

出雲参考人資料

HAM発見以前 HAM患者は存在していた

HAM発見前の臨床診断

- 痙性脊髄麻痺(SSP)
- 多発性硬化症(MS)
- パーキンソン病
- 脊髄小脳変性症

痙性脊髄麻痺患者データベースからの HAM患者掘り起こし

	男	女	計
家族性	1 / 9 (11.1%)	2 / 8 (33.3%)	3 / 17 (22.2%)
非家族性	10 / 13 (76.9%)	25 / 26 (96.0%)	35 / 39 (89.4%)
計	11 / 22 (50.0%)	27 / 34 (79.4%)	38 / 56 (67.9%)

非家族性発症患者の9割、女性では96%がHAM

世界的に熱帯性痙性麻痺(TSP)の
60%で抗HTLV-1抗体陽性

HAMの発見以降 (1986年～)

- 臨床・病理概念の確立
HAMは慢性炎症性疾患
- 輸血後発症HAMの確認
輸血の抗体スクリーニング開始
輸血後発症の停止
- HAMとHTLV-1陽性TSPの同一性
国際共同研究の活性化
- 全国疫学調査
全国での患者確認と地域偏在性
- HAM患者会(アトムの会)の設立
- 難治性疾患克服研究事業の対象

HAM研究の流れ

免疫性疾患として

ウイルス感染症として

HAMの発症病態

HTLV-1感染細胞の中枢神経浸潤と
それを標的とする異常免疫応答

異常な免疫応答を
押さえる

HTLV-1感染細胞
を減らす

HTLV-1感染細胞を標的とした治療法開発

HTLV-1総合対策以降 の展開(2011年～)

全国疫学調査 (出雲班)

- 有病率人口10万人あたり3人
- 全国で3000-3600人と推定
- HTLV-1感染者、HAM患の大都市圏での増加

診療体制の充実 (出雲班)

- 重症度・疾患活動性のマーカーの検索
- 重症度・疾患活動性別治療指針の作成
- 認知度を高める広報活動

新規治療薬開発 (出雲班・山野班)

- プロスルチアミン等、既存薬のHAMに対する効果の検証
- 発症病態の中核分子の探索と分子標的治療法の開発

治療薬開発体制の整備

- 臨床試験患者登録システム(山野班)
- 動物モデルの開発

発症予測、発症予防法の開発

- キャリアの長期追跡体制の整備
- 次世代シーケンサーを用いたゲノム解析による発症因子の探索(松田班・高嶋班)

重症度別治療指針作成に資すHAMの新規バイオマーカー同定と病因細胞を標的とする新規治療法の開発

(H22 - 難治 - 一般 - 013)

主任研究者: 出雲 周二 鹿児島大学難治ウイルス研

分担研究者:

星野洪郎 群馬大学分子予防医学
植田幸嗣 理化学研究所
白木 洋 横浜薬科大学

中村龍文 長崎大学感染分子病態
久保田龍二 鹿児島大学難治研
齋藤峰輝 琉球大学免疫学
山野嘉久 聖マリアンナ医大
竹之内徳博 関西医大

中川正法 京都府立医大 神経内科
原 英夫 佐賀大学神経内科
高嶋 博 鹿児島大学神経病学

研究協力者:

児玉知子(国立保健医療科学院)
渡邊 修(鹿児島大学)
雪竹 基弘(佐賀大学)

