

ヒト IgM 抗体による脱髄の治療：Toxin-induced demyelination における検討

祖父江 元¹⁾ 朝倉 邦彦^{1,2)} 河合 邦幸¹⁾ 犬飼 晃¹⁾ Moses Rodriguez³⁾

目的

我々はこれまで、Theiler ウイルスを用いた多発性硬化症 (MS) 実験モデルにおいて自然自己抗体と呼ばれる 1 群の抗体が髄鞘再生を促進することから¹⁾、自然自己抗体を用いた MS 治療の可能性を検討してきた。自然自己抗体は通常 IgM 分画に存在するため、赤十字から得た 2500 人以上の健常人の血漿プールより IgM のみを精製 (以下 pooled IgM) し、この実験モデルにおいて髄鞘再生促進能を市販のヒト γ -グロブリン製剤 (以下 pooled IgG) と比較検討した。その結果いずれの抗体も髄鞘再生を促進することが示されたが、pooled IgM は pooled IgG に比べて優れた髄鞘再生能があることを明らかにした²⁾。一方、中毒性脱髄モデル (Toxin-induced demyelination) は、化学物質による免疫機序を介さない一次性脱髄モデルであり、化学物質をマウスやラットの中枢神経系内へ直接注入することにより、軸索を傷害することなく、髄鞘のみが選択的に侵され脱髄が引き起こされる。今回、これまで我々が用いてきたウイルス性脱髄モデルとまったく脱髄機序の異なるこの中毒性脱髄モデルにおいて、pooled IgM と pooled IgG の髄鞘再生能を検討した。

方法

12 週齢の SJL/J マウスの上部胸髄に椎弓切除術を施行し、1% lysolecithin 溶液に Evans Blue を混ぜて注入し脱髄病変を作製した。lysolecithin 注入 2 日後に pooled IgG または pooled IgM を腹腔内投与 (1 mg bolus injection) した。また、対照として PBS を投与した。投与 3 週後にマウスを灌流固定して全脊髄を摘出し、lysolecithin 注入部位周辺の脊髄連続横断切片を作製し、脊髄白質内の脱髄病変内のオリゴデンドロサイトによる髄鞘再生線維の数を計測し、シュワン細胞による髄鞘再生線維は計測から除外した。さらに、脱髄病変内のマクロファージ/ミクログリアの細胞数を測定した。

結果

Table 1 に示すように、pooled IgG 治療群では 1mm^2 の病変当たり約 43000 本の髄鞘再生線維が認められたが、対照群 (約 32000 本/ mm^2) に比較して有意差は認めなかった。一方、pooled IgM 治療群では、 1mm^2 の病変当たり約 91000 本の髄鞘再生線維が認められ、対照群 (約 32000 本/ mm^2) に比較して有意な増加であった ($p = 0.010$)。また、pooled IgM 治療群は pooled IgG 治療群に対しても 2 倍以上の髄鞘再生線維が認めら有意な増加を示した ($p < 0.05$)。病変内に浸潤しているマクロファージ/ミクログリアの細胞数は各治療群で有意な差は認められなかった。

考察

pooled IgM は免疫機序を介すると考えられる Theiler ウイルス脱髄モデルにおいても、免疫機序を介さない中毒性脱髄モデルにおいても、pooled IgG より優れた髄鞘再生促進能を認めた。一方、pooled IgG は pooled IgM に比較して劣るもののウイルス性脱髄モデルにおいては髄鞘再生促進能を認めたが、中毒性脱髄モデルにおいては髄鞘再生の促進は認められなかった。pooled IgG の作用機序は、イディオタイプネットワーク、サイトカイン産生抑制、抑制性 Fc 受容体 (FcR γ IIB) など複数の機構を介した免疫調節作用ではないかと考えられているが、免疫性神経疾患を含めた自己免疫疾患においてその機序は今までところ明確にはわかっていない。今回、免疫機序を介さない中毒性脱髄モデルにおいて pooled IgM が有効であり、pooled IgG が無効であったことは、免疫調節機序以外の機序により pooled IgM が髄鞘再生を促進していることが示唆された。

結論

免疫調節機序以外の機序によりヒト IgM が髄鞘再生を促進していることが示唆された。pooled IgM による MS 治療の可能性が示された。

文献

1) Asakura K, Miller D.J., Pease L.R. et al. Targeting of

1) 名古屋大学医学部神経内科
2) 金沢医科大学微生物学
3) メイヨークリニック神経内科

Table 1. CNS Remyelination with Human Antibodies

Treatment	No. of Lesions	Total Lesion Area (mm ²)	Remyelinated Axons per mm ²	Macrophages/Microglia per mm ²
pooled IgM	11	0.2594	91,295 ± 17,751	681 ± 107
pooled IgG	4	0.1740	43,658 ± 31,696	676 ± 102
PBS	6	0.1712	32,301 ± 15,065	834 ± 199

Values represent the mean ± SEM. Pair-wise comparison of remyelination for treatments within an experiment was by Mann-Whitney Rank Sum Test. Comparison of remyelination after pooled human IgM treatment, to that of the PBS control, gave $p = 0.01$. Comparison of remyelination after pooled human IgM treatment, to that of pooled human IgG treated group, gave $p < 0.05$. Statistical analysis of macrophage/microglia infiltration showed no significance.

IgMk antibodies to oligodendrocytes promotes central nervous system remyelination. *J Neurosci* 18:7700-7708, 1998.

2) Warrington A.E, Asakura K, Bieber A.J. et al. Human monoclonal antibodies reactive to oligodendrocytes promote remyelination in a model of multiple sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97:6820-6825, 2000.

アトピー性脊髄炎における先行するアトピー性疾患による病像の差異とその免疫遺伝学的背景の検討

分担研究者 吉良 潤一
(九州大学医学部神経内科)

研究要旨

先行するアトピー性疾患により、臨床症状および病変部位に有意な差異が認められた。アトピー性皮膚炎を背景に発症する脊髄炎は若年女性に好発し、頸髄病変が多いことが特徴である。また気道アレルギーを背景とする脊髄炎も頸髄病変が多く、このことは通常の脊髄炎が胸髄に好発することと対照的である。さらに、他のアトピー性疾患同様にその組織障害には活性化好酸球産物の関与が示唆された。したがって、背景となるアトピー素因が、このタイプの脊髄炎の発症機序に関与している可能性が考えられる。またアトピー性疾患を背景に発症する脊髄炎は視神経脊髄型多発性硬化症の疾患感受性遺伝子である DPB1*0501 と有意な相関はなく、免疫遺伝的背景の異なる疾患と考えられる。今後はモデルマウスの作成、解析による発症機序の解明が重要と考えられる。

アトピー性脊髄炎における先行するアトピー性疾患による病像の差異とその免疫遺伝学的背景の検討

小副川 学 越智 博文 堀内 泉 村井 弘之 吉良 潤一

目 的

我々はアトピー性皮膚炎 (atopic dermatitis: AD) が先行し、後に脊髄炎を発症する病態の存在を指摘し、アトピー性脊髄炎 (atopic myelitis: AM) という新たな疾患単位を提唱している¹⁾²⁾。今回アトピー素因を伴う脊髄炎の全国調査を行い、その分布、臨床病理像を明らかにし、さらに、先行するアトピー性疾患による病像の差異を検討することを第一の目的とした。また、全国調査で集積されたアトピー素因を有する好酸球性脊髄炎 5 例の浸潤リンパ球と活性化好酸球産物の免疫組織化学的検討を行った。加えて、アトピー性脊髄炎と視神経脊髄型多発性硬化症との免疫遺伝学的背景の差異を明らかにすることを第二の目的とした。

