

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

相良 康子¹⁾ 後藤 信代¹⁾ 井上由紀子¹⁾ 守田麻衣子¹⁾ 倉光 球²⁾
大隈 和²⁾ 浜口 功²⁾ 入田 和男¹⁾ 清川 博之¹⁾

本邦における HTLV-1 感染者は 108 万人と推計されており、HTLV-1 は成人 T 細胞性白血病 (ATL) や HTLV-1 関連脊髄症 (HAM/TSP) といった重篤な疾患の原因として知られている。日本赤十字社血液センターでの抗 HTLV-1 抗体の確認検査としては、2012 年 9 月よりウエスタンブロット (WB) 法が採用され、検査結果の通知を希望される献血者への通知に際しての判定基準となっている。しかしながら、WB 法では判定保留例が多く確定に至らない事例が蓄積されている。今回、我々は WB 法における判定保留事例を対象として、複数の方法による抗体検出ならびに HTLV-1 プロウイルス (PV) 検出を試み、性状解析を行った。その結果、WB 法判定保留事例 239 例中 89 例 (37.2%) で HTLV-1 PV が検出されたが、そのうち 4 例は化学発光酵素免疫測定 (CLEIA) 法で、また 2 例は化学発光免疫測定 (CLIA) 法で陰性を示した。また、PV 陰性 150 例中 19 例 (12.7%) では複数の抗体検出系で特異抗体が認められたことから、末梢血中の PV が検出限界以下を示すキャリアの存在が示唆され、精確なキャリア確定判定のための抗原同定と検査系確立を要すると考える。

キーワード：HTLV-1、抗体検査系、判定保留、エピトープ、易抗体産生領域

第 61 回日本輸血・細胞治療学会総会座長推薦論文

緒 言

1977 年、高月らは成人 T 細胞性白血病 (ATL) を新しい病態として報告し¹⁾²⁾、1980 年には Poiesz らが ATL 患者から初めてのヒトレトロウイルスを発見しヒト T 細胞性白血病ウイルス I 型 (HTLV-1) と命名した³⁾。HTLV-1 は母乳による垂直感染とパートナー間の水平感染を主な感染ルートとして伝播する⁴⁾が、感染者からの新鮮凍結血漿では感染は成立せず⁵⁾、凍結融解した母乳では感染率が低下する⁶⁾とされ、感染成立には感染生細胞の存在を要する。また、日沼らは ATL 患者血清中に抗 HTLV-1 抗体を見出した⁷⁾。これらの結果を受け、感染の有無を判断する検査法として抗体検出系が広く用いられている⁸⁾。

日本赤十字社血液センターでの抗 HTLV-1 抗体検査は、化学発光酵素免疫測定法による一次検査の後、献血者への通知の判定基準としてウエスタンブロット (WB) 法を採用している。WHO 基準では HTLV-1 感染者は Env gp46 または gp62/68 に対する抗体と Gag p19, p24, p53 のいずれかに対する抗体の双方を有するものとされているが、HTLV European Research Net-

work の基準はより厳密で、Gag p19, p24 と Env gp21, gp46 に対する抗体の検出を条件とする⁹⁾。一方、血液センターでの WB 法判定基準は Env gp46 のバンドおよび Gag p19, p24, p53 のうち一つ以上のバンドが陽性の場合を陽性、gp46, p19, p24, p53 のバンドが全く認められない場合を陰性とし、これらの判定基準に一致しない場合は判定保留としている。

今回、我々は、固相化抗原種の異なる複数の方法による抗体検出ならびにプロウイルス (PV) の検出を試み、WB 判定保留事例を対象として HTLV-1 感染を確実に検出することを目的にキャリアが産生する抗体のエピトープを同定するための性状解析を行った。

対象と方法

対象

九州ブロック管内にて 2011 年 5 月 25 日～2012 年 4 月 15 日に献血され、抗 HTLV-1 抗体確認検査対象となった事例、1,355 検体のうちの WB 判定保留 239 例を対象とした。

