

ケモカインレセプターとAIDS



血液内科部長 玉井 洋太郎

皆さんこんにちは。血液内科の玉井です。分かりにくいタイトルだと思いますが、今回はAIDS（後天性免疫症候群：Acquired immune deficiency syndrome）について、治療の進歩などを踏まえて少し紹介させていただきたいと思います。AIDSは、ヒト免疫不全ウイルス(HIV; Human immunodeficiency virus)に感染して、2～4週で風邪症状（無症状のこともある）を起こしてから通常5～10年で発症します。この発症という意味がなかなか難しいのですが、一般的には、何らかの合併症（AIDS指標疾患）を起こしてくることで発症したと診断されます。都内で診療している時には、しばしばAIDS指標疾患を拝見することもありました。原因不明の感染症や、急速に増大してくる腫瘍を診た時にはAIDSを疑うのが重要です。しかし、当院で診療しているとあまり積極的に疑う患者さんは多くありません。地域性ということも意識して診療に当たる必要があります（表）。AIDS発症をうたがった場合には、採血で検査をします。HIVのスクリーニング検査法は、偽陰性を出さない（真の感染者を見落とさない）ように開発されていて、逆に0.1～0.3%程度の偽陽性が発生します。検査で陽性が疑われたら、より特異性が高いウェスタンブロット（WB）法が用いられます。一昔前は、検査を実施するのに患者さんから同意書を頂いたりするくらい神経質になっていましたが、最近は疾患によっては除外診断の一つとして採血検査をすることもしばしばです。

ところで、「AIDSは治るのか?」、この質問にきちんと答えられる医療者は少ないのではないのでしょうか。治るということは、治療をしなくても悪くならない状態を指します。AIDSの治療成績は、抗生剤の加療などにより飛躍的に改善しました。もちろん治療による副作用や薬剤耐性ウイルスなどの諸問題はあるものの、AIDS患者さんの生命予後は健常人とほぼ同等レベルまで改善したとの見方もあります。しかし、抗生剤治療をやめると殆どが再燃してしまい

ます。つまり、どんなにウイルスが減ったかに見えても体内のどこかに潜伏し、抗生剤がなくなると、そこから増殖が始まるのであろうと推測されています。どこにウイルスが隠れているのかなど、専門家が必死に研究していますが、未だにはっきりとしたことはわかっていません。となると、今のところ「AIDSは治せない」、ということになるのでしょうか。実はそうではありません。過去に1例だけ、AIDSを根治した症例が著名な医学誌のNew England Journal of Medicineに掲載されています。1例の報告がこの医学誌に掲載されることも極めて稀なことです。それほど世界中にインパクトがありました。これを書きながら、最近のAIDSにまつわる論文を検索しているのですが、未だにこの1例報告が唯一AIDSを根治した論文として記載されています。

さて、どのようにしてこの論文の症例がAIDSを根治できたかを理解するには、HIVの感染機序について知る必要があります。HIVは主に白血球のひとつであるリンパ球に感染します。感染するときに、ウイルスがリンパ球の細胞膜にくっついて、ケモカイン受容体という細胞膜の物質に促されて、細胞内に取り込まれていきます（図）。このケモカイン受容体にはいくつかの種類があるのですが、HIVの場合には

a. HIV感染者上位自治体

自治体	報告数*	自治体	人口10万対
1 東京都	364 (410)	1 東京都	2.718
2 大阪府	168 (156)	2 大阪府	1.901
3 愛知県	62 (67)	3 沖縄県	1.196
4 神奈川県	54 (68)	4 岡山県	0.884
5 北海道	35 (19)	5 愛知県	0.832
6 千葉県	32 (36)	6 徳島県	0.785
7 福岡県	30 (46)	7 奈良県	0.727
8 埼玉県	22 (24)	8 宮崎県	0.718
9 静岡県	21 (16)	9 香川県	0.714
9 兵庫県	21 (23)	10 岐阜県	0.686

表1.厚生労働省エイズ動向委員会より、新規HIV感染者報告数上位自治体、2015年

CCR5というケモカイン受容体を介することが分かっています（変異したウイルスでは異なります）。面白いことに、北アメリカにおける白人の約10%が、両親から受け継いだ遺伝子の片方に、1%は両方にこのCCR5の32アミノ酸残基が欠損していることが分かっています（以後、CCR5Δと呼びます）。つまりCCR5が働かないのです。この欠損のせいで病気になるわけではありません。アジア人や黒人には、このCCR5Δはいません。そして、CCR5Δの人達はHIVの感染機会があっても、極めて感染しにくいことが分かっています。体内にウイルスが入ってきても、細胞表面のCCR5

