

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2023

課題番号：16K11268

研究課題名(和文) HTLV-1関連眼疾患の診断法確立のための臨床的研究

研究課題名(英文) Clinical studies to establish diagnostic methods for HTLV-1-associated ocular diseases.

研究代表者

中尾 久美子(Nakao, Kumiko)

鹿児島大学・医歯学域医学系・准教授

研究者番号：30217658

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：HTLV-1関連ぶどう膜炎(HAU)の眼内液のHTLV-1プロウイルス量を検索した結果、末梢血に比べて高い症例も低い症例もあり、HTLV-1キャリアに発症した他のぶどう膜炎でも眼内液プロウイルス量が高値を示した。成人T細胞白血病(ATL)、HTLV-1キャリア、非キャリアにおける眼内液の可溶性インターロイキン2受容体(sIL-2R)は、内眼炎(+)では(-)に比べて高く、ATL眼内浸潤で有意に高かったが、脈絡膜浸潤では高くなかった。HAUの臨床像を解析した結果、顆粒状硝子体混濁の頻度が有意に高く、HAU症例のHTLV-1関連脊髄症(HAM)発症率は無症候性キャリアより高いことが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

検査できた症例数は少ないが、眼内液のHTLV-1プロウイルス量はHAU診断の指標とはならないことが示唆された。眼内液sIL-2RはATL眼内浸潤診断の指標になる可能性があるが、眼内の炎症が強い他の疾患でも高値を示すこと、ATL眼内浸潤であっても浸潤部位によっては低値を示す可能性があることに留意する必要がある。HAU臨床像の解析からは顆粒状硝子体混濁がHAU臨床診断の指標となる可能性が示された。またHAUを発症したキャリアは無症候性キャリアよりHAMを発症する可能性が高いことをHAU症例に説明することは、HAMの早期診断に役立つ可能性がある。

研究成果の概要(英文)：A search for HTLV-1 proviral load in the intraocular fluid of HTLV-1-associated uveitis (HAU) revealed that in some cases the proviral load in the intraocular fluid was higher than in the peripheral blood and in some cases was lower, and was also higher in non-HAU uveitis occurring in HTLV-1 carriers. Soluble interleukin 2 receptor (sIL-2R) in intraocular fluid in adult T-cell leukemia (ATL), HTLV-1 carriers, and non-carriers was significantly higher in intraocular inflammation (+) than in intraocular inflammation (-) and significantly higher in ATL intraocular invasion but not in choroidal invasion. Analysis of the clinical features of HAU revealed a significantly higher frequency of granular vitreous opacities than in controls and a higher incidence of HTLV-1-associated myelopathy (HAM) in HAU patients than in asymptomatic carriers.

研究分野：眼科学

キーワード：HTLV-1 HTLV-1関連ぶどう膜炎 HTLV-1関連脊髄症 成人T細胞白血病 可溶性IL-2レセプター

## 1. 研究開始当初の背景

HTLV-1 は成人 T 細胞白血病 (adult T-cell leukemia: ATL) や HTLV-1 関連脊髄症 (HTLV-1-associated myelopathy: HAM) の原因となるウイルスであり、南九州はこのウイルスの高感染地域である。鹿児島大学眼科では 1986 年から HTLV-1 と眼疾患との関連について研究を開始し、1989 年に原因不明の内眼炎の中に HTLV-1 感染が関連して発症しているものがあることを発見し、HTLV-1 関連ぶどう膜炎 (HTLV-1-associated uveitis: HAU) と名付けた<sup>1)</sup>。HAU は眼内における HTLV-1 に対する免疫反応で、HTLV-1 キャリアや HAM に発症する。現在のところ HAU の診断基準は「原因を特定できないぶどう膜炎で、血清の抗 HTLV-1 抗体が陽性のもの」であり、除外診断を前提としているため HTLV-1 キャリアに偶然発症した他の原因によるぶどう膜炎を HAU と診断してしまう可能性がある。一方、ATL では ATL 眼内浸潤や免疫能低下による眼内の日和見感染を合併するが、両者は臨床所見だけでは区別が困難なことが少なくない。いずれも早く治療することが視力予後を良好にするために重要であり、的確に診断できる方法やマーカーの発見が期待される。

## 2. 研究の目的

HTLV-1 に関連して発症する 2 つの眼疾患 HAU と ATL 眼内浸潤の診断を、容易に、より確実にするための診断基準やマーカーを見いだすことが本研究の目的である。

