

201447013A

厚生労働科学研究委託費
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

HTLV-1 疫学研究及び検査法の標準化に関する研究

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 浜口 功

平成27（2015）年 3月

本報告書は、厚生労働省の新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業による委託業務として、国立感染症研究所 浜口 功が実施した平成26年度「HTLV-1 疫学研究及び検査法の標準化に関する研究」の成果を取りまとめたものです。

厚生労働科学研究委託費
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

HTLV-1 疫学研究及び検査法の標準化に関する研究

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 浜口 功

平成27（2015）年 3月

目 次

I. 委託業務成果報告（総括）

| | |
|--|---|
| HTLV-1 疫学研究及び検査法の標準化に関する研究 | 1 |
| 浜口 功、渡邊俊樹、岡山昭彦、佐竹正博、久保田龍二、鴨居功樹、 齋藤 滋、長谷川寛雄、大隈 和、高 起良、内丸 薫、山野嘉久、 緒方正男、宇都宮 與、岩永正子、相良康子、石塚賢治、齋藤益満、 野坂生郷、増崎英明、滝 麻衣、三浦清徳、上平 憲、梅木一美、 橋倉悠輝、山本成郎、梅北邦彦、倉光 球、松岡佐保子、日吉真照、 成瀬 功、浜口行雄、篠田達也、梶山直毅、斎藤由美子、澤野 薫 (資料) 妊産婦診療における HTLV-1 感染(症)の診断指針 (案)、 HTLV-1 キャリアの追跡調査と核酸検査実施体制 | |

II. 委託業務成果報告（業務項目）

| | |
|---|----|
| 1. HTLV-1疫学研究及び検査法の標準化に関する研究（抗体測定方法に関する 検討） | 17 |
| 岡山昭彦、梅木一美、橋倉悠輝、山本成郎、梅北邦彦 | |
| 2. HTLV-1 検査法の標準化の構築化と先進医療への導入に関する研究 | 19 |
| 野坂生郷 | |
| 3. 妊娠中のHTLV-1プロウイルス量測定法の開発とその臨床的意義に関する 研究 | 21 |
| 増崎英明、柳原克紀、三浦清徳、長谷川寛雄 | |
| 4. 水平感染登録システムの構築 | 25 |
| 石塚賢治 | |
| 5. JSPFAD データベースの維持・継続及び発症リスク解明 | 26 |
| 渡邊俊樹、宇都宮 與、内丸 薫、高 起良、緒方正男、岩永正子、 相良康子 | |
| 6. HTLV-1 疫学研究及び検査法の標準化に関する研究（HTLV-1 水平感染の 実態調査）HTLV-1 感染者の長期フォローアップ | 33 |
| 宇都宮 與 | |
| 7. 都市部における HTLV-1 ぶどう膜炎の調査 | 38 |
| 鴨居功樹 | |

| | |
|---------------------------------|----|
| 8. HTLV-1 水平感染実験モデルマウスの樹立 | 40 |
| 齋藤益満、日吉真照 | |
| III. 学会等発表実績 | 45 |
| IV. 研究成果の刊行物・別刷 | 57 |

業務組織

業務主任者：

浜口 功 国立感染症研究所 血液・安全性研究部

担当責任者：

渡邊俊樹 東京大学大学院 新領域創成科学研究科

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

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

長谷川寛雄 長崎大学病院 検査部

相良康子 日本赤十字社 九州ブロック血液センター

齋藤 滋 富山大学大学院医学薬学研究部 産科婦人科

山野嘉久 聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター

大隈 和 国立感染症研究所 血液・安全性研究部

岩永正子 長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科

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

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

石塚賢治 福岡大学医学部 腫瘍・血液・感染症内科

齋藤益満 国立感染症研究所 血液・安全性研究部

野坂生郷 熊本大学大学院 血液内科・感染免疫診療部

増崎英明 長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科

滝 麻衣 聖マリア学院大学 看護学部

担当協力者：

上平 憲 長崎市立市民病院 検査部

三浦清徳 長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科

梅木一美 宮崎大学医学部附属病院 検査部

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
梅北邦彦 宮崎大学医学部 内科学
松岡佐保子 国立感染症研究所 血液・安全性研究部
倉光 球 国立感染症研究所 血液・安全性研究部
日吉真照 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. 委託業務成果報告（総括）

HTLV-1疫学研究及び検査法の標準化に関する研究

業務主任者 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。[1] HTLV-1抗体検査で高頻度に発生するウエスタンブロット判定保留例に対して、核酸検査が有効であることが示されたが、多施設共同研究においてHTLV-1核酸検査実施施設で一致した結果を得られることを確かめた。[2]これまでのHTLV-1検査法の標準化の研究成果に基づいて、平成23年より推奨されてきたHTLV-1検査ガイドラインのワークフローを見直し、最適と考えられる効果的な診断のためのワークフローを再設定することを検討した。1次検査にCLIA法を追加し検査法の選択を整備した。また確認検査では、WB検査と核酸検査の結果を総合的に判断して確定させることで判定保留例が大幅に減少するよう妊産婦診療におけるHTLV-1感染（症）の診療指針（案）を作成する等の対策を講じた。[3] また、まだ研究が進んでいない水平感染者を対象とした疫学調査を実施するためHTLV-1水平感染登録者システムを立ち上げ、疫学調査のためのフォローアップ体制を構築した。日本赤十字社の抗体陽転化例を対象に水平感染例について解析し、初回陽性者に比べプロウイルス量が1/100程度の低値で推移することを見出した。また長期核酸陰性を示す例が存在するもののこれらの検体では、抗体検査の抗原反応に経時的変化が認められ体内にウイルス抗原が持続して存在することが示唆された。

