

分担課題：HTLV-1 非流行地域における偽陽性の問題

研究分担者 杉浦 時雄 名古屋市立大学大学院医学研究科 新生児・小児医学 講師
研究協力者 加藤 文典 名古屋市立大学大学院医学研究科 新生児・小児医学 講師

研究要旨

1. 妊婦の HTLV-1 抗体スクリーニング検査が陽性の場合には、必ず Western Blot (WB) 法による確認検査を行うこととなっている。しかし、WB 法でも判定保留となる症例が存在する。これまでの我々の調査で愛知県における妊婦の HTLV-1 キャリア率は、0.1%であることが明らかとなった。愛知県は非流行地域であるが故に、HTLV-1 検査の偽陽性が問題となる。HTLV-1 抗体偽陽性妊婦の詳細を明らかにし、解決策を探る。対象期間は平成 25 年より 27 年の 3 年間とした。名古屋市立大学病院にて HTLV-1 抗体(CLEIA 法)陽性、WB 法判定保留となった妊婦 11 例を対象とした。SRL に依頼し、HTLV-1 の PCR (プロウイルス DNA 定量 PX 領域) を行った。妊婦の平均年齢は 34 歳であった。抗体価は 1.0~4.8 (C.O.I < 1.0) と低値だった。WB 法は全例 p19+ であり、p19 のみ+が 8 例、p19+かつ p24+が 2 例、p19+で p24±が 1 例だった。PCR は全例陰性 (0 copies/1000PBMCs) だった。全例母乳栄養を選択した。HTLV-1 非流行地域において HTLV-1 抗体価が低い場合は、偽陽性の可能性が高い。偽陽性の問題を解決するには PCR が有用である。
2. 名古屋市立大学病院で板橋班のコホート研究にエントリーした症例で、3 歳までフォローできた 7 例中 1 例で母子感染が成立していた。母子感染成立例の栄養方法は、直接母乳が 3 回、2 ヶ月まで冷凍母乳+人工乳、その後人工乳のみ、であった。

A. 研究目的

1. 妊婦の HTLV-1 抗体スクリーニング検査は、妊娠初期~中期 (30 週あたりまで) に実施する。抗体スクリーニング検査は、PA 法や CLEIA 法あるいは CLIA 法がある。陽性の場合には必ず Western Blot (WB) 法による確認検査を行う。WB 法で陽性と判定されるのは env 蛋白 (gp46) のバンドが陽性で、かつ gag 蛋白 (p19, p24, p53)

のバンドのどれかが陽性となる場合であり、いずれも陰性の場合には WB 法が陰性と判定される。しかし、WB 法でも判定保留となる症例が存在する。

平成 23 年に産婦人科診療ガイドラインが改正され、妊婦の HTLV-1 抗体検査が必須となった。また、妊婦健康診査の検査項目の HTLV-1 抗体検査が公費負担となった。

現在、厚生労働科学研究成育疾患克服等次

世代育成基盤研究事業の指定研究として、「HTLV-1 母子感染予防に関する研究：HTLV-1 抗体陽性妊婦からの出生児のコホート研究」研究班（以下板橋班とする）が立ち上がり、全国で登録事業が行われている。平成 25 年と平成 26 年に愛知県周産期医療協議会の協力のもと、HTLV-1 母子感染についてのアンケートを行った。これまでの我々の調査で、愛知県における妊婦の HTLV-1 キャリア率は 0.1% であることが明らかとなった。愛知県は非流行地域であるが故に、HTLV-1 検査の偽陽性が問題となる。HTLV-1 抗体偽陽性妊婦の詳細を明らかにし、解決策を探る。

2. 名古屋市立大学病院において板橋班のコホート研究にエントリーした症例を対象に、3 歳時での母子感染の有無を明らかにする。

B. 研究方法

1. 名古屋市立大学病院にて HTLV-1 偽陽性と考えられる妊婦を前方視的に検討した。対象期間は平成 25 年より平成 27 年の 3 年間とした。名古屋市立大学病院にて HTLV-1 抗体 (CLEIA 法) 陽性、WB 法判定保留となった妊婦 11 例を対象とした。SRL に依頼し、HTLV-1 の PCR (プロウイルス DNA 定量 PX 領域) を行った。

