

201420057B

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
(新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業)

抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンによる HTLV-1 の革新的
感染予防モデルの開発とその有効性の検討

平成24年度～26年度 総合研究報告書

研究代表者 水上 拓郎

平成27年(2015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
(新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業)

抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンによる HTLV-1 の革新的
感染予防モデルの開発とその有効性の検討

平成 24 年度～26 年度 総合研究報告書

研究代表者 水上 拓郎

平成 27 年 (2015 年) 3 月

目 次

I.	総合研究報告書.....	P. 1
	抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンによる HTLV-1 の革新的感染予防モデルの開発とその有効性の検討 水上拓郎, 浜口功, 大隈和, 山口一成, 佐竹正博, 田所憲治, 松本千恵子, 蕎麦田理恵子, 野島清子	
II.	研究成果の刊行に関する一覧表.....	P.31
III.	研究成果の刊行物・別刷.....	P.37

I. 総合研究報告

総合研究報告書

抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンによる HTLV-1 の
革新的感染予防モデルの開発とその有効性の検討

研究代表者	水上 拓郎	国立感染症研究所	血液・安全性研究部	室長
研究分担者	浜口 功	国立感染症研究所	血液・安全性研究部	部長
研究分担者	大隈 和	国立感染症研究所	血液・安全性研究部	室長
研究分担者	山口 一成	国立感染症研究所	血液・安全性研究部	
研究分担者	佐竹 正博	日本赤十字中央血液研究所		副所長
研究分担者	田所 憲治	日本赤十字中央血液研究所		所長
研究協力者	松本 千恵子	日本赤十字中央血液研究所		
研究協力者	蕎麦田 理英子	日本赤十字中央血液研究所		
研究協力者	野島 清子	国立感染症研究所	血液・安全性研究部	研究員

成人T細胞白血病はヒトT細胞白血病ウイルス I 型 (HTLV-1) の感染によって引き起こされる末梢性 T 細胞の腫瘍性疾患である。現在、母子感染を予防する事が HTLV-1 の感染防止及び蔓延防止の最も有効な手段であると考えられ、人工栄養あるいは短期母乳との併用による感染予防策が講じられている。しかし完全人工栄養法を選択しても約 3% の母子感染が発生している事から、新たな感染予防方法の研究・開発が望まれてきた。日本赤十字血液センターでは高感度な CLEIA 法を用い、HTLV-1 抗体検査を実施している。HBV と同様に HTLV-1 抗体陽性血漿由来のグロブリンを用いることで HTLV-1 感染防止が可能であると示唆される。そこで本研究課題においては、日本赤十字社の協力を得て、抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリン (HTLV-IG) の開発を目的とし、in vitro での HTLV-IG 感染予防能について検討した。まず、感染細胞として MT-2, SLB-1 を用い、マイトマイシン C 処理後に非感染細胞である Jurkat 細胞と共培養する事で、感染モデルを構築し標準化することに成功した。また本感染系に陽性血漿を添加した結果、有意に感染を阻止する事が可能である事が明らかとなった。そこで、日本赤十字社にある HTLV-1 陽性血漿を用いて、in vitro のスクリーニングを行った結果、Proviral load (PVL) が 4 以上の検体で有意に感染を阻害する事が明らかとなった。更に、SLB-1 と Jurkat 細胞の共培養によるシンシチウム形成の阻害に関しても同様の結果が得られた。日本赤十字社にある陽性血漿 30 例について、PVL, Western blotting, ELISA を行い、その特性を明確にし、感染阻害・あるいはシンシチウム形成阻害効果に有効なパラメーターの検索をおこなった結果、PVL がもっとも高い相関を示した。次に、ヒト化マウスにおける阻害効果を調べる目的で、NOG マウス用いたヒト化マウスの作成を行い、マイトマイシン C 処理した MT-2 細胞を感染させる事で、HTLV-1 感染モデルの作出に成功した。更に、高力価 IG の精製に成功し、その有効性をヒト化マウスで検討した。その結果、PVL4 以上の陽性血漿から製造された抗 HTLV-IG を投与したマウスでは何れも観察期間内 (感染後 38 日迄) HTLV-1 感染細胞の出現を認めず、HTLV-1 感染を完全に阻止している事が明らかとなった。今後は、PVL4 以下の検体から製造された HTLV-IG などを用い、有効性を確認し、原料血漿基準案を策定するとともに、安全性についてより詳細に評価する必要があると考える。

A. 研究目的

成人 T 細胞白血病 (ATL) はヒト T 細胞白血病ウイルス I 型 (HTLV-1) の感染によって起こる

末梢性 T 細胞の腫瘍性疾患である。HTLV-1 は T 細胞に感染し、T 細胞同士の Cell to Cell 接触によって感染・伝達し、感染細胞が増殖する。感染のルートとしては輸血・性交渉・母子感染が考えられる。輸血は既に日本赤十字社で抗体スクリーニングが実際され対策が講じられている事から感染の危険性は極めて低いものと考えられている。よって母子感染を予防する事が HTLV-1 の感染防止及び蔓延防止の最も有効な手段であると考えられ様々な対策が講じられている。妊婦健診等で感染が確認された妊婦については人工栄養あるいは短期母乳との併用による感染予防策が勧められている。その結果、HTLV-1 の流行地であった長崎県では、1950 年には約 6%であったキャリア率は 2010 年では 0.06%まで減少した。一方で諸事情から長期母乳を選択する方や、育児の過程で短期母乳から長期母乳に移行してしまう妊婦も少なくなく、感染のリスクが残存する。また近年の疫学的研究結果から、HTLV-1 の感染が、流行地と考えられていた九州以外の都市部で増加傾向にあることが明らかとなった (厚生労働科学研究班「本邦における HTLV-1 感染及び関連疾患の実態調査と総合対策」(研究代表者：国立感染症研究所 血液・安全性研究部 山口一成))。また驚く事に母子感染対策として、完全人工栄養を選択しても、約 3%の HTLV-1 感染が発生している事が明らかとなり、母乳感染以外の感染経路が疑われていると共に、母子感染予防法の開発、ウイルス治療薬の開発が望まれて来た [図 1]。

ウイルスの新生児感染が問題となった B 型肝炎ウイルス (HBV) においては、出生児母子感染を予防する目的で、抗 HBs ヒト免疫グロブリン (HBIG) や B 型肝炎ワクチンが開発され、出生児の HBV への感染防止が可能となった。一方、HTLV-1 に関しては日本赤十字血液センターでは昭和 61 年以降、全ての献血血液に対し PA 法による HTLV-1 検査を実施し、更に近年はより高感度な CLEIA 法を用い、HTLV-1 抗体検査を実施している。HBV 感染予防と同様に HTLV-1 抗体陽性血漿由来のグ

