

201318016B

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23～25年度 総合研究報告書

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23～25年度 総合研究報告書

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、望月 學、相良康子、齋藤 滋、山野嘉久、巽 正志、
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.13
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、望月 學、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.20
佐竹正博、相良康子、岩永正子
3. 妊婦健診におけるHTLV-I抗体検査陽性例におけるWestern Blot法ならびに
PCR法の意義 P.27
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
(測定方法および標準株組み込みプロウイルスに関する検討)..... P.31
岡山昭彦、梅木一美、橋倉悠輝、山本成郎
5. 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 感染者における sIL-2R と PVL のモニタリングの有用性の検討)
..... P.34
宇都宮 與
6. 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.40
山野嘉久

7. 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.50

望月 學、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.53

IV. 研究成果の刊行物・印刷 P.77

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
望月 學 東京医科歯科大学 眼科学
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
巽 正志 国立感染症研究所 エイズ研究センター
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。〔1〕HTLV-1 検査法標準化確立グループでは、HTLV-1 核酸検査の標準品を設定し、研究室レベルで独自に行われてきた HTLV-1 ウイルス量測定法の標準化を確立した。さらに検査法の有効性を、献血血液及び妊婦の判定保留検体を用いて明らかにした。また、本試験法の早期の実用化を目指し、試薬メーカーと協力して、HTLV-1 核酸検査の体外診断薬開発を進めるとともに、医療施設の検査部門に本診断技術を移転し、先進医療による診断法としての実績を示し、早期に保険適用を受けるための準備を推進した。〔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
望月 學 東京医科歯科大学 教授
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
巽 正志 国立感染症研究所 室長
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年末に妊婦検診の標準的検査項目に追加され全国的に実施されるようになった。妊婦検査では抗体検査が2段階構えで実施されるが、2次検査のWestern Blotting (WB) 検査の結果判定保留となる場合が少なからず存在することが問題となっている。WB判定保留に対して追加でHTLV-1核酸検査が予定されている。しかしながらHTLV-1核酸検査

は研究ベースで開発され運用されており、妊婦WB判定保留例に対する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。当研究班では、①標準品細胞の性状解析、②標準品の設定と標準品測定による施設間差補正のための補正係数の算出、およびHTLV-1核酸検査の測定値の標準化、③HTLV-1核酸検査の感度測定、④妊婦検診のWestern Blotting (WB)判定保留検体に対して核酸検査の有用性について解析した。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 (gDNA)とした。
妊婦WB判定保留検体：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。

日本赤十字社検体：日本赤十字社献血スクリーニングにおいてHTLV-1陽性・判定保留となった検体の血餅または血液型判定の残検体についてgDNA抽出し、試験に使用した。HTLV-1陰性検体は、譲渡血から分離したPBMCを使用した。

・FISH解析：TL-0m1細胞を低張液で処理後、カルノア液で固定し、スライドガラス上に染色体標本作製した。pUC/HTLV-1プラスミドをnick translation法でdigoxigeninラベルシプローブとした。プローブを標本に滴下し、カバーガラスを被せ70°C5分後処理後、37°Cで一晩ハイブリダイズした。標本をwash後、プローブをanti-digoxigenin抗体 (Cy3ラベル)で検出した。解析はLeica CW4000 FISHで行った。

・シーケンス解析：PCR増幅産物に対してBigDye ver3でPCRを行い、3120xGenetic Analyzerで解析した。

・CGHアレイ解析：TL-0m1ゲノムDNAおよびPBMCゲノムDNA (10検体を同量で混合)に対してfilgen Cytosure™ Syndrome Plus v2.0 arrayを用いてプロトコルに従いアレイ解析した。結果はCytoSure™ Interpret softwareで解析した。

・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

FISH解析によってTL-0m1のHTLV-1コピー数は平均1.8コピーであることが明らかになった。また間期の細胞でHTLV-1の挿入部位を検討したところ、HTLV-1プロウイルスはすべて1q44プローブと同じ染色体上にあることが明かとなり、第1番染色体の1p13に挿入されていた。また間期の染色体数からTL-0m1は4倍体であることが明らかになった。TL-0m1 DNAのInverse-PCRにより挿入部位配列を同定したところ、HTLV-1は第1番染色体のNT_077389 nt. 164570-164576に逆向きに挿入されていることが明らかとなった。



図1. HTLV-1 FISH解析像 (黄色: HTLV-1プローブ)

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、標準化後の測定値を真値に近いものにするためには極めて重要であることから、プロウイルスコピー数のさらに正確に測定するためFISHに加え、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、RNaseP (RPPH1)に対する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 (HTLV-1:1.8コピー/cell, RPPH1: 3.95コピー/cellより算出)とほぼ一致した。またRPPH1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。RPPH1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法でもほぼ結果が一致したことから高い精度でコピー数を規定できていると確認した。

・施設の補正係数の測定 (多施設共同研究)

標準品としてTL-0m1/PBMC希釈系列を設定し、参加8施設に配布し、各施設の方法に従いDNA抽出から定量PCRまでの過程を独立3回測定した。測定結果の平均値には、約5倍の施設間差が認められた。各施設独立3回測定した標準品の測定値をもとに平行線定量法で各施設の補正係数を算出した。TL-0m1濃度が0.16%~20%に範囲では全施設で補正が可能となった。