患者の診療実態調査：

全国で約900名が神経内科関連診療施設を受診。

疫学調査によりHAM患者の全国的な拡散傾向、大都市圏での増加

高齢での診断例の増加

新規発症患者が毎年30名前後あり、減少傾向は無い

HAMの認知度、診療体制の向上をめざしてパンフレットを作成、ウェブサイトの立ち上げ

重症度診断や治療判定のバイオマーカー同定：

髄液中の細胞数、ネオプテリン、CXCL9、CXCL10値が疾患活動性の評価に優れ、治療効果判定や
予後予測に有用

血漿の定量プロテオームプロファイリングにより17タンパク質がHAM鑑別のマーカー候補

髄液の定量プロテオームプロファイリングにより86タンパク質がHAM重症度鑑別のマーカー候補

新たなバイオマーカー候補：HBZ mRNA、TSLC1、gp46-197ペプチド抗体の有用性を検討

病態解明、治療法開発の基礎研究：

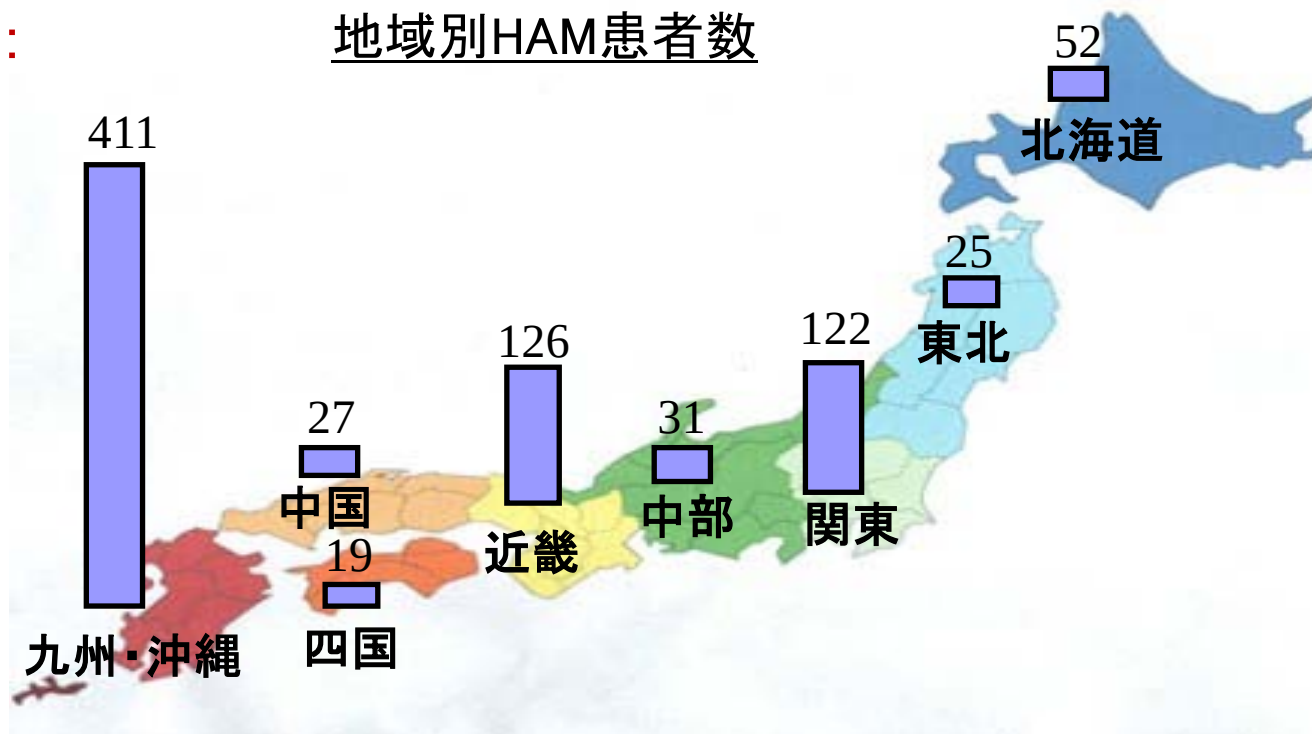
患者由来感染細胞を用いたマイクロアレイ遺伝子発現解析、糖鎖のレクチンアレイ解析、
パスウェイ解析による発症病態特異的分子の絞り込み

新規治療の有効性検討：

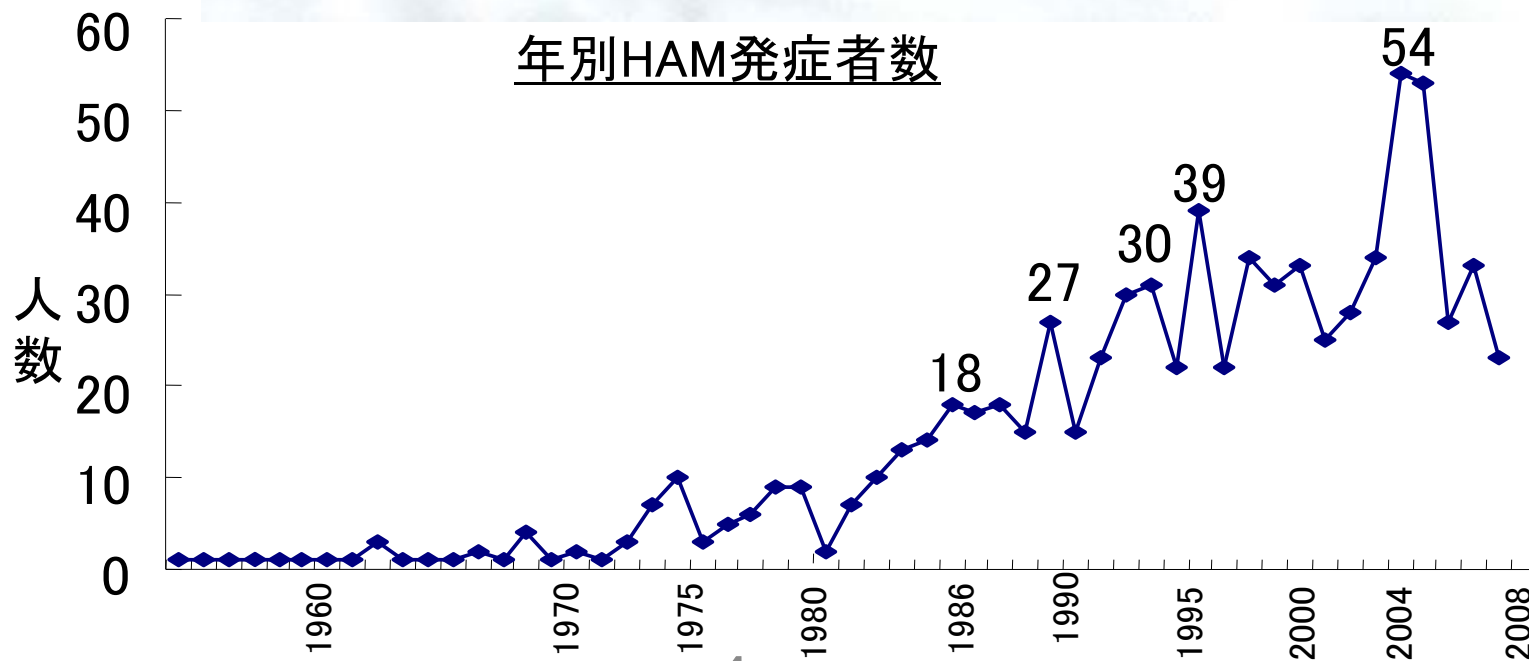
経口プロスルチアミンの有効性・安全性の確認。多施設無作為比較試験として実施を計画中
新規治療薬候補としてフコイダン内服の有効性報告、コンドロイチン硫酸タイプEの感染阻害効果

