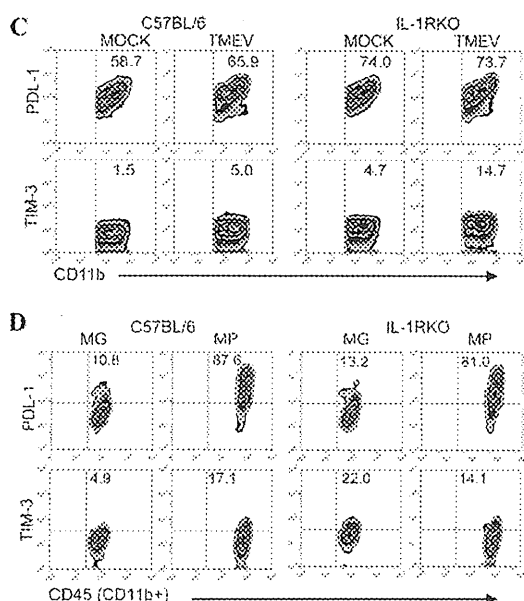


図 7 : PDL-1 と Tim-3 の発現



機能を減衰させる IL-1R欠損マウスの中中枢神経系において亢進していた。

結論

以上の結果から、高レベルの IL-1 の存在は病因的 Th17 応答を増加させることにより TMEV-IDD の発症に病因的役割を担っていることが示唆される。一方、IL-1 シグナルの欠損は抑制性サイトカインと制御性分子の産生の増加による不十分な T 細胞機能のために脊髄中におけるウイルス持続感染が促進された。従って、IL-1 シグナルのバランスが TMEV-IDD 発症の防御に極めて重要な役割を果たしていることが明らかになった。すなわち IL-1 シグナルが過剰でも、過少でも TMEV-IDD の発症が促進される。

文献

1) Tsugane S, Takizawa S, Kaneyama T, Ichikawa M, Yagita H, Kim BS, Koh CS.: Therapeutic effects of anti-Delta1 mAb on Theiler's murine encephalomyelitis virus-induced demyelinating disease.

J Neuroimmunol. 252: 66-74 .2012.

2) Kim BS, Jin YH, Meng L, Hou W, Kang HS, Park HS, Koh CS.: IL-1 signal affects both protection and pathogenesis of virus-induced chronic CNS demyelinating disease. J Neuroinflammation.9, 217 (13page), 2012,

(13page), 2012,

3) Kaneyama T, Takizawa S, Tsugane S, Yanagisawa S, Takeichi N, Ehara T, Ichikawa M, Koh CS: Downregulation of water channel aquaporin-4 in rats with experimental autoimmune encephalomyelitis induced by myelin basic protein, Cellular Immunology, 2013 (in press)

健康危険情報

なし

知的財産の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

## メトホルミンによる タイラー脳脊髄炎ウイルス誘導性免疫性脱髄疾患の抑制

研究分担者 高 昌星<sup>1)</sup>  
共同研究者 中嶋 郁美<sup>1)</sup>、富木 大基<sup>1)</sup>、滝沢 章<sup>1)</sup>、津金 さやか<sup>1)</sup>、  
兼山 友輝<sup>1)</sup>、市川 元基<sup>1)</sup>

### 研究要旨

メトホルミンは糖尿病治療薬（ビグアナイド系経口血糖降下剤）であるが、AMP 活性化プロテインキナーゼ（AMPK）を活性化し、NF- $\kappa$ B 活性を阻害することで接着分子の発現にも関与していることが最近明らかとなり、免疫細胞の遊走・浸潤の抑制、さらには T 細胞の増殖、分化にも関与していることが示されている。加えて、AMPK ノックアウトマウスを用いた実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）では臨床症状が悪化したことが報告され、さらに、AMPK 活性化剤である AICAR 及びメトホルミンが白血球の浸潤を制限することにより、EAE 進行を減弱することが報告されている。今回我々は、多発性硬化症（MS）の動物モデルであるタイラー脳脊髄炎ウイルス（Theiler's murine encephalomyelitis virus: TMEV）誘導による免疫性脱髄疾患（TMEV-induced demyelinating disease: TMEV-IDD）マウスにおけるメトホルミンの作用を検討した。TMEV-IDD マウスにメトホルミンを Effector phase から経口投与することにより、麻痺症状が有意に抑制され、脊髄への浸潤細胞数が有意に減少した。さらに脊髄浸潤細胞中の CD4<sup>+</sup>T 細胞における IFN- $\gamma$ 、TNF、IL-17 産生細胞の割合が減少傾向を示し、Foxp3 陽性細胞の割合が増加傾向を示した。また、脳において AMPK 活性が有意に増加した。さらに、脳において IFN- $\gamma$ 、TNF、RANTES、ICAM-1、VCAM-1、E-selectin の発現が有意に低下した。以上、Effector phase からのメトホルミン投与により、AMPK 活性を増加してケモカイン及び接着因子を低下させたことにより脊髄への炎症性細胞浸潤を減少し、TMEV-IDD を抑制したことが推測される。従って、メトホルミンのような AMPK 活性化剤が MS の治療薬となりうる可能性が示唆された。

### 研究目的

MS はヒトの中枢神経系における自己免疫性脱髄疾患であり、詳細な発症機序は未だ不明である。TMEV-IDD は慢性進行型 MS と類似した臨床症状及び組織学的所見を示すため、

MS 発症機序の解明に有用な動物実験モデルとして用いられている。我々はこれまでの研究で、TMEV-IDD には Th1 及び Th17 細胞が重要な役割を果たしていることを示してきた。

メトホルミンは糖尿病治療薬（ビグアナイド系経口血糖降下剤）であるが、AMP 活性化プロテインキナーゼ（AMPK）を活性化し、

---

<sup>1)</sup> 信州大学医学部

NF- $\kappa$ B 活性を阻害することで接着分子の発現にも関与していることが最近明らかとなり、免疫細胞の遊走・浸潤の抑制、さらには T 細胞の増殖、分化にも関与していることが示されている。加えて、AMPK ノックアウトマウスを用いた実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) では臨床症状が悪化したことが報告され、さらに、AMPK 活性化剤である AICAR 及びメトホルミンが白血球の浸潤を制限することにより、EAE 進行を減弱することが報告されている。今回我々は、TMEV-IDD におけるメトホルミンの作用を検討した。

#### 研究方法

SJL/J マウス雌 6 週齢の左大脳半球内に TMEV ( $6 \times 10^5$  PFU) を接種し、TMEV-IDD マウスを作製した。Induction phase 群として TMEV 接種直前から、Effector phase 群として発症直前 (第 14 日目) からメトホルミン 150 mg/kg を 1 日 2 回経口投与した。TMEV 接種後 35 日目に脊髄・脳を採取した。脊髄から Mononuclear cell (MNC) を分離し、脊髄中の MNC 数をカウントし、CD4<sup>+</sup>T 細胞における IFN- $\gamma$ 、TNF、IL-4、IL-10、IL-17 産生細胞及び Foxp3 陽性細胞を Flow cytometry にて測定した。また、脳の AMPK 活性を Western bolt にて p-AMPK $\alpha$ /total AMPK $\alpha$  より算出した。また、脳の IFN- $\gamma$ 、TNF、RANTES、ICAM-1、VCAM-1、E-selectin の mRNA 発現量を real-time RT-PCR 法にて測定した。

