

Seronegative (抗AChR 抗体陰性・抗MuSK 抗体陰性)MG の passive transfer

分担研究者 松尾秀徳¹⁾

共同研究者 福留隆泰¹⁾、本村政勝²⁾、近藤誉之¹⁾、澁谷統壽¹⁾、田中竜太³⁾、佐藤 卓⁴⁾

研究要旨

全身型重症筋無力症 (MG) の病因となる抗体として、抗アセチルコリンレセプター (AChR) 抗体や抗 muscle-specific receptor tyrosine kinase (MuSK) 抗体が知られている。われわれは、抗 MuSK 抗体陽性 MG 患者の IgG をマウスにパッシブトランスファーすることで抗 AChR 抗体陽性 MG 患者と同様の神経筋伝達障害を呈することを報告している。今年度は、両抗体が共に陰性の MG 患者 IgG が神経筋伝達に及ぼす作用について検討した。両抗体が共に陰性患者の IgG でも抗 AChR 抗体陽性患者の IgG と類似した神経筋伝達障害を呈することが示され、抗 AChR 抗体や抗 MuSK 抗体以外の病因となる抗体の存在が示唆された。

研究目的

抗アセチルコリンレセプター (AChR) 抗体や抗 muscle-specific receptor tyrosine kinase (MuSK) 抗体が陰性の全身型重症筋無力症 (MG) 患者 IgG が神経筋伝達に及ぼす作用について検討する。

研究方法

症例 1: 8 歳男児。生後より上気道炎などに伴い呼吸状態が悪化し 5 歳までに 28 回の入院歴がある。その後呼吸状態は改善したが、歩行障害が出現し徐々に増悪。眼症状や日内変動を認めなかったが、テンシロンテスト陽性で低頻度反復刺激による M 波減衰 (23%) を認めた。抗 AChR 抗体および抗 MuSK 抗体陰性。胸部 CT で胸腺腫なし。先天性筋無力症候群との鑑別が問題となったが、プレドニゾロン 60mg 投与で筋電図所見と臨床症状は共に改善した。

症例 2: 56 歳男性。眼瞼下垂と筋力低下を主訴に入院。球症状と呼吸機能障害も認めた。テンシロンテスト陽性で低頻度反復刺激による M 波減衰 (20%) を認めた。抗 AChR 抗体および抗 MuSK 抗体陰性。胸部 CT で胸腺腫なし。クラーゼを発症したが単純血漿交換で改善した。

上記 2 名の患者血清から IgG を精製し、8~10 週齢の BKTO マウスへ静注。36~48 時間後に横隔膜神経筋標本を作成し微小電極法を用いて MEPP と EPP を記録した。

また、症例 1 では左上腕二頭筋生検を行い神経筋接合部の形態についても検討した。

研究結果

微小電極記録 (表 1) において、症例 1 では MEPP 振幅 (amp)= 0.94 ± 0.06 mV、EPP quantal content (m)= 40.6 ± 4.5 、症例 2 では amp= 0.63 ± 0.02 、 $m=36.6 \pm 2.3$ であった。いずれも正常コントロールと比較して MEPP 振幅が有意に低下していたが、EPP quantal content には差がなかった。

症例 1 の筋生検では、type 2C 線維が増加し type 2B 線維が欠損していた。また、運動終板では α -bungarotoxin に対する染色性は保たれており IgG や補体 (C₃) の沈着も認めなかった。電顕像 (図 1) ではシナプス間隙の開大は認めなかったが、膜構造が単調化していた。

表 1. 微小電極記録の結果

	MEPP 振幅 (mV)	EPP quantal content
Control (n=3)	1.35 ± 0.06	35.5 ± 2.9
抗 AChR 抗体陽性 MG (n=3)	0.74 ± 0.08*	39.9 ± 3.4
抗 MuSK 抗体陽性 MG (n=4)	0.88 ± 0.05*	35.2 ± 3.7
症例 1	0.94 ± 0.06*	40.6 ± 4.5
症例 2	0.63 ± 0.02*	36.6 ± 2.3

*P<0.01

図 1. 症例 1 の電顕像



¹⁾NHO 長崎神経医療センター神経内科 ²⁾長崎大学第一内科 ³⁾筑波大学臨床医学系小児科 ⁴⁾NHO 仙台医療センター神経内科

考察

抗 MuSK 抗体は抗 AChR 抗体が陰性の全身型重症筋無力症 (MG) の病因抗体として注目されているが、その発症機序は明らかにされていない。患者 IgG をマウスに受動免疫すると抗 AChR 抗体陽性患者 IgG を受動免疫した場合と類似した神経筋伝達阻害を呈する (表 1)。しかし、抗 AChR 抗体陽性 IgG と異なりその作用には補体が関与していないことを昨年度の班会議で報告した。形態学的には、患者生検筋の運動終板においてシナプス構造の破壊や AChR 数の減少は目立たない。また、IgG や補体 (C3) が沈着する例も少なく、抗 AChR 抗体陽性の MG と異なっている。

今回、2 例の抗 AChR 抗体と抗 MuSK 抗体が共に陰性の MG 患者 IgG をマウスに受動免疫して神経筋伝達に及ぼす作用を検討した。MEPP 振幅は有意に低下するものの EPP quantal content には変化が無く、抗 AChR 抗体が陽性の MG 患者 IgG と類似した所見を得た。症例 1 ではプレドニゾロンの投与で臨床症状と筋電図所見が改善しており、症例 2 では単純血漿交換でクリーゼを離脱していることとあわせて、これらの 2 症例の発症には液性因子の関与が考えられた。

症例 1 で認めた運動終板の形態学的変化は抗 MuSK 抗体陽性の MG 患者の所見と類似しており、発症には補体の関与が無いことが推定された。

抗 ryanodine 抗体や抗 titin 抗体の測定は行っていないが、これらの抗体が陽性の患者は胸腺腫を合併していることや高齢であることから、陽性の可能性は低いと考えられた。

結論

全身型重症筋無力症の病因として、抗 AChR 抗体や抗 MuSK 抗体以外の抗体が存在する可能性が示唆された。

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

重症筋無力症 IgG が骨格筋培養細胞の遺伝子発現ならびに アセチルコリン受容体クラスター形成に及ぼす影響

分担研究者 吉川弘明¹⁾²⁾³⁾
共同研究者 福岡千晴³⁾、高岡静香³⁾、枝廣茂樹¹⁾、古川 裕¹⁾、丸田高広¹⁾
岩佐和夫¹⁾、山田正仁¹⁾

研究要旨

重症筋無力症 (MG) の自己抗体による筋細胞機能への影響を調べるため、seronegative MG (SNMG) 3 例、seropositive MG (SPMG) 7 例の血清から IgG を精製し、ラット骨格筋培養細胞 L6 に添加して共焦点レーザー顕微鏡によるアセチルコリン受容体 (AChR) cluster の観察、ならびに DNA マイクロアレイによる遺伝子発現の解析を行った。SNMG IgG には AChR cluster に変化を与えない群と減少させる群があったが、SPMG IgG は AChR cluster を著明に減少させた。遺伝子発現変化を階層型クラスター解析すると SNMG と SPMG は別の群に分類され、thymoma 合併群、非合併群も遺伝子発現パターンが異なることがわかった。MG IgG の筋細胞への影響は、患者臨床像により異なることが示された。

研究目的

重症筋無力症 (MG) の自己抗体は、神経筋接合部シナプス後膜上のニコチン性アセチルコリン受容体 (AChR) に対する自己抗体の他に、Muscle-specific receptor tyrosine kinase (MuSK) に対するものが知られるようになり、自己抗体は標的抗原の点において多様性に富んだものであることが予想される。自己抗体を加えた時の AChR cluster 形成に及ぼす影響と骨格筋細胞の遺伝子発現に及ぼす変化を対比させて検討し、抗体の特異性を調べることを目的とした。

