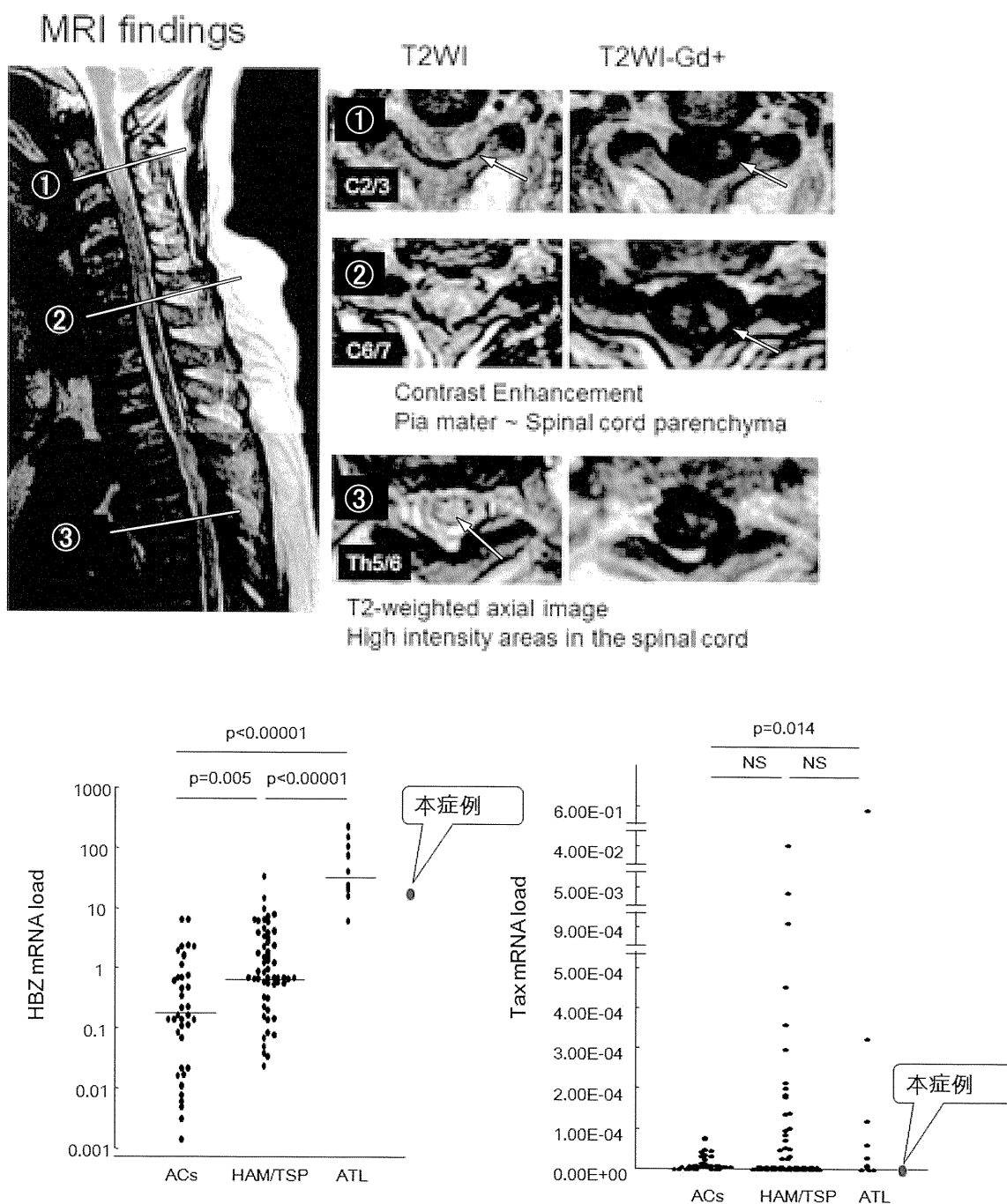


図 4: 脊髄に多巣性病変を認めた重症例における HBZ mRNA の高発現



脊髄に多巣性病変を認め、発症後 1 か月以内に歩行不能に至った重症例において、ATL 患者レベルの極めて高い HBZ mRNA 発現を認めたが、Tax mRNA は検出感度以下であった。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

HAM 患者 PBMC における TSLC1 の発現解析および高 HTLV-1 プロウイルス量の  
発生機序についての検討に関する研究

研究分担者 竹之内 徳博 関西医科大学 医学部 准教授

研究要旨：①昨年、HTLV-1 関連脊髄症（HAM）の新規バイオマーカーの候補として TSLC1 について述べた。今回はこの分子のさらなる解析を行った。CD4 陽性 T 細胞においては、HAM 患者で *TSLC1 mRNA* の発現亢進が認められたが、CD8 陽性 T 細胞においては逆に低下していた。疾患活動性の高い患者でその傾向がより顕著であり、TSLC1 の測定は HAM の疾患活動性を評価するバイオマーカーとして有用である可能性が示唆された。②HAM 発症の最大の risk factor として HTLV-1 プロウイルス量の高値が知られている。高プロウイルス量の発生機序の解明は HAM の病態把握や治療戦略に重要であるため、本研究ではこれについての検討を行った。HAM 患者では感染細胞はポリクローナルであることが示され、高プロウイルス量の原因としてはウイルスの感染伝播が主体である可能性が示唆された。これは HAM の治療に抗ウイルス剤が有効であることを示していると思われる。

#### A. 研究目的

①HTLV-1 関連脊髄症（HAM）は HTLV-1 感染が原因となって引き起こされる慢性進行性脊髄疾患であるが、病態は不明な点も多く、未だ根治的な治療法はない。故に、発症予防と進行防止が重要であるが、発症者の症状軽減のために用いられる INF $\alpha$  やステロイドは副作用のため長期使用が問題となっている。適切な投薬時期の判断のために、疾患の発症予測や活動性の評価に有用なバイオマーカーが必要とされており、昨年はこの候補として TSLC1 について述べた。よって、今回はこの分子のさらなる解析を行うこととした。

②HAM 発症の最大の risk factor として HTLV-1 プロウイルス量の高値が知られている。高プロウイルス量の発生機序としてウイルスの感染伝播が主体であれば HAM の治療に抗ウイルス剤が有効であることを示唆する。一方で一部の感染細胞のクローナルな増殖が主体であれば、その感染クローンを同定・定量し推移を観察することで、より詳細な感染動態の把握が可能となり、疾患重症度の評価に有用な可能性がある。近年、無症候性 HTLV-1 感染者（キャリア）において、*pol* 領域の欠損した defective virus が感染した細胞は短期的にクローナルな増殖を起しプロウイルス量の増加に関与しているとの報告があり、defective virus の検

出がクローナル増殖の一つの指標となることが示唆されている。故に本研究では、HAM 患者 PBMC での defective virus の検出と感染細胞のクローナルな増殖の有無を検証し、高プロウイルス量の発生機序について検討を行った。

#### B. 研究方法

##### 1) 血液検体

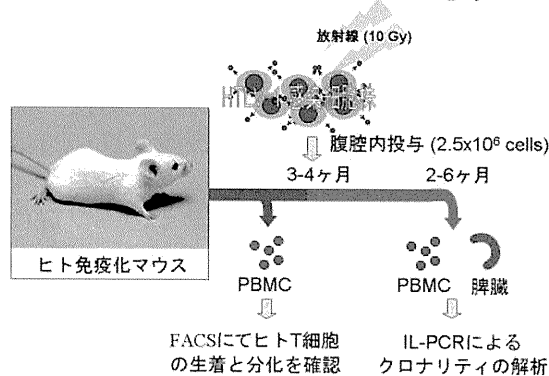
関西医科大学神経内科および京都府立医科大学神経内科の協力のもと、両病院に来院し十分な説明と書面による同意を得た HAM 患者、無徴候性 HTLV-1 感染者（キャリア）、ATL 患者、HTLV-1 非感染者（対照群）を対象に、臨床情報と末梢血を収集した。末梢血より血漿と末梢血単核球（PBMC）を密度勾配遠心法にて分離し、細胞保存液（セルバンカー：日本全薬工業）へ懸濁し液体窒素に保存した。保存 PBMC は用に鑑み解凍・使用された。

##### 2) 動物モデル

京阪臍帯血バンクより申請・審査の後提供された研究用臍帯血から、CD133 陽性細胞分離磁気ビーズを用いて造血幹細胞（CD133 陽性細胞）を分離し、細胞保存液へ懸濁し液体窒素に保存した。CD133 陰性細胞からは DNA を抽出し、HLA の解析に用いた。精製し保存された CD133 陽性細胞の

中から HLA-A24<sup>+</sup>の検体を選んで解凍し、7週齢の NOG-SCID マウス大腿骨髄内へ移植し、1ヶ月後に FACS にて CD45 陽性ヒト骨髄細胞の定着を確認しヒト化マウスを作製した。さらに3ヶ月後（骨髄移植4ヶ月後）に、作製したヒト化マウス腹腔内へ HTLV-1 感染細胞である MT-2 細胞を放射線処理後接種し、マウス体内に定着したヒトリンパ球へ HTLV-1 の感染を行った。HTLV-1 を感染させた後一定期間をおいて、その感染ヒト化マウスより末梢血や脾臓を採取し、PBMC を密度勾配遠心法にて分離した（図1）。

