

ではあるが、髄液中 IFN γ の上昇はみとめず、本症の主な病態はウイルスの中樞神経系への直接侵襲でない可能性を明らかにした。筆者らは中樞神経系炎症性疾患（急性散在性脳脊髄炎、亜急性硬化性全脳炎、インフルエンザ脳症）における blood-brain-barrier (BBB) 機能を血清 matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) と tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) の動態で解析してきた。本年度は NHALE における BBB 機能を血清 MMP-9 と TIMP-1 の面から解析した。NHALE の免疫病態を明らかにすることで治療法の進歩につながる可能性があり、社会的意義もあると考える。

研究方法

対象は 1996 年 1 月～2005 年 12 月に山口大学医学部附属病院小児科、久留米大学医学部附属病院第一内科に入院した対象は NHALE 6 例（男性 3 例、女性 3 例；12～49 歳、平均 32 歳）。正常対照群は正常小児 33 例（男児 15 例、女児 18 例；2～15 歳、平均 5.8 歳）。方法は急性期の血清 MMP-9 および TIMP-1 値を ELISA 法（Amersham Biosciences 社）で測定した。検定は Mann-Whitney 検定で行った。

（倫理面への配慮）

検体採取に際し、患者か保護者の同意を得た。また結果を発表する際には氏名は公表しないことから本研究の対象患者の人権は擁護されるものとする。

研究結果

正常対照群の血清 MMP-9 値、TIMP-1 値、MMP-9/TIMP-1 比は 81.0 ± 54.9 ng/ml、 146.0 ± 85.4 ng/ml、 0.71 ± 0.61 だった。

NHALE 群の血清 MMP-9 値、TIMP-1 値、MMP-9/TIMP-1 比は 314.9 ± 75.3 ng/ml ($p = 0.0001$)、 263.0 ± 108.1 ng/ml ($p = 0.0117$)、 1.37 ± 0.63 ($p = 0.0266$) といずれの項目も正常対照群に比し、有意に高値だった。

考察

MMP-9 は脳の血管基底膜の主要構成成分であるコラーゲン IV を分解する。一方、TIMP-1 は MMP-9 活性を阻害する。従って BBB に対し、MMP-9 は攻撃因子、TIMP-1 は防御因子である。NHALE 急性期での血清 MMP-9 および MMP-9/TIMP-1 比高値は BBB 機能の低下を示唆した。血清 TIMP-1 値も有意に高値であり、BBB 機能を保護するための防御反応が示唆された。BBB 機能の低下は末梢血中の免疫担当細胞の中樞神経系内への侵入を容易にし、中樞神経系内炎症を促進しやすい状態と考えられた。

結論

NHALE の炎症病態過程での MMP-9、TIMP-1 の関与が示唆された。

【参考文献】

- 1) Asaoka K, Shoji H, Nishizaka S, Ayabe M, Abe T, Ohori N, Ichiyama T, Eizuru Y: Non-herpetic acute limbic encephalitis: cerebrospinal fluid cytokines and magnetic resonance imaging findings. Intern Med 43: 42-48, 2004.
- 2) Ichiyama T, Morishima T, Isumi H, Matsufuji H, Matubara T, Furukawa S: Analysis of cytokine levels and NF- κ B activation in peripheral blood mononuclear cells in influenza virus-associated encephalopathy. Cytokine 27: 31-37, 2004.

3) Ichiyama T, Kajimoto M, Suenaga N, Maeba S, Matsubara T, Furukawa S: Serum levels of matrix metalloproteinase-9 and its tissue inhibitor (TIMP-1) in acute disseminated encephalomyelitis. *J Neuroimmunol* 172: 182-186, 2006.

4) Ichiyama T, Siba P, Suarkia D, Reeder J, Takasu T, Miki K, Kira R, Kusuhara K, Hara T, Toyama J, Furukawa S: Serum levels of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitors of metalloproteinases 1 in subacute sclerosing panencephalitis. *J Neurol Sci* 252:45-48, 2007.

研究発表

1. 論文発表

1. Ishizu T, Minohara M, Ichiyama T, Kira R, Tanaka M, Osoegawa M, Hara T, Furukawa S, Kira J: CSF cytokine and chemokine profiles in acute disseminated encephalomyelitis. *J Neuroimmunol* 175: 52-58, 2006.

2. Matsubara T, Hasegawa M, Shiraishi M, Hoffman HM, Ichiyama T, Tanaka T, Ueda H, Ishihara T, Furukawa S: A severe case of chronic infantile neurologic, cutaneous, articular syndrome treated with biologic agents. *Arthritis Rheum* 54: 2314-2320, 2006.

3. Makata H, Ichiyama T, Uchi R, Takekawa T, Matsubara T, Furukawa S: Anti-inflammatory effect of intravenous immunoglobulin in comparison with dexamethasone in vitro: implication for treatment of Kawasaki disease. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 373: 325-332, 2006.

4. Asada K, Ichiyama T, Sekino T, Okuda H, Okuno F, Furukawa S. A case of Fanconi-like syndrome caused by aminoglycoside followed by Fanconi syndrome caused by valproic acid. *Case Reports and Clinical Practice* 7: 193-195, 2006.

5. Hasegawa S, Oda Y, Ichiyama T, Hori Y, Furukawa S. Ginkgo nut intoxication in a 2-year-old male. *Pediatr Neurol* 35: 275-276, 2006.

6. Nagafuchi M, Nagafuchi Y, Sato R, Imaizumi T, Ayabe M, Shoji H, Ichiyama T: Adult meningism and viral meningitis, 1997-2004: clinical data and cerebrospinal fluid cytokines. *Internal Med* 45: 1209-1212, 2006.

7. Shiihara T, Kato M, Ichiyama T, Takahashi Y, Tanuma N, Miyata R, Hayasaka K: Acute encephalopathy with refractory status epilepticus: bilateral mesial temporal and claustral lesions, related to DNA oxidative damage. *J Neurol Sci* 250: 159-161, 2006.

8. Ichiyama T, Siba P, Suarkia D, Reeder J, Takasu T, Miki K, Kira R, Kusuhara K, Hara T, Toyama J, Furukawa S: Serum levels of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitors of metalloproteinases 1 in subacute sclerosing panencephalitis. *J Neurol Sci* 252: 45-48, 2007.

9. Otake Y, Yamagata T, Morimoto Y, Imi M, Mori M, Aihara T, Ichiyama T, Momoi MY : Elevated CSF IL-6 in a patient with respiratory syncytial virus encephalopathy. *Brain Dev* in press.

2. 学会発表

1. 市山高志、梶本まどか、末永尚子、前場進治、松原知代、古川 漸. 急性散在性脳脊髄炎における blood-brain-barrier 機能. 第 109 回日本小児科学会学術集会. 金沢. 2006. 4. 21-23
2. 市山高志. シンポジウム. ロイコトリエン受容体拮抗薬の新しい側面. 第 18 回日本アレルギー学会春季臨床大会. 東京. 2006. 5. 30-6. 1
3. 市山高志、末永尚子、梶本まどか、吉良龍太郎、原 寿郎、遠山 潤、松原知代、古川 漸. 亜急性硬化性全脳炎における blood-brain-barrier 機能. 第 47 回日本小児神経学会. 浦安. 2006. 6. 1-3
4. 市山高志、梶本まどか、末永尚子、松原知代、古川 漸. インフルエンザ脳症における血清 MMP-9 および TIMP-1 の動態. 第 11 回日本神経感染症学会. 三重. 2006. 10. 13-14
5. 市山高志. シンポジウム. 免疫病態からみたインフルエンザ脳症診療のポイント. 第 58 回中国四国小児科学会. 宇部. 2006. 10. 21-22
6. 市山高志、長谷川真成、真方浩行、松原知代、古川 漸. 単球/マクロファージの cysteinyl leukotriene 受容体機能—TNF- α による MMP-9 産生に対する影響—. 第 56 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 東京. 2006. 11. 2-4
7. 市山高志、梶本まどか、末永尚子、松原知代、古川 漸. インフルエンザ脳症における血清 MMP-9 および TIMP-1 の動態. 第 38 回日本小児感染症学会. 高知. 2006. 11. 10-11
8. 市山高志、長谷川真成、真方浩行、松原知代、古川 漸. 単球/マクロファージの cysteinyl leukotriene 受容体機能—TNF- α による MMP-9 産生に対する影響—. 第 43 回日本小児アレルギー学会. 千葉.