診療実態調査:

地域別HAM患者数



年別HAM発症者数



HAM発症者の地方別比率

地方	1994以前発症 患者数 (%)	1995以後発症 患者数 (%)	変動率 (%)
北海道	9 (2.8 %)	10 (2.2%)	－0.6%
東北	9 (2.8 %)	14 (3.0%)	＋0.2%
関東	44 (13.8 %)	78 (16.8%)	＋3.0%
中部	4 (1.3 %)	24 (5.2%)	＋3.9%
近畿	46 (14.5 %)	71 (15.3%)	＋0.8%
中国	9 (2.8 %)	14 (3.0%)	＋0.2%
四国	9 (2.8 %)	10 (2.2%)	－0.6%
九州	176 (55.5%)	233 (50.2%)	－5.3%
合計	317	464	

高齢発症割合(65歳以上)

1994年前	1995年以降	p
4 / 317例 (1.3%)	122/ 464例 (26.3%)	<0.0001

● 病態解明、治療法開発の基礎研究：
網羅的解析法を用いた治療標的分子の探索

児玉 大介, 久保田 龍二, 出雲 周二: 鹿児島大学難治ウイルス研

HTLV-1感染CD4+T細胞でのシグナル伝達はウイルス, 免疫系細胞による影響のため正常とは変容していると考えられる。

HAMにおける糖鎖転移酵素遺伝子

糖鎖転移酵素遺伝子		2群間 Welch's t 検定		3群間 One-way ANOVA
Gene symbol	Gene ID	HAM vs AC	AC vs NC	HAM vs NC
POFUT2	23275	+	-	+
B4GALT1	2683	+	-	-
GALNT11	63917	-	+	+
B4GALNT1	2583	-	+	-
EXTL3	2137	-	+	-

(+: significant (P<0.05); -: not significant. HAM vs AC, HAM vs NCではAC, NCが, AC vs NCではNCが対照。)

マイクロアレイ (Whole Human Genome oligo DNA microarray (Agilent)) (4×3群) で有意差がみられた177遺伝子と、糖鎖関連遺伝子データベースGlycogene database (GGDB) に登録された191遺伝子との重なりを検討したところ、POFUT2, GALNT11が含まれていた。

Up-regulated genes
HAM AC

177 56 19

NC

46 0 4

AC HAM
Down-regulated genes

(P<0.01, 2FC以上)

HAMにおける糖鎖結合性解析 (レクチンアレイ, Glycome)

レクチンアレイ (LecChip, GPBioscience) (4×3群) からHAM, ACはNCに対し同じ結果で糖鎖構造はほぼ同様と考えられた。

(1) N-グリカン (Galβ1-4GlcAc)_n を認識するこれらのレクチンで高シグナル (P<0.05)

UDA STL STL

HAM NC HAM NC AC NC

NeuAcα2-6Gal を認識するレクチンで低シグナル (P<0.05)