担当責任者

渡邊俊樹 東京大学大学院 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
久保田龍二 鹿児島大学難治ウイルス研究所 准教授
嶋居功樹 東京医科歯科大学 講師
齋藤 滋 富山大学大学院 教授
長谷川寛雄 長崎大学病院 講師
大隈 和 国立感染症研究所 室長
高 起良 JR大阪鉄道病院 院長
内丸 薫 東大医科研 准教授
山野嘉久 聖マリアンナ医科大学 准教授
緒方正男 大分大医 講師
宇都宮 與 今村病院分院 院長
岩永正子 長崎大学大学院 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
石塚賢治 福岡大学医学部 講師
齋藤益満 国立感染症研究所
野坂生郷 熊本大学病院 講師
増崎英明 長崎大学大学院 教授
滝 麻衣 聖マリア学院大学 准教授

担当協力者

三浦清徳 長崎大学大学院 准教授
上平 憲 長崎市民病院 検査部
梅木一美 宮崎大学病院 検査部
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
梅北邦彦 宮崎大学医学部 助教
倉光 球 国立感染症研究所 研究員
松岡佐保子 国立感染症研究所 室長
日吉真照 国立感染症研究所 研究員
成瀬 功 株式会社エスアールエル
浜口行雄 シスメックス株式会社

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

A. 研究目的

HTLV-1検査は、平成22年末に妊婦検診項目に追加されたが、2次検査のWestern Blotting(WB)検査の結果で判定保留となる場合が少なからず存在する。当研究班の前身の研究班（H23-25年度）においてWB判定保留に対して追加でHTLV-1核酸検査を行うことが有効であることを明らかにした。

また、HTLV-1感染ルートは母乳などを介する母子感染が主であるが、同研究班による日本赤十字社の献血検査を用いた疫学的検討により、全国で推計で年間3000～4000人の新規HTLV-1水平感染者が発生していることが明らかになった。これまでHTLV-1水平感染に対しては、大規模な疫学調査が施行されておらず、未だ実態が明らかになっていない。

本年度は、

- ・妊婦WB判定保留検体に対して追加の核酸検査を行うことで一定の割合で判定できることを多施設協力の下で同一検体を測定して確認した。
- ・これまでのHTLV-1検査のワークフローを見直し、最も効果的な判定手順と考えられる推奨検査手順案を作成した。参加施設で推奨検査手順に従った検査を実施し、効果的に判定が可能であるか検討を開始した。
- ・十分に研究が進んでいない水平感染事例の解析のため日本赤十字社の献血検体でHTLV-1抗体陽転事例

を解析し、水平感染例のプロウイルス推移を解析した。また陽転化した水平感染感染者を対象とした疫学調査を実施するためHTLV-1水平感染登録者システムを立ち上げた。

B. 研究方法

1) HTLV-1核酸検査の標準化と標準検査手順の作成

・検体

厚生労働省科学研究・板橋班とSRL社と協力して、妊婦検診のWB判定保留から血液を収集し、血漿保存、PBMC分離-DNA精製し、核酸検査を行った。日本赤十字社九州ブロックセンターの献血スクリーニング検査において、過去HTLV-1抗体陰性者でHTLV-1抗体陽性を示した検体（血餅）からDNAを精製し、核酸検査を行った。

・q-PCRによるPVL定量（核酸検査）

各施設の方法に従い、精製したgenomic DNAを用いてHTLV-1および内部標準遺伝子のコピー数をQ-PCRで測定し、プロウイルス量を算出した。結果はPBMC100細胞中の陽性細胞数(Proviral Load (PVL) (%))とした。参加施設を以下の通り。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、熊本大学、日本赤十字社、SRL。

2) HTLV-1の水平感染についての疫学調査

献血時検査で陽転化した HTLV-1 水平感染者の追跡調査のための体制基盤を倫理指針に準拠し構築した。日本赤十字社血液センターより HTLV-1 の陽転者に水平感染者登録システムに関する案内を出す。国立感染症研究所に連絡があり、研究主旨に賛同頂いた方を登録し、分担研究者医療機関（福岡大学）の HTLV-1 キャリア外来への受診を勧める。分担研究者医療機関の HTLV-1 キャリア外来にて同意を得られた方から年1回、調査票による水平感染者の背景、家庭環境、生活状況等の情報収集と末梢血の採血を行う。血液検体試料はHTLV-1プロウイルスのコピー数、IL-2R やリンパ球表面抗原を検査する。調査票は事務局で研究期間中管理し、疫学データを蓄積するとともに、データベース化し、HTLV-1 感染の実態解明およびリスク評価のための疫学調査に用いる。

（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。HTLV-1水平感染の疫学研究について、国立感染症研究所、日本赤十字社、福岡大学の倫理委員会で承認されている、

C. 研究結果

1) HTLV-1核酸検査の標準化と標準検査手順の作成

作成

・妊婦WB判定保留検体の多施設共同核酸検査

板橋班とSRL（株）の協力で収集された妊婦WB判定保留検体のPBMCから精製したgDNAを用いて、参加協力施設で同一検体を使い、HTLV-1核酸検査を実施した。検査の際のDNA量は高感度で検出が可能になる量（input DNA量 >500ng）に設定した。全24検体について検討した結果、全施設で陽性となった検体は3検体存在した。また1検体は1施設で陰性を示したものの他の施設のPVL測定結果も極めて低値であったことから、検体中のプロウイルス量が極めて低く検出感度付近またはそれ以下の検体であったことが考えられる。また1施設のみで陽性を示した検体が2検体あった。当該施設では2検体のいずれもreplicateで検討されているが一方のみ陽性を示したことから、これらの2検体についても極めて低コピー数の検体であると考えられた（図1）。全体として、陽性・陰性結果は多施設で一致する結果になる傾向があり、WB判定保留検体について追加で核酸検査することで、どの施設でも一致する結果が得られることを確認した。

