

RESEARCH

Open Access

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

Shimeru Kamihira^{1*}, Tetsuya Usui², Tatsuki Ichikawa³, Naoki Uno^{1,2}, Yoshitomo Morinaga^{1,2}, Sayaka Mori², Kazuhiro Nagai², Daisuke Sasaki^{1,2}, Hiroo Hasegawa^{1,2}, Katsunori Yanagihara^{1,2}, Takuya Honda³, Yasuaki Yamada^{1,2}, Masako Iwanaga⁴, Takashi Kanematu⁵ and Kazuhiko Nakao³

Abstract

Background: Human T-cell leukemia virus type-1 (HTLV-1) carriers co-infected with and hepatitis C virus (HCV) have been known to be at higher risk of their related diseases than mono-infected individuals. The recent studies clarified that IL-28B polymorphism rs8099917 is associated with not only the HCV therapeutic response by IFN, but also innate immunity and antiviral activity. The aim of our research was to clarify study whether IL-28B gene polymorphism (rs8099917) is associated with HTLV-1/HCV co-infection.

Results: The genotyping and viral-serological analysis for 340 individuals showed that IL-28B genotype distribution of rs8099917 SNP did not differ significantly by respective viral infection status. However, the IL-28B mRNA expression level was 3.8 fold higher in HTLV-1 mono-infection than HTLV-1/HCV co-infection. The high expression level was associated with TT (OR, 6.25), while the low expression was associated with co-infection of the two viruses (OR, 9.5). However, there was no association between down-regulation and ATL development (OR, 0.8).

Conclusion: HTLV-1 mono-infection up-regulates the expression of IL-28B transcripts in genotype-dependent manner, while HTLV-1/HCV co-infection down-regulates regardless of ATL development.

Keywords: IL-28B, IL- λ 3, HTLV-1, HCV, SNP

Introduction

A retrovirus, human T-cell leukemia virus type-1 (HTLV-1), and a positive-strand RNA virus, hepatitis C virus (HCV), are completely different in terms of virologic characteristics. Nevertheless, they play a similar role in the pathogenesis of viral-induced malignant neoplasms, such as adult T-cell leukemia (ATL) in HTLV-1-infected individuals, and hepatocellular carcinoma (HCC) and B-cell lymphoma in HCV-infected individuals, during long-term chronic infections.

Furthermore, it is known that co-infection with HCV and HTLV-1 is frequently observed in an area endemic

for HTLV-1. HCV/HTLV-1 co-infected individuals have been reported to be at higher risk for developing HCC than those infected with HCV alone [1-3]. Although the pathologic mechanism of the co-infection remains to be elucidated, it is thought that the impaired immunity due to HTLV-1 infection may contribute to HCV infection and HCV-related disorders, which is suggested by previous reports. Kohno et al. reported that the severe immunodeficiency and anergic state in patients with ATL may be associated with a functional property of leukemic cells originating from regulatory T-cells expressing CD4, CD25, CCR4, GITR and Foxp3 [4]. Kishihara et al. also reported that impairment of the immune response by HTLV-1 could explain the reduced effectiveness of interferon (IFN) treatment in patients co-infected with HTLV-1 and HCV [5].

* Correspondence: kamihira@nagasaki-u.ac.jp

¹Department of Laboratory Medicine, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki, 852-8501, Japan
Full list of author information is available at the end of the article

Recently, genome-wide association studies of patients with HCV have made great advances in viral clearance associated with *IL-28B* single nucleotide polymorphisms (SNP) [6,7]. *IL-28B* is a type III Lambda interferon (IFN- λ) and a cytokine similar to IL-10 with IFN-like activities [8]. This new IFN- λ family includes IFN- λ 1 (IL-29), IFN- λ 2 (IL-28A) and IFN- λ 3 (IL-28B) [9]. Although the IFN- λ genomic structure resembles that of the IL-10 family [10], the amino acid and functional level of IFN- λ s are more closely related to type I IFNs than IL-10. The IFN- λ s are induced by stimulation with several single-strand RNAs (ssRNA) and several kinds of viruses. The *IL-28B* SNPs, such as rs8099917, rs12979860, and 12980275, have been reported to be associated with spontaneous clearance [10], innate HCV immunity [9], HCV-related disease chronicity, and therapeutic response to pegIFN- α and ribavirin (RBV) [6,7].

From these observations, we hypothesized that IFN- λ 3 encoded from the *IL-28B* gene would be associated with HTLV-1 infection. The aim of the present study was to examine the mutual association between *IL-28B* polymorphism (rs8099917 SNP) and mono-infected-HTLV-1 and co-infected HTLV-1 with HCV subjects.

Materials and methods

Clinical subjects

All subjects were of Japanese origin living in Nagasaki City, an endemic area for HTLV-1 in Japan. For genomic specimens, 340 blood samples were randomly collected from patients who visited a liver clinic and liver transplantation center from April 2009 to March 2011 from the departments of Hepatology and a Hematology Clinic. One hundred and twenty-four of the 340 samples were also available for total RNA tests. Accordingly, most patients had either chronic liver disease (CLD) or adult T-cell leukemia (ATL). This study was done under informed consent after the approval of the Nagasaki University hospital IRB (IRB Approval No.10050). Since the samples used here were un-linked materials, patient information was restricted.

Cell lines

Eight HTLV-1-infected T-cell lines, Hut 102, MT-1, MT-2, ST1, KK1, KOB, OMT, and LMY-1, were used for *IL-28B* mRNA quantification. The first three were purchased and latter five were established in our laboratory [11].

Serological and genetic tests for HCV and HTLV-1

HCV and HTLV-1 infections were mainly serologically detected using commercially available kits, CLEIA-anti-HTLV-1, Lumipulse-II Ortho HCV (Fujirebio-INC, Tokyo, Japan). The confirming examination was genetically performed by the Cobas TaqMan HCV test

(TaqMan HCV; Roche Tokyo INC, Tokyo, Japan) for HCV and in-house HTLV-1 proviral real-time RT quantifiable PCR [12]. Genomic DNA and total RNA were extracted from peripheral blood mononuclear cells (PBMC) using commercially available QuickGene DNA Whole blood kits (FUJIFILM Corp., Tokyo, Japan) and PureLink RNA Micro Kits (Invitrogen Corp., Carlsbad, Ca, USA). The extraction protocol was performed according to the manufacturer's instructions.

Genotyping for SNPs

SNP genotyping was performed using multiplex PCR amplification and Pyrosequencing technology. To amplify target regions, newly designed biotinylated-primers were employed: sense and anti-sense for rs8099917, 5'-TCCTCCTTTTGTTCCTTTCTG-3' and 5'-AAAAAGCCAGCTACCAAAGTGT-3'. Then, the amplicon was sequenced according to the manufacturer's instructions based on Pyrosequence technology (Qiagen, Hilden, Germany). Biotin-labeled amplicons from the 1st PCR were captured by binding to streptavidin-coated Sepharose beads, and DNA was denatured to produce an ssDNA template for the Pyrosequencing assay. The ssDNA was released and combined with the sequencing primer, which was extended during the Pyrosequencing reaction to provide the sequence of the template DNA. Pyrosequencing data were produced in the form of Pyrograms, and genotypes were assigned by the peak pattern presented in the Pyrogram.

Real-time reverse transcription (RT) quantifiable PCR for *IL-28B* mRNA

mRNA for *IL-28B* transcribed into cDNA by a GoScript™ RT System (Promega, Madison, WI, USA) was quantified by a LightCycler System (Roche, Mannheim, Germany) using newly designed sense and anti-sense primers, 5'-AAGGACTGCAAGTGCCGCT-3' and 5'-GCTGGTCCAAGACATCCC-3' (AY129149). A standard curve was generated using a tenfold dilution method with a reference material derived from pTAC-1.2735 inserted with 166 base fragments including the target. The amplicon was assayed by the Cyber green method. The raw data were normalized by *abl* mRNA density and evaluated as the relative value for *abl* gene expression calculated by $IL-28B \text{ data}/abl \text{ data} \times 10^4$, modified from our previous mRNA real time RT qPCR method [12].

Statistical analysis

The minor-allele frequency (MiAF) was set as the less frequent allele in a population for SNPs analyzed. Viral infectious status was divided into 4 groups of HTLV-1 mono-infection, HCV mono-infection, HTLV-1/HCV-co-infection, and non-infection (double negative; DN).