1) 日本赤十字社九州ブロック血液センター

2) 国立感染症研究所血液・安全性研究部

〔受付日：2013 年 9 月 13 日、受理日：2013 年 11 月 26 日〕

Table 1 Indeterminate pattern and provirus prevalence in WB-deferred cases

Env	Gag			n	PCR (+)		
gp46	p19	p24	p53		n	%	PV (%)
Gag (+): 208 samples							
—	+	+	+	113	45	39.8	0.508±1.298
—	+	+	—	6	0	0.0	—
—	+	—	+	10	2	20.0	0.033±0.047
—	—	+	+	2	0	0.0	—
—	+	—	—	37	9	24.3	0.049±0.069
—	—	+	—	35	4	11.4	0.040±0.052
—	—	—	+	5	0	0.0	—
Env (+): 1 sample							
+	—	—	—	1	1	100.0	0.202
Env (+), Gag (+): 30samples							
+ / ±	+ / ±	+ / ±	+ / ±	21	20	95.2	0.516±0.794
+ / ±	+ / ±	+ / ±	—	2	2	100.0	0.001±0.001
+ / ±	+ / ±	—	+ / ±	3	3	100.0	0.006±0.011
+ / ±	+ / ±	—	—	4	3	75.0	0.043±0.042
+ / ±	—	+ / ±	—	0	0	0.0	—
+ / ±	—	—	+ / ±	0	0	0.0	—

+, protein band of equal or greater intensity than that with weak-positive control serum

±, protein band of less intensity than that with weak-positive control serum

方法

1. 抗体検出系

抗体検出系としてはスクリーニング法として下記の1)～3)の3法、確認試験として4)～7)の4法を用いた。

1) 凝集 (particle agglutination; PA) 法; セロディアア HTLV-I[®] (富士レビオ) を使用した。

2) 化学発光酵素免疫測定 (chemiluminescence enzyme immunoassay; CLEIA) 法; CL4800 (富士レビオ) を使用した。

3) 化学発光免疫測定 (chemiluminescence immunoassay; CLIA) 法; Architect[®] (Abbott) を使用した。

4) 間接蛍光抗体 (indirect immunofluorescence; IF) 法; HTLV-1 感染細胞株 MT-2 と非感染細胞株 Molt-4 を 1:4 の細胞比で混合し、固定したプレートを使用した。

5) WB 法; プロブロット HTLV-I[®] (富士レビオ) を使用した。

6) Line immunoassay (LIA) 法; INNO-LIA HTLV-1/2TM (INNOGENETICS) を使用した。

7) ELISA 法; HTLV-1 構造蛋白質上の immunodominant region [Gag p19 100-130A.A. (p19-100), Env gp46 175-199A.A. (gp46-175), Env gp46 288-312A.A. (gp46-288)] に相当する合成ペプチドを固相化したマイクロプレートを用いた。

2. HTLV-1 PV 検出系

末梢血より QIAamp DNA Blood midi キット (QIAGEN) のプロトコルに従ってゲノム DNA を抽出した。ゲノム DNA 1μg に対して HTLV-1 pX 領域と内部標準遺伝子の RNaseP を TaqMan PCR により Applied Biosystems 7500 fast システムを用いてそれぞれ検出、HTLV-1 PV 量を定量し、有核細胞に対する PV 検出率 (%) を算出した。HTLV-1 pX 領域の定量 PCR の Primer および Probe 配列は、Watanabe らの方法¹⁰⁾に従った。内部標準遺伝子の定量 PCR は RNaseP 検出キット (Taqman RNaseP Control kit (VIC dye), Applied Biosystems) を使用した。本法での検出限界は HTLV-1 感染細胞 TL-Om1 株 DNA を標品とした標準曲線より 0.0005% と算出された。

結 果

1. WB 保留事例の抗体反応性と PV 検出

WB 保留 239 例について、その WB 反応性と PV 検出率と PV 量を Table 1 に示す。PV 検出事例は、89 例 (37.2%) であった。WB では、抗 Gag 抗体のみ検出された事例が 208 例で、そのうち PV 検出例は 60 例であった。p19, p24, p53 のすべてに反応した事例が 113 例と最も多く、その PV 陽性率は 39.8%、PV 量は平均 0.508% を示した。一方、Env gp46 に対する抗体のみ陽性の事例は 1 例で PV 陽性 (PV 量 0.202) であった。抗 Env, 抗 Gag 抗体とも認められるが、一部のバンドが、弱陽性対照より弱い反応 (±) を示し判定保留となっ

