

平成 22 年 4 月 5 日現在

研究種目：基盤研究(B)  
 研究期間：2007～2009  
 課題番号：19390243  
 研究課題名（和文）レトロウイルスによる神経傷害機序：HAMとエイズ脳症患者試料を用いた多角的解析  
 研究課題名（英文）Neuropathogenesis of retrovirus infection: diverse *in vivo* and *ex vivo* analysis of HAM/TSP and AIDS encephalopathy.  
 研究代表者  
 出雲周二（IZUMO SHUJI）  
 鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・教授  
 研究者番号：30143811

## 研究成果の概要（和文）：

ヒトレトロウイルスの慢性遷延性感染が引き起こす神経障害であるHAMとエイズ脳症の共通の発症病態として、感染リンパ球・マクロファージが中枢神経に侵入し、それを排除しようとする免疫反応が炎症過程を引き起こし、周囲組織が巻き込まれて傷害されていること、同様の機序で多発筋炎も生じていることを明らかにした。また、エイズ脳症にはアストロサイトの機能障害による大脳皮質の変性病変が炎症病態とは独立して生じていることを見いだした。

## 研究成果の概要（英文）：

In order to clarify neuropathogenesis of retrovirus-induced neurological disorders we performed diverse *in vivo* and *ex vivo* analysis of HAM/TSP and AIDS encephalopathy. We demonstrated presence of infected mononuclear cells and accumulation of virus-specific cytotoxic T lymphocytes in the inflammatory lesions of HAM/TSP. Additional studies on AIDS encephalopathy, as well as HTLV-1-associated polymyositis, suggest that invasion of infected mononuclear cells in the site of the nervous system and immune responses against these infected cells is a common pathogenic process of retrovirus induced neurological disorders. We also demonstrated that degeneration of the cerebral cortex occurs in AIDS encephalopathy independently from the inflammatory process, and dysfunction of astrocytes may have a role in this degenerative process.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005年度			
2006年度			
2007年度	5,100,000	1,530,000	6,630,000
2008年度	4,600,000	1,380,000	5,980,000
2009年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
総計	14,100,000	4,230,000	18,330,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：神経内科学

キーワード：HTLV-1 ・ HIV-1 ・ HAM/TSP ・ エイズ脳症 ・ 発症病態 ・ 治療法

## 1. 研究開始当初の背景

我々は、成人T細胞白血病 (ATL) の原因ウイルスとして発見されたヒトレトロウイルス HTLV-1 が、ATL とは独立した病態として、中枢神経系に慢性炎症と変性を引き起こすことを見だし、HAM の疾患概念を確立するとともに、その病態、発症機序の解明を進め、神経組織自体にウイルス感染はなく、本来の宿主であるT細胞に感染し、接着因子を介して脊髄組織に持ち込まれて炎症反応の標的になっているという *by-stander* 機序の根拠を示した。発症病態に則した治療法の開発が待たれている。

もう一つのヒトレトロウイルスである HIV-1 感染では、免疫系の崩壊とは独立して神経系特有の病態として HIV 脳症が生じるが、その病態や治療法についてはまだ不明な部分が多い。また、HAART の確立により、エイズが不治の病から長期間コントロールしうる慢性疾患へと変貌しつつあるが、今後 HIV-1 感染症の長期慢性化に伴い、「免疫不全を伴わない HIV 脳症」という新たな神経疾患の出現が想定され、HIV 脳症の病態の解明と病態に則した治療法の開発が望まれている。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、ヒトレトロウイルスの慢性遷延性感染を背景に引き起こされる神経障害 HAM と HIV 脳症について、症例の詳細な臨床像、ウイルス動態、免疫動態、神経病理組織像、病巣局所での感染細胞の同定など、その病態を比較しながら多角的に解析することにより、それぞれの発症病態の共通するもの、特異的なものを明らかにし、発症機序の詳細を解明することにある。特に、HAM とエイズ脳症に共通に重要である、感染細胞の中枢神経進入機序、神経組織傷害機序を解明し、治療の標的となる病的機序を見出すことにより病態に則した治療法の開発につなげることをめざした。

## 3. 研究の方法

本研究組織はこれまでに HAM 患者の臨床解析、剖検例の病理組織解析、患者末梢血・髄液試料をもちいた免疫学的解析、分子生物学的解析、ウイルス学的検索など、多角的な研究を推進してきており、スムーズな連携ができています。また、HIV 脳症についてはこれまで共同研究を進めているウィーン大学の Budka 教授より剖検例の提供を受け、SIV 感染サルは国立感染研の森一泰主任研究員との共同研究として研究を推進した。

HTLV-1 については、HAM 剖検例の脊髄病変

組織をもちいて病巣局所環境の病理組織学的、分子病理学的解析をおこなった。特にウイルス特異的細胞傷害性Tリンパ球の病巣での検出と浸潤細胞の発現分子の特徴について解析した。