(1) 眼内液の HTLV-1 プロウイルス量やウイルス遺伝子の発現の検索が HAU の診断に有用であるかを検討する。また眼所見のみで真の HAU が診断可能かについても検討する。

(2) ATL の血液中で上昇して病勢を反映する可溶性インターロイキン 2 受容体 (sIL-2R) に注目し、眼内液の sIL-2R が ATL 眼内浸潤の指標となるかを検討する。

## 3. 研究の方法

### (1) 試料の収集と臨床所見の収集

鹿児島大学病院眼科を受診した種々の眼疾患患者に本研究の目的と方法について説明を行い、同意を得られた場合、末梢血液 10ml と眼内液 (前房水や硝子体液) を採取した。ぶどう膜炎以外の症例では、眼内液は主に眼科手術を行う際に採取し、対象者に負担がかからないように配慮した。採取した試料は遠心分離し、上清と沈渣に分離して保管した。試料を採取した症例の血清抗 HTLV-1 抗体を測定して HTLV-1 感染の有無を確認し、全身状態と眼所見について情報を収集し、臨床所見をデータベース化した。

### (2) 血液および眼内液の HTLV-1 プロウイルス DNA 検索

血液と眼内液から DNA および RNA を抽出し、PCR 法を用いて HTLV-1 プロウイルス DNA を検索し、定量的 PCR 法を用いてウイルス感染細胞数を解析した。検体量に余裕がある場合は、HLA を調べた後、MHC/ペプチドテトラマー染色および共焦点レーザー走査顕微鏡により眼内液での HTLV-1 特異的細胞障害性 T 細胞 (CTL) の検出を行い、眼内液と血液の HTLV-1 特異的 CTL の頻度を比較することにより HTLV-1 特異的炎症が眼内で起こっているか検討した。

### (3) 血清および眼内液の sIL-2R 測定

ATL 眼内浸潤を含む種々の顔疾患を発症した ATL、HTLV-1 キャリア、非キャリアの血清および眼内液で、ATL 眼内浸潤の診断マーカーの候補となる sIL-2R を測定した。得られた結果と眼所見や全身所見との関連性を解析し、眼内液の sIL-2R が ATL 眼内浸潤の診断マーカーとなるかを検討した。

### (4) HAU 臨床像の解析

(2) で得られた結果と (1) で収集した HAU 臨床データとの関連性について解析し、HTLV-1 プロウイルス量により HAU 眼所見に差がみられるかを検討する予定であったが、(2) を検査できた症例が少なく検討できなかったため、HAU の臨床像を明らかにするため原因不明のぶどう膜炎のうち血清 HTLV-1 抗体陽性の HAU と HTLV-1 抗体陰性の non-HAU の臨床像を比較検討した。また、HAU に合併する全身疾患、ATL、HAM、甲状腺機能亢進症の発症状況について調査した。

#### 4. 研究成果

##### (1) HAU の眼内液 HTLV-1 プロウイルス定量と遺伝子発現検索の結果

HAU 症例の前房水と血液について HTLV-1 プロウイルス量を測定し、HAU の眼内液 HTLV-1 プロウイルス量が血液より高いという結果がでたが、HTLV-1 プロウイルス量はコピー数が少ないために正確に測定できていないことが判明したため、低コピー数検体の修正を行った。8.67 copy/100 cells の tax 遺伝子を含む DNA を順次希釈し、 $\beta$ -アクチン遺伝子と tax 遺伝子のコピー数を測定して実測曲線と予測曲線をひき、このグラフから補正式を求め、 $\beta$ -アクチン遺伝子と tax 遺伝子のコピー数を補正して、HTLV-1 プロウイルス量を  $(\text{tax コピー数}) / ((\beta\text{-アクチン コピー数}) / 2) \times 100$  (% copy/100 cells) によって算出した。前房水と末梢血液の両方で HTLV-1 tax 遺伝子と  $\beta$ -アクチン遺伝子を測定できた HAU 7 例と HTLV-1 キャリアに発症したサルコイドーシスによるぶどう膜炎 1 例の測定値を補正した結果、HAU では前房水のプロウイルス量は末梢血液のプロウイルス量に比べて 3-266 倍と非常に高い症例もあったが、0.7-1.1 倍と高くない症例もあった(表 1)。眼内のプロウイルス量が高い症例が真の HAU である可能性あるが、HTLV-1 キャリアのサルコイドーシスでも前房水のプロウイルス量が高く、眼内液の HTLV-1 プロウイルス量は HAU 診断の指標とはならないと考えられた。