Differences in the genotype distribution of IL-28B SNPs among groups were compared using the Chi-square or Fisher exact test. The level of mRNA expression was compared using the Mann Whitney U test. Correlation analysis was performed by the Nonparametric Spearman's rank correlation method. The relationship between a factor and an outcome was estimated the magnitude of the association by the odds ratio with 95% confidence intervals (95%CI). Statistical analysis was performed using SAS 9.1. The statistical significance level was set at 0.05.

Results

IL-28B genotypes and the sero-status

Three hundred and forty samples were genotyped on IL-28B rs8099917 SNP and were serologically examined for viral infection of HTLV-1 and HCV. As summarized in Table 1. They consisted of 263 (77.4%) major TT homozygotes, 171 (20.9%) minor TG heterozygotes, and 6 (1.8%) minor GG homozygotes. The virus tests revealed that 59 were negative for both HTLV-1 and HCV, 73 were positive for HTLV-1 alone, 179 were positive for HCV alone and 29 were positive for both viruses. The genotypic distributions, as well as minor allele frequency (MAF) of the IL-28B gene, did not significantly differ among each viral infection status as a control of no-infection.

Since the HTLV-1 mono-infection group consisted of 47 ATL patients and 26 HTLV-1 carriers, we stratified the two groups of ATL patients and carriers and the minor allele frequencies of the two groups were compared; the difference between that of ATL and carriers

Table 1 IL-28B genetic distribution and allele frequency in stratification based on the combination of HTLV-1 and HCV infection

	Genotype r(rs8099917)			Allele fequency		T	G	P =
	No	TT	TG	GG	T			
All cases	340	263 (77.4%)	71 (20.9%)	6 (1.8%)	0.86	0.14		
1) non-Infection	59	45(76.3)	10 (16.9)	4(6.8)	0.84	0.15		
2) HTLV-1 mono	73	55(75.3)	17 (23.3)	1(1.9)	0.87	0.13	P =	0.90
ATL patients	47	37(78.7)	10 (21.3)	0(0.0)	0.89	0.11	P =	0.11
carriers	26	18(69.2)	7(26.9)	1(3.8)	0.82	0.18	P =	0.46
3) HCV-mmono	179	141 (78.7)	37 (20.7)	1(1.0)	0.89	0.11	P =	0.68
4) co-infection	29	22(75.9)	7(24.1)	0(0.0)	0.88	0.14	P =	0.9

There was no significant difference in the genetic distribution and allele frequency among respective infectious states

P values were compared with non infection

was not statistically significant ($p = 0.21$). The prevalence of TT was not different statistically either ($p = .495$).

Next, the expression levels of IL-28B were quantified using 124 samples randomly collected during this study period.

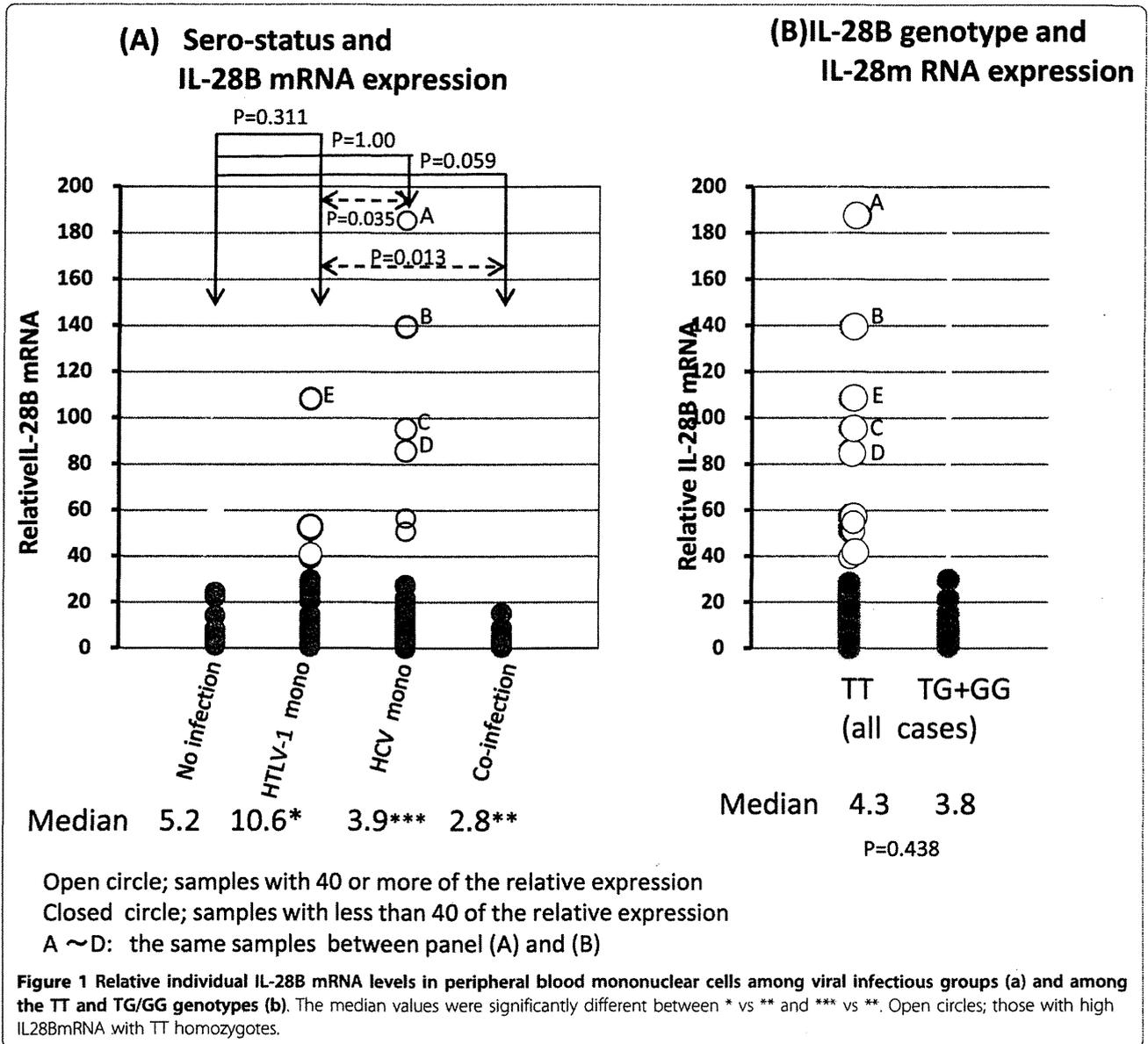
IL-28B mRNA expression level and HCV/HTLV-1 co-infection

The expression levels of IL-28B mRNA were generally low in most cases with a median value of 5.2 in no-infection, 10.6 in HTLV-1 mono-infection, 3.9 in HCV mono-infection, and 2.8 in HTLV-1/HCV co-infection (Figure 1a). Notably, a small number of measurement values shown as open circles was high, and they were distributed only within the HTLV-1 mono-infected and HCV mono-infected groups. Moreover, all of those who had high values were exclusively TT homozygous, as shown in Figure 1b (samples marked by ^{A-E}) were the same in Figure 1(a) and Figure 1(b)). Surprisingly, the median value was the highest in HTLV-1 mono-infection and the lowest in the co-infection group (10.6 versus 2.8; $p = 0.013$). Therefore, to clarify whether ATL cells directly affect the expression of IL-28B mRNA, we compared the mRNA expression levels in mainly HTLV-1 carriers, ATL patients with ATL cells, and ATL cell lines. As shown in Figure 2, the median values were significantly higher in mono HTLV-1 carriers with TT (17.9 vs 5.6, $P < 0.05$) and ATL patients with TT having ATL cells than those of non-infected individuals (13.4 vs 5.6, $p < 0.05$). No high expression level was observed in two ATL or 16 carriers with HTLV-1/HCV co-infection. Surprisingly, these data were lower rather those from TG/GG. On the other hand, IL-28B mRNA expression in 8 HTLV-1-infected T-cell lines was undetectable in all but one (Hut 102). The genotype was TT in all cell lines.

In addition, there was no correlation between the IL-28B mRNA levels and HCV-RNA levels (non-parametric Spearman's rank correlation, $R^2 = 0.0543$, Figure 3).