ロブリン製剤を用いること HTLV-1 感染防止が可能であると考えられ、三好らの研究からも HTLV-1 陽性血漿から精製した抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリン (HTLV-IG) が、ウサギモデル等において母子感染を抑制する事が明らかとなっている。しかしこれらの製剤は非常に残念な事に、実用化されることなく現在に至っている。

そこで本研究課題においては、1) 日本赤十字社の協力を得て、抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリン (HTLV-IG) の開発し、その有効性を再検討すると共に、2) *in vitro* の HTLV-1 感染モデルを構築し、HTLV-IG の有効性を検討すると共に、より有効な抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリン製剤を作る為に必要な原料血漿基準となりうるような指標を探す事を目的とした [図 2]。さらに有効性が確認された場合は *in vitro* モデルのみならず、3) ヒト化マウスを用いた感染モデルの開発と、HTLV-IG の有効性の検討を行い、*in vitro* スクリーニングで得られた原料血漿基準を検証する事を目的とした [図 3]。

B. 研究方法

1. 抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンの開発

当初の計画では、まず HTLV-1 陽性血漿より抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンを実験室レベルで製造し、実験に供する予定であったが、まず陽性血漿の絞り込みを行い、免疫グロブリンに精製する前の血漿レベルで、一次スクリーニングを行う事とした。そこで日本赤十字社が持つ HTLV-1 陽性血漿の中から、感染ウイルス量 (PVL) の高い血漿、中間のもの、低コピーのものなど様々な検体を提供していただき、更にこれらの陽性血漿に含まれる中和抗体のエピトープを同時に検討する目的で各種抗原 (p24 (gag: capsid), gp46-21 (env), pep180 (env)) の ELISA 解析と western blot 解析 (p19, p24, p53, gp46) を行い、約 30 検体の性状解析・評価を行った [佐竹・田所班]。

2. *in vitro* スクリーニング系の開発

これらの陽性血漿の有効性を検討する為にハイスループットな *in vitro* スクリーニング系を開発する目的で、HTLV-1 感染細胞株を用いた感染モデルを構築することを検討した。既存の HTLV-1 感染細胞株 (MT-2, SLB-1, HUT102, TL-Om1) にマイトマイシン C 処理 (50ug/mL) を行い、非感染細胞である Jurkat 細胞と様々な比率で混合し、一定期間培養する事で、Jurkat 細胞へのウイルス感染価を評価する。特に、プロウイルス量 (PVL) を用いた評価に関しては MT-2 と Jurkat 細胞を用いることで評価可能であることが明らかとなったのでそれを用いた。また機能アッセイとして、HTLV-1 感染に依って引き起こされるシンシチウム形成を応用し、SLB-1 と Jurkat 細胞の培養系を用いた。この二つの系で 30 種の HTLV-1 陽性血漿の添加実験を行い、感染抑制能を評価する一次スクリーニングを実施する。更に、感染防御能の高かった検体をしらべ、どのようなパラメーターが有効だったかを検証する。

3. 実験室レベル準拠 HTLV-IG の製造

HTLV-1 抗体陰性血漿は、献血血液の研究開発等での使用に係る申請を行い、承認後に日本赤十字社より譲渡されたものを使用した。HTLV-1 抗体陽性検体は日本赤十字社より譲渡された。CLEIA 法および、IF 法にて陽性を確認したものを使用した。

コーンのエタノール分画溶離液

血漿 20~40mL を 4°C でゆっくり融解し、4°C、16000xg で 25 分間遠心し、沈殿上清に分画した。脱クリオ成分を低温下で攪拌しながら pH 調整用酢酸緩衝液 pH4.0 を添加して調整し、検体の一部を採取して室温で pH7.5 付近となるよう調整した。次に -3°C で攪拌しながら、最終濃度が 8% となるように約 15uL/秒の速度でエタノールを添加し 15

分間反応させた。エタノール処理後の溶液を -1°C、10,000xg で 15 分間遠心し、上清を回収した。8% エタノール上清画分を低温化で攪拌しながら、pH が 6.75 付近になるように調整し、-5°C で攪拌しながら最終濃度が 25% となるように約 15uL/秒の速度でエタノールを添加した後、15 分間反応させた。エタノール処理後の溶液を -1°C、10,000xg で 15 分間遠心し、沈殿のグロブリン分画を得た。沈殿容量の 20 倍量のリン酸緩衝液 pH 6.25 で懸濁し、-5°C で攪拌しながら、最終濃度が 20% となるように約 15uL/秒の速度でエタノールを添加し 15 分間反応させた。エタノール処理後の溶液を -5°C、10,000xg で 15 分間遠心し、沈殿を回収した。沈殿容量の 20 倍量のリン酸緩衝液 pH 6.25 で懸濁し、-6°C で攪拌しながら、最終濃度が 17% となるように約 15uL/秒の速度でエタノールを添加し 15 分間反応させた。エタノール処理後の溶液を -5°C、10,000xg で 15 分間遠心し、上清を回収した。尚、Cohn のエタノール分画は、*Biologicals* (1994) 22,13-19 に準じて行った。

参考文献 : Louie RE, Galloway CJ, Dumas ML, Wong MF, Mitra G. Inactivation of hepatitis C virus in low pH intravenous immunoglobulin. *Biologicals*. 1994; 22: 13-19.

回収率および精製度の確認

高速液体クロマトグラフ装置を用いて、サイズ排除クロマト蔵フラフィー (G3000SWXL : ゲルろ過カラム (東ソー)) により分析を行った。回収率は、原料として用いた血漿および最終精製品を G3000SWXL カラムで分析した際の、グロブリンピークの面積値を用いて算出した。精製度は、最終精製品全体のピーク面積の総和に対する、グロブリンモノマーピークの面積%を用いて算出した。

4. ヒト化マウスの作成

HTLV-IG の *in vivo* の有効性を明らかにする目的で、超免疫不全マウスである NOG マウス (NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Sug/ Jic) にヒト PBMC を移植し、ヒト化マウスを作成する。また、移植後の抹消血中の human CD45, human CD4, human CD8 の割合をフローサイトメトリー (JSAN, Baybioscience 社) で調べ、ヒト細胞の定着を確認する [水上班]。また、長期感染モデルを構築する為に、NOJ マウス (NOD/ Scid/Jak3) にヒト CD34 細胞を *intrahepatic* に移植し、造血を再構築させた後に HTLV-1 を感染させるモデルを構築する [大隈・浜口班]。

