokines	IL-8	60.7	(18.8–140)	31.4	(6.7–96.7)	< 0.0001
	IP-10	2,893.1	(306.4–23,128.1)	1,285.0	(249.9–11,234.1)	< 0.0001
	CTACK	294.0	(92.2–850.7)	319.0	(75.8–964.3)	0.243
	Eotaxin	109.6	(45.7–252.2)	70.5	(23.7–271.5)	<0.05
	MCP-1	66.7	(32.4–569.5)	51.5	(22.3–143.2)	<0.05
	MIG	898.7	(68.5–11,414.9)	569.7	(109.4–3,551.4)	<0.05
	MIP-1 α	18.6	(5.3–44)	11.6	(3.6–33.1)	<0.05
	MIP-1 β	75.3	(36.4–180.8)	62.7	(33.2–163.3)	<0.05
	RANTES	6,106.1	(2,330.8–13,130.1)	5,920.3	(922.7–11,634.1)	1.039
SDF-1 α	794.9	(470.7–1,283.53)	742.4	(389.2–1,066.1)	0.248	
Anti-inflammatory	IL-1ra	723.4	(145.7–1,575.3)	343.4	(15.8–1,427.3)	< 0.0001
	IL-10	56.5	(8.4–152.9)	25.4	(1.2–423.9)	< 0.0001
Growth factor	FGF-2	149.0	(25.8–264.2)	86.5	(7.7–232.9)	<0.05
	HGF	224.8	(77.7–565)	174.9	(67.3–500.2)	<0.05
	PDGF-BB	770.5	(40–3,807.7)	442.3	(10.0–2,341.8)	<0.05
	VEGF	72.5	(10.3–229)	37.0	(7.4–124.8)	<0.05
Hematopoietic	IL-7	30.2	(7.3–68.9)	15.9	(2.2–464.3)	<0.05
	G-CSF	358.4	(114.3–794.3)	211.4	(38–689.6)	< 0.0001
	GM-CSF	116.9	(26.9–252.2)	68.7	(10.5–385.4)	<0.05
	SCF	79.6	(10.8–292.3)	65.6	(18.3–141.8)	<0.05
Adaptive	IL-4	7.6	(1.6–16.1)	4.2	(0.7–14.5)	< 0.0001
	IL-5	32.2	(5.2–87)	16.0	(2–54.9)	< 0.0001
	IL-13	33.8	(5.9–183.4)	21.2	(2.4–79.3)	<0.05
	IFN-γ	261.9	(45–646.4)	127.8	(24.4–429.1)	< 0.0001
Others	IL-2R α	214.6	(43.2–639)	203.2	(52.9–467.1)	0.164
	IL-9	37.3	(2.5–103.2)	17.4	(1.4–861)	< 0.0001
	IL-16	405.9	(66.4–1,894.8)	662.5	(86.6–3,138.7)	<0.05
	IL-18	112.7	(13–827.1)	76.0	(24.2–754)	<0.05
	IFN- α 2	71.2	(22.3–151)	60.7	(28.9–126.9)	<0.05
	MIF	201.6	(67.2–698.9)	181.0	(67.2–821.3)	<0.05
	SCGF- β	14,984.2	(3,205.1–99,205.1)	14,738.7	(1,689.3–53,730.8)	1.121

^a These cytokines were categorized by major function on each cytokine.

^b *p*-values between acute and chronic HIV-1 infections were determined by Mann-Whitney *U*-test.

