

## HTLV-1 関連脊髄症の疾患活動性と発症年齢の関係

研究分担者 氏名 : 高嶋博

所属機関 : 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科神経内科・老年病学

職名 : 教授

研究要旨：HAMはHTLV-1感染によって起こる慢性炎症性の脊髄疾患で、臨床的にはほぼ下肢に限局した痙性脊髄麻痺を来す疾患である。HAMの発症はそのピークは40歳台から50歳台と報告されている。HTLV-1感染はその多くが母児感染であると考えられているが、感染から発症までなぜそれほどの期間を要するのか、なぜわずか3%前後のHTLV-1キャリアにしか発症しないのか依然不明である。母児感染と水平感染ではHAMの発症頻度や臨床症状に差があるのかわかっていない。今回我々は連続入院HAM患者124名の臨床データを解析し、男女別にHAM患者の臨床データを比較することで女性HAM患者の特徴を明らかにすることで、水平感染によるHAM患者の存在、重篤な臨床経過の存在を検討する試みを行った。結果、女性患者の発症年齢は男性と比べて高くないことが明らかとなった。また、女性のHAMが重篤であるという傾向も臨床経過を比較する限りでは男性と差がなかった。

### A. 研究目的

HAMはHTLV-1ウイルスに感染したヒトの3%前後に発症するウイルス性脊髄炎であり、HAMの発見以来、HAMの臨床症状は詳細に報告されてきた。その主な症状は、①痙性脊髄麻痺（100%）、②排尿障害（93%）、③軽度の感覚障害（53%）、④下半身の発汗障害などであり、胸髄を中心とする慢性脊髄炎の症状としてとらえられている。

一方、HAMの発症はそのピークは40歳台から50歳台と報告されている。また、高齢発症のHAM患者は進行が早いことが経験的に知られているほか、Nakagawaらの報告でも指摘されている。HAMの臨床症状については今までに多くの報告があるが、臨床症状の進行具合は個人によってかなり差があり、どのような患者が進行しやすいかその特徴につ

いて未だ不明である。

HTLV-1感染はその多くが母児感染であると考えられているが、感染から発症までなぜそれほどの期間を要するのか、なぜわずか3%前後のHTLV-1キャリアにしか発症しないのか、なぜ女性に多いのかいづれも依然不明である。輸血後間もないHAM発症の報告は、母乳感染における乳児の免疫反応と、後天的に感染した場合の免疫反応の違いを示唆している可能性があるが、母児感染と水平感染の違いがHAMの発症や臨床症状に差を生じさせているのか不明である。また、HAMの進行速度やその特徴について男女別に多数症例を用いて比較検討した報告もない。そこで、今回我々は連続入院HAM患者124名の臨床データを、男女別あるいは臨床症状の違いで比較することでそれらの関連性について検討

した。

## B. 研究方法

過去十年間に鹿児島大学病院に入院した連続入院HAM患者124例についてカルテを用いてその臨床症状を解析した。

### (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IRBによって認可されている。

## C. 研究結果

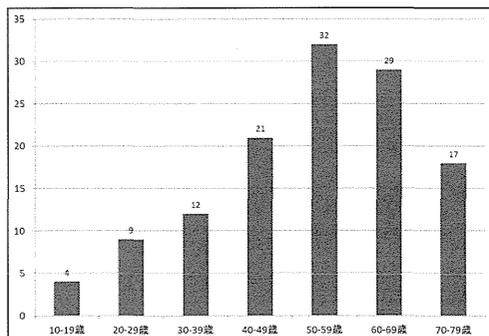
### 1. 対象患者背景

男/女	31/93
年齢 (mean ± s.d., range)	61.8 ± 12.5 (15-83)
発症時年齢 (mean ± s.d., range)	51.6 ± 15.9 (13-78)
観察期間 (mean ± s.d., range)	10.2 ± 9.6 (0-45)

### 2. 男女別患者背景

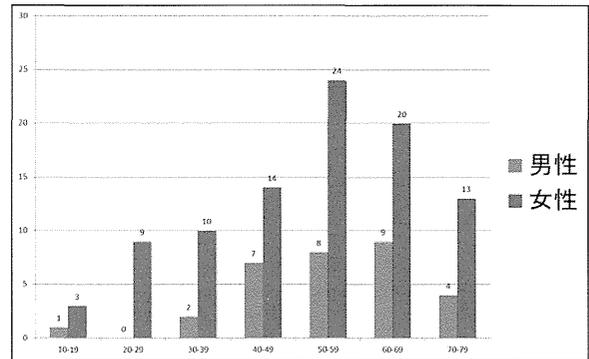
	男性 (N=31)	女性 (N=93)	P
年齢 (mean ± s.d., range)	62.7 ± 12.5	61.5 ± 12.6	NS
発症年齢 (mean ± s.d., range)	54.8 ± 13.7	50.6 ± 16.5	NS
観察期間 (mean ± s.d., range)	7.9 ± 8.8	11.0 ± 9.8	0.129

### 3. 発症年齢

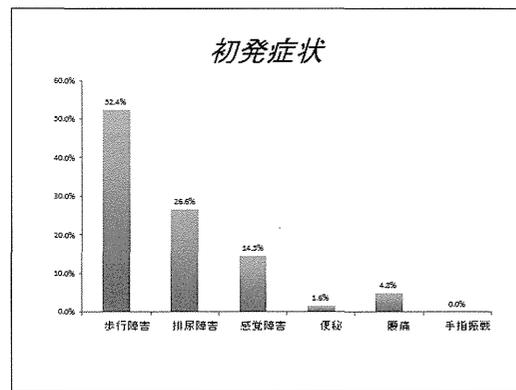


### 7. 男女別の検査値の比較

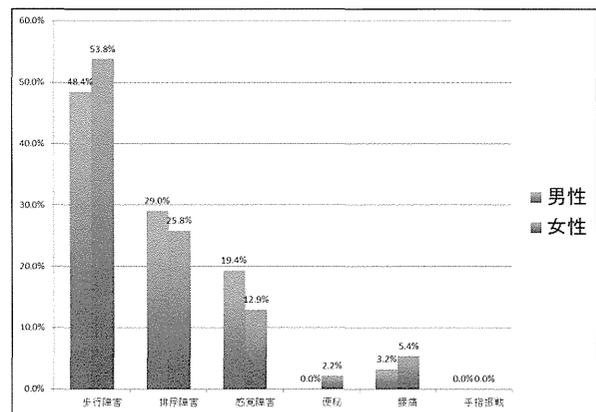
### 4. 男女別にみた発症年齢



### 5. 初発症状



### 6. 男女別にみた初発症状



Anti-HTLV-1 titer*	Serum (mean ± s.d., range)	31,009 ± 36,075 (256-131,072) (N=109)	28,087 ± 33,599 (N=28)	32,019 ± 37,039 (N=75)	NS
	CSF (mean ± s.d., range)	672 ± 1274 (4-8,192) (N=111)	601 ± 1,089 (N=28)	696 ± 1336 (N=83)	NS
CSF test	Cell count (/mm <sup>3</sup> ) (mean ± s.d., range)	5.7 ± 10.0 (1-82) (N=109)	8.2 ± 18.4 (N=28)	4.9 ± 5.3 (N=81)	NS
	Protein (mg/dl) (mean ± s.d., range)	42.5 ± 19.3 (18-127) (N=109)	48.7 ± 22.1 (N=28)	40.4 ± 17.8 (N=81)	0.049
	Neopterin (pmol/ml) (mean ± s.d., range)	38.3 ± 56.8 (4-321.7) (N=35)	38.8 ± 20.1 (N=7)	38.1 ± 63.0 (N=28)	NS
HTLV-1 Proviral load (copies/104 PBMC), (mean ± s.d., range)		968 ± 1746 (3-13,329) (N=101)	1,000 ± 1,202 (N=26)	957 ± 1,905 (N=75)	NS

