

## HTLV-1 感染に伴い産生される抗体と末梢血中のプロウイルス量の解析

井上由紀子<sup>1)</sup> 守田麻衣子<sup>1)</sup> 後藤 信代<sup>1)</sup> 相良 康子<sup>1)</sup> 入田 和男<sup>1)</sup>  
 矢持 忠徳<sup>2)</sup> 渡邊 俊樹<sup>2)</sup> 岩永 正子<sup>4)</sup> 浜口 功<sup>3)</sup> 清川 博之<sup>1)</sup>

HTLV-1 感染陽性と診断され、HTLV-1 感染者コホート共同研究班 (JSPFAD) に登録された 675 例を対象として、プロウイルス量 (PVL) の定量と抗体検出系の各固相化抗原に対する反応性について解析を行った。無症候性 HTLV-1 キャリア (AC) 604 例について、PVL により 5 群に分類して PA 抗体価を比較したところ、PVL 上昇に伴って抗体価は上昇を示すことから、抗体価は ATL 発症予測因子のひとつである PVL を反映し、発症高危険群抽出の指標となり得る可能性が示唆された。さらに、AC604 例のうち、PVL が検出限界以下の 49 例 (8.1%) 全例で HTLV-1 構造蛋白質との結合が視認される特異抗体が観察され、長期にわたり複数回採血され、PVL が検出限界値近傍を呈する同一人の事例でも、継続的な抗体産生が認められた。一方、ATL 発症者においても、治療によって完全寛解に導入され PVL が検出限界以下を示した場合でも特異抗体は消失しなかった。これらのことから PV を検出できない HTLV-1 持続感染者の存在が確認され、核酸検査とともに精度のよい抗体検出系が HTLV-1 感染者の判定に必要であることが示された。

キーワード：HTLV-1, プロウイルス量, 抗 HTLV-1 抗体, 抗体価, 抗体検出系

## はじめに

ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (HTLV-1) は、母乳を介した垂直感染の後 60 年余の期間を経て発症する成人 T 細胞白血病 (ATL) の原因ウイルスとして、よく知られており<sup>1)~3)</sup>、2007 年の献血者を対象とした調査で本邦の HTLV-1 キャリアは約 108 万人と推定された<sup>4)</sup>。ATL は西南日本に患者の集積が認められ<sup>5)</sup>、年間 1,000 人以上が発症しており、同種造血幹細胞移植では長期無病生存が 30% 以上との報告<sup>6)</sup>もあるが、急性型で発症後半年から 1 年で死への転機を辿る症例も多い。これまでに末梢血中の HTLV-1 プロウイルス量 (PVL) の上昇が ATL 発症の高危険因子のひとつであることが報告され<sup>7)</sup>、PV の増幅が発症に関与することが示されてきた。HTLV-1 は細胞間接触により感染した後、生体内ではポリクローナルな感染細胞の継代によって、長期間の潜伏状態を持続する<sup>8)</sup>。HTLV-1 は HBV や HCV と異なり、感染細胞ゲノム中に組み込まれるため、血清からはウイルスを検出できず、感染の有無を判定する検査法として抗 HTLV-1 抗体検出系が広く用いられている<sup>9)</sup>。血液センターにおいて、1986 年より献血者の

抗 HTLV-1 抗体検査が開始され、健常献血者における無症候性 HTLV-1 キャリア (AC) の存在が明らかになってきた。我々は、抗体検査の精度向上を目的として、HTLV-1 キャリアが産生するウイルス構造蛋白質に対する抗体の反応性に基づいた性状解析と PVL との関連について検討した。

## 対象と方法

HTLV-1 感染者コホート共同研究班である JSPFAD (Joint Study on Predisposing Factors of ATL Development) に登録された HTLV-1 感染者 675 例 (AC 604 例、ATL 患者 71 例) を対象とした。AC および ATL の診断は登録医療機関による診断名に従い、本研究における診断基準設定や診断確定作業は行わなかった。対象者の情報 (診断名、性別、採血時年齢、PVL) および血漿検体は、JSPFAD 運営委員会へ検体利用申請を行い、承認を受け (JSPFAD 承認番号 2012-02)、匿名化情報として入手した。