また、HAM 患者の HTLV-1 に対する免疫動態の特徴を探るために、末梢血リンパ球をもちいて免疫機能分子の発現の違いをフローサイトメトリーにより解析した。

エイズ脳症については、エイズ脳症剖検例、SIV 感染サルを用いて、神経病理学的・分子病理学的解析をおこなった。特に炎症性病変においてはウイルス分子の発現と炎症性サイトカインの発現との関連について、大脳皮質の変性病変についてはアストロサイト、ミクログリアの機能分子の発現と神経細胞死との関連について免疫組織学的に検索した。

HTLV-1 感染との関連が示唆されている多発性筋炎についても、多数の多発性筋炎症例の臨床データと生検筋の病理組織所見の HTLV-1 陽性例と陰性例での差異について解析し、HAM やエイズ脳症の病態との関連を検討した。

## 4. 研究成果

HAM における脊髄病巣の病理組織解析により、炎症病巣内に HTLV-1 特異的細胞傷害性T細胞が集積しており、HTLV-1 感染細胞を攻撃していることを証明した。HAM の発症病態として、末梢血から感染リンパ球とそれをターゲットにするウイルス特異的細胞傷害性が中枢神経組織に浸潤して種々の免疫応答が引き起こされ、炎症過程に周囲神経組織が巻き込まれて傷害される、所謂 *bystander* 傷害であることを示す所見である。そのほか、炎症の持続に関与する IL-17 を産生する Th17 細胞の浸潤が証明された。

また、HTLV-1 関連多発筋炎について詳細な病理組織学的検索をおこない、筋肉鞘への細胞浸潤が強いにもかかわらず筋細胞の壊死像が少なく、HAM と同様の *bystander* 傷害機序が生じていると考えられ、レトロウイルスが引き起こす炎症病変に共通する特徴であることを示唆している。

エイズ脳症の発症病態について、サルモデル・ヒト剖検例の検索により、HIV 脳炎ではウイルス感染マクロファージが産生する IL-1 $\beta$  が炎症の持続に関与していることを見出した。一方、エイズ脳症患者脳では炎症性病変とは独立して大脳皮質に星状膠細胞の障害とミクログリアの瀰漫性増勢が生じていることを明らかにした。さらに、アストロサイトに局在し、シナプス間隙の興奮性神経伝達物質グルタミン酸の調節により神経細胞保護作用を担っている EAAT-2 や、細

胞外スペースの水分子の調節に重要な働きをしているアクアポリン4の発現がエイズ脳皮質で低下していることを見いだした。EAAT-2 やアクアポリン4はアストロサイトの機能の指標となり、エイズ脳症の皮質変性病態に関与していることを示した。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

- ① Xing HQ, Moritoyo T, Mori K, Sugimoto C, Ono F, Izumo S. Expression of proinflammatory cytokines and its relationship with virus infection in the brain of macaques inoculated with macrophage-tropic simian immunodeficiency virus. (査読有) *Neuropathology*. 29, 2009, 13-19.
- ② Xing HQ, Hayakawa H, Gelpi E, Kubota R, Budka H, Izumo S. Reduced expression of excitatory amino acid transporter 2 and diffuse microglial activation in the cerebral cortex in AIDS cases with or without HIV encephalitis. (査読有) *J Neuropathol Exp Neurol*. 68, 2009, 199-209.
- ③ Xing HQ, Hayakawa H, Izumo K, Kubota R, Gelpi E, Budka H, Izumo S. In vivo expression of proinflammatory cytokines in HIV encephalitis: an analysis of 11 autopsy cases. (査読有) *Neuropathology*. 29, 2009, 433-442.
- ④ Matsuura E, Umehara F, Nose H, Higuchi I, Matsuoka E, Izumi K, Kubota R, Saito M, Izumo S, Arimura K, Osame M. Inclusion body myositis associated with human T-lymphotropic virus-type I infection: eleven patients from an endemic area in Japan. (査読有) *J Neuropathol Exp Neurol*. 67, 2008, 41-49.
- ⑤ Hayashi D, Kubota R, Takenouchi N, Tanaka Y, Hirano R, Takashima H, Osame M, Izumo S, Arimura K. Reduced Foxp3 expression with increased cytomegalovirus-specific CTL in HTLV-I-associated myelopathy. (査読有) *J Neuroimmunol*. 200, 2008, 115-124.