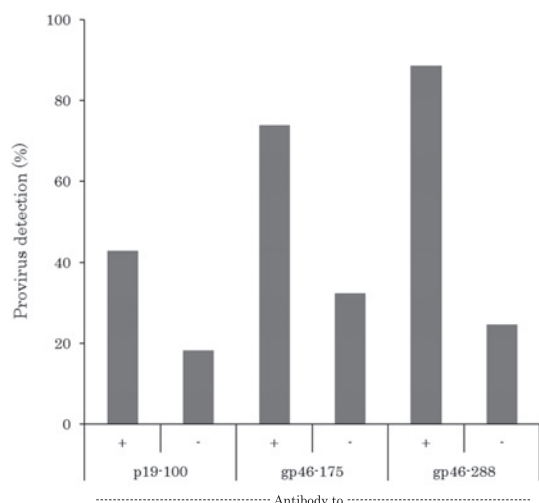


Fig. 1 Comparison of provirus detection ratios among the WB-deferred cases based on antibody reactivity to each immunodominant region on HTLV-1 proteins. A total of 239 WB-deferred cases were examined for antibody reactivity using ELISA with an immobilized synthetic peptide derived from immunodominant regions on HTLV-1 structural proteins, p19-100, gp46-175, and gp46-288. Provirus detection was conducted using PCR, and the provirus prevalence in samples with or without immunoreactivity to each peptide was compared.

た事例は 30 例で、そのうち 28 例 (93.3%) で PV が検出された。Fig. 1 に ELISA 法での抗体検出と PV 検出率を示す。p19-100 に対する抗体陽性例では PV 検出率が 42.8% であったのに対し、陰性例では 18.2% と著減した。さらに、抗 gp46-175 抗体陽性例での PV 検出率は 73.9%、抗 gp46-288 抗体陽性例では 88.6% と、Env 領域に対する抗体保有と PV 検出は非常に強く相関していた。

2. WB 保留プロウイルス陽性 89 例の性状

1) スクリーニング法における反応性

WB 保留 PCR 陽性 89 例について CL4800, Architect® (以下, Arch), PA の 3 法における反応性の比較を行った (Table 2, Fig. 2)。対象検体中 83 例 (93.3%) は 3 法陽性を呈したが、CL4800 陰性が 4 例 (4.5%)、Arch 陰性が 2 例 (2.2%) 認められた (Table 2)。CL4800, Arch 両法における測定値 (COI, S/Co) は弱い相関を示した (Fig. 2A, $r^2=0.428$)。また、PA 法では 47 例 (52.8%) が $x2^6$ 以上の高力価を示したが、 $x2^3 \sim 4$ の低力価例も 9 例 (10.1%) あり、2 例 (2.2%) は陰性であった (Fig. 2B)。

2) スクリーニング法における固相化抗原と反応性の連関

今回の検討に用いたスクリーニング 3 法の固相化抗原は以下のとおりである。CL4800 と PA は WB と同様に日本人 ATL 由来細胞 TCL-Kan 株¹¹⁾の細胞溶解液が

用いられ、Gag 主体である。CL4800 では同株由来 gp46 を精製添加している。Arch の抗原は白人 ATL 由来 PV 塩基配列に基づく組換え型 gp21 と、同 PV gp46 アミノ酸配列に相当する合成ペプチドからなる¹²⁾。これらの抗原の特性とそれに対する反応性を基に、WB 保留 PCR 陽性 89 例の有する抗体を推定した結果を Table 2 に示す。3 法陽性の事例は Gag, Env の両方に反応する抗体を有すると考えられるが、CL4800, PA とも陰性の 1 例 (1.1%) は抗 Gag 抗体陰性、Arch 陰性 2 例 (2.2%) は抗 Env 抗体陰性と推測された。CL 陽性 PA 陰性の 1 例 (1.1%) は抗 Gag 抗体が弱陽性で検出感度の相違に起因する乖離と考えられる。さらに、PA と Arch で検出され、抗 Gag, 抗 Env 抗体のいずれも有すると考えられるが CL4800 では陰性を呈した事例が 3 例 (3.4%) 認められた。