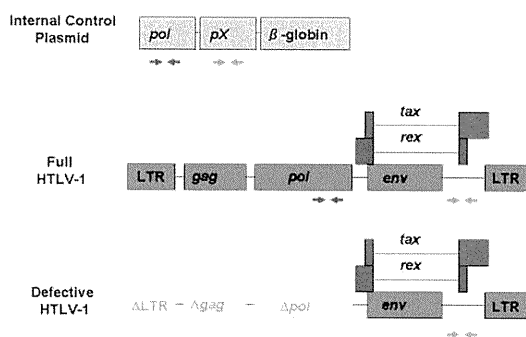
図1.ヒト免疫化マウスへのHTLV-1感染



### 3) 定量的 PCR

分離された PBMC からはゲノム DNA をカラム法（PureLink Genomic DNA Mini Kit: Invitrogen）にて分離し、HTLV-1 *tax/rex* 領域を標的とした TaMan Probe 法による定量的 PCR (MyiQ®: Bio-Rad) を行った。Internal Control として human  $\beta$ -globin を標的とした定量的 PCR も行い、PBMC における HTLV-1 プロウイルスの定量を行った。Defective virus の比率の算出に際しては、HTLV-1 *pol* 領域を標的とした定量的 PCR も行った。定量 PCR の standard としては、HTLV-1 *tax/rex* 領域と *pol* 領域及び  $\beta$ -globin が 1 copy ずつ直列に配列した plasmid を新たに作製し用いた（図2）。

図2. Defective Virus検出のPrimer Setting



### 4) 定量的 RT-PCR

磁気ビーズ（CD4<sup>+</sup> T cell Isolation Kit II、CD8<sup>+</sup> T cell Isolation Kit II: MACS）を用いてヒト PBMC より CD4 陽性 T 細胞及び CD8 陽性 T 細胞を分離し、カラム法（RNeasy Mini Kit: QIAGEN）にて total RNA を抽出した。Random hexamer を用いて Total RNA から cDNA を作成した後、HTLV-1 *tax/rex*、HTLV-1 *HBZ* 及び *TSLC1* を標的としたサイバーグリーン法（SsoFast EvaGreen Supermix: Bio-Rad）による定量的 RT-PCR（MyiQ®: Bio-Rad）を行った。Internal Control として *HPRT* を標的とした定量的 RT-PCR も行い、各細胞分画における HTLV-1 *tax/rex*、HTLV-1 *HBZ* 及び *TSLC1* mRNA の発現量を測定した。

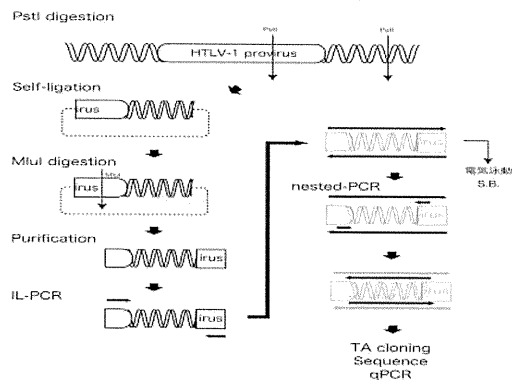
### 5) T細胞の活性化

HTLV-1 非感染者 PBMC から MACS にて CD4 陽性 T 細胞及び CD8 陽性 T 細胞を分離し、RPMI1640 (with 10% FCS, 1% P/S) に  $1 \times 10^5$  cell/ml で懸濁した後、24 well plate へ 1ml ずつ分注した。細胞を PHA 或いは plate bound された抗 CD3CD28 抗体にて 16 時間刺激した後、RNA 抽出を行った。

### 6) IL-PCR

抽出 DNA を制限酵素 Pst1 にて切断し、self ligation の後、制限酵素 Mlu1 にて処理した。その後、HTLV-1 LTR より外向きに primer をセットして PCR を行い、電気泳動にて感染細胞のクロナリティを評価した。また、電気泳動にて特に濃いバンドが検出された部位よりゲルを切り出し、同部位の PCR product を精製した後に TA cloning を行い、HTLV-1 挿入部位の sequence を解析した。（図3）。解析された sequence を基に primer を設計し、定量 PCR を行いメジャークローンの占拠率の算出を行った。

図3. Inverse-Long PCR(IL-PCR)の操作手順



## 7) FACS

蛍光標識された各種抗体（抗ヒト CD4、抗ヒト CD8、抗ヒト CD25、抗ヒト CCR4、抗ヒト TSLC1）を用いてフローサイトメトリー（BD FACSCanto™ II: BD）を行い、PBMC のフェノタイプを解析した。

### （倫理面への配慮）

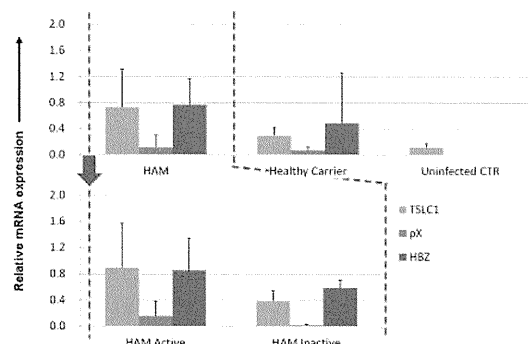
HAM 患者及び HTLV-1 キャリアよりの臨床検体採取は、関西医科大学医学倫理委員会のガイドラインに則り十分なインフォームドコンセントのもとに行われた。同意取得に当たっては、本学及び診療機関における倫理委員会の承認を受けた同意説明書を用いて、担当医師から研究の目的、方法、プライバシーに関する遵守事項、被験者の人権保護など必要な事項について十分に説明し、被験者の自由意思による同意を文書で得た。提供された検体は、連結可能匿名化を行い被験者のプライバシー保護を厳重に図られた。動物実験については、関西医科大学動物実験委員会に実験計画を申請し、審査の後承認を受けた。

## C. 研究結果

### ① TSLC1 の解析

CD4 陽性 T 細胞においては、HAM 患者ではキャリア (healthy carrier) や非感染者 (Uninfected CTR) と比べて TSLC1 が高値であった。また、HTLV-1 HBZ は HAM 患者で高い傾向にあったが、HTLV-1 pX(tax/rex) は差が認められなかった。活動性の高い HAM (HAM active) では、TSLC1 や HTLV-1 HBZ はより高値になる傾向にあり、HTLV-1 pX も上昇していた (図 4)。

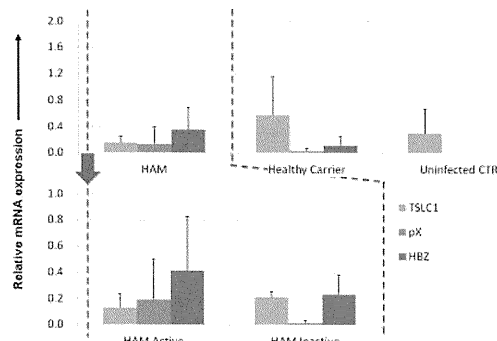
図 4. CD4陽性T細胞における TSLC-1, HTLV-1 pX, HTLV-1 HBZ mRNA発現量の比較



一方で、CD8 陽性 T 細胞においては、HAM 患者では HTLV-1 HBZ や HTLV-1 pX は上

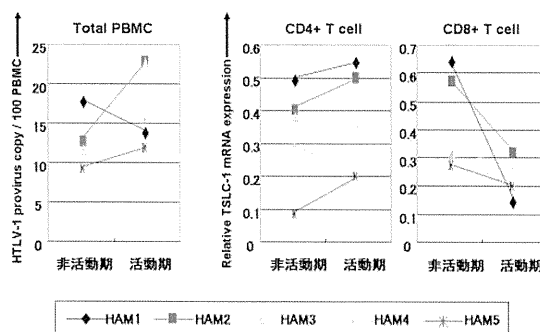
昇していたものの、TSLC1 は逆に低下しており、疾患活動性の高い患者でこの傾向はより強かった (図 5)。

図 5. CD8陽性T細胞における TSLC-1, HTLV-1 pX, HTLV-1 HBZ mRNA発現量の比較



TSLC1 の疾患活動性のバイオマーカーとしての有用性をさらに確かめるために、同一患者の疾患活動性の高い時期と低い時期の TSLC1 の発現を測定し、同時にプロウイルス量も測定し比較検討を行った。プロウイルス量は疾患活動性の高い時期に上昇していたが、TSLC1 については、CD4 陽性 T 細胞では有意な差がなかったものの、CD8 陽性 T 細胞では低下が認められた (図 6)。

図 6. 活動期及び非活動期における HTLV-1 プロウイルス量と TSLC-1 発現量の推移



HTLV-1 tax や HTLV-1 HBZ は trans activator としても知られており、TSLC1 の発現に直接の影響を与えている可能性があるため、TSLC1 の発現量と HTLV-1 tax/rex 或いは HTLV-1 HBZ 発現量との間に相関関係があるかどうかの検討を行った。しかしながら、CD4 陽性 T 細胞と CD8 陽性 T 細胞のいずれにおいても有意な相関は認められなかった (図 7 と 図 8)。

