

間質性肺疾患における抗 HTLV-I 抗体に関する研究

第 1 編

DPB, IIP における抗 HTLV-I 抗体並びに HTLV-I 関連反応の Western blot 法による検討

岡山大学医学部第二内科学教室 (指導: 木村郁郎教授)

植 野 克 巳

(平成 4 年 11 月 20 日受稿)

Key words: びまん性汎細気管支炎, 特発性間質性肺炎, 抗 HTLV-I 抗体,
HTLV-I 関連反応, Western blot 法

緒 言

びまん性汎細気管支炎 diffuse panbronchiolitis (DPB)¹⁾ 及び特発性間質性肺炎 idiopathic interstitial pneumonia (IIP) は、難治性で慢性進行性の経過をとる原因不明の間質性肺疾患である。木村²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾らはこれら疾患の病因としてのウイルス感染関与を検索し、DPB の経過中に成人 T 細胞白血病 adult T cell leukemia (ATL)⁶⁾ の併存する症例を見出したことから、成人 T 細胞白血病ウイルス I 型 human T lymphotropic virus type I (HTLV-I) 感染に着目した。その後木村⁷⁾⁸⁾⁹⁾は、HTLV-I 感染が DPB, IIP の病因の 1 つである可能性を示し、HTLV-I 感染を背景として発症したと考えられるこれらの呼吸器疾患群に対して、HTLV-I 関連細気管支・肺胞異常症 HTLV-I associated bronchiolo-alveolar disorder (HABA) の概念を提唱した。

木村²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾らは、Hinuma¹⁰⁾らの方法に準じた間接蛍光抗体法 indirect immunofluorescent assay (IF 法)により DPB, IIP 症例の抗 HTLV-I 抗体を検索した。この時 ATL 細胞株である MT-1 細胞¹¹⁾と共に、スクリーニングとして HTLV-I を多数産生している MT-2 細胞¹²⁾も用いた所、抗 HTLV-I 抗体の他に 60~80% の MT-1 細胞あるいは MT-2 細胞がびまん性に

蛍光を呈する HTLV-I 関連反応を認めた。これまでの他疾患を含めた検討²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾から、HTLV-I 関連反応は DPB 及び IIP に特異的な反応と考えられている。

そこで今回、MT-2 細胞可溶性蛋白を用いて Western blot 法¹³⁾により IF 法での抗 HTLV-I 抗体と HTLV-I 関連反応の各陽性血清について、MT-2 細胞に含まれる HTLV-I 構成蛋白との反応性を検索し、DPB 及び IIP における抗 HTLV-I 抗体並びに関連反応の意義について検討した。

対 象

岡山大学第 2 内科の外来及び入院患者のうち厚生省研究班の DPB 診断の手引き¹⁴⁾及び IIP 診断基準¹⁵⁾に合致した DPB 19 例、IIP 15 例を対象とした。IF 法による検討では DPB 19 例中抗 HTLV-I 抗体陽性 6 例、HTLV-I 関連反応陽性 9 例、抗体、関連反応とも陰性 4 例であった (表 1)。また IIP 15 例中抗 HTLV-I 抗体陽性 1 例、HTLV-I 関連反応陽性 8 例、抗体、関連反応とも陰性 6 例であった (表 2)。疾患対照として抗 HTLV-I 抗体陽性 ATL 患者 7 例、健康人対照 12 例 (年齢 24~36 歳、中央値 29 歳)についても検討した。健康人対照は、いずれも HTLV-I 抗体、関連反応は共に陰性であった。

表1 DPB 症例の IF 法による抗 HTLV-I 抗体、HTLV-I 関連反応と Western blot 法による抗 HTLV-I 抗体との比較

症例	IF 法			Western blot 法
	MT-2 びまん性	MT-1 びまん性 顆粒状		抗 HTLV-I 抗体
抗 HTLV-I 抗体陽性				
1	+	-	+	+
2	+	-	+	+
3	+	-	+	+
4	+	-	+	+
5	+	-	+	+
6	+	-	+	+
HTLV-I 関連反応陽性				
7	+	+	-	-
8	+	+	-	-
9	+	+	-	-
10	+	+	-	-
11	+	+	-	-
12	+	+	-	-
13	+	+	-	-
14	+	-	-	-
15	+	-	-	-
抗 HTLV-I 抗体並びに HTLV-I 関連反応陰性				
16	-	-	-	-
17	-	-	-	-
18	-	-	-	-
19	-	-	-	-