2. 名古屋市立大学病院において板橋班のコホート研究にエントリーした 23 例を対象とした。3 歳時の HTLV-1 抗体で母子感染の有無を評価した。

C. 研究結果

1. 妊婦の平均年齢は 34 歳であった。全例、流行地域の出身ではなかった。抗体価は 1.0 ~ 4.8 (C.O.I < 1.0) と低値だった。WB 法は全例 p19+ であり、p19 のみ+ が 8 例、

p19+かつ p24+ が 2 例、p19+で p24± が 1 例だった。PCR は全例陰性 (0 copies/1000PBMCs) だった (表 1)。全例母乳栄養を選択していた。

2. 当院でコホート研究の同意を頂き、エントリーした 23 例中、3 歳までフォローできたのは 7 例であった (表 2)。人工乳が 3 例、短期母乳が 2 例、冷凍母乳が 1 例であった。症例 7 は WB 法判定保留で、PCR 陰性だったため、長期母乳を選択した。3 歳時点で見の HTLV-1 抗体は、7 例中 1 例で陽性、6 例が陰性であった。

HTLV-1 母子感染陽性となった症例 1 の詳細を示す。母は 37 歳で、母方祖母が九州出身。母の HTLV-1 抗体 (PA 法) 96.1 s/co (< 1.0)、WB 法陽性、PCR 5.4 copies/1000PBMCs (日本人 HTLV-1 無症候性キャリアの平均 18-20)。経膈分娩で出生。男児。栄養方法は直接母乳が 3 回、2 ヶ月まで冷凍母乳 + 人工乳、その後人工乳のみ、であった。児の 3 歳時の採血にて、HTLV-1 抗体 (CLEIA 法) 6.8 C.O.I (< 1.0)、WB 陽性、PCR 3.2 copies/1000PBMCs であったため、HTLV-1 母子感染成立と判定した。

D. 考察

1. これまでの我々の調査で、愛知県における妊婦の HTLV-1 キャリア率は 0.1% であることが明らかとなった。愛知県のような非流行地域では WB 法で判定保留であっても PCR 検査陰性となる可能性が高いと予想される。そのため、名古屋市立大学病院において HTLV-1 抗体 (CLEIA 法) 陽性、WB 法判定保留となった妊婦 11 例を対象とし、PCR を行った。PCR は全例陰性であった。抗体価 (CLEIA 法) は 1.0 ~ 4.8 (C.O.I <

1.0) と低値だった。

WB 法で陽性と判定されるのは env 蛋白 (gp46) のバンドが陽性で、かつ gag 蛋白 (p19, p24, p53) のバンドのどれかが陽性となる場合であり、いずれも陰性の場合には WB 法が陰性と判定される。しかし、表 3 のような組み合わせの場合には、判定保留となる。今回の検討では全例 p19 が陽性、p53 陰性、gp46 陰性であった。今回判定保留となった症例は、p19+、もしくは p19+ かつ p24+ のパターンが多かった (表 3)。

HTLV-1 非流行地域において HTLV-1 抗体価が低く、WB 法で p19 のみ陽性の場合には、偽陽性の可能性が高い。HTLV-1 偽陽性の問題を解決するには PCR が有用である。HTLV-1 核酸検出は、2017 年より HTLV-1 抗体陽性、WB 法判定保留となった妊婦に限って保険収載となった。

2. 名古屋市立大学病院でコホート研究の同意を頂き、エントリーした 23 例で 3 歳までフォローできたのは 7 例であった。3 歳まで達していない症例も多いが、フォローアップ率が低いのが問題となる。7 例中 1 例で母子感染が成立していた。母子感染成立例の栄養方法は、直接母乳が 3 回、2 ヶ月まで冷凍母乳 + 人工乳、その後人工乳のみ、であった。B 型肝炎ウイルス、C 型肝炎ウイルス、Human immunodeficiency virus の母子感染においては、母体の高ウイルス量がハイリスクとされている。今回、母子感染成立例の母親のウイルス量は、PCR 5.4 copies/1000PBMCs (日本人 HTLV-1 無症候性キャリアの平均 18-20) と高くなかった。HTLV-1 についても他のウイルス同様高ウイルス量が母子感染のハイリスクとなるかどうかは、多数の症例の