図7. CD4陽性T細胞におけるTSLC-1発現量とHTLV-1 pX or HTLV-1 HBZ mRNA発現量の相関

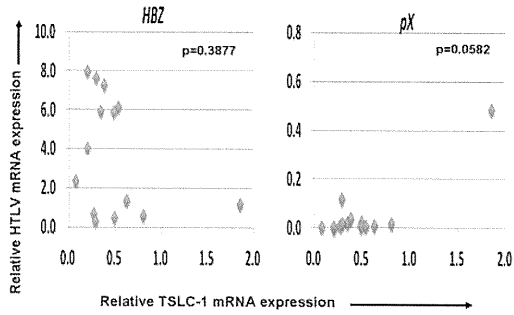
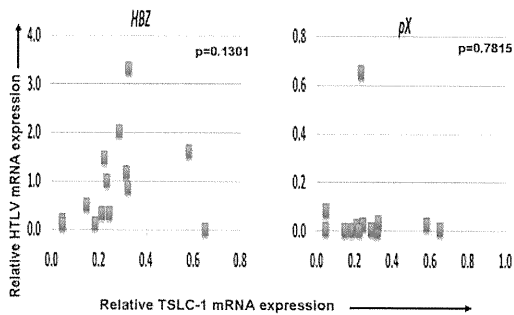
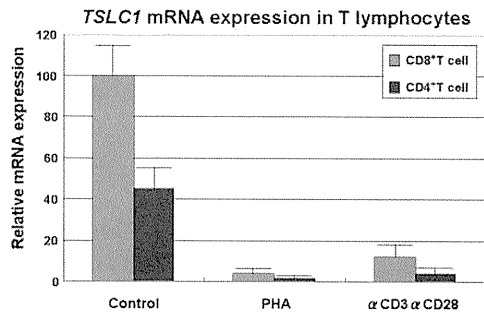


図8. CD8陽性T細胞におけるTSLC-1発現量とHTLV-1 pX or HTLV-1 HBZ mRNA発現量の相関



細胞刺激による発現量の変化を測定したところ、PHA 及び抗 CD3CD28 抗体による刺激にて TSLC1 は発現が低下する傾向が認められた (図9)。

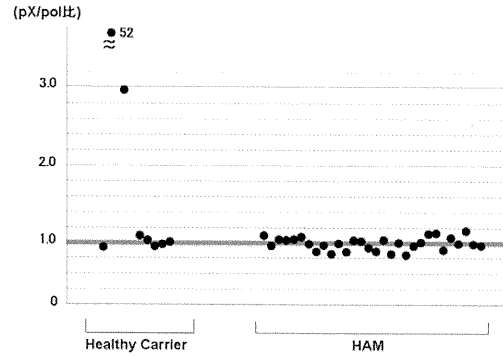
図9. 細胞の活性化に伴うTSLC-1発現量の変化



## ②感染細胞のクロナリティの解析

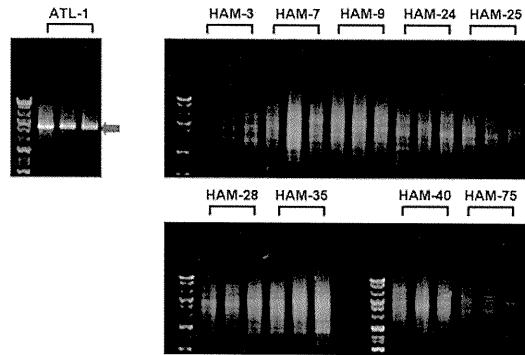
キャリアではプロウイルス量の高い症例の一部で pX/pol 比が大きく 1 を超えており、defective virus の存在が確認された。一方で HAM 患者では今回測定した全例 (30 名中 30 名) で pol と pX の測定値はほぼ同値であった (図10)。

図10. Defective Virusの算出



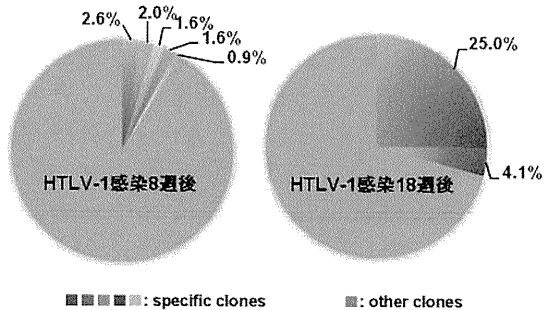
プロウイルス量が 15% を超える HAM 患者については、PBMC における感染細胞のクロナリティの解析まで行ったが、全例で IL-PCR 法では明瞭なバンドが検出されなかった (図11)。

図11. HAM患者PBMCにおけるHTLV-1感染細胞のクロナリティ



IL-PCR を応用した定量 PCR にて (図3) HTLV-1 感染ヒト化マウスの PBMC を用いたクロナリティの推移観察では、感染細胞の収束が確認された (図12)。

図12. HTLV-1感染ヒト化マウスにおけるHTLV-1感染細胞のクロナリティ



## D. 考察

CD4 陽性 T 細胞においては HAM 患者で *TSLC1* の発現亢進が認められ、疾患活動性の高い時期により上昇する傾向にあった (図 4、図 6)。逆に、CD8 陽性 T 細胞においては低下傾向にあった (図 5、図 6)。*TSLC1* の発現量と HTLV-1 *tax/rex* や HTLV-1 *HBZ* 発現量との間に有意な相関はなく、*TSLC1* の発現量の変化はウイルス発現と独立していることが示唆された (図 7、図 8)。これらの事実は *TSLC1* が HAM の疾患活動性のバイオマーカーとして有用である可能性を示唆しているものと思われた。しかしながら、細胞刺激にて *TSLC1* の発現は低下しており (図 9)、CD8 陽性 T 細胞における *TSLC1* の発現低下は炎症に伴う非特異的反応の可能性も考えられた。今後は、HTLV-1 発症に特に関与していると考えられている炎症性サイトカイン (IFN $\gamma$ 、TNF $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  etc) による刺激実験を行い、さらなる検証を進めていく。

Defective virus の検出・算出の実験では、HAM 患者では全例で *pol* と *tax* の測定値はほぼ同値であり、defective virus は極めて少ないことが示唆された (図 10)。また、IL-PCR 法では明瞭なバンドが検出されず、感染細胞はポリクローナルであることが示された (図 11)。一部のキャリアや ATL 患者ではクローナルな増殖をきたした HTLV-1 感染細胞で defective virus が検出されており、HAM 患者との相違点が認められる。defective virus は構造的に感染能を持たないと思われるため、感染細胞の増加にはクローナルな増殖が必要となる。故に、感染細胞のクローナルな増殖が認められるキャリアや ATL 患者で defective virus が検出されることは合理的と思われる。一方で、HAM 患者においては defective virus がほとんど検出されず、これは HAM では full length の virus が主体であることを示し、感染細胞がウイルスの産生・感染能を持つことを意味している。これらのことから、HAM 患者における高プロウイルス量の原因としてはウイルスの感染伝播が主体であることが疑われた。しかしながら、IL-PCR 法のみではポリクローナルな増殖を完全には否定できず、より精度の高い方法で検証するため、IL-PCR 法を応用した定量 PCR で感染細胞のクロナリティの変化を追うことにした (図 3)。同 assay 系にてメジャークロー

ンの推移の観察が可能となったため (図 12)、今後は、HAM 患者にてウイルス量が大きく変化した症例にて、クロナリティの推移を観察し、感染細胞の増殖機序を明らかにしていく予定である。

## E. 結論

*TSLC1* の測定は HAM の疾患活動性の指標として有用である可能性が示唆された。

HAM 患者に認められる高プロウイルス量は、ウイルスの感染伝播が主体であることが疑われ、HAM の治療に抗ウイルス剤が有効であることが示唆された。

## G. 研究発表

1. 論文発表  
特になし。

2. 学会発表  
国際学会

1. Jun-ichi Fujisawa, Kenta Teduka, Runze Xun, Mami Tei, Norihiro Takenouchi, Masakazu Tanaka: ATL-like overgrowth and clonal expansion of HTLV-1 infected CD25+ CD4+ T-lymphocyte in humanized-NOG mouse model. 15<sup>th</sup> International conference on human retrovirology HTLV and related viruses, 4-8<sup>th</sup> June, 2011, Leuven/Gembloux Belgium

2. Kenta Teduka, Runze Xun, Mami Tei, Takaharu Ueno, Masakazu Tanaka, Norihiro Takenouchi, Jun-ichi Fujisawa: Inverse correlation between Tax and CD25 expressions in HTLV-1 infected CD4 T-cells in vivo. 15<sup>th</sup> International conference on human retrovirology HTLV and related viruses, 4-8<sup>th</sup> June, 2011, Leuven/Gembloux Belgium

3. Ryuji Kubota, Takenouchi Norihiro, Matsuzaki Toshio, Takashima Hiroshi, Shuji Izumo: HLA-A24-restricted HTLV-I-specific CTL response reduces the HTLV-I proviral load but the HLA increases the risk of HAM/TSP. 15<sup>th</sup> International conference on human retrovirology HTLV and related viruses, 4-8<sup>th</sup> June, 2011, Leuven/Gembloux Belgium

4. Takaharu Ueno, Kenta Teduka, Runze Xun, Mami Tei, Masakazu Tanaka, Norihiro Takenouchi, Jun-ichi Fujisawa : Infection of defective virus correlated with the induction

of CD25 positive CD4 T-cell during early phase of infection in humanized mouse model. The Unlimited World of Microbes, XV International Congress of Virology, 11-16 September, 2011(Final Program p55)

5. Kenta Teduka, Runze Xun, Mami Tei, Takaharu Ueno, Masakazu Tanaka, Norihiro Takenouchi, Jun-ichi Fujisawa: Inverse correlation between tax and CD25 expressions in HTLV-1 infected CD4+ T-cells *in vivo*. The Unlimited World of Microbes, XV International Congress of Virology, 11-16 September, 2011(Final Program p114)

#### 国内学会

6. 竹之内徳博、藤澤 順一、日下 博文、中川 正法：HAM 患者末梢血 T 細胞における TSLC1 発現の検討 第 52 回 日本神経学会学術集会、2011 年 5 月 18 日～20 日、名古屋

7. 和田直樹、田中正和、橋本岩男、竹之内徳博、三輪正直、藤澤順一：ウシラクトフェリン投与による HTLV-1 腫瘍抑制効果の検討 がん予防大会 2011、2011 年 6 月 20 日～21 日、京都

