

した。

C. 倫理面への配慮

ステロイドパルス療法を施行するにあたり、副作用、他の治療法の選択等について患者本人に説明し、同意を得た後に実施した。解析にあたり、得られたデータは連結可能匿名化し個人情報の保護に留意した。

D. 研究結果

ステロイドパルス療法により1例を除きOMDSもしくはUDSの改善をみとめた。また、治療前ジンジン感などの異常感覚、疼痛をみとめた症例は、全例において症状の改善をみとめ(表1)、患者満足度は比較的高いものであった。副作用としてステロイドパルス療法実施期間中に軽度の睡眠障害がみられたが、治療を要する有害事象や重篤な有害事象の発現はみられなかった。治療前の平均髄液中ネオプテリン量は137pmol/mlと高値(正常値30pmol/ml以下)を示したが、平均髄液細胞数、タンパク量はそれぞれ4.2個/mm³、44.2mg/dlと正常範囲内であった。ステロイドパルス療法後の髄液中ネオプテリン量は49pmol/mlと統計学的有意差をもって減少した(p=0.011, paired-t test)(図1)。髄液細胞数、タンパク量、抗HTLV-I抗体価に関しては治療前後で有意な変化は認められなかった。

表1 ステロイドパルス療法による臨床症状の変化

症例	OMDS		UDS		疼痛・異常感覚の改善
	治療前	治療後	治療前	治療後	
1	5	4	6	5	(+)
2	10	8	9	7	(+)
3	4	4	5	3	N.A.
4	3	3	3	3	(+)
5	5	4	3	3	(+)
6	10	9	7	6	(+)

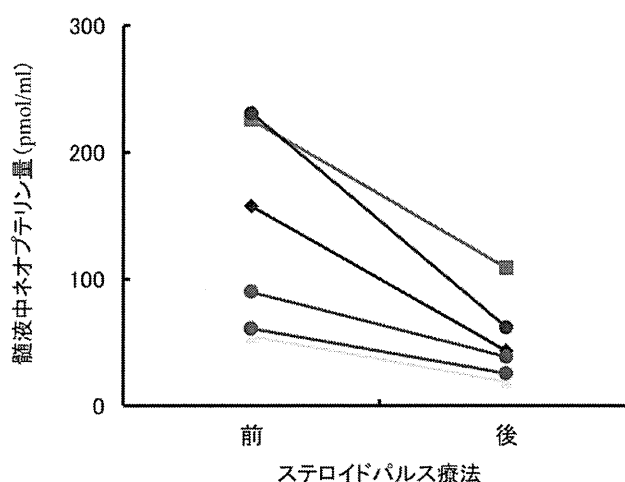


図1 ステロイドパルス療法による髄液中ネオプテリン値の変化

E. 考案

現在までに考えられているHAMに対する治療戦略として(1)生体内のHTLV-Iプロウイルス量を減少させる。(2)免疫系を抑制するという二つの柱がある。HTLV-Iプロウイルス量とHAM運動障害度が相関することが知られており、根治療法としてはHTLV-Iウイルスを生体内から消失もしくは著明に減少させることが重要と考えられている。しかしHTLV-IはHIVと違い、生体内では主にプロウイルスとして宿主細胞の増殖に伴い感染細胞を増やしており、逆転写酵素阻害薬やプロテアーゼ阻害薬の治療効果はさほど期待できない。このためHAMに対する

抗レトロウイルス療法は通常行われておらず、免疫系作用薬が現在の HAM 治療の中心である。現在までに副腎皮質ホルモン、インターフェロン α 、アザチオプリン、ミゾリビン、免疫グロブリン、血漿交換療法、リンパ球除去療法などの種々の免疫療法が試みられてきた。しかし、各治療法あたりの症例数が少ないため多くは症例報告のレベルにとどまり、エビデンスレベルの高い臨床試験はほとんど行われていない。このため標準化された治療法が未だないのが現状である。現時点で最も有効な治療法と考えられているのはステロイド療法であるが、長期にわたるステロイド療法は、糖尿病、骨粗鬆症、消化性潰瘍、高血圧などの合併症をきたすことが問題となる。このため、我々はステロイドパルス療法を HAM 治療の第一選択としている。本研究の結果、ステロイドパルス療法により全ての症例で運動障害、膀胱直腸障害、感覚障害のいずれか一つ以上において臨床症状の改善を認めた。また、髄液中ネオプテリン値も全ての症例でステロイドパルス療法後低下した。これらの結果より髄液中ネオプテリン値は治療評価のバイオマーカーとして有用であると考えられる。ステロイドパルス療法は確かに有用ではあるが、効果の持続時間に関するデータは乏しい。また、どれくらいの間隔においてステロイドパルス療法を行うのがよいのか、ステロイドパルス療法後の少量ステロイド内服療法は必要なのかなど、今後明らかにしなければならない課題も多く、更なるデータの蓄積が必要である。

F. 結論

ステロイドパルス療法により神経症状の改善と髄液中ネオプテリン値の有意な減少がみられた。髄液中ネオプテリンは HAM 治療の際のバイオマーカーとしても有用である。

G. 研究成果の公表

1. 学術雑誌等での発表

なし

2. 学会等での講演、発表

国際会議

なし

国内会議

(1) 第17回日本神経感染症学会総会学術総会

西川典子,永井将弘,辻井智明,岩城寛尚,村上雄一,井門敬子,高田清式,野元正弘
髄液中ネオプテリン値が病勢評価に有用であったHIV脳症の1例

(2) 第107回日本内科学会四国地方会

永井麻里奈,辻井智明,野村信行,岩城寛尚,西川典子,永井将弘,野元正弘
可溶性IL-2レセプター (sIL-2R) が異常高値を示したHTLV-I associated myelopathy (HAM) の1例

