

201231099A

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)

HTLV-1 感染に関連する非 ATL 非 HAM 希少疾患の実態把握と病態解明

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 岡山 昭彦

平成25 (2013) 年 5月

目 次

I. 総括研究報告	
HTLV-1感染に関連する非ATL非HAM希少疾患の実態把握と病態解明	1
岡山昭彦	
II. 分担研究報告	
1. リウマチ性疾患とHTLV-I感染に関する研究	11
川上 純	
2. HTLV-1感染に関連する非ATL非HAM希少疾患の実態把握と病態解明（呼吸器疾患）	14
藤田次郎	
3. HTLV-1感染に関連する非ATL非HAM希少疾患の実態把握と病態解明（皮膚疾患）	20
瀬戸山充	
4. HTLV-1感染に関連する非ATL非HAM希少疾患の実態把握と病態解明（ぶどう膜炎）	22
望月 學	
5. 膠原病におけるHTLV-1感染の解析	26
岡山昭彦	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	31
IV. 研究成果の刊行物・別刷（抜粋）	38

I. 総括研究報告

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))
総括研究報告書

HTLV-1 感染に関連する非 ATL 非 HAM 希少疾患の実態把握と病態解明

研究代表者 岡山 昭彦 宮崎大学 教授

研究要旨：

ヒトTリンパ向性ウイルス1型 (HTLV-1) は成人T細胞白血病 (ATL) や神経変性疾患である HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) の原因であるが、ATL、HAM 以外にも HTLV-1 高浸淫地域においてぶどう膜炎、関節炎、膠原病、慢性肺疾患、慢性皮膚疾患など種々の慢性炎症疾患に本ウイルスキャリアが高頻度に見られ関連が示唆されている。本研究ではこれらの慢性炎症性疾患の HTLV-1 感染の頻度、特徴、ウイルス感染と疾患発症のメカニズムを検討し、HTLV-1 関連慢性炎症性疾患の臨床像を明らかにすることを目的とした。

平成 24 年度の結果として、

- 1) HTLV-1 陽性疾患の頻度をふくめた実態調査のため、宮崎、長崎、沖縄の各研究機関においてネットワークを構築し、血液等のサンプルの収集と研究検査を行う体制を確立した。リウマチ・膠原病患者における HTLV-1 陽性者数は約 10% であり若年者では一般集団よりも高い傾向があった。肺疾患では、沖縄で気管支鏡検査症例の 14% が HTLV-1 陽性であり、間質性肺炎型よりも気道病変型が多いことが示された。皮膚疾患での陽性率は約 12% であり男性の割合が高かった。またブドウ膜炎 390 例中 62 例 (15.9%) が HTLV-1 陽性であり、そのうち 43 例が HU と診断された。これらの結果は慢性炎症性疾患の一部に HTLV-1 感染の関与を支持する所見であると考えられた。
- 2) HTLV-1 マーカー調査の結果については、リウマチ・膠原病患者およびぶどう膜炎患者の検討より、HTLV-1 抗体スクリーニング陽性例は確認検査はすべて陽性であり偽陽性は多くないことが判明した。また粒子凝集法による抗体価の幾何平均値はリウマチ膠原病患者、ブドウ膜炎患者両者とも高い傾向を示した。さらにプロウイルス量検査においてやや高い傾向を示した。これらの結果から対象疾患群では高抗体価、高プロウイルス量の傾向であった。しかし年齢性別を一致させた対照群との比較が必要であり、またステロイド等治療の状態の確認も必要であると考えられた。
- 3) 症例対照研究：疾患活動性と ATL 発症リスク評価
生物学的製剤の投与を受けた関節リウマチ患者の症例対照研究の結果から、HTLV-1 陽性例では炎症所見が強く、TNF 阻害薬の治療反応性が良好でない傾向が認められ、臨床像が異なる可能性が示された。また関節リウマチに生物学的製剤を使用した患者について、ATL 発症リスクの代替マーカーとして用いたプロウイルス量と感染細胞クローナリティに経時的な変化は見られなかった。しかしながら生物学的製剤を使用した HTLV-1 陽性患者群の中で ATL を発症したという報告がみられた。以上の HTLV-1 陽性リウマチ患者の ATL 発症リスクについてはさらに検討が必要であると考えられた。
- 4) 各分担研究者による HTLV-1 感染と各疾患発症メカニズムについての研究：シェーグレン症候群の発症メカニズムの研究 (担当：長崎大学 川上)、HTLV-1 キャリアの肺病変の発症制御メカニズム (担当：琉球大学 藤田)、皮膚病変部感染細胞の検討 (担当：宮崎大学 瀬戸山)、HTLV-1 ぶどう膜炎の臨床、合併症、メカニズムについての検討 (担当：東京医科歯科大学 望月)、HTLV-1 欠損ウイルスの検討 (担当：宮崎大学 岡山) がそれぞれ進行した。

本研究により一部明らかとなった HTLV-1 陽性慢性炎症性疾患患者のウイルス学的特徴および臨床像の違い、ATL 発症リスクなど病態の特徴、治療の問題点については、今後もさらに検討し、治療時における HTLV-1 スクリーニングの必要性をふくめて、本感染症に関連する非 ATL 非 HAM 希少疾患の全容を明らかにする必要がある。

分担研究者

岡山昭彦	全般的解析 膠原病調査 解析	宮崎大学医学部 内科学講座・免疫 感染病態学分野、 膠原病、感染症学	教授
川上純	膠原病調査 解析	長崎大学大学院 医歯薬学総合研 究科展開医療科 学講座・内科学・ リウマチ学・臨床 免疫科学	教授
藤田次郎	呼吸器病変 調査解析	琉球大学大学院 医学研究科 感 染症・呼吸器・消 化器内科学	教授
瀬戸山充	皮膚病変調 査解析	宮崎大学医学部 感覚運動医学講 座皮膚科学分野	教授
望月學	眼病変調 査解析	東京医科歯科大 学（眼科学教室）	教授

A. 研究目的

ヒトTリンパ向性ウイルス1型（HTLV-1）はC型レトロウイルスであり、成人T細胞白血病（ATL）や神経変性疾患であるHTLV-1関連脊髄症（HAM）の原因である。HTLV-1感染者（キャリア）は2007年の調査により本邦では108万人と推定されており、全人口の1%程度となる。ATL、HAM以外にもHTLV-1高浸淫地域において関節炎、膠原病、慢性肺疾患、慢性皮膚疾患、ぶどう膜炎など種々の慢性炎症疾患（非ATL非HAM希少疾患）に本ウイルスキャリアが見られ関連が示唆されている。これらの推定患者数とHTLV-1陽性率を掛け合わせると、HTLV-1陽性慢性炎症性疾患患者数はおおよそ数万人と推測される。しかし、一部疾患を除いてHTLV-1感染に関連する非ATL非HAM希少疾患の頻度や臨床像の違い、またHTLV-1感染がどのように病態に関与しているかは明らかでない。

本研究ではHTLV-1陽性慢性炎症性疾患の頻度、特徴、ウイルス感染と疾患発症のメカニズムを明らかにし、その全体像を明らかにする。すなわちHTLV-1高浸淫地域においてこれら疾患のエクスパートによる実態調査を行い、HTLV-1陽性患者と陰性患者の病態や予後、治療反応性の違いについて

検討する。ぶどう膜炎、膠原病・関節炎、慢性肺疾患、慢性皮膚疾患等にはすでに診断や治療のガイドラインが存在するが、HTLV-1陽性のこれらの疾患患者において明らかに異なる病像が見られる場合は、独立したclinical entityとして取り扱う必要が生じ、それぞれのカテゴリーについて診断基準や治療法のガイドラインに組み込むことが必要となる。

もうひとつの重要な問題はHTLV-1陽性慢性炎症性疾患患者において、ATLやHAMの発症頻度が高いかどうか、またこれらの慢性炎症性疾患に頻繁に使用されるステロイドを含む免疫抑制治療が特にATLの発症促進につながるかどうかを明らかにすることである。岩永らの報告から何らかの疾患治療中に発見されたHTLV-1キャリアではATLの発症頻度が高いことが判明している。また移植医療などの領域でHTLV-1キャリアに免疫抑制剤を使用した場合にATLが発症した例があることが報告されている。慢性炎症性疾患を合併しているHTLV-1キャリア、またその治療としての免疫抑制剤使用によりATL発症危険度が異なる可能性があれば、B型肝炎ウイルスキャリアなどと同様に治療上の注意が必要となり、やはり治療ガイドライン等に反映させる必要がある。