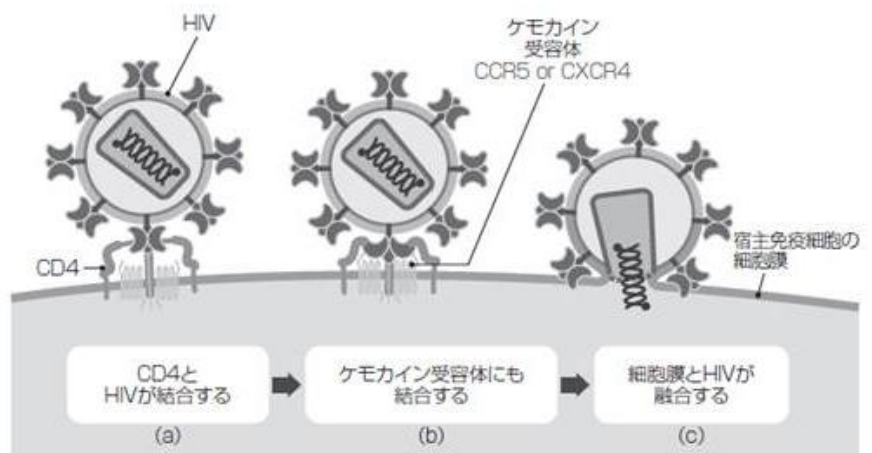


図 HIVの細胞侵入過程

に異常があるから細胞内に入れず感染が成立しないのです。ようやく先ほどの論文の症例に話を戻すことができるのですが、世界で唯一、AIDSを根治した症例は、このCCR5Δを用いています。この論文の症例を要約すると、AIDSで長らく抗生剤治療をしてきた患者さんが、急性骨髄性白血病を発症しました。この白血病の治療の一つとして、抗がん剤に加えて他人からの骨髄移植（血液を取り換える措置）を受けることになったのですが、その提供者（ドナー）がCCR5Δだったのです。骨髄移植がうまくいって、血液がCCR5Δのドナー血液に取り換えられると、以前の抗生剤投与で減っていたHIVは体内で増殖できず、この患者さんは抗生剤をやめてもウイルスが再増殖してくることはありませんでした。これが世界で唯一のAIDS根治症例です。ちなみに2011年にこの患者さんの追跡研究の結果が、これまた著名な医学誌のBloodに掲載されました。患者さんは良くなっていたのですが、研究者たちは患者さんに頼んで、脳や肝臓、大腸などを生検して、やはり体中のどこにもウイルスが残っていないことを証明しています。よく患者さんも検査を受け入れてくださったと思います。当時のBlood誌の中で、最も読まれている論文とされ、研究者たちの注目度の高さをうかがい知ることができました。当時は私もウイルスと免疫の研究をしていたので、とても印象に残っています。

日本は骨髄バンクもよく整備されているのですが、先ほども申し上げた通り残念ながら日本人にCCR5Δの人はいません。iPS細胞などを用いれば、CCR5Δの血液を作ることはいずれ可能かもしれません。血液を取り換えるという、やや乱暴な手法ではありますが、細胞治療によってAIDSを根治できる日がそう遠くない先に訪れるのでしょうか。AIDSから離れた話ですが、近年の細胞を用いた治療進歩は目覚ましいものがあります。米国では白血病の治療がFDA（アメリカ食品医薬品局）に認可されています。私が診療している血液の領域でも、このように画期的な新治療法が出てくることもあり、日々世界中の研究結果を気にしています。今回は少し古い話になりましたが、当院ではあまりHIVが話題になることが少ないので、取り上げさせていただきました。

参考文献)

New England Journal of Medicine 2009; 360(7), 692-698
Blood 2011; 117(10):2791-2799



血液標本の作成方法

以前ドクターからどのように血液標本を作製しているのか問い合わせを受けたことがあり、今回は当院での標本作成方法をご紹介します。離島では技師がいない現場などで今回の情報を役立てて頂けると幸いです。

はじめに、正確なカウントをするうえできれいな標本作製することがとても重要です。

スライドの塗抹方法

- ①検体を20回程度転倒混和します。
- ②血液をスライドガラスに5 μ Lほど乗せます。



- ③塗抹部の中央に血液の小滴を採り均等に広げます。
- ④引きガラスをもっている親指と中指でスライドガラスを軽く挟み込むようにして約30度の角度を保ちつつ、矢印の方向へ一定の速度で軽く滑らせ作製します。



