

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

**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**

平成 2 5 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 浜口 功

平成 2 6 (2 0 1 4) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告

- 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P.3
浜口 功、山口一成、渡邊俊樹、出雲周二、岡山昭彦、佐竹正博、
長谷川寛雄、相良康子、齋藤 滋、山野嘉久、大隈 和、岩永正子、
宇都宮 與、内丸 薫、高 起良、魚住公治、緒方正男、鴨居功樹、
上平 憲、久保田龍二、梅木一美、野坂生郷、橋倉悠輝、山本成郎、
堀江真太郎、寺田裕紀子、倉光 球、成瀬 功、浜口行雄、篠田達也、
梶山直毅、斎藤由美子、澤野 薫

II. 分担研究報告

1. JSPFADデータベースの維持・継続および発症リスク解明..... P.11
岩永正子、渡邊俊樹、岡山昭彦、宇都宮 與、内丸 薫、高 起良、
魚住公治、緒方正男、鴨居功樹、相良康子、山口一成、上平 憲
2. HTLV-1 水平感染の実態推定に関する研究 P.15
佐竹正博、相良康子、岩永正子
3. HTLV-I抗体陽性で、Western Blot法判定保留者に対して行なったPCR検査法
の実態調査 P.17
齋藤 滋
4. 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
(HTLV-1プロウイルス量検出感度以下のキャリアにおける抗体検査の検討)
..... P.19
宇都宮 與
5. HTLV-1 定量 PCR 検査の標準化および判定保留例に対する有用性に関する
研究 P.23
山野嘉久
6. 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
(HTLV-1 ぶどう膜炎患者における全身疾患の発症リスクの解明) P.28
鴨居功樹、堀江真太郎、寺田裕紀子

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	P.31
IV. 研究成果の刊行物・印刷	P.45

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）
総括研究報告書

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

研究代表者 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。このような中、HTLV-1の検査体制に改善すべき点が存在することが明らかになってきた。研究班に[1]HTLV-1検査法標準化確立グループ、[2]HTLV-1感染の疫学検討グループを組織し、HTLV-1感染の実態を明らかにするとともに、各グループが有機的に情報を交換することにより、迅速かつ総合的にHTLV-1の感染の実態解明およびHTLV-1関連疾患の発症リスクの低減を目標とした。平成25年度の[1]HTLV-1検査法標準化確立グループでは、Western Blotting (WB)判定保留に対する追加測定検査としての有用性や、それぞれの施設の方法での検出感度等、未だ明らかになっていない点がある。本年度のHTLV-1感染症の診断法の標準化研究では、HTLV-1核酸検査（定量PCR法）の標準品および参照品の多施設共同測定、妊婦検査でのWB判定保留におけるPCRの追加検査の有用性について検討した。その結果、標準品、参照品ともにこれまでの結果と同様に施設間で一定の隔たりが確認され、標準品または参照品を用いることで測定値の標準化は可能であることが確認された。妊婦WB判定保留検体の核酸検査の結果、約20%でPCR陽性となることが明らかになり、WB判定保留に対して追加で定量PCRを行うことは有用であると考えられた。[2]HTLV-1感染の疫学検討グループにおいては、HTLV-1の水平感染の実態を明らかにするために、日本赤十字社で行っている献血時のHTLV-1検査の結果をもとに、検査において陽転化する症例の解析を行った。平成17-18年に検査を受けた全国330万人について後ろ向きコホートの手法で平成23年12月までの約6年の観察期間中の陽転化の比率を算出した。この結果、全国で年間に3000-4000人にHTLV-1の水平感染の発生が示唆された。また、JSPFADマテリアルバンクの検体を用いた発症リスクの検討を行った。

研究分担者

山口一成 熊本大学 学術研究員
渡邊俊樹 東京大学大学院 教授
出雲周二 鹿児島大学大学院 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
長谷川寛雄 長崎大学病院 講師
相良康子 日本赤十字社九州ブロック血液センター 課長
齋藤 滋 富山大学大学院 教授
山野嘉久 聖マリアンナ医科大学 准教授
大隈 和 国立感染症研究所 室長
岩永正子 東京慈恵会医科大学 予防医学センター 講師
宇都宮 與 今村病院分院 院長
内丸 薫 東大医科研 准教授
高 起良 JR大阪鉄道病院 医長
魚住公治 鹿児島医療センター 部長
緒方正男 大分大医 准教授
鴨居功樹 東京医科歯科大学 講師

研究協力者

上平 憲 長崎市民病院 検査部

久保田龍二 鹿児島大学難治ウイルス研究所
梅木一美 宮崎大学病院 検査部
野坂生郷 熊本大学大学院
血液内科・感染免疫診療部
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
堀江真太郎 東京医科歯科大学 眼科学
寺田裕紀子 東京医科歯科大学 眼科学
倉光 球 国立感染症研究所
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
齋藤由美子 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し、それらの判定保留の判定にHTLV-1核酸検査が予定されている。しかしながら核酸検査実施の有効性については明らかになっていなかった。

本年度は、標準品と参照品を多施設で測定し、標準品と参照品の測定値をもとに施設の補正値を算出した。妊婦検診のWestern Blotting (WB)判定保留検体に対して核酸検査を行い、核酸検出率を解析し、判定保留対策として核酸検査の有用性を検討した。標準品細胞TL-0m1について、核酸検査標準品としての特性に関する解析を進めた。また、母子感染以外の重要な感染ルートとされているものの、十分に解析が行われていないHTLV-1の水平感染の実態を明らかにする。さらに、JSPFADマテリアルバンクの検体を用いたキャリアからのATL、HAMの発症リスクの検討を行った。

B．研究方法

1) HTLV-1核酸検査の標準化

・検体

標準品：CFSE染色したTL-0m1をPBMC (All Cells)で希釈し、測定用検体を準備した。参照品はTL-0m1およびJurkatのゲノムDNAとした。

また板橋班とSRL社と協力して、妊婦検診の判定保留検体を収集しPBMC分離とDNA精製後、核酸検査を行った。妊婦判定保留血漿は、SRL社にて分離し保管した。

・q-PCRによるPVL定量

各施設の方法に従い、genomic DNA (gDNA)の核酸抽出を行い、HTLV-1核酸および内部標準遺伝子のコピー数をQ-PCRで測定し、プロウイルス量を測定した。結果はPBMCs100細胞中の陽性細胞数(Proviral Load (PVL) (%))とした。参加施設を以下に示す。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、日本赤十字社、SRL。

2) HTLV-1の水平感染についての疫学調査

日本赤十字社で行っている献血時のHTLV-1検査の結果をもとに、検査において陽転化する症例の解析を行った。平成17-18年に検査を受けた全国330万人について後ろ向きコホートの手法で平成23年12月までの約6年の観察期間中の陽転化の比率を算出した。

3) JSPFADマテリアルバンクの検体を用いた発症リスクの検討

全国の協力医療機関から提供されたJSPFADマテリアルバンクの無症候性キャリア検体2180検体の中から、ATLへの進展する症例について解析した。

(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。

C．研究結果

1) HTLV-1核酸検査の標準化

・核酸検査標準品細胞TL-0m1の解析

これまでFISH解析によってTL-0m1のHTLV-1コピー数は約1.8コピーであることが明らかになっていた。核酸検査の標準品としてプロウイルスコピー数の正確な規定は極めて重要である。プロウイルスコピー数のさらなる確度の向上を目指してFISH, digital PCRおよびQ-PCRでTL-0m1細胞中のプロウイルス量を測定した。その結果、HTLV-1プロウイルスコピー数はdigital PCRでは0.51、Q-PCRでは0.48となり、FISH解析の結果の0.46とほぼ一致した。またRNasePに対するALBのコピー数の比率はFISH 0.76, digital PCR 0.74, Q-PCR 0.74となり内部標準遺伝子のコピー数の比率も上記の3種の方法でほぼ一致した。RNasePおよびALBのコピー数は、FISH解析でそれぞれ3.95コピー/cellおよび3コピー/cellであった。このことからこれまでFISH解析で明らかになった結果の1.8コピー/cellが他の独立した2法でもほぼ一致して規定できたことから高い精度でコピー数を規定できていることを確認した。

・施設の補正係数の測定(多施設共同研究)

標準品(TL-0m1/PBMC希釈系列)および参照品(TL-0m1/Jurkat希釈系列)を各施設の方法に従い、HTLV-1のコピー数を測定し、標準品の理論値からの隔たりについて平行線定量法で測定した。算出された値を各施設の補正係数とし、参照品の測定値を補正することにより参照品の値付けを行った。各施設の補正係数は、前回の標準品測定の補正值から全体として大きな変化は認められなかった。今後は標準品の他にも値付けされた参照品を用いて、測定値のコントロールが可能となると考えられる。

・妊婦WB判定保留検体の核酸検査

板橋班とSRL(株)の協力で収集された妊婦WB判定保留検体PBMCから精製したgDNAでHTLV-1核酸検査(1 μ g input)を行ったところ、63検体中12検体(約20%)で核酸陽性となった。SRLと感染研で結果が異なった2検体あった。この2検体については、追加で新規に開発した多プライマーでの核酸高用量測定(特願2013-196247)を試みたところ、いずれも複数箇所のwellでHTLV-1核酸が検出された。よって結果の異なった2検体は、プロウイルス量が通常のPCRでは検出限界以下となる非常に低コピー数の検体であることが示唆された。また陰性検体についても同様に多プライマーで測定したところ、すべて陰性となったことから、感染研とSRLのプライマーの配列が原因の偽陰性は、極めて稀であることが示唆された。

またDNAの収量が十分にあった妊婦WB判定保留検体について当班研究の参加8施設で測定したところ、陽性検体はほとんどの施設で陽性となった。一部の検体で陽性と陰性が混在する結果が生じたがどの施設

設も定量結果は極めて低値であることから、検体中のプロウイルス量が極めて低く検出感度以下の検体であったことが考えられる。

これらのことから妊婦WB判定保留検体について核酸検査の追加実施は、一定の割合で陽性判定が可能であり、有効に機能すると考えられる。

・妊婦WB判定保留検体のWB再測定

板橋班とSRLの協力で収集された妊婦WB判定保留検体(47例)の血漿を用いて、WBを再測定したところ、陰性(10例)および判定保留(37例)となった。このことからWB判定保留例に対しては、採血時期が異なる血漿を用いてWBを再測定した場合でも、陽性とはならないことが示され、WBの再試は意味が無いことが示唆された。

・日本赤十字社WB判定保留検体の測定

日本赤十字社の協力で献血スクリーニングにおけるHTLV-1抗体検査WB判定保留検体(血液型判定の残検体)を収集し、関東ブロック血液センターおよび九州ブロック血液センターのそれぞれの検体について核酸検査を実施した。その結果、関東ブロックでは4例(全61例中)、九州ブロックでは16例(全49例中)で核酸陽性となり、各ブロック血液センターで核酸陽性率は異なるものの核酸検査によって一定の成果が期待できることが確認された。

2) HTLV-1の水平感染についての疫学調査

HTLV-1感染においては母乳による感染が最も主要な感染経路とされるが、水平感染の実態は明らかにされていない。日本赤十字社で行っている献血時のHTLV-1検査の結果をもとに、検査において陽転化する症例の解析を行った。平成17-18年に検査を受けた全国330万人について後ろ向きコホートの手法で平成23年12月までの約6年の観察期間中の陽転化の比率を算出した。この結果、全国で年間に3000-4000人にHTLV-1の水平感染の発生が示唆された。水平感染の実態調査をさらに進め、キャリア再生産の根絶に繋げる方策の検討が必要である。

3) JSPFADマテリアルバンクの検体を用いた発症リスクの検討

平成25年度までに全国の協力医療機関から提供されたJSPFADマテリアルバンクの無症候性キャリア検体2180検体の中から、26例にATLへの進展が見られた。このうち、24例はウイルスコピー数が4%以上でATL発症リスクに大いに関連している事が明らかとなった。ウイルスコピー数の評価を取り入れたキャリアフォローの体制の構築が必要である。

D. 考察

・HTLV-1感染症の診断法の標準化

各施設で運用されるHTLV-1核酸検査の測定値の標準化のため、標準品の設定および標準品の多施設測定を行い、測定値の標準化を試みた。標準品の解析では、TL-0m1の標準品としての性質の中でもHTLV-1コピー数と内部標準遺伝子の規定は極めて重要な因子となるが、3種類の測定方法でほとんど一致した結果となったことから、確度の高い規定を行うことが出来たと考えられる。このことから標準化のために設定した標準品の理論的値が極めて信頼できるものであることが確認できた。当研究班の標準品は市販品のPBMCを使用して準備したが、Jurkat細胞を使用することにより管理が簡素化でき、ロット間差が比較的縮小できると期待されたため、標準品とは別にTL-0m1とJurkatのgDNAを参照品として準備した。今回標準品と参照品を同時測定し参照品を値付けしたことによって、今後は比較的準備が簡単であるTL-0m1とJurkat細胞のgDNAも利用できると期待される。

標準品測定から得られた各施設の補正係数は、これまでの結果と全体として大きな差はなく、それぞれの試験法の試験毎の隔たりは小さく、測定値は安定しているものと考えられる。またこのことは、これまでの標準化作業の過程で同一のHTLV-1陽性検体を測定した結果からも、それぞれの施設の測定値は全体として測定時期に関係無く一致していたことから裏付けられる。

・妊婦WB判定保留対策としての核酸検査の有効性

妊婦検体のWB判定保留例のうち20%で核酸陽性となったことは、WB判定保留対策の追加検査としての核酸検査は、一定の割合で判定を出すことができると考えられ、実施する意義は高いと考えられる。

今回の妊婦検体は全国から収集されたものであるが、日赤の九州ブロックと関東ブロック血液センターのWB判定保留検体の核酸検査結果から核酸陽性率には地域差が認められる可能性があった。今後は核酸検査と様々な抗体検査の一致率等の比較検討により、核酸検査の確度を一層高めることができると期待される。

・水平感染によるキャリアの発生の実態調査の検討と実施

本班研究により、国内で年間3000-4000人の水平感染によるキャリアが発生している事が示唆された。水平感染キャリアの追跡調査と関連疾患発症のリスク評価を行うなど、キャリア再生産の根絶に繋げる方策の検討が必要である。

・JSPFADマテリアルバンクの検体を用いた発症リスクの検討

今回の解析の結果、ウイルスコピー数が4%以上でATL発症リスクに大いに関連している事が明らかと

なった。ウイルスコピー数の評価を取り入れたキャリアフォローの体制の構築が必要である。

E . 結論

最大5倍とされたHTLV-1コピー数測定の実験間差は、標準品や参照品を用いることで縮小することができた。今後は定期的に施設毎で標準品または参照品を測定することで測定値の標準化は可能であると考えられる。また、妊婦WB判定保留検体の約20%で核酸検査陽性となったことから、核酸検査の追加実施は有効に機能すると考えられる。

献血血液を用いた疫学調査の結果、全国で年間に3000-4000人にHTLV-1の水平感染の発生が示唆された。水平感染の実態調査をさらに進め、キャリア再生産の根絶に繋げる方策の検討が必要である。

F . 健康危険情報 特になし。

G . 研究発表

1. 論文発表

1. Takizawa K, Nakashima T, Mizukami T, Kuramitsu M, Endoh D, Kawauchi S, Sasaki K, Momose H, Kiba Y, Mizutani T, Furuta R, Yamaguchi K, Hamaguchi I. Degenerate PCR strategy with DNA microarray for detection of multiple and various subtypes of virus in the blood screening. *Transfusion*. 2013. 53(10 Pt 2):2545-55.

