

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業）
分担研究報告書

HAM 患者髄液中抗 HTLV-1 抗体価の PA 法、CLIA 法、CLEIA 法による測定法
における判定基準の検討

研究分担者 出雲 周二 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 教授

研究協力者 児玉 大介、久保田 龍二 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科

近年第一世代の PA 法による抗 HTLV-1 抗体価測定法に代わり、第三世代の測定法が普及している。HAM 診断基準は PA 法を前提としており、臨床診断への影響の検討を行った。血清、髄液検体で CLIA 法、CLEIA 法とも PA 法と非常に良い相関があり、抗体価は対数化すると読み替え可能と考えられた。髄液については CLIA 法を前提にすると診断基準はそのまま使用可能である。しかし髄液検体では CLEIA 法では偽陰性がみられることがあり血清とは別の Cut-off index の設定が必要かもしれない。

A. 研究目的

血清検体中の抗 HTLV-1 抗体陽性/陰性の判定は、従来用いられてきた PA 法のキット（セロディア、富士レビオ）ではなく、第三世代の CLIA 法（アーキテクト、アボットジャパン）、CLEIA 法（ルミパルス・フォルテ、ルミパルス・プレスト、いずれも富士レビオ）など自動化検査機器対応の検出法と検査試薬が近年使用されるようになってきた。

HAM の診断基準の抗 HTLV-1 抗体価は PA 法によると記載されているが、検査法の変化に対し、診断基準の一貫性の検討および血清・髄液中抗体価のデータを検査法によらず比較できるよう互換性を保ち変換可能とするためには検査法相互の相関性の検討が必要である。

また診断基準では、血清・髄液中とも抗 HTLV-1 抗体が陽性となっているが、髄液中の抗 HTLV-1 抗体価のみで HAM の診断がつけられるのか、つまりキャリアと鑑別可能な Cut Off 値があるのかどうか決まっていない。本研究では HAM 患者診断基準に寄与する補助検査としての髄液中の抗体価の判定基準

（Cut Off Index あるいは value）の有無についても検討する。

B. 研究方法

対象：2004～2014 年に鹿児島大学病院神経内科に同一日に凍結保存された血清・髄液で WHO 診断基準で診断された HAM58 例、キャリア 11 例、陰性対照 17 例。

抗 HTLV-1 抗体価測定方法：以下の 3 つの方法でそれぞれ血清、髄液検体の抗 HTLV-1 抗体価を測定し比較する。

- 1) PA 法：セロディア HTLV-1（富士レビオ）
- 2) CLIA 法：アーキテクト・HTLV-1（アボット・ジャパン）
- 3) CLEIA 法：ルミパルス f HTLV-1（富士レビオ）

HTLV-1 の確定診断：PBMC 由来 genomic DNA を用いた TaqMan 法¹⁾（プロウイルス量測定）または nested PCR 法²⁾

統計処理：

HAM の血清、髄液でそれぞれ PA 法と CLIA 法、PA 法と CLEIA 法間で単回帰分析を行った。

(倫理面への配慮)

臨床検体採取はインフォームドコンセント下に行い、検体は匿名化非連結下で検討した。本研究での検体、遺伝子の検討は鹿児島大学倫理委員会承認下に行われた。

C. 研究結果

(1) PA 法抗体価 (対数化) から CLIA 法抗体価 (COI) は予測可能である

HAM 患者髄液、血清を PA 法、CLIA 法の 2 法で抗体価を測定し、PA 法での抗 HTLV-1 抗体価を 2 を底に対数化し、CLIA 法での抗体価 (Cut-off index) をそのまま使用し、単回帰解析すると、髄液、血清とも良好な回帰直線が得られた。髄液の方が P 値、決定係数 R² ともより良好だった (図 1)。

(2) PA 法抗体価 (対数化) から CLIA 法抗体価 (COI 常用対数化) はさらにより予測がえられる

CLIA 法での Cut-off Index も常用対数化すると、HAM 髄液、血清ともさらに良好な回帰が得られた (図 2)。この回帰式を用いて十分信頼できる換算が可能と考えられる。

同様に CLEIA 法でも抗体価の常用対数を取り、PA 法での抗体価の 2 を底とした対数とで単回帰分析を行うと、髄液、血清とも良好な回帰直線が得られ、また同様に髄液の方が P 値、決定係数 R² ともより良好だった (図 3)。

(3) HAM とキャリアの比較では血清 (PA 法) で HAM で多く、区別する適当なカットオフ値はなかった

HAM、キャリアでの抗体価の比較を PA 法と CLIA 法についてのみを示す (図 3)。い

れも同様に対数化しても HAM、キャリアを分離できるような Cut off value あるいは index は新しい検査法でもなかった。

(4) CLIA 法は血清、髄液とも PA 法、PCR 法と結果の乖離はなかったが、CLEIA 法では髄液検体で偽陰性のことがある

血清検体では HAM、キャリア含む 69 例中で PA、CLIA、CLEIA 法の陽性/陰性、PCR 法による確定診断の乖離はなかった。

髄液検体では、PA 法、CLIA 法では乖離なし。CLEIA 法では HAM 57 例中 11 例で「陰性」の判定、キャリアでは 11 例中 6 例で他 3 法陽性に対し CLEIA 法で「陰性」の判定となり、髄液検体では偽陰性になる場合があった。

D. 考察

(1) 髄液検体では CLEIA 法では血清とは別の Cut-off index が必要かもしれない

CLIA 法 (アーキテクト) は HTLV-1 陽性例 102 例³⁾、31 例⁴⁾を用いた再現性の検討で陽性率 100%だったこと、WB 法の陽性判定よりも 64 倍高感度⁴⁾だったことが報告されている。

PA 法、CLEIA 法は添付文書上は PA 法は対照検査法との全体一致率 98%、CLEIA 法は 99.96%とされている。

他 3 法と結果が乖離していた「偽陰性」と考えられる CLEIA 法での髄液抗体価 (S/CO) は、HAM (n=11) で 0.29 ± 0.06 、キャリア (n=6) で 0.23 ± 0.1 (mean \pm SEM) だった。

今回は症例が少ないので確定的なことはいえないが CLEIA 法の髄液検査では血清とは Cut off index を別に設定すべきなのかもしれない。

(2) HAM とキャリアは血清・髄液のみでは診断できず、やはり臨床的診断基準が必要である

ここでは ATL、すなわち HTLV-1 感染細胞のモノクローナルな増殖は除外された症例について考える。この場合、血清・髄液抗体陽性/陰性の判定と疾患の関係は図 4 A のようなベン図で表される。神経症候を認め、他疾患の鑑別診断での除外をした症例について HAM の診断基準と血清・髄液中抗体価との論理関係は図 4 B のようになる。同値関係にはないことに注意が必要である。HAM、キャリアの診断フローは図 4 C のように進めるとよい。

E. 結論

1) 抗 HTLV-1 抗体価は PA 法と新世代の診断法、特に CLIA 法の相関は極めて高く、換算（読み替え）が可能である。
CLEIA 法も血清検体については同様に可能と思われる。

2) HAM とキャリアの血清・髄液中抗体価のみによる血清学的鑑別診断は新しい抗体検査法を用いても困難であり、やはり臨床的診断基準を用いなければならず、診断基準の重要性は変わらないことを認識すべきである。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定含）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

参考文献

Nagai M et al, J NeuroVirol 1998. 4: 586-593. 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.

Matsumoto C et al. J Virol. 1990 64(11):5290-4. Detection of human T-cell leukemia virus type I (HTLV-I) provirus in an infected cell line and in peripheral mononuclear cells of blood donors by the nested double polymerase chain reaction method: comparison with HTLV-I antibody tests.

1) 化学発光免疫測定法(CLIA 法)による新しいヒト T 細胞白血病ウイルス(HTLV)抗体全自動検出試薬の評価
有馬直道ら. 医学と薬学 65(5): 651 -655. 2011

2) 6 種 HTLV 抗体測定試薬の基本性能について
出口松夫ら. 医学と薬学 66(6): 1053 -1059. 2011

3) HAM 患者髄液における抗 HTLV-1 抗体の意義. Recombinant Gag-Env hybrid protein を用いた ELISA 法と particle agglutination 法の比較検討.
末原雅人ら. 臨床病理 40(3): 311-316. 1992

4) Active production of anti-human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I) IgM antibody in HTLV-I-associated myelopathy. Nagasato K. et al. J Neuroimmunol. 1991 May;32(2):105-9.