### 8. 急速進行例の割合

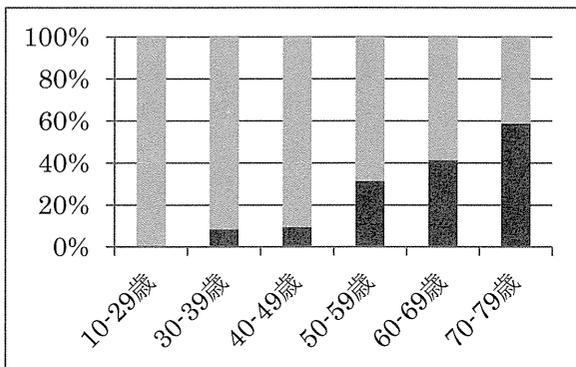
<b>N=124</b>	
全体における急速進行例の割合	35 (28.2%)
発症から車椅子までの年数 (mean ± s.d., range)	1.5 ± 0.9 (N=13)

\*急速進行例(赤): 2年間でOMDSが3段階以上進行した患者。

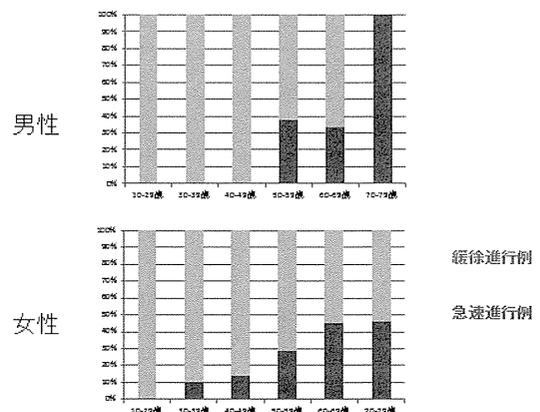
### 9. 男女別にみた急速進行の割合

	男性 (N=31)	女性 (N=93)	P
急速進行群	10 (32.3%)	25 (26.9%)	NS
納の運動機能障害度 mean, median, range	5.0, 5.0 (2-9)	5.4, 5.0 (0-11)	NS
Grade 6以上	9 (29.0%)	29 (31.2%)	NS
観察期間 (mean ± s.d., range)	7.9 ± 8.8	11.0 ± 9.8	0.129
発症から車イスまでの 年数 (mean ± s.d., range)	9.8 ± 7.9 (N=9)	10.0 ± 11.2 (N=29)	NS

### 10. 年齢による急速進行例の割合の増加



### 11. 男女別に見た年齢別急速進行例の割合



## 12. 急速進行例と緩徐進行例の比較

	急速進行群	緩徐進行群	P
HTLV-1抗体価 (PA法)			
血清中抗体価 (mean ± s.d., range)	31,894 ± 36,845 (N=34)	30,608 ± 35,965 (N=75)	N5
髄液中抗体価 (mean ± s.d., range)	1,251 ± 1,800 (N=34)	416 ± 852 (N=77)	0.014
Provirus量 (copies/10 <sup>6</sup> PBMC) (mean ± s.d., range)	370 ± 327 (N=32)	1,245 ± 2,046 (N=69)	<0.001
髄液			
細胞数 (/mm <sup>3</sup> ) (mean ± s.d., range)	11.6 ± 16.6 (N=34)	3.2 ± 3.5 (N=75)	<0.001
蛋白 (mg/dl) (mean ± s.d., range)	55.3 ± 24.3 (N=34)	36.7 ± 13.0 (N=75)	<0.001
ネオプテリン (pmol/ml) (mean ± s.d., range)	74.9 ± 107.9 (N=8)	27.4 ± 23.4 (N=27)	0.255

### 結果のまとめ

- HAM 連続 124 症例の男女比はおよそ 1:3 と女性が多かった。
- 男女の発症年齢は有意差がなくむしろ男性が高い傾向が見られた。
- 年齢別にみた傾向でも女性がより高齢で発症をしている傾向はなかった。
- 発症年齢が高くなるにつれ急速に進行する患者が増加した。
- 急速進行例は男女どちらにも同じ程度見られ、むしろ男性に多い傾向が見られた。
- 年齢別に見た急速進行例の割合を男女別に比較しても女性高齢者がより急速進行例が多いことはなかった。むしろ男性高齢者のほうが急速進行例が多い傾向がみられた。
- 急速進行群は、緩徐進行群と比べ血清中 HTLV-1 抗体価に差はなかったが、髄液中細胞数、蛋白濃度、髄液中 HTLV-1 抗体価が高く、末梢血中 HTLV-1PVL が逆に低かった。

### D. 結論

HTLV-1 の感染は母児感染が基本とかがえられてきたが、最近水平感染による感染の関与が問題視されるようになってきた。母児感染と、輸血感染や水平感染では非感染者の免疫学的寛容に大きな差があることが想像される。よって性行為感染による水平感染は、

女性発症者をより増やし、強い免疫応答による高い疾患活動性の HAM を発症させる可能性もある。しかしながら、今回の検討では女性発症者と男性発症者の発症年齢、病気の経過 (急速進行・緩徐進行)、いづれにも男女の差は見られなかった。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Furukawa Y, Hashiguchi T, Minami R, Yamamoto M, Takashima H. Exacerbation of microcytic anemia associated with cessation of anti-retroviral therapy in an HIV-1-infected patient with beta thalassemia. *J Infect Chemother.* 2014 Jun;20(6):387-9.
2. Nozuma S, Matsuura E, Matsuzaki T, Watanabe O, Kubota R, Izumo S, Takashima H. Familial clusters of HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *PLOS ONE.* 2014;9(5):e86144.
3. Ohkawa T, Satake S, Yokoi N, Miyazaki Y, Ohshita T, Sobue G, Takashima H, Watanabe O, Fukata Y, Fukata M. Identification and characterization of GABA(A) receptor autoantibodies in autoimmune encephalitis. *J Neurosci.* 2014;34(24):8151-63.
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/γcnul (NOG) mice. *Retrovirology.* 2014;11(1):74.
5. Maeda K, Idehara R, Hashiguchi A,