対 象 ・ 方 法

1) アトピー性脊髄炎の全国調査

全国の神経内科、脳外科、脊髄外科 468 施設を対象にアンケート調査を行った。診断基準として、(1)アトピー性疾患を合併している脊髄炎、または(2)高 IgE 血症とダニ等に対するアレルゲン特異的 IgE が陽性の脊髄炎で、その他の原因が除外できるものとした。一次調査で 245 施設 (52.4%) より回答を得、二次調査の結果、31 例が集積された。これに文献例 4 例を加えて、計 35 例を全国調査例とし、さらに九大例 50 例を加えた。また、脊髄生検例で、病理診断が好酸球浸潤を伴う脊髄炎であった症例の収集も併せて行った。

2) 先行するアトピー性疾患による病像の差異の検討

集積された 85 症例を、先行するアトピー性疾患によりアトピー性皮膚炎群 (n=34)、気道アレルギー群 (n=24)、アトピー性疾患の合併はないが高 IgE 血症とダニ特異的 IgE 陽性の群 (n=25) に分類し、その臨床症状、経過、MRI 所見、髄液所見などについてその特徴を比較検討した。

3) 好酸球性脊髄炎生検例における活性化好酸球産物の免疫組織学的検討

全国調査にて得られた好酸球性脊髄炎 6 例のうち 5 例でアトピー素因が確認された。これら 5 例の浸潤リンパ球サブセットと Eosinophil cationic protein (ECP) の免疫組織化学的検索を行った。

4) アトピー性脊髄炎の疾患感受性遺伝子の検討

アトピー性脊髄炎群、多発性硬化症群、健常対照群において HLA-DRB1、HLA-DPB1、血漿 platelet-activating factor- acetylhydrolase (PAF-AH) の遺伝子多型を検討した。

結 果

1) アトピー性脊髄炎の臨床像 (表 1)

全国例 35 例の臨床像、検査所見を、九大例 50 例と比較すると、全国例では、MRI で確実な病巣を認め、髄液でも細胞数増多などの炎症所見が明確な例が多く集積されているが、この点を除けば、両群間で明確な差はなく、全国的に類似の症例が分布していることが示された。アトピー性脊髄炎は異常感覚を主徴とすることが多いため、脊髄病巣の不明瞭な軽症例があがってきていないものと推測された。

九大例と全国調査例を合わせた 85 例全体の分析により、先行するアトピー性疾患により病像が異なることが明らかとなった。アトピー性皮膚炎が先行する群では、有意に女性が多く、また発症年齢が若かった。またアトピー性皮膚炎あるいは気道アレルギーが先行する群ではその他のアトピー疾患が先行する群と比べて、有意に頸髄病変が多く、また膀胱直腸障害が少なかった。

2) 好酸球性脊髄炎生検例における活性化好酸球産物の免疫組織学的検討 (表 2)

5 例全例 T 細胞優位の細胞浸潤を認め、検索し得た 3 例はいずれも CD8 陽性 T 細胞優位であった。さらに検索し得た 4 例中 3 例で活性化好酸球産物である ECP が陽性であった。

¹⁾ 九州大学医学部神経内科

表1：全国調査症例と九大例の臨床・検査所見の比較

	全国調査症例 (40/35)	九大例 (2/2)	全症例 (42/37)
性別(男:女)	20/15	2/0	22/15
発症年齢(歳、平均±標準偏差)	36.8±12.9	45.3±13.4	35.9±13.2
アトピー性疾患の合併	25/15 (71.4)	4/0 (80.0)	65.8 (76.5)
アトピー性皮膚炎	10/15 (28.6)	2/0 (40.0)	34/85 (40.0)
他のアレルギー疾患	14/15 (40.0)	2/0 (40.0)	40/85 (47.1)
喘息	9/15 (25.7)	8/0 (16.0)	17/85 (20.0)
アレルギー性鼻炎/花粉症	8/15 (22.9)	15/0 (30.0)	23/85 (27.1)
発症形式			
急性	19/15 (54.3)	11/0 (62.0)	30/85 (35.3)
慢性/慢性	16/15 (45.7)	19/0 (38.0)	35/85 (41.2)
臨床経過			
暴発性	14/15 (40.0)	13/0 (26.0)	27/85 (31.8)
階段状増悪/弛緩性	20/15 (57.1)	17/0 (34.0)	57/85 (67.1)
持続不能	1/15 (2.9)	0/0 (0.0)	1/85 (1.2)
初発症例	29/15 (82.9)	15/0 (30.0)	64/85 (75.3)
症状および徴候			
眼炎	11/15 (88.6)	10/0 (20.0)	70/85 (82.4)
眼瞼下垂	24/15 (68.6)	13/0 (26.0)	57/85 (67.1)
顔面神経麻痺	25/15 (71.4)	14/0 (28.0)	59/85 (69.4)
顔面神経痛	10/15 (28.6)	12/0 (24.0)	22/85 (25.9)
顔面神経腫	7/15 (20.0)	8/0 (16.0)	15/85 (17.6)
運動麻痺	21/15 (60.0)	25/0 (50.0)	46/85 (54.1)
感覚麻痺	13/15 (37.1)	13/0 (26.0)	26/85 (30.6)
腱反射亢進	4/15 (11.4)	11/0 (22.0)	15/85 (17.6)
腱反射減弱	4/15 (11.4)	1/0 (2.0)	5/85 (5.9)
バビンスキー反射	8/15 (22.9)	12/0 (24.0)	20/85 (23.5)
しめつけ感	4/15 (12.9)	6/0 (12.0)	10/81 (12.3)
有痛性強直性痙攣	1/11 (3.2)	1/0 (2.0)	2/81 (2.5)
臨床上新たに認められる病変			
頸痛	23/15 (65.7)	42/0 (84.0)	65/85 (76.5)
胸痛	13/15 (37.1)*	8/0 (16.0)	21/85 (24.7)
腰痛	1/15 (2.9)	1/0 (2.0)	2/85 (2.4)
MRI上の病変			
病変あり	29/15 (82.9)**	22/0 (44.0)	51/82 (62.2)
頸部	19/19 (65.5)	19/22 (86.4)	38/51 (74.5)
胸部	1/1 (29.1)	6/22 (27.3)	10/51 (19.6)
腰部	1/1 (29.1)	0/22 (0.0)	1/51 (2.0)
病変認められず	6/15 (17.1)**	15/47 (52.2)	11/82 (13.8)
高IgG血症	28/33 (84.8)	40/47 (85.1)	68/80 (85.0)
アレルギー特異的IgE			
ヤケヒコウヒダニ	27/31 (87.1)	16/41 (87.8)	61/72 (87.5)
コナヒコウヒダニ	27/31 (87.1)	16/41 (87.8)	61/72 (87.5)
花粉症	16/26 (61.5)	21/41 (51.5)	39/69 (56.5)
検査所見			
髄液細胞数	13/12 (40.6)*	3/28 (10.7)	16/60 (26.7)
6-50 (/mm ³)	12/12 (37.5)	3/28 (10.7)	15/60 (25.0)
51-100 (/mm ³)	1/12 (3.1)	0/28 (0.0)	1/60 (1.7)
蛋白増多	9/12 (28.1)	6/28 (21.4)	15/60 (25.0)
46-99 (mg/dl)	8/12 (25.0)	5/28 (17.9)	13/60 (21.7)
100-199 (mg/dl)	1/12 (3.1)	1/28 (3.6)	2/60 (3.3)