3. その他

なし

4. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

なし

HTLV-1 関連脊髄症(HAM)患者における末梢血 T 細胞動態の検討

研究分担者 氏名 : 吉良 潤一
所属機関 : 九州大学大学院医学研究院神経内科学
職名 : 教授
研究協力者 氏名 : 河野祐治
所属機関 : 九州大学大学院医学研究院神経内科学
役職 : 講師

研究要旨 :

【目的】本研究では, human T cell leukemia virus type 1 関連脊髄症(HAM)患者の末梢血 T 細胞分画の動態を検討し, HAM 病態への免疫学的関与を明らかにする. 【方法】HAM 患者 3 例, 健常者 13 例を用いて, CD4 陽性 T 細胞, CD8 陽性 T 細胞それぞれについて, central memory T 細胞 (Tcm), effector memory T 細胞(Tem), 制御性 T 細胞(Treg)をフローサイトメーターにて測定した. 【結果】CD4 陽性細胞中の各サブセットには HC, HAM で有意差はなかったが, CD4Tcm, CD4Tem ともに多い傾向であった. CD8 陽性細胞中では, 全 CD8 細胞が HAM で少なかった (HAM 9.7 ± 2.7 , HC 23.2 ± 5.9 , $p=0.009$). CD8Naive 細胞は HAM で少なく (HAM 9.3 ± 7.7 , HC 30.4 ± 21.8 , $p=0.037$), CD8Tcm 細胞は HAM で多かった (HAM 8.9 ± 3.5 , HC 2.8 ± 1.3 , $p=0.013$). 【考察・結論】HAM では特に CD4, CD8 共に活性化された状態と思われ, 感染細胞に対する免疫反応を反映しているものと考えられた.

A. 研究目的

メモリー T 細胞は human T cell leukemia virus type 1 関連脊髄症(HAM)で増加している. 最近, central memory T 細胞(Tcm)と effector memory T 細胞(Tem)とに細分類され, 様々な疾患での分画の異常が報告されている. 本研究では, HAM での免疫学的要因の相違を明らかにするために, 末梢血 T 細胞分画, 特にメモリー T 細胞分画に着目して解析した.

B. 研究方法

当科通院中の MS 患者 11 例, HAM 患者 3 例, 健常者(HC)13 例を用いて, CD3(+) CD4(+) CD45RO(+) CCR7(+) 細胞 (CD4Tcm), CD3(+) CD4(+) CD45RO(+) CCR7(-)細胞 (CD4Tem), CD3(+) CD8(+) CD45RO(+) CCR7(+) 細胞 (CD8Tcm), CD3(+) CD8(+)

CD45RO(+) CCR7(-) 細胞 (CD8Tem), CD3(+) CD4(+) CD25(high) CD127(low)細胞 (CD4Treg), CD3(+) CD8(+) CD25(high) CD127(low) 細胞(CD8Treg) それぞれをフローサイトメーターにて測定した. 結果は CD4 または CD8 中の割合(%)として算出した.

C. 倫理面への配慮

本研究は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.

D. 研究結果

CD4 陽性細胞中の各サブセットには HC, HAM で有意差はなかったが, HAM では CD4Tcm, CD4Tem とも多い傾向であった. CD8 陽性細胞中では, 全 CD8 細胞が HAM で少なかった (HAM 9.7 ± 2.7 , HC 23.2 ± 5.9 ,

p=0.009). CD8Naive 細胞は HAM で少なく (HAM 9.3±7.7, HC 30.4±21.8, p=0.037), CD8Tcm 細胞は HAM で多かった(HAM 8.9±3.5, HC 2.8±1.3, p=0.013). Treg は HAM で多かった(HAM 23.8±14.8, HC 7.7±2.0, p=0.009),

E. 考案

今回 Tcm, Tem を分離して検討したが、HAM 患者で特にどちらか有意に変動することはなかった。また HAM では tax が CD25 を誘導する他、FOXP3 を抑制するため、今回の方法では真の Treg といえるか疑問であり、機能的な解析が望まれた。今回は症例も少なく、病型や治療との関連も解析できなかったが、今後引き続き行う予定である。

F. 結論

HAM 患者では CD4,CD8 それぞれにおいて Tcm, Tem ともに増加し、活性化状態にあることが確かめられたが、Tcm, Tem での偏りはなかった。今後他疾患との比較や、治療反応性との関連などの解析が重要と考えられる。

G. 研究成果の公表

1. 学術雑誌等での発表

なし

2. 学会等での講演、発表

国際会議

1) Sato S, Yoshimura S, Yonekawa T, Isobe N, Kanamori Y, Masaki K, Matsushita T, Kira J, Relationship Between Human Leukocyte Antigen Polymorphisms and Disease Susceptibility in Japanese Patients with Multiple Sclerosis, Neuromyelitis Optica, or Atopic Myelitis, PACTRIMS 2012.9.13~9.15 北京

2) Sato S, Isobe N, Yoshimura S, Kanamori Y, Masaki K, Matsushita T, Kira J, and the South Japan Multiple Sclerosis Genetics

Consortium (SJMSGC). Distinct HLA polymorphisms among atopic myelitis, multiple sclerosis and neuromyelitis optica patients in Japan, ECTRIMS 2012.10.10-13 Lyon

国内会議

1) 佐藤真也、磯部紀子、吉村怜、金森祐治、米川智、眞崎勝久、松下拓也、吉良潤一、日本人アトピー性脊髄炎患者の HLA における疾患感受性遺伝子の探索, 第 53 回日本神経学会学術大会 2012.5.22~25 東京

2) 佐藤真也、吉村怜、米川智、磯部紀子、金森祐治、眞崎勝久、松下拓也、吉良潤一 多発性硬化症、視神経脊髄炎、アトピー性脊髄炎の HLA 遺伝子多型の差異 第 24 回日本神経免疫学会学術集会 2012.9.20~9.21 長野

3. その他

[患者や一般市民への情報提供]