SNA SSA TJA-I

HAM NC HAM NC HAM NC

(Galβ1-3Gal)_n, NeuAcα2-3Gal を認識

ACG

HAM NC

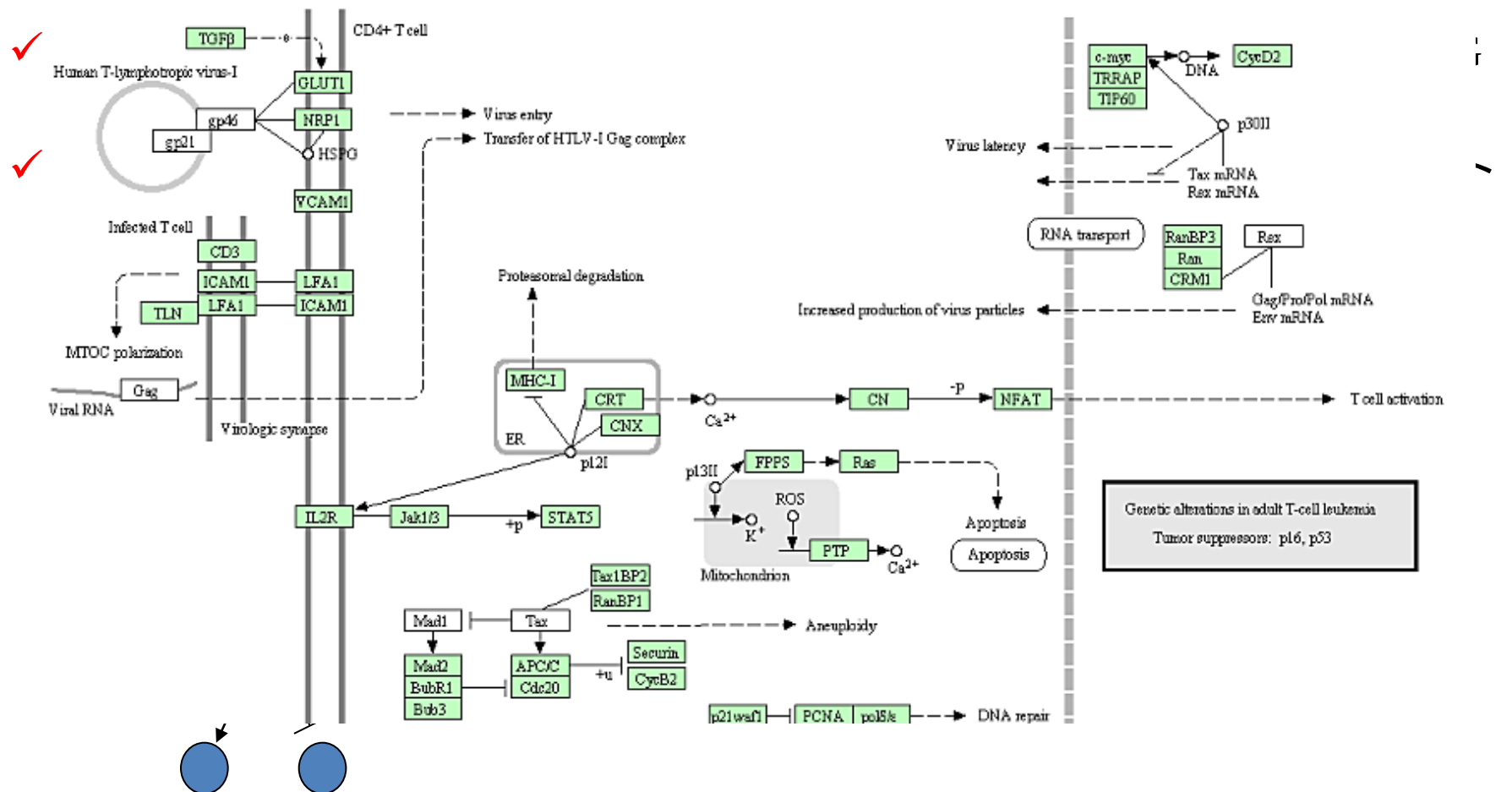
(2) O-グリカン : 明らかな有意差はみられなかった。

HAMの治療薬候補標的遺伝子を探索するため, HAMに特徴的なシグナルネットワークがあるかどうかマイクロアレイの結果を用いパスイエイ解析を行なった。

パスウェイ解析とは

- ✓ 遺伝子制御, 細胞のシグナル伝達, 代謝経路など含めたネットワークを図解したもの。

- ✓ HTLV-I INFECTION



方法

ワークフロー

凍結保存PBMC4例×3群(HAM, ACs, NCs)

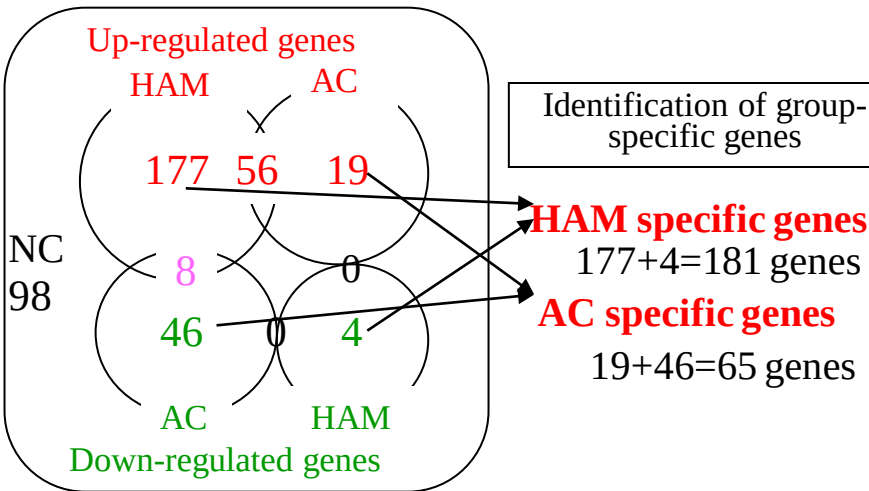
CD4+T細胞

マイクロアレイ

1-color Whole Human Genome 44k×4plex
DNA microarray(ver.1.0), (Agilent
Technologies)

ANOVA($p < 0.01$), 2 fold change(up/down)で絞り込み

疾患特異的有意差発現遺伝子の同定



パスウェイ解析 : **ExPlain** ソフトウェア (BioBase)

(通常の)パスウェイ解析

有意差発現遺伝子を偶然でなく($p < 0.05$), 少なくとも2つ以上含むパスウェイを [TRANSPATH](#) データベースから抽出

上流解析 (Upstream analysis)

転写因子結合サイト検索

転写因子結合サイトのデータベース [TRANSPRO](#) を用いて
有意差発現遺伝子のプロモーターウィンドウ(-1000 to 100)
を比較・検索

Key node 解析

発現/制御応答を含み, エッジを最大6つまで上流に遡るキー
ノードを FDR (false discovery rate) < 0.05 で同定

Key node 分子(遺伝子)によるパスウェイ解析

Extraction of pathways that involve 2つまたはそれ以上の
キーノードを持つパスウェイを [TRANSPATH](#) データベースを
用いて抽出する($p < 0.05$)

表1. HAM specific genes: pathway list

Pathway ID	Molecular name	Pathway name	#Hits in group	Group size	#Hits expected	P-value
CH000003804	Gene X	> TOPBP1	2	3	1	0.000213782
CH000000870		→ Rad52	2	4	1	0.000425383
CH000000972		→ Bcl-xL	2	4	1	0.000425383
CH000003546		→ Caspase-9	2	4	1	0.000425383
CH000000867		→ p73α	2	5	1	0.000705355
CH000000908		Caspase-8 →	2	6	1	0.00105264
CH000000997		Ubc9 → p73α	2	7	1	0.00146618
CH000000895		Fas →	2	10	1	0.00309403
CH000000977		→ p53	2	11	1	0.00376233
CH000000869		p73 pathway	2	24	1	0.0176695
CH000000711	SMAD4, Ran, Smurf-1	TGFβ pathway	3	76	1	0.0260633
CH000000879	clAP-2	Caspase network	3	93	1	0.0439147

TOPBP1: DNA topoisomerase II binding protein 1; DNA repair protein RAD52 homolog (S. cerevisiae); p73α: tumor protein p73 isoform α; Ubc9: UBE21 (ubiquitin-conjugating enzyme E2I); Ran: GTP-binding Ran (ras-related nuclear protein); Smurf-1: E3 ubiquitin-protein ligase SMURF1; clAP-2: BARC3 (a member of IAP family that inhibit apoptosis by binding TRAF1 and 2);

Name withheld.