2006. 11. 25-26

9. 市山高志、梶本まどか、末永尚子、友近喜代子、松原知代、古川 漸. 細菌性髄膜炎におけるデキサメサゾン療法時の髄液中 soluble TNF receptor 1 の動態. 第 10 回中国地区小児免疫薬物療法研究会. 広島. 2007. 3. 10

健康危険情報

なし

知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

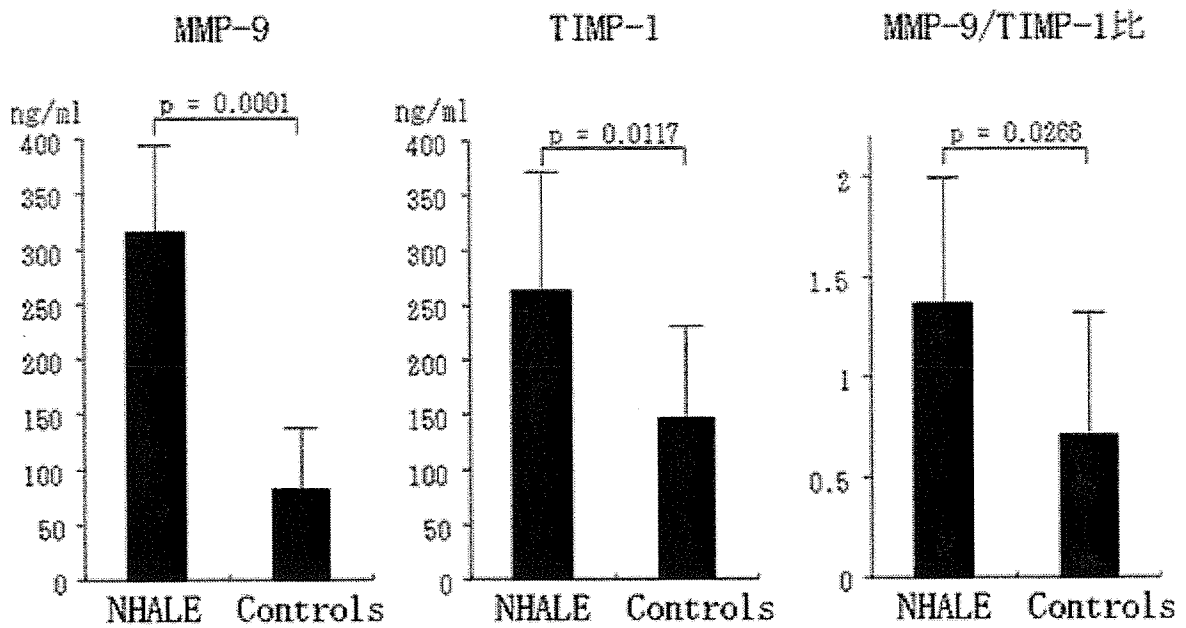


図. NHALEにおける血清MMP-9、TIMP-1、MMP-9/TIMP-1比

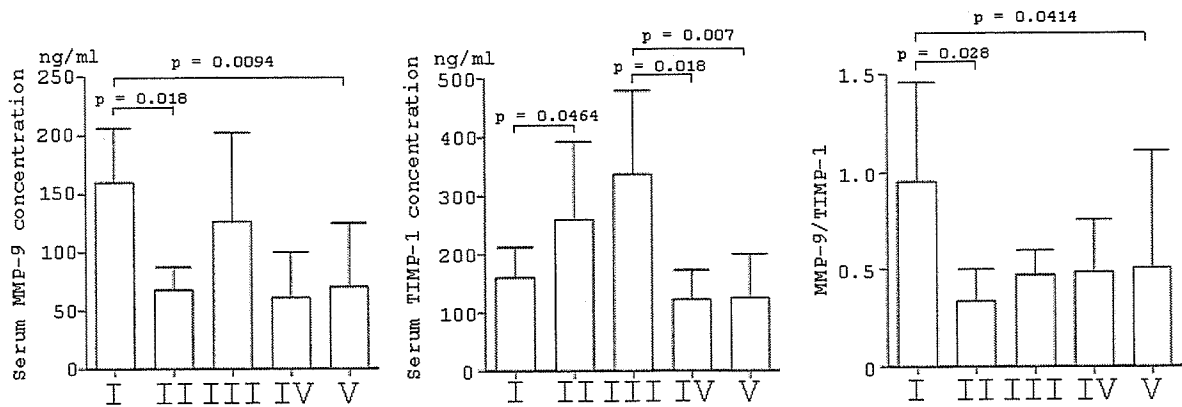


図2. ADEMにおける血清MMP-9、TIMP-1およびMMP-9/TIMP-1比

I, Gd(+)病変を有する患者の急性期; II, Gd(+)病変を有する患者の回復期; III, Gd(-)病変を有する患者の急性期; IV, Gd(-)病変を有する患者の回復期; V, コントロール

神経 Sweet 病の病態に関する考察 —神経 Behçet 病との関係について—

分担研究者 久永欣哉¹⁾

共同研究者 松本有史¹⁾、菊池昭夫¹⁾、木村 格¹⁾、糸山泰人²⁾

研究要旨

Sweet 病は全身性無菌性炎症疾患である好中球病 (neutrophilic disease) の 1 疾患で、脳炎・髄膜炎を呈することがあり、我々はこれを神経 Sweet 病 (neuro-Sweet disease ; NSD) として提唱し、診断基準を作成した。その後の当疾患の症例報告より、髄液のサイトカイン、ケモカインの変動や脳の病理所見などが少しずつ明らかにされてきた。それらの所見より、その病態は同じ好中球病の側面をもつ神経 Behçet 病の急性期と多くの共通点があること、神経 Behçet 病の 30~50% は慢性進行型に移行するが、その遷延性・不可逆性には HLA-B51 に関連して出現する血管炎惹起性 CD8⁺ T リンパ球の関与が示唆されるが、神経 Sweet 病では血管炎を欠き、HLA-B54・Cw1 が関連して出現する T リンパ球が炎症の早期終焉に関与する可能性が示唆された。神経 Sweet 病と神経 Behçet 病など好中球が急性期の主役をなす脳炎・髄膜炎は皮疹が明らかでない症例も包括して神経好中球病 (neuro-neutrophilic disease) として総称し、他の脳炎・髄膜炎と区別して、ステロイドやコルヒチンなどによる初期対応にあたるのが臨床的には重要であると考えられる。

研究目的・方法

Sweet 病は全身性無菌性炎症疾患である好中球病 (neutrophilic disease) の 1 疾患であり、特徴的な有痛性隆起性紅斑を呈した場合、その生検にて血管炎を伴わない真皮への好中球浸潤を認めることにより診断できる。全身症状の 1 つとして脳炎・髄膜炎などの神経合併症を併発することがあり、我々はこれを神経 Sweet 病 (neuro-Sweet disease; NSD) として提唱し (文献 1)、診断基準 (probable NSD および possible NSD) を作成した (文献 2)。