吉良潤一: 最近の話題: MS variants and MS mimics, 第 10 回松山 MS 講演会 2012.5.31 松山

吉良潤一: 難治性炎症性中枢神経疾患の最近の話題: 硬膜炎と脱髄炎, 飯塚脳疾患座談会 2012.6.19 東京

吉良潤一: 脱髄性疾患に共通する抗体非依存性アストロサイトパチー, 第 5 回名古屋大学グローバル COE 国内シンポジウム 2012.7.17 名古屋

吉良潤一: 脱髄性疾患に共通する抗体非依存性アストロサイトパチー, 第 9 回国立大学医療連携・退院支援関連部門連絡協議会 2012.7.20 東京

4. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

なし

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）
平成 24 年度分担研究報告書

HAM に対するステロイドパルス療法の治療成績

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感染免疫学、准教授

研究要旨：

HTLV-I 関連脊髄症 (HAM) は HTLV-I 感染による末梢血の免疫学的活性化によって惹起される脊髄の慢性炎症を原因とする疾患であるが故に、これまでに報告された種々の治療法は免疫修飾療法が主体となっている。今回、8 名の HAM 患者に対しメチルプレドニゾロンパルス療法 (250-1000mg/日 X 3 日を 1 クールとして、2-4 クール) を試み、その治療効果について検討した。その結果、下肢痙縮の改善、歩行時間の短縮が得られた。その効果はほとんどの例で 1 クール目で得られ、効果は比較的即効性であった。末梢血 HTLV-I プロウイルス量は有意に減少した。パルス療法施行後、経口プレドニゾロン維持療法を施行しなかった例では、数日から 6 カ月後に、症状の増悪がみられた。今回の検討によって、HAM に対するメチルプレドニゾロンパルス療法は少なくとも短期的な改善効果は十分に発揮し得ることが明らかにされた。

A. 研究目的

HTLV-I 関連脊髄症 (HAM) が発見されて、約 26 年が経過した。HAM の発見は、それまでに治療不可能とされていた神経難病の一部に治療可能な疾患が存在するということを明らかにした点で、その意義は大変大きいと思われる。本疾患は HTLV-I 感染による末梢血の免疫学的活性化によって惹起される脊髄の慢性炎症を原因とする疾患であるが故に、これまでに報告さ

れた種々の治療法は免疫修飾療法が主体となっている。しかしながら、現時点では本疾患に対する治療法は未だ確立していない。

本研究班の目的は治療法確立を目指して、HAM に対する治療薬としての新規医薬品を開発することにあるが、そのためには免疫修飾療法の中心となっている副腎皮質ホルモン療法による成績について

まとめておく必要がある。今回、HAM 患者に対するステロイドパルス療法の治療成績について報告する。

B. 研究方法

1) 対象： HAM 患者 8 例(女性 6 例：男性 2 例)、年齢:35～71 歳(平均:59.4 歳)、罹病期間:1-15 年。表 1 に症例のプロファイルを示す。

表 1. 症例のプロファイル

症例	年齢・性	罹病期間	合併症
1	67歳・女	6年	
2	70歳・女	10年	
3	51歳・男	10年	
4	71歳・女	3年	筋炎、間質性肺炎
5	58歳・女	10年	筋炎
6	68歳・女	15年	筋炎
7	35歳・男	1年	生体腎移植
8	55歳・女	1年	慢性腎不全

2) 薬剤投与：メチルプレドニゾロン (MPSL) 250-1000mg/日 X 3 日を 1 クールとして、2-4 クール。

3) 評価項目：以下の項目について治療効果の評価した。

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) 10m 歩行時間

B) ウイルス学的・免疫学的評価

- a) 末梢血 HTLV-I プロウイルス量
b) Spontaneous PBL proliferation c) 血清・髄液中抗 HTLV-I 抗体価

C. 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。

D. 研究結果

1) 下肢運動機能の改善：表 2a に示すように症例 1)、2)、3)、7)、8)において、下肢痙縮の改善がみられた。症例 4)、5)、6)では筋炎を合併していたが、筋力の改善がみられた。この 3 症例では運動機能障害度が 1-2 段階改善した(表 2b)。これらの改善によって 10m 歩行時間の短縮がみられた(表 2b)。これらの改善効果は多くの例で 1 クール目の最初の数日間で見られた。

表 2. a) MPSLパルス療法の治療効果

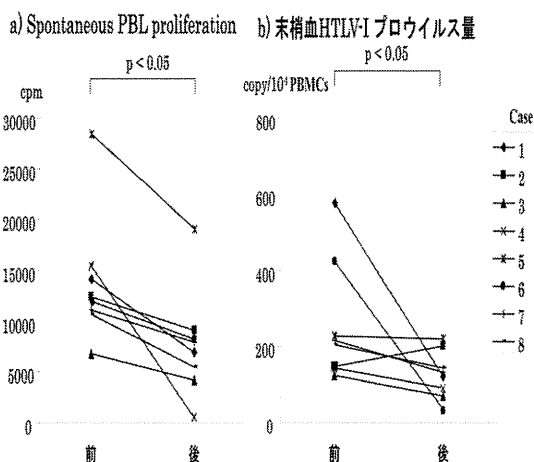
症例	MPSLの		効果発現までの		改善した症状
	1回投与量	投与期間	期間		
1	1000 mg	2クール	1クール2日目		下肢の疼痛・痙縮改善
2	1000 mg	3クール	1クール2日目		下肢の疼痛・痙縮改善
3	250 mg	4クール	1クール3日目		下肢の痙縮改善
4	500 mg	3クール	2クール3日目		筋力改善
5	250 mg	3クール	1クール3日目		筋力改善
6	1000 mg	3クール	1クール3日目		筋力改善
7	500 mg	3クール	1クール1日目		下肢の痙縮改善
8	250 mg	3クール	1クール1日目		下肢の痙縮改善