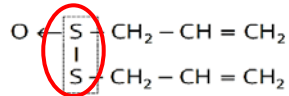
- ✓ リスト上位にはCaspase カスケードのGene Xが高率に含まれており, HAM患者における感染CD4+細胞の特徴と考えられる。
- ✓ **Gene XはHAMの治療標的分子**となる可能性がある。

HAMに対する経口プロスルチアミン療法の有効性の検討

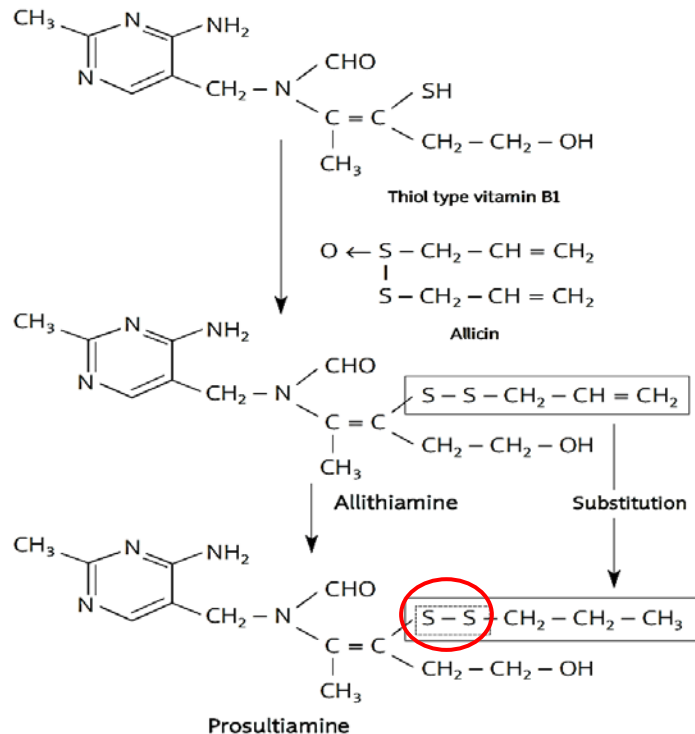
中村龍文他 1)長崎大学・院・感染免疫学

ニンニク抽出成分アリシン、ビタミンB1製剤
プロスルチアミン(アリナミン)はその構造に
S-S結合を持ち、細胞にレドックスの破綻を
惹起しアポトーシスを誘導できる

A. Allicin



B. Prosultiamine



(*in vitro*)

HAM患者由来HTLV-1感染T細胞株にアポ
トーシスを誘導する



(*ex vivo*)

HAM患者末梢血CD4陽性T細胞中の
HTLV-1感染T細胞にアポトーシスを惹
起し、感染細胞数を減少させる



(*in vivo*)

HAM患者に対するプロスルチアミン40mg
14日間連日点滴静注による効果を確認



試験プロトコール (UMIN試験ID: UMIN000005969)

1) 薬剤と投与スケジュール

- ・薬剤: プロスルチアミン経口薬 カプセル化剤
- ・投与方法: 外来にて, 1日1回300 mgを朝食前、12週間連日、経口投与

2) 評価項目: 投与前, 投与4週目, 投与8週目, 投与12週目にて評価

1. 神経内科学的評価

- a) Osameの運動機能障害度 b) 神経学的所見 c) 歩行・階段降時間

2. 泌尿器科学的評価

- a) N-QOL質問表 b) OABSS c) 尿流動態検査 (UDS)

