

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K20198

研究課題名(和文) 妊娠がHTLV-1キャリアに及ぼす影響についての基礎的研究

研究課題名(英文) A basic research on how the status of pregnancy affects individuals with an HTLV-1 infection

研究代表者

淵 直樹 (FUCHI, Naoki)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・研究協力員

研究者番号：20727359

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：妊娠がHTLV-1キャリアにどのような影響を与えるかについて明らかにするため、キャリア妊婦における妊娠、分娩に伴う経時的なHTLV-1プロウイルス量(PVL)の推移について検討した。キャリア妊婦36名において、妊娠中はPVLが横ばいで推移したが、産褥期におけるPVLは妊娠中のそれと比較して有意に上昇していた。さらに、キャリア妊婦および非感染妊婦における制御性T細胞数および可溶性IL-2受容体の推移を比較することで、産褥期におけるHTLV-1 PVLの上昇はHTLV-1感染細胞の増加によることが示唆された。これらの研究結果はHTLV-1母子感染予防プログラムの確立に有用である。

研究成果の概要(英文)：The influence of pregnancy on human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) infection and proviral DNA levels among pregnant women with HTLV-1 has not been clarified. We prospectively gathered blood samples from 36 pregnant women in whom HTLV-1 carriage was previously diagnosed and sequentially measured their proviral DNA levels. The HTLV-1 proviral DNA levels remained at a plateau during pregnancy but were elevated after delivery. Moreover, flow cytometry and serological analyses revealed that the regulatory T-cell population and soluble interleukin 2 receptor levels were similarly elevated after birth in comparison with those in control pregnant women. These findings will guide the establishment of a better program to prevent mother-to-child transmission of HTLV-1.

研究分野：産婦人科学

キーワード：HTLV-1 キャリア 妊娠 プロウイルス量 制御性T細胞 sIL-2R

1. 研究開始当初の背景

HTLV-1 (ヒトT細胞白血病ウイルス1型) は、難治性疾患である成人T細胞白血病(ATL) やHTLV-1型関連脊髄症(HAM)の原因ウイルスであり、主な感染経路は母乳を介した母子感染である。現在でもATLやHAMに対する有効な治療手段は確立されておらず、出産時の人工栄養の選択によるHTLV-1母子感染の予防が唯一の有効な対策である。私どもは、1987年より28年間にわたり長崎県内の産婦人科を受診した全妊婦のHTLV-1抗体スクリーニングを継続し、キャリア妊婦に対する母子感染対策の保健指導により1987年に7.2%であったキャリア率は2014年には0.9%にまで低下した。しかし、HTLV-1母子感染のリスク因子、母乳以外の母子感染経路の存在、妊娠がHTLV-1感染にどの程度の影響を与えるのかについては不明であり、より確実なHTLV-1感染対策の確立にはそれらの解明が必要とされる。

2. 研究の目的

本研究では、妊娠がHTLV-1感染にどのような影響を与えるかについて明らかにするために、妊娠に伴うHTLV-1プロウイルス量、制御性T細胞数、可溶性IL-2受容体(sIL-2R)値の推移を明らかにし、HTLV-1キャリアの妊娠に伴う病態生理の解明とHTLV-1母子感染のリスク因子の同定を目指す。期間内の具体的な研究計画を以下に挙げる。

- (1) HTLV-1キャリア妊婦におけるHTLV-1プロウイルス量の推移を明らかにする。
- (2) HTLV-1キャリア妊婦およびHTLV-1陰性妊婦における制御性T細胞数およびsIL-2R値の推移を明らかにする。
- (3) 妊娠中のHTLV-1感染の状態(HTLV-1プロウイルス量、制御性T細胞数およびsIL-2R値の推移)と産科合併症との関連を明らかにする。
- (4) HTLV-1キャリア妊婦におけるHTLV-1感染の状態(HTLV-1プロウイルス量、制御性T細胞数およびsIL-2R値の推移)と母子感染との関連を明らかにする。

