

図5. 長崎方式によるHTLV-1キャリア妊婦のスクリーニング成績
:2011年1月1日～2012年12月31日

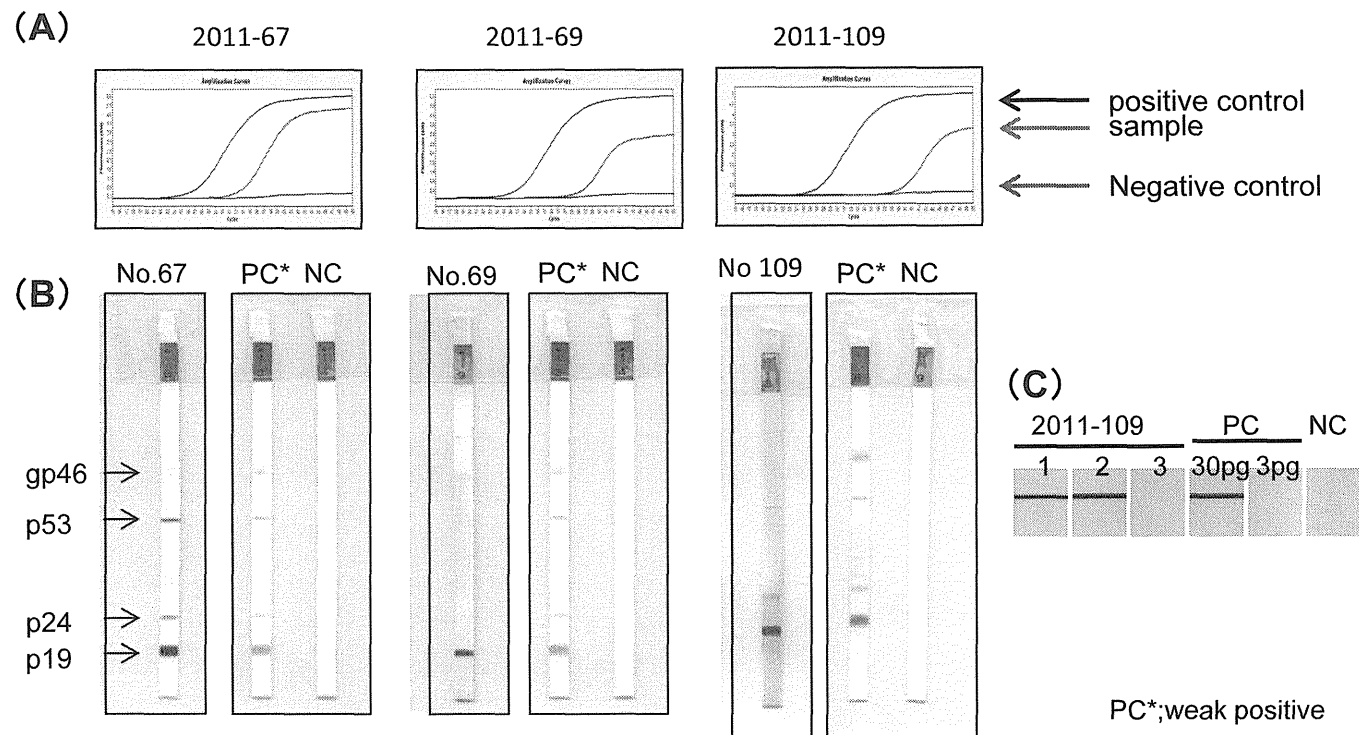


図6. WB法にて判定保留とされた3例について、qPCR法を実施して、provirusの陽性シグナルが観察された。

(A)PCR増幅曲線

(B) WB結果 何れもgp46が陰性ないし基準コントロール血清より薄バンド(PC*; weak positive)。

(C)2011-109検体のnested pCR 陽性バンド