5) Presence of serum anti-human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I) IgM antibodies means persistent active replication of HTLV-I in HTLV-I-associated myelopathy.

Nagasato K. et al. J Neurosci. 1991 Jun;103(2):203-8.

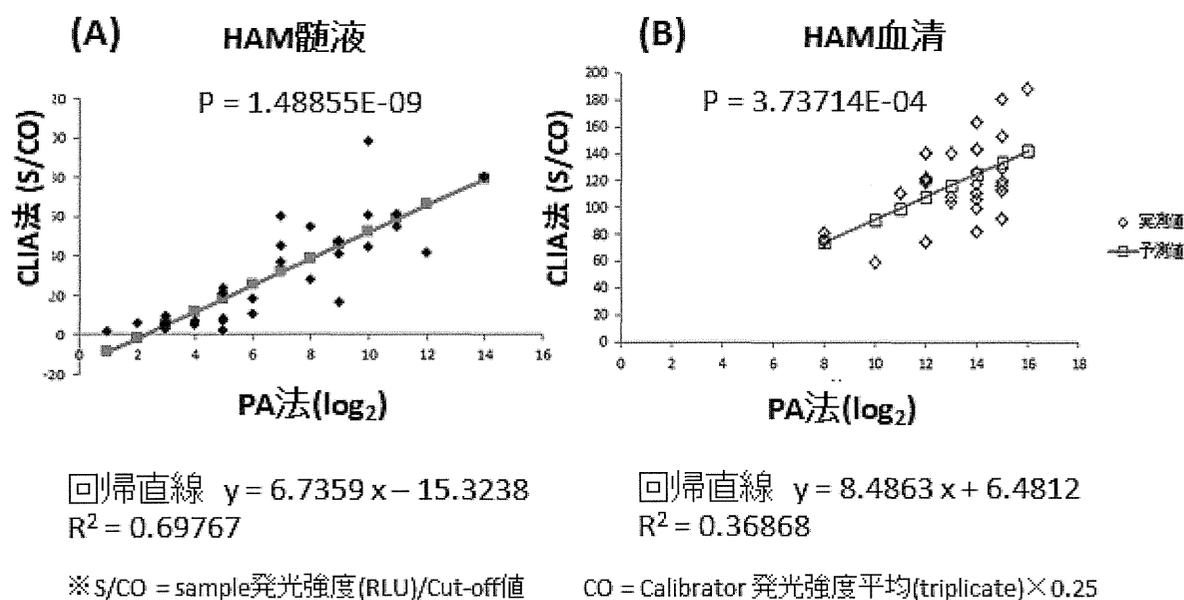
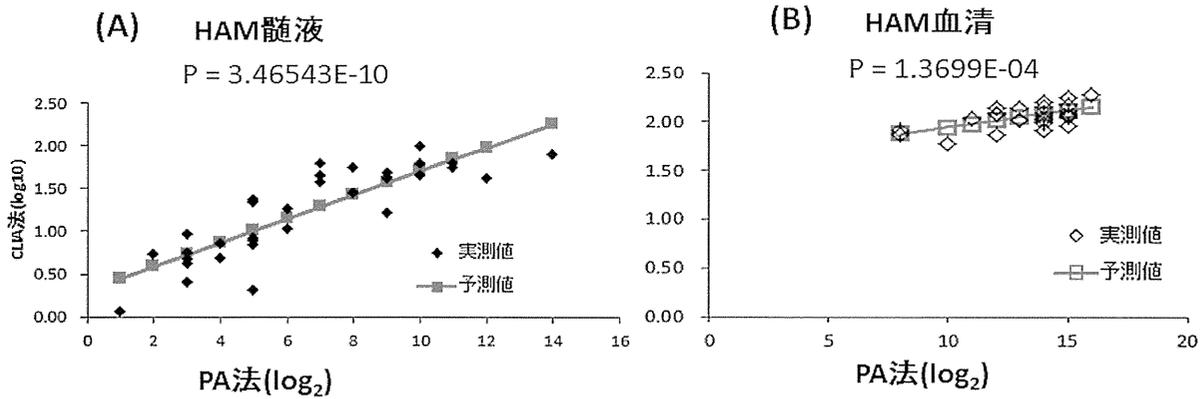


図1. HAM患者髄液および血清中抗HTLV-1抗体価のPA法、CLIA法の比較 (1)

(A) HAM患者髄液中抗HTLV-1抗体価のPA法 (2を底として対数化)、CLIA法(S/CO)の単回帰解析。
 (B) HAM患者血清中抗HTLV-1抗体価のPA法 (2を底として対数化)、CLIA法(S/CO)の単回帰解析。

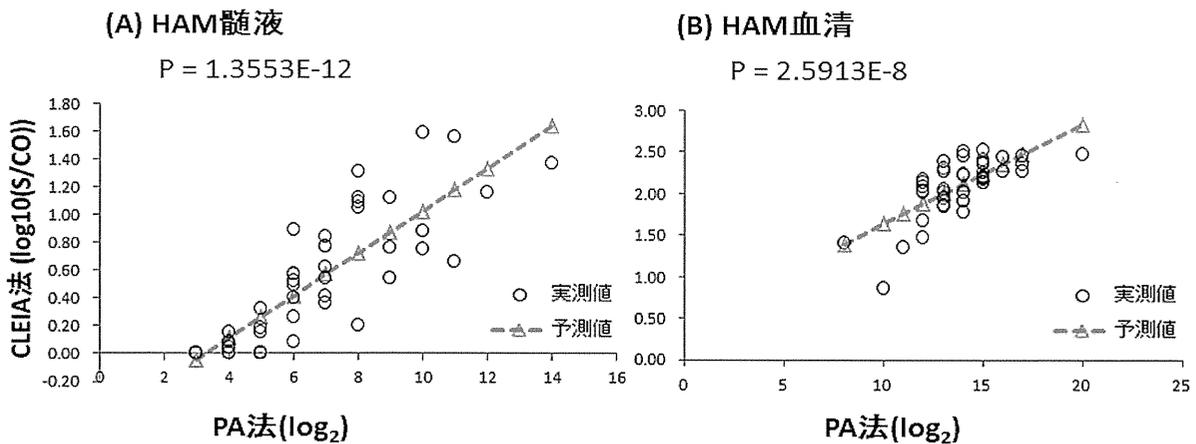


回帰直線 $y = 0.1390x + 0.3111$
 $R^2 = 0.72450$

回帰直線 $y = 0.03434x + 1.6064$
 $R^2 = 0.41041$

※S/CO = sample発光強度(RLU)/Cut-off値 CO = Calibrator 発光強度平均(triplicate)×0.25

図2. HAM患者髄液および血清中抗HTLV-1抗体価のPA法、CLIA法の比較(2)
 (A) HAM患者髄液中抗HTLV-1抗体価のPA法(2を底として対数化)、CLIA法(10を底としてS/COを対数化)の単回帰解析。
 (B) HAM患者血清中抗HTLV-1抗体価のPA法(2を底として対数化)、CLIA法(10を底としてS/COを対数化)の単回帰解析。



回帰直線 $y = 0.1527x - 0.5002$
 $R^2 = 0.6846$

回帰直線 $y = 0.1199x + 0.4363$
 $R^2 = 0.5093$

※S/CO = sample発光強度(RLU)/Cut-off値 CO = Calibrator 発光強度平均(triplicate)×0.25

図3. HAM患者髄液および血清中抗HTLV-1抗体価のPA法、CLEIA法の比較(2)
 (A) HAM患者髄液中抗HTLV-1抗体価のPA法(2を底として対数化)、CLEIA法(10を底としてS/COを対数化)の単回帰解析。
 (B) HAM患者血清中抗HTLV-1抗体価のPA法(2を底として対数化)、CLEIA法(10を底としてS/COを対数化)の単回帰解析。