方 法

1. Western blot 法に用いる抗原の作成

HTLV-I 産生細胞株 MT-2¹²⁾ を、10%ウシ胎児血清を含む培養液 RPMI-1640 を用いて、5%CO₂、37℃で培養維持した。これを100×gにて5分間遠心して細胞を集め、phosphate buffered saline (PBS) pH 7.2で3回洗浄した後、Yamamoto¹⁶⁾らの方法に準じ、0.5% Nonidet P40を含む low-salt extraction buffer (0.14M NaCl; 3mM MgCl₂; 1mM dithiothreitol; 2mM phenylmethylsulfonyl fluoride; 10mM Tris-HCl pH 8.0) で5×10⁷cell/mlに調整し、1分間の vortex mixing で細胞膜を破碎した後、4℃で20分間 incubate し、12,000×gにて2分間遠心し上清を採取した。これに1/3量の sample buffer (1M sucrose; 8% sodium dodecyl

表2 IIP 症例の IF 法による抗 HTLV-I 抗体、HTLV-I 関連反応と Western blot 法による抗 HTLV-I 抗体との比較

症例	IF 法			Western blot 法
	MT-2 びまん性	MT-1 びまん性 顆粒状		抗 HTLV-I 抗体
抗 HTLV-I 抗体陽性				
1	+	-	+	+
HTLV-I 関連反応陽性				
2	+	+	-	-
3	+	+	-	-
4	+	+	-	-
5	+	+	-	-
6	+	+	-	-
7	+	+	-	-
8	+	-	-	-
9	+	-	-	-
抗 HTLV-I 抗体並びに HTLV-I 関連反応陰性				
10	-	-	-	-
11	-	-	-	-
12	-	-	-	-
13	-	-	-	-
14	-	-	-	-
15	-	-	-	-

sulfate; 0.25M Tris-HCl pH 6.8; 0.01% bromophenol blue), 1/20量の2-mercaptoethanolを加え、100℃3分間煮沸し、使用時まで-80℃で保存した。

2. Western blot 法

上記のごとく作成した MT-2 細胞可溶性蛋白質溶液を、Laemmli¹⁷⁾の方法に準じ、3%濃縮ゲルを重層した12.5%ゲルにて sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS PAGE) で分子量差により展開した。また同時に、分子量マーカーとしてウサギ筋 phospholylase (分子量94,000)、ウシ血清 albumin (分子量67,000)、卵白 ovalbumin (分子量43,000)、ウシ赤血球 carbonic anhydrase (分子量30,000)、大豆 trypsin inhibitor (分子量20,100)、ウシ乳 α-lactalbumin (分子量14,400) (Farmacia 社, low molecular weight calibration kit) も泳動した。次いでゲル内に展開した蛋白を、バッファータンク型転写装置 (東洋科学産業社, ETB-15) を用い、Towbin¹³⁾ら

の方法で64V (13V/cm) 4時間の電気泳動でニトロセルロース膜(ADVANTEC 東洋社, pore size 0.2 μ m)に転写した。転写後のニトロセルロース膜は、蒸留水で洗浄後、分子量マーカーをAmido-Black 10Bで染色し、次いで3%ウシ血清 albumin で37 $^{\circ}$ C, 12時間 incubate して非特異反応を block し、PBSにて洗浄後、PBSで25倍に希釈した被検血清を37 $^{\circ}$ C, 3時間反応させ、Vectastain ABC 抗ヒト IgG kit (Vector 社)を用いて avidin biotin peroxidase complex 法にて、MT-2 細胞蛋白抗原に反応した被検血清中のヒト IgG 抗体を検出した。