4. ヒト化マウスを用いた HTLV-1 感染モデルの構築

ヒト化マウスを用いた HTLV-1 感染系を構築する目的で、ヒト PBMC 移植 3 日後に、マイトマイシン C 処理 (MMC, 50ug/mL) した MT-2 細胞を腹腔内移植し、感染させる。MMC 処理 MT-2 による感染後 10 日前後の抹消血、腹腔内洗浄液、脾臓細胞を分離し、白血球数、human CD45, mouse CD45, human CD4, human CD8 の割合を調べ、ヒト化マウスへの HTLV-1 感染を確認するとともに、抹消血、腹腔内細胞、脾臓の genomic DNA を抽出し、HTLV-1 の感染の有無を確認する。また、脾臓・肺・肝臓などの組織を採材し、4%PFA/PBS で固定した後、常法に従って 4-6um の切片を作成し、Hematoxylin- Eosin 染色、PAS-Hematoxylin 染色を行い、病理所見を明らかにすると共に、免疫組織化学を行い、T 細胞 (CD3, CD4, CD8, Ki-67, CCR4, CD25, CD30), B 細胞 (CD20, CD79a) などの各種免疫組織化学染色を行い、各種細胞の動態を明らかにする。

C. 研究結果

1. HTLV-1 陽性血漿の性状解析

日本赤十字社が実施した HTLV-1 スクリーニングで陽性となった検体中から、感染ウイルス量 (PVL) の値からウイルス量の高値のもの (4 以上) と、中間値のもの (0.49-1.39)、さらにそれよりも低値のもの (0.01 以下) の 3 つの群に分類した。さらにそれらの中和エピトープを詳細に解析し、Peptide ELISA を行い、p24, gp46, pep180 などへの反応性を検討し、サンプルの性状を明らかにした [図 4]。

2. *in vitro* スクリーニング系の開発と標準化

そこで、これらの陽性血漿を用いてハイスループットな *in vitro* スクリーニング系を開発する目的で、細胞株を用いた感染実験モデルを構築することを検討した。既存の HTLV-1 感染細胞株 (MT-2, SLB-1, HUT102, TL-Om1) にマイトマイシン C 処理 (MMC, 50ug/mL) を 37°C で 1 時間行い、非感染細胞である Jurkat 細胞及び MOLT4 細胞を様々な比率で混合し、一定期間培養する事で、非感染細胞へのウイルス感染能を検討した。

その結果、MT-2 に関しては、特に容量依存性が高く、再現性共に優れていたため本スクリーニングに有効であると考えられた。一方、SLB-1 は HTLV-1 感染後にシンシチウム (合胞体) を形成するので、感染抑制の機能的側面の指標として有効であると考えられた。本試験法の標準化によって感染予防薬の開発にも応用可能と考えられた。そこで、今後は感染細胞として MT-2 及び SLB-1、非感染細胞として Jurkat 細胞を用い、30 種の HTLV-1 陽性血漿の添加実験を行い、中和活性の有無について一次スクリーニングを実施した。

3. 抗体陽性血漿を用いた感染抑制能の検討

ウイルス価を指標としたスクリーニング

2 で明らかとなった様に、感染細胞として MT-2 及び SLB-1、非感染細胞として Jurkat 細胞を用い、30 種の HTLV-1 陽性血漿の添加実験を行い、中和

活性の有無について一次スクリーニングを実施した。抗体の添加には感染細胞と非感染細胞を(1)共培養後に添加する方法と、感染細胞に事前に混和して共培養する方法があるが、同じ検体を用いて検討した結果、何れの方法でも抑制率に差はなかった。本実験系ではより直接的な影響を確認する為に細胞混和後に血漿を添加処理する方法を用いた。また、添加量に関しては当初1%の未精製の血漿を用いたが、この場合、何れの検体も高い抑制率を示し、ロット差を評価する事が難しいので、1.5%, 1%, 0.5%, 0.1%で濃度をふり、至適条件を再検討した。その結果、0.5%添加によって、検体間差が確認できる事が明らかとなった。そこで、MMC 処理した MT-2 細胞と Jurkat 細胞に 30 検体を 0.5%の濃度で添加し、10 日後の PVL をリアルタイム PCR で測定した。その結果、0.5%の添加の範囲で有意に感染を阻止した検体とそうではない検体が明らかとなった。そこで、それぞれの検体の特性と感染抑制率に関し、各種パラメーターの相関を調べた結果、感染抑制能は PVL 値と非常に良く相関することが明らかとなった [図 5]。

機能アッセイを指標としたスクリーニング

次に、SLB-1 と Jurkat 細胞の共培養感染系を用いたシンシチウムの形成抑制を指標に、検体の評価を行った。条件設定の為に血漿濃度を振って実験を行うと、0.3%の濃度で検体間の違いが明確に出来る事が明らかとなった。そこで、SLB-1 細胞と Jurkat 細胞に 30 検体を 0.3%の濃度で添加し、24 時間後のシンシチウムの数を顕微鏡にて計測した。その結果、0.3%の添加の範囲で有意にシンシチウム形成を阻止した検体とそうではない検体が明らかとなった。そこで、それぞれの検体の特性とシンシチウム形成阻害率に関し、各種パラメーターとの相関を調べた結果、感染抑制能と PVL との間で非常に良く相関することが明らかとなった [図 6]。

以上の結果より、我々は HTLV-1 感染細胞株を用いて HTLV-1 感染系を構築した。更に日本赤十字社献血由来、HTLV-1 抗体陽性血漿でスクリーニングを行った結果、抗体陽性献血者の PVL%が高く、env, gag の力価が高い血漿の感染抑制効果が高いことが明らかとなった。また、シンシチウム形成を抑制する系を立ち上げ、30 種類の HTLV-1 陽性血漿を用いてスクリーニングを行った結果、同様に PVL%が高く、env, gag の力価が高い血漿のシンシチウム形成抑制効果が高かった。よって、高力価グロブリン製剤作製の候補検体は、無症候性キャリアのうち、PVL%が高い検体を候補とするのがよいことが明らかとなった。特に PVL 4 以上の検体の抑制効果は統計学的にも有意であったので、これを仮の原料血漿基準とした [図 7]。

4. 抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンの製造

血液製剤メーカーが実際に原料血漿から免疫グロブリン製剤を製造する際に用いるコーンの血漿エタノール分画法に準じて、実験室レベルのコーンエタノール分画法を構築した [図 8]。