() 内は%。

* p<0.05, ** p<0.01 (全国調査により集積された症例と九大例の検査所見の比較で有意差を認めたもの)。

3) アトピー性脊髄炎の疾患感受性遺伝子の検討

アトピー性脊髄炎群における DRB1*1501, DPB1*0501 の保有率は、それぞれ 11.8% (6/34)、78.47% (26/34)であった。通常型多発性硬化症の疾患感受性遺伝子 DRB1*1501 の保有率は健常対照群 (14.2%、16/113) と比べ、有意差を認めなかった (p=0.5927)。一方、視神経脊髄型多発性硬化症の疾患感受性遺伝子 DPB1*0501 の保有率も健常対照群 (63.0%、58/92) と比べ、有意差を認めなかった (p=0.2026)。

表2：好酸球性脊髄炎の免疫組織化学的検討

症例	1	2	3	4	5
発症年齢性	35/男	12/男	34/男	26/男	5/男
アトピー性疾患	(-)	アトピー性皮膚炎 アレルギー性鼻炎 アレルギー性結膜炎	(-)	アレルギー性鼻炎	(-)
発症までの期間(月)	1	25	12	24	3
血清 IgG 濃度 (g/dl)	7.82	6.17	5.90	6.00	7.60
ヤケヒコウヒダニ IgG (IU/ml)	4.44	8.01	0.61	2.25	1.82
コナヒコウヒダニ IgG (IU/ml)	7.02	9.36	1.05	4.65	1.10
花粉症 IgG (%)	1.6	1.0	29.0	12.1	12.5
アトピー抗原	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
臨床経過	慢性性	慢性性	慢性性	慢性性	急性性
生筋筋力 (MMS)	2.0	2.0	2.0	2.0	3.5
脊髄液の好酸球数 ×10 ⁶ /μl (解凍)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
脊髄 MRI	C1-L	Th4-5	Th6-8	C1-3	C1-L
神経病理					
好酸球浸潤	(+)	(++)	(+)	(+)	(+++)
好酸球浸潤	(++)	NE	(++)	(+)	(+++)
液滴リンパ球					
免疫染色					
免疫染色	TrCD8⁺CD4⁺B	TrCD8⁺CD4⁺B	TrCD8⁺CD4⁺B	T	T
免疫染色	TrCD8	TrCD8	TrCD8	T	T
免疫染色	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
免疫染色	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
免疫染色	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
免疫染色	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)

4) PAF-AH の遺伝子多型の検討

血漿型 PAF-AH の遺伝子多型について、多発性硬化症、アトピー性脊髄炎、健常対照で比較検討したが、genotype、allele および phenotype frequency はいずれも患者-対照間で有意差を認めなかった。

考 察

先行するアトピー性疾患により、臨床症状および病変部位に有意な差異が認められた。アトピー性皮膚炎を背景に発症する脊髄炎は若年女性に好発し、頸髄病変が多いことが特徴である。また気道アレルギーを背景とする脊髄炎も頸髄病変が多く、このことは通常の脊髄炎が胸髄に好発することと対照的である。さらに、他のアトピー性疾患同様にその組織障害には活性化好酸球産物の関与が示唆された。したがって、背景となるアトピー素因が、このタイプの脊髄炎の発症機序に関与している可能性が考えられる。またアトピー性疾患を背景に発症する脊髄炎は視神経脊髄型多発性硬化症の疾患感受性遺伝子である DPB1*0501 と有意な相関はなく、免疫遺伝的背景の異なる疾患と考えられる。今後はモデルマウスの作成、解析による発症機序の解明が重要と考えられる。

結 論

アトピー性疾患と脊髄炎は偶然の合併ではなく、アトピー素因が脊髄炎の発症や病像の修飾に関与していると考えられた。

文 献

- 1) Kira J. et al. J Neurol Sci 148:199-203, 1997.
- 2) Kira J. et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry 64:676-679, 1998.
- 3) Kira J. et al. J Neurol Sci 162:56-61, 1999.

HAM の病態推移と HTLV-I プロウイルス量との関連性 に関する研究 —非組込型ウイルス DNA の存在—

分担研究者 出雲 周二
(鹿児島大学難治性ウイルス疾患研究センター)

研究要旨

HAM 患者の臨床症状と HTLV-I プロウイルス量の相関関係を長期追跡患者にて比較検討した。また非組込 DNA の存在とプロウイルス量についても比較検討した。長期追跡 HAM 患者 31 名の PBMC と同時採取できた 14 名の髄液を用いて定量 PCR を行い、この結果と患者の運動障害度・進行度を比較した。さらに inverse-PCR を用いたサザンプロット・塩基配列解析により非組込 DNA の有無を確認しこの結果とも比較した。プロウイルス量の分布は 0.3~40copy/100PBMC と広範囲にあったが、個々の症例では安定していた。運動障害度の悪化を示した多くの患者にその時期に一致したプロウイルス量の上昇を認めた。明らかな症状増悪を認める症例では、髄液でよりプロウイルス量が増加していた。一部の患者で非組込 DNA が検出できたが、これの有無と臨床症状との相関はなかった。プロウイルス量の一過性の上昇は HAM の活動性に関連があると思われた。PCR を用いたプロウイルス定量を行う場合は非組込 DNA を考慮に入れる必要もあると思われた。

HAM の病態推移と HTLV-I プロウイルス量との関連性に関する研究 —非組込型ウイルス DNA の存在—

竹之内 徳博¹、松岡 英二、山野 嘉久、宇宿 功市郎
中川 正法、納 光弘、出雲 周二

目 的

HAM 患者の PBMC 中の HTLV-I プロウイルス量は変動していることが報告されており、また HAM 患者の PBMC 中プロウイルス量は無症候性キャリアーのそれと比べて高値を示す傾向にあると報告されている。一方で HAM 患者の運動障害度は、急性・亜急性・緩徐進行性の様々な経過をたどりながら変動していく。これより我々はプロウイルス量の変動と臨床症状の変動には相関関係があるのではないかと仮説を立て、HAM 患者の運動障害度の重症度・進行度と PBMC 中 HTLV-I プロウイルス量が相関関係にあるかを長期追跡患者にて比較検討した。また髄液中 HTLV-I プロウイルス量についても HAM の病態と相関関係にあるかを末梢血中プロウイルス量と併せて比較検討した。

プロウイルス量変動の一つの要因としては感染細胞数の変動やリンパ球サブセットの変化が考えられるが、非組込型ウイルス DNA (非組込 DNA) の存在も考える必要があると思われる。今回我々は、非組込 DNA の存在の可能性とプロウイルス量との相関についても比較検討した。

対象および方法

研究 1 : 長期経過を追跡できた HAM 患者 31 名 (男 10 名、女 21 名) の経時的に凍結保存した末梢血リンパ球よりの抽出 DNA、及び HAM 患者 14 名 (男 2 名、女 12 名) の同時採取した髄液と血液よりの抽出 DNA を用いた。HTLV-I の pX 領域を標的として定量的 PCR を行い、これらの結果から患者の髄液及び PBMC におけるプロウイルス陽性細胞率を算出した。さらに患者の運動障害度と発症後経過年数を評価しこれらを比較検討した。