8. 塚田匡輝、田中正和、竹之内徳博、藤澤順一、園田俊郎、三輪正直：緑茶投与による HTLV-1 感染細胞特異的な抑制効果の検討 がん予防大会 2011、2011 年 6 月 20 日～21 日、京都

9. 竹之内徳博、手塚健太、上野孝治、梅木一美、中川正法、日下博文、岡山昭彦、藤澤順一：HAM 患者 PBMC における defective virus とプロウイルス量の関連についての検討、第 23 回 日本神経免疫学会学術集会、2011 年 9 月 15 日～17 日、東京

10. 竹之内徳博、手塚健太、上野孝治、梅木一美、中川 正法、日下 博文、岡山 昭彦、藤澤 順一：HAM 患者 PBMC における欠損ウイルスとプロウイルス量の関連についての解析、第 4 回 HTLV-1 研究会・合同班会議、2011 年 9 月 18 日～19 日、東京

11. 久保田龍二、竹之内徳博、松崎敏男、高嶋博、出雲周二：HLA-A24 拘束性 CTL はウイルス量を減少させるが HAM 発症リスクを上げる、第 4 回 HTLV-1 研究会・合同班

議、2011 年 9 月 18 日～19 日、東京

12. 手塚健太、上野孝治、荀潤澤、竹之内徳博、田中正和、藤澤順一：HTLV-1 感染ヒト化マウスにおける欠損型プロウイルスの解析、第 70 回 日本癌学会学術総会、2011 年 10 月 5 日、名古屋

13. 竹之内徳博、佐藤輝明、中川正法、手塚健太、日下博文、藤澤順一：HAM 患者 CD8 陽性 T 細胞における TSLC1 発現の解析、第 16 回 日本神経感染症学会学術集会、2011 年 11 月 4 日～5 日、東京

#### F. 知的所有権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得  
特にない。

2. 実用新案登録  
特にない。

3. その他  
特にない。

HAM に対する経口プロスルチアミン療法の有効性の検討に関する研究

研究分担者 中村龍文 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 准教授

共同研究者 松尾朋博<sup>1)</sup>、福田 卓<sup>2)</sup>、大和慎治<sup>3)</sup>、山口健太郎<sup>4)</sup>、佐々木 均<sup>4)</sup>、  
酒井英樹<sup>1)</sup>、川上 純<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学・院・腎泌尿器病態学、<sup>2)</sup>長崎大学・院・展開医療科学、

<sup>3)</sup>長崎大学・院・感染免疫学、<sup>4)</sup>長崎大学病院・薬剤部

研究要旨：

我々は HTLV-I 感染細胞に対してアポトーシスを誘導できるプロスルチアミン（アリナミン®）による静注療法を HAM 患者に対して試み、その有効性と安全性を報告してきた。今回、長期に亘る治療法の開発を見据え、本薬剤経口薬投与（300mg/日、12 週間連日）による臨床試験を 15 例の HAM 患者に対して施行し、その有効性と安全性について検討した。その結果、痙縮の改善を基盤とした歩行時間の短縮など下肢運動機能の明らかな改善がみられた。さらに、膀胱機能については、治療の前後で施行した尿流動態検査では、膀胱容量、排尿筋圧、および最大尿流率において著明な改善が得られた。末梢血では HTLV-I プロウイルス量は約 16.5%有意に減少すると共に、PHA に対するリンパ球幼若化試験でも有意な改善が得られた。重篤な副作用の出現は認められなかった。以上の事実より、プロスルチアミン経口薬は HAM に対する有望な新規治療薬となり得る可能性がある。

A. 研究目的

現在、HTLV-I 関連脊髄症 (HAM) に対する治療法としては副腎皮質ホルモンやインターフェロン- $\alpha$  などによる免疫修飾療法が主流である。これらの治療においては一定の効果は得られているものの、長期に亘る治療を必要とする本疾患であるが故に、その長期的効果の有効性への疑問視や副作用の出現など、多くの問題点を抱えている。HAM は HTLV-I 感染者の極一部に

しか発症しないものの、一旦発症すれば、そのほとんどが慢性進行性であり、下肢運動機能障害と膀胱機能障害によって、ADL および QOL が著しく阻害されている現状を考える時、一刻も早い治療法の確立が切望されている。さて、HAM は HTLV-I の慢性感染症であり、その理想的治療は HTLV-I の体内からの排除である。この点に鑑み、我々は HTLV-I 感染細胞に対してアポトーシスを誘導できるビタミン B1 誘導体の一つであ



るプロスルチアミン(アリナミン®)による静注療法をHAM患者に対して試み、その有効性と安全性を報告してきた。しかし、HAMに対する治療では、前述したように長期に亘る治療が必要であり、その場合経口薬による治療法の開発が望まれる所である。そこで今回、HAM患者に対して本薬剤を経口薬として投与し、その有効性と安全性について検討した。

## B. 研究方法

1) 対象： HAM 患者 15 例(女性 10 例：男性 5 例、年齢：44～80 歳(平均：62.7 歳)、罹病期間：3～51 年(平均：21.9 年)、Osame による運動機能障害度 3～9 であった。既存の治療は変更することなく併用した。症例 7)、8)、10) 以外は間歇的自己導尿を施行していた。表 1 に患者プロフィールを示す。

表1. 症例のプロファイル

症例	性	年齢(歳)	発症年齢(歳)	罹病期間(年)	運動機能障害度	併用薬	
						免疫修飾剤	排尿改善剤
1)	女性	80	57	23	6	(-)	抗コリン剤
2)	女性	64	48	20	6	(-)	抗コリン剤
3)	男性	57	6	51	6	PSL 2.5mg 連日 PSL 10mg 連日	抗コリン剤
4)	女性	51	15	36	9	(-)	抗コリン剤
5)	女性	67	64	3	3	(-)	(-)
6)	女性	61	31	30	5	(-)	(-)
7)	女性	68	56	12	4	(-)	α1ブロッカー
8)	男性	64	53	11	5	PSL 5mg 連日	α1ブロッカー
9)	男性	66	43	23	9	PSL 10mg 連日	抗コリン剤
10)	男性	76	53	23	6	(-)	(-)
11)	女性	53	46	7	6	(-)	(-)
12)	女性	62	50	12	4	PSL 5mg 連日	α1ブロッカー
13)	女性	44	22	22	6	(-)	(-)
14)	男性	56	46	10	5	(-)	抗コリン剤
15)	女性	71	26	45	9	(-)	抗コリン剤
平均		62.7	41.1	21.9	5.9		

2) 薬剤投与：カプセル化経口プロスルチアミン(アリナミン®)300mg を 1 日 1 回朝食前、連日 12 週間投与した。

3) 評価項目：以下の項目についてモニタリングした。

### A) 神経内科学的評価

a) Osame の運動機能障害度 b) 神経学的所見  
c) 歩行・階段降時間

### B) 泌尿器科学的評価

a) 夜間頻尿 QOL 質問票 b) 過活動膀胱質問票 (OABSS) c) 尿流動態検査 Urodynamic study (UDS)

### C) ウイルス学的評価

a) 末梢血 HTLV-I プロウイルス量 b) 血清抗 HTLV-I 抗体価

### D) 免疫学的評価

a) PHA に対するリンパ球幼若化試験 b) 血清可溶性 IL-2 受容体 (sIL-2R) 値

(倫理面への配慮)

本臨床試験は本大学病院倫理審査委員会の承認を受け、臨床研究保険に加入し、文書によるインフォームドコンセントを取得後、施行された。また、本臨床試験開始前に、UMIN 試験 ID を取得した (UMIN000005969)。

## C. 研究結果

1) 下肢運動機能の改善：表 2 に投与開始前

と投与開始 12 週目(投与終了時)における下肢運動機能を示す。Modified Ashworth scale による下肢痙縮の評価では、投与前 12 例で認められた痙縮は 9 例で 1 段階以上の改善を示した。しかし、Osame の運動機能障害度には変化は認められなかった。歩行・階段降時間は施行可能な症例で測定したが、10m 歩行では 12 例中 6 例で、30m 歩行では 9 例中 7 例で、階段降では 7 例中 6 例で、改善を認めた。すなわち、痙縮の

改善を基盤として、下肢運動機能の改善が認められた。

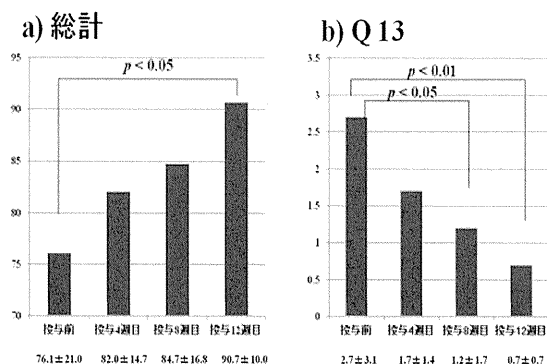
表2. 下肢運動機能の改善

症例	痙縮	痙縮改善	10m歩行(秒)			30m歩行(秒)			階段下り(秒)		
			前	後	%improvement	前	後	%improvement	前	後	%improvement
1)	(+)	○	26.5	21.6	18.5						
2)	(+)	○	15.5	9.8	36.8	50.8	35.2	30.7			
3)	(+)	○	11.5	10.5	8.7	36	33.3	7.5	8.6	7.7	10.5
4)	(+)	○									
5)	(-)		5.3	4.9	7.5	16.2	15.5	4.3	3.8	3.7	2.6
6)	(+)	○	5.9	6.2	-5.1	20.8	19.9	4.3	4.1	4.2	-2.4
7)	(+)	○	8.9	9.5	-6.7	30.5	29.4	3.6	9.2	7.9	14.1
8)	(+)		12.6	13.3	-5.6	42.8	43.2	-0.9	9.5	8.6	9.5
9)	(+)	○									
10)	(+)	○	20	25.1	-25.5						
11)	(+)		29.5	32.5	-10.2						
12)	(-)		6.6	6.9	-4.5	20.9	22.3	-6.7	4.4	4.3	2.3
13)	(+)		22.8	21.3	6.6	71	67.7	4.6			
14)	(+)	○	15.4	11.3	26.6	45.7	33.6	26.5	14.3	11.4	20.3
15)	(-)										