表 2. b) MPSLパルス療法の治療効果

症例	運動機能		徒手筋力		10m歩行時間(秒)	
	前	後	前	後	前	後
	1	5	5	4	4	N.D.
2	4	4	5	5	15	11
3	6	6	4	4	26	24
4	7	6	4	5	N.D.	N.D.
5	6	4	5	5	13.8	10.5
6	6	5	4	4+	45	24
7	7	6	4	5	16	12
8	4	4	5	5	19	17

2) 免疫学的・ウイルス学的改善： 図 1a に示すように、元来 HAM 患者で亢進しているとされる spontaneous PBL proliferation は本治療によって有意に減少した。さらに図 1b に示すように末梢血 HTLV-I プロウイルス量も有意に減少した。血清・髄液抗 HTLV-I 抗体価は治療の前後において有意な変動は示さなかった(図省略)。

図 1. 免疫学的・ウイルス学的改善



3) 副作用と維持療法について：副作用としては多くの例で、血糖の上昇を認めましたが一過性であった(表 3)。症例 1 では陰部ヘルペス、症例 2 ではくすぶり型 ATL、症例 3 では抑うつ状態、症例 5 ではβ-D グルカン上昇を認め、これらの副作用は MPSL パルス療法による免疫抑制作用と何らかの関係があると考えられた。症例 7 では CMV アンチゲネミアを認めたが、この症例は生体腎移植を受けた症例であり、同時に投与されている他の免疫抑制剤の影響も考えられた。

表 3. MPSLパルス療法の副作用および維持療法

症例	副作用	維持療法
1	一過性血糖上昇、陰部ヘルペス	なし (数日後に症状増悪、治療再施行)
2	一過性血糖上昇、くすぶり型ATL	プレドニゾン 30mg隔日 (漸減)
3	抑うつ	プレドニゾン 5mg隔日
4	一過性血糖上昇	プレドニゾン 10mg隔日
5	一過性血糖上昇、 β -Dグルカン上昇	プレドニゾン 10mg隔日
6	一過性血糖上昇	プレドニゾン 30mg隔日 (漸減)
7	CMVアンチゲネミア陽性	メチルプレドニゾン 24mg隔日 (6か月後に症状増悪、治療再施行)
8	血圧上昇、尿路感染症	なし (6か月後に症状増悪、治療再施行)

表3に示すように、MPSLパルス療法後、何らかの形でのプレドニンによる維持療法を継続しなければ、症状が増悪した。

E. 考案

HAM に対する MPSL パルス療法の有効性について報告した。今回の結果は他施設からの有効性の報告と一致する。ただ、今回の成績において特筆すべき点は、その有効性は治療の初期から出現していることである。この点についての解釈は難しいが、少なくともこれ程の短期間における改善は単純に末梢血レベルでの炎症の改善あるいは HTLV-I プロウイルス量の減少では説明は出来ないと考えられる。また、今回対象となった症例は必ずしもすべての例で急速進行型の病態ではなく、この点においては必ずしも脊髄レベルの浮腫の改善によるものでもないと考えら

れる。したがって、MPSL パルス療法は脊髄あるいは筋肉レベルで未だ不明の何らかの機序を通して機能している可能性がある。この点については副腎皮質ホルモン剤の HAM に対する治療効果を考える上で大変重要であり、今後の詳細な機序の解明が必要である。

今回の治療において、末梢血 HTLV-I プロウイルス量が有意に減少した。その機序については不明であるが、大量の副腎皮質ホルモン剤による HTLV-I 感染細胞のアポトーシスの可能性、あるいは何らかの炎症機転が HAM 患者末梢血で維持されている HTLV-I 感染細胞の増加に関与している可能性などが考えられる。いずれにせよ、副腎皮質ホルモン剤の HAM 患者 HTLV-I 感染細胞に対する作用の解明も今後は重要であろう。

さて、今回 MPSL パルス療法を通して、HAM に対する副腎皮質ホルモン剤治療の有効性が示されたが、やはり本剤による治療は長期間に亘ることが余儀なくされるようである。元来、HAM に対する治療は長期間に亘る治療が必要であると思われるが、その間に生じ得る副作用の出現など種々の問題点を抱えている。今後はこの問題をどのようにして解決していく

かが、HAM に対する副腎皮質ホルモン剤治療の大きな課題となるであろう。

F. 結論

HAM に対する MPSL パルス療法は比較的即効性であり、少なくとも短期的な改善効果は十分に発揮し得ることが明らかにされた。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Nakamura H, Horai Y, Tokuyama A, Yoshimura S, Nakajima H, Ichinose K, Yamasaki S, Nakamura T, Hayashi T, Kawakami A. HTLV-I virological and histopathological analysis in two cases of anti-centromere antibody-seropositive Sjögren's syndrome. *Mod Rheumatol*. 2012;Apr 18 [Epub ahead of print].

2) 辻野 彰、中村龍文: ヒトTリンパ球向性ウイルス脊髄症 (HAM). 神経疾患最新の治療2012-2014: 271-273, 2012. 南江堂

2. 学会発表

(国内学会)

1) 中村龍文: HTLV-1 関連脊髄症(HAM)の治療剤の開発. BIO tech 2012 第11回国

際バイオテクノロジー展/技術会議、2012年4月、東京

2) 中村龍文、福田 卓、木下郁夫、枘田智子、長郷国彦、西浦義博、佐藤克也、川上 純: HTLV-I 関連脊髄症(HAM)に対するポリ硫酸ペントサンによる治療成績. 第53回日本神経学会学術大会、2012年5月、東京.

3) 中村龍文、松尾朋博、福田 卓、山口健太郎、佐々木 均、酒井英樹、川上純: HAM に対する経口プロスルチアミン療法の有効性. 第5回 HTLV-I 研究会、2012年8月、東京.

4) 中村龍文、松尾朋博、福田 卓、山口健太郎、佐々木 均、酒井英樹、川上純: HAM に対する新規治療法ー経口プロスルチアミン療法の有効性ー. シンポジウム3ー新薬開発シンポジウム. 第24回日本神経免疫学会学術集会、2012年9月、長野.