3. 抗 HTLV-I 抗体の特異性の判定

HTLV-I の core protein として p15, p19, p24, その precursor として pr53, envelope protein として p20E, gp46, またその precursor として gp62¹⁸⁾, gag-pX fused protein である p28¹⁹⁾, envelope-pX protein である gp68²⁰⁾のうちいずれかの band を認めるものを、HTLV-I 特異蛋白抗原に対する抗体(抗 HTLV-I 抗体)陽性とした。

結 果

IF 法により抗 HTLV-I 抗体陽性と判定された ATL 7例すべてで、HTLV-I 特異蛋白で

ある p19, p24, p28, pr53の band が検出され、うち6例で、同時に gp46, gp68のいずれか又は両方の band も検出された。一方、陰性対照とした健康人12例では、これらに対する抗体は検出されず、その他の band も認められなかった。

DPB では、IF 法での抗 HTLV-I 抗体陽性の6例すべてで、p19, p24, p28, pr53, gp68の band が検出され、うち4例では、gp46の band も検出され、Western blot 法でも抗 HTLV-I 抗体陽性と判定された。しかしながら、IF 法における HTLV-I 関連反応陽性9例においては、抗体及び関連反応陰性の4例と共に、Western blot 法では HTLV-I 特異蛋白を含むいずれの band も検出されなかった(図1, 表1)。

IIP では、IF 法により抗 HTLV-I 抗体陽性であった1例では、p19, p24, p28, pr53, gp68の各 band が検出され、Western blot 法でも抗 HTLV-I 抗体陽性と判定された。しかしながら、IF 法における HTLV-I 関連反応陽性8例、抗体及び関連反応陰性6例の計14例全例で、Western blot 法において HTLV-I 特異蛋白を含むいずれの band も検出されなかった(図2, 表2)。

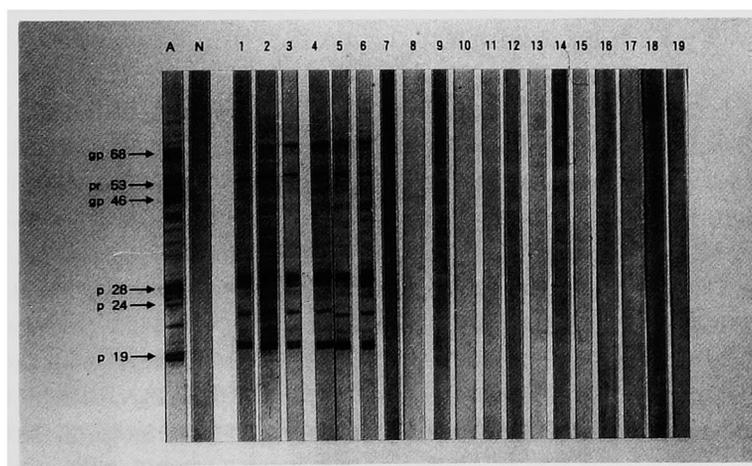


図1 Western blot 法による DPB 患者血清 IgG 抗体と MT-2 細胞可溶性蛋白抗原との反応
A: ATL 患者, N: 健康人対照, 1-6: IF 法で抗 HTLV-I 抗体陽性の DPB, 7-15: HTLV-I 関連反応陽性の DPB, 16-19: 抗 HTLV-I 抗体並びに HTLV-I 関連反応陰性の DPB.
1-6のみ ATL 患者と同様、HTLV-I 特異蛋白に対する band を認める。健康人対照及び7-19では、band を認めない。