Nos 67, 69 and 109: サンプル番号、PC: Positive control、NC: Negative control

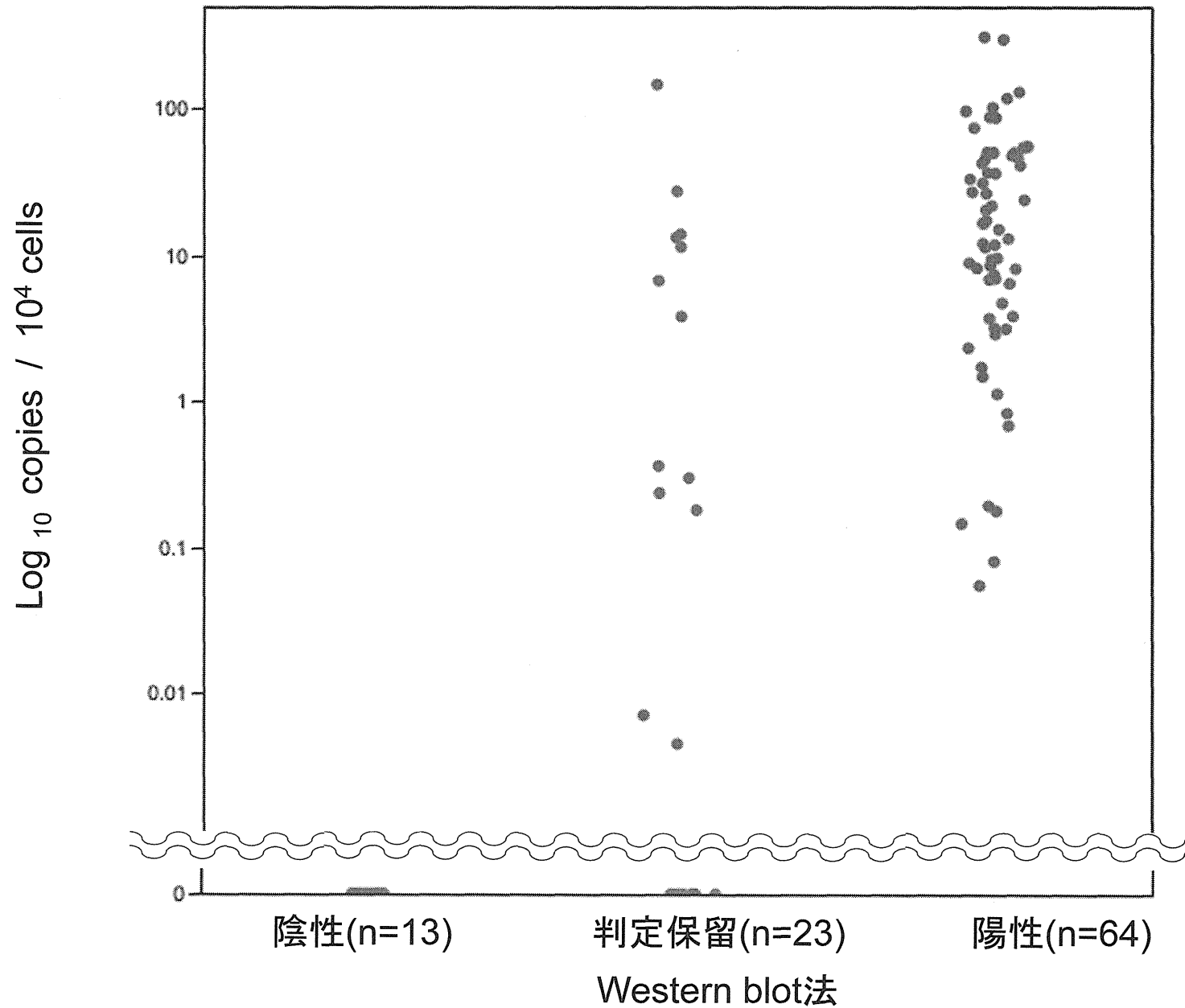


図7. Western Blot法による判定結果とHTLV-1 viral loadとの関連

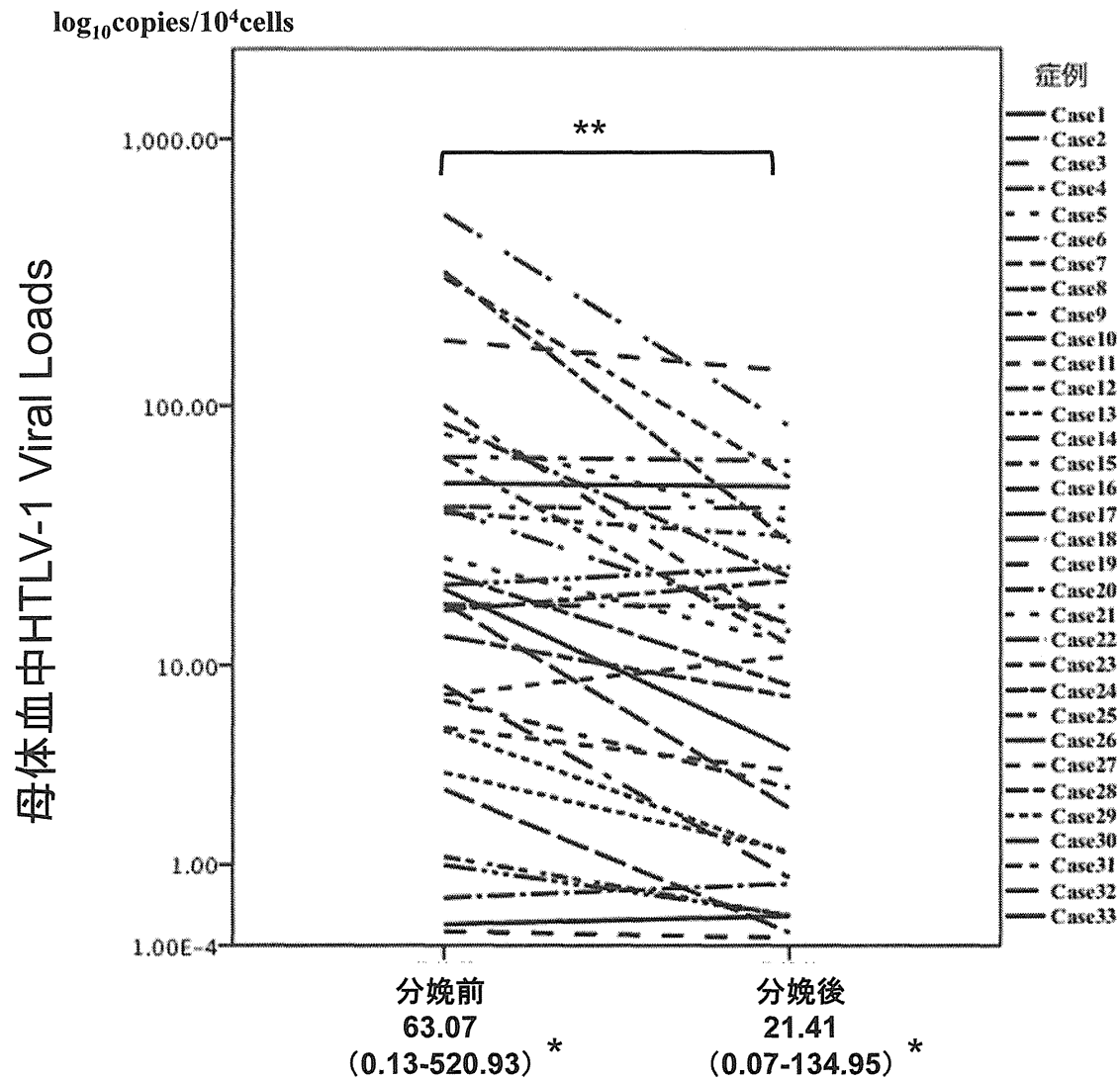


図8. 分娩前後におけるHTLV-1 Viral Loadsの推移

*平均値(最小値-最大値)