研究方法

金沢大学附属病院神経内科で診断・治療された 10 名の患者 (seropositive MG (SPMG) 患者 7 名

(正常胸腺 1 名、過形成胸腺 4 名、胸腺腫 2 名)、seronegative MG (SNMG) 患者 3 名 (MuSK 抗体は陰性、長崎大学第一内科 本村政勝 先生、白石裕一 先生)) の血清から IgG を精製した。ラット骨格筋培養細胞 L6 は、分化誘導培地により筋管細胞に分化させて使用した。培養液に患者または正常コントロール IgG を添加 24 時間後に AChR cluster を観察した。培養細胞を 4% パラフォルムアルデヒドで固定の後、Alexa 488-conjugated α -bungarotoxin で染色し、LSM5 PASCAL (Carl Zeiss) で観察した。

DNA マイクロアレイ解析のために、L6 に患者もしくは正常 IgG 添加後 24 時間の total RNA を抽出した。Low RNA Input Fluorescent Linear Amplification Kit (Agilent) を用いてラベルし、Rat Oligo DNA Microarray Kit (Agilent) にハイブリダイズさせた。スポットを Microarray Scanner

1) 金沢大学大学院 脳老化・神経病態学 (神経内科)

2) 金沢大学保健管理センター

3) 金沢大学大学院 自然科学研究科

(Agilent) で読み取った後、Cluster 3.0 により階層型クラスター解析を行い、Java Tree View により視覚化するとともに、BRB-Array Tools により解析した。

研究結果

CFM の観察では、SPMG 患者 IgG 添加により、AChR cluster は著明に減少した。一方、SNMG 患者 IgG 添加群では、AChR cluster が減少する例と変化の乏しい例があった。階層型クラスター解析では、SPMG と SNMG は別のクラスターを形成し、胸腺腫合併群はさらに一つのクラスターを形成することがわかった。Class Comparison では、胸腺腫合併 MG の IgG 添加群では、脂質代謝関連の遺伝子発現が亢進していた (表 1)。

考察

SNMG における MuSK 抗体陽性者は、日本人の場合 25~40%といわれているが、MuSK 抗体陰性の SNMG 患者は、MuSK 以外の神経筋接合部分子を標的とした自己抗体を持つ者がいると思われる。一方、SPMG における AChR 抗体価と臨床重症度の相関は乏しく、それが抗体の認識するエピトープの違いによるものか、抗体の抗原に対するアフィニティーの差によるものかは明らかではない。我々は、患者 IgG によるラット骨格筋培養細胞の AChR cluster 形成、ならびに遺伝子発現に及ぼす影響を検討した。その結果、SPMG の IgG は全例 AChR cluster 形成を強く阻害したが、SNMG では AChR cluster 形成に影響を与えないものと、SPMG と同様な cluster 減少効果を持つものがあつた。一方、DNA マイクロアレイによる遺伝子発現結果を階層型クラスター解析した

結果では、SPMG 群と SNMG 群では別のクラスターを形成し、SPMG 群の胸腺腫合併例はさらに一つの群になることがわかった。胸腺腫合併 SPMG IgG 添加により、筋細胞では脂質代謝関連遺伝子の発現増加が見られることより、筋細胞に及ぼす自己抗体の作用にも今後注目する必要があると思われた。

結論

MG 患者 IgG が筋細胞の AChR cluster 形成、遺伝子発現に及ぼす影響は臨床病型により多彩である。

表 1

GO id	GO classification	Observed/Expected
<i>Molecular Function</i>		
0016491	oxidoreductase activity	2.78
<i>Biological Process</i>		
0016126	sterol biosynthesis	35.74
0006694	steroid biosynthesis	33.88
0016125	sterol metabolism	22.87
0008202	steroid metabolism	17.94
0008610	lipid biosynthesis	16.6
0006066	alcohol metabolism	8.17
0009059	macromolecule biosynthesis	6.69
0006629	lipid metabolism	5.59
0009058	biosynthesis	4.04

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

HAM/TSP 発症を規定するウイルス因子・宿主因子の異なる民族間での比較検討ーイランと鹿児島における解析ー

分担研究者 納 光弘¹⁾

共同研究者 斉藤 峰輝¹⁾、Amir H. Sabouri¹⁾、宇宿 功市郎²⁾、能勢 裕久¹⁾、
出雲 周二³⁾、有村 公良¹⁾、Reza Farid⁴⁾

研究要旨

我々は鹿児島のコホートにおいて HAM を発症しやすい特定の HTLV-I のサブタイプが存在すること、HAM 発症に関連する複数の宿主遺伝子が存在することを報告したが、これらの因子が民族的背景が異なる他の感染地域においてもあてはまるかどうかを検討するため、イラン北東部の感染者について、HAM 発症にかかわる宿主因子、ウイルス因子を解析し鹿児島のコホートのデータと比較した。イランのコホートでは、HLA-A*02、Cw*08 の HAM 発症抑制効果が認められない一方、HLA-DRB1*0101 の HAM 発症促進効果は鹿児島と同様に認められた。イラン株の HTLV-I Tax の塩基配列は、鹿児島のコホートで HAM になりやすい株として報告した Tax subgroup A と共通の4つの塩基置換（2アミノ酸変異を伴う）に加え、さらに6つの塩基置換（4アミノ酸変異を伴う）を伴っていた。ウイルス因子と宿主因子の複雑な相互作用が最終的な HTLV-I 感染の予後を規定することが示唆された。

研究目的

鹿児島における我々のこれまでの研究から、HAM 患者では HTLV-I 感染無症候性キャリアー(Healthy carriers: HC) に比べ、プロウイルス量が 10 倍以上に増加し最大の発症危険因子であること¹⁾、HAM を発症しやすい特定の HTLV-I のサブタイプが存在すること²⁾、HAM 発症に関連する複数の宿主遺伝子が存在すること³⁻⁷⁾が明らかになっている。これらの結果が民族的背景が異なる他の感染地域においてもあてはまるかどうかを検討し、普遍的な HAM 感受性因子、地域特異的な HAM 感受性因子を同定して HAM 発症メカニズム解明の一助とすることを目的に研究を行った。イラン、マシヤディ大学医学部との共同研究により、HTLV-I 高侵淫地域であるイラン北東部の HTLV-I 感染者 (HAM 患者、HC) を対象に、鹿児島のコホートにおいて HAM 発症との関連が明らかになった

HTLV-I ウイルス型 (Tax subgroup)、宿主因子を解析し、そのデータを鹿児島の結果と比較、解析した。

研究方法

鹿児島とイラン北東部マシヤディ地区の HTLV-I 感染者 (鹿児島: HAM 222例、HC 184例 イラン: HAM 58例、HC 74例) について、鹿児島のコホートにおいて HAM 発症に関与することが明らかになった HLA 宿主遺伝子 (HLA-A*02、Cw*08、B*5401、DRB1*0101) の頻度を比較した。また、ABI Prism 7700TM sequence detector を用いて HTLV-I プロウイルス量を定量的 PCR 法により測定した。鹿児島、イラン双方の HTLV-I ウイルス型を決定するため、各 10 症例以上の HAM 患者、HC に感染している HTLV-I プロウイルスの LTR および Tax 領域の塩基配列を決定し比較した。

¹⁾ 鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科 神経内科・老年病学

²⁾ 鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科 医療システム情報学

³⁾ 鹿児島大学 難治性ウイルス病態制御研究センター・分子病理病態研究分野

⁴⁾ Mashhad University of Medical Sciences, Iran

研究結果

我々が報告した鹿児島における HLA の解析からは、HLA-A*02、Cw*08 が HAM 発症抑制に、HLA-DRB1*0101、B*5401 が発症促進に関連し、HLA-A*02、Cw*08 を持つ感染者は持たない感染者に比較して末梢血リンパ球中のプロウイルス量が少ないことが示された¹⁴⁻¹⁵⁾が、HLA-A*02、Cw*08 の HAM 発症抑制効果はイランのコホートにおいては認められなかった (Table 1, 2)。また、HLA-B*5401 陽性者はイラン人集団には見出せなかった。一方、HLA-DRB1*0101 陽性者は鹿児島、イランの双方において HC より HAM 患者において高頻度であり、2つの地域で共通した HAM 発症促進因子であった (Table 3)。イランの HTLV-I Tax の塩基配列は、われわれが以前に HAM になりやすい株として報告した鹿児島の Tax subgroup A と共通の4つの塩基置換 (2アミノ酸変異を伴う) を持ち、さらに6つの塩基置換 (4アミノ酸変異を伴う) を伴っていたが、HLA-A*02 拘束性の HTLV-I Tax に対する CTL の dominant epitope (Tax 11-19) の配列は鹿児島株 (Tax subgroup A および B) とイラン株でまったく同じであった (Table 4)。一方、LTR および NFκB プロモーターに対する Tax の転写活性化能も、イラン株の Tax は鹿児島の Tax subgroup A, B と比較して同等であった。興味深いことに、HAM 発症抑制に対する HLA-A*02、Cw*08 の効果は、鹿児島のコホートにおいては Tax subgroup B の感染者においてのみ認められ、イラン株と共通の4塩基置換を持つ Tax subgroup A の感染者には認められなかった (Table 5)。