| DNA Vol. | 500ng | 500ng | 500ng | >500ng | 1µg | 1µg | 1µg | 1 µg |
|-------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Sample Name | Lab. A | Lab. B | Lab. C | Lab. D | Lab. E | Lab. F | Lab. G | Lab. H |
| S-0024 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| S-0025 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| S-0026 | - | - | - | - | - | - | +* | - |
| S-0027 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| S-0030 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| S-0031 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| S-0032 | - | - | - | - | - | +* | - | - |
| S-0035 | + | + | + | + | + | + | + | + |
| S-0043 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| S-0045 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| S-0047 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| S-0048 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| S-0049 | + | + | + | + | + | + | + | + |
| S-0051 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| S-0052 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| S-0053 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| S-0054 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| S-0056 | + | + | + | + | + | + | + | + |
| S-0058 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| S-0060 | - | - | - | - | - | - | +* | - |
| S-0063 | +* | - | +* | +* | + | + | + | + |
| S-0065 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| S-0067 | - | - | - | - | - | - | - | - |

*: 同時に複数測定し、少なくとも1測定が陰性を示した陽性検体。

図1 妊婦WB判定保留例の多施設共同核酸測定

・最適な診断法確立のための推奨検査手順の作成

HTLV-1母子感染予防対策保健指導マニュアル（2011年3月）において推奨されたHTLV-1検査法ガイ

ドラインを見直し、効果的診断が可能になる最適な検査手順について考察した。まず1次検査でこれまで推奨されてきた抗体検査法に新たにCLIA法を加えた。また平成25年度までの成果より、WB判定保留例に対して核酸検査を実施することで一定の割合で判定を確定できることが示されたことから、1次検査陽性者に対してWBと同時に核酸検査を実施し、WBと核酸検査の結果を総合的に考慮し、判定を確定させることが望ましいと考えられた(図2)。このように最適化された新しい推奨検査手順案(添付資料1)を作成するとともに、妊婦健診が実施できるようHTLV-1核酸検査の母子保健適用の実現へ向けて今後検討を進める。

| | | ウエスタンブロット法 | | |
|---------|----|------------|---------|--------------|
| | | 陽性 | 陰性 | 保留 |
| 核酸増幅検査法 | 陽性 | 「陽性」と確定 | 「陽性」と確定 | 「陽性」と確定 |
| | 陰性 | 「陽性」と確定 | 「陰性」と確定 | 陰性もしくは検出感度以下 |

図2 新規推奨法による確認検査結果の判定方法

ころ、全ての検体で経時的に抗体価の変化(反応性の増減)が認められ、核酸陰性であるがウイルス抗原が体内に存在することが示唆された。また数例であるが、陽転後にPVLがlogスケールで減少する興味深い症例が含まれることが判明した。

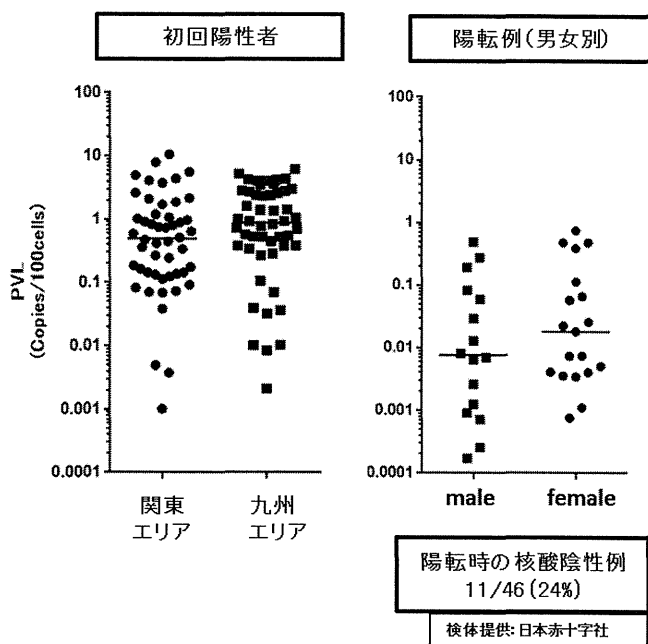


図3 抗体陽転時のPVL

・最適化された推奨検査手順での検査の実施検討

本年度に検討した新しい推奨検査手順では、WBと核酸検査を同時に実施する。ワークフローの変更により生じる変化について検討するため、推奨検査手順の作成に並行して、自施設で妊婦健診等の核酸検査が実施可能な施設に研究参加協力を依頼した。聖マリアンナ医科大学、熊本大学、長崎大学、宮崎大学から参加協力が得られた。本年度中に各施設の倫理審査の承認を得た上で検討を開始する。

・水平感染(日本赤十字社の抗体検査陽転例)の解析

日本赤十字社の協力で九州ブロック血液センターにおける献血スクリーニング検査で過去HTLV-1陰性であったが陽性になった陽転例について水平感染が強く疑われる検体として追跡調査した。陽転者の血餅からDNAを精製し、HTLV-1プロウイルス量を核酸検査で測定した結果、初回献血陽性者のプロウイルス量(PVL)がおよそ1%付近であるのに対して、陽転例ではおよそ0.01%付近の値を示し、約100倍の差が認められることが明らかになった。また全46例中11例(24%)の例で陽転時に核酸陰性を示し、極めて低濃度のプロウイルス量であるか、または末梢血中にはプロウイルスが検出されない例が含まれることが明らかになった(図3)。また陽転例について経時的に検討した結果、ほとんどの例でPVLは低値で一定のまま推移した。陽転時核酸陰性例は、極めて低値で核酸が検出される場合があるものの検出限界またはそれ以下の陰性で推移した。また長期に核酸陰性を示した検体について複数の抗体検査結果を比較したと