3) スクリーニング法で陰性を呈した事例の解析

WB 保留 PCR 陽性 89 例中、各スクリーニング試薬にて陰性を呈した事例について IF, WB, LIA を用いてその反応性を解析した結果を Table 3 にまとめた。A) には CL4800 陰性事例 4 例、B) には Arch 陰性事例 2 例を示している。6 例とも WB 法で gp46 バンド陰性を呈し判定保留とされたが、A), B) とも IF 弱陽性例が 1 例ずつ認められた。また、LIA (INNO-LIA) では抗 gp21 抗体、抗 Gag 抗体とも検出され、全例が HTLV-1 陽性判定となった¹³⁾。LIA の抗原には、HTLV-1/2 分別判定のために HTLV-1 由来 p19(p19-I), gp46(gp46-I) と HTLV-2 由来 gp46 (gp46-II) の 3 抗原も固相化されている¹³⁾。これらの LIA 抗原に対する反応性からみると、CL4800 陰性検体は 4 例とも抗 gp46, 抗 gp21 抗体のいずれも有しているが、抗 Gag p19 抗体は弱陽性、抗 p24 抗体は陰性であった。一方、Arch 陰性事例は 2 例とも WB, LIA 両法において抗 p19 抗体が認められた。抗 Env 抗体としては、LIA において、1 例では gp46 ++, gp21 ±, 他の 1 例では gp21 に対してのみ ++ で、抗 Env 抗体を保有するものの Arch 固相化 Env 抗原に対する反応は検出限界以下であると推測された。

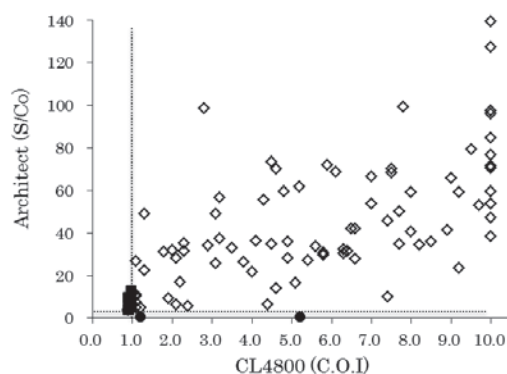
3. WB 保留 PV 陰性 150 例の性状

今回解析に用いた WB 判定保留 239 例中 PV 陰性となった事例は 150 例であった。これらの抗体検出系における反応性は、74 例 (49.3%) が CL4800 陽性、Arch 陽性事例は 34 例 (22.7%)、LIA 陽性事例は 21 例 (14.0%) であった。CL4800, Arch, LIA の 3 法での反応性としては、3 法陽性が 15 例 (10.0%)、スクリーニング法と LIA の 2 法陽性を示した事例が 4 例 (2.67%) であった (Table 4)。

Table 2 Antibodies in provirus-positive samples deduced from the reactivity to the immobilized antigens in each screening reagent

CL4800	PA	Architect	n	%	Deduced antibodies	
					anti-Gag Ab	anti-Env Ab
+	+	+	83	93.3	+	+
+	+	-	1	1.1	+	-
+	-	+	0	0		
+	-	-	1	1.1	+ w	-
-	+	+	3	3.4	+	+
-	+	-	0	0		
-	-	+	1	1.1	-	+
-	-	-	0	0		
total			89	100		

A) CL4800 and Architect



B) PA

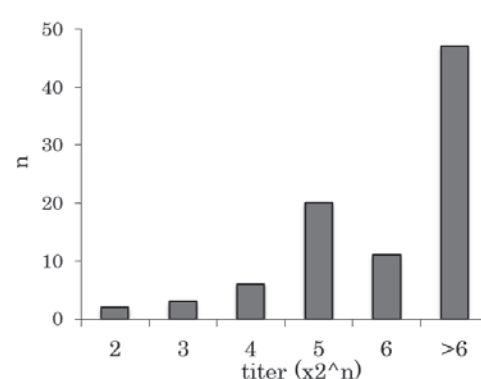


Fig. 2 Results of antibody screening for 89 WB-deferred cases that showed provirus-positive results. A total of 89 WB-deferred and provirus-positive cases were examined using 3 methods of antibody screening. A) CL4800 and Architect: Vertical axis shows CL4800 COI, and horizontal axis Architect S/Co. ■, CL4800 negative cases; ●, Architect negative cases. B) PA: Vertical axis shows numbers of cases and horizontal axis the antibody titer.