類似疾患である神経 Behçet 病と比較すると (1) 圧倒的に男性に多い神経 Behçet 病に比して性差に乏しい、(2) 発症年齢が 30~70 歳とやや晩発性である、(3) 神経 Behçet 病が基底核、脳幹に好発するのに対し、神経 Sweet

病では部位特異性に乏しく、脳の様々な部位に出現する、(4) 再発することも多いが、ステロイドが著効して後遺症が蓄積しにくい、

(5) 神経 Behçet 病の眼合併症は網膜ぶどう膜炎が多いが、神経 Sweet 病では強膜炎、結膜炎が多い、(6) 神経 Behçet 病では HLA-B51 陽性が高率であるのに対し、神経 Sweet 病ではほぼ全例が Cw1 陽性であり、B54 の頻度も高いなどの特徴があげられる。

最近、神経 Sweet 病における髄液のサイトカインやケモカインの変動に関する報告や、剖検による脳の病理組織変化に関する報告がなされ、これらのデータをもとに神経 Sweet 病と神経 Behçet 病の病態の違いを比較検討した。

研究結果・考察

Kimura らは Sweet 病の典型皮疹と脳髄膜炎の所見を呈し probable NSD の診断基準に合致する症例において、2 度の脳髄膜炎のエピソード

1) 国立病院機構宮城病院臨床研究部・神経内科

2) 東北大学大学院神経内科学

ドにおける髄液のサイトカインおよびケモカインの変動を報告した(文献3)。これによれば、髄液中のIL-6、IL-8、IFN- γ 、IP-10の上昇が認められており、臨床経過や髄液中の好中球の上昇とよく相関していた。

脳炎の病理所見でも神経Behçet病ではTリンパ球と好中球の浸潤が主体をなしているのに対し、滝山らのprobable NSDの剖検例(文献4)や小久保らのpossible NSDの剖検例(文献5)でも脳炎局所では好中球が主体をなしている所見が得られており、神経Sweet病は好中球病であるSweet病の神経系病変として矛盾しない病態を示すと考えられる。皮膚及び神経系の病変の第2ステージにおいてはリンパ球も関与すると思われるが、病変は終息に向かい、良好な経過をとるものと考えられる。

一方、Behçet病も病初期には好中球が主体をなし、好中球病の側面をもつ。神経Behçet病には急性型と慢性進行型があり、急性期の臨床像は神経Sweet病と共通の部分も多い。Behçet病で高頻度にみられる口腔内アフタや針反応など好中球を主体とした皮膚・粘膜病変はSweet病でも少なからずみられ、また脳炎の経過、ステロイド反応性、IL-8などサイトカインの変動なども好中球主体の共通の病態の存在を示唆する。他方、神経Behçet病の30~50%の症例、特にHLA-B51を有する症例は慢性進行型に移行するといわれているが、その神経病理像がTリンパ球の浸潤を主体としていることを考慮すれば、2次的に出現するTリンパ球が病変の遷延化と不可逆性に関与している可能性が考えられる。

HLA-B群、C群の違いはCD8⁺Tリンパ球の誘導に影響し、放出されるサイトカインによって好中球の活性化が起こると推定されているが、HLAの違いは第2ステージにおけるTリンパ球の誘導にも関与し、その後の病勢に影響

を及ぼしている可能性が示唆される。Behçet病では皮膚病変と同様に脳炎の局所においても血管炎の所見がみられるが、上述の神経Sweet病の剖検例では皮膚病変と同様に脳炎の局所でも血管炎の像は認められていない。血管炎惹起性のCD8⁺Tリンパ球の出現の有無が臨床像の違いになっている可能性が考えられる。

これまで報告されている神経Sweet病の症例でprobable NSDの診断基準を満たす症例は36例であるが、このなかにはBehçet病の診断基準を満たす症例は含まれない。一方、possible NSDに分類される症例26例には、HLA-B54またはCw-1陽性で類似の脳炎・髄膜炎の経過をとったものの、皮疹がはっきり認められなかった症例や(8例)、皮疹が認められても生検で診断が確認されていなかった症例(9例)が含まれる。またSweet病の皮疹は認められて類似の脳炎・髄膜炎の経過をとったものの、Behçet病の皮膚・粘膜病変も有していた症例(8例)もある。

臨床像から神経Behçet病か神経Sweet病のいずれかの疾患と考えられても、その一方に診断を特定できない症例に関しては、とりあえず両者の共通の部分を鑑み、神経好中球病(neuro-neutrophilic disease)と分類しておいて、ステロイドやコルヒチンなどを用いた初期対応を考え、その後の経過をみていくのが妥当と思われる(文献6)。少なくとも、この1群を他の脳炎から鑑別診断して初期治療にあたるのが臨床的には重要と思われる。そのためには、よく知られた結節性紅斑や陰部潰瘍が認められずBehçet病が否定的と考えられる症例でも、当疾患群の可能性を念頭におき、Sweet病の皮疹の有無やHLA typing、血液の好中球の変動、髄液の好中球、サイトカイン、ケモカインの変動などにも注意を払

うことが必要である。

謝辞

当研究を進めるにあたりましては全国 100 余施設の諸先生の御協力を頂いております。なお神経 Sweet 病における髄液のサイトカイン、ケモカインの変動に関する詳細な情報を御提供頂きました岐阜大学神経内科・老年科の木村暁夫先生に深謝致します。

文献

- (1) Hisanaga K, et al. "Neuro-Sweet disease" Benign recurrent encephalitis with neutrophilic dermatosis. Arch Neurol 56: 1010-3, 1999
- (2) Hisanaga K, et al. Neuro-Sweet disease. Clinical manifestations and criteria for diagnosis. Neurology 64: 1756-61, 2005
- (3) Kimura A, et al. Longitudinal study of patient with neuro-Sweet disease presenting with recurrent

encephalomeningitis. J Neuroimmunol Suppl 1: 240, 2006

- (4) 滝山容子、他. 神経 Sweet 病の一部検例. 神経免疫学 13(1): 131, 2005
- (5) 小久保康昌、他. 神経 Sweet 病の神経病理. 神経内科 64 (2): 141-147, 2006
- (6) Hisanaga K. Neuro-neutrophilic disease: Neuro-Behçet disease and neuro-Sweet disease. Intern Med, 2007, in press