2) HTLV-1の水平感染についての疫学調査

HTLV-1 水平感染登録者システムを設立し、H26年12月より日本赤十字社九州ブロック血液センターよりHTLV-1 水平感染者にシステムに関する案内の送付を開始した(添付資料2)。

登録システムの構築内容は次の通りである。①事務局を国立感染症研究所血液・安全性研究部内に設置する。②日本赤十字社より、献血したHTLV-1 水平感染者へ、本研究への協力依頼の文書を送付する。③事務局に連絡があり、研究主旨に賛同頂いた方に、分担研究者医療機関のHTLV-1 キャリア外来への受診を勧める。④分担研究者医療機関のHTLV-1 キャリア外来を受診し、担当医師から研究の目的と内容に関する説明を受けて同意を得られた方を登録し、年1回キャリア外来にて調査票による水平感染者の背景、家庭環境、生活状況等の情報収集と末梢血の採血を行う。得られた情報および試料は分担研究者医療機関にて連結可能匿名化を行う。外来担当医師は診療情報を調査票に記載し、事務局に郵送する。⑤血液検体試料は福岡大学、東京大学医科学研究所、SRLと国立感染症研究所で末梢血一般検査、血液像(福岡大学)HTLV-1プロウイルスのコピー数、可溶性IL-2レセプター(SRL)やリンパ球表面抗原のフローサイトメトリー解析(東京大学医科学研究所、国立感染症研究所)を検査し、検査後の残余検体を国立感染症研究所で研究期間中保管する。⑥血液試料

より得られた HTLV-1 プロウイルスのコピー数を指標に水平感染者の感染状況のモニターと病状の進展の調査を行い、将来的な HTLV-1 関連疾患発症予防および治療に繋げていく。なお、平成 26 年度内に各関係機関において個別に倫理委員会承認を受け、本登録システムをスタートさせた。

D. 考察

・妊婦WB判定保留検体の多施設共同核酸検査

前身の班研究において、WB判定保留例について追加で核酸検査を実施することで判定保留例を減少させることが期待できることを示したが、施設間差について明確な解析結果が示されていなかった。多施設共同研究にて同一検体を検討した内、検出限界付近コピー数の陽性検体で施設間結果の差があったものの、全体として参加8施設間で極めて一致した結果が得られたことから、定性的なHTLV-1核酸検査においては、各施設の方法による結果に差が生じることは、極めて稀であると考えられた。

・最適な診断法確立のための推奨検査手順の作成

最適なHTLV-1検査法のワークフローを検討した結果、1次検査に新たにCLIA法を加えることで、抗体検査法の選択肢を整備した。このことは検査を実施する側の選択の幅が広がることから、HTLV-1抗体検査の1次検査が一層堅固なものに発展することにつながることを期待でき、意義深いと考えられる。

また核酸検査をWBと2次検査で同時に実施し、WBと核酸検査の結果を総合的に判断するようにワークフローを更新した案を作成した。このことは、これまでのようにWB判定保留で結果が曖昧なまま検査が終了する例を大幅に減少させることができると期待でき、明確な診断確定へ大きく貢献することが期待できる。しかしながら、核酸検査は妊婦健診においても未だ保険適用になっておらず、本年度作成した最適化した推奨検査手順に従って、効率的かつ正確にHTLV-1感染を診断するためには、HTLV-1核酸検査が早期に保険適用されることが望まれる。今後は、本研究班の研究活動の大きな柱の一つとして、早期の保険適用へ向けて関係各所へ提言して行く予定である。

・最適化された推奨検査手順での検査体制の構築

これまでの班研究の成果を踏まえ、HTLV-1母子感染予防対策保健指導マニュアル（2011年3月）において推奨されたHTLV-1検査法ガイドラインを見直し、現時点で最適と考えられるワークフロー案を作成したが、実検体で並行して検討を進め、ワークフロー更新によって生じる事象への対応を検討する必要があると考えた。現在、検討開始の準備が整ったところである。今後、新規推奨法を各々の施設でパロッ

ト的に実施することで、検査のワークフローの変更によって生じる対応が必要になる点等について情報収集が進むことが期待される。

・水平感染（日本赤十字社の抗体検査陽転例）の解析

日本赤十字社より提供された水平感染例（抗体陽転例）の陽転後のプロウイルスの経時的観察の結果、水平感染者の末梢血のプロウイルス量は、初回陽性者に比べ1/100程度に低値のまま推移する傾向であり、25%については核酸陰性になることから、水平感染事例は末梢血の感染細胞が極めて少なく、ATL発症の危険因子となるPVL4%を越えない可能性が高いと考えられた。初回陽性者に比べHTLV関連疾患の罹患の危険は低いことが期待できるものの、水平感染事例では、パートナーへの感染や母乳等を介する母子感染が発生する可能性が残されていることから、これらの予防を徹底することで、新たな感染を防ぐよう対策を取る必要があると考えられる。

E. 結論

本年度の検討により、前身の班研究の成果を反映させた効果的なHTLV-1検査法のワークフローが構築できたと考えられる。しかしながらHTLV-1核酸検査は未だ保険適用されておらず早期の解決が必要である。また小規模であるものの水平感染例の抗体陽転後の追跡調査を行い、水平感染における抗体価とプロウイルス量の推移の全体像について想像し得る結果を得ることが出来たと考えられる。今後、症例数を増やしデータを蓄積させる必要がある。

F. 健康危険情報 特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kuramitsu M, Okuma K, Yamagishi M, et al. 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(2):587-596.
- 2) Firouzi S, López Y, Suzuki Y, Nakai K, Sugano S, Yamochi T, Watanabe T. Development and validation of a new high-throughput method to investigate the clonality of HTLV-1-infected cells based on provirus integration sites. *Genome Med.* 2014 Jun 27;6(6):46. doi: 10.1186/gm568.
- 3) Xia H, Yamada S, Aoyama M, Sato F, Masaki A, Ge Y, Ri M, Ishida T, Ueda R, Utsunomiya A, Asai K, Inagaki H. Prognostic impact of microRNA-145 down-regulation in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Hum Pathol.* 2014 Jun;45(6):1192-8. doi: 10.1016/j.humpath.2014.01.017.