JSPFAD登録キャリア検体からPBMCを分離し、参加施設でDNA抽出およびHTLV-1 PVLの測定を行った。陽性検体のHTLV-1 PVL値には7.4倍の施設間差が認められた。標準品測定から得られた各施設の補正係数で補正した結果、施設間差は3.4倍まで減少した。そのうち5施設については補正後に施設間差が1.6倍まで減少し、標準化により測定値の施設間差が縮小することを確認した。

また標準品 (TL-0m1/PBMC希釈系列) の他に比較的準備とロット間差等の品質管理が容易であると考えられる参照品 (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。標準品測定で算出された値を各施設の補正係数とし、参照品の値付けを行った。全2回の標準品測定から計算された補正係数は、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た。

・HTLV-1核酸検査の検出感度

判定保留検体の追加測定としてのHTLV-1核酸検査の有効性を考察する上でおおよその検出感度の確認をした。TL-0m1を極めて低濃度にPBMCに希釈した検体を配布し、それぞれの施設で通常の測定量よりもgDNAを増量し測定したところ、gDNAを500ng使用した場合では、TL-0m1濃度0.002% (PVL≒0.004%, 4コピー/ 1×10^5 cells)まで全施設で陽性となった。また1 μ gでは、さらに高感度で測定できることが示唆される結果を得た。このことからHTLV-1核酸検査のおおよその感度は、PVL≒0.004%, 4コピー/ 1×10^5 cells付近であることが示唆された。

・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 μ 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

妊婦WB判定保留検体 (47例) の血漿で、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核酸検査の標準化

核酸検査 NAT の標準化は、一般的に濃度を規定した標準品を設定し、標準品測定に係る抽出から定量・定性反応までの全体の影響を加味して行われる。標準品は測定するサンプルに出来るだけ近い組成の物質を使用することが望ましいとされることから HTLV-1 核酸検査の標準品として HTLV-1 感染細胞 (TL-0m1 細胞株) の PBMC 希釈系列と設定した。

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-0m1 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度の高い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の簡素化や、作製コストの低減、ロット間差の縮小ができると期待されたため、標準品とは別に TL-0m1 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-0m1 と Jurkat 細胞の gDNA も利用できると期待される。全 2 回の独立した標準品測定から得られた各施設の補正係数は、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。HTLV-1 核酸検査の検出感度は、おおよそ 4 コピー / 1×10^5 cells であり、妊婦 WB 判定保留対策で核酸検査の検出能力を十分に発揮するためには、PCR 反応時に 1 μ g 以上を用いることが推奨されることが明らかになった。妊婦 WB 判定保留検体 (63 検体) の約 20% (12 検体) 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た。