考 察

今回、九州8県において献血された約70万人の献血者のうち、確認試験対象となった1,355検体に認められたWB判定保留例239例を解析対象とした。このうち89例(37.2%)においてHTLV-1 PVが検出されたことは、現行の確認試験において感染確定に至らないキャリアが献血者全体の約0.013%程度存在することを意味し、弱陽性対照に基づくWB判定基準の再検討を要する。また、HTLV-1 PVはTリンパ球のゲノム上に組み込まれた形で潜伏感染するが、末梢血中に検出されない感染状態も存在し、その生体内でのreservoirは未だ判明していない。そのため最も有効な感染の有無の判定は特異抗体の検出によるものとされる。本検討でもPV陰性抗体陽性の事例が83例認められ、これらは末梢血中では感染因子が検出限界以下であるキャリアである可能性を示しており、高感度抗体検出系の確立が喫緊の課題である。また、今回の解析においては、PV陽性であるにも関わらずスクリーニング検査において

陰性を示す事例がCL4800で4例、PA法で2例、Archでは2例見出された。さらに、PA陽性Arch陽性で抗Gag、抗Env抗体の両方を有すると推測されるもののCL4800陰性となった事例も3例(3.4%)認められ、使用されている抗原蛋白質の由来が同一である試薬間でも反応性の差が認められた。PV陽性CL4800陰性事例では抗Gag抗体の反応性が弱いためCL4800での検出閾値に達せず、さらにCL4800での固相化gp46抗原では検出できないものと推測された。以上の結果は、抗体検出感度は担体に固相化された抗原の由来および構造蛋白質上の領域、固相量、固相化法、固相化抗原の様態ならびに検出原理に依存する¹⁴⁾ことを示唆しており、同一感染細胞株由来抗原を用いたCL4800とWBの2法のみでの適応ではPV陽性にもかかわらず確定判定が得られない事例が集積していることが判明した。また、PV陽性率は抗Env抗体陽性率と相関が認められ、Env抗原はキャリアにおける易抗体産生抗原であり¹⁵⁾¹⁶⁾、キャリア判定にEnv抗原が有用であることが示唆された。

Table 3 Provirus-positive cases that showed false-negative results on antibody screening

A) CL4800																		
No.	CL4800		Architect		P A x2 ⁿ	IF result	WB				INNO-LIA				PCR Proviral Load (%)			
	COI	result	S/Co	result			gp46	p19	p24	p53	result	p19	gp46	gp21		p19-I	gp46-I	gp46-II
1	0.9	-		3.65	+	4	+w	-	+	±	±	def	±	±	± -	± -	HTLV-1	0.03
2	0.9	-		4.12	+	3	?	-	+	+	+	def	±	±	± -	± -	HTLV-1	0.03
3	0.9	-		4.19	+	-	-	-	+	+	+	def	±	±	-	±	HTLV-1	0.08
4	0.9	-		9.46	+	5	?	-	±	-	-	def	±	+	+	-	HTLV-1	0.12

B) Architect																		
No.	CL4800		Architect		P A x2 ⁿ	IF result	WB				INNO-LIA				PCR Proviral Load (%)			
	COI	result	S/Co	result			gp46	p19	p24	p53	result	p19	gp46	gp21		p19-I	gp46-I	gp46-II
5	1.2	+		0.60	-	-	-	-	+	+	±	def	+	-	±	-	HTLV-1	0.03
6	5.2	+		0.59	-	3	+w	-	+	+	+	def	±	-	-	-	HTLV-1	0.03

def, deferred

def, deferred

Table 4 Characterization of the 150 provirus-negative cases on the basis of antibody reactivity

CL4800		Architect		LIA (INNO-LIA)	
+	74	+	27	+	15
				-	0
				deferred	10
				NT	2
-	76	+	7	+	3
				-	16
				deferred	28
				+	1
-	76	+	7	-	5
				deferred	1
		-	69	+	2
				-	54
				deferred	13

NT, not tested

しかしながら、本検討対象において、スクリーニング3法のすべてで陰性を呈した事例はなく、複数の抗体検出系を併用することで補完的な抗体検出が可能となり偽陰性発生が防止できると推察される。