本研究においてはこれらの2点、すなわちHTLV-1感染を合併している慢性炎症性疾患患者の臨床的特徴および、治療の違いをふくめてATL発症リスクが高いかどうかを明らかにする。全国規模の調査、対策が必要か否か、あるいは診療ガイドライン等に取り入れていくべきかどうかについて提言を行い、今後の厚生労働行政に資する結果を得ることを目標とする。

B. 研究方法

本申請では、各疾患におけるHTLV-1感染の関与の実態を明らかにするため、各疾患ごとにフィールドを設定して患者のリクルートを行い、実態調査、症例対照研究、HTLV-1のウイルス学的研究および疾患発症メカニズムを明らかにする研究を行った。平成23年度には患者リクルートおよび検査などの体制の構築と基礎的検討を開始し、平成24年度は患者リクルートの継続、結果の解析、まとめを行った。さらに各分担研究者によるHTLV-1感

染と各疾患発症メカニズムについての研究としてシェーグレン症候群の発症メカニズムの研究（担当：長崎大学 川上）、HTLV-1 キャリアの肺病変の発症制御メカニズム（担当：琉球大学 藤田）、皮膚病変部感染細胞の検討（担当：宮崎大学 瀬戸山）、HTLV-1 ぶどう膜炎の臨床、合併症、メカニズムについての検討（担当：東京医科歯科大学 望月）、HTLV-1 欠損ウイルスの検討（担当：宮崎大学 岡山）を行った。

■ 研究体制

- ・岡山昭彦（宮崎大学 膠原病感染症内科教授）：研究統括、膠原病・関節炎の解析
- ・川上純（長崎大学 第1内科教授）：膠原病・関節炎の解析
- ・藤田次郎（琉球大学 第1内科教授）：呼吸器疾患の解析
- ・瀬戸山充（宮崎大学 皮膚科教授）：慢性皮膚疾患の解析
- ・望月學（東京医科歯科大学 眼科教授）：ぶどう膜炎の解析

■ 研究対象

関節リウマチあるいはリウマチ様関節炎およびシェーグレン症候群他の膠原病については長崎大学附属病院、宮崎大学医学部附属病院とそれらの協力病院、慢性閉塞性肺疾患、慢性気管支炎、間質性肺疾患については琉球附属病院とその協力病院、皮膚疾患については宮崎大学附属病院とその協力病院で対象症例のリクルートを行った。HTLV-1 ぶどう膜炎患者については、望月らが1992年以来すでに診断、治療した症例を対象とした。

1. HTLV-1 陽性疾患の頻度をふくめた実態調査

各研究者の施設において、研究について説明後同意を得た対象疾患患者について HTLV-1 スクリーニングを行い、対象疾患患者のうち HTLV-1 陽性者を同定した。この結果をもとに初回献血者などの一般集団（研究協力者：東京西血液センター 佐竹正博博士）と HTLV-1 抗体陽性率の比較を行い、HTLV-1 陽性疾患の頻度について解析した。

2. HTLV-1 マーカー調査と症例対照研究

1) 各疾患を有する HTLV-1 キャリアと無症候性キャリアのウイルスマーカーの比較：各施設で

HTLV-1 抗体陽性と判明したキャリア患者について、スクリーニング偽陽性の有無、抗体価、リアルタイム PCR 法を用いた感染細胞の測定を行い、対照となる無症候性キャリアと比較することで、疾患を有するキャリアに特徴的なウイルス学的変化があるか否かについて検討した。とくに免疫抑制治療を受けている患者においては ATL 発症リスクとなる感染細胞数などの増加がないかどうかを検討した。

2) 病態に関する症例対照研究：各疾患の臨床症状や検査成績、予後、治療反応性について HTLV-1 陽性患者と陰性患者で異なるか否かについて症例対照研究を行った。疫学・統計の専門家によるサポートを受けた。（研究協力者：帝京大学 岩永正子博士）

3. 分担研究者による HTLV-1 感染と各疾患発症メカニズムについての研究

1) HTLV-1 欠損ウイルスと疾患の関連の検討（担当：宮崎大学 岡山）：HTLV-1 感染者の感染細胞に組み込まれているプロウイルスには完全型と2種類の欠損ウイルスがある。この欠損のパターンが病態と関連している可能性を考え、自己免疫が強く関与する慢性炎症性疾患を合併した HTLV-1 キャリアにおいて、欠損ウイルス測定用リアルタイム PCR 法を用いて測定を行った。

2) シェーグレン症候群および関節リウマチ患者における疾患発症メカニズムの研究（担当：長崎大学 川上）：HTLV-1 関連シェーグレン症候群、関節リウマチ患者における病態について、臨床像および自然免疫の活性化が示唆されており自己抗体やバイオマーカープロファイル、その活性化パターン等の基礎的検討をふくめて解析した。

3) HTLV-1 キャリアの肺病変の分類の確立と感染による肺炎制御メカニズム（担当：琉球大学 藤田）：HTLV-1 キャリアの肺病変を間質性肺炎型と気道病変型に分類し、気管支肺胞洗浄液を用いたサイトカインの発現パターンを検討することにより、両者の病態の差異を検討した。また肺胞 II 型上皮細胞への影響を解析するため、培養細胞に HTLV-1 ウイルスを感染させた際のサイトカイン産生について解析した。

4) 皮膚病変部における感染細胞の検討（担当：宮崎大学 瀬戸山）：疫学的検討に加え生検皮膚組織について基礎的な検討を行った。

5) HTLV-1 ぶどう膜炎の臨床像および合併症とそのメカニズムについての検討(担当:東京医科歯科大学 望月):ウイルス学的検討および臨床像に加えてATLやHAM、その他の慢性炎症性疾患の合併とそのメカニズムについて検討した。

■倫理面への配慮

本研究はヒトを対象とする観察研究であり、人権擁護についてはヘルシンキ宣言にのっとり、厚生労働省、文部科学省による「疫学研究に関する倫理指針」に従って遂行している。すなわち対象となる患者に対して説明と同意取得を行った。

C. 研究成果

1. HTLV-1 陽性疾患の頻度をふくめた実態調査:

- ①リウマチ膠原病:宮崎県および長崎県において約400名の関節リウマチをふくむ膠原病患者にHTLV-1抗体スクリーニングを行った。HTLV-1陽性率は約10%であった。宮崎における年齢別陽性者率は40歳代まででは5.4%、50歳代で6.8%、60歳代で12.8%、70歳以上では11%であり、一般集団の抗体陽性率と比較した場合50歳以上では大きな差がなかったが、40歳以下の若年者で陽性率が高い傾向を示した。
- ②慢性呼吸器疾患:琉球大学において気管支鏡検査を行われた症例のうち14%がHTLV-1陽性であった。検討されたHTLV-1陽性慢性呼吸器疾患は28例であったが、内訳は間質性肺炎型(non-specific interstitial pneumonia, NSIPパターン)11例、気道病変型(diffuse panbronchiolitis, DPBパターン)17例であり、後者が60%と多いことが示された。
- ③皮膚疾患:77名の検討では陽性率は約12%であり平均年齢が60歳前後であることから特に高いとは言えなかったが、男性の割合が高いという特徴があった。
- ④ブドウ膜炎:390例について検討し、62例(15.9%)がHTLV-1陽性、そのうち43例がHUと診断された。

2. HTLV-1 マーカー調査と症例対照研究

1) 各疾患を有するHTLV-1キャリアと無症候性キャリアのウイルスマーカーの比較:

- ①抗体スクリーニング検査:HTLV-1陽性のリウマチ・膠原病患者28例およびHU患者16例の

検討では、ウエスタンブロットによる確認検査はすべて陽性であり、自己免疫・炎症性疾患を有することで抗体スクリーニング検査が偽陽性を示すものではないことが判明した。

- ②抗体価:粒子凝集法による抗体価の幾何平均値はリウマチ膠原病患者15名においては $2^{10.9}$ 、ブドウ膜炎患者では $2^{11.4}$ と両者とも高い傾向を示した。

- ③プロウイルス量検査:100細胞あたりの平均プロウイルス(pX領域)量はリウマチ膠原病患者13名においては1.5コピーと高い傾向を示した。特にブドウ膜炎患者では3例において10コピーを超す特に高プロウイルス量の患者がみられた。

