

HAM の歩行不安定症に対する歩行改善プログラムの有効性と今後の展望

研究分担者 氏名 : 中島孝
所属機関 : 国立病院機構新潟病院
職名 : 副院長

研究協力者 氏名 : 遠藤寿子
所属機関 : 国立病院機構新潟病院神経内科
役職 : 神経内科医師
氏名 : 池田哲彦
所属機関 : 国立病院機構新潟病院神経内科
役職 : 神経内科医長
氏名 : 猪爪陽子
所属機関 : 国立病院機構新潟病院リハビリテーション科
役職 : 理学療法士長

研究要旨：HAM の治療は脊髄の炎症の活動性のコントロールと運動症状コントロール・リハビリテーションにわけられる。いずれにしても、臨床症状の改善効果の評価するためには、HAM における歩行評価方法の確立が必要である。本研究では「HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) 患者を対象とした専用ホイスト装着歩行プログラムによる歩行改善効果に関するベースライン対照多施設共同探索試験」により、HAM 患者のホイストを用いた歩行評価方法を検討した。ホイストを用いることで歩行プログラムを安全に実施することができ、歩行プログラムにより歩行が改善するデータが得られた。十分な歩行練習後はプラトーに達するが、歩行改善効果の前半の推定要因はホイストを用いた立位と歩行に対する慣れ現象、後半は廃用症候群の改善の可能性を考えた。HAM 患者の根本的な機能回復をめざすために、歩行練習プログラムの改良を行うと同時に、抗ウイルス薬、抗体薬、抗炎症薬との combined therapy (複合療法) も検討すべきである。

A. 研究目的

現在、HAM の治療としてはステロイドやインターフェロン α などがあるが、症状の進行を完全に抑制することは難しい。そこで、治療薬の開発研究とともに、歩行訓練を含むリハビリテーションプログラムを工夫することが、車椅子生活や寝たきりになることを可能な限り回避し、ADL を維持

するために重要であると考えられる。本研究では HAM 患者に対してホイストを使用した歩行訓練の有効性を検討した。

B. 研究方法

HAM 患者に対する、歩行評価 (歩行スピード、cadence、歩行持久力) の方法の研究、安全な歩行訓練の方法の研究、test-retest

の再現性、再現性ある歩行評価のポイントの研究を行うためのプロトコール(HHH-1001試験)に基づき、HAM患者5人、に対して、文書による説明と同意を行い、データ収集を行った。

(倫理面への配慮)

臨床試験の倫理指針(厚生労働省H20年7月31日版)および、薬事法、GCP省令にしたがった。国立病院機構新潟病院平成25年第7回倫理委員会にて、当研究に関連する「HTLV-1関連脊髄症(HAM)患者を対象とした専用ホイスト装着歩行プログラムによる歩行改善効果に関するベースライン対照多施設共同探索試験(HHH-1001試験)」は承認された。

C. 研究結果

1. 臨床試験デザインと目的

臨床試験課題名を「HTLV-1関連脊髄症(HAM)患者を対象とした専用ホイスト装着歩行プログラムによる歩行改善効果に関するベースライン対照多施設共同探索試験」とした。「厚生労働省難治性疾患実用化研究事業、希少性難治性疾患-神経・筋難病疾患の進行抑制治療効果を得るための新たな医療機器、生体電位等で随意コントロールされた下肢装着型補助ロボット(HAL-HN01)に関する医師主導治験の実施研究(研究代表者、中島孝)」と歩行機能評価法は共通するので、同時に、希少性神経・筋難病疾患に対して開発された下肢装着型ロボット、HAL神経・筋難病下肢用モデル(HAL-HN01)が、HTLV-1関連脊髄症(HAM)患者の歩行障害を有意に改善するという仮説を検証する治験に向けた準備としても使える様にした。専用ホイスト装着歩行プログラムによる歩行改善効果に関するデータを収集、分析し、HAM歩行評価、リハビリに関して必要な知見を得られる様にした。

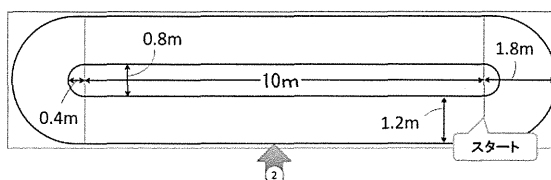
2. 有効性および安全性評価項目

有効性評価項目として、主要評価項目は2

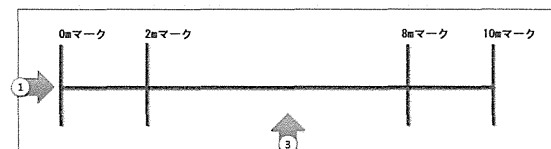
分間歩行テストであり、副次評価項目は10m歩行テスト、納の運動障害重症度(OMDS)、痙性(Modified Ashworth scale: MAS)評価、下肢クローヌス持続時間(SCATS Clonus scale)、徒手筋力テスト(MMT)、ADL評価(Barthel index)とした。安全性評価項目は、有害事象の発現状況、生理学的検査(体重、脈拍数、血圧)とした。

3. 歩行評価方法の実際

2分間歩行テスト(距離)は<http://www.rehabmeasures.org/Lists/RehabMeasures/PrintView.aspx?ID=896>に従った。このテストの目的は歩行機能としての歩行耐久性である。歩行路は1週26mの内周と外周の真中を歩く以下を推奨とした。



10m歩行テスト(スピード)は<http://www.rehabmeasures.org/Lists/RehabMeasures/PrintView.aspx?ID=901>に従った。このテストの目的は歩行機能としての最高歩行スピードの評価である。歩行路は以下で、2mから8mまでの6mの歩行時間から歩行スピードを計算した。



4. 選択基準

- 1) 本人による文書同意が可能な患者。被験者が十分な同意能力をもっているが、原疾患の進行などにより書字が困難な場合は、被験者本人が臨床試験参加に同意していることを確認の上、代諾者より文書同意を得ることとする。
- 2) 同意取得時、満18歳以上の患者。

20歳未満の未成年者の場合は、本人の記名捺印又は署名に加え、親権者又は後見人による記名捺印又は署名も必要とする。

- 3) HAMを発症してから2年以上経過している患者。
- 4) 臨床試験責任医師又は臨床試験分担医師による評価で過去3ヶ月間急性な歩行症状の変化がなく、納の運動障害重症度(OMDS)のグレードに変化がない患者。
- 5) HAMによる両下肢障害による歩行不安定症のため、杖、歩行器などを使わず、つかまらず、10mを安全に自立歩行できない患者で、軽介助があるか、つかまるか、歩行器又は移動型ホイストを使うことで、10m以上歩行が可能な患者(下肢補装具は必要時使用可)。
- 6) 臨床試験期間中は臨床試験実施スケジュールに沿った外来通院又は入院のいずれかが可能な患者。

5. 主な除外基準(一部記載省略)

- 1) 労作時呼吸困難、心不全、不整脈、心筋梗塞等によって、歩行訓練が困難と判断される患者。
- 2) 変形性脊椎症、後縦靭帯骨化症、黄色靭帯石灰化症などの脊柱管狭窄症によって脊髄圧迫病変を合併し、歩行訓練が困難と判断される患者。
- 3) 変形性股関節症、変形性膝関節症、コントロール不良の関節リウマチ、側弯症等の骨格系の変形が高度であり、歩行訓練が困難と判断される患者。

