

用いて当施設での測定値を補正化することが可能であるかを検証することである。ウイルス量は、pX の測定値と内部標準測定値の比で求められるので、それぞれの値が標準品と平行関係にあることが求められる。今回の解析では、内部標準 ( $\beta$  actin) に関しては、標準品と比較して当施設での測定値は大きな差違が認められなかった。しかしながら、pX の測定値は標準品と比較して高い傾向を示し、問題であるのは、濃度によって実測値と理論値の比率が大きく異なり、直線的な平行関係にない点が挙げられる。この問題は、将来的に補正化するにあたって障壁となる可能性があるであろう。この問題を解決するには、検量線用の DNA を共通化することも視野に入れ検討する必要があると考える。

検査の感度・特異度も本研究では検証されたが、希釈によって 3well 中 1well で陽性的の場合、感染している可能性が十分にあることが示された。出来るだけ感度を落とすことなく、非感染者が必ず陰性となる測定条件を確立できるかが重要であろう。しかしながら、抗体検査で判定保留と診断された場合に感染の有無を確認するにあたっては、より感度に優れた方法を取り入れた検証が必要と思われる。

## E. 結論

当施設での HTLV-1 ウイルス量は、理論値よりも約 3~5 倍高い値を示し、その主な原因は検量線に用いている pX DNA の実測値が理論値と異なることに起因するものと考えられた。さらに、現在用いている pX DNA の実測値と理論値は平行

線の関係がなく、補正化は決して容易ではない可能性が示された。今後は、内部標準や pX DNA 標準の推奨される候補を提示するための研究の実施が望まれる。

また、HTLV-1 定量 PCR 検査の感度と特異度に関する検証では、1well あたり pX 6 copy 以上では確実に検出できたが、それ未満では陽性と陰性の well が認められた。今後は、非感染者において 100%検出されない測定系の確立が可能であるかに関する検討と、カットオフ値に関する議論が必要と考える。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Sato T., Araya N., Yagishita N., Ando H., Yamano Y. Host Immune System Abnormalities Among Patients with Human T-Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1)-Associated Disorders. **T-Cell Leukemia**, 65-80/234, InTech, 2011.
- 2) Araya N., Sato T., Yagishita N., Ando H., Utsunomiya A., Jacobson S., Yamano Y. Human T-Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1) and Regulatory T Cells in HTLV-1-Associated Neuroinflammatory Disease. **Viruses**, 3: 1532-1548, 2011.
- 3) Sato T., Azakami K., Ando H., Araya N., Yamano Y. Human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) and innate immunity. **Inflammation and Regeneration**, 31(1): 110-115, 2011.
- 4) Araya N., Takahashi K., Sato T., Nakamura T., Sawa C., Hasegawa D., Ando H., Aratani S., Yagishita N., Fujii R., Oka H., Nishioka K., Nakajima T., Mori N., Yamano Y. Fucoidan therapy

decreases the proviral load in patients with human T-lymphotropic virus type1-associated neurological disease. *Antivir Ther*, 16(1):89-98, 2011.

- 5) Kitazono T., Araya N., Yamano Y., Yamada Y., Nakamura T., Tanaka Y., Inoue M., Ozaki S. Corresponding Author: Okazaki T. Advantage of higher-avidity CTL specific for Tax against human T-lymphotropic virus-1 infected cells and tumors. *Cell Immunol*, 272(1):11-17, 2011.
  - 6) Takamori A., Hasegawa A., Utsunomiya A., Maeda Y., Yamano Y., Masuda M., Shimizu Y., Tamai Y., Sasada A., Zeng N., Choi I., Uike N., Okamura J., Watanabe T., Masuda T., Kannagi M. Functional impairment of Tax-specific but not cytomegalovirus-specific CD8+ cytotoxic T lymphocytes in a minor population of asymptomatic human T-cell leukemia virus type 1-carriers. *Retrovirology* 7(8):100(1-15), 2011.
  - 7) 山野嘉久, 佐藤知雄, 安藤仁, 新谷奈津美, 八木下尚子 HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) の治療法を確立していくために—その現状と展望— 日本臨牀 2011 in press.
  - 8) 山野嘉久, 佐藤知雄, 新谷奈津美, 安藤仁, 八木下尚子 HAM 専門外来の取り組み 神経内科, 75 (4) 387-392, 2011.
  - 9) 安藤仁, 八木下尚子, 新谷奈津美, 佐藤知雄, 山野嘉久 HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) の病態と治療 医療と検査機器・試薬 34 (4) 別冊 機器・試薬 34 (4) : 472-477, 2011.
  - 10) 山野嘉久 HTLV-1 キャリアー, HTLV-1-associated myelopathy(HAM) 患者診療の現状と問題点 血液内科 63 (1) : 81-86, 2011.
- 2) Sato T., Muto M., Araya N., Maekawa R., Suzuki N., Utsunomiya A., Seino K., Yamano Y. Possibility of  $\gamma\delta$  T cell immunotherapy for HTLV-1-infected individuals. 15th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses. June 2011, Leuven, Belgium.
  - 3) Araya N., Sato T., Utsunomiya A., Ando H., Yagishita N., Kannagi M., Nakamura T., Tanaka Y., Jacobson S., Yamano Y. The plasticity of HTLV-1 infected CD4+CD25+CCR4+ T-cells through HTLV-1 tax in HAM/TSP. 15th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses. June 2011, Leuven, Belgium.
  - 4) Yamano Y. Human retrovirus promotes the plasticity of regulatory T cells into T helper type 1-like cells through the T-bet transcriptional activation in neuroinflammatory disease. Bio-Rheumatology International Congress (BRIC) Tokyo: The 8th GARN Meeting November 2011, Tokyo.

