

201318016A

厚生労働科学研究費補助金  
新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

HTLV-1 感染症の診断法の標準化と  
発症リスクの解明に関する研究

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 浜口 功

平成26（2014）年 3月

厚生労働科学研究費補助金  
新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

HTLV-1 感染症の診断法の標準化と  
発症リスクの解明に関する研究

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 浜口 功

平成26（2014）年 3月

## 目 次

### I. 総括研究報告

- HTLV-1 感染症の診断法の標準化と発症リスクの解明に関する研究 ..... P.3  
浜口 功、山口一成、渡邊俊樹、出雲周二、岡山昭彦、佐竹正博、  
長谷川寛雄、相良康子、齋藤 滋、山野嘉久、大隈 和、岩永正子、  
宇都宮 與、内丸 薫、高 起良、魚住公治、緒方正男、鴨居功樹、  
上平 憲、久保田龍二、梅木一美、野坂生郷、橋倉悠輝、山本成郎、  
堀江真太郎、寺田裕紀子、倉光 球、成瀬 功、浜口行雄、篠田達也、  
梶山直毅、齋藤由美子、澤野 薫

### II. 分担研究報告

1. JSPFADデータベースの維持・継続および発症リスク解明 ..... P.11  
岩永正子、渡邊俊樹、岡山昭彦、宇都宮 與、内丸 薫、高 起良、  
魚住公治、緒方正男、鴨居功樹、相良康子、山口一成、上平 憲
2. HTLV-1 水平感染の実態推定に関する研究 ..... P.15  
佐竹正博、相良康子、岩永正子
3. HTLV-I抗体陽性で、Western Blot法判定保留者に対して行なったPCR検査法  
の実態調査 ..... P.17  
齋藤 滋
4. HTLV-1感染症の診断法の標準化と発症リスクの解明に関する研究  
(HTLV-1プロウイルス量検出感度以下のキャリアにおける抗体検査の検討)  
..... P.19  
宇都宮 與
5. HTLV-1 定量 PCR 検査の標準化および判定保留例に対する有用性に関する  
研究 ..... P.23  
山野嘉久
6. HTLV-1 感染症の診断法の標準化と発症リスクの解明に関する研究  
(HTLV-1 ぶどう膜炎患者における全身疾患の発症リスクの解明) ..... P.28  
鴨居功樹、堀江真太郎、寺田裕紀子

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ..... P.31

IV. 研究成果の刊行物・印刷 ..... P.45

## 研究組織

### 研究代表者：

浜口 功 国立感染症研究所 血液・安全性研究部

### 研究分担者：

山口一成 熊本大学 発生医学研究所  
渡邊俊樹 東京大学大学院 新領域創成科学研究科  
出雲周二 鹿児島大学大学院 難治ウイルス病態制御研究センター  
岡山昭彦 宮崎大学医学部 内科学  
佐竹正博 日本赤十字社 中央血液研究所  
長谷川寛雄 長崎大学病院 検査部  
相良康子 日本赤十字社 九州ブロック血液センター  
齋藤 滋 富山大学大学院医学薬学研究部 産科婦人科  
山野嘉久 聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター  
大隈 和 国立感染症研究所 血液・安全性研究部  
岩永正子 東京慈恵会医科大学 予防医学センター  
宇都宮 與 公益財団法人慈愛会 今村病院分院  
内丸 薫 東京大学医科学研究所附属病院 血液腫瘍内科  
高 起良 JR大阪鉄道病院 血液内科  
魚住公治 鹿児島医療センター 腫瘍内科  
緒方正男 大分大学医学部附属病院 輸血部  
鴨居功樹 東京医科歯科大学 眼科学

### 研究協力者：

上平 憲 長崎市立市民病院 検査部  
久保田龍二 鹿児島大学大学院 難治ウイルス病態制御研究センター  
梅木一美 宮崎大学医学部附属病院 検査部  
野坂生郷 熊本大学大学院 血液内科・感染免疫診療部  
橋倉悠輝 宮崎大学医学部附属病院 検査部  
山本成郎 宮崎大学医学部附属病院 検査部  
堀江真太郎 東京医科歯科大学 眼科学

寺田裕紀子 東京医科歯科大学 眼科学  
倉光 球 国立感染症研究所 血液・安全性研究部  
成瀬 功 株式会社エスアールエル  
浜口行雄 シスメックス/国際試薬株式会社  
篠田達也 協和メデックス株式会社  
梶山直毅 株式会社キアゲン  
斎藤由美子 富士レビオ株式会社  
澤野 薫 アボット ジャパン株式会社

# I. 総括研究報告



HTLV-1感染症の診断法の標準化と発症リスクの解明に関する研究

研究代表者 浜口 功 国立感染症研究所 血液・安全性研究部 部長

研究要旨：近年HTLV-1感染者が感染率の高いとされる九州・沖縄地方から大都市圏に拡散する傾向にあり、今後全国的な対策が必要になっている。このような中、HTLV-1の検査体制に改善すべき点が存在することが明らかになってきた。研究班に〔1〕HTLV-1検査法標準化確立グループ、〔2〕HTLV-1感染の疫学検討グループを組織し、HTLV-1感染の実態を明らかにするとともに、各グループが有機的に情報を交換することにより、迅速かつ総合的にHTLV-1の感染の実態解明およびHTLV-1関連疾患の発症リスクの低減を目標とした。平成25年度の〔1〕HTLV-1検査法標準化確立グループでは、Western Blotting (WB)判定保留に対する追加測定検査としての有用性や、それぞれの施設の方法での検出感度等、未だ明らかになっていない点がある。本年度のHTLV-1感染症の診断法の標準化研究では、HTLV-1核酸検査（定量PCR法）の標準品および参照品の多施設共同測定、妊婦検査でのWB判定保留におけるPCRの追加検査の有用性について検討した。その結果、標準品、参照品ともにこれまでの結果と同様に施設間で一定の隔たりが確認され、標準品または参照品を用いることで測定値の標準化は可能であることが確認された。妊婦WB判定保留検体の核酸検査の結果、約20%でPCR陽性となることが明らかになり、WB判定保留に対して追加で定量PCRを行うことは有用であると考えられた。〔2〕HTLV-1感染の疫学検討グループにおいては、HTLV-1の水平感染の実態を明らかにするために、日本赤十字社で行っている献血時のHTLV-1検査の結果をもとに、検査において陽転化する症例の解析を行った。平成17-18年に検査を受けた全国330万人について後ろ向きコホートの手法で平成23年12月までの約6年の観察期間中の陽転化の比率を算出した。この結果、全国で年間に3000-4000人にHTLV-1の水平感染の発生が示唆された。また、JSPFADマテリアルバンクの検体を用いた発症リスクの検討を行った。

研究分担者

山口一成 熊本大学 学術研究員  
渡邊俊樹 東京大学大学院 教授  
出雲周二 鹿児島大学大学院 教授  
岡山昭彦 宮崎大学医学部 教授  
佐竹正博 日本赤十字社中央血液研究所 副所長  
長谷川寛雄 長崎大学病院 講師  
相良康子 日本赤十字社九州ブロック血液センター 課長  
齋藤 滋 富山大学大学院 教授  
山野嘉久 聖マリアンナ医科大学 准教授  
大隈 和 国立感染症研究所 室長  
岩永正子 東京慈恵会医科大学 予防医学センター 講師  
宇都宮 與 今村病院分院 院長  
内丸 薫 東大医科研 准教授  
高 起良 JR大阪鉄道病院 医長  
魚住公治 鹿児島医療センター 部長  
緒方正男 大分大医 准教授  
鴨居功樹 東京医科歯科大学 講師

研究協力者

上平 憲 長崎市民病院 検査部

久保田龍二 鹿児島大学難治ウイルス研究所  
梅木一美 宮崎大学病院 検査部  
野坂生郷 熊本大学大学院  
血液内科・感染免疫診療部  
橋倉悠輝 宮崎大学病院 検査部  
山本成郎 宮崎大学病院 検査部  
堀江真太郎 東京医科歯科大学 眼科学  
寺田裕紀子 東京医科歯科大学 眼科学  
倉光 球 国立感染症研究所  
成瀬 功 株式会社エスアールエル  
浜口行雄 シスメックス/国際試薬株式会社  
篠田達也 協和メデックス株式会社  
梶山直毅 株式会社キアゲン  
齋藤由美子 富士レビオ株式会社  
澤野 薫 アボットジャパン株式会社