ヒト血漿を原料にして (図 5 左下、血漿中の黒矢印がグロブリン) にして、グロブリンを精製した (図 5 右下)。グロブリン粗精製分画である PII+III には、グロブリン凝集体が確認されたが、17%エタノール分画によりこれを除く事が出来た。最終製品の精製率は 97%以上であった。精製効率は約 37%であった。

5. ヒト化マウスを用いた HTLV-1 感染系の構築

次に、PVL 4 以上の検体が有意に感染を抑制する *in vitro* の結果を *in vivo* で確認する目的で、まず超免疫不全マウスである NOG マウス (NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1 Sug/Jic) にヒト PBMCs を

移植し、11日目、25日目の抹消血中の human CD45, mouse CD45 細胞、CD4 細胞、CD8 細胞の割合をフローサイトメトリー(JSAN, Bay Bioscience 社) で調べ、ヒト化マウスを構築した。その結果、何れも高い割合でヒト CD45 細胞及び CD4 陽性の T 細胞の定着が認められたため、この系を HTLV-1 感染に用いる事とした。

感染実験としては、MMC 処理 (50ug/mL) をした MT-2 細胞をヒト PBMC 移植後 3 日目に移植して行った。移植後 11 日目、25 日目の末梢血中のウイルスを定量 PCR 法にて比較した。コントロール群には HTLV-1 陰性血漿より精製したヒト免疫グロブリン (**Ccontrol-IG**) を、検体投与群 (**HTLV-IG**) には PVL4 以上の血漿より分離・精製した抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンを投与した。投与法は抑制能を検討する為、感染の 5 日前、感染当日、感染後 5 日目に行った。

まず HTLV-IG、Ccontrol-IG 接種による NOG マウスの体重変化や血液学的な変化は認められなかった。また、ヒト CD45 細胞、CD4 細胞の定着率にも変化は認められなかった。感染モデルにおいては Control-IG を投与した個体では白血球数の増加傾向、血小板の有意な増加が接種後 11 日目に認められた。接種後 11 日目に、腹腔内細胞、脾臓細胞、末梢血を回収したが、Control-IG 投与群では増加傾向が認められるものの細胞数に有意差は認められなかった一方、ヒト CD45 細胞中の CD4 細胞は増加傾向にあった。HTLV-IG 接種群、Control-IG 接種群何れにおいてもヒト CD45 細胞、CD4 細胞の定着割合に変化は認められなかった。

次に、回収した各細胞を Lymphoprep した後、単核球のみを分離精製し、genomic DNA を精製し、HTLV-1 の定量 PCR を行くと、Control-IG 投与群では接種後 11 日目において末梢血で 50% 程度、脾臓で 40% 前後、腹腔内細胞ではほぼ 100% の HTLV-1 感染が認められたが、HTLV-IG 接種群では何れの個体も感染が完全に抑制されて PVL はほぼ 0% となった[図 9]。この状態では、MMC 処

理によって死んでいない細胞等の混入が 100% 否定できないので MMC 処理及び未処理 MT-2 の細胞表面抗原がヒト CD45 陰性ヒト CD4 陽性であることを利用し、FACS でヒト CD45 細胞のみをソートし、genomic DNA を精製して再度定量 PCR を行った結果、同様の結果が得られ、HTLV-IG 投与群ではヒト血液細胞での感染が全く確認されなかった。

接種後 11 日目に、Control-IG 及び HTLV-IG 投与群より 3 匹個体を選び、各種組織を採材し、病理学的変化を解析した。

その結果、脾臓において、Control-IG 投与群では、リンパ球の浸潤・増加が認められたが、HTLV-IG 投与群では、脾臓内の浸潤は抑えられている傾向が認められた。更に免疫組織化学染色を実施した結果、CD3 陽性細胞は Control IG 投与群では同様に増加傾向が認められ、HTLV-IG 投与群では抑制されている傾向が認められた。同様の事は、CD4, Ki-67 でも認められた。また、驚く事に、CCR4, CD25, CD30 陽性細胞は HTLV-IG 投与群ではその発現上昇が殆ど抑えられているにも関わらず、Control-IG 投与群では何れも発現上昇が認められた[図 10]。

次に、肝臓に於ける各種細胞の分布を検討した。肝臓では Control-IG 投与群ではリンパ球の浸潤が血管周囲、類洞周囲に多数認められるが、HTLV-IG 投与群ではそのような浸潤は僅かであった。

CD3 陽性細胞は Control IG 投与群で増加傾向が認められ、HTLV-IG 投与群では抑制されている傾向が認められた。同様の事は、CD4, Ki-67 でも認められた。また、驚く事に、CCR4, CD25, CD30 陽性細胞は HTLV-IG ではその発現上昇が殆ど抑えられているにも関わらず、Control IG 投与群では何れも発現上昇が認められた[図 11]。

次に肺に於ける各種細胞の分布を検討した。肺では Control-IG 投与群ではリンパ球の浸潤が血管周囲、肺泡周囲に多数認められるが、HTLV-IG 投与群ではそのような浸潤は僅かであった。

CD3 陽性細胞は Control IG 投与群で増加傾向が

認められ、HTLV-IG 投与群では抑制されている傾向が認められた。同様の事は、C4, Ki-67 でも認められた。また、驚く事に、CCR4, CD25, CD30 陽性細胞は HTLV-IG ではその発現上昇が殆ど抑えられているにも関わらず、Control IG 投与群では何れも発現上昇が認められた[図 12]。

以上をまとめると、HTLV-IG は、HTLV-1 の感染を抑制し、T 細胞における CD25 や ki67, CD30 や CCR4 などの発現上昇を抑え、感染細胞の各組織への浸潤を抑えている事が明らかとなった [図 13]。

そこで、更に継続して経過観察をし、接種後 25 日目における末梢血の PVL を検査した。その結果、HTLV-IG 投与群では何れのマウス個体からも HTLV-1 感染は認められなかった。さらに接種後 38 日まで継続観察をした結果、HTLV-IG 投与群では何れのマウス個体からも HTLV-1 感染は認められなかった。一方、Control-IG 投与群では PVL 値が 100 前後で安定した[図 14]。

D. 考察

本研究課題において、HTLV-1 感染系の構築及びその標準化に成功した。HUT102, TL-Om1, SLB-1, MT-2 を用いて実験を行った結果、SLB-1, MT-2 が高効率に感染をすることが明らかとなった。また、非感染細胞として Molt4, Jurkat などを検討したが、Jurkat への感染効率がより良い事が明らかとなり、SLB-1 や MT-2 を感染細胞として、Jurkat を被感染細胞として用いる系が感染抑制効果の検証に有効であることが明らかとなった。