④ATL発症リスクについての検討

- ・少数例の検討であるが、関節リウマチに生物学的製剤を使用した患者2例について1年間程度検討したところ、ATL発症リスクの代替マーカーであるプロウイルス量と感染細胞クローナリティに変化は見られなかった(論文準備中)。
- ・しかしながら長崎県の実態調査において同様に関節リウマチに生物学的製剤を使用した患者群の中でATLを発症したという報告がみられた(論文準備中)。
- ・HU患者76例の長期フォローにおいても1例のATL発症がみられた。

2) 病態に関する症例対照研究:

- ①関節リウマチの治療反応性:生物学的製剤の投与を受けた関節リウマチ患者40例(HTLV-1陽性20例、対照20例)においての比較では、陽性例で炎症所見が強く、通常高い奏効率を示すTNF阻害薬によって治療された患者がHTLV-1陽性である場合、治療反応性が良好でない傾向が認められた(論文準備中)。
- ②呼吸器疾患:HTLV-1陽性慢性呼吸器疾患28例の検討では間質性肺炎型(non-specific interstitial pneumonia, NSIPパターン)11例と気道病変型(diffuse panbronchiolitis, DPBパターン)17例に分類され、気管支肺胞洗浄液の性状等の特徴がみられた。また膠原病の合併が2例、HAMの合併が2例、HUの合併が2例にみられ、HTLV-1陽性慢性呼吸器疾患ではこれら疾患についても十分な注意が必要であると思われる。

3. 分担研究者による HTLV-1 感染と各疾患発症メカニズムについての研究

1) HTLV-1 欠損ウイルスと疾患の関連の検討 (担当: 宮崎大学 岡山): 無症候性キャリアにおいては HTLV-1 ウイルス量が異なり、さまざまな割合で欠損・変異ウイルス保有感染細胞が存在していることが判明している。自己免疫が強く関与する HTLV-1 陽性患者 (関節リウマチ・膠原病) 18 例について、われわれが開発した欠損ウイルス測定用リアルタイム PCR 法を用いて測定したところ、gag 領域の欠損、変異を有するプロウイルス保有細胞の割合は中央値 60%であった。我々の以前の研究からは gag 領域の欠損、変異を有するプロウイルス保有細胞の割合は感染経路推定に役立ち、65%を超える場合は母子感染より配偶者感染を示唆することが判明しているため、リウマチ膠原病患者における HTLV-1 感染は母子感染によらない可能性がある。これは HAM においてもみられる所見であり興味深い。

2) シェーグレン症候群および関節リウマチ患者における疾患発症メカニズムの研究 (担当: 長崎大学 川上)

①シェーグレン症候群 (SS) における免疫学的検討:

・SS 小唾液腺組織における CXCL13 と FDC の発現を蛍光染色で検討したところ、HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) 合併 SS 小唾液腺や HTLV-1 キャリア SS 小唾液腺では両者発現はみられなかった。しかし、異所性濾胞 (GC) を有する HTLV-1 陰性 SS 小唾液腺では、CXCL13 および FDC 両者が共発現していた。

・SS 患者由来培養唾液腺上皮細胞 (SGEC) と HCT-5 の共培養の結果、可溶性 ICAM-1、IP-10、MIF および RANTES の発現が観察された。一方、SGEC ライセートでは Fas および Bcl-x 発現が明らかに増強した。これらの結果からは HTLV-1 が直接的あるいは液性因子を介して間接的に唾液腺上皮細胞に細胞死に関する分子に影響を与えていると考えられた。

②HTLV-1 陽性 RA:

ウイルス量による臨床像の比較、生物学的製剤の治療反応性と ATL 発症リスク、RA と undifferentiated peripheral inflammatory arthritis:UPIA における HTLV-1 抗体陽性率の比較検討を行ったが、いまだ十分な症例数がないため研究を続行中である。

3) HTLV-1 キャリアの肺病変の分類の確立と感染による肺炎制御メカニズム (担当: 琉球大学 藤田)

①HTLV-1 キャリアの肺病変の分類の確立

肺病変を有する HTLV-1 キャリアの気管支肺泡洗浄液 (BALF) のサイトカインの測定では IL-2、IFN- γ 、IL-12 など Th1 系のサイトカインおよび IL-4、IL-10 など Th2 系のサイトカイン能動の上昇がみられた。さらに、HTLV-1 の *tax* と *HBZ* の mRNA が BALF においても検出され、NSIP と DPB では異なる発現傾向があった。この結果より、HTLV-1 感染者の肺病変に関しては臨床像、BALF 中のサイトカインや HTLV-1 蛋白発現に特徴的パターンを示す可能性が考えられた。

②HTLV-1 が肺胞上皮細胞、または気道上皮細胞に与える影響

肺の炎症の制御に大きな役割を担っている II 型上皮細胞のモデルである A549 細胞、および気道上皮細胞のモデルである NCI-H292 を用いて、HTLV-1 感染細胞 MT-2 との共培養を行ったところ、いずれの細胞株においても感染が成立した。さらに HTLV-1 の感染に伴ってこれらの上皮細胞からのサイトカイン産生がどう変化するかを検討した結果、HTLV-1 が感染し、*tax* が発現した細胞では、多くのサイトカイン、ケモカインの産生が亢進した。以上の結果から、HTLV-1 が肺胞上皮細胞、および気道上皮細胞に感染しうることを、また HTLV-1 の感染によりこれらの細胞から様々なサイトカインが放出されることも明らかになった。

4) 皮膚病変部における感染細胞の検討 (担当: 宮崎大学 瀬戸山):

①臨床的検討:77 名中 HTLV-1 陽性患者は 9 人で陽性率は 11.7%であった。そのうちすでに ATLL を発症していたものが 3 人で、HTLV-1 キャリアは 6 人 (7.8%) であった。HTLV-1 陽性患者の受診の契機となった疾患の内訳は、ATLL 特異疹が 3 人、内因性皮膚症が 2 人、薬疹が 1 人、多形滲出性紅斑 (マイコプラズマ感染) が 1 人、円形脱毛症が 1 人であった。

②基礎的検討:HTLV-1 は、CD4 陽性細胞に限らずランゲルハンス細胞、ケラチノサイト、血管内皮細胞にも感染することが判明しており、上記の疾患群はいずれもこれらの細胞との関わりがみられる病態であることから、これらの感染細胞の機能失調、免疫のターゲットとなり得る

と考査検討中である。

5) HTLV-1 ぶどう膜炎の臨床像および合併症とそのメカニズムについての検討 (担当: 東京医科歯科大学 望月)

- ①臨床的検討: 宮田眼科病院ぶどう膜炎外来を受診したぶどう膜炎患者は 482 名で、390 名に HTLV-1 スクリーニングを行った。抗体陽性率は 15.9% (62/390) であった。HTLV-1 陽性患者の中で HU と診断したものは 69.3% (43/62 例、うち観察期間中の新規発症 1 例) であり、ぶどう膜炎患者全体の中での HU の割合は 8.9% であった。HU の割合は減少傾向にあるものの、全国、北九州と比較して宮崎地方ではいまだに高い割合を占めていた。
- ②ウイルス学的検討: HTLV-1 陽性患者 28 例の抗体価は 512 倍から 32768 倍まで幅広く分布し (6217 ± 7793 倍)、プロウイルス量にもばらつきが認められた ($3.72 \pm 6.10/100\text{cells}$)。抗体価の特に高い 5 例 (16384 倍以上) の臨床像を検討したところ、4 例が HU と診断された。
- ③追跡調査: 長期フォロー (最長で 24 年、最短で 6 ヶ月) のデータのえられた HTLV-1 陽性ぶどう膜炎患者の ATL および慢性炎症性疾患の合併症では、ATL 発症は 1 例のみで、HAM、甲状腺機能亢進症の合併症例では、いずれもぶどう膜炎が後に生じていた。また、シェーグレン症候群と診断されている症例は 1 例のみであるが、ドライアイ自覚症状・他覚所見のあるものも散見された。関節リウマチ、間質性肺炎と診断されている症例はそれぞれ 3 例、1 例であった。