A. 研究目的

HTLV-1検査は、平成22年末に妊婦検診項目に追加されたが、2次検査のWestern Blotting(WB)検査の結果で判定保留となる場合が少なからず存在し、それらの判定保留の判定にHTLV-1核酸検査が予定されている。しかしながら核酸検査実施の有効性については明らかになっていなかった。



本年度は、①標準品と参照品を多施設で測定し、標準品と参照品の測定値をもとに施設の補正值を算出した。②妊婦検診のWestern Blotting (WB) 判定保留検体に対して核酸検査を行い、核酸検出率を解析し、判定保留対策として核酸検査の有用性を検討した。③標準品細胞TL-0m1について、核酸検査標準品としての特性に関する解析を進めた。また、母子感染以外の重要な感染ルートとされているものの、十分に解析が行われていないHTLV-1の水平感染の実態を明らかにする。さらに、JSPFADマテリアルバンクの検体を用いたキャリアからのATL、HAMの発症リスクの検討を行った。

## B. 研究方法

### 1) HTLV-1核酸検査の標準化

#### ・検体

標準品：CFSE染色したTL-0m1をPBMC (AllCells) で希釈し、測定用検体を準備した。参照品はTL-0m1およびJurkatのゲノムDNAとした。

また板橋班とSRL社と協力して、妊婦検診の判定保留検体を収集しPBMC分離とDNA精製後、核酸検査を行った。妊婦判定保留血漿は、SRL社にて分離し保管した。

#### ・q-PCRによるPVL定量

各施設の方法に従い、genomic DNA (gDNA) の核酸抽出を行い、HTLV-1核酸および内部標準遺伝子のコピー数をQ-PCRで測定し、プロウイルス量を測定した。結果はPBMCs100細胞中の陽性細胞数(Proviral Load (PVL) (%))とした。参加施設を以下に示す。国立感染症研究所、東京大学医科学研究所、聖マリアンナ医科大学、長崎大学病院、宮崎大学病院、鹿児島大学、日本赤十字社、SRL。

### 2) HTLV-1の水平感染についての疫学調査

日本赤十字社で行っている献血時のHTLV-1検査の結果をもとに、検査において陽転化する症例の解析を行った。平成17-18年に検査を受けた全国330万人について後ろ向きコホートの手法で平成23年12月までの約6年の観察期間中の陽転化の比率を算出した。

### 3) JSPFADマテリアルバンクの検体を用いた発症リスクの検討

全国の協力医療機関から提供されたJSPFADマテリアルバンクの無症候性キャリア検体2180検体の中から、ATLへの進展する症例について解析した。

#### (倫理面への配慮)

HTLV-1陽性・判定保留臨床検体の測定について、国立感染症研究所の倫理審査会で承認されている。

## C. 研究結果

### 1) HTLV-1核酸検査の標準化

#### ・核酸検査標準品細胞TL-0m1の解析

これまでFISH解析によってTL-0m1のHTLV-1コピー数は約1.8コピーであることが明らかになっていた。核酸検査の標準品としてプロウイルスコピー数の正確な規定は極めて重要である。プロウイルスコピー数のさらなる確度の向上を目指してFISH, digital PCRおよびQ-PCRでTL-0m1細胞中のプロウイルス量を測定した。その結果、HTLV-1プロウイルスコピー数はdigital PCRでは0.51、Q-PCRでは0.48となり、FISH解析の結果の0.46とほぼ一致した。またRNasePに対するALBのコピー数の比率はFISH 0.76, digital PCR 0.74, Q-PCR 0.74となり内部標準遺伝子のコピー数の比率も上記の3種の方法でほぼ一致した。RNasePおよびALBのコピー数は、FISH解析でそれぞれ3.95コピー/cellおよび3コピー/cellであった。このことからこれまでFISH解析で明らかになった結果の1.8コピー/cellが他の独立した2法でもほぼ一致して規定できたことから高い精度でコピー数を規定できていることを確認した。

#### ・施設の補正係数の測定 (多施設共同研究)

標準品 (TL-0m1/PBMC希釈系列) および参照品 (TL-0m1/Jurkat希釈系列) を各施設の方法に従い、HTLV-1のコピー数を測定し、標準品の理論値からの隔たりについて平行線定量法で測定した。算出された値を各施設の補正係数とし、参照品の測定値を補正することにより参照品の値付けを行った。各施設の補正係数は、前回の標準品測定の補正值から全体として大きな変化は認められなかった。今後は標準品の他にも値付けされた参照品を用いて、測定値のコントロールが可能となると考えられる。

#### ・妊婦WB判定保留検体の核酸検査

板橋班とSRL(株)の協力で収集された妊婦WB判定保留検体PBMCから精製したgDNAでHTLV-1核酸検査(1 $\mu$ g input)を行ったところ、63検体中12検体(約20%)で核酸陽性となった。SRLと感染研で結果が異なった2検体あった。この2検体については、追加で新規に開発した多プライマーでの核酸高用量測定(特願2013-196247)を試みたところ、いずれも複数箇所のwellでHTLV-1核酸が検出された。よって結果の異なった2検体は、プロウイルス量が通常のPCRでは検出限界以下となる非常に低コピー数の検体であることが示唆された。また陰性検体についても同様に多プライマーで測定したところ、すべて陰性となったことから、感染研とSRLのプライマーの配列が原因の偽陰性は、極めて稀であることが示唆された。

またDNAの収量が十分にあった妊婦WB判定保留検体について当班研究の参加8施設で測定したところ、陽性検体はほとんどの施設で陽性となった。一部の検体で陽性と陰性が混在する結果が生じたがどの施

設も定量結果は極めて低値であることから、検体中のプロウイルス量が極めて低く検出感度以下の検体であったことが考えられる。

これらのことから妊婦WB判定保留検体について核酸検査の追加実施は、一定の割合で陽性判定が可能であり、有効に機能すると考えられる。

#### ・妊婦WB判定保留検体のWB再測定

板橋班とSRLの協力で収集された妊婦WB判定保留検体(47例)の血漿を用いて、WBを再測定したところ、陰性(10例)および判定保留(37例)となった。このことからWB判定保留例に対しては、採血時期が異なる血漿を用いてWBを再測定した場合でも、陽性とはならないことが示され、WBの再試は意味が無いことが示唆された。

#### ・日本赤十字社WB判定保留検体の測定

日本赤十字社の協力で献血スクリーニングにおけるHTLV-1抗体検査WB判定保留検体(血液型判定の残検体)を収集し、関東ブロック血液センターおよび九州ブロック血液センターのそれぞれの検体について核酸検査を実施した。その結果、関東ブロックでは4例(全61例中)、九州ブロックでは16例(全49例中)で核酸陽性となり、各ブロック血液センターで核酸陽性率は異なるものの核酸検査によって一定の成果が期待できることが確認された。

### 2) HTLV-1の水平感染についての疫学調査

HTLV-1感染においては母乳による感染が最も主要な感染経路とされるが、水平感染の実態は明らかにされていない。日本赤十字社で行っている献血時のHTLV-1検査の結果をもとに、検査において陽転化する症例の解析を行った。平成17-18年に検査を受けた全国330万人について後ろ向きコホートの手法で平成23年12月までの約6年の観察期間中の陽転化の比率を算出した。この結果、全国で年間に3000-4000人にHTLV-1の水平感染の発生が示唆された。水平感染の実態調査をさらに進め、キャリア再生産の根絶に繋げる方策の検討が必要である。

### 3) JSPFADマテリアルバンクの検体を用いた発症リスクの検討

平成25年度までに全国の協力医療機関から提供されたJSPFADマテリアルバンクの無症候性キャリア検体2180検体の中から、26例にATLへの進展が見られた。このうち、24例はウイルスコピー数が4%以上でATL発症リスクに大いに関連している事が明らかとなった。ウイルスコピー数の評価を取り入れたキャリアフォローの体制の構築が必要である。