2. 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 S, 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.

3. 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, Uchimaru 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. Aug;104(8):1097-106.

4. Nakano K, Ando T, Yamagishi M, Yokoyama K, Ishida T, Ohsugi T, Tanaka Y, Brighty DW, Watanabe T. Viral interference with host mRNA surveillance, the nonsense-mediated mRNA decay (NMD) pathway, through a new function of HTLV-1 Rex: implications for retroviral replication. *Microbes Infect*. 2013. Jun;15(6-7):491-505.

5. Ishida YI, Yamasaki M, Yukizaki C, Nishiyama K, Tsubouchi H, Okayama A, Kataoka H. Carnosol, rosemary ingredient, induces apoptosis in adult T-cell leukemia/lymphoma cells via glutathione depletion: proteomic approach using fluorescent two-dimensional differential gel electrophoresis. *Hum Cell*. 2013. Dec 10.

6. Umekita K, Hidaka T, Miyauchi S, Ueno S, Kubo K, Takajo I, Hashiba Y, Kai Y, Nagatomo Y, Okayama A. Treatment with anti-tumor necrosis factor biologics in human T-lymphotropic virus type 1 positive patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2013. Oct 14

7. Mochizuki M, Sugita S, Kamoi K. Immunological homeostasis of the eye. *Prog Retin Eye Res*. 2013. Mar;33:10-27.

8. 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 **日本輸血・細胞治療学会誌** 印刷中

9. Tamai Y, Hasegawa A, Takamori A, Sasada A, Tanosaki R, Choi I, Utsunomiya A, Maeda Y, Yamano Y, Eto T, Koh KR, Nakamae H, Suehiro Y, Kato K, Takemoto S, Okamura J, Uike N, Kannagi M. Potential contribution of a novel Tax epitope-specific CD4+ T cells to graft-versus-Tax effect in adult T cell leukemia patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Immunol*. 2013. Apr 15;190(8):4382-92.

10. Kobayashi S, Tian Y, Ohno N, Yuji K, Ishigaki T, Isobe M, Tsuda M, Oyaizu N, Watanabe E, Watanabe N, Tani K, Tojo A, Uchimaru K. The CD3 versus CD7 plot in multicolor flow cytometry reflects progression of disease stage in patients infected with HTLV-I. *PLoS One*. 2013. 8(1):e53728.

11. Sato T, Coler-Reilly A, Utsunomiya A, Araya N, Yagishita N, Ando H, Yamauchi J, Inoue E, Ueno T, Hasegawa Y, Nishioka K, Nakajima T, Jacobson S, Izumo S, Yamano Y. CSF CXCL10, CXCL9, and neopterin as candidate prognostic biomarkers for HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013. Oct 10;7(10):e2479.

12. Ishihara M, Araya N, Sato T, Tatsuguchi A, Saichi N, Utsunomiya A, Nakamura Y, Nakagawa H, Yamano Y, Ueda K. Preapoptotic protease calpain-2 is frequently suppressed in adult T-cell leukemia. *Blood*. 2013. May 23;121(21):4340-7.

13. Narita T, Ishida T, Masaki A, Suzuki S, Ito A, Mori F, Yamada T, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Miyazaki Y, Takatsuka Y, Utsunomiya A, Niimi A, Iida S, Ueda R. HTLV-1 bZIP Factor-Specific CD4 T Cell Responses in Adult T Cell Leukemia/Lymphoma Patients after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *J Immunol*. 2014. Feb 1;192(3):940-7.

14. Kinpara S, Kijiyama M, Takamori A, Hasegawa A, Sasada A, Masuda T, Tanaka Y, Utsunomiya A, Kannagi M. Interferon- α (IFN- α) suppresses HTLV-1 gene expression and cell cycling, while IFN- α combined with zidovudine induces p53 signaling and apoptosis in HTLV-1-infected cells. *Retrovirology*. 2013. May 20;10:52.

15. Matsubara F, Sagara Y, Kato Y, Harada K, Koizumi A, Haraguchi K. Detection of antibodies to human T-cell leukemia virus types 1 and 2 in breast milk from East asian women. *Biol Pharm Bull.* 2014. 37(2):311-4.

16. 齋藤 滋: HTLV-I 母子感染対策. *産婦人科の実験* 2013. 62:543-7.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

出願番号：特願2013-196247. 発明の名称：HTLV-1プロウイルス検出のためのプライマーセット、およびそれを用いた検出法. 発明者：倉光球、浜口功、大隈和

2. 実用新案登録
なし。

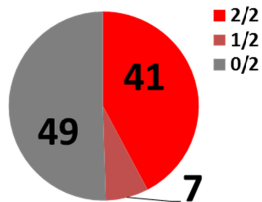
3. その他
なし

核酸検査の有効性の検討

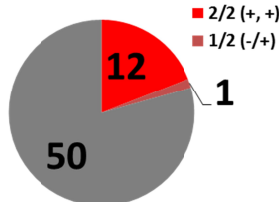
抗体検査のWB判定保留の核酸検査結果

核酸陽性の割合

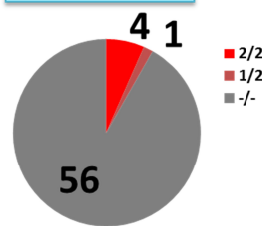
日赤WB判定保留 (九州ブロック)



妊婦WB判定保留 (全国)

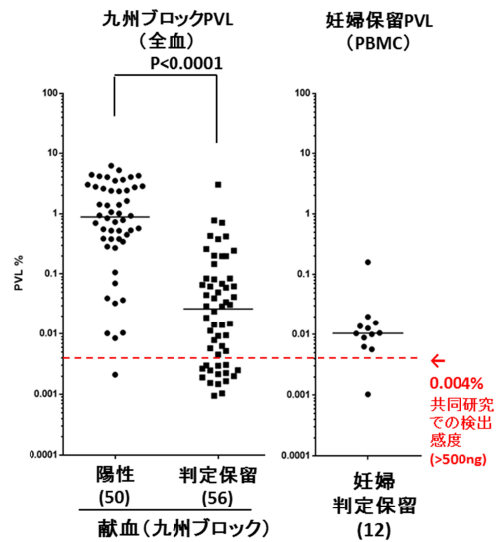


日赤WB判定保留 (関東ブロック)



日本赤十字社との共同研究

核酸陽性のプロウイルス量



板橋研との共同研究

題名 JSPFADデータベースの維持・継続および発症リスク解明

研究分担者：岩永正子(慈恵医大)・渡邊俊樹(東大院)・岡山昭彦(宮崎大医)・宇都宮與(今村病院分院)
内丸薫(東大医科研)・高起良(JR大阪鉄道病院)・魚住公治(鹿児島医療センター)
緒方正男(大分大医)・鴨居功樹(東京医科歯科大)
相良康子(日赤九州ブロック血液センター)・山口一成(国立感染症研)

研究協力者：上平憲(長崎市民病院)

研究要旨：

前年度より引き続き、HTLV-1 関連疾患の全国疫学コホートである JSPFAD を継続・維持し、18 都道府県 50 施設より集積された累積症例数 2,909 人(HTLV-1 キャリア 2196 人, ATL 523 人, HAM 53 人, HU107 人), 累積検体数 8,338 検体のデータベースを構築・維持した。さらに、検体より抽出されたバイオマテリアルは、浜口班の HTLV-1 検査法標準化確立グループを含む計 12 件の研究グループの研究サポートのために供給され、マテリアルバンクとして有効に活用された。追跡期間中にキャリアから ATL へ 26 例, HAM へ 3 例が進展した。ATL 進展者のうち 24 例は登録時プロウイルス量が 4% 以上であったが, HAM 進展者の登録時プロウイルス量は 4% 以下であり, 疾患の発症にプロウイルス量以外のファクターが関わっていることが示唆された。

A . 研究目的

本研究分担者グループでは、2002年(平成14年)から継続しているHTLV-1関連疾患の全国疫学コホートであるJSPFADを継続・維持することによって、下記の3つの研究を行うことを目的としている。

- 1) HTLV-1ウイルス量測定を基礎的指標として、HTLV-1関連疾患の発症リスクを疫学的に解明する。
- 2) 水平感染も含めて、HTLV-1ウイルス感染経路を見直し、疾患発症との関連について検討する。
- 3) HTLV-1感染者のマテリアルバンクとして機能し、HTLV-1検査法標準化確立グループの研究サポートやHTLV-1関連疾患の発症に関連する新たなバイオマーカー探索研究をサポートし、HTLV-1キャリアの発症リスクの解明に貢献する。

ただし、2)のウイルス感染経路の見直しと疾患発症との関連の研究は、前年度より別の分担研究グループを立ち上げて研究を行った(「HTLV-1水平感染の実態推定に関する研究」を参照)。

B . 研究方法

1)JSPFADデータベースの維持・継続：
既に確立されたJSPFADの研究実施方法に基づいて、血液検体・臨床情報・疫学情報の収集を行った。具体的には、研究協力実施医療機関の担当者は、同意が得られた研究対象者からの検体と情報を東大医科研(責任者：渡邊)に送付、受理された検体は東大医科研の検体データベースに登録後、生物学的処理を行いバイオマテリアル(細胞、DNA、血漿)として保管した。その一部を用いて東大医科研ではウイルス学的解析(プロウイルス量の測定とモノクロナリティー検査)と遺伝子情報解析を行い、残余バイオマテリアルは福岡県赤十字血液センター(担当：相良)へ送付して長期保存した。臨床・疫学情報は東京慈恵会医大(担当：岩永)へ送付して疫学データベースに入力し管

理維持した。

(倫理面への配慮)すべての研究協力実施医療機関は当該施設の倫理委員会による研究実施承認を受けており、すべての研究協力対象者からはインフォームドコンセントが得られており、すべての情報は匿名化コード処理されて収集される仕組みとなっており、十分な倫理面の配慮がなされている。

2)HTLV-1キャリアからATL進展ならびHAM進展に関わる発症リスク評価：
JSPFADデータベース内のウイルス学的情報・臨床情報・疫学情報を定期的に付きあわせ、HTLV-1キャリアからATLおよびHAMへの発症リスクを疫学的に解析した。

3)バイオマテリアルバンクの活用：
バイオマテリアルバンク利用申請があった、浜口班のHTLV-1検査法標準化確立グループおよびHTLV-1関連の研究を行っている国内外研究者に対して、研究の遂行と発展のために、血漿・血清・DNAなどのマテリアルを供給した。

C . 研究結果

1)JSPFADデータベース登録状況：
研究協力実施医療機関数・登録者数・累積検体数は、2013年12月15日現在、それぞれ、18都道府県から50施設、2,909例、8,338検体と前年度よりさらに増加した。登録者の内訳は、HTLV-1キャリア 2,196人(76%)、ATL 523人(18%)、HAM 53人(2%)、HU(HTLV-1関連プロウイルス量) 107人(4%)、診断不明(1%)であった。

2)HTLV-1キャリアからのATL進展リスク：
2013年12月15日現在、HTLV-1キャリアとして登録され、ATLに進展した症例は前年度より2名増加し26例となった。26例中登録時プロウイルス量(PVL)が4%以下の症例は2名、のこり24例はすべてPVL4%以上で

あった。HTLV-1キャリアからATLの進展様式を分類すると、19例(73%)がindolent type (くすぶり型・慢性型)に進展し、7例(26%)がaggressive type (急性型・リンパ腫型)に進展していた。

3)HTLV-1キャリアからのHAM進展リスク：
2013年12月15日現在、HTLV-1キャリアとして登録され、追跡観察中にHAMに進展したとみなされた症例は前年度のまま3例であった。3例とも登録時PVLは4%以下であった。HUとして登録され、追跡観察中にHAMに進展(合併)した症例も前年度のまま3例で、いずれも登録時PVLは4%以下であった。

4)バイオマテリアルバンクの活用状況：
マテリアルの提供を行った研究は、前年度より4件増加し、累積12件となった。

D . 考察

約2000人のHTLV-1キャリア母集団から、HTLV-1関連疾患が、頻度は低いながら年に1~2例発症していることが確実となった。また、ATL進展者の92%はプロウイルス量が4%以上の高リスクキャリアから進展していたが、8%はプロウイルス量が4%以下の低リスクキャリアから進展しており、感染ウイルス量高値以外のリスクファクターが確実に存在する事が明らかに示唆された。HTLV-1キャリアからのATL進展・HAM進展は非常に頻度が低いため、通常の横断研究では把握することのできない疾患発症の実態解明が、本研究のさらなる長期的な追跡調査により期待される。

バイオマテリアルバンクの機能としては、本年度は4件ものHTLV-1関連疾患の研究にバイオマテリアルを供給し(全体の30%)、HTLV-1感染者のマテリアルバンクとして十分に機能した。HTLV-1感染者の検体を長期に継続的に保存しているバイオマテリアルバンクは他に類がなく、これまでも、今後も、HTLV-1関連疾患の研究の発展に大いに寄与できるものと期待される。

E . 結論

追跡期間中にキャリアからATLへ26例、HAMへ4例が進展した。ATL進展者のうち24例は登録時プロウイルス量が4%以上であったが、2例のプロウイルス量は4%以下であり、HAM進展者全員の登録時プロウイルス量は4%以下であり、ATL進展にプロウイルス量以外のファクターが関わっていることが示唆された。また、ATLとHAMの発症に関わるウイルス量の意義に相違があることが示唆された。

F . 健康危険情報 なし

G . 研究発表

1. 論文発表

1)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, Uchimaru K, Ogawa S, Watanabe T. Adult T-cell leukemia cells are characterized by abnormalities of Helios expression that promotes T-cell growth

h. **Cancer Sci.** 104:1097-1106,2013.