トカインに属する IL-1 β , IL-6, IL-12p70, TNF- α と TRAIL, ケモカインに属する IL-8, IP-10, Eotaxin, MCP-1, MIG, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES と SDF-1 α , 抗炎症性サイトカインに属する IL-1ra, IL-10, 成長因子に属する FGF-2, HGF, PDGF-BB と VEGF, 造血因子に属する IL-7, G-CSF, GM-CSF と SCF, 調節因子に属する IL-4, IL-5, IL-13 と IFN- γ , その他に分類される IL-2R α , IL-9, IL-18, IFN- α 2, MIF と SCGF- β (Table 2) の 34 種類において, 慢性期群より急性期群が高値を示した。このうち IFN- γ , IL-1ra, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-9, IL-10, IP-10 および G-CSF は統計学的に有意な差が認められた ($p < 0.0001$, Figure 1)。また CTACK と IL-16 において慢性期群において高値を示した。

2. 急性期群におけるウイルス量, CD4 陽性 T 細胞数とサイトカイン産生量の相関

病態を反映するサイトカインを探索するため, 急性期群において検体採取時の HIV-1 RNA 量もしくは CD4 陽性 T 細胞数と各サイトカインの産生量に相関が認められるかを調べた。

HIV-1 RNA 量については, 2 種のサイトカイン (IP-10 と MCP-1) においてスピアマンの順位相関係数において $r_s > 0.5$ の正の相関が認められた (Figure 2)。また, CD4 陽性 T 細胞数については, 5 種のサイトカイン (HGF, IP-10, MIG, SCF および TRAIL) の産生量に $r_s < -0.5$ の負の相関が認められた (Figure 2)。

考 察

HIV-1 感染における急性期特異的なマーカーを見出すため, HIV-1 感染未治療患者を急性期群と慢性期群の 2 群に分け, 48 種類のサイトカインの産生量を測定した。このうち 36 種のサイトカインプロファイルと比較した。その結果, 急性期群で 34 種類のサイトカイン (HGF, IFN- α 2, IL-1ra, IL-1 β , IL-2R α , IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-18, MIF, MIG, MIP-1 α , MIP-1 β , MCP-1, TNF- α , TRAIL, IP-10, Eotaxin, FGF-2, SCF, SCGF- β , SDF-1 α , PDGF-BB, RANTES, VEGF, G-CSF, GM-CSF および IFN- γ) が慢性期群より高い傾向であった。なかでも IFN- γ , IL-1ra, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-9, IL-10, IP-10 および G-CSF は統計学的に有意に ($p < 0.0001$) 高いことが分かった (Table 2)。さらに, IP-10 あるいは MCP-1 の産生量とウイルス量との間に有意な正の相関が, HGF, IP-10, MIG, SCF あるいは TRAIL の産生量と CD4 陽性 T 細胞との間に負の相関が認められた (Figure 2)。

感染急性期において, まず炎症性サイトカインの上昇が認められ, ついで免疫系を調節するサイトカインの過剰産生がおきる^{1,3)}。HIV-1 感染前後における同一個体内の血漿中サイトカイン量を比較した研究では, 感染急性期に IL-1 α ,

IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IP-10, TNF- α および Fractalkine の産生量が有意に高いと報告されている⁹⁾。一方, 本研究では, IL-1 α と IL-2 は測定許容範囲を下回ったが, IL-1 β , IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IP-10 および TNF- α に加えて, 新たに IL-4, IL-5, IL-9 および IFN- γ も有意に上昇していることが見出された (Fractalkine は未測定)。また, Stacey A.R. らによると, これら 4 つのサイトカイン (IL-4, IL-5, IL-9 および IFN- γ) は HIV-1 感染急性期でいずれも上昇傾向にあるが, 全症例でなく 31~57% の症例にとどまっていると報告されている³⁾。Stacey A.R. らの報告では市販のセロコンバージョンパネルを用いて Eclipse phase から Fiebig stage I の症例 ($n = 35$) を解析している。それに対して, 本研究では急性期群の定義が, スクリーニングとしての HIV-1 抗原抗体検査で陽転した Fiebig stage II から IV である。そのため, 急性期群の定義の違いが 4 つのサイトカイン (IL-4, IL-5, IL-9 および IFN- γ) に有意な相関性が認められるかどうかの差を生じたと考えられる。さらに, IL-4 は *in vitro* の実験では CXCR4 の発現の上昇を誘導するため X4 指向性ウイルス (あるいは X4/R5 両指向性ウイルス) の増殖に有利に働く^{12~14)} とともに, HIV-1 LTR 遺伝子の転写の活性化を引き起こすこと¹⁵⁾ にも寄与する。そのため, ウイルス増殖が著しい感染急性期では, IL-4 の過剰産生がウイルス産生を促し血中ウイルス量が高くなる可能性も考えられる。