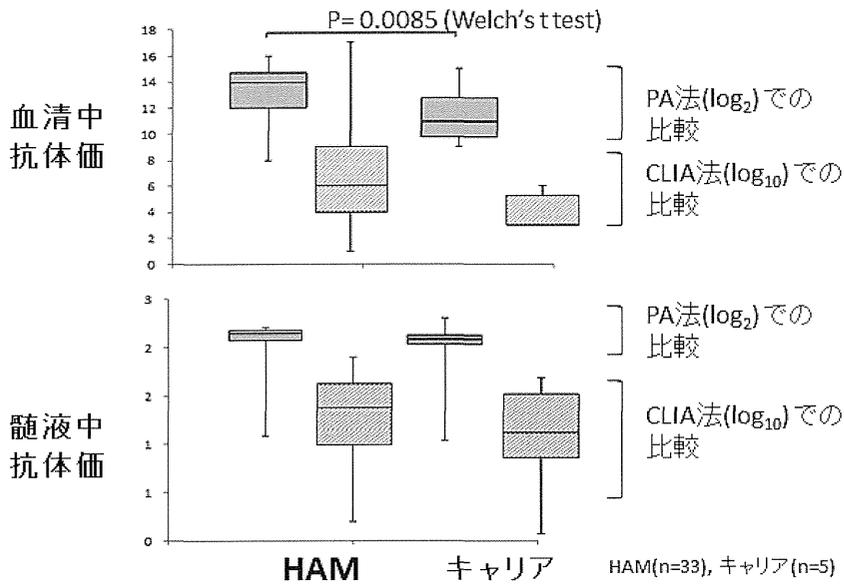
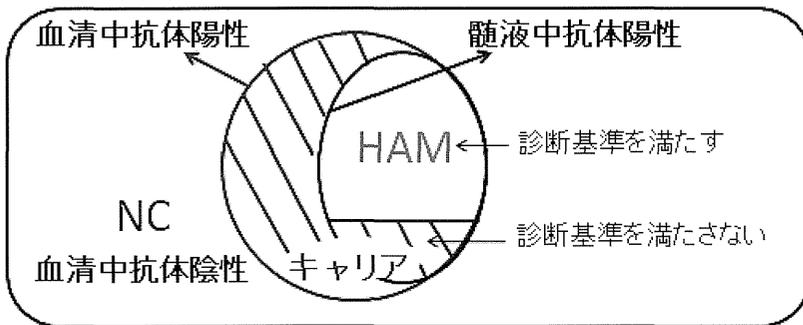


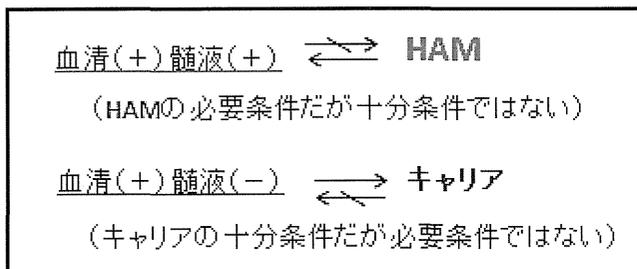
図3. HAM、キャリアでの抗体価（PA法、CLIA法）の比較

(A) 血清・髄液抗体陽性/陰性と疾患の関係



(B) HAMとキャリアの鑑別診断論理

HAMとキャリアは血清・髄液のみでは診断できない



(C) 診断フロー

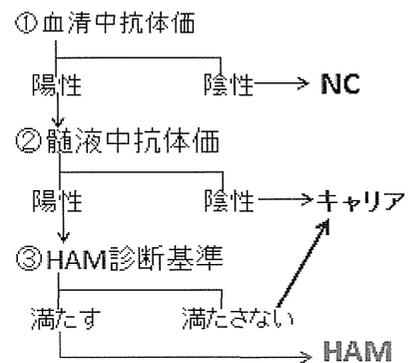


図4. 血清・髄液抗体陽性/陰性の判定と鑑別診断、診断論理の関係

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業）
分担研究報告書

HTLV-1 関連脊髄症(HAM)の合併症と HAM 診療アルゴリズムの提示

研究分担者 出雲周二¹⁾、中川正法³⁾

共同研究者 松崎敏男¹⁾、久保田龍二¹⁾、野妻智嗣²⁾ 松浦英治²⁾

研究要旨

1986年より鹿児島大学神経内科・老年病学では納が作成した HAM 患者個人臨床経過票をもとに鹿児島大学 HAM 患者登録データベースを作成し、2014年まで、データ入力をしてきた。患者登録データベースより HAM の合併症を抽出し、過去10年前と合併症の推移を検討した。さらに、合併症の検査までの HAM 診療に関するアルゴリズムを提示した。

A. 研究目的

HAM は緩徐進行性で長期の療養を強いる疾患で、その経過の中で様々な合併症や予期せぬ増悪により不幸な転機をとる例が経験されている。しかし、患者の自然経過、長期予後は不明のままであり、患者の長期予後の改善のためには、HAM に固有の合併症や予後不良因子とその臨床マーカーを明らかにし、増悪を未然に防ぐ対策を盛り込んだ診療指針の作成が急務となっている。

HAM が見いだされた1986年より、鹿児島大学神経内科・老年病学では HAM 患者個人臨床経過票をもとに鹿児島大学 HAM 患者登録データベースを作成し、2014年まで継続してデータ入力を続けてきた。本研究ではこの HAM 患者登録データベースより HAM の合併症を抽出し、10年前の合併症と比較することにより、その推移を検討し、HAM 診療指針作成の基礎データを収集することを目的とした。

B. 研究方法

1986年 Dr 納が HTLV-1 関連脊髄症(HAM)

を提唱(1)してから HAM 患者個人臨床経過票をもとに1986年から2014年まで当神経内科の HAM 患者登録データベースが作成された。HTLV-1 ウイルス量の測定がなされ、リンパ球ストックが784例登録された。784例中臨床情報が記載された686例の HAM 患者を対象に合併症の割合を抽出した。合併症の推移は2005年に記載された合併症の割合と比較した。HAM 診療から合併症検査までの道筋を示すアルゴリズムを提示した。

(倫理面への配慮)

患者情報は収集にあたり全て匿名化され、それ以外に使用することのないセキュリティ対策の施された専用の PC に保存されている。患者のカルテ情報を用いた後方視研究であり、患者の同意は不要である。本研究は鹿児島大学の倫理審査委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

HAM686例中、主な合併症は下記のとおりである。肺病変 9.4%、関節症 5.2%、筋炎

3.4%みられ、血管障害では脳出血より脳梗塞が 14.6%と多く見られた。肺梗塞の合併もあった。末梢神経障害 1.2%(2),自己免疫疾患の中ではシェーグレン症候群 10.3%,関節リウマチ 1.9%,橋本氏病 0.7%,IgA 腎症 0.7%みられ SLE は少なかった。脊柱靱帯骨化症は 3.2%のうち、後縦靱帯骨化症 1.9%占めた。ブドウ膜炎が 2.9%であった。成人 T 細胞白血病(ATL)は 22 名 3.2%でそのうち ATLL が 1.6%見られた(表 1)。2005 年 ATL は 11 例、ATLL8 例見られ(2)、10 年間で 11 名増え、年間 1 人 HAM に合併して発症したことになる。シェーグレン症候群は以前 25%(3)で、割合は減ったが、自己免疫疾患の合併症では多いままであった。まれにベーチェット病、サルコイドーシスが見られた。HAM で C 型肝炎の合併が 3.1%あった。1999-2014 年 HTLV-1 キャリア外来受診したキャリア 384 例中、C 型肝炎は 0.26%認め HAM で有意に合併していた(表 2)。典型的な HAM だけでなく特殊なタイプとして、小脳症状を伴う HAM 12%,パーキンソン症状を伴う HAM 1.7%,認知症を伴う HAM 1.5%,筋委縮性側索硬化症を伴う HAM 0.9% (4),頸髄病変を伴う HAM(5) 0.4%の 5 タイプ(表 3)がある。HAM を診療するにあたり、主な臨床症状、臨床所見、検査所見を示した(表 4, 5)。両下肢痙性、痙性歩行に加え、脊髄レベルでの発汗低下を認め、排尿障害は頻尿、残尿、尿失禁のいずれかを伴うものとした。経過が慢性、進行性で再発・寛解を認めないものとした。そのうえで下肢反射亢進と下肢病的反射バビンスキー・チャドック反射陽性であることを加えた。臨床症状より運動障害度スコアと排尿障害スコアを出す(表 6)。検査では血清・髄液 HTLV-1 抗体陽