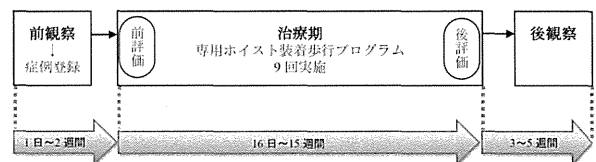
6. 歩行プログラム

歩行プログラムとは、ウォーミングアップ、歩行練習、クールダウンの時間を含めた合計40分間の歩行練習と定義する。5分程度ウォーミングアップを行い、歩行練習を開始する。

歩行練習後は、クールダウンとして、四肢・体幹のストレッチ等を行う。専用ホイストを使用し、歩行プログラムを実施する。なお、歩行練習中、被験者の状態に応じて休息をとることができるが、休息時間は合計20分を超えないようにする。なお、被験者の疲労や不具合の発生等により歩行練習の実施時間が極端に短くなった等、該当被験者に対する歩行プログラムが十分に実施できていないと臨床試験責任医師等が判断した場合、その理由を記録に残した上で該当Visitの歩行プログラムを無効とし、9回の歩行プログラムには含まないこととする。歩行プログラムは週4回までの実施を可とするが、3日間以上の連続した実施は不可とする。臨床試験責任医師等は、被験者の筋疲労や筋肉痛等、被験者状態を考慮の上、歩行プログラム実施の頻度を決定する。

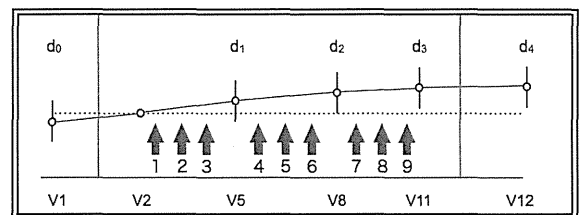
7. スケジュール

下記のように、前観察期、治療期、後観察期から構成した。

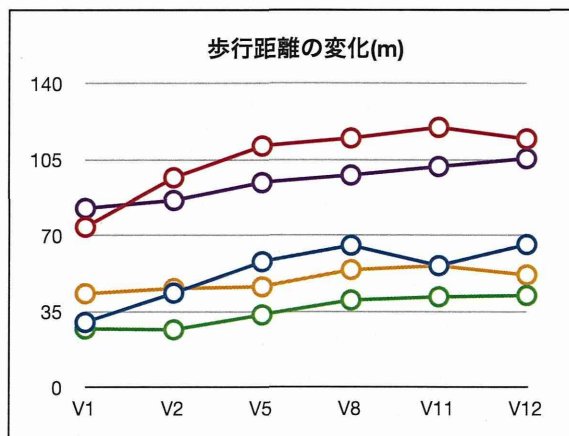


8. 5症例のデータ

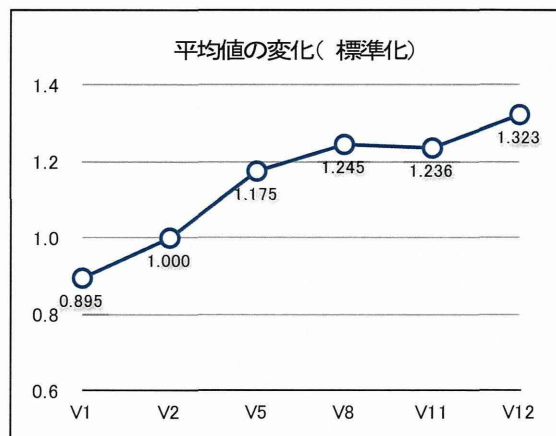
合計10症例を目標としたが、Osame grade 6、2人、Osame grade 5、1人、Osame grade 4、2人の5症例が進捗した。2分間歩行テストのデータの概念は以下に示す。



5症例の2分間歩行ホテテストの歩行距離の変化は以下の通りである。



ベースラインを Visit2 とし、標準化した場合の 5 症例の 2 分間歩行テスト歩行距離の平均値の変化は、以下の様な結果であった。



D. 考案

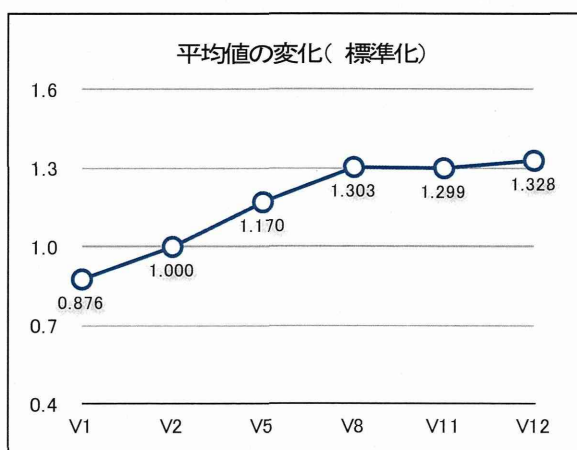
5 症例のデータから、HAM 患者のホイストを用いた歩行プログラムにより歩行が改善することが分かった。しかし、Vist8 と Visit11 に改善変化はなく、十分な歩行プログラムの回数後はプラトーに達する可能性がある。歩行改善効果の前半の推定要因はホイストを用いた立位と歩行に対する慣れ現象、後半は廃用症候群の改善の可能性はある。

HAM 患者に対して、歩行リハビリテーション、痙性のコントロール、可能なら筋力増強と廃用性筋萎縮に対する治療を行う必要があるが、HAM の歩行機能の回復プログラムに関する研究はされてこなかった。

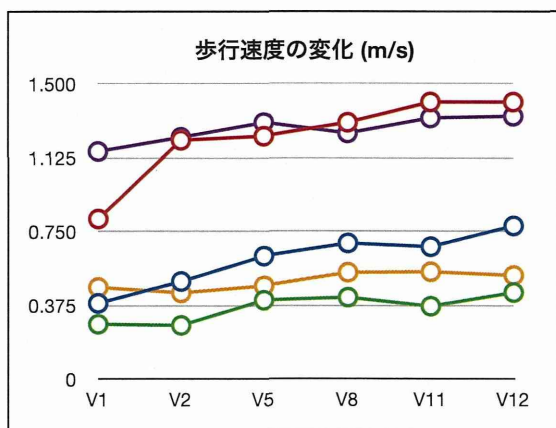
これまでの歩行リハビリテーションは平行棒内の歩行練習や歩行器による歩行練習が行われてきたが、これらは危険が伴い有効性も乏しい。ホイストを用いた歩行プログラムは安全で効果が期待できる歩行プログラムである。

また、痙性歩行に対しては何らかの歩行練習により痙性が軽減できる可能性があり、歩行パターンを想起実行できない状態に対しても歩行練習で再学習が可能と思われる。さらに廃用症候群（廃用性筋萎縮）も HAL とホイストを使った歩行練習で治療可能と考えられる。