近年 HIV-1 関連疾患, 心血管疾患, 腎・肝疾患を含め予後の改善や感染予防の観点から CD4 陽性 T 細胞数にかかわらず早期治療が行われている^{16~18)}。大規模な無作為国際臨床試験 (INSIGHT START study) の報告では, CD4 陽性 T 細胞数が 500 cells/ μ L 以上を超えている HIV-1 陽性の成人で治療を開始した場合, 350 cells/ μ L に低下してから治療を開始した場合と比較して, 死亡を含む AIDS 関連あるいは非 AIDS 関連の重篤なイベントのリスクが有意に低いと報告している¹⁹⁾。現在, 治療開始の目安に CD4 陽性 T 細胞数が指標として使われている。さらに詳細で最適な治療開始時期を見極めるため, 今後さらなる補助指標の必要性があげられる。病態を反映するバイオマーカーの臨床応用を視野に入れ, HIV-1 感染急性期におけるサイトカインプロファイルの情報を蓄積していくことは重要であると考えられる。

IP-10 は IFN- γ に誘導されるタンパク質であり感染防御として作用する反面, 炎症を助長しマクロファージや CD4 陽性 T 細胞での HIV-1 増殖を促進させることが知られている^{20,21)}。また, IP-10 量は HIV-1 感染により上昇し, 血中ウイルス量が高い場合や急速進行患者 (Rapid progressor) では高値を示す^{9,21)}。本研究においても, IP-10 とウイルス量との間に有意な正の相関が認められた。HCV あるいは