- 4) Kobayashi S, Nakano K, Watanabe E, Ishigaki T, Ohno N, Yuji K, Oyaizu N, Asanuma S, Yamagishi M, Yamochi T, Watanabe N, Tojo A, Watanabe T, Uchimaru K. CADM1 expression and stepwise downregulation of CD7 are closely associated with clonal expansion of HTLV-I-infected cells in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Clin Cancer Res*. 2014 Jun 1;20(11):2851-61. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-3169.
- 5) Araya N, Sato T, Ando H, Tomaru U, Yoshida M, Coler-Reilly A, Yagishita N, Yamauchi J, Hasegawa A, Kannagi M, Hasegawa Y, Takahashi K, Kunitomo Y, Tanaka Y, Nakajima T, Nishioka K, Utsunomiya A, Jacobson S, Yamano Y. HTLV-1 induces a Th1-like state in CD4+CCR4+ T cells. *J Clin Invest*. 2014 Aug 1;124(8):3431-42. doi: 10.1172/JCI75250.
- 6) Takahashi R, Yamagishi M, Nakano K, Yamochi T, Yamochi T, Fujikawa D, Nakashima M, Tanaka Y, Uchimaru K, Utsunomiya A, Watanabe T. Epigenetic deregulation of Ellis Van Creveld confers robust Hedgehog signaling in adult T-cell leukemia. *Cancer Sci*. 2014 Sep;105(9):1160-9. doi: 10.1111/cas.12480.
- 7) Fukushima T, Nomura S, Shimoyama M, Shibata T, Imaizumi Y, Moriuchi Y, Tomoyose T, Uozumi K, Kobayashi Y, Fukushima N, Utsunomiya A, Tara M, Nosaka K, Hidaka M, Uike N, Yoshida S, Tamura K, Ishitsuka K, Kurosawa M, Nakata M, Fukuda H, Hotta T, Tobinai K, Tsukasaki K. Japan Clinical Oncology Group (JCOG) prognostic index and characterization of long-term survivors of aggressive adult T-cell leukaemia-lymphoma (JCOG0902A). *Br J Haematol*. 2014 Sep;166(5):739-48. doi: 10.1111/bjh.12962.
- 8) Kawamata T, Ohno N, Sato K, Kobayashi M, Jo N, Yuji K, Tanosaki R, Yamano Y, Tojo A, Uchimaru K. A case of post-transplant adult T-cell leukemia/lymphoma presenting myelopathy similar to but distinct from human T-cell leukemia virus type I (HTLV- I)-associated myelopathy. *Springerplus*. 2014 Oct 4;3:581. doi: 10.1186/2193-1801-3-581.
- 9) Yoshida N, Karube K, Utsunomiya A, Tsukasaki K, Imaizumi Y, Taira N, Uike N, Umino A, Arita K, Suguro M, Tsuzuki S, Kinoshita T, Ohshima K, Seto M. Molecular characterization of chronic-type adult T-cell leukemia/lymphoma. *Cancer Res*. 2014 Nov 1;74(21):6129-38. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0643.
- 10) 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. *Japanese Journal of Transfusion and Cell Therapy*, Vol. 60. No. 1 60 (1) : 18—24, 2014.
2. 学会発表
- 1) 新谷奈津美、佐藤知雄、安藤仁、外丸詩野、Ariella Coler-Reilly、八木下尚子、山内淳司、長谷川温彦、神奈木真理、田中勇悦、宇都宮與、山野嘉久. HTLV-1によるTh1-like CD4+CCR4+ T細胞の発生機構の解析. 第1回日本HTLV-1学会学術集会, 会場: 東京大学医科学研究所 講堂, 2014年8月22日(金)~24日(日), 発表: 8月23日(土) 9:05-10:05, YIA Presentation (Oral), O-2, 抄録集, page26.
- 2) Sanaz Firouzi, Tadanori Yamochi, Yosvany López, Yutaka Suzuki, Kenta Nakai, Sumio Sugano, Toshiki Watanabe. A new high-throughput method to investigate the clonality of HTLV-1-infected cells based on provirus integration sites. 第1回日本HTLV-1学会学術集会, 会場: 東京大学医科学研究所 講堂, 2014年8月22日(金)~24日(日), 発表: 8月23日(土) 9:05-10:05, YIA Presentation (Oral), O-3, 抄録集, page27.
- 3) 中野伸亮、糸山貴浩、窪田歩、徳永雅仁、徳永真弓、牧野虎彦、竹内昇吾、高塚祥芝、宇都宮與. 染色体異常が成人T細胞白血病/リンパ腫に対する同種移植の成績に及ぼす影響. 第1回日本HTLV-1学会学術集会, 会場: 東京大学医科学研究所 講堂, 2014年8月22日(金)~24日(日), 発表: 8月23日(土) 10:05-11:05, Oral Session 1 ATL臨床, O-5, 抄録集, page28.
- 4) 米倉健太郎、徳永雅仁、川上延代、武田浩一郎、神崎保、高塚祥芝、中野伸亮、窪田歩、竹内昇吾、宇都宮與. ATL患者に対するモガムリズマブ投与後の皮膚障害の検討. 第1回日本HTLV-1学会学術集会, 会場: 東京大学医科学研究所 講堂, 2014年8月22日(金)~24日(日), 発表: 8月23日(土) 10:05-11:05, Oral Session 1 ATL臨床, O-8, 抄録集, page 29.
- 5) 中島誠、矢持忠徳、東原正明、渡邊俊樹、堀江良一. CD30はHTLV-1キャリアにおける異常リンパ球に発現し、核の形態変化に関与する. 第1回日本HTLV-1学会学術集会, 会場: 東京大学医科学研究所 講堂, 2014年8月22日(金)~24日(日), 発表: 8月23日(土) 10:05-11:05, Oral Session 1 ATL臨床, O-9, 抄録集, page30.
- 6) 平野光人、大野伸広、小林誠一郎、石垣知寛、田野崎隆二、鴨居功樹、望月學、内丸薫、東條有伸. 急性型ATLとHTLV-1ぶどう膜炎の同時発症の1例. 第1回日本HTLV-1学会学術集会, 会場: 東京大学医科学研究所 講堂, 2014年8月22日(金)~24日(日), 発表: 8月23日(土) 14:30-15:30, Oral Session 2 HTLV-1関連疾患(HAM, HU等), O-15, 抄録集, page33.
- 7) 中武彩子、小林行治、中畑新吾、西片一朗、岩永正子、相良康子、北中明、天野正宏、前田宏一、末岡栄三朗、瀬戸山充、岡山昭彦、宇都宮與、下田和哉、渡邊俊樹、森下和広. 血中可溶性CADM1/TSLC1測定によるATL診断法の開発. 第1回日本HTLV-1学会学術集会, 会場: 東京大学医科学研究所 講堂, 2014年8月22日(金)~24日(日), 発表: 8月23日(土) 15:30-16:20, Oral Session 3 臨床検