2) 膀胱機能の改善:

a) 夜間頻尿 QOL 質問票および過活動膀胱質問票(OABSS)における変化: 図 1a に示すように、夜間頻尿 QOL 質問票では投与終了時において有意な改善を示した。また、この質問票の質問13(全体として、夜間、尿をするために起きなければならないことは、どれくらい日常生活を妨げていますかと)という項目については投与 8 週目から有意な改善が得られた(図 1b)。しかし、OABSS では改善傾向は得られたものの、有意差は得られなかった(図省略)。

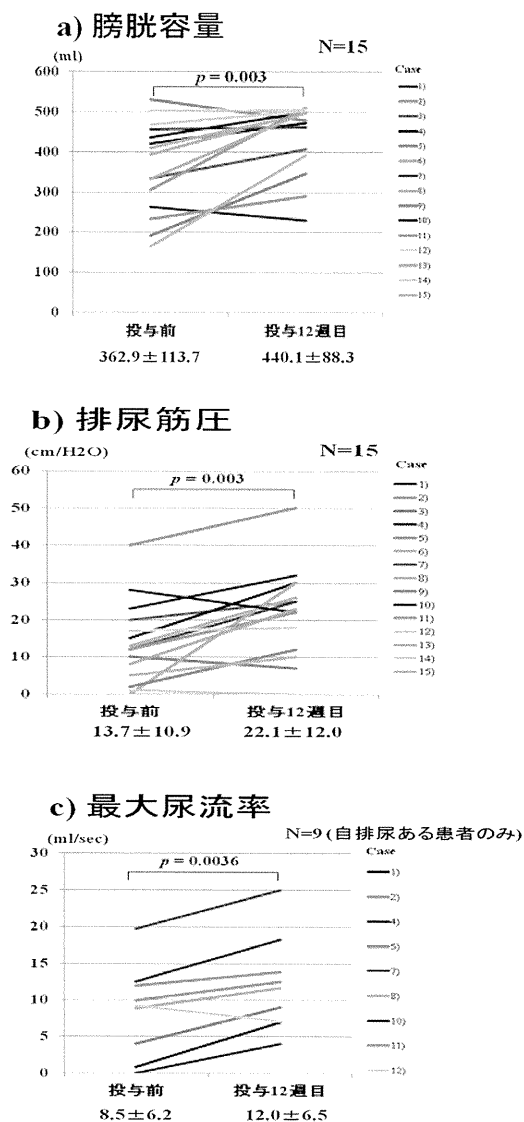
図1. N-QOL質問表



b) 尿流動態検査(UDS)における変化: 図 2ab に示すように、投与開始前と比較した投与開始 12

週目(投与終了時)における変化(平均±SD)では膀胱容量(362.9 ± 113.7 → 440.1 ± 88.3 ml)および排尿筋圧(13.7 ± 10.9 → 22.1 ± 12.0 cm/H<sub>2</sub>O)において有意な改善を示した。さらに、自排尿のできる患者 9 例で解析された最大大尿流率(8.5 ± 6.2 → 12.0 ± 6.5 ml/sec)も有意な改善を示した(図 2c)。

図2. 尿流動態検査(UDS)



また、HAM 患者の膀胱機能障害において特徴的とされる排尿筋括約筋強調不全(DSD)および過活動膀胱(OAB)についても、前者では治療前に認められた 7 例中 3 例で、後者では治療前に認

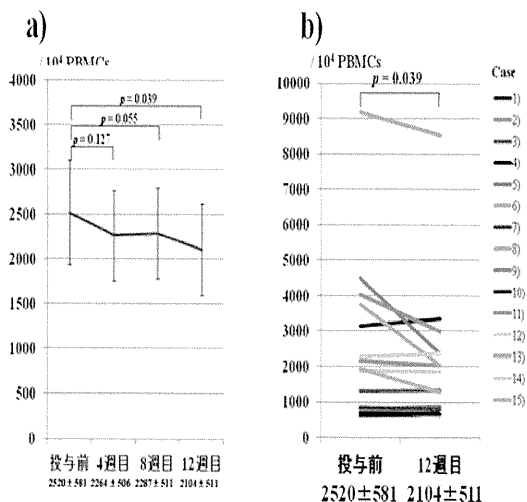
められた 9 例全例で改善を認めた(表 3)。

表3. 排尿筋括約筋協調不全(DSD)と過活動膀胱(OAB)の改善

症例	DSD		OAB	
	前	後	前	後
1)	(-)	(-)	(-)	(-)
2)	(-)	(-)	(+)	(-)
3)	(+)	(+)	(+)	(-)
4)	(+)	(+)	(+)	(-)
5)	(+)	(-)	(-)	(-)
6)	(+)	(-)	(-)	(-)
7)	(-)	(-)	(-)	(-)
8)	(+)	(+)	(+)	(-)
9)	(-)	(-)	(+)	(-)
10)	(-)	(-)	(-)	(-)
11)	(+)	(+)	(+)	(-)
12)	(+)	(-)	(+)	(-)
13)	(-)	(-)	(+)	(-)
14)	(-)	(-)	(-)	(-)
15)	(-)	(-)	(+)	(-)

3) 末梢血 HTLV-I プロウイルス量の減少: 末梢血 HTLV-I プロウイルス量は末梢血単核球  $10^4$  個あたりのコピー数で算出した。図 3a に示すように、平均±SE で表すと投与前  $2520 \pm 581$ 、投与 4 週目  $2264 \pm 506$ 、投与 8 週目  $2287 \pm 511$ 、投与 12 週目  $2104 \pm 511$  コピーと徐々に減少し、12 週間投与で平均で約 16.5%の減少を示し、統計学的には有意であった。図 3b は症例毎の 12 週間投与における末梢血 HTLV-I プロウイルス量の変化をプロットしたものであるが、約半分に減少する例も数例認められた。

図3. 末梢血HTLV-Iプロウイルス量の変化



4) PHA に対するリンパ球幼若化反応の改善:

図 4 に示すように、PHA に対するリンパ球幼若

化試験では投与前に比較して、終了後僅かではあるが、有意に stimulation index が上昇した。図 5 は末梢血 HTLV-I プロウイルス量減少率と PHA リンパ球幼若化増加率の相関をみたものである。統計学的に有意差は得られなかったものの、中等度の相関を示した。血清 sIL-2R 値、抗 HTLV-I 抗体価については有意な変動はみられなかった(図省略)。

図4. PHAに対するリンパ球幼若化反応の変化

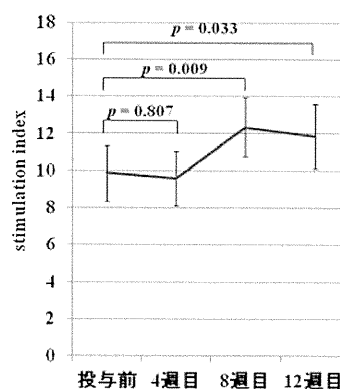
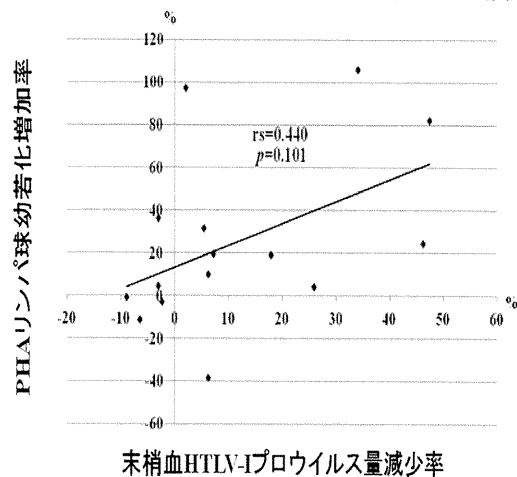


図5. HTLV-Iプロウイルス量とPHA反応の変化との相関関係



5) 安全性について: 3 例で軽度の上腹部不快感を認めた以外、副作用の発現は認められなかった。

D. 考察

今回の臨床試験において、HAM に対するプロ

スルチアミン経口薬による治療の有効性と安全性が示された。今回の対象となった症例の罹病期間が平均約 22 年と長いことを考慮すれば、本治療による改善は非常に興味深い。すなわち、HAM における病巣部位での病理学的変化はかなり可逆性を持ち、有効な治療的介入を行えば、たとえ罹病期間が長くても改善し得ることを示していると考えられる。今回の試験成績の特筆すべき点は、下肢運動機能の改善もさることながら、膀胱機能の著明な改善であった。すなわち、プロスルチアミン治療によって、膀胱容量が拡大し、且つ排尿筋圧が増大し、その結果として最大尿流率が有意に増加したことが UDS によって確認された。さらに HAM 患者の膀胱機能障害の中で最も特徴的とされる DSD と OAB の改善もみられた。この事実は subjective なデータとしての N-QOL score の改善と一致している。膀胱機能についての治療効果の判定において、このように詳細に解析された報告は我々の知る限り初めてである。