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

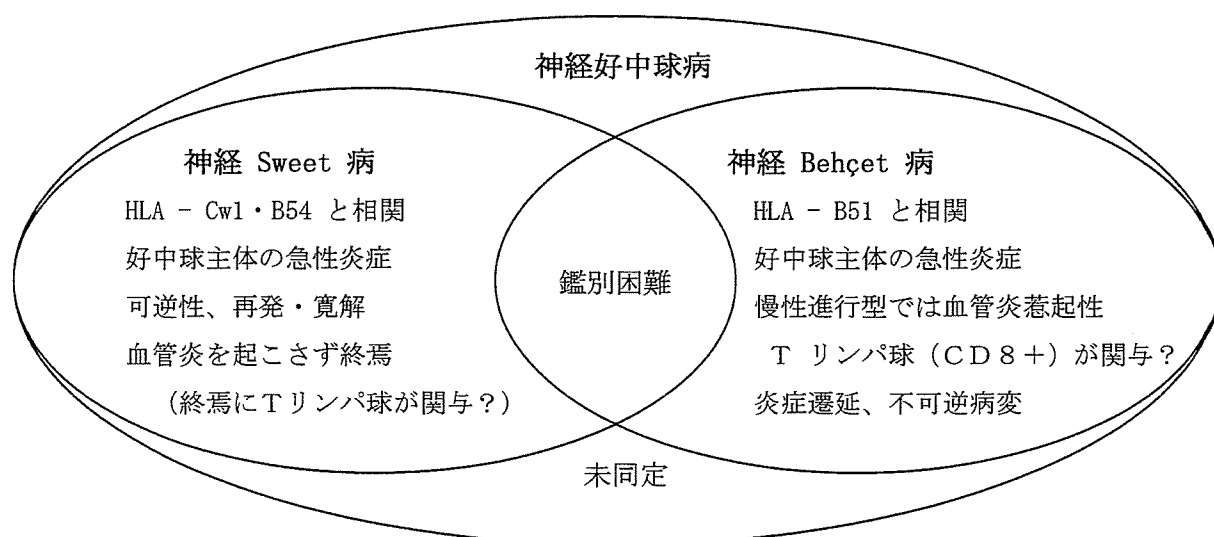
特許取得：なし

実用新案登録：なし

倫理面の配慮

本研究は国立病院機構宮城病院の倫理規定を遵守して行った。個人の情報は決して表に出ることがないように細心の注意を払い、プライバシーの保護には十分に配慮した。

表 1 神経好中球病



抗 NAE 抗体陽性の橋本脳症の臨床スペクトラムの検討

分担研究者 米田 誠¹⁾

共同研究者 藤井明弘¹⁾, 松永晶子¹⁾, 横山広美¹⁾, 中川広人¹⁾, 栗山 勝¹⁾

研究要旨

橋本脳症は、橋本甲状腺炎にともなう自己免疫性脳症であり、抗甲状腺抗体の存在とステロイドに対する良好な反応性を特徴とする。しかし、多彩な神経徴候を呈することから、診断は容易ではない。我々は、橋本脳症患者血清中に、 α -enolase の NH₂ 末端に対する自己抗体 (抗 NAE 抗体) が特異的に存在することを報告してきた。本年度は、多数の抗 NAE 抗体陽性の橋本脳症患者における臨床徴候を解析した。その結果、抗 NAE 抗体は、半数の橋本脳症患者で陽性であり、脳症を伴わない橋本甲状腺炎や膠原病を含む他の自己免疫疾患ではほとんど検出されず、抗 NAE 抗体の高い疾患特異性と診断における有用性が確認された。抗 NAE 抗体陽性の橋本脳症患者においては、急性脳症型が最も多いが、慢性・亜急性精神病型やその他の病型も存在し、広い臨床スペクトラムを呈することが分かった。

研究目的

これまで私どもは、橋本甲状腺炎に伴う自己免疫性脳症 (橋本脳症) において、NH₂ 末端側 α -enolase (NAE) に対する自己抗体が本症に特異的に存在することを明らかにしてきた。本年度は、多数の抗 NAE 抗体陽性の橋本脳症患者の臨床的検討を行った。

研究方法

従来から提唱されていた橋本脳症の診断基準 (精神・神経症状の存在, 抗甲状腺抗体の存在, ステロイドに対する反応性) を充たし、脳症をきたす他の原因が除外された 44 名の患者 (自験 9 例) の中で、抗 NAE 抗体陽性の 22 例 (50%) を対象とした。

免疫ブロットによる血清中の抗 NAE 抗体の解析

NH₂ 末端側の α -enolase (NAE) (1-157 アミノ酸) cDNA を哺乳類発現ベクターである pcDNA3.1 に組み替え挿入し、リポフェクチン法によりヒト由来培養細胞 HEK293 に導入・発現した後、Ni カラムを用いて組み替え蛋白を精製した。組み替え NAE 蛋白を 12%SDS-PAGE を行い、PVDF 膜に western blot, 血清添加後、蛍光発色し、抗体の有無を検討した。

臨床徴候の検討

対象症例の年齢・性、橋本甲状腺炎の既往、甲状腺機能、抗甲状腺抗体の存在、再発の有無、ステロイド反応性、臨床徴候 (意識障害、けいれん、認知障害・精神症状、不随意運動、小脳失調)、脳波、頭部 MRI、髄液蛋白/IgG

1) 福井大学医学部第二内科

上昇を比較検討した。臨床徴候を急性脳症型（辺縁系脳炎含む）、慢性・亜急性精神徴候型、その他（純粹小脳失調、CJD 様）に分類した。

（倫理面への配慮）本研究は福井大学の倫理委員会において承認を受けた。研究については患者本人への十分な説明を行い、文書で同意を得ている。個人の情報は決して表に出ることがないように細心の注意を払い、プライバシーの保護には十分に配慮した。

研究結果

【対象患者】

全例（22 例）で抗 NAE 抗体陽性。年齢・性：平均年齢 59 歳 [28–83 歳]，男：女 5:17，甲状腺機能：正常 86% (19/22)，低下 0% (0/22)，一過性亢進 14% (3/22)，抗甲状腺抗体：抗 Tg 抗体 + 抗 TPO 抗体 68% (15/22)，抗 Tg 抗体 23% (5/22)，抗 TPO 抗体 9% (2/22)。

【臨床病型】急性脳症型 73% (16/22) [辺縁系脳炎 2 例]，慢性・亜急性精神徴候型 18% (4/22)，その他 9% (2/22) [純粹小脳失調 1 例，CJD 様 1 例]。

ステロイド反応性：著効 50% (11/22)，中等度 27% (6/22)，効果有 23% (5/22)。

【臨床徴候】

意識障害：86% (19/22)，けいれん 59% (13/22)，認知障害・精神症状 59% (13/22)，不随意運動 36% (8/22)，小脳失調 18% (4/22)。

【検査・画像】

脳波異常（基礎波徐波化，鋭波）：95% (19/20)。

頭部 MRI 異常：23% (5/22) [白質病変 2

例，海馬病変 2 例]。

頭部 SPECT: 少数例で全般性血流の低下。

髄液蛋白/IgG 上昇：45% (9/20)。

考察

1. 抗 NAE 抗体は、従来の診断基準を充たす橋本脳症の中 50%で陽性であった。
2. 抗 NAE 抗体陽性の橋本脳症患者においては、急性脳症型が最も多いが、慢性・亜急性精神病型やその他の特異的病型も存在し、広い臨床スペクトラムを有することが明らかとなった。

結論

抗 NAE 抗体陽性の橋本脳症患者は、急性脳症型を含めて広い臨床スペクトラムを有する。橋本脳症患者の抗体の解析の機会と臨床徴候の情報提供を頂いた多施設の先生に深謝致します。

文献

M. Yoneda, et al. High prevalence of serum autoantibodies against the amino terminal of α -enolase in Hashimoto's encephalopathy. *J Neuroimmunol* 2007 (in press).