- Takashima H. A family with distal hereditary motor neuropathy and a K141Q mutation of small heat shock protein HSPB1. Intern Med. 2014;53(15):1655-8.
6. Hashiguchi A, Takashima H et al. Neurofilament light mutation causes hereditary motor and sensory neuropathy with pyramidal signs J Peripher Nerv Syst. In press
  7. Eiji Matsuura, Ryuji Kubota, Yuetsu Tanaka, Hiroshi Takashima and Shuji Izumo. Visualization of HTLV-1 Specific Cytotoxic T Lymphocytes in the Spinal Cords of Patients With HTLV-1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis. J Neuropathol Exp Neurol. 2015 ;74(1):2-14.
  8. 松浦英治 高嶋博 HTLV-1 関連脊髄症 別冊 BIO Clinica 慢性炎症と疾患 3(1), p.29-35, 2014 年
  9. 松浦英治 出雲周二 HTLV-1 associated myelopathy (HTLV-1 関連脊髄症; HAM)－日常臨床における HTLV-1 の理解と HAM 診断のピットフォール－脊椎脊髄ジャーナル 27(8), p.747-753, 2014 年
2. 学会発表
1. エクソーム解析による HAM 疾患感受性遺伝子の探索 Exome sequencing identifies novel rare variants in HAM/TSP 野妻智嗣, 松浦英治, 久保田龍二, 児玉大介, 松崎敏男, 渡邊 修, 三井純, 石浦浩之, 高橋祐二, 山野嘉久, 森下真一, 辻省次, 出雲周二, 高嶋 博 2014 年 5 月 21 日 第 55 回日本神経学会 福岡市
  2. 過去 10 年間に当科に入院した HAM 患者 144 人の筋力低下パターンの検討 松浦英治, 野妻智嗣, 松崎敏男, 渡邊 修, 久保田龍二, 出雲周二, 高嶋 博 2014 年 5 月 21 日 第 55 回日本神経学会学術集会 福岡市 (ポスター)
  3. HTLV-1 関連脊髄症の疾患活動性と発症年齢の関係 －HAM は発症年齢が高いほど急速進行する－ 松浦英治, 大窪隆一, 渡邊 修, 高嶋 博 2014 年 6 月 14 日 第 51 回日本老年医学会 福岡市 (口演)
  4. Clinical manifestation and disease course of the patient with HAM/TSP Eiji Matsuura, Satoshi Nozuma, Osamu Watanabe, Hiroshi Takashima 2014 年 7 月 10 日 13th ICNMD, Nice, France (ポスター)
  5. 次世代シーケンサーによる HAM 疾患感受性遺伝子の探索 野妻智嗣, 松浦英治, 久保田龍二, 児玉大介, 松崎敏男, 渡邊 修, 三井純, 石浦浩之, 高橋祐二, 山野嘉久, 森下真一, 辻省次, 出雲周二, 高嶋 博 2014 年 8 月 23 日 第 1 回 HTLV-1 学会 東京都 (口演)
  6. 過去 10 年間に当科に入院した連続 HAM 患者の筋力低下パターン 松浦英治, 野妻智嗣, 松崎敏男, 渡邊 修, 久保田龍二, 出雲周二, 高嶋 博 2014 年 9 月 6 日 第 19 回神経感染症学会学術集会 金沢市 (口演)
- 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

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 感染細胞における表面分子の探索

研究分担者 久保田龍二 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科難治ウイルス研

研究要旨

HAM では HTLV-1 プロウイルス量が高いが、流血中の感染細胞はウイルス蛋白をほとんど産生しないため感染細胞の同定は困難である。生体内 HTLV-1 感染細胞特異的分子が同定されれば、臨床的に症状の把握や治療効果判定に有用であると考えられる。我々は末梢血リンパ球を短時間培養後、表面に発現した Env 蛋白を検出することで生きた感染細胞を同定する方法を確立した。この方法を用いて感染細胞特異的分子を同定することを目的とした。HAM 患者および HTLV-1 非感染者の末梢血リンパ球を短時間培養後、抗 Env 抗体を用いて感染細胞を同定した。感染 CD4+Env+細胞を分取し RNA を抽出後、マイクロアレイ解析を行った。確認試験を行い、生体内 HTLV-1 感染細胞に比較的特異的分子である IL2RA、CCR4、CADM1 を同定した。しかし、これらは過去に報告された分子であった。また、これらの分子は非感染細胞にも低頻度であったが発現を認めた。今後、生体内 HTLV-1 感染細胞により特異度の高い表面分子の同定が必要と考えられた。

A. 研究目的

HAM では HTLV-1 プロウイルス量が高いが、流血中の感染細胞はウイルス蛋白をほとんど産生しないため感染細胞の同定は困難である。生体内 HTLV-1 感染細胞特異的分子が同定されれば、臨床的に症状の把握や治療効果判定に有用であると考えられる。現在までに感染細胞に比較的特異的な表面分子として、CD25、CCR4、CADM1 分子等が報告されているが、これらの分子は非感染正常細胞にも発現が認められ、より特異的な感染細胞特異的分子の同定が必要である。

我々は末梢血中 HTLV-1 感染細胞を短時間培養することで、表面に発現した

Env 蛋白を検出することで生きた状態で感染細胞を同定する方法を確立した。この方法を用いて感染細胞を分離後マイクロアレイ解析を行い、感染細胞特異的分子を同定することを目的とした。

B. 研究方法

2例の HAM 患者および4例の HTLV-1 非感染者の末梢血リンパ球 (PBMC) を用いた。PBMC を 18 時間培養後、抗 Env 抗体カクテルを用い感染細胞を同定した。Bio-Rad S3 セルソーターを用いて HAM 患者 PBMC より CD4+Env+細胞を分取し、非感染者 PBMC より CD3+CD4+細胞を分取した。各検体より total RNA を

抽出後、Agilent 社の 60K フォーマットスライドを用いてマイクロアレイ解析を行った。発現が亢進していた細胞表面分子の内、正常非活性化 T リンパ球に少量またはほとんど発現していない分子を選択し、先のマイクロアレイで用いたのとは別の 3 例の HAM 患者 PBMC および 3 例の非感染者 PBMC を非培養下で染色し、フローサイトメトリーにて細胞表面の発現を確認した。

(倫理面への配慮)

臨床検体採取にあたっては、インフォームドコンセントのもとに採血を行った。サンプルは匿名化して用いた。本研究は鹿児島大学倫理委員会の承認を得て行った。

### C. 研究結果

8 時間培養後の HAM 患者 PBMC の抗 Tax 抗体による細胞内染色による HTLV-1 感染細胞の検出と、18 時間培養後の細胞表面の Env 蛋白染色による感染細胞の検出を図 1 に示す。後者の方法で生きた状態の感染細胞の検出が可能となった。この条件でセルソーターを用い感染 CD4+Env+細胞を分取した(図 2)。また、非感染者の PBMC より CD3+CD4+細胞を分取した(図 2)。RNA 抽出後、マイクロアレイを行った。発現の標準化後、正常 CD3+CD4+リンパ球と比べ HAM 患者感染細胞で 2 倍以上発現が上昇している分子を抽出し 5563 遺伝子を同定した。この内、細胞表面に発現している分子を抽出し 131 遺伝子を得た。さらにこの内、細胞表面のレセプターや接着因子等を抽出し 86 遺伝子を同定した(表 1)。

この内で正常非活性化 T リンパ球には少量またはほとんど発現していない分子を 13 個選択し(TFRC、IL2RA、SDC4、CDH1、CCR4、ICAM4、DSCAML1、CADM1、CRTAM、4-1BB、PDL1、CD70、BTLA)、フローサイトメトリーを用いて、非培養 PBMC で発現の確認を行った。これらの表面分子の内、HAM 患者 CD4+リンパ球に比較的特異的に発現しているものは、IL2RA、CCR4、CADM1 であったが、HTLV-1 非感染の CD4+リンパ球にも IL2RA、CADM1 は 5%前後、CCR4 は 10%前後陽性であった(図 4)。

### D. 考察

今回の研究では、生体内の HTLV-1 感染細胞に比較的特異的に発現している分子は IL2RA、CCR4、CADM1 であり、過去の報告と一致していた。しかし、目的である感染細胞により特異度の高い新たな表面分子の同定には至らなかった。今回の方法では感染細胞をウイルス蛋白を用いて同定するために短時間培養を行ったが、このことでウイルス遺伝子の活性化が起こり、活性化以前の生体内の感染細胞の状態と比べ、かなり多くの遺伝子の発現亢進が起こったものと考えられた。実際 SDC4 や CDH1 の様に培養後は高発現であっても、非培養の HAM 患者 PBMC ではほとんど発現を認めない分子も多数認めた(図 3)。ウイルス蛋白による多数の宿主遺伝子の発現増強のため、バックグラウンドが上昇し、生体内感染細胞に特異的な分子の同定を困難にしている可能性がある。今後は既に知られている比較的特異的に発現している分子で