**Wilcoxon signed rank test, p<0.001

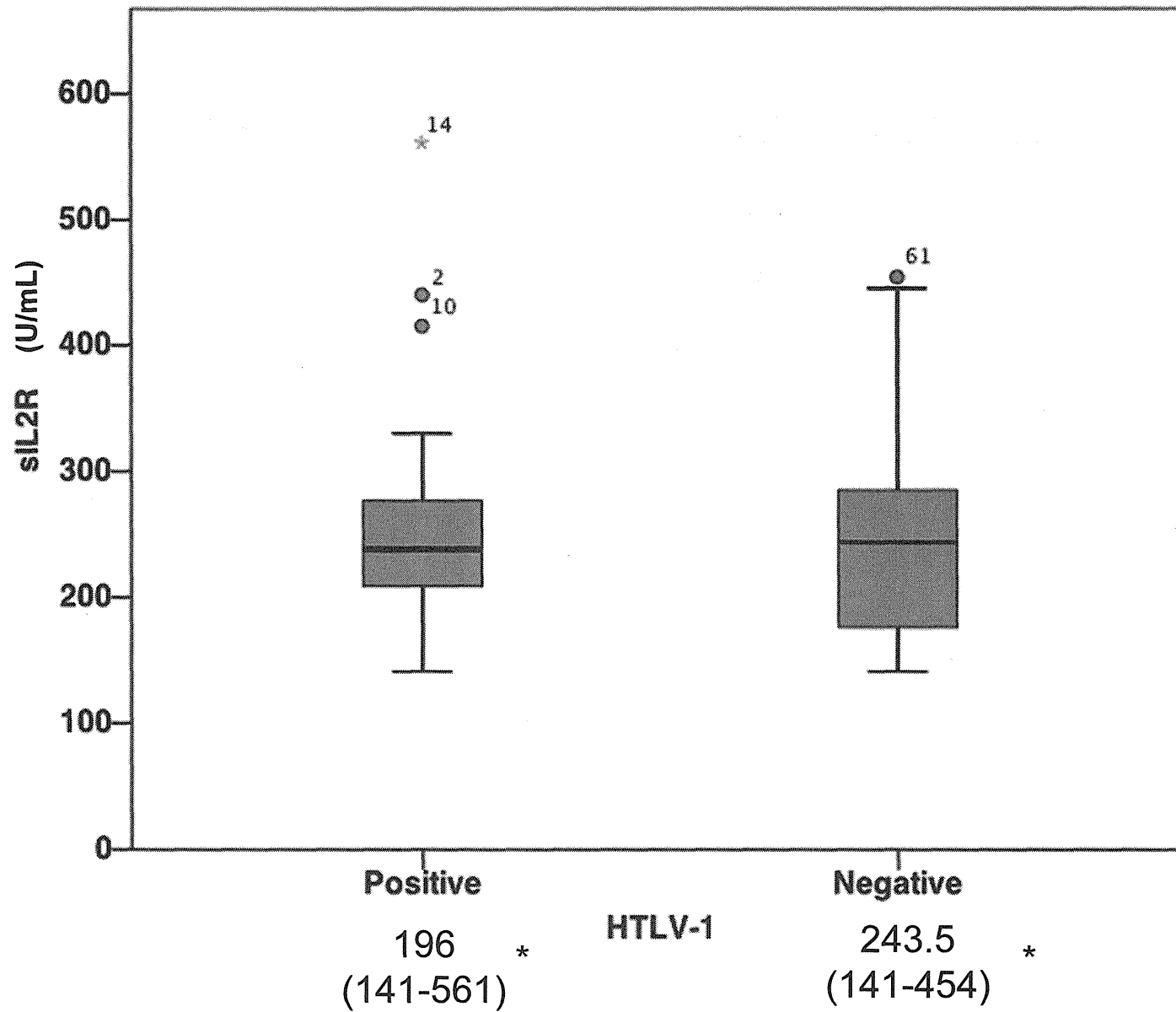


図9. HTLV-1キャリア妊婦と非感染妊婦におけるsIL-2R値

*: Median (Min-Max), Mann-Whitney U test $p > 0.05$

(log₁₀copies /10⁴ cells)