- 2) Mahieux R, Watanabe T. Forefront studies on HTLV-1 oncogenesis. **Front Microbiol.** 4:156,2013.
- 3) White Y, Yoshimitsu M, Kozako T, Matsushita K, Koriyama C, Uozumi K, Suzuki S, Kofune H, Ariama N. Effects of exogenous interleukin-7 on CD8+ T-cell survival and function in human T-cell lymphotropic virus type 1 infection. **Leuk Lymphoma.** 54:2243-50,2013.
- 4) Tamai Y, Hasegawa A, Takamori A, Sasada A, Tanosaki R, Choi I, Utsunomiya A, Maeda Y, Yamano Y, Eto T, Koh KR, Nakamae H, Suehiro Y, Kato K, Takemoto S, Okamura J, Uike N, Kannagi M. Potential contribution of a novel Tax epitope-specific CD4+ T cells to graft-versus-Tax effect in adult T cell leukemia patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. **J Immunol.** 190:4382-92,2013.
- 5) 吉田全宏, 亀田和明, 小川吉彦, 金島広, 中尾隆文, 田邊順子, 松岡雅雄, 高起良, 山根孝久, 末梢血でCD25陰性,リンパ節でCD25陽性を示した成人T細胞白血病/リンパ腫の1症例. **日本検査血液学会雑誌**, 14巻2号:188-192,2013.
- 6) Ohno N, Kobayashi S, Ishigaki T, Yuji K, Kobayashi M, Sato K, Watanabe N, Tojo A, Uchimaru K. Loss of CCR4 antigen expression after mogamulizumab therapy in a case of adult T-cell leukaemia-lymphoma. **Br J Haematol.** 163:683-5,2013.
- 7) Ishigaki T, Isobe M, Kobayashi S, Yuji K, Ohno N, Watanabe N, Tojo A, Uchimaru K. Development of peripheral T-cell lymphoma not otherwise specified in an HTLV-1 carrier. **Int J Hematol.** 97:667-72,2013.
- 8) Ishihara M, Araya N, Sato T, Tatsuguchi A, Saichi N, Utsunomiya A, Nakamura Y, Nakagawa H, Yamano Y, Ueda K. Preapoptotic protease calpain-2 is frequently suppressed in adult T-cell leukemia. **Blood.** 121:4340-7,2013.
- 9) Nakano K, Ando T, Yamagishi M, Yokoyama K, Ishida T, Ohsugi T, Tanaka Y, Brighty D-W, Watanabe T. Viral interference with host mRNA surveillance, the nonsense-mediated mRNA decay (NMD) pathway, through a new function of HTLV-1 Rex: implications for retroviral replication. **Microbes Infect.** 15:491-505,2013.
- 10) 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.** 20:403-10,2013.
- 11) Ikebe E, Kawaguchi A, Tezuka K, Taguchi S, Hirose S, Matsumoto T, Mitsui T, Senba K, Nishizon

- o A, Hori M, Hasegawa H, Yamada Y, Ueno T, Tanaka Y, Sawa H, Hall W, Minami Y, Jeang KT, Ogata M, Morishita K, Hasegawa H, Fujisawa J, Iha H. Oral administration of an HSP90 inhibitor, 17-DMAG, intervenes tumor-cell infiltration into multiple organs and improves survival period for ATL model mice. **Blood Cancer J.** 3:e132,2013.
- 12) Kinpara S, Kijiyama M, Takamori A, Hasegawa A, Sasada A, Masuda T, Tanaka Y, Utsunomiya A, Kannagi M: Interferon- α (IFN- α) suppresses human T-lymphotropic virus type-1 (HTLV-1) gene expression and cell cycling, while IFN- α combined with zidovudine induces p53 signaling and apoptosis in HTLV-1-infected cells. **Retrovirol** 10:52,2013.
- 13) Ando H, Sato T, Tomaru U, Yoshida M, Utsunomiya A, Yamauchi J, Araya N, Yagishita N, Coler-Reilly A, Shimizu Y, Yudo K, Nishioka K, Nakajima T, Jacobson S, Yamano Y. : Positive feedback loop via astrocytes causes chronic inflammation in virus-associated myelopathy. **Brain** 136:2876-87,2013.
- 14) Ishida T, Hishizawa M, Kato K, Tanosaki R, Fukuda T, Takatsuka Y, Eto T, Miyazaki Y, Hidaka M, Uike N, Miyamoto T, Tsudo M, Sakamaki H, Morishima Y, Suzuki R, Utsunomiya A: Impact of GVHD on allogeneic HCT for adult T-cell leukemia-lymphoma focusing on preconditioning regimens: nationwide retrospective study. **Biol Blood Marrow Transplant** 19:1731-1739,2013.
- 15) Chihara D, Ito H, Matsuda T, Katanoda K, Shibata A, Taniguchi S, Utsunomiya A, Sobue T, Matsuo K.: Association between decreasing trend in the mortality of adult T-cell leukemia/ lymphoma and allogeneic hematopoietic stem cell transplants in Japan: Analysis of Japanese vital statistics and Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). **Blood Cancer J** 3:e159,2013.
- 16) Sato T, Coler-Reilly A, Utsunomiya A, Araya N, Yagishita N, Ando H, Yamauchi J, Inoue E, Ueno T, Hasegawa Y, Nishioka K, Nakajima T, Jacobson S, Izumo S, Yamano Y : CSF CXCL10, CXCL9, and neopterin as candidate prognostic biomarkers for HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. **PLoS Negl Trop Dis** 7:e2479,2013.
- 17) Nakano N, Kusumoto S, Tanaka Y, Ishida T, Takeuchi S, Takatsuka Y, Akinaga S, Mizokami M, Ueda R, Utsunomiya A : Reactivation of hepatitis B virus in a patient with adult T-cell leukemia-lymphoma receiving the anti-CC chemokine receptor 4 antibody mogamulizumab. **Hepatol Res** 2013 Mar 26 [Epub ahead of print]
- 18) Umekita K, Hidaka T, Miyauchi S, Ueno S, Kubo K, Takajo I, Hashiba Y, Kai Y, Nagatomo Y, Okayama A. Treatment with anti-tumor necrosis factor biologics in human T-lymphotropic virus type 1 positive patients with rheumatoid arthritis. **Arthritis Care Res (Hoboken)**. 2013 Oct 14 [Epub ahead of print].
- 19) Umekita K, Umeki K, Miyauchi S, Ueno S, Kubo K, Kusumoto N, Takajo I, Nagatomo Y, Okayama A. Use of anti-tumor necrosis factor biologics in the treatment of rheumatoid arthritis does not change human T-lymphotropic virus type 1 markers: a case series. **Mod Rheumatol**. 2013 Nov 4 [Epub ahead of print].
- 20) Ishida YI, Yamasaki M, Yukizaki C, Nishiyama K, Tsubouchi H, Okayama A, Kataoka H. Carnosol, rosemary ingredient, induces apoptosis in adult T-cell leukemia/lymphoma cells via glutathione depletion: proteomic approach using fluorescent two-dimensional differential gel electrophoresis. **Hum Cell**. 2013 Dec 10 [Epub ahead of print].
- 21) Narita T, Ishida T, Masaki A, Suzuki S, Ito A, Mori F, Yamada T, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Miyazaki Y, Takatsuka Y, Utsunomiya A, Niimi A, Iida S, Ueda R. : HTLV-1 bZIP factor-specific CD4 T cell responses in adult T cell leukemia/lymphoma patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. **J Immunol**. 2013 Dec 20 [Epub ahead of print]
- ## 2. 学会発表
- 1) Nakano N, Kubota A, Tokunaga M, Takeuchi S, Takatsuka Y, Utsunomiya A. Extremely high incidence of CMV-pp65 antigenemia in ATLL patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. ASBMT/CIBMTR BMT tandem meetings, Salt Lake City, UT, USA, 12-18 February, 2013
- 2) Takeuchi S, Nakano N, Kubota A, Tokunaga M, Yonekura K, Takatsuka Y, Utsunomiya A: A retrospective analysis of pre-transplant prognostic indices and overall survival after allogeneic stem cell transplantation in adult T-cell leukemia/lymphoma patients. EBMT, London, UK, 7-10 April, 2013
- 3) Yamagishi M, Fujikawa D, Kurokawa N, Soejima A, Takahashi R, Sakai N, Nakagawa S, Nakano K, Kobayashi S, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Uchimaruru K, Ogawa S, Watanabe T. Molecular hallmarks of adult T cell leukemia: miRNA, pigenetics, and emerging signaling abnormalities. 16th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses (June 26-30 2013), Montreal, Canada, 2013.
- 4) Takemoto S, Uzawa K, Morita K, Pornkunal R, Haga Y, Iwanaga M, Sagara Y, Kawano F, Watanabe T. Adult T-cell leukemia/lymphoma following elevation of serum levels of soluble cytokine receptors, sCD25 and Scd30. 16th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses (June 26-30 2013), Montreal, Canada, 2013.
- 5) Nakano K, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Uchimaruru K, Watanabe T. Disorders of the cMyb proto-onc

ogene expression and its significance in the course of ATL development. 16th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses (June 26-30 2013), Montreal, Canada, 2013.

6) Utsunomiya A: Mogamulizumab, an anti-CCR4 monoclonal antibody, is a potent therapeutic option for adult T-cell leukemia-lymphoma. 16th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses (June 26-30 2013), Montreal, Canada, 2013.

7) Yonekura K, Kanzaki T, Nakano N, Tokunaga M, Kubota A, Takeuchi S, Takatsuka Y, Utsunomiya A: Effect of a novel anti-CCR4 monoclonal antibody (Mogamulizumab) on skin lesions of adult T-cell leukemia-lymphoma (ATL) and its adverse skin reactions (ASR). 16th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses (June 26-30), Montreal, Canada, 2013.

8) 相良康子, 井上由紀子, 守田麻衣子, 後藤信代, 岩永正子, 渡邊俊樹, 清川博之. HTLV-1感染者が産生する中和抗体について. 第6回HTLV-1研究会・シンポジウム, 東京大学医科学研究所, 2013年8月.

9) 中武彩子, 小林行治, 西片一朗, 中畑新吾, 岩永正子, 相良康子, 北中明, 天野正宏, 前田宏一, 末岡榮三郎, 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6回HTLV-1研究会・シンポジウム, 東京大学医科学研究所, 2013年8月.

10) 小林誠一郎, 渡辺恵理, 石垣知寛, 中野和民, 矢持忠徳, 山岸誠, 浅沼里実, 大野伸広, 湯地晃一郎, 渡辺信和, 東條有伸, 渡邊俊樹, 内丸薫. HAS-Flow法を用いたHTLV-1キャリア/くすぶり型ATL境界の検討. 第6回HTLV-1研究会・シンポジウム, 東京大学医科学研究所, 2013年8月.

11) 中島誠, 東原正明, 渡邊俊樹, 堀江良一. HTLV-1キャリアにおけるCD4/25/30陽性細胞は核形態異常を伴う. 第6回HTLV-1研究会・シンポジウム, 東京大学医科学研究所, 2013年8月.

12) 石垣知寛, 小林誠一郎, 渡辺恵理, 佐藤奈津子, 大野伸広, 渡辺信和, 内丸薫, 東條有伸, 中内啓光. ATLにおけるHAS-Flow法の臨床応用-12カラーの病態解析から4カラーの臨床検査まで. 第23回日本サイトメトリー学会学術集会, 東京, 2013年6月.

13) 大野伸広, 田野崎隆二, 福田隆浩, 井上明威, 藤重夫, 伊藤歩, 小林真之, 佐藤広太, 城憲秀, 川俣豊隆, 湯地晃一郎, 石垣智寛, 小林誠一郎, 渡辺信和, 内丸薫, 東條有伸. Aggressive ATL患者の治療選択における同種造血幹細胞移植の意義の検討. 第75回日本血液学会学術集会, 札幌, 2013年10月.