元来、本臨床試験は末梢血での HTLV-I プロウイルスの減少を基盤とした HAM の下肢運動機能・膀胱機能の改善を目指したものであった。今回の成績ではプロスルチアミン投与によって、確かに HTLV-I プロウイルス量は有意差をもって減少したものの、その減少率は予想していた程高くはなかった。また、元来 HAM 患者において低下している PHA に対するリンパ球幼若化反応における stimulation index も確かに本治療によって有意差をもって増加したものの、

予想した程高くはなかった。この原因はプロスルチアミンの投与量、投与期間に関係していると考えられる。ただ、末梢血 HTLV-I プロウイルス量の減少率と PHA に対するリンパ球幼若化反応における stimulation index の増加率において中等度ながらも相関が得られた。このことは本治療プロトコールにおいて、間違いなく末梢血 HTLV-I プロウイルス量の減少を基盤として末梢血における免疫学的異常の改善が誘導されていることを示唆していると考えられる。

ただ、末梢血 HTLV-I プロウイルス量の減少度/PHA に対するリンパ球幼若化反応の改善度と臨床的な著明な改善には乖離があるようにみえる。この理由については不明である。可能性の一つとして考えられることは、元来プロスルチアミンはビタミン B1 の組織あるいは細胞移行を良くするために開発されたものであるが、脊髄組織内あるいは膀胱組織内に移行したプロスルチアミンが組織レベルで効果を発揮している可能性がある。いずれにせよ今後、この点については詳細な解析が必要である。

以上、HAM に対する新規治療法としての経口プロスルチアミン療法の有効性を報告した。プロスルチアミンについては既に安全性も確立され、HAM 患者に対する長期間に亘る治療にも十分に耐えうる薬剤である。今後は large scale による control study を必要としている。

## E. 結論

HAM に対するプロスルチアミン経口薬による治療の有効性と安全性が示された。今回の試験

プロトコールでは末梢血 HTLV-I プロウイルス量の著明な減少は得られなかったものの、下肢運動機能のみならず排尿機能においても著明な改善が得られた。このことはプロスルチアミン経口薬は HAM に対する有望な新規治療薬となり得る可能性を示していると考えられる。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Araya N, Takahashi K, Sato T, Nakamura T, Sawa C, Hasegawa D, Ando H, Aratani S, Yagishita N, Fujii R, Oka H, Nishioka K, Nakajima T, Mori N, Yamano Y. Fucoidan therapy decreases the proviral load in patients with human T-lymphotropic virus type-1-associated neurological disease. *Antivir Ther.* 16:89-98, 2011.
- 2) Kitazono T, Okazaki T, Araya N, Yamano Y, Yamada Y, Nakamura T, Tanaka Y, Inoue M, Ozaki S. Advantage of higher-avidity CTL specific for Tax against human T-lymphotropic virus-1 infected cells and tumors. *Cell Immunol.* 272:11-17, 2011.
- 3) 中村龍文, 福田 卓, 西浦義博. HAMの治療法の概略と進歩. *神経内科* 75:380-386, 2011.

### 2. 学会発表

- 1) Nakamura T. : New therapeutic approach focusing on targeting HTLV-I-infected cells by prosultiamine in HAM/TSP. 3<sup>rd</sup> Nagasaki Prion mini-symposium, Nagasaki, Japan, .2011.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

### 1. 特許取得：

- 1) 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、特開 2007-277223)。
  - 2) HTLV-I 関連脊髄症の予防または治療剤(特許出願中、特願 2011-226209)。
  - 3) 排尿障害の予防・治療剤(特許出願中、特願 2011-269262)。
2. 実用新案登録：なし。
3. その他：なし。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

重症度別治療指針作成に資す HAM の新規バイオマーカーの同定に関する研究

研究分担者 山野嘉久 聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター 准教授

研究要旨： HTLV-1 関連脊髄症（HAM）は、その経過に個人差があり、患者毎に活動性を評価し、その活動性に応じた適切な治療を行うことが重要と考えられるが、HAM の自然経過や活動性の評価方法に関する情報に乏しいのが現状である。そこで本研究では、HAM 患者の自然経過をレトロスペクティブに解析し、治療方針決定に資する疾患活動性マーカーを同定することとした。その結果、HAM の経過は緩徐進行性のみならず急速進行性を示す例もあり、バリエーションがあることが判明した。そのデータから、最近4年間で納の運動障害重症度が 3grade 以上悪化した進行群と 1grade 以下の進行にとどまる非進行群を定義し、その両群で血液および髄液中のマーカー候補因子の値を比較した。その結果、血液マーカーはすべて有意差を示さなかったのに対して、髄液中の CXCL10、ネオプテリン、CXCL9、細胞数は進行群において有意に高いことが判明し、特に髄液 CXCL10 はその分別能力に優れていた。今後は、これらの結果を validation sample を用いて検証することが必要である。さらに将来的には、これらの髄液マーカーをプロスペクティブに調査し、予後予測マーカーや治療応答マーカーとしての有用性を検証し、治療方針決定に重要な役割を果たすことを明らかにしていくことが望まれる。

A. 研究目的

HTLV-1 関連脊髄症（HAM）は、HTLV-1（ヒト T 細胞白血病ウイルス）感染を背景に、持続する炎症が脊髄組織を変性し、歩行障害や膀胱直腸障害を来す難治性疾患である。HAM は一般に緩徐進行性で慢性経過するとされているが、実際は数年以内で急速に悪化する例や、数十年の経過においてほとんど進行しない例などが存在し、その経過に個人差がある。HAM 患者に対す

る治療介入を考える上で、このような経過に個人差が存在することから、発症後出来るだけ早期に患者毎に疾患活動性を把握し、それに応じた適切な治療方針を計画し、またその効果を判定しながら実施することが重要と考えられる。しかし、HAM が希少疾患であるために、これらの情報が乏しいのが現状である。そのため一般の医療機関では、HAM の疾患活動性を評価するための検査が施行されていない、疾患活動性に応じ

た治療が行われていない、などといった問題がある。

そこで我々は、全国的な HAM の診療レベル向上と標準化の実現を目標として、「HAM の疾患活動性の評価方法の確立とその重症度に応じた治療指針の作成」が急務であると考え。その為に、本研究ではまず HAM における自然経過を明らかにし、その情報を基に、日常診療に有用な疾患活動性マーカーを同定することを目的とした。

## B. 研究方法

(1) 当院での HAM 専門外来初診時にステロイド及びインターフェロン・アルファ治療を受けていなかった HAM 患者 30 例（男性 6 例、女性 24 例）を対象として、納の運動障害重症度を用いて、発症時から重症度のレベルが 1 段階悪化した年齢を調査し、得られた運動障害度の経時変化をプロットして、HAM 患者ごとの自然経過を明らかにした。

(2) 上記 30 例と無症候性キャリアー 27 例（男性 7 例、女性 20 例）を対象として、末梢血単核球中のプロウイルス量、血清可溶性 IL-2 受容体 (sIL-2R)、血漿中の各種サイトカイン、ケモカイン CXCR3 リガンド (CXCL9, CXCL10, CXCL11)、CCR5 リガンド (CCL5) の各濃度を測定した。HAM とキャリアーの両群における測定値の差を Mann-Whitney U test を用いて検定し、さらに ROC 解析を用いて、候補因子の感度、特異度に優れた血液由来マーカー候補因子を同定した。

(3) さらに、上記 30 例とコントロールとして無症候性キャリアー 7 例、ATL 患者 1

例の計 8 例を対象として、髄液中の細胞数、IgG、HTLV-1 抗体価、ネオプテリン、sIL-2R、Interferon- $\gamma$ 、および代表的なケモカインリガンド (CXCL9, CXCL10, CXCL11, CCL3, CCL4, CCL5, CCL17, CCL20, CCL22) の濃度を測定した。(2) と同様に、Mann-Whitney U test を用いて検定し、ROC 解析を用いて、候補因子の感度、特異度に優れた髄液由来マーカー候補因子を同定した。

(4) 上記 (2)、(3) で有用と考えられたマーカー候補因子のうち、HAM の進行に関連するマーカーを同定する目的で、最近 4 年間で納の運動障害重症度が 3 grade 以上悪化した例を進行群、1grade 以下の進行にとどまる例を非進行群として、両群間でこれらの項目を比較した。検定には Mann-Whitney U test を用いた。さらに、ROC 解析を用いて、候補因子の中で特に HAM の進行に関連するマーカーを同定した。

### (倫理面への配慮)

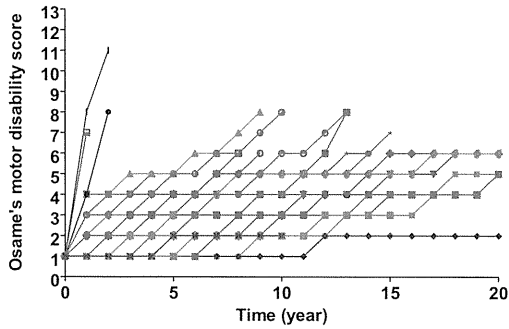
臨床検体の収集に際しては、本学の生命倫理委員会で承認された（承認番号：第 1646 号）同意書を用いて、不利益や危険性の排除などに関するインフォームドコンセントを行った。また検体は、個人情報管理者が連結可能匿名化により番号化する為、提供者を特定できないようにして、患者の人権擁護に努めた。

## C. 研究結果

(1) HAM 患者 30 名の自然経過をレトロスペクティブに調べると、1～2年以内に車椅子レベルになる急速に進行した群（急速進行群）が 3 名、発病から 10 年経過しても納の運動障害重症度が 3 以下の非常に緩