3. その他、

専門医、一般医等医療従事者への情報提供

中村龍文. HTLV-I 関連脊髄症の治療剤の開発. 先端創薬シンポジウム in 長崎大学 ～ 挑戦: 長崎から世界へ ～.

2012年7月、長崎.

患者、家族、患者会や一般市民への情報提供

中村龍文. HAM治療のこれから. 市民公開講演会 「新しい展開・HTLV-1関連脊髄症」～解明されつつあるHAMの病態と新しい治療法について～. 2012年11月、鹿児島.

4. 知的財産権の出願・登録状況

1. 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)。

2. 実用新案登録：なし。

3. その他：なし

HAM 患者を対象とした予後因子及び
治療有効性に関する後ろ向き研究

研究分担者 氏名 : 高嶋 博
所属機関 : 鹿児島大学神経内科
職名 : 教授

研究協力者 氏名 : 松浦英治 助教 ・ 野妻智嗣 大学院生
所属機関 : 鹿児島大学神経内科

氏名 : 松崎敏男
所属機関 : 難治ウイルス病態制御研究センター分子病理
役職 : 特別研究員

研究要旨：HAM の治療方法であるインターフェロン、ステロイドは、その適切な使用時期や期間、用法用量、及びその有効性についての明確なエビデンスはなく、ガイドラインもない。そこで、本研究では、多施設を対象として HAM 患者の診療録から患者背景や臨床所見、インターフェロン、ステロイドの使用状況等の診療実態について収集し、治療方法やその有効性について評価し、HAM の治療法に関するガイドラインなどの策定に役立つ情報を得る。

A. 研究目的

HAM の治療方法であるインターフェロン、ステロイドの有効性について後ろ向きに研究する。得られた情報の一部を共同研究する他施設からの情報とあわせて共同解析する。

B. 研究方法

平成 23 年までに髄液検査により HAM と診断された患者あるいは本研究実施機関で HAM と診断され 1 年以上治療を受けた患者の診療記録を用いて HAM の治療効果を判定する。ただし、除外基準として研究責任医師もしくは分担医師により、本研究で収集を予定している情報が十分得られないと判断

された患者

C. 倫理面への配慮

本研究では、収集する情報はすべて通常診療下で実施された診療録に基づくものであり、本研究のために新たに対象者に対し介入を行うことはなく、当医療機関において匿名化され、個人が特定できないようにすることから、対象者への個別のインフォームドコンセントを行うことは予定していない。

D. 研究結果

本年度は本臨床研究の準備を行い、現在当大学の倫理審査委員会に申請中である。

E. 考案

他施設による検討であるために診療カルテに記載されている情報の均質性がはかられる必要があると思われる。

F. 結論

インターフェロン、ステロイドの使用状況等の診療実態について収集し、治療方法やその有効性について評価することで、今後のHAMの治療ガイドライン作成などに役立つことが期待される。

F. 研究成果の公表

学術雑誌等での発表

1. Minocycline modulates antigen-specific CTL activity through inactivation of mononuclear phagocytes in patients with HTLV-I associated neurologic disease, Yoshimi Enose-Akahata, **Eiji Matsuura**, Yuetsu Tanaka, Unsong Oh, Steven Jacobson, *Retrovirology*, Vol.9, No.16, (2012)
2. HTLV-1 と筋炎 松浦英治 久保田龍二 樋口逸郎 *Clinical neuroscience* 30(3) 2012 p322-333

学会等での講演、発表

国際会議

1. HTLV-1 specific cytotoxic T cell migration in the cerebrum of the patient with HAM/TSP. **Eiji Matsuura**, Ryuji Kubota, **Hiroshi Takashima**. 13th Asian Oceanian Congress of Neurology. Melbourne,

4-8 June 2012

国内会議

1. HTLV-1 キャリアーの脊髄に HTLV-I 特異的細胞障害性 T 細胞は浸潤している. 松浦英治 久保田龍二 高嶋 博 2012 年 5 月. 第 53 回日本神経学会 (2012.5.東京)
2. HAM および HTLV-1 キャリアの中枢神経における HTLV-1 特異的細胞障害性 T 細胞の分布 松浦英治 久保田龍二 出雲周二 高嶋 博 第5回HTLV-1研究会 平成 24 年 8 月 26 日 (日) 於東京
3. HTLV-1 特異的細胞障害性 T 細胞が関与する病態に関する検討 (HAM 患者の 大脳・HTLV-1 carrier の脊髄の検討) 松浦英治 久保田隆二 高嶋博 第 24 回 日本神経免疫学会学術集会 平成 24 年 9 月 20 日於軽井沢
4. HAM/TSP 患者脊髄・大脳および HTLV-1 キャリア脊髄における HTLV-1 ウイルス特異的細胞障害性 T 細胞の検出 松浦英治 久保龍二 出雲周二 高嶋博 第 17 回日本神経感染症学会 平成 24 年 10 月 20 日於京都

その他、知的財産権の出願・登録や情宣活動など

なし

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）
平成 24 年度分担研究報告書

沖縄県における HTLV-1 関連脊髄症（HAM）患者の実態および治療に関する検討

研究分担者 氏名 : 渡嘉敷 崇
所属機関 : 琉球大学大学院医学研究科
循環器・腎臓・神経内科学
職名 : 助教

研究要旨：1992 年 1 月より 2013 年 1 月 20 日までに当科で診断治療をした HAM 患者は 21 例(男性 9 例, 女性 12 例)で, そのうち現在も通院中の症例は 14 例である. 14 例の内訳は男性 6 例, 女性 8 例で発症時年齢は 47.2 ± 10.6 歳ある. 初診時における納の運動障害重症度は 4.7 ± 1.9 であった. 治療ではステロイドを使用した症例が多く, 14 例中 12 例で経口プレドニゾロンが使用され, 5 例はステロイドパルス療法を施行していた. 運動機能や感覚障害の改善など治療が有効と判断された症例は 9 例であった. しかしながら, 運動機能に関して納の運動障害重症度で 1 ランク以上の改善を得られた例はなかった. ステロイド治療およびインターフェロン療法, アリナミン療法の適応選択, 治療効果判定などに今後の課題があった.