Assessment by odds ratio analysis for an outcome if a risk factor is present

As shown in Figure 2, HTLV-1 was revealed to have an association similar to HCV and IL-28B mRNA. However, the up-regulated-action of HTLV-1 was nullified if the virus was co-infected with HCV. The prevalence of a major TT and minor TG/GG was similar among individuals infected with either HTLV-1 or HCV, as well as the allele frequency, indicating that there is no specific correlation between IL-28B and HTLV-1. Thus, to approach a causative clue, assessment by odds ratio (OR) analysis was performed (Table 2). Only the high mRNA level besides 3 states of HTLV-1 mono-infection,



co-infection with HCV and ATL was associated with TT genotype (OR = 6.25). On the other hand, down-regulation of the mRNA density was defined as HTLV-1/HCV co-infection (OR = 9.5 $p = 0.004$), but low expression was not associated with ATL development (OR = 0.8, $p = 0.81$).

Discussion

Although co-infection with HTLV-1 and HCV has been shown to result in higher rates of cirrhosis and increased death from liver diseases [1,2], the caustic mechanism by which the co-infection affects HCV pathogenesis remains to be elucidated. Some clue to the mechanism may be found by studying the relation between IL-28B genotypes and co-infection, because IL-

28B encoding IFN- λ s are categorized as type 3 IFNs and are potent endogenous anti-viral cytokines. They signal via JAK/STAT intracellular pathways and up-regulated transcription of IFN-stimulated genes (ISGs) that are required to control viral infection [13]. Here, we investigated whether IL-28B polymorphism rs8099917 is associated with co-infection status.

The present study is the first to reveal that the IL-28B genotype is not associated with stratification based on the combination of HTLV-1 and HCV infection; no infection for both (double negative; DN), HTLV-1 mono-infection, HCV mono-infection and HTLV-1/HCV co-infection. Similarly, the frequency of the major TT homozygotes was not associated among ATL patients and HTLV-1 carriers (Table 2). These two

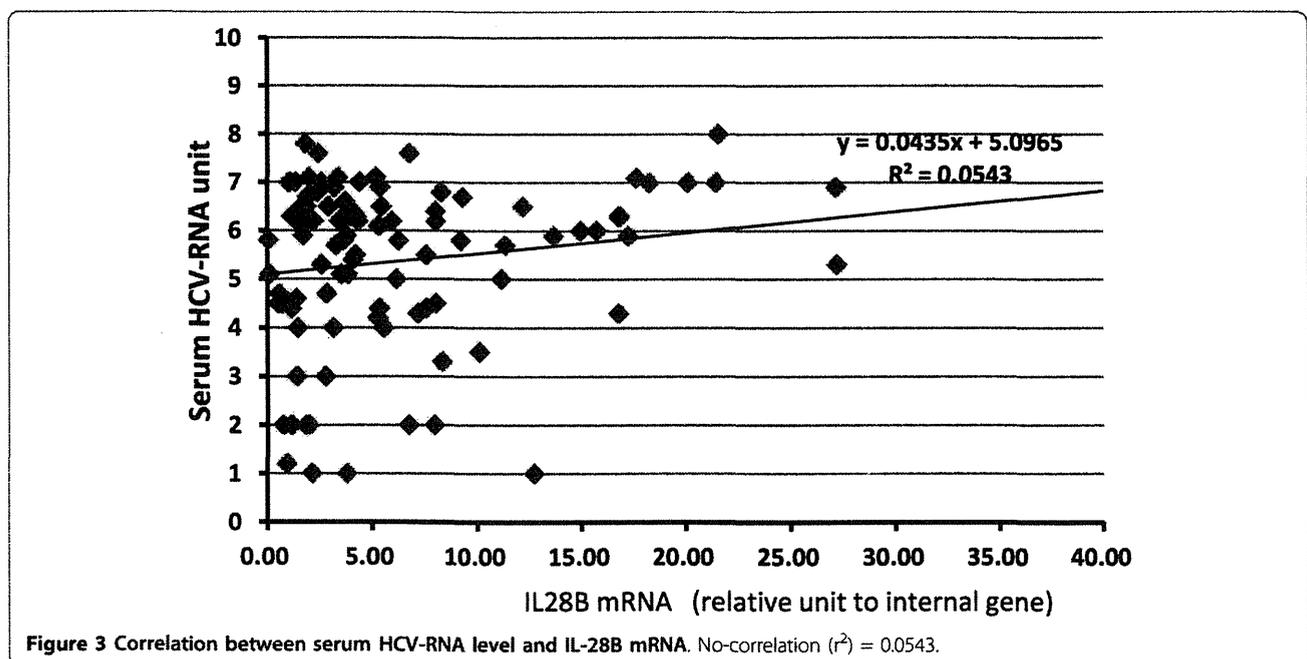
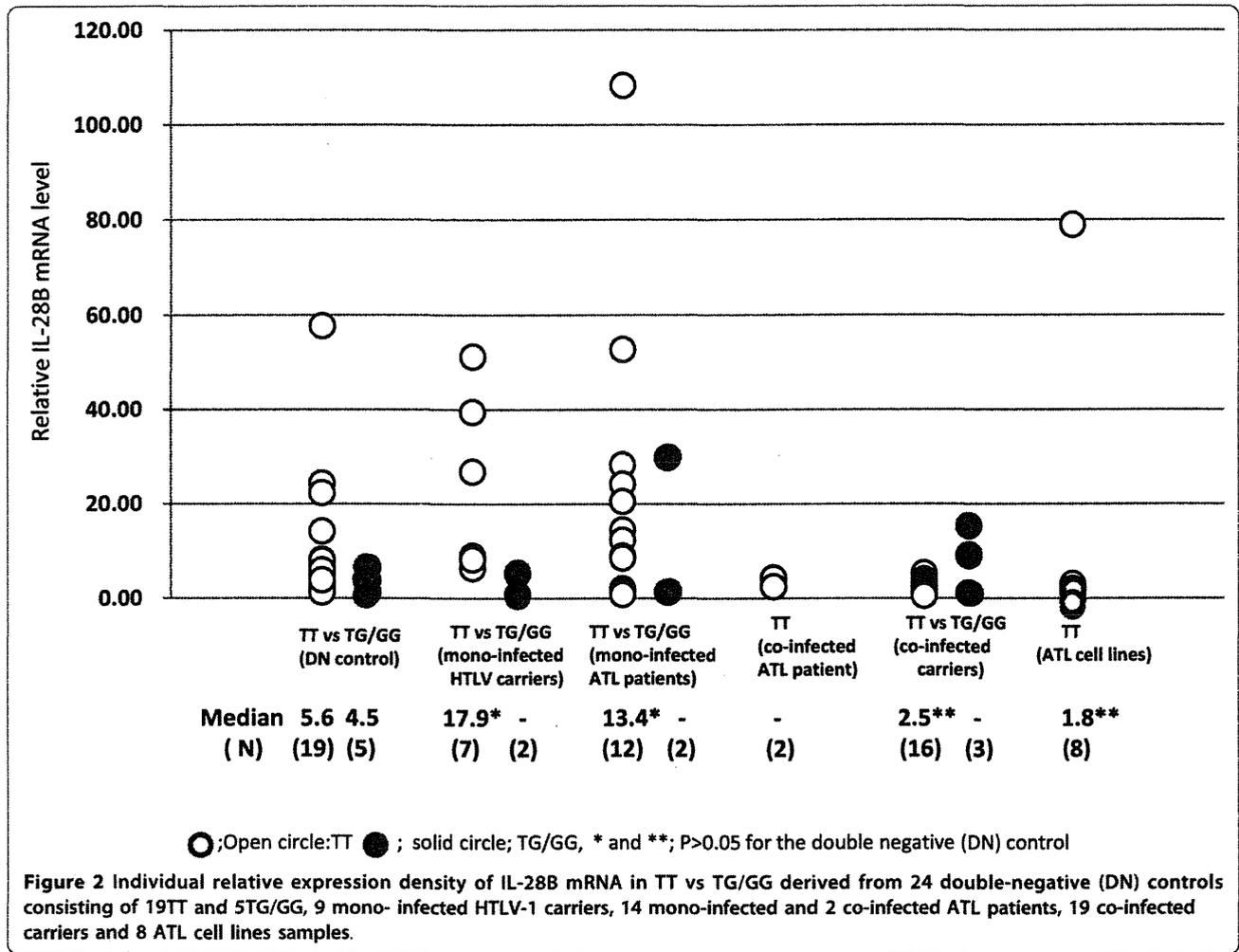