#### 研究結果

Positive control 群と比較し、メトホルミン

Effector phase 投与群において臨床スコアが有意に抑制された (図 1)。TMEV 接種後 35 日目の脊髄の病理組織像では、Positive control 群において炎症性細胞浸潤と脱髄が確認されたのに対し、メトホルミン Effector phase 投与群において、これらを抑制していた (図 2)。また、メトホルミン Effector phase 投与群において、脊髄浸潤細胞数の有意な減少が確認された (図 3)。さらにメトホルミン Effector phase 投与群において、脊髄浸潤細胞中の CD4<sup>+</sup>T 細胞における IFN- $\gamma$ 、TNF、IL-17 産生細胞の割合が減少傾向を示し、Foxp3 陽性細胞の割合が増加傾向を示した (図 4)。また、脳内の AMPK 活性が TMEV-IDD マウスにおいて減少していたのに対し、メトホルミン Effector phase 投与群において AMPK 活性を有意に増加させた (図 5)。また、Positive control 群と比較して、メトホルミン Effector phase 投与群の脳において IFN- $\gamma$ 、RANTES、ICAM-1、VCAM-1、E-selectin の mRNA 発現量が有意に低下していた (図 6)。

図 1 : 臨床スコア

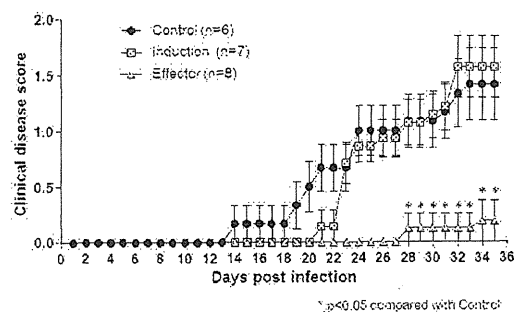


図 2：脊髄病理組織

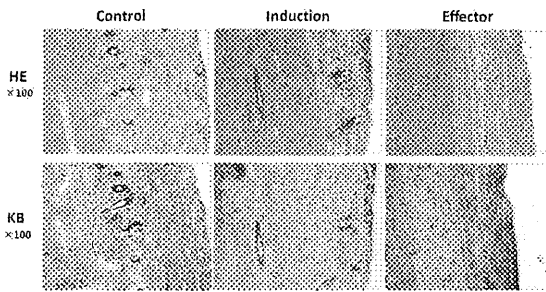


図 3：脊髄浸潤細胞数

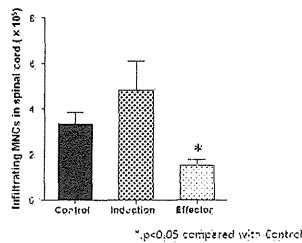


図 4：脊髄浸潤細胞中の CD4<sup>+</sup>T 細胞における炎症性サイトカイン産生細胞

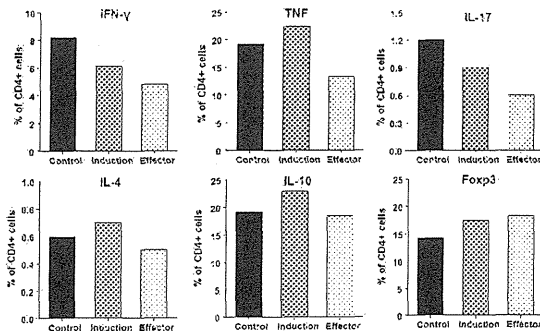


図 5：脳における AMPK 活性

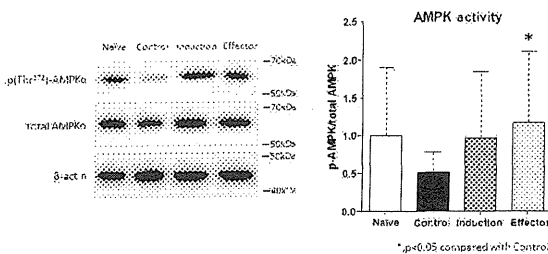
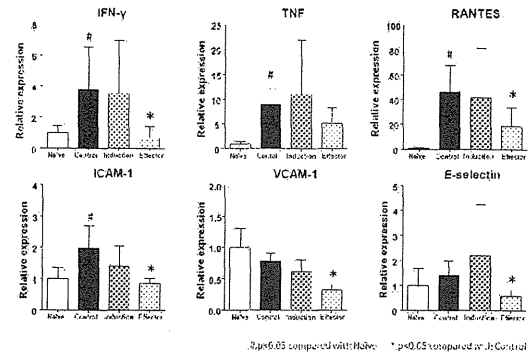


図 6：脳における mRNA 発現量



### 考察

本研究において、Effector phase からのメトホルミンの経口投与により TMEV-IDD が抑制された。今回の実験では、Effector phase からのメトホルミンの経口投与により、AMPK 活性を増加させ、炎症性サイトカインやケモカイン及び接着分子の発現の低下させたことにより、脊髄への炎症性細胞浸潤を抑制したことが考えられる。よって、脊髄において、Th1 細胞をはじめとする Effector 細胞が減少し、TMEV-IDD の抑制につながったと推測される。

### 結論

TMEV-IDD マウスの脳組織において AMPK 活性の低下が確認され、メトホルミン投与によりこれを回復した。AMPK 活性と病態発症との関与は不明であるが、メトホルミンの経口投与により、脊髄への炎症性細胞浸潤を抑制し、TMEV-IDD を抑制した。従って、メトホルミンのような AMPK 活性化剤が MS の治療薬として利用できる可能性が示唆された。

文献

- 1) Kim BS, Lyman MA, Kang BS, Kang HK, Lee HG, Mohindru M, Palma JP. Pathogenesis of virus-induced immune-mediated demyelination. *Immunol Res.* 2001; 24(2):121-30. 健康危険情報  
なし  
知的財産の出願・登録状況  
特許取得：なし
- 2) Hou W, Kang HS, Kim BS. Th17 cells enhance viral persistence and inhibit T cell cytotoxicity in a model of chronic virus infection. *J Exp Med.* 2009 Feb 16; 206(2):313-28 実用新案登録：なし
- 3) Hattori, Y., K. Suzuki, S. Hattori, and K. Kasai. Metformin inhibits cytokine-induced nuclear factor B activation via AMP-activated protein kinase activation in vascular endothelial cells. *Hypertension*, 2006; 47: 1183 1188.
- 4) Michalek RD, Gerriets VA, Jacobs SR, Macintyre AN, MacIver NJ, Mason EF, Sullivan SA, Nichols AG, Rathmell JC. Cutting Edge: Distinct Glycolytic and Lipid Oxidative Metabolic Programs Are Essential for Effector and Regulatory CD4+ T Cell Subsets. *J. Immunol.* 2011; 186: 3299-3303.
- 5) Nath, N., M. Khan, M. K. Paintlia, M. N. Hoda, and S. Giri. Metformin attenuated the autoimmune disease of the central nervous system in animal models of multiple sclerosis. *J. Immunol.* 2009; 182: 8005 8014.