14) 佐藤奈津子, 渡辺恵理, 石垣知寛, 小林誠一郎, 大野伸広, 崔日承, 末廣陽子, 鶴池直邦, 内丸薫, 渡辺信和. フローサイトメトリーによるATL細胞の解析法とその臨床検査への応用. 第75回日本血液学会学術集会, 札幌, 2013年10月.

15) 吉田全宏, 亀田和明, 金島広, 中尾隆文, 山根孝久, 高起良, 田邊順子, 松岡雅雄. 末梢血でCD25陰性, リンパ節でCD25陽性を示した成人T細胞白血病/リンパ腫. 第75回日本血液学会学術集会, 札幌, 2013年10月.

16) 吉満誠, Chibueze Ezinne, 黒木綾子, 中村大輔, 新居亮彦, 川田英明, 鈴木紳介, 松下格司, 魚住公治, 有馬直道. HTLV-1キャリア及びATLにおける免疫抑制性受容体2B4発現の検討. 第110回日本内科学会, 東京, 2013年4月.

17) 水上拓郎, 滝澤和也, 栗林和華子, 平松竜司, 倉光球, 山崎淳平, Hall William, 長谷川秀樹, 山口一成, 浜口功. 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回日本獣医学会学術集会, 岐阜, 2013年9月.

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

題名 HTLV-1水平感染の実態推定に関する研究

研究分担者：佐竹正博（日本赤十字社中央血液研究所・副所長）
相良康子（日本赤十字社九州ブロック血液センター・課長）
岩永正子（東京慈恵会医科大学・講師）

研究要旨：平成25年度は、前年度の九州での検討結果をもとに、全国の献血データベースを使って献血者におけるHTLV-1陽転化率を推定した。全国データでは、2005年～2006年の献血者のうち、HTLV-1抗体確認検査（IF）が陰性で、2011年末までに複数回献血があった者を追跡し、追跡期間内にHTLV-1(IF)が陽転した献血者を集計した。10万人年あたりの全国の陽転化数は男性2.3、女性6.9で、女性は男性の3倍であった。男性では60歳代が、女性では50歳代が最も陽転率が高かった。地域別では、男女とも九州沖縄地方が最も陽転率が高く、10万人年あたり男性5.2、女性24.3であった。地域のキャリア率とその地域内の陽転率は女性において良く関連していた。

A．研究目的

HTLV-1は主として3つの感染ルート（母子感染、輸血感染、男女間感染）によってヒト-ヒト感染する。母子感染ルートの主体である母乳を介した感染は、有効な予防的対策が確立し、endemic areaにおいては、HTLV-1の新規感染者は激減している。輸血感染については、1986年以降すべての献血に対しHTLV-1スクリーニングが実施されているため、現在では実質的に輸血による新規感染者はいない。一方、水平感染ルートについては、1980～90年代の小規模の疫学研究によって「夫から妻への感染が大半を占めるであろう」ということが推定されているのみで、集団レベルにおける実態は十分に把握されておらず、水平感染による新規感染予防対策もとられていない。

本研究グループでは、献血者のHTLV-1スクリーニング検査結果を用いて、一般集団における水平感染率を推定することを目的としている。平成25年度は、前年度の九州での検討結果をもとに、全国の献血データベースを使って献血者におけるHTLV-1陽転化率推定を検討した。

B．研究方法

・研究デザイン

2005年～2006年の献血者のうち、HTLV-1スクリーニング検査結果が陰性で、2011年末までに複数回(2回以上)献血があった者を追跡母集団とし、追跡期間内のHTLV-1陽転化をアウトカムとした後ろ向きコホート研究である。

・データ抽出

平成25年度は全国献血データベースより個別追跡データを抽出した。

・HTLV-1感染陽転者の定義

データが膨大な全国データでは、前年度の九州のみの解析の時のようなスクリーニング検査をメルクマールとして追跡母集団を設定し、統一した確認検査による陽転化確認を行うという方法を適用することは困難であったため、方法を変更し、一次検査（凝集

法）の結果にかかわらず追跡開始時に確定検査が陰性の献血者を追跡母集団とし、追跡期間中にWB法・IF法いずれかが陽転した場合を陽性とした。

・追跡期間の計算

前年度と同様に、陽転化していない者の追跡期間(人年)は、2005年～2006年の最初の陰性献血確認日と最終陰性献血確認日から計算した。陽転化した者の追跡期間(人年)は、献血の特性上inter-donation intervalを適応し、2005年～2006年の最初の陰性献血確認日と、陽転確認日とその1つ前の陰性献血確認日の中間日から計算した。

・陽転化率の計算

全国を北海道、東北、関東、中部、近畿、中四国、九州沖縄の7ブロックに分けて、平成24年度と同様に性別・年齢別・生年別に、陽転者数を追跡母集団数で除して「粗陽転化率」を求め、また陽転者数を追跡人年で除して「10万人年あたりの陽転化率」を求めた。

（倫理面への配慮）すべての情報は匿名化コード処理されており、十分な倫理面の配慮がなされている。

C．研究結果

全国データでは、約337万人（男性210万人、女性128万人）を追跡し、男性204人、女性328人が陽転化した。粗陽転化率は男性0.01%、女性0.026%、10万人年あたりの陽転化数は男性2.3、女性6.9であり、女性の陽転化数が男性の3倍であった。

年齢別では、高齢者ほど陽転率が高く、男性では1935-44年生まれ(60歳代)、女性では1945-54年生まれ(50歳代)が最も陽転率が高かった。

地域別では、男女とも九州沖縄地方が最も陽転率が高く(10万人年あたり男性5.2、女性24.3)、その他の地域では近畿地方の男性の陽転率が九州に次いで高かった(10万人年あたり4.6)。

地域別のキャリア率と陽転率の関連をみると、女性ではキャリア率と陽転率がよく関連していたが、

男性では、近畿地方においてキャリアが低い割に陽転化率が高かった。また、男性のキャリア率と女性の陽転率もよく関連しており、女性のキャリア率と男性の陽転率との関連についても、近畿地方を除いてよく関連していた。

全国におけるHTLV-1陽転者数を推定するために、今回得られた全国の陽転率を、平成18,19年の全国の15歳から69歳までの平均人口に乗じて計算すると、全国でこの年齢人口では年間に男性約1000人、女性約3000人、計約4000人が陽転化していると推定された。

D. 考察

陽転化率は、どの地域においても、男性より女性のほうが高かった。とくに九州において男女差が著しく、男性のキャリアの多い集団で女性への水平感染が多いことが推測された。年齢別では、男性で60歳代、女性で50歳代での陽転率が最も高かった。男女とも中高年以上の年齢において陽転化率が高い理由については、性生活の変化、加齢による個体の免疫系の変化による既存感染の再活性化、などが推測されるが、理由は不明である。男性のキャリア率と女性の陽転率の関係のほうが、女性のキャリア率と男性の陽転率の関係より顕著であったことは、以前の夫婦間感染の研究結果と同様に、女性から男性より、男性から女性への水平感染率が高い可能性が示唆された。男性集団において、地域のキャリア率と陽転率との間には女性ほどの相関がみられなかった理由は不明である。

E. 結論

10万人年あたりの全国の陽転化数は男性2.3、女性6.9で、女性は男性の3倍であった。男性では60歳代が、女性ではおもに50歳代が最も陽転率が高かった。地域別では、キャリア率と同様、男女とも九州沖縄地方が最も陽転率が高かった。地域のキャリア率とその地域内の陽転率は女性において良く関連していた。献血者におけるHTLV-1陽転者の存在は、一般集団においても、母子感染以外の原因でHTLV-1の新規感染者が存在する事を示唆し、今後さらなる研究が必要である。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Futoshi Matsubara, Yasuko Sagara, Yoshihisa Kato, Kouji Harada, Akio Koizumi, and Koichi Haraguchi. Detection of Antibodies to Human T-Cell Leukemia Virus Types 1 and 2 in Breast Milk from East Asian Women. *Biol. Pharm. Bull.* In press.
- 2) 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 日本輸血・細胞治療学会誌 印刷

- 3) 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, Uchimaru K, Ogawa S, Watanabe T. Adult T-cell leukemia cells are characterized by abnormalities of Helios expression that promotes T-cell growth. *Cancer Sci.* 104:1097-1106,2013.

2. 学会発表

- 1) 佐竹正博. HTLV-1の現状 献血者の抗体陽性率からみたキャリアの変遷. 日本輸血細胞治療学会,2013.4.
- 2) 岩永正子, 佐竹正博, 山口一成. HTLV-1感染と気管支喘息死亡との関連:地域相関研究. 第6回HTLV研究会・シンポジウム. [口頭]2013年8月24日(土), 東大医科研.
- 3) 相良康子, 井上由紀子, 守田麻衣子, 後藤信代, 岩永正子, (他2名). HTLV-1感染者が産生する中和抗体について. 第6回HTLV研究会・シンポジウム. [口頭]2013年8月24日(土), 東大医科研.
- 4) 中武彩子, (他4名), 岩永正子, 相良康子, (他7名), 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6回HTLV研究会・シンポジウム. [口頭]2013年8月25日(日), 東大医科研.
- 5) Takemoto S, (他4名), Iwanaga M, Sagara Y, Kawano F, Watanabe T. Adult T-cell leukemia/lymphoma following the elevation of soluble cytokine receptors, sCD25 and sCD30. 16th International Conference on Human Retrovirology: HTLV & Related Viruses. June 26-30,2013, Canada.
- 6) 井上由紀子, 後藤信代, 長野冬子, 相良康子, 入田和男, 清川博之, 矢持忠徳, 渡邊俊樹, JSPFAD HTLV-1プロウイルスロードを抑制する抗体エピソードの探索 第60回日本輸血・細胞治療学会 [口頭] 2013年5月, 横浜.
- 7) 井上由紀子, 相良康子, 長野冬子, 後藤信代, 清川博之. HTLV-1検査法の比較検討. 第37回日本血液事業学会総会. [口頭] 2013年10月, 札幌.
- 8) 井上由紀子, 守田麻衣子, 後藤信代, 相良康子, 清川博之. 液性免疫によるHTLV-1プロウイルスロード抑制機構 — ATL発症予防に向けて — 第60回輸血・細胞治療学会九州支部会[口頭] 2013年12月, 鹿児島.
- 9) 歌田真依, 大野ゆう子, 堀芽久美, 岩永正子, 上平憲, 早田みどり. ATL患者の多重がんの発生頻度と発生間隔. [8月24日(土)一般演題口演O-5:疫学・感染予防ほか]. 第6回HTLV研究会・シンポジウム. [口頭]2013年8月24日(土), 東大医科研.

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

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）
（分担）研究報告書

題名 HTLV-I抗体陽性で、Western Blot法判定保留者に対して行なったPCR検査法の実態調査

研究分担者 齋藤 滋 富山大学大学院医学薬学研究部産科婦人科 教授
資料提供 木下 勝之 日本産婦人科医会 会長
板橋 家頭夫 昭和大学小児科 教授、厚生労働研究板橋班 班長

研究要旨：

日本産婦人科医会と厚生労働研究板橋班の合同アンケート調査で、一次スクリーニング陽性者に確認検査である WB 法を行なったところ、11.4%（208/1,829）が判定保留となっていることが明らかとなった。同調査では、WB 法判定保留例に PCR を施行できた 60 例中、21 例が HTLV-I genome 陽性となっている。今回、板橋班と共同して浜口班で WB 法判定保留者 63 例に対して PCR 法を行なったところ、2 回とも PCR 法陽性が 12 例（19%）、2 回のうち 1 回のみ陽性が、1 例（1.6%）存在した。あわせて 20.6%の陽性率であった。前者のアンケート調査の結果を集計すると、34/123（27.6%）の陽性率となった。また、浜口班の結果では、ウイルスコピー数の中央値が 0.01%（0.006～0.020%）と低値であった。WB 法判定保留となる 1 つの要因として、HTLV-I proviral load の低値が考えられた。

A．研究目的

妊婦に対して、HTLV-I抗体検査が全国で行なわれるようになったが、二次検査のWestern Blot法を行なっても判定保留となるケースもある。また non-endemic area では一次検査では陽性だが、Western Blot法で判定保留者がある一定の頻度で存在することは経験的に知られていたが、その実態は明らかでなかった。今回、WB判定保留例に対してPCR法を施行し、HTLV-I感染の実態を明らかにした。

B．研究方法

日本産婦人科医会が2012年に施行した全国の2,642施設に対して行なったアンケート調査の結果を利用した。回収数は1,857施設で、回収率は70.3%であった。スクリーニング検査陽性が2,202例で、うち1,829例にWB法が行なわれ、陽性915例（50.5%）、判定保留208例（11.4%）、陰性706（38.6%）であった。判定保留208例中60例にPCR検査が施行されていた。

厚生労働研究板橋班との共同研究で、現在まで63症例がWB法で判定保留となり、これらの症例に対してQ-PCR法を行ない、HTLV-I genomeの有無ならびに定量を検討した。

C．研究結果

日本産婦人科医会で行なった調査では、208例のWB法判定保留者に対して60例にPCR検査が実施されており、21例（35%）がPCR法陽性であった。

浜口班のデータでは、WB法判定保留63例に行なったPCR検査により、12例で2回とも陽性、1例で1回のみ陽性となった。1回のみ陽性例も陽性と判断する

と、PCR法陽性率は、20.6%（13/63）となった。日本産婦人科医会のデータを加えると、27.6%（34/123）の陽性率であった。

浜口班のデータでは、PCR法陽性者のproviral loadは中央値0.01%（0.006%～0.020%）と低値であり、WB法で判定保留となる要因の一つとして、HTLV-Iウイルスコピー数の低値が考えられた。