考察

今回のイランと鹿児島における HLA 宿主遺伝子の解析から、両地域に共通の感受性因子、地域特異的な感受性因子があることが明らかになった。HLA-DRB1*0101 が HTLV-I env gp21 を抗原提示しやすいこと、HTLV-I Tax に対する CTL の dominant epitope (Tax 11-19) が HLA-A*02 拘束性であることから、生体内におけるウイルスに対する遺伝的に規定された免疫応答の効率が HTLV-I 感染の予後に影響することが考えるが、イランにおいて HLA-A*02、Cw*08 の効果が認められない一方で HLA-DRB1*0101 の効果が鹿児島とイラン共通に認められたことは、HLA-DRB1*0101 を介する HTLV-I 特異的 CD4 細胞の HAM 発症における重要性を示唆しており、今後その詳細な機能解析を行うことで病態機序の解明をさらに進めていく必要がある。ま

た、ウイルスの型 (Tax subgroup A または B) が変わると同じ遺伝背景を持つ集団 (鹿児島) においてさえも HLA (HLA-A*02、Cw*08) の効果が異なることが明らかになり、ウイルス因子と宿主因子の複雑な相互作用が最終的な HTLV-I 感染の予後を規定することが示唆された。

結 論

HAM 発症に関連する HLA 宿主要因の異なる民族間における比較から、HTLV-I 感染に対する宿主の応答効率の差が HAM 発症に密接に関連していることが再確認されたのみならず、ウイルス因子もその効果に大きな影響を及ぼすことが示唆された。さらに解析を続け、精度の高い HAM 発症予測と治療時期の選択を可能にしたい。

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(6):586-93.
- [2] Furukawa Y, 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(5):1343-9.
- [3] Vine AM, et al. Polygenic control of human T lymphotropic virus type I (HTLV-1) provirus load and the risk of HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Infect Dis.* 2002 186(7):932-9.
- [4] Jeffery KJ, et al. HLA alleles determine human T-lymphotropic virus-I (HTLV-1) proviral load and the risk of HTLV-1-associated myelopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999 96(7):3848-53.
- [5] Jeffery KJ, 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(12):7278-84.
- [6] Sabouri AH, et al. Polymorphism in the interleukin-10 promoter affects both provirus load and the risk of human T lymphotropic virus type I-associated myelopathy /tropical spastic paraparesis. *J Infect Dis.* 2004 190(7):1279-85.
- [7] Kodama D, et al. Longer dinucleotide repeat polymorphism in matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) gene promoter which correlates with higher HTLV-1 Tax mediated transcriptional activity influences the risk of HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). *J Neuroimmunol.* 2004 156(1-2):188-94.

健康危険情報
なし

知的財産権の出願・登録情報
特許取得・なし
実用新案登録・なし

Table 1: HLA-A*02 and HLA-Cw*08 are not associated with a lower risk of HAM/TSP in Iranian HTLV-1 infected individuals.

Population (N: HAM/HCs)	HLA-A*02	HAM/TSP	HC	χ^2	P	OR	CI, 95%
Iranian (58/74)	positive	21(36.2%)	20(27.0%)	0.887	0.346	1.53	0.73-3.22
	negative	37(63.8%)	54(73.0%)				
Japanese (222/184)	positive	67(30.2%)	87(47.3%)	11.784	0.0006	0.48	0.32-0.72
	negative	155(69.8%)	97(52.7%)				
	HLA-Cw*08	HAM/TSP	HCs	χ^2	P	OR	CI, 95%
Iranian (58/74)	positive	9(15.5%)	10(13.5%)	0.006	0.940	1.18	0.44-3.11
	negative	49(84.5%)	64(86.5%)				
Japanese (222/184)	positive	24(10.8%)	36(19.6%)	5.45	0.0196	0.50	0.29-0.87
	negative	198(89.2%)	148(80.4%)				

Table 2: HLA-A*02 and HLA-Cw*08 are not associated with a lower provirus load in Iranian HTLV-1 infected individuals.

	HLA-A*02	Provirus load (Mean±SE)	Provirus load (Median)	No. of subjects	P ^a
Iranian	positive	262.1±34.5	190.0	41	0.071
	negative	209.6±24.9	120.0	91	
Japanese	positive	366.8±43.4	118.5	156	0.0003
	negative	525.6±41.5	266.0	250	
	HLA-Cw*08	Provirus load (Mean±SE)	Provirus load (Median)	No. of subjects	P ^a
Iranian	positive	198.2±42.8	131.0	19	0.75
	negative	233.6±22.9	147.0	113	
Japanese	positive	300.7±56.4	120.0	60	0.009
	negative	492.0±34.5	234.0	346	

HTLV-1 provirus load: HTLV-1 *tax* copy number per 1×10^4 PBMCs for Japanese samples and 1×10^4 nucleated cells for Iranian samples by quantitative PCR.

^aTwo-tailed Mann-Whitney U test.

Table 3: HLA-DRB1*0101 increases the odds of HAM/TSP in Japanese and Iranian A*02 negative but not in A*02 positive HTLV-1 infected individuals.

	Subjects	HAM/TSP (No.)		HC (No.)		χ^2	P	OR	CI, 95%
		DRB1+	DRB1	DRB1+	DRB1				
Iranian	All	18	40	12	62	3.3	0.035	2.33	1.01-5.34
	A*02_	13	24	9	45	3.1	0.038	2.71	1.01-7.24
	A*02+	5	16	3	17	0.1	0.376	1.77	0.36-8.65
Japanese	All	34	161	20	163	2.8	0.049	1.72	0.95-3.12
	A*02_	27	107	10	83	2.9	0.044	2.09	0.96-4.57
	A*02+	7	54	10	80	0.005	0.47	1.03	0.37-2.89

Table 4: Nucleotide variations specific to Iranian HTLV-1.

Subgroup (n)	Nucleotide variation, by position and amino acid change in <i>taxA</i> ^a									
	7622	7811	7855	7897	7959	7991	8208	8313	8314	8344
	M V	I V	N	N	A V	N H	S N	G E	N	N
ATK-1 (= <i>tax B</i>)	A	A	T	C	C	A	G	G	C	A
<i>tax A</i>				T	T		A			C
Iranian <i>tax</i>	G	G	C	T	T	C	A	A	G	C

^a Nucleotide position corresponds to that of prototypic strain ATK-1. Amino acid change results from nucleotide substitution. N: no change.

Table 5: HLA-A*02 was associated with a lower risk of HAM/TSP only in the *tax* subgroup B subjects in Kagoshima.