性を必須とし、脊髄圧迫病変がないことを証明する。炎症指標として、末梢血 HTLV-1 ウイルス量、髄液 CXCL10,髄液ネオプテリン、髄液 IgG の高値、血清 IL2 レセプターあるいは MMP-3 高値を上げた。IL2 レセプターは HAM の 48.4%高値、MMP-3 はリウマチのないケースで 51.5%と高値を示した。合併症検査手順は図 1,3 に示した。特に HAM の障害は自覚症状に乏しいため、胸部 CT が必要である。HAM では自覚症状が乏しくても慢性気管支像や気管支拡張像を認めた(図 2)。ほかに肺障害の中で間質性肺炎のタイプが 8 名含まれた。ATL の合併もありうるので、血液像で異常リンパ球数の測定をし、高値の場合、積極的にリンパ球サブセット、クロナリティ検査、HTLV-1 ウイルス量検査を要する。

D. 考察

鹿児島県一般住民 2847 人対象にして、HTLV-1 感染者は肺結核を含む肺障害、後縦靱帯骨化症、潰瘍性大腸炎にたいし有意にリスクを認めた(7)。肺障害、靱帯骨化症は HAM でも合併症としてあがっているので、キャリアのうちから注意を要する。自己免疫疾患の合併が見られるので、診療で自己抗体の検索は重要である。C 型肝炎もキャリアよりは多くみられているので、HAM 診断時、C 型肝炎チェックを要する。HAM における ATL の合併が増加しているため、今後、HAM 診断時に ATL 検査がセットとして、必要である。

E. 結論

HAM は全身の病気であり、診断時、ルーチンに合併症の検査をし、治療方針を立てる必要がある。

1) 鹿児島大学難治ウイルス研分子病理

- 2) 鹿児島大学神経内科・老年病学
- 3) 京都府立医科大学神経内科

知的財産権の出願・登録状況

特権取得：なし

実用新案登録なし

参考文献

- 1 Osame M, Usuku K, Izumo S, et al. HTLV-1 associated myelopathy, a new clinical entity. Lancet 1986; 1: 1031.
- 2 Kiwaki T, Umehara F, Arimura Y, et al: The clinical and pathological features of peripheral neuropathy accompanied with HTLV-1 associated myelopathy. J Neurol Sci 206: 17-21, 2003
- 3 松崎敏男、斎藤峰輝、納 光弘：HAMの診断と治療の進歩. 臨床検査 2005; 49(4)：409-414.
- 4 Nakagawa M, Izumo S, Ijichi S, et al: HTLV-1-associated myelopathy: analysis of 213 patients based on clinical features and laboratory findings. J Neurovirol 1995; 1: 50-61.
- 5 Matsuzaki T, Nakagawa M, Nagai M, et al. HTLV-1- associated myelopathy / tropical spastic paraparesis (TSP) with amyotrophic lateral sclerosis-like manifestations. J Neurovirol 6: 544-548, 2000
- 6 Umehara, F, Nagatomo S, Yoshishige K, et al: Chronic progressive cervical myelopathy with HTLV-1 infection Variant form of HAM/TSP?. Neurology 63:1276-1280, 2004
- 7 Matsuzaki T, Otose H, Hashimoto K, Shibata Y, Arimura K, Osame M. (1993) Diseases among Men Living

in Human T-Lymphotropic virus Type I Endemic Areas I Japan. Internal Medicine 32 (8):623-628.

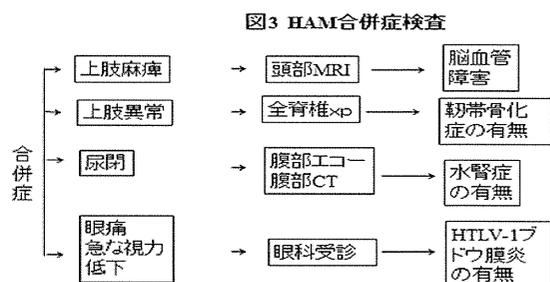
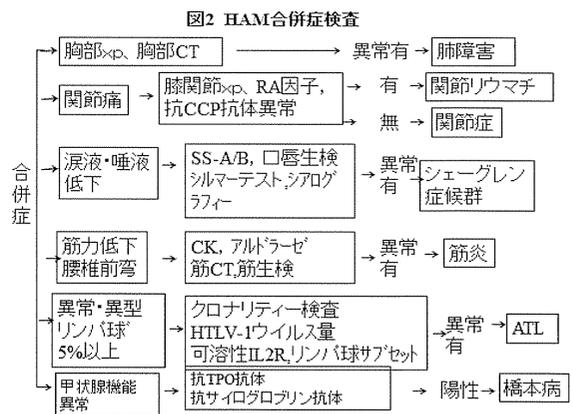
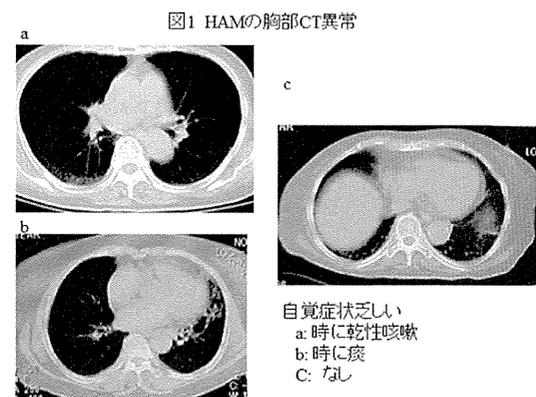


表1 686例HAMの主な合併症

疾患	例数	%	疾患	例数	%
肺病変	63	9.4%	シェーグレン症候群	71	10.3%
糖尿病	56	8.2%	慢性関節リウマチ	13	1.9%
関節症	36	5.2%	橋本氏病	5	0.7%
血管障害	107	15.6%	SLE	3	0.4%
脳梗塞	86	14.6%	脊柱靭帯骨化症	22	3.2%
脳出血	8	1.2%	後縦靭帯骨化症	13	1.9%
深部静脈血栓	8	1.2%	ぶどう膜炎	20	2.9%
肺梗塞	3	0.4%	ATL	22	3.2%
筋炎	23	3.4%	ATLL	11	1.6%
末梢神経障害	9	1.3%	IgA腎症	5	0.7%
稀な合併症:			自性副甲状腺機能低下症	2	0.3%
サルモネラ	1	0.1%	CREST症候群	1	0.1
ベーチェット病	1	0.1	バセドウ病	1	0.1
悪性関節リウマチ	1	0.1			

表2 686例HAMの特殊なタイプ

小脳症状を伴うHAM	12%
パーキンソン症状を伴うHAM	1.7%
認知症を伴うHAM	1.5%
筋萎縮性側索硬化症様症状を伴うHAM	0.9%
頸髄病変を伴うHAM	0.4%

表3 HAMに伴うその他のウイルス感染合併症

ウイルス感染	HAM 686例		HTLV-1 キャリア 384例		Odds	CI	P
	例数	%	例数	%			
1. C型肝炎	21	3.1	1	0.26	12.09	1.6-90.2	0.004
2. B型肝炎	9	1.3	1	0.26	5.09	0.6-40.3	0.057
3. 帯状ヘルペス	12	1.7	8	2.1	0.84	0.3-2.1	0.879
4. 単純ヘルペス	2	0.29	2	0.52	1.12	0.1-12.59	0.61
5. サイトメガロウイルス	1	0.15	1	0.26	0.56	0.03-8.96	0.748
5. EBウイルス	27/100	27	-	-	-	-	-