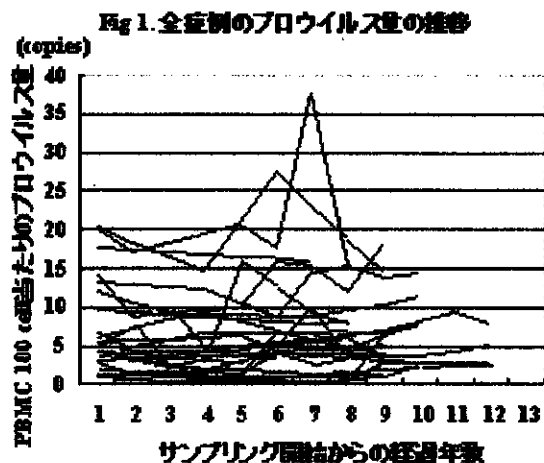
研究 2 : 感染細胞株 (MT2, MT1, HUT102)、HAM 患者及び ATL 患者の PBMC より DNA を抽出し、未消化のまま電気泳動を行った後ゲルを泳動距離ごとに一定の分画に分け、各分画より DNA を抽出し HTLV-I の pX 領域を標的として PCR を行い、非組込 DNA の有無を検索した。さらに HAM 患者 20 名において抽出 DNA を self-ligation させ、

inverse-PCR を用いた Southern blot 及び塩基配列解析により非組込 DNA の有無を確認した。患者のプロウイルス量や運動障害度・発症後経過年数を評価し非組込 DNA の有無と比較検討した。

今回の検討は HAM 患者、HTLV-I キャリアーの方から HAM 病態解析のために提供、保存された末梢血リンパ球を、各集団として分類したものを使用した

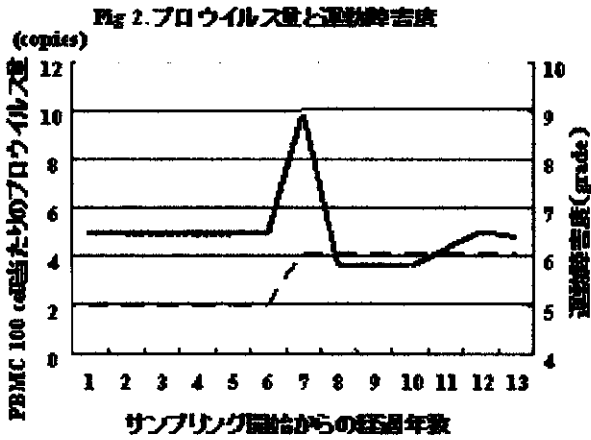
結 果

研究 1 : 髄液と PBMC の全てのサンプルからプロウイルスが検出された。PBMC プロウイルス量の分布は 0.3 ~ 37.8 copy/100 PBMC と広範囲にあったが、個々の症例ではプロウイルス高値の患者は高値のまま、低値の患者は低値のまま推移した (Fig 1)。



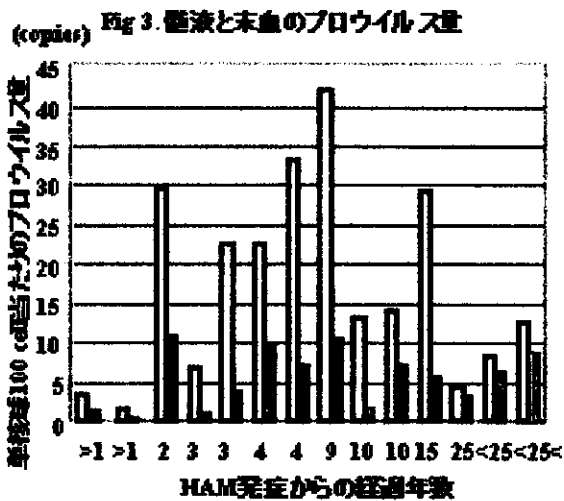
経過中に納の運動障害度スコアで 1 度以上の悪化のみられた患者は 31 名中 12 名であり、その時点で PBMC プロウイルス量の有意な変化を示した者は 10 名であった (例 Fig 2)。

¹ 鹿児島大学医学部難治性ウイルス疾患研究センター



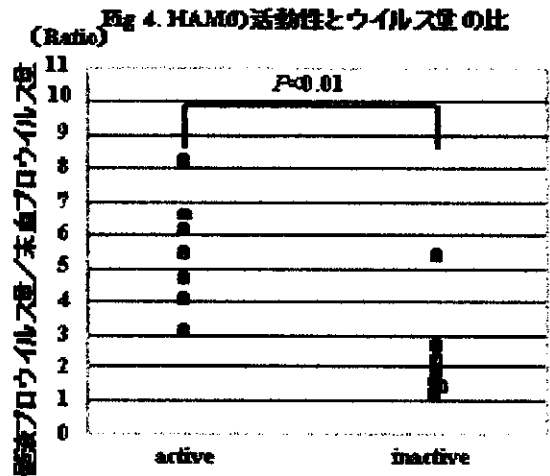
実線：プロウイルス量、点線：納の運動障害度

運動障害度の悪化時に治療目的でステロイドを投与された患者2名において、運動障害度の軽快と共にPBMCプロウイルス量の減少が認められた。末梢血単核球のプロウイルス陽性細胞率と比べて髄液単核球のプロウイルス陽性細胞率は10名中8名で有意に高く最大で約8倍となっていた (Fig 3)。



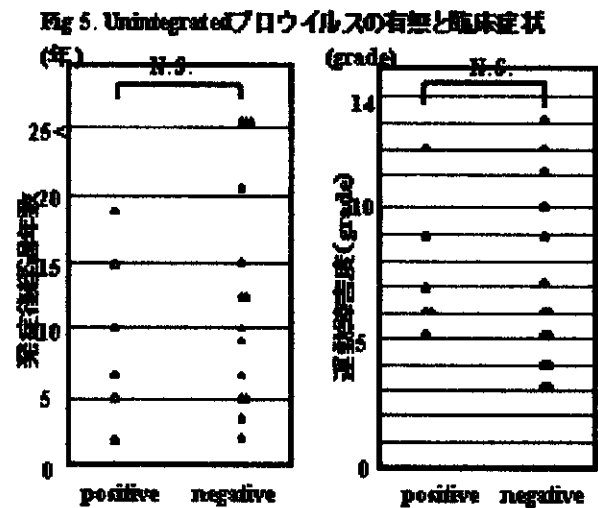
白線：髄液単核球中プロウイルス量
黒線：PBMC中プロウイルス量

明らかな症状増悪を認める症例では、髄液と末血のプロウイルス陽性細胞率の比が上昇している傾向にあった (Fig 4)。発症後経過年数と運動障害度については血中と髄液中のいずれにおいてもプロウイルス量と明らかな相関関係は認められなかった。



Active：サンプリング時に運動障害度の変化あり
Inactive：サンプリング時に運動障害度の変化なし

研究2：ゲル分画ごとのPCRでは感染細胞株及びHAM患者において40kpbs以上の分画と6~8kpbsの分画においてHTLV-I DNAが検出された。さらにinverse-PCRの結果、プロウイルス量30%以上の患者10名中4名に非組込DNAのinverse-PCR産物に一致する陽性バンドが検出され、プロウイルス量10%以下の患者においても10人中2人に検出された。非組込DNAの存在と臨床経過・プロウイルス量との間に有意な相関はなかった (Fig 5)。



Positive：非組込DNA検出 (+)
Negative：非組込DNA検出 (-)