Table 2 Assessment by odds ratio analysis for an outcome if a risk factor is present

(A) Outcome	factor		Odds ratio	95%CI	P
	dependent	independent			
1) HTLV-1 mono-infection	TT vs TG/GG		1.11	0.62-1.99	0.72
2) Co-infection	TT vs TG/GG		0.54	0.04-6.88	1.00
3) High mRNA Expression*	TT vs TG/GG		6.25	1.16-33.75	0.04
4) ATL (B)	TT vs TG/GG		1.50	0.60-3.75	0.39
5) Low mRNA Expression	HTLV-1 mono vs DN		0.34	0.06-2.04	0.24
6) Low mRNA Expression	HCV mono vs DN		0.29	0.07-2.23	0.15
7) Low mRNA Expression	Co-Inf** vs HTLV-1-mono**		9.5	2.06-43.76	0.004
8) ATL	low expression or not		0.8	0.14-4.74	0.81

(A) Upper 4 lines; assessing the risk of 1) HTLV-1 persistent infection, 2) super-imposed HTLV-1 infection with HCV (co-infection), 3) high IL-28B mRNA expression, and 4) ATL development when the genotype is a risk factor (B) Lower 4 lines; assessing the risk factors described in the outcome, the IL-28B mRNA expression level in peripheral blood (5, 6, and 7), and ATL development (8). Consequently, similarly to HCV, HTLV-1 is associated with up-regulation of IL-28B mRNA along with the TT homozygote, and co-infection with HTLV-1 and HCV paradoxically down-regulates the mRNA level

*; IL-28B Expression level, Co-inf = co-infection with HTLV-1 and HCV, mono = mono-infection

findings suggest that the SNP rs8099917 is not associated with susceptibility to HTLV-1 infection or the development of ATL. On the other hand, all of ATL cell- or HTLV-1-infected T-cell- lines examined were exclusively TT homozygous, implying that HTLV-1-infected cells carrying TT homozygotes may immortalize easily in vitro.

Next, we found a strange phenomenon that the IL-28B mRNA expression levels in peripheral blood were lower in samples with HTLV-1/HCV co-infection than in samples with either HTLV-1 or HCV alone, especially significantly for HTLV-1 mono-infection. In particular, samples carrying TT homozygotes were strongly down-regulated, more than the minor TG hetero- and GG-homozygotes. Why are the mRNA expression levels different in mono- and dual-infection? Although it is not known how rs8099917 affects the action of IL-28B, presumably it alters the immune function to viruses. In addition to a common anti-viral IFN-stimulating signal pathway, HTLV-1 may use an alternative anti-viral pathway like HBV [14], because the HTLV-1 provirus is integrated into host genomic DNA and replicates in distinctive life cycle kinetics. Moreover, ATL originates from Treg cells, which play a central role in suppressing immunity [15]. However, this cannot fully explain the impairment in the HTLV-1 carrier's immunity because no ATL cells are present during the carrier period. Thus, we noted IFN- λ (IL-29, IL-28), which was recently discovered as a type III IFNs with anti-virus ability, anti-tumor and immune responses [16-18].

From our results, the IL-28B expression level was higher in HTLV-1 mono-infected individuals including ATL patients. IFN- λ is usually up-regulated through activation of the NF-kappaB pathway after viral infection. Actually, the Sendai virus, an influenza A virus, and others have been demonstrated to activate the NF-kappa

B pathway, resulting in up-regulated IL-28B expression [19,20]. Accordingly, the highest up-regulation of IFN- λ 3 in HTLV-1 mono-infection may be explained by virtue of a viral protein of HTLV-1 having strong NF-kB activating ability. Moreover, it is instructive that IFN- λ has a potent function to expand Treg cells [21], which are mainly infected with HTLV-1, predisposing development of ATL. However, there has not yet been evidence that co-infection with HCV damages Tax action.

Of IL-28B producing cells in the literature, most cells in the blood are described as having a weak or absent expression under the steady state conditions. Li et al. [9] reported that IL-28B mRNA is not always expressed in virally infected cells. Actually, our findings in HTLV-1-infected cases also showed that at least the main producing cells are likely to be cells other than ATL cells because most cell lines from ATL and some blood samples containing ATL cells were expressed faintly. At present, plasmacytoid dendritic cells are indicated to be the most potent producers of IFN- λ s [19]. On the other hand, IFN- λ 3 reportedly has the functions of proliferating Treg cells which are the origin of ATL cells, suggesting that HTLV-1 is associated with up-regulation via Treg cells infected with HTLV-1.

In conclusion, we found an unusual phenomenon in that the expression of IL-28B mRNA was affected by not only the IL-28B rs8099917 genotype, but also co-infected HTLV-1 with HCV. This will contribute to a better understanding the enigmatic impairment of immunity in the HTLV-1 carrier state, including co-infection with HTLV-1 and HCV.

Abbreviations

HTLV-1: Human T-cell leukemia virus type -1; HCV: Hepatitis C virus; SNP: Single nucleotide polymorphism; IFN: Interferon; PBMC: Peripheral blood

mononuclear cell; PCR: Polymerase chain reaction; MAF: Minor-allele frequency.

Acknowledgements

This work was supported by the Japanese Government, Kakken-B No. 213901832.

Author details

¹Department of Laboratory Medicine, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki, 852-8501, Japan. ²Central Diagnostic Laboratory of Nagasaki University Hospital, Nagasaki, 852-8501, Japan.

³Department of Gastroenterology and Hepatology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki, 852-8501, Japan. ⁴Faculty of Wellness Studies, Kwassui Women's University, Nagasaki, 850-8515, Japan.

⁵Division of Surgical Oncology, Department of Translational Medical Science, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki, 852-8501, Japan.

Authors' contributions

SK designed the study and wrote the manuscript, and SM, TU, KN, DS, HH, KY, NU, YM analyzed the genotype, TK collected samples, and TK, KN, MI and SK organized and assessed the data. All authors interpreted the data and were financially supported. All authors read and approved the final manuscript.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Received: 5 July 2011 Accepted: 15 February 2012