査・バイオマーカー, O-20, 抄録集, page35.

- 8) 井上由紀子、守田麻衣子、相良康子、後藤信代、倉光球、浜口功、迫田岩根、入田和男、清川博之.
WB判定保留事例のFollow-up－HTLV-1抗体確認検査に関する考察－. 第1回日本HTLV-1学会学術集会会場：東京大学医科学研究所 講堂, 2014年8月22日(金)～24日(日), 発表：8月23日(土) 15:30-16:20, Oral Session 3 臨床検査・バイオマーカー, O-21, 抄録集, page36.
- 9) 相良康子、守田麻衣子、井上由紀子、後藤信代、平山秀明、迫田岩根、入田和男、清川博之. 九州におけるHTLV-1キャリアの地理的分布の現状. 第1回日本HTLV-1学会学術集会, 会場：東京大学医科学研究所 講堂, 2014年8月22日(金)～24日(日), 発表：8月23日(土) 16:20-17:20, Oral Session 4 疫学, O-24, 抄録集, page38.
- 10) 大隈 和、日吉真照、滝澤和也、齋藤益満、浜口 功.
CCR4リガンドTARCを用いた新規抗HTLV-1分子標的治療薬の開発. 第1回日本HTLV-1学会学術集会, 会場：東京大学医科学研究所 講堂, 2014年8月22日(金)～24日(日), 発表：8月24日(日) 11:00-12:00, Oral Session 7 新規診断・治療の探索, O-41, 抄録集, page46.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

妊産婦診療における HTLV-1 感染(症)の診断指針 (案)

(日本 HTLV-1 学会、日本産科婦人科学会、日本産婦人科医会、日本周産期・新生児医学会 推奨検査手順)

I. はじめに

従来 HTLV-1 感染(症)の診断は、抗体検査による一次検査の陽性者に対して、確認検査としてウェスタンブロット(WB)法が行われてきた。しかしながら、確認検査における「保留」判定の比率が 20%と比較的高い場合(地域)がある点が課題となっている。また、2010 年末より HTLV-1 検査(抗体検査)が妊婦健診時の必須検査項目となり、正確な判定と感染者(キャリア)への適切な授乳方法の選択が望まれている状況にある。近年、抗体検査法の感度・特異度が向上し、また宿主の末梢血細胞ゲノム中のウイルス DNA(プロウイルス DNA)を特異的に検出する核酸増幅検査法(genomic PCR 法)の標準化がなされた¹。

日本 HTLV-1 学会と日本産科婦人科学会、日本産婦人科医会、日本周産期・新生児医学会は、最新の検査法を利用した HTLV-1 感染(症)の正確な診断手順が早期に広く普及するよう、最新の医学知識に則し、HTLV-1 核酸増幅検査法(genomic PCR 法)を加えた新しい推奨検査手順を「妊産婦診療における HTLV-1 感染(症)の診断指針」として新たに公表することとした。

II. 指針設定の考え方

HTLV-1 抗体検査法が進歩した現状を受けて、HTLV-1 母子感染予防対策 保健指導マニュアル(2011年3月)²において一次検査でこれまで推奨されてきた抗体検査の粒子凝集(PA)法と化学発光酵素免疫測定(CLEIA)法に加え、化学発光免疫測定(CLIA)法が従来の検査法に匹敵する検査であることが判明したので^{3,4}、CLIA 法を追加して推奨する。