A. 研究目的

1986 年, 納らにより HAM の疾患概念が提唱され, 以降 HAM の病態は明らかにされつつある. しかしながら根本的治療や治療方針に関しては未だ確立されていない.

南九州や沖縄県で HTLV-1 感染者数が多い事が知られており, 現在の沖縄県における HAM の患者数を把握し, 県内各医療機関を縦断したネットワークを構築する事が今後の治療法の確立に向けて必要な時期にきていると考えられる.

昨年度に引き続き, 当科で診断・治療を行った HAM 患者の実態をまとめ, これまでの治療法を検討する.

B. 研究方法

①実態調査：現在および過去の診療患者数と当科における過去 5 年間ににおける HAM 新規発症(診断)者数、年齢、性別、合併症、罹病期間、経過、重症度、検査データ、治療内容について調査する.

②当科における HAM 治療法について

当科でこれまでに行った HAM に対する治療の内, 主な以下の治療法について検討する.

- ア. ステロイド治療
- イ. アリナミン静注療法
- ウ. インターフェロン療法

エ. 下肢痙縮に対するボツリヌス治療

C. 倫理面への配慮

現在当科への通院がなく、カルテ検索が可能な症例についてはカルテのみを参照とし発症時年齢、重症度、治療内容および効果について検索した。現在通院中の症例については治療選択にあたって本人からの同意を得て、治療を行った。

D. 研究結果

カルテ検索が可能な1992年1月より2013年1月20日現在までに当科で診断、治療を行った症例は21例(男性9例, 女性12例)であった。そのうち現在も当科へ通院・入院などの治療継続中の症例は14例である。過去5年間(2007年4月1日から2013年1月20日)で新たにHAMと診断した症例は6例(内, 現在通院中は5例)であった。

以下, 現在当科通院中の14例について性別, 発症時年齢, 重症度, 治療内容および治療効果について述べる。

14例の内訳は男性6例, 女性8例で発症時年齢は 47.2 ± 10.6 歳ある。初診時における納の運動障害重症度は 4.7 ± 1.9 であった。

<治療について>

14例中12例で経口プレドニゾロンが使用され, 5例はステロイドパルス療法を施行された。運動機能や感覚障害の改善など治療が有効と判断された症例は9例であった。しかしながら, 運動機能に関して納の運動障害重症度で1ランク以上の改善を得られた例はなかった。インターフェロン療法については14例中2例に治療歴があり, 1例は現在も継続中である。当科受診1年以内の2症例についてはアリナミン静注療法を施行した。運動機能に関して納の運動障害重症度でgrade 1以上の改善は得られていないが, 自覚的に「足が軽く感じる」, 感覚障害の軽減などが得られた。

補助的な治療としてビタミンC, 塩酸チザニジン, 芍薬甘草湯, イブジラストなどを使用している。

また, 平成23年度に罹病期間20年で杖歩行可能であるが下肢痙縮により歩行バランス悪化を認めボツリヌス療法を実施した症例はリハビリテーション併用によりボツリヌス治療前とほぼ同程度の歩行機能が維持できていたため, 本人の希望により, 本年度にボツリヌス治療は実施しなかった。

E. 考案

1994年の旧厚生省研究班の調査では沖縄県でHAM確診例は80例であった。

過去5年間で当科だけでも6例の新規発症患者がおり県全体の患者数は増加している可能性がある。当科での治療例についてはステロイドが主流で14例中12例に経口プレドニゾロンが使用され, 5例はステロイドパルス療法を施行された。ステロイド治療による何らかの効果は8例に認めたが, 運動機能に関しては納の運動障害重症度で1ランク以上の改善は得られていない。納の運動障害重症度で4ないし5のランクの患者では改善点はそのランクを超えない事が多く, 治療効果判定には別の評価尺度が必要と思われる。

インターフェロン療法に関しては現在も継続中のものは1例であった。プロウイルス量が高く, 比較的運動障害度の低～中等度の症例に関しては適応と考えられる症例もいるが, 通院で長期にわたる治療になるため, 通院自体の負担や副作用, 高額な医療費負担などの問題があり, 適応と考えられる全ての症例への導入は困難な側面がある。

アリナミン静注療法は長崎大学中村らにより提唱されている治療法である。当科では2例に実施したが異常感覚の軽減や足の動きが軽く感じられるなどの効果が得られ

た。特記すべき副作用はなく安全に実施できる治療法として今後当科でも実施症例を重ねていきその効果および適応症例について検討していきたい。

HAM 患者の慢性期の運動機能障害として下肢痙縮の問題があり、昨年度は 1 例にボツリヌス療法を実施したが、リハビリテーション併用によりボツリヌス治療前とほぼ同程度の歩行機能が維持できていたため、本人の希望により、本年度にボツリヌス治療は実施しなかった。今後、適応症例を検討し実施していきたいと考えている。

F. 結論

本年度は昨年度に引き続き当科の HAM 患者の実態を調査し治療内容を検討した。

カルテ検索が可能な 1992 年 1 月より 2013 年 1 月 20 日現在までに当科で診断、治療を行った症例は 21 例(男性 9 例, 女性 12 例)であった。そのうち現在も当科へ通院・入院などの治療継続中の症例は 14 例で、過去 5 年間(2007 年 4 月 1 日から 2012 年 3 月 20 日)で新たに HAM と診断した症例は 6 例(内、現在通院中は 5 例)であった。

現在通院中の 14 例について経口ステロイドおよびパルス療法はほぼ全例で実施されていた。効果については運動機能に関して納の運動障害重症度で grade 1 以上の改善を得られた例はなかったが、自覚的な運動障害や感覚障害などに対する効果はあり、治療効果判定の評価スケールが必要と考えられた。