<i>tax</i> subgroup	HLA-A*02	HAM/TSP	HC	χ^{2a}	P	OR	CI, 95%
<i>taxA</i>	positive	16 (57%)	6 (60%)	0.047	0.829	0.89	0.20-3.87
	negative	12 (43%)	4 (40%)				
<i>taxB</i>	positive	51 (26%)	81 (47%)	15.5	<0.0001	0.41	0.26-0.63
	negative	143 (74%)	93 (53%)				

HTLV-1 キャリアーにおける HTLV-1 関連脊髄症 (HAM/TSP) 発症リスク計算式の有用性の検討

分担研究者 出雲 周二¹⁾

共同研究者 能勢 裕久²⁾、斉藤 峰輝²⁾、宇宿 功市郎³⁾、松崎 敏男²⁾、
有村 公良²⁾、納 光弘²⁾、久保田 龍二¹⁾、古川 良尚⁴⁾

研究要旨

我々が過去に報告した、HAM 発症リスク計算式 (Journal of Infectious Diseases 2002; 186:932) の有用性を検討するため、無症候性キャリアー (HC) に適用して HAM 発症の Odds 比を算出し臨床症状と比較した。Odds 比の高い HC 群では、低い HC 群に比較して、下肢腱反射亢進、腹壁反射の消失を示す症例の割合が有意に高かった。また、有意差はないものの、頻尿・夜間尿等 HAM 類似の臨床症状を呈する症例の割合も、Odds 比の高い HC 群において高い傾向にあった。我々の計算式は HTLV-1 キャリアーの経過観察、HAM 早期発見に有用である可能性がある。

研究目的

HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) は中年女性に多く発症する緩徐進行性の慢性脊髄麻痺であるが、HTLV-1 感染者のごく一部に発症し、大部分の感染者は生涯にわたって無症候性キャリアー (HC) として経過する。我々は、HAM 発症に関連する複数の HLA、非 HLA 宿主遺伝子多型と HTLV-1 ウイルスサブタイプを用いた多変量解析から、HAM 発症リスクを計算する式を示し報告した (Journal of Infectious Diseases 2002; 186:932) ^[1]。この式の有用性を検討するため、以下の研究を行った。

研究方法

2004 年 11 月までに鹿児島大学病院 HTLV-1 キャリアー外来に来院し、協力の得られた 186 例を対象とした。文書による説明と同意を取得後、末梢血単核球からゲノム DNA を抽出し、HTLV-1 プロウイルス量を定量的 PCR 法により測定する一方で、TNF- α -863A/C、

SDF-1 -801A/G、HLA-A*02、HLA-Cw*08 の各遺伝子型および HTLV-1 Tax サブタイプを決定した。得られたデータを HAM 発症リスク計算式 (Table 1) に適用して HAM 発症の Odds 比を算出し、臨床症状と比較した。検討項目は性別と、輸血歴、血液疾患または HAM の家族歴、下肢腱反射亢進、腹壁反射の消失、1 日排尿回数、夜間尿、表在リンパ節腫脹、皮膚病変の有無とした。

研究結果

計算した Odds 比 2 以上と 2 未満で症例を 2 群にわけ、各検討項目に該当する症例数に 2 群間で差があるかどうか検討した。Mann-Whitney U test を用いて統計処理を行なったところ、下肢深部腱反射亢進ありと腹壁反射の消失において、2 群間に有意差を認めた。また、有意差を認めないものの、頻尿、夜間尿等 HAM 類似の臨床症状も、Odds 比の高い HC 群において頻度が高い傾向にあった (Table 2)。

¹ 鹿児島大学 難治性ウイルス病態制御研究センター・分子病理病態研究分野

² 鹿児島大学大学院 歯学総合研究科 神経内科・老年病学

³ 鹿児島大学大学院 歯学総合研究科 医療システム情報学

⁴ 鹿児島大学病院 輸血部

考察

我々は HAM 発症に関連する複数の HLA、non-HLA 宿主要因や、変異プロウイルスの解析などの一連の研究から、HTLV-1 感染に対する宿主の応答効率の差が HAM 発症に密接に関連していることを示唆する多くのデータを報告してきた^[1-6]。これらのデータをもとに、数学的手法を駆使して HAM 発症リスクを計算する式を示した^[1]が、HC 集団に対してこの計算式を適用してその有用性を検討することは、精度の高い HAM 発症予測と適切な治療時期の選択を可能にするためにきわめて重要である。今回、HAM 発症 Odds 比の高い HC 群において、低い HC 群に比較して下肢腱反射亢進、腹壁反射の消失を示す症例の割合が有意に高かったこと、有意差はないものの、頻尿・夜間尿等 HAM 類似の臨床症状を呈する症例の割合も Odds 比の高い HC 群において頻度が高い傾向にあったことは、我々の計算式の有用性を示すものであると考えられる。さらに症例数を蓄積していくとともに、今後、同一症例で経時的に Odds 比の変化をモニターすること、家族内における HAM 発症者、未発症 HC とで Odds 比を比較すること等の解析を行い、さらにこの式の有用性を検討していきたい。特に、Odds 比が高い HC、いわば「HAM/TSP 発症高危険群」と考えられる症例について、注意深くフォローすることで、発症の早期発見が可能かどうか検証していくことが重要であると考えている。

結論

HAM 発症 Odds 比の高い HC 群では、低い HC 群に比較して、下肢腱反射亢進、腹壁反射の消失を示す症例の割合が有意に高かった。また、有意差はないものの、頻尿・夜間尿等 HAM 類似の臨床症状を呈する症例の割合も、Odds 比の高い HC 群において頻度が高い傾向にあった。以上のことから、我々の計算式は HTLV-1 キャリアーの経過観察、HAM の早期発見に有用である可能性が示唆された。

文献

- [1] Vine AM, Witkover AD, Lloyd AL, et al. Polygenic control of human T lymphotropic virus type I (HTLV-1) provirus load and the risk of HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Infect Dis.* 2002 186(7):932-9.
- [2] Jeffery KJ, Usuku K, Hall SE, et al. HLA alleles determine human T-lymphotropic virus-I (HTLV-1) proviral load and the risk of HTLV-1-associated myelopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999 96(7):3848-53.
- [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(12):7278-84.
- [4] Sabouri AH, Saito M, Lloyd AL, et al. Polymorphism in the interleukin-10 promoter affects both provirus load and the risk of human T lymphotropic virus type I-associated myelopathy /tropical spastic paraparesis. *J Infect Dis.* 2004 190(7):1279-85.
- [5] Kodama D, Saito M, Matsumoto W, et al. Longer dinucleotide repeat polymorphism in matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) gene promoter which correlates with higher HTLV-1 Tax mediated transcriptional activity influences the risk of HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). *J Neuroimmunol.* 2004 156(1-2):188-94.
- [6] Nagai M, Usuku K, Matsumoto W, et al. Analysis of HTLV-1 proviral load in 202 HAM/TSP patients and 243 asymptomatic HTLV-1 carriers: high proviral load strongly predisposes to HAM/TSP. *J Neurovirol.* 1998 4(6):586-93.

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録情報

特許取得・なし

実用新案登録・なし

Table 1. Best-fit logistic regression equation for the risk of HAM/TSP in the Kagoshima HTLV-1 infected cohort (n=402).

Factor, condition	ln(odds of HAM/TSP)	Odds ratio (P)
Constant	-1.716	
Age	$-(0.145 \times \text{age}) + (0.003 \times \text{age}^2)$	
Provirus load	$+(0.460 \times \text{load}) + (0.487 \times \text{load}^2)$	
TNF- α -863A ⁺	$+3.057 - (4.616 \times \text{load}) + (1.476 \times \text{load}^2)$	
SDF-1 +801GA	-0.808	0.45 (0.042)
SDF-1 +801AA	-1.689	0.18 (0.003)
HLA-A*02 ⁺	-0.638	0.53 (0.043)
HLA-Cw*08 ⁺	-0.894	0.41 (0.046)
HTLV-1 subgroup B	-1.587	0.20 (0.017)

例: 60歳, \log_{10} (No. of *tax* copies/ 10^4 PBMCs)=2.5, TNF- α -863A⁻, SDF-1 +801AA, HLA-A*02⁻, HLA-Cw*08⁺, HTLV-1 subgroup B の感染者の場合: $\ln(\text{odds of HAM/TSP}) = -1.716 - (0.145 \times 60) + (0.003 \times 60^2) + (0.46 \times 2.5) + (0.487 \times 2.5^2) + 3.057 - (4.616 \times 2.5) + (1.476 \times 2.5^2) - 1.689 - 0.894 - 1.587 = 1.14975$ よってこの症例の odds of HAM/TSP = $\exp(1.14975) = 3.157403$

Table 2. Clinical findings and Odds of HAM (n=186).