更に、30 種類の HTLV-1 陽性血漿を用いて予備的スクリーニングを行った結果、MT-2 および Jurkat 系では PVL4 以上の陽性血漿で有意な感染阻害が認められた。また、シンシチウム形成を阻害するモデルである SLB-1 と Jurkat の共培養系でも、PVL4 以上の陽性血漿で有意なシンシチウム形成阻害が認められた。

そこで、PVL 4 以上の検体を用いてグロブリン

の精製を行った。我々が精製したグロブリンは 97%以上がグロブリンモノマーであり、凝集体を含まないため、アナフィラキシーショックを引き起こす可能性が低い。よって、ヒト化マウスを用いた動物実験系では、筋肉内、腹腔内、静脈内のいずれの投与ルートでも抗体の投与が可能であった。精製効率は約 37%であり、これは実際の血液製剤メーカーの精製効率と同程度であった。

そこで、これらの製剤の有効性を検討するため、超免疫マウスである NOG マウスを用いて、ヒト PBMC を移植し、ヒト化した後、MMC 処理後の MT-2 を感染させ、HTLV-1 感染モデルにおいて抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリン(HTLV-IG)の投与で感染が抑制できるかどうか検討した。

その結果、Control-IG 群では感染が認められ、抹消血中に CD3, CD4, CD25, CCR4, CD25, CD30 陽性の HTLV-1 感染細胞と思われる細胞が存在し、また各種組織(肺・肝臓・脾臓)へ浸潤している一方で、HTLV-IG 投与群では、ほぼ 100% 感染を抑制し、CD25, CCR4, CD25, CD30 の発現上昇も殆ど抑えられていた。更に、CD3, CD4 細胞の浸潤も抑えられており、HTLV-IG 投与によって、感染抑制とともに、それに伴う炎症反応も抑えられている事が示唆された。

本研究課題によって、HTLV1 感染について、HTLV-IG の感染阻止に関する有効性を in vitro で示すと共に、近年開発され、医薬品開発の有望なモデルマウスである「ヒト化マウス」を用いる事で、ヒト細胞の実際の生体内での HTLV-1 感染予防を確認できた。ヒトへの外挿がより可能となったといえる。

HTLV-1 抗体陽性血漿は日本で入手が可能で、高品質の HTLV-IG は日本発で開発・製造することが可能である。世界的には数千万人のキャリアがおり、世界的な規模での利用が期待されている。また、HTLV ワクチン(H23 年度 厚生労働科学研究費 長谷川秀樹主任研究者)が併せて成功すれば、HTLV-IG とワクチンの組み合わせで HBV の母子感染予防のような感染予防策が期待される。

更に、貴重な献血血液の有効利用に繋がると確信している。また、本研究課題では、PVL4以上の検体が実際に感染を抑制する事を明らかにしたが、条件外の検体については検討していない。最終的な原料血漿基準を構築するには更に多くの検体を

E. 結論

本研究課題において、HTLV-1感染系の構築及びその標準化に成功した。更に、30種類のHTLV-1陽性血漿を用いて予備的スクリーニングを行った結果、感染抑制効果はPVLと非常に良く関連することが明らかとなった。予備的スクリーニングの結果、PVL4以上の検体を用いて抗HTLV-1ヒト免疫グロブリンを精製した結果、製品レベルでの免疫グロブリンの製造に成功した。これらを用いて、ヒト化マウスを用いたHTLV-1感染系でその有効性を検討した結果、HTLV-IGがHTLV-1感染を抑制し、感染細胞の各種組織への浸潤をも抑制する事が明らかとなった。よって、HTLV-IGが感染予防薬として有効である事が明らかとなった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Kuramitsu M, **Okuma K**, Yamagishi M, Yamochi T, Firouzi S, Momose H, **Mizukami I**, Takizawa K, Araki K, Sugamura K, Yamaguchi K, Watanabe T, **Hamaguchi I**. Identification of TL-Om1, an adult T-cell leukemia (ATL) cell line, as reference material for quantitative PCR for human T-lymphotropic virus 1. *J Clin Microbiol*. 2015; 53: 587-96.

2. **Satake M**, Yamada Y, Atogami S,

Yamaguchi K. The incidence of adult T-cell leukemia/lymphoma among human T-lymphotropic virus type 1 carriers in Japan. *Leuk Lymphoma*. 2015; 21:1-7.

3. **Mizukami T**, Momose H, Kuramitsu M, Takizawa K, Araki K, Furuhashi K, Ishii KJ, **Hamaguchi I**, Yamaguchi K. System vaccinology for the evaluation of influenza vaccine safety by multiplex gene detection of novel biomarkers in a preclinical study and batch release test. *PLoS One*. 2014; 9: e101835.

4. Kasama Y, **Mizukami T**, Kusunoki H, Peveling-Oberhag J, Nishito Y, Ozawa M, Kohara M, Mizuuchi T, Tsukiyama-Kohara K. B-cell-intrinsic hepatitis C virus expression leads to B-cell-lymphomagenesis and induction of NF- κ B signalling. *PLoS One*. 2014; 9: e91373.

5. Terada C, Mori J, Okazaki H, **Satake M**, **Tadokoro K**. Effects of riboflavin and ultraviolet light treatment on platelet thrombus formation on collagen via integrin α IIb β 3 activation. *Transfusion*. 2014; 54: 1808-1816.

6. **Satake M**. Risk of transfusion-transmitted infection in Japan. *Rinsho Ketsueki*. 2014; 55: 2152-2161. (In Japanese)

7. **Sobata R**, Shinohara N, **Matsumoto C**, Uchida S, Igarashi S, Hino S, **Satake M**, **Tadokoro K**. First report of human immunodeficiency virus transmission via a blood donation that tested negative by 20-minipool nucleic acid amplification in