## HAM 患者 HTLV-1 感染細胞における TCR シグナルの低下

研究分担者 出雲周二<sup>1)</sup>  
共同研究者 久保田龍二<sup>1)</sup>、高嶋 博<sup>2)</sup>

### 研究要旨

HAM においては、HTLV-1 プロウイルス量が多いこと、すなわち HTLV-1 感染細胞が多いことが最大の発症リスクであるが、生体内における HTLV-1 感染細胞の性状についてはよくわかっていない。また、HTLV-1 感染症では、臨床的に免疫不全が指摘されているが、どのような機序で免疫低下が起こっているのかは明らかでない。今回我々は、HAM 患者 PBMC 中の感染細胞を同定し、その表面抗原と T 細胞レセプター (TCR) に関する免疫機能を検討した。感染細胞の表面マーカーは CD2+CD4+CD5+CD26-CD45RO+CD45RA-CCR4+CCR7-であった。HAM では正常コントロールと比べ、CD4+細胞の TCR シグナルは低下していた。同一患者の感染細胞は、非感染細胞より有意に TCR シグナルが低下していた。また、HAM 患者非感染 CD4+細胞も、正常コントロール CD4+細胞より軽度 TCR シグナルは低下していた。さらに、サイトメガロウイルス特異的 CD4+T 細胞の抗原刺激による IFN- $\gamma$  産生は、感染細胞で非感染細胞より低下していた。以上の結果より、HAM の HTLV-1 感染細胞は TCR/CD3 の発現が低下しており、そのため TCR からのシグナル伝達が不十分となり、免疫能が低下していると考えられた。

### 研究目的

HAM においては、HTLV-1 プロウイルス量が多いこと、すなわち HTLV-1 感染細胞が多いことが最大の発症リスクである<sup>1)</sup>。また HAM 症状の増悪時、ウイルス量の増大が認められる。しかし、生体内においては HTLV-1 はウイルス蛋白をほとんど発現しておらず感染細胞の同定は困難なため、生体内における HTLV-1 感染細胞の性状についてはよくわかっていない。また、HTLV-1 感染症では、臨床的に免疫不全が指摘されているが、どのような機序で免疫低下が起こっているのかは、明ら

かでない。今回我々は、HAM 患者 PBMC を数時間培養することで、ウイルス蛋白を発現させ感染細胞を同定することが可能となったため<sup>2)</sup>、HTLV-1 感染細胞の表面抗原と T 細胞レセプター (TCR) に関する免疫機能を検討した。

### 研究方法

HAM 患者の PBMC を brefeldin A 存在下で短時間培養し、ウイルス蛋白が発現した後、Tax 蛋白を細胞内染色し感染細胞を同定した。同時に細胞表面を種々の抗体で染色し、表面マーカーを検討した。感染細胞では TCR/CD3 の発現が低下していたため、TCR を中心として感染細胞の免疫機能を調べた。PBMC を短時間培

- 
- 1) 鹿児島大学難治ウイルス研
  - 2) 鹿児島大学医学部神経内科

胞では TCR/CD3 の発現が低下しており、そのため TCR よりのシグナル伝達の低下を起し、免疫機能の低下を起している可能性が明らかとなった。また、感染細胞と非感染細胞の CMV 特異的 CD4+T 細胞の機能比較より、感染細胞では他のウイルスに対する免疫反応が低下している可能性が示唆された。

さらに、HTLV-1 感染者の非感染 CD4+細胞でも軽度の TCR 発現の低下が認められ、他のメカニズムによる広範囲の CD4+細胞の免疫低下も示唆された。今後さらなる検討が必要である。

## 結 論

HAM の HTLV-1 感染細胞は、TCR/CD3 の発現が低下しており、そのため、TCR からのシグナル伝達が不十分となり免疫機能が低下していると考えられた。実際、感染細胞においては、抗原特異的刺激による IFN- $\gamma$  産生は低下していた。また、HAM の HTLV-1 非感染 CD4+細胞も正常コントロールより TCR シグナルが軽度低下しており、他のメカニズムによる非感染 CD4+細胞における免疫不全も示唆された。

## 文 献

1. Nagai M. et al. Analysis of HTLV-I proviral load in 202 HAM/TSP patients and 243 asymptomatic HTLV-I carriers: high proviral load strongly predisposes to HAM/TSP. J Neurovirol. 4:586-593. 1998
2. Hanon E. et al. Abundant tax protein expression in CD4+ T cells infected with

human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) is prevented by cytotoxic T lymphocytes. Blood 95: 1386-1392, 2000

## 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 に対する経口プロスルチアミン療法の治療成績

分担研究者 中村龍文<sup>1)</sup>

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

### 研究要旨

我々は HTLV-I 関連脊髄症 (HAM) における HTLV-I 感染細胞を標的とした新規治療法としての静注プロスルチアミン(アリナミン<sup>®</sup>)療法の有効性を報告してきた。しかし、HAM に対する治療法を考える場合、長期に亘る治療を必要とし、その場合経口投与による治療法の開発が望まれる所である。そこで今回、プロスルチアミンの経口療法(300mg/日、12 週間連日投与)による臨床試験を 24 例の HAM 患者に試み、その有効性と安全性を検証した。その結果、Osame による運動機能障害度において 3 例で 1 段階の改善がみられた。さらに、痙縮の改善を基盤とした歩行時間・階段降時間の短縮で示されるように下肢運動機能の明らかな改善がみられた。膀胱機能については、尿流動態検査における膀胱容量、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と共に、HAM で特徴的にみられる排尿筋括約筋協調不全および排尿筋過活動はそれぞれ 11 例中 5 例および 16 例中 11 例で消失した。末梢血では HTLV-I プロウイルス量は平均で約 15.4%有意に減少した。重篤な副作用の出現は認められなかった。これら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示された。

### 研究目的

我々は平成19年度本班会議において、HTLV-I 感染細胞のアポトーシスを惹起し得るプロスルチアミン(アリナミン<sup>®</sup>)による HTLV-I 感染細胞を標的とした HTLV-I 関連脊髄症 (HAM) に対する新規治療法としての本薬剤による静注療法の有効性を報告した。しかし、HAM に対する治療法を考える場合長期に亘る治療を必要とし、その場合経口投与による治療法の開発が望まれる所である。そこで今回、経口プロスルチアミン療法を試み、その有効性と安全性を検証した。

### 研究方法

1) 対象: HAM 患者 24 例(女性 17 例:男性 7 例、年齢:31~80 歳(平均:60.1 歳)、罹病期間:3~51 年(平均:20.8 年)、Osame による運動機能障害度 2~10 であった。既存の治療については投与法を変更することなく併用した。

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<sup>®</sup>)300mg を 1 日 1 回朝食前、連日 12 週間投与した。

3) 評価項目:以下の項目をモニタリングした。

#### 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) 過活動膀胱質問票(OABSS) b) 夜間頻尿  
QOL(N-QOL)質問表 c) 尿流動態検査(UDS)

#### C) ウイルス学的・免疫学的評価

1)長崎大学大学院医歯薬学総合研究科感染免疫学  
2)長崎大学大学院医歯薬学総合研究科腎泌尿器病態学  
3)長崎大学大学院医歯薬学総合研究科展開医療科学  
4)長崎大学病院薬剤部



a) 末梢血 HTLV-I プロウイルス量 b) PHA に対するリンパ球幼若化試験 c) 血清可溶性 IL-2 受容体 (sIL-2R) 値

(倫理面への配慮)

本臨床試験は本院倫理審査委員会の承認を得、UMIN 試験 ID (UMIN000005969) を取得し、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。

研究結果

1) 下肢運動機能の改善：表 1 に投与開始前と投与 12 週目 (投与終了時) における運動機能障害度と痙縮の変化を示す。運動機能障害度においては 3 例において 1 段階の改善が得られた。痙縮については Modified Ashworth scale による評価では、投与前 19 例で認められた痙縮は 15 例で 1 段階以上の改善を示した。歩行・階段降は施行可能な症例で測定したが、10m 歩行は 18 例中 11 例で、30m 歩行は 15 例中 12 例で、階段降は 12 例中 9 例で改善を認めた (図省略)。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 1. 運動機能障害度と痙縮の改善