Odds of HAM	下肢深部腱反射亢進あり	下肢深部腱反射亢進なし	P value
≥ 2 (n=48)	18	30	0.0176
<2 (n=138)	28	110	
	腹壁反射消失	腹壁反射陽性	0.0334
≥ 2 (n=48)	22	26	
<2 (n=138)	40	98	
	頻尿あり (10回/日以上)	頻尿なし	0.204
≥ 2 (n=48)	12	36	
<2 (n=138)	23	115	
	夜間頻尿あり (2回/夜以上)	夜間頻尿なし	0.494
≥ 2 (n=48)	7	41	
<2 (n=138)	15	123	
	頻尿もしくは夜間頻尿あり	頻尿及び夜間頻尿なし	0.372
≥ 2 (n=48)	15	33	
<2 (n=138)	34	104	
	男	女	0.497
≥ 2 (n=48)	23	25	
<2 (n=138)	74	64	
	皮膚病変あり	皮膚病変なし	0.939
≥ 2 (n=48)	4	44	
<2 (n=138)	12	126	
	リンパ節腫大あり	リンパ節腫大なし	0.806
≥ 2 (n=48)	4	44	
<2 (n=138)	10	128	
	輸血歴あり	輸血歴なし	0.381
≥ 2 (n=48)	22	26	
<2 (n=138)	40	98	
	家族歴*あり	家族歴なし	0.783
≥ 2 (n=48)	11	37	
<2 (n=138)	29	109	

P values by the Mann-Whitney *U* test *血液疾患またはHAMの家族歴

HAM における CTL の多様性と HTLV-I ウイルス量およびウイルス変異の検討

分担研究者 出雲周二¹⁾

共同研究者 久保田龍二¹⁾、斎藤峰輝²⁾、納 光弘²⁾

研究要旨

HAMではHTLV-Iウイルス量が高いことが強力な発症・増悪因子であり、ウイルス排除が治療に重要である。生体内でウイルス排除に働くHTLV-I特異的細胞傷害性Tリンパ球(CTL)の頻度、機能的多様性、構造的多型性、およびHTLV-Iの変異ウイルスの頻度を測定しウイルス量との関係を検討した。HTLV-Iウイルス量とCTLの機能的多様性は有意の負の相関を示し、CTLの構造的多型性とは負の相関傾向を示した。また、CTLの機能的多様性とCTLの頻度は有意の負の相関を示した。CTLの機能的多様性が高いCTL集団をもつ患者の方がTax11-19の変異ウイルスは少ない傾向にあった。以上よりHTLV-I特異的CTLの多様性が高い集団の方が低い集団より、より少ない細胞数で変異ウイルスを抑えHTLV-Iを有効に排除する可能性がある。

研究目的

HTLV-Iウイルス量はHAM発症の強力な促進因子である。HAM患者ではHTLV-Iキャリアと較べてHTLV-I特異的細胞傷害性Tリンパ球(CTL)が多いにもかかわらず、HTLV-Iウイルス量が多い。本研究では、CTLの抗原特異度の多様性がウイルス排除に有利にはたらくのか否かを明らかにするために、HTLV-I特異的CTLの抗原特異度がHTLV-Iプロウイルス量、ウイルス変異に与える影響につき検討した。

研究方法

1) HTLV-I Tax11-19 特異的 CTL の頻度の測定および機能的多様性の評価

HAMにおいてはHTLV-I特異的CTLのほとんどがTax特異的であり、HLA-A2患者ではTax11-19が主要なエピトープである。HAM患者の末梢血リンパ球(PBMC)よりDNAを抽出し、PCRによりHLAを調べ、HLA-A2陽性HAM患者24例を対象とした。Tax11-19エピトープのT

細胞レセプター結合部位をアラニンに置換した人工変異ペプチドを作成した。HLA-A2陽性抗原提示細胞にTax11-19および人工変異ペプチドをパルスしPBMCと混合培養後、表面抗原のCD8染色とIFN- γ の細胞内染色を行いCD8陽性細胞中のIFN- γ 産生細胞の頻度をフローサイトメリーにて測定した。各患者で人工変異ペプチドを認識する細胞頻度をTax11-19特異的細胞頻度で除して、Tax11-19特異的CTLの機能的多様性を測定した。

2) Tax11-19 特異的 CTL の構造的多型性の評価

HLA-A2/Tax11-19テトラマーと磁気ビーズを用いてPBMC中のTax11-19特異的CTLをポジティブセレクションし、mRNAを抽出後T細胞レセプター(TCR)ファミリー特異的プライマーを用いてRT-PCRを行った。PCR産物をGeneScanを用いてTCR CDR3(相補性決定領域3)のスペクトライピングを行い、CTLの構造的多型性を測定した。

3) 変異ウイルスの評価

PBMCよりDNAを抽出し、HTLV-I PX領域をPCRで増幅した。各検体あたり約45クローンをサブクローニングし、Tax11-19をコードするtax遺

1) 鹿児島大学難治ウイルス研

2) 鹿児島大学神経内科・老年病学

伝子のシーケンスを行った。

4) HTLV-I プロウイルス量の測定

TaqMan システムによる定量的 PCR によりプロウイルス量を測定した。

これら HTLV-I Tax11-19 特異的 CTL の頻度、機能的多様性、構造的多型性および HTLV-I プロウイルス量、ウイルス変異の相互関連を調べた。

研究結果

- 1) HTLV-I プロウイルス量は、Tax11-19 の TCR の primary binding site である 5 番目の位置の人工変異ペプチドの認識の程度と逆相関した。これは Tax11-19 に対する抗原認識の緩い CTL 集団 (機能的多様性が高い CTL 集団) をもっている HAM 患者ではウイルス量が低いことを示している。
- 2) CTL の機能的多様性は CTL の頻度と逆相関した。
- 3) 患者間における CTL の機能的多様性の違いは CTL のアピディティの異なるものではなかった。
- 4) CTL の TCR CDR3 スペクトライピングによる検討では、構造的多型性が高い CTL をもつ患者の方が、ウイルス量は低く、また、CTL の頻度は低い傾向が認められた。
- 5) 変異ウイルスの検討では、CTL の機能的多様性が高い CTL 集団をもつ患者の方が Tax11-19 の変異ウイルスは少ない傾向にあった。

考察

今回の研究では、ウイルス量と CTL の頻度とは相関は認められなかったが、機能的多様性と逆相関が認められ、構造的多型性とも逆相関傾向が認められた。さらに CTL の機能的多様性と CTL の頻度とは

逆相関が認められた。以上より CTL の多様性が高い CTL 集団のほうが低い CTL 集団より、CTL の頻度が低いにもかかわらずウイルスを有効に排除する可能性を示している。さらに CTL の機能的多様性が高い患者群では低い患者群より変異ウイルスの頻度が少ない傾向を認めたことより、変異ウイルスの増殖をも抑さえ、ウイルスを排除する可能性がある。従来ウイルス排除に働く CTL の因子としては、CTL の頻度、細胞障害活性、CTL の感染細胞への結合能力等が重要であると考えられてきた。今回の検討によりさらに CTL 集団の多様性も重要であることが明らかとなった。HAM の生体内では HTLV-I が慢性感染状態となっており、症状悪化の時にはウイルス量の増加が報告されている。HTLV-I 特異的 CTL を用いて HTLV-I 感染をコントロールする治療法を考えるときには、CTL の多様性を保ったまま CTL を増やすほうがより有効である可能性がある。

結論

HTLV-I 特異的 CTL の TCR の多様性が高い集団の方が低い集団より、より少ない細胞数で変異ウイルスを抑え、HTLV-I を有効に排除する可能性がある。ウイルス感染をコントロールするためにウイルス特異的 CTL を増殖させる時には、ある特定の CTL をクローナルに増やすよりも、ポリクローナルな集団として増やすほうがより効果的であろうと考えられる。

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得:なし

実用新案登録:なし

HTLV-I関連脊髄症におけるIFN- γ 産生亢進に關与する IL-2 シグナリングの解析

分担研究者 中村龍文¹⁾

共同研究者 福島直美¹⁾，西浦義博²⁾，江口勝美²⁾

研究要旨

IL-2/IL-2 受容体(IL-2R)から p38 MAPK に至るまでのシグナル伝達系が HTLV-I 関連脊髄症(HAM)患者における IFN- γ ・HTLV-I p19 発現にどのように關与しているのか、HAM 患者由来 HTLV-I 感染 T 細胞株および末梢血 CD4 陽性 T 細胞を用いて解析した。細胞株および CD4 陽性 T 細胞に対する抗 IL-2R(特に α 鎖に対する)抗体処理あるいは p38 MAPK 阻害剤である SB203580 処理はそれらの細胞における IFN- γ ・HTLV-I p19 の発現を抑制した。しかし、IL-2R のすぐ下流にある JAK3 の阻害剤である AG490 による処理では、IFN- γ ・HTLV-I p19 の発現抑制はみられなかった。以上の結果より、HAM 患者における IFN- γ および HTLV-I 発現には IL-2 シグナリングが強く關与しているものの、IL-2/IL-2R から p38 MAPK に至るシグナリングの過程で Jak シグナルとは別のシグナルの關与が考えられた。