考 察

各個人において基本的にはプロウイルス量は安定しており長期的な変動は小さいと考えられた。運動障害度の悪化が認められた患者の多くは、その時期に一致してプロウイルス量の上昇が認められた。これによりプロウイルス量の一時的な上昇は臨床症状の進行との関連が予想された。また末梢血と髄液中のプロウイルス量の比較から HAM の病態として病巣におけるプロウイルス量の上昇が存在することが確認された。発症後経過年数や症状の進行度との比較からプロウイルス量の上昇は発症初期や症状増悪期など活動期に認められ、プロウイルス量の低下と共に炎症の活動性も沈静化していくことが予想された。運動障害度と血中・髄液プロウイルス量との間に明らかな相関関係は認められなかった。運動障害の程度は、罹病期間や治療の状況、宿主側の免疫応答の強さ、年齢や性別、さらにはその人本来の運動能力とも関連が予想されるので、単純にはプロウイルス量に相関しないと考えられる。

生体内において非組込 DNA の存在が示唆された。プロウイルス量の多い症例で非組込 DNA の検出される頻度が多かったが、検出の有無と運動障害度・発症後経過年数との有意な相関はなかった。HAM の活動性との関連についても検討が必要と思われる。

まとめ

プロウイルス量の一時的な上昇は臨床症状の進行との関連が示唆され、プロウイルス量の経時的測定は HAM の病態把握に有用と思われた。非組込 DNA が生体内において存在する可能性が示唆され、PCR を用いたプロウイルス定量を行う場合このことを考慮に入れる必要もあると思われた。

文 献

- 1) Nagai M et al: Analysis of HTLV-I proviral load in 202 HAM/TSP patients and 243 asymptomatic HTLV-I carriers: high proviral load strongly predisposes to HAM/TSP. *J Neurovirol* 1998; 4: 586-593.
- 2) Nakagawa M et al: HTLV-I-associated myelopathy: analysis of 213 patients based on clinical features and laboratory findings. *J Neurovirol* 1995; 1: 50-61.
- 3) Kubota R et al: Fluctuation of HTLV-I proviral DNA in peripheral blood mononuclear cells of HTLV-I-associated myelopathy. *J Neuroimmunol* 1993; 42: 147-154.

HAM および HTLV-I キャリアにおけるサイトカイン／ケモカイン遺伝子多型の役割

分担研究者 梶 龍兒
(徳島大学医学部神経内科)

研究要旨

HAM における疾患感受性遺伝子を同定する目的でサイトカインを中心に遺伝子多型を解析した。また、HTLV-I 増殖を規定する宿主側の要因を検討する目的で HTLV-I キャリア (HC) における感染コピー数と遺伝子多型との関連も解析した。HAM は HC に比べて LT- α , TNFR-II, IL-6 の多型で偏りを認めた。HC におけるウィルス量と各多型との比較ではいずれも有意差を認めなかったが、MCP-1 と LT α の分泌亢進型アリルを合わせ持つと感染コピー数が増加する傾向を認めた。炎症性サイトカインの産生が Tax を介するなどしてリンパ球の活性化・増殖を促し、感染リンパ球の増殖に結びつく可能性が考えられる。今回の結果から HAM におけるサイトカイン遺伝子多型の重要性が示唆された。また、HC におけるウィルス感染量に影響する因子として、サイトカイン・ケモカインの関与が示唆された。

HAM および HTLV-I キャリアにおけるサイトカイン／ケモカイン遺伝子多型の役割

梶 龍児¹⁾ 西村公孝¹⁾ 松岡雅雄²⁾

背景

HTLV-I 感染者のうちの極く少数例のみが HAM を発症する機序は明らかでないが、宿主側要因が重要視されている。しかし、HLA を除いて宿主側の疾患感受性遺伝子の解析はほとんど進んでいない。HAM 発症には感染個体内でのウイルス量の増加と HTLV-I 感染細胞の脊髄への移行、脊髄組織での HTLV-I 感染細胞に対する強い免疫応答が生じ病巣形成へ、といった過程が想定されている。従って、HTLV-I コピー数の末梢血中での増加、すなわちウイルスの増殖を最小限に食い止められないことが HAM 発症の危険因子の一つとして考えられる。

目的

HAM における疾患感受性遺伝子を同定する目的でサイトカインを中心に遺伝子多型を解析した。また、HTLV-I 増殖を規定する宿主側の要因を検討する目的で、HTLV-I キャリア (HC) における HTLV-I 感染コピー数と遺伝子多型との関連も解析した。

方法

HAM 患者 65 例, HC143 例, HTLV-I-

seronegative Control(SNC)160 例につき、分泌量に差異を認めるプロモーター領域を中心に以下の 11 の遺伝子多型を解析した。1) サイトカインの tumor necrosis factor (TNF) の promoter -1031, 2) lymphotoxin (LT)- α first intron (NcoI), 3) TNF receptor (TNFR)-I promoter -383, 4) TNFR-II (M196R), 5) interleukin (IL)-1 β promoter -511, 6) IL-6 promoter -634, 7) IL-10 promoter -592, 8) transforming growth factor (TGF)- β 1 promoter -509, 9) ケモカインの monocyte chemoattractant protein (MCP)-1 promoter -2518, 10) 自然免疫に関与する mannose binding protein (ManBP) codon 54, および 11) インターフェロンで誘導される蛋白遺伝子 MxA promoter -88。また、HC におけるウイルスコピー数 (viral load) を ABI prism7700 半定量し、各多型毎に HTLV-I 感染量を比較した。

結果

HAM は HC および SNC に対して、LT- α , TNFR-II, IL-6 の多型で偏りを認めた (Table-1)。LT- α に関しては、むしろ分泌低下型とされるアリルが HAM で増加していた。その他の 8 つの多型では HC および SNC に比べて差は認めなかった。HC におけるウイルス量と各多型との比較ではいずれも有意差を認めなかったが、MCP-1 と LT α の分泌亢進型アリルを合わせ持つと

¹⁾ 徳島大学神経内科

²⁾ 京都大学ウイルス研究所感染免疫

Table-1 HAM患者における遺伝子多型

genotypes	Controls n=160	Carriers n=143	HAM n=65	p value (HAM vs Carriers)	p value (HAM vs Controls)
LT-α (NcoI)					
A/A	57(35.6)	64(45.7)	27(41.5)	0.0074	0.075
A/G	78(48.8)	50(35.7)	35(53.8)		
G/G	25(15.6)	26(18.6)	3(4.6)		
TNFR-II					
MM	113(70.6)	111(77.6)	60(92.3)	0.028	0.002
MR	42(26.3)	30(21.0)	4(6.2)		
RR	5(3.1)	2(1.4)	1(1.5)		
IL-6-634					
C/C	100(62.5)	88(61.5)	25(38.5)	0.0071	0.0033
C/G	49(30.6)	46(32.2)	35(53.8)		
G/G	11(6.9)	9(6.3)	5(7.7)		

Table-2 Carriers における HTLV-I proviral load-1

genotypes	Proviral load (/100 PBMC)	No. of carriers n=143	p value
LT-α(NcoI)			
A/A	4.9 \pm 7.1	n=64	NS
A/G	3.6 \pm 4.2	n=50	
G/G	7.0 \pm 10.7	n=26	
MCP-1			
A/A	4.1 \pm 4.0	n=14	NS
A/G	4.0 \pm 6.3	n=66	
G/G	5.9 \pm 8.3	n=62	
MCP1 x LTα			
GG and GG	12.5 \pm 16.8	n=9	p =0.021 ANOVA(df=6)
others	4.3 \pm 5.7	n=130	