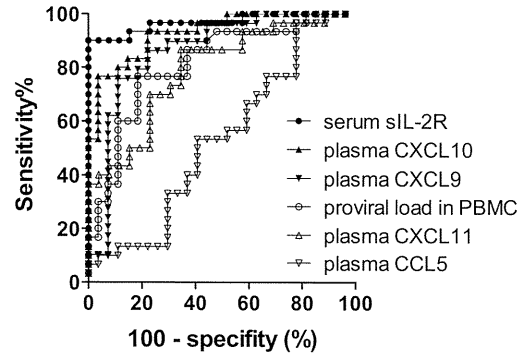
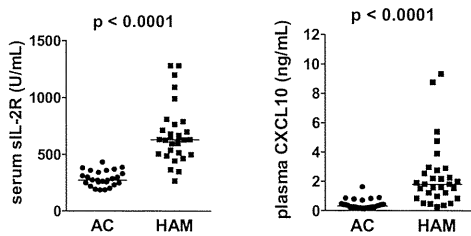
徐にしか進行しなかった群（軽症群）が10名おり、その経過にはバリエーションがあることが分かった（図1）。

図1 HAM患者30名の自然経過



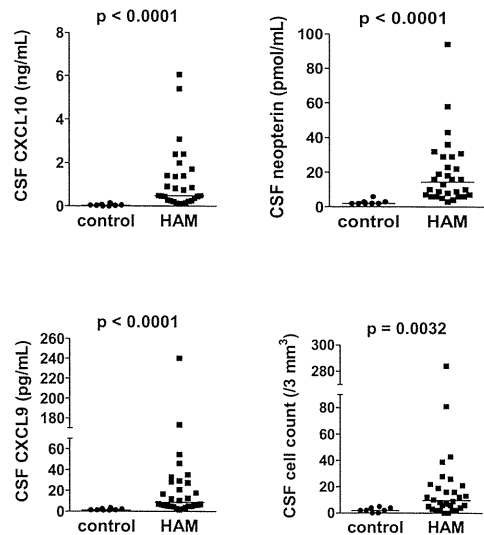
(2) 血液マーカー候補のうち、無症候性キャリアーと比較してHAM患者において極めて有意 ( $p < 0.0001$ ) に高値を示したのは血清可溶性IL-2受容体、血漿CXCL10、血漿CXCL9およびプロウイルス量であった。その中で感度、特異度に優れたものは、ROC解析より、血清可溶性IL-2受容体、血漿CXCL10濃度であることがわかった (area under the curve [AUC] > 0.9) (図2)。

図2 血液由来マーカー候補因子の選定

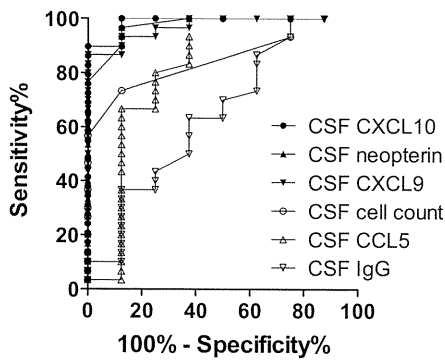


(3) 髄液マーカー候補のうち、コントロール群と比較してHAM患者において非常に有意 ( $p < 0.001$ ) に高値を示したのは髄液CXCL10、髄液ネオプテリン、髄液CXCL9および髄液細胞数であった（図3）。その中で感度、特異度に優れたものは、ROC解析より、髄液CXCL10、髄液ネオプテリン、髄液CXCL9であることがわかった (area under the curve [AUC] > 0.9) (図3)。

図3 髄液由来マーカー候補因子の選定

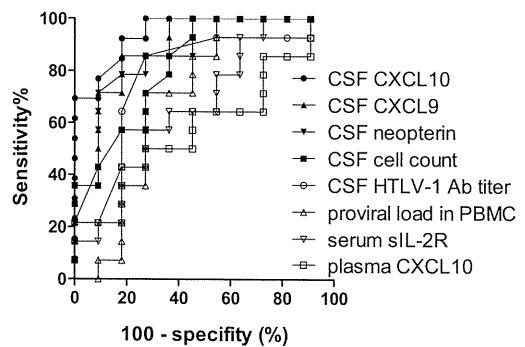
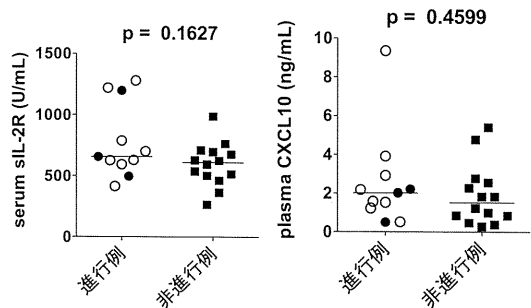
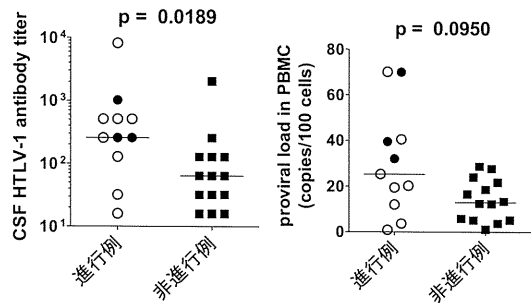
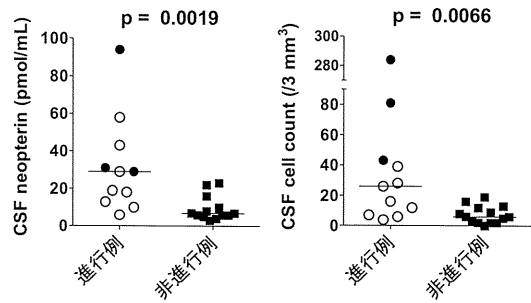
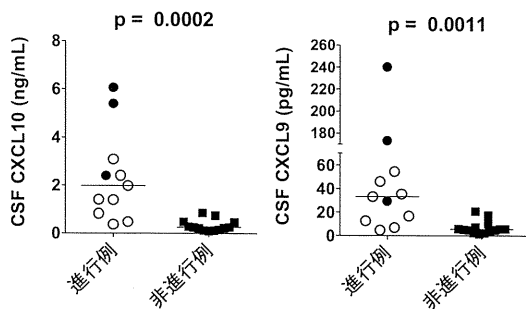






(4) 上記の(2)、(3)から有用と考えられたマーカー候補因子に HTLV-1 抗体価を加えた8因子を、進行群と非進行群の間で比較すると、血液マーカーがどれも有意差を示さなかったのに対して、髄液マーカーである髄液 CXCL10、髄液 CXCL9、髄液ネオプテリン、髄液細胞数および髄液 HTLV-1 抗体価はすべて有意差をもって進行群で高値を示した(図4)。ROC 解析より、特に髄液 CXCL10 が分別能力に優れていることがわかった (AUC = 0.9513)。

図4 HAM の進行関連マーカーの同定



#### D. 考案

本研究での解析により、HAM の自然経過にはバリエーションがあり、患者毎に経過および疾患活動性を把握することの重要性が確認された。これまで HAM 患者におい

て末梢血液中のプロウイルス量や髄液中の細胞数、蛋白、IgG、ネオプテリンなどが無症候性キャリアーと比較して高い値を示すことは報告されているが、どの因子が疾患活動性を評価する方法として優れているかという解析報告はない。本研究では髄液や血清で上昇することが報告されているサイトカインやケモカインも含めてさまざまな因子を測定して、無症候性キャリアー等をコントロールとして HAM 患者で有意に高値を示す因子を選定し、さらにその中から最近4年間の HAM の臨床的進行度をもとに定義した2群間で比較することによって、進行に関連するマーカーを決定した。その結果、血液由来のマーカー候補因子の中で進行度に関連するものを認めなかったのに対し、髄液マーカーからは進行度と関連するバイオマーカーが認められた。中でも髄液 CXCL10 が最も優れており、次いで髄液 CXCL9、髄液ネオプテリン、髄液細胞数の順であった。この結果は HAM の運動障害の進行度が末梢での炎症の程度やウイルス量よりも、脊髄局所における炎症の程度に密接に関連していることを示唆している。したがって、脊髄局所の炎症を低く抑えた状態を維持することが、予後の改善に重要であることが示唆された。今後は、これらの結果を validation sample を用いて検証することが重要である。

以上のことを日常診療の面から考えてみると、HAM 患者においては髄液検査によって上記の髄液マーカーを測定し、HAM の疾患活動性を評価して治療方針の決定に役立てることが出来る可能性が期待される。その仮説を検証するためには、髄液検査結果の違いによって予後が異なるかに関する前

向きの研究が必要であり、前向きの予後因子同定と、進行度別の治療内容を検討する目的の臨床試験の実施が望まれる。

## E. 結論

本研究により、HAM の進行度と関連する疾患活動性マーカーとして、髄液中の CXCL10 濃度、CXCL9 濃度、ネオプテリン濃度、細胞数が有用であることが明らかとなった。次年度は、validation sample を用いてこれらの結果を検証し、それぞれのマーカーの感度の比較検討を実施する予定である。また将来的には、HAM の進行に関連する髄液マーカーをプロスペクティブに調査し、疾患活動性マーカーのみならず、予後予測マーカーや治療応答マーカーとしての有用性も検討し、治療方針の決定や臨床試験の有効性を判定する指標として重要な役割を果たすことを明らかにしていく必要がある。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Sato T., Araya N., Yagishita N., Ando H., Yamano Y. Host Immune System Abnormalities Among Patients with Human T-Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1)-Associated Disorders. **T-Cell Leukemia**, 65-80/234, InTech, 2011.
- 2) Araya N., Sato T., Yagishita N., Ando H., Utsunomiya A., Jacobson S., Yamano Y. Human T-Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1) and Regulatory T Cells in HTLV-1-Associated Neuroinflammatory Disease. **Viruses**, 3: 1532-1548, 2011.
- 3) Kitazono T., Araya N., Yamano Y., Yamada Y., Nakamura T., Tanaka Y., Inoue M., Ozaki S. Corresponding Author: Okazaki T. Advantage of

higher-avidity CTL specific for Tax against human T-lymphotropic virus-1 infected cells and tumors. **Cell Immunol**, 272(1):11-17, 2011.