#### 国内会議

- 1) 山野嘉久, 新谷奈津美, 佐藤知雄, 中村龍文, 森直樹, 鈴木登 HTLV-1 関連脊髄症(HAM)患者でのフコイダン療法によるウイルス量の減少 第52回日本神経学会学術大会 2011年5月20日 名古屋
- 2) 佐藤知雄, 武藤真人, 新谷奈津美, 八木下尚子, 前川隆司, 宇都宮與, 神奈木真理, 清野研一郎, 山野嘉久 HTLV-1 感染者に適用可能なガンマデルタ T 細胞療法の開発 第4回 HTLV-1 研究会・合同班会議 2011年9月19日 東京

## 2. 学会発表

### 国際会議

- 1) Yamano Y., Sato T., Araya N., Yagishita N., Shimizu Y., Ando H.,

3) 山野嘉久、佐藤知雄、新谷奈津美、八木下尚子、安藤仁、宇都宮與、出雲周二 HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) の臨床病型：臨床経過と検査所見に基づいた分類 第4回 HTLV-1 研究会・合同班会議 2011年9月19日 東京

4) 新谷奈津美、佐藤知雄、安藤仁、八木下尚子、神奈木真理、田中勇悦、宇都宮與、山野嘉久 HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) における HTLV-1 を介した病原性 T 細胞発生機構の解析 第4回 HTLV-1 研究会・合同班会議 2011年9月19日 東京

5) 内丸薫、山野嘉久、塚崎邦弘、鶴池直邦、宇都宮與、濱田利久、岩月啓氏、渡邊俊樹 成人 T 細胞白血病治療および HTLV-1 キャリア対応に関する全国調査 第73回日本血液学会学術集会 2011年10月 名古屋

6) Sato T., Muto M., Araya N., Kojo S., Maekawa R., Utsunomiya A., Seino K., Yamano Y. Frequency and functional significance of  $\gamma\delta$ T cells in HTLV-1-infected individuals. (HTLV-1 感染者におけるガンマデルタ T 細胞の頻度および機能的な重要性). 第40回日本免疫学会学術集会 2011年11月27日 千葉

7) Araya N., Sato T., Utsunomiya A.,

Ando H., Yagishita N., Kannagi M., Tanaka Y., Yamano Y. The molecular mechanism in the plasticity of HTLV-1 infected  $CD4^+CD25^+CCR4^+$  T-cells through HTLV-1 in HAM/TSP. 第40回日本免疫学会学術集会 2011年11月27日 千葉

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

特になし

表 1

| 標準品              |         | VL<br>1回目 | VL<br>2回目 | VL<br>3回目 | VL<br>平均 | SD    | %CV   | 理論値   |
|------------------|---------|-----------|-----------|-----------|----------|-------|-------|-------|
| TL-Om1<br>/PBMCs | 100%    | 334.88    | 257.35    | 245.18    | 279.14   | 48.66 | 17.43 | 91.00 |
|                  | 20%     | 149.82    | 115.57    | 111.58    | 125.66   | 21.02 | 16.73 | 35.10 |
|                  | 4%      | 37.81     | 32.31     | 27.30     | 32.47    | 5.26  | 16.19 | 8.45  |
|                  | 0.8 %   | 9.04      | 6.23      | 7.02      | 7.43     | 1.45  | 19.52 | 1.83  |
|                  | 0.16 %  | 2.48      | 1.63      | 1.63      | 1.91     | 0.49  | 25.77 | 0.37  |
|                  | 0.032 % | 0.42      | 0.28      | 0.35      | 0.35     | 0.07  | 19.50 | 0.07  |
| PBMC             |         | 0.00      | 0.00      | 0.00      | 0.00     | 0.00  | -     | 0.00  |

表 2

| 標準品              |                  | actin      |            |            |          |         |             |      |
|------------------|------------------|------------|------------|------------|----------|---------|-------------|------|
|                  |                  | 1 回目<br>平均 | 2 回目<br>平均 | 3 回目<br>平均 | 全体<br>平均 | 理論値     | 実測地<br>/理論値 |      |
| TL-Om1<br>/PBMCs | 第<br>2<br>回<br>目 | 100%       | 11541.9    | 18930.8    | 20617.9  | 17030.2 | 33333.3     | 0.51 |
|                  |                  | 20%        | 17404.7    | 20499.1    | 19163.5  | 19022.4 | 33333.3     | 0.57 |
|                  |                  | 4%         | 24838.0    | 25098.5    | 28087.9  | 26008.1 | 33333.3     | 0.78 |
|                  |                  | 0.8%       | 26427.7    | 27146.8    | 28949.7  | 27508.1 | 33333.3     | 0.83 |
|                  |                  | 0.16%      | 24534.3    | 24128.7    | 25256.0  | 24639.7 | 33333.3     | 0.74 |
|                  | 0.032%           | 22908.9    | 25570.0    | 25948.4    | 24809.1  | 33333.3 | 0.74        |      |
|                  | 第<br>3<br>回<br>目 | 0.8%       | 32408.8    | 42584.6    | 34342.0  | 36445.1 | 33333.3     | 1.09 |
|                  |                  | 0.05%      | 33846.3    | 33816.6    | 34914.4  | 34192.4 | 33333.3     | 1.03 |
|                  |                  | 0.02%      | 32294.1    | 33034.3    | 33637.5  | 32988.6 | 33333.3     | 0.99 |
|                  |                  | 0.005%     | 26716.0    | 30080.9    | 30615.5  | 29137.5 | 33333.3     | 0.87 |
| 0.002%           |                  | 31903.5    | 27892.4    | 31334.4    | 30376.8  | 33333.3 | 0.91        |      |
| PBMC             |                  | 30946.6    | 33015.6    | 32030.0    | 31997.4  | 33333.3 | 0.96        |      |