3. 研究の方法

HTLV-1キャリア妊婦については、長崎県における妊婦HTLV-1スクリーニングシステムを利用し、本研究の遂行に必要な検体を集積し、母子感染成立の有無について評価した。

HTLV-1キャリア妊婦およびHTLV-1陰性妊婦において、妊娠初期、妊娠中期、妊娠後期、産褥期それぞれのポイントで母体血を採取した。HTLV-1プロウイルス量の測定は、単核球からDNAを抽出し、定量的リアルタイムPCR法を用いてHTLV-1プロウイルス量を以下の公式を用いて算出した。HTLV-1プロウイルス量(%)=[(HTLV-1 pX copy number)/(β -globin copy number/2)] x100。また、制御性T細胞数は、フローサイトメトリーを用いて測定した。sIL-2R値はCLEIA法を用いて測

定した。HTLV-1キャリアの妊娠・分娩の背景を把握するため、産科合併症の有無や他の感染症の有無などについての調査票を回収し、データベース化した。長崎県における児のHTLV-1抗体スクリーニングシステムは、3歳を過ぎてから長崎県内の小児科医療機関で実施している。そのデータと本研究のデータベースを照合し、母子感染成立の有無について評価した。

4. 研究成果

(1) HTLV-1キャリア妊婦におけるHTLV-1プロウイルス量の推移を明らかにする(Fuchi Naoki et al. J Infect Dis. 217, 1383-1389, 2018):HTLV-1キャリア妊婦36名について(表1)、妊娠経時的なHTLV-1プロウイルス量を測定した。HTLV-1プロウイルス量は、キャリア妊婦によって低いものから高いものまで個体差が大きかったため、高プロウイルス量群と低プロウイルス量群の2群に分けて検討した。低プロウイルス量群における妊娠初期、中期、後期、産褥期のHTLV-1プロウイルス量は、それぞれ0.046%(0-0.43%)、0.074%(0-0.44%)、0.091%(0.0042-0.79%)、0.15%(0.0042-0.49%)であり、高プロウイルス量群における妊娠初期、中期、後期、産褥期のHTLV-1プロウイルス量は、それぞれ0.56%(0.10-4.4%)、0.64%(0.081-2.2%)、0.58%(0.072-3.2%)、1.5%(0.50-4.7%)であった。両群ともに妊娠中はプロウイルス量が横ばいで推移したが(Kruskal-Wallis test、 $P>0.05$)、産褥期におけるHTLV-1プロウイルス量は妊娠中のそれらと比較して有意に上昇していた(Wilcoxon signed rank test、 $P<0.05$)(図1、2)。

妊婦のHTLV-1抗体スクリーニング検査における判定保留例に対して、PCR法を用いたHTLV-1プロウイルスの検出が行われているが、妊娠中のHTLV-1プロウイルス量の推移についての知見はこれまでなかった。本研究によって妊娠、産褥期のHTLV-1プロウイルス量の推移が明らかになり、妊娠期間中であれば、どの時期でも一定の評価が行われることが明らかになった。さらに、妊婦HTLV-1キャリアにおけるHTLV-1プロウイルス量は低いものから高いものまで様々であるため、検出感度以下の低プロウイルスキャリアが存在することを認識する必要がある。

(2) HTLV-1キャリア妊婦およびHTLV-1陰性妊婦における制御性T細胞数およびsIL-2R値の推移を明らかにする(Fuchi Naoki et al. J Infect Dis. 217, 1383-1389, 2018): HTLV-1キャリア妊婦36名およびHTLV-1陰性妊婦17名について(表1)、妊娠経時的な制御性T細胞数、sIL-2R値を測定し、各時期における両者間の比較を行った。HTLV-1キャリア妊婦およびHTLV-1陰性妊婦における、妊娠初期、中期、後期、産褥期の制御性T細胞数は、それぞれ5.9%(1.4-15.0%)および5.8%