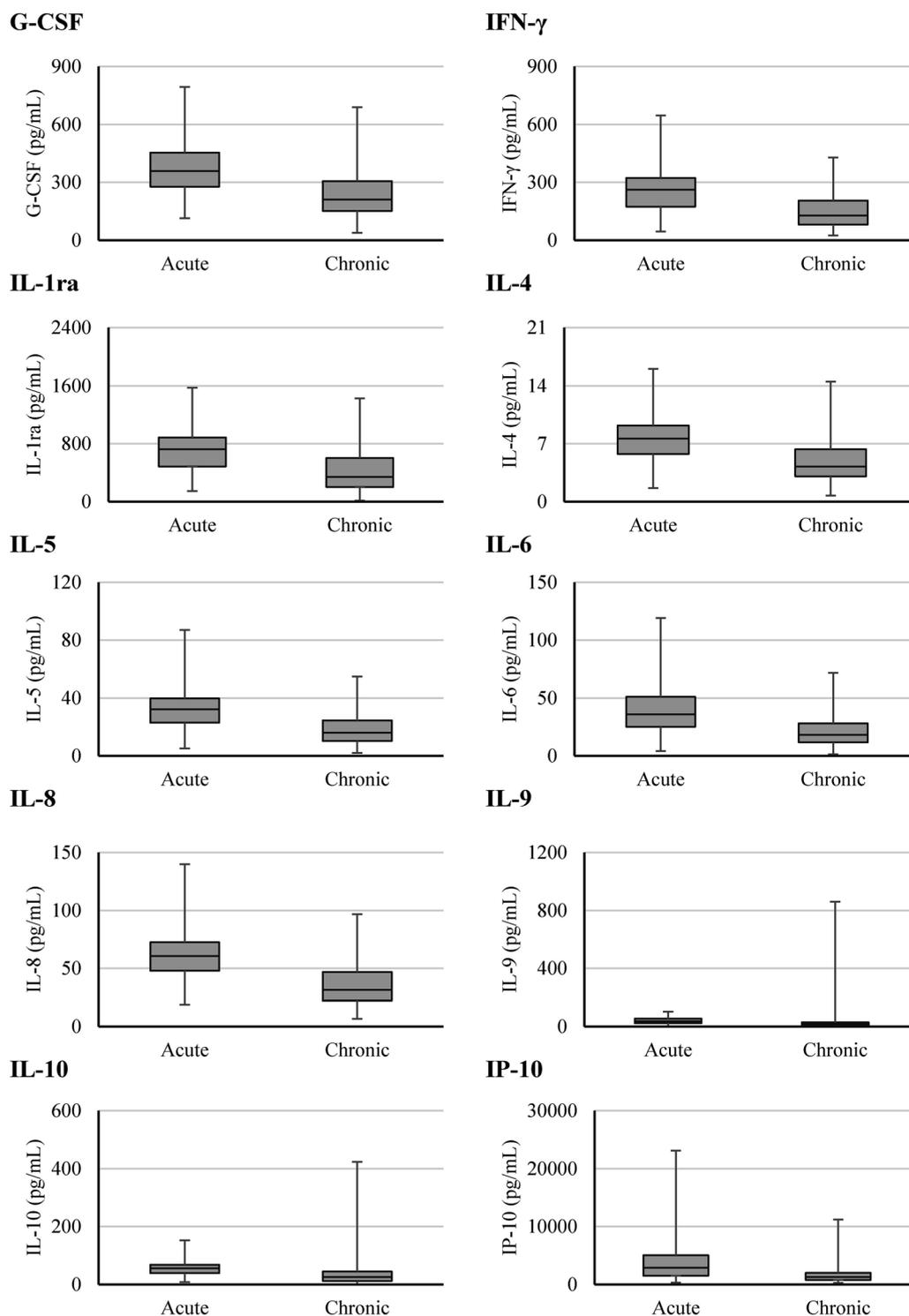


Figure 1 Comparison of cytokine levels in plasma between acute and chronic stages of HIV-1-infection. Western blot-negative or false-negative subjects were categorized as acute stages. Ten cytokines levels showing significantly different ($p < 0.0001$ by the Mann-Whitney U -test) between acute ($n = 42$) and chronic ($n = 98$) stage groups are represented. The boxes represent the median and the 25th and 75th percentile, with the line in the middle of the boxes corresponding to the median value.