A. 研究目的

我々は昨年度本研究班において、HTLV-I 関連脊髄症(HAM)患者における Th1 の活性化と HTLV-I の高いプロウイルス量には p38 mitogen -activated protein kinase(p38 MAPK)の活性化がその一因となっている可能性を報告した。現在までに HTLV-I 感染が p38 MAPK 系シグナルを活性化するという報告はなく、何故 HAM 患者で p38 MAPK の活性化が惹起されるのか、HAM 発症の宿主側因子の一つとして非常に興味ある点である。従来、HAM 発症にはインターロイキン-2(IL-2)シグナリングの重要性が提唱されているが、p38 MAPK の最も上流には IL-2 受容体(IL-2R)が存在する。そこで今回、HAM 患者由来 HTLV-I 感染 T 細胞株および HAM 患者末梢血 CD4 陽性 T 細胞において IL-2 シグナリングと IFN- γ 発現、併せて HTLV-I p19 発現との關係について解析を行なった。

B. 研究方法

1) 対象:細胞株としてはHAM患者由来IL-

2依存性HTLV-I感染T細胞株であるHCT-1およびHCT-4を使用し、末梢血での検索ではHAM患者7名(女性:3,男性:4)を対象とした。

2) HTLV-I 感染 T 細胞株における IFN- γ ・HTLV-I p19 発現および増殖に及ぼす IL-2 刺激効果の検討:上記 HTLV-I 感染 T 細胞株を 2×10^5 /ml の濃度で IL-2(100 U/ml)存在下あるいは非存在下で 24 時間培養後、培養液中の IFN- γ および HTLV-I p19 濃度を ELISA 法(IFN- γ : Biosource 社, HTLV-I p19: Zepiometrix 社)にて測定した。同時に MTS assay(Promega)において増殖能を検討した。

3) HTLV-I 感染 T 細胞株における p38 MAPK 阻害剤 SB203580, Jak3 阻害剤 AG490 および抗 IL-2 受容体(IL-2R)抗体処理による IFN- γ ・HTLV-I p19 抗原発現抑制の検討:IL-2(100 U/ml)存在下の HCT-1 および HCT-4 の培養系に種々の濃度の SB203580, AG490 あるいは抗 IL-2R 抗体を同時に添加し、24 時間培養後、2)と同様の検討を行なった。

4) HAM 患者末梢血 CD4 陽性 T 細胞における SB203580, AG490 および抗 IL-2R 抗体処理による IFN- γ ・HTLV-I p19 抗

1) 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科感染分子病態学

2) 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科病態解析制御学

原発現抑制の検討：HAM 患者より末梢血 CD4 陽性 T 細胞を negative selection にて分離し、それぞれ 1×10^6 /ml の濃度にて $10 \mu\text{M}$ SB203580 存在下あるいは $50 \mu\text{M}$ AG490 存在下あるいは抗 IL-2R 抗体 ($100 \mu\text{g}/\text{ml}$) 存在下に 48 時間培養。培養後、2)と同様の検討を行なった。

C. 研究結果

1) **HTLV-I 感染 T 細胞株における IFN- γ ・HTLV-I p19 発現および増殖に及ぼす IL-2 刺激効果：**図1に示すように IL-2 刺激による細胞数の増加は HCT-1, HCT-4 それぞれに約 2.3 倍, 1.6 倍であるにもかかわらず、IFN- γ 産生量はそれぞれに約 25 倍, 9 倍であり、双方の細胞株での IFN- γ 発現亢進には IL-2 刺激が関与していた。しかし、HTLV-I p19 抗原発現亢進に関しては、本実験系では明確な結果は得られなかった。

2) **HTLV-I 感染 T 細胞株における IFN- γ 発現および HTLV-I p19 抗原発現に及ぼす SB203580 および AG490 の効果：**昨年度の報告と同様に SB203580 処理によって HCT-1 および HCT-4 では用量依存性に IFN- γ 産生が細胞傷害を起こすことなく、最大約 50% 抑制された。さらに同阻害剤処理によって HTLV-I p19 抗原発現は HCT-1 で 22%, HCT-4 で 10% 抑制された。しかし、AG490 による処理では、図2に示すように、両者の細胞株とも細胞増殖は阻害されるにもかかわらず、IFN- γ ・HTLV-I p19 抗原共にその発現に対して抑制効果はみられなかった。

3) **HAM 患者末梢血 CD4 陽性 T 細胞における IFN- γ 発現および HTLV-I p19 抗原発現に及ぼす SB203580 および AG490 の効果：** $10 \mu\text{M}$ の SB203580 処理によって細胞傷害を起こすことなく、IFN- γ 産生・HTLV-I p19 抗原発現は有意に抑制された(図3)。しかし、 $50 \mu\text{M}$ の AG490 処理によって細胞増殖は阻害されるものの、IFN- γ 産生・HTLV-I p19 抗原発現に対しての抑制効果はみられなかった(図4)。

4) **IFN- γ ・HTLV-I p19 抗原発現に及ぼ**

す抗 IL-2R 抗体処理の効果：まず、HCT-1 での α , β , γ 鎖に対するそれぞれの抗体での基礎的検討において、 α 鎖の阻害によって用量依存性に IFN- γ ・HTLV-I p19 抗原発現の抑制が明らかにされた(図5)。HAM 患者末梢血 CD4 陽性 T 細胞での検討においては、IFN- γ 産生では α , β , γ 鎖すべての阻害によって抑制効果がみられるものの、その中でも α 鎖に対する阻害による IFN- γ 産生抑制効果が最も強かった。また、HTLV-I p19 抗原発現に関しては α 鎖に対する阻害でのみその発現が抑制された(図5)。

D. 考察

我々は昨年度、HAM 患者では p38 MAPK シグナリングが亢進し、そのことが HAM 患者にみられる HTLV-I の高いプロウイルス量を基盤とした IFN- γ 発現亢進の一つの要因であることを報告した。今回、何故 p38 MAPK の活性化が惹起されるのか、その要因を解明すべく p38 MAPK の上流にある IL-2 シグナリングを解析した。その結果、HAM 患者における IFN- γ ・HTLV-I 発現には IL-2 シグナリングが強く関与している可能性が示された。すなわち、HAM 患者にみられる p38 MAPK の活性化は IL-2/IL-2R シグナリングの活性化に起因している可能性が考えられた。元来、HAM 患者の免疫学的異常の特徴とされる spontaneous PBL proliferation に IL-2 シグナリングの異常が強く関与していることが報告されているが、今回このシグナル系の異常は HTLV-I の発現亢進を基盤とした Th1 の活性化にも関与していることが初めて明らかにされた。しかし、IL-2 シグナリングの異常には IL-2/IL-2R から p38 MAPK に至る過程で Jak シグナルとは別のシグナルの関与が考えられ、今後はこのシグナル系の解明が必要である。