表 3

| 標準品              |            |        | px         |            |            |          |         |             |
|------------------|------------|--------|------------|------------|------------|----------|---------|-------------|
|                  |            |        | 1 回目<br>平均 | 2 回目<br>平均 | 3 回目<br>平均 | 全体<br>平均 | 理論値     | 実測地<br>/理論値 |
| TL-Om1<br>/PBMCs | 第 2<br>回 目 | 100%   | 19325.6    | 24359.3    | 25275.6    | 22986.8  | 30000.0 | 0.77        |
|                  |            | 20%    | 13038.2    | 11845.7    | 10691.1    | 11858.3  | 6000.0  | 1.98        |
|                  |            | 4%     | 4696.2     | 4054.1     | 3834.3     | 4194.9   | 1200.0  | 3.50        |
|                  |            | 0.8%   | 1194.9     | 845.5      | 1016.8     | 1019.0   | 240.0   | 4.25        |
|                  |            | 0.16%  | 304.7      | 196.3      | 206.0      | 235.6    | 48.0    | 4.91        |
|                  |            | 0.032% | 48.2       | 36.3       | 45.4       | 43.3     | 9.6     | 4.51        |
|                  | 第 3<br>回 目 | 0.8%   | 1000.1     | 1461.8     | 1024.2     | 1162.0   | 240.0   | 4.84        |
|                  |            | 0.05%  | 26.5       | 22.6       | 49.4       | 32.8     | 15.0    | 2.19        |
|                  |            | 0.02%  | 12.9       | 12.0       | 13.5       | 12.8     | 6.0     | 2.13        |
|                  |            | 0.005% | 2.1        | 3.0        | 1.5        | 2.2      | 1.5     | 1.46        |
| 0.002%           |            | 0.0    | 1.6        | 0.7        | 0.7        | 0.6      | 1.24    |             |
| PBMC             |            |        | 0.0        | 0.0        | 0.0        | 0.0      | 0.0     |             |

表 4

| 検体 No | Donor   | $\beta$ -actin<br>average | px<br>1 well | px<br>2 well | px<br>3 well | px<br>average | Viral<br>Load |
|-------|---------|---------------------------|--------------|--------------|--------------|---------------|---------------|
| 1     | AC      | 28073.6                   | 894.7        | 835.1        | 845.2        | 858.3         | 6.11          |
| 2     | AC      | 25811.9                   | 3583.5       | 3516.1       | 3177.6       | 3425.7        | 26.54         |
| 3     | AC      | 33923.4                   | 2852.2       | 2278.0       | 2377.2       | 2502.5        | 14.75         |
| 4     | AC      | 31795.1                   | 1220.3       | 1362.5       | 1094.1       | 1225.6        | 7.71          |
| 5     | AC      | 25752.2                   | 90.2         | 74.2         | 89.5         | 84.6          | 0.66          |
| 6     | AC      | 28904.3                   | 1157.4       | 1124.8       | 1059.9       | 1114.0        | 7.71          |
| 7     | AC      | 32304.0                   | 2.4          | 0.0          | 2.6          | 1.7           | 0.01          |
| 8     | AC      | 30940.6                   | 228.2        | 249.5        | 252.0        | 243.2         | 1.57          |
| 9     | ATL 治療中 | 34037.9                   | 673.0        | 636.0        | 656.8        | 655.2         | 3.85          |
| 10    | AC      | 30006.8                   | 1.9          | 3.2          | 7.2          | 4.1           | 0.03          |
| 11    | AC      | 19833.6                   | 104.5        | 112.8        | 118.7        | 112.0         | 1.13          |
| 12    | AC      | 22014.4                   | 682.6        | 586.4        | 700.5        | 656.5         | 5.96          |
| 13    | ATL 移後  | 18313.8                   | 0.0          | 0.0          | 0.0          | 0.0           | 0.00          |
| 14    | AC      | 22409.2                   | 884.3        | 812.4        | 795.0        | 830.5         | 7.41          |
| 15    | AC      | 28184.4                   | 111.9        | 128.0        | 138.0        | 125.9         | 0.89          |
| 16    | AC      | 36132.1                   | 2612.2       | 2358.7       | 2199.1       | 2390.0        | 13.23         |
| 17    | AC      | 28779.3                   | 68.5         | 67.2         | 80.4         | 72.1          | 0.50          |
| 18    | AC      | 23613.6                   | 2138.3       | 2319.8       | 1911.1       | 2123.1        | 17.98         |
| 19    | ATL 移後  | 32253.5                   | 6.3          | 12.9         | 13.4         | 10.9          | 0.07          |
| 20    | AC      | 33797.7                   | 427.3        | 424.8        | 365.8        | 405.9         | 2.40          |
| 21    | HAM     | 25018.4                   | 3024.8       | 2923.9       | 2717.4       | 2888.7        | 23.09         |
| 22    | AC      | 22330.6                   | 141.2        | 113.7        | 135.0        | 130.0         | 1.16          |
| 23    | ND      | 27034.6                   | 0.0          | 0.0          | 1.5          | 0.5           | 0.00          |
| 24    | ND      | 28437.7                   | 0.0          | 0.0          | 0.0          | 0.0           | 0.00          |
| 25    | ND      | 32225.0                   | 0.0          | 0.0          | 0.0          | 0.0           | 0.00          |
| 26    | ND      | 28351.6                   | 0.0          | 0.0          | 3.7          | 1.2           | 0.01          |
| 27    | ND      | 32024.0                   | 0.0          | 0.9          | 0.0          | 0.3           | 0.00          |
| 28    | ND      | 36929.4                   | 0.0          | 0.0          | 0.0          | 0.0           | 0.00          |
| 29    | ND      | 29874.5                   | 0.0          | 0.0          | 2.0          | 0.7           | 0.00          |
| 30    | ND      | 31378.6                   | 0.0          | 0.0          | 0.0          | 0.0           | 0.00          |
| 31    | ND      | 25174.1                   | 1.6          | 0.0          | 1.5          | 1.0           | 0.01          |
| 32    | ND      | 38273.4                   | 0.0          | 0.0          | 0.0          | 0.0           | 0.00          |