Published: 15 February 2012

References

1. Kamihira S, Yamada Y, Sohma H, Atogami S, Tomonaga M, Egawa S, Fujii M, Chifu K: Human T-lymphotropic virus type-I influence on hepatotropic virus infections and the subsequent development of hepatocellular carcinoma. *Cancer Detect Prev* 1994, **18**(5):329-334.
2. Takeoka H, Furusyo N, Toyoda K, Murata M, Sagara Y, Kashiwagi S, Hayashi J: Antibody to the human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) envelope protein Gp46 in patients co-infected with HCV and HTLV-1. *Am J Trop Med Hyg* 2007, **77**(1):192-196.
3. Boschi-Pinto C, Stuver S, Okayama A, Trichopoulos D, Orav EJ, Tsubouchi H, Mueller N: A follow-up study of morbidity and mortality associated with hepatitis C virus infection and its interaction with human T lymphotropic virus type I in Miyazaki, Japan. *J Infect Dis* 2000, **181**(1):35-41.
4. Kohno T, Yamada Y, Akamatsu N, Kamihira S, Imaizumi Y, Tomonaga M, Matsuyama T: Possible origin of adult T-cell leukemia/lymphoma cells from human T lymphotropic virus type-1-infected regulatory T cells. *Cancer Sci* 2005, **6**(8):527-33.
5. Kishihara Y, Furusyo N, Kashiwagi K, Mitsutake A, Kashiwagi S, Hayashi J: Human T lymphotropic virus type 1 infection influences hepatitis C virus clearance. *J Infect Dis* 2001, **184**(9):1114-1119.
6. Ge D, Fellay J, Thompson AJ, Simon JS, Shianna KV, Urban TJ, Heinzen EL, Qiu P, Bertelsen AH, Muir AJ, Sulkowski M, McHutchison JG, Goldstein DB: Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 2009, **461**(7262):399-401.
7. Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, Kurosaki M, Matsuura K, Sakamoto N, Nakagawa M, Korenaga M, Hino K, Hige S, Ito Y, Mita E, Tanaka E, Mochida S, Murawaki Y, Honda M, Sakai A, Hiasa Y, Nishiguchi S, Koike A, Sakaida I, Imamura M, Ito K, Yano K, Masaki N, Sugauchi F, Izumi N, Tokunaga K, Mizokami M: Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet* 2009, **41**(10):1105-1109.
8. Kotenko SV, Gallagher G, Baurin VV, Lewis-Antes A, Shen M, Shah NK, Langer JA, Sheikh F, Dickensheets H, Donnelly RP: IFN-lambdas mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex. *Nat Immunol* 2003, **4**(1):69-77.
9. Li M, Liu X, Zhou Y, Su SB: Interferon-lambdas: the modulators of antiviral, antitumor, and immune responses. *J Leukoc Biol* 2009, **86**(1):23-32.
10. Thomas DL, Thio CL, Martin MP, Qi Y, Ge D, O'Huigin C, Kidd J, Kidd K, Khakoo SJ, Alexander G, Goedert JJ, Kirk GD, Donfield SM, Rosen HR, Tobler LH, Busch MP, McHutchison JG, Goldstein DB, Carrington M: Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature* 2009, **461**(7265):798-801.
11. Kamihira S, Terada C, Sasaki D, Yanagihara K, Tsukasaki K, Hasegawa H, Yamada Y: Aberrant p53 protein expression and function in a panel of hematopoietic cell lines with different p53 mutations. *Eur J Haematol* 2009, **82**(4):301-307.
12. Usui T, Yanagihara K, Tsukasaki K, Murata K, Hasegawa H, Yamada Y, Kamihira S: Characteristic expression of HTLV-1 basic zipper factor (HBZ) transcripts in HTLV-1 provirus-positive cells. *Retrovirology* 2008, **22**(5):34.
13. Balooza S, Thomas LDavid, Thio LChloe: IL-28B and the control of HCV infection. *Gastroenterology* 2010, **139**(6):1865-1875.
14. Maureen PM, Ying Q, James J G, Shehna KH, regoly DK, Keith HW, Susan B: IL-28B polymorphism does not determine outcomes of HBV or HIV infection. 2010, **202**(11):1749-1753.
15. Birmann BM, Breen EC, Stuver S, Cranston B, Martinez-Maza O, Falk KI, Okayama A, Hanchard B, Mueller N, Hisada M: Population differences in immune marker profiles associated with human T-lymphotropic virus type I infection in Japan and Jamaica. *Int J Cancer* 2009, **124**(3):614-21.
16. Tillmann HL, Thompson AJ, Patel K, Wiese M, Tenckhoff H, Nischalke HD, Lokhnygina Y, Kullig U, Göbel U, Capka E, Wiegand J, Schiefke I, Günthöf W, Grüngreiff K, König I, Spengler U, McCarthy J, Shianna KV, Goldstein DB, McHutchison JG, Timm J, Nattermann J: German Anti-D Study Group: A polymorphism near IL28B is associated with spontaneous clearance of acute hepatitis C virus and jaundice. *Gastroenterology* 2010, **139**(5):1586-92, 1592.e1.
17. Suppiah V, Moldovan M, Ahlenstiel G, Berg T, Weltman M, Abate ML, Bassendine M, Spengler U, Dore GJ, Powell E, Riordan S, Sheridan D, Smedile A, Fragomeli V, Müller T, Bahlo M, Stewart GJ, Booth DR, George J: IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy. *Nat Genet* 2009, **41**(10):1100-1104.
18. Ank N, West H, Bartholdy C, Eriksson K, Thomsen AR, Paluoaan SR: Lambda interferon (IFN-lambda), a type III IFN, is induced by viruses and IFNs and displays potent antiviral activity against select virus infections in vivo. *J Virol* 2006, **80**(9):4501-4509.
19. Osterlund P, Veckman V, Sirén J, Klucher KM, Hiscott J, Matikainen S, Julkunen I: Gene expression and antiviral activity of alpha/beta interferons and interleukin-29 in virus-infected human myeloid dendritic cells. *J Virol* 2005, **79**(15):9608-9617.
20. Diegelmann J, Beigel F, Zitzmann K, Kaul A, Göke B, Auernhammer CJ, Bartenschlager R, Diepolder HM, Brand S: Comparative Analysis of the Lambda-Interferons IL-28A and IL-29 regarding Their Transcriptome and Their Antiviral Properties against Hepatitis C Virus. *PLoS One* 2010, **5**(12): e15200.
21. Mennechet FJD, Uze D: FN-λ-treated dendritic cells specifically induce proliferation of Foxp3-expressing suppressor T-cells. *Blood* 2006, **107**:4417-4423.

doi:10.1186/1743-422X-9-40

Cite this article as: Kamihira et al.: 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. *Virology Journal* 2012 **9**:40.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit



平成 24 年 7 月 10 日

関 係 各 位

長崎県 ATL 母子感染防止研究協力事業連絡協議会
(事務局：長崎県こども政策局こども家庭課母子保健班)

ATL 母子感染防止研究協力事業の実施状況 (平成 24 年 3 月 31 日現在)

平素より ATL 母子感染防止研究協力事業にご協力いただき心より感謝申し上げます。この度、平成 23 年の事業実施状況、および、2011 年分の各小児科医療機関へのアンケート調査の結果がまとまりましたので下記のとおり報告いたします。

APP2009 にプログラム変更して丸 3 年が過ぎ、今年度から本プログラムによる栄養方法によらない一律 3 歳を過ぎてから出生児の HTLV-1 抗体検査を行うこととなります。小児科の先生方にはお手数をおかけしますが追跡調査へのご協力どうかよろしく願いいたします。

また、本事業に関するご質問は、お手数ですが事務局担当：小田まで電話、メール等にてご連絡いただきますようお願いいたします。

Tel：095-895-2445 (長崎県こども家庭課)

メールアドレス：odadis@pref.nagasaki.lg.jp

1. 妊婦抗体検査状況

概況：妊婦の抗体陽性率は事業開始以降順調に低下し、2003 年には 2%を割り込み 2005 年から 1.5%程度、2011 年には 1%まで低下しています。出生数を母数とした妊婦の抗体検査率 (推定) は近年 70%をやや超える程度まで低下していましたが、全国的に話題になったためでしょうか 2009 年以降は 80%を超えています。

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)%推定	(C)	(D)	(D)/(B)%
1987	18,962	-	-	511	390	-
1988	18,233	9,579	52.5	1076	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	80.0	463	420	3.6
1996	15,182	12,966	85.4	396	342	2.6
1997	14,431	12,273	85.0	321	310	2.5
1998	14,672	12,403	84.5	356	339	2.7
1999	14,121	12,008	85.0	290	279	2.3
2000	14,098	10,286	73.0	287	276	2.7

2001	13,871	11,279	81.3	242	229	2.0
2002	13,260	10,724	80.9	230	211	2.0
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	74.0	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	8,934	73.4	134	124	1.4
2009	11,838	9,654	81.6	133	113	1.2
2010	12,002	9,998	83.3	145	119	1.2
2011	11,727	9,873	84.2	117	102	1.0
合計	360,201	*255635	*74.9	9683	8242	*3.07
			*1987～2011年			

2. 2011年地域別妊婦抗体陽性率（県外をのぞく）

妊婦抗体陽性率は3%を超える地域はなく対馬、福江・新上五島が2%台で県の平均値は1%となっています。諫早・大村・東彼、島原地域の陽性率は従来と同様に低く平戸・北松、福江・新上五島も今年度は1%を超えました。陽性者数が少なくなり年度ごとの地域の陽性率の変動がかなり目立つようになりました。

地域	妊婦1次 抗体検査数	精密 検査数	抗体 陽性者数	妊婦抗体 陽性率(%)
長崎・西彼	3,855	46	43	1.1
佐世保	1,876	19	19	1.0
諫早	771	3	3	0.4
大村・東彼	979	9	9	0.9
島原	286	2	2	0.7
南高	727	14	5	0.7
松浦・平戸・北松	532	7	6	1.1
福江・新上五島	268	7	7	2.6
壱岐	120	3	2	1.7
対馬	208	5	5	2.4
合計	9,622	115	101	1.0