血液は貧血や多血の患者さんごと粘調度が違うため、引く角度やスピードを変える必要があります。



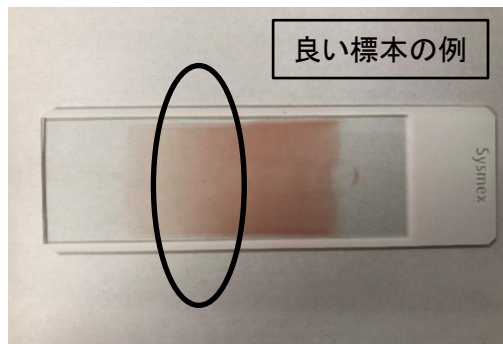
引きガラス

検査部では引きガラスはスライドガラスの先端にスライドカバーをテープで付けて作っていますが、スライドガラスでも代用可能です。

★きれいな標本とは？

- ①引き止まりがなく、引ききっている
- ②一定の速度で引けている
- ③塗抹面が波打っていない
- ④塗抹面が蛇行していない
- ⑤塗抹面の長さはスライドガラスの2/3程度

細胞のカウントは黒丸の部分で行います。



※血液を引く際に、最後で引き止まりや引くスピードを変えると以下のような悪い標本が出来てしまいます。

悪い標本の例



血液が引き終わりに残る
引きガラスを途中で止めた



引く速さが早く短い



塗抹面が蛇行している



引く速さが一定でないため
塗抹面が波打っている

きれいな標本作製したら次は染色です。

染色方法

▽メイ・ギムザ染色

塗抹した標本を十分に乾燥させた後、

- ①メイグリュンワルド原液を滴下し、5分

- ②等量のpH6.8リン酸緩衝液を滴下し、5分

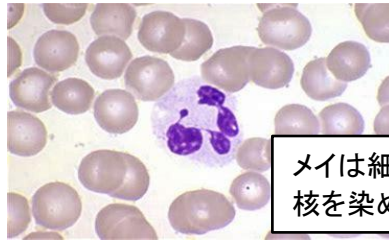
- ③水洗

- ④リン酸緩衝液で希釈したギムザ液を滴下し、15分

→ 水洗し、鏡検で染色具合を確認
(核染色が薄い場合はギムザ液で追加染色してください。)



当院では、メイ・ギムザ染色をSP-1000で行っており、染色は自動で行なっています。



メイは細胞質、ギムザは核を染めます。

(豆知識) 紹介したのはメイ・ギムザ染色ですが、ギムザ液のみでも染色可能です。

スライドを乾燥させた後、メタノールで3分固定します。蒸留水1mlに対しギムザ原液1滴の割合で混ぜ合わせた液で染色を行います。染色時間は15~30分。染色が終了したら水洗し、乾燥させます。

以上で血液標本が出来上がります。

スライドの作成や染色の練習などご希望ありましたら、検体検査血液部門(12207)までご連絡して下さい。

佐藤嘉晃

質量分析器院内導入！

2018 年 6 月 4 日より細菌検査室に質量分析器(MALDI-TOF MS)が稼働しています。

【質量分析法とは？】質量分析法;MALDI-TOF MS

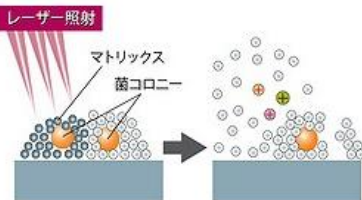
(Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization-Time Of Flight Mass Spectrometer)

質量分析法とはその名の通り、質量を分析し菌名同定する機器です。

従来の生化学的分析法とは異なり数分で測定可能の為、迅速に菌名同定を行う事が可能となりました。

【質量分析法の原理】

(1)

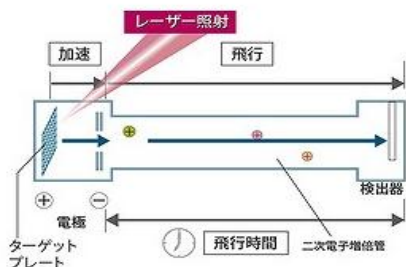


(1)ターゲットプレートに菌コロニーを

塗布し、マトリックス試薬を添加します。

乾燥後、レーザーを照射すると菌のタンパクはイオン化します。

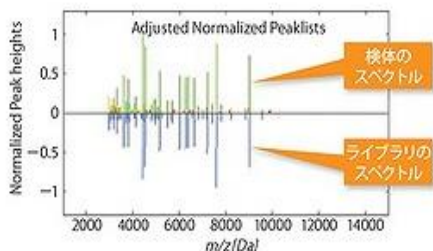
(2)