3. ウイルス学的評価

- a) 末梢血HTLV-Iプロウイルス量 b) 血清抗HTLV-I抗体価

4. 免疫学的評価

- a) PHAに対するリンパ球幼若化試験 b) 血清 sIL-2R値

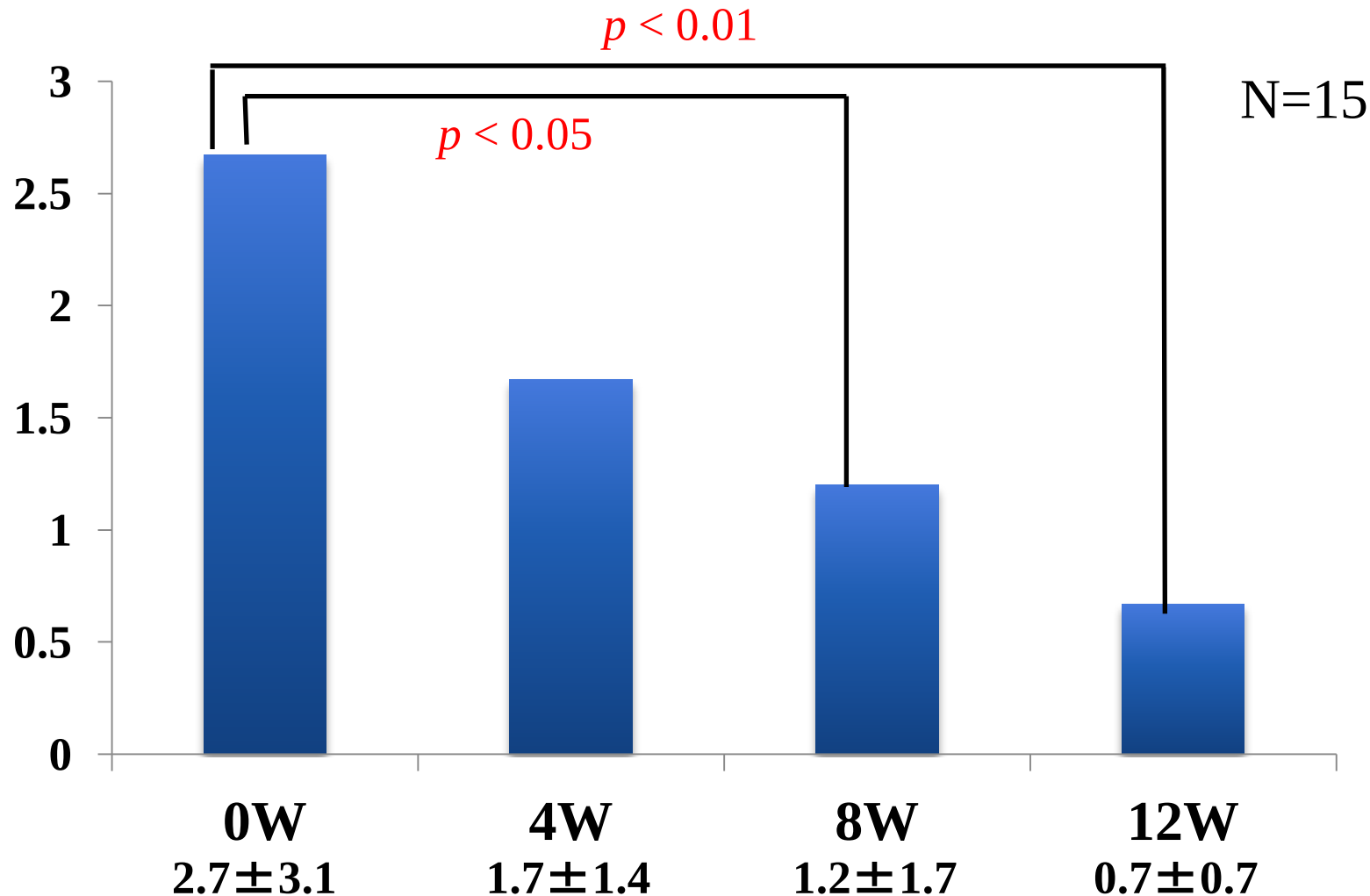
- 本試験は本院倫理委員会の承認を得、臨床研究保険に加入し、文書によるインフォームド・コンセントを取得後、施行された。

下肢運動機能の改善

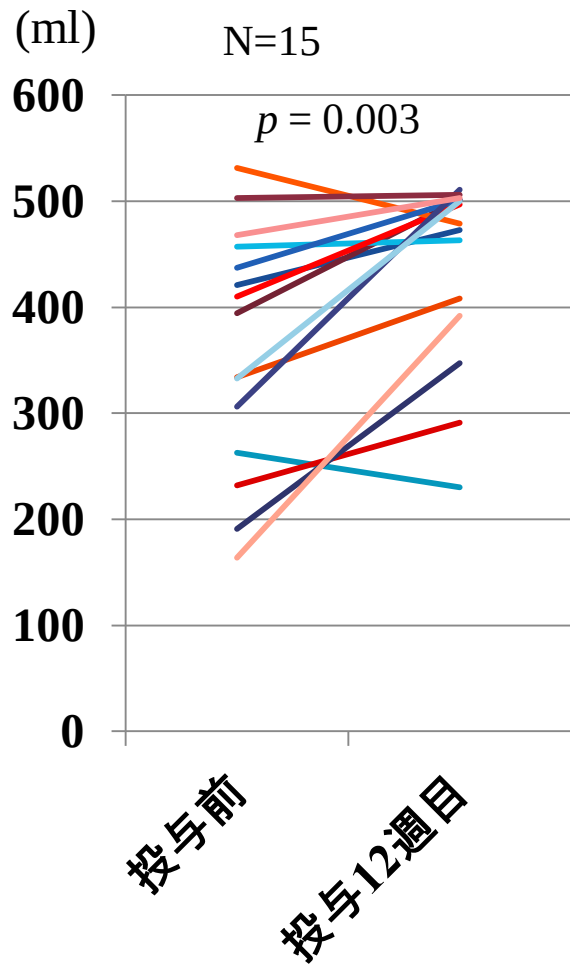
症例	痙縮	痙縮改善	10 m歩行 (秒)			30 m歩行 (秒)			階段下り (秒)		
			前	後	%improvement	前	後	%improvement	前	後	%improvement
1)	(+)	○	26.5	21.6	18.5						
2)	(+)	○	15.5	9.8	36.8	50.8	35.2	30.7			
3)	(+)	○	11.5	10.5	8.7	36	33.3	7.5	8.6	7.7	10.5
4)	(+)	○									
5)	(-)		5.3	4.9	7.5	16.2	15.5	4.3	3.8	3.7	2.6
6)	(+)	○	5.9	6.2	-5.1	20.8	19.9	4.3	4.1	4.2	-2.4
7)	(+)	○	8.9	9.5	-6.7	30.5	29.4	3.6	9.2	7.9	14.1
8)	(+)		12.6	13.3	-5.6	42.8	43.2	-0.9	9.5	8.6	9.5
9)	(+)	○									
10)	(+)	○	20	25.1	-25.5						
11)	(+)		29.5	32.5	-10.2						
12)	(-)		6.6	6.9	-4.5	20.9	22.3	-6.7	4.4	4.3	2.3
13)	(+)		22.8	21.3	6.6	71	67.7	4.6			
14)	(+)	○	15.4	11.3	26.6	45.7	33.6	26.5	14.3	11.4	20.3
15)	(-)										