HTLV-I 感染コピー数が増加する傾向を認めた (Table-2)。HAM のリスクとなるアリルとキャリアにおける感染コピー数の増加とは相関はみられなかった。

考 察

HAM に限らず、種々のウイルス感染症において、ウイルスの宿主での過剰な増殖・増加が感染症や合併症の重要な要因となることが知られてい

る。今回遺伝子多型のスクリーニングでは、サイトカイン(LT- α)とケモカイン(MCP-1)の分泌亢進型アリルを有するキャリアがウイルスコピー数の増加傾向を示した。一方、HAM では LT- α の分泌低下型アリルが増加しており、LT- α の HAM における役割は、ウイルスコピー数増加とは異なった局面で作用することが示唆された。

サイトカイン・ケモカインの HTLV-I 増殖に関与する機序は不明であるが、今回の結果から、炎症性サイトカインの産生が Tax を介するなどしてリンパ球の活性化・増殖を促し、感染リンパ球の増殖に結びつく可能性が考えられる。あるいは、炎症性サイトカインの過剰産生が胸腺レベルでのナイーブ T リンパ球の減少を招き、免疫抑制状態となって HTLV-I 感染細胞の増殖を許すといった機序も想定可能と思われる。

今回の結果より HAM におけるサイトカイン遺伝子多型の重要性が示唆された。また、HC におけるウイルス感染量に影響する因子として、サイトカイン・ケモカインの関与が示唆された。

HAM 患者末梢血単核球における T-bet 発現の検討

分担研究者 中村 龍文

(長崎大学大学院医学研究科感染分子病態学)

研究要旨

HTLV-I associated myelopathy (HAM)患者における免疫学的基盤を Th1/Th2 (T-bet/GATA-3)特異的転写因子の角度から検索する目的で、HAM および対照患者末梢血単核球にて双方の転写因子 mRNA 発現を比較検討した。定性的 RT-PCR 法を用いた T-bet/GATA-3 mRNA の発現を検討では、HAM 患者では GATA-3 mRNA の検出率は低下していた。さらに、双方の転写因子 の発現と血清 IFN- γ 値の関係を解析した結果、IFN- γ 値が高値の場合、対照 患者では T-bet、GATA-3 mRNA 共に検出されたが、HAM 患者では T-bet mRNA のみしか検出されなかった。これらの結果は HAM 患者末梢血における Th1 への immune deviation には T-bet/GATA-3 mRNA 発現のアンバランスが一因となっている可能性を示している。

HAM患者末梢血単核球における T-bet 発現の検討

中村龍文¹⁾ 西浦義博²⁾ 森内良三¹⁾ 片峰 茂¹⁾

調 漸²⁾ 江口勝美²⁾

目 的

これまで我々は、HTLV-I associated myelopathy (HAM) 患者末梢血CD4陽性Tリンパ球では組織浸潤能の亢進及びインターフェロン- γ (IFN- γ) 発現の亢進などといったTh1の性質を持ったリンパ球が増加し、このTh1へのimmune deviationがHAMの発症あるいは病態形成に重要な役割を果たしている可能性を報告してきた(1)。さらに最近、我々はHAM患者末梢血CD4陽性Tリンパ球群では、まさにTh1細胞といえるインターロイキン-12レセプター陽性細胞やセレクチン・リガンド陽性細胞が増加していることを明らかにした(2, 3)。しかし、なぜHAM患者末梢血でこのようなTh1へのimmune deviationが起きるのか詳細はいまだ不明である。昨年、Szaboらにより報告されたT-boxファミリーに属するTh1特異的転写因子T-betは、ヘルパーTリンパ球群におけるTh1への分化の鍵として注目されている(4)。そこで、今回我々はHAM患者末梢血単核球におけるT-betのmRNA発現を検索するとともに、Th2への分化を促すと既に報告されているTh2特異的転写因子GATA-3のmRNA発現についても検索し、血清中IFN- γ 値との関係について検討した。

対象と方法

対象：7例のHAM患者（すべて女性、38～68歳）を対象とし、10例の他の神経疾患患者（男性2例、女性8例、2例のHTLV-Iキャリアーを含む、44～71歳）を対照患者とした。

方法：HAM患者および対照患者末梢血よりFicoll-

1)長崎大学・院・感染分子病態学, 2)長崎大学医学部第一内科

Conray法にて末梢血単核球を分離しRNAを抽出、RNAはDNaseで処理後、cDNA合成に用いた。T-bet, GATA-3, β 2-microglobulin (internal control) それぞれのmRNAの発現は定性的RT-PCR法にて解析した。T-betについてはAdvantage 2 Polymerase Mix (Clontech laboratories, Inc.) を用いてhot start PCRを、GATA-3, β 2-microglobulinについてはstandard PCRを行った。また、同時に得られた血清を用い、ELISA法にて血清中のインターフェロン- γ (IFN- γ)値を測定した。

結 果

1, HAMおよび対照患者末梢血単核球におけるT-bet, GATA-3 mRNA発現の検出：
末梢血単核球におけるT-bet mRNAの発現は、HAM患者では7人中6人、対照患者では10人中9人で検出された。GATA-3 mRNAの発現は、HAM患者では7人中3人、対照患者では10人中7人で検出された(表1)。

表 1.

HAM患者, 対照患者末梢血単核球における
T-bet, GATA-3 mRNAの検出

	T-bet		GATA-3	
	(+)	(-)	(+)	(-)
HAM	6/7	1/7	3/7	4/7
Control	9/10	1/10	7/10	3/10

このように、T-bet mRNA発現の検出率はHAM患者と対照患者間で差はなかったものの、GATA-3 mRNAに関しては、HAM患者では対照患者に比較して、検出率が低い傾向にあった。次に、双方の転写因子のmRNA発現の検出率との関係でHAM患者および対照患者を比較すると、表2に示すように、HAM患者では対照患者に比較してT-bet mRNAのみが検出される症例が多かった。しかし、T-bet、GATA-3 mRNA双方の発現についてはHAM患者では7人中2例でのみ検出されたにもかかわらず、対照患者では10人中6例で検出された。

表 2.

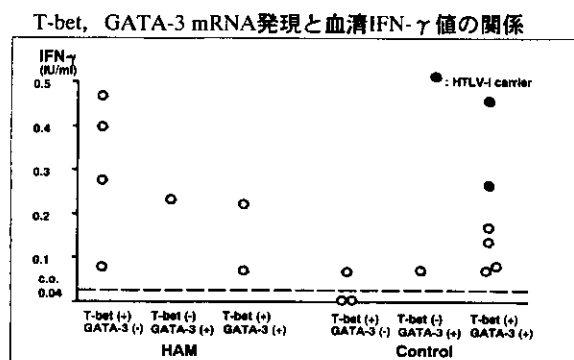
HAM患者、対照患者末梢血単核球における
T-bet、GATA-3 mRNAの検出

	T-bet (+) GATA-3 (-)	T-bet (-) GATA-3 (+)	T-bet (+) GATA-3 (+)	T-bet (-) GATA-3 (-)
HAM	4/7	1/7	2/7	0/7
Control	3/10	1/10	6/10	0/10

2. T-bet、GATA-3 mRNAの検出と血清IFN- γ 値との関係

図1に示すように、HAM患者ではT-bet mRNAのみ検出できる群で血清IFN- γ 値が高い傾向を示した。一方、対照患者では(特にHTLV-Iキャリアー)血清IFN- γ 値が高値を示すにもかかわらず、T-bet、GATA-3 mRNA双方が検出される傾向にあった。

図 1.