- 4) Sato T., Fujii R., Konomi K., Yagishita N., Aratani S., Araya N., Aono H., Yudoh K., Suzuki N., Beppu M., Yamano Y., Nishioka K., Nakajima T. Overexpression of SPACIA1/SAAL1, a new gene that is involved in synovioocyte proliferation, accelerates the progression of synovitis in mice and humans. **Arthritis Rheum**, 63(12): 3833-3842, 2011.
  - 5) Takamori A., Hasegawa A., Utsunomiya A., Maeda Y., Yamano Y., Masuda M., Shimizu Y., Tamai Y., Sasada A., Zeng N., Choi I., Uike N., Okamura J., Watanabe T., Masuda T., Kannagi M. Functional impairment of Tax-specific but not cytomegalovirus-specific CD8<sup>+</sup> cytotoxic T lymphocytes in a minor population of asymptomatic human T-cell leukemia virus type 1-carriers. **Retrovirology**, 7(8):100(1-15), 2011.
  - 6) 山野嘉久, 佐藤知雄, 安藤仁, 新谷奈津美, 八木下尚子 HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) の治療法を確立していくために—その現状と展望— **日本臨牀**, 70(4); 705-713, 2012.
  - 7) 山野嘉久, 佐藤知雄, 新谷奈津美, 安藤仁, 八木下尚子 HAM 専門外来の取り組み **神経内科**, 75 (4) 387-392, 2011.
  - 8) 安藤仁, 八木下尚子, 新谷奈津美, 佐藤知雄, 山野嘉久 HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) の病態と治療 **医療と検査機器・試薬** 34 (4) 別冊 機器・試薬 34 (4) : 472-477, 2011.
  - 9) 山野嘉久 HTLV-1 キャリアー, HTLV-1-associated myelopathy(HAM)患者診療の現状と問題点 **血液内科** 63 (1) : 81-86, 2011.
- 2) Sato T., Muto M., Araya N., Maekawa R., Suzuki N., Utsunomiya A., Seino K., Yamano Y. Possibility of  $\gamma\delta$  T cell immunotherapy for HTLV-1-infected individuals. 15th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses. June 2011, Leuven, Belgium.
  - 3) Araya N., Sato T., Utsunomiya A., Ando H., Yagishita N., Kannagi M., Nakamura T., Tanaka Y., Jacobson S., Yamano Y. The plasticity of HTLV-1 infected CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup> T-cells through HTLV-1 tax in HAM/TSP. 15th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses. June 2011, Leuven, Belgium.
  - 4) Yamano Y. The contribution of Asian researchers to the field of rheumatology. Tokyo-Shanghai Workshop on Rheumatology 2011. November 2011, Tokyo.
  - 5) Yamano Y. Human retrovirus promotes the plasticity of regulatory T cells into T helper type 1-like cells through the T-bet transcriptional activation in neuroinflammatory disease. Bio-Rheumatology International Congress (BRIC) Tokyo:The 8th GARN Meeting November 2011, Tokyo.
  - 6) Yamano Y., Yudo K., Oka H., Shimizu J., Suzuki N. Epidemiologic study of Relapsing polychondritis in Japan: Results of 239 cases. International Conference on Orphan Drugs and Rare Diseases (ICORD) 2012 Conference, February 2011, Tokyo.

## 2. 学会発表

### 国際会議

- 1) Yamano Y., Sato T., Araya N., Yagishita N., Shimizu Y., Ando H., Utsunomiya A.,

Izumo S., Jacobson S., Suzuki N. Clinical subtype of HAM/TSP based on clinical course and laboratory findings. 15th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses. June 2011, Leuven, Belgium.

2) Sato T., Muto M., Araya N., Maekawa R., Suzuki N., Utsunomiya A., Seino K., Yamano Y. Possibility of  $\gamma\delta$  T cell immunotherapy for HTLV-1-infected individuals. 15th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses. June 2011, Leuven, Belgium.

3) Araya N., Sato T., Utsunomiya A., Ando H., Yagishita N., Kannagi M., Nakamura T., Tanaka Y., Jacobson S., Yamano Y. The plasticity of HTLV-1 infected CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup> T-cells through HTLV-1 tax in HAM/TSP. 15th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses. June 2011, Leuven, Belgium.

4) Yamano Y. The contribution of Asian researchers to the field of rheumatology. Tokyo-Shanghai Workshop on Rheumatology 2011. November 2011, Tokyo.

5) Yamano Y. Human retrovirus promotes the plasticity of regulatory T cells into T helper type 1-like cells through the T-bet transcriptional activation in neuroinflammatory disease. Bio-Rheumatology International Congress (BRIC) Tokyo:The 8th GARN Meeting November 2011, Tokyo.

6) Yamano Y., Yudo K., Oka H., Shimizu J., Suzuki N. Epidemiologic study of Relapsing polychondritis in Japan: Results of 239 cases. International Conference on Orphan Drugs and Rare Diseases (ICORD) 2012 Conference, February 2011, Tokyo.

### 国内会議

- 1) 山野嘉久, 新谷奈津美, 佐藤知雄, 中村龍文, 森直樹, 鈴木登 HTLV-1 関連脊髄症(HAM)患者でのフコイダン療法によるウイルス量の減少 第 52

回日本神経学会学術大会 2011年5月  
20日 名古屋

- 2) 佐藤知雄、武藤真人、新谷奈津美、八木下尚子、前川隆司、宇都宮與、神奈木真理、清野研一郎、山野嘉久 HTLV-1感染者に適用可能なガンマデルタ T細胞療法の開発 第4回 HTLV-1研究会・合同班会議 2011年9月19日 東京
- 3) 山野嘉久、佐藤知雄、新谷奈津美、八木下尚子、安藤仁、宇都宮與、出雲周二 HTLV-1関連脊髄症 (HAM) の臨床病型：臨床経過と検査所見に基づいた分類 第4回 HTLV-1研究会・合同班会議 2011年9月19日 東京
- 4) 新谷奈津美、佐藤知雄、安藤仁、八木下尚子、神奈木真理、田中勇悦、宇都宮與、山野嘉久 HTLV-1関連脊髄症 (HAM) における HTLV-1 を介した病原性 T細胞発生病機構の解析 第4回 HTLV-1研究会・合同班会議 2011年9月19日 東京
- 5) 内丸薫、山野嘉久、塚崎邦弘、鵜池直邦、宇都宮與、濱田利久、岩月啓氏、渡邊俊樹 成人 T細胞白血病治療および HTLV-1 キャリア対応に関する全国調査 第73回日本血液学会学術集会 2011年10月 名古屋
- 6) Sato T., Muto M., Araya N., Kojo S., Maekawa R., Utsunomiya A., Seino K., Yamano Y. Frequency and functional significance of  $\gamma\delta$ T cells in HTLV-1-infected individuals. (HTLV-1感染者におけるガンマデルタ T細胞の頻度および機能的な重要性) . 第40回日本免疫学会学術集会 2011年11月27日 千葉
- 7) Araya N., Sato T., Utsunomiya A., Ando H., Yagishita N., Kannagi M., Tanaka Y., Yamano Y. The molecular mechanism in the plasticity of HTLV-1 infected CD4+CD25+CCR4+ T-cells through HTLV-1 in HAM/TSP. 第40回日本免疫学会学術集会 2011年11月27日 千葉
- 8) 山野嘉久 HAM の疾患活動性バイオマーカーの同定と臨床経過との関連

平成23年度厚生労働省科学研究費補助金 難知性疾患克服研究事業「HAMの新規バイオマーカー同定による重症度別治療指針の作成と病因細胞標的治療法の開発」平成23年度第1回班会議 2011年12月9日 鹿児島

- 9) 佐藤知雄、安藤仁、新谷奈津美、山内淳司、八木下尚子、出雲周二、山野嘉久 HTLV-1関連脊髄症 (HAM) の疾患活動性バイオマーカーに関する解析 平成23年度厚生労働省科学研究費補助金 難知性疾患克服研究事業 「免疫性神経疾患に関する調査研究」班会議 2012年1月26日 東京
  - 10) 安藤仁、佐藤知雄、新谷奈津美、山内淳司、八木下尚子、山野嘉久 HTLV-1関連脊髄症 (HAM) の慢性炎症における CXCL10 の重要性に関する解析 平成23年度厚生労働省科学研究費補助金 難知性疾患克服研究事業 「免疫性神経疾患に関する調査研究」班会議 2012年1月26日 東京
  - 11) 山野嘉久 HTLV-1関連脊髄症 (HAM) の新規医薬品開発に関する研究 HTLV-1関連疾患研究領域研究班合同発表会 2012年3月3日 東京
- F. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
- 1) 特願 2011-268019、発明者：山野嘉久、安藤仁、佐藤知雄、出願年月日 (2011年12月7日)、HTLV-1関連脊髄症を治療または予防するための医薬および前記医薬を用いた抗体療法の治療効果の確認方法