今後は他疾患において有効性が報告されている免荷式トレッドミルや免荷式床上ト



5 症例の 10m 歩行テストの歩行速度の変化は以下の通りである。



ベースラインを Visit2 とし、標準化した場合の 5 症例の 10m 歩行テスト歩行速度の平均値の変化は、以下のような結果であった。

レーニングに加えてロボットスーツ HAL を使用する歩行プログラムの効果が HAM 患者にも期待される。

E. 結論

HAM患者においてホイストを利用した歩行プログラムで、歩行機能の改善をみとめ、薬物治療に加え、積極的に歩行訓練を含むリハビリテーションプログラムを併用することがADLの改善や維持に重要と考えた。

F. 健康危惧情報

無し

G. 研究発表

1. 論文発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

1. 中島孝, 客観から主観へ, 総合診療: vol. 25 no3 197, 2015
2. 中島孝, 難病ケアにおけるコペルニクスの転回 臨床評価を患者・家族の主観的評価に変える, 総合診療: vol. 25 no3 206-209, 2015
3. 大生定義, 中島孝, 個人の生活の質 QOL と PRO 評価とは何か?, 総合診療: vol. 25 no3 222-226, 2015
4. 遠藤寿子, 中島孝, 神経・筋難病疾患の呼吸ケアの進歩, 総合診療: vol. 25 no3 238-241, 2015
5. 中島孝, 神経難病患者の生活の質の質評価, 作業療法ジャーナル, 49(1), 14-19, 2015
6. 柳田光利, 桑村良隆, 木下悟, 中島孝, 富沢修一, 小澤哲夫, 2012/2013 シーズンにおけるインフルエンザウイルスA型流行株に認められたneuraminidase 遺伝子変異とインフルエンザウイルスPCR検査法の改良, 臨床病理, 第 62 巻第 10 号, 937-941, 2014
7. 中島孝, 難病の画期的治療法 HAL-HN01 の開発における哲学的転回, 現代思想, vol142, 第 13 号, 137-145, 2014
8. 中島孝, 脳, 脊髄, 神経・筋疾患に対する

HAL®の医療応用の基本戦略—医師主導治療の経験から, 臨床評価, Vol. 42, No. 1, 31-38, 2014

9. 中島孝, ロボットスーツ “HAL-HN01 (医療用 HAL)”, 医学のあゆみ, Vol. 249 No. 5, 491-492, 2014
 10. 中島孝, ロボットスーツ HAL による歩行改善効果の可能性, 日本医事新報, No. 4691, 50-51, 2014
 11. 中島孝, 26 ロボットスーツ HAL の医療への応用, 人間関係教育と行動科学ブック, 東京女子医科大学人間関係教育委員会編, (株)三恵社, 230-239, 2014. 4. 8
 12. 中島孝, Precursor 先駆者 ロボットスーツで挑む神経難病のエキスパート, ドクターズマガジン, No. 174 April 4, P22-25, 2014
- ### 2. 学会発表
1. HAMの新薬とロボットスーツによる治療法についての講演会、「HAM歩行障害に対する新しい治療、ロボットスーツHAL-HN01による治療準備について」(鹿児島県民交流センター 2014年4月20日)
 2. 第55回日本神経学会学術大会 ふくおかブレインフェア、「こんなときは神経内科へ行こう(装着型ロボット)」(福岡国際センター 2014年5月23日)
 3. 第55回日本神経学会学術大会 シンポジウム26 身体と機器とのインタラクティブバイオフィードバックに基づく新たなリハビリテーションへ、「ロボットスーツHALによる治療の実際と展望」(福岡国際会議場 2014年5月23日)
 4. 第4回ロボットリハビリテーション研究大会 特別講演、「ロボットスーツHALによるリハビリテーションの臨床応用～サイバニクスによる随意運動機能改善とは何か? HAL-HN01治療のめざす

- もの〜」(札幌コンベンションセンター 2014年7月26日)
5. 工学的関心に則したロボット倫理学の構築研究会、「難病における画期的治療法の開発における転回 (philosophical revolution) -ロボットスーツ医療機器モデルHAL-HN01治験とは何か」(京都大学吉田キャンパス 2014年8月9日)
 6. 第1回日本HTLV-1学会学術集会、「HAMの歩行不安定症に対する歩行改善プログラムに関する検討」演者：遠藤寿子(東京大学医科学研究所 2014年8月23日)
 7. レギュラトリーサイエンス学会第4回学術大会シンポジウム講演、「ロボットスーツHAL-HN01の医師主導治験の経験から」(一橋大学 2014年9月6日)
 8. 第12回三島・北河内地域神経難病医療ネットワーク検討会、「ロボットHALの神経難病患者への医療機器としての応用」(田辺三菱製薬(株)本社 2014年9月13日)
 9. 第1回HAM治療研究研修会 第8回全国HAM患者友の会「アトムの会」全国大会、「HAM歩行障害に対する新しい治療、ロボットスーツHAL-HN01による治験について」(ホテルグランドアーク半蔵門 2014年9月14日)
 10. 日本せきずい基金創立15周年記念 Walk Again2014 脊髄再生国際シンポジウム、「ロボットスーツHALによる随意運動障害治療」(東京国際交流館 2014年9月20日)
 11. HAMの新薬とロボットスーツによる治療法についての講演会、「ロボットスーツHAL-HN01による治験開始についてのお知らせ」(福岡市市民福祉プラザ 2014年9月23日)
 12. 柏崎薬剤師会学術講演会、「パーキンソン病の治療～最新の薬物療法とリハビリテーション～」(柏崎市文化会館 アルフオーレ 2014年9月26日)
 13. 浄福寺市民公開講座、「医師からみた生・老・病・死一病気・老化によって幸せになるということ」(浄福寺 2014年9月28日)
 14. 第1回三ツ郷屋学舎会「これからの地域連携・リハビリテーションのために～ロボットスーツHAL治験から見えてきた可能性と役割」(長岡西病院 2014年10月4日)
 15. 患者主体のQOL評価法「SEIQoL-DW」を学び、活かす実習セミナー、「主観的評価が医療を変える QOLの新しい実践」(北海道医療大学サテライトキャンパス 2014年11月2日)
 16. 第30回東海北陸理学療法学術大会、「サイバニクスによる新たな随意運動改善方法-ロボットスーツHALの臨床利用の考え方-」(静岡市民文化会館 2014年11月15日)
 17. ロボットスーツHAL第22回地区別HAL勉強会 第3回Mie LIP鈴鹿ロボット研究会、「ロボットスーツHALの医師主導治験から見えるもの」(鈴鹿医療科学大学千代崎キャンパス 2014年11月29日)
 18. 第6回三重緩和医療研究会、「治らない病を持つ患者のQOL評価と向上とは何か?～緩和ケアにおけるQOLの誤解を解くために～」(アスト津 2014年11月30日)
 19. 第18回新潟神経内科シンポジウム、「生体電位駆動装置型ロボットスーツ、医療モデルHAL-HN01による随意運動改善治療について」(ホテルダイヤモンド新潟 2014年12月13日)
 20. 第3回日本脳神経HAL研究会、「神経難病とHAL研究」(福大メディカルホール 2014年12月27日)
 21. 神経疾患懇話会、「ロボットスーツHAL