表 1. HAU の前房水細胞および末梢血単核細胞における HTLV-1 プロウイルス量

| 症例   | HTLV-1 プロウイルス量(copy/10 <sup>2</sup> ) |         | Fold change |
|------|---------------------------------------|---------|-------------|
|      | 前房水                                   | 末梢血単核細胞 |             |
| HAU1 | 15.65                                 | 0.42    | 37.26       |
| HAU2 | 29.34                                 | 0.11    | 266.73      |
| HAU3 | 11.64                                 | 10.38   | 1.12        |
| HAU4 | 20.46                                 | 2.74    | 7.47        |
| HAU5 | 12.91                                 | 4.31    | 3.00        |
| HAU6 | 10.28                                 | 13.95   | 0.74        |
| HAU7 | 23.86                                 | 29.70   | 0.80        |

前房水細胞で HTLV-1 特異的 CTL を検出するための MHC/ペプチドテトラマー染色を行えたのは HTLV-1 キャリアのサルコイドーシス 1 例のみで、HLA-A2 拘束性 HTLV-1 Tax11-19 特異的 CTL が 4 個検出された。前房水細胞中の HTLV-1 Tax11-19 特異的 CTL の頻度は、フローサイトメトリーで測定した末梢血単核細胞における頻度の 11 倍であった。HAU 症例では前房水細胞が少なかったため、または HLA が A2 や A24 でなかったため、HTLV-1 特異的 CTL を検出するための MHC/ペプチドテトラマー染色を行うことができなかった。

##### (2) 眼内液 sIL-2R 検索結果

ATL90 例の眼所見について調べた結果、15 例が日和見感染によるサイトメガロウイルス網膜炎を発症し、13 例が ATL 眼内浸潤を発症していた。ATL 発症から眼内浸潤発症までの期間は 0 日から 4 年で、2 例は眼病変発症がきっかけとなって全身的に ATL であることが判明していた。片眼性 5 例、両眼性 8 例で、ATL 眼内浸潤 21 眼にみられた眼所見は、前房混濁 9 眼、硝子体混濁 14 眼、眼底病変 15 眼であった。当初はトキソプラズマやヘルペスウイルスなどによる感染性ぶどう膜炎や原因不明のぶどう膜炎と診断されて治療されていたが、2 週間から 6 ヶ月(中央値 2 ヶ月)後に ATL 眼内浸潤と診断されていた。前房水中に ATL 細胞が確認できたのは 8 眼で、TCR- $\beta$  遺伝子再構成は検査した 3 眼中 1 眼にみられた。sIL-2R を眼内液で検査した 13 眼すべてで基準値より高く、うち 9 眼は血液の sIL-2R より高値を示した。眼内液の sIL-2R は ATL 眼内浸潤診断の補助として有用と考えられたので、ATL に加え、HTLV-1 キャリアおよび非キャリアの血液と眼内液の sIL-2R 測定し、内眼炎の有無で分けて比較検討した。血清 sIL-2R は非キャリア、キャリア、ATL の順に有意に高くなり、内眼炎の有無で血清 sIL-2R に有意差はなかった。眼内液の sIL-2R については、内眼炎(-)では一部を除いて測定限界以下であり、ATL でも血清の sIL-2R の値をこえることはなかった。内眼炎(+)の眼内液 sIL-2R は内眼炎(-)に比べて有意に高値を示し、ATL ではキャリア、非キャリアに比べて有意

に高かったが、炎症の非常に強い感染性内眼炎の眼内液 sIL-2R は非キャリアやキャリアでも高値を示した。ATL 眼内浸潤では、他の内眼炎(+ )に比べて眼内液 sIL-2R が有意に高いが、限局性の脈絡膜浸潤では眼内液 sIL-2R は高値を示さなかった。以上の結果から、眼内液 sIL-2R は ATL 眼内浸潤診断の指標になる可能性があるが、HTLV-1 キャリアや非キャリアでも眼内の炎症が強い場合は高値を示すこと、ATL 眼内浸潤であっても浸潤部位によっては低値を示す可能性があることに留意する必要があることが示された。