これまでも、WBにおいて indeterminate pattern を呈し HTLV-1 感染確定に至らない事例に関する解析に関しては多数の報告がある。中央アフリカにおいては WB 保留事例からピグミー族等の少数民族に HTLV-1 類似の新規ウイルス HTLV-3, HTLV-4 感染者が見出されている¹⁷⁾¹⁸⁾。一方、マラリア感染者血清が WB 上の HTLV-1 Gag 蛋白質との交差反応性を示すことによって Indeterminate pattern が生じることも判明しており¹⁹⁾、他種の感染因子の共存により WB 判定に影響が生じる可能性も考えられる。

結 語

今回の検討により確定試験判定保留例中にも 37.2% の PV 陽性事例が含まれることが明らかになった。また、PV 陰性事例中 12.7% に HTLV-1 特異抗体が認められ、現行の HTLV-1 感染判定基準に改良の必要性があることを意味する。また、PV 検出例を捉えるには Env 抗原を加えた確定検査系の採用が有用であることが示唆された。HTLV-1 感染を確実に捕捉することは献血血液の有効利用ならびに献血者への的確な情報提供と健康増進のための利益還元を行うと共に、本邦における HTLV-1 キャリアの実態を把握することが、HTLV-1 感染ならびに関連疾患発症予防に有用であると考えられる。

著者の COI 開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

謝辞：本稿の投稿に当たり、ご推薦を賜りました鹿児島大学医学部付属病院輸血部 古川良尚先生に深謝いたします。

文 献

- 1) Takatsuki K, Uchiyama T, Sagawa K, et al: Adult T cell leukemia in Japan. In: Seno S, Takaku F, Irino S, eds, Topic in Hematology, the 16th International congress of Hematology Amsterdam, 1977, 73—77.
- 2) Uchiyama T, Yodoi J, Sagawa K, et al: Adult T-cell leukemia: clinical and hematologic features in 16 cases. *Blood*, 50: 481—492, 1977.
- 3) Poiesz BJ, Ruscetti FW, Gazdar AF, et al: Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA*, 77: 7415—7419, 1980.
- 4) Hino S: Establishment of the milk-borne transmission as a key factor for the peculiar endemicity of human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I): the ATL Prevention Program Nagasaki. *Proc Jpn Acad Scr B*, 87: 152—166, 2011.
- 5) Okochi K, Sato H, Hinuma Y: A retrospective study on transmission of adult T cell leukemia virus by blood transfusion: seroconversions in recipients. *Vox Sang*, 46: 245—253, 1984.
- 6) Ando Y, Ekuni Y, Matsumoto Y, et al: Long-term serological outcome of infants who received frozen-thawed milk from human T-lymphotropic virus type-I positive mothers. *J Obstet Gynaecol Res*, 30: 436—438, 2004.
- 7) Hinuma Y, Nagata K, Hanaoka M, et al: Adult T-cell leukemia: antigen in an ATL cell line and detection of antibodies to the antigen in human sera. *Proc Natl Acad Sci USA*, 78: 6476—6480, 1981.
- 8) Andersson S, Thorstensson R, Godoy Ramirez K, et al: Comparative evaluation of 14 immunoassays for detection of antibodies to the human T-lymphotropic virus types I and II using panels of sera from Sweden and West Africa. *Transfusion*, 39: 845—851, 1999.
- 9) Rouet F, Meertens L, Courouble G, et al: Serological, epidemiological, and molecular differences between human T-cell lymphotropic virus Type I (HTLV-I)-seropositive healthy carriers and persons with HTLV-I Gag indeterminate Western blot patterns from the Caribbean. *J Clin Microbiol*, 39: 1247—1253, 2001.
- 10) Watanabe M, Ohsugi T, Shoda M, et al: Dual targeting of transformed and untransformed HTLV-I-infected T cells by DHMEQ, a potent and selective inhibitor of NF-kappaB, as a strategy for chemoprevention and therapy of adult T-cell leukemia. *Blood*, 106: 2462—2471, 2005.
- 11) Sugamura K, Matsuyama M, Fujii M, et al: Establishment of human cell lines constitutively producing immune interferon: transformation of normal T cells by a human retrovirus. *J. Immunol*, 131: 1611—1612, 1983.
- 12) 絹川秀樹, 谷本朋陽, 吉村 徹: HTLV の抗体検出キットの進歩—第3世代試薬の原理と性能—. *細胞*, 44: 350—354, 2012.
- 13) Zrein M, Louwagie J, Boeykens H, et al: Assessment of a new immunoassay for serological confirmation and discrimination of human T-cell lymphotropic virus infections. *Clin Diagnostics Lab Immuno*, 5: 45—49, 1998.
- 14) 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. *月刊医学と薬学*, 66: 1053—1059, 2011.
- 15) Washitani Y, Kuroda N, Shiraki H, et al: Linear antigenic regions of the structural proteins of human T-cell lymphotropic virus type I detected by enzyme-linked immunosorbent assays using synthetic peptides as antigens. *J Clin Microbiol*, 30: 287—290, 1992.
- 16) Londos-Gagliardi D, Jauvin V, Armengaut M-H, et al: Influence of amino acid substitutions on antigenicity of immunodominant regions of the HTLV type I envelope surface glycoprotein: A study using monoclonal antibodies raised against relevant peptides. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 15: 909—920, 1999.
- 17) Calattini S, Betsem E, Bassot S, et al: New strain of human T lymphotropic virus (HTLV) type 3 in a pygmy from Cameroon with peculiar HTLV serologic results. *J Infect Dis*, 199: 561—564, 2009.
- 18) Filippone C, Bassot S, Betsem E, et al: A new and frequent human T-cell leukemia virus indeterminate Western blot pattern: Epidemiological determinants and PCR results in central African inhabitants. *J Clin Microbiol*, 50: 1663—1672, 2012.
- 19) Mahieux R, Horal P, Mauclere P, et al: Human T-cell lymphotropic virus type I Gag indeterminate Western blot patterns in central Africa: Relationship to *Plasmodium falciparum* infection. *J Clin Microbiol*, 38: 4049—4057, 2000.