ある CCR4 や CADM1 をリードとし、培養しない状態での細胞でマイクロアレイ解析が必要と考えられた。

#### E. 結論

末梢血中 HTLV-1 感染細胞を短時間培養することで、生きた感染細胞を検出できるようになった。マイクロアレイ解析では感染細胞に比較的特異的表面分子を 3 個同定した。しかし、非感染細胞にも低頻度であったが発現を認めた。感染細胞を非培養下でエンリッチしマイクロアレイ解析を行い、生体内 HTLV-1 感染細胞により特異性の高い表面分子の同定が必要と考えられた。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Nozuma S, Matsuura E, Matsuzaki T, Watanabe O, Kubota R, Izumo S, Takashima H: Familial clusters of HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. PLoS One. 9(5):e86144, 2014

2) Matsuura E, Kubota R, Tanaka Y, Takashima H, Izumo S. Visualization of HTLV-1-specific cytotoxic T lymphocytes in the spinal cords of patients with HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. J Neuropath Exp Neurol. 74(1): 2-14, 2015

##### 2. 学会発表

1) 久保田龍二、松崎敏男、高嶋 博、出雲周二：HAM における HTLV-1

HBZ 特異的 CTL の検出。第 55 回日本神経学会学術大会。2014 年 5 月 福岡

2) 児玉大介、出雲公子、久保田龍二、松崎敏男、高嶋 博、出雲周二：HTLV-1 感染細胞のウイルスアセンブリは N-アセチルラクタミンとガレクチン-3 である。第 55 回日本神経学会学術大会。2014 年 5 月 福岡

3) 松浦英治、野妻智嗣、松崎敏男、渡邊修、久保田龍二、出雲周二、高嶋博：HAM 患者の筋力低下パターンの検討。第 55 回日本神経学会学術大会。2014 年 5 月 福岡

4) 野妻智嗣、松浦英治、松崎敏男、渡邊修、久保田龍二、出雲周二、高嶋博：エクソーム解析による HAM 疾患感受性遺伝子の探索。第 55 回日本神経学会学術大会。2014 年 5 月 福岡

5) 久保田龍二、齊藤峰輝、高嶋 博、出雲周二：HAM における HTLV-1 抗原遺伝子変異と CTL 認識。第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会。2014 年 8 月、東京。

6) 久保田龍二、松崎敏男、高嶋 博、出雲周二：HTLV-1 HBZ 特異的 CTL のエピトープ同定と HAM における検出。第 19 回日本神経感染症学会学術集会。2014 年 9 月、金沢