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

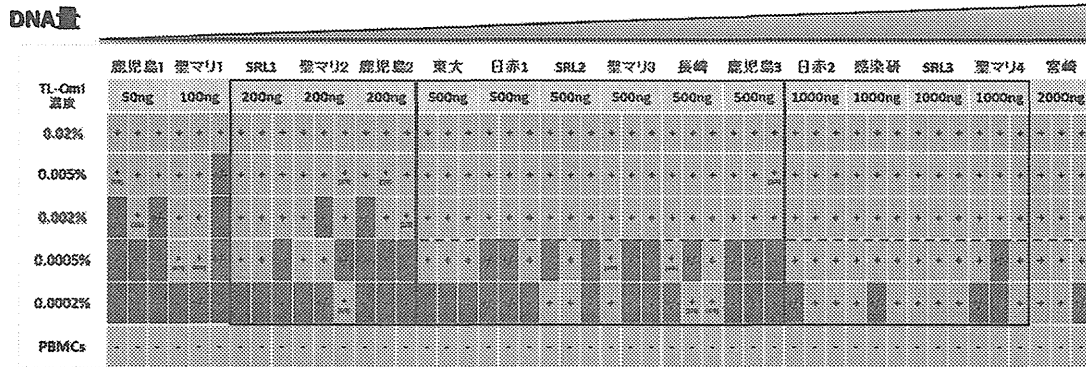
1. 論文発表

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, Uchimaru 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, Brighty 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. Iwanaga M, Watanabe T, Yamaguchi K. Adult T-cell leukemia: a review of epidemiological evidence. *Front Microbiol*. 2012. Sep 10;3:322.
6. Yamagishi M, Nakano K, Miyake A, Yamochi T, Kagami Y, Tsutsumi A, Matsuda Y, Sato-Otsubo A, Muto S, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Uchimaru K, Ogawa S, Watanabe T. Polycomb-mediated loss of miR-31 activates NIK-dependent NF- κ B pathway in adult T cell leukemia and other cancers. *Cancer Cell*. 2012. Jan 17;21(1):121-35.
7. 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.
8. 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
9. Nakahata S, Saito Y, Marutsuka K, Hidaka T, Maeda K, Hatakeyama K, Shiraga T, Goto A, Takamatsu N, Asada Y, Utsunomiya A, Okayama A, Kubuki Y, Shimoda K, Ukai Y, Kurosawa G, Morishita K. Clinical significance of CADM1/TSLC1/IgSF4 expression in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Leukemia*. 2012. Jun;26(6):1238-46.
10. Matsumoto C, Igarashi M, Furuta RA, Uchida S, Satake M, Tadokoro K. Xenotropic murine leukemia virus-related virus proviral DNA not detected in blood samples donated in Japan. *Jpn J Infect Dis*. 2012. Jul;65(4):334-6.
11. Kozako T, Akimoto M, Toji S, White Y, Suzuki S, Arima T, Suruga Y, Matsushita K, Shimeno H, Soeda S, Kubota R, Izumo S, Uozumi K, Arima N. Target epitopes of HTLV-1 recognized by class I MHC-restricted cytotoxic T lymphocytes in patients with myelopathy and spastic paraparesis and infected patients with autoimmune disorders. *J Med Virol*. 2011. Mar;83(3):501-9.
12. Mochizuki M, Sugita S, Kamoi K. Immunological homeostasis of the eye. *Prog Retin Eye Res*. 2013. Mar;33:10-27.
13. Kamoi K, Mochizuki M. HTLV infection and the eye. *Curr Opin Ophthalmol*. 2012. Nov;23(6):557-61.
14. Kamoi K, Mochizuki M. HTLV-1 uveitis. *Front Microbiol*. 2012. Jul 24;3:270.
15. 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
16. 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.
17. Kobayashi S, Tian Y, Ohno N, Yuji K, Ishigaki T, Isobe M, Tsuda M, Oyaizu N, Watanabe E, Watanabe N, Tani K, Tojo A, Uchimaru 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.
18. 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.
19. 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.
20. 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+ T lymphocytes in a minor population of asymptomatic human T-cell leukemia virus type 1-carriers. *Retrovirology*. 2011. Dec 7;8:100.
21. Ogata M, Satou T, Kawano R, Yoshikawa T, Ikewaki J, Kohno K, Ando T, Miyazaki Y, Ohtsuka E, Saburi Y, Kikuchi H, Saikawa T, Kadota J. High incidence of cytomegalovirus, human herpesvirus-6, and Epstein-Barr virus reactivation in patients receiving cytotoxic chemotherapy for adult T cell leukemia. *J Med Virol*. 2011. Apr;83(4):702-9.
22. Kamihira S, Iwanaga M, Doi Y, Sasaki D, Mori S, Tsuruda 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*. 2012. Apr;95(4):399-408.
23. Ishihara K, Sasaki D, Tsuruda K, Inokuchi N, Nagai K, Hasegawa H, Yanagihara K, Kamihira S. Impact of miR-155 and miR-126 as novel biomarkers on the assessment of disease progression and prognosis in adult T-cell leukemia. *Cancer Epidemiol*. 2012. Dec;36(6):560-5.
24. Sasaki D, Imaizumi Y, Hasegawa H, Osaka A, Tsukasaki K, Choi YL, Mano H, Marquez VE, Hayashi T, Yanagihara K, Moriwaki Y, Miyazaki Y, Kamihira S, Yamada Y. Overexpression of Enhancer of zeste homolog 2 with trimethylation of lysine 27 on histone H3 in adult T-cell leukemia/lymphoma as a target for epigenetic therapy. *Haematologica*. 2011. May;96(5):712-9.
25. 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.
26. Kinpara S, Kijiyama M, Takamori A, Hasegawa A, Sasada A, Masuda T, Tanaka Y, Utsunomiya A, Kannagi M. Interferon- α (IFN- α) suppresses HTLV-1 gene expression and cell cycling, while IFN- α combined with zidovudine induces p53 signaling and apoptosis in HTLV-1-infected cells. *Retrovirology*. 2013. May 20;10:52.
27. Nishikawa H, Maeda Y, Ishida T, Gnjatic S, Sato E, Mori F, Sugiyama D, Ito A, Fukumori Y, Utsunomiya A, Inagaki H, Old LJ, Ueda R, Sakaguchi S. Cancer/testis antigens are novel targets of immunotherapy for adult T-cell leukemia/lymphoma. *Blood*. 2012. Mar 29;119(13):3097-104.
28. Sugata K, Satou Y, Yasunaga J, Hara H, Ohshima K, Utsunomiya A, Mitsuyama M, Matsuoka M. HTLV-1 bZIP factor impairs cell-mediated immunity by suppressing production of Th1 cytokines. *Blood*. 2012. Jan 12;119(2):434-44.
29. Kamihira S, Iwanaga M, Doi Y, Sasaki D, Mori S, Tsuruda 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*. 2012. Apr;95(4):399-408.
30. 岩永正子. ATL の疫学研究の現状と課題. 特集「ATLの基礎と臨床」. *細胞* (ニューサイエンス社), 2012. 44:8-11
31. 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.
32. 齋藤 滋: HTLV-I 母子感染対策. *産婦人科の実際*. 2013. 62:543-7.
33. 齋藤 滋: HTLV-I 感染症. *周産期医学*. 2011. 41:1099-103.
- 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