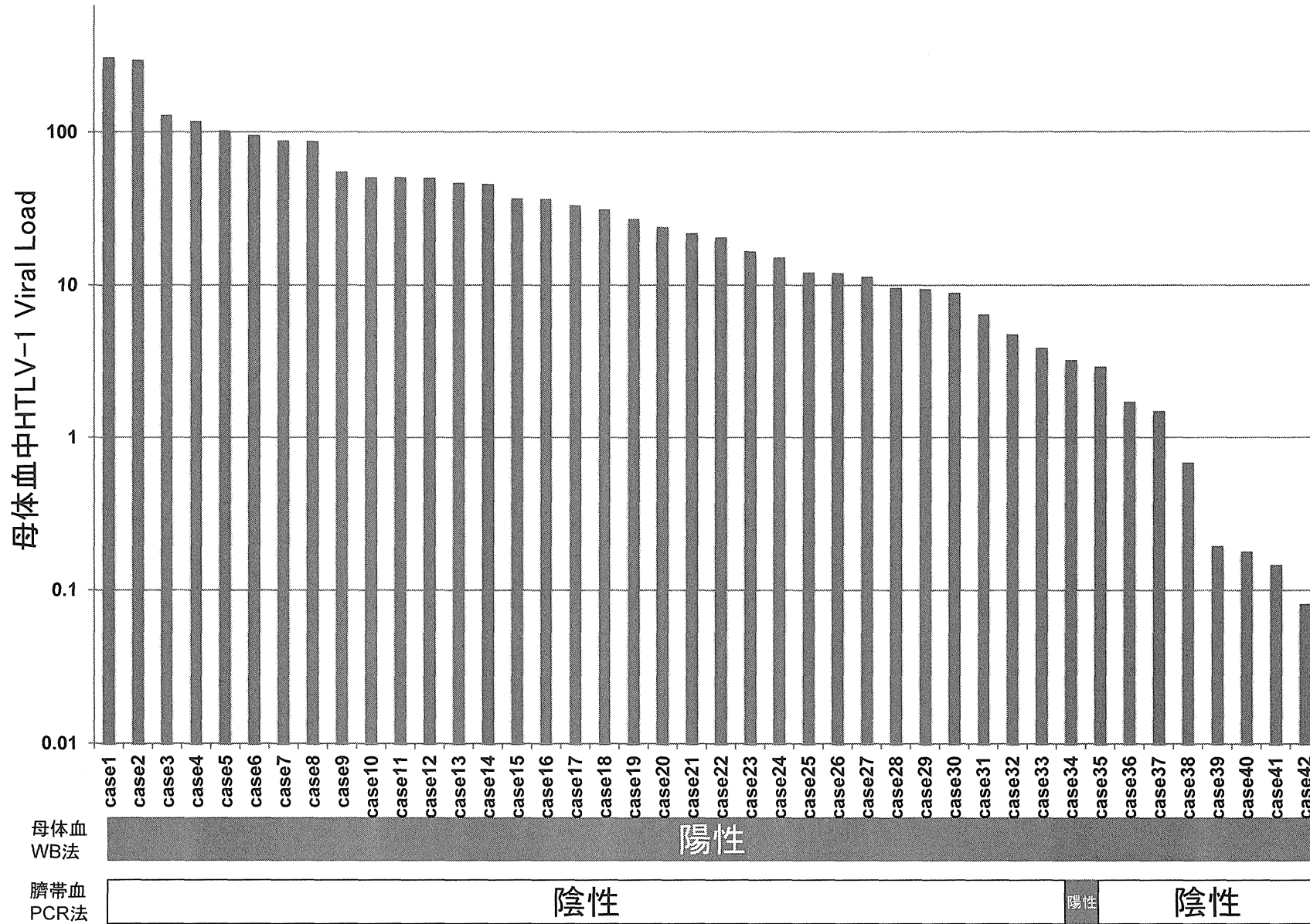


図10. HTLV-1キャリア妊婦における母体血中および臍帯血中のViral Loads

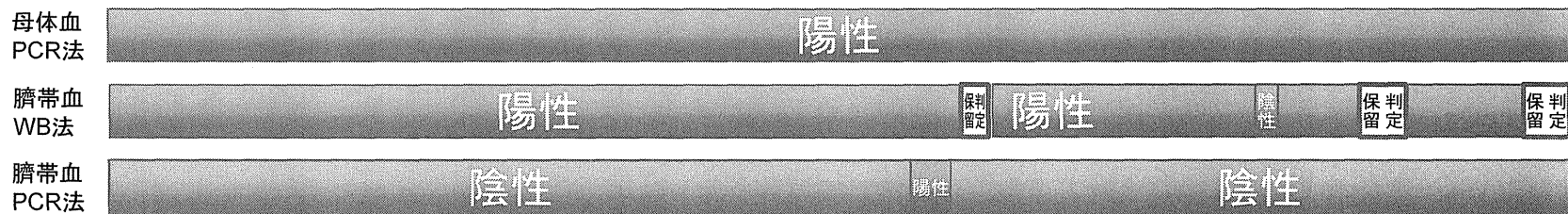
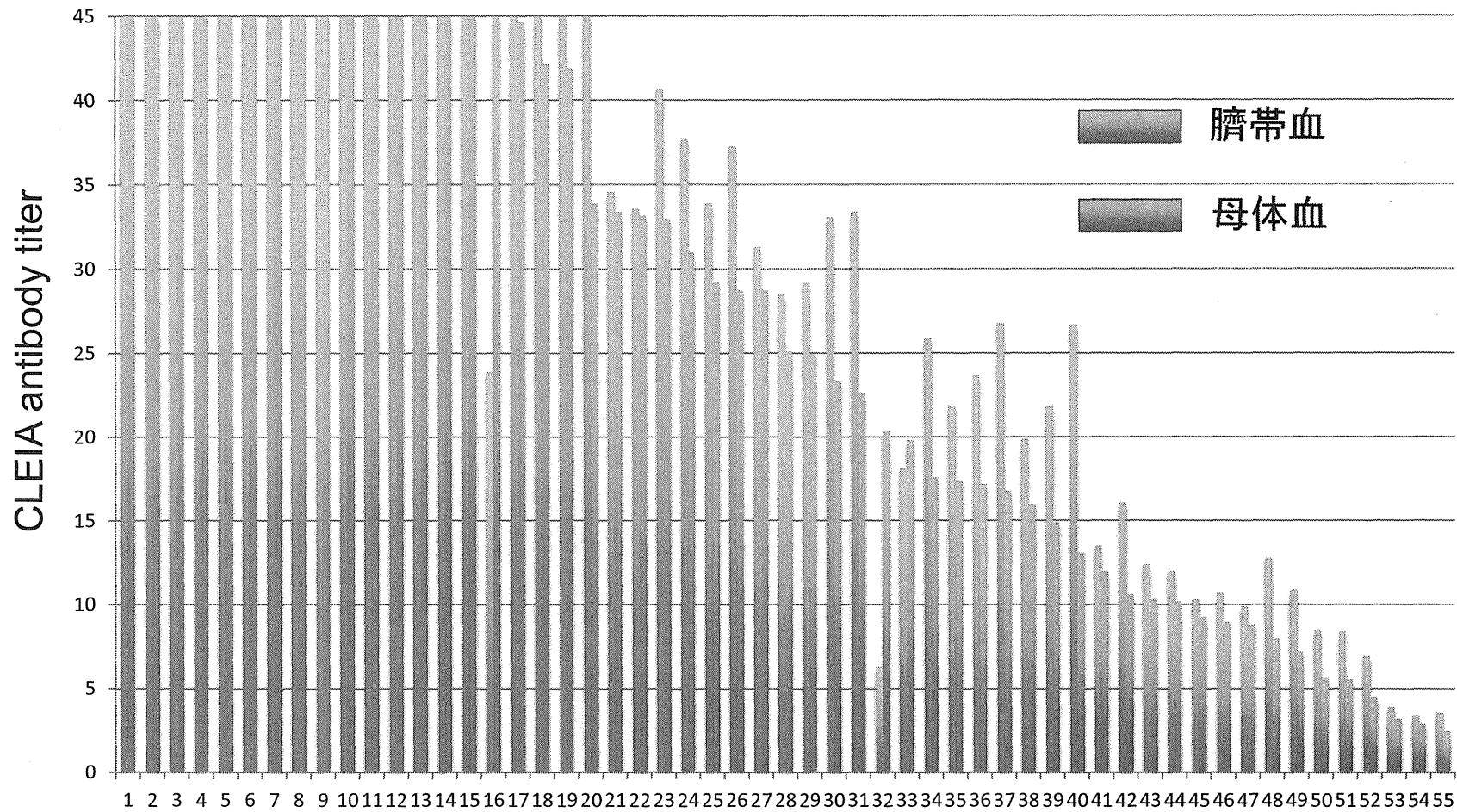