Japan. *Transfusion*. 2014; 54: 2361-2362

8. Owada T, Kaneko M, **Matsumoto C**, **Sobata R**, Igarashi M, Suzuki K, Matsubayashi K, Mio K, Uchida S, **Satake M**, **Tadokoro K**. Establishment of culture systems for Genotypes 3 and 4 hepatitis E virus (HEV) obtained from human blood and application of HEV inactivation using a pathogen reduction technology system. *Transfusion*. 2014; 54: 2820-2827
9. Abe T, Shimada E, Takanashi M, Takamura T, Motoji K, Okazaki H, **Satake M**, **Tadokoro K**. Antibody against immunoglobulin E contained in blood components as causative factor for anaphylactic transfusion reactions. *Transfusion*. 2014; 54: 1953-1960
10. 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 extranodal primary cutaneous variant in the lymphoma type of adult T-cell leukemia-lymphoma. *J Dermatol*. 2014; 41: 26-28.
11. Takizawa K*, Nakashima T*, **Mizukami T***, Kuramitsu M, Endoh D, Kawauchi S, Sasaki K, Momose H, Kiba Y, Mizutani T, Furuta RA, Yamaguchi K, Hamaguchi I. Degenerate polymerase chain reaction strategy with DNA microarray for detection of multiple and various subtypes of virus during blood screening. *Transfusion*. 2013; 53: 2545-55.
*Equally contributed
12. 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 SY, 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.
13. Krayukhina E, Uchiyama S, **Nojima K**, Okada Y, **Hamaguchi I**, Fukui K. Aggregation analysis of pharmaceutical human immunoglobulin preparations using size-exclusion chromatography and analytical ultracentrifugation sedimentation velocity. *J Biosci Bioeng*. 2013;115:104-110.
14. 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*. 2013; 20: 403-410.
15. 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**, Uchimarui 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; 104: 1097-106.
16. Furui Y, **Satake M**, Hoshi Y, Uchida S,

- Suzuki K, Tadokoro K. Cytomegalovirus (CMV) seroprevalence in Japanese blood donors and high detection frequency of CMV DNA in elderly donors. *Transfusion*. 2013; 53: 2190-2197.
17. Saito F, Shimazu T, Miyamoto J, Maemura T, Satake M. Interstitial fluid shifts to plasma compartment during blood donation. *Transfusion*. 2013; 53:2744-2750.
18. Taira R, Satake M, Momose S, Hino S, Suzuki Y, Murokawa H, Uchida S, Tadokoro K. Residual risk of transfusion-transmitted hepatitis B virus (HBV) infection caused by blood components derived from donors with occult HBV infection in Japan. *Transfusion*. 2013; 53: 1393-404.
19. Luc S, Luis TC, Boukarabila H, Macaulay IC, Buza-Vidas N, Bouriez-Jones T, Lutteropp M, Woll PS, Loughran SJ, Mead AJ, Hultquist A, Brown J, Mizukami T, Matsuoka S, Ferry H, Anderson K, Duarte S, Atkinson D, Soneji S, Domanski A, Farley A, Sanjuan-Pla A, Carella C, Patient R, de Bruijn M, Enver T, Nerlov C, Blackburn C, Godin I, Jacobsen SE. The earliest thymic T cell progenitors sustain B cell and myeloid lineage potential. *Nat Immunol*. 2012; 13: 412-419.
20. Kuramitsu M, Sato-Otsubo A, Morio T, Takagi M, Toki T, Terui K, Wang R, Kanno H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Kitoh T, Goi K, Kudo K, Matsubayashi T, Mizue N, Ozeki M, Masumi A, Momose H, Takizawa K, Mizukami T, Yamaguchi K, Ogawa S, Ito E, Hamaguchi I. Extensive gene deletions in Japanese patients with Diamond-Blackfan anemia. *Blood* 2012; 119:2376-2384.
21. 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; 65: 334-336.
22. Takanashi M, Odajima T, Aota S, Sudoh M, Yamaga Y, Ono Y, Yoshinaga K, Motoji T, Matsuzaki K, Satake M, Sugimori H, Nakajima K. Risk factor analysis of vasovagal reaction from blood donation. *Transfus Apher Sci*. 2012; 47: 319-325.
23. Satake M, Yamaguchi K, Tadokoro K. Current prevalence of HTLV-1 in Japan as determined by screening of blood donors. *J Med Virol*. 2012; 84:327-35.

2. 学会発表

- 栗林和華子, 水上拓郎, 滝澤和也, 倉光球, 浅田善久, 岩間厚志, 松岡雅雄, 浜口功. 成人 T 細胞白血病 (ATL)モデルマウスである HBZ トランスジェニックマウスにおける癌幹細胞の同定の試み. 京都 T 細胞カンファレンス(KTCC) 2014 年 5 月 京都
- 水上 拓郎, 百瀬 暖佳, 倉光 球, 滝澤 和也, 斎藤 益満, 古畑 啓子, 荒木 久美子, 石井 健, 浜口 功. トキシコゲノミクスを応用した新規ワクチンアジュバント添加・インフルエンザワクチンの安全性試験法の開発. 第 41 回 日本毒性学会 2014 年 7 月 神戸
- 大隈和, 日吉真照, 滝澤和也, 斎藤益満, 浜口功. CCR4 リガンド TARc を用いた新規

抗 HTLV-1 分指標的治療薬の開発. 第 1 回 HTLV-1 学会 2014 年 8 月 東京

4. 栗林 和華子, 水上拓郎, 滝澤和也、倉光球、浅田善久、岩間厚志、松岡雅雄、浜口功. HTLV-1 モデルマウスである HBZ-Tg マウスにおける癌幹細胞の同定と機能解析. 第 1 回 HTLV-1 学会 2014 年 8 月 東京

5. 蕎麦田理英子, 松本千恵子、内田茂治、鈴木雅治、佐竹正博、田所憲治. 輸血による HTLV-1 感染を引き起こすプロウイルス量の推測: 現行の輸血用血液製剤における HTLV-1 感染リスクの検証 第 1 回 HTLV-1 学会 2014 年 8 月 東京

6. 佐竹 正博、相良康子、岩永雅子、浜口功. 献血者のデータから明らかになった HTLV-1 水平感染の実態. 第 1 回 HTLV-1 学会 2014 年 8 月 東京

7. 水上 拓郎、滝澤 和也、平松 竜司、倉光 球、百瀬 暖佳、山口 一成、浜口 功. 造血組織における新たな一過性ニッチ細胞(TNCs)の同定とその多様な機能. 第 157 回 日本獣医学会 2014 年 9 月 札幌

8. Wakako Kuribayashi, Takuo Mizukami, Kazuya Takizawa, Madoka Kuramitsu, Iwama Atsushi, Yoshihisa Asada, Masao Matsuoka, Isao Hamaguchi. Identification of cancer stem cells in an HBZ transgenic mouse model of ATL 第 76 回 日本血液学会 2014 年 10 月 大阪

9. Takuo Mizukami. System Vaccinology Enables to Evaluate the Safety of the Influenza Vaccine and the Adjuvant with a Multiplex Gene Detection System of Novel

Biomarkers in the Pre-Clinical Study and Lot Release Test. Keystone symposia, 2014 年 10 月 Seattle

10. [Oral Session] Takuo Mizukami, Kazuya Takizawa, Madoka Kuramitsu, Wakako Kuribayashi, Ryuji Hiramatsu, Haruka Momose, Jumpei Yamazaki, William W. Hall, Hideki Hasegawa, Kazunari Yamaguchi, Isao Hamaguchi. The Role Of Osteoclasts In The Developing Leukemic Stem Cell Niche In A Mouse Model Of Adult T-Cell Leukemia, **18th Congress of the European Hematology Association**. 2013 年 6 月 Stockholm.