D. 考査

リウマチ膠原病: 宮崎県及び長崎県の関節リウマチをふくむ膠原病患者数での HTLV-1 陽性率は約 10% であり、40 歳以下の若年者で陽性率が高い傾向を示した。また慢性呼吸器疾患においては琉球大学において気管支鏡検査を行われた症例のうち 14% が HTLV-1 陽性であり、間質性肺炎型よりも気道病変型が多いことが示された。皮膚疾患については陽性率は 12% であり、男性の割合が高いという特徴があった。ブドウ膜炎については約 16% が HTLV-1 陽性であった。全体としていまだ少数例の検討であり一定の結論は導きにくい、これら慢性炎症性疾患の一部に HTLV-1 感染の関与を支持する所見であることが考えられた。さらに症例

数を増加させ、一般化できる結果であるかどうか確認する予定である。

HTLV-1 マーカー調査では、リウマチ・膠原病においてウエスタンブロットによる確認検査はすべて陽性であり、自己免疫・炎症性疾患を有することで抗体スクリーニング検査が偽陽性を示すものではないことが判明した。また粒子凝集法による抗体価の幾何平均値はリウマチ膠原病患者、ブドウ膜炎患者両者とも高い傾向を示した。さらにプロウイルス量検査において高い傾向を示した。これらの結果から慢性炎症性疾患を合併している HTLV-1 キャリアでは抗体価、プロウイルス量が高いことが推察された。

ATL 発症リスクについての検討においては、少数例の検討であるが、関節リウマチに生物学的製剤を使用した患者で ATL 発症リスクの代替マーカーであるプロウイルス量と感染細胞クローナリティに変化は見られなかったが、長崎県の実態調査において同様に関節リウマチに生物学的製剤を使用した患者群の中で ATL を発症したという報告がみられた。また HU 患者の長期フォローにおいても 1 例の ATL 発症がみられた。ATL の発症については、特に抗サイトカイン製剤を中心とする生物学的製剤がリスクを増大するか否かさらに検討が必要である。全国的に HTLV-1 感染の検査が保健所などでも可能となった現在、HTLV-1 陽性の慢性炎症性疾患患者の不安が増大する可能性がある。免疫抑制剤や生物学的製剤治療が HTLV-1 陽性患者に対して陰性患者と同様に有効かつ安全であるか否かは重要な問題であり、本研究班の重点課題として取り組む必要がある。

関節リウマチの治療反応性においては、生物学的製剤の投与を受けた関節リウマチ患者 HTLV-1 陽性、対照例においての比較では、陽性例で炎症所見が強く、通常高い奏効率を示す TNF 阻害薬であるインフリキシマブ、エタネルセプトによって治療された患者が HTLV-1 陽性である場合、治療反応性が良好でない傾向が認められた。呼吸器疾患においても HTLV-1 陽性例では気道病変型がおおくみられ、気管支肺胞洗浄液の性状等に特徴がみられた。また膠原病の合併が 2 例、HAM の合併が 2 例、HU の合併が 2 例にみられ、HTLV-1 陽性慢性呼吸器疾患ではこれら疾患についても十分な注意が必要であると思われた。これらの結果より HTLV-1 陽性の慢性炎症性疾患患者の臨床像は陰性者とは異なる可能性が示された。

各分担研究者による HTLV-1 感染と各疾患発症メカニズムについての研究については、シェーグレン症候群および関節リウマチ患者における疾患発症メカニズムの研究（担当：長崎大学 川上）、HTLV-1 キャリアの肺病変の分類の確立と感染による肺炎制御メカニズム（担当：琉球大学 藤田）、皮膚病変部における感染細胞の検討（担当：宮崎大学 瀬戸山）、HTLV-1 ぶどう膜炎の臨床像および合併症とそのメカニズムについての検討（担当：東京医科歯科大学 望月）HTLV-1 欠損ウイルスと疾患の関連の検討（担当：宮崎大学 岡山）がそれぞれ進行しており、今後の発展が期待される。

E. 結論

非 ATL 非 HAM 慢性炎症性疾患患者では HTLV-1 感染の頻度が高い可能性が示され、今後年齢、性別を一致させた健常者群との比較が必要であると考えられた。また HTLV-1 陽性非 ATL 非 HAM 慢性炎症性疾患患者は陰性患者とは異なる臨床像を呈することが考えられた。さらに非 ATL 非 HAM 慢性炎症性疾患を合併している HTLV-1 キャリアではウイルスマーカーが異なる可能性が示されたことから、今後、年齢、性別を一致させた無症候性キャリア群（JSPFADよりのサンプル供与）との比較を行うことで明確にできる可能性があり、またステロイド等の治療の有無を考慮に入れた検討を行う必要がある。本研究で一部明らかとなった HTLV-1 陽性慢性炎症性疾患患者のウイルス学的特徴および臨床像の違い、ATL 発症リスクなど病態の特徴、治療の問題点について、共同研究を継続し、さらなるデータを取得、解析し、対照群との比較を行い、長期的には、生物学的製剤などの治療開始時に HTLV-1 スクリーニングが必要か否かという問いに答えうるデータを提供し、今後開発が期待される抗ウイルス治療を HTLV-1 陽性慢性炎症性疾患患者へ応用が可能かを検討したい。

F. 健康危険情報：なし

G. 研究発表

岡山昭彦

■学術雑誌等での発表

1. Umekita K, Hashiba Y, Kariya-Kaneko Y, Matsuda M, Okayama A. Arteriosclerosis of whole aorta in takayasu arteritis. J Rheumatol. 2012; 39(6): 1291.
2. Ueno S, Umeki K, Takajo I, Nagatomo Y, Kusumoto N, Umekita K, Morishita K, Okayama A. Proviral loads of human T-lymphotropic virus type 1 in asymptomatic carriers with different infection routes. Int J Cancer. 2012; 130(10): 2318-26.
3. Umekita K, Kaneko Y, Yorita K, Hashiba Y, Matuda M, Miyauchi S, Ueno S, Takajo I, Kusumoto N, Nagatomo Y, Marutsuka K, Okayama A. Arthropathy with infiltrate IgG4-positive plasma cells in synovium. Rheumatology. 2012; 51(3): 580-2.
4. 岡山昭彦. 特集/ストップ ザ 性感染症－診断・治療 HTLV-1 感染. 臨床と研究. 2012; 89(7): 907-10.
5. 岡山昭彦. HTLV-1 感染症：母子感染症予防対策とその課題. 臨床とウイルス. 2012; 40(1): 8-13.
6. Nakahata S, Saito Y, Marutsuka K, Hidaka K, Maeda K, Hatakeyama K, Shiraga T, Goto A, Takamatsu N, Asada Y, Utsunomiya A, Okayama A, Kubuki Y, Shimoda K, Ukai Y, Kurosawa G, Morishita K. Clinical significance of CADM1/TSLC1/IgSF4 expression in adult T-cell leukemia/lymphoma. Leukemia. 2012; 26(6): 1238-46.

■学会等での講演・発表

1. 梅木一美, 山本成郎, 橋倉悠輝, 上野史朗, 高城一郎, 森下和弘, 岡山昭彦. HTLV-1 キャリア末梢血単核球を移植した NOG マウスにおける HTLV-1 プロウイルス DNA のメチル化の動態. 第 5 回 HTLV-1 研究会. 2012.

2. 岡山昭彦. 本邦における HTLV-1 感染とキャリア指導の留意点. 第 36 回日本血液事業学会総会共催ランチョンセミナー. 2012.

■そのほか専門医、一般医療従事者への情報提供

1. 岡山昭彦. HTLV-1 感染と慢性炎症性疾患. 平成 24 年度長崎大学大学院セミナー. 2012.
2. 岡山昭彦. 日本国内の HTLV-1 感染の現状と今後の対策. Abbott Fair 2012 MIYAZAKI. 2012.
3. 岡山昭彦. 関節リウマチの治療と HTLV-1 感染症. 第 94 回福岡リウマチ懇話会. 教育講演. 2012.
4. 岡山昭彦. 日本国内の HTLV-1 感染の現状と今後の対策. アボットニュース. 2012.
5. 岡山昭彦. 「HTLV-1 感染に関連する非 ATL 非 HAM 希少疾患の実態把握と病態解明. (各フィールド・各疾患分野における進行状況)」平成 23 年度厚生労働科学研究費 HTLV-1 関連疾患研究領域研究班合同発表会. 2012.

■患者、家族、患者会、一般市民への情報提供

1. 岡山昭彦. HTLV-1 感染とは?. 宮崎大学医学部市民公開講座. 2012.