の医療応用－神経・筋疾患からパーキンソン病まで－」（長岡中央総合病院 2015年1月27日）

22. H26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、「希少性難治性疾患－神経・筋難病疾患の進行抑制治療効果を得るための新たな医療機器、生体電位等で随意コントロールされた下肢装着型補助ロボット（HAL-HN01）に関する医師主導治験の実施研究」（東京大学医科学研究所1号館 2015年2月7日）
23. 患者主体のQOL評価法「SEIQoL-DW」を学び、活かす実習セミナー、「主観的評価が医療を変える QOLの新しい実践」（帝京平成大学 2015年2月7日）
24. 重症心身障害児（者）療育研修、「治らない疾患のQOLの向上とは何か」（国立病院機構本部研修センター 2015年2月18日）
25. H26年度 神経難病医療従事研修会（群馬県）、「ALSなど神経難病ケアアプローチのポイントとQOL評価」（群馬県庁ビジターセンター 2015年2月27日）

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得
無し
2. 実用新案登録
無し
3. その他
無し

HAM の革新的な治療法となる抗 CCR 4 抗体療法の実用化に向けた開発

研究分担者 氏名 : 山海 嘉之
所属機関 : 筑波大学大学院 システム情報工学研究科
職名 : 教授

研究要旨 :

本研究は、我が国で開発された医薬品を用い、世界初のHAMの感染細胞を標的とした根本的治療となりうる医薬品の治験に関し、実用化に向けた開発推進を目的とするものである。

ヒトT細胞白血病ウイルス（HTLV-1）の感染者は全国で約108万人存在し、感染者の一部に難治性のHTLV-1関連脊髄症（HAM）あるいは成人T細胞白血病（ATL）を発症することから、その対策は厚生行政の上でも重要課題である。HAMは進行性の痙性脊髄麻痺を特徴とし、有効な治療法がなく極めて深刻な難治性疾患であり、新たな治療法の実用化が急務である。そこで本研究では、HAMに対する有効性が期待される新規医薬品の医師主導治験に関し、その実用化を推進する。

A. 研究目的

HAM において感染細胞量は長期予後と相関することが報告されており、感染細胞を標的とした薬剤開発は、根本的治療薬となることが期待されてきたが、これまで実現されなかった。そこで本研究では、HAM に対する有効性が期待される新規医薬品の医師主導治験に関し、その実用化に向けて推進する。本研究で実施する治験計画は、世界で初めてその開発を進めるものであり、そのこれまで有効な治療法が確立していない神経難病である HAM の長期予後改善に結びつく画期的な治療薬となり、HAM の治療にパラダイムシフトをもたらすことが期待される。

B. 研究方法

HAM に対する新規医薬品の実用化を推進するためには、将来の検証的試験に備え、生物統計学的解析に耐えうる HAM の有効

性評価指標に関するデータをできるだけ収集し、そのエビデンスレベルを高めていく取り組みが必須であり、その実施を PMDA から強く推奨されている。したがって、予後因子と治療成績に関する共同試験に関する HAM の有効性評価指標の開発を進めるための議論に参加する。

（倫理面への配慮）

人支援技術の研究開発の推進には、被験者に対する適切な対応が求められるため、当該研究では、厚生労働省の臨床研究に関する倫理指針や ICH-GCP 等を遵守した。

C. 研究結果

当該治験に関して、HAM の有効性指標開発のための様々な方策について検討・議論し、指標開発推進に寄与するとともに、安全な当該治験の遂行に貢献した。

D. 考案

HAM の有効性評価指標に関するデータ

をできるだけ収集し、そのエビデンスレベルを今後も高めていく必要性が示唆された。

E. 結論

本研究では、HAM に対する有効性が期待される新規医薬品の医師主導治験に関し、その実用化に向けて推進した。この研究成果は日本のみならず、感染者や患者の多い発展途上国などの地域にも恩恵をもたらし、国際的な貢献が期待される。

F. 健康危惧情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

(これまでの関連研究の成果も含む)

- 1) Aach M, Cruciger O, Sczesny-Kaiser M, Hoffken O, Meindl RCh, Tegenthoff M, Schwenkreis, Sankai Y, Schildhauer TA, Voluntary driven exoskeleton as a new tool for rehabilitation in chronic spinal cord injury: a pilot study, The Spine Journal, Vol.14, No.12, pp.2847-2853, 2014.
- 2) Koichi Murata, Akira Matsushita, Kousaku Saotome, Hiroaki Kawamoto, Yoshiyuki Sankai, Development of an MR-compatible configurable brush stimulation device, Proc. of 36th Annual International Conference of the IEEE EMBS, pp.2101-2106, Chicago, Illinois, USA, 26 Aug.- 30 Aug.,2014
- 3) 鍋島厚太, 新宮正弘, 河本浩明, 山海嘉之, 装着型歩行補助ロボットのリスク管理方法: ロボットスーツ HAL®福祉用の事例, 日本ロボット学会誌, Vol.32, No.4, pp.380-385, 2014.

- 4) Ai Kaneko, Yoshiyuki Sankai, "Long-term culture of rat hippocampal neurons at low density in serum-free medium: combination of the sandwich culture technique with the three-dimensional nanofibrous hydrogel PuraMatrix", PloS One 9(7), e102703. doi: 10.1371/journal.pone.0102703, 2014
- 5) 村田耕一, 松下明, 五月女康作, 河本浩明, 山海嘉之, "ピン刺激と擦過刺激が可能な MRI 対応感覚刺激装置の開発", 日本機械学会論文集, Vol. 80 (2014) No. 810 p. DR0028.
- 6) Modar Hassan, Hideki Kadone, Kenji Suzuki and Yoshiyuki Sankai, "Wearable Gait Measurement System with an Instrumented Cane for Exoskeleton Control", Sensors, Vol.14, pp.1705-1722, 2014.

2. 学会発表

(これまでの関連研究の成果も含む)

- 1) 山海 嘉之:" 高齢社会を支える生活介護支援ロボットの開発の現状", 第 56 回日本老年医学会学術集会, 福岡, 2014 年 6 月 13 日
- 2) 山海 嘉之:" 未来のリハビリとロボット工学との融合", 第 16 回世界作業療法士連盟大会, 横浜, 2014 年 6 月 21 日
- 3) 山海 嘉之:" 医療・介護用ロボットの近未来 ~ロボットスーツ HAL 最前線~", 第 14 回日本抗加齢医学会総会, 大阪, 2014 年 6 月 6 日
- 4) 山海 嘉之:" サイバニクスが創る医療の未来", 第 9 回敬和会合同学会, 大分, 2014 年 6 月 1 日
- 5) 山海 嘉之:" 生体電位駆動型 HAL と身体とのインタラクティブバイオフィードバックによる機能改善治療への挑