E. 結論

HAM 患者における IFN- γ および HTLV-I 発現亢進を惹起する p38 MAPK の活性化には IL-2 シグナリングの活性化が強く関

与しているものの、IL-2/IL-2R から p38 MAPK に至るシグナリングの過程で Jak シグナルとは別のシグナルの関与が考えられた。

F. 健康危険情報

なし。

G. 知的所有権の出願・登録状況

特許取得：なし。

実用新案登録：なし。

図 1. HAM 患者由来 HTLV-I 感染 T 細胞株における IFN- γ 産生と増殖に及ぼす IL-2 刺激の効果

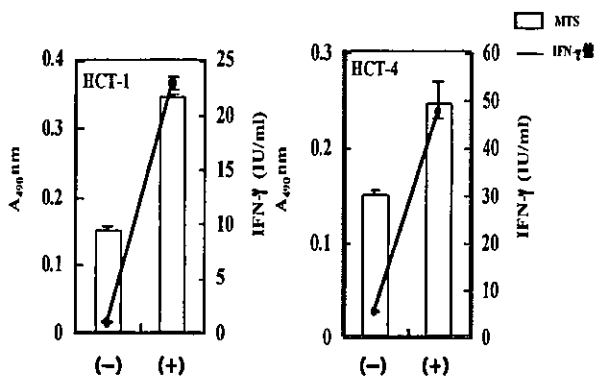


図 2. HAM 患者由来 HTLV-I 感染 T 細胞株に対する Jak3 阻害剤 AG490 の効果

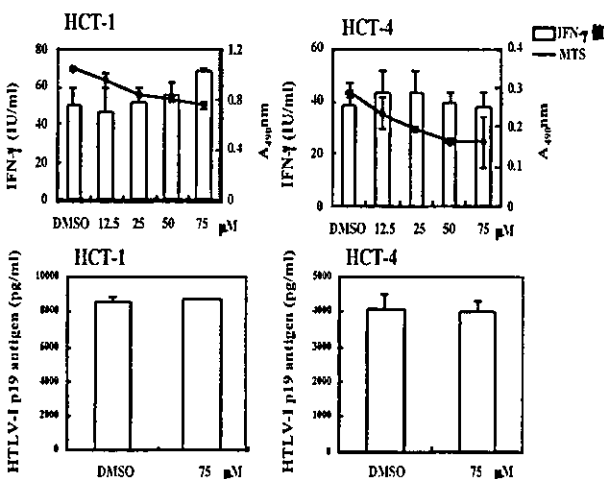


図 3. HAM 患者末梢血 CD4 陽性 T 細胞に対する SB203580 の効果

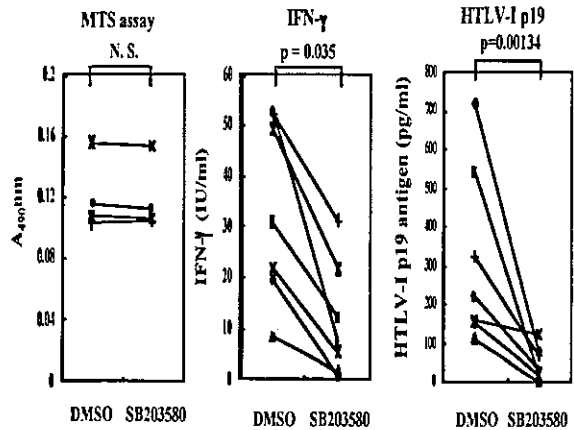


図 4. HAM 患者末梢血 CD4 陽性 T 細胞に対する AG490 の効果

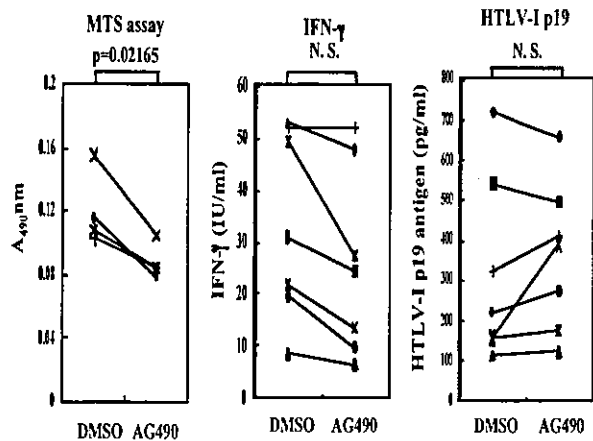
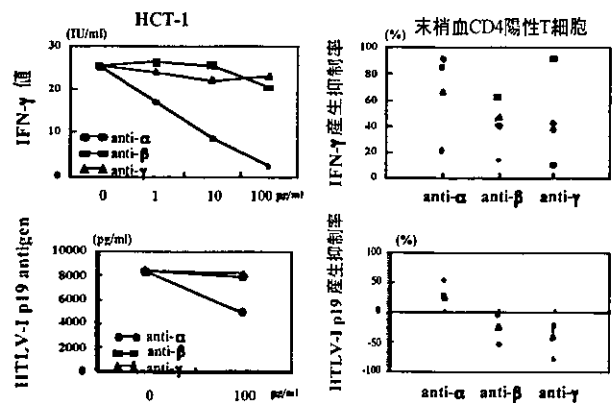


図 5. IFN- γ ・HTLV-I p19 発現に及ぼす抗 IL-2 receptor 抗体処理の効果



多発性硬化症全国臨床疫学調査

分担研究者 吉良潤一¹⁾、糸山泰人²⁾、斎田孝彦³⁾、松井真³⁾、菊地誠志⁴⁾、山村隆⁵⁾、
郡山達男⁶⁾
共同研究者 小副川学¹⁾、深澤俊行⁷⁾、藤原一男²⁾、道勇学⁸⁾、越智博文¹⁾、坂田清美⁹⁾、
玉腰暁子⁹⁾、稲葉裕⁹⁾

研究要旨

多発性硬化症 (MS) の全国臨床疫学調査は、わが国では過去 3 回 (1972 年、1982 年、1989 年) 実施されているが、1989 年になされたのを最後に過去 15 年間は行われていない。そこで、わが国における MS の現在の実態を明らかにすることを目的として特定疾患の疫学に関する研究班と共同で全国臨床疫学調査を実施した。6708 科 (抽出率 28.7%) に 1 次調査用紙を送付し、3749 科 (55.9%) から回答が得られた。MS 患者ありとの報告の総数は疑い例を含めて 4827 人、疑い例を除いて 3978 人であった。疑い例を含めて、あるいは疑い例を除いて患者数を推定すると 12400 人 (95%CI : 11400-13300 人)、9900 人 (95%CI : 9100-10700 人) であった。1919 例の 2 次調査結果が集積され、重複例を除き解析を行った。初発年齢は 20 歳代前半に発症のピークがみられた。また Devic 病の占める割合は 1.2% で過去の報告に比べ低下していた。初発症状としては以前に高い割合 (35.1%、1989 年) であった視力低下が 22.2% まで低下していた。経過中に見られた症状では高度視力低下が 15.7%、横断性脊髄症候が 26.1% にみられ、以前の報告と比べ低下していた。今後更なる病像の解析を行っていく予定である。

研究目的

MS の全国臨床疫学調査は、わが国では過去 3 回 (1972 年、1982 年、1989 年) 実施されている。1989 年になされたのを最後に過去 15 年間は、このような臨床疫学調査は行われていない。そこで、全国臨床疫学調査を実施してわが国の MS の患者数の推計と MS の臨床疫学像を明らかにすることを目的とした。

研究方法

1) 1 次調査

「難病の患者数と臨床疫学像の把握のための全国疫学調査マニュアル」に基づき、特定疾患の疫学に関する研究班 (主任研究者稲葉裕順天堂大学衛生学教授) と共同で実施した。対象は、2003 年 1 月 1 日から 12 月 31 日までの調査期間に当該医療機関を受診した、2003 年の厚生労働省改訂多発性硬化症診断基準に合致する MS 患者とした。対象科は、内科・神経内科、小児科、整形外科、脳外科、眼科、精神科神経科、リハビリテーション科 (理学療法科) として、2004 年 1 月に患者数推計のための 1 次調査を実施した。

前述のマニュアルに添って全国の病院から、診療科別病床規模別に層化無作為抽出した計 6708 科 (抽出率 28.7%) に 1 次調査用紙を送付した。内訳は内科・神経内科 1933 科、小児科 945 科、整形外科 1227 科、脳外科 759 科、眼科 831 科、精神科神経科 997 科、その他 16 科であった。病院別で

- 1) 九州大学神経内科
- 2) 東北大学神経内科
- 3) 国立療養所宇多野病院
- 4) 北海道大学神経内科
- 5) 国立精神・神経センター
- 6) 広島大学神経内科
- 7) 北祐会病院神経内科
- 8) 名古屋大学神経内科
- 9) 特定疾患の疫学に関する研究班