3. 出生年代別妊婦抗体陽性率（2001～2011年累積）

妊婦抗体陽性率は出生年代が遅いほど低くなっており、1986～1995年に生まれた妊婦さんの抗体陽性率は人5,402中37名、0.68%で、そのうち1991年以降に生まれた356名では陽性者は2名、0/56%でした。

出生年代	1次検査 実施数	2次検査 実施数	陽性者数	抗体陽性 率(%)
1955以前	10	1	1	10.00
1956～1960	238	8	8	3.36
1961～1965	2,954	89	87	2.95
1966～1970	13,485	306	294	2.18
1971～1975	31,806	523	470	1.48
1976～1980	31,104	447	404	1.30
1981～1985	17,760	231	199	1.12
1986～1990	5,046	44	35	0.69
1991～1995	356	2	2	0.56
1996～2000	1	0	0	0.00
合計	102760	1651	1500	1.46

4. 出生児の追跡調査

1) 出生連絡票回収率

産科からの出生連絡票の回収率は60%前後で推移していましたが、ここ3年間は80.0%を超えています。

検査年	抗体陽性 妊婦数	連絡票回収 数	回収率
1999	239	148	61.9
2000	194	126	64.9
2001	197	116	58.9
2002	182	106	58.2
2003	163	104	63.8
2004	161	114	70.8
2005	115	73	63.5
2006	121	70	57.9
2007	116	71	61.2
2008	121	76	62.8
2009	106	87	82.1
2010	110	99	90.0
2011	97	82	84.5
合計	1922	1272	66.2

2) 選択された栄養方法

出生連絡票に記載してある児の栄養方法の選択については、人工栄養は70.7%で、短期母乳は23.2%と増加傾向にあります。全国的な対策では短期母乳でも予防効果があまり変わらないとされたためかもしれません。ただ、母乳栄養を選択される方が少し減少しており望ましい傾向にあると思われれます。

検査年	人工	混合	短期母乳	母乳	合計
1999	117	5	8	18	148
(%)	79.1	3.4	5.4	12.2	
2000	97	2	15	12	126
(%)	77.0	1.6	11.9	9.5	
2001	85	3	15	13	116
(%)	73.3	2.6	12.9	11.2	
2002	70	2	18	16	106
(%)	66.0	1.9	17.0	15.1	
2003	76	2	10	16	104
(%)	73.1	1.9	9.6	15.4	
2004	63	7	18	26	114
(%)	55.3	6.1	15.8	22.8	
2005	53	1	11	8	73
(%)	72.6	1.4	15.1	11.0	
2006	43	1	18	8	70
(%)	61.4	1.4	25.7	11.4	
2007	45	0	14	12	71
(%)	63.4	0.0	19.7	16.9	
2008	43	0	20	13	76
(%)	56.6	0.0	26.3	17.1	
2009	56	1	22	8	87
(%)	64.4	1.1	25.3	9.2	
2010	71	1	22	9	103
(%)	68.9	1.0	21.4	8.7	
2011	58	0	19	5	82
(%)	70.7	0.0	23.2	6.1	
合計	877	25	210	164	1276
(%)	68.7	2.0	16.5	12.9	

3) 小児科受診件数

1999～2009 年に出生した児で現在までに小児科を受診したのは小児科医療機関へのアンケート調査結果を含めて 380 人でした。2009 年の出生児が今年 3 歳に達しますが、今年度からは児の HTLV-1 抗体検査は栄養方法にかかわらず一律 3 歳を過ぎてから行うこととなりますので小児科の先生方にはよろしく申し上げます。なお、検査を受けていないお子さんを診察された時には可能な範囲で結構ですので、検査を受けられるよう働きかけて戴ければと思います。

出生年	小児科受診件数
1999	19
2000	67
2001	45
2002	34
2003	49
2004	46
2005	39
2006	38
2007	23
2008	19
2009	1
合計	380

4) 児の追跡調査結果

小児科を受診した児については 380 人中、人工栄養 286 人(75.2%)、短期母乳 50 人(13.2%)、母乳 29 人(7.6%)となっています。児の抗体陽性率は人工では 3.5%、短期 2.0%、母乳 17.2%でしたが、母数が少ないため統計学的な比較は行っていません。

栄養方法	抗体陽性者数	抗体陰性者数	合計	抗体陽性率(%)
人工	10	276	286	3.5
短期	1	49	50	2.0
混合	1	14	15	6.7
母乳	5	24	29	17.2
合計	17	363	380	

別冊日本臨牀 新領域別症候群シリーズ No.25 (2013年9月20日発行) 別刷

感染症症候群(第2版)

—症候群から感染性単一疾患までを含めて—

下 臓器別感染症編

XIII. 先天性・母子感染症

HTLV-1 母子感染

増崎英明

XIII 先天性・母子感染症

HTLV-1 母子感染

Vertical infection of HTLV-1

増崎 英明

Key words : HTLV-1, ATL, 母子感染, 母乳, 人工栄養

はじめに

HTLV-1 (human T-cell leukemia virus type I) は成人T細胞白血病 (adult T-cell leukemia: ATL) の病原ウイルスである。いったんヒトに感染すると持続的にHTLV-1を保持する無症候性のキャリアとなる。キャリアは40歳を過ぎる頃から、およそ年間1,000人に1人の割合でATLを発症する。キャリアはATL発症の危険性のみならず、次世代に新たなキャリアを生み出していく可能性を有している。

キャリアは成人後の輸血ないし夫婦間の感染によっても生じるが、ATLの発症に関しては、乳幼児期の感染が主な原因と考えられている。したがって、母子感染の予防は、児の将来的なATL発症のみならず、感染連鎖の悪循環を断ち切るという意味からも重要である。

本稿では、HTLV-1母子感染について述べるとともに、長崎県で26年間にわたって続けてきた母子感染防止研究事業についても触れたい。

1. ATLおよびHTLV-1

ATLは異常T細胞の増殖によって生じる。発症時期はほとんどが40歳以上の成人であるが、いったん発症するとその予後は極めて不良である。ATLは西日本、特に九州に多発し、その発症に地域的な偏りがある。しかし、最近になってキャリアの分布が全国に拡散していることが指摘されている。通常のウイルス感染では、抗

体ができ免疫が成立すると、体内からウイルスは消失する。一方、HTLV-1の場合は一生体内に存在し続ける。このような状態の人をキャリアと呼ぶ。キャリアはHTLV-1の感染源と考えられる。

HTLV-1の感染経路として、①輸血、②性交、および③母子感染、の3つが考えられる。現在では輸血によるHTLV-1感染の危険性はまずない。性交による感染は精液中にある感染リンパ球の移行による夫から妻へのものであり、妻から夫への感染はないものと考えられている。なお、輸血および性交によるHTLV-1感染の多くは成人において生じるが、この場合、当人が新しいキャリアになっても、おそらくATLは発症しない。すなわち、HTLV-1母子感染防止がATL発症予防の意味で重要である。

2. HTLV-1の母子感染

1) 疫学

長崎市周辺のHTLV-1キャリア母親より出生した1歳以上の児78例に関する長崎大学の調査では、17例(22%)にHTLV-1抗体が証明され、母親側からみた場合、母子感染によることが推測された。逆にキャリア児の側からみた場合、13例のキャリア児の母親のうち12例(92%)がキャリアであった。更に、キャリア妊婦の母親についても10例のうち8例がキャリアであり、母親がキャリアでなかった妊婦2例は大量輸血の既往があり、輸血による感染と思

Hideaki Masuzaki: Department of Obstetrics and Gynecology, Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 展開医療科学講座 産科婦人科学分野

われた。これらの疫学的調査結果はHTLV-1母子感染の存在を強く示唆している。

2) 感染経路

母子感染の経路としては、① 遺伝子感染、② 子宮内感染、③ 産道感染、および④ 出生後感染、の4つが考えられる。HTLV-1は内在性ウイルスではないので遺伝子感染の可能性はない。子宮内感染であれば、臍帯血に感染リンパ球ないしウイルスに対するIgM抗体が出現するはずである。著者らが行ったキャリア妊婦からの出生児115例における臍帯血検査では、113例にIgG抗体が検出されたが、IgM抗体はすべて陰性であり、リンパ球培養でHTLV-1抗体を証明したものもなかった。IgG抗体は、母体血抗体価との相関および生後の急激な抗体価減少から、母親由来の移行抗体と考えられた。したがってHTLV-1に関しては、子宮内感染があったとしてもその頻度は極めて低いと思われる。