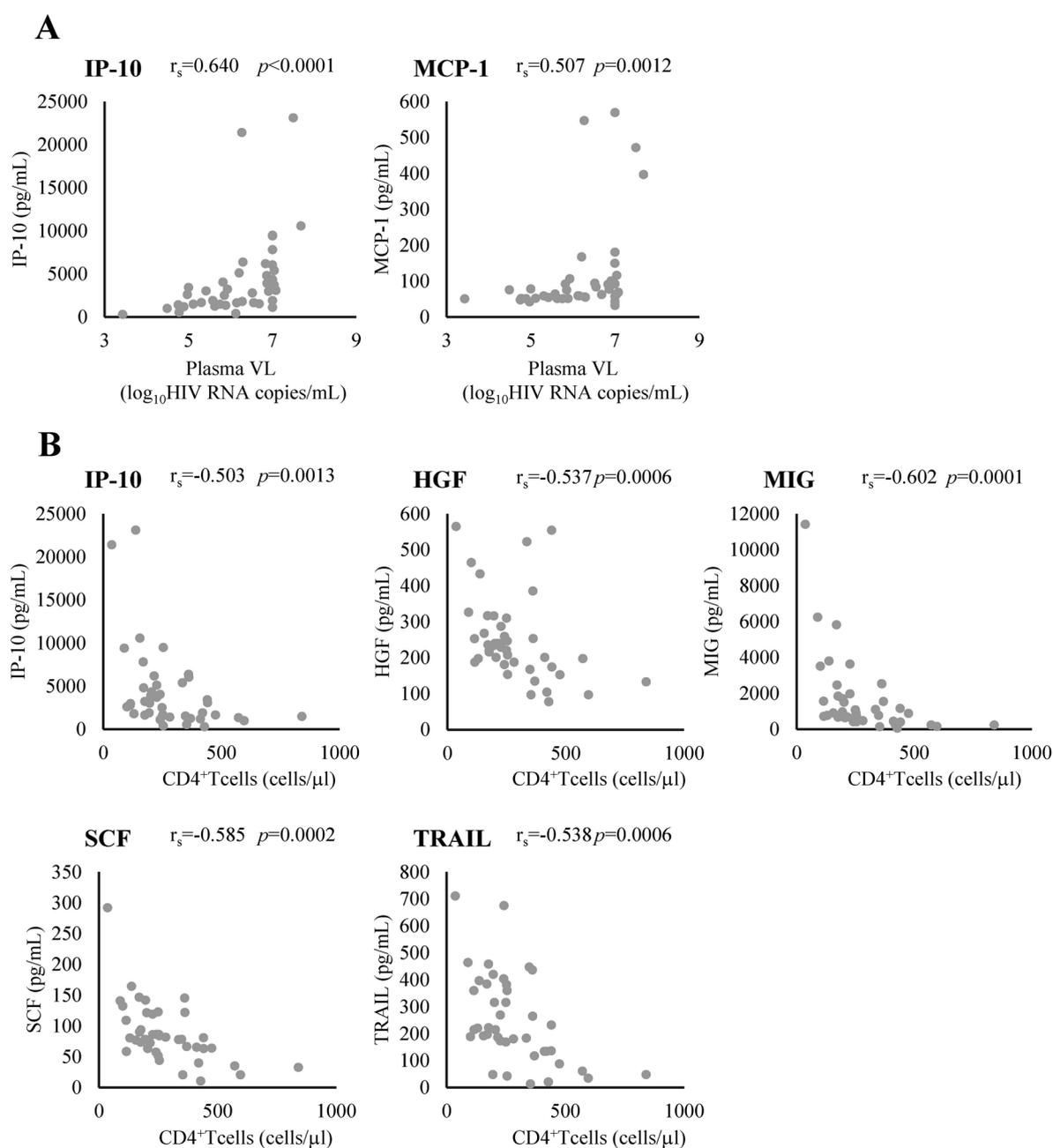


Figure 2 Comparative analyses of cytokine levels with (A) HIV-1 RNA viral load or (B) CD4-positive T-cell counts. Plasma cytokine concentrations of the acute stage group have been plotted against (A) HIV-1 RNA viral load or (B) CD4⁺ T-cell counts. Only cytokines that are significantly correlated with HIV-1 RNA viral load or CD4⁺ T-cell counts by the Pearson product-moment correlation coefficient are shown.

HBV 単独感染では感染初期のサイトカインの産生パターンが HIV-1 とは異なっている。HBV ではサイトカイン産生量が少なく、HCV では HBV に比べ産生量が多いものの比較的遅れてサイトカインが上昇することが知られている。さらに、いずれの肝炎ウイルス感染症においても

HIV-1 単独感染と比べサイトカインの変動は少ない傾向にある。とりわけ IP-10 は、HIV-1 感染急性期では全症例において上昇が認められるが、HBV 単独感染では 30%、HCV では 70% の症例にとどまっている³⁾。HIV-1 感染症の病態把握の指標となる CD4 陽性 T 細胞数とウイルス量に

対し、IP-10 は正の相関をもつ。しかし、他の感染症においても産生されることもあるため、複数のバイオマーカーを組み合わせることで HIV-1 感染急性期における特異的病態マーカーとして活用できる可能性がある。