川上 純

■学術雑誌等での発表

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*. 2013; 23(1): 133-139.
2. Kawashiri SY, Suzuki T, Okada A, Yamasaki S, Tamai M, Nakamura H, Origuchi T, Mizokami A, Uetani M, Aoyagi K, Eguchi K, Kawakami A. Musculoskeletal ultrasonography assists the diagnostic performance of the 2010 classification criteria for rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol*. 2013; 23(1): 36-43.
3. Nakamura H, Horai Y, Suzuki T, Okada A, Ichinose K, Yamasaki S, Koji T, Kawakami A. TLR3-mediated apoptosis and activation of phosphorylated Akt in the salivary gland epithelial cells of primary Sjögren's syndrome patients. *Rheumatol Int*. 2013; 33(2): 441-50.
4. Kita J, Tamai M, Arima K, Kawashiri SY, Horai Y, Iwamoto N, Okada A, Koga T, Nakashima Y, Suzuki T, Yamasaki S, Nakamura H, Origuchi T, Ida H, Aoyagi K, Uetani M, Eguchi K, Kawakami A. Significant improvement in MRI-proven bone edema is associated with protection from structural damage in very early RA patients managed using the tight control approach. *Mod Rheumatol*. 2013; 23(2): 254-9.
5. Ohyama K, Kawakami A, Tamai M, Baba M, Kishikawa N, Kuroda N. Serum immune complex containing thrombospondin-1: a novel biomarker for early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2012; 71(11): 1916-1917.
6. Ichinose K, Origuchi T, Tashiro N, Kawashiri SY, Iwamoto N, Fujikawa K, Aramaki T, Arima K, Tamai M, Yamasaki S, Nakamura H, Moriuchi H, Kawakami A. An elderly patient with chronic active Epstein-Barr virus infection with mixed cryoglobulinemia and review of the literature. *Mod Rheumatol*. Epub 2012.
7. Koga T, Fujikawa K, Horai Y, Okada A, Kawashiri SY, Iwamoto N, Suzuki T, Nakashima Y, Tamai M, Arima K, Yamasaki S, Nakamura H, Origuchi T, Hamaguchi Y, Fujimoto M, Ishimatsu Y, Mukae H, Kuwana M, Kohno S, Eguchi K, Aoyagi K, Kawakami A. The diagnostic utility of anti-melanoma differentiation-associated gene 5 antibody testing for predicting the prognosis of Japanese patients with DM. *Rheumatology*. 2012; 51(7): 1278-84.
8. Okada A, Yamasaki S, Koga T, Kawashiri SY, Tamai M, Origuchi T, Nakamura H, Eguchi K, Kawakami A. Adipogenesis of the mesenchymal stromal cells and bone oedema

- in rheumatoid arthritis. Clin Exp Rheumatol. 2012; 30(3): 332-7.
9. Tamai M, Kawakami A, Uetani M, Fukushima A, Arima K, Fujikawa K, Iwamoto N, Aramaki T, Kamachi M, Nakamura H, Ida H, Origuchi T, Aoyagi K, Eguchi K. Magnetic resonance imaging (MRI) detection of synovitis and bone lesions of the wrists and finger joints in early-stage rheumatoid arthritis: comparison of the accuracy of plain MRI-based findings and gadolinium-diethylenetriamine pentaacetic acid-enhanced MRI-based findings. Mod Rheumatol. 2012; 22(5): 654-8.
 10. Kita J, Tamai M, Arima K, Nakashima Y, Suzuki T, Kawashiri SY, Iwamoto N, Okada A, Koga T, Yamasaki S, Nakamura H, Origuchi T, Ida H, Aoyagi K, Uetani M, Eguchi K, Kawakami A. Treatment discontinuation in patients with very early rheumatoid arthritis in sustained simplified disease activity index remission after synthetic disease-modifying anti-rheumatic drug administration. Mod Rheumatol. 2012; 22(3): 346-52.
 11. Kita J, Tamai M, Arima K, Nakashima Y, Suzuki T, Kawashiri SY, Okada A, Koga T, Yamasaki S, Nakamura H, Origuchi T, Aramaki T, Nakashima M, Fujikawa K, Tsukada T, Ida H, Aoyagi K, Uetani M, Eguchi K, Kawakami A. Delayed treatment with tumor necrosis factor inhibitors in incomplete responders to synthetic disease-modifying anti-rheumatic drugs shows an excellent effect in patients with very early rheumatoid arthritis with poor prognosis factors. Mod Rheumatol. 2012; 22(2): 195-201.
 12. Ichinose K, Origuchi T, Kawashiri SY, Iwamoto N, Fujikawa K, Aramaki T, Kamachi M, Arima K, Tamai M, Nakamura H, Ida H, Kawakami A, Eguchi K. Long-term follow-up of adalimumab monotherapy for rheumatoid arthritis in Japanese patients: a report of six cases. Rheumatol Int. 2012; 32(2): 483-7.
- 学会等での講演・発表
1. 川上 純. 早期関節炎の鑑別診断. 第 56 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2012.
 2. 川上 純, 鈴木貴久, 玉井慎美, 中村英樹, 植木幸孝, 江口勝美. LC-MS/MS による関節リウマチ患者血清のイムコンプレキソーム解析. 第 56 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2012.
 3. 寶來吉朗, 住吉玲美, 中島好一, 鈴木貴久, 岡田覚丈, 川尻真也, 一瀬邦弘, 玉井慎美, 山崎聡士, 中村英樹, 折口智樹, 川上 純. HTLV-1 関連脊髄症及び抗セントメア抗体陽性シェーグレン症候群を合併した多発性筋炎」の 1 例. 第 56 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2012.
 4. 中村英樹, 川上 純. 抗 HTLV- I 抗体および抗セントロメア抗体陽性シェーグレン症候群症例の検討—HAM と HTLV- I キャリアの比較から—. 第 11 回九州シェーグレン症候群研究会. 2012.
- 藤田次郎
- 学術雑誌等での発表
1. Awazawa R, Yamamoto Y, Mine Y, Nakamura I, Kishimoto K, Kinjo F, Hagiwara K, Fujita J, Uezato H, Takahashi K. Systemic lupus erythematosus complicated with protein-losing enteropathy: a case report and review of the published works. J Dermatol. 2012; 39(5): 454-61.
 2. 屋良さとみ, 山里代利子, 熱海恵理子, 玉寄真紀, 藤田次郎. 気道感染症 HTLV-1 関連気管支病変. 日本胸部臨床. 2012; 71: S132-S138.
 3. 平田哲生, 藤田次郎. 糞線虫過剰感染症候群内科. 2012; 109(6): 1437-1438.
- 学会等での講演・発表
1. 比嘉 太, 前城達次, 健山正男, 藤田次郎. 3. ウイルス感染症. 第 86 回日本感染症学会総会. 2012.

瀬戸山 充

■書籍・学術雑誌等での発表

1. 天野正宏. 成人T細胞白血病・リンパ腫(ATLL). 皮膚疾患 最新の治療 2013-2014. 2013; 223-224.
2. 天野正宏, 瀬戸山充. 皮膚リンパ腫と鑑別すべき疾患、偽リンパ腫を中心に. 日本皮膚科学会雑誌. 2012; 122(13): 3165-3168.
3. 天野正宏, 瀬戸山充. 2 WHO分類(第4版)の皮膚リンパ腫診断名. 皮膚科臨床アセット 13 皮膚のリンパ腫. 2012; 6-11.
4. 天野正宏, 瀬戸山充. Case 22 80歳、男性。痒みがあり浸潤を伴う環状紅斑と腫瘍。成人T細胞白血病/リンパ腫(ATLL). 日経メディクイズ 皮膚 鑑別診断の基本. 2012; 79-80.

■学会等での講演・発表

1. 瀬戸山充. 「皮膚のリンパ腫診断と治療」. 日本皮膚科学会第159回山口地方会. 2012.
2. 瀬戸山充. 皮膚科における成人T細胞白血病・リンパ腫. 第28回日本臨床皮膚科医会総会・臨床学術大会. 2012.
3. 天野正宏, 井上知宏, 瀬戸山充. シクロスポリンが発症の契機となったと思われた成人T細胞白血病/リンパ腫(ATLL)の1例. 第28回日本悪性腫瘍学会学術大会. 2012.