図11. 母体血および臍帯血における抗体価とHTLV-1 provirus検出の有無との関連

本研究の達成状況

1)平成23年度:

- 研究1:妊婦HTLV-1抗体スクリーニングがもたらす母子感染予防効果を検証する。
- 研究2:PCR検査法を導入した妊婦HTLV-1感染症スクリーニングシステムを確立する。

2)平成24年度:

- 研究3:妊娠とHTLV-1ウイルス量との関連を明らかにする。
- 研究4:母乳以外の感染経路の存在の有無を明らかにする。

3)平成25年度:

- 研究5:PCR検査法を導入した高精度スクリーニングシステムを開発する。
- 研究6:HTLV-1キャリア妊婦への介入試験の有効性を評価する。

講演会で使用したポスター

長崎県ATLウイルス 母子感染防止に関する講演会

日 時：2013年2月8日(金)
18:00~20:20 (17:30受付開始)

参加費
無 料

場 所：良順会館・ボードインホール(長崎大学医学部構内)

対 象：助産師、保健師、看護師、医師

開会の挨拶 18:00-18:10

司 会 長崎大学医学部産婦人科
教授 増 崎 英 明

講演1 18:10-18:30

『長崎県ATLウイルス
母子感染防止事業の成果』
長崎大学医学部産婦人科
助教 築 山 尚 史

講演2 18:30-19:00

『HTLV-1キャリアの診断と
問題点(仮題)』
長崎大学医学部病態解析・診断学
教授 柳 原 克 紀

—— 休憩(19:00-19:10) ——

講演3 19:10-20:10

『HTLV-1/ATLの研究の現状』
東京大学大学院教授
新領域創成科学研究科
メディカルゲノム専攻専攻長
渡 邊 俊 樹

閉会の挨拶 20:10-20:20



主催 長崎県ATLウイルス母子感染防止研究協力事業連絡協議会・厚生労働科学研究増崎班

共催 長崎産科婦人科学会・長崎県産婦人科医会・長崎県母性衛生学会

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

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
三浦清徳、築山尚史、増崎英明	HTLV-1	臨床婦人科産科	67	152-162	2013
Moriuchi H, Masuzaki H, Doi H, Katamine S	Mother-to-child transmission of human T-cell lymphotropic virus type 1.	Pediatr Infect Dis J	32	175-177	2013
築山尚史、三浦清徳、増崎英明	長崎県における HTLV-1 母子感染防止の取り組み	日本産婦人科・新生児血液学会誌	22	45-54	2013
増崎英明	長崎県 ATL ウイルス母子感染防止協力事業平成 23 年事業報告	長崎県 ATL ウイルス母子感染防止協力事業平成 23 年事業報告書		1-4	2012
築山尚史、三浦清徳、増崎英明	HTLV-1	臨床婦人科産科	66	182-189	2012
Kamihira S, Iwanaga M, Doi Y, Sasaki D, Mori S, Tsurda K, Nagai K, Uno N, Hasegawa H, Yanagihara K, Morinaga Y, Tsukasaki K, Taniguchi H.	Heterogeneity in clonal nature in the smoldering subtype of adult T-cell leukemia: continuity from carrier status to smoldering ATL.	Int J Hematol.	95	399-408	2012
Kamihira S, Usui T, Ichikawa T, Uno N, Morinaga Y, Mori S, Nagai K, Sasaki D, Hasegawa H, Yanagihara K, Honda T, Yamada Y, Iwanaga M, Kanematu T, Nakao K.	Paradoxical expression of IL-28B mRNA in peripheral blood in human T-cell leukemia virus type-1 mono-infection and co-infection with hepatitis C virus.	Virol J	9	40	2012

IV. 研究成果の刊行物・別冊

性感染症と母子感染—最新の診断と管理

【母子感染】

最新の管理法

HTLV-1

三浦 清徳 築山 尚史 増崎 英明

臨床婦人科産科

第67巻 第1号 別刷

2013年1月10日 発行

医学書院

母子感染

最新の管理法

HTLV-1

三浦 清徳 築山 尚史 増崎 英明

- ヒトT細胞白血病ウイルス-1型 (HTLV-1) は、成人T細胞白血病 (ATL) や HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) の原因ウイルスである。
- HTLV-1 は、主に母乳を介して母子感染を起こす。
- ATL や HAM の発症を完全に阻止する治療手段はなく、HTLV-1 母子感染症の現時点における制御戦略は母乳感染を予防することが最も有効かつ重要である。
- HTLV-1 キャリア妊婦の1次スクリーニング検査 (PA 法もしくは CLEIA 法) で陽性例もしくは疑陽性例には、ウエスタンブロット法を用いた確認検査の実施が必要である。
- ウエスタンブロット法を用いた HTLV-1 抗体検査には 10 ~ 15% の判定保留例が存在するため、最終判定には PCR 法を用いた DNA 検査が有用である。