## D. 考察

#### ・HTLV-1感染症の診断法の標準化

各施設で運用されるHTLV-1核酸検査の測定値の標準化のため、標準品の設定および標準品の多施設測定を行い、測定値の標準化を試みた。標準品の解析では、TL-0mlの標準品としての性質の中でもHTLV-1コピー数と内部標準遺伝子の規定は極めて重要な因子となるが、3種類の測定方法でほとんど一致した結果となったことから、確度の高い規定を行うことが出来たと考えられる。このことから標準化のために設定した標準品の理論的値が極めて信頼できるものであることが確認できた。当研究班の標準品は市販品のPBMCを使用して準備したが、Jurkat細胞を使用することにより管理が簡素化でき、ロット間差が比較的縮小できると期待されたため、標準品とは別にTL-0mlとJurkatのgDNAを参照品として準備した。今回標準品と参照品を同時測定し参照品を値付けしたことによって、今後は比較的準備が簡単であるTL-0mlとJurkat細胞のgDNAも利用できると期待される。

標準品測定から得られた各施設の補正係数は、これまでの結果と全体として大きな差はなく、それぞれの試験法の試験毎の隔たりは小さく、測定値は安定しているものと考えられる。またこのことは、これまでの標準化作業の過程で同一のHTLV-1陽性検体を測定した結果からも、それぞれの施設の測定値は全体として測定時期に関係無く一致していたことから裏付けられる。

#### ・妊婦WB判定保留対策としての核酸検査の有効性

妊婦検体のWB判定保留例のうち20%で核酸陽性となったことは、WB判定保留対策の追加検査としての核酸検査は、一定の割合で判定を出すことができると考えられ、実施する意義は高いと考えられる。

今回の妊婦検体は全国から収集されたものであるが、日赤の九州ブロックと関東ブロック血液センターのWB判定保留検体の核酸検査結果から核酸陽性率には地域差が認められる可能性があった。今後は核酸検査と様々な抗体検査の一致率等の比較検討により、核酸検査の確度を一層高めることができると期待される。

#### ・水平感染によるキャリアの発生の実態調査の検討と実施

本班研究により、国内で年間3000-4000人の水平感染によるキャリアが発生している事が示唆された。水平感染キャリアの追跡調査と関連疾患発症のリスク評価を行うなど、キャリア再生産の根絶に繋げる方策の検討が必要である。

#### ・JSPFADマテリアルバンクの検体を用いた発症リスクの検討

今回の解析の結果、ウイルスコピー数が4%以上でATL発症リスクに大いに関連している事が明らかと

なった。ウイルスコピー数の評価を取り入れたキャリアフォローの体制の構築が必要である。

#### E. 結論

最大5倍とされたHTLV-1コピー数測定の施設間差は、標準品や参照品を用いることで縮小することができた。今後は定期的に施設毎で標準品または参照品を測定することで測定値の標準化は可能であると考えられる。また、妊婦WB判定保留検体の約20%で核酸検査陽性となったことから、核酸検査の追加実施は有効に機能すると考えられる。

献血血液を用いた疫学調査の結果、全国で年間に3000-4000人にHTLV-1の水平感染の発生が示唆された。水平感染の実態調査をさらに進め、キャリア再生産の根絶に繋げる方策の検討が必要である。

#### F. 健康危険情報 特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Takizawa K, Nakashima T, Mizukami T, Kuramitsu M, Endoh D, Kawachi S, Sasaki K, Momose H, Kiba Y, Mizutani T, Furuta R, Yamaguchi K, Hamaguchi I. Degenerate PCR strategy with DNA microarray for detection of multiple and various subtypes of virus in the blood screening. *Transfusion*. 2013. 53(10 Pt 2):2545-55.
2. Odaka C, Kato H, Otsubo H, Takamoto S, Okada Y, Taneichi M, Okuma K, Sagawa K, Hoshi Y, Tasaki T, Fujii Y, Yonemura Y, Iwao N, Tanaka A, Okazaki H, Momose S, Kitazawa J, Mori H, Matsushita A, Nomura H, Yasoshima H, Ohkusa Y, Yamaguchi K, Hamaguchi I. Online reporting system for transfusion-related adverse events to enhance recipient haemovigilance in Japan: a pilot study. *Transfus Apher Sci*. 2013. 48: 95-102.
3. Asanuma S, Yamagishi M, Kawanami K, Nakano K, Sato-Otsubo A, Muto S, Sanada M, Yamochi T, Kobayashi S, Utsunomiya A, Iwanaga M, Yamaguchi K, Uchimaruk K, Ogawa S, Watanabe T. Adult T-cell leukemia cells are characterized by abnormalities of Helios expression that promote T cell growth. *Cancer Sci*. 2013. Aug;104(8):1097-106.
4. Nakano K, Ando T, Yamagishi M, Yokoyama K, Ishida T, Ohsugi T, Tanaka Y, Brightly DW, Watanabe T. Viral interference with host mRNA surveillance, the nonsense-mediated mRNA decay (NMD) pathway, through a new function of HTLV-1 Rex: implications for retroviral replication. *Microbes Infect*. 2013. Jun;15(6-7):491-505.
5. Ishida YI, Yamasaki M, Yukizaki C, Nishiyama K, Tsubouchi H, Okayama A, Kataoka H. Carnosol, rosemary ingredient, induces apoptosis in adult T-cell leukemia/lymphoma cells via glutathione depletion: proteomic approach using fluorescent two-dimensional differential gel electrophoresis. *Hum Cell*. 2013. Dec 10.
6. Umekita K, Hidaka T, Miyauchi S, Ueno S, Kubo K, Takajo I, Hashiba Y, Kai Y, Nagatomo Y, Okayama A. Treatment with anti-tumor necrosis factor biologics in human T-lymphotropic virus type 1 positive patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2013. Oct 14
7. Mochizuki M, Sugita S, Kamoi K. Immunological homeostasis of the eye. *Prog Retin Eye Res*. 2013. Mar;33:10-27.
8. 相良康子、後藤信代、井上由紀子、守田麻衣子、倉光球、大隈和、浜口功、入田和男、清川博之 抗HTLV-1抗体検査(ウエスタンブロット法)判定保留例の解析 *日本輸血・細胞治療学会誌* 印刷中
9. Tamai Y, Hasegawa A, Takamori A, Sasada A, Tanosaki R, Choi I, Utsunomiya A, Maeda Y, Yamano Y, Eto T, Koh KR, Nakamae H, Suehiro Y, Kato K, Takemoto S, Okamura J, Uike N, Kannagi M. Potential contribution of a novel Tax epitope-specific CD4+ T cells to graft-versus-Tax effect in adult T cell leukemia patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Immunol*. 2013. Apr 15;190(8):4382-92.
10. Kobayashi S, Tian Y, Ohno N, Yuji K, Ishigaki T, Isobe M, Tsuda M, Oyaizu N, Watanabe E, Watanabe N, Tani K, Tojo A, Uchimaruk K. The CD3 versus CD7 plot in multicolor flow cytometry reflects progression of disease stage in patients infected with HTLV-I. *PLoS One*. 2013. 8(1):e53728.
11. Sato T, Coler-Reilly A, Utsunomiya A, Araya N, Yagishita N, Ando H, Yamauchi J, Inoue E, Ueno T, Hasegawa Y, Nishioka K, Nakajima T, Jacobson S, Izumo S, Yamano Y. CSF CXCL10, CXCL9, and neopterin as candidate prognostic biomarkers for HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013. Oct 10;7(10):e2479.
12. Ishihara M, Araya N, Sato T, Tatsuguchi A, Saichi N, Utsunomiya A, Nakamura Y, Nakagawa H, Yamano Y, Ueda K. Preapoptotic protease calpain-2 is frequently suppressed in adult T-cell leukemia. *Blood*. 2013. May 23;121(21):4340-7.
13. Narita T, Ishida T, Masaki A, Suzuki S, Ito A, Mori F, Yamada T, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Miyazaki Y, Takatsuka Y, Utsunomiya A, Niimi A, Iida S, Ueda R. HTLV-1 bZIP Factor-Specific CD4 T Cell Responses in Adult T Cell Leukemia/Lymphoma Patients after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *J Immunol*. 2014. Feb 1;192(3):940-7.
14. Kinpara S, Kijiyama M, Takamori A, Hasegawa A, Sasada A, Masuda T, Tanaka Y, Utsunomiya A, Kannagi M. Interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) suppresses HTLV-1 gene expression and cell cycling, while IFN- $\alpha$  combined with zidovudine induces p53 signaling and apoptosis in HTLV-1-infected cells. *Retrovirology*. 2013. May 20;10:52.