#### 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

特記事項なし。

図 1. 短時間培養後の HAM 患者 PBMC の感染細胞検出

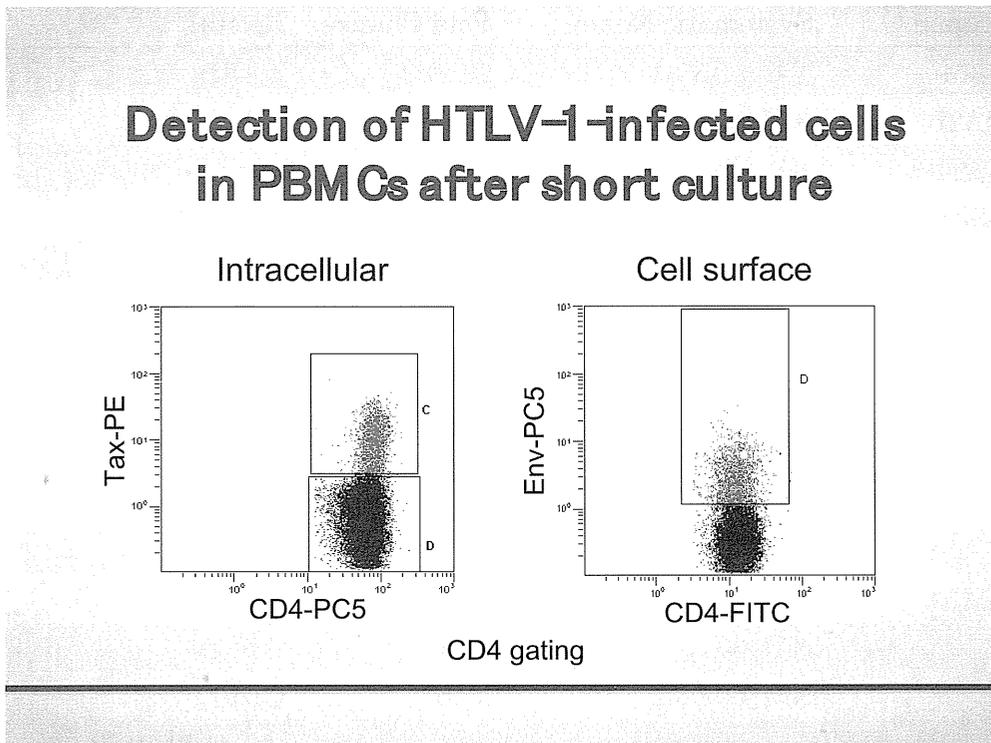


図 2. Env 陽性感染細胞および非感染 CD3+CD4+細胞の分取

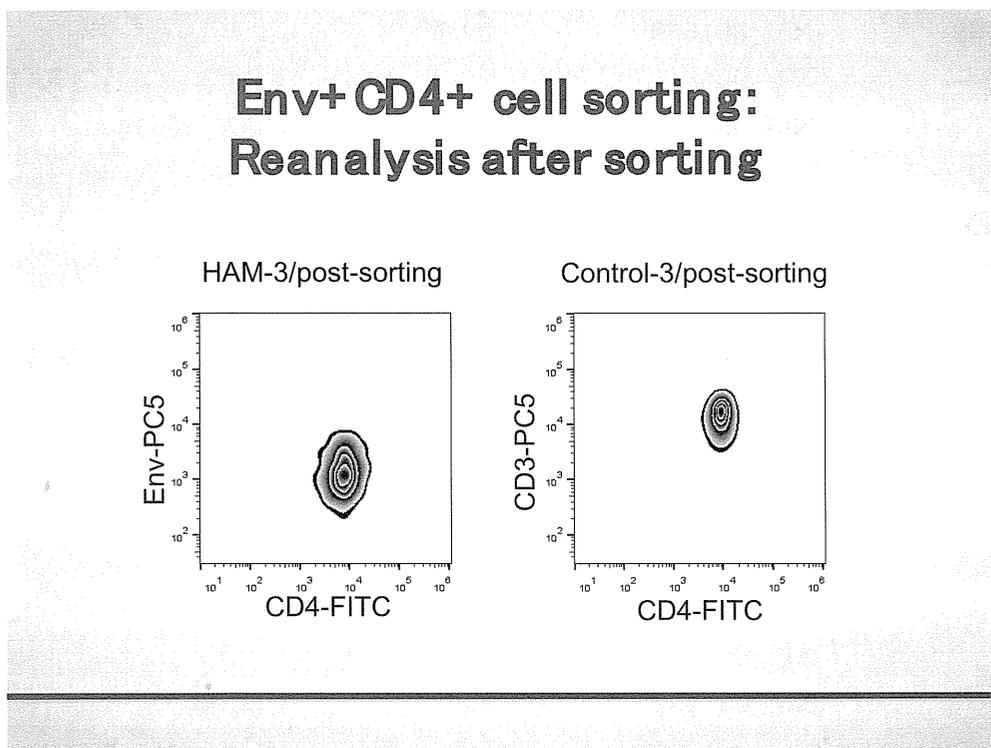


表 1. 培養後 HAM 患者感染細胞で正常細胞より 2 倍以上発現亢進している表面分子

Gene Name	Systematic Name	Fold Change	Recital
TNFRSF9	NM_001561	1550.3	4-1BB; CD137
ADORA2B	NM_000676	432.2	
TNFRSF18	NM_148901	89.4	GITR; CD357
TNFRSF8	NM_001243	86.3	CD30; Ki-1
TFRC	NM_003234	73.5	CD71
CADM1	NM_014333	73.2	TSLC1; SYNCAM
ICAM1	NM_000201	65.8	CD54
TNFRSF4	NM_003327	54.3	OX40;CD134
CD274	NM_014143	51.0	CD274, PDL1
IL2RA	NM_000417	44.9	CD25
SDC4	NM_002999	40.4	SYND4
DSCAML1	NM_020693	39.9	
CDH1	NM_004360	38.1	CD324
LRP1	NM_002332	37.6	CD91
CCR8	NM_005201	36.5	CDw198
ICAM4	NM_022377	36.3	CD242, LFA1 ligand
CD83	NM_004233	35.3	CD83
IL12RB2	NM_001559	29.7	
TNFSF9	NM_003811	27.1	CD137L; 4-1BB-L
CD70	NM_001252	26.2	CD70, Ki-24
CRTAM	NM_019604	18.8	CD355, CADM1 receptor
TNFSF11	NM_003701	17.5	CD254
MCAM	NM_006500	17.4	CD146; MUC18
ALCAM	NM_001627	14.5	CD166
SEMA7A	NM_003612	14.4	CD108
CD302	NM_014880	12.2	CD302
IL15RA	NM_172200	10.7	CD215
FGFR3	NM_000142	10.4	CD333
CD200	NM_001004196	10.1	CD200
CD82	NM_002231	9.8	CD82
OXTR	NM_000916	8.9	
CCR6	NM_031409	8.3	CD196
CD9	NM_001769	7.5	CD9
IL21R	NM_181078	7.4	CD360

BTLA	NM_181780	6.9	CD272
TNFSF8	NM_001244	6.5	CD153
CD97	NM_078481	6.4	CD97
CCR4	NM_005508	6.2	CD194
CD69	ENST00000416624	6.1	CD69
IL4R	ENST00000380922	6.1	CD124
CD2	ENST00000369477	6.1	CD2, LFA-2
CXCR7	NM_020311	6.1	
CD40LG	NM_000074	6.0	CD154
CXCR5	NM_032966	5.6	CD185
IL3RA	NM_002183	5.6	CD123
CD58	NM_001779	5.4	CD58, LFA3
NGFR	NM_002507	5.4	CD271
TNFSF14	NM_003807	5.4	CD258
KLRD1	NM_002262	5.2	CD94
CD74	NM_001025158	5.0	CD74
LAIR2	NM_002288	5.0	CD306
CD109	NM_133493	4.5	CD109
TNFRSF1B	NM_001066	4.3	CD120b
IL28RA	NM_170743	4.2	
CTAG1A	NM_139250	4.2	ESO1
CD80	NM_005191	4.1	B7-1; CD28LG
BST2	ENST00000252593	4.1	CD317
FASLG	NM_000639	4.0	CD178
FGFR1	NM_001174066	3.9	CD331
IL6R	NM_001206866	3.4	CD126
IL18R1	NM_003855	3.4	CD218a
ADORA2A	NM_000675	3.4	
CTLA4	NM_005214	3.3	CD152
CD86	NM_006889	3.2	CD86, B70;CD28LG2
CD55	NM_000574	3.2	CD55
CD38	NM_001775	3.2	CD38
CD63	NM_001040034	3.1	CD63, LAMP-3
ITGB1	NM_133376	3.1	CD29
CD59	NM_203330	3.1	CD59
CD19	NM_001770	3.0	CD19, B4

CD226	NM_006566	2.9	CD226
KIR3DL1	NM_013289	2.8	CD158E1
TNFSF10	NM_003810	2.8	CD253
IL2RG	NM_000206	2.5	CD132
ITGA1	NM_181501	2.4	VLA1; CD49a
IL1R1	NM_000877	2.4	CD121A
CD44	NM_000610	2.3	CD44, MIC4
TICAM1	NM_182919	2.3	MyD88-3
TNFRSF10B	NM_003842	2.3	CD262
CCR10	NM_016602	2.2	
CD40	NM_001250	2.2	CD40
CD3EAP	NM_012099	2.1	CD3e
IL2RB	NM_000878	2.1	CD122
CXCR3	NM_001504	2.1	CD182, CD183, CXCL10 ligand

図 3. 非培養 PBMC での各種表面分子の発現

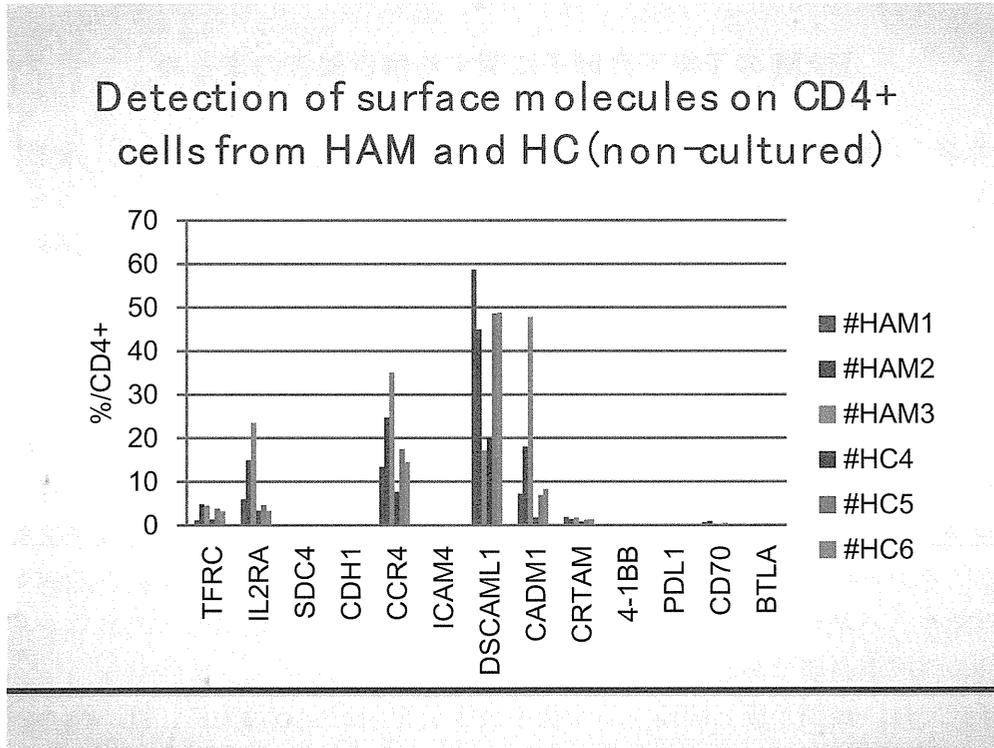
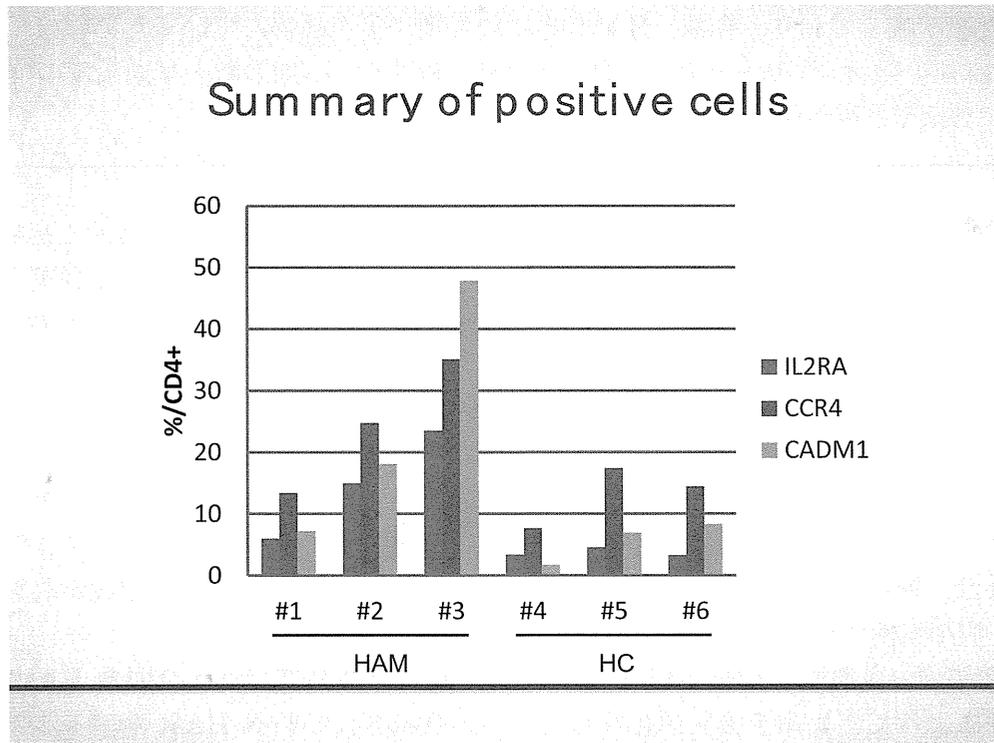