- ⑥ Xing HQ, Mori K, Sugimoto C, Ono F, Izumo K, Kubota R, Izumo S. Impaired astrocytes and diffuse activation of microglia in the cerebral cortex in simian immunodeficiency virus-infected Macaques without simian immunodeficiency virus encephalitis. (査読有) *J Neuropathol Exp Neurol*. 67, 2008, 600-611.
- ⑦ Sabouri AH, Usuku K, Hayashi D, Izumo S, Ohara Y, Osame M, Saito M. Impaired function of human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)-specific CD8+ T cells in HTLV-1-associated neurologic disease. (査読有) *Blood*. 112, 2008, 2411-2420.
- ⑧ Baba M, Okamoto M, Hamasaki T, Horai S, Wang X, Ito Y, Suda Y, Arima N. Highly enhanced expression of CD70 on human T-lymphotropic virus type 1-carrying T-cell lines and adult T-cell leukemia cells. (査読有) *J Virol*. 82, 2008, 3843-3852.
- ⑨ Kubota R, Hanada K, Furukawa Y, Arimura K, Osame M, Gojobori T, Izumo S. Genetic stability of human T lymphotropic virus type I despite antiviral pressures by CTLs. (査読有) *J Immunol*. 178, 2007, 5966-5972.
- ⑩ Arimura K, Nakagawa M, Izumo S, Usuku K, Itoyama Y, Kira J, Osame M. Safety and efficacy of interferon-alpha in 167 patients with human T-cell lymphotropic virus type 1-associated myelopathy. (査読有) *J Neurovirology*. 13, 2007, 364-372.

[学会発表] (計 15 件)

- ① 吉満 誠, 小迫知弘, 鈴木伸介, 松下格司, 魚住公治, 久保田龍二, 出雲周二, 有馬直道. HTLV-I 感染者における免疫抑制性受容体の発現. 第 2 回 HTLV-I 研究会. 2009 年 8 月 29 日, 東京都
- ② 児玉大介, 久保田龍二, 出雲周二. HTLV-I 関連脊髄症 (HAM/TSP) における RNA マイクロアレイ解析による検討. 第 2 回 HTLV-I 研究会. 2009 年 8 月 29 日, 東京都
- ③ 久保田龍二, 松浦英治, 有村公良, 出雲周

二：抗原認識特異度の低いHTLV-I 特異的 CTLはウイルス淘汰圧が高い. 第50回日本神経学会総会, 2009年5月20日, 仙台市

- ④ 松崎敏男, 久保田龍二, 有村公良, 出雲周二. HTLV-I キャリア外来の現状とHAM患者の動向について. 第50回日本神経学会総会, 2009年5月21日, 仙台市
- ⑤ 児玉大介, 久保田龍二, 出雲周二. HTLV-I 関連脊髄症 (HAM/TSP) 患者末梢血単核球を用いた合胞体形成の検討. 第50回日本神経学会総会. 2009年5月20日, 仙台市
- ⑥ 邢 惠琴, 森 一泰, 出雲周二. 炎症性サイトカイン TNF- $\alpha$  と IL-1 $\beta$  のエイズ脳症への関与; サルエイズモデルでの検討. 第49回日本神経病理学会 2008年5月21日, 東京都
- ⑦ 出雲周二, シンポジウム 3: HAART と NeuroAIDS. NeuroAIDS とサイトカイン: ヒト剖検例とサルエイズモデルをもちいた免疫組織学的検討. 第22回日本エイズ学会. 2008年5月15日, 大阪市
- ⑧ 久保田龍二. HLA-A24 は HAM では頻度が高いがウイルス量は低い. 第49回日本神経学会. 2008年5月15日, 横浜市
- ⑨ Xing, HuiQin, 森 一泰, 出雲周二. エイズ脳症病巣における炎症性サイトカインの発現: サルエイズモデルを用いた解析. 第20回日本神経免疫学会総会. 2008年4月18日, 新潟市
- ⑩ 出雲周二 教育講演 03: HIV 感染における神経障害: エイズ脳症の発症機序を中心に. 第21回日本エイズ学会学術集会. 2007. 11. 29, 広島市

[図書] (計2件)

- ① 出雲周二. 医学書院, 今日の治療指針 2010年版「私はこうして治療している」 pp768-770, (2010).
- ② 出雲周二 (分担). 文光堂. 第III章 HTLV-1 関連疾患 HAM/TSP の疫学と臨床像、病理、治療. HTLV-1 と疾患 渡邊俊樹、上平 憲、山口一成(編)2007. 96-105

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

出雲 周二 (IZUMO SHUJI)  
鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・教授  
研究者番号: 30143811

### (2) 研究分担者

久保田 龍二 (KUBOTA RYUJI)  
鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・准教授  
研究者番号: 70336337

古川 良尚 (HURUKAWA YOSHITAKA)  
鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院・講師  
研究者番号: 00359978

岡本 美佳 (OKAMOTO MIKA)  
鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・講師  
研究者番号: 90336347

有村 公良 (ARIMURA KIMIYOSHI)  
鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・准教授  
研究者番号: 20159510

梅原 藤雄 (UMEHARA HUIJIO)  
鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・講師  
研究者番号: 20271140

### (3) 連携研究者

森 一泰 (MORI KAZUYASU)  
国立感染症研究所・エイズ研究センター・主任研究員  
研究者番号: 20270655