15. Matsubara F, Sagara Y, Kato Y, Harada K, Koizumi A, Haraguchi K. Detection of antibodies to human T-cell leukemia virus types 1 and 2 in breast milk from East asian women. *Biol Pharm Bull.* 2014. 37(2):311-4.

16. 齋藤 滋: HTLV-I 母子感染対策. *産婦人科の実際.* 2013. 62:543-7.

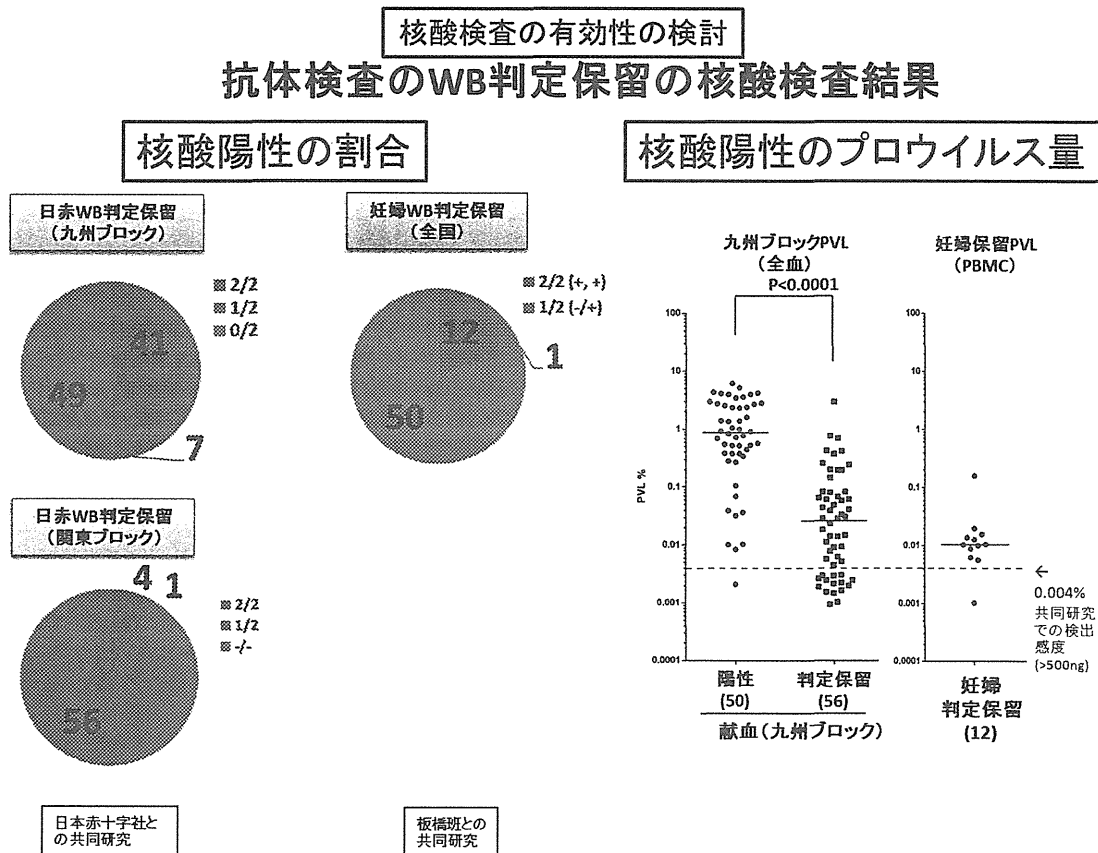
H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

出願番号：特願2013-196247. 発明の名称：HTLV-1プロウイルス検出のためのプライマーセット、およびそれを用いた検出法. 発明者：倉光球、浜口功、大隈和

2. 実用新案登録  
なし。

3. その他  
なし



## II. 分担研究報告

## 題名 JSPFADデータベースの維持・継続および発症リスク解明

研究分担者：岩永正子(慈恵医大)・渡邊俊樹(東大院)・岡山昭彦(宮崎大医)・宇都宮與(今村病院分院)  
内丸薫(東大医科研)・高起良(JR大阪鉄道病院)・魚住公治(鹿児島医療センター)  
緒方正男(大分大医)・鴨居功樹(東京医科歯科大)  
相良康子(日赤九州ブロック血液センター)・山ロー成(国立感染症)  
研究協力者：上平憲(長崎市民病院)

### 研究要旨：

前年度より引き続き、HTLV-1 関連疾患の全国疫学コホートである JSPFAD を継続・維持し、18 都道府県 50 施設より集積された累積症例数 2,909 人(HTLV-1 キャリア 2196 人, ATL 523 人, HAM 53 人, HU107 人), 累積検体数 8,338 検体のデータベースを構築・維持した。さらに、検体より抽出されたバイオマテリアルは、浜口班の HTLV-1 検査法標準化確立グループを含む計 12 件の研究グループの研究サポートのために供給され、マテリアルバンクとして有効に活用された。追跡期間中にキャリアから ATL へ 26 例, HAM へ 3 例が進展した。ATL 進展者のうち 24 例は登録時プロウイルス量が 4%以上であったが, HAM 進展者の登録時プロウイルス量は 4%以下であり, 疾患の発症にプロウイルス量以外のファクターが関わっていることが示唆された。

### A. 研究目的

本研究分担者グループでは、2002年(平成14年)から継続しているHTLV-1関連疾患の全国疫学コホートであるJSPFADを継続・維持することによって、下記の3つの研究を行うことを目的としている。

- 1) HTLV-1ウイルス量測定を基礎的指標として、HTLV-1関連疾患の発症リスクを疫学的に解明する。
- 2) 水平感染も含めて、HTLV-1ウイルス感染経路を見直し、疾患発症との関連について検討する。
- 3) HTLV-1感染者のマテリアルバンクとして機能し、HTLV-1検査法標準化確立グループの研究サポートやHTLV-1関連疾患の発症に関連する新たなバイオマーカー探索研究をサポートし、HTLV-1キャリアの発症リスクの解明に貢献する。

ただし、2)のウイルス感染経路の見直しと疾患発症との関連の研究は、前年度より別の分担研究グループを立ち上げて研究を行った（「HTLV-1水平感染の実態推定に関する研究」を参照）。

### B. 研究方法

#### 1)JSPFADデータベースの維持・継続：

既に確立されたJSPFADの研究実施方法に基づいて、血液検体・臨床情報・疫学情報の収集を行った。具体的には、研究協力実施医療機関の担当者は、同意が得られた研究対象者からの検体と情報を東大医科研(責任者：渡邊)に送付、受理された検体は東大医科研の検体データベースに登録後、生物学的処理を行いバイオマテリアル(細胞、DNA、血漿)として保管した。その一部を用いて東大医科研ではウイルス学的解析(プロウイルス量の測定とモノクロナリティー検査)と遺伝子情報解析を行い、残余バイオマテリアルは福岡県赤十字血液センター(担当：相良)へ送付して長期保存した。臨床・疫学情報は東京慈恵会医大(担当：岩永)へ送付して疫学データベースに入力し管

理維持した。

(倫理面への配慮) すべての研究協力実施医療機関は当該施設の倫理委員会による研究実施承認を受けており、すべての研究協力対象者からはインフォームドコンセントが得られており、すべての情報は匿名化コード処理されて収集される仕組みとなっており、十分な倫理面の配慮がなされている。