表 5

| 標準品             |        | pX<br>1回目 | pX<br>1回目 | pX<br>1回目 | pX<br>2回目 | pX<br>2回目 | pX<br>2回目 | pX<br>3回目 | pX<br>3回目 | pX<br>3回目 | 理論<br>値 |
|-----------------|--------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------|
| TL-Om1<br>/PBMC | 0.8%   | 1017.36   | 1018.74   | 964.06    | 1331.46   | 1684.28   | 1369.59   | 1056.51   | 1014.51   | 1001.63   | 240     |
|                 | 0.05%  | 31.86     | 18.43     | 29.31     | 16.89     | 26.22     | 24.70     | 53.86     | 62.40     | 31.88     | 15      |
|                 | 0.02%  | 9.70      | 12.82     | 16.08     | 15.53     | 9.29      | 11.05     | 19.69     | 4.32      | 16.55     | 6       |
|                 | 0.005% | 2.30      | 2.75      | 1.13      | 2.15      | 2.09      | 4.75      | 0.00      | 0.00      | 4.51      | 1.5     |
|                 | 0.002% | 0.00      | 0.00      | 0.00      | 2.64      | 2.10      | 0.00      | 0.00      | 1.98      | 0.00      | 0.6     |
| PBMC            |        | 0.00      | 0.00      | 0.00      | 0.00      | 0.00      | 0.00      | 0.00      | 0.00      | 0.00      | 0       |



HTLV-1ぶどう膜炎における末梢血中HTLV-1ウイルス量の検討

研究分担者 望月 學 東京医科歯科大学 眼科学 教授

研究要旨： HTLV-1感染症の診断法の標準かと発症リスクの解明に関する研究の一環として、HTLV-1感染者に生じる眼内炎症疾患（HTLV-1ぶどう膜炎）について末梢血中のHTLV-1ウイルス感染細胞数（ウイルス量）を検討した。その結果、HTLV-1ぶどう膜炎患者の末梢血ウイルス量は無症候キャリアよりも高く、HAMよりも低い値であった。このことから、HTLV-1ぶどう膜炎はHTLV-1関連疾患の中では末梢血ウイルス量が比較的低い時期から発病する疾患と位置付けられ、末梢血ウイルス量が高くなった場合にHAMやATLなどの発症につながるかを注意深く観察する必要があると考えられた。

#### A. 研究目的

HTLV-1感染症の診断法の標準かと発症リスクの解明に関する研究の一環として、HTLV-1感染者に生じる眼内炎症疾患（HTLV-1ぶどう膜炎）について研究する。即ち、HTLV-1ぶどう膜炎の診断法の確立、HTLV-1ぶどう膜炎と他のHTLV-1疾患との関連性、末梢血中のHTLV-1ウイルス感染細胞数などの病態を明らかにし、本症の発症リスクについて検討する。

#### B. 研究方法

ATL、HAMとともにHTLV-1感染が病因・病態に関与するとされている疾患について、HTLV-1ウイルス感染と各疾患の病態との関連を明らかにし、また診断の標準化をおこなうことを目的とした。当分担での研究目的は、HTLV-1陽性のぶどう膜炎患者の、①ウイルス学的検討②陰性者との臨床的所見の違いの検討③ATLやHAM、その他の慢性炎症疾患との関連を解析し本ウイルス感染症の全体像の把握をするものである。

（倫理面への配慮）

本研究はヘルシンキ宣言に基づく原則に従い、かつ「疫学研究に関する倫理指針」に準じて実施する。当該臨床研究実施計画書及びその他、最新の審査資料に基づき、倫理的、科学的及び医学的妥当性の観点から、その実施の適否について東京医科歯科大学学内倫理審査委員会に付議され承認を得ている。

#### C. 研究結果

東京医科歯科大学眼科、並びに、HTLV-1高侵淫地域の宮崎県都城市の宮田眼科病院において、HTLV-1ぶどう膜炎患者の末梢血を採取し東京大学医科学研究所渡邊俊樹研究室に送付し、HTLV-1ウイルス量測定をおこなった。同時に、調査研究プロトコールに従って患者に対するアンケートをおこない、ならびに眼科検査をおこなった。

HTLV-1ぶどう膜炎患者末梢血のウイルス量はHAM患者、ATL患者に比べて低いレベルであった。

#### D. 考察

過去の我々の報告ではHTLV-1ぶどう膜炎患者の末梢血ウイルス量は無症候キャリアよりも有意に高く、HAMよりも低い値であったが、今回の標準化した末梢血HTLV-1ウイルス量測定においても同様の傾向であった。このことは、HTLV-1ぶどう膜炎はHTLV-1関連疾患の中では末梢血ウイルス量が比較的低い時期から発病する疾患と位置付けられ、そこから末梢血ウイルス量が高くなった場合にどのような事が起こるかを注意深く観察する必要がある。従って、今後はHTLV-1ぶどう膜炎患者からHAMを発症する症例、あるいはATLを発症する症例の有無、並びに、そのような症例の場合に末梢血HTLV-1ウイルス量の変化について調べ、それらがHAM、ATL発症の予測因子になる

かどうかについて、長期的な経過観察と研究の継続をおこなう必要があると考えられた。

なし

#### E. 結論

HTLV-1ぶどう膜炎患者の末梢血ウイルス量は無症候キャリアとHAM患者の間にある。HTLV-1ぶどう膜炎からHAM、ATLを発症する患者の有無と末梢血ウイルス量の変化を観察する事が重要と考えられた。