はじめに

成人T細胞白血病 (adult T-cell leukemia : ATL) や HTLV-1 関連脊髄症 (human T-cell lymphotropic virus type 1-associated myelopathy : HAM) の原因である HTLV-1 の主な感染経路は、母乳を介した母子感染である。HTLV-1 母子感染の予防は、次世代における ATL などの難治性疾患を減少させることにつながるため、妊婦の HTLV-1 スクリーニング検査で陽性あるいは陰性と判定し、キャリア妊婦が栄養法を選択することはきわめて重要である¹⁻³⁾。また、HTLV-1 キャリアは大都市圏に拡散し、全国的な妊婦の HTLV-1 抗体スクリーニングの必要性が判明し^{4,5)}、「産婦人科診療ガイドライン—産科編 2011」では妊婦の HTLV-1 抗体スクリーニングは C から A に引き上げられた⁶⁾。しかし、二次検査として行うウエスタンブロット (WB) 法には 10~15% の判定保留例が存在するため、より正確な妊婦の HTLV-1 感染スクリーニングシステムの確立が望まれている。

みうら きよのり, つきやまたかし, ますざき ひであき : 長崎大学医学部産科婦人科学教室 (〒852-8501 長崎市坂本1-7-1)

長崎県では、1987年からHTLV-1母子感染予防事業に取り組み、妊婦のHTLV-1スクリーニングシステム、検査結果の説明とカウンセリング、フォローアップに至るHTLV-1母子感染予防に関するプロトコールが整備されている¹⁻³⁾。本稿では、長崎県におけるHTLV-1母子感染予防事業の成果をもとに解説する。

HTLV-1 キャリアとHTLV-1 関連疾患

HTLV-1 キャリア

HTLV-1に持続感染しているヒトをHTLV-1キャリアという。主な感染経路は母乳を介した母子感染であるが、血液を介した輸血感染、あるいは精液を介した性交感染も知られている。日本国内にはHTLV-1に感染している無症候性のキャリアは約108万人と推定され、以前は九州・沖縄など一部の地域に偏在していると考えられていたが、最近では人口移動などの影響で大都市圏にも拡散している⁴⁾。

ATL

ATLは、主に40歳以上の成人に発病する白血病・リンパ腫の一種であり、①全身倦怠感・発熱などの全身症状、②リンパ節腫脹、③発疹、④免疫低下に伴う各種感染症、⑤高Ca血症などの臨床症状を呈する。HTLV-1がTリンパ球に感染すると、40年以上の長い潜伏期間を経て、あるときHTLV-1が感染したTリンパ球が腫瘍化しATLを発症する。いったんATLを発症すると治療成績は悪く5年生存率は約20%である。死亡原因の多くは腫瘍死もしくは感染症による。キャリアがATLを発症する割合は年間1,000人に1人、生涯発症率は男性15人に1人(6.5%)、女性は50人に1人(1.9%)である¹⁾。ATLのほとんどは母子感染によるキャリアからのみ発症する¹⁻³⁾。

HAM

HAMはHTLV-1が感染したリンパ球が脊髄に炎症・変性を起し、①両下肢の痙性麻痺、②膀胱直腸障害、③手足のしびれや灼熱感を呈する疾患であり、2009年より厚生労働省難病対象疾患に指定された。キャリアがHAMを発症する割合は年間30,000人に1人である¹⁾。HAMが直接の死因になることはほとんどなく、ステロイド療法やインターフェロン療法により一部の例では症状の改善を認めるが、根本的な治療方法は確立されていない¹⁾。HAMは母子感染によるHTLV-1キャリアのみならず性交感染や輸血感染によるキャリアからも発症する^{1,2)}。

HTLV-1 キャリアの診断法

検査法の種類

HTLV-1キャリアのリンパ球ゲノムにHTLV-1プロウイルスが組み込まれ、HTLV-1キャリアの血液中には感染リンパ球が存在するが、血清中にウイルス粒子は

ほとんど認められない^{1,2,7)}。したがって、HTLV-1 感染は感染細胞と標的細胞との直接接触により拡大する。HTLV-1 感染の診断には、血清中の HTLV-1 特異抗体を同定する抗体検査、あるいは血液リンパ球中の HTLV-1 プロウイルスを同定する DNA 検査を用いる。

■抗体検査法

粒子凝集法 (PA 法)、化学発光酵素免疫測定法 (CLEIA 法)、蛍光抗体法 (IF) 法、ウエスタンブロット (WB) 法がある。PA 法や CLEIA 法などの簡便な検査法は、スクリーニング検査として用いられる。WB 法はウイルスの HTLV-1 抗原構成蛋白に対する抗体を検出して判定するため、ほかの抗体検査法と比較して特異度が高く、確定診断として用いられる^{1,2,7)}。Env 抗原蛋白 (gp46) と gag 抗原蛋白 (p19, p24, p53) に対するバンドをそれぞれ 1 つ以上検出した場合は陽性、全くバンドを認めない場合は陰性、それ以外のパターンは判定保留と診断される^{1,7)}。

■DNA 検査

リアルタイム PCR 法は DNA の検出と定量性に優れた検査法であり、WB 法で判定保留と診断された例には、PCR 法による診断を考慮することができる^{1,3,7)}。また、ウイルス量の多い HTLV-1 キャリアでは ATL の発症リスクが高いことから、リアルタイム PCR 法を用いた DNA 検査のニーズは高まると思われる^{3,7)}。

PCR 法を導入した妊婦 HTLV-1 スクリーニングシステム (長崎方式)

長崎県では、1987 年から長崎県 ATL ウイルス母子感染防止研究協力事業連絡協議会 (会長: 増崎英明 長崎大学産婦人科教授) を組織して、公費負担のもとに HTLV-1 母子感染予防事業に取り組み (図 1)^{1~3)}、2011 年より PCR 法を導入した妊婦の HTLV-1 感染スクリーニングシステムを確立している (図 2)。まず、一次検査として各診療所や病院が契約している検査センターで PA 法もしくは CLEIA 法を行う。そして、陽性もしくは疑陽性と診断されたすべての検体は長崎大学病院検査部に集められ、確認検査として WB 法を行い、WB 法で判定保留の例には PCR 法を行い、陽性もしくは陰性と最終判定している。最終判定の結果は、長崎大学病院検査部より各診療所もしくは病院に返送される。