D．考察

これまで明らかとなっていなかったHTLV-I抗体検査陽性、WB法判定保留症例が抗体陽性例中約11.4%に存在することが明らかとなった。従来、これらの症例に対しての母乳栄養法の選択に対して説明に苦慮していた。これらの症例では、母乳選択のみならず、その後ATLやHAMが発症するのではないかと不安を持ち続けることになり、改善策が望まれていた。

今回の結果から、WB法判定保留例のうち、HTLV-I provirusがPCR法にて検出されるのは、27.6%（34/123）にすぎず、残りの72.4%はHTLV-I provirus量が極めて微量で、PCR法の検出感度以下か、感染していないかのいずれかである。Biggerらの報告(J.Infect Dis. 2006;193:277-282)によると、母体血中のHTLV-I proviral levelが 10^6 細胞あたり、6,309未満（0.6%のプロウイルス量）では、母子感染率が1/37（2.7%）と極めて少ないと報告されている。HTLV-Iキャリア妊婦で完全人工栄養にしても3%程度の母子感染率があることから考えると、WB法判定保留、PCR法陽性群における経母乳感染率はわずかと考えられるが、現時点ではPCR法陽性群に対しては、人工栄養、3ヶ月までの短期母乳、凍結母乳の3つから選択していただいた方が無難である。WB

法判定保留、PCR法陰性群では、人工乳、短期母乳、凍結母乳を勧める積極的なエビデンスはないため、長期間の母乳投与も可能と考えられるが、安全であるというエビデンスは未だない。現在、板橋班に協力していただいたWB法判定保留の大半が、長期母乳哺育を選択しているため、これらの結果が待たれるところである。

また、これまでWB法判定保留者は、分娩後も生涯に渡って、自身のATLやHAMの発病に脅えていたが、ウイルス量が微量であるため発病のリスクは極めて低いと説明でき、PCR法の意義は大きいと思われる。

E . 結論

HTLV-I抗体陽性者中、WB判定保留が11.4%程度存在するが、PCR法を行なったところ、陽性率は27.6% (34/123)と低く、また陽性例であってもprovirus loadは極めて低値であることが明らかとなった。

F . 健康危険情報

G . 研究発表

1. 論文発表

- 1) 齋藤 滋:HTLV-I 抗体検査の理解.助産雑誌. 68:17-21, 2014.
- 2) 齋藤 滋:HTLV-I と母子感染(解説).日本産科婦人科学会誌. 65:1658-1663,2013.
- 3) 齋藤 滋: HTLV-I 母子感染対策. 産婦人科の実験. 62:543-547, 2013.
- 4) 齋藤 滋: シンポジウム 2「HTLV-I 母子感染」HTLV-I 検査が全国で行なわれるようになった経緯. 日本周産期・新生児医学会雑誌 49: 5-7, 2013.
- 5) 齋藤 滋: ヒト成人 T 細胞白血病ウイルス (HTLV-I) 母子感染予防対策. ペリネイタルケア. 32:28-30, 2013.
- 6) 齋藤 滋, 板橋家頭夫: シンポジウム 2「HTLV-I 母子感染」座長のまとめ. 日本周産期・新生児医学会雑誌 49:4, 2013.
- 7) 齋藤 滋: 成人T細胞白血病. 産科婦人科疾患最新の治療 2013-2015. 吉野史隆, 倉智博久, 平松祐司編, 146-147,南江堂, 東京, 2013.

2. 学会発表

- 1) 齋藤 滋: HTLV-I 母子感染対策についての最近の話題. 平成 25 年度熊本県母体保護法指定医師研修会, 2014,1,11, 熊本.
- 2) 齋藤 滋: HTLV-1 母子感染予防のための適切な相談や支援に向けて ~ HTLV-1 母子感染予防

に関する研究から ~ 平成 25 年度北海道 HTLV-1 母子感染予防対策研修会, 2013,11,9, 札幌

- 3) 齋藤 滋: 産科医、小児科医、助産師、保健師でサポートする HTLV-1 母子感染対策. 第 40 回日本産婦人科医学会学術集会・宮城県大会 指定講演, 2013,10,12, 仙台.
- 4) 齋藤 滋: 産婦人科医、小児科医、助産師、看護師、保健師、血液内科医、神経内科医、行政と協力して進める HTLV-I 母子感染対策 福島県産科婦人科学会秋季学術集会,2013,9,29, 福島.
- 5) 齋藤 滋: 産婦人科医、小児科医、助産師、看護師、保健師、医師会、行政で協力して行う HTLV-I 母子感染予防対策 愛知県 HTLV I 母子感染予防対策研修会, 2013,8,27, 名古屋.
- 6) 齋藤 滋: 新しくなった HTLV-I 母子感染対策事業—医師、看護師、助産師、保健師、行政との共働— 第 6 回 HTLV-I 研究会 / シンポジウム 母子感染予防特別講演, 2013, 8,24, 東京.
- 7) 齋藤 滋: HTLV-I 母子感染予防対策. 第 7 回なにわ周産期フォーラム, 2013, 7,6, 大阪.
- 8) 齋藤 滋: HTLV-I と母子感染. 第 65 回日本産科婦人科学会学術講演会 教育講演 I, 2013, 5, 8-12, 札幌.
- 9) 齋藤 滋: 行政、医師、助産師、保健師が支援する新しい HTLV-I 母子感染予防対策. ATL、奈良県産婦人科医学会学術講演会, 2013, 4, 4, 奈良.

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

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）

分担研究報告書（浜口班平成25年度）

分担研究課題名：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
（HTLV-1 プロウイルス量検出感度以下のキャリアにおける抗体検査の検討）

研究分担者：宇都宮 與 所属・職名：公益財団法人慈愛会 今村病院分院 院長

研究要旨

HTLV-1 感染者の ATL 発症のリスクについては、末梢血中の高 HTLV-1 プロウイルス量（PVL）が大きな要因のひとつとされている。一方、ATL 非多発地域では HTLV-1 キャリアが少ないので、逆に HTLV-1 抗体偽陽性率が高いことも問題となっている。今回、当院で HTLV-1 キャリアのうち PVL が検出感度以下だった例に注目して検討を加えた。2003 年から 2013 年 4 月 30 日までに当院で JSPFAD 研究に参加した 682 名の HTLV-1 感染者 2141 検体を対象とした。HTLV-1 キャリア 435 名（1468 検体）中 1 回でも PVL 0.00 コピー/100PBMC となった例は 42 名（107 検体）であった。これらの例は、42 名全例 PA 法による HTLV-1 抗体は陽性であり、WB 検査を施行した 56 検体では陰性例はなかった（2 検体が判定保留）であった。

PVL が検出感度以下の例で経時的に複数回測定したキャリア 35 名では、ALL で同種骨髄移植を施行した 1 例を除き、全例 PVL 陽性であった。HTLV-1 キャリアに対して PVL の測定と WB 抗体検査を用いた長期フォローアップは ATL 発症の監視とともに真の HTLV-1 キャリアかどうかの判定にも有用である。

A. 研究目的

ヒト T 細胞白血病ウイルス I 型（human T cell leukemia virus type I: HTLV-1）は、成人 T 細胞白血病-リンパ腫（adult T-cell leukemia-lymphoma: ATL）の原因ウイルスである。末梢血中 HTLV-1 プロウイルス量（peripheral blood HTLV-1 virus load: PVL）が多いことが、ATL 発症のリスク因子の一つとして報告されている。

一方、PVL は検出感度以下の HTLV-1 キャリアも一定の割合で見られる。この場合、真のキャリアかどうかの問題になることもある。また、同種造血幹細胞移植後には PVL が検出感度以下になる例があることは知られているが、夫婦間感染などでも PVL が低い例が存在する。しかしながら、ATL 非多発地域では HTLV-1 キャリアが少ないので、逆に HTLV-1 抗体偽陽性率が高いことも問題となっている。

今回、当院の血液外来を受診した HTLV-1 キャリアのうち PVL が検出感度以下だった例に注目して検討を加えた。

B. 研究方法

対象は、2003年から2013年4月30日までに当院血液外来（HTLV-1キャリア外来）を受診して Joint Study Predisposing Factor on ATL Development（JSPFAD）研究に参加した682名のHTLV-1感染者2141検体を対象とした。

方法：JSPFADに参加し測定した可溶性イン

ターロイキン-2レセプター（soluble interleukin-2 receptor: sIL-2R）値とPCR法で測定したPVLを解析した。また、PVL が検出感度以下の例に対しては、HTLV-1抗体のウェスタンブロット（WB）検査を行った。HTLV-1抗体価（PA法とWB法）は、日本赤十字社九州ブロック血液センターで施行した。

（倫理面への配慮）

HTLV-1 感染者（HTLV-1 キャリアおよび ATL 患者）は、多くの場合不安を抱いており、疫学などの調査研究においても心理的な面に十分に配慮して説明を行い、同意を取得した。

C. 研究結果

研究期間中に JSPFAD 研究に参加した HTLV-1 感染者は、682 名で、HTLV-1 キャリアが 435 名、ATL 患者が 243 名であった。測定検体数は、それぞれ 1468 検体、666 検体であった。

HTLV-1 キャリア 435 名（1468 検体）のうち 1 回でも PVL が 0.00 コピー/100 末梢血単核細胞（PBMC）となったものは 42 名（107 検体）であった。107 検体中 56 検体について WB 検査を実施し、陰性例はみられなかった。42 名中 35 名は PVL の測定を 2 回以上行い、HTLV-1 キャリアの急性リンパ性白血病（ALL）症例で同種造血幹細胞移植を施行した 1 例を除いて

34名全員が少なくとも1回はPVLが陽性であった。

PVLの検査が1回のみ7名中2名にWB検査を施行したところ2名ともWB検査の結果は判定保留であった。判定保留の2名のPA法によるHTLV-1抗体検査は、8倍と16倍であった。

D. 考察

当院のHTLV-1キャリア435名(1468検体)中1回でもPVL 0.00コピー/100PBMCとなった例は42名(107検体)であった。これらの例は、42名全例PA法によるHTLV-1抗体は陽性であり、WB検査で陰性例はなかった(56検体中54検体が陽性、2検体が判定保留)であった。

経時的に複数回PVLを測定したキャリア35名では、HTLV-1キャリアのALLで同種骨髄移植を施行した1例を除き、全例PVL陽性であった。PVLが検出感度以下のキャリアにおいては、経時的なPVL測定は、WB検査とともに重要な検査と思われる。

今回の解析では、HTLV-1抗体陽性例では、一部の例でPVLが検出できない例が存在するが、2例の判定保留を除いて全例WB検査が陽性であり、複数回検査でのPVLは同種移植例以外は全例陽性であり、偽陽性率は極端に低いものと推測される。また、経時的PVL測定は、WB判定保留例に対しても真のキャリアどうかの判定に有用であると考えられる。

HTLV-1キャリアの長期フォローアップは、キャリアからのATL発症の監視のみでなく、真のキャリアかどうかの判定にも重要である。

E. 結論

HTLV-1キャリアに対してPVLの測定とWB抗体検査を用いた長期フォローアップはATL発症の監視とともに真のHTLV-1キャリアかどうかの判定にも意義がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Tamai Y, Hasegawa A, Takamori A, Sasada A, Tanosaki R, Choi I, Utsunomiya A, Eto T, Koh H, Suehiro Y, Kato K, Takemoto S, Okamura J, Uike N, Kannagi M: Identification of an HLA-DRB1*0101-restricted dominant

epitope of Tax-specific CD4+ T-cells augmenting in vitro CTL expression in ATL patients after allo-HSCT. *J Immunol* 15;190 (8): 4382-4392, 2013

2. Nakano N, Kusumoto S, Tanaka Y, Ishida T, Takeuchi S, Takatsuka Y, Akinaga S, Mizokami M, Ueda R, Utsunomiya A: Reactivation of hepatitis B virus in a patient with adult T-cell leukemia-lymphoma receiving the anti-CC chemokine receptor 4 antibody mogamulizumab. *Hepatology Res* 2013 Mar 26
3. 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, Uchimaruru K, Ogawa S, Watanabe T.: Adult T-cell leukemia cells are characterized by abnormalities of Helios expression that promote T-cell growth. *Cancer Sci* 104(8):1097-106, 2013
4. Kinpara S, Kijiyama M, Takamori A, Hasegawa A, Sasada A, Masuda T, Tanaka Y, Utsunomiya A, Kannagi M: Interferon- α (IFN- α) suppresses human T-lymphotropic virus type-1 (HTLV-1) gene expression and cell cycling, while IFN- α combined with zidovudin induces p53 signaling and apoptosis in HTLV-1- infected cells. *Retrovirology* ;10:52 2013
5. Ishihara M, Araya N, Sato T, Tatsuguchi A, Saichi N, Utsunomiya A, Nakamura Y, Nakagawa H, Yamano Y, Ueda K.: Preapoptotic protease calpain-2 is frequently suppressed in adult T-cell leukemia. *Blood* 121 (21): 4340-4347, 2013
6. Ando H, Sato T, Tomaru U, Yoshida M, Utsunomiya A, Yamauchi J, Araya N, Yagishita N, Coler-Reilly A, Shimizu Y, Yudo K, Nishioka K, Nakajima T, Jacobson S, Yamano Y.: Positive feedback loop via astrocytes causes chronic inflammation in virus-associated myelopathy. *Brain*. 2013 Sep;136(Pt 9):2876-87.
7. Ishida T, Hishizawa M, Kato K, Tanosaki R,