HIV-1 感染急性期と慢性期の血漿中サイトカインのプロファイルと比較し、血漿中の微量タンパク質や代謝物質の網羅的探索を行うことにより、今後さらに的確な HIV 病態特異的なバイオマーカーが見出されるかもしれない。これらの開発は、治療開始時期などの臨床学的指標だけでなく、HIV-1 感染の補助診断法としての確立や候補ワクチンの評価にもつながる。さらに、HIV-1 抗原 (p24) あるいはウイルス RNA に先駆けて検出できるような HIV-1 感染特異的なバイオマーカーが特定できれば、ウィンドウピリオド期での献血によるウイルスのすり抜け事故などを防ぐようになるかもしれない。今後、プロテオームのみならずメタボローム解析を含め、予後を含めた臨床知見の詳細な解析を行い、HIV-1 感染急性期に特異的に観察されるバイオマーカーを絞り込んでいきたい。

謝辞

本研究は厚生労働科学研究費補助金 (エイズ対策研究事業) により実施致しました。また臨床学的な解析にご協力を賜りました独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター CARES のスタッフに合わせて御礼申し上げます。

利益相反: 本研究において利益相反に相当する事項はない。

文 献

- 1) McMichael AJ, Borrow P, Tomaras GD, Goonetilleke N, Haynes BF : The immune response during acute HIV-1 infection : clues for vaccine development. *Nat Rev Immunol* 10 : 11-23, 2010.
- 2) Katsikis PD, Mueller YM, Villinger F: The cytokine network of acute HIV infection : a promising target for vaccines and therapy to reduce viral set-point ?. *PLoS Pathog* 7 : e1002055, 2011.
- 3) Stacey AR, Norris PJ, Qin L, Haygreen EA, Taylor E, Heitman J, Lebedeva M, DeCamp A, Li D, Grove D, Self SG, Borrow P : Induction of a striking systemic cytokine cascade prior to peak viremia in acute human immunodeficiency virus type 1 infection, in contrast to more modest and delayed responses in acute hepatitis B and C virus infections. *J Virol* 83 : 3719-3733, 2009.
- 4) Abel K, Rocke DM, Chohan B, Fritts L, Miller CJ : Temporal and anatomic relationship between virus replication and cytokine gene expression after vaginal simian immunodeficiency virus infection. *J Virol* 79 : 12164-12172, 2005.
- 5) Vallabhapurapu S, Karin M : Regulation and function of NF-kappaB transcription factors in the immune system. *Annu Rev Immunol* 27 : 693-733, 2009.
- 6) Eberly MD, Kader M, Hassan W, Rogers KA, Zhou J, Mueller YM, Mattapallil MJ, Piatak M, Jr., Lifson JD, Katsikis PD, Roederer M, Villinger F, Mattapallil JJ : Increased IL-15 production is associated with higher susceptibility of memory CD4 T cells to simian immunodeficiency virus during acute infection. *J Immunol* 182 : 1439-1448, 2009.
- 7) Mueller YM, Petrovas C, Bojczuk PM, Dimitriou ID, Beer B, Silvera P, Villinger F, Cairns JS, Gracely EJ, Lewis MG, Katsikis PD : Interleukin-15 increases effector memory CD8+ t cells and NK Cells in simian immunodeficiency virus-infected macaques. *J Virol* 79 : 4877-4885, 2005.
- 8) Mueller YM, Bojczuk PM, Halstead ES, Kim AH, Witek J, Altman JD, Katsikis PD : IL-15 enhances survival and function of HIV-specific CD8+ T cells. *Blood* 101 : 1024-1029, 2003.
- 9) Roberts L, Passmore JA, Williamson C, Little F, Bebell LM, Mlisana K, Burgers WA, van Loggerenberg F, Walzl G, Djoba Siawaya JF, Karim QA, Karim SS : Plasma cytokine levels during acute HIV-1 infection predict HIV disease progression. *AIDS* 24 : 819-831, 2010.
- 10) Kawashima Y, Pfaffert K, Frater J, Matthews P, Payne R, Addo M, Gatanaga H, Fujiwara M, Hachiya A, Koizumi H, Kuse N, Oka S, Duda A, Prendergast A, Crawford H, Leslie A, Brumme Z, Brumme C, Allen T, Brander C, Kaslow R, Tang J, Hunter E, Allen S, Mulenga J, Branch S, Roach T, John M, Mallal S, Ogwu A, Shapiro R, Prado JG, Fidler S, Weber J, Pybus OG, Klenerman P, Ndung'u T, Phillips R, Heckerman D, Harrigan PR, Walker BD, Takiguchi M, Goulder P : Adaptation of HIV-1 to human leukocyte antigen class I. *Nature* 458 : 641-645, 2009.
- 11) Matthews PC, Prendergast A, Leslie A, Crawford H, Payne R, Rousseau C, Rolland M, Honeyborne I, Carlson J, Kadie C, Brander C, Bishop K, Mlotshwa N, Mullins JI, Coovadia H, Ndung'u T, Walker BD, Heckerman D, Goulder PJ : Central role of reverting mutations in HLA associations with human immunodeficiency virus set point. *J Virol* 82 : 8548-8559, 2008.
- 12) Suzuki Y, Koyanagi Y, Tanaka Y, Murakami T, Misawa N, Maeda N, Kimura T, Shida H, Hoxie JA, O'Brien WA, Yamamoto N : Determinant in human immunodeficiency