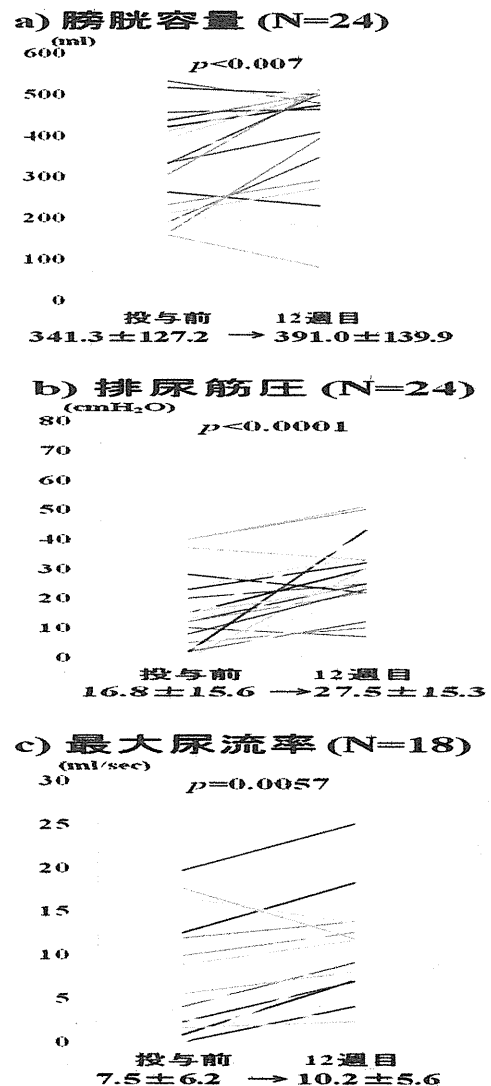
症例	年齢(年)	運動機能障害度		痙縮 (Modified Ashworth Scale)	
		投与前	12週目	投与前	改善(12週目)
1)	23	5	6	(+)	○
2)	16	6	6	(+)	○
3)	51	6	6	(+)	○
4)	36	9	9	(+)	○
5)	3	3	3	(-)	○
6)	30	5	5	(+)	○
7)	12	4	4	(+)	○
8)	11	5	5	(+)	x
9)	23	9	9	(+)	○
10)	23	6	6	(+)	○
11)	7	6	6	(+)	x
12)	12	4	4	(-)	○
13)	22	6	6	(+)	x
14)	10	5	5	(+)	○
15)	45	9	9	(-)	○
16)	18	5	5	(+)	○
17)	19	5	5	(+)	○
18)	29	8	8	(+)	x
19)	9	8	8	(+)	○
20)	34	2	1	(-)	○
21)	26	2	1	(+)	○
22)	7	4	3	(+)	○
23)	18	10	10	(-)	○
24)	16	2	2	(+)	○

2) 膀胱機能の改善：

a) OABSS および N-QOL 質問票における改善：OABSS score では改善傾向が得られ、投与 8 週目において有意な改善が得られ、N-QOL 質問票においては投与 8 週目から有意な改善が得られた。

b) UDS における変化：図 1ab に示すように、投与開始前と比較した投与 12 週目 (投与終了時) における変化 (平均±SD) では膀胱容量および排尿筋圧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 18 例で解析された最大大尿流率も有意な改善を示した (図 1c)。

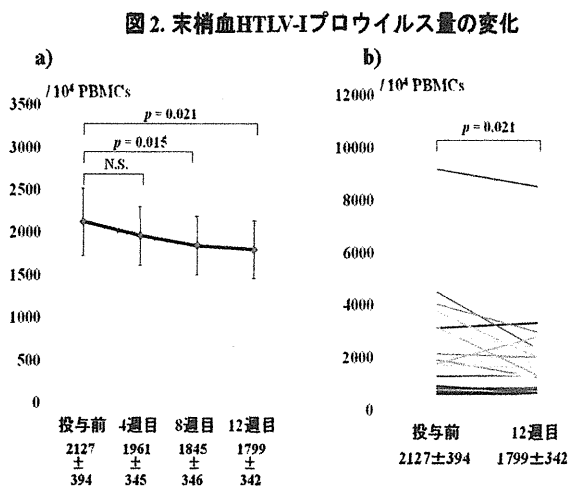
図 1. 尿流動態検査 (UDS)



また、排尿筋括約筋強調不全 (DSD) および排尿筋過活動 (DO) についても、前者では治療前に認められた 11 例中 5 例 ( $p=0.0034$ ) で、後者では治療前に認められた 16 例中 11 例 ( $p=0.0094$ ) で改善を認めた。

3) 末梢血 HTLV-I プロウイルス量の減少：末梢血 HTLV-I プロウイルス量は単核球  $10^4$  個あたりのコピー数で算出した。平均±SE で表すと図 2a に

示すように投与前、投与4週目、投与8週目、投与12週目と徐々に減少し、12週間投与で平均約15.4%の統計学的に有意な減少が得られた。図2b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。



4) PHA に対するリンパ球幼若化反応および血清 sIL-2R 値の変化: これらについては有意な変動はみられなかった(図省略)。

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。

## 考察

今回、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。対象となった症例の罹病期間が平均約 21 年と長いにもかかわらず効果が得られたことは 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、治療的介入可能であることを示唆している。今回の治療成績についての特筆すべき点は、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。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 DSD と DO の有意な改善もみられた。これらの事実は subjective な

データとしての OABSS score および N-QOL score の有意な改善と一致している。

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。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なかった。ただ、臨床的な改善は末梢血レベルでの HTLV-I プロウイルス量の減少を凌ぐものであった。この理由の一つの可能性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創薬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。

## 結論

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持っている。今後は HAM に対する治療薬としての認可・承認を見据えた case-control study を必要としている。

## 健康危険情報

なし。

## 知的所有権の出願・登録状況

特許取得:

- 1) 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、PCT/JP2012/076400)。
- 2) 排尿障害の予防・治療剤(特許出願中、特願 2011-269262、PCT/JP2012/067984)。

実用新案登録: なし。

## 抗 HTLV-1gp46 中和抗体による HTLV-1 関連脊髄症に対する 新規発症予防・治療法開発の試み

研究分担者 大原 義朗<sup>1)</sup>  
共同研究者 齊藤 峰輝<sup>2)3)</sup>、田中 礼子<sup>2)</sup>、田中 勇悦<sup>2)</sup>

### 研究要旨

HTLV-1 感染症の予防と HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) に対する新規治療法開発のため、マウスの脾臓内に直接ヒト細胞を移植するヒト化法を用いて HTLV-1 感染マウスモデルを開発し、自家製 HTLV-1 中和抗 HTLV-1 gp46 抗体または HTLV-1 感染者から精製した IgG による HTLV-1 感染抑制効果を検討した。高度免疫不全マウスの脾臓内にヒト末梢血単核球とマイトマイシン処理した HTLV-1 感染 T 細胞株を同時移植し、2 週間後にマウスから脾臓細胞を回収して HTLV-1 感染の有無を検討した。非感染 PBMC と HTLV-1 感染細胞株の接種前後に自家製抗 HTLV-1 中和モノクローナル抗体 (LAT27) または HTLV-1 感染者から精製した IgG を投与することで、マウス体内におけるヒト T 細胞への HTLV-1 感染は完全に抑制された。

### 研究目的

HTLV-1 は世界ではじめてヒトの疾患との関連が見いだされたレトロウイルスであり、HAM および成人 T 細胞白血病 (ATL) の原因ウイルスである。我が国には、先進国で最多の約 108 万人もの HTLV-1 感染者が存在しており、ATL は死亡者数が年間 1000 人を超え、HAM 患者では約 40%が経過中に歩行不能となり生活の質が著しく障害される。しかしながら、HTLV-1 の発見から 30 余年を経た今日においてもなお、HTLV-1 関連疾患の有効な治療法はもとより、母子感染および水平感染を防止するワクチンすら開発されていない。本研究では、in vitro において細胞間の HTLV-1 感染を阻害することが知られている抗 HTLV-1 中和モノクローナル抗体または HTLV-1 感染者血漿中の IgG が持つ HTLV-1