#### 2)HTLV-1キャリアからATL進展ならびHAM進展に関わる発症リスク評価：

JSPFADデータベース内のウイルス学的情報・臨床情報・疫学情報を定期的に付きあわせ、HTLV-1キャリアからATLおよびHAMへの発症リスクを疫学的に解析した。

#### 3)バイオマテリアルバンクの活用：

バイオマテリアルバンク利用申請があった、浜口班のHTLV-1検査法標準化確立グループおよびHTLV-1関連の研究を行っている国内外研究者に対して、研究の遂行と発展のために、血漿・血清・DNAなどのマテリアルを供給した。

### C. 研究結果

#### 1)JSPFADデータベース登録状況：

研究協力実施医療機関数・登録者数・累積検体数は、2013年12月15日現在、それぞれ、18都道府県から50施設、2,909例、8,338検体と前年度よりさらに増加した。登録者の内訳は、HTLV-1キャリア 2,196人(76%), ATL 523人(18%), HAM 53人(2%), HU(HTLV-1関連ブドウ膜炎) 107人(4%), 診断不明(1%)であった。

#### 2)HTLV-1キャリアからのATL進展リスク：

2013年12月15日現在、HTLV-1キャリアとして登録され、ATLに進展した症例は前年度より2名増加し26例となった。26例中登録時プロウイルス量(PVL)が4%以下の症例は2名、のこり24例はすべてPVL4%以上で

あった。HTLV-1キャリアからATLの進展様式を分類すると、19例(73%)がindolent type (くすぶり型・慢性型)に進展し、7例(26%)がaggressive type (急性型・リンパ腫型)に進展していた。

### 3)HTLV-1キャリアからのHAM進展リスク:

2013年12月15日現在、HTLV-1キャリアとして登録され、追跡観察中にHAMに進展したとみなされた症例は前年度のまま3例であった。3例とも登録時PVLは4%以下であった。HUとして登録され、追跡観察中にHAMに進展(合併)した症例も前年度のまま3例で、いずれも登録時PVLは4%以下であった。

### 4)バイオマテリアルバンクの活用状況:

マテリアルの提供を行った研究は、前年度より4件増加し、累積12件となった。

## D. 考察

約2000人のHTLV-1キャリア母集団から、HTLV-1関連疾患が、頻度は低いながら年に1~2例発症していることが事実となった。また、ATL進展者の92%はプロウイルス量が4%以上の高リスクキャリアから進展していたが、8%はプロウイルス量が4%以下の低リスクキャリアから進展しており、感染ウイルス量高値以外のリスクファクターが確実に存在する事が明らかに示唆された。HTLV-1キャリアからのATL進展・HAM進展は非常に頻度が低いため、通常の横断研究では把握することのできない疾患発症の実態解明が、本研究のさらなる長期的な追跡調査により期待される。

バイオマテリアルバンクの機能としては、本年度は4件ものHTLV-1関連疾患の研究にバイオマテリアルを供給し(全体の30%)、HTLV-1感染者のマテリアルバンクとして十分に機能した。HTLV-1感染者の検体を長期に継続的に保存しているバイオマテリアルバンクは他に類がなく、これまでも、今後も、HTLV-1関連疾患の研究の発展に大いに寄与できるものと期待される。

## E. 結論

追跡期間中にキャリアからATLへ26例、HAMへ4例が進展した。ATL進展者のうち24例は登録時プロウイルス量が4%以上であったが、2例のプロウイルス量は4%以下であり、HAM進展者全員の登録時プロウイルス量も4%以下であり、ATL進展にプロウイルス量以外のファクターが関わっていることが示唆された。また、ATLとHAMの発症に関わるウイルス量の意義に相違があることが示唆された。

## F. 健康危険情報 なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Asanuma S, Yamagishi M, Kawanami K, Nakano K, Sato-Otsubo A, Muto S, Sanada M, Yamochi T, Kobayashi S, Utsunomiya A, Iwanaga M, Yamaguchi K, Uchimaru K, Ogawa S, Watanabe T. Adult T-cell leukemia cells are characterized by abnormalities of Helios expression that promotes T-cell growth.

*Cancer Sci.* 104:1097-1106,2013.

2) Mahieux R, Watanabe T. Forefront studies on HTLV-1 oncogenesis. *Front Microbiol.* 4:156,2013.

3) White Y, Yoshimitsu M, Kozako T, Matsushita K, Koriyama C, Uozumi K, Suzuki S, Kofune H, Ariama N. Effects of exogenous interleukin-7 on CD8+ T-cell survival and function in human T-cell lymphotropic virus type 1 infection. *Leuk Lymphoma.* 54:2243-50,2013.

4) Tamai Y, Hasegawa A, Takamori A, Sasada A, Tanosaki R, Choi I, Utsunomiya A, Maeda Y, Yamano Y, Eto T, Koh KR, Nakamae H, Suehiro Y, Kato K, Takemoto S, Okamura J, Uike N, Kannagi M. Potential contribution of a novel Tax epitope-specific CD4+ T cells to graft-versus-Tax effect in adult T cell leukemia patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Immunol.* 190:4382-92,2013.

5) 吉田全宏, 亀田和明, 小川吉彦, 金島広, 中尾隆文, 田邊順子, 松岡雅雄, 高起良, 山根孝久. 末梢血でCD25陰性,リンパ節でCD25陽性を示した成人T細胞白血病/リンパ腫の1症例. *日本検査血液学会雑誌*, 14巻2号:188-192,2013.

6) Ohno N, Kobayashi S, Ishigaki T, Yuji K, Kobayashi M, Sato K, Watanabe N, Tojo A, Uchimaru K. Loss of CCR4 antigen expression after mogamulizumab therapy in a case of adult T-cell leukaemia-lymphoma. *Br J Haematol.* 163:683-5,2013.

7) Ishigaki T, Isobe M, Kobayashi S, Yuji K, Ohno N, Watanabe N, Tojo A, Uchimaru K. Development of peripheral T-cell lymphoma not otherwise specified in an HTLV-1 carrier. *Int J Hematol.* 97:667-72,2013.

8) Ishihara M, Araya N, Sato T, Tatsuguchi A, Saichi N, Utsunomiya A, Nakamura Y, Nakagawa H, Yamano Y, Ueda K. Preapoptotic protease calpain-2 is frequently suppressed in adult T-cell leukemia. *Blood.* 121:4340-7,2013.

9) Nakano K, Ando T, Yamagishi M, Yokoyama K, Ishida T, Ohsugi T, Tanaka Y, Brighty D-W, Watanabe T. Viral interference with host mRNA surveillance, the nonsense-mediated mRNA decay (NMD) pathway, through a new function of HTLV-1 Rex: implications for retroviral replication. *Microbes Infect.* 15:491-505,2013.

10) Ohsugi T, Wakamiya M, Morikawa S, Matsuura K, Kumar JM, Kumasaka T, Yamaguchi K. Invasion of histiocytic sarcoma into the spinal cord of HTLV-1 tax transgenic mice with HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis-like disease. *Oncol Res.* 20:403-10,2013.