(2)イオン化した菌タンパクは真空中を飛行

します。また、分子量の大きさにより飛行時間が変化することを利用しタンパクの分離をします。

(3)

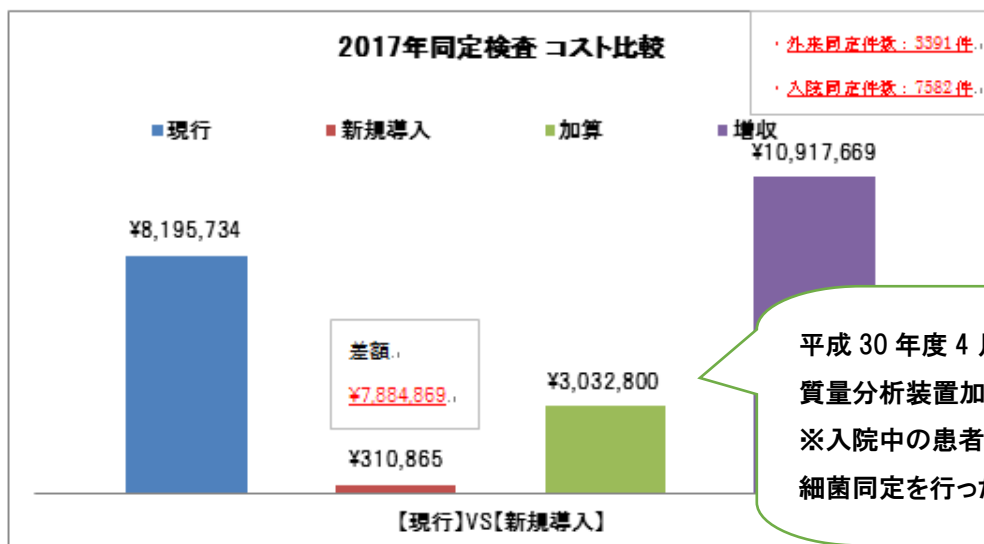


(3)横軸に質量(質量電荷比:m/z)、縦軸に

イオン強度をとった波形パターンと、ライブラリーの波形パターンの照合をし、菌名同定をします。

【質量分析機の利点】

- ・ランニングコストの低減
- ・測定時間の短縮(10 分前後)
- ・材料(血液陽性ボトル)からの直接同定が可能



【実際に使用してみて】

同定速度が速いため、問い合わせを頂いた後でも

すばやく対応できるようになった。

また、ライブラリーが増設された事で今まで同定が困難であった菌種(嫌気性菌、真菌等)に対しても、迅速な同定が可能となった。



【最後に…】

現在は血液ボトルから前処理することにより同定可能となっていますが、将来的には尿や髄液などからも直接同定が可能になるかもしれません(現段階ではまだ一致率がよくないため…)。前述の通り質量分析には将来性があり、これからは細菌同定の主体になっていくと思われます。しかし鑑別が難しい菌(CNS や α -streptococcus 等)は一部スコアが低く出てしまう場合があります、その点まだまだ完璧とは言えません。我々も機械の特性を熟知し、今後同定できない菌を少しでもなくせるよう精進していきます。