感染阻害効果が、in vivo においてヒト T 細胞に対しても認められるかどうかを検討するため、マウスの脾臓内に直接ヒト細胞を移植するヒト化法を用いて新規 HTLV-1 感染マウスモデルを開発し、以下の実験を行った。

### 研究方法

- 1) 高度免疫不全マウス (NOD/SCID/ $\gamma$ Cnu11 : NOG) の脾臓内にヒト末梢血単核球 (PBMC)  $2 \times 10^6$ 個とマイトマイシン処理した HTLV-1 感染 T 細胞株 (ILT-M1)  $1 \times 10^6$ 個を同時移植した。
- 2) 移植2週間後にマウスから脾臓細胞を回収し、ヒト CD4, CD8 T細胞を抗体結合磁気ビーズにより分離した。
- 3) 分離したヒト CD4, CD8 T細胞から

<sup>1)</sup> 金沢医科大学 医学部 微生物学講座

<sup>2)</sup> 琉球大学大学院医学研究科 感染制御医科学専攻 免疫学講座

<sup>3)</sup> 川崎医科大学 医学部 微生物学講座

Total RNAおよびゲノムDNAを回収した。また、細胞保存液に再懸濁して液体窒素中で保存した。

- 4) Total RNA からcDNA を合成し、HTLV-1 tax、HBZ mRNA の発現を Real Time RT-PCR法で解析した。
- 5) ゲノムDNA中のHTLV-1プロウイルス量を、TaqManプローブを用いた Real Time PCR法により測定した。
- 6) HTLV-1 Tax蛋白の発現をフローサイトメトリーで解析した。
- 7) 非感染PBMCとHTLV-1感染細胞株の接種前後に、自家製抗HTLV-1中和モノクローナル抗体 (LAT27) またはHTLV-1感染者血漿から分離精製したIgGを投与して、感染抑制効果を検討した。

#### (倫理面への配慮)

本研究は関連各施設の倫理委員会の承諾を得た後に施行した。十分な説明と同意のもと、書面による研究協力承諾書が得られた被験者から採血した検体のみを用い、完全に匿名化した後に行った。動物実験は、琉球大学動物実験委員会の承認後、規程に則り適正に行われた。

#### 研究結果

NOGマウスの脾臓から分離したヒトCD4、CD8陽性T細胞双方からHTLV-1プロウイルス、taxおよびHBZ mRNAが検出され、マウス体内でヒトT細胞にHTLV-1感染が成立することを確認した。細胞あたりのHBZ mRNA発現量はATL患者の平均より低く、HAM患者や無症候性キャリアーと同程度であった。一方、tax mRNA発現量はHTLV-1感染者のPBMC同様極めて低かった。HTLV-1感染者のPBMCと同様に、マウスから回収したヒトPBMCにTax蛋白の発現は認められなかったが、短時間培養するとCD4陽性CCR4陽性T細胞分画に選択的に発現誘導された。LAT27およびHTLV-1感染者血漿から分離精製したIgG分画は、いずれ

もマウス体内においてヒトT細胞へのHTLV-1感染を完全に抑制した。

#### 考察

HTLV-1感染ヒト化マウスモデルを簡便に作製し、抗HTLV-1中和モノクローナル抗体のHTLV-1感染抑制効果を示した。今後はこのマウスモデルを用いて、非中和性抗gp46モノクローナル抗体やHTLV-1抗原で感作した免疫細胞(成熟DC、CTL等)で感染防御が可能か否か、HTLV-1を標的とした各種ワクチン、薬剤の効果についても検討し、最も効率の良いHTLV-1感染防御法を探索したい。

#### 結論

抗HTLV-1中和モノクローナル抗体(LAT27)またはHTLV-1感染者から精製したIgGは、マウス体内におけるヒトT細胞へのHTLV-1感染を完全に抑制した。

#### 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

## HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) における CCR4 陽性 CD4<sup>+</sup> T 細胞の異常

研究協力者 山野嘉久<sup>1)</sup>

共同研究者 佐藤知雄<sup>1)</sup>、新谷奈津美<sup>1)</sup>、安藤仁<sup>1)</sup>、山内淳司<sup>1)</sup>、八木下尚子<sup>1)</sup>

### 研究要旨：

HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) の病態は、HTLV-1 感染 T 細胞に起因した過剰な免疫応答による脊髄の慢性炎症と考えられている。そのため、HTLV-1 感染 T 細胞の詳細な解析は HAM の病態の理解に必須であり、新規治療法の開発につながると考えられる。これまで我々は HAM における HTLV-1 感染 T 細胞が主に Treg 細胞や Th2 細胞に発現するケモカイン受容体 CCR4 陽性の CD4<sup>+</sup> T 細胞であり、炎症性サイトカイン IFN- $\gamma$  を産生する Th1 細胞様の異常細胞に変化し HAM 患者末梢血で増加していることを示した。本研究では、この HAM 患者の CCR4 陽性 CD4<sup>+</sup> T 細胞に着目してさらに詳細な解析を実施した。その結果、本細胞群は HAM 患者の末梢血中のみならず髄液中において、より増加していた。また、HTLV-1 は CCR4 陽性 CD4<sup>+</sup> T 細胞の中でも主に Treg 細胞に感染し、HTLV-1 Tax の発現により Treg 機能の低下が誘導された。さらに、HAM 患者脊髄には CCR4 陽性細胞が浸潤し、その多くが Th1 細胞に特徴的な T-bet および IFN- $\gamma$  を発現し、炎症起因性の細胞に変化していた。つまり、HAM 患者において CCR4 陽性 CD4<sup>+</sup> T 細胞は、HTLV-1 感染による機能的な異常を伴って脊髄中で増加しており、HAM 患者脊髄における慢性炎症の要因となっていることが示唆された。以上より CCR4 は、HAM において感染細胞ならびに中枢での炎症起因性細胞に対する分子治療標的であると考えられ、今後 HAM に対する抗 CCR4 抗体療法の応用が期待される。

### 研究目的

HTLV-1 感染者の一部に発症する HAM は、脊髄の慢性炎症を特徴とする難治性疾患であり、病態解明に基づく治療法開発が望まれている。その病態の特徴は、HTLV-1 感染細胞に起因した過剰な免疫応答による脊髄の慢性炎症と考えられているが、HTLV-1 が免疫異常を引き起こす機構の詳細については不明な点が多く、その解明は発症機構の理解及びその制御に必須である。HTLV-1 は、免疫の司令塔である CD4<sup>+</sup>ヘルパー T (Th)

細胞に持続感染するという特徴を有する。Th 細胞はナイーブ T 細胞から Th1、Th2、Th17、Treg などの Th サブセットに分化し、それぞれ特徴的な転写因子やサイトカイン、ケモカイン受容体を発現している。通常、これらの Th サブセットはバランスを保って存在しているが、そのバランスに破綻が生じるとアレルギーや自己免疫疾患などが引き起こされると考えられており、近年、このバランス破綻に Th 細胞の分化異常の重要性が注目されている。最近我々は、HAM における HTLV-1 感染細胞が主に Treg