- 戦”, 第 55 回日本神経学会学術大会, 福岡, 2014 年 5 月 23 日
- 6) 中西 大輔, 末岡 裕一郎, 杉本 靖博, 大須賀 公一, 山海 嘉之: “空気圧人工筋を用いた脚ロボットの関節剛性と立位安定性条件の関係について”, 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会 (ROBOMECH2014), 2A1-Q06, 2014.05.27, 富山
- 7) 本多 宏章, 中西 大輔, 末岡 裕一郎, 杉本 靖博, 大須賀 公一, 山海 嘉之: “McKibben 型空気圧アクチュエータの動的特性に関する実験的検証”, 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会 (ROBOMECH2014), 2A2-O01, 2014.05.27, 富山
- 8) K.Iwatsuki, T. Yoshimine, Y.Sankai, F. Tajima, M. Umegaki, Y-I. Ohnishi, M. Ishihara, K.Ninomiya, T. Moriwaki, “Involuntary muscle spasm expressed as motor evoked potential after olfactory mucosa autograft in patients with chronic spinal cord injury and complete paraplegia”, ASTNR2014(American society for neural therapy and repair) 21th annual meeting 2014 April 24-26 Sheraton sand key resort Clearwater beach, Florida
- 9) ハサンモデル, 門根秀樹, 鈴木健嗣, 山海嘉之, “歩行補助杖と装着型センサを利用した歩行計測に基づく外骨格ロボット制御”, 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会予稿集, 3P2-H03, 富山, 5 月 25-28 日, 2014.
- 10) 河本浩明, 門根秀樹, 桜井尊, 有安諒平, 上野有希子, 江口清, 山海嘉之: “片麻痺を有する人のための非麻痺側の歩容を活用したロボットスーツ HAL の歩行支援と臨床応用”, 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会予稿集, 1P1-F01, 富山, 5 月 25-28 日, 2014.
- 11) 上野有希子, 江口清, 門根秀樹, 有安諒平, 久保田茂希, 入江駿, 河本浩明, 中田由夫, 松下明, 坂根正孝, 山海嘉之, “脳卒中患者 1 例に対するロボットスーツ HAL を用いた歩行プログラム前後の歩容評価”, 第 49 回日本理学療法学術大会, 横浜, 5 月 30-6 月 1 日, 2014.
- 12) 江口清, 久保田茂希, 有安諒平, 上野有希子, 中田由夫, 門根秀樹, 松下明, 五月女康作, 坂根正孝, 山海嘉之, “ 脊髄損傷患者のリハビリテーションにおける装着型ロボットの応用”, 第 51 回日本リハビリテーション医学会学術集会, 名古屋, 6 月 5 日-7 日, 2014.
- 13) Modar Hassan, Hideki Kadone, Kenji Suzuki and Yoshiyuki Sankai, "Body synergy based exoskeleton control designed for hemiplegia", Proceedings of the International Society for Gait and Posture Research (ISPGR2014), P1-N74, Vancouver, June 29-July 3, 2014.
- 14) Hideki Kadone, Yukiko Ueno, Kiyoshi Eguchi, Ryohei Ariyasu, Shigeki Kubota, Shun Irie, Hiroaki Kawamoto, Yoshio Nakata, Akira Matsushita, Masataka Sakane and Yoshiyuki Sankai, "A Case Study on Gait Improvement after Clinical Program using Robot Suit HAL in a Stroke Patient", Proceedings of the International Society for Gait and Posture Research (ISPGR2014), P2-N69, Vancouver, June 29-July 3, 2014.
- 15) Kubota S, Eguchi K, Nakata Y, Kamibayashi K, Ariyasu R, Ueno Y, Kawamoto H, Sakane M, Yamazaki M,

Sankai Y. A new rehabilitation technique using the robot suit HAL in chronic incomplete spinal cord injury. The 60th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society, New Orleans, USA, 2014.5.15-18.

- 16) Kousaku,Saotome;Matsushita,Akira; Kadone,Hideki;Sankai,Yoshiyuki;Nakai,Kei;Matsumura,Akira. A Head Fixation Method for fMRI During Bending and Stretching of Feet. SMRT 23rd Annual Meeting, 10-11 May, 2014
- 17) Matsushita,Akira;Saotome,Kousaku; Nakai,Kei;Eguchi,Kiyoshi;Sankai,Yoshiyuki;Matsumura,Akira. Functional connectivity related to

recovery in gait performance through robot-assistive rehabilitation of chronic gait. Joint Annual Meeting ISMRM-ESMRMB 7859, Milano, 10-16 May, 2014

H. 知的財産権の出願・登録状況
(これまでの関連研究の成果も含む)

1. 特許取得

該当無し。

2. 実用新案登録

該当無し。

3. その他

該当無し。

HAM 治療標的候補分子の網羅的探索と炎症誘発遺伝子 HBZ の蛋白検出系開発

研究分担者 齊藤 峰輝 川崎医科大学微生物学教室 教授

研究要旨：

HAM の新たな治療標的分子かつ新規抗体医薬の候補となりうる分子の網羅的探索を行った。HAM 患者の末梢血単核球 (PBMC) から RNA を抽出し、非感染正常 PBMC と比較して強発現もしくは発現が低下する遺伝子群をマイクロアレイで網羅的に解析した。その結果、HAM 患者の PBMC に強発現する遺伝子、発現が低下する未報告の遺伝子を多数同定した。一方、昨年度に引き続き HTLV-1 感染によるがん化、炎症形成の原因遺伝子である HBZ に対する単クローン抗体の取得を進め、新たに HBZ 蛋白質 C 末端のペプチドに対する複数のラット単クローン抗体を得た。この中から HBZ に対する結合能が高い抗体を捕獲抗体として、サンドイッチ ELISA 系の改良を行った。その結果、バックグラウンドシグナルの低下と感度の増加を認めた。今後 HAM の病態を解明するうえできわめて有用なツールとなりうる。

A. 研究目的

ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (human T-cell leukemia virus type 1 :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、感染者の一部に HTLV-1 関連脊髄症 (HTLV-1-associated myelopathy: HAM) および成人 T 細胞白血病 (Adult T-cell leukemia : ATL) を発症させる。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として経過するとはいえ、現在わが国には 100 万人を超える多数の HTLV-1 感染者が存在するため、一刻も早い HTLV-1 関連疾患の病態解明と発症予防法・新規治療法の開発が待たれている。

本研究の目的は、① HAM の治療標的分子を同定し、その分子に対する単クローン抗体を作製して新規抗体医薬の候補とすること、および ② HTLV-1 関連疾患の発症病態との密接な関連が報告されたにもかかわらず、*in vivo* における発現量が低いこと、優れた抗体がないことから臨床研究が進展していな

いウイルス因子である HBZ の鋭敏な検出・定量系を開発し、HTLV-1 関連疾患の病態解明に資することである。

昨年度は、HTLV-1 の転写活性化因子 Tax の標的遺伝子のうち OX40 に着目して、HTLV-1 感染細胞増殖や HAM 病態への関与を解析した結果、HAM 患者末梢血単核球 (PBMC) に OX40 の発現は認められないが、剖検脊髄の病変局所浸潤細胞に強発現していること、新規自家製抗 OX40 単クローン抗体の添加により HTLV-1 感染細胞を排除可能であることを報告した。また、HBZ に対する新規抗単クローン抗体を複数取得することで、HTLV-1 感染細胞中の HBZ 蛋白を検出・定量する系を確立した。

B. 研究方法

① HBZ 蛋白の鋭敏な検出・定量系の開発

昨年度に引き続き、HTLV-1 の転写活性化因子 Tax に着目して、未報告の Tax 標的遺伝子の同定を試みた。Tax が発現制御する標的遺伝子群を網羅的に解析するため、テトラサ