長崎県では、1987~2012 年 3 月までの約 25 年間に 265,210 例の妊婦をスクリーニングして 9,681 例が二次検査もしくは確認検査まで施行され、最終的に 8,243 例が HTLV-1 キャリアと確定診断された (表 1)^{3,8)}。HTLV-1 の一次検査には疑陽性が一定の頻度で出現するため、必ず確定診断としての WB 法を行うことが重要である^{1~3)}。また、WB 法による判定保留例には、PCR 法を用いた最終判定が有用である。HTLV-1 キャリアが低頻度の地域では、真の陽性例に対して相対的に偽陽性例が増加することに留意する必要がある^{5,7)}。長崎県では 2011 年に 9,873 名の妊婦をスクリーニングし、一次検査で 117 名が HTLV-1 陽性もしくは偽陽性と判定され、そのうち 15 例は (15/117 例; 12.8%)、2 次検査で行った WB 法で判定保留であった (表 2)^{3,8)}。定量的 PCR 法を併用して、10 例 (10/15 例; 66.7%) が陽性、5 例 (5/15; 33.3%)

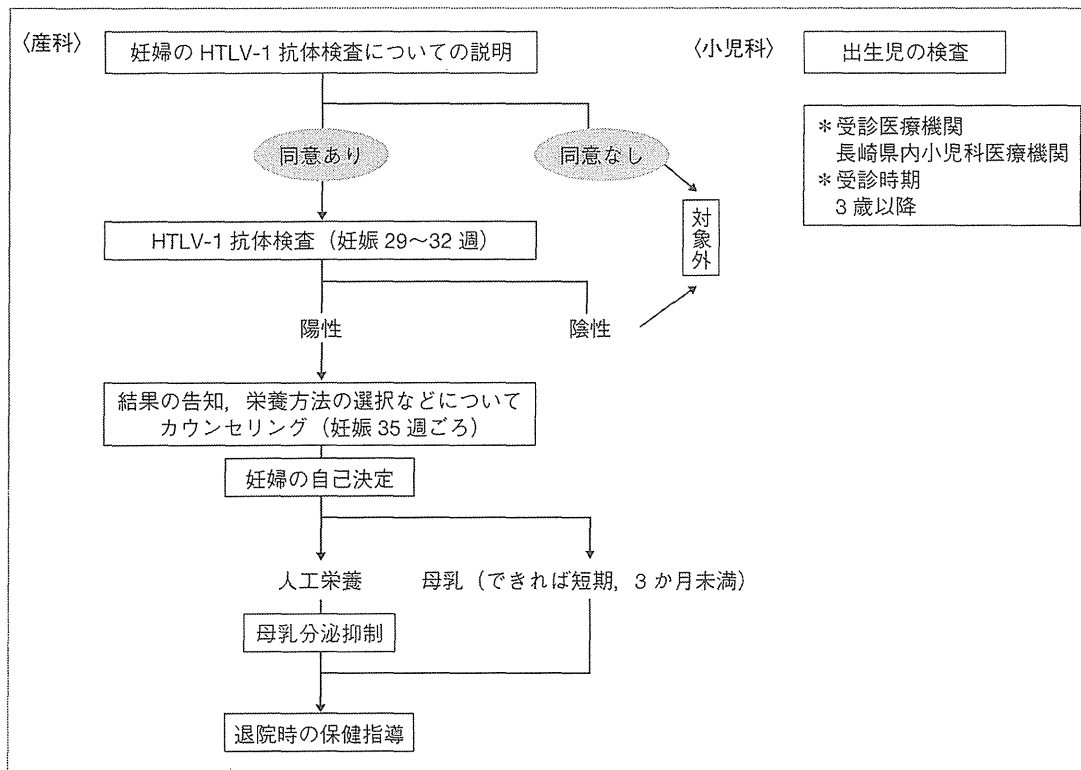


図1 長崎県 ATL 母子感染予防プログラム 2009

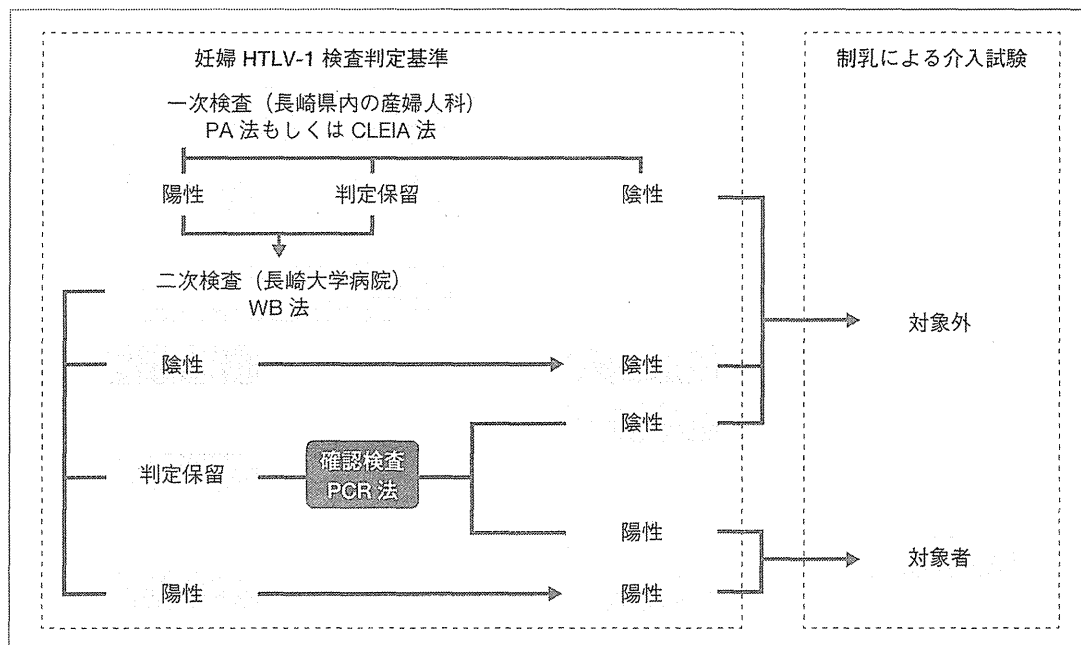


図2 長崎県における PCR 法を導入した妊婦 HTLV-1 スクリーニングシステム

(平成 23 ~ 25 年厚生労働省研究助成事業: 長崎大学 増崎班)