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

橋本脳症の特異症例の検討

分担研究者 米田 誠¹⁾

共同研究者 松永晶子¹⁾, 藤井明弘¹⁾, 横山広美¹⁾, 中川広人¹⁾, 櫻井岳郎²⁾,
田中優司²⁾, 犬塚 貴²⁾, 栗山 勝¹⁾

研究要旨

橋本脳症は、橋本甲状腺炎にともなう自己免疫性脳症であり、抗甲状腺抗体の存在とステロイドに対する良好な反応性を特徴とする。しかし、広い臨床スペクトラムを呈することも知られている。我々は、橋本脳症患者血清中に、 α -enolase の NH₂ 末端に対する自己抗体（抗 NAE 抗体）が橋本脳症患者において特異的に存在することを見出し、診断に有用であることを報告してきた。本年度は、多数の橋本脳症患者の抗 NAE 抗体と臨床徴候の解析から見出された特異的な臨床徴候を呈した症例について検討した。橋本脳症においては、急性脳症や慢性・亜急性精神病の臨床型を呈するものが多いが、辺縁系脳炎、純粋小脳失調、Creutzfeldt-Jakob 病 (CJD) 様の臨床像を呈する症例が見出されたので、抗 NAE 抗体と臨床徴候の検討を行った。

研究目的

抗 NAE 抗体陽性の 22 例 (50%) の中で、辺縁系脳炎、純粋小脳失調、Creutzfeldt-Jakob 病 (CJD) 様の臨床徴候を呈した症例を抽出して臨床像を検討した。

(倫理面への配慮) 本研究は福井大学の倫理委員会において承認を受けた。研究については患者本人への十分な説明を行い、文書で同意を得ている。個人の情報は決して表に出ることがないように細心の注意を払い、プライバシーの保護には十分に配慮した。

研究方法

免疫ブロットによる血清中の抗 NAE 抗体の解析：ヒト由来培養細胞で発現・精製した組み替え NAE 蛋白を用いた免疫ブロットによって血清中の抗 NAE 抗体の有無を検討した。神経徴候、検査・画像所見を検討した。

研究結果

1) 辺縁系脳炎

幻覚・妄想等の辺縁系症状を呈し、頭部 MRI 上辺縁系に病変を有した症例を抽出し、5 例中 2 例で抗 NAE 抗体が陽性であった。

【症例提示 (福井大学症例)】

32 歳、女性。平成 16 年 10 月初旬より、全身けいれん、意識変容、傾眠出現、福井大学に入院した。意識 JCS10、脳神経・小脳系・運動

1) 福井大学医学部第二内科

2) 岐阜大学神経内科・老年科

系・自律神経系に異常なし。甲状腺機能正常。抗 Tg 抗体, 抗 TPO 抗体, 抗 NAE 抗体陽性。他の自己抗体は陰性。髄液正常。頭部 MRI 上, 辺縁系に異常信号。脳波は, 全般性徐波化。ステロイドパルス療法にて軽快した。

2) 純粋小脳失調

小脳失調を主体とした病型で, 2 例中 1 例で抗 NAE 抗体が陽性であった。

【症例提示 (福井大学症例)】

41 歳, 女性。平成 15 年 12 月初旬より, 歩行時ふらつきとしゃべりにくさが出現, 徐々に進行。平成 16 年 9 月, 歩行不能となり, 福井大学入院。四肢・体幹の著明な小脳失調と断続性構音障害を認めた。意識は清明, 認知障害やけいれんなく, 脳神経・運動系・感覚系・錐体外路系・自律神経系に異常なし。甲状腺機能正常。抗 Tg 抗体, 抗 TPO 抗体, 抗 NAE 抗体陽性。抗核抗体を含めた他の自己抗体や抗 Yo, 抗 Hu, 抗 Ri 抗体は陰性。Vit. B₁, Vit. B₁₂, Vit. E も正常で, 脊髄小脳変性症やミトコンドリア脳筋症遺伝子異常なし。髄液正常。脳頭部 MRI 上は脳幹・小脳に異常なし。脳波は, 軽度の全般性の基礎調律の徐波化あり。ステロイドパルス療法後, 後療法として PSL 内服により, 小脳失調はほぼ消失。

3) Creutzfeldt-Jakob 病 (CJD) 様

認知症・意識障害・ミオクローヌス, 脳波上 PSD が存在し, CJD 様の臨床像を呈した 3 例中 1 例で抗 NAE 抗体が陽性であった。

【症例提示 (岐阜大学症例)】

76 歳, 女性。平成 18 年 4 月頃より, 発語減少, 意欲低下, けいれん, 意識障害が出現し, 岐阜大学入院。意識 JCS100。前頭葉徴候陽性。

右顔面・上下肢にミオクローヌスあり。脳神経・小脳系・運動系・自律神経系は異常なし。甲状腺機能正常。抗 TPO 抗体, 抗 Tg 抗体, 抗 TSH-R 抗体, 抗 NAE 抗体が陽性。髄液の蛋白正常, 14-3-3 蛋白陰性, HSV 陰性。PrP 遺伝子コドン 129 Met/Met。頭部 MRI は脳萎縮。頭部 SPECT でび漫性の血流低下。脳波上 PSD あり。ステロイドパルス療法で軽快。

考察

橋本脳症患者においては, 急性脳症型や慢性・亜急性精神病型が多いが, 辺縁系脳炎, 純粋小脳失調, CJD 様の臨床徴候を呈する特異症例も存在する。

結論

橋本脳症患者の中には, 辺縁系脳炎, 純粋小脳失調, CJD 様の臨床徴候を呈する特異症例も存在し, ステロイドを含めた免疫療法の効果があることから, 日常臨床上留意する必要がある。

文献

H. Nakagawa, M. Yoneda, et al. Hashimoto's encephalopathy presenting with progressive pure cerebellar ataxia. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 2007;78:196-7.

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 では CMV 特異的 CTL の頻度が高く、 Foxp3 の発現が低下している

分担研究者 納 光弘¹⁾

共同研究者 林 大輔¹⁾、久保田龍二²⁾、能勢裕久¹⁾、有村公良¹⁾、出雲周二²⁾

研究要旨

HAM において、HTLV-I 以外の慢性感染ウイルスに関する細胞性免疫については詳細が明らかにされていない。我々は HAM 患者末梢血中の HTLV-I ならびに他の慢性感染ウイルスに対する CTL 反応を調べ、正常健康人と免疫反応の違いについて比較検討した。また HAM 患者における制御性 T 細胞の発現についても正常健康人と比較検討した。HAM は正常健康人と比較し Tax 特異的 CTL および CMV 特異的 CTL ともに有意に頻度が高く、両者は正に相関した。Foxp3 の平均蛍光強度 (MFI) は CD4+細胞、CD4+CD25+細胞のいずれでも、HAM は正常健康人に比べ有意に低かった。Foxp3 の MFI と CMV 特異的 CTL の頻度の間には負の相関関係を認めた。Foxp3 の発現低下が、これら二つのウイルスに対する CTL 反応の異常に関与している可能性が考えられた。

研究目的

HAM は無症候性 HTLV-I キャリア (AC : asymptomatic carrier) と比較し、HTLV-I 特異的細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) の頻度が高く HAM の高ウイルス状態に関連していると推察されているが、その詳細はわかっていない。また HAM における他の慢性感染ウイルスに対する細胞性免疫についても詳細がわかっていない。我々は HAM 患者末梢血中の HTLV-I ならびに他の慢性感染ウイルスに対する CTL 反応を調べ、AC ならびに正常健康人 (HC : healthy control) と比較し、その免疫反応の違いについて検討した。また、免疫反

応の違いに関して制御性 T 細胞の関連性についても検討した。

研究方法

HAM21 例、AC16 例、HC17 例より末梢血単核球 (PBMC) を分離後、DNA を抽出し PCR にて HLA-A2 を同定した。年齢をマッチさせた HLA-A2 陽性の各群の PBMC を用いた。HLA-A2 に拘束される HTLV-I Tax、サイトメガロウイルス (CMV)、EB ウイルス (EBV) のエピトープを結合した pentamer (MHC/ペプチド五量体) と抗 CD8 抗体を用い染色した。Flow cytometer にて HTLV-I Tax、EBV、CMV 特異的 CTL を検出し頻度を測定した。また PBMC を抗 CD4、CD25 抗体による表面抗原染色および抗 Foxp3 抗体を用いた細胞内染色