(1.9-9.9%)、6.1% (2.5-13.7%)および 6.15% (4.4-8.7%)、6.5% (3.5-19.0%)および 6.1% (3.9-9.0%)、7.95% (4.1-14.6%)および 6.6% (5.0-9.0%)であり、妊娠中は両者間に有意な差は認めなかったが、産褥期において制御性 T細胞数はHTLV-1 キャリア妊婦が有意に高かった (Mann-Whitney U test、 $P < 0.05$) (図 3)。さらに、HTLV-1 キャリア妊婦および HTLV-1 陰性妊婦における、妊娠初期、中期、後期、産褥期の sIL-2R 値は、それぞれ 268.5 U/mL (176-742 U/mL)および 254 U/mL (180-431 U/mL)、209 U/mL (148-455 U/mL)および 215.5 U/mL (112-423 U/mL)、196 U/mL (127-390 U/mL)および 196.5 U/mL (103-426 U/mL)、311 U/mL (148-640 U/mL)および 236 U/mL (146-322 U/mL)であり、妊娠中は両者間に有意な差は認めなかったが、産褥期において sIL-2R 値は HTLV-1 キャリア妊婦が有意に高かった (Mann-Whitney U test、 $P < 0.05$) (図 4)。

妊娠の成立、維持に母体の免疫学的寛容機構が重要であることが報告されている。免疫学的寛容機構のなかで、CD4+CD25+制御性 T細胞の果たす役割は大きい。一方で、無症候性 HTLV-1 キャリアにおける HTLV-1 感染細胞の細胞表面マーカーは CD4+CD25+が大部分を占め、感染細胞の起源と考えられている。また、HTLV-1 キャリアでは活性化 T細胞のマーカーである sIL-2R が高値であり、その値は感染細胞数と相関していると報告されている。本研究で明らかにされた産褥期に HTLV-1 プロウイルス量が有意に上昇するという事象について、HTLV-1 キャリア妊婦および HTLV-1 陰性妊婦における制御性 T細胞数と sIL-2R 値の妊娠経時的な両群の比較検討によって、妊娠に伴う免疫学的寛容機構の終了とともに起こる感染細胞数の増加が HTLV-1 プロウイルス量の上昇に参与していることが示唆された。

(3) 妊娠中の HTLV-1 感染の状態 (HTLV-1 プロウイルス量、制御性 T細胞数および sIL-2R 値の推移) と産科合併症との関連を明らかにする：本研究で集積した HTLV-1 キャリア妊婦において産科合併症の発症は妊娠高血圧症候群 2 名、切迫早産 2 名であった (表 1)。産科合併症を発症した妊婦数が少なく、HTLV-1 感染の状態と産科合併症発症との関連解析を行うことはできなかった。

(4) HTLV-1 キャリア妊婦における HTLV-1 感染の状態 (HTLV-1 プロウイルス量、制御性 T細胞数および sIL-2R 値の推移) と母子感染との関連を明らかにする：HTLV-1 母子感染が成立したかどうかは長崎県の抗体スクリーニングシステムにおいて 3 歳以降の抗体検査で判定される。本研究で集積した HTLV-1 キャリア妊婦 36 名については、研究期間中に抗体検査が行われた例がならず、母子感染との関連解析を行うことができなかった。本研

究において HTLV-1 キャリア妊婦の HTLV-1 の感染の状態および産科合併症の有無についてデータベース化しているため、今後判明する出生児の HTLV-1 抗体検査の結果と統合することで、母子感染成立と感染の状態および産科合併症の有無について評価することが可能であると考えられる。

表 1. HTLV-1 キャリア妊婦および陰性妊婦の患者背景

Characteristic	Carriers (n = 36)	Noncarriers (n = 17)
Age, y	33 (22-40)	34 (20-39)
Parity		
0	2	8
1	19	5
2	13	4
3>	2	0
Complication during pregnancy		
None	32	14
Preterm labor	2	0
GDM	1	2
HDP	1	1
Gestation wk of delivery	39 (36-40)	38 (37-42)
Mode of delivery		
Vaginal delivery	34	12
Cesarean section	2	5
Fetal sex		
Male	20	8
Female	16	9
Birth weight, g	3100 (2338-3544)	2750 (2184-3730)

Data are median value (range) or no. of participants.
Abbreviations: GDM, gestational diabetes mellitus; HDP, hypertensive disorders of pregnancy.