11) Ikebe E, Kawaguchi A, Tezuka K, Taguchi S, Hirose S, Matsumoto T, Mitsui T, Senba K, Nishizon



- o A, Hori M, Hasegawa H, Yamada Y, Ueno T, Tanaka Y, Sawa H, Hall W, Minami Y, Jeang KT, Ogata M, Morishita K, Hasegawa H, Fujisawa J, Iha H. Oral administration of an HSP90 inhibitor, 17-DMAG, intervenes tumor-cell infiltration into multiple organs and improves survival period for ATL model mice. **Blood Cancer J.** 3:e132,2013.
- 12) Kinpara S, Kijiyama M, Takamori A, Hasegawa A, Sasada A, Masuda T, Tanaka Y, Utsunomiya A, Kannagi M: Interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) suppresses human T-lymphotropic virus type-1 (HTLV-1) gene expression and cell cycling, while IFN- $\alpha$  combined with zidovudine induces p53 signaling and apoptosis in HTLV-1-infected cells. **Retrovirol** 10:52,2013.
- 13) Ando H, Sato T, Tomaru U, Yoshida M, Utsunomiya A, Yamauchi J, Araya N, Yagishita N, Coler-Reilly A, Shimizu Y, Yudo K, Nishioka K, Nakajima T, Jacobson S, Yamano Y. : Positive feedback loop via astrocytes causes chronic inflammation in virus-associated myelopathy. **Brain** 136:2876-87,2013.
- 14) Ishida T, Hishizawa M, Kato K, Tanosaki R, Fukuda T, Takatsuka Y, Eto T, Miyazaki Y, Hidaka M, Uike N, Miyamoto T, Tsudo M, Sakamaki H, Morishima Y, Suzuki R, Utsunomiya A: Impact of GVHD on allogeneic HCT for adult T-cell leukemia/lymphoma focusing on preconditioning regimens: nationwide retrospective study. **Biol Blood Marrow Transplant** 19:1731-1739,2013.
- 15) Chihara D, Ito H, Matsuda T, Katanoda K, Shibata A, Taniguchi S, Utsunomiya A, Sobue T, Matsuo K.: Association between decreasing trend in the mortality of adult T-cell leukemia/lymphoma and allogeneic hematopoietic stem cell transplants in Japan: Analysis of Japanese vital statistics and Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). **Blood Cancer J** 3:e159,2013.
- 16) Sato T, Coler-Reilly A, Utsunomiya A, Araya N, Yagishita N, Ando H, Yamauchi J, Inoue E, Ueno T, Hasegawa Y, Nishioka K, Nakajima T, Jacobson S, Izumo S, Yamano Y : CSF CXCL10, CXCL9, and neopterin as candidate prognostic biomarkers for HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. **PLoS Negl Trop Dis** 7:e2479,2013.
- 17) Nakano N, Kusumoto S, Tanaka Y, Ishida T, Takeuchi S, Takatsuka Y, Akinaga S, Mizokami M, Ueda R, Utsunomiya A : Reactivation of hepatitis B virus in a patient with adult T-cell leukemia-lymphoma receiving the anti-CC chemokine receptor 4 antibody mogamulizumab. **Hepatol Res** 2013 Mar 26 [Epub ahead of print]
- 18) Umekita K, Hidaka T, Miyauchi S, Ueno S, Kubo K, Takajo I, Hashiba Y, Kai Y, Nagatomo Y, Okayama A. Treatment with anti-tumor necrosis factor biologics in human T-lymphotropic virus type 1 positive patients with rheumatoid arthritis. **Arthritis Care Res (Hoboken)**. 2013 Oct 14 [Epub ahead of print].
- 19) Umekita K, Umeki K, Miyauchi S, Ueno S, Kubo K, Kusumoto N, Takajo I, Nagatomo Y, Okayama A. Use of anti-tumor necrosis factor biologics in the treatment of rheumatoid arthritis does not change human T-lymphotropic virus type 1 markers: a case series. **Mod Rheumatol**. 2013 Nov 4 [Epub ahead of print].
- 20) Ishida YI, Yamasaki M, Yukizaki C, Nishiyama K, Tsubouchi H, Okayama A, Kataoka H. Carnosol, a rosemary ingredient, induces apoptosis in adult T-cell leukemia/lymphoma cells via glutathione depletion: proteomic approach using fluorescent two-dimensional differential gel electrophoresis. **Hum Cell**. 2013 Dec 10 [Epub ahead of print].
- 21) Narita T, Ishida T, Masaki A, Suzuki S, Ito A, Mori F, Yamada T, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Miyazaki Y, Takatsuka Y, Utsunomiya A, Niimi A, Iida S, Ueda R. : HTLV-1 bZIP factor-specific CD4 T cell responses in adult T cell leukemia/lymphoma patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. **J Immunol**. 2013 Dec 20 [Epub ahead of print]
2. 学会発表
- 1) Nakano N, Kubota A, Tokunaga M, Takeuchi S, Takatsuka Y, Utsunomiya A. Extremely high incidence of CMV-pp65 antigenemia in ATLL patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. ASBMT/CIBMTR BMT tandem meetings, Salt Lake City, UT, USA, 12-18 February, 2013
- 2) Takeuchi S, Nakano N, Kubota A, Tokunaga M, Yonekura K, Takatsuka Y, Utsunomiya A: A retrospective analysis of pre-transplant prognostic indices and overall survival after allogeneic stem cell transplantation in adult T-cell leukemia/lymphoma patients. EBMT, London, UK, 7-10 April, 2013
- 3) Yamagishi M, Fujikawa D, Kurokawa N, Soejima A, Takahashi R, Sakai N, Nakagawa S, Nakano K, Kobayashi S, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Uchimaruru K, Ogawa S, Watanabe T. Molecular hallmarks of adult T cell leukemia: miRNA, epigenetics, and emerging signaling abnormalities. 16th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses (June 26-30 2013), Montreal, Canada, 2013.
- 4) Takemoto S, Uzawa K, Morita K, Pornkunal R, Haga Y, Iwanaga M, Sagara Y, Kawano F, Watanabe T. Adult T-cell leukemia/lymphoma following elevation of serum levels of soluble cytokine receptors, sCD25 and Scd30. 16th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses (June 26-30 2013), Montreal, Canada, 2013.
- 5) Nakano K, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Uchimaruru K, Watanabe T. Disorders of the cMyb proto-onc

- ogene expression and its significance in the course of ATL development. 16th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses (June 26-30 2013), Montreal, Canada, 2013.
- 6) Utsunomiya A: Mogamulizumab, an anti- CCR4 monoclonal antibody, is a potent therapeutic option for adult T-cell leukemia- lymphoma. 16<sup>th</sup> International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses (June 26-30 2013), Montreal, Canada, 2013.
- 7) Yonekura K, Kanzaki T, Nakano N, Tokunaga M, Kubota A, Takeuchi S, Takatsuka Y, Utsunomiya A: Effect of a novel anti-CCR4 monoclonal antibody (Mogamulizumab) on skin lesions of adult T-cell leukemia- lymphoma (ATL) and its adverse skin reactions (ASR). 16<sup>th</sup> International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses (June 26-30), Montreal, Canada, 2013.
- 8) 相良康子, 井上由紀子, 守田麻衣子, 後藤信代, 岩永正子, 渡邊俊樹, 清川博之. HTLV-1感染者が産生する中和抗体について. 第6回HTLV-1研究会・シンポジウム, 東京大学医科学研究所, 2013年8月.
- 9) 中武彩子, 小林行治, 西片一朗, 中畑新吾, 岩永正子, 相良康子, 北中明, 天野正宏, 前田宏一, 末岡榮三郎, 瀬戸山充, 岡山昭彦, 宇都宮與, 下田和哉, 渡邊俊樹, 森下和広. 血中可溶性CADM1/TSLC1測定によるATL診断法の開発. 第6回HTLV-1研究会・シンポジウム, 東京大学医科学研究所, 2013年8月.
- 10) 小林誠一郎, 渡辺恵理, 石垣知寛, 中野和民, 矢持忠徳, 山岸誠, 浅沼里実, 大野伸広, 湯地晃一郎, 渡辺信和, 東條有伸, 渡邊俊樹, 内丸薫. HAS-Flow法を用いたHTLV-1キャリア/くすぶり型ATL境界の検討. 第6回HTLV-1研究会・シンポジウム, 東京大学医科学研究所, 2013年8月.
- 11) 中島誠, 東原正明, 渡邊俊樹, 堀江良一. HTLV-1キャリアにおけるCD4/25/30陽性細胞は核形態異常を伴う. 第6回HTLV-1研究会・シンポジウム, 東京大学医科学研究所, 2013年8月.
- 12) 石垣知寛, 小林誠一郎, 渡辺恵理, 佐藤奈津子, 大野伸広, 渡辺信和, 内丸薫, 東條有伸, 中内啓光. ATLにおけるHAS-Flow法の臨床応用-12カラーの病態解析から4カラーの臨床検査まで. 第23回日本サイトメトリー学会学術集会, 東京, 2013年6月.
- 13) 大野伸広, 田野崎隆二, 福田隆浩, 井上明威, 藤重夫, 伊藤歩, 小林真之, 佐藤広太, 城憲秀, 川俣豊隆, 湯地晃一郎, 石垣智寛, 小林誠一郎, 渡辺信和, 内丸薫, 東條有伸. Aggressive ATL患者の治療選択における同種造血幹細胞移植の意義の検討. 第75回日本血液学会学術集会, 札幌, 2013年10月.
- 14) 佐藤奈津子, 渡辺恵理, 石垣知寛, 小林誠一郎, 大野信広, 崔日承, 末廣陽子, 鶴池直邦, 内丸薫, 渡辺信和. フローサイトメトリーによるATL細胞の解析法とその臨床検査への応用. 第75回日本血液学会学術集会, 札幌, 2013年10月.
- 15) 吉田全宏, 亀田和明, 金島広, 中尾隆文, 山根孝久, 高起良, 田邊順子, 松岡雅雄. 末梢血でCD25陰性, リンパ節でCD25陽性を示した成人T細胞白血病/リンパ腫. 第75回日本血液学会学術集会, 札幌, 2013年10月.
- 16) 吉満誠, Chibueze Ezinne, 黒木綾子, 中村大輔, 新居亮彦, 川田英明, 鈴木紳介, 松下格司, 魚住公治, 有馬直道. HTLV-1キャリア及びATLにおける免疫抑制性受容体2B4発現の検討. 第110回日本内科学会, 東京, 2013年4月.
- 17) 水上拓郎, 滝澤和也, 栗林和華子, 平松竜司, 倉光球, 山崎淳平, Hall William, 長谷川秀樹, 山口一成, 浜口功. 成人T細胞白血病マウスモデルを用いた癌幹細胞ニッチ形成における破骨細胞の機能解析と破骨細胞を標的とした治療法の開発. 第156回日本獣医学会学術集会, 岐阜, 2013年9月.
- 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