蓄積が必要である。

平成 25 年度から愛知県においても HTLV-1 母子感染対策協議会が設立された。産婦人科医、小児科医、血液内科医、助産師、保健師がメンバーとして参加している。愛知県では HTLV-1 キャリア妊婦を 1 カ所に集約することは難しく、各地域での体制作りを行い、キャリア妊婦がどこの医療機関へ行けば良いのかも明確にする必要がある。非流行地域であるが故、医療従事者の知識も乏しいため、十分な対応ができていない。今後、母子感染だけでなく、HTLV-1 の相談窓口を一本化する体制づくりが必要である。

E. 結論

1. HTLV-1 非流行地域において HTLV-1 抗体価が低い場合は、偽陽性の可能性高い。偽陽性の問題を解決するには PCR が有用である。

2. 板橋班のコホート研究にエントリーした症例で、3 歳までフォローできた 7 例中 1 例で母子感染が成立していた。母子感染成立例の栄養方法は、直接母乳が 3 回、2 ヶ月まで冷凍母乳 + 人工乳、その後人工乳のみ、であった。

F. 健康危険情報

特記事項はなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 杉浦時雄. HTLV-1 と HBV 母子感染について 愛知県周産期医療協議会調査報告会 2016.12.10 名古屋第一赤十字病院

H. 知的財産権の出題・登録状況

なし

表 1. HTLV-1 抗体陽性、Western Blot 法判定保留の妊婦

年齢	抗体	Western Blot 法					PCR
歳	CLEIA 法	判定	p19	p24	p53	gp46	SRL
28	1.0	保留	+	-	-	-	0
35	1.1	保留	+	+	-	-	0
33	1.2	保留	+	-	-	-	0
34	1.2	保留	+	-	-	-	0
39	1.4	保留	+	-	-	-	0
30	1.5	保留	+	±	-	-	0
35	1.7	保留	+	-	-	-	0
40	1.8	保留	+	-	-	-	0
30	1.9	保留	+	-	-	-	0
34	2.6	保留	+	-	-	-	0
36	4.8	保留	+	+	-	-	0

HTLV-1 抗体(CLEIA 法) C.O.I<1.0

PCR (プロウイルス DNA 定量 PX 領域) copies/1000PBMCs

表2 コホート研究にエントリーし、3歳までフォローできた7例

母					児				
症例	年齢 歳	HTLV-1 抗体	WB	PCR	週数	体重	栄養法	母子 感染	アレルギー
1	37	96.7 (PA法)	陽性	未検	40週 1日	3154g	短期 母乳	陽性*	なし
2	32	32.2 (CLEIA法)	陽性	未検	39週 0日	2636g	人工乳	陰性	なし
3	31	89.6 (PA法)	陽性	未検	38週 0日	2798g	冷凍 母乳	陰性	なし
4	32	陽性 (PA法定性)	陽性	未検	38週 4日	3088g	人工乳	陰性	喘息
5	28	150.4 (CLEIA法)	陽性	未検	40週 6日	3352g	短期 母乳	陰性	なし
6	36	5.3 (CLEIA法)	陽性	未検	36週 5日	2406g	人工乳	陰性	なし
7	29	1.94 (CLIA法)	判定 保留	陰性	40週 6日	3580g	長期 母乳	陰性	なし

児が3歳の時点で HTLV-1 抗体陽性の場合、母子感染陽性と判定

* HTLV-1 抗体(CLEIA法) 6.8 C.O.I (<1.0)、WB 陽性、PCR 3.2 copies/1000PBMCs

表 3

Western Blot 法による判定保留のパターン

HTLV-1 gag 蛋白			env 蛋白
p19	p24	p53	gp46
+	+	+	-
+	+	-	-
+	-	+	-
-	+	+	-
+	-	-	-
-	+	-	-
-	-	+	-
-	-	-	+

今回判定保留となった症例は、p19+、もしくは p19+かつ p24+のパターンが多かった。