- Fukuda T, Takatsuka Y, Eto T, Miyazaki Y, Hidaka M, Uike N, Miyamoto T, Tsudo M, Sakamaki H, Morishima Y, Suzuki R, Utsunomiya A: Impact of GVHD on allogeneic HCT for adult T-cell leukemia-lymphoma focusing on preconditioning regimens: nationwide retrospective study. *Biol Blood Marrow Transplant* 19(12): 1731-1739, 2013
8. Chihara D, Ito H, Matsuda T, Katanoda K, Shibata A, Taniguchi S, Utsunomiya A, Sobue T, Matsuo K.: Association between decreasing trend in the mortality of adult T-cell leukemia/lymphoma and allogeneic hematopoietic stem cell transplants in Japan: Analysis of Japanese vital statistics and Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). *Blood Cancer J* 2013 Nov 15; 3: e159
 9. Sato T, Coler-Reilly A, Utsunomiya A, Araya N, Yagishita N, Ando H, Yamauchi J, Inoue E, Ueno T, Hasegawa Y, Nishioka K, Nakajima T, Jacobson S, Izumo S, Yamano Y : CSF CXCL10, CXCL9, and neopterin as candidate prognostic biomarkers for HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *PLoS Negl Trop Dis* 2013 Oct 10; 7(10):e2479
 10. Narita T, Ishida T, Masaki A, Suzuki S, Ito A, Mori F, Yamada T, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Miyazaki Y, Takatsuka Y, Utsunomiya A, Niimi A, Iida S, Ueda R. : HTLV-1 bZIP factor-specific CD4 T cell responses in adult T cell leukemia/lymphoma patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Immunol.* 2013 Dec 20. [Epub ahead of print]
 11. Fujisawa S, Nakamae H, Ogura M, Ishizawa KI, Taniwaki M, Utsunomiya A, Matsue K, Takamatsu Y, Usuki K, Tanimoto M, Ishida Y, Akiyama H, Onishi S : Efficacy and safety of dasatinib versus imatinib in Japanese patients with newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia (CML-CP) . Subset analysis of the DASISION trial with 2-year follow-up *Int J Hematol.* 2013 Dec 20. [Epub ahead of print]

2.学会発表

1. Nakano N, Kubota A, Tokunaga M, Takeuchi S, Takatsuka Y, Utsunomiya A. Extremely high incidence of CMV-pp65 antigenemia in ATLL patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. ASBMT/CIBMTR BMT tandem meetings, Salt Lake City, UT, USA, 12-18 February, 2013
2. Takeuchi S, Nakano N, Kubota A, Tokunaga M, Yonekura K, Takatsuka Y, Utsunomiya A: A retrospective analysis of pre-transplant prognostic indices and overall survival after allogeneic stem cell transplantation in adult T-cell leukemia/lymphoma patients. EBMT, London, UK, 7-10 April, 2013
3. Utsunomiya A: Mogamulizumab, an anti-CCR4 monoclonal antibody, is a potent therapeutic option for adult T-cell leukemia-lymphoma. 16th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, Montreal, Canada, June 29 (June 26-30), 2013
4. Yonekura K, Kanzaki T, Nakano N, Tokunaga M, Kubota A, Takeuchi S, Takatsuka Y, Utsunomiya A: Effect of a novel anti-CCR4 monoclonal antibody (Mogamulizumab) on skin lesions of adult T-cell leukemia-lymphoma (ATL) and its adverse skin reactions (ASR). 16th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, Montreal, Canada, June 29 (June 26-30), 2013
5. Nakano K, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Uchimarui K, Watanabe T: Disorders of the cMyb proto-oncogene expression and its significance in the course of ATL development. 16th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, Montreal, Canada, June 29 (June 26-30), 2013

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

HTLV-1 定量PCR検査の標準化および判定保留例に対する有用性に関する研究

研究分担者 聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター 准教授
山野 嘉久

研究要旨：

HTLV-1のプロウイルス量を調べる定量PCR検査は、感染の有無のみならず、HTLV-1感染細胞の制御状態を把握する上でも重要な検査である。しかし、これまで

- 1) 測定方法が標準化されていない、
 - 2) HTLV-1判定保留例に対する本検査の有効性が証明されていない、
- といった課題もあって、未だ保険承認されていない。

課題である前者1)の「測定方法の標準化」に向けて、一昨年度、本研究班において”HTLV-1感染細胞株TL-Om1と非感染者の末梢血単核球（PBMC）を用いた標準品”が完成し、定量化のベースが確立された。しかし、この標準品は利便性に乏しく、簡便に利用できる参照品が必要とされたため、今年度、感染細胞株TL-Om1と非感染細胞株Jurkatから成る参照品を各施設で測定し、標準品から求められた各施設の補正係数を用いて、参照品の値付けを実施することになった。一方、後者2)の「判定保留例に対する定量PCR検査の有効性」については、今年度、妊婦のウエスタンブロット(以下、WB)判定保留例のHTLV-1プロウイルス量を多施設で測定し、核酸検出効率を調査することになった。

当施設において上記を検討した結果、1)に関しては、当施設のTL-Om1/Jurkat参照品の測定値に、標準品から算出された補正係数0.31を掛けて得られた値が他の施設で算出された補正值とも近い値を示し、本参照品がHTLV-1の定量PCR検査の標準化に利用できることが判明した。一方、2)の「判定保留例に対する定量PCR検査の有効性」に関して当施設でも検討した結果、妊婦WB判定保留例24名中3名（12.5%）でプロウイルスが検出され、この3名は他の施設でも同様に検出されたことから、定量PCR検査の方がWB確認検査よりも感度・特異度の点で優れている可能性があり、判定保留例に対する定量PCR検査の有効性が示された。この点から、定量PCR検査がWB法による確認検査に変わり得る可能性も考えられるが、その場合、WB陽性例や陰性例についても定量PCR検査を実施するなどして、さらなる検討を加える必要がある。

A. 研究目的

ヒトT細胞白血病ウイルス（HTLV-1）のプロウイルス量を調べる定量PCR検査は、感染の有無のみならず、HTLV-1感染細胞の制御状態を把握する上でも重要な検査であり、HTLV-1関連脊髄症（HAM）の予後予測や、無症候性キャリアにおける成人T細胞白血病（ATL）の発症リスク予測などに利用することができる。しかし、これまで

- 1) 測定方法が標準化されていない
- 2) HTLV-1判定保留例に対する本検査の有効性が証明されていない

といった課題もあって、未だ保険承認されていない。

課題である前者1)の「測定方法の標準化」に向けて、一昨年度、本研究班において”HTLV-1感染細胞株TL-Om1と非感染者の末梢血単核球（PBMC）を

用いた標準品”が完成し、定量化のベースが確立された。しかし、この標準品はヒトのPBMCを用いることから利便性に乏しく、簡便に利用できる参照品が必要とされた。昨年度、この参照品を感染細胞株TL-Om1と非感染細胞株Jurkatから作成してはどうかという提案がなされ、今年度はこの参照品を各施設で測定し、標準品から求められた各施設の補正係数を用いて、参照品の値付けを実施することになった。

一方、後者2)の「判定保留例に対する定量PCR検査の有効性」については、今年度、妊婦のウエスタンブロット(以下、WB)判定保留例のHTLV-1プロウイルス量を多施設で測定し、核酸検出効率を調査することになった。

そこで我々は、本研究班における上記の活動に参加し当施設の測定方法を用いて以下の検討を行った。

B. 研究方法

1) TL-Om1/Jurkat参照品に関する検討

国立感染症研究所から提供された TL-Om1/Jurkat 参照品は、提供された TL-Om1 ゲノム DNA 溶液 (200ng/μl) を、同じく提供された Jurkat ゲノム DNA 溶液 (200ng/μl) によって 5 倍希釈系列を作成し、Template として用いた。

< TL-Om1/Jurkat 参照品の内容 >

- ・ TL-Om1/Jurkat 1/5
- ・ TL-Om1/Jurkat 1/25
- ・ TL-Om1/Jurkat 1/125
- ・ TL-Om1/Jurkat 1/625
- ・ TL-Om1/Jurkat 1/3125

一方、TL-Om1/PBMC 標準品は提供を受けた凍結細胞から当施設でゲノム DNA を抽出し、Template として用いた。ゲノム DNA の抽出方法はフェノール/クロロホルム処理による。

< 標準品の内容 >

- ・ 4% TL-Om1/PBMCs
- ・ 0.8% TL-Om1/PBMCs
- ・ 0.16% TL-Om1/PBMCs

< 当施設での測定方法 >

TL-Om1/Jurkat 参照品および標準品の測定は以下の方法を用いて、独立して 3 回実施した。

1well あたりの DNA 量 : 100ng
HTLV-1 検量線用の標的 : HTLV-1 pX 領域
HTLV-1 標準用 DNA の由来 : TARL-2 細胞株
Forward Primer Sequence:
ACAAAGTTAACCATGCTTATTATCAGC
Reverse Primer Sequence:
ACACGTAGACTGGGTATCCGAA
Probe Sequence:
TTCCAGGGTTTGGACAGAGTCTTCT
内部標準の標的遺伝子 : β-actin
内部標準用の DNA の由来 : 健常者 PBMCs
Forward Primer Sequence:
CACACTGTGCCCATCTACGA
Reverse Primer Sequence:
CTCAGTGAGGATCTTCATGAGGTAGT
Probe Sequence:
ATGCCCTCCCCATGCCATCCTGCGT
検出器 : Applied Biosystems 7500
PCR 条件 :
50 2min, 95 10min 後に
(95 15sec & 60 1min) x 40 cycle
測定計算式 (copies / 100 cells):
(pXコピー数) x 2 / β-actinコピー数 x 100)

2) 妊婦HTLV-1判定保留例に対する定量PCR検査の有効性に関する検討

国立感染症研究所から提供された妊婦WB判定保留24例のゲノムDNA溶液を用いた。HTLV-1プロウイルス量の測定は、上記と同じ測定方法を実施した

が、templateとして使用する1wellあたりのDNA量のみ100ngと500ngの2通りで実施した。

(倫理面への配慮)

臨床検体の収集に際しては、本学の生命倫理委員会で承認された(承認番号:第1646号)同意書を用いて、不利益や危険性の排除などに関するインフォームドコンセントを行った。また検体は、個人情報管理者により連結可能匿名化による番号化を行い、提供者を特定できないようにし、患者の人権擁護に努めた。

C. 研究結果

1) TL-Om1/Jurkat参照品に関する検討

FISH および FACS 解析の結果を元に国立感染症研究所が算出した標準品の HTLV-1 感染率の理論値は 4% TL-Om1/PBMC, 0.8% TL-Om1/PBMC, 0.16% TL-Om1/PBMC それぞれが 8.45, 1.84, 0.365 copies/cell であった。それに対して、当施設で得られた値はそれぞれ 27.53, 5.56, 1.05 で、理論値よりも 2.9 - 3.3 倍高い値となった(表1)。平行線定量法で解析された結果、当施設の補正係数は 0.31 と決定した。そこで、当施設で得られた TL-Om1/Jurkat 参照品の値に補正係数 0.31 を掛けて得られた参照品のプロウイルス量の補正値を算出した(表2)。

2) 妊婦WB判定保留例に対する定量PCR検査の有効性に関する検討

WB判定保留であった妊婦24名のうち、定量PCR検査によってHTLV-1プロウイルスが検出された症例は、S-0035, S-0049, S-0056の3名(12.5%)であった(表3)。Templateの量は100ngであっても、500ngであっても検出された症例は同じで、両条件で得られたプロウイルス量に、わずかな違いを認めしたが、一定の傾向は認めなかった(表3)。上記の結果を得るために6回リアルタイムPCRを実施しており、その都度、TL-Om1/PBMC 0.80%およびNormal PBMCを陽性コントロール、陰性コントロールとして同時に測定した。その結果、陰性コントロールであるNormal PBMCは6回ともすべてnegativeであった(data not shown)。

D. 考察

1) TL-Om1/Jurkat参照品に関する検討

当施設において測定されたTL-Om1/Jurkat参照品の測定値に、標準品から算出された補正係数0.31を掛けて得られた値は、他の施設で算出された補正値とも近い値を示した(data not shown)。このことは、当施設の測定値は理論値から3倍程度高い値ができるものの、結果は繰り返し安定して得られていることを示している。また、この結果は各施設においてTL-Om1ゲノムDNA溶液をJurkatゲノムDNA溶液で希釈して作成する参照品が、HTLV-1の定量PCR検査の標準化に利用できることを示唆するもの

である。

2) 妊婦WB判定保留例に対する定量PCR検査の有効性に関する検討

陰性コントロールであるNormal PBMCが6回すべてnegative となっているため、negativeの症例をpositiveと判定する偽陽性という可能性は低く、妊婦の検体でpositiveとなった症例は、真にpositiveである可能性が高い。実際、今回positiveであった3名は他施設の測定によってもpositiveであることが証明された (data not shown)。測定に使用するTemplate量に関しては、100ngよりも500ngのDNAを使用した方で検出感度が高くなると考えられるが、今回の結果では100ngよりも500ngで検出される症例が増えることはなかった。

本研究により、妊婦のWB確認検査の判定保留例に対し、定量PCR検査を実施することでHTLV-1プロウイルスを検出する例が少なからず存在することが判明した。したがって、定量PCR検査の方がWB確認検査よりも感度・特異度の点で優れている可能性が示唆される。この点から、定量PCR検査がWB法による確認検査に変わり得る可能性も考えられるが、その場合、WB陽性例およびWB陰性例についても定量PCR検査を実施して、「WB陽性例では必ずプロウイルスが検出され、WB陰性例では検出されない」という結果が得られるか、さらなる検討を加える必要がある。

E . 結論

本研究により、妊婦HTLV-1判定保留例に対して定量PCR検査は有効であることが判明し、これまで以上にHTLV-1の定量PCR検査が臨床的に重要であることが明らかとなった。したがって、HTLV-1の定量PCR検査が保険承認されることが望まれる。そのためにも測定方法の標準化が求められているが今回、検証したTL-Om1/Jurkat参照品は、HTLV-1 定量PCR検査の標準化に利用可能であることが判明し、標準化に向けて、また一步前進したと考えられる。

F . 健康危険情報

特になし

G . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ando H., Sato T., Tomaru U., Yoshida M., Utsunomiya A., Yamauchi J., Araya N., Yagishita N., Coler-Reilly A., Shimizu Y., Yudoh K., Hasegawa Y., Nishioka K., Nakajima T., Jacobson S., Yamano Y. Positive feedback loop via astrocytes causes chronic inflammation in virus-associated myelopathy. **Brain**, 136(9) : 2876-2887, 2013.
- 2) Sato T., Coler-Reilly A., Utsunomiya A.,

Araya N., Yagishita N., Ando H., Yamauchi J., Inoue E., Ueno T., Hasegawa Y., Nishioka K., Nakajima T., Jacobson S., Izumo S., Yamano Y. CSF CXCL10, CXCL9, and Neopterin as Candidate Prognostic Biomarkers for HTLV-1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis. **PLoS Negl Trop Dis.**, 7(10): e2479, 2013.