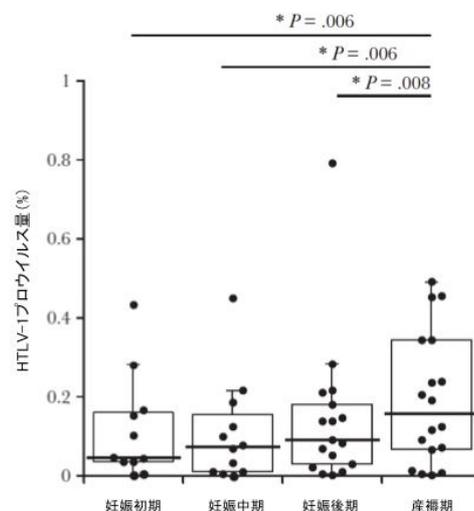


図 1. HTLV-1 キャリア妊婦における経時的な HTLV-1 プロウイルス量の推移 (低プロウイルス量群)

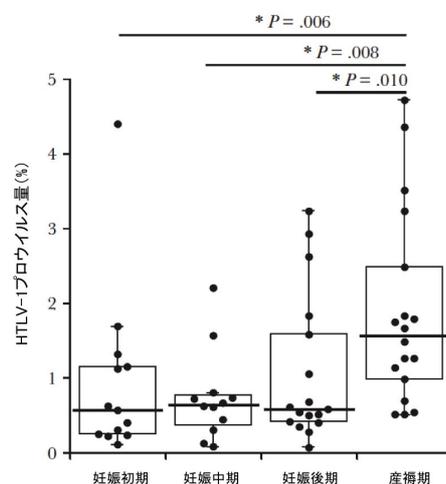


図 2. HTLV-1 キャリア妊婦における経時的な HTLV-1 プロウイルス量の推移 (高プロウイルス量群)

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

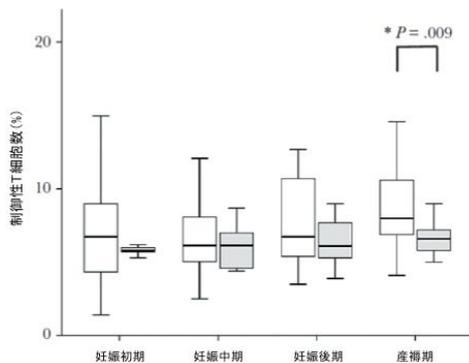


図3. HTLV-1キャリア妊婦および陰性妊婦における経時的な抑制性T細胞数の推移

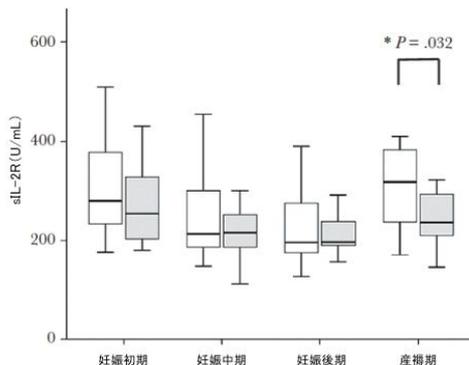


図4. HTLV-1キャリア妊婦および陰性妊婦における経時的なsIL-2Rの推移

[雑誌論文](計 5件)

Fuchi Naoki, Miura K, Tsukiyama T, Sasaki D, Ishihara K, Tsuruda K, Hasegawa H, Miura S, Yanagihara K, Masuzaki H. Natural course of HTLV-1 proviral DNA levels in carriers during pregnancy. *J Infect Dis.* 217, 1383-1389, 2018 査読あり doi: 10.1093/infdis/jiy017.