## 題名 HTLV-1水平感染の実態推定に関する研究

研究分担者：佐竹正博（日本赤十字社中央血液研究所・副所長）  
相良康子（日本赤十字社九州ブロック血液センター・課長）  
岩永正子（東京慈恵会医科大学・講師）

研究要旨：平成25年度は、前年度の九州での検討結果をもとに、全国の献血データベースを使って献血者におけるHTLV-1陽転化率を推定した。全国データでは、2005年～2006年の献血者のうち、HTLV-1抗体確認検査（IF）が陰性で、2011年末までに複数回献血があった者を追跡し、追跡期間内にHTLV-1(IF)が陽転した献血者を集計した。10万人年あたりの全国の陽転化数は男性2.3、女性6.9で、女性は男性の3倍であった。男性では60歳代が、女性では50歳代が最も陽転率が高かった。地域別では、男女とも九州沖縄地方が最も陽転率が高く、10万人年あたり男性5.2、女性24.3であった。地域のキャリア率とその地域内の陽転率は女性において良く関連していた。

### A. 研究目的

HTLV-1は主として3つの感染ルート（母子感染、輸血感染、男女間感染）によってヒト-ヒト感染する。母子感染ルートの主体である母乳を介した感染は、有効な予防的対策が確立し、endemic areaにおいては、

HTLV-1の新規感染者は激減している。輸血感染については、1986年以降すべての献血に対しHTLV-1スクリーニングが実施されているため、現在では実質的に輸血による新規感染者はいない。一方、水平感染ルートについては、1980～90年代の小規模の疫学研究によって「夫から妻への感染が大半を占めるであろう」ということが推定されているのみで、集団レベルにおける実態は十分に把握されておらず、水平感染による新規感染予防対策もとられていない。

本研究グループでは、献血者のHTLV-1スクリーニング検査結果を用いて、一般集団における水平感染率を推定することを目的としている。平成25年度は、前年度の九州での検討結果をもとに、全国の献血データベースを使って献血者におけるHTLV-1陽転化率推定を検討した。

### B. 研究方法

#### ・研究デザイン

2005年～2006年の献血者のうち、HTLV-1スクリーニング検査結果が陰性で、2011年末までに複数回(2回以上)献血があった者を追跡母集団とし、追跡期間内のHTLV-1陽転化をアウトカムとした後ろ向きコホート研究である。

#### ・データ抽出

平成25年度は全国献血データベースより個別追跡データを抽出した。

#### ・HTLV-1感染陽転者の定義

データが膨大な全国データでは、前年度の九州のみの解析の時のようなスクリーニング検査をメルクマールとして追跡母集団を設定し、統一した確認検査による陽転化確認を行うという方法を適用することは困難であったため、方法を変更し、一次検査（凝集

法）の結果にかかわらず追跡開始時に確定検査が陰性の献血者を追跡母集団とし、追跡期間中にWB法・IF法いずれかが陽転した場合は陽性とした。

#### ・追跡期間の計算

前年度と同様に、陽転化していない者の追跡期間(人年)は、2005年～2006年の最初の陰性献血確認日と最終陰性献血確認日から計算した。陽転化した者の追跡期間(人年)は、献血の特性上inter-donation intervalを適応し、2005年～2006年の最初の陰性献血確認日と、陽転確認日とその1つ前の陰性献血確認日の中間日から計算した。

#### ・陽転化率の計算

全国を北海道、東北、関東、中部、近畿、中四国、九州沖縄の7ブロックに分けて、平成24年度と同様に性別・年齢別・生年別に、陽転者数を追跡母集団数で除して「粗陽転化率」を求め、また陽転者数を追跡人年で除して「10万人年あたりの陽転化率」を求めた。

（倫理面への配慮）すべての情報は匿名化コード処理されており、十分な倫理面の配慮がなされている。

### C. 研究結果

全国データでは、約337万人（男性210万人、女性128万人）を追跡し、男性204人、女性328人が陽転化した。粗陽転化率は男性0.01%、女性0.026%、10万人年あたりの陽転化数は男性2.3、女性6.9であり、女性の陽転化数が男性の3倍であった。

年齢別では、高齢者ほど陽転率が高く、男性では1935-44年生まれ(60歳代)、女性では1945-54年生まれ(50歳代)が最も陽転率が高かった。

地域別では、男女とも九州沖縄地方が最も陽転率が高く(10万人年あたり男性5.2、女性24.3)、その他の地域では近畿地方の男性の陽転率が九州に次いで高かった(10万人年あたり4.6)。

地域別のキャリア率と陽転率の関連をみると、女性ではキャリア率と陽転率がよく関連していたが、

男性では、近畿地方においてキャリアが低い割に陽転化率が高かった。また、男性のキャリア率と女性の陽転率もよく関連しており、女性のキャリア率と男性の陽転率との関連についても、近畿地方を除いてよく関連していた。

全国におけるHTLV-1陽転者数を推定するために、今回得られた全国の陽転率を、平成18, 19年の全国の15歳から69歳までの平均人口に乗じて計算すると、全国でこの年齢人口では年間に男性約1000人、女性約3000人、計約4000人が陽転化していると推定された。

#### D. 考察

陽転化率は、どの地域においても、男性より女性のほうが高かった。とくに九州において男女差が著しく、男性のキャリアの多い集団で女性への水平感染が多いことが推測された。年齢別では、男性で60歳代、女性で50歳代での陽転率が最も高かった。男女とも中高年以上の年齢において陽転化率が高い理由については、性生活の変化、加齢による個体の免疫系の変化による既存感染の再活性化、などが推測されるが、理由は不明である。男性のキャリア率と女性の陽転率の関係のほうが、女性のキャリア率と男性の陽転率の関係より顕著であったことは、以前の夫婦間感染の研究結果と同様に、女性から男性より、男性から女性への水平感染率が高い可能性が示唆された。男性集団において、地域のキャリア率と陽転率との間には女性ほどの相関がみられなかった理由は不明である。

#### E. 結論

10万人年あたりの全国の陽転化数は男性2.3、女性6.9で、女性は男性の3倍であった。男性では60歳代が、女性ではおもに50歳代が最も陽転率が高かった。地域別では、キャリア率と同様、男女とも九州沖縄地方が最も陽転率が高かった。地域のキャリア率とその地域内の陽転率は女性において良く関連していた。献血者におけるHTLV-1陽転者の存在は、一般集団においても、母子感染以外の原因でHTLV-1の新規感染者が存在する事を示唆し、今後さらなる研究が必要である。

#### F. 健康危険情報 なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Futoshi Matsubara, Yasuko Sagara, Yoshihisa Kato, Kouji Harada, Akio Koizumi, and Koichi Haraguchi. Detection of Antibodies to Human T-Cell Leukemia Virus Types 1 and 2 in Breast Milk from East Asian Women. *Biol. Pharm. Bull.* In press.
- 2) 相良康子, 後藤信代, 井上由紀子, 守田麻衣子, 倉光球, 大隈和, 浜口功, 入田和男, 清川博之 抗HTLV-1抗体検査(ウエスタンブロット法)判定保

留例の解析 日本輸血・細胞治療学会誌 印刷

- 3) Asanuma S, Yamagishi M, Kawanami K, Nakano K, Sato-Otsubo A, Muto S, Sanada M, Yamochi T, Kobayashi S, Utsunomiya A, Iwanaga M, Yamaguchi K, Uchimaru K, Ogawa S, Watanabe T. Adult T-cell leukemia cells are characterized by abnormalities of Helios expression that promotes T-cell growth. *Cancer Sci.* 104:1097-1106,2013.