- virus type 1 for efficient replication under cytokine-induced CD4(+) T-helper 1 (Th1)- and Th2-type conditions. *J Virol* 73 : 316–324, 1999.
- 13) Jourdan P, Abbal C, Noraz N, Hori T, Uchiyama T, Vendrell JP, Bousquet J, Taylor N, Pene J, Yssel H : IL-4 induces functional cell-surface expression of CXCR4 on human T cells. *J Immunol* 160 : 4153–4157, 1998.
- 14) Wang J, Harada A, Matsushita S, Matsumi S, Zhang Y, Shioda T, Nagai Y, Matsushima K : IL-4 and a glucocorticoid up-regulate CXCR4 expression on human CD4+ T lymphocytes and enhance HIV-1 replication. *J Leukoc Biol* 64 : 642–649, 1998.
- 15) Zhang M, Clausell A, Robinson T, Yin J, Chen E, Johnson L, Weiss G, Sabbaj S, Lowe RM, Wagner FH, Goepfert PA, Kutsch O, Cron RQ : Host factor transcriptional regulation contributes to preferential expression of HIV type 1 in IL-4-producing CD4 T cells. *J Immunol* 189 : 2746–2757, 2012.
- 16) Gunthard HF, Aberg JA, Eron JJ, Hoy JF, Telenti A, Benson CA, Burger DM, Cahn P, Gallant JE, Glesby MJ, Reiss P, Saag MS, Thomas DL, Jacobsen DM, Volberding PA ; International Antiviral Society USAP : Antiretroviral treatment of adult HIV infection : 2014 recommendations of the International Antiviral Society—USA Panel. *JAMA* 312 : 410–425, 2014.
- 17) Wilson DP, Law MG, Grulich AE, Cooper DA, Kaldor JM : Relation between HIV viral load and infectiousness : a model-based analysis. *Lancet* 372 : 314–320, 2008.
- 18) Cohen MS, Chen YQ, McCauley M, Gamble T, Hosseinipour MC, Kumarasamy N, Hakim JG, Kumwenda J, Grinsztejn B, Pilotto JH, Godbole SV, Mehendale S, Chariyalertsak S, Santos BR, Mayer KH, Hoffman IF, Eshleman SH, Piwowar-Manning E, Wang L, Makhema J, Mills LA, de Bruyn G, Sanne I, Eron J, Gallant J, Havlir D, Swindells S, Ribaud H, Elharrar V, Burns D, Taha TE, Nielsen-Saines K, Celentano D, Essex M, Fleming TR, Team HS : Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy. *N Engl J Med* 365 : 493–505, 2011.
- 19) Group ISS : Initiation of antiretroviral therapy in early asymptomatic HIV infection. *N Engl J Med* 373 : 795–807, 2015.
- 20) Lane BR, King SR, Bock PJ, Strieter RM, Coffey MJ, Markovitz DM : The C-X-C chemokine IP-10 stimulates HIV-1 replication. *Virology* 307 : 122–134, 2003.
- 21) Liovat AS, Rey-Cuille MA, Lecoux C, Jacquelin B, Girault I, Petitjean G, Zitoun Y, Venet A, Barre-Sinoussi F, Lebon P, Meyer L, Sinet M, Muller-Trutwin M : Acute plasma biomarkers of T cell activation set-point levels and of disease progression in HIV-1 infection. *PLoS One* 7 : e46143, 2012.