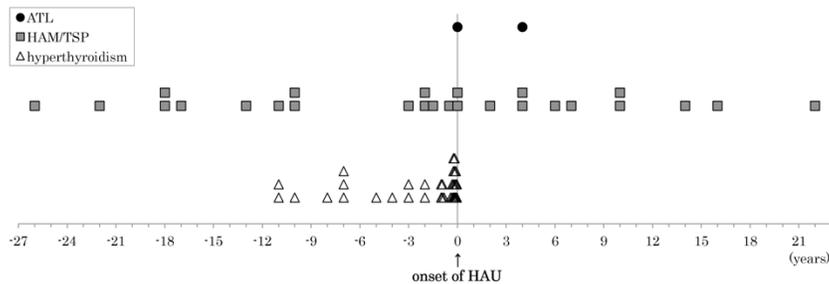
### (3) HAU 臨床像の解析結果

原因不明のぶどう膜炎で血清 HTLV-1 抗体陽性の HAU と HTLV-1 抗体陰性の non-HAU の臨床像を比較検討した結果、HAU は non-HAU に比べて、片眼性(64.2%)が有意に多く、毛様充血(10.0%)、前房混濁(69.7%)、虹彩後癒着(2.5%)、網膜滲出病巣(5.0%)が有意に少なく、硝子体混濁(微塵状混濁 52.7%、顆粒状混濁 32.3%)、網膜血管や網膜面への顆粒付着(7.8%)が有意に多かった。このうち顆粒状硝子体混濁の頻度は non-HAU では非常に少なく(5%)、また網膜血管や網膜への顆粒付着は non-HAU では 1 例も見られなかったことから、HAU に特徴的な所見である可能性が考えられた。さらに HAU を真の HAU である可能性が高いと考えられる HAM 合併群や甲状腺機能亢進症合併群と、合併なし群に分けて臨床像を比較検討した。HAM 合併群ではぶどう膜炎の発症年齢は平均 42.5 歳で、他の群に比べて有意に低かった。甲状腺機能亢進症合併群では顆粒状硝子体混濁、血管や網膜への顆粒付着が有意に多くみられ、HAU に特徴的な所見である可能性がさらに強く示唆された。

HAU200 例の全身疾患について調査した結果(図 1) 2 例が ATL を発症し、1 例は HAU 発症時、もう 1 例は 4 年後に ATL を発症した。26 例が HAM を発症し、うち 13 例は HAM が先行し、11 例は HAU が先行していた。45 例が甲状腺機能亢進症を発症しており、いずれも甲状腺機能亢進症が先行し、チアマゾール治療開始数週間~9 年後(中央値 4 ヶ月)に HAU を発症していた。HAU 症例の ATL 発症率は 2/1627 人年で一般のキャリアと同じであったが、HAM 発症率は、観察開始時すでに HAM を発症していた症例を除外して 6/1409 人年であり、無症候性キャリアより高いことが判明した。また、甲状腺機能亢進症の有病率が 23.5%と非常に高く、甲状腺機能亢進症の治療と HAU 発症との関連が確認された。

図 1. HAU 症例における ATL、HAM、甲状腺機能亢進症の発症時期

HAU 発症から ATL(○)、HAM(□)、甲状腺機能亢進症(△)の発症までをプロットした。マイナス側は HAU 発症前に発症し、プラス側は HAU 発症後に発症したことを示す。



### <引用文献>

- 1) Nakao K, Ohba N, Matsumoto M: Noninfectious anterior uveitis in patients infected with human T-lymphotropic virus type 1. Jpn J Ophthalmol 33, 1989, 472-481

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 4件）

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>中尾久美子   | 4. 巻<br>76              |
| 2. 論文標題<br>HTLV-1   | 5. 発行年<br>2022年         |
| 3. 雑誌名<br>臨床眼科  | 6. 最初と最後の頁<br>1564-1568 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.11477/mf.1410214631   | 査読の有無<br>無              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-               |
| 1. 著者名<br>中尾久美子   | 4. 巻<br>104             |
| 2. 論文標題<br>ぶどう膜炎（HTLV-1関連ぶどう膜炎:HAU）   | 5. 発行年<br>2021年         |
| 3. 雑誌名<br>OCULISTA  | 6. 最初と最後の頁<br>33-39     |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>なし   | 査読の有無<br>無              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-               |
| 1. 著者名<br>Kodama D, Tanaka M, Matsuzaki T, Nozuma S, Matsuura E, Takashima H, Izumo S, Kubota R.  | 4. 巻<br>59              |
| 2. 論文標題<br>Anti-human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) antibody assays in cerebrospinal fluid for the diagnosis of HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis | 5. 発行年<br>2021年         |
| 3. 雑誌名<br>J Clin Microbiol  | 6. 最初と最後の頁<br>e03230-20 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1128/JCM.03230-20   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-               |
| 1. 著者名<br>Nozuma S, Kubota R, Jacobson S  | 4. 巻<br>26              |
| 2. 論文標題<br>Human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) and cellular immune response in HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis                                   | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>J Neurovirol  | 6. 最初と最後の頁<br>652-663   |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1007/s13365-020-00881-w   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている（また、その予定である）   | 国際共著<br>該当する            |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Takenouchi N, Tanaka M, Sato T, Yao J, Fujisawa JI, Izumo S, Kubota R, Matsuura E. | 4. 巻<br>26            |
| 2. 論文標題<br>Expression of TSLC1 in patients with HAM/TSP                                      | 5. 発行年<br>2020年       |
| 3. 雑誌名<br>J Neurovirol   | 6. 最初と最後の頁<br>404-414 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1007/s13365-020-00838-z                                       | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-             |