■患者、家族、患者会、一般市民への情報提供

1. 瀬戸山充. HTLV-1と皮膚病. 第3回宮崎大学医学部市民公開講座. 2012.

望月 學

■学術雑誌等での発表

1. Mochizuki M, Sugita S, Kamoi K. Immunological homeostasis of the eye. Prog Retin Eye Res. 2013; 33: 10-27
2. Kamoi K, Mochizuki M. HTLV-1 uveitis.

Front Microbiol. 2012; 3: 270.

3. Kamoi K, Mochizuki M. HTLV infection and the eye. Curr Opin Ophthalmol. 2012; 23(6): 557-561.
4. Ohguro N, Sonoda K, Takeuchi M, Matsu-mura M, Mochizuki M. The 2009 prospective multi-center epidemiologic survey of uveitis in Japan. Jpn J Ophthalmol. 2012; 56(5): 432-435.

Ⅱ. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
分担研究報告書

リウマチ性疾患と HTLV-I 感染に関する研究

研究分担者：川上 純 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科展開医療科学講座
リウマチ免疫病態制御学分野（第一内科） 教授

研究協力者：中村英樹 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科展開医療科学講座
リウマチ免疫病態制御学分野（第一内科） 講師

玉井慎美 長崎大学保健・医療推進センター 助教

寶來吉朗 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科展開医療科学講座
リウマチ免疫病態制御学分野（第一内科） 大学院生

研究要旨：

シェーグレン症候群（SS）と関節リウマチ（RA）における HTLV-I の関与を、In vitro および In vivo の両面から検討した。In vitro では培養唾液腺細胞と HTLV-I 細胞株との混合培養における培養唾液腺細胞の機能変化を評価した。HTLV-I 細胞株との混合培養により、培養唾液腺細胞にはアポトーシスは観察されず、抗体アレイでは、複数のケモカイン、Fas、Bcl-x の発現増強を認めた。In vivo においては未治療早期 RA の抗 HTLV-I 抗体陽性率を検討し、未治療早期 RA 100 症例で 8 症例に抗 HTLV-I 抗体を検出し得た。また、長崎大学病院第一内科および関連施設で生物学的製剤を投与された中で、HTLV-I キャリア RA 1 症例に ATL の発症を認めた。以上の結果より、HTLV-I は SS や RA の発症に関与しうること、また、HTLV-I キャリア RA に生物学的製剤を導入する場合は、ATL を含む、HTLV-I 関連疾患のモニタリングの必要性も考えられた。

A. 研究目的

リウマチ性疾患の発症に関連する環境要因の一つにウイルス感染があり、HTLV-I はその候補ウイルスの一つと考えられている。シェーグレン症候群（SS）と関節リウマチ（RA）は代表的なヒトリウマチ性疾患であり、HTLV-I の細胞生物学的な作用と疾患病態との関連が、注目される分野である。今回、SS および RA における HTLV-I の関与を、SS は HTLV-I 細胞株との混合培養で誘導される唾液腺細胞の機能変化を、また、RA は未治療早期 RA における抗 HTLV-I 抗体価の検索、および HTLV-I キャリア RA 患者に生物学的製剤を投与中に ATL の発症が確認された症例を確認し、その治療経過を報告する。

B. 研究方法

1. SS に関しては、SS 患者の口唇小唾液腺組織から唾液腺細胞を単離培養した。唾液腺細胞と HTLV-I 細胞株である HCT-5 を混合培養し、アポ

トーシスの有無および発現蛋白の変化を抗体アレイ法で確認した。

2. RA に関しては、未治療早期 RA100 症例（その後、全症例で抗リウマチ剤が導入されており、RA と臨床診断された症例）の未治療時の抗 HTLV-I 抗体価を CLEIA 法で評価した。また、長崎大学病院第一内科および関連施設で生物学的製剤を投与された RA 症例を調査し、1 症例の HTLV-I キャリア RA から、ATL が発症したことを確認し、その臨床経過を解析した。

（倫理面への配慮）

上記の研究は長崎大学病院臨床研究倫理委員会の承認および文書での研究への同意を得ている。

C. 研究結果

1. SS 唾液腺細胞と HCT-5 を混合培養し 48 時間まで観察したが、アポトーシス様の形態変化は認

めなかった。混合培養 48 時間後の免疫染色において、p19、p28、GAG の HTLV-I 関連蛋白の発現が、唾液腺細胞の核周囲で、やや亢進していた。サイトカインアレイおよびアポトーシスアレイを用いると、HCT-5 との混合培養により、唾液腺細胞の IP-10、MIF、IL-18 などのケモカイン、また、Fas、Bcl-x などのアポトーシス関連蛋白の発現増強を認めた。

2. 未治療早期 RA100 症例において、抗 HTLV-I 抗体を検討した。自己抗体 (ACPA もしくは RF 陽性) 陽性 RA 67 症例で 5 名 (7.5%)、自己抗体陰性 RA 33 症例で 3 名 (9.1%) に抗 HTLV-I 抗体陽性者を認めた。

3. トシリズマブ治療中の HTLV-I キャリア RA の 1 症例に ATL の発症を認めた。発症時のスミアと末梢血リンパ球の CD4/CD25 二重染色を図 1 に、治療経過を図 2 に示す。図 1 に示すように腫瘍細胞は ATL 細胞の特徴の CD4+CD25+ double positive であり、sIL-2R は著増していた (図 2)。本症例は図 2 に示すプロトコールで加療され、寛解を得ている。

図1:症例のスミアと末梢血リンパ球サブセット

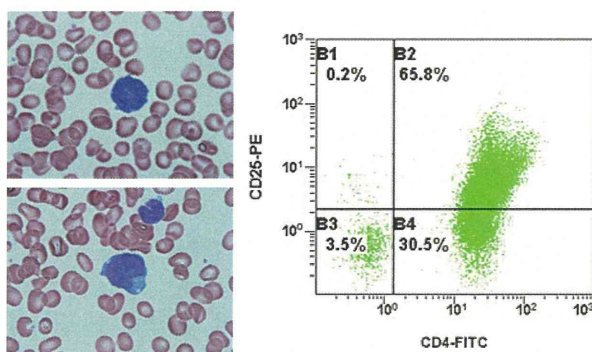
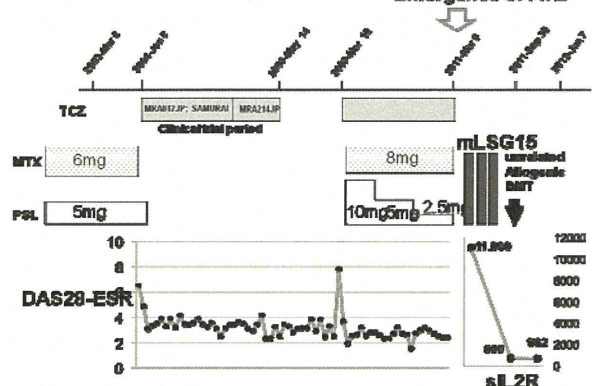


図2:症例の臨床経過



D. 考察

HTLV-I は唾液腺細胞に感染し、その機能を炎症性に修飾し、SS の発症および進展に関与することが示唆された。未治療 RA でも抗 HTLV-I 抗体が陽性の症例群があり、また、HTLV-I キャリア RA から ATL への進展を 1 症例で確認し、生物学的製剤の関連も否定はできないと考えられた。

E. 結論

SS と RA の発症・進展に HTLV-I が関与すること、また、HTLV-I キャリア RA に生物学的製剤治療を導入する場合には、HTLV-I のモニタリングが必要となる可能性が示唆された。今後は細胞生物学的には HTLV-I 感染で活性化もしくは抑制されるシグナルの詳細を検討する予定である。また、HTLV-I 抗体陽性 RA の特徴を未治療早期 RA で解析するとともに、HTLV-I キャリア RA と生物学的製剤の影響を、評価症例数を増やして、検討する予定である。

F. 健康危険情報 なし。

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. 2013; 23(1): 133-139.

2. Kawashiri SY, Suzuki T, Okada A, Yamasaki S, Tamai M, Nakamura H, Origuchi T, Mizokami A, Uetani M, Aoyagi K, Eguchi K, Kawakami A. Musculoskeletal ultrasonography assists the diagnostic performance of the 2010 classification criteria for rheumatoid arthritis. Mod Rheumatol. 2013; 23 (1): 36-43.