Fuchi Naoki, Miura K, Doi H, Li TS, Masuzaki H. Feasibility of placenta-derived mesenchymal stem cells as a tool for studying pregnancy-related disorders. *Scientific Reports.* 12;7:46220, 2017 査読あり doi: 10.1038/srep46220.

Fuchi Naoki, Miura K, Imaizumi Y, Hasegawa H, Yanagihara K, Miyazaki Y, Masuzaki H. Adult T-cell leukemia-lymphoma in a pregnant woman diagnosed as a human T-cell leukemia virus type 1 carrier. *J Obstet Gynecol Res.* 42, 336-340, 2016 査読あり doi: 10.1111/jog.12904.

淵直樹、三浦清徳、増崎英明 母子に影響を与える感染症 4. HTLV-1 感染症, 産婦人科の実際 65(13):1731-1738, 2016 査読なし

<https://webview.isho.jp/journal/toc/05584728/65/13>.

淵直樹、三浦清徳、増崎英明 妊娠中の ATL 発症, ペリネイタルケア 35(10): 913-917, 2016 査読なし

<https://www.medica.co.jp/catalog/m/5967?eflg=0>.

[学会発表](計 7件)

淵直樹、三浦清徳、佐々木大介、鶴田一人、長谷川寛雄、柳原克紀、増崎英明 第42回長崎感染症研究会(2018.3.31、長崎大学病院、長崎) HTLV-1 キャリア妊婦における臍帯血陽性例の検討

Naoki Fuchi, Kiyonori Miura, Hideaki Masuzaki. 18th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses (3-10, March, 2017, Tokyo, Japan) Incidence of seroconversion in the antenatal HTLV-1 screening test

Naoki Fuchi, Kiyonori Miura, Hideaki Masuzaki. 69th Annual Congress of the Japan Society of Obstetrics and Gynecology (13-16, April, 2017. Hiroshima, Japan) Horizontal transmission of HTLV-1 in Japanese reproductive-aged women.

淵直樹、三浦清徳、佐々木大介、鶴田一人、長谷川寛雄、吉浦孝一郎、上平憲、柳原克紀、増崎英明 第41回長崎感染症研究会(2017.2.25、長崎大学医学部 良順会館、長崎) 長崎県における妊婦の HTLV-1 抗体陽転例に関する検討

淵直樹、三浦清徳、佐々木大介、鶴田一人、長谷川寛雄、柳原克紀、増崎英明 第4回日本 HTLV-1 学会学術集会(2017.8.18-20 関西医科大学、大阪) 妊婦スクリーニング検体の HTLV-1 定量検査におけるデジタル PCR 法とリアルタイム PCR 法の比較

淵直樹、三浦清徳、長谷川寛雄、今泉芳孝、柳原克紀、宮崎泰司、増崎英明 第26回日本産婦人科・新生児血液学会学術集会(2016.7.1-2、長崎大学医学部 良順会館、長崎) 成人型 T 細胞白血病/リンパ腫を発症した妊婦の 1 例

淵直樹、三浦清徳、築山尚史、佐々木大

介、鶴田一人、長谷川寛雄、吉浦孝一郎、
上平憲、柳原克紀、増崎英明 第3回日本
HTLV-1学会学術集会(2016.8.26-28 鹿
児島県市町村自治会館、鹿児島市)HTLV-
1キャリア妊婦における妊娠毎のHTLV-
1プロウイルス量の推移に関する検討

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

淵 直樹 (FUCHI, Naoki)

長崎大学・医歯薬総合研究科(医学系)・

研究協力員

研究者番号: 20727359

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

三浦 清徳 (MIURA, Kiyonori)

増崎 英明 (MASUZAKI, Hideaki)

佐々木 大介 (SASAKI, Daisuke)

長谷川 寛雄 (HASEGAWA, Hiroo)