HUMAN T-CELL LEUKEMIA VIRUS TYPE I (HTLV-1)-INDETERMINATE WESTERN BLOT PATTERNS IN VOLUNTARY DONATED BLOOD SAMPLES IN JAPAN

*Yasuko Sagara*¹⁾, *Nobuyo Gotoh*¹⁾, *Yukiko Inoue*¹⁾, *Maiko Morita*¹⁾, *Madoka Kuramitsu*²⁾, *Kazu Okuma*²⁾, *Isao Hamaguchi*²⁾, *Kazuo Irita*¹⁾ and *Hiroyuki Kiyokawa*¹⁾

¹⁾Japanese Red Cross Kyushu Block Blood Center

²⁾Department of Safety Research on Blood and Biological Products, National Institute of Infectious Diseases

Abstract:

Human T-cell leukemia virus type I (HTLV-1) is estimated to have infected 15-20 million worldwide, and over 1 million in Japan. HTLV-1 is well-known as the cause of several severe diseases, such as adult T-cell leukemia and HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. A screening test for the antibody to HTLV-1 was implemented to test all donated blood samples in the Japanese Red Cross Blood Center in 1986. The examination is carried out using chemiluminescence enzyme immunoassay (CLEIA). Western blotting (WB), instead of indirect immunofluorescence assay (IF), has been adopted as a confirmatory process following CLEIA since September 2012. However, numerous cases have been deferred in which serum samples, positive on CLEIA, displayed indeterminate patterns on subsequent WB. To clarify the specificity of these WB indeterminate patterns, 239 serum samples deferred on WB were examined using particle agglutination assay, chemiluminescence immunoassay (CLIA), IF, line immunoassay, and PCR for HTLV-1 provirus detection, with findings for the differences in reactivity for antibody tests compared on the basis of the kinds and origins of immobilized antigens in each examination. Results from PCR showed that 89 (37.2%) of the 239 deferred samples in WB were positive for HTLV-1 provirus. In contrast, specific antibodies were detected in 19 (12.7%) of 150 PCR-negative cases. While 83 (93.3%) were positive for all antibody tests, anti-Gag antibody was predominantly observed in only 2 (2.2%) of 89. Only anti-Env antibody was detected in 1 (1.1%) case, which was positive only on CLIA. These findings indicate that genuine HTLV-1 carriers are included among individuals with indeterminate patterns on WB and suggest the existence of occult HTLV-1 carriers, indicating a much higher incidence of HTLV-1 in Japan than previously reported.

Keywords:

HTLV-1, antibody detection, indeterminate pattern, epitope, immunodominant region