1) 聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター

細胞や Th2 細胞に発現するケモカイン受容体 CCR4 陽性の CD4<sup>+</sup>T 細胞であり、興味深いことに HAM の末梢血 CCR4<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 細胞は、炎症性サイトカイン IFN- $\gamma$  を産生する Th1 細胞様の異常細胞に変化し増加していることを示した<sup>1)</sup>。これは、HAM において CCR4<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 細胞が異常となっている可能性を示唆しており、CCR4 は HAM における治療標的となる可能性が期待される。そこで本研究では、HAM 患者における CCR4<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 細胞について詳細な解析を実施したので報告する。

## 研究方法

CCR4<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 細胞は、本来は主に Th2 および Treg から構成されるため、まず HTLV-1 がどちらの細胞に、より感染しているか調べるために、無症候性キャリア 6 例、HAM 患者 4 例の末梢血単核球細胞 (PBMC) から Th2 (CD4<sup>+</sup>GATA3<sup>+</sup>) 細胞と Treg (CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>) 細胞を FACS ソーティングで分離し、Th2、Treg それぞれの HTLV-1 感染率を real-time PCR 法にて測定した。次に健常者由来の CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup>細胞に tax 遺伝子をレンチウイルスベクターを用いて導入し、その細胞の Treg 機能をコントロールと比較解析した。また、HAM 患者 6 例の髄液細胞標本を用いて、(1) T 細胞(CD3<sup>+</sup>)、B 細胞(CD19<sup>+</sup>)、単球 (CD14<sup>+</sup>)の割合、(2) CD4 陽性細胞と CD8 陽性細胞の割合、さらに(3) CCR4 陽性細胞の割合、を調べた。次に HAM 患者 3 例の髄液細胞スライド標本を用いて、CCR4 の免疫蛍光染色と HTLV-1 DNA を検出する蛍光 in situ ハイブリダイゼーション法 (Immuno-Fish 法) により、CCR4 陽性細胞における HTLV-1 感染を確認した。最後に、HAM 患者脊髄病変における CCR4

陽性細胞での T-bet および IFN- $\gamma$  の発現について蛍光二重染色法により検討した。

## (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、個人情報管理者により連結可能匿名化による番号化を行い、提供者を特定できないようにし、患者の人権擁護に努めた。

## 研究結果

HTLV-1 感染者由来 PBMC を用いた実験より、Th2 よりも Treg において HTLV-1 感染率が高かった (平均 17.1copies/100cells vs 平均 42.5copies/100cells,  $p = 0.0003$ )。また、tax 遺伝子を導入した健常者由来 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup>細胞は Treg 機能の低下を示した。

次に HAM 患者由来髄液細胞を用いた実験より、髄液細胞の多くは T 細胞であり、CD4 陽性細胞と CD8 陽性細胞の比率は同程度であることが示された。また、個人差はあるものの、髄液細胞全体の約 50%は CCR4 陽性で、特に CD4 陽性 T 細胞中の約 80%が CCR4 陽性であった。

さらに Immuno-FISH 法により CCR4 陽性細胞の約 50%が HTLV-1 に感染していることが示された。興味深いことに、脊髄病変部における CCR4 陽性細胞の多くは、本来は Th1 細胞が発現している T-bet および IFN- $\gamma$  を発現していた。

## 考察

HAM 患者において CCR4<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 細胞は

主な感染細胞であり、末梢血液中のみならず、髄液中において特に増加していることが示された。また、HTLV-1はCCR4<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T細胞の中でも主にTregに感染しており、HTLV-1 taxの発現はTregの免疫制御機能低下を誘導することが示されたことから、HAM患者における感染CCR4<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T細胞は本来の機能を果たせていない可能性が示唆された。

さらに、HAM患者の脊髄病変においてCCR4<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T細胞は、その多くがT-betおよびIFN- $\gamma$ を発現しており、炎症促進的な細胞に形質転換していた。このように、HAM患者においてCCR4<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T細胞は、HTLV-1感染によって機能的な異常を伴って増加しており、Thバランスの破綻をきたす要因となっていることが示唆された。

## 結論

本研究により、最近成人T細胞白血病・リンパ腫(ATL)の治療薬として承認された抗CCR4抗体療法は、HAMにおいて感染細胞ならびに脊髄病変部での炎症起因性細胞を標的とした新規治療薬となる可能性が示唆される。

## 文献

- 1) Yamano Y, Araya N, Sato T, Utsunomiya A, Azakami K, Hasegawa D, Izumi T, Fujita H, Aratani S, Yagishita N, Fujii R, Nishioka K, Jacobson S, Nakajima T. Abnormally high levels of virus-infected IFN- $\gamma$ +CCR4+CD4+CD25+ T cells in a retrovirus-associated neuroinflammatory disorder. *PLoS One* 4(8): e6517, 2009

## 健康危険情報

特記すべき事項はありません。

## 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

特許出願：2件

US61/668,686、Yoshihisa Yamano, 2012.7.6, A Therapeutic Method And Medicament For HTLV-1 Associated Myelopathy(HAM)

特願2012-189318、植田幸嗣、石原誠人、山野嘉久、22012.8.29, ヒトTリンパ球向性ウイルスI型関連疾患検出用ポリペプチドとその利用

実用新案登録：なし

## HAM 患者登録システム (HAM ネット) の構築 および登録患者の調査概要報告

研究協力者 山野嘉久<sup>1)</sup>  
共同研究者 高田礼子<sup>2)</sup>、橋本充代<sup>2)</sup>、佐藤知雄<sup>1)</sup>、新谷奈津美<sup>1)</sup>、八木下尚子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター

<sup>2)</sup> 聖マリアンナ医科大学 予防医学教室

### 研究要旨

HAM は、患者数が少ないことから、患者は全国に点在し、その情報が集約されていないため、HAM の実態や病態形成などの全貌は未だ不明な点が多い。そこで本研究では、HAM 患者の実態を効率的かつ継続的に把握できる体制を実現するために、HAM 患者登録システム(HAM ネット:<http://hamtsp-net.com>)を構築した。平成 24 年 3 月に開設、平成 24 年 11 月現在、387 名の登録申し込みがあり、そのうち 259 名について書面での同意書を得た上で聞き取り調査を実施した。調査内容は、属性、治療歴、経過、重症度(納の運動障害重症度、IPEC、OABSS、I-PSS、ICIQ-SF、N-QOL)、QOL(SF-36)、ADL(HAQ)等である。登録患者 259 名の性別は、男 69 名(26.6%)、女 190 名(73.4%)であり、平均年齢は 62.4 歳。平均発症年齢 44.3 歳、発症から診断までの期間は平均 7.4 年であった。初発症状としては歩行障害が最多 210 名(81.1%)であった。HAM の自然経過は、運動障害の発現後、片手杖歩行レベルまでに約 8 年、両手杖歩行レベルまでに約 13 年であった。しかしながら、運動障害発現から両手杖歩行になるまで 2 年以下であった急速進行群(N=15、5.8%)が存在し、非急速進行群と比べて発症年齢が有意に高く、発症年齢が高い者において症状の進行が早い傾向にあることが示唆された。また、血縁家族内に HAM 患者がいる割合は 24 名(9.3%)と高いことが判明し、HAM 家族内発症者がいる患者の発症年齢は有意に低く、HAM 発症に何らかの遺伝的要因の関与がある可能性が示唆された。このように、HAM 患者登録システムは、全国規模で様々な背景の患者が登録され、希少難病の実態を把握する上で有用なツールと考えられた。また患者への情報提供ツールとしても有用で、臨床試験の症例集積性向上等にも役立つと考えられる。今後は、QOL や ADL と各臨床パラメータとの多変量解析や、横断的調査、コホート調査を実施することで、HAM の臨床的評価指標の確立や予後因子や経過に関する前向きの情報収集などを進めていく予定である。