キャリア母親から出生した児の18カ月未満における抗体保有状況をみると、生後6カ月までは移行抗体と思われる抗体陽性例がみられるが、その後、11カ月までは陽性例はなく、12カ月以後になると、感染によると考えられる抗体陽性例が発見された。感染から抗体出現までの期間は通常2-3カ月と考えられることから、HTLV-1の産道感染は少なくとも主要経路とは考えられない。このような成績から、著者らはHTLV-1母子感染の多くは出生後に生じると考え、その経路について検討した。HTLV-1の母子感染成立には、母から児への感染リンパ球の移行が必要である。母親の唾液や分泌物中にも感染リンパ球は存在するが、その数は少ない。すなわち、母子間のリンパ球移行は授乳によることが主と考えられた。そこでキャリア妊婦から出生した1歳以上の児について、栄養方法とHTLV-1抗体保有率との関係を検討したところ、HTLV-1抗体は母乳栄養児では37例のうち14例(38%)、混合栄養児では31例のうち3例(10%)に認められたが、人工栄養児では10例のすべてに証明されなかった。このことから、母乳による感染の存在が強く示唆された。

表1 授乳期間別にみたHTLV-1抗体陽性率 (2000年12月31日現在)

栄養方法	陽性	陰性	合計	%
人工	23	939	962	2.4
短期(6カ月未満)	14	155	169	8.3
長期(6カ月以上)	71	275	346	20.5

3. 長崎県におけるHTLV-1母子感染防止事業

1) 介入試験と現在までの成果

以上のような成績を基に、著者らは1987年からの26年間、長崎県医師会、日本母性保護医協会長崎県支部、長崎県小児科医会、長崎大学医学部、国立長崎中央病院および長崎県で構成される‘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’を設置し、長崎県全域の産婦人科において、母乳停止による介入試験を実施してきた。この間に25万人以上の妊婦を対象に抗体検査を行い、8,000人以上のキャリアが検出された。その結果、以下のことが証明された。① HTLV-1母子感染の主経路は母乳感染である。② 少数ではあるが母乳以外の感染経路が存在する。③ 母子感染の予防法として人工栄養が最も有用である。④ HTLV-1抗体を用いて児への感染を証明できる時期は生後24カ月以降である。更に、⑤ キャリアの母親からの母子感染率は、人工栄養で2.4%、母乳栄養では20.5%、および短期母乳(6カ月未満)では8.3%であることが明らかとなった(表1)。以上の長崎県における予防対策の成果として、約1,400人の小児のキャリア化が阻止され、将来のATL発症が70人程度防止されたと考えられる(表2)。

2) キャリア妊婦および児への対応

HTLV-1キャリアであることの告知は受け取り方によっては癌告知にも類似している。そのため、告知されたキャリアおよびその家族には相当の精神的負担が予想される。告知にあたっては、この点への配慮が十分になされなければならない。場合によっては家庭内問題となる可

表2 人工栄養による児のHTLV-1キャリア化
阻止数(1987-2007年)

1. 小児のキャリア化阻止数(母子感染予防数)
7,784人(キャリア妊婦総数)
×(0.205: 長期母乳のキャリア化率
-0.024: 人工栄養のキャリア化率)
=1,409人
2. ATL患者発症防止数
1,409×0.05=70.5人
(キャリア小児の生涯ATL発症率=約5%)

能性もあり、キャリアに関する情報はすべて厳密に秘密を守る必要がある。また医師によって説明内容が違っていたり、不十分な知識で説明されることがないように、連絡協議会では指導者用テキストならびに解説書を産婦人科医に配布し、統一的な事業の推進を図っている。キャリア妊婦へは、①成人T細胞白血病とは何か、②HTLV-1キャリアの意味、③妊婦自身がキャリアであること、④出産後、母乳を与えた場合の児への影響、および⑤出産後の具体的な母親への指導(母乳分泌抑制)などについて説明するが、告知はあくまで妊婦本人に行い、夫や家族には直接説明しない。本人が既に家族と相談している場合は例外であるが、家族に相談するか否かは本人が決定する。また、妊婦には母乳を与えると児へのHTLV-1感染の可能性が高いことを説明し、人工栄養で育てることを勧めるが、最終的な決定は本人に任せている。

3) 今後の課題

長崎県では上述したプロトコールに従って妊婦に説明しているが、およそ10%のキャリアは母乳栄養を、70%は人工栄養を、残りの20%は短期母乳を選択している。なお人工栄養を選択したにもかかわらず抗体が陽性化した児が2.4%存在するが、この場合の感染原因としては、子宮内感染、産道感染、その他の水平感染などが疑われる。今後は母乳以外からの感染の可能性、特に子宮内感染についての臍帯血を用いた再調査などが必要であろう。

母乳の利点については、栄養学的見地からはもちろんのこと、母子相互作用などの点からも重要であり、母乳の加熱あるいは冷凍処理によ

表3 確かな情報とは？

- ・ATLは予後不良な疾患である
(発病後の確実な治療法はない)
- ・原因ウイルスの感染がなければ発病しない
(発病と関連するのは母子感染である)
- ・直接哺乳により母児感染率は上昇する

るウイルスの死滅化、抗体価と感染力との関係、投与日数と感染成立の関連などに関する検討も行われている。長崎県などの感染流行地域では、HTLV-1キャリアのうちATLを発症するのは、1年間におよそ1,000例に1例の割合である。キャリアのうちの約半数は成人後の性交や輸血による感染者で、ほとんど発症リスクのない例なので、母子感染によるキャリアからの発症は年間およそ500例に1例の割合となり、30歳のキャリアが80歳まで生きると仮定すると、生涯を通じての発症は約10例に1例と試算される。

ATLがいったん発病すれば、およそ2年以内にほとんどが死亡する悪性度の高い疾患であることを考慮すると、現在のところ、その感染を有効に抑制できる人工栄養法が選択されてしかるべきであろう。しかしながら、一方では、HTLV-1キャリアからの母乳投与についても、実行可能な感染予防策が講じられるよう追求していかなばならない。

おわりに

HTLV-1母子感染により発症するATLについて述べた。また、長崎県で26年間にわたって継続中の母乳抑制による母子感染予防対策について概説した。ATLは極めて予後不良な疾患であり、母乳抑制によるキャリア化の防止は産科医の役割ともいえる。しかしながら、キャリアであることを告知された母親にとっては、自分のことであり(発症の危険性)、子どものことであり(感染させる危険性)、親と子どもの関係(母乳か制乳か)でもあって、その悩みは深い。一方、告知を迫られる産科医の悩みにも深いものがあるが、この際に忘れてならないことは、確かな情報を母親に提供するということである

う(表3). 感染防止の取り組みが少しでも役立つことを願うものである。
最近になって妊婦に対する抗体検査が全国的に行われるようになった。長崎県における母子

■ 文 献

- 1) 増崎英明ほか：母乳による HTLV-1 の母児感染. 産婦人科の実際 38: 1433-1437, 1989.
- 2) 長崎県 ATL ウイルス母子感染防止研究協力事業 (APP) 報告書—20 年のあゆみ—. 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, 長崎県こども政策局, 2008.
- 3) ATL(成人 T 細胞白血病・リンパ腫) ウイルス母子感染の予防. 指導者用テキスト, 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, 2009.
- 4) 増崎英明：HTLV-1 母子感染防止—長崎県における 24 年間の取り組み—. 日周産期・新生児会誌 47: 769-771, 2011.
- 5) 増崎英明ほか：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. 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 23 年度総括・分担研究報告書, 2011.