|   |                        |
|---|------------------------|
| 1. 著者名<br>Sakono T, Meguro A, Takeuchi M, Yamane T, Teshigawara T, Kitaichi N, Horie Y, Namba K, Ohno S, Nakao K, Sakamoto T, Sakai T, Nakano T, Keino H, Okada AA, Takeda A, Ito T, Mashimo H, Ohguro N, Oono S, Enaida H, Okinami S, Horita N, Ota M, Mizuki N. | 4. 巻<br>15             |
| 2. 論文標題<br>Variants in IL23R-C1orf141 and ADO-ZNF365-EGR2 are associated with susceptibility to Vogt-Koyanagi-Harada disease in Japanese population.  | 5. 発行年<br>2020年        |
| 3. 雑誌名<br>PLoS One  | 6. 最初と最後の頁<br>e0233464 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1371/journal.pone.0233464  | 査読の有無<br>有             |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>-              |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Nakao K, Abematsu N, Sakamoto T                                | 4. 巻<br>102           |
| 2. 論文標題<br>Systemic diseases in patients with HTLV-1-associated uveitis. | 5. 発行年<br>2018年       |
| 3. 雑誌名<br>Br J Ophthalmol  | 6. 最初と最後の頁<br>373-376 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1136/bjophthalmol-2017-310658             | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難                                   | 国際共著<br>-             |

|   |                     |
|---|---------------------|
| 1. 著者名<br>Nozuma S, Matsuura E, Kodama D, Tashiro Y, Matsuzaki T, Kubota R, Izumo S, Takashima H  | 4. 巻<br>14          |
| 2. 論文標題<br>Effects of host restriction factors and the HTLV-1 subtype on susceptibility to HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. | 5. 発行年<br>2017年     |
| 3. 雑誌名<br>Retrovirology   | 6. 最初と最後の頁<br>26-26 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1186/s12977-017-0350-9   | 査読の有無<br>有          |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>-           |

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Matsuura E, Nozuma S, Tashiro Y, Kubota R, Izumo S, Takashima H   | 4. 巻<br>371           |
| 2. 論文標題<br>HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP): A comparative study to identify factors that influence disease progression. | 5. 発行年<br>2016年       |
| 3. 雑誌名<br>J Neurol Sci  | 6. 最初と最後の頁<br>112-116 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.jns.2016.10.030   | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている(また、その予定である)   | 国際共著<br>-             |

[学会発表] 計3件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>久保田 龍二、田中 正和、春口 志門、児玉 大介、松浦 英治、高嶋 博      |
| 2. 発表標題<br>HAM 患者 HTLV-1 感染細胞のマイクロアレイ解析による治療標的分子の探索 |
| 3. 学会等名<br>第6回日本HTLV-1学会学術集会                        |
| 4. 発表年<br>2019年                                     |

|                                |
|--------------------------------|
| 1. 発表者名<br>中尾久美子、あべ松徳子、坂本泰二    |
| 2. 発表標題<br>HTLV-1関連ぶどう膜炎の全身的予後 |
| 3. 学会等名<br>第3回日本HTLV-1学会学術集会   |
| 4. 発表年<br>2016年                |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Nakao K, Abematsu N, Sakamoto T  |
| 2. 発表標題<br>General prognosis for HTLV-1-associated uveitis                                      |
| 3. 学会等名<br>18th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses (国際学会) |
| 4. 発表年<br>2017年   |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|               | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                      | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)                       | 備考 |
|---------------|--|---|----|
| 研究<br>分担<br>者 | 久保田 龍二<br><br>(Kubota Ryuji)<br><br>(70336337) | 鹿児島大学・総合科学域総合研究学系・教授<br><br><br><br>(17701) |    |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|