3. Nakamura H, Horai Y, Suzuki T, Okada A, Ichinose K, Yamasaki S, Koji T, Kawakami A.

TLR3-mediated apoptosis and activation of phosphorylated Akt in the salivary gland epithelial cells of primary Sjögren's syndrome patients. *Rheumatol Int.* 2013; 33(2): 441-450.

4. Ohyama K, Kawakami A, Tamai M, Baba M, Kishikawa N, Kuroda N. Serum immune complex containing thrombospondin-1: a novel biomarker for early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2012; 71(11): 1916-1917.

2. 学会発表

1. 川上 純. 早期関節炎の鑑別診断. 第 56 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2012.

2. 川上 純, 鈴木貴久, 玉井慎美, 中村英樹, 植木幸孝, 江口勝美. LC-MS/MS による関節リウマチ患者血清のイムコンプレキソーム解析. 第 56 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2012.

3. 寶來吉朗, 住吉玲美, 中島好一, 鈴木貴久, 岡田覚丈, 川尻真也, 一瀬邦弘, 玉井慎美, 山崎聡士, 中村英樹, 折口智樹, 川上 純. HTLV-1 関連脊髄症及び抗セントメア抗体陽性シェーグレン症候群を合併した多発性筋炎」の 1 例. 第 56 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2012.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

なし

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

HTLV-1 感染に関連する非 ATL 非 HAM 希少疾患の実態把握と病態解明（呼吸器疾患）

研究分担者 藤田次郎
琉球大学大学院医学研究科 感染症,呼吸器,消化器内科学 教授

研究要旨:

HTLV-1 キャリアにびまん性間質性肺炎（胞隔炎）が合併すること、また同様に HTLV-1 関連気管支肺症や HTLV-1 関連気管支肺胞異常症など HTLV-1 感染に関連した肺疾患の存在が報告されてきた。これまでの報告からはこれら疾患では T 細胞の炎症局所への浸潤があり、肺病変における感染細胞数や可溶性 IL2R の増加、HTLV-1 メッセンジャーRNA の発現増強等の所見などから HTLV-1 感染に関連した肺病変の存在が示唆されている。しかしその頻度や HTLV-1 陰性の肺病変と比較した臨床所見の違い等について体系的な報告はされていない。本研究では HTLV-1 陽性慢性呼吸器疾患の実態調査を行い、その頻度、HTLV-1 陽性患者では陰性患者と臨床症状や検査成績、予後、治療反応性が異なるか否かについて後方視的調査を行った。

A. 研究目的

沖縄県にきわめて多い HTLV-1 キャリアの肺病変の種類、およびその頻度を探ることにより、新たな疾患概念の構築を目指す。また HTLV-1 感染をモデルとした肺病変の臨床的特徴を明確にすることにより、既存肺疾患の病態解明に繋げる。

- ①臨床所見の検討：研究について説明後同意を得た患者について HTLV-1 抗体の有無、臨床症状や画像検査や呼吸機能検査等をあわせた検査成績、予後、治療反応性についての調査票を作成し、実態を把握する。献血者などの一般集団と HTLV-1 抗体陽性率の比較を行い、頻度を推定する。
- ②症例対照研究：肺病変に関して、臨床症状や検査成績、予後、治療反応性などの臨床所見が HTLV-1 陽性患者と陰性患者で異なるか否かについて年齢、性別等を調整して評価する症例対照研究を行う。おもに後方視的な研究として行うが、治療反応性や予後等については前方視的研究を考慮する。
- ③HTLV-1 ウイルスマーカーについての検討：患者血液を用いてリアルタイム PCR 法によるウイルス量、抗体価、可溶性 IL-2R などのウイルススマーカーの測定を行う。結果については年齢性別を一致させた無症候性 HTLV-1 キャリアの成績（JSPFAD との共同研究）と比較し、疾患合併群では異なる動態をとるかを検討する。あわせて経時的サンプルが得られた症例については治療による変化についても検討する。
- ④HTLV-1 キャリアの肺病変の分類の確立：HTLV-1

キャリアの肺病変は、大きく間質性肺炎型と気道病変型に分類することができる。この両者において、気管支肺胞洗浄液を用いたサイトカインの発現パターンを検討することにより、両者の病態の差異を明らかにする。実際の症例を以下に示す。

NSIP/パターンの症例呈示

60歳、男性

既往歴：22歳時、虫垂炎手術
50歳時、心房細動、高血圧にて内服開始
HTLV-1 Ab：8192倍
現病歴：4～5年前より乾性咳嗽が出現。胸部異常影指摘され、気管支ファイバースコープ施行。

喫煙歴：80本/日×8年(30年前に禁煙)

BALF所見：Mφ 52%、Lym 44.8%、Neut 2.1%、Eos 0.3%、CD4/8比 3.81

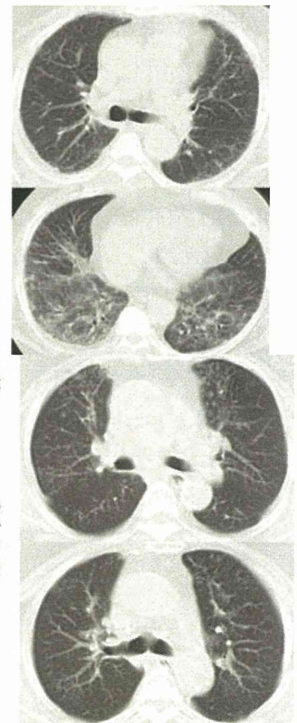
DPB-like/パターンの症例呈示

71歳、女性

既往歴：50年前に副鼻腔炎手術
HTLV-1 Ab：16倍
現病歴：30年前から時々喘鳴があり、近医に通院していた。以前から指摘されていた胸部レントゲン上の粒状影が増強してきたため精査目的に当院紹介。

喫煙歴：なし

BALF所見：Mφ 58%、Lym 8.9%、Neut 32.5%、Eos 0.5%、CD4/8比 1.17



- ⑤HTLV-1 が肺胞上皮細胞、または気道上皮細胞に与える影響：肺の炎症の制御には、肺胞の II 型上皮細胞、または気道上皮細胞が大きな役割を担っている。II 型上皮細胞のモデルである A549 細胞、および気道上皮細胞のモデルである

NCI-H292 を用いて、これらの細胞に HTLV-1 ウイルスを感染させた際のサイトカイン産生、およびサイトカイン産生に至る転写経路を解析する。HTLV-1 による肺病変の発生機序を分子レベルから探ることにより新たな治療戦略の確立につながる可能性がある。なお①から⑤の研究内容に関して、琉球大学臨床研究倫理審査迅速審査で承認を得ている（承認番号 386）。また検体の採取に際しては、患者からの同意を取得する。

11 例（29.7%）、また DPB-like パターンが 17 症例（45.9%）集積された。

対象症例の特色

Chest radiographic findings	Number (%)	M/F ratio	Age	CD/HAM/uvetitis
NSIP	11 (29.7%)	2:9	63.3 ± 12.48	2/0/1
DPB	17 (45.9%)	5:12	64.4 ± 5.35	1/2/1
Others	9 (24.4%)	3:6	59 ± 9.23	1/0/0
Total	37 (100%)	10:27	62.5 ± 10.11	4/1/2

NSIP: non-specific interstitial pneumonia; DPB: diffuse panbronchiolitis; CD: collagen disease; HAM, HTLV-1 associated myelopathy; Others: coin lesions (n=3), district consolidation (n=1), district ground-glass opacity (n=1), diffuse ground-glass opacity (n=1), organizing pneumonia (n=1), UIP (n=1), no findings (n=1) DPB pattern の CD と uvetitis は同一人物

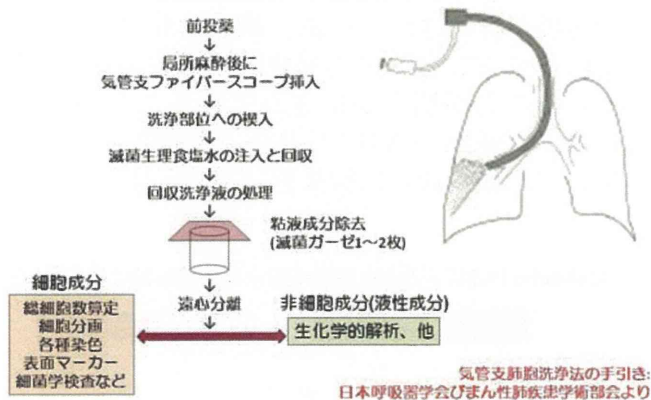
B. 研究方法

① 気管支肺胞洗浄

症例に対する解析手法としては、気管支肺胞洗浄を用いて解析する。以下のような手法を用い、細胞成分と非細胞成分の解析を実施した。

次に気管支肺胞洗浄液中の細胞分画を DPB パターンと NSIP パターンに分けて解析したところ、DPB パターンにおいて、NSIP パターンと比較して、好中球が有意に多いことが示された。結果を以下に示す。