また、確認検査の WB 法における判定保留例に対し HTLV-1 プロウイルス検出法が一定の有用性を示すとする厚生労働科学研究班の研究結果が得られた¹。すなわち抗体を検出する WB 法のみでは抗体産生が低い状況でウイルスが存在する場合の確定診断が困難であり HTLV-1 核酸増幅検査法(genomic PCR 法)の実施が有効であることが明らかとなった。このような観点から一次検査で陽性となった際、WB 法により、一次検査の特異性を確認するとともに、HTLV-1 核酸増幅検査法(genomic PCR 法)による HTLV-1 プロウイルス検出法にて HTLV-1 の感染細胞の検出を同時に行うことにより、より正確で信頼性の高い診断が期

待できる。このため一次抗体陽性者に対しての確認検査として従来の WB 法に加えて HTLV-1 核酸増幅検査法(genomic PCR 法)の併用を推奨する。

なお、本指針では保険収載されていない HTLV-1 核酸増幅検査法(genomic PCR 法)の併用を可能であれば推奨するが、実施できない場合は、従来通り WB 法で判定する。また、本指針は、各種検査法の保険収載などの整備状況に伴い、適切な時期に改訂を検討する。

III. 診断法の実際

1. 一次検査

- (1) 当該検査は、妊婦健診、家族内の HTLV-1 感染者などが判明し抗体検査を希望して受診した場合に行われる。
- (2) 診断薬としては、HTLV-1 に対応する一次検査法の中から、最新の情報により感度が十分に高い製品を選択することが重要である。
- (3) これまで推奨されている PA 法と CLEIA 法に加えて、CLIA 法を一次検査の推奨検査手順とする。
- (4) 一次検査の結果判定とその後の対応は以下の通りとなる。

A. 「陰性」の場合

この時点で「非感染（感染はない）」と判定を確定する。

B. 「陽性」の場合

判定を確定させるため、確認検査を必ず実施する。

2. 確認検査

確認検査は、HTLV-1 の WB 法と HTLV-1 核酸増幅検査法(genomic PCR 法)の両者を同時に実施することを推奨する。診断は、別紙のフローチャートに示す通りに両者の検査結果により判定し行う。判定結果は、「陽性」と確定、「陰性」と確定、「陰性もしくは検出感度以下」(4 コピー/10⁵ 細胞未満)のいずれかとなる。

(1) HTLV-1 の WB 法が「陽性」の場合：

HTLV-1 核酸増幅検査法(genomic PCR 法)の結果に関わらず、陽性と判定を確定し、HTLV-1 の感染者と診断する。

(2) HTLV-1 の WB 法が「保留」の場合：

① HTLV-1 核酸増幅検査法(genomic PCR 法)の結果が陽性であれば、陽性と判定を確定する。また HTLV-1 の感染者と診断し、適切な乳汁栄養法（人工乳、3ヶ月までの短期母乳、凍結解凍母乳）を呈示する。

② HTLV-1 核酸増幅検査法(genomic PCR 法)の結果が陰性の場合、陰性もしくは検出感度以下と判定する。検出感度以下の感染の場合は、母子感染の可能性は極めて低い（通常の授乳をしたとしても、感染する可能性は約 3%であり、HTLV-1 が WB 法で陽性だった場合に人工乳栄養をした場合の母子感染率と変わらない）と考えられる^{5,6}。しかしながら、これらの症例に対しての長期母乳の安全性については、結論は未だ出ていない。

(3) HTLV-1 のウエスタンブロット法が「陰性」の場合：

① HTLV-1 核酸増幅検査法(genomic PCR 法)の結果が陽性であれば、陽性と判定を確定し、HTLV-1 の感染者と診断する。従来の方針では WB 法陰性では非感染と判断していたが、少数例で HTLV-1 核酸増幅検査法(genomic PCR 法)陽性者が存在することが知られている。この場合、HTLV-1 感染者として適切な乳汁栄養法を呈示する。

② HTLV-1 核酸増幅検査法(genomic PCR 法)の結果が陰性の場合、陰性と判定を確定し、非感染（感染はない）と診断する。

【留意事項】

(1) 検査における留意点

① 多くの妊婦は、たとえ一次検査が陽性であっても、確認検査で陽性と確定されない限り「HTLV-1 感染(症)」とは診断されないことを知らない。従って医療者は一次検査の陽性者への説明に際しては上記を踏まえたものとしなければならない。すなわち、一次検査の結果が陽性であった場合には、被検者に「一次検査の結果が陽性であり、これから確認検査を行うこと、確認検査の結果が出るまで感染は明らかでないこと」を確実に理解してもらう必要がある。説明を担当する医療者においては、妊婦に「一次検査が陽性＝（イコール）感染(症)」との誤解や不安が生じる説明とにならないよう配慮し、慎重に対処されたい。

② 本方針は HTLV-1 感染(症)の検査時での使用を目的にしたものである。従って、方針中に設定された HTLV-1 核酸増幅検査法は定性的な検査であり、HTLV-1 のプロウイルス量の測定（定量検査）を意図したものではない。