表4 HAM診療から合併症検査までの流れ

- 症状: 1. 両下肢の痙性
2. 下肢痙性歩行
3. 腸腰筋あるいはハムストリングの筋力低下
4. 脊髄レベルで発汗障害を伴う。
5. 下肢の異常知覚
6. 排尿障害(頻尿、残尿、尿失禁のいずれか陽性)
7. 便秘
8. 再発・寛解を伴わない。
9. 発症が慢性で、進行性である。
- 所見: 1. 病的反射(ヒンズキー-チャドック反射が両側陽性である。
2. 下肢の腱反射亢進がある。
3. 下肢の振動覚低下

表5

検査所見:

- 血清・髄液の抗HTLV-1抗体陽性である。
- MRIで脊髄を圧迫する病変がけい。
- 炎症指標
末梢血HTLV-1ウイルス量
髄液CXCL10高値
髄液ネオプテリン高値
髄液IgG高値
可溶性IL2-R高値(HAMで48.4%高値)
MMP-3高値 (リウマチ以外のHAMで51.5%高値)

表6 運動機能障害重症度

Grade	Disability
0	歩行・走行ともに異常を認めない
1	走るスピードが遅い
2	歩行異常(つまづき、膝のこぼり)
3	かけ足不能
4	階段昇降に手すり必要
5	片手によるつたい歩き
6	片手によるつたい歩き不能・両手なら10m以上可
7	両手によるつたい歩き5m以上、10m以内可
8	両手によるつたい歩き5m以内可
9	両手によるつたい歩き不能、四つんばい移動可
10	四つんばい移動不能、いざり歩移動可
11	自力では移動不能、搬運び可
12	搬運び不能
13	足の指も動かさない

排尿障害の重症度

- 頻尿 0: 正常
残尿 1: わずかに存在
尿失禁 2: 明らかに存在
3: 著明に存在
(残尿2・圧迫排尿、残尿3・自己導尿)
3つの症状の合計点数で表す。

(M. Osame et al. HTLV-1-associated myelopathy (HAM) revisited. HTLV-1 and the Nervous System: 213-223, 1989)

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業）
分担研究報告書

HTLV-1 陽性関節リウマチ患者における経時的ウイルス学的検討

研究分担者 岡山昭彦（宮崎大学医学部内科学講座免疫感染病態学分野・教授）

研究協力者 梅北邦彦、梅木一美、橋倉悠輝、山本成郎（宮崎大学医学部内科学講座免疫感染病態学分野）
日高利彦（市民の森病院リウマチ膠原病センター）

研究要旨：HTLV-1感染合併慢性炎症性疾患患者においてATLやHAMの発症頻度が增大しているのか否かは重要な問題である。この点を含めたHTLV-1陽性慢性炎症患者の診療についての一般医療機関への情報提供や診療指針作成のニーズが大きいことは全国のリウマチ専門医療機関へのアンケートからも明らかである。しかしながらATLやHAMの発症頻度は低く、この問題の解決には多数のHTLV-1陽性患者の長期にわたる観察が必要である。このため本研究においてはHTLV-1陽性関節リウマチ患者における一般的ウイルスマーカーを代替マーカーとして測定し、治療を受けた患者において経時的に変化があるかどうかの検討を行った。その結果、抗体価は低下傾向を示したが、プロウイルス量および可溶性IL-2レセプターには変化はなく、一般的に、治療中のHTLV-1陽性関節リウマチ患者においてATL発症の危険性が增大していることを示唆する所見はないと考えられた。今後、治療効果についての評価も総合してHTLV-1陽性関節リウマチ患者診療の参考となる情報提供につなげたい。

A. 研究目的

HTLV-1感染を合併している慢性炎症性疾患患者においてATLやHAMの発症頻度が增大しているのか否かは重要な問題である。この点を含めたHTLV-1陽性慢性炎症患者の診療についての一般医療機関への情報提供や診療指針作成のニーズが大きいことは全国のリウマチ専門医療機関へのアンケートからも明らかである。このため本研究においては生物学的製剤が使用されている関節リウマチ患者におけるHTLV-1抗体陽性率、治療効果を評価した。また、ATLやHAMの発症頻度は低いため、一般的ウイルスマーカーを発症危険因子の代替マーカーとして測定し、後方視的にその経時的変化の検討を行った。

B. 研究方法

宮崎大学医学部附属病院とその関連病院を受診し同意を取得した関節リウマチ患者を対象とした。抗体スクリーニング検査で陽性となった患者についてはウェスタンブロット法で確認を行った。そのうえでHTLV-1陽性者について、後方視的に以下の様な検討を行った。

1) 臨床的解析：用いられている生物学的製剤について検討を行った。また高頻度に投与され

ていたTNF阻害剤については、HTLV-1陽性者と陰性者の投与開始時における背景因子、病勢マーカー、投与継続率について検討した。

2) ウイルスマーカーの検討

① 抗体測定：Chemiluminescent enzyme immunoassay（CLEIA法・富士レビオ）を用いて血清検体を測定しカットオフインデックス1.0以上の陽性例を対象とした。抗体価はparticle agglutination assay（PA法・富士レビオ）を用いて、血清の階段希釈を行い、最終陽性倍率を抗体価とした。

②HTLV-1プロウイルス量の測定：患者末梢血DNAは全血よりQIAamp Blood DNA Kit（キアゲン）を用いて精製し、さらに検出感度を向上させるためエタノール沈殿法でDNA濃度を約0.5ug/uLに濃縮しPCRに供した。リアルタイムPCR（ライトサイクラー・ロシュ）を用い測定した。プライマーにはHTLV-pX2-S（CGGATACCCAGTCTACGTGTT）、およびHTLV-pX2-AS（CAGTAGGGCGTGACGATGTA）、プローブにはHTLV-pX2-Probe（FAM-CTGTGTACAAGGCGACTGGTGCC-TAMR）を用いた。サンプルDNAは1反応あたり1ugを使用した。プロウイルス量は定量PCRの結果を白血球分類の結果を参考に末梢血単核細胞（PBMC）あた

りに換算して算出した。

③可溶性IL-2レセプターの測定：血清中の可溶性IL-2レセプターの測定はELISA法を用いて一般検査会社（SRL）により測定した。

（倫理面への配慮）

研究対象者より同意を取得し、研究内容は研究施設の倫理委員会で審査を受け、承認のうえ行われた。

C. 研究結果

1) 患者

生物学的製剤投与を受けていた対象関節リウマチ患者数は239名であり、HTLV-1陽性者は15名（陽性率6.3%）であった。このうちTNF阻害剤の投与を受けていたのは214名であり、そのHTLV-1陽性者は12名（陽性率5.6%）であった。

2) HTLV-1陽性、陰性患者の臨床的比較（TNF阻害剤の投与開始時）

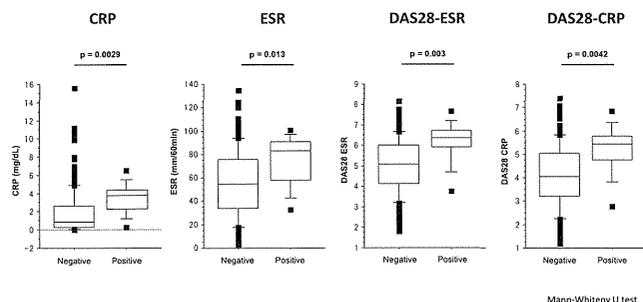
臨床情報が確認できたHTLV-1陽性患者12名、陰性患者200名についてTNF阻害剤の投与開始時の臨床像の比較を行った。HTLV-1陽性患者は陰性患者に比較して有意に年齢が高く、炎症マーカーであるCRPや赤沈が上昇しており、DAS28-ESR、DAS28-CRPのような病勢を表すマーカーも高かった（表1、図1）。

表1: HTLV-1陽性、陰性のTNF阻害剤使用患者の比較

	Negative (n=200)	Positive (n=12)	p-value
Age	59 (16)	69 (8.3)	0.006
Female, %	171 (85.5)	12 (100)	
Disease duration (months)	69 (158)	99 (127)	0.27
Disease activity			
CRP (mg/dL)	0.87 (2.3)	3.8 (1.8)	0.0029
ESR (mm/60min)	55 (42)	83 (28.5)	0.013
DAS28-ESR	5.08 (1.9)	6.36 (0.7)	0.003
DAS28-CRP	4.07 (1.8)	5.45 (0.9)	0.0042
Treatment			
Methotrexate	8.9 (3.1) 63	8.6 (2.7) 53	0.58
Prednisolon	5.5 (3.7) 52	6.3 (3.3) 73	0.12

These data was expressed by median with IQR. Mann-Whitney test and Fisher exact test was used.