- 3) Ishihara M., Araya N., Sato T., Tatsuguchi A., Saichi N., Utsunomiya A., Nakamura Y., Nakagawa H., Yamano Y., Ueda K. Preapoptotic protease calpain-2 is frequently suppressed in adult T-cell leukemia. **Blood**, 121(21): 4340-4347, 2013.
- 4) Grassi MF, Olavarria VN, Kruschewsky Rde A, Silva MT, Yamano Y, Jacobson S, Taylor GP, Martin F, Galvão-Castro B. Utility of HTLV proviral load quantification in diagnosis of HTLV-1-associated myelopathy requires international standardization. **J Clin Virol.** 58(3): 584-6, 2013.
- 5) 山内淳司、八木下尚子、安藤仁、佐藤知雄、新谷奈津美、Ariella, Coler-Reilly、今井直彦、中澤龍斗、佐々木秀郎、柴垣有吾、安田隆、力石辰也、木村健二郎、山野嘉久. Human T-lymphotropic virus type 1 感染者における腎移植の影響. **日本臨床腎移植学会雑誌** 1(1), 55-60, 2013.
- 6) 山野嘉久、佐藤知雄、宇都宮與. 白血病 非定型白血病および特殊型 HTLV-1 関連脊髄症 (HAM). **別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ 血液症候群(第2版)**, 23():195-199, 2013.
- 7) 山野嘉久、佐藤知雄 HTLV-1 関連脊髄症 (HAM)の病態・治療とバイオマーカー **日本臨床**, 71 (5) :870-875, 2013.

2. 学会発表

国際学会

- 1) Yamano Y. Development of novel molecular targeted therapies for HAM/TSP. 第3回 HTLV-1 国際シンポジウム 2013年8月23日・24日・25日 東京都(港区).
- 2) Yamano Y., Sato T., Ando H., Araya N., Yagishita N., Yamauchi J., Coler-Reilly A., Utsunomiya A., Jacobson S., Izumo S. CXCL10 and Neopterin in cerebrospinal fluid are Candidate Prognostic Biomarkers for

HTLV-1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis. The 16th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses, 26-30 June, 2013, Montréal, Canada.

- 3) Sato T., Ando H., Tomaru U., Yoshida M., Utsunomiya A., Yamauchi J., Araya N., Yagishita N., Coler-Reilly A., Jacobson S., Yamano Y. Virus-induced CXCL10-CXCR3 positive feedback loop via astrocytes is critical for maintaining chronic inflammatory lesions in HAM/TSP. The 16th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses, 26-30 June, 2013, Montréal, Canada.
- 4) Coler-Reilly A., Hashimoto M., Yagishita N., Sato T., Ando H., Yamauchi J., Araya N., Kimura M., Yamano Y., Takata A. Nation-wide epidemiological study in Japan on HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis using HAM-net, a novel patient registration system. The 16th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses, 26-30 June, 2013, Montréal, Canada.
- 5) Yamano Y., Sato T., Coler-Reilly A., Ando H., Araya N., Yagishita N., Yamauchi J., Utsunomiya A., Jacobson S., Izumo S. CXCL10, CXCL9 and Neopterin in cerebrospinal fluid as Candidate Prognostic Biomarkers for HAM/TSP. The 16th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses, 26-30 June, 2013, Montréal, Canada.

国内学会

- 1) 山野嘉久, Ariella Coler-Reilly, 八木下尚子, 佐藤知雄, 新谷奈津美, 橋本充代, 木村美也子, 高田礼子. HAM 患者登録システム(HAM ねっと)の構築による疫学調査と満足度調査の概要報告, 第 34 回日本臨床薬理学会学術総会, 2013 年 12 月 4~6 日(6 日), 東京都(千代田区)[東京国際フォーラム].
- 2) 山野嘉久. HAM におけるバイオマーカーと炎症慢性化機構, 厚生労働省科学研究費補助金障害者対策総合研究事業「慢性疲労症候群の病因病態の解明と画期的診断・治療法の開発」班 平成 25 年度第 2 回班会議, 2013 年 12 月 3 日, 大

阪府(大阪市北区)[グランフロント大阪].

- 3) 山野嘉久, 山内淳司, 新谷奈津美, 安藤仁, Ariella Coler-Reilly, 八木下尚子, 宇都宮與, 佐藤知雄. HAM における抗 CCR4 抗体製剤の有用性に関する検討, 第 25 回日本神経免疫学会学術集会, 2013 年 11 月 27~29 日(29 日), 山口県(下関市)[海峡メッセ下関]
- 4) Hasegawa A., Tamai Y., Takamori A., Sasada A., Tanosaki R., Choi I., Utsunomiya A., Suehiro Y., Maeda Y., Yamano Y., Uike N., Kannagi M. 同種造血幹細胞移植後 ATL 患者からの新規 HTLV-1 特異的 CD4 エピトープの同定 (Identification of novel HTLV-1-specific CD4 epitopes in ATL patients after hematopoietic stem cell transplantation.) 第 72 回日本癌学会学術総会, 2013 年 10 月 3~5 日, 神奈川県(横浜市).
- 5) 佐藤知雄, 新谷奈津美, 安藤仁, Ariella Coler-Reilly, 山内淳司, 八木下尚子, 山野嘉久. HTLV-1 関連脊髄症(HAM)の治療標的としての CCR4+CD4+T 細胞. 第 6 回 HTLV-1 研究会 2013 年 8 月 23 日・24 日・25 日 東京都(港区).
- 6) Coler-Reilly A.L.G., Hashimoto M., Yagishita N., Sato T., Ando H., Yamauchi J., Araya N., Kimura M., Yamano Y., and Takata A. The "HAM-net" HAM/TSP Patient Registration System and its Applications: A Sampling of Epidemiological Findings in Japan. 第 6 回 HTLV-1 研究会 2013 年 8 月 23 日・24 日・25 日 東京都(港区).

H. 知的財産権の出願・登録状況

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

表1 当施設で測定された標準品のプロウイルス量と理論値の比

標準品	1回目	2回目	3回目	平均	理論値	平均/理論値
TL-Om1/PBMC 4.00%	26.87	25.47	30.25	27.53	8.45	3.3
TL-Om1/PBMC 0.80%	5.54	5.34	5.80	5.56	1.84	3.0
TL-Om1/PBMC 0.16%	1.10	0.89	1.16	1.05	0.365	2.9

表2 当施設で測定された参照品のプロウイルス量とその補正值

TL-Om1/Jurkat 参照品	1回目	2回目	3回目	平均	補正值
TL-Om1 genomic DNA	264.50	230.93	227.59	241.01	74.71
Jurkat genomic DNA	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
TL-Om1/Jurkat 1/5	35.16	31.28	32.45	32.97	10.24
TL-Om1/Jurkat 1/25	6.64	5.95	6.34	6.31	1.96
TL-Om1/Jurkat 1/125	1.07	0.90	1.28	1.09	0.34
TL-Om1/Jurkat 1/625	0.26	0.26	0.23	0.25	0.08
TL-Om1/Jurkat 1/3125	0.05	0.08	0.04	0.06	0.02

表3 妊婦WB判定保留例 (n = 24) に対する当施設における定量PCR検査結果

Sample 名	100ng	500ng
S-0024	0.00	0.00
S-0025	0.00	0.00
S-0026	0.00	0.00
S-0027	0.00	0.00
S-0030	0.00	0.00
S-0031	0.00	0.00
S-0032	0.00	0.00
S-0035	0.02	0.02
S-0042	0.00	0.00
S-0043	0.00	0.00
S-0045	0.00	0.00
S-0047	0.00	0.00
S-0048	0.00	0.00
S-0049	0.02	0.01
S-0051	0.00	0.00
S-0052	0.00	0.00
S-0053	0.00	0.00
S-0054	0.00	0.00
S-0056	0.02	0.04
S-0058	0.00	0.00
S-0060	0.00	0.00
S-0063	0.00	0.00
S-0065	0.00	0.00
S-0067	0.00	0.00

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）
（分担）研究報告書

題名 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
（HTLV-1ぶどう膜炎患者における全身疾患の発症リスクの解明）

研究分担者 鴨居功樹 東京医科歯科大学 眼科学 講師
研究協力者 堀江真太郎 東京医科歯科大学 眼科学 助教
研究協力者 寺田裕紀子 東京医科歯科大学 眼科学 医員

研究要旨：ヒトTリンパ向性ウイルス1型（HTLV-1）は成人T細胞白血病（ATL）、HTLV-1関連脊髄症（HAM）、HTLV-1ぶどう膜炎（HU）の原因ウイルスである。本研究のテーマである“HTLV-1感染症の診断法の標準化と発症リスク解明に関する研究”のうち、本分担では、HU患者における全身疾患の発症リスクの解明に焦点を当てて研究を進める。現在までにHU患者が時間経過を経てATLを発症するリスクについては十分な調査が行われていない。HTLV-1に感染することにより炎症惹起能を得て眼内浸潤した細胞が時間経過とともに腫瘍化する期間や要因を、臨床的な追跡調査によって解明をする。

A．研究目的

HTLV-1感染症の診断法の標準化と発症リスク解明に関する研究における我々の分担での研究目的は、HTLV-1陽性のぶどう膜炎はATL発症のリスクになるか、追跡調査を行う。他の全身合併症についても調査を行う。

B．研究方法

宮田眼科病院ぶどう膜炎外来を受診中、あるいは過去に受診していたが通院の途絶えた患者についてその経過中にATLを発症したかどうかを追跡調査した。またHU発症前後でATL以外にも全身疾患が起きたかを、調査する。

（倫理面への配慮）

本研究はヘルシンキ宣言に基づく原則に従い、かつ「疫学研究に関する倫理指針」に準じて実施する。実施計画については、宮田眼科病院倫理審査委員会に附議され、承認を得ている。

C．研究結果

HUと確定診断された61例を追跡中したところ、ATLが発症した症例は1例のみで、ATLの分類としてはくすり型であった。ただし、この症例は、ステロイド治療による反応性が他のHU患者と比較して鈍く、硝子体に軽度の浸潤細胞が残存するという特徴があり、ATLの眼浸潤の特徴とも一致する。つまり受診時にすでにATLを発症していた可能性も捨てきれない。次に全身疾患の調査をしたところ、甲状腺機能亢進症が8例と多くみられた。またHU発症前に出現するという特徴があった。間質性肺炎、シェーグレン症候群が1例ずつみられ、関節リウマチは4例であり、一般有病率よりも高い結果になった。

D．考察

HUはHTLV-1感染によって起きる代表的な炎症性疾患である。これまでの研究から、HUは眼内に浸潤したHTLV-1感染細胞からの炎症性サイトカインの産生によって引き起こされると考えられている。しかしながら、炎症を引き起こすHTLV-1感染細胞が、腫瘍細胞になる機序は現在まで不明である。今回の結果では、HU患者の追跡調査でATLになった患者は

1例のみで、非常に頻度が少ないことが分かった。今回の結果を考察すると、眼に炎症を引き起こすHTLV-1感染T細胞は、その後の時間経過を経て腫瘍化T細胞（ATL細胞）になりにくい、換言するとHTLV-1ぶどう膜炎患者におけるHTLV-1感染T細胞は不死化しにくいことが示唆された。これは基礎的な研究にフィードバックした際に、重要な臨床情報であると考える。全身疾患の合併に関しては今後各臓器における炎症の発症機序の比較検討が必要と考えている。

E．結論

HU患者が将来的にATLを発症するリスクは少ないことがわかった。今後基礎研究と合わせてHU患者におけるHTLV-1感染細胞が腫瘍化しにくいメカニズムを解明していく必要があると考えられる。

F．健康危険情報

なし

G．研究発表

論文発表

1. Mochizuki M, Sugita S, Kamoi K. Immunological homeostasis of the eye. Prog Retin Eye Res, 2013;33:10-27

その他（評価論文）

1. Mochizuki M and Kamoi K: F1000 Prime Recommendation of [Larson TA et al., Ocul Immunol Inflamm 2012]. Faculty of 1000, 12 Jul 2012; DOI:10.3410/f.717697963.793153073.
2. Mochizuki M and Kamoi K: F1000Prime Recommendation of [Bittencourt AL et al., J Clin Virol 2013, 58(2):494-6]. In F1000Prime, 30 Dec 2013; DOI: 10.3410/f.718069461.793488907.

学会発表

1. 寺田裕紀子、鴨居功樹、小溝崇史、子島良平、宮田和典、望月學.HTLV-1ぶどう膜炎の臨床像の検討. 第47回日本眼炎症学会. 2013.7.
2. 寺田裕紀子、小溝崇史、向坂俊裕、宮田和典、望月學.九州南部におけるぶどう膜の統計. 第83

回九州眼科学会. 2013.5.