考察と結論

今回の定性的RT-PCR法によるT-bet、GATA-3 mRNAの検出率の解析において、HAM患者末梢血単核球では対照患者に比較して、T-bet mRNAの発現自体には差はないものの、GATA-3 mRNAは発現しにくいことが明らかにされた。すなわち、HAM患者の免疫系におけるTh1へのimmune deviationの一因としてTh2特異的転写因子の発現能の低下が関与している可能性が考えられる。さらに、血清IFN- γ 値との関係で双方の転写因子の発現をみても、血清中IFN- γ の値が高値の場合、対照患者(特にHTLV-Iキャリアー)ではGATA-3のmRNAは検出できたが、HAM患者ではGATA-3 mRNAは検出できなかった。すなわち、生理的な状態ではTh1サイトカインであるIFN- γ の発現が亢進する時、Th2とのバランスをとるためにGATA-3の発現も高まるものと考えられるが、HAM患者ではそのような状況下でもGATA-3の発現能が低下している可能性が考えられた。これらの結果は、HAM患者末梢血における high HTLV-I proviral loadを基盤とした cytokine networkの dysregulationそのものに起因しているのか、あるいはHAM患者でのgeneticなbackgroundに起因しているのかは不明である。今後のさらなる検討を必要としている。

まとめ

HAM患者末梢血単核球ではTh1/Th2特異的転写因子であるT-bet/GATA-3 mRNA発現のアンバランスが生じ、このことがHAM患者末梢血の免疫系におけるTh1へのimmune deviationの一因となっている可能性が考えられた。

文献

- 1) Nakamura T. et al. Importance of immune deviation toward Th1 in the early immunopathogenesis of human T-lymphotropic virus type I-associated myelopathy. *Med Hypotheses* 2000; 54: 777-782.
- 2) Fujimoto T. et al. Up-regulation of interleukin-12 receptor expression in peripheral blood mononuclear cells of patients with HTLV-I-

associated myelopathy / tropical spastic paraparesis. *J Neurol Sci* 2002;in press.

- 3) Kambara C. et al. Increased sialyl Lewis^x antigen-positive cells mediated by HTLV-1 infection in peripheral blood CD4+ T lymphocytes in patients with HTLV-1-associated myelopathy. *J Neuroimmunol* 2002;in press.
- 4) Szabo S.J. et al. A novel transcription factor, Tbet, directs Th1 lineage commitment. *Cell* 2000; 100: 655-669.

HTLV-I ウイルス量と HAM 発症関連宿主要因 の関連について

分担研究者 宇宿 功市郎
(鹿児島大学医学部医療情報管理学)

研究要旨

HAM 発症には宿主要因として、発症抑制に関する HLA-A*02、Cw*08、発症促進に関する HLA-DRB1*0101、B*5401 が明らかとなり、ウイルス側の要因では、HTLV-I TAX のサブタイプが存在を世界ではじめて明らかにした。重回帰分析では検討した集団の 80%において、HAM もしくはキャリアの予想が可能であった。非 HLA 要因の解析では、サイトカイン(TNF- α -863A)多型が HAM 発症の危険率を上げ、特に HTLV-I ウイルス量が高い患者群でより強いことが判明した。また SDF-1-801A 3'UTR が HAM 発症の危険率を下げ、HTLV-I ウイルス量の低下している群に多いことが示された。HLA のみの解析と同様に、重回帰分析による発症予測についての解析を加えた結果、本コホートにおいて、HAM 発症に関し 88%の症例で予測可能となった。

HTLV-I ウイルス量と HAM 発症関連宿主要因の関連について

宇宿 功市郎 斎藤 峰輝 松元 渉 栄楽 信隆
古川 良尚 児玉 大介 納 光弘

目的

我々のこれまでの検討から、HAM は HTLV-I 感染者の 1%前後に発症し、個体内の HTLV-I ウイルス量は HTLV-I 感染未発症者(キャリア)の 7~16 倍に増加していること、このウイルス量は HAM 発症者家族のキャリアにおいても家族歴のないキャリアより高いこと、感染ウイルス量が末梢血リンパ球の 1%以上になると HAM 発症の危険率が等比級数的に上昇することがわかってきている。これらに加えて HAM 発症には宿主側の要因として、HLA-A*02、Cw*08、HLA-DRB1*0101、B*5401²⁾が明らかとなり、前二者は発症抑制に、後二者は発症促進に作用している。今回は HTLV-I ウイルス量と、これら因子と HAM 発症の関連について検討を行った。あわせて HLA 以外の宿主要因ならびに HTLV-I ウイルス量から見た HAM 発症の危険因子についての検討を加え発症予測がどの程度可能かについても検討した。

方法・対象

HAM 224 例、HTLV-I キャリア 202 名を対象として、HTLV-I プロウイルス定量を行った。ウイルス定量は、既報の Prism7700 を用いた定量的 PCR 法により行っている。宿主要因としては、HLA タイピングを行い、これまでに報告されている DNA タイピング法で行った。更に非 HLA の宿主要因の解析を 58 部位に関して行い、HTLV-I ウイルス量と対比した。解析は 100 例ごとに行い、この段階で有意差が認められた場合に症例数を増して解析した。51 部位が 100 例ごとの解析で有意差がないことが判明し、16 部位が全例解析まで行われた。

これらの宿主要因の解析と平行して、ウイルス側の要因としては、HTLV-I Tax のサブタイプを解析した。

また HAM 発症の危険率はこれまでの検討から HTLV-I ウイルス量で異なっているが、HAM とキャリアを区別できる可能性のある HTLV-I ウイルス量についてはこれまでに検討はあまりみられていない。このことを解決するために、0.5%ごとに HAM 発症数、HTLV-I キャリア数を算出し、ROC 曲線を描画後に、cut off 値を算出した。その値で HAM 群、キャリア群を各々 2 群に分け、前記の要因の HAM 発症への関与を検討

した。以上の検討に加えてこれらの要因を使い、重回帰分析を行い、HAM 発症予測の可能性を検討した。

結果

まずウイルス側の要因であるが、HTLV-I Tax のサブタイプが HAM 発症に関連していることを世界ではじめて明らかにした¹⁾。

ROC 曲線からは、HTLV-I ウイルス量 2%で、感度 80%以上、特異度 80%以上で HAM 群とキャリア群を区別できることが明らかとなった(図)。HLA-DRB1*0101 は、HAM 群でキャリア群より高頻度に見られた($\chi^2=4.45$, Odds ratio 1.80 95% C.I. 1.04-3.11, $p=0.03$)が、この傾向は、HTLV-I ウイルス量 2%以下の HAM 群で強く見られ($\chi^2=4.18$, Odds ratio 2.4 95% C.I. 1.02-5.67, $p=0.04$)、2%以上群では認められなかった。HLA-A*02 は、HAM 群でキャリア群より有意に頻度が低く($\chi^2=17.12$, Odds ratio 0.44 95% C.I. 0.29-0.65, $p=3 \times 10^{-5}$)、これは HTLV-I ウイルス量 2%以下群で顕著であった($\chi^2=6.73$, Odds ratio 0.39 95% C.I. 0.19-0.81, $p=0.008$)。2%以上群ではこの関係は認められなかった。HLA-B*54 では、HAM 群で有意に頻度が高く($\chi^2=12.46$, Odds ratio 2.43 95% C.I. 1.47-2.00, $p=0.0004$)、この傾向は、HTLV-I ウイルス量 2%以上の HAM 群で強く見られ($\chi^2=8.45$, Odds ratio 7.5 95% C.I. 1.74-32.30, $p=0.003$)、2%以下群では認められなかった。また、HAM 発症の予測が可能かを解析したわけであるが、要因の有無をダミー変数に置き換え、重回帰分析を行った。これにより、今回の集団の 80%において、HAM もしくはキャリアの予想が可能であった(表。HAM75%、Carrier87%)。