イクリン応答プロモーターの下流に Tax 遺伝子を組み込んだコンストラクトをヒト細胞株に遺伝子導入した。この系は、大腸菌テトラサイクリン耐性オペロンで働く Tet リプレッサー (TetR) と Tet オペレーター配列 (tetO 配列) を利用することで、TetR はテトラサイクリン非存在下で tetO 配列に結合するが、テトラサイクリンが結合すると tetO 配列に結合できなくなるという性質を利用している (Tet-On システム)。テトラサイクリン誘導体であるドキシサイクリンを投与することで、細胞において可逆的に Tax を細胞内に発現誘導させ、その前後で変動する遺伝子群をマイクロアレイ (SurePrint G3 Human Gene Expression Microarray 8×60K Ver. 2.0 チップ Agilent Technologies®を使用) で網羅的に解析した。

一方、HAM 患者の PBMC から RNA を抽出し、非感染正常 PBMC と比較して強発現もしくは発現が低下する遺伝子群を同様にマイクロアレイで網羅的に解析し、Tet-On システムの結果と比較した。

② HBZ 蛋白の鋭敏な検出・定量系の開発

HBZ 蛋白質 C 末ペプチド (KEDLMGEVNY WQGRLEAMW) を WKAH ラットに 3 回免疫した後、脾細胞とミエローマ細胞 (SP2/0) をポリエチレングリコールで融合した。HAT 選択後にハイブリドーマの培養上清を用いてスクリーニングを行った。陽性コロニーは限界希釈法によりクローニングした。陽性ハイブリドーマ細胞をマウス腹腔に接種して腹水化させ、ゲル濾過法で IgG を精製した。その結果、新たに 2 つの単クローン抗体を取得した。これらの抗体のうち感度が高い抗体を捕獲抗体として用いることで、昨年度報告した HBZ 蛋白質を検出・定量するサンドイッチ ELISA 系の改良を試みた。

(倫理面への配慮)

本研究は、検体を提供して頂く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取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、無駄な苦痛を与えず、与えざるを得ない苦痛であっても最低限とし、必要最低限の匹数で実験を行うべく実験計画を作成し、動物実験委員会の承認を得た上で行った。

C. 研究結果

① HAM 治療標的候補分子の網羅的探索

マイクロアレイ解析により、Tax により発現誘導・抑制される、未報告かつ多数の標的遺伝子を同定した。そのうち、感染制御・炎症・免疫応答に関わる遺伝子群、すなわち、(1) ウイルス感染の初期段階に関与する遺伝子群、特に Toll 様受容体 (TLR) 及びインターフェロン調節因子 (IRF)、(2) 炎症性サイトカイン・ケモカイン遺伝子群、(3) 免疫応答に関与する遺伝子群についてさらなる解析を進めている。

一方、HAM 患者 PBMC に特異的に発現する分子マーカを探索するため、HAM 患者 PBMC および非感染健康成人 PBMC (対照) から RNA を抽出し、HAM 患者 PBMC で強発現もしくは発現が低下する遺伝子群をマイクロアレイで網羅的に解析した。その結果、HAM 患者の PBMC に強発現する遺伝子、発現が低下する遺伝子を多数同定した。これらの遺伝子群の中には、従来 HAM 患者 PBMC における強発現、発現低下が報告されている既知の遺伝子のみならず、未報告の遺伝子も多数含まれており、将来の抗体医薬の候補分子となりうる「治療標的分子」が含まれる可能性が高いと考えられる。今後、臨床検体を用いて FACS 解析を行い、実際に HAM 患者 PBMC 表面に蛋白レベルで強発現または発現低下していることを確認する予定である (特許の関係でデータは示さない)。

② HBZ 蛋白の鋭敏な検出・定量系の開発

昨年度に引き続き、HTLV-1 感染によるがん

化、炎症形成の原因遺伝子である HBZ に対する単クローン抗体の取得を進め、新たに HBZ 蛋白質 C 末端のペプチドに対する 2 つのラット単クローン抗体を得た。これらの抗体のうち HBZ に対する結合能が高い抗体を捕獲抗体として HBZ 蛋白質を定量するサンドイッチ ELISA 系を構築した。昨年までのサンドイッチ ELISA 系と比較して、バックグラウンドシグナルの低下と感度の増加を認めた。実際の患者検体を用いて検討したところ、ATL 患者 PBMC 中の HBZ 蛋白質の定量に世界で初めて成功した (図 1)。一方、HAM 患者 PBMC 中の HBZ 蛋白質は測定系の感度以下で検出できなかった。さらなる改良が必要である。

D. 考案

HTLV-1 Tax はウイルス遺伝子にコードされた強力な転写因子であり、LTR を活性化してウイルス遺伝子の発現を誘導するとともに、炎症形成に関与するサイトカイン、ケモカインを含む様々な宿主遺伝子の発現を誘導あるいは抑制し、宿主 T 細胞の増殖を強力に促進する。HAM 患者においても、HTLV-1 感染 CD4 陽性 T 細胞と Tax 特異的細胞傷害性 T 細胞 (CTL) が末梢血中より高い割合で脊髄内に存在し、炎症に関与する可能性が指摘されている。Tax により誘導される細胞性因子は、HTLV-1 感染細胞表面に誘導される可能性が高いことから、それらを標的に単クローン抗体を作製することで、HTLV-1 感染細胞を排除する新規抗体医薬としての応用が期待できる。本研究により、Tax により発現誘導・抑制される多数の標的遺伝子を同定することができた。今後、これらの新規 Tax 標的遺伝子群について、もとの Tax 遺伝子安定導入株、HTLV-1 感染 T 細胞株、HAM 患者 PBMC における動態を比較解析し、病態との関連を明らかにすることで、新規治療標的分子あるいは新規バイオマーカーとしての可能性を追求したい。

一方、HTLV-1 のマイナス鎖にコードされる HBZ は、HTLV-1 感染症における発がん (ATL)・慢性炎症形成 (HAM) 双方の原因遺伝子であり、これも治療法・発症予防法開発の有効な標的と考えられる。本研究により、HBZ 蛋白質を定量するサンドイッチ ELISA 系を作製し、世界で初めて ATL 患者 PBMC 中の HBZ 蛋白質の定量に成功した。今後、HAM の臨床病態と HBZ mRNA、蛋白質発現動態との関連を詳細に解析することで、HBZ 蛋白質の発現量が病態を反映するバイオマーカーとなりうるかどうか検証したい。

これらの研究を継続することで、HAM の新規診断法や治療薬開発につながるシーズの同定と臨床応用に向けた研究基盤の確立が可能になるものとする。

E. 結論

マイクロアレイ解析により、HAM の新規治療標的分子あるいはバイオマーカー候補となりうる多数の Tax 標的遺伝子群を同定した。また、HBZ 蛋白質を定量するサンドイッチ ELISA 系の作製に成功した。これらは、HAM の病態を反映する新規バイオマーカー、抗体医薬等の開発に資するシーズとなる可能性がある。

F. 健康危惧情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Saito M. Neuroimmunological aspects of human T cell leukemia virus type 1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Neurovirol.* 20(2):164-174, 2014.
- 2) Tanaka Y, Takahashi Y, Tanaka R, Kodama A, Fujii H, Hasegawa A, Kannagi M, Ansari AA, Saito M. Elimination

of human T cell leukemia virus type-1-infected cells by neutralizing and antibody-dependent cellular cytotoxicity-inducing antibodies against human T cell leukemia virus type-1 envelope gp46. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 30(6):542-552, 2014.