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

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
渡邊俊樹 (分担執筆)	「IV.リンパ球系 3. 成人T細胞白血病/リンパ腫におけるNF-κB経路の活性化」	高久 史磨 坂田 洋一 金倉 譲 小澤 敬也 小島 勢二	Annual Review 血液2014	中外医学 社	東京	2014	
Tsukasaki K Watanabe T Tobinai K	Adult T-cell leukemia-lymphoma. Chapter 108	Niederhuber JE Armitage JO Doroshov JH Kastan MB Tepper JE	Abeloff's Clinical Oncology 5th Edition	Elsevier	Amsterdam	2013	2072-92
岩永正子 (分担執筆)	第6章 感染症の疫学	監訳: 矢野栄二 橋本英樹 大脇和浩	「翻訳書：ロスマンの疫学 科学的思考の誘い 第2版. 原著: Epidemiology, An Introduction by Kenneth J. Rothman」	篠原出版 新社	東京	2013	157-75
齋藤 滋	成人T細胞白血病	吉野史隆 倉智博久 平松祐司	産科婦人科疾患最新の治療 2013-2015	南江堂	東京	2013	146-7

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Matsubara F Sagara Y Kato Y Harada K Koizumi A Haraguchi K	Detection of Antibodies to Human T-Cell Leukemia Virus Types 1 and 2 in Breast Milk from East Asian Women.	Biol Pharm Bull	37(2)	311-4	2014
Narita T Ishida T Masaki A Suzuki S Ito A Mori F Yamada T Ri M Kusumoto S Komatsu H Miyazaki Y Takatsuka Y Utsunomiya A Niimi A Iida S Ueda R	HTLV-1 bZIP Factor-Specific CD4 T Cell Responses in Adult T Cell Leukemia/Lymphoma Patients after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation.	J Immunol	192(3)	1940-7	2014
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 extra-nodal primary cutaneous variant in the lymphoma type of adult T-cell leukemia-lymphoma.	J Dermatol	41(1)	26-8	2014

Kai H Akamatsu E Torii E Kodama H Yukizaki C Akagi I Ino H Sakakibara Y Suiko M Yamamoto I Okayama A Morishita K Kataoka H Matsuno K	Identification of a Bioactive Compound against Adult T-cell Leukaemia from Bitter Gourd Seeds.	Plants	3	18-26	2014
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 Uchimaru K Ogawa S Watanabe T	Adult T-cell leukemia cells are characterized by abnormalities of Helios expression that promote T-cell growth.	Cancer Sci	104(8)	1097-106	2013
Chihara D Ito H Matsuda T Katanoda K Shibata A Taniguchi S Utsunomiya A Sobue T Matsuo K	Association between decreasing trend in the mortality of adult T-cell leukemia/ lymphoma and allogeneic hematopoietic stem cell transplants in Japan: Analysis of Japanese vital statistics and Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT).	Blood Cancer J	3	e159	2013
Ishida YI Yamasaki M Yukizaki C Nishiyama K Tsubouchi H Okayama A Kataoka H	Carnosol, rosemary ingredient, induces apoptosis in adult T-cell leukemia/lymphoma cells via glutathione depletion: proteomic approach using fluorescent two-dimensional differential gel electrophoresis.	Hum Cell	Dec 10		2013

Sato T Coler-Reilly A Utsunomiya A Araya N Yagishita N Ando H Yamauchi J Inoue E Ueno T Hasegawa Y Nishioka K Nakajima T Jacobson S Izumo S Yamano Y	CSF CXCL10, CXCL9, and neopterin as candidate prognostic biomarkers for HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis.	PLoS Negl Trop Dis	7(10)	e2479	2013
Takizawa K Nakashima T Mizukami T, Kuramitsu M Endoh D Kawauchi S Sasaki K Momose H Kiba Y Mizutani T Furuta R Yamaguchi K Hamaguchi I	Degenerate PCR strategy with DNA microarray for detection of multiple and various subtypes of virus in the blood screening.	Transfusion	53(10 Pt 2)	2545-55	2013
Ishigaki T Isobe M Kobayashi S Yuji K Ohno N Watanabe N Tojo A Uchimaruru K	Development of peripheral T-cell lymphoma not otherwise specified in an HTLV-1 carrier.	Int J Hematol	97	667-72	2013
White Y Yoshimitsu M Kozako T Matsushita K Koriyama C Uozumi K Suzuki S Kofune H Arima N	Effects of exogenous interleukin-7 on CD8(+) T-cell survival and function in human T-cell lymphotropic virus type 1 infection.	Leuk Lymphoma	54	2243-50	2013

Fujisawa S Nakamae H Ogura M Ishizawa KI Taniwaki M Utsunomiya A Matsue K Takamatsu Y Usuki K Tanimoto M Ishida Y Akiyama H Onishi S	Efficacy and safety of dasatinib versus imatinib in Japanese patients with Newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia (CML-CP) . Subset analysis of the DASISION trial with 2-year follow-up.	Int J Hematol	Dec 20		2013
Mochizuki M Kamoi K	F1000 Prime Recommendation of [Bittencourt AL et al., J Clin Virol 2013, 58(2):494-6]. In F1000Prime, 30 Dec 2013;DOI: 10.3410/f.718069461.793488907.				
Mochizuki M Kamoi K	F1000 Prime Recommendation of [Larson TA et al., Ocul Immunol Inflamm 2012]. Faculty of 1000, 12 Jul 2012; DOI:10.3410/f.717697963.793153073.				
Mahieux R Watanabe T	Forefront studies on HTLV-1 oncogenesis.	Front Microbiol	4	156	2013
Tamai Y Hasegawa A Takamori A Sasada A Tanosaki R Choi I Utsunomiya A Eto T Koh H Suehiro Y Kato K Takemoto S Okamura J Uike N Kannagi M	Identification of an HLA-DRB1*0101-restricted dominant epitope of Tax-specific CD4+ T-cells augmenting in vitro CTL expression in ATL patients after allo-HSCT.	J Immunol	15;190 (8)	4382-92	2013
Mochizuki M Sugita S Kamoi K	Immunological homeostasis of the eye	Prog Retin Eye Res	33	10-27	2013

Ishida T Hishizawa M Kato K Tanosaki R Fukuda T Takatsuka Y Eto T Miyazaki Y Hidaka M Uike N Miyamoto T Tsudo M Sakamaki H Morishima Y Suzuki R Utsunomiya A	Impact of GVHD on allogeneic HCT for adult T-cell leukemia-lymphoma focusing on preconditioning regimens: nationwide retrospective study.	Biol Blood Marrow Transplant	19(12)	1731-9	2013
Kinpara S Kijiyama M Takamori A Hasegawa A Sasada A Masuda T Tanaka Y Utsunomiya A Kannagi M	Interferon- α (IFN- α) suppresses human T-lymphotropic virus type-1 (HTLV-1) gene expression and cell cycling, while IFN- α combined with zidovudin induces p53 signaling and apoptosis in HTLV-1-infected cells.	Retrovirol	10	52	2013
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	20	403-10	2013
Ohno N Kobayashi S Ishigaki T Yuji K Kobayashi M Sato K Watanabe N Tojo A Uchimaruk	Loss of CCR4 antigen expression after mogamulizumab therapy in a case of adult T-cell leukaemia-lymphoma.	Br J Haematol	163	683-5	2013

<p>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 S Kitazawa J Mori H Matsushita A Nomura H Yasoshima H Ohkusa Y Yamaguchi K Hamaguchi I</p>	<p>Online reporting system for transfusion-related adverse events to enhance recipient haemovigilance in Japan: a pilot study.</p>	<p>Transfus Apher Sci</p>	<p>48</p>	<p>95-102</p>	<p>2013</p>
<p>Ikebe E Kawaguchi A Tezuka K Taguchi S Hirose S Matsumoto T Mitsui T Senba K Nishizono A Hori M Hasegawa H Yamada Y Ueno T Tanaka Y Sawa H Hall W Minami Y Jeang KT Ogata M Morishita K Hasegawa H Fujisawa J Iha H</p>	<p>Oral administration of an HSP90 inhibitor, 17-DMAG, intervenes tumor-cell infiltration into multiple organs and improves survival period for ATL model mice.</p>	<p>Blood Cancer J</p>	<p>3</p>	<p>e132</p>	<p>2013</p>

Ando H Sato T Tomaru U Yoshida M Utsunomiya A Yamauchi J Araya N Yagishita N Coler-Reilly A Shimizu Y Yudo K Nishioka K Nakajima T Jacobson S Yamano Y	Positive feedback loop via astrocytes causes chronic inflammation in virus-associated myelopathy.	Brain	136(Pt 9)	2876-87	2013
Tamai Y Hasegawa A Takamori A Sasada A Tanosaki R Choi I Utsunomiya A Maeda Y Yamano Y Eto T Koh KR Nakamae H Suehiro Y Kato K Takemoto S Okamura J Uike N Kannagi M	Potential contribution of a novel Tax epitope-specific CD4+ T cells to graft-versus-Tax effect in adult T cell leukemia patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.	J Immunol	190	4382-92	2013
Ishihara M Araya N Sato T Tatsuguchi A Saichi N Utsunomiya A Nakamura Y Nakagawa H Yamano Y Ueda K	Preapoptotic protease calpain-2 is frequently suppressed in adult T-cell leukemia.	Blood	121 (21)	4340-7	2013

Nakano N Kusumoto S Tanaka Y Ishida T Takeuchi S Takatsuka Y Akinaga S Mizokami M Ueda R Utsunomiya A	Reactivation of hepatitis B virus in a patient with adult T-cell leukemia-lymphoma receiving the anti-CC chemokine receptor 4 antibody mogamulizumab.	Hepatol Res	Mar 26		2013
Kobayashi S Tian Y Ohno N Yuji K Ishigaki T Isobe M Tsuda M Oyaizu N Watanabe E Watanabe N Tani K Tojo A Uchimaru K	The CD3 versus CD7 plot in multicolor flow cytometry reflects progression of disease stage in patients infected with HTLV-I.	PLoS One	8(1)	e53728	2013
Umekita K Hidaka T Miyauchi S Ueno S Kubo K Takajo I Hashiba Y Kai Y Nagatomo Y Okayama A	Treatment with anti-tumor necrosis factor biologics in human T-lymphotropic virus type 1 positive patients with rheumatoid arthritis.	Arthritis Care Res (Hoboken)	Oct 14		2013
Umekita K Umeki K Miyauchi S Ueno S Kubo K Kusumoto N Takajo I Nagatomo Y Okayama A	Use of anti-tumor necrosis factor biologics in the treatment of rheumatoid arthritis does not change human T-lymphotropic virus type 1 markers: a case series.	Mod Rheumatol	Nov 4		2013

Grassi MF Olavarria VN Kruschewsky Rde A Silva MT Yamano Y Jacobson S Taylor GP Martin F Galvão-Castro B	Utility of HTLV proviral load quantification in diagnosis of HTLV-1-associated myelopathy requires international standardization.	J Clin Virol	58(3)	584-6	2013
Nakano K Ando T Yamagishi M Yokoyama K Ishida T Ohsugi T Tanaka Y Brighty D-W Watanabe T	Viral interference with host mRNA surveillance, the nonsense-mediated mRNA decay (NMD) pathway, through a new function of HTLV-1 Rex: implications for retroviral replication.	Microbes Infect	15	491-505	2013
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	日本輸血・細胞治療学会誌			印刷中
齋藤 滋	HTLV-1抗体検査の理解	助産雑誌	68	17-21	2014
齋藤 滋 板橋家頭夫	シンポジウム2 「HTLV-1母子感染」 座長のまとめ	日本周産期・新生児医学会雑誌	48	4	2013
齋藤 滋	シンポジウム2 「HTLV-1母子感染」HTLV-1検査が全国で行なわれるようになった経緯	日本周産期・新生児医学会雑誌	48	5-7	2013
渡邊俊樹	特集：リンパ系腫瘍-最新の病態解析と治療-「成人T細胞白血病/リンパ腫の分子病態解析と治療の進歩」	最新医学	68(10)	40-7	2013
山野嘉久 佐藤知雄 宇都宮與	白血病 非定型白血病および特殊型 HTLV-1関連脊髄症 (HAM)	別冊日本臨牀 新領域別症候群シリーズ 血液症候群(第2版)	23(□)	195-9	2013

齋藤 滋	ヒト成人T細胞白血病ウイルス (HTLV-1) 母子感染予防対策	ペリネイタルケア	32	28-30	2013
吉田全宏 亀田和明 小川吉彦 金島広 中尾隆文 田邊順子 松岡雅雄 高 起良 山根孝久	末梢血でCD25陰性, リンパ節でCD25陽性を示した成人T細胞白血病/リンパ腫の1症例	日本検査血液学会雑誌	14巻2号	188-92	2013
山野嘉久 佐藤知雄	HTLV-1関連脊髄症 (HAM) の病態・治療とバイオマーカー	日本臨牀	71(5)	870-5	2013
齋藤 滋	HTLV-1と母子感染 (解説)	日本産科婦人科学会誌	65	1658-63	2013
齋藤 滋	HTLV-1母子感染対策	産婦人科の実際	62	543-7	2013
山内淳司 八木下尚子 安藤仁 佐藤知雄 新谷奈津美 Ariella, Coler-Reilly 今井直彦 中澤龍斗 佐々木秀郎 柴垣有吾 安田隆 力石辰也 木村健二郎 山野嘉久	Human T-lymphotropic virus type 1感染者における腎移植の影響	日本臨床腎移植学会雑誌	1(1)	55-60	2013