TL-Om1 (CFSE染色)をPBMCsで希釈し、低濃度の検体をそれぞれ作製した。
各施設の方法に従い、DNAを抽出し、PVLを測定した。
結果はDNA量の少→大の順に示す。

全Well陽性
1Well陽性
陰性



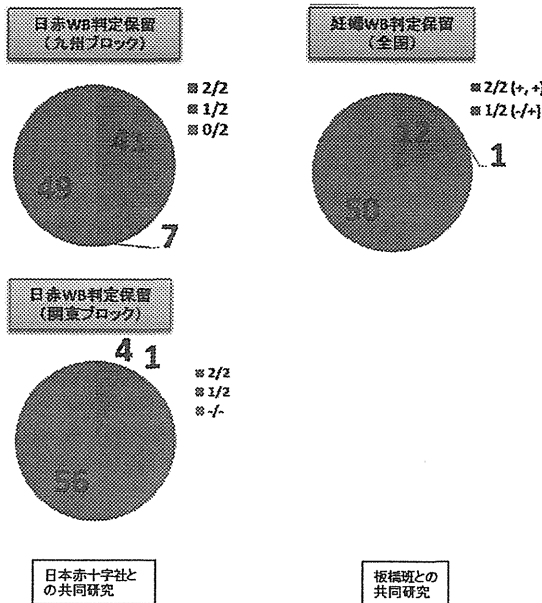
宮崎大学はNested-PCRも検討し、PBMCs以外は陽性となった。

図2. HTLV-1核酸検査の多施設共同測定：検出感度の検討

核酸検査の有効性の検討

抗体検査のWB判定保留の核酸検査結果

核酸陽性の割合



核酸陽性のプロウイルス量

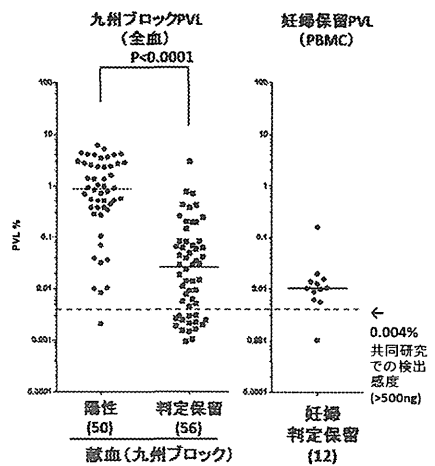


図3. WB判定保留検体の核酸陽性率

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)・望月学(東京医科歯科大)・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)・山口一成(国立感染症研)
研究協力者：上平憲(長崎市民病院)

研究要旨： HTLV-1 関連疾患の全国疫学コホートである JSPFAD において、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維持・継続した。追跡期間中に、キャリアから ATL 26 例, HAM3 例へ進展した。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可能性が示唆された。バイオマテリアルは、浜口班の HTLV-1 検査法標準化確立を含む計 12 件の HTLV-1 研究に対し供給され、マテリアルバンクとして有効に活用された。

A. 研究目的

本研究分担者グループは、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、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(ATL, HAM, HU)の発症リスクを疫学的に解明すること、2)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することによって HTLV-1キャリアの発症リスクの解明に貢献することを目的としている。

B. 研究方法

・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う。具体的には、同意が得られた研究対象者からの検体と情報を、全国の研究協力実施医療機関の担当者が東大医科研に送付後、検体は東大医科研の検体データベースに登録し、生物学的処理を行いバイオマテリアル(細胞, DNA, 血漿)として保管する。その一部を用いてウイルス学的解析(プロウイルス量の測定とモノクロナリティー検査)などを行い、残余バイオマテリアルは日赤九州ブロック血液センターへ送付して長期保存する。臨床・疫学情報は慈恵会医大へ送付して疫学データベースに入力し管理維持する。

・HTLV-1キャリアのATL・HAM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する。

・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、JSPFADデータベースから研究目的にあった対象者の検体を選別し、細胞・血清・DNAなどのマテリアルを

供給する。

(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。

C. 研究結果

・JSPFADデータベースの維持・継続

研究協力実施医療機関は、平成23年度15都道府県43施設、平成24年度17都道府県47施設、平成25年度18都道府県50施設と増加し、個別登録者数は、平成23年度2,363人、平成24年度2,691人、平成25年度(12月現在まで)2,909人と増加し、累積検体数は、平成23年度6,199検体、平成24年度7,309検体、平成25年度(12月現在まで)8,338検体と増加した(図1)。

平成25年度(12月現在)までの登録者2,909人の疾患別内訳は、HTLV-1キャリア2,196人(76%)、ATL523人(18%)、HAM53人(2%)、HU107人(4%)、診断不明30人(1%)であった(図2)。男女比は、キャリア0.49、ATL1.02、HAM0.27、HU0.61と、ATLを除いて女性の登録者が多かった。

・HTLV-1キャリアからのATL進展リスク(図2)

HTLV-1キャリアとして登録され、追跡期間中にATLに進展した症例は、平成22年度までに18例であったが、平成23年度から平成25年度の期間に新たに計8例が進展し計26例(男性10例、女性16例)となった。進展者26例中、登録時プロウイルス量が4%以下の症例は2例のみで、のこり24例は4%以上であった。