#### 2. 学会発表

なし

#### F. 健康危険情報

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

##### 3. その他

なし

ATL発症危険因子としてのバイオマーカーに関する検討

研究分担者 大隈 和 国立感染症研究所・血液・安全性研究部・室長  
研究分担者 巽 正志 国立感染症研究所・エイズ研究センター・室長  
研究協力者 百瀬暖佳 国立感染症研究所・血液・安全性研究部・主任研究官

研究要旨：成人T細胞白血病（ATL）は全身の各臓器に浸潤する悪性の血液腫瘍であり、HTLV-1キャリアから発症する。生涯推定発症率はあまり高くないが、有効な予防法や治療法は未だ確立されておらず、HTLV-1キャリアをフォローするための標準的なバイオマーカーも設定されていない。そこで、今後のキャリアフォローの充実化を図るため、HTLV-1キャリアの病態の進行度や重症度を判定し、ALT発症予測に応用可能なバイオマーカーを探索することを目的とし、本研究を実施した。ATL患者で高値を示すことが報告されているHGF、sFas、およびOPNについて予備検討を行ったところ、HTLV-1キャリア血漿中のHGF量は健常者より有意に高かった。また、sFasおよびOPN量はATL患者検体でHTLV-1キャリアより有意に高い結果が得られ、HGF、sFas、OPNがバイオマーカーとして利用できる可能性が示唆された。

A. 研究目的

成人T細胞白血病（ATL）はHTLV-1キャリアから発症する悪性の血液腫瘍である。生涯推定発症率は数%と考えられているが、有効な予防法、治療法は確立されておらず、血液腫瘍の中で最も予後不良な疾患の一つである。HTLV-1キャリアは九州・沖縄地方を中心とした南西日本に多く見られたが、近年、九州・沖縄地方でのキャリア率は減少傾向にある。一方、関東・近畿地方の都市部でのキャリア率が増加しており、全国的な対策が必要と考えられる。本年度より本格的に開始された妊婦スクリーニングは全国一律の母子感染対策の一つであるが、母子感染対策と同時に、無症候性HTLV-1キャリアのフォロー体制を整備することも重要である。本研究課題では、今後のキャリアフォローの充実化を図るため、HTLV-1キャリアの病態の進行度や重症度を判定し、ATL発症予測に応用可能なバイオマーカーを探索することを目的とした。

バイオマーカーの候補としては、血中の可溶性蛋白質や細胞表面抗原（膜蛋白質や糖鎖等）が適していると考えられる。これまでにATL患者で高発現していることが報告されている分子のうち、Hepatocyte growth factor (HGF)、sFas、Osteopontin (OPN)等がバイオマーカーの候補として挙げられた。

HGFはATL患者血漿で高値を示す他(Choi et al., *Oncogene*, 2007)、HGFの受容体であるc-MetはATL細胞で異所的に発現しており (Imaizumi et al., *Clin. Cancer Res.*, 2003)、ATLの病態にHGF/c-Met系が関与することが示唆される。sFasはATL患者血中に過剰産生され (Kamihira et al., *Internal Medicine*, 1997; Sugahara et al., *Int. J. Cancer*, 1997; Kamihira et al., *Brit. J. Haematol.*, 1999)、ATL予後不良の危険因子と考えられる。OPNもATL患者血中で高値を示す。ATL細胞では発現が弱いものの、リンパ節浸潤マクロファージで高発現しており (Chagan-Yasutan et al., *Leuk. Res.*, 2011)、病態への関与が示唆される。

ATL予後不良の危険因子と考えられる。OPNもATL患者血中で高値を示す。ATL細胞では発現が弱いものの、リンパ節浸潤マクロファージで高発現しており (Chagan-Yasutan et al., *Leuk. Res.*, 2011)、病態への関与が示唆される。

そこで、血漿中のHGF、sFas、OPNがATL発症のバイオマーカーと成り得るかどうかが、予備検討を行った。

B. 研究方法

健常者血漿、およびHTLV-1キャリア血漿中のHGF量、sFas量、OPN量は、それぞれQuantikine<sup>®</sup> Human HGF、Quantikine<sup>®</sup> Human sFas、Quantikine<sup>®</sup> Human Osteopontin (いずれもR&D systems)を用いて測定した。

検体は冷温融解の後、1000 x gで10分間遠心した上清を用いた。上清は各測定項目の測定域に合わせて4~100倍に希釈し、200  $\mu$ Lを一次抗体が固相化されたプレートに添加して、室温にて2時間インキュベーションした。400  $\mu$ Lの洗浄液で4回洗浄後、酵素標識された二次抗体200  $\mu$ Lを加えて室温でさらに2時間インキュベーションした。再び400  $\mu$ Lの洗浄液で4回洗浄後、基質液200  $\mu$ Lを加え、遮光して30分間室温でインキュベーションした。反応停止液50  $\mu$ Lを加えた後、マイクロプレートリーダーで吸光度 (Abs<sub>450</sub>-Abs<sub>545</sub>)を測定した。測定は2回繰り返して実施し、平均値を求めた。

(倫理面への配慮)

本研究課題は、患者等の個人情報が必要としない。本研究は、国立感染症研究所のヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会に申請を行い、審査を受け承認を得ている。

C. 研究結果

各検体中のHGF、sFas、およびOPN量を、ELISA法にて測定した。検体の内訳は、健常者4名、HTLV-1キャリア18名、ATL患者（治療後）2名、ATL患者（治

療中) 1名である。

各血漿のHGF量は、健常者： $0.45 \pm 0.88$  ng/mL、HTLV-1キャリア： $1.43 \pm 0.44$  ng/mL、ATL患者（治療後）： $1.31$ および $2.17$  ng/mL、ATL患者（治療中）： $3.68$  ng/mLであった。HTLV-1キャリアは健常者より有意に高い値を示し（ $P < 0.01$ ）、ATL患者（治療後）とは有意差がなかった（ $P = 0.37$ ）（図1）。