1) 鹿児島大学医学部神経内科

2) 鹿児島大学医学部難治ウイルス研

を行い、制御性 T 細胞を検出した。

(倫理面への配慮) 検体採取に関しては、文書によるインフォームドコンセントを行い、検体は非連結化し、個人が同定されないようにして解析を行った。また、本研究は鹿児島大学倫理委員会の承認を得ている。

研究結果

HAM では AC や HC と比較し Tax 特異的 CTL および CMV 特異的 CTL ともに、有意に頻度が高かった。EBV 特異的 CTL に関しては、検出感度が不十分にて判定不能であった。HTLV-I 感染者における Tax 特異的 CTL の頻度と CMV 特異的 CTL の頻度には有意な正の相関が認められた (Spearman の順位相関係数検定にて $p=0.01$)。両者が相関したことより、外来抗原の種類によらない共通する因子の関与が推察され、Foxp3 を指標として制御性 T 細胞の検討を行った。CD4+ および CD4+CD25+細胞における Foxp3+の平均蛍光強度 (MFI) は、HAM では HC に比べいずれも有意に低かった。また HAM では CMV 特異的 CTL の頻度と CD4+Foxp3+ および CD4+CD25+Foxp3+の MFI の間に、有意な負の相関関係を認めた。

考察

HAM では AC や HC に比べ Tax 特異的 CTL と CMV 特異的 CTL の頻度がともに高く、HTLV-I に対してのみならず慢性感染ウイル

ス CMV に対する免疫反応も高いことが示された。また HTLV-I 感染者における Tax 特異的 CTL と CMV 特異的 CTL の間には正の相関が認められたことより、これらの異なるウイルスに対する CTL 反応を共通して制御する因子の関与が推察された。CTL を制御する因子の一つとして、制御性 T 細胞が注目されている。制御性 T 細胞の特異的マーカーは Foxp3 であり、CD4+CD25+細胞に多く存在していることが知られている。また HTLV-I は CD4+CD25+細胞に多く感染していることが知られている。そこで各群における制御性 T 細胞を検出したところ HAM では Foxp3 の発現が低下していた。Foxp3 の発現低下が、これら二つのウイルスに対する CTL 反応の異常に関与している可能性が考えられた。

結論

HAM では HTLV-I のみならず慢性感染ウイルス CMV に対する CTL の頻度も高いことが示された。Foxp3 の発現低下が、これら二つのウイルスに対する CTL 反応の異常に関与している可能性が考えられた。

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

HAM 患者 HTLV-I 感染細胞における HTLV-I 産生に及ぼす インテグリン/リガンドシグナリングの検討

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⁾, 荒牧俊幸²⁾, 井田弘明²⁾, 江口勝美²⁾

研究要旨

HTLV-I の cell to cell spread において microtubule organizing center(MTOC)の polarization が重要な役割を果たす。この MTOC の polarization を制御するのはインテグリン/リガンドシグナリングの下流域にある small GTPase の活性化である。したがって, small GTPase の活性化によって HTLV-I の cell to cell spread の効率が規定される可能性がある。今回, HAM 患者由来 HTLV-I 感染 T 細胞株における Rac および CDC42 の活性化を pull-down assay において, 他の HTLV-I 感染 T 細胞株を対照として比較検討した。その結果, すべての HAM 患者由来株では Rac および CDC42 の強い活性化がみられた。加えて, HAM 患者由来株ではインテグリン/リガンドシグナリングを強固にする Rap1 の強い活性化もみられた。以上のことより, HAM 患者 HTLV-I 感染細胞では Rap1 の活性化を基盤として Rac および CDC42 の恒常的な活性化が惹起され, MTOC の polarization が促進されている可能性が示された。この事実は HAM 患者 HTLV-I 感染細胞は HTLV-I の効率のいい cell to cell spread を生じうる potential を持ち, そのことが HAM 患者末梢血における high HTLV-I proviral load の維持に関与している一因と考えられた。

A. 研究目的

末梢血における high HTLV-I proviral load が HTLV-I 関連脊髄症(HAM)発症における最も重要な危険因子であるが, その原因については不明の点が多い。我々は昨年度本班会議において HAM 患者由来 HTLV-I 感染 T 細胞株では HTLV-I virion の細胞外放出にはインテグリンとそのリガンドの相互作用が重要であることを明らかにし, HAM における末梢血 high HTLV-I proviral load の一因として効率のいい HTLV-I の cell to cell spread が考えられることを報告した。HTLV-I が cell to cell で感染を伝播する場合, MTOC の polarization が重要な役割を果たす。インテグリンとそのリガンドの下流域には MTOC を初めとする細胞内骨格構成の制御にあたる small

2)長崎大学大学院医歯薬学総合研究科展開医療科学

GTPaseが存在する。また, 別のsmall GTPaseである Rap1はインテグリン/リガンドシグナリングを活性化させる。そこで, 今回HAM患者由来HTLV-I感染T細胞株におけるRac, CDC42, およびRap1の活性化について, その他のHTLV-I感染T細胞株を対照として比較検討した。

B. 研究方法

1) 細胞株: HAM患者由来HTLV-I感染T細胞株であるHCT-1, HCT-4およびHCT-5を使用した。対照HTLV-I感染T細胞株としてTL-Su(HTLV-Iキャリアー由来), TCL-Kan(正常人由来), C91/PL(臍帯血由来)を使用した。

2) small GTPase pull-down assay:それぞれの細胞

1)長崎大学大学院医歯薬学総合研究科感染免疫学

株を 2×10^5 /ml の濃度で 15 時間培養後、細胞を回収し、蛋白を抽出後、Rac および CDC42 については Cytoskeleton 社、Rap1 については Stressgen 社のキットを用い、pull-down assay を以下のように施行した。Rac および CDC42 に対しては GST を fusion させた PAK-PBD が coat された glutathione affinity ビーズに、Rap1 に対しては GST を fusion させた RaGDS が coat された glutathione affinity ディスクに、それぞれの cell lysate の蛋白量として 1 mg を apply し、pull-down を施行後、SDS-PAGE によって電気泳動し、western blot 法によって GTP 結合型(活性化)Rac、CDC42、および Rap1 を検出した。

3) 抗 CXCR4 ブロッキング抗体による HTLV-I 産生抑制実験:HCT-1 または HCT-5(これら 2 つの細胞株では CXCR4 の発現については確認済)を 2×10^5 /ml の濃度で抗 CXCR4 ブロッキング抗体またはコントロール抗体(20 μ g/ml)存在下に 15 時間培養後、培養液中の HTLV-I p19 抗原濃度を ELISA 法にて測定した。

(倫理面への配慮)

本研究は長崎大学の倫理規定を遵守して行った。

C. 研究結果

1) HAM 患者由来 HTLV-I 感染 T 細胞株における Rac、CDC42、および Rap1 の活性化:HAM 患者由来 HTLV-I 感染 T 細胞株では 3 株すべてにおいて GTP 結合型(活性化)Rac および CDC42 が検出された(図 1)。対照株では TL-Su 以外の 2 株では GTP 結合型(活性化)Rac および CDC42 は検出されなかった(図 1)。しかし、TL-Su については CDC42 の活性化は HAM 患者由来株 3 株に比較して明らかに弱かった。一方、Rap1 については HAM 患者由来株 3 株すべてにおいて GTP 結合型(活性化)Rap1 が検出されたにもかかわらず、対照株では GTP 結合型(活性