11. [招待講演] 水上 拓郎, ワクチンの安全性について 第 139 回レギュラトリーサイエンスエキスパート研修会: ワクチン接種後のデータ収集とその活用についてー現状と期待ー 2013 年 7 月 日本薬学会長井記念館

12. [口演] 野島清子、水上拓郎、倉光 球、大隈 和、松本千恵子、蕎麦田理英子、佐竹正博、田所憲治、山口一成、浜口功. 抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンによる in vitro の HTLV-1 感染抑制効果とその有効性の検討 第 6 回 HTLV-1 研究会 2013 年 8 月 東京大学医科学研究所

13. [口演] 栗林和華子, 水上拓郎、滝澤和也、倉光球、百瀬暖佳、菅田謙治、浅田善久、松岡雅雄、濱口功. 新たな ATL マウスモデルである HBZ トランスジェニックマウスにおける ATL がん幹細胞同定の試み. 第 6 回 HTLV-1 研究会 2013 年 8 月 東京大学医科学研究所

14. [招待講演] 水上 拓郎. トランスジェニックマウスを用いた「感染症とがん」のクロス

トーク 第 156 回 日本獣医学会 獣医解剖
サテライトフォーラム、岐阜、2013 年 9 月
18 日

15. [口演] 水上拓郎、滝澤和也、栗林和華子、
平松竜司、倉光球、山崎淳平、William Hall, 長
谷川秀樹、山口一成、濱口功. 成人 T 細胞白
血病マウスモデルを用いた癌幹細胞ニッチ形
成における破骨細胞の機能解析と破骨細胞を
標的とした治療法の開発. 第 156 回 日本獣
医学会、岐阜、2013 年 9 月

16. [口演] 水上拓郎、滝澤和也、栗林和華子、
平松竜司、倉光球、山崎淳平、William Hall, 長
谷川秀樹、山口一成、濱口功. The role of
osteoclast in the leukemic stem cell niche
using a mouse model of adult T cell leukemia.
第 75 回日本血液学会、札幌、2013 年 10 月

17. K Nojima, T Mizukami, R Sobata, C
Matsumoto, M Kuramitsu, K Okuma, M
Satake, K Tadokoro, K Yamaguchi, I
Hamaguchi. Development of an Effective
Prevention Method for T-cell Lymphotropic
Virus Type I (HTLV-1) Infection Using HTLV-1
Sero- Positive Serum in vitro, **The AABB
Annual Meeting & CTTXPO 2013**, Colorado,
12-15 October, 2013 (米国輸血学会)

18. Wakako Kuribayashi, Takuo Mizukami,
Masao Matsuoka, Isao Hamaguchi 。
Identification of cancer stem cell candidates in
ATL mouse model of HBZ transgenic mice.
**72nd Annual Meeting of the Japanese
Cancer Association**, Yokohama, 2013
10/3-5

19. [Poster Session] Takuo Mizukami*,
Kazuya Takizawa, Madoka Kuramitsu,

Wakako Kuribayashi, Ryuji Hiramatsu,
Haruka Momose, Jumpei Yamazaki, William
W. Hall, Hideki Hasegawa, Kazunari
Yamaguchi, Isao Hamaguchi. The Osteoclast
Targeting Therapy In Bone Metastasis For a
Mouse Model Of Adult T Cell Leukemia.
American Society of Hematology meeting,
9 December, 2013, Ernest N. Morial
Convention Center, New Orleans.

20. Takuo Mizukami. Identification and
characterization of cancer stem cells in a
Tax-transgenic mouse model of adult T-cell
leukemia/lymphoma. グローバル **COE** リエ
ゾンラボ研究会 熊本大学 2012 年 2 月

21. 水上拓郎、滝澤和也、山崎淳平、倉光球、
百瀬暖佳、益見厚子、長谷川秀樹、山口一成、
浜口功. 動物モデルを用いた ATL 癌幹細胞及
びそのニッチの解析. 第 154 回日本獣医学
会学術集会 岩手 2012 年 9 月

22. Takuo Mizukami, Kazuya Takizawa,
Madoka Kuramitsu, Haruka Momose, Jumpei
Yamazaki, Atsuko Mausmi, Hideki
Hasegawa, William W Hall, Kazunari
Yamaguchi, Isao Hamaguchi. Identification
of cancer stem cell niche in Adult T-Cell
Leukemia / lymphoma (ATL) model mouse.
第 74 回 日本血液学会学術集会 京都
2012 年 10 月

23. 斎藤益満・水上拓郎・倉光球・百瀬暖佳・
石井健・浜口功. 網羅的遺伝子発現解析を用
いたアジュバント含有ワクチン安全性評価法
の開発と展開 第 16 回日本ワクチン学会 横
浜 2012 年 11 月

24. 百瀬暖佳, 水上拓郎, 倉光球, 滝澤和也,

益見厚子, 浜口功. 遺伝子発現解析による安全性評価法の新規製法インフルエンザ HA ワクチンへの適応に向けた試み 第 16 回日本ワクチン学会 横浜 2012 年 11 月

25. **Takuo Mizukami**, Kazuya Takizawa, Madoka Kuramitsu, Haruka Momose, Jumpei Yamazaki, Atsuko Masumi, William W Hall, Hideki Hasegawa, Kazunari Yamaguchi and Isao Hamaguchi. Identification of Leukemic Stem Cells and Their Niche in Adult T Cell Leukemia Using the Tax-Transgenic Mouse Model. **54th Annual meeting of American Society of Hematology meeting**, Atlanta GA, December 8-11, 2012

26. Luis TC, Luc S, **Mizukami T**, Boukarabila H, Woll PS, Carrelha J, Bouriez-Jones T, Lutteropp M, Loughran SJ, Mead AJ, Macaulay IC, Hultquist A, Matsuoka S, Ferry H, Atkinson D, Farley A, Sanjuan-Pla , Carella C, Patient R, Nerlov C, de Bruijn M, Blackburn C, Godin I, Jacobsen SEW. Embryonic thymopoiesis is initiated by immune-restricted lympho-myeloid progenitor cells. **Keystone Symposium**. 14-19. January 2013