各血漿のsFas量は、健常者： $4.73 \pm 0.61$  ng/mL、HTLV-1キャリア： $6.96 \pm 2.30$  ng/mL、ATL患者（治療後）： $9.97$ および $12.4$  ng/mL、ATL患者（治療中）： $11.8$  ng/mLであった。HTLV-1キャリア群は健常者群との間に有意な差を認めず（ $P = 0.07$ ）、ATL患者（治療後）はキャリア群よりやや高値を示した（ $P = 0.02$ ）（図2）。

各血漿のOPN量は、健常者： $63.8 \pm 32.1$  ng/mL、HTLV-1キャリア： $65.6 \pm 25.9$  ng/mL、ATL患者（治療後）： $108$ および $179$  ng/mL、ATL患者（治療中）： $102$  ng/mLであった。HTLV-1キャリア群は健常者群との間に有意な差を認めず（ $P = 0.91$ ）、ATL患者（治療後）はキャリア群より高値を示した（ $P < 0.01$ ）（図3）。

#### D. 考察

血漿中のHGFはHTLV-1キャリアで健常者より高値を示し、sFasとOPNはATL治療後の検体でHTLV-1キャリアより高値を示す結果が得られた。限られた検体から得られたデータではあるが、HGF、sFas、OPNがATL発症のバイオマーカーと成り得る可能性が示唆されたと考える。今後は検体数を増やし、より詳細な検討を続ける必要がある。

今回用いた検体では、血漿分離に用いた抗凝固剤が一部統一されていない。抗凝固剤によってHGF、sFas、OPNの測定値はやや異なるため、今後は抗凝固剤を統一するか検体を血清に変更し、より正確なデータを収集する必要がある。さらに、健常者群とHTLV-1キャリア群の間で、年齢や性別等のバックグラウンドをある程度揃えることが出来れば、より信頼性の高いデータを得ることができると考えられる。

#### E. 結論

血漿中のHGF、sFas、OPN量は、健常者、HTLV-1キャリア、ATL患者の順に高くなる傾向がみられ、ATL発症のバイオマーカー候補となる可能性が示唆された。今後は比較群間でのバックグラウンドのすりあわせ等を行い、検体数を増やして詳細な検討を進める必要がある。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

1) 大隈 和、舘山誠司、森下和広、広瀬国孝、山本直樹、山口一成、浜口 功. 腫瘍溶解性ウイルス VSV を用いた ATL に対する TSLC1 分子標的療法の開発. 第4回 HTLV-1 研究会 2011年9月19日 東京大学弥生講堂

2) Okuma K, Fukagawa K, Kohma T, Morishita K, Yamamoto N, Yamaguchi K, Hamaguchi I. A novel potential anti-ATL therapeutic based on a vesicular stomatitis virus targeting TSLC1. XXV IACRLRD Symposium Tokyo. 17 Sept, 2011.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