インターフェロン療法については長期にわたる治療となるため対員や費用など患者負担の点を考え、より積極的な適応となる症例を決定していく必要がある。

アリナミン静注療法は副作用の懸念が少ないと考えられ今後症例の蓄積により効果についての検討を重ねたい。

痙縮に対する治療としてボツリヌス療法

を実施した。現在のところ 1 例のみであり今後適応症例およびボツリヌス施注の対象となる筋の選択および治療効果の評価法について検討を進める。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
国際会議
なし
国内会議
なし
3. その他、専門医、一般医等医療従事者への情報提供
なし
4. 患者、家族、患者会や一般市民への情報提供
なし
5. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
なし
6. その他、研究成果の周知のために実施した活動
なし

表. 当科におけるHAM患者の内訳(2013年1月20日現在通院中の症例)

性別	男性 6例 女性 8例
発症時年齢	47.2 ± 10.6 歳
初診時運動障害度*	4.7 ± 1.9
治療内容	経口ステロイド 12例 ステロイドパルス療法 5例 インターフェロン療法 2例 アリナミン静注療法 2例 その他：ボツリヌス療法, ビタミンC, 塩酸チザニジン, 芍薬甘草湯, イブジラストなど

初診時運動障害度*：納の運動障害重症度で評価した。

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）
平成 24 年度分担研究報告書

HTLV-1 関連脊髄症発症関連因子としての HTLV-1 ウイルス型の解析

分担研究者 齊藤 峰輝 川崎医科大学 微生物学 教授

研究要旨： HTLV-1 には転写調節因子 Tax の遺伝子配列に 2 つのサブタイプが存在し、サブタイプ A (TaxA) を持つ感染者はサブタイプ B (TaxB) を持つ感染者と比較して、HLA の影響とは独立して HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) 発症の Odds が約 2 倍高いことが報告されている。ウイルスサブタイプの HAM 発症における病因的意義解明のため、各遺伝子型に対応する HTLV-1 の転写制御因子 (Tax および HBZ) の発現ベクターを作製し、標的遺伝子プロモーターに対する活性を比較した。その結果、HTLV-1 のサブタイプは Tax および HBZ の転写制御因子としての活性には影響を与えないことが明らかになった。TaxA、TaxB に特異的な塩基置換は、p12、p30、env のアミノ酸置換を伴う塩基置換とも対応しているため、これら構造遺伝子、アクセサリ遺伝子の機能変化が発症感受性に関連している可能性も考えられた。

A. 研究目的

ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (HTLV-1) は、世界ではじめてヒト疾患との関連が見いだされたレトロウイルスであり、成人 T 細胞白血病 (ATL) および HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) の原因ウイルスである。ほとんどの HTLV-1 感染者が生涯にわたって未発症の無症候性キャリアー (asymptomatic healthy carrier: HC) として経過し、HAM を発症するのは感染者全体のごく一部ではあるものの、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ため、その発症を規定する因子と病態への関与を解明することは重要である。これまでに、HTLV-1 には転写調節因子 Tax の遺伝子配列に 2 つのサブタイプが存在し、サブタイプ A (TaxA) を持つ感染者はサブタイプ B (TaxB) を持つ感染者と比較して、HLA の影響とは独立して HAM 発症の Odds が約 2 倍高いことが報告されている (Furukawa Y et al. *J Infect Dis.* 182:1343-9, 2000)。昨年度の研究で、沖縄県の HAM 症例では鹿児島県の症

例と比較して Tax サブタイプ A (TaxA) 感染者が有意に多いことを明らかにした。今年度は、ウイルスサブタイプの HAM 発症における病因的意義解明のため以下の検討を行った。

B. 研究方法

HAM 患者の末梢血単核球 (PBMC) からゲノム DNA と cDNA を抽出し、末梢血単核球中のプロウイルス量 (PVL)、Tax、HBZ mRNA 発現量と HTLV-1 標的宿主因子である FoxP3 mRNA 発現量を測定した。また、Tax または HBZ の標的配列を持つプロモーターの下流にルシフェラーゼ遺伝子を連結した各種レポーターベクターとともに Tax または HBZ の発現ベクターを培養細胞に共導入し、ルシフェラーゼ活性を比較した。

C. 倫理面への配慮

本研究は、バイオハザード委員会、遺伝子組換え生物等使用実験安全委員会、臨床試験倫理委員会の承認を得て行った。本研究

に用いられたすべての患者検体は、十分な説明と書面による同意を得て採取された。採取された検体はコード化された番号を割り振り連結不可能匿名化した。

D. 研究結果

TaxA、TaxB 感染 HAM 患者 (TaxA+、TaxB+ HAM) いずれの群においても、PBMC 中の HBZ mRNA 発現量と PVL に有意な正の相関が認められた。TaxB+ HAM の感染細胞あたりの HBZ mRNA 発現量は TaxA+ HAM より有意に高かった。TaxB+ HAM では、PBMC 中の HBZ mRNA 発現量と FoxP3 mRNA 発現量との間に有意な正の相関関係が認められたが、TaxA+ HAM では認められなかった。レポーターアッセイでは、Tax および HBZ の活性に両株間で有意差は認められなかった。

E. 考察

従来、HTLV-1 ウイルス型と関連疾患 (ATL, HAM) との間に疾患特異的な対応はないとされていたが、HAM 発症に関しては、鹿児島県内の HTLV-1 感染者の解析から、HTLV-1 の転写調節因子 Tax の遺伝子配列に 2 つのサブタイプが存在し、そのうちサブタイプ A (TaxA) を持つ感染者はサブタイプ B (TaxB) を持つ感染者と比較して、HLA の影響とは独立して HAM 発症の Odds が約 2 倍高いことが報告されていた (Furukawa Y et al. *J Infect Dis.* 182:1343-9, 2000)。また、TaxA と同じ塩基置換を持つ HTLV-1 の流行地であるジャマイカでは、本邦に比較して HAM 発症率が約 6 倍高いことが知られており、特定のウイルス型と宿主の感染細胞数、さらには疾患感受性との間に一定の関連があることが考えられる。HTLV-1 Tax サブタイプが異なる感染者において、ウイルス遺伝子、細胞遺伝子の制御が異なり、HAM 発症に関与する可能性を検証するため、今回各遺伝子型に対応する