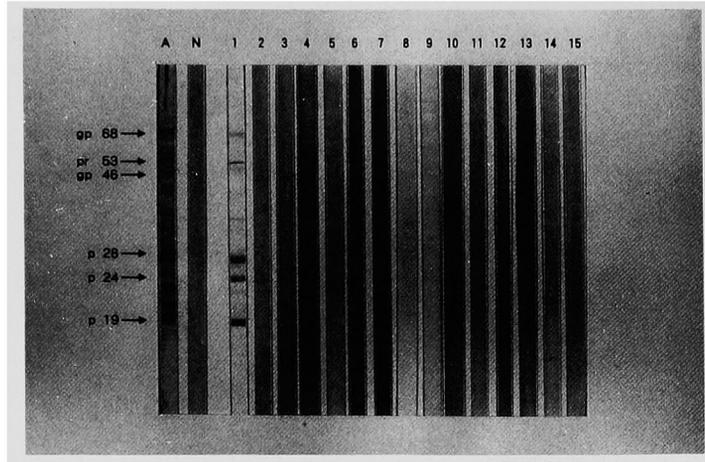


図2 Western blot 法による IIP 患者血清 IgG 抗体と MT-2 細胞可溶性蛋白抗原との反応
 A : ATL 患者, N : 健康人対照, 1 : IF 法で抗 HTLV-I 抗体陽性の IIP, 2-9 : HTLV-I 関連反応陽性の IIP, 10-15 : 抗 HTLV-I 抗体並びに HTLV-I 関連反応陰性の IIP.
 1 のみ ATL 患者と同様, HTLV-I 特異蛋白に対する band を認める. 健康人対照及び 2-15 では, band を認めない.

考 察

抗 HTLV-I 抗体は, その陽性者が HTLV-I 持続感染者であることが証明されている²¹⁾²²⁾. 一方, HTLV-I 関連反応は, DPB と IIP に特異的な反応²³⁾⁴⁾⁵⁾とされているものの, その本態は現在のところ不明である.

IF 法による抗 HTLV-I 抗体の検索において, 抗体陽性血清は, 1~5% の MT-1 細胞が顆粒状に蛍光を呈し, かつ 60~80% の MT-2 細胞がびまん性に蛍光を呈する. 一方, HTLV-I 関連反応陽性血清は, 60~80% の MT-1 細胞あるいは MT-2 細胞がびまん性に蛍光を呈する²³⁾⁴⁾⁵⁾. 即ちこの両反応は, MT-1 細胞については明らかに異なる反応であるが, MT-2 細胞については類似の反応を呈する. 吸収試験では, HTLV-I 関連反応は, HTLV-I を産生しているヒト T 細胞株である MT-1 細胞, MT-2 細胞のどちらでも吸収されるが, HTLV-I 非感染ヒト T 細胞株である Molt-4²³⁾ 細胞では吸収されない⁷⁾⁸⁾. 従って, この関連反応は HTLV-I に関連した何らかの反応あるいは, HTLV-I 構成蛋白以外の HTLV-I 感染に伴って産生された蛋白部分に対する反応を検出している可能性がある.

一方, Western blot 法は Towbin¹³⁾ らによって考えられた方法で, ゲル中の蛋白を電気泳動によりニトロセルロース膜に転写し, 抗原抗体反応を可能にするものである. SDS PAGE により蛋白抗原を分子量差で展開した後に Western blot 法を行えば, 抗原抗体反応を抗原分子量により同定することができる.

そこで今回, MT-2 細胞可溶性蛋白の SDS PAGE を行い, Western blot 法を用いて, IF 法による DPB と IIP における抗 HTLV-I 抗体と HTLV-I 関連反応の各陽性血清を比較検討し, MT-2 細胞の持つ分子量既知の HTLV-I 構成蛋白に対する抗体を検討すると共に, HTLV-I 関連反応に対応する抗原の性状についての解析を試みこの反応の本態を追求した.

DPB, IIP で IF 法により抗 HTLV-I 抗体陽性とされていた 7 例は, 全例 Western blot 法で HTLV-I 特異蛋白に対する IgG 抗体が陽性であった. 一方, HTLV-I 関連反応陽性の 17 例は, 全例 HTLV-I 特異蛋白に対する IgG 抗体は陰性であり, かつそれ以外の band についても検出されなかった. 従って, Western blot 法では, HTLV-I 関連反応が HTLV-I 構成蛋白に対する反応ではないことは示されたが, その本態は依然不明である.