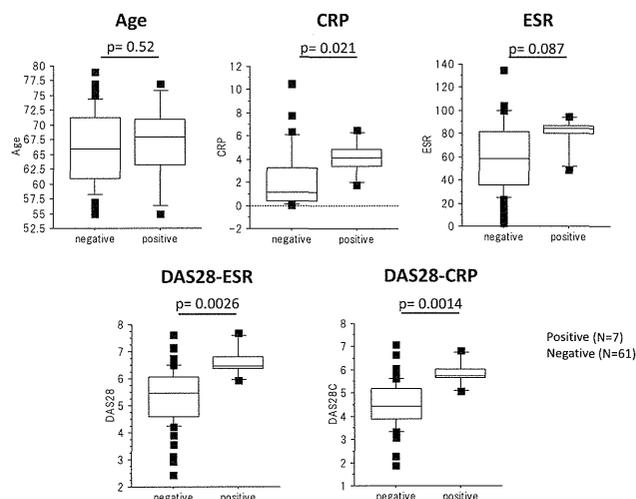
図1: 炎症及び病勢マーカーの比較



このHTLV-1陽性患者の関節リウマチの病勢マ

カーが交絡因子による影響を受けていないかどうか確認するために、女性、年齢が54歳から80歳、エタネルセプトの投与を受けている患者68名に限定して検討を行った。しかしその結果でも炎症マーカーであるCRPや赤沈、DAS28-ESR、DAS28-CRPのような病勢を表すマーカーがHTLV-1陽性患者で有意差をもって高値であることが示された（図2）。

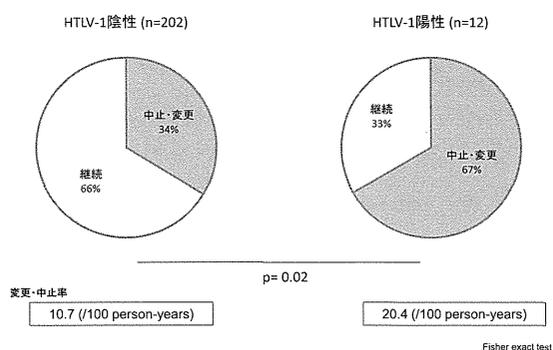
図2: HTLV-1陽性、陰性のTNF阻害剤使用患者の比較（年齢、性別、使用薬剤調整後）



3) 治療効果に対する影響

今回の後方視的検討では関節リウマチに対する生物学的製剤の奏功率を検討することが困難であったため、TNF阻害剤の中止、変更をエンドポイントとしてHTLV-1陽性患者202名と陰性患者12名で比較を行った（図3）。

図3: HTLV-1陽性、陰性のTNF阻害剤使用患者の中止・変更率の比較



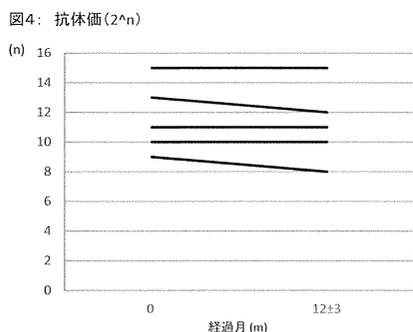
その結果、中止・変更率は陰性患者の34%に対して陽性患者では67%と頻度が高かった。観察期間が異なることの影響を排除するために100人年あたりで検討したところ、陰性患者の10.7に対して陽性患者では中止・変更率が20.4とやはり有意に頻度が高かった。

4) ウイルスマーカーの経時的変化

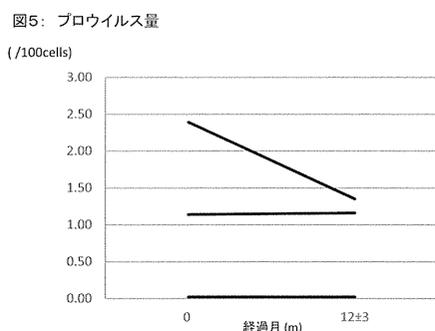
TNF阻害剤の投与を受けたHTLV-1陽性関節リウ

マチ患者のうち、おおよそ12か月（前後3か月）の経時的観察が可能であった患者について血清抗体価、プロウイルス量、可溶性IL-2レセプターの変化について検討した。

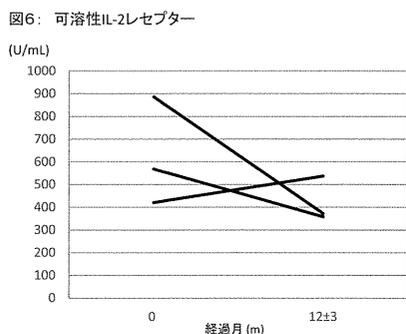
①抗体価（図4）：患者7名においてPA法を用いて測定した抗体価の中央値は初回検体が 2^{11} 、12ヶ月後も 2^{11} であり変化がなかった。



②プロウイルス量（図5）：リアルタイムPCR法を用いて測定したPBMC100細胞中のプロウイルス量の中央値は初回検体が1.14、12ヶ月後が1.16であり、不変であった。



③可溶性IL-2レセプター（図6）：3名において測定した血清中の可溶性IL-2レセプターの中央値は初回検体が568IU/L、12ヶ月後が372IU/Lであり、有意ではないが低下傾向であった。



D. 考察

生物学的製剤投与を受けていた関節リウマチ患者数は239名のHTLV-1陽性率は6.3%であり、これま

での報告同様、献血者の様な健康人集団に比して高い傾向を示した。

TNF阻害剤の投与開始時のHTLV-1陽性、陰性患者の臨床的比較では、HTLV-1陽性患者は陰性患者に比較して有意に年齢が高く、炎症マーカーであるCRPや赤沈が上昇しており、DAS28-ESR、DAS28-CRPのような病勢を表すマーカーも高かった。年齢や性別、薬剤の影響を考慮して、これらの因子をそろえた患者においても比較したが、同用の結果が得られ、HTLV-1陽性患者の病勢が強いというこれまでの結果を支持する所見であった。

HTLV-1陽性関節リウマチ患者におけるウイルスマーカー（抗体価、プロウイルス量）及びT細胞活性化マーカーである可溶性IL-2レセプターの約12か月での変化について検討した。少数例の検討ではあるが、抗体価、プロウイルス量は不変であり、可溶性IL-2レセプターはやや低下する傾向を示した。対象となった関節リウマチ患者はメトトレキサートを含む抗リウマチ薬やTNF阻害薬を主とした生物学的製剤で治療中の患者であったため、免疫抑制状態と考えられ、抗体価には治療による影響もありうると思われた。ATLの発症危険因子である可能性が想定されているプロウイルス量については12か月の観察期間では有意な変化がなかった。またATL患者で増加することが知られている可溶性IL-2レセプターについては有意の変化は見られなかった。さらに今回の対象となったHTLV-1陽性患者において、臨床的にもATL発症を疑わせる所見はなかった。今後さらに症例数を増やして検討を続ける予定である。

E. 結論

HTLV-1高浸淫地域である宮崎県における関節リウマチ患者の検討では、HTLV-1抗体陽性率は高く、陽性患者はリウマチの治療開始前の病勢が強かった。これはこれまでの結果をサポートする所見であった。HTLV-1感染者のバイオマーカーである抗体価、プロウイルス量及び可溶性IL-2レセプターの治療中の約12か月での変化について検討したところ、抗体価、プロウイルス量に変化はなく、可溶性IL-2レセプターはやや低下傾向であった。これらの所見から、関節リウマチ治療中のHTLV-1陽性患者においてATL発症の危険性が増大していることを示唆する所見はないと考えられた。今後、現在行っている治療効果についての評価も総合してHTLV-1陽性関節リウマチ患者診療の参考となる情報提供を行う予定である。

G. 研究発表

【総説】

- 1) 岡山昭彦. HTLV-1 感染と自己免疫疾患における clinical questions. 臨床免疫・アレルギー科. 2014; 62(6):686-691.
- 2) Umekita K, Hidaka T, Miyauchi S, Ueno S, Kubo K, Takajo I, Hashiba Y, Kai Y, Nagatomo Y, Okayama A. Treatment with anti-tumor necrosis factor biologics agents in human T-lymphotropic virus type 1 positive patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Care Res. 2014;66:788-92. doi: 10.1002/acr.22205.