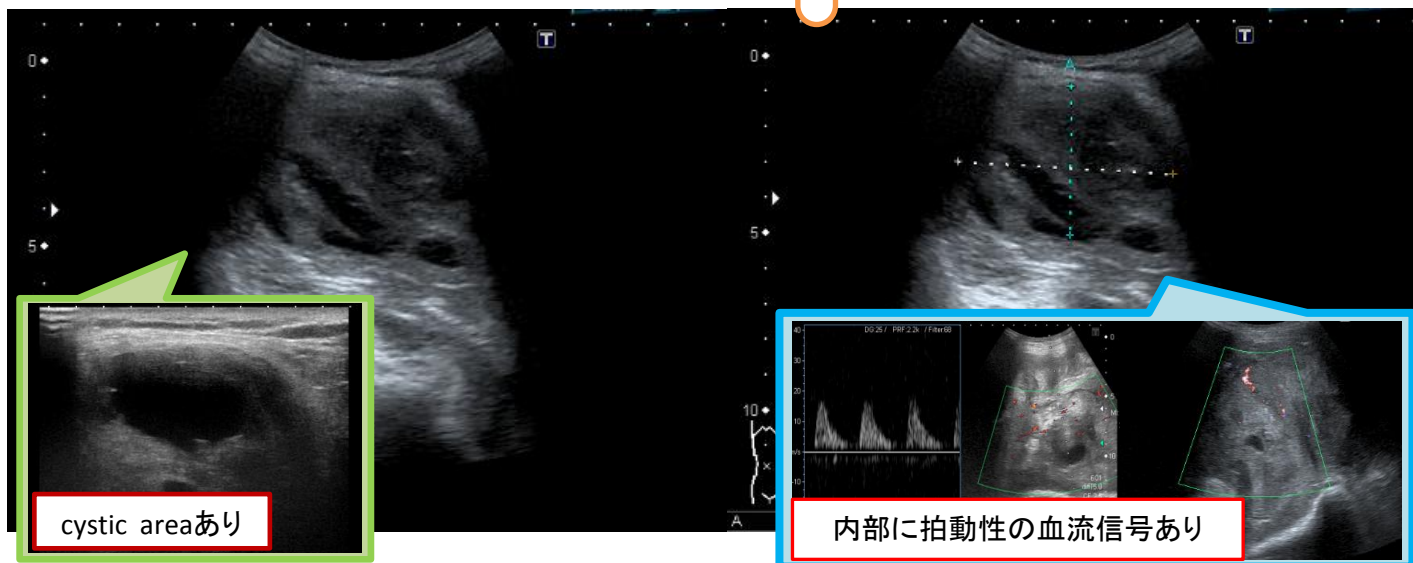
佐藤健也

エコー問題

下のエコー像は、左臀部の画像です。皮下に腫瘍性の病変が見えます。この腫瘍は何だと思えますか？

75歳男性

約半年前からの臀部腫脹を訴えています。他院で血腫を疑われましたが、改善なく紹介受診されました。



答え

孤立性線維性腫瘍(solitary fibrous tumor:SFT)疑い

内部不均一で、cystic area(液体成分)を伴う腫瘍は、当初、血腫を疑われました。

血流信号は、周囲血管からの流入血流を思わせました。

しかし、繋がりのある血管の特定には至らず、cystic areaを標的とした穿刺吸引をしたところ、漿液性の液体が見られました。

血腫よりも腫瘍の可能性が考えられ、さらに施行された組織診の結果、血腫ではなく、SFT疑いとなりました。

SFTとは？

中皮下間葉系組織由来の、低悪性度線維性腫瘍。

人口10万人あたり2.8人と、比較的稀な腫瘍。成人、特に中高年(60-70歳代)に好発します。

胸膜、心膜、骨膜、肺、乳房、鼻腔、肝など、体のさまざまな場所に発生すると言われています。

約8割が良性ですが、悪性もあり。

辺縁平滑な分葉状腫瘍、有茎性腫瘍を示すことが多いです。

出血や壊死を伴うこともあり、エコーで見られたcystic areaは、この壊死像を見ていた可能性が考えられます。(山口純子)



★腎臓の再生

慢性腎臓病(CKD) から腎不全に至ると、腎代替療法(透析療法または腎移植)を行う必要が生じますが、患者さんは世界的に年々増加しています。しかし、透析療法における合併症や腎移植のドナー不足など問題点もあるのが現状です。そこで注目されたのが再生医療による腎臓再生でしたが、腎臓はあまりにも構造が複雑で、最も再生が難しい臓器と考えられていました。2006年にiPS細胞が発見されてから10年以上が過ぎ、腎臓再生が実現可能に近づいています。今回は、実現に向け期待のできる研究をご紹介します。

＜iPS細胞から腎臓の細胞を培養＞

京都大学iPS細胞研究所の長船教授らの研究グループは、ヒトiPS細胞から誘導したOSR1(+)/SIX2(+)¹の腎前駆細胞を急性腎傷害モデルマウスに移植し、治療効果を得たことを報告しました(Toyohara et al., Stem Cells Translational Medicine. 2015 Sep;4(9):980-92) ²が、この誘導法では未分化な細胞などが混入し、安全性が懸念されます。そこで腎前駆細胞のみを効率よく単離できる表面抗原マーカーの組み合わせ(CD9(-)/CD140a(+)/CD140b(+)/CD271(+)) ³を見出しました。この表面抗原マーカーを用いて単離分取した細胞を細胞塊にして誘導すると尿細管様の構造が形成されることも確認されました。急性腎傷害モデルマウスに移植することで、腎機能悪化や線維化の抑制が示され、治療効果を確認しました。