### 研究目的

HAM は、患者数が少ないことから、患者は全国に点在し、その情報が集約されていないため、HAM の実態や病態形成などの全貌は未だ不明である。そこで、本研究は

HAM の経過や治療に関する自然史、HAM 患者の臨床情報、居住環境(生活の質)、実態解明等の情報収集を通じて今後の治療研究を推進するために、研究とリンクした患者登録制度を構築し、研究基盤を強化する



ことを目的とした。

## 研究方法

平成 24 年 3 月に、患者登録制度として「HAM ネット」(<http://hamtsp-net.com>)というシステムを、聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター内で構築、ちらし、患者会、講演会、研究協力者等を通じて広報活動を行い、HAM 患者の登録者を募った。平成 24 年 11 月現在、381 名の登録申し込みがあり、そのうち 259 名について書面での同意書を得た上で電話での聞き取り調査を実施した。調査内容は、属性、治療歴、納の運動障害重症度、SF-36、IPEC、OABSS、I-PSS、ICIQ-SF、N-QOL、HAQ である。データ解析は IBM SPSS Statistics19 を用いた。今回はこれら調査結果の一部を報告する。

### (倫理面への配慮)

本研究は、聖マリアンナ医科大学の生命倫理委員会で承認された（承認番号：第 2044 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。また情報は、個人情報管理者により連結可能匿名化による番号化を行い、提供者を特定できないようにし、患者の人権擁護に努めた。

## 研究結果

登録患者 259 名の性別は、男 69 名 (26.6%)、女 190 名 (73.4%) であり、平均年齢は 62.4 歳であった。平均発症年齢は 44.3 歳、平均診断年齢は 51.4 歳、発症から診断までの期間は平均して 7.4 年となっていた。また、平均罹病期間は約 18 年だった。初発症状としては歩行障害が最多であり、210 名 (81.1%) が経験していた。家族内における

HTLV-1 キャリアについては不明の回答が多かったが、47 名 (18.1%) に見られた (表 1)。患者出身地の上位 3 県は鹿児島 (20.1%)、長崎 (10.8%)、大分 (6.9%) であり、両親の出身県上位を占めたのは鹿児島、長崎、大分、福岡となっていた。現在の納の重症度は平均 6.0 (S.D.=2.34) だった。図 1 は登録患者を発症年代別に示したものである。

運動障害発現年齢から納の各 Grade (2~9) に至った年齢を引いて移行年数として横軸にとり、縦軸に納の重症度を示したのが図 2 である。HAM の経過は、運動障害発現後、片手杖歩行になるのに約 8 年、両手杖歩行になるのに約 13 年であった。

更に、HAM 及び ATL の家族内発症の有無について登録患者に質問した結果が表 2 である。24 名 (9.3%) が自分の血縁家族内に HAM 患者がいる (死別含む) と回答した。24 名中、4 名は HAM 及び ATL 両方の患者が家族にいと答えた。また、HAM 家族発症者がいる患者は、いない患者と比較して発症年齢、診断年齢が共に有意に低く、罹病期間も長いことが明らかになった。

表 3 は、運動障害発現年齢から納の Grade5 までの移行年数が 2 年以下であった急速進行群 (N=49、18.9%) と、それ以外の非急速進行群 (N=196) の属性についてまとめたものである。急速進行群は非急速進行群と比べて現在の年齢、発症年齢、診断年齢が有意に高く、現在の納の Grade、及び HAQ 合計点も高くなっており、発症年齢が高い者において症状の進行が早い傾向にあることが示唆された。

## 考察

本研究は「HAM ネット」の構築、及びその登録患者 259 名から収集した属性、臨床

情報の一部をまとめた。HAM 患者の登録者は患者会や講演会等を通じての応募が多いことから、地域集積性や対象者の偏りがあることは否めないが、更なる登録者の増加に伴い、将来的にはより信頼性のある HAM の研究基盤情報の一助となるであろう。今後は、継続的に登録者数を増やし、コホート調査を行うことから経過に関する情報も前向きに収集していく予定である。

### 結論

HAM 患者登録システムは、全国規模で様々な背景の患者が登録され、希少難病の実態を把握する上で有用なツールと考えられた。また患者への情報提供ツールとしても有用で、臨床試験の症例集積性向上等にも役立つと考えられる。今後は、QOL や ADL と各臨床パラメータとの多変量解析や、横断的調査、コホート調査を実施することで、HAMの臨床的評価指標の確立や予後因子や経過に関する前向きの情報収集などを進めていく予定である。

### 健康危険情報

なし

### 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 HAM患者の属性

項目	全体	性別		P 値
		男性	女性	
性別	259 (100%)	69 (26.6%)	190 (73.4%)	N.S.
年齢(歳)	62.4 (10.3)	62.1 (10.9)	62.5 (10.0)	N.S.
発症年齢(歳)	44.3 (14.9)	45.6 (15.7)	43.8 (14.6)	N.S.
診断年齢(歳)	51.4 (12.7)	51.7 (14.1)	51.2 (12.2)	N.S.
発症～診断までの期間(年)	7.4 (8.0)	6.7 (9.0)	7.6 (7.7)	N.S.
罹病期間(年):年齢-発症年齢	18.1 (11.0)	16.4 (11.2)	18.7 (11.0)	N.S.
初発症状 歩行障害*	210 (81.1%)	61 (88.4%)	149 (78.4%)	<0.05
初発症状 膀胱障害*	58 (22.4%)	11 (15.9%)	47 (24.7%)	0.089
初発症状 感覚障害*	29 (11.3%)	6 ( 8.7%)	23 (12.2%)	N.S.
初発症状 その他*	45 (17.4%)	11 (15.9%)	34 (17.9%)	N.S.
HTLV-1 キャリア	47 (18.1%)	11 (15.9%)	36 (18.9%)	N.S.

\* 複数回答可

表2 HAM家族内発症例有無による属性比較

項目	家族発症有 (N=24)	家族発症無 (N=235)	P 値
性別:女(N=190)	16(8.4%)	174(91.6%)	N.S.
年齢(歳)	56.5(10.9)	63.0(10.0)	<0.01
発症年齢(歳)	33.5(12.4)	45.4(14.7)	<0.001
診断年齢(歳)	40.0(11.0)	52.5(12.3)	<0.001
発症～診断までの期間(年)	6.8( 8.0)	7.4( 8.0)	N.S.
罹病期間(年)	23.0(10.1)	17.6(11.0)	<0.05
現在の納のGrade	6.6( 2.7)	6.0( 2.3)	N.S.
HAQ 合計点	18.6(15.0)	18.0(11.9)	N.S.
排尿障害(0～3点)	1.2( 0.7)	1.3( 0.6)	N.S.
排便障害(0～3点)	0.9( 0.7)	0.9( 0.6)	N.S.
ATL家族内発症例	4 (HAM&ATL)	16	---

表3 急速進行型HAM患者の属性 (N=49; 18.9%)