表1 長崎県における妊婦 HTLV-I 検査の年次推移

年	出生数	妊婦抗体検査数	妊婦検査率	精密検査数	抗体陽性者数	妊婦抗体陽性率
	(A)	(B)	(B)/(A)%	(C)	(D)	(D)/(B)%
1987	18,962	—	—	511	390	—
1988	18,233	9,579	52.5	1,076	691	7.2
1989	17,256	15,241	88.3	856	702	4.6
1990	16,517	14,504	87.8	804	658	4.5
1991	16,671	14,221	85.3	725	630	4.4
1992	16,036	12,123	75.6	677	566	4.7
1993	15,769	10,422	66.1	600	513	4.9
1994	15,951	9,814	61.5	523	477	4.9
1995	14,780	11,820	80	463	420	3.6
1996	15,182	12,966	85.4	396	342	2.6
1997	14,431	12,273	85	321	310	2.5
1998	14,672	12,403	84.5	356	339	2.7
1999	14,121	12,008	85	290	279	2.3
2000	14,098	10,286	73	287	276	2.7
2001	13,871	11,279	81.3	242	229	2
2002	13,260	10,724	80.9	230	211	2
2003	12,971	10,493	80.9	197	180	1.7
2004	12,947	9,990	77.2	184	177	1.8
2005	12,148	8,987	74	133	127	1.4
2006	12,410	8,909	71.8	144	138	1.5
2007	12,175	8,713	71.6	139	129	1.5
2008	12,173	8,930	73.4	131	124	1.4
2009	11,838	9,654	81.6	134	114	1.2
2010	13,340	9,998	74.9	145	119	1.2
2011	11,554	9,873	85.5	117	102	1.0
合計	361,366	265,210	73.4	9,681	8,243	3.11

(平成23～25年厚生労働省研究助成事業：長崎大学 増崎班)

が陰性と判定された。PCR法の結果と抗体価との関連をみると、CLEIA法で1.7以上のものは陽性と判定され、それ未満のものは陰性と判定された^{3,8)}。したがって、WB法で判定保留例は、HTLV-1ウイルス量が少なく、抗体価も低い傾向にあることが示唆された^{3,8)}。

母子感染における感染経路

母乳感染

長崎県の調査では、人工栄養を選択したHTLV-1キャリア妊婦から出生した児の母子感染率は962名中23名(2.4%)、授乳期間が6か月未満の短期母乳栄養児では169名中14名(8.3%)、6か月以上の長期母乳栄養児では346名中71名(20.5%)であり、人工栄養 vs 短期母乳、短期母乳 vs 長期母乳、人工栄養 vs 長期母乳すべての比較

表2 長崎県における妊婦 HTLV-1 スクリーニング (WB 法) による判定保留例のリスト (2011年)

症例	最終判定	CLEIA 法	PA 法	WB 法
1	(+)	(+) 34.0	(+) ≥ 16	判定保留
2	(+)	(+) 25.9	(+) ≥ 16	判定保留
3	(+)	(+) 14.7	(+) ≥ 16	判定保留
4	(+)	(+) 14.3	(+) ≥ 16	判定保留
5	(+)	(+) 8.7	(+) ≥ 16	判定保留
6	(+)	(+) 8.3	(+) ≥ 16	判定保留
7	(+)	(+) 6.3	(+) ≥ 16	判定保留
8	(+)	(+) 5.5	(+) ≥ 16	判定保留
9	(+)	(+) 2.4	(+) ≥ 16	判定保留
10	(+)	(+) 1.7	(+) ≥ 16	判定保留
11	(-)	(+) 1.2	(±) 16 ?	判定保留
12	(-)	(-) 0.5	(+) ≥ 16	判定保留
13	(-)	(-) 0.2	(±) 16 ?	判定保留
14	(-)	(-) 0.1	(±) 16 ?	判定保留
15	(-)	(-) 0.1	(±) 16 ?	判定保留

(平成23～25年厚生労働省研究助成事業：長崎大学 増崎班)

表3 長崎県における HTLV-1 キャリア妊婦が選択した栄養法からみた母子感染率

栄養法	総数	陽性例	陰性例	HTLV-1 抗体陽性率
人工栄養	962	23	939	2.4%
短期母乳栄養 ^{*1}	169	14	155	8.3%
長期母乳栄養 ^{*2}	346	71	275	20.5%

*1：6か月未満，*2：6か月以上

(平成23～25年厚生労働省研究助成事業：長崎大学 増崎班)

において統計学的に有意差が認められ、母乳感染が HTLV-1 母子感染の主要経路であることが明らかになった (表3) ^{1~3)}。また、母子感染率は人工栄養児より短期母乳栄養児、短期母乳栄養児より長期母乳栄養児と、児の母乳への曝露期間が長いほど上昇するという成績であった ^{1~3)}。

その他の感染経路

HTLV-1 キャリア妊婦が人工栄養を選択しても、その2.4%に母子感染を認めたことは、母乳以外の母子感染経路が存在することを示唆している ^{1~3)}。母乳以外に感染細胞が母親から児へ移行する可能性として、臍帯を介した子宮内感染、出産時の産道感染、あるいは唾液を介した唾液感染が考えられるが、いずれも確定的な証拠はない ^{1,2)}。