化)Rap1 は検出されたのは C91/PL のみであった(図 2)。

2) 抗 CXCR4 ブロッキング抗体による HTLV-I 産生抑制効果:HCT-1 および HCT-5 の両者とも抗 CXCR4 ブロッキング抗体処理においては HTLV-I p19 抗原量でみる限り、HTLV-I 産生に対する抑制効果はみられなかった。

D. 考察

今回、HAM 患者由来 HTLV-I 感染 T 細胞株において small GTPase である Rac および CDC42 の恒常的な活性化が明らかにされた。最近、別の small GTPase である Rap1 の活性化がインテグリンからそのリガンドへの inside-out シグナルとして働くことが報告されている。すなわち、Rap1 の活性化はインテグリンとそのリガンドの相互作用を強固にし、効率のよいシグナル伝達を惹起する。そこで、Rac および CDC42 の上流域の解析として Rap1 について検討した結果、やはり HAM 患者由来細胞株において Rap1 の活性化が明らかにされた。以上のことより HAM 患者由来細胞株では Rap1 の活性化を基盤として、Rac および CDC42 の恒常的な活性化が惹起されている可能性が示された。我々は昨年度本班会議において HAM 患者由来 HTLV-I 感染 T 細胞株では HTLV-I virion の細胞外放出にはインテグリンとそのリガンドの相互作用が重要であることを報告したが、今回の解析でその機序として small GTPase の恒常的な活性化が関与していることが考えられた。すなわち、HAM 患者 HTLV-I 感染細胞はインテグリン/リガンドシグナルを通して MTOC の polarization が促進され、効率よく HTLV-I virion を非感染細胞に伝播できる potential を持っていることが示唆された。

Rap1 を活性化する要因の一つとして SDF-1/CXCR4 axis が報告されているが、今回の検討では HAM 患者由来細胞株における Rap1 の活性

化を基盤とした Rac および CDC42 の活性化に依存した HTLV-I virion の細胞外放出には、これ以外の要因の関与が考えられた。

E. 結論

HAM 患者 HTLV-I 感染細胞はインテグリン/リガンドシグナルの下流域にある small GTPase の恒常的な活性化を通して HTLV-I の効率のいい cell to cell spread を惹起し、そのことが HAM 患者末梢血で維持されている high HTLV-I proviral load の一因をなしている可能性がある。

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：HTLV-I 関連脊髄症の予防・治療剤

およびアポトーシス促進剤（特許出願中）

実用新案登録：なし。

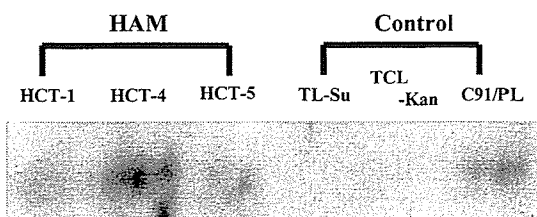


図 2. Rap1 pull-down assay

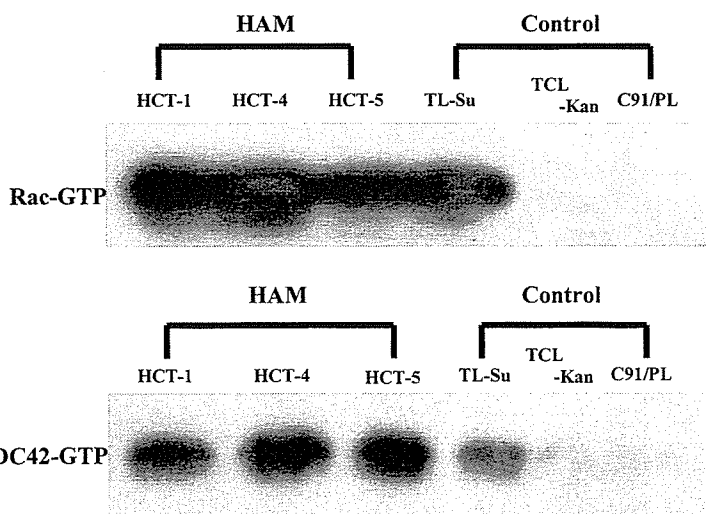


図 1. Rac/CDC42 pull-down assay

HAM における dN/dS を用いた抗ウイルス CTL 淘汰圧の検出

分担研究者 出雲周二¹⁾

共同研究者 久保田龍二¹⁾、有村公良²⁾、納 光弘²⁾

研究要旨

HAM では細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) が多いにもかかわらず高ウイルス状態が持続しており、HAM の発症・増悪に関与している。生体内の HTLV-I 特異的 CTL が有効に HTLV-I 感染細胞を排除しているのかを明らかにするため、生体内でのウイルスに対する淘汰圧を与える CTL の作用を、ウイルスのアミノ酸置換を伴う遺伝子変異およびアミノ酸置換を伴わない遺伝子変異を調べることで(dN/dS) 検出した。HTLV-I 特異的 CTL は HTLV-I に対して正の淘汰圧を与えており、生体内で HTLV-I を排除していることが判明した。CTL から認識されにくい変異ウイルスも存在したが、CTL から逸脱して増加する変異ウイルスは観察されなかった。HIV と比べ HTLV-I Tax は遺伝的に安定であり、正の淘汰圧が観察された CTL エピトープはワクチン開発の対象となりえると考えられた。

研究目的

HAM では HTLV-I ウイルス量が高く、HAM 発症の最大のリスクである。一方、末梢血中には HTLV-I 特異的細胞傷害性 T リンパ球

(CTL) も高頻度に観察されている。すなわち HTLV-I 特異的 CTL が多いにもかかわらず、高ウイルス状態が持続している。HTLV-I 特異的 CTL は *in vitro* の細胞傷害性試験ではウイルス蛋白をパルスした細胞を効率的に傷害するが、生体内で HTLV-I 感染細胞を有効に排除しているのかは不明である。生体内での HTLV-I に対する CTL の淘汰圧を検出するために、アミノ酸変異を伴うウイルス遺伝子の変化率 (非同義置換 : dN) に対するアミノ酸変異を伴わないウイルス遺伝子の変化率 (同義置換 : dS) を計算した。同時に CTL 淘汰圧

がある部位で変異ウイルスが発生し、免疫学的逸脱を起していないか検討した。

研究方法

- ①HLA-A2 患者では HTLV-I Tax 蛋白に対する CTL エピトープがマッピングされている。そのため、対象は HLA-A2 の 3 例の HAM 患者とした。各患者の経過中の 3 ポイントで末梢血リンパ球を分離し DNA を抽出した。HTLV-I のサブクローニングを行い、合計約 450 クローンの tax 遺伝子をシークエンスした。
- ②各患者のウイルス遺伝子の phylogenetic tree を作製し、既知のエピトープと非エピトープ部の dN/dS を計算した。さらに、5 コドン当たりの dN/dS を window analysis にて検討した。
- ③正の淘汰圧の観察された CTL エピトープ部位で、変異エピトープをもつウイルスが経過とともに増大してこないか検討した。
- ④経過中変異エピトープ特異的な CTL が変化

1) 鹿児島大学医学部難治ウイルス研

2) 鹿児島大学医学部神経内科

していないか、変異エピトープ特異的 CTL の頻度を、IFN- γ を指標にしたフローサイトメトリーにて検討した。

(倫理面への配慮)臨床検体は患者への文書によるインフォームドコンセントのもとに採取した。本研究は鹿児島大学倫理委員会の承諾をえて行った。

研究結果

①各患者 HTLV-I のコンセンサスシーケンスは同一であり、患者特異的なウイルスは見つからなかった。

②dN/dS の検討では、6 個のエピトープの内 3 個の dN/dS は 1 以上(正の淘汰圧)であった。

③window analysis では 6 個のエピトープの内 3 個に統計学的に有意に HTLV-I に対する正の淘汰圧が観察された。

④正の淘汰圧が観察された CTL エピトープ部位に変異エピトープを持つウイルスが観察され、CTL にほとんど認識されない変異ウイルスも観察されたが、経過中増加する変異ウイルスは認めなかった。