③ 児で検出される抗体は、母親から児への移行抗体が存在するため、必ずしも児本人の抗体とは限らない。そのため、保護者からの母子感染の診断の希望が

あった場合、少なくとも出生後3年経ってからの HTLV-1 検査を検討する。なお、児への抗体検査は保護者の意思を尊重する。

④ HTLV-1 核酸増幅検査法では、確認検査での十分な感度を得るためには 1 μ g 程度の genomic DNA を使用することが望ましい。

(2) 保険診療上の留意点

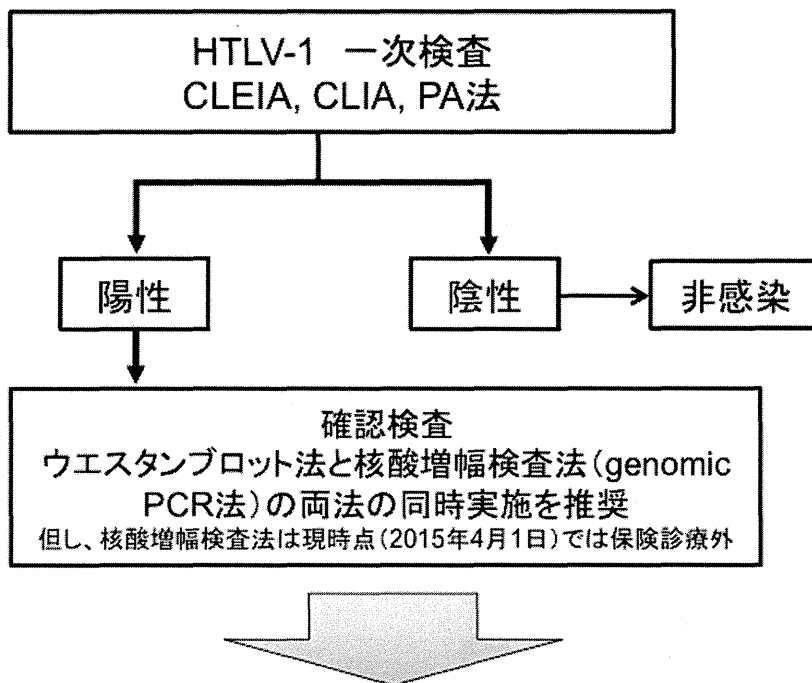
2015年4月1日現在 HTLV-1 核酸増幅検査法は保険適用されていないが、早期の保険適用を望みたい。

参考文献

1. 厚生労働科学研究費補助金「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」班（代表 浜口功）平成 23～25 年度総合研究報告書
2. HTLV-1 母子感染予防対策 保健指導マニュアル. 厚生労働科学特別研究事業「ヒト T 細胞白血病ウイルス-1 型 (HTLV-1) 母子感染予防のための保健指導の標準化に関する研究」班（代表 森内浩幸）平成 22 年度研究報告書
3. Qiu X, Hodges S, Lukaszewska T, et al. Evaluation of a new, fully automated immunoassay for detection of HTLV-I and HTLV-II antibodies. J Med Virol. 2008;80(3):484-93.
4. 出口松夫, 鍵田正智, 吉岡範, 他. 6 種 HTLV 抗体測定試薬の基本性能について. 医学と薬学. 2011;66(6):1053-9.
5. Li HC, Biggar RJ, Miley WJ, et al. Provirus load in breast milk and risk of mother-to-child transmission of human T lymphotropic virus type I. J Infect Dis. 2004;190(7):1275-8.
6. Biggar RJ, Ng J, Kim N, et al. Human leukocyte antigen concordance and the transmission risk via breast-feeding of human T cell lymphotropic virus type I. J Infect Dis. 2006;193(2):277-82.

別紙(案)

妊産婦診療におけるHTLV-1感染(症)診断のためのフローチャート
 HTLV-1感染(症)の診断法
 (日本HTLV-1学会、日本産科婦人科学会、日本産婦人科医会、
 日本周産期・新生児医学会 推奨検査手順)



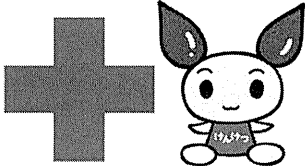
☆ 推奨法による判定確定法

ウエスタンブロット法

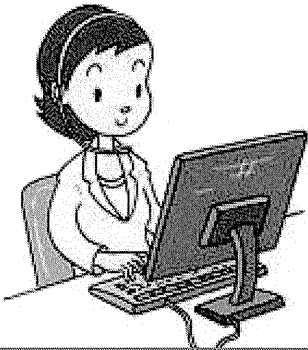
| | | ウエスタンブロット法 | | |
|---------|----|------------|---------|--------------|
| | | 陽性 | 陰性 | 保留 |
| 核酸増幅検査法 | 陽性 | 「陽性」と確定 | 「陽性」と確定 | 「陽性」と確定 |
| | 陰性 | 「陽性」と確定 | 「陰性」と確定 | 陰性もしくは検出感度以下 |

HTLV-1キャリアの追跡調査と核酸検査実施体制

日本赤十字社



データの解析・管理
データベースの構築
残余検体の保管

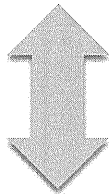
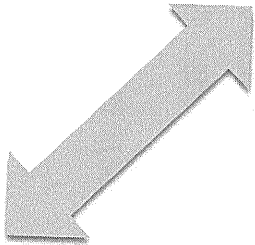


HTLV-1
陽性
の通知

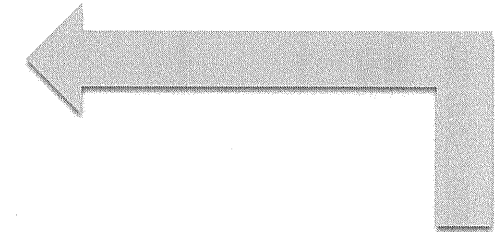
キャリア外来
受診依頼

国立感染症研究所

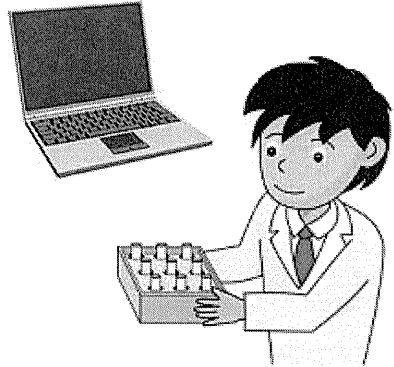
検査結果報告
残余検体送付



キャリア外来で
問診と採血実施



検体回収



キャリアの自宅

キャリア外来

検査センター