HTLV-I 関連反応は, 吸収試験からは HTLV-I 感染細胞に共通した反応と考えられるので, これらの細胞が共通して持つ何らかの抗原性物質に対する抗 HTLV-I 抗体陰性血清の反応である可能性は考えられる. IF 法で蛍光を呈しながら Western blot 法で抗原抗体反応を検出できなかった原因として, 次のような可能性が考えられた. ①抗原の作成にあたり, 細胞成分の可溶性が十分でなかった. ②加熱, または 2-mercaptoethanol による還元のため, 抗原性が変化した. ③転写にあたり, 抗原分子量が不明のため, 適切な転写時間が設定できなかった.

抗 HTLV-I 抗体陰性の HTLV-I 持続感染者の存在が Sarin²⁴⁾ ら, Nakano²⁵⁾ らによって示されている. また, 輸血歴も麻薬常習歴もない 38 歳の女性 ATL 患者で, 抗 HTLV-I 抗体の陽性転化が報告されている²⁶⁾. さらに, HTLV-I の主な感染経路が母子感染²⁷⁾, 特に母乳感染²⁸⁾ とされているにもかかわらず, 抗 HTLV-I 抗体保有率は年齢と共に増加し, 中年以後に最も高い²⁹⁾ ことも知られている. これらのことから, HTLV-I 感染者は, 年齢とともに抗 HTLV-I 抗体が陽性となり, この移行が中年期以後に起こる者も少なくないと推察される. 従って, HTLV-I 関連反応がこのような抗 HTLV-

I 抗体陰性期の HTLV-I 持続感染者血清の HTLV-I 感染細胞に対する反応である可能性もあり, HTLV-I 感染と DPB, IIP 発症との関連につき, さらに研究を続ける必要があると思われる.

結 語

DPB, IIP で高率に認められる抗 HTLV-I 抗体及び HTLV-I 関連反応の本態を調べる目的で, Western blot 法を用い, MT-2 細胞可溶性蛋白を抗原として, IF 法による抗 HTLV-I 抗体陽性血清及び HTLV-I 関連反応陽性血清中の IgG 抗体の反応性を調べた.

IF 法による抗 HTLV-I 抗体陽性血清はすべて, Western blot 法によって HTLV-I 特異蛋白に対する IgG 抗体が陽性であった. 一方, HTLV-I 関連反応陽性血清はすべて HTLV-I 特異蛋白に対する IgG 抗体は陰性で, またその他の band も検出されなかった. 従って, Western blot 法により HTLV-I 関連反応の本態をつきとめることはできなかった.

稿を終えるにあたり, 終始御指導御校閲を賜った恩師木村郁郎教授に深甚の謝意を表すると共に直接御指導頂いた坪田輝彦講師, 多田慎也講師に深謝致します.

文 献

- 1) 本間日臣:びまん性汎細気管支炎(びまん性呼吸細気管支炎), 日内会誌(1976) 65, 645—659.
- 2) Kimura I, Tsubota T, Tada S and Sogawa J: Presence of antibodies against adult T cell leukemia antigen in the patients with chronic respiratory diseases. Acta Med Okayama (1986) 40, 281—284.
- 3) 木村郁郎, 坪田輝彦, 中田安成, 高橋 清, 平木俊吉, 多田慎也, 十川重次郎, 白石高昌, 藤田豊明: 慢性進行性間質性肺疾患 (DPB, IIP) における ATLA 抗体並びにその関連反応に関する研究 — DPB と成人 T 細胞白血病の併発例を含めて —. 厚生省特定疾患間質性肺疾患調査研究班, 昭和 61 年度研究報告書 (1987) pp 47—50.
- 4) 木村郁郎, 大熨泰亮, 坪田輝彦, 高橋 功, 中田安成, 高橋 清, 上田暢男, 平木俊吉, 多田慎也, 十川重次郎, 白石高昌, 米井敏郎: びまん性汎細気管支炎における成人 T 細胞白血病的発症並びに ATLA 関連反応の出現について. 日胸疾患会誌 (1987) 25, 240—244.
- 5) 木村郁郎, 大熨泰亮, 坪田輝彦, 高橋 功, 中田安成, 高橋 清, 平木俊吉, 多田慎也, 十川重次郎, 名部誠, 米井敏郎, 真田 浩: 特発性間質性肺炎における ATLA 関連反応並びに成人 T 細胞白血病様細胞の出現について. 日胸疾患会誌 (1987) 25, 245—250.
- 6) 高月 清, 内山 卓, 佐川公矯, 淀井淳司: リンパ系腫瘍細胞の表面マーカー — 新しい疾患概念としての