図 4. HAM で比較的発現亢進している表面分子



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 の予後不良因子に関する解析報告のまとめ

研究分担者 山野嘉久 聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター 准教授  
研究協力者 高田礼子 聖マリアンナ医科大学 予防学教室 教授  
八木下尚子 聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター 講師  
鈴木弘子 聖マリアンナ医科大学病院 難病相談

研究要旨：

HTLV-1 関連脊髄症（HAM）は、HTLV-1 感染細胞に起因する脊髄の慢性炎症性疾患であり、脊髄炎の遷延により神経組織が破壊されることで重篤な機能障害を呈し、QOL の著しい低下をきたす。したがって HAM の最終的な治療目標は長期予後の改善であり、その目標を念頭に診療指針を確立していくためには、長期予後と関連する予後不良因子、バイオマーカー、治療内容、合併症などを明らかにし、それらを考慮した指針の作成が必要である。

本研究では、長期予後と関連する予後不良因子を同定するために、「HAM ねっと」に登録された全国の HAM 患者（297 名）についての前向き追跡調査結果から、予後関連データについて抽出した。その結果、HAM において「発症早期の高い疾患活動性が重要な予後不良因子である」ことが示された。これは、HAM の診療において、早期診断、発症早期の疾患活動性の評価、疾患活動性の高い患者への早期治療介入の重要性を示唆しており、今後、HAM 患者の長期予後を改善していくためには、疾患活動性判定バイオマーカーの確立に関する研究の推進や、早期診断・早期治療の実現に向けた啓蒙や診療体制の充実が重要である。

A. 研究目的

HTLV-1 関連脊髄症（HAM）は、HTLV-1 感染細胞に起因する脊髄の慢性炎症性疾患であり、眼や肺、筋肉など多臓器に病変が波及しうる全身性疾患である。また、脊髄炎の遷延により神経組織が破壊されることで重篤な機能障害を呈し、QOL の著しい低下をきたす。さらに HAM が進行すれば、神経因性膀胱の進行による尿路感染症や転倒による骨折、肺炎、褥瘡、成人 T 細胞白血病リンパ腫（ATL）などの合併によって、生命予後も悪化する可能性がある。

したがって HAM の最終的な治療目標は、脊髄破壊の抑制を介する長期予後の改善であり、特に身体機能障害の防止と生命予後の改善と考えられる。

その目標達成に向けた診療指針を確立していくためには、長期予後や生命予後と関連する予後不良因子、バイオマーカー、治療内容、合併症などを明らかにし、それらを考慮した指針の作成が必要である。

そこで本研究では、全国の HAM 患者が登録されている HAM 患者レジストリ（HAM ねっと）の既報告データから、長

期予後関連因子について抽出し、また今後の解析方針について検討した。

## B. 研究方法

全国で HAM と診断された患者を対象とする HAM 患者登録サイト「HAM ネット」(<http://hamtsp-net.com/>)を、平成 24 年 3 月から開設している。HAM ネットに登録され、年 1 回の電話での聞き取り調査を平成 24 年度と平成 25 年度にわたり参加した 297 名の患者データについて解析した結果から、長期予後との関連データについて抽出した。なお、聞き取り調査での質問内容は以下の通りである。

A) 患者の属性(氏名、生年月日、出身地、診断時期、発症時期、家族構成、家族歴、既往歴、合併症の有無等)。尚、家族歴については、配偶者、第 1 度近親者(父母、兄弟、姉妹、子供)、第 2 度近親者(祖父母、おじ・おば、甥・姪、孫)に分類して聞き取りを行った。

B) 生活環境および生活状況(同居家族職業、雇用形態、公的支援受給状況、各種制度への加入状況、障害者手帳の受領状況等)

C) IPEC-1(高いほど歩行障害度が高い)

D) 納の運動障害重症度:OMDS(0~13、高いほど運動障害度が高い)。OMDS の経年変化を評価する際はグレード 1 から 2 および 2 から 1 への変動は「変化なし」とした。

E) OABSS(過活動膀胱症状質問票、0~15 点、高いほど悪い)

F) ICIQ-SF(尿失禁 QOL 質問票、0~21 点、高いほど悪い)

G) I-PSS(国際前立腺症状スコア、0~35 点、高いほど悪い)

H) N-QOL(夜間頻尿 QOL 質問票、100 点満点、各質問項目の素点(0~4 点)は高いほど QOL が低い。ただし、総得点は

各質問回答の点数を反転し、最も高い QOL が 100 点になるよう算出されており、総得点が高いほど QOL が高くなる)

I) HAQ(関節リウマチの生活機能評価、Health Assessment Questionnaire、HAQ-DI(Disability Index)は、8 項目(着衣と身繕い、起立、食事、歩行、衛生、動作、握力、その他)に分類された 20 設問に 0~3 点で回答し、各項目の中の最高点を求め、その平均点を算出する。点数が高いほど身体機能障害が重症となる)

J) SF-36(健康関連 QOL 尺度 MOS 36 Item Short-Form Health Survey、8 つの下位尺度特典について、日本人の国民標準値を 50、標準偏差を 10 としたスコアリング得点)