【学会発表】

- 1) 梅木一美, 橋倉悠輝, 山本成郎, 岡山昭彦. 高感度 PCR 法および Line Immunoassay による HTLV-1 抗体陽性の確認. 第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会. 2014. 東京都
- 2) 橋倉悠輝, 梅木一美, 山本成郎, 長谷川寛雄, 柳原克紀, 岡山昭彦. MT-2 細胞株の HTLV-1 プロウイルスの組み込み部位および内部構造の多様性. 第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会. P-14. 2014. 東京都
- 3) Okayama A, Iwanaga M, Sagara Y, Hidaka T, Umekita K, Nakano K, Watanabe T, Yamano Y, Horai Y, Nakamura H, Kawakami A. Human T-Lymphotropic Virus Type 1 Biomarkers in Patients with Rheumatoid Arthritis. 2014 ACR/ARHP ANNUAL MEETING. 2014. Boston
- 4) 梅木一美, 橋倉悠輝, 山本成郎, 岡山昭彦. HTLV-1 抗体確認試験としての Line Immunoassay の有用性. 第 61 回日本臨床検査医学会学術集会. 2014. 福岡市
- 5) Okayama A. HTLV-1 infection and associated diseases. Seminar in Department of Immunology and Infectious Diseases, HSPH. 2014. Boston
- 6) 岡山昭彦, HTLV-1 感染症と慢性炎症性疾患. 京都大学ウイルス研究所セミナー. 2014. 京都市

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

HAM に対する経口プロスルチアミン療法の有効性の検討

— 排尿機能を中心に —

研究分担者 中村龍文、長崎国際大学人間社会学部 社会福祉学科教授

共同研究者 松尾朋博、長崎大学・院・腎泌尿器病態学

研究要旨：

HTLV-1関連脊髄症(HAM)患者では運動障害のみならず、排尿障害をも併発する。一般的に頻尿や尿意切迫感に代表される過活動膀胱症状が強く出現し、その重症度は患者のQuality of Lifeに多大なる影響を及ぼす。われわれは以前より、経口プロスルチアミン内服療法がHAMによる運動障害のみならず排尿障害においても有効である可能性を報告してきた。今回、特に過活動膀胱症状を有した患者を対象に経口プロスルチアミン内服療法の効果を検討した。

症例は以前報告した24例のうち過活動膀胱に合致したHAM患者16例。過活動膀胱症状質問票(OABSS)による自覚症状、尿流動態検査による他覚症状、および最近過活動膀胱で注目されている、尿中バイオマーカー(Nerve Growth Factor, Adenosine triphosphate)を治療前後で比較検討した。その結果、治療によりOABSSの改善を認め、また、尿流動態検査上、最大膀胱容量の改善、排尿筋圧の上昇をみた。さらに、尿中バイオマーカーの低下を認めた。

以上より、HAM患者に併発した過活動膀胱に対して経口プロスルチアミン内服療法は有効であることが示唆された。今後、効果発現の機序に関して検討する必要がある。

A. 研究目的

HTLV-1関連脊髄症(HAM)はHTLV-1感染者の極一部にしか発症しないものの、一旦発症すれば、そのほとんどが慢性進行性である。下肢運動機能障害と膀胱機能障害によって、日常生活動作およびQuality of Life(QoL)が著しく阻害されるため、一刻も早い本疾患に対する治療法の確立が切望されている。現在、HAMに対する治療法としては副腎皮質ホルモンやインターフェ

ロン α などによる免疫修飾療法が主流であるが、長期に亘る治療を必要とする本疾患であるが故に、その長期的効果の有効性への疑問視や副作用の出現など、多くの問題点を抱えている。

我々はHTLV-1感染細胞に対してアポトーシスを誘導できるビタミンB1誘導体の一つである経口プロスルチアミン(アリナミン®)内服療法により、運動障害のみならず排尿障害をも改

善することを見出した。HAMに随伴した排尿障害に関しては夜間頻尿や尿意切迫感をはじめとした過活動膀胱症状(OAB)が患者のQoLに大きく影響する。最近、神経伝達物質であるNerve growth factor(NGF) や Adenosine triphosphate(ATP)の過剰発現が過活動膀胱における症状の重症度と相関があり、抗コリン薬をはじめとする頻尿改善薬の投与により、頻尿の改善とともにこれらの尿中バイオマーカー産生もコントロールされることがわかっている。そこで、今回以前報告した24例において、過活動膀胱症状を有した患者16名に対し、経口プロスルチアミン投与前後での尿流動態検査および尿中バイオマーカーであるNGFおよびATPを測定し、比較検討したので報告する。

B. 研究方法

1) 対象： 以前報告した HAM 患者 24 例のうち過活動膀胱症状質問票 (Overactive Bladder Symptom Score; OABSS) で過活動膀胱に合致(質問 3：尿意切迫感が 2 点以上、合計スコア：3 点以上)した患者 16 名(女性 13 名：男性 3 名)を対象とした。年齢は 31～80 歳(平均 61.5 歳)、罹病期間は 3～45 年であった。自己導尿施行患者は 9 名であった。表 1 に患者プロフィールを示す。

表1. 患者背景

症例	性別	年齢(歳)	罹患期間(年)	自己導尿
1	女	80	23	+
2	女	71	45	+
3	男	76	23	-
4	男	64	11	-
5	女	53	7	+
6	女	67	3	+
7	女	64	16	+
8	女	68	12	-
9	女	62	12	+
10	女	78	18	+
11	女	46	22	-
12	女	60	34	+
13	女	62	9	+
14	女	46	26	-
15	女	31	7	-
16	男	56	16	-
平均±SD		61.5±13.0	17.8±10.9	

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

3) 評価項目(表 2):以下の項目についてプロスルチアミン投与前と投与12週後で比較検討した。

<自覚症状の評価項目>

a) OABSS

<尿中バイオマーカー>

a) 尿中 NGF/Crea

b) 尿中 ATP/Crea

<他覚症状の評価項目>

a) 尿流動態検査 Urodynamic study(UDS)

表2. 本試験のプロトコル

評価項目	0W	4W	8W	12W
過活動膀胱症状質問票	●	—	—	●
尿中 NGF/Crea	●	—	—	●
尿中ATP/Crea	●	—	—	●
尿流動態検査	●	—	—	●
有害事象	●	●	●	●

NGF; Nerve growth factor
ATP; Adenosine triphosphate

(倫理面への配慮)

本研究は本大学病院倫理審査委員会の承認を受け、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。

C. 研究結果

1) 自覚症状の変化 : OABSS

表 3 に示すように自覚症状の評価項目である OABSS の合計スコアは有意に改善しており (P=0.0035)、夜間頻尿と尿意切迫感の項目で、有意に治療後に改善していた。16 名中 12 名で OABSS が改善していた (P=0.0035)