H.知的所有権の取得状況（予定を含む）

①特許取得

特になし

②実用新案登録

特になし

③その他

特になし

図1

HTLV-1総合対策 [2011年度]

発症予防

キャリア全員がATLにはならない（5%前後が発症）なので、ATL発症
高危険群を同定し、**発症介入**を行う（HTLV-1総合対策2011）

治療

ATL治療法の開発（IFN/AZT治療等）、同種造血幹細胞治療
新規治療法（CCR4抗体）、ワクチン

感染防止

輸血感染 献血者スクリーニングの導入(1986)により阻止

性感染 水平感染の可能性が高いが、詳細は不明（避妊具）

母子感染の防止

母乳から人工乳へ 全国一律妊婦抗体検査（2010年11月より）

断乳しても3%程度 感染する！

告知された方に短期・長期母乳・凍結母乳など
選択はあっても**治療オプション**がない現状



針刺し事故などの緊急事態に
対する**治療オプション**がない

感染予防薬の開発が必要！

図1：HTLV-1 総合対策. 2011年度にHTLV-1 総合対策が実施され、発症予防・治療・感染防止の観点から対策が講じられている。感染防止に関し、特に母子感染では母乳から人工乳への推奨がなされたが、長期母乳を選択する方などへの治療オプションが無い事、緊急事態に対応する治療薬が無く、感染予防薬の開発が求められていた。

図2

抗HTLV-1ヒト免疫グロブリン によるHTLV-1感染予防法の開発-1 (in vitro)



日本赤十字社
Japanese Red Cross Society

抗体陽性血漿より抗HTLV-1ヒト免疫グロブリンの製造

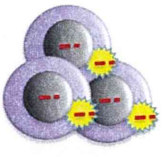
高力価HTLV-IG HTLV-IG

佐竹正博先生 (日本赤十字中央血液研究所)
田所憲治先生 (日本赤十字中央血液研究所)

30種類の
HTLV-1陽性
献血血液



HTLV-1
感染細胞



MT-2

SLB-1

HTLV-1
非感染細胞



Jurkat細胞

Jurkat細胞

高力価IG
通常IG

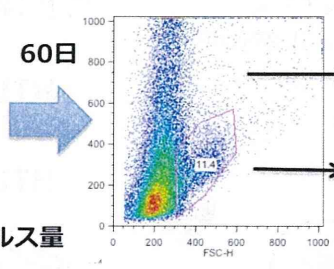


プロウイルス量

シンシチウム形成

高力価HTLV-IGを用いたIn vitro系を用いた感染防止実験

FACS解析



定量PCR

Western Blotting

2 : 抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンによる HTLV-1 感染予防法の開発 1. HTLV-1 感染細胞である HUT102, MT2, SLB-1, TL-OM1 をマイトマイシン C 処理をし、その後、非感染系細胞である Jurkat 細胞や Molt 4 細胞と共培養し、ウイルス感染を模す in vitro 感染系を構築する。日本赤十字社の HTLV-1 陽性血漿を用いた。

図3

抗HTLV-1ヒト免疫グロブリン によるHTLV-1感染予防法の開発-2 (in vivo)

ヒト化マウスを用いた高力価HTLV-IGの有効性の検討

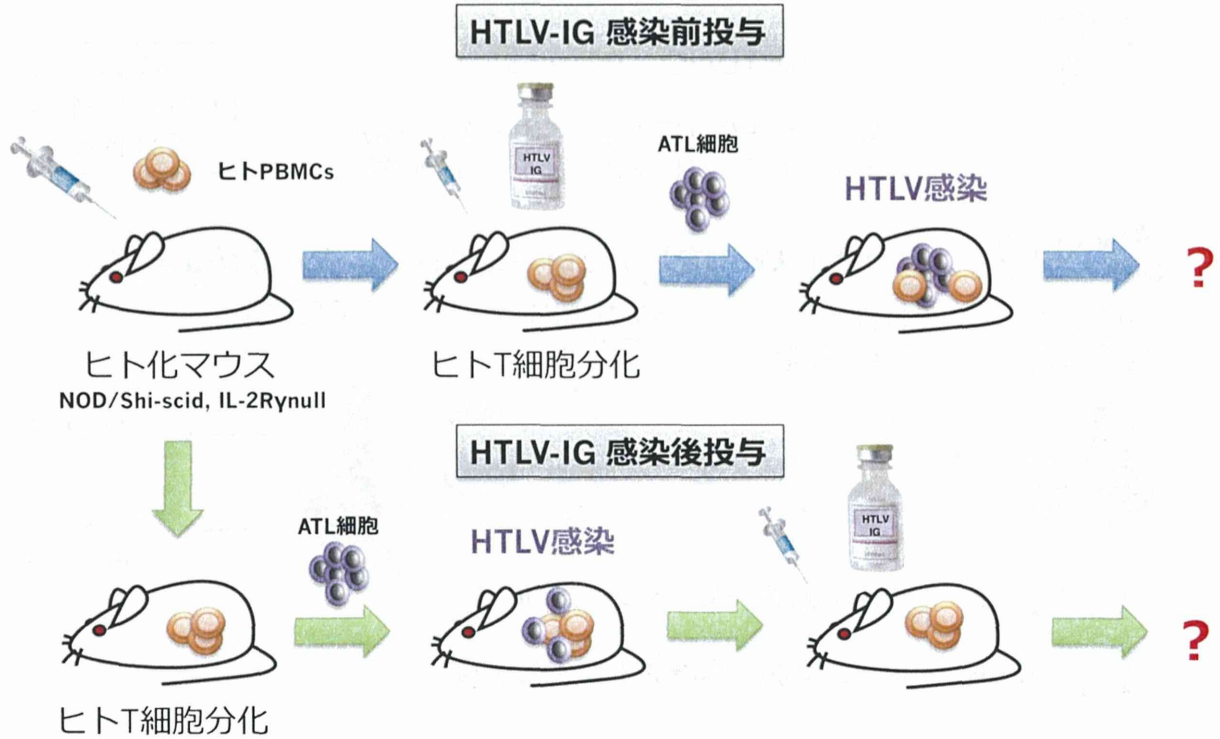


図3：ヒト化マウスを用いた HTLV-1 感染実験及び HTLV-IG の有効性の検討。ヒト化マウスを構築し、HTLV-1 感染を行い、HTLV-IG の有効性・安全性を検討する。