進展者26例中、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)に進展した。Indolent type進展者19例中、16例がくすぶり型で3例が慢性型であった。くすぶり型に進展した16例中1例が経過観察中慢性型に病型移行した。Aggressive type進展者7例中2例は急性型に移行、2例はリンパ腫型に移行していた。残り3例は、まずindolent type(くすぶり型・慢性型)に進展し

たのち、急性型に移行していた。

・HTLV-1キャリアとHUからのHAM進展リスク

HTLV-1キャリアとして登録され、追跡期間中にATLに進展した症例はこれまでの累積で3例(男性1名,女性2名)であった。進展した3例とも登録時PVLは4%以下であった。また、HUとして登録され、追跡観察中にHAMに進展(合併)した症例もこれまでの累積で3例(すべて女性)であり、いずれも登録時PVLは4%以下であった。

・HAMからのATL進展リスク

50例のHAM患者から、平成25年度までにATL進展した症例はいなかった。ただし、ATLで登録された症例の中にHAM既往者が2例存在した。

・ATLの病型移行

ATL登録者523例中、250例は登録時indolent type (くすぶり型・慢性型)であったが、平成25年度までに52人が経過観察中にaggressive type (急性型・リンパ腫型)に進展した。進展率は20.8%であった。

・バイオマテリアルバンクの活用状況

平成25年度までに12件の研究に対しマテリアルの提供を行った。これらの研究成果について6件の学会報告と3件の論文報告があった。

D. 考察

約2000人のHTLV-1キャリア母集団から、平成23年～25年の3年間に新たに9人がATLに進展し、年間粗発症率はHTLV-1キャリア1000人あたり1.5人と概算され、これまで多くの日本の先行研究で概算されていた年間粗発症率と同程度であった。

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、プロ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可能性が示唆された。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、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、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、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可能性が示唆された。HAM進展者全員の登録時プロウイルス量は4%以下であり、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) Watanabe T. Current status of HTLV-1 infection. *Int J Hematol* 94:430-4,2011.
- 2) Tian Y, (他8名), Uchimaru K. Leukemic T cells are specifically enriched in a unique CD3(dim) CD7 (low) subpopulation of CD4(+) T cells in acute-type adult T-cell leukemia. *Cancer Sci* 102:569-77,2011.
- 3) Ueno S, (他6名), Okayama A. Proviral loads of human T-lymphotropic virus type 1 in asymptomatic carriers with different infection routes. *Int J Cancer* 130:2318-26,2012.
- 4) Umino A, Nakagawa M, Utsunomiya A, et al. Clonal evolution of adult T-cell leukemia/lymphoma takes place in the lymph nodes. *Blood* 117:5473-8,2011.
- 5) Kozako T, (他11名), Uozumi K, Arima N. Target epitopes of HTLV-1 recognized by class I MHC-restricted cytotoxic T lymphocytes in patients with myelopathy and spastic paraparesis and infected patients with autoimmune disorders. *J Med Virol* 8:501-9,2011.
- 6) Ogata M, et al. High incidence of cytomegalovirus, human herpesvirus-6, and Epstein-Barr virus reactivation in patients receiving cytotoxic chemotherapy for adult T cell leukemia. *J Med Virol* 83:702-9,2011.
- 7) Sasaki D, (他11名), Kamihira S, Yamada Y. Overexpression of Enhancer of zeste homolog 2 with trimethylation of lysine 27 on histone H3 in adult T-cell leukemia/lymphoma as a target for epigenetic therapy. *Haematologica* 96:712-9,2011.
- 8) Koh H, (他11名), Koh KR, et al. Factors that contribute to long-term survival in patients with leukemia not in remission at allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Exp Clin Cancer Res* 30:36,2011.
- 9) Kannagi M, Hasegawa A, Kinpara S, Shimizu Y, Takamori A, Utsunomiya A. Double control systems for human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) by innate and acquired immunity. *Cancer Sci* 102(4):670-676,2011.
- 10) Oka T, Satou H, Ouchida M, Utsunomiya A, Yoshino T. Cumulative epigenetic abnormalities in host genes with viral and microbial infection during initiation and progression of malignant lymphoma/leukemia. *Cancers (Basel)* 3: 568-581,2011
- 11) Umino A, Nakagawa M, Utsunomiya A, Tsukasaki K, Taira N, Katayama N, Seto M: Clonal evolution of adult T-cell leukemia/lymphoma takes place in lymph node. *Blood*, 117(20):5473-5478,2011
- 12) 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(9):1532-48, 2011.
- 13) 渡邊俊樹. HTLV-1特命チームとHTLV-1/ATL研究. *臨床血液* 52: 1439-1447,2011.
- 14) 高崎由美,岩永正子,塚崎邦弘. 話題:くすぶり型・慢性型成人T細胞白血病リンパ腫に対する無治療経過観察は適切な選択か? *血液内科* (科学評論社) 63: 40-45,2011.

- 15) 上平憲. HTLV-1感染の特性と成人T細胞白血病-ウイルス母子感染対策. 宝函32:13-23,2011.
- 16) Uota S, Zahidunnabi Dewan M, Saitoh Y, Muto S, Itai A, Utsunomiya A, Watanabe T, Yamamoto N, Yamaoka S. An IκB kinase 2 inhibitor IMD-0354 suppresses the survival of adult T-cell leukemia cells. *Cancer Sci*. 103(1):100-6,2012.
- 17) Kamihira S, Iwanaga M, Doi Y, Sasaki D, Mori S, Tsuruda 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.
- 18) Yamagishi M, (他8名), Utsunomiya A, Yamaguchi K, Uchimaru K, Ogawa S, Watanabe T. Polyclonal-mediated Loss of miR-31 Activates NIK-Dependent NF-κB Pathway in Adult T Cell Leukemia and Other Cancers. *Cancer Cell* 21:121-135,2012.
- 19) Uota S, Dewan MZ, Saitoh Y, Muto S, Itai A, Utsunomiya A, Watanabe T, Yamamoto N, Yamaoka S. An IκB kinase 2 inhibitor IMD-0354 suppresses the survival of adult T-cell leukemia cells. *Cancer Sci* 103(1): 100-106, Jan. 2012
- 20) Sugata K, Satou Y, Yasunaga J, Hara, Suzutani T, Ohshima K, Utsunomiya A, Mitsuyama M, Matsuo M: HTLV-1 bZIP factor impairs cell-mediated immunity by suppressing production of Th1 cytokines. *Blood* 119(2): 434-444, 2012
- 21) Kanda J, Hishizawa M, Utsunomiya A, Taniguchi S, Eto T, Moriuchi Y, Tanosaki R, Kawano F, Miyazaki Y, Masuda M, Nagafuji K, Hara M, Tanashi M, Kai S, Atsuta Y, Suzuki R, Kawase T, Matsuo K, Nagamura-Inoue T, Kato S, Sakamaki H, Morishima Y, Okamura J, Ichinohe T, Uchiyama T: Impact of graft-versus-host disease on outcomes after allogeneic hematopoietic cell transplantation for adult T-cell leukemia: a retrospective cohort study. *Blood* 119(9):2141-2148, 2012
- 22) Nakahata S, Saito Y, Marutsuka K, Hidaka T, Maeda K, Hatakeyama K, Shiraga T, Goto A, Takamatsu N, Asada Y, Utsunomiya A, Okayama A, Kubuki Y, Shimoda K, Ukai Y, Kuosawa G, Morishita K: Clinical significance of CADM1/TSLC1/IgSF4 expression in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Leukemia* 26: 1238-1246, 2012
- 23) Ishida T, Joh T, Uike N, Yamamoto K, Utsunomiya A, Yoshida S, Saburi Y, Miyamoto T, Takemoto S, Suzushima H, Tsukasaki K, Nosaka K, Fujiwara H, Ishitsuka K, Inagaki H, Ogura M, Akinaga S, Tomonaga M, Tobinai K, Ueda R: Defucosylated anti-CCR4 monoclonal antibody (KW-0761) for relapsed adult T-cell leukemia-lymphoma: a multicenter Phase II study. *J Clin Oncol* 30(8):837-842, 2012
- 24) Nishikawa H, Maeda Y, Ishida T, Gnjatic S, Sato E, Mori F, Sugiyama D, Ito A, Fukumori Y, Utsunomiya A, Inagaki H, Old LJ, Ueda R, Sakaguchi S: Cancer/testis antigens are novel targets of immunotherapy for adult T cell leukemia/lymphoma. *Blood* 119(13):3097-3104, 2012
- 25) Katsuya H, Yamanaka T, Ishitsuka K, Utsunomiya A, Sasaki H, Hanada S, Eto T, Moriuchi Y, Saburi Y, Miyahara M, Sueoka E, Uike N, Yoshida S, Yamashita K, Tsukasaki K, Suzushima H, Ohno Y, Matsuoka H, Jo T, Suzumiya J, Tamura K: Prognostic index for acute- and lymphoma-type adult T-cell leukemia/lymphoma. *J Clin Oncol* 30(14): 1635-1640, 2012 May.
- 26) Fukuda RI, Tsuchiya K, Suzuki K, Itoh K, Fujita J, Utsunomiya A, Tsuji T: HTLV-I Tax regulates the cellular proliferation through the down-regulation of PIP3-phosphatase expressions via the NF-κB pathway. *Int J Biochem Mol Biol* 3(1): 95-104, 2012
- 27) Ishida T, Hishizawa M, Kato K, Tanosaki R, Fukuda T, Taniguchi S, Eto T, Takatsuka Y, Miyazaki Y, Moriuchi Y, Hidaka M, Akashi K, Uike N, Sakamaki H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Nishiyama T, Utsunomiya A: Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for adult T-cell leukemia-lymphoma with special emphasis on preconditioning regimen: a nationwide retrospective study. *Blood* 120(8):1734-1741, 2012
- 28) Satou Y, Utsunomiya A, Tanabe J, Nakagawa M, Nosaka K, Matsuoka M. HTLV-1 modulates the frequency and phenotype of FoxP3⁺CD4⁺ T cells in the HTLV-1 infected individuals. *Retrovirology* 9(1): 46, 2012
- 29) Higashi Y, Kawai K, Yonekura K, Takeda K, Kanazaki T, Utsunomiya A, Kanekura K: Indication for random skin biopsy for the diagnosis of intravascular large B cell lymphoma. *Dermatology*. 224: 46-50, 2012.
- 30) Haraguchi K, Uto H, Ohno N, Tokunaga M, Tokunaga M, Utsunomiya A, Hanada S, Tsubouchi H: Serum prohepcidin levels are potential prognostic markers in patients with multiple myeloma. *Exp Ther Med* 4(4): 581-588, 2012.
- 31) Yamagishi M, Watanabe T. Molecular hallmarks of adult T cell leukemia. *Front Microbiol*. 17;3:334 2012.
- 32) Iwanaga M, Watanabe T, Yamaguchi K. Adult T-cell leukemia: a review of epidemiological evidence. *Front Microbiol*. 3:322,2012.
- 33) Kannagi M, Hasegawa A, Takamori A, Kinpara S, Utsunomiya A. The roles of acquired and innate immunity in human T-cell leukemia virus type 1-mediated diseases. *Front Microbiol*. 3:323,2012.
- 34) Kamoi K, Mochizuki M. HTLV-1 uveitis. *Front Microbiol*. 3:270,2012.
- 35) Ishihara K, Sasaki D, Tsuruda K, Inokuchi N, Nagai K, Hasegawa H, Yanagihara K, Kamihira S. Impact of miR-155 and miR-126 as novel biomarkers on the assessment of disease progression and prognosis in adult T-cell leukemia. *Cancer Epidemiol*. 36:560-5,2012.
- 36) Ichikawa T, Taura N, Miyaaki H, Matsuzaki T, Ohtani M, Eguchi S, Takatsuki M, Soyama A, Hidaka M, Okudaira S, Usui T, Mori S, Kamihira S, Kanematsu T, Nakao K. Human T-cell leukemia virus type 1 infection worsens prognosis of hepatitis C virus-related living donor liver transplantation. *Transpl Int*. 25:433-8,2012.
- 37) Otani M, Honda N, Xia PC, Eguchi K, Ichikawa T, Watanabe T, Yamaguchi K, Nakao K, Yamamoto

- to T. Distribution of Two Subgroups of Human T-Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1) in Endemic Japan. *Trop Med Health*. 40:55-8,2012.
- 38) Ueno S, Umeki K, Takajo I, Nagatomo Y, Kusumoto N, Umekita K, Morishita K, Okayama A. Proviral loads of human T-lymphotropic virus Type 1 in asymptomatic carriers with different infection routes. *Int J Cancer*. 130:2318-26,2012.
- 39) Kamoi K, Mochizuki M. HTLV infection and the eye. *Curr Opin Ophthalmol*. 23:557-61,2012.
- 40) Kobayashi S, Tian Y, Ohno N, Yuji K, Ishigaki T, Isobe M, Ohfuchi-Tsuda M, Oyaizu N, Watanabe E, Watanabe N, Tani K, Tojo A, Uchimaru K. The CD3 versus CD7 plot in multicolor flow cytometry reflects progression of disease stage in patients infected with HTLV-I. *PLoS One*. 8:e53728,2013.
- 41) 渡邊俊樹. 総論 ATL研究の進展. 特集「ATLの基礎と臨床」, 細胞 (ニューサイエンス社), 44:324-327,2012.
- 42) 渡邊俊樹. 【成人T細胞白血病(ATL)】日本におけるHTLV-I/ATL研究, 対策の歴史, 現状. 血液フロンティア 22:173-180,2012
- 43) 岩永正子. ATLの疫学研究の現状と課題. 特集「ATLの基礎と臨床」, 細胞 (ニューサイエンス社), 44:8-11, 2012.
- 44) 山口一成. 造血器腫瘍の疫学: 成人T細胞白血病・リンパ腫/HTLV-1感染の疫学. HTLV-1感染症の根絶に向けて. 【造血器腫瘍学-基礎と臨床の最新研究動向】日本臨床 (日本臨床社) 70:32-36,2012.
- 45) 岡山昭彦. HTLV-1感染. 【ストップザ性感染症】性感染症 診断・治療, 臨床と研究 (大道学館), 89:907-910,2012.
- 46) Asanuma S, Yamagishi M, Kawanami K, Nakanishi 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.
- 47) Mahieux R, Watanabe T. Forefront studies on HTLV-1 oncogenesis. *Front Microbiol*. 4:156,2013.
- 48) White Y, Yoshimitsu M, Kozako T, Matsushita K, Koriyama C, Uozumi K, Suzuki S, Kofune H, Arima 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.
- 49) 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.
- 50) 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 leukemia-lymphoma. *Br J Haematol*. 163:683-5,2013.
- 51) 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.
- 52) 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.
- 53) 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 replication. *Microbes Infect*. 15:491-505,2013.
- 54) 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.
- 55) 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)*. [In-press].
- 56) 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 marker s: a case series. *Mod Rheumatol*. [In-press].
- 57) 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*. [In-press].
- 58) Ikebe E, Kawaguchi A, Tezuka K, Taguchi S, Hirose S, Matsumoto T, Mitsui T, Senba K, Nishizono 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*. 16:e132,2013
- 59) Nakano N, Kusumoto S, Tanaka Y, Ishida T, Tatsuguchi 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 [In-press].
- 60) Kinpara S, Kijiyama M, Takamori A, Hasegawa A, Sasada A, Masuda T, Tanaka Y, Utsunomiya A, Kannagi M: Interferon- α (IFN- α) suppresses human T-lymphotropic virus type-1 (HTLV-1) gene expression and cell cycling, while IFN- α combined with zidovudine induces p53 signaling and apoptosis

- s in HTLV-1- infected cells. *Retrovirol* 10:52 2013
- 61) 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.
 - 62) 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 regimen: nationwide retrospective study. *Biol Blood Marrow Transplant* 19(12): 1731-1739, 2013.
 - 63) Chihara D, Ito H, Matsuda T, Katanoda K, Shibata A, Taniguchi S, Utsunomiya A, Sobue T, Matsuoka 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* 2013 Nov 15; 3: e159
 - 64) 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, 2013
 - 65) 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, Nii mi 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*. [in press] 2013 Dec 20.
 - 66) Tsukasaki K, Imaizumi Y, Tokura Y, Ohshima K, Kawai K, Utsunomiya A, Amano M, Watanabe T, Nakamura S, Iwatsuki K, Kamihira S, Yamaguchi K, Shimoyama M. Meeting report on the possible proposal of an extra-nodal primary cutaneous variant in the lymphoma type of adult T-cell leukemia-lymphoma. *J Dermatol* [in press]
 - 67) 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.
 - 68) 渡邊俊樹, 特集: リンパ系腫瘍- 最新の病態解析と治療- 「成人T細胞白血病/リンパ腫の分子病態解析と治療の進歩」、最新医学、68(10): 40-47、2013年10月
2. 学会発表
- 1) Uchimaru K, Yamano Y, Tsukasaki K, Uike N, Utsunomiya A, Iwanaga M, Hamada T, Iwatsuki K, Watanabe T. Nation-wide survey of the management of adult T-cell leukemia and HTLV-1 carrier. 第73回日本血液学会総会, 名古屋, 2011年10月.
 - 2) 相良康子, 他. 複数回献血者における抗HTLV-1抗体陽性化に関する解析-水平感染の可能性. 第4回HTLV-1研究会, 東大弥生講堂, 2011年9月.
 - 3) 窪田歩, 徳永雅仁, 竹内昇吾, 高塚祥彦, 宇都宮與, 自然寛解にてHTLV-1キャリアになった慢性型ATL症例. 第51回日本リンパ網内系学会総会, 福岡, 2011年7月.
 - 4) Takemoto T, Pornkuna R, Inoue Y, Sakai T, Harada N, Nagakura S, Hidaka M, Kiyokawa T, Uzawa K, Morita K, Haga Y, Iwanaga M, Sagara Y, Watanabe T, Kawano F. Intervention in Adult T-Cell Leukemia Following Soluble CD30 Elevation. 第74回日本血液学会学術集会, 国立京都国際会館, 2012年10月.
 - 5) Iwanaga M, Watanabe T, Yamaguchi K. HTLV-1 and ATL: the epidemiological evidence. International Symposium "Progress in HTLV-1/ATL research", 第5回HTLV研究会・第1回ATLシンポジウム, 東大医科研, 2012年8月.
 - 6) 武本重毅, Ratiorn Pornkuna, 西村直, 井上佳子, (他9名), 岩永正子, 相良康子, 渡邊俊樹, 河野文夫. HTLV-1キャリアから成人T細胞白血病(ATL)発症・急性転化・治療前後におよぶ全経過における可溶性タンパク(sCD30とsIL-2R)の変化とその役割. 第5回HTLV研究会・第1回ATLシンポジウム, 東大医科研, 2012年8月.
 - 7) 小林誠一郎, 中野和民, 渡辺恵理, 石垣知寛, 大野伸広, 渡辺信和, 東條有伸, 内丸薫: 患者検体を用いたCD7とTSLC1/CADM1のFACS解析はATLの多段階発癌を反映する. 第1回ATLシンポジウム, 東大医科研, 2012年8月.
 - 8) 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キャリアにおける産生抗体の性状解析: プロウイルスロードとの関連について. 第36回日本血液事業学会総会, 仙台国際センター, 2012年10月.
 - 9) Yamagishi M, Fujikawa D, Kurokawa N, Soejima A, Takahashi R, Sakai N, Nakagawa S, Nakano K, Kobayashi S, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Uchimaru K, Ogawa S, Watanabe T. Molecular hallmarks of adult T cell leukemia: miRNA, pigenetics, and emerging signaling abnormalities. 16th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, Montreal, Canada, June 29, 2013.
 - 10) Takemoto S, Uzawa K, Morita K, Pornkuna 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, Montreal, Canada, June 29, 2013.
 - 11) Nakano K, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Uchimaru K, Watanabe T. Disorders of the cMyb proto-oncogene expression and its significance in the course of ATL development. 16th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, Montreal, Canada, June 29, 2013.
 - 12) 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