気管支肺胞洗浄とその解析方法



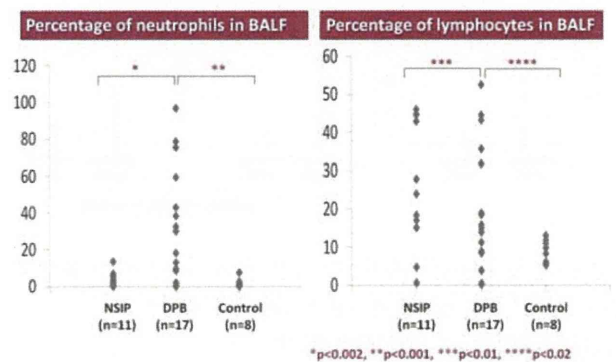
② 細胞培養

II 型上皮細胞のモデルである A549 細胞、および気道上皮細胞のモデルである NCI-H292 を用いて、これらの細胞に HTLV-1 ウイルスを感染させた際のサイトカイン産生、およびサイトカイン産生に至る転写経路を解析した。

C. 研究結果

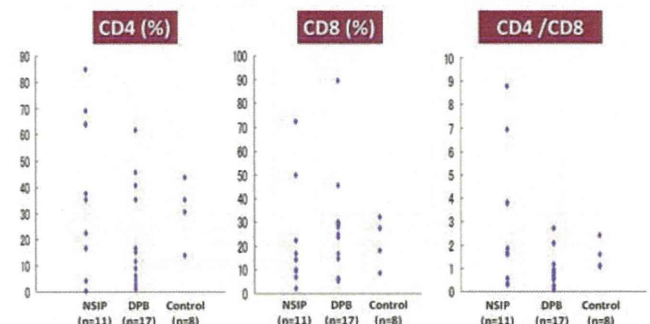
画像所見で両肺野にびまん性にすりガラス陰影と網状影を伴うものを NSIP パターン、両肺野にびまん性の小葉中心性粒状病変と気管支拡張像を伴うものを DPB-like パターンとし、どちらにもあてはまらないものを「その他」と分類した。これらの分類に際しては、4 名の呼吸器内科医にて判断した。解析した結果を表に示す。NSIP パターンが

気管支肺胞洗浄液中の細胞分画



さらに気管支肺胞洗浄液中の CD4+ (%), CD8+ (%), CD4+/CD8+比の結果を以下に示す。

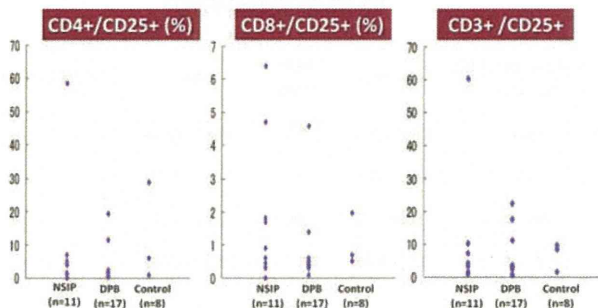
気管支肺胞洗浄液中の CD4+ (%), CD8+ (%), CD4+/CD8+比



気管支肺胞洗浄液中の CD4+/CD25+ (%),

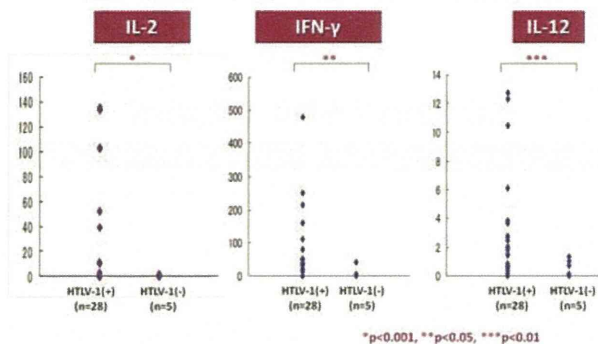
CD8+/CD25+ (%), CD3+/CD25+ (%)を以下に示す。

気管支肺胞洗浄液中のCD4+/CD25+ (%), CD8+/CD25+ (%), CD3+/CD25+ (%)



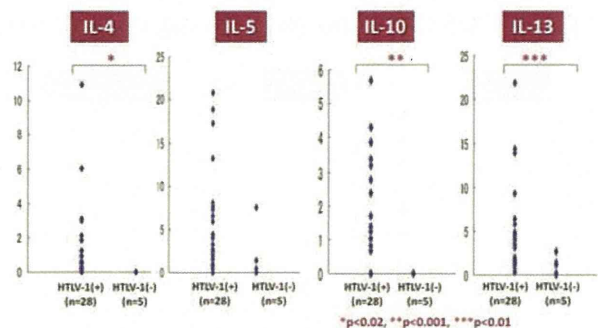
気管支肺胞洗浄液中の Th1 サイトカイン濃度の比較を HTLV-1 陽性者 28 症例と正常コントロール 5 症例と対比して以下に示す。

気管支肺胞洗浄液中のTh1サイトカイン濃度の比較 (HTLV-1陽性者28症例と正常コントロール5症例との対比)



気管支肺胞洗浄液中の Th2 サイトカイン濃度の比較を HTLV-1 陽性者 28 症例と正常コントロール 5 症例と対比して以下に示す。

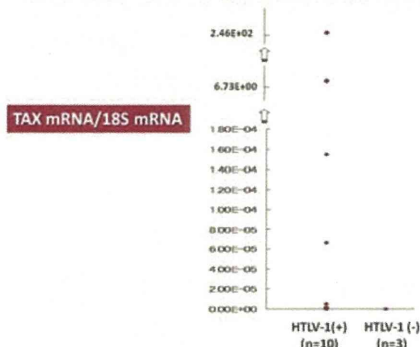
気管支肺胞洗浄液中のTh2サイトカイン濃度の比較 (HTLV-1陽性者28症例と正常コントロール5症例との対比)



HTLV-1 ウィルスの pX 領域には *tax*, *rex*, *p21*, *p30*, *HBZ* などさまざまな調節遺伝子がコードされている。その中でも *tax* は感染細胞の増殖機構や

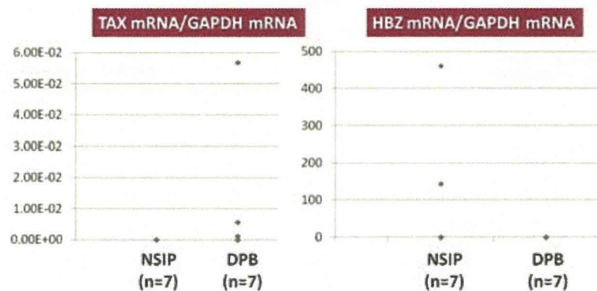
腫瘍化の重要な担い手と考えられているので、*tax* の発現について、HTLV-1 陽性の肺病変を有する者 10 例と、HTLV-1 陰性コントロールと比較した結果を以下に示す。HTLV-1 陽性者においてのみ *tax* の発現を認めた。

Real-time PCRによるTAX mRNA/18S mRNAの発現量



Tax は細胞障害性 T 細胞の認識抗原ともなっているが、多くの白血化した細胞では、*tax* 遺伝子の発現が抑制されている。新しく発見された *HBZ* 遺伝子が ATL 症例でも発現し、細胞増殖に関与していることが明らかにされていることから、*tax* と *HBZ* の mRNA を NSIP パターンと DPB-like パターンとで比較検討した結果を以下に示す。

Real-time PCRによるTAX mRNAおよびHBZ mRNAの発現量



次に基礎的検討の結果を以下に示す。HTLV-1 が肺胞上皮細胞、および気道上皮細胞に感染し *tax* を発現することを以下の図に示す。いずれの細胞株においても感染が成立した。