みると、100床未満 658科、100-199床 739科、200-299床 731科、300-399床 972科、400-499床 978科、500床以上 1428科、特別階層（班員所属医療機関、日本神経学会評議員所属の医療機関、日本小児神経学会評議員所属の医療機関、日本小児総合医療施設協議会会員の医療機関）204科、大学病院 998科であった。

2) 2次調査

1次調査でMSの患者ありと回答のあった施設を2次調査対象とした。2次調査では、前回と同様な項目で臨床像の変化を解析することに加えて、今回の調査独自のものとして、脳および脊髄MRI、インターフェロンβに対する反応性、一次性慢性進行型、末梢神経伝導速度検査、シェーグレン症候群などその他の合併症の項目を追加し、調査した。

研究結果

1) 6708科のうち3749科(55.9%)から回答が得られた(表1)。診療科別回収率は、内科・神経内科 50.0%、小児科 68.9%、整形外科 55.2%、脳外科 55.9%、眼科 56.7%、精神科神経科 55.4%、その他 5.0%であった。病床規模別では、100床未満 47.9%、100-199床 52.1%、200-299床 52.0%、300-399床 54.9%、400-499床 55.4%、500床以上 54.1%、特別階層 67.6%、大学病院 68.4%であった。

MS患者ありとの報告の総数は、疑い例を含めて4827人、疑い例を除いて3978人であった。前述のマニュアルに基づき疑い例を除いて患者数を推定すると、総数9900人(95%CI: 9100-10700人)、男3000人(95%CI: 2600-3300人)、女6900人(95%CI: 6400-7500人)であり、疑い例を含めて患者数を推定すると、総数12400人(95%CI: 11400-13300人)、男3900人(95%CI: 3500-4300人)、女8500人(95%CI: 7800-9100人)であった。

2) 1919例の2次調査結果が集積され、重複例30例(1.6%)を除く、1889例(男性533例、女性1356例)を解析した(表2-6)。

男女比は1: 3.9であり、女性の割合が増加していた。また初発年齢は平均32±14歳、15歳以下の発症は6.3%、家族内発症は0.9%であった。5歳刻みで初発年齢をみていくと、20歳代前半に発症のピークがみとめられた。またDevic病の占める割合は1.2%で過去の報告に比べて低下していた。また初発症状としては以前に高い割合(35.1%、1989年)であった視力低下の占める割合が22.2%まで低下していた。経過中に見られた症状では高度視力低下が15.7%、横断性脊髄症候が26.1%でみられ、いずれも以前の報告と比べ低下していた。

考察

今回の臨床疫学調査においてMS患者数は増加しているものと考えられた。この結果は2002年旭川で行われたMSの有病率調査にて1975年に同地域で施行されているものと比べ約4倍に増えているという報告にも合致する。さらに特定疾患受給者の数が1万人を超えている現状ともよく合致するものであった。また過去の報告に比し、男女比が1972年1:1.3、1982年1:1.7、1989年1:2.4から2004年1:3.9と女性MS患者が激増していた。さらに、過去の報告では初発年齢のピークは30歳代前半にあったが、今回は20歳代前半と若年層でのMS発症の増加を反映する結果であった。今後更なる病像の解析を行っていく予定である。

結論

本邦におけるMS患者数は疑い例を含めて12400人、疑い例を除いて9900人と推定された。特に1980年以降生まれの女性でMSの増加が顕著と推測された。

健康危機情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得: なし

実用新案登録: なし

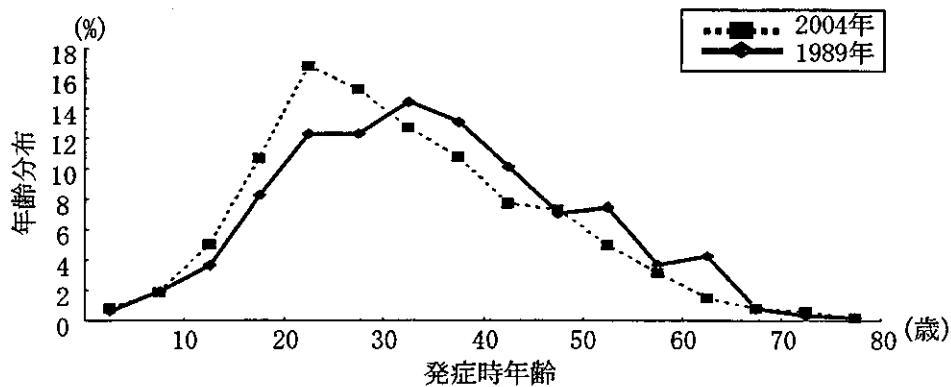
表1 集計された報告数より推計された本邦のMS患者推定数

	患者 (人)		男患者 (人)		女患者 (人)	
	推定数	95%CI	推定数	95%CI	推定数	95%CI
総数 (疑い例含む)	12400	11400-13300	3900	3500-4300	8500	7800-9100
総数 (疑い例含まず)	9900	9100-10700	3000	2600-3300	6900	6400-7500
◇内科・神経内科	7400	6680-8110	2230	1960-2500	5160	4670-5660
◇小児科	150	100-210	90	30-140	70	50-80
◇整形外科	440	300-590	90	60-130	350	210-490
◇脳外科	320	120-530	110	30-200	210	90-330
◇眼科	990	810-1170	240	190-300	750	620-870
◇精神科神経科	560	360-760	180	110-250	380	230-520
◇その他	10	-	6	-	2	-

表2 過去3回と比較した今回の臨床疫学調査結果

	1972年	1982年	1989年	2004年
症例数 (人)	1084	1518	1270	1889
性比 (男性:女性)	1:1.3	1:1.7	1:2.4	1:3.9
臨床的に確実なMS (%)	46.9	56.9	67.8	83.2
Devic病	7.6	5.1	3.6	1.2
初発年齢 (平均±SD、歳)	33±13	32±13	34±13	32±14
家族発症 (%)	2	1.3	0.9	0.9
15歳前発症 (%)	7.4	8.3	6.5	6.3
発症時視力低下 (%)	42.9	33.1	35.1	22.2
高度運動障害 (%)	13.4	17.7	16.4	16.4
重症視力低下	24.6	22.4	20.3	15.7

表3 1989年と2004年に実施された全国臨床疫学調査における発症時年齢分布



2004年の発症時年齢は20歳代前半がピークであった

表4 1989年と2004年に実施された全国臨床疫学調査における初発症状の推移

	1989年		2004年	
	患者数(人)	%	患者数(人)	%
総数	1238	100.0	1840	100.0
視力低下	435	<u>35.1</u>	528	<u>22.2</u>
運動麻痺	276	22.3	459	19.0
感覚障害	251	20.3	734	30.5
歩行障害	99	8.0	257	10.7
複視	58	4.7	164	6.8
排尿障害	19	1.5	86	3.6
構音障害	15	1.2	42	1.8
その他	85	6.9	131	5.4

表5 1989年と2004年に実施された全国疫学臨床調査における経過中の神経徴候の推移 (1)

	1989年	2004年
精神症状	17.8	17.0
失語、失行、失認	4.3	4.1
全身痙攣	7.9	4.0
視力低下	<u>64.9</u>	<u>52.9</u>
視神経萎縮	45.9	30.0
視野欠損	30.8	27.9
複視	24.9	24.7
眼振	32.0	24.1
構音障害	26.1	20.3
嚙下障害	16.2	10.1
顔面神経麻痺	16.5	12.4
四肢麻痺	<u>34.9</u>	<u>17.2</u>
対麻痺	44.2	40.9
片麻痺	33.2	32.7

表6 1989年と2004年に実施された全国疫学臨床調査における経過中の神経徴候の推移 (2)

	1989年	2004年
痙攣	50.5	45.0
Babinski反射	58.0	55.9
顔面感覚障害	24.4	20.3
髄節性感覚障害	34.3	32.3
片側感覚障害	28.6	32.0
一定レベル以下の感覚障害	<u>31.7</u>	<u>40.0</u>
横断性脊髄症候	<u>34.2</u>	<u>26.1</u>
肢節失調	32.4	24.7
躯幹失調	29.1	27.5
排尿障害	55.9	46.9
有痛性強直性痙攣	24.3	16.4
Lhermitte徴候	27.4	27.2
末梢神経障害	10.4	4.7