- 成人T細胞白血病, 臨血 (1976) 17, 416—421.
- 7) 木村郁郎: HTLV-I 関連細気管支・肺胞異常症 HTLV-I associated bronchiolo-alveolar disorder (HABA)—DPB, IIP における ATL の存在とその本態一, 日胸臨 (1988) 47, 283—293.
 - 8) 木村郁郎: HABA (HTLV-I associated bronchiolo-alveolar disorder), *Med Immunol* (1989) 18, 769—775.
 - 9) 木村郁郎: DPB, IIP と成人T細胞白血病との関連について (中間調査成績) HTLV-I 関連細気管支・肺胞異常症 (HTLV-I associated bronchiolo-alveolar disorder: HABA), 厚生省特定疾患間質性肺疾患調査研究班, 昭和62年度研究報告書 (1988) pp 47—48.
 - 10) Hinuma Y, Nagata K, Hanaoka M, Nakai M, Matsumoto T, Kinoshita K, Shirakawa S and Miyoshi I: Adult T-cell leukemia: Antigen in an ATL cell line and detection of antibodies to the antigen in human sera. *Proc Natl Acad Sci USA* (1981) 78, 6476—6480.
 - 11) Miyoshi I, Kubonishi I, Sumida M, Hiraki S, Tsubota T, Kimura I, Miyamoto K and Sato J: A novel T-cell line derived from adult T-cell leukemia. *Gann* (1980) 71, 155—156.
 - 12) Miyoshi I, Kubonishi I, Yoshimoto S, Akagi T, Ohtsuki Y, Shiraishi Y, Nagata K and Hinuma Y: Type C virus particles in a cord T-cell line derived by co-cultivating normal human cord leukocytes and human leukaemic T cells. *Nature* (1981) 294, 770—771.
 - 13) Towbin H, Staehelin T and Gordon J: Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: Procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci USA* (1979) 76, 4350—4354.
 - 14) 谷本晋一, 本間日臣: びまん性汎細気管支炎診断の手引きについて, 厚生省特定疾患間質性肺疾患調査研究班, 昭和57年度研究報告書 (1982) pp 49—50.
 - 15) 田村昌士: 特発性間質性肺炎の診断基準 (改定案) について, 厚生省特定疾患間質性肺疾患調査研究班, 昭和55年度研究報告書 (1981) pp 4—6.
 - 16) Yamamoto N and Hinuma Y: Antigens in an adult T-cell leukemia virus-producer cell line: Reactivity with human serum antibodies. *Int J Cancer* (1982) 30, 289—293.
 - 17) Laemmli UK: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* (1970) 227, 680—685.
 - 18) Hattori S, Kiyokawa T, Imagawa K, Shimizu F, Hashimura E, Seiki M and Yoshida M: Identification of gag and env gene products of human T-cell leukemia virus (HTLV). *Virology* (1984) 136, 338—347.
 - 19) Iino T, Takeuchi K, Nam SH, Shiomi H, Sabe H, Kobayashi N and Hatanaka M: Structural analysis of p28 adult T-cell leukemia-associated antigen. *J Gen Virol* (1986) 67, 1373—1379.
 - 20) Miwa M, Shimotohno K, Hoshino H, Fujino M and Sugimura T: Detection of pX proteins in human T-cell leukemia virus (HTLV)-infected cells by using antibody against peptide deduced from sequences of X-IV DNA of HTLV-I and Xc DNA of HTLV-II proviruses. *Gann* (1984) 75, 752—755.
 - 21) Miyoshi I, Taguchi H, Fujishita M, Niiya K, Kitagawa T, Ohtsuki Y and Akagi T: Asymptomatic type C virus carriers in the family of an adult T-cell leukemia patient. *Gann* (1982) 73, 339—340.
 - 22) Gotoh Y, Sugamura K and Hinuma Y: Healthy carriers of a human retrovirus, adult T-cell leukemia virus (ATLV): Demonstration by clonal culture of ATLV-carrying T cells from peripheral blood. *Proc Natl Acad Sci USA* (1982) 79, 4780—4782.
 - 23) Minowada J, Ohnuma T and Moore GE: Brief communication: Rosette-forming human lymphoid cell lines. I. Establishment and evidence for origin of thymus-derived lymphocytes. *J Natl Cancer*