⑤変異エピトープ特異的 CTL の頻度は、経過中大きな変化は認めなかった。

考察

Tax の変異は HTLV-I ウイルスの増殖にネガティブに働くことが知られている。本研究で、変異ウイルス特異的 CTL の増加を認めないにもかかわらず変異ウイルスの増大がないのは、変異そのものでウイルスの増殖が低下するためと考えられた。生体内でのウイルスの進化には、その変異がウイルス増殖そのものに与える影響と、CTL からの排除という 2 つのファクターのバランスにより決定されていることが推測された。また、CTL の淘汰圧がかか

る部位でウイルス増殖に関与するエピトープ部位は、免疫学的逸脱が起こりにくく、有効なワクチン開発のターゲットになると考えられた。

結論

HTLV-I 特異的 CTL は HTLV-I に対して正の淘汰圧を与えており、生体内で HTLV-I を排除していると考えられた。CTL から認識されにくい変異ウイルスも存在したが、CTL から逸脱して増加する変異ウイルスは観察されなかった。HIV と比べ HTLV-I Tax は遺伝的に安定であり、正の淘汰圧が観察された CTL エピトープはワクチン開発の対象となりえると考えられた。

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。

用新案登録：なし。

高い HAM 発症率を示すイラン型 HTLV-1 Tax/Rex の機能解析

分担研究者 大原 義朗¹⁾

共同研究者 齊藤 峰輝¹⁾、巽 理恵²⁾、藤澤 順一²⁾、Amir H. Sabouri³⁾、納 光弘³⁾、
出雲 周二⁴⁾

研究要旨

HTLV-1 はその塩基配列から大きく A および B の 2 つのサブタイプに分類されるが、鹿児島におけるコホート解析から、サブタイプ A の HTLV-1 感染者は、サブタイプ B (=ATK 株) の感染者と比較して HAM 罹患危険度が高いことが示されている。一方、HAM 患者が多く存在するイラン北東部における HTLV-1 の pX 領域の塩基配列を解析したところ、サブタイプ A および B とは異なる塩基置換を伴う新たなサブタイプ(サブタイプ Ir) の存在が明らかとなった。イラン株と同じ配列を持つジャマイカ株の感染地域においては、HAM の発症率が日本人の約 8 倍高いことから、各株の Tax/Rex の構造と機能を解析し、病態に及ぼす影響について考察した。イラン型 Tax (Tax-Ir) は NF- κ B 活性化能に対する LTR 活性化能の比率 (LTR/NF- κ B) が高く、イラン型 Rex (Rex-Ir) では、日本株 Rex (Rex-A=Rex-B) と比較して非スプライス型 RNA の核外輸送能が低下していた。イラン株では、細胞当たりの Tax 量の上昇をもたらす結果、HAM 発症リスクが高くなる可能性が考えられた。

研究目的

日本株 HTLV-1 には Tax アミノ酸配列の相違から 2 つのサブタイプ (Tax-A と Tax-B) が存在し、HAM 発症率を異にする [1]。我々はこれまでに、イラン北東部に多く存在する HAM 患者の HTLV-1 pX 領域の塩基配列には、日本株のうち HAM になりやすい株である Tax-A と共通の 4 つの塩基置換 (2 アミノ酸変異) を含め 10 塩基の共通した変異が存在し、ATK-1 株=Tax-B と比較して、6 アミノ酸変異を伴うこと、イラン人では日本人と比較して有意に低いプロウイルス量で HAM を発症していること [2]、さらにイラン株 Rex のアミノ酸配列は、日本株 rex における翻訳停止コードン (TGA) が TGG に変異することで、カルボキシル

末端が 20 アミノ酸延長していることを報告した。一方、イラン株と同じ塩基配列を持つジャマイカ株の感染地域においては、HAM の発症率が日本人の約 8 倍高いことが疫学調査から明らかになっている。そこで、それぞれのサブタイプにおける Tax および Rex の機能に注目し、その転写活性化能および非スプライス RNA 核外輸送能を比較・解析し、感染者末梢血中プロウイルス量および HAM 発症率との関連について考察した。

研究方法

イラン人 HAM 患者から HTLV-1 プロウイルス DNA pX 領域の塩基配列を増幅して Tax および

¹⁾ 金沢医科大学 医学部 生体感染防御学部門

²⁾ 関西医科大学 医学部 微生物学

³⁾ 鹿児島大学大学院 歯学部総合研究科 神経内科・老年病学

⁴⁾ 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

Rex の発現ベクターを作成した。HTLV-1 LTR、NF- κ B 結合部位のレポータープラスミドを用いたルシフェラーゼアッセイにより、Tax の転写活性化能を比較した。一方、欠損型 HTLV-1 provirus DNA 発現ベクター pGAGdm (吉田光昭・東大教授より供与) およびルシフェラーゼ遺伝子をスプライスアウトされる部位の間に挟んだベクター pLTR-Rluc-RXE (新たに作成)を用いて、イラン型・日本型 Rex の非スプライス型 RNA の核外輸送能を測定し比較した。

倫理面への配慮

本研究は、各研究者の所属施設の倫理委員会において承認を受けた。文書によるインフォームドコンセントを得たうえで提供者から検体を採取し、研究に供した。

研究結果

- ① HTLV-1 LTR および NF κ B プロモーターに対する HTLV-1 Tax サブタイプ A (Tax-A)、サブタイプ B (Tax-B)、サブタイプ Ir (Tax-Ir) の転写活性化能について検討した結果、イラン型 Tax (Tax Ir) は NF- κ B 活性化能に対する LTR 活性化能の比率 (LTR/NF- κ B) が有意に高いことが明らかになった。
- ② Rex Ir の機能 (非スプライス型 RNA の核外輸送能) は、ATK-1 株 Rex (Rex-A と Rex-B は同一) と比較して有意に低下していた(図)。

考 察

イラン株 pX 領域に存在する 10 塩基の置換は、HAM 発症率が日本人の約 8 倍近く高いと報告されているジャマイカ株 HTLV-1 にも観察され、イランにおける低プロウイルス量での HAM 発症との関連が示唆される。イラン型 Tax (Tax Ir) は NF- κ B 活性化能 に対する LTR 活性化能の比率 (LTR/NF- κ B) が高く、イラン型 Rex では、日本株 Rex と比較して非スプライス型 RNA の核外輸送能が低下していることから、ウイルス転写産物 spliced form/unsliced form 比の上昇⇒

Tax mRNA/genomic RNA 比の上昇 ⇒ 細胞当たりの Tax 量の上昇をもたらす可能性があり、その結果として、

- ① 感染細胞のクローナルな増殖の活性化を介した 無症候性キャリアーにおけるプロウイルス量の増加
- ② 抗 Tax CTL の誘導とその異常な活性化を介した HAM 発症への関与が考えられた。

結 論

イラン型 HTLV-1 は、感染細胞当たりの Tax 発現量の上昇をもたらすことで HAM 発症リスクを上昇させる可能性が示唆された。

文 献

- [1] Furukwa 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.
- [2] Sabouri AH, et al. Differences in viral and host genetics risk factors for development of HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) between Iranian and Japanese HTLV-1 infected individuals. **J Gen. Virol.** 2005 86: 773-81.

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