K) 服薬治療状況:ステロイド内服、ステロイドパルス、インターフェロンの投薬状況について、初回調査時点(1 年目)の投薬状況と、2 年目調査時点でのそれぞれ 1 年分の服薬治療状況。

L) その他 HAM の症状、および治療状態 HAM の初期症状や症状発現時の年齢、発症要因と思われる事項(輸血歴等)等も含む)。

### (倫理面への配慮)

本研究は、聖マリアンナ医科大学の生命倫理委員会で承認された(承認番号:第 2044 号)同意書を用いて、参加に伴う不利益や危険性の排除等について説明し、書面による同意を得た。

## C. 研究結果

### (1) HAM 登録患者の属性

表 1 に登録患者の属性を示した。計 297 名の性別は、男性 25.9%、女性 74.1%であり、平均年齢は 63.2(±10.6)歳であった。平均発症年齢は 44.2(±14.8)歳、平

均診断年齢は 51.3 (±13.0) 歳で、発症から診断までに平均で 7.1 (±7.2) 年が経過していた。平均罹病期間は 18.9 (±10.7) 年であった。初発症状としては歩行障害が全体の 81.5%と最も多く、次いで排尿障害 (36.0%)、下肢の感覚障害 (13.8%) であった。

登録患者の中で、第 2 度近親者以内に HAM の家族歴がある者は全体の 9.1%、ATL 家族歴は 5.7%であった。また、輸血歴がある者は全体の 21.7%であり、そのうち 1986 年以前の輸血歴が大部分を占めた (表 1)。

歩行障害以外の HAM の症状および治療状況については、排尿および排便障害に対する投薬治療の割合が最も多かった。足のしびれは 50.5%の患者が常にあり、足の痛みについては 24.2%の患者が常にありと回答していた (表 1)。

### (2) 死亡した HAM 登録患者の属性

表 2 は第 1 回調査から 1 年後に行った第 2 回調査の際に、死亡が確認された HAM 登録患者 5 名の属性である。このうち男性は 2 名、女性は 3 名であり、第 1 回調査時の平均年齢は 72.0 (±11.0) 歳、死亡年は全員が 2013 年、死因は膀胱癌、肺炎、大腸癌、食道癌、老衰 (各 1 名) であった。

### (3) 急速進行性 HAM 患者の特徴

運動障害発現から OMDS のグレード 6 への移行年数が 2 年以下 (表 3)、及びグレード 5 までの移行年数が 2 年以下 (表 7) を「急速進行群」の HAM 患者とし、それぞれの属性について「非急速進行群」との比較を行った。グレード 6 への移行年数が 2 年以下 (表 3) の「急速進行群」に該当する患者は 15 名 (女性 9 名、男性 6 名) であり、「非急速進行群」に比べ運

動障害発現年齢、診断年齢、2 回目調査時の OMDS、HAQ-DI が有意に高く、発症から診断までの年数、罹病期間が有意に短かった。

運動障害発現から OMDS のグレード 5 までの移行年数が 2 年以下 (表 4) に該当する患者は 54 名 (女性 42 名、男性 12 名) であり、グレード 6 への急速進行性患者同様、「非急速進行群」に比べ運動障害発現年齢、診断年齢、2 回目調査時の OMDS、HAQ-DI が有意に高く、発症から診断までの年数、罹病期間が有意に短かった。ただし、グレード 5 への急速進行性患者は輸血歴の有無、年齢において当該非急速進行群との間に有意な差が見られた。

## D. 考案

本研究では、平成 24 年度に HAM 患者登録システム (HAM ねっと) に登録された全国の HAM 患者のうち、平成 24 年度に 1 回目調査を実施・報告した患者 (n=304) を対象として、1 回目調査の 1 年後に実施した 2 回目調査 (平成 25 年度) においても前向きに追跡調査可能であった 297 名の患者情報をもとに、HAM の臨床的特徴と予後関連情報について抽出した。

平成 24 年度の解析対象であった 304 名の患者のうち、1 年間で 5 名の患者が亡くなっており、その平均年齢は 72.0 (±11.0) 歳であり、死因はいずれも HAM と直接的な関連性に乏しいものであった。今回の結果からは症例数が少ないため生命予後関連因子の解析は出来ないが、HAM 患者を死亡まで追跡した全国的な調査データはこれまで存在せず、全国的な疫学調査システムである HAM ねっとを利用することで、今後、HAM 患者の生命予後に関する正確かつ貴重な情報が集

積できる可能性が示唆された。

今回、前向き の 2 年連続で追跡調査可能であった HAM 患者 (n=297) の属性は、平均年齢 63.2(±10.6) 歳、男性 25.9%、女性 74.1% であり、平均発症年齢は 44.2 (±14.8) 歳、平均診断年齢は 51.3 (±13.0) 歳で、発症から診断までの期間は平均 7.1 (±7.2) 年、平均罹病期間は 18.9 (±10.7) 年であった。また、発症後 2 年以内にグレード 6 (両手杖歩行レベル以上) あるいはグレード 5 (片手杖歩行レベル以上) に進行している急速進行性の患者の割合は、5.1% あるいは 18.8% であり、これらの患者は、運動障害発現年齢、診断年齢、調査時の OMDS、HAQ-DI が有意に高く、発症から診断までの年数、罹病期間は有意に短く、HAM は、「発症早期の高い疾患活動性が重要な予後不良因子である」ことが明らかとなった。これらの結果は、HAM の診療において、早期診断、発症早期の疾患活動性の評価、疾患活動性の高い患者への早期治療介入の重要性を示唆しており、HAM 患者の長期予後改善には、疾患活動性判定バイオマーカーの確立に関する研究の推進や、早期診断・早期治療の実現に向けた啓蒙や診療体制の対策が極めて重要であると考えられた。

## E. 結論

本研究では、長期予後と関連する予後不良因子を同定するために、「HAM ねっと」に登録された全国の HAM 患者 (297 名) についての前向き追跡調査結果から、予後関連データについて抽出した。その結果、HAM において「発症早期の高い疾患活動性が重要な予後不良因子である」ことが示された。これは、HAM の診療において、早期診断、発症早期の疾患活動性の評価、疾患活動性の高い患者への早期治療介入の重要性を示唆しており、今

後、HAM 患者の長期予後を改善していくためには、疾患活動性判定バイオマーカーの確立に関する研究の推進や、早期診断・早期治療の実現に向けた啓蒙や診療体制の充実が重要である。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1) 著者名：論文名. 雑誌名, 巻 (号) :  
Yamauchi J, Coler-Reilly A, Sato T, Araya N, Yagishita N, Ando H, Kunitomo Y, Takahashi K, Tanaka Y, Shibagaki Y, Nishioka K, Nakajima T, Hasegawa Y, Utsunomiya A, Kimura K, Yamano Y.  
Anti-CCR4 antibody mogamulizumab targets human T-lymphotropic virus type I-infected CD8+ as well as CD4+ T cells to treat associated myelopathy. *J Infect Dis*, 211(2):238-248, 2015.

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.  
HLVL-1 induces a Th1-like state in CD4+CCR4+ T cells. *J Clin Invest*, 124(8):3431-3442, 2014.

Ishihara M, Araya N, Sato T, Saichi N, Fujii R, Yamano Y, Sugano S, Ueda K.  
A plasma diagnostic model of human T cell leukemia virus-1 associated myelopathy Running head: Novel severity grade markers for HAM/TS. *Annals of Clinical and Translational Neurology*, in press

Coler-Reilly A, Ando H, Yamano Y.  
Positive feedback loop via astrocytes causes chronic inflammation in human T lymphotropic virus type 1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *Clinical and Experimental Neuroimmunology*, 5(108-109), 2014.