- Inst (1972) **49**, 891—895.
- 24) Sarin PS, Aoki T, Shibata A, Ohnishi Y, Aoyagi Y, Miyakoshi H, Emura I, Kalyanaraman VS, Robert-Guroff M, Popovic M, Sarngadharan M, Nowell PC and Gallo RC : High incidence of human type-C retrovirus (HTLV) in family members of a HTLV-positive Japanese T-cell leukemia patient. Proc Natl Acad Sci USA (1983) **80**, 2370—2374.
 - 25) Nakano S, Ando Y, Saito K, Moriyama I, Ichijo M, Toyama T, Sugamura K, Imai J and Hinuma Y : Primary infection of Japanese infants with adult T-cell leukaemia-associated retrovirus (ATLV) : evidence for viral transmission from mothers to children. J Infect (1986) **12**, 205—212.
 - 26) Picard F, Dreyfus F, Guern ML, Tulliez M, d'Auriol L, Neron S, Galibert F, Saragosti S and Varet B : Acute T-cell leukemia/lymphoma mimicking Hodgkin's disease with secondary HTLV I seroconversion. Cancer (1990) **66**, 1524—1528.
 - 27) Hino S, Yamaguchi K, Katamine S, Sugiyama H, Amagasaki T, Kinoshita K, Yoshida Y, Doi H, Tsuji Y and Miyamoto T : Mother-to-child transmission of human T-cell leukemia virus type-I. Jpn J Cancer Res (Gann) (1985) **76**, 474—480.
 - 28) Nakano S, Ando Y, Ichijo M, Moriyama I, Saito S, Sugamura K and Hinuma Y : Search for possible routes of vertical and horizontal transmission of adult T-cell leukemia virus. Gann (1984) **75**, 1044—1045.
 - 29) Tajima K, Tominaga S, Suchi T, Kawagoe T, Komoda H, Hinuma Y, Oda T and Fujita K : Epidemiological analysis of the distribution of antibody to adult T-cell leukemia-virus-associated antigen : Possible horizontal transmission of adult T-cell leukemia virus. Gann (1982) **73**, 893—901.

Studies on anti-HTLV-I antibody in interstitial lung diseases**Part 1. Western blot analysis for anti-HTLV-I antibody
and HTLV-I related reaction in DPB and IIP****Katsumi UENO****Second Department of Internal Medicine,****Okayama University Medical School,****Okayama 700, Japan****(Director : Prof. I. Kimura)**

By the immunofluorescent assay for the anti-HTLV-I antibody, the serum of many patients with diffuse panbronchiolitis (DPB) and idiopathic interstitial pneumonia (IIP) show two types of cytoplasmic fluorescence. One is a granular pattern in the MT-1 cell and diffuse pattern in the MT-2 cell. This is the typical pattern for the anti-HTLV-I antibody. The other is a diffuse pattern in the MT-1 and/or MT-2 cells. This pattern has been designated as HTLV-I related reaction. These serum reactions were investigated by Western blot analysis with an MT-2 cell lysate as antigen. Although about 20% of the patients with DPB and IIP were considered to be suffering from HTLV-I associated bronchiolo-alveolar disorder (HABA) because they showed the typical pattern of anti-HTLV-I antibody, only those patients with HABA were shown to have the antibodies against HTLV-I specific proteins (p19, p24, p28, p53 and gp68). On the other hand, the patients with HTLV-I related reaction had neither the antibodies against any HTLV-I proteins nor the other protein components of MT-2. Thus, Western blot analysis revealed that antibodies against HTLV-I specific proteins were present only in the patients with HABA.