N-QOL質問表 Q13

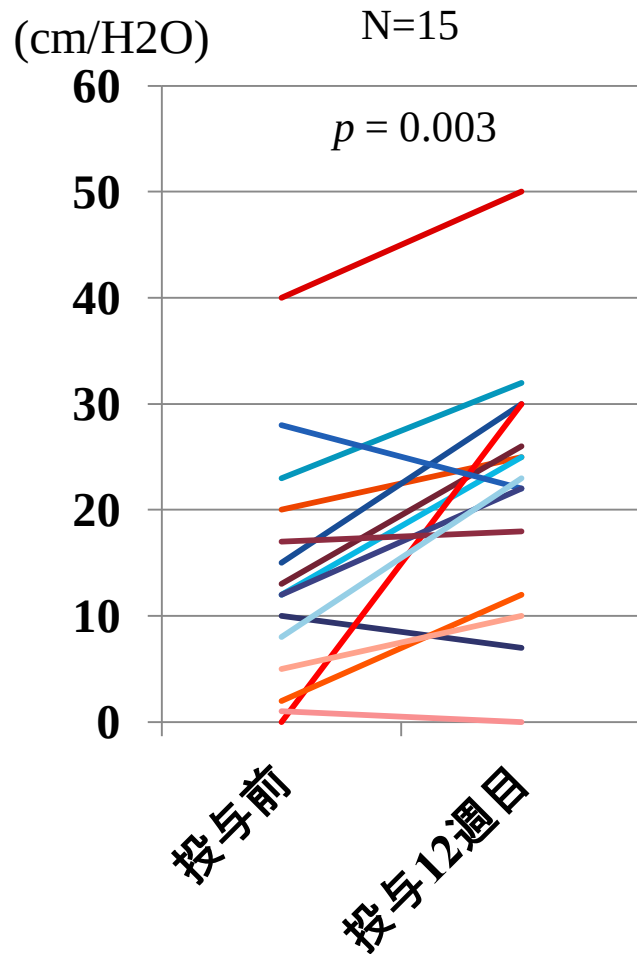
Q13: 全体として、夜間、尿をするために起きなければならないことは、どれくらい日常生活を妨げていますか (0:まったくない、10:非常にある)