Kawamata T, Ohno N, Sato K, Kobayashi M, Jo N, Yuji K, Tanosaki R, Yamano Y, Tojo A, Uchimaru K. A case of post-transplant adult T-cell leukemia/lymphoma presenting myelopathy similar to but distinct from human T-cell leukemia virus type I (HTLV- I)-associated myelopathy. *SpringerPlus*, 3:581, 2014.

山野嘉久. HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) . 別冊日本臨牀 新領域別症候群シリーズ 神経症候群 (第 2 版) , 30: 153-156, 2014.

山野嘉久. HTLV-1 の神経障害. 内科, 113(6):1431, 2014.

山野嘉久. HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) の分子病態に基づく治療戦略. 細胞, 46(6):258-261, 2014.

山野嘉久. ヒト細胞白血病ウイルス I 型関連脊髄症. 神経関連感染症 最新医学 別冊, 200-205, 2014.

新谷奈津美, 山野嘉久. HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) に対する分子標的治療薬開発の現状と将来. 血液内科, 68 (1) 30-35, 2014.

山野嘉久. 希少な慢性進行性の神経難病 HAM における治療有効性評価モデルの探索. 臨床評価 別冊, 41(3):504-508, 2014.

## 2. 学会発表

Ishihara M, Araya N, Sato T, Fujii R, Tatsuguchi A, Saichi N, Nakagawa H, Yamano Y, Ueda K. Quantitative membrane proteome profiling to discover therapeutic targets for adult T-cell leukemia (ATL). AACR Annual Meeting 2014, 5-9 April, 2014, San Diego, USA.

余郷麻希子, 大本周作, 向井泰司, 安部宏, 相澤良夫, 高橋利幸, 山野嘉久, 鈴木正彦. 慢性 C 型肝炎に対するインターフェロン療法後に、抗アクアポリリン 4 抗体及び抗 HTLV-1 抗体陽性の脊髄長大病変を呈した 49 歳女性例. 第 210 回日本神経学会関東・甲信越地方会, 2014 年 9 月 6 日, 東京都(千代田区) .

佐藤知雄, 新谷奈津美, 安藤仁, 山内淳司, 國友康夫, 高橋克典, 斎藤祐美, 石川美穂, 八木下尚子, 山野嘉久. HAM における Th1 様異常 T 細胞の発生機構および病態への関与, 第 19 回日本神経感染症学会総会学術集会・第 26 回日本神経免疫学会学術集会合同学術集会, 2014 年 9 月 4 日～6 日, 石川県 (金沢市) .

山内淳司, 新谷奈津美, 安藤仁, Ariella Coler-Reilly, 國友康夫, 高橋克典, 八木下尚子, 佐藤知雄, 宇都宮與, 山野嘉久. HAM における抗 CCR4 抗体療法の有用性および CCR4+CD8+T 細胞の異常に関する検討. 第 19 回日本神経感染症学会総会学術集会・第 26 回日本神経免疫学会学術集会合同学術集会, 2014 年 9 月 4 日～6 日, 石川県 (金沢市) .

山野嘉久, 木村美也子, 八木下尚子, 鈴木弘子, 石川美穂, 小池美佳子, 齊藤 祐美, 新谷奈津美, 佐藤知雄, 高田礼子. HAM 患者登録システム「HAM ねっと」を用いた疫学的解析. 第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会, 2014 年 8 月 22 日～24 日, 東京都(港区) .

佐藤知雄, 井上永介, 新谷奈津美, 高橋克典, 國友康夫, Ariella Coler-Reilly, 山内淳司, 八木下尚子, 山野嘉久. HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) の臨床的評価指標の有用性に関する検討. 第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会, 2014 年 8 月 22 日～24 日, 東京都 (港区) .

新谷奈津美, 佐藤知雄, 安藤仁, 外丸詩野, Ariella Coler-Reilly, 八木下尚子, 山内淳司, 長谷川温彦, 神奈木真理, 田中勇悦, 宇都宮與, 山野嘉久. HTLV-1 による HTLV-1

関連脊髄症 (HAM) 病原性 T 細胞の発生機構の解析. 第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会, 2014 年 8 月 22 日~24 日, 東京都 (港区) .

八木下尚子, 有福厚孝, 菊池崇之, 木村未祐奈, 佐藤健太郎, 石川美穂, 鈴木弘子, 小池美佳子, 齊藤祐美, 新谷奈津美, 佐藤知雄, 木村美也子, 高田礼子, 山野嘉久. HTLV-1 関連脊髄症(HAM)患者登録システム「HAM ねっと」の患者満足度調査. 第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会, 2014 年 8 月 22 日~24 日, 東京都 (港区) .

山内淳司, 新谷奈津美, 安藤仁, 國友康夫, 高橋克典, Ariella Coler-Reilly, 八木下尚子, 佐藤知雄, 宇都宮與, 山野嘉久. HAM における抗 CCR4 抗体療法の有効性および CCR4+CD8+T 細胞の異常に関する検討. 第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会, 2014 年 8 月 22 日~24 日, 東京都 (港区) .

遠藤寿子, 中島孝, 池田哲彦, 大田健太郎, 會田泉, 米持洋介, 山野嘉久. 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. 第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会, 2014 年 8 月 22 日~24 日, 東京都 (港区) .

寺田裕紀子, 鴨居功樹, 山野ちなみ, 山野嘉久. HTLV-1 キャリアに合併した関節リウマチに対する生物学的製剤の使用で HTLV-1 ぶどう膜炎と HTLV-1 関連脊髄症が悪化した 1 例. 第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会, 2014 年 8 月 22 日~24 日, 東京都 (港区) .

石原誠人, 新谷奈津美, 佐藤知雄, 藤井理沙, 最知直美, 宇都宮與, 山野嘉久, 菅野純夫, 植田幸嗣. CD4 陽性 T 細胞を用いた膜プロテオーム解析による HTLV-1 関連脊髄症に対する新規治療標的分子の探索. 第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会, 2014 年 8 月 22 日~24 日, 東京都 (港区) .

山野嘉久. HAM の炎症慢性化における astrocyte を介した炎症悪性ループの重要性. 第 55 回日本神経学会学術大会, 2014 年 5 月 21 日~5 月 24 日, 福岡県 (福岡市) .

菊池崇之, 有福厚孝, 木村未祐奈, 佐藤健太郎, 本橋隆子, 木村美也子, 網中雅仁, 高田礼子, 八木下尚子, 山野嘉久. 患者 QOL の改善に向けた患者レジストリの満足度調査. 第 55 回日本神経学会学術大会, 2014 年 5 月 21 日~5 月 24 日, 福岡県 (福岡市) .

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定含)

##### 1. 特許取得・出願

特願2014-226719, 発明者: 植田幸嗣, 石原誠人, 山野嘉久, 出願年月日: 2014年11月7日、ヒトTリンパ好性ウイルス-1 (HTLV-1)関連脊髄症(HAM/TSP)の検査方法、及び検査用キット

特願2014-209669、発明者: 山野嘉久、清野研一郎、武藤真人、出願年月日: 2014年10月14日、 $\gamma\delta$ T細胞の製造方法および医薬

特許取得: 特許番号: 第5552630号、登録日: 2014年6月6日、出願番号: 特願2008-274514、

発明者: 山野嘉久、新谷奈津美、出願年月日: 2008年10月24日、HTLV-I関連脊髄症を治療または予防するための医薬、およびHTLV-I関連脊髄症の患者に対する抗体療法の効果を試験する方法

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし