

HTLV-1 プロウイルス量の推移に関する検討第 6 回 HTLV-1 研究会・シンポジウム（東京大学医科学研究所講堂、東京）2013. 8. 23-25

**H. 知的財産権の出願・登録状況**

平成 25 年は無し

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）

平成 25 年度分担研究報告書

25年間継続した妊婦のHTLV-1抗体検査から得られた母子感染予防効果の検証および高精度スクリーニングシステム開発

研究項目 4：母乳以外の HTLV-1 母子感染経路の解明に関する研究

研究分担者

増崎英明（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・教授）

吉浦孝一郎（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・教授）

柳原克紀（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・教授）

三浦清徳（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・准教授）

三浦生子（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・客員研究員）

研究協力者

上平 憲（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・名誉教授）

築山尚史（長崎大学病院産婦人科・助教）

研究要旨

HTLV-1 キャリア妊婦が人工栄養を選択しても、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、或いは母体の HTLV-1 ウイルス量が母子感染の成立に影響している可能性を示唆している。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、出産時の産道感染そして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。

そこで、本分担研究では、母体血中および臍帯血液中の HTLV-1 抗体およびプロウイルス量を総合的に検討することで、母乳以外の母子感染経路として胎内感染の存在について知見を得る。

## A. 研究目的

HTLV-1 キャリア妊婦が人工栄養を選択しても、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、或いは母体の HTLV-1 ウイルス量が母子感染の成立に影響している可能性を示唆している。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、出産時の産道感染そして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。

そこで、本分担研究では、母体血中および臍帯血液中の HTLV-1 抗体およびプロウイルス量を総合的に検討することで、母乳以外の母子感染経路として胎内感染の存在について知見を得る。

## B. 研究方法

HTLV-1 の母子感染経路は、母乳を介した母子感染がその多くを占めるが、その他の感染経路として胎盤・臍帯を介した子宮内感染の可能性が考えられる。しかし、臍帯血中の HTLV-1 抗体やプロウイルス量に関する知見はほとんどない。臍帯血中の HTLV-1 抗体や HTLV-1 プロウイルス量を測定し、母乳以外の母子感染の可能性を検討した。

分娩後 24 時間以内に母体末梢血、臍帯血および胎盤を採取し、定量的リアルタイム PCR 法で HTLV-1 プロウイルス量を、また母体血、臍帯血の CLEIA 法・PA 法による HTLV-1 抗体検査を行い、妊娠経過に伴うプロウイルス量との変化を検討した。

母体血中における HTLV-1 プロウイルス量は研究 3 の結果を用いた。

HTLV-1 プロウイルス量は

$$\text{HTLV-1 proviral load} = [(\text{HTLV-1 pX copy number}) / (\beta\text{-globin copy number}/2)] \times 10,000$$
 で算出した。

本研究における試料収集は、長崎大学倫理委員会の承認を得て開始し、インフォームド・コンセントを書面で取得して研究を行った（承認番号：12052814, 12072358-2）。

検討項目

- 1) スクリーニング陽性例の母体血と臍帯血における HTLV-1 抗体の関連について
- 2) スクリーニング陽性例の母体血と臍帯血における HTLV-1 プロウイルスの関連について
- 3) 胎盤における HTLV-1 プロウイルスの検出
- 4) HTLV-1 キャリア妊婦より出生した児の HTLV-1 感染成立の有無の検討

## C. 研究結果

1) HTLV-1 スクリーニング陽性例の母体血と臍帯血における HTLV-1 抗体価の関連：

スクリーニング陽性例の母体血および臍帯血の CLEIA 法の結果を比較した。検討した 124 例全例において母体血、臍帯血ともに CLEIA 法により抗体が検出され、cut off index (C. O. I) は正の相関関係を認めた ( $p < 0.001$ ,  $r = 0.972$ ) (図 13, 14)。

臍帯血には、母体血と同レベルの HTLV-1 抗体が検出され、母体から胎児への移行抗体が存在することが明らかになった。

## 2) 臍帯血中のプロウイルス量の検討：

スクリーニング陽性例において、定量的PCR(100ngDNA)を用いて臍帯血のHTLV-1プロウイルス量を測定した。臍帯血中に124例中6例(6/124; 4.8%)でHTLV-1プロウイルスが検出された(図15, 16)。臍帯血からHTLV-1プロウイルスが検出される例が確かに存在し、母乳による感染経路以外に、臍帯血を介した胎内感染の可能性が示唆された。

## 3) 胎盤におけるHTLV-1プロウイルスの検出

スクリーニング陽性例において、定量的リアルタイムPCR法(100ngDNA使用)で分娩後母体血および胎盤のHTLV-1プロウイルス量を測定した。93例中52例で胎盤からプロウイルスが検出された(図17)。臍帯血よりプロウイルスが検出された6例のうち2例で胎盤組織からプロウイルスが検出された。少なくとも胎盤はHTLV-1母子感染のバリアとして働いており、胎盤組織へ感染することと臍帯血へ感染細胞が存在することは必ずしも一致しないことが明らかになった。

## 4) HTLV-1キャリア妊婦より出生した児のHTLV-1感染成立の有無の検討：

2011年にHTLV-1キャリア妊婦より出生した児が2014年に3歳になり、長崎県のHTLV-1母子感染防止対策プロとコールに従い、HTLV-1抗体検査による母子感染成立の有無の判定をうける。アンケート調査を行い、母子感染成立の有無について検討する予定である。

## D. 考察

HTLV-1キャリア妊婦124例のうち、全て

の臍帯血中にHTLV-1抗体を確認されたが、HTLV-1抗体とともにプロウイルスも検出されたものは6例(4.8%, 6/124例)のみであった。したがって、胎内感染の可能性が示唆された。

## E. 結論

1) HTLV-1キャリア妊婦124例のうち6例の臍帯血液中にプロウイルスの存在を確認し、胎内感染の可能性が考えられた。また、臍帯血液中におけるHTLV-1プロウイルスの有無と妊婦のHTLV-1プロウイルス量との関連は認められなかった。これは、妊娠合併症などの妊娠背景が胎内感染に影響を及ぼしている可能性が考えられ、今後の調査が必要である。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. 増崎英明：HTLV-1 母子感染 感染症症候群 別冊日本臨床 2013; 25: 708-711.
2. 増崎英明：HTLV-1 母子感染対策事業における保健師の役割 長崎県における取り組みを中心に 保健師ジャーナル 2013; 69: 795-800.
3. 三浦清徳、築山尚史、増崎英明：HTLV-1 臨床婦人科産科 2013; 67: 152-162.
4. Moriuchi H, Masuzaki H, Doi H,

Katamine S. Mother-to-child transmission of human T-cell lymphotropic virus type 1. *Pediatr Infect Dis J* 2013;32:175-177.

5. 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 2013; 22:45-54.
6. 築山尚史、三浦清徳、増崎英明：長崎県において 26 年間継続した HTLV-1 スクリーニング検査から得られた母子感染防止効果の検証とスクリーニングシステムの開発 九州連合産婦人科学会誌 2013; 64:66-69.
7. Ishihara K, Inokuchi N, Tsushima Y, Tsuruda K, Morinaga Y, Hasegawa H, Yanagihara K, Kamihira S. Relevance of molecular tests for HTLV-1 infection as confirmatory tests after the first sero-screening. *J Immunoassay Immunochem.* 2014;35:74-82.

#### <新聞報道等>

1. 増崎英明、三浦清徳：「～長崎県の妊婦 HTLV-1 スクリーニング検査～25 年間継続で母子感染予防と ATL 撲滅に有効」*Medical Tribune* 2014 年 3 月 13 日

## 2. 学会発表

### <国際学会>

1. Naoki Fuchi, Kiyonori Miura, Takashi Tsukiyama, Daisuke Sasaki, Naoko Inokuchi, Katsunori Yanagihara, Shimeru Kamihira, Hiroyuki Moriuchi, Koichiro Yoshiura, Hideaki Masuzaki. Proviral loads of human T-cell leukemia virus type 1 in the peripheral blood samples from carrier pregnant women. 63th Annual meeting of American Society of Human Genetics. (Boston, USA, 2013, Oct 22-26)

### <国内学会>

1. 築山尚史、三浦清徳、佐々木大介、猪口直子、土井裕子、長谷川寛雄、柳原克紀、上平憲、森内浩幸、吉浦孝一郎、増崎英明：妊婦 HTLV-1 スクリーニングシステムにおけるリアルタイム PCR 検査の有用性に関する検討 第 65 回日本産婦人科学会学術講演会(ロイトン札幌、札幌)2013. 5. 10-12
2. 築山尚史、三浦清徳、増崎英明：長崎県において 26 年間継続した HTLV-1 スクリーニング検査から得られた母子感染防止効果の検証とスクリーニングシステムの開発 第 70 回九州連合産科婦人科学会(熊本市国際交流会館・ホテル日航熊本, 熊本)2013. 6. 8-9
3. 三浦清徳、築山尚史、猪口直子、佐々木大介、上平 憲、柳原克紀、森内浩

幸、吉浦孝一郎、増崎英明:HTLV-1 キヤリア妊婦から出生した児における臍帯血中の HTLV-1 抗体価およびプロウイルス量に関する検討 第 6 回 HTLV-1 研究会・シンポジウム (東京大学医科学研究所講堂、東京) 2013. 8. 23-25

4. 淵直樹、築山尚史、吉田敦、三浦清徳、増崎英明:妊娠と分娩後における

HTLV-1 プロウイルス量の推移に関する検討第 6 回 HTLV-1 研究会・シンポジウム (東京大学医科学研究所講堂、東京) 2013. 8. 23-25

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

平成 25 年は無し

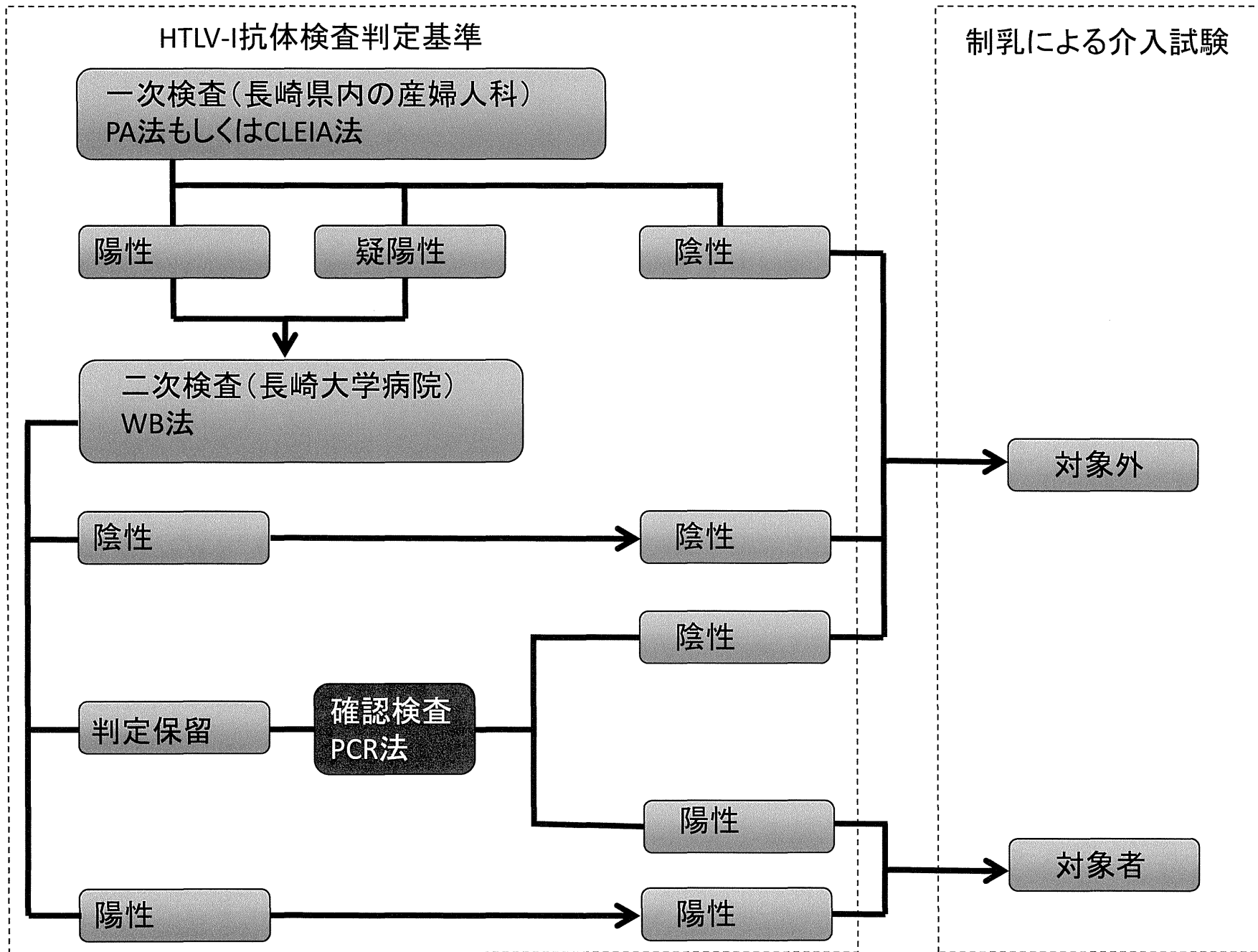


図1. 長崎県における妊婦HTLV-1抗体スクリーニングシステム

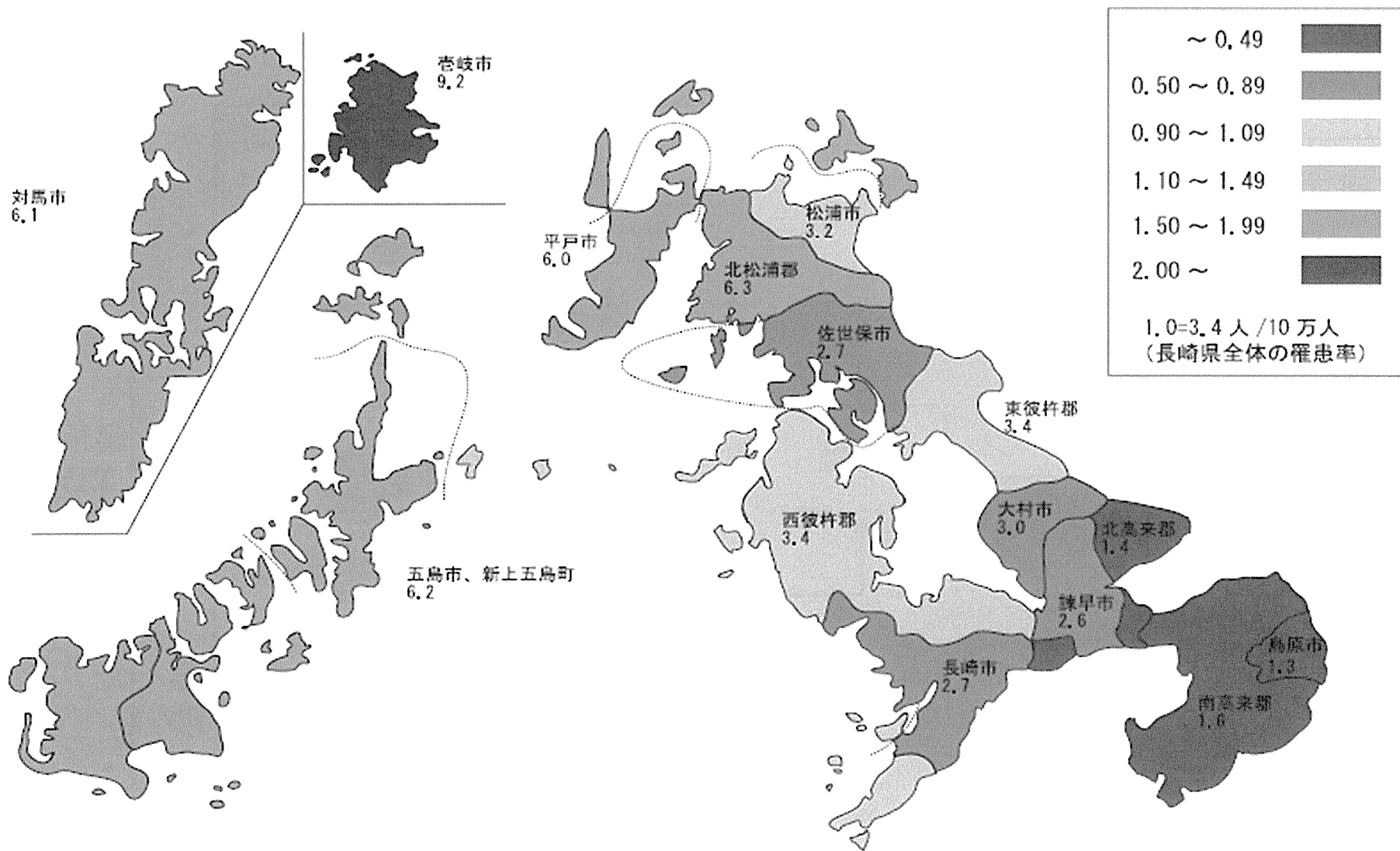


図2. 長崎県における女性のATL罹患地図(1985-2004)



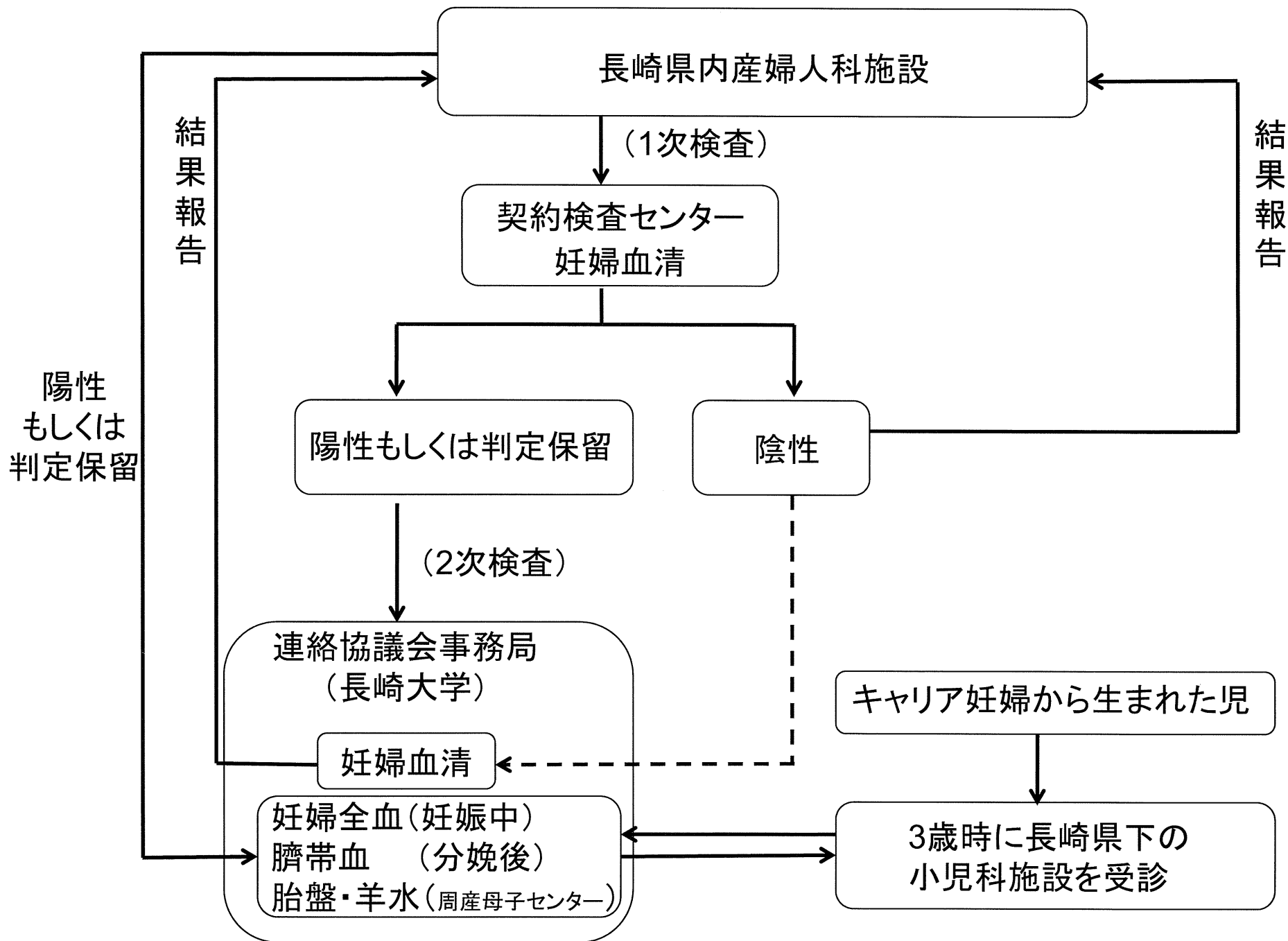
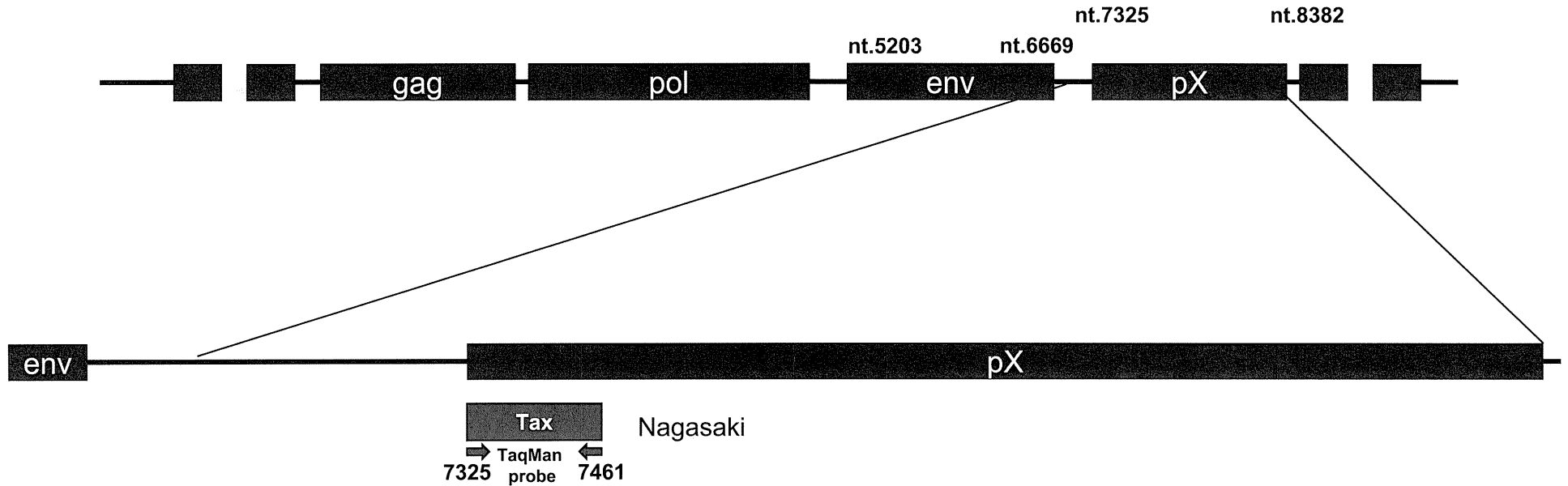


図3.妊婦HTLV-I抗体スクリーニング長崎方式を利用した検体集積システム(H23年度-H25年度)

# HTLV-1 (ATK1;J02029) pX region primer



—47—

図4. リアルタイムPCR法によるHTLV-1ウイルスの定量解析に用いたプライマー領域

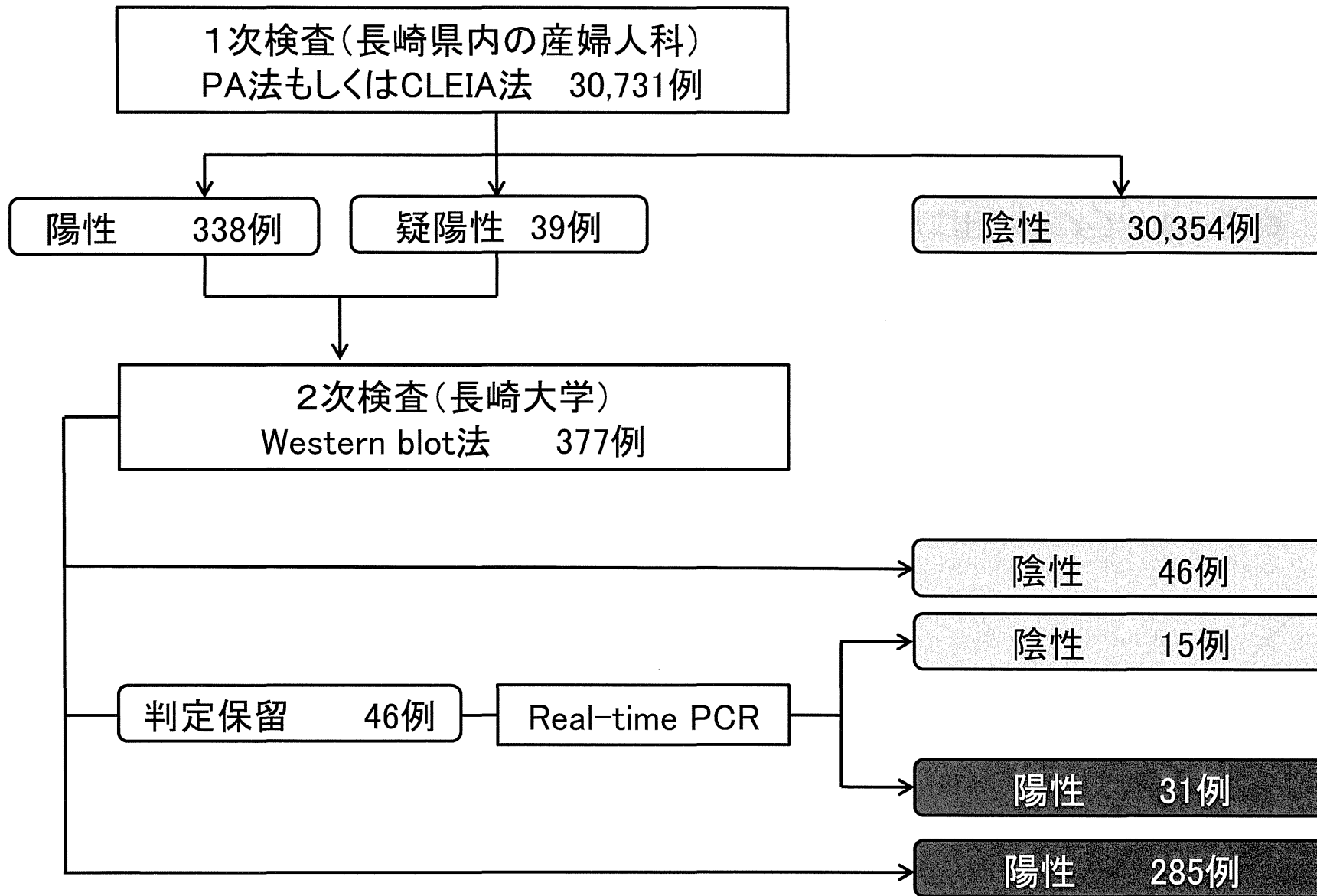


図5. 長崎方式によるHTLV-1キャリア妊婦のスクリーニング成績:  
2011年1月1日~2013年12月31日

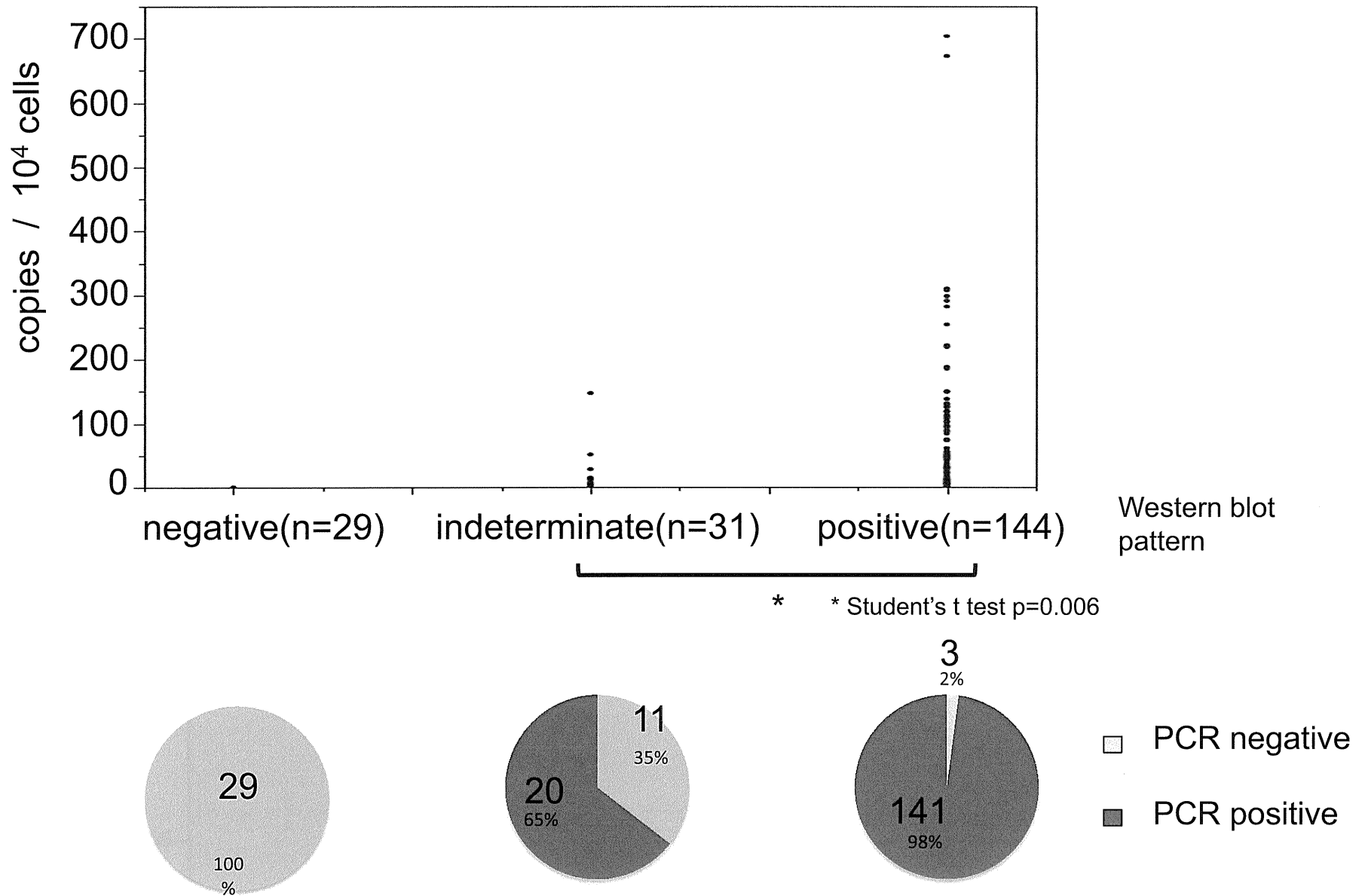


図6. Western Blot法の判定結果とHTLV-1プロウイルス量との関連

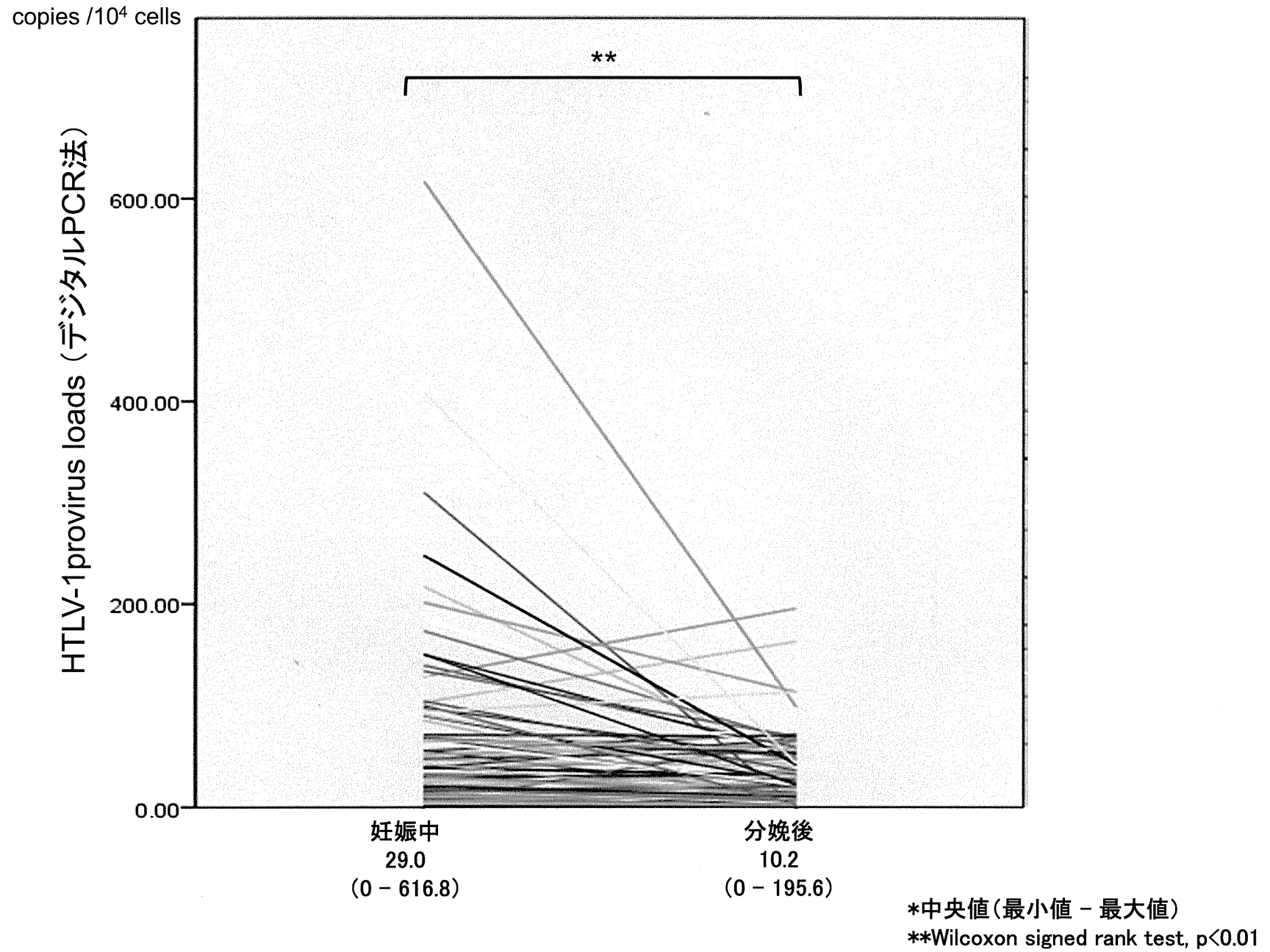


図7. 分娩前後におけるのHTLV-1プロウイルス量の推移

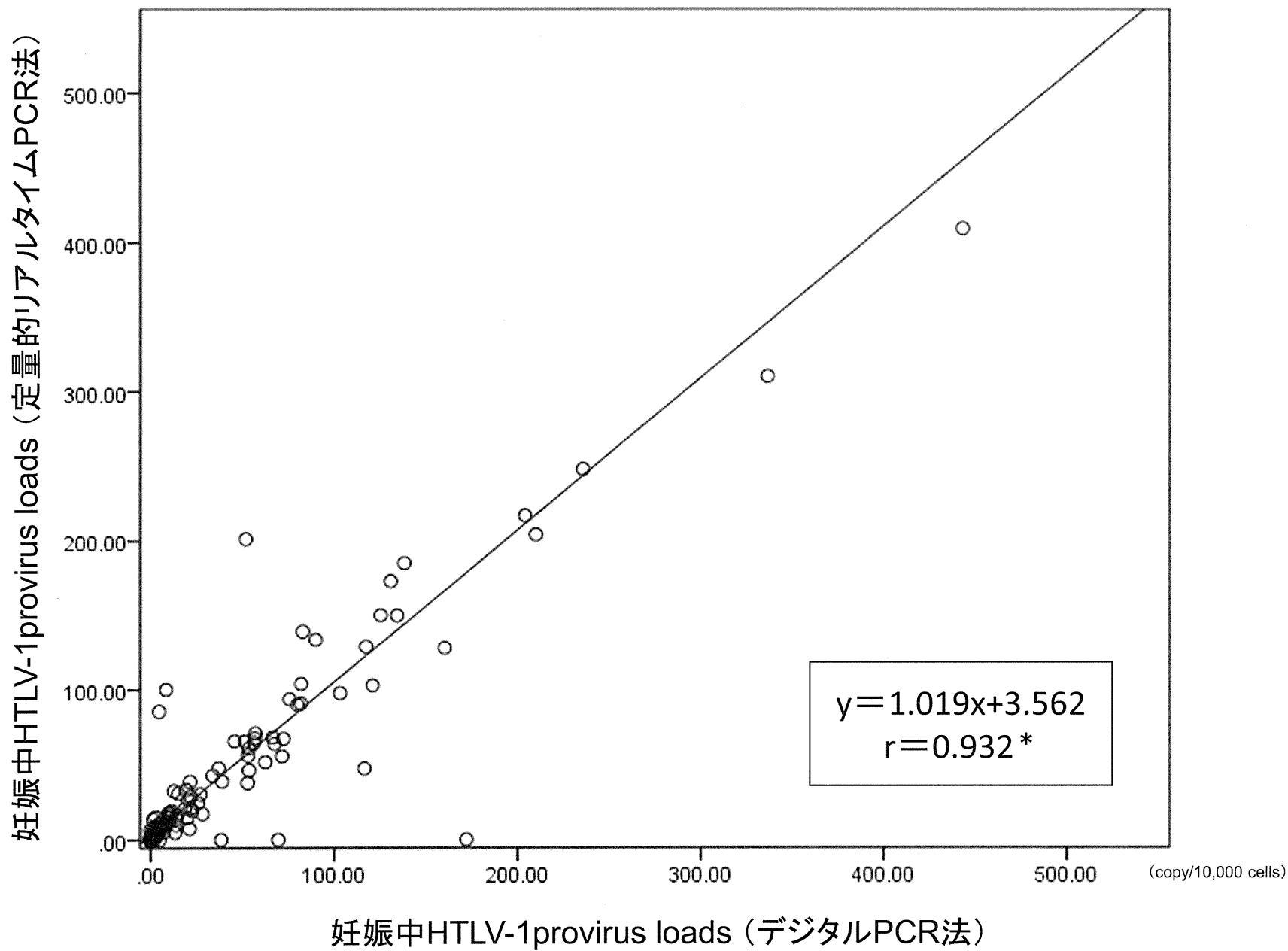
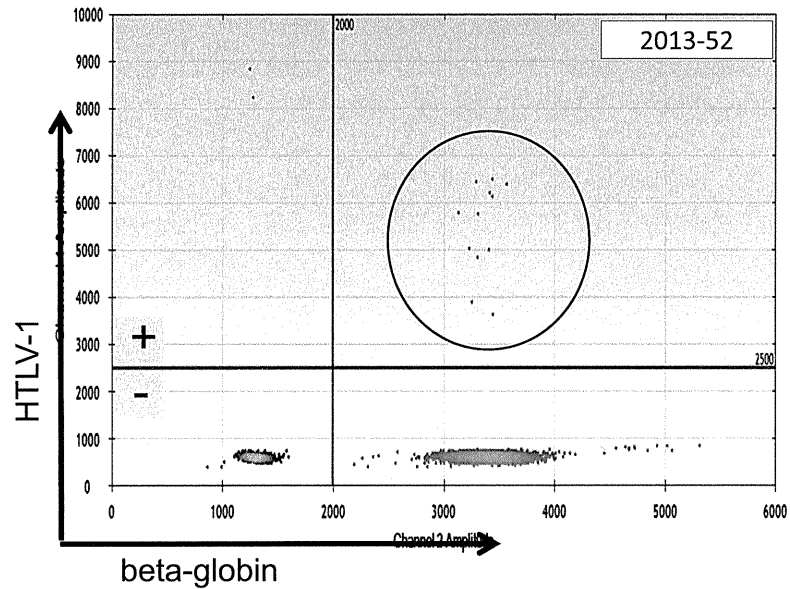


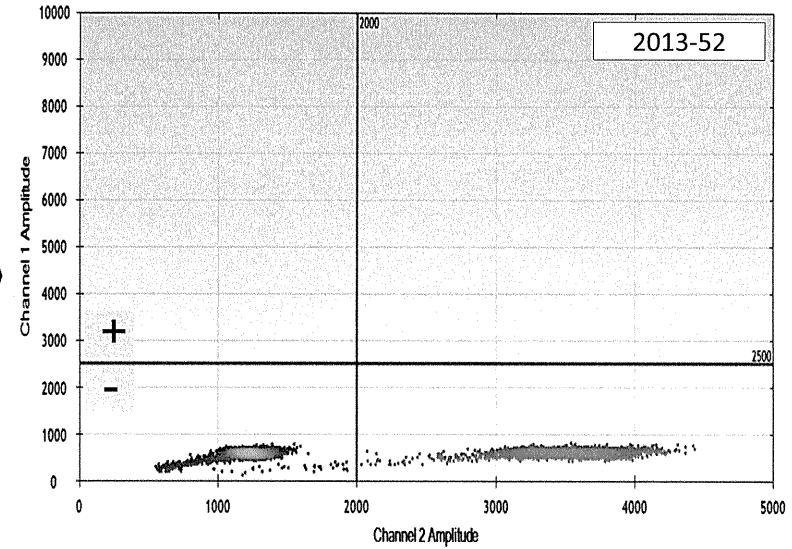
図8. 母体血HTLV-1プロウイルス量

\* Pearson's correlation coefficient  $p < 0.01$

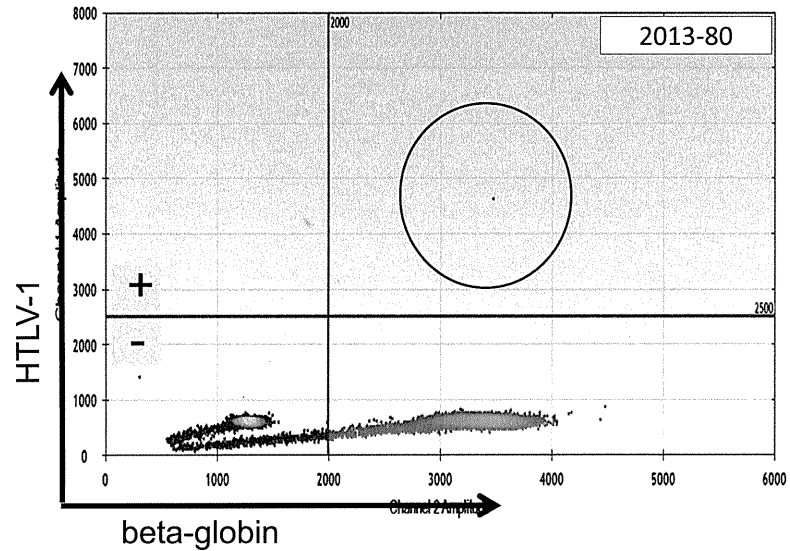
妊娠中



分娩後



妊娠中



分娩後

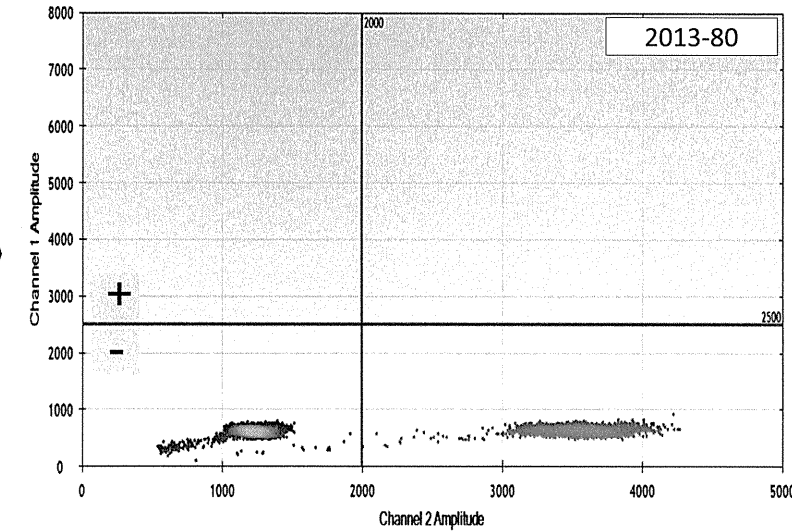
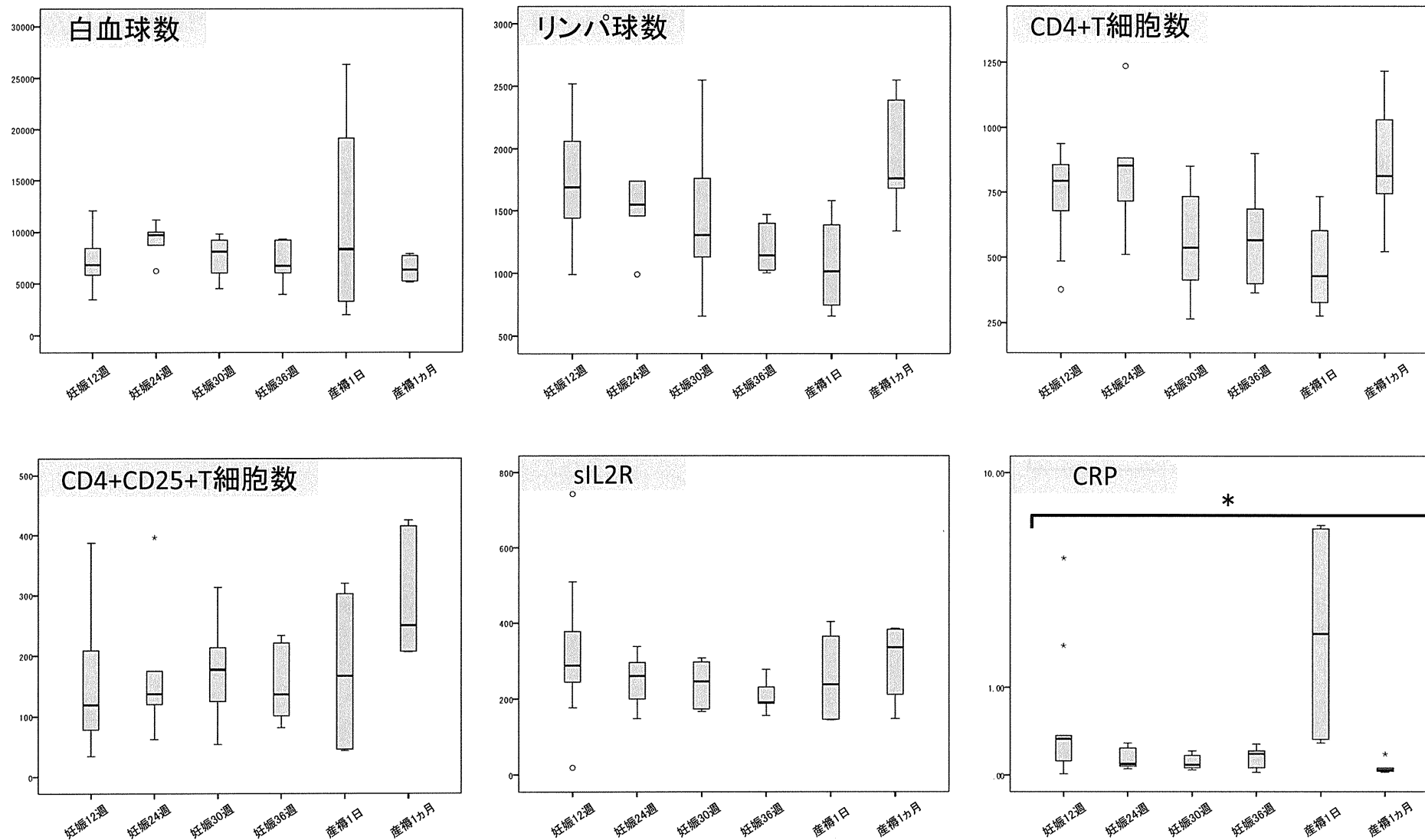


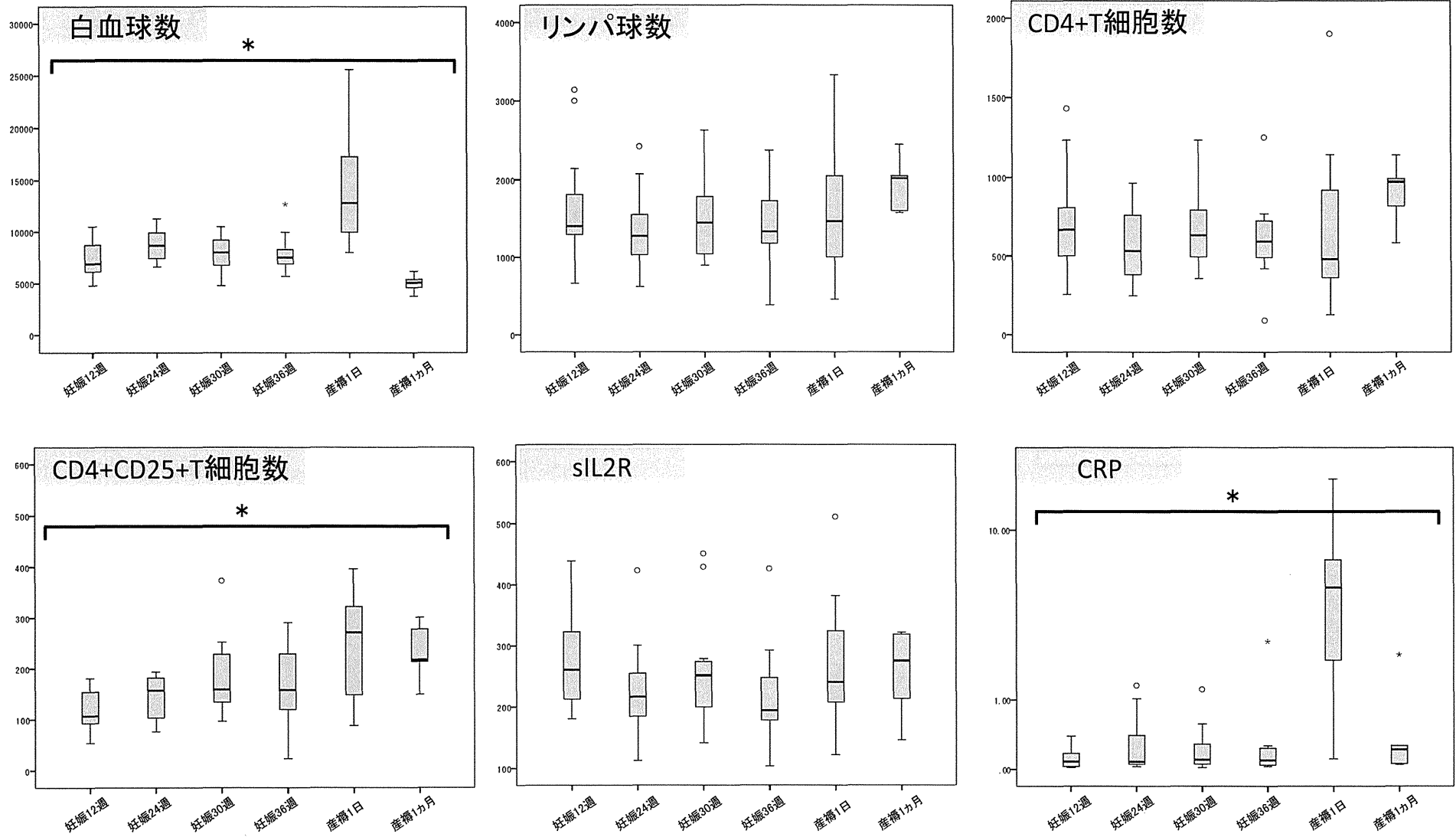
図9. 妊娠中はPCRでプロウイルスを検出したが、分娩後に消失した2症例



\* Kruskal Wallis test p<0.05

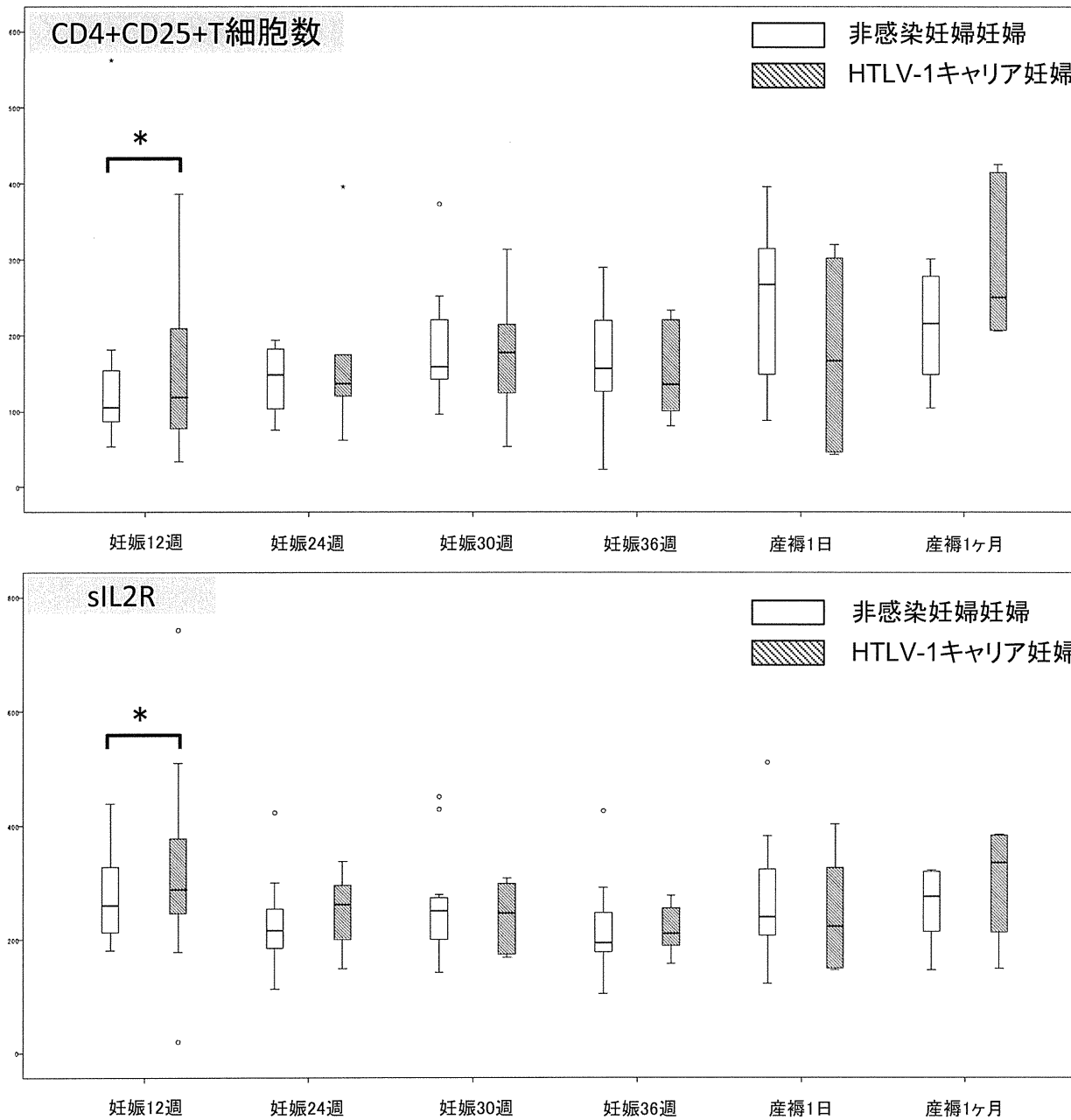
図10. HTLV-1キャリア妊婦における妊娠経時的変化





\* Kruskal Wallis test  $p < 0.001$

図11. 非HTLV-1感染妊婦における妊娠経時的変化



\* Mann-Whitney's U test p<0.01

図12. HTLV-1キャリア妊婦と非感染妊婦におけるT細胞およびsIL-2R値の推移

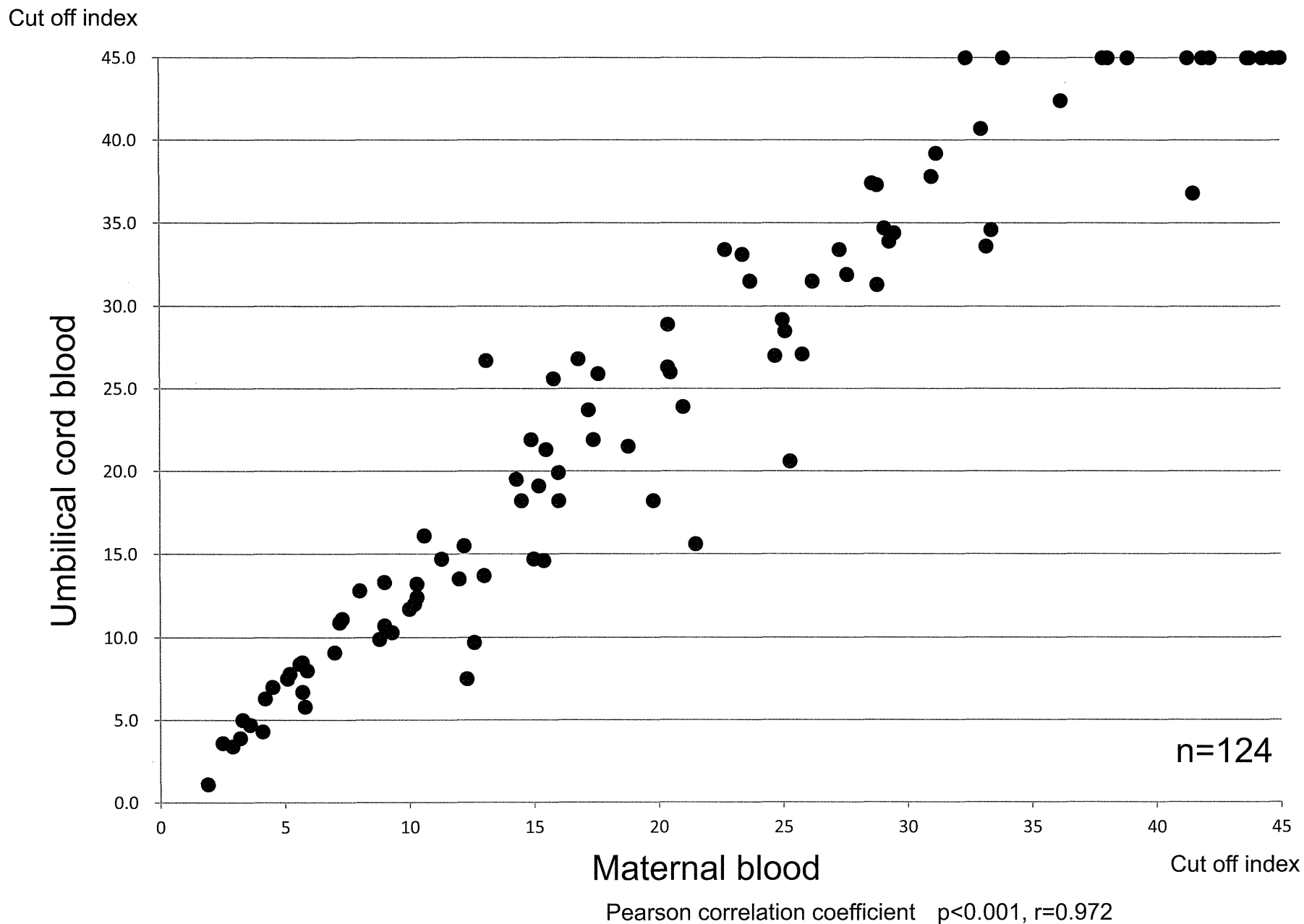


図13.スクリーニング陽性例の妊娠中母体血と臍帯血のCLEIA法における抗体

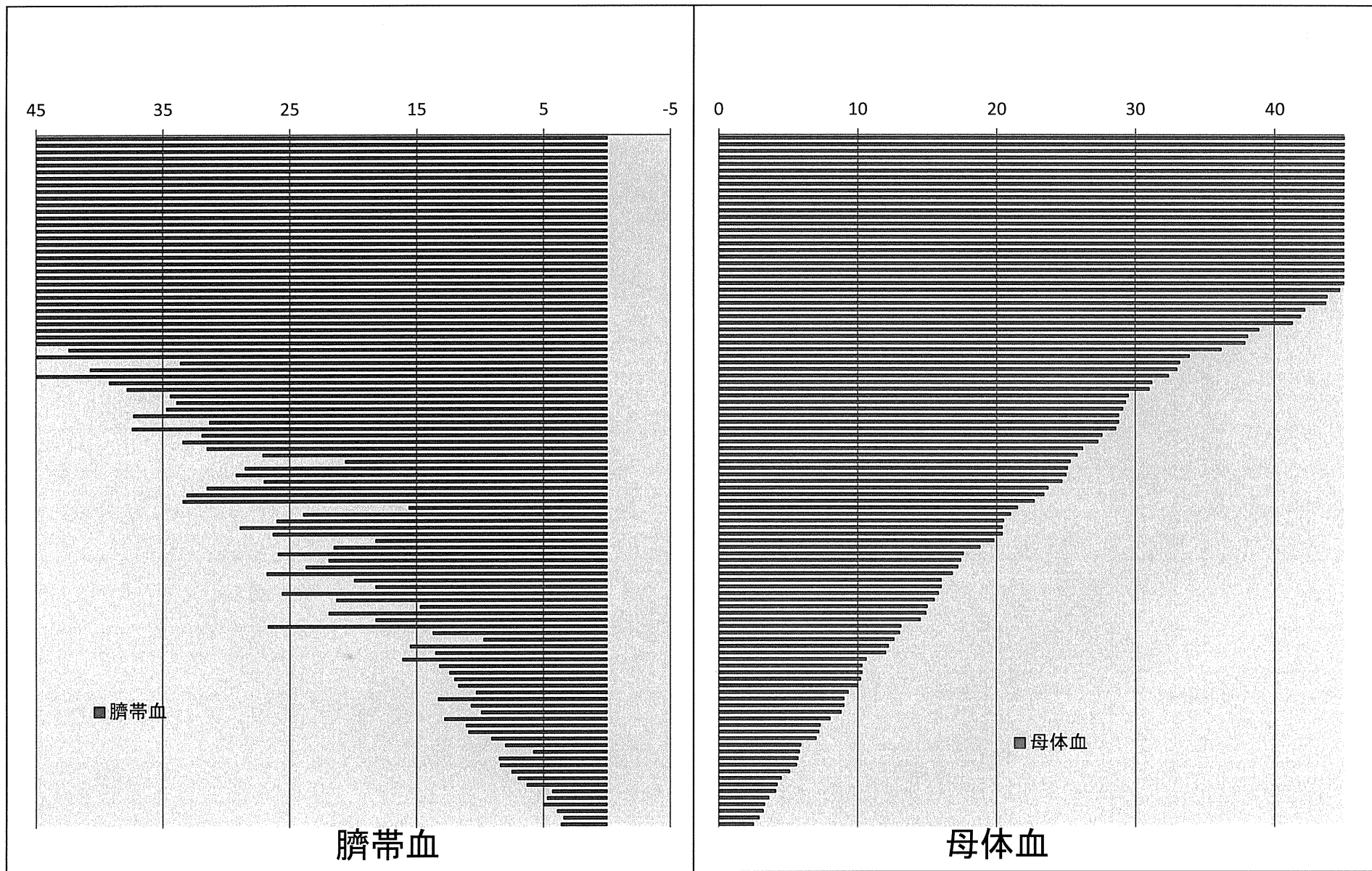


図14.HTLV-1キャリア妊婦および臍帯血中のHTLV-1抗体価(CLEIA法)