##### 2. 学会発表

- 1) 佐竹正博. HTLV-1の現状 献血者の抗体陽性率からみたキャリアの変遷. 日本輸血細胞治療学会, 2013.4.
- 2) 岩永正子, 佐竹正博, 山口一成. HTLV-1感染と気管支喘息死亡との関連: 地域相関研究. 第6回HTLV研究会・シンポジウム. [口頭]2013年8月24日(土), 東大医科研.
- 3) 相良康子, 井上由紀子, 守田麻衣子, 後藤信代, 岩永正子, (他2名). HTLV-1感染者が産生する中和抗体について. 第6回HTLV研究会・シンポジウム. [口頭]2013年8月24日(土), 東大医科研.
- 4) 中武彩子, (他4名), 岩永正子, 相良康子, (他7名), 渡邊俊樹, 森下和広. 血中可溶性CADM1/TSLC1測定によるATL診断法の開発. 第6回HTLV研究会・シンポジウム. [口頭]2013年8月25日(日), 東大医科研.
- 5) Takemoto S, (他4名), Iwanaga M, Sagara Y, Kawano F, Watanabe T. Adult T-cell leukemia/lymphoma following the elevation of soluble cytokine receptors, sCD25 and sCD30. 16th International Conference on Human Retrovirology: HTLV & Related Viruses. June 26-30, 2013, Canada.
- 6) 井上由紀子, 後藤信代, 長野冬子, 相良康子, 入田和男, 清川博之, 矢持忠徳, 渡邊俊樹, JSPFAD HTLV-1プロウイルスロードを抑制する抗体エピソードの探索 第60回日本輸血・細胞治療学会 [口頭] 2013年5月, 横浜.
- 7) 井上由紀子, 相良康子, 長野冬子, 後藤信代, 清川博之 HTLV-1検査法の比較検討. 第37回日本血液事業学会総会. [口頭] 2013年10月, 札幌.
- 8) 井上由紀子, 守田麻衣子, 後藤信代, 相良康子, 清川博之 液性免疫によるHTLV-1プロウイルスロード抑制機構 — ATL発症予防に向けて — 第60回輸血・細胞治療学会九州支部会 [口頭] 2013年12月, 鹿児島.
- 9) 歌田真依, 大野ゆう子, 堀芽久美, 岩永正子, 上平憲, 早田みどり. ATL患者の多重がんの発生頻度と発生間隔. [8月24日(土)一般演題口演O-5: 疫学・感染予防ほか]. 第6回HTLV研究会・シンポジウム. [口頭]2013年8月24日(土), 東大医科研.

#### 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

題名 HTLV-I抗体陽性で、Western Blot法判定保留者に対して行なったPCR検査法の実態調査

研究分担者 齋藤 滋 富山大学大学院医学薬学研究部産科婦人科 教授  
資料提供 木下 勝之 日本産婦人科医会 会長  
板橋 家頭夫 昭和大学小児科 教授、厚生労働研究板橋班 班長

研究要旨：

日本産婦人科医会と厚生労働研究板橋班の合同アンケート調査で、一次スクリーニング陽性者に確認検査であるWB法を行なったところ、11.4%（208/1,829）が判定保留となっていることが明らかとなった。同調査では、WB法判定保留例にPCRを施行できた60例中、21例がHTLV-I genome陽性となっている。今回、板橋班と共同して浜口班でWB法判定保留者63例に対してPCR法を行なったところ、2回ともPCR法陽性が12例（19%）、2回のうち1回のみ陽性が、1例（1.6%）存在した。あわせて20.6%の陽性率であった。前者のアンケート調査の結果を集計すると、34/123（27.6%）の陽性率となった。また、浜口班の結果では、ウイルスコピー数の中央値が0.01%（0.006～0.020%）と低値であった。WB法判定保留となる1つの要因として、HTLV-I proviral loadの低値が考えられた。

A. 研究目的

妊婦に対して、HTLV-I抗体検査が全国で行なわれるようになったが、二次検査のWestern Blot法を行なっても判定保留となるケースもある。またnon-endemic areaでは一次検査では陽性だが、Western Blot法で判定保留者がある一定の頻度で存在することは経験的に知られていたが、その実態は明らかでなかった。今回、WB判定保留例に対してPCR法を施行し、HTLV-I感染の実態を明らかにした。

B. 研究方法

日本産婦人科医会が2012年に施行した全国の2,642施設に対して行なったアンケート調査の結果を利用した。回収数は1,857施設で、回収率は70.3%であった。スクリーニング検査陽性が2,202例で、うち1,829例にWB法が行なわれ、陽性915例（50.5%）、判定保留208例（11.4%）、陰性706（38.6%）であった。判定保留208例中60例にPCR検査が施行されていた。

厚生労働研究板橋班との共同研究で、現在まで63症例がWB法で判定保留となり、これらの症例に対してQ-PCR法を行ない、HTLV-I genomeの有無ならびに定量を検討した。

C. 研究結果

日本産婦人科医会で行なった調査では、208例のWB法判定保留者に対して60例にPCR検査が実施されており、21例（35%）がPCR法陽性であった。

浜口班のデータでは、WB法判定保留63例に行なったPCR検査により、12例で2回とも陽性、1例で1回のみ陽性となった。1回のみ陽性例も陽性と判断する

と、PCR法陽性率は、20.6%（13/63）となった。日本産婦人科医会のデータを加えると、27.6%（34/123）の陽性率であった。

浜口班のデータでは、PCR法陽性者のproviral loadは中央値0.01%（0.006%～0.020%）と低値であり、WB法で判定保留となる要因の一つとして、HTLV-Iウイルスコピー数の低値が考えられた。

D. 考察

これまで明らかとなっていなかったHTLV-I抗体検査陽性、WB法判定保留症例が抗体陽性例中約11.4%に存在することが明らかとなった。従来、これらの症例に対しての母乳栄養法の選択に対して説明に苦慮していた。これらの症例では、母乳選択のみならず、その後ATLやHAMが発症するのではないかと不安を持ち続けることになり、改善策が望まれていた。

今回の結果から、WB法判定保留例のうち、HTLV-I provirusがPCR法にて検出されるのは、27.6%（34/123）にすぎず、残りの72.4%はHTLV-I provirus量が極めて微量で、PCR法の検出感度以下か、感染していないかのいずれかである。Biggerらの報告(J.Infect Dis. 2006;193:277-282)によると、母体血中のHTLV-I proviral levelが $10^6$ 細胞あたり、6,309未満（0.6%のプロウイルス量）では、母子感染率が1/37（2.7%）と極めて少ないと報告されている。HTLV-Iキャリア妊婦で完全人工栄養にしても3%程度の母子感染率があることから考えると、WB法判定保留、PCR法陽性群における経母乳感染率はわずかと考えられるが、現時点ではPCR法陽性群に対しては、人工栄養、3ヶ月までの短期母乳、凍結母乳の3つから選択していただいた方が無難である。WB