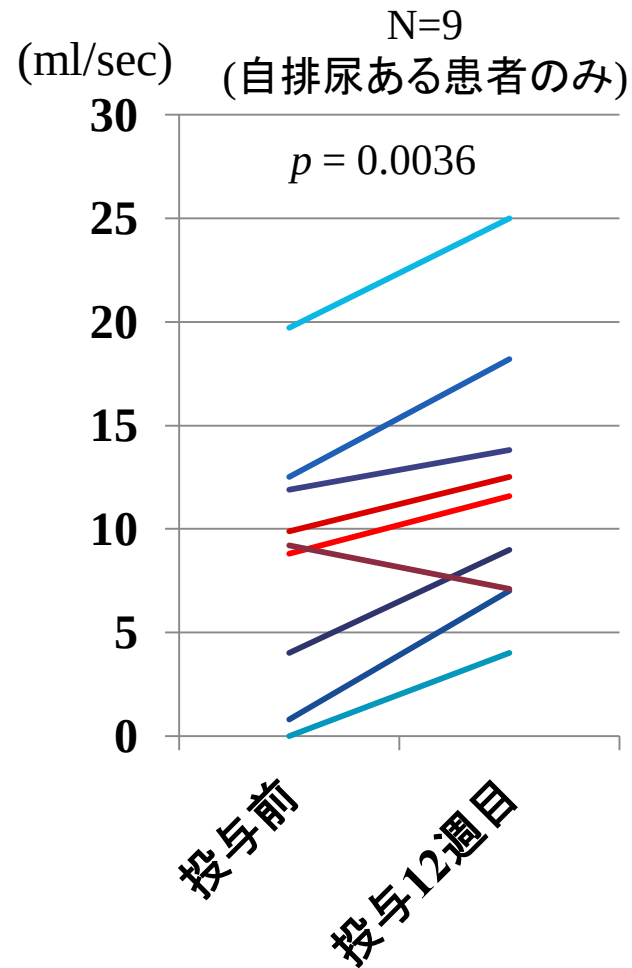
膀胱容量



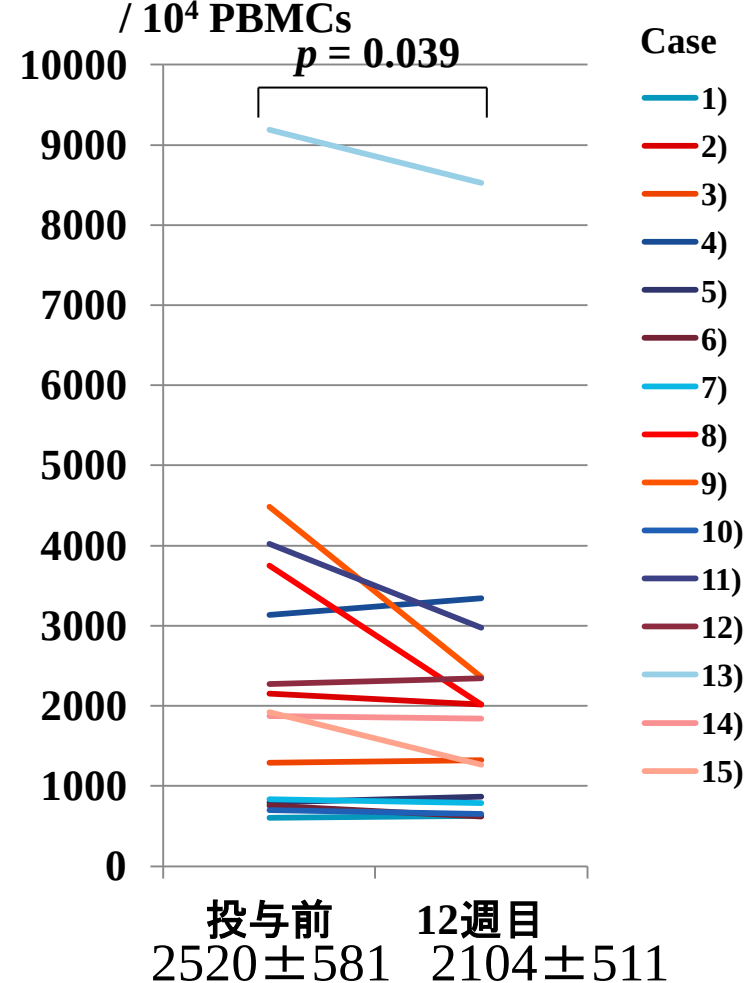
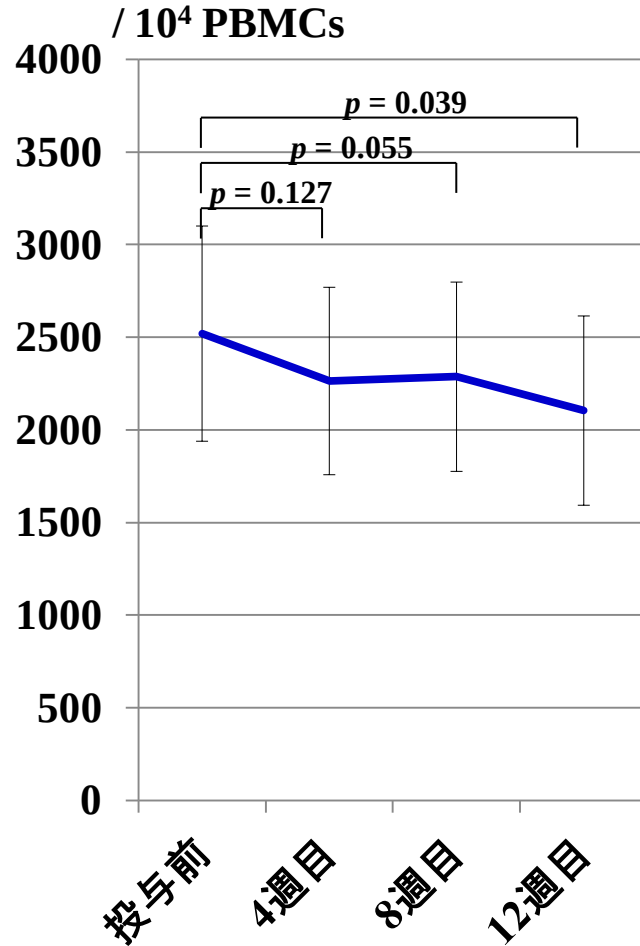
排尿筋圧



最大尿流率



末梢血HTLV-Iプロウイルス量の変化



多施設でのコントロール比較試験を計画

HTLV-1総合対策以降の展開(2011年～)

- ✓ 全国疫学調査（出雲班）
 - 有病率人口10万人あたり3人
 - 全国で3000-3600人と推定
 - HTLV-1感染者、HAM患の大都市圏での増加
- ✓ 診療体制の充実（出雲班）
 - 重症度・疾患活動性のマーカーの検索
 - 重症度・疾患活動性別治療指針の作成
 - 認知度を高める広報活動
- ✓ 新規治療薬開発（出雲班・山野班）
 - プロスルチアミン等、既存薬のHAMに対する効果の検証
 - 発症病態の中核分子の探索と分子標的治療法の開発
- ✓ 治療薬開発体制の整備
 - 臨床治験患者登録システム(山野班)
 - 動物モデルの開発
- ✓ 発症予測、発症予防法の開発
 - キャリアの長期追跡体制の整備次世代シーケンサーを用いたゲノム解析による発症因子の探索(松田班・高嶋班)

HAM診療の近未来

✓ 疾患活動性のマーカー同定と、それを指標とした診療指針の確立



HAM治療の標準化による地域間格差の是正と
未治療重症者の低減

✓ 新規治療法の開発

- ① 感染者生体内での感染拡大阻止、プロウイルス量の抑制を標的とした治療法の開発
- ② 発症病態の中核分子同定と分子標的治療の開発



HAMの進行・増悪の阻止による長期予後改善

✓ HAM発症の危険因子、遺伝的背景の解明



発症予測と早期診断、早期治療、発症予防