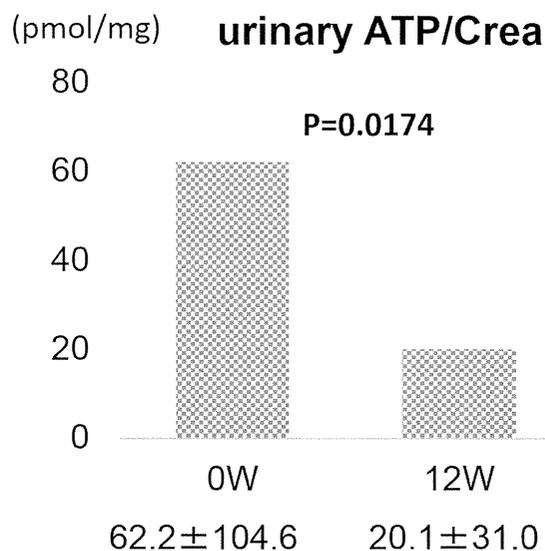
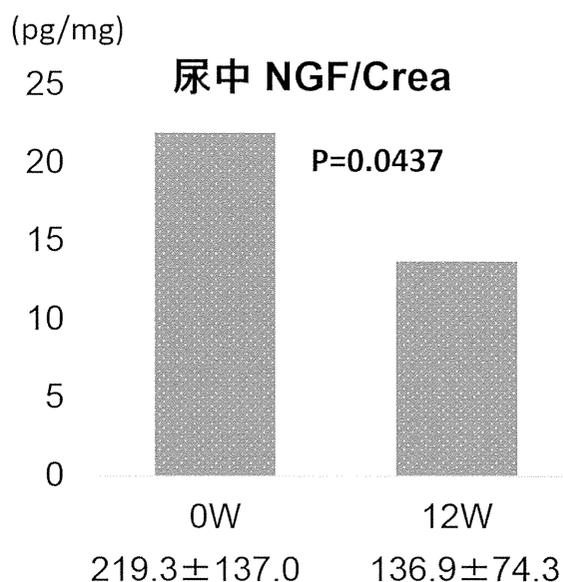
表3. OABSSの変化

	0W	12W	P value
Q1. 昼間頻尿	0.7±0.5	0.4±0.5	0.0679
Q2. 夜間頻尿	2.4±1.3	1.6±1.0	0.0284
Q3. 尿意切迫感	3.1±0.9	1.6±1.5	0.0013
Q4. 切迫性尿失禁	1.8±1.4	1.4±1.4	0.2721
合計スコア	7.9±2.4	5.2±3.6	0.0035

2) 尿中バイオマーカーの変化(図 1)

尿中バイオマーカーである、尿中 NGF/Crea、尿中 ATP/Crea のいずれも経口プロスルチアミン内服療法後に有意に低下していた。

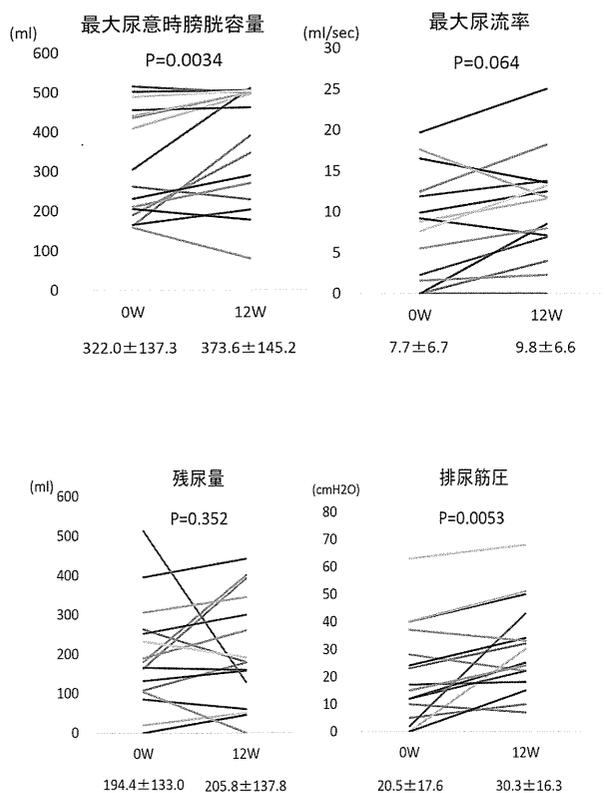
図1. 尿中バイオマーカーの変化



3) 尿流動態検査(UDS)における変化 :

UDS ではプロスルチアミン投与後 12 週目には最大膀胱容量は 322.0±137.3ml から 373.6ml±145.2ml へ、排尿筋圧は 20.5±17.6cmH2O から 30.3±16.3cmH2O へそれぞれ有意に改善していた。最大尿流率に関しても 7.7±6.7ml/sec から 9.8±6.6ml/sec へ改善傾向を示していた。

図2. 尿流動態検査所見



また、HAM 患者の膀胱機能障害において特徴的とされる排尿筋括約筋強調不全(DSD)および排尿筋過活動 (D0)についても、前者では治療前に認められた 7 例中 3 例で消失(P=0. 248)、後者では治療前に認められた 10 例中 6 例で改善(P=0. 077)を認めた。

4) 安全性について：有害事象の発現はなく、すべての症例で試験は完遂できた。

D. 考察

われわれは以前より、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を示してきた。この中で運動機能のみならず、排尿機能に関しても自他覚症状とも改善していることを見出した。特に排尿機能に関して、HAM 患者では夜間頻尿や尿意切迫感をメインとした蓄尿症状が中心の症状であるが、プロスル

チアミン経口投与により有意に改善していた。このことが今回、排尿機能を中心としたプロスルチアミンの効果を検討する動機となった。

以前の報告の 24 例の検討で OABSS を使用し、OAB と診断された 16 例を対象とした。プロスルチアミン内服投与にて 12 例で OABSS の合計スコアの改善を認めた。項目別比較においても、一般的な OAB 患者で、QOL にもっとも影響があるとされる夜間頻尿や、尿意切迫感が有意に改善していた。UDS を用いた他覚所見では、42. 9% で D0 が消失し、最大尿意時膀胱容量の改善を認めた。排尿筋圧の上昇、60%の症例で DSD が消失した。このことはプロスルチアミン経口療法によって、排尿機能に関して、蓄尿症状および排出症状をも改善することを示唆するものである。また、過活動膀胱患者に最近有用な尿中バイオマーカーである尿中 NGF/Crea、ATP/Crea ともプロスルチアミン投与後有意に低下していた。

この結果より、HAM の主要な病巣として、胸髄側索であり、同部位にプロスルチアミンが作用し、自他覚所見における蓄尿症状の改善を見た可能性は高い。しかしながら、17. 8 年と比較的長い平均罹病期間の患者集団においては排尿筋圧の上昇を見たのは特筆すべき点である。プロスルチアミンの排尿障害に対する作用機序の仮説を図 3 に示す。

2. 学会発表

(国内学会)

1) 松尾朋博、中村龍文、大庭康司郎、望月保志、宮田康好、酒井英樹：プロスルチアミン経口薬により HTLV-1 関連脊髄症に随伴した過活動膀胱患者の症状は軽快し、尿中バイオマーカーも低下した。第 21 回日本排尿機能学会、2014 年 9 月、岡山

2) 中村龍文：HTLV-I 関連脊髄症に対する新しい治療戦略の開発に向けて。合同シンポジウム「感染と神経免疫」、第 19 回日本神経感染症学会/第 26 回日本神経免疫学会 合同学術集会、2014 年 9 月、石川。

(国際学会)

1) Matsuo T, Nakamura T, Miyata Y, Ohba K, Sakai H: Oral administration of prosultiamine improved the symptoms in patients with overactive bladder associated with HTLV-1-related

myelopathy/tropical spastic paraparesis, and also reduced urinary biomarkers. International Continence Society 2014, Rio de Janeiro, Brazil

2) Matsuo T, Nakamura T, Ohba K, Miyata Y, Sakai H: Oral administration of prosultiamine results in symptom improvement in patients with overactive bladder due to HTLV-1-associated

myelopathy/tropical spastic paraparesis. XII International Symposium of HTLV in Brasil, 2014 Dec. Sao Paulo, Brasil

3) Tatsufumi Nakamura. Perspectives of HAM/TSP treatment. XII International Symposium of HTLV-I in Brazil. Dec, 2014, São Paulo, Brazil.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得：

1) HTLV-I 関連脊髄症の予防または治療剤 特許出願中、(日本)特願 2013-538578、(米国)

14/351, 242、(欧州)12840392. 0.

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