急速進行群: 運動障害発現年齢から納のGrade 5までの移行年数が2年以下			
項目	急速進行群(N=49) 平均(SD)/頻度(%)	非急速進行群(N=196) 平均(SD)/頻度(%)	P 値
性別:女(N=180)	38 (77.6%)	142 (72.4%)	N.S.
年齢(歳)	65.1 (8.7)	61.4 (10.6)	<0.05
発症年齢(歳)	55.2 (10.8)	41.8 (14.3)	<0.01
診断年齢(歳)	57.0 (10.1)	49.8 (12.9)	<0.01
罹病期間(年):年齢-発症年齢	10.0 ( 6.4)	19.6 (10.9)	<0.01
現在の納の運動障害重症度	6.6 ( 2.3)	5.8 ( 2.3)	<0.05
HAQ 合計点	22.0 (13.3)	17.0 (11.7)	<0.05
家族内HAM患者あり	3 ( 6.1%)	20 (10.2%)	N.S.
家族内ATL患者あり	3 ( 6.4%)	16 ( 8.2%)	N.S.
初発症状 歩行障害	41 (83.7%)	157 (80.1%)	N.S.
初発症状 膀胱障害	13 (26.5%)	43 (21.9%)	N.S.
初発症状 感覚障害	6 (12.2%)	23 (11.9%)	N.S.
初発症状 その他	12 (24.5%)	33 (16.8%)	0.15

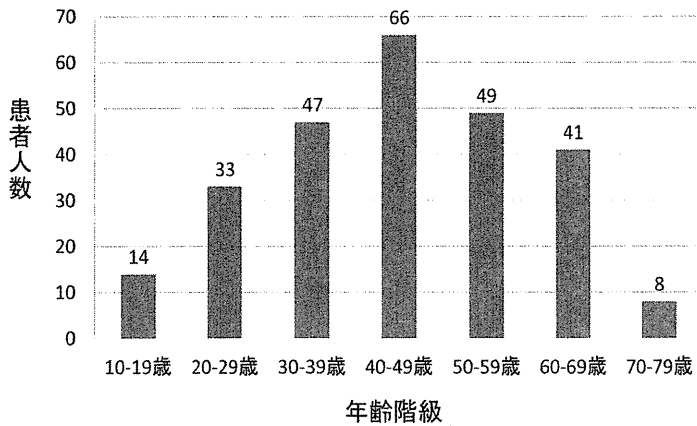


図1 HAM患者の発症年代分布 (N=258)

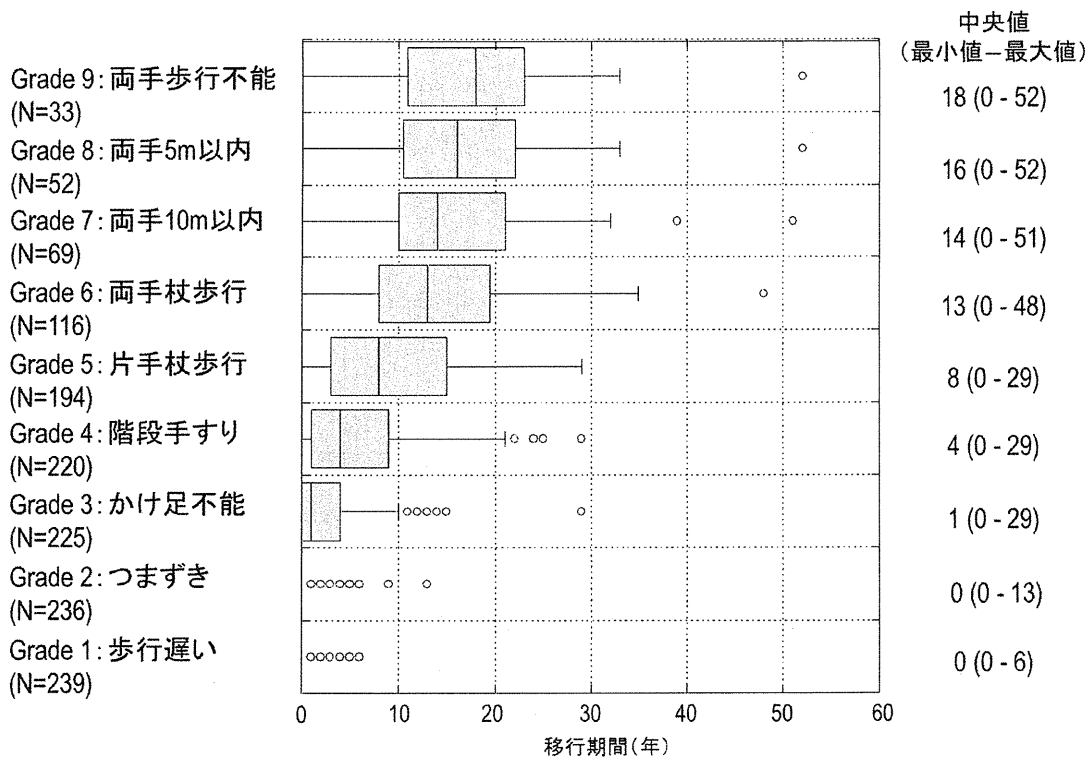


図2 納の運動障害重症度:運動障害発現年齢からの移行期間

## 抗ガングリオシド抗体 IgG サブクラスおよび補体活性化能と臨床症状の検討

研究協力者 海田 賢一<sup>1)</sup>

共同研究者 汐崎 祐<sup>1)</sup>、池脇 克則<sup>1)</sup>、桑原 基<sup>2)</sup>、楠 進<sup>2)</sup>

### 研究要旨

Guillain-Barré syndrome(GBS)および Fisher syndrome(FS)の末梢神経障害は抗ガングリオシド (GS) 抗体による補体介在性神経障害が主体であると考えられており、主に古典的経路の活性化が推測されている。抗 GS 抗体 IgG サブクラスは IgG1、IgG3 もしくはその両者であり、臨床症状と関連することが知られている。前回、我々は少数例で抗 GS 抗体 IgG サブクラスとその補体活性化能および臨床像について報告したが、今回はさらに症例を蓄積し IgG サブクラスを IgG1 陽性、IgG3 陽性、IgG1/IgG3 共に陽性の 3 群に再分類し臨床像を検討した。抗 GS 抗体価は GBS で補体活性化能と正の相関を認めた ( $p<0.01$ ) が、FS では認めなかった ( $p=0.069$ )。補体活性化能と GBS の臨床的重症度は相関を認めず( $p=0.68$ )、サブクラスごとの解析でも相関はみられなかった。臨床症状は IgG1/IgG3 陽性群は他群よりも年齢が若く、抗体活性が高く、補体活性化能も高値であった。IgG1/IgG3 群は IgG1 群と比較し先行感染に消化管感染が有意に多く、IgG3 群と比較し脳神経障害を欠いていた。FS については抗 GS 抗体サブクラスによる臨床症状の差はなかった。GBS/FS の神経障害作用において補体活性化は重要であるが、補体活性化の程度は必ずしも臨床的重症度と相関せず、臨床的重症度の決定には年齢や治療開始遅延などの多様な因子の関与も考える必要がある。

### 研究目的

近年の研究から抗ガングリオシド (GS) 抗体陽性ギラン・バレー症候群(GBS)では抗 GS 抗体による補体介在性神経障害が主体であると考えられ、古典的経路の活性化が推測されている。これまで GBS の重症化に関連する因子がいくつか報告されているが、今回 GBS の神経障害の程度に関連する因子の一つとして抗原抗体反応に伴う補体活性化の強さを考え、個々

の抗 GS 抗体の補体活性化能を測定し、IgG サブクラス及び臨床像との相関を検討した。

### 研究方法

対象は 2005 年 3 月～2011 年 8 月に当科で収集、および 2007 年 1 月～2012 年 3 月に近畿大学で治療された GBS およびフィッシャー症候群 (FS) 患者のうち抗 GS-IgG 抗体陽性例 92 例 (GBS 57 例、FS 35 例) である。これらの血清で GS 単独抗原に対して ELISA 法にて抗体活性を測定した。使用した GS 抗原は GM1・GM2・GD1a・GD1b・GT1a・GT1b・

1) 防衛医科大学校内科 3 神経内科

2) 近畿大学神経内科