Plasma Cytokine Profile in Acute HIV-1 Infection

Urara SHIGEMI¹⁾, Atsuko HACHIYA^{1,2)}, Masakazu MATSUDA¹⁾, Reiko OKAZAKI¹⁾, Shintaro OGAWA³⁾,
Kyoko ITO³⁾, Masao TATEYAMA⁴⁾, Akifumi IMAMURA⁵⁾, Kunio YANAGISAWA⁶⁾, Kunio YANO⁷⁾,
Teruhisa FUJII⁸⁾, Atsuhisa UEDA⁹⁾, Junji IMAMURA¹⁾, Tsunamasa WATANABE^{1,10)}, Yasuhito TANAKA³⁾,
Yoshiyuki YOKOMAKU¹⁾, Wataru SUGIURA¹⁾ and Yasumasa IWATANI^{1,11)}

¹⁾ Department of Infectious Diseases and Immunology, and ²⁾ Department of Clinical Research Management,
Clinical Research Center, National Hospital Organization Nagoya Medical Center,

³⁾ Department of Virology and Liver Unit, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences,

⁴⁾ Department of Infectious, Respiratory and Digestive Medicine Control and Prevention of Infectious Diseases, University of the Ryukyus,

⁵⁾ Department of Infectious Diseases, Tokyo Metropolitan Cancer and Infectious Diseases Center Komagome Hospital,

⁶⁾ Department of Hematology, Gunma University Hospital, ⁷⁾ Department of Infectious Disease, Hamamatsu Medical Center,

⁸⁾ Division of Blood Transfusion, Hiroshima University Hospital,

⁹⁾ Department of Internal Medicine and Clinical Immunology, Yokohama City University Hospital,

¹⁰⁾ Division of Gastroenterology and Hepatology, Department of Internal Medicine, St. Marianna University School of Medicine Hospital,

¹¹⁾ Department of AIDS Research, Graduate School of Medicine Nagoya University

Objectives : Biomarkers that enable us to predict the rate of HIV-1 disease progression are potential benefits for clinical management of infected individuals. In particular, such biomarkers are required for the management of acute phase because antiretroviral therapies have been recently introduced in the earlier stages of HIV-1 infection. To identify such biomarkers, we extensively analyzed cytokine levels in plasma of acute phase HIV-1 infected individuals.

Method and Results : Recently diagnosed HIV-1 individuals were categorized into two groups based on the results of HIV-1 western blotting (WB) : 42 acute (negative or indeterminate in WB) and 98 chronic HIV-1 infections (positive in WB). We measured 48 cytokine levels in plasma using the Bio-Plex 200 system. Impressive cytokine over production (Cytokine storm) was observed in the group of acute HIV-1 infection. In particular, IFN- γ , IL-1ra, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-9, IL-10, IP-10 and G-CSF were significantly increased during the group of acute HIV-1 infection compared with that of chronic infection ($p < 0.0001$). The level of IP-10 showed significant positive correlation with HIV-1 viral load, while negative correlation with CD4-positive T-cell count.

Conclusion : The level of IP-10 was associated with CD4-positive T-cell counts and HIV-1 RNA viral load, although their productions were also observed in the subjects of acute stage by other virus infection. These data suggest that IP-10 will be potential biomarkers for prediction of acute HIV-1 infection in combination with additional factors.

Key words : HIV-1, cytokine, acute HIV-1 infection, biomarker