- 3) Saito M. Pathogenic conversion of Foxp3+ T cells into Th17 cells: is this also the case for multiple sclerosis? *Clin Exp Neuroimmunol*. 5(2):112-113, 2014.
- 4) Saito M., Tanaka R, Fujii H, Kodama A, Takahashi Y, Matsuzaki T, Takashima H, Tanaka Y. The neutralizing function of the anti-HTLV-1 antibody is essential in preventing in vivo transmission of HTLV-1 to human T cells in NOD-SCID/ γ cnull (NOG) mice. *Retrovirology*. 11(1):74, 2014.

2. 学会発表

- 1) 齊藤峰輝、塩浜康雄、後川 潤 : HTLV-1 遺伝子およびサイトカイン発現抑制効果を指標とした HAM 治療薬・抗体医薬の

検討. 第 55 回 日本神経学会学術大会, 2014 年 5 月 23 日, 福岡

- 2) 齊藤峰輝、安間恵子、松崎敏男、高嶋 博、松岡雅雄 : HAM 発症関連ウイルス多型が宿主・ウイルス遺伝子発現および臨床経過に及ぼす影響の解析. 第 1 回 日本 HTLV-1 学会学術集会, 2014 年 8 月 23 日, 東京
- 3) 齊藤峰輝、塩浜康雄、後川 潤、田中勇悦 : ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (HTLV-1) 感染予防法と新規 HAM 治療薬の検討. 第 26 回神経免疫・第 19 回神経感染症合同学術集会, 2014 年 9 月 6 日, 金沢

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得
ヒト T 細胞白血病ウイルス HBZ 蛋白質の検出方法 (出願中)
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

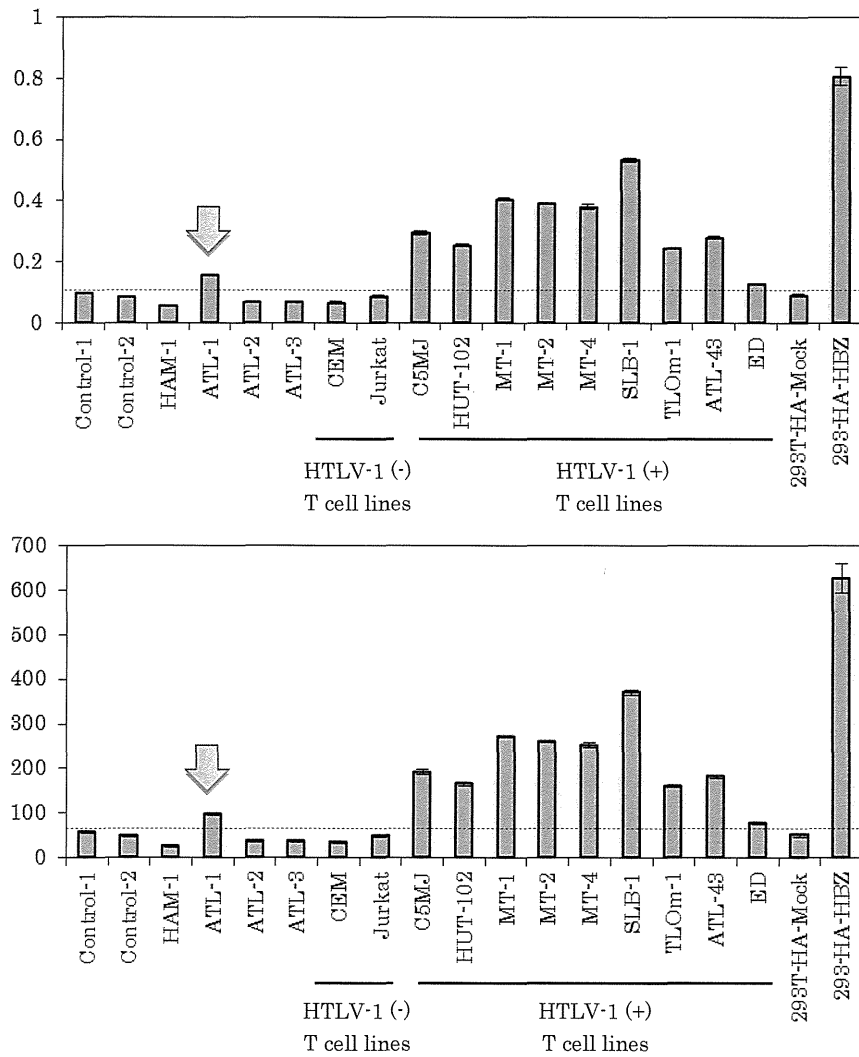


図1 新規サンドイッチ ELISA 系による HTLV-1 感染細胞中の HBZ 蛋白質の定量検討した ATL 患者検体 3 検体中 1 検体において HBZ 蛋白質が検出・定量された(矢印)。

HAM 患者における疾患惹起性 T 細胞の分布

研究分担者 氏名 : 外丸 詩野

所属機関 : 北海道大学大学院医学研究科 分子病理学分野

職名 : 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 の革新的な治療法となる抗 CCR4 抗体療法の実用化に向けた研究を推進しているが、効果的な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ターゲット細胞の検討が重要である。

本研究では HAM 患者で脊髄の炎症に関与している CXCR3、CD4 陽性 T 細胞のリンパ組織における分布を検討した。その結果、HAM 患者では脾臓に多数の CXCR3、CD4 陽性 T 細胞の分布を認めることがあきらかとなり、脾臓が炎症惹起性 T 細胞の pooling や増殖に関与している可能性が考えられた。

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 細胞に関する病理組織学的な検討を行った。

B. 研究方法

1. サンプル

HAM 患者の剖検により採取された脾臓標本 2 例、および他疾患により病理解剖され、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)、Anti-CD3 抗体 (DAKO)、Anti-CD4 抗体 (DAKO)、および対応するアイソタイプコントロールを用いた。二次抗体は mouse IgG (Invitrogen) を用いた。

3. 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 染色を用いた。

(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

HAM 患者では、健常コントロールに比して、脾臓内に分布する CXCR3 陽性 CD4 陽性 T 細胞が多数認められ、脾臓が CXCR3 陽性 T 細胞の pooling や増殖に関与している可能性が考えられた。

D. 考察

HAM の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。

これまでの検討では、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考えられた。本研究により、脾臓が CXCR3 陽性 T 細胞の pooling や増殖に関与している可能性が考えられ、今後は抗 CCR4 抗体療法の効果を判定する上で、体内に pool される炎症惹起性 T 細胞の動態をモニタリングすることも重要であると考えられた。

E. 結論

CXCR3 陽性 T 細胞の pooling や増殖には脾臓が重要な役割を果たしている可能性が考えられた。

F. 健康危惧情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Imamoto T, Nakazawa D, Shida H, Suzuki A, Otsuka N, Tomaru U, Ishizu A. Possible linkage between microscopic polyangiitis and thrombosis via neutrophil extracellular traps. *Clin Exp Rheumatol*. 32(1):149-150, 2014
- 2) Matsui Y, Tomaru U, Miyoshi A, Ito T, Fukaya S, Miyoshi H, Atsumi T, Ishizu A. Overexpression of TNF- α converting enzyme promotes adipose tissue inflammation and fibrosis induced by high fat diet. *Exp Mol Pathol*. 2014, 97(3):354-8.
- 3) Ando R, Noda K, Tomaru U, Kamoshita M, Ozawa Y, Notomi S, Hisatomi T, Noda M, Kanda A, Ishibashi T, Kasahara M, Ishida S. Decreased proteasomal activity causes photoreceptor degeneration in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014 3;55(7):4682-90.
- 4) Araya N, Sato T, Ando H, Tomaru U, Yoshida M, Coler-Reilly A, Yagishita N, Yamauchi J, Hasegawa A, Kannagi M,

Hasegawa Y, Takahashi K, Kunitomo Y, Tanaka Y, Nakajima T, Nishioka K, Utsunomiya A, Jacobson S, Yamano Y. HTLV-1 induces a Th1-like state in CD4+CCR4+ T cells. *J Clin Invest*. 2014 124(8):3431-42.