HTLV-1 の転写制御因子 (Tax および HBZ) の発現ベクターを作製し、標的遺伝子プロモーターに対する活性を比較した。予想に反して、HTLV-1 のサブタイプは Tax および HBZ の転写制御因子としての活性には影響を与えないことが明らかになった。TaxA, TaxB に特異的な塩基置換は、p12、p30、env のアミノ酸置換を伴う塩基置換とも対応しているため、これら構造遺伝子、アクセサリ遺伝子の機能変化が発症感受性に関連している可能性も考えられた。今後の検討課題である。

F. 結論

HAM 発症の Odds が約 2 倍高いことが報告されている HTLV-1 サブタイプは、Tax および HBZ の転写制御因子としての活性には影響を与えないことを明らかにした。

G. 研究成果の公表

1. 学術雑誌等での発表

齊藤峰輝

HTLV-1 関連脊髄症の病因と病態

神経感染症 17 巻 1 号 p122-131, 2012 年

2. 学会等での講演、発表

国際会議

[1] 11th International Symposium on Neurovirology. New York, USA. 2012.6.1.

Saito M, Tanaka R, Kodama A, Tanaka Y: Complete prevention of HTLV-1 infection in humanized mice by a neutralizing monoclonal antibody to envelope gp46.

国内会議

[1] 第 53 回日本神経学会学術大会 東京 2012.5.24. 齊藤峰輝、田中礼子、児玉 晃、田中勇悦: 抗 HTLV-1gp46 中和抗体による HTLV-1 関連脊髄症に対する新規治療法開発の試み

[2] 第 24 回日本神経免疫学会学術集会 軽

井沢 2012.9.20. 齊藤峰輝、田中礼子、田中
勇悦:HTLV-1 関連脊髄症発症関連ウイルス
多型とHBZ、FoxP3 遺伝子発現の解析

3. その他

患者、家族、患者会や一般市民への情報
提供

齊藤峰輝

「なぜ一部の感染者だけ病気になるのか？
－ATLの発症予防・治療法開発に向けた
基礎医学研究の現状と問題点について」
ATL シンポジウム in 沖縄 2013～あなたに
も知ってもらいたい！成人 T 細胞白血病
(ATL)研究の最前線～沖縄産業支援セン
ター 2013.2.3.

4. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含
む)

該当なし

HAM の脊髄病変における治療標的分子の病理学的検討
研究分担者 外丸 詩野 北海道大学大学院医学研究科・准教授

研究要旨：HTLV-1 関連脊髄症 (HTLV-1 associated myelopathy:HAM) は長い潜伏期の後に、HTLV-I 感染キャリアーの一部に慢性の痙性脊髄麻痺を発症する疾患で、病態には脊髄に浸潤する T 細胞による過剰な細胞傷害やサイトカインの産生等が関わっていると推定されている。本研究課題は、HAM の新規治療法を開発することを目的に研究を進めているが、新規治療法の開発には HAM 病態において重要な役割を有する疾患惹起性 T 細胞の免疫応答を制御することが課題の 1 つと考えられている。

本年は HAM の病態解明を進める目的で、患者脊髄サンプルおよび健常コントロールを用いて、ケモカイン、ケモカインレセプターの発現解析を行った。その結果、HAM 患者脊髄には CXCR3 陽性 T 細胞が浸潤していること、また HAM 患者脊髄では IP-10 発現グリア細胞が増加していることが明らかとなり、CXCR3/IP-10 を介する脊髄への炎症細胞浸潤が病態に関連している可能性が示唆された。今後は CXCR3/IP-10 をブロックするような治療法が HAM の新たな治療戦略になり得る可能性が示唆された。

A. 研究目的

HTLV-1 関連脊髄症 (HTLV-1 associated myelopathy:HAM) の新規治療法を開発することを目的に、HAM の病態に重要な役割を果たしている疾患惹起性 T 細胞の脊髄浸潤機構に関する検討を行った。

B. 研究方法

1. サンプル

HAM 患者の剖検により採取された脊髄標本 4 例、および他疾患により病理解剖され、脊髄には異常を認めない標本 6 例を正常コントロールとして用いた。

2. 抗体

Anti-CXCR3 抗体 (Abcam)、IP-10 抗体 (Santa Cruz Biotechnology)、および対応するアイソタイプコントロールを用いた。蛍光染色については二次抗体として Alexa 488-conjugated anti-rabbit を用いた。

3. 蛍光染色

脊髄のパラフィンブロックより作製した 4 μ m 切片を、脱パラの後に serum-free blocking medium (DAKO) で 15 分ブロッキ

ングし、1 次抗体を 4°C で一晩反応させた。1 次抗体の反応後、標本を PBS で 10 分 2 回洗浄したのち、二次抗体 (300 倍希釈) に 30 分反応させた。反応後標本を PBS で 10 分 2 回洗浄し、mounting medium (DAKO) で封入後、蛍光顕微鏡で観察した。

4. 免疫組織化学染色

免疫組織化学染色については、定法の DAB 染色を行い、1mm 平方当りの陽性細胞数を算出した。

(倫理面への配慮)

実験は北海道大学の倫理委員会承認に基づいて行った。

C. 研究結果

1. CXCR3 陽性細胞の脊髄浸潤

HAM 患者剖検脊髄では、脊髄軟膜部血管周囲や間質、および脊髄実質内の血管周囲に単核球浸潤を認め、浸潤細胞の多くが CXCR3 を発現する細胞であった (図①②)。また、正常コントロールには浸潤細