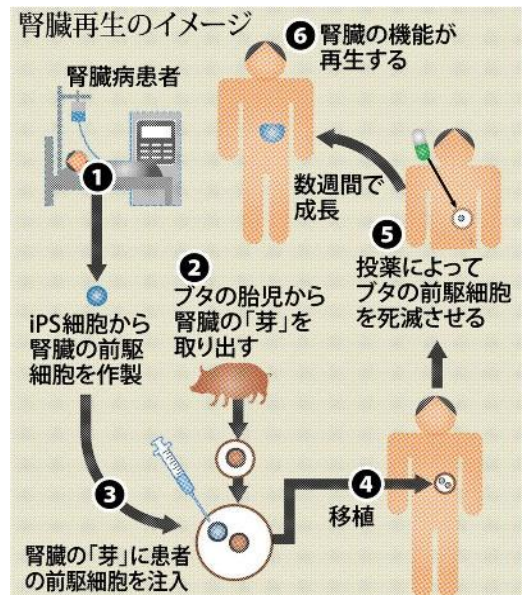
＜異種動物から再生腎臓を作成＞

東京慈恵会医科大学の横尾隆主任教授は、異種動物を利用して患者さん由来の細胞から再生腎臓を作成し、移植する研究をされています。まずは、患者さんからiPS細胞を作製し、ネフロン前駆細胞へと誘導分化させます。次に、遺伝子改変した異種動物の胎児の特定部位に、このネフロン前駆細胞を打ち込み、培養します。動物の胎児にもともと備わっているプログラムと場所(ニッチ)を利用して、患者さん由来の細胞から再生腎臓の芽(原基)を作ります。作った再生腎臓の芽を患者さんの体へと戻し成熟した腎臓にします。生成された尿を体外へと排出するために、動物由来の膀胱付腎原基(クロアカ)と、患者さんの尿管・膀胱を吻合し、尿排泄路を構築します。

★タンザニアでの腎移植手術における検査業務の支援

2018年3月、タンザニアにあるベンジャミン・ムカパ病院で腎移植手術が行われ、無事成功しました。このプロジェクトは東京女子医科大学病院と共同で支援をし、検査部からも1名、現地で業務支援を行いました。腎移植手術を行うためには、レシピエントとドナーとで免疫学的に適合するかをいくつかの手法で検査します。また、手術の前後で免疫抑制剤の血中濃度を測定し、投薬量を調整します。このような測定技術を支援し、なんとか検査できる状態にすることができました。現地では、機器が故障していたり、必要な試薬が揃っていなかったりと、不安なこともありましたが、代用品を使用したり、検査方法を変えてみたり、工夫することで解決されることもあり、さまざまな角度から物事を考えることの大切さを学ぶことができました。今回のプロジェクトで一番印象に残っている場面は、現地の検査技師たちが無事に移植が終わったと伝えたときに喜んでいて、彼らの生活は日本と比べてのんびりしており、正直、大丈夫かな...と不安でした。しかし、接しているうちに彼らは真剣に取り組む、このプロジェクトの成功に向けてがんばっていました。検査技師になって、またこのプロジェクトに関わることができて本当によかったと思った瞬間でした。今回の成功は喜ばしいですが、これからいかに継続して腎移植を現地で行えるかが、とても重要だと思っています。そのためにも今後もしっかりと支援できればと考えております。

佐藤勉



編集後記: ただの外出も命の危険を感じる猛暑の今日この頃、皆様いかがお過ごしでしょうか？たとえ室内でもエアコンと水分補給が欠かせませんね。

検査部広報誌「臨床検査ニュース」は記念すべき第25回を迎えました。今回は細菌室の質量分析装置が稼動後初となります。この質量分析装置というものをご紹介したのもちょうど2年前の夏になります。是非導入出来るようにと記事にしたことが思い出されます。今後は以前病理でご紹介した液状化検体細胞診の導入も本格的に動いているので、近くまたご報告が出来るのではないかと期待しています。坂井由紀子

お問い合わせ

記事に関する
お問い合わせは
検査部広報誌担当
坂井までお願い致します