- 5) Iinuma C, Waki M, Kawakami A, Yamaguchi M, Tomaru U, Sasaki N, Masuda S, Matsui Y, Iwasaki S, Baba T, Kasahara M, Yoshiki T, Paletta D, Herrmann T, Ishizu A. Establishment of a vascular endothelial cell-reactive type II NKT cell clone from a rat model of autoimmune vasculitis. *Int Immunol*. 2014, 27(2):105-14.
- 6) Tomaru U, Tsuji T, Kiuchi S, Ishizu A, Suzuki A, Otsuka N, Ito T, Ikeda H, Fukasawa Y, Kasahara M. Decreased expression of a thymus-specific proteasome subunit b5t in Down syndrome patients. *Histopathology*. 2015, in press.
- 7) Tsuchisaka A, Kaneko S, Imaoka K, Ota M, Kishimoto K, Tomaru U, Kasahara M, Ohata C, Furumura M, Takamori S, Morita E, Hashimoto T. Presence of autoimmune regulator and absence of desmoglein 1 in thymoma associated with a pemphigus foliaceus patient. *Br J Dermatology* 2015, in press.
- 8) Honma R, Kinoshita I, Miyoshi E, Tomaru U, Matsuno Y, Shimizu Y, Takeuchi S, Kobayashi Y, Kaga K, Taniguchi N, Dosaka-Akita H. Expression of Fucosyltransferase 8 Is Associated with an Unfavorable Clinical Outcome in Non-Small Cell Lung Cancers. *Oncology*. 2015, in press.

2. 学会等での講演、発表

国内会議

- 1) 木内静香、外丸詩野、紺野沙織、石津明洋、宮島祥太、平川彩香、

- 笠原正典：胸腺におけるプロテアソームキモトリプシン様活性サブユニットの発現と T 細胞選択 第 103 回日本病理学会総会、2014
- 2) 伊藤智樹、外丸詩野、大村優、石津明洋、笠原正典：プロテアソーム機能異常と脳機能の低下 第 103 回日本病理学会総会 広島国際会議場・ANA クラウンプラザ（広島）、2014
- 3) 竹中淳規、大塚紀幸、藤田裕美、中馬誠、外丸詩野、石津明洋、笠原正典：高齢男性でみられた EBV 陽性肝脾 γ δ T 細胞リンパ腫の一例 第 103 回日本病理学会総会 広島国際会議場・ANA クラウンプラザ（広島）、2014
- 4) 三次有奈、山田真衣、舘山ゆう、楠由宏、志田玄貴、中沢大悟、外丸詩野、三好秀明、渥美達也、石津明洋：高血糖による好中球細胞トラップ (neutrophil extracellular traps : NETs) の形成亢進 第 47 回北海道病理談話会（病理分科会）、2014
- 5) 志田玄貴、中沢大悟、舘山ゆう、山田真衣、楠由宏、三次有奈、外丸詩野、渥美達也、石津明洋：抗ラクトフェリン抗体の病原性 第 47 回北海道病理談話会（病理分科会）、2014
- 6) 伊藤智樹、外丸詩野、大村優、戸松留花、石津明洋、笠原正典：プロテアソーム機能低下モデルマウスにおける脳機能障害の解析 第 47 回北海道病理談話会（病理分科会）、2014
- 7) Shizuka Kiuchi, Utano Tomaru, Saori Konno, Shota Miyajima, Akihiro Ishizu, Masanori Kasahara : Aberrant expression of proteasomal β 5 subunit affects T cell repertoires in the thymus. 第 43 回日本免疫学会総会・学術集会、2014
- H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)
該当なし

HTLV-1 感染性末梢血 T 細胞に対する膜プロテオーム解析を用いた HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) 新規治療標的分子の探索

研究分担者 氏名 : 植田 幸嗣
所属機関 : 東京大学大学院 新領域創成科学研究科
職名 : 特任准教授

研究協力者 氏名 : 石原 誠人
所属機関 : 東京大学大学院 新領域創成科学研究科
役職 : 客員共同研究員

研究要旨 : HAM は HTLV-1 感染によって引き起こされる炎症性疾患であり、感染者の 0.5% が HAM を発症する。HAM に対する根治療法は存在せず、新規治療法の開発は急務となっている。我々は HAM を含めた HTLV-1 関連疾患に対する新規治療標的分子の探索を目的として、前年度までに HTLV-1 感染細胞が濃縮されている末梢血 CD4 陽性 T 細胞に対する膜表面プロテオーム解析を実施した。今年度は HTLV-1 感染細胞を用いた 2D-LC/MS/MS 解析を行い前年度までに抽出した治療標的候補分子の同定を行った。その結果、HAM 患者の CD4 陽性 T 細胞で発現が上昇している Adhesion molecule A を新規治療標的分子として同定した。これらの発見は HAM に対する新規治療法開発に応用されることが期待される。

A. 研究目的

現在までに HAM の根治療法は存在せず、治療は IFN α やプレドニゾロンによる対処療法に限定されている。しかし、治療中断後に HAM が再燃、病態が進行する事が多く、新規治療法の開発が必須である。HAM は HTLV-1 の末梢血 CD4 陽性 T 細胞への感染から誘発される疾患であり、末梢血中の感染細胞数は病態と密接に相関することからも感染細胞が HAM 発症・進行の原因である可能性が極めて高い。この事から HAM 患者における感染細胞を標的にした治療法の開発は HAM 治療において極めて有効であると予測される。本研究課題では前年度までに末梢血検体を用いた膜プロテオーム解析を終了し、HAM 患者にお

ける HTLV-1 感染細胞特異的に高発現している 1,307 ペプチドを標的治療候補分子として抽出した。今年度は前年度までに未同定であった候補分子を同定し、新規分子標的治療薬の開発を目して研究を行う。

B. 研究方法

HTLV-1 感染細胞である ATL 細胞株よりトリプシン消化の上、回収した糖ペプチド精製物に対する 2D-LC/MS/MS 解析を以下に記述するように行った。3種類の ATL 細胞株 (S04, KK1, KOB) は解凍後、8M 尿素を用いて変性処理を行い、還元アルキル化処理の後にトリプシン消化を行った。消化物は Oasis HLB 96-well μ Elution Plate (Waters) を用いた