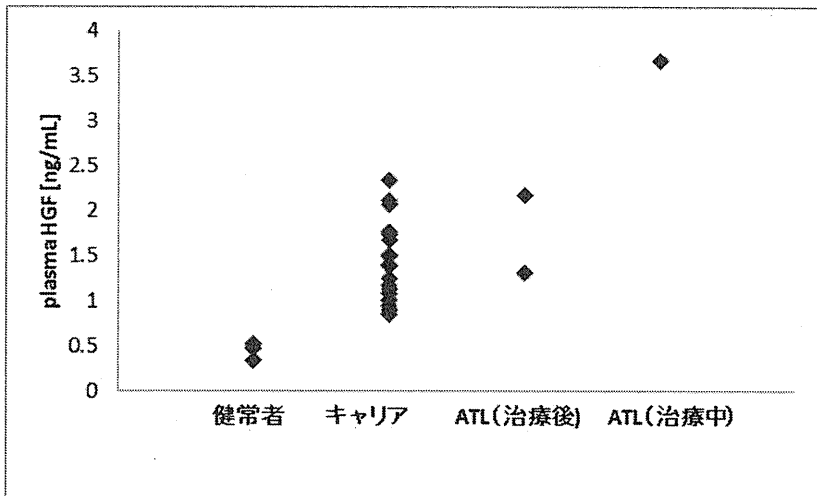


図1 健常者、およびHTLV-1キャリアにおける血漿中のHGF量

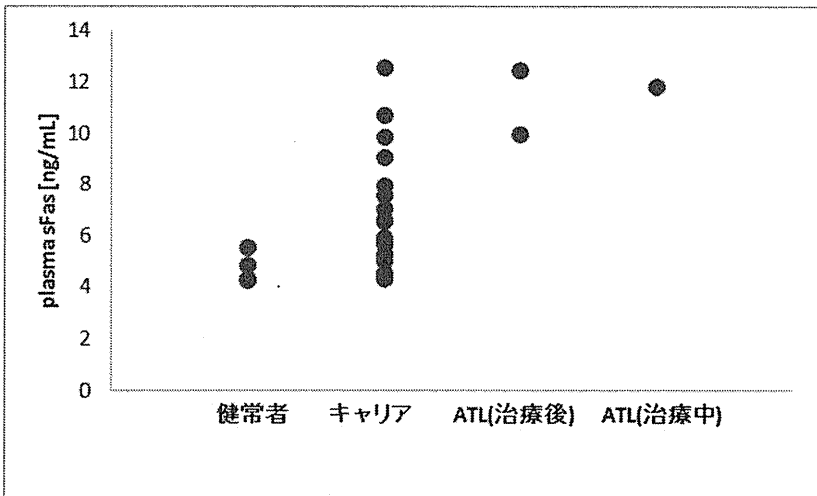


図2 健常者、およびHTLV-1キャリアにおける血漿中のsFas量

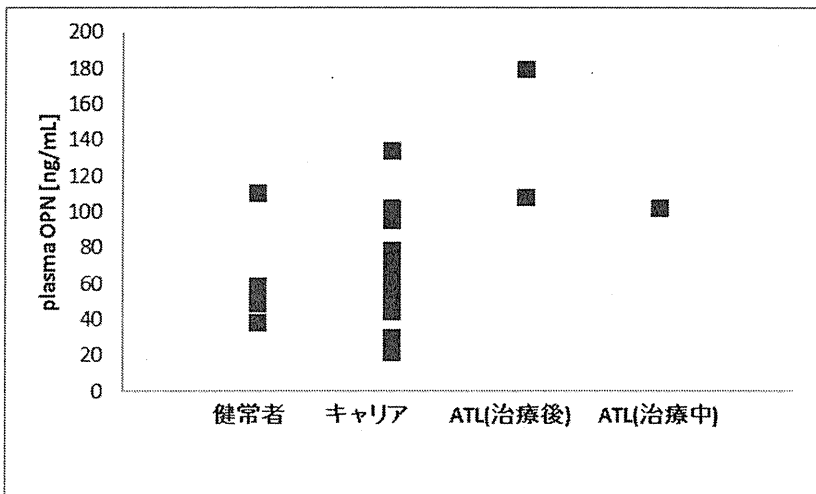


図3 健常者、およびHTLV-1キャリアにおける血漿中のOPN量

### III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

| 著者氏名  | 論文タイトル名   | 書籍全体の編集者名                              | 書籍名                              | 出版社名   | 出版地     | 出版年         | ページ           |
|---|---|--|----------------------------------|--------|---------|-------------|---------------|
| Sato T,<br>Araya N,<br>Yagishita N,<br>Ando H,<br>Yamano Y.                                 | Host Immune System Abnormalities Among Patients with Human T-Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1)-Associated Disorders. | Babusikova O,<br>Dovat S,<br>Payne KJ. | T-Cell Leukemia                  | INTECH | Croatia | 2011        | 65-80/<br>234 |
| Oka T,<br>Sato H,<br>Ouchida M,<br>Utsunomiya A,<br>Ennishi D,<br>Tanimoto M,<br>Yoshino T. | Accumulation of Specific epigenetic abnormalities during development and progression of T cell leukemia /lymphoma.    | Babusikova O,<br>Dovat S,<br>Payne KJ. | T-Cell Leukemia                  | INTECH | Croatia | 2011        | 131-68        |
| 齋藤 滋.   | Ⅱ. 胎児編 4.母子感染症. 5) HTLV-I.  | 日本周産期・新生児学会編.                          | 症例から学ぶ周産期診療ワークブック                |        |         | 2012年6月刊行予定 |               |
| 宇都宮與.   | 第IX章 白血球系疾患:腫瘍性疾患 23.   | 日本血液学会編.                               | 成人T細胞白血病/リンパ腫<br>血液専門医テキスト       | 南江堂    | 東京      | 2011        | 302-312       |
| 宇都宮與、<br>窪田歩.   | §6. 悪性リンパ腫およびリンパ系腫瘍 9. 成人T細胞白血病/リンパ腫  | 木崎昌弘編.                                 | 白血病・リンパ腫・骨髄腫<br>—今日の診断と治療<br>第4版 | 中外医学社  | 東京      | 2011        | 436-444       |

雑誌

| 発表者氏名   | 論文タイトル名   | 発表誌名                     | 巻号 | ページ | 出版年      |
|---|---|--------------------------|----|-----|----------|
| Kamihira S, et al.  | Heterogeneity in clonal nature in smoldering ATL.                           | Int J Hematol            |    |     | In press |
| Nakai A,<br>Saito S,<br>Unno N,<br>Kubo T,<br>Minakami H.   | Pandemic (H1N1) 2009 among pregnant Japanese women<br>-Review-.             | J Obstet<br>Gynaecol Res |    |     | In press |
| Kuramitsu M,<br>Sato-Otsubo A,<br>Morio T,<br>Takagi M,<br>Toki T,<br>Terui K,<br>Wang R,<br>Kanno H,<br>Ohga S,<br>Ohara A,<br>Kojima S,<br>Kitoh T,<br>Goi K,<br>Kudo K,<br>Matsubayashi T,<br>Mizue N,<br>Ozeki M,<br>Masumi A,<br>Momose H,<br>Takizawa K,<br>Mizukami T,<br>Yamaguchi K,<br>Ogawa S,<br>Ito E,<br>Hamaguchi I. | Extensive gene deletions in Japanese patients with Diamond-Blackfan anemia. | Blood                    |    |     | In press |



|  |  |              |  |                        |      |
|--|--|--------------|--|------------------------|------|
| Ishida T,<br>Joh T,<br>Uike N,<br>Yamamoto K,<br>Utsunomiya A,<br>Yoshida S,<br>Saburi Y,<br>Miyamoto T,<br>Takemoto S,<br>Suzushima H,<br>Tsukasaki K,<br>Nosaka K,<br>Fuzjiwara H,<br>Ishitsuka K,<br>Inagaki H,<br>Ogura M,<br>Akinaga S,<br>Tomonaga M,<br>Tobinai K,<br>Ueda R. | Defucosylated anti-CCR4<br>Monoclonal antibody<br>(KW-0761) for relapsed adult<br>T-cell leukemia-lymphoma:<br>a multicenter Phase II study. | J Clin Oncol |  | Epub ahead<br>of print | 2012 |
| Nishikawa H,<br>Maeda Y,<br>Ishida T,<br>Gnjatic S,<br>Sato E,<br>Mori F,<br>Sugiyama D,<br>Ito A,<br>Fukumori Y,<br>Utsunomiya A,<br>Inagaki H,<br>Old LJ,<br>Ueda R,<br>Sakaguchi S.   | Cancer/testis antigens are<br>novel targets of immunotherapy<br>for adult T-cell<br>leukemia/lymphoma.                                       | Blood        |  | Epub ahead<br>of print | 2012 |
| Ueno S,<br>Umeki K,<br>Takajo I,<br>Nagatomo Y,<br>Kusumoto N,<br>Umekita K,<br>Morishita K,<br>Okayama A.   | Proviral loads of human<br>T-lymphotropic virus type 1 in<br>asymptomatic carriers with<br>different infection routes.                       | Int J Cancer |  | Epub ahead<br>of print | 2011 |