次に、非 HLA 要因の解析では、サイトカイン TNF- α (-863A) 多型が HAM 発症の危険率を上げ、特に HTLV-I ウイルス量が高い患者群でより強いことが判明した。また *SDF-1-801A 3'UTR*($2P=0.0021$, Fisher's exact test, $\chi^2(1DF)=9.49$, OR 1.6 95% CI 1.2-2.1)が HAM 発症の危険率を下げ、*IL-15 191C* ($2P=0.0323$, Fisher's exact test, $\chi^2(2DF)=6.87$)は、HTLV-I ウイルス量の低下している群に多い($P=0.005$, ANOVA; $P=0.0083$, Mann-Whitney)ことが示された。

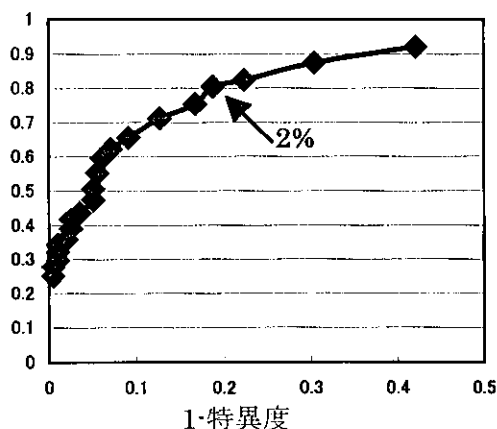


図:HTLV-Iプロウイルス量 ROC 曲線 HTLV-Iプロウイルス量 0.5%毎のHAM患者である感度と特異度より曲線を描いた

	回帰係数	標準誤差	t値	P値	95%下限	95%上限
定数項	-0.70587	0.090514	-7.79852	5.04E-14	-0.88379	-0.52795
Sex	-0.14201	0.083242	-1.70596	0.088759	-0.30563	0.021618
TaxSquare	0.043319	0.003023	14.32805	3.68E-38	0.037376	0.049261
DR1	0.26867	0.110956	2.421422	0.015885	0.05057	0.486771
TaxSubtype	0.352466	0.136216	2.587544	0.010003	0.084712	0.62022
A2	-0.16283	0.08441	-1.92908	0.054397	-0.32876	0.003087
B54	0.146665	0.099938	1.467551	0.142978	-0.04978	0.343109
Cw8	-0.05793	0.111578	-0.51923	0.603877	-0.27726	0.16139

表:重回帰分析結果。 TaxSquare:ウイルス量の平方根。 TaxSubtype:HTLV-I Tax Subtype。

考察

これまでも世界各地で、HTLV-IのサブタイプがHAM発症に関連する要因ではないかと考えられ検索されたが、どれもよい結果は出ていなかった。今回我々は鹿児島という地の利を活かしたか解析を行うことで初めて、HAM発症要因としてのHTLV-I Tax サブタイプの存在を明らかにした。これまでの研究で解析が不十分であったのは、ある特定の cohorts が存在する地域での HTLV-I サブタイプの偏在が原因であった。この点で、鹿児島は特別の地域であった。以前からの検討で本州にはタイプ B が多く、沖縄にはタイプ A が、鹿児島には HTLV-I のタイプ A とタイプ B が混在して存在することが示されており、我々が見出した HTLV-I Tax のサブタイプもこれと

同様の混在を示し、尚かつ HAM 発症への関連が Tax subtype A で示された。この subtype A はカリブ海沿岸の HTLV-I 感染者に見られるタイプであり、キャリアから HAM 発症が日本に比し高いカリブ海沿岸地域の発症要因解明に多大の影響を与えるものだと考えている。

今回の検討では、HTLV-I ウイルス量がより低い群で関連する因子、より高い群で関連する因子が存在することが示されたわけであるが、免疫応答の段階で関与するものか、連鎖する他の要因に関与しているものか、興味を持たれた。また、回帰分析では、今回の集団の 80%において予測が可能であったわけで、HLA 以外の宿主因子の解析を加え、より精度の高い予測が出来るものと考えられた。

さて、非 HLA 宿主因子の解析は、候補遺伝子解析を今回のコホートで行ったわけであるが、これは以下の理由による。

1)これまでの HAM 病態解明の研究から免疫反応に関係する因子、サイトカインの機能に関係する因子の解析が可能かつ重要であること、2)この方法で候補マーカーの解析が可能で感染があること(マラリア、髄膜炎菌感染)、3)家系内 HAM 多発の家系が少なく、家系解析が不十分であることによる。この解析でも、HLA のみの解析と同様に、重回帰分析による発症予測についての解析を加えた。この結果、本コホートにおいて、HAM 発症に関し 88%の症例で予測可能となった。

以上のように HTLV-I 感染後の状態は、宿主の要因、ウイルス側の要因によるわけであるが、今回よりウイルス量の高い群で、発症に関連する危険因子が明らかとなったことは極めて興味深い。このことは HAM 発症に関する HTLV-I ウイルス量に閾値があることを示唆しており、これまでの末梢血リンパ球の 1%以上に HTLV-I ウイルスが感染すると等比級数的に HAM 発症の危険率が増すことに対応していると考えられた。SDF-1-801A 3'UTR は、HIV-1 感染ではその感染の進行と関連し、これは CXCR4 の共有受容体との関連が指摘されているが、HTLV-I 感染ではこのようなことは報告されておらず、関連のあるメカニズムは不明である。IL-15 191C は、HAM 発症の危険率は下げなかったが、HTLV-I ウイルス量の低下と関連していた分けであるが、IL-15 が CTL と NK 細胞の維持に重要であることを考えると、この CTL により HTLV-I ウイルス量が軽減されたのかもしれないと考えている。

まとめ

HAM 発症に関連する要因を、宿主側、ウイルス側から明らかにし、ウイルス量と HAM 発症の関連を更に詳しく解析し、併せて HAM 発症予測が可能であるデータの蓄積が出来たこ

とは、今回の研究成果では最大の成果である。この点から考えて、満足のいくものであったと考えている。

文献

- 1) Furukawa Y, Yamashita M, Usuku K, et al. Phylogenetic subgroups of human T cell lymphotropic virus (HTLV) type I in the tax gene and their association with different risks for HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Infect Dis.* 2000 182:1343-1349.
- 2) Jeffery KJ, Usuku K, Hall SE, et al. HLA alleles determine human T-lymphotropic virus-I (HTLV-I) proviral load and the risk of HTLV-I-associated myelopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96:3848-3853.
- 3) Jeffery KJ, Siddiqui AA, Bunce M, et al. The influence of HLA class I alleles and heterozygosity on the outcome of human T cell lymphotropic virus type I infection. *J Immunol.* 2000 165:7278-7284.