特集

母子保健のバージョンアップ

HTLV-I 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

増崎 英明

保健師ジャーナル

第69巻 第10号 別刷

2013年10月10日 発行

医学書院

HTLV-I 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

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科
展開医療科学講座産科婦人科学分野

増崎英明

成人 T 細胞白血病 (ATL) は母子感染が主な原因と考えられており、その予防は感染連鎖の悪循環を断ち切る意味で重要である。本稿では、長崎県で 26 年間にわたって続けられてきた母子感染防止研究事業とともに、母子感染防止に果たす保健師の役割について述べていただく。

はじめに

成人 T 細胞白血病 (adult T-cell leukemia : 以下、ATL) は異常 T 細胞の増殖によって生じる。その原因ウイルスは HTLV-I (human T-cell leukemia virus type I) である。発症時期はほとんどが 40 歳以上の成人であり、いったん発症するとその予後はきわめて不良である。

ATL は西日本、とくに九州に多発し、その発症に地域的な偏りがあり、以前は長崎県などの九州地区における風土病のように考えられた時期もあった。しかし最近になってキャリアの分布が東京などの都市部に拡散してきたことから、妊婦における抗体検査が全国規模で行われることとなった。

ATL の発症に関しては、母乳感染が主な原因と考えられており、母子感染の予防は、児の将来的な ATL 発症のみならず、感染連鎖の悪循環を断ち切るという意味からも重要である。本稿では HTLV-I 母子感染について解説し、とくに長崎県で 26 年間にわたって続けてきた母子感染防止研究事業、さらには母子感染防止に果たすべき保健師の役割についても触れる。

ATL および HTLV-I

HTLV-I は ATL の原因ウイルスである。通常のウイルス感染では、抗体ができ免疫が成立すると、体内からウイルスは消失する。一方、HTLV-I の場合は、いったんヒトに感染すると持続的にウイルスを保持する無症候性のキャリアとなり、ウイルスは一生体内に存在しつづける。キャリアは HTLV-I の感染源と考えられ、40 歳を過ぎる頃から、およそ年間 1000 人に 1 人の割合で ATL を発症する。キャリアは ATL 発症の危険性のみならず、次世代に新たなキャリアを生み出していく可能性も有している。

HTLV-I の感染経路としては、①輸血、②性交、および③母子感染の 3 つが考えられる。現在では輸血による HTLV-I 感染の危険性はまずない。性交による感染は精液中にある感染リンパ球の移行による夫から妻へのものであり、妻から夫への感染はないものと考えられている。なお、輸血および性交による HTLV-I 感染の多くは成人において生じるが、この場合、当人が新しいキャリアになっても、おそら

く ATL は発症しない。したがって HTLV-I 母子感染防止が、ATL 発症予防の意味で重要となる。

HTLV-I の母子感染

■疫学

長崎市周辺の HTLV-I キャリアの母親から出生した 1 歳以上の児 78 例に関する長崎大学の調査では、17 例(22%)に HTLV-I 抗体が証明され、母親側からみた場合、母子感染によることが推測された。逆にキャリア児の側からみた場合、13 例のキャリア児の母親のうち 12 例(92%)がキャリアであった。さらにキャリア妊婦の母親についても 10 例のうち 8 例がキャリアであり、母親がキャリアでなかった妊婦 2 例は大量輸血の既往があり、輸血による感染と思われる。これらの疫学的調査結果は HTLV-I 母子感染の存在を強く示唆している。

■感染経路

母子感染の経路としては、①遺伝子感染、②子宮内感染、③産道感染、および④出生後感染、の 4 つが考えられる。HTLV-I は内在性ウイルスではないので遺伝子感染の可能性はない。

子宮内感染であれば、臍帯血に感染リンパ球ないしウイルスに対する IgM 抗体が出現するはずである。私どもが行ったキャリア妊婦からの出生児 115 例における臍帯血検査では、113 例に IgG 抗体が検出されたが、IgM 抗体はすべて陰性であり、リンパ球培養で HTLV-I 抗体を証明したものもなかった。IgG 抗体は、母体血抗体価との相関および生後の急激な抗体価減少から、母親由来の移行抗体と考えられた。従って HTLV-I に関しては、子宮内感染があったとしてもその頻度はきわめて低いと思われる。

る。

キャリア母親から出生した児の 18 か月未満における抗体保有状況を見ると、生後 6 か月までは移行抗体と思われる抗体陽性例がみられるが、その後、11 か月までは陽性例はなく、12 か月以後になると、感染によると考えられる抗体陽性例が発見された。感染から抗体出現までの期間は通常 2~3 か月と考えられることから、HTLV-I の産道感染は少なくとも主要経路とは考えられない。

このような成績から、私たちは HTLV-I 母子感染の多くは出生後に生じると考え、その経路について検討した。

HTLV-I の母子感染成立には、母から児への感染リンパ球の移行が必要である。母親の唾液や分泌物中にも感染リンパ球は存在するが、その数は少ない。すなわち、母子間のリンパ球移行は授乳によることが主と考えられた。そこでキャリア妊婦から出生した 1 歳以上の児について、栄養方法と HTLV-I 抗体保有率との関係を検討したところ、HTLV-I 抗体は母乳栄養児では 37 例のうち 14 例(38%)、混合栄養児では 31 例のうち 3 例(10%)に認められたが、人工栄養児では 10 例のすべてに証明されなかった。このことから、母乳による感染の存在が強く示唆された。

長崎県における HTLV-I 母子感染防止事業

■介入試験と現在までの成果

以上のような成績をもとに、私たちは 1987 年からの 26 年間、長崎県医師会、日本母性保護医協会長崎県支部、長崎県小児科医会、長崎大学医学部、国立長崎中央病院および長崎県で構成される「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」を設置し、長崎県

全域の産婦人科において、母乳停止による介入試験を実施してきた。この間に25万人以上の妊婦を対象に抗体検査を行い、8000人以上のキャリアが検出された(表1)。その結果、以下のことが証明された。

- ①HTLV-I母子感染の主経路は母乳感染である。
- ②少数ではあるが母乳以外の感染経路が存在する。
- ③母子感染の予防法として人工栄養が最も有用である。
- ④HTLV-I抗体を用いて児への感染を証明できる時期は生後24か月以降である。

さらに、
⑤キャリアの母親からの母子感染率は、人工栄養で2.4%、母乳栄養では20.5%、および短期母乳(6か月未満)では8.3%であることが明らかとなった(表2)。

以上の長崎県における予防対策の成果として、約1400人の小児のキャリア化が阻止され、将来のATL発症が70人程度防止されたと考えられる(表3)。このような取り組みの結果、本事業の開始から20年を経過した1986年以前および以後の妊婦の抗体保有率には、1.48%および0.6%と、明らかな減少が認められている(表4)。

■キャリア妊婦および児への対応

HTLV-Iキャリアであることの告知は、受け取り方によっては癌告知にも類似している。そのため、告知されたキャリアおよびその家族

表1 妊婦 HTLV-I スクリーニング検査成績の年次推移

年	出生数 (A)	妊婦抗体検査数 (B)	妊婦検査率 (B)/(A)%	精密検査数 (C)	抗体陽性者数 (D)	妊婦抗体陽性率 (D)/(B)%
1987	18962	—	—	511	390	—
1988	18233	9579	52.5	1076	691	7.2
1989	17256	15241	88.3	856	702	4.6
1990	16517	14504	87.8	804	658	4.5
1991	16671	14221	85.3	725	630	4.4
1992	16036	12123	75.6	677	566	4.7
1993	15769	10422	66.1	600	513	4.9
1994	15951	9814	61.5	523	477	4.9
1995	14780	11820	80.0	463	420	3.6
1996	15182	12966	85.4	396	342	2.6
1997	14431	12273	85.0	321	310	2.5
1998	14672	12403	84.5	356	339	2.7
1999	14121	12008	85.0	290	279	2.3
2000	14098	10286	73.0	287	276	2.7
2001	13871	11279	81.3	242	229	2.0
2002	13260	10724	80.9	230	211	2.0
2003	12971	10493	80.9	197	180	1.7
2004	12947	9990	77.2	184	177	1.8
2005	12148	8987	74.0	133	127	1.4
2006	12410	8909	71.8	144	138	1.5
2007	12175	8713	71.6	139	129	1.5
2008	12173	8930	73.4	131	124	1.4
2009	11838	9654	81.6	134	114	1.2
2010	13340	9998	74.9	145	119	1.2
2011	11554	9873	85.5	117	102	1.0
2012		9598		122	97	1.0
合計	371353	274808		9803	8340	2.8

表2 授乳期間別にみた HTLV-I 抗体陽性率 (2000年12月31日現在)

栄養方法	陽性	陰性	合計(%)
人工	23	939	962(2.4)
母乳：短期(6か月未満)	14	155	169(8.3)
母乳：長期(6か月以上)	71	275	346(20.5)

χ²: 人工-短期 15.7
人工-長期 125.5
短期-長期 12.3