|  |   |             |       |        |      |
|--|---|-------------|-------|--------|------|
| Yamagishi M,<br>Nakano K,<br>Miyake A,<br>Yamochi T,<br>Kagami Y,<br>Tsutsumi A,<br>Matsuda Y,<br>Sato-Otsubo A,<br>Muto S,<br>Utsunomiya A,<br>Yamaguchi K,<br>Uchimaru K,<br>Ogawa S,<br>Watanabe T.                                     | Polycomb-Mediated Loss of<br>miR-31 Activates<br>NIK-Dependent NF- $\kappa$ B<br>Pathway in Adult T Cell<br>Leukemia and Other Cancers. | Cancer Cell | 21(1) | 121-35 | 2012 |
| Satake M,<br>Yamaguchi K,<br>Tadokoro K.   | Current prevalence of HTLV-1<br>in Japan as determined by<br>screening of blood donors.   | J Med Virol | 84(2) | 327-35 | 2012 |
| Nakahata S,<br>Saito Y,<br>Marutsuka K,<br>Hidaka T,<br>Maeda K,<br>Hatakeyama K,<br>Shiraga T,<br>Goto A,<br>Takamatsu N,<br>Asada Y,<br>Utsunomiya A,<br>Okayama A,<br>Kubuki Y,<br>Shimoda K,<br>Ukai Y,<br>Kurosawa G,<br>Morishita K. | Clinical significance of<br>CADM1/TSLC1/IgSF4<br>expression in adult T-cell<br>leukemia/lymphoma.                                       | Leukemia    |       | 379    | 2012 |

|   |  |                                     |       |         |      |
|---|--|-------------------------------------|-------|---------|------|
| Minakami H,<br>Hiramatsu Y,<br>Koresawa M,<br>Fujii T,<br>Hamada H,<br>Iitsuka Y,<br>Ikeda T,<br>Ishikawa H,<br>Ishimoto H,<br>Itoh H,<br>Kanayama N,<br>Kasuga Y,<br>Kawabata M,<br>Konishi I,<br>Matsubara S,<br>Matsuda H,<br>Murakoshi T,<br>Ohkuchi A,<br>Okai T,<br>Saito S,<br>Sakai M,<br>Satoh S,<br>Sekizawa A,<br>Suzuki M,<br>Takahashi T,<br>Tokunaga A,<br>Tsukahara Y,<br>Yoshikawa H. | Guidelines for<br>obstetrical practice in Japan:<br>Japan Society of<br>Obstetrics and Gynecology<br>(JSOG) and Japan<br>Association of Obstetricians<br>and Gynecologists<br>(JAOG) 2011 edition. | J Obstet<br>Gynaecol Res            | 37    | 1174-97 | 2011 |
| Araya N,<br>Sato T,<br>Yagishita N,<br>Ando H,<br>Utsunomiya A,<br>Jacobson S,<br>Yamano Y.   | Human T-Lymphotropic Virus<br>Type 1 (HTLV-1) and<br>Regulatory T Cells in<br>HTLV-1-Associated<br>Neuroinflammatory Disease.  | Viruses                             | 3     | 1532-48 | 2011 |
| Sato T,<br>Azakami K,<br>Ando H,<br>Araya N,<br>Yamano Y.   | Human T-lymphotropic virus<br>type 1 (HTLV-1) and innate<br>immunity.  | Inflammation<br>and<br>Regeneration | 31(1) | 110-5   | 2011 |

|   |  |               |        |           |      |
|---|--|---------------|--------|-----------|------|
| Araya N,<br>Takahashi K,<br>Sato T,<br>Nakamura T,<br>Sawa C,<br>Hasegawa D,<br>Ando H,<br>Aratani S,<br>Yagishita N,<br>Fujii R,<br>Oka H,<br>Nishioka K,<br>Nakajima T,<br>Mori N,<br>Yamano Y.                 | Fucoidan therapy decreases the proviral load in patients with human T-lymphotropic virus type 1-associated neurological disease.   | Antivir Ther  | 16(1)  | 89-98     | 2011 |
| Kitazono T,<br>Okazaki T,<br>Araya N,<br>Yamano Y,<br>Yamada Y,<br>Nakamura T,<br>Tanaka Y,<br>Inoue M,<br>Ozaki S.   | Advantage of higher-avidity CTL specific for Tax against human T-lymphotropic virus-1 infected cells and tumors.   | Cell Immunol  | 272(1) | 11-7      | 2011 |
| Takamori A,<br>Hasegawa A,<br>Utsunomiya A,<br>Maeda Y,<br>Yamano Y,<br>Masuda M,<br>Shimizu Y,<br>Tamai Y,<br>Sasada A,<br>Zeng N,<br>Choi I,<br>Uike N,<br>Okamura J,<br>Watanabe T,<br>Masuda T,<br>Kannagi M. | Functional impairment of Tax-specific but not cytomegalovirus-specific CD8+ cytotoxic T lymphocytes in a minor population of asymptomatic human T-cell leukemia virus type 1-carriers. | Retrovirology | 7(8)   | 100(1-15) | 2011 |