PVL は既知報告手法<sup>10)</sup>により東大医科研において測定された既存データを用いた。プロウイルス (PV) の

1) 日本赤十字社九州ブロック血液センター

2) 東京大学大学院新領域創成科学研究科

3) 国立感染症研究所血液・安全性研究部

4) 東京慈恵会医科大学総合検診・予防医学センター

〔受付日：2014 年 5 月 7 日，受理日：2014 年 9 月 10 日〕

表1 抗HTLV-1抗体の検出法

検査法		抗原	検出抗体	検出方法	文献
PA法	富士レビオ社	ウイルス蛋白質 (全長)	IgG + IgM	凝集法	11)
WB法	富士レビオ社	ウイルス蛋白質 (全長)	IgG	酵素免疫反応法	12)
LI法	フジレビオ ヨーロッパ社	recombinant 抗原及び合成ペプチド (Env gp46, gp21 由来)	IgG	酵素免疫反応法	13)
peptide-ELISA	自家製	合成ペプチド Gag p19-100 (aa100-130) Env gp46-175 (aa175-199) Env gp46-288 (aa288-316)	IgG	酵素免疫反応法	14)

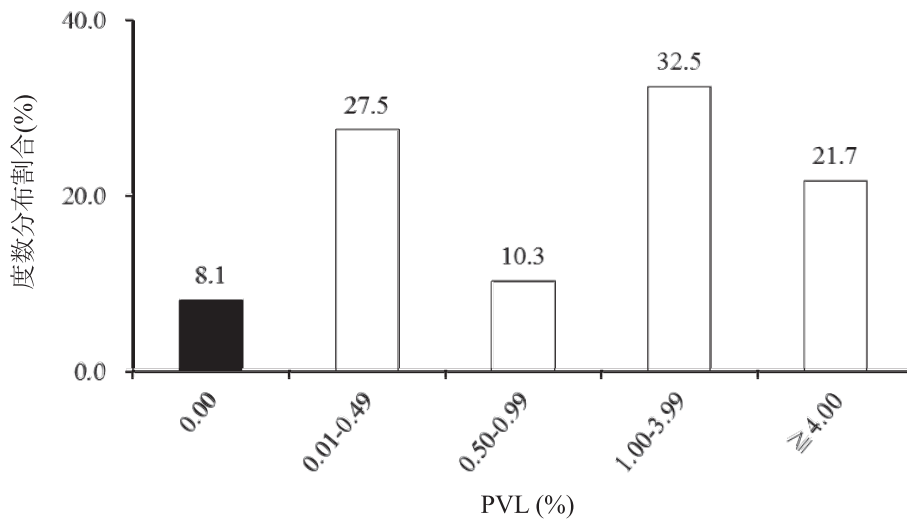


図1 PVL 5群における AC (n=604) の度数分布

AC (604例) において、PVLを平方根変換した連続変数において、第1四分位点(25パーセントイル値)である0.49%、中央値1.10% (結果は未記載)、さらにATL発症高危険因子として報告された4.00%<sup>7)</sup>を分位点として、PVLを0.00, 0.01-0.49, 0.50-0.99, 1.00-3.99, ≥4.00の5群に分類し、各群での度数分布を示した。縦軸に度数分布割合(%), 横軸に5群に分類したPVL (%)を表記した。

定量法について簡潔に説明すると、real-time PCRを用い、HTLV-1 pX領域に対するプライマーにて、ウイルス遺伝子を増幅した<sup>7)10)</sup>。本方法での検出限界はHTLV-1感染細胞TL-Om1株DNAを標品とした標準曲線より0.04%であり、PVL (%)は、TL-Om1 (1細胞当たり1.8コピー)を標品として算出した。抗HTLV-1抗体の検出には、ゼラチン粒子凝集法(PA法)<sup>11)</sup>、ウェスタンブロット法(WB法)<sup>12)</sup>、Line immunoassay法(LI法)<sup>13)</sup>、酵素免疫反応法(peptide-ELISA)<sup>14)</sup>を用いた(表1)。PVLの分類では実測値を平方根変換により歪度を調整して正規分布化し、四分位点を算出した。抗体のデータは、t検定によって有意差を比較した。

結 果

1. 対象者の基本情報分布

AC268名(604例)は、男性107名(228例)、女性161名(376例)、ATL患者45名(71例)は、男性24名(38例)、女性21名(33例)からなる。各々の初回採血年齢の中央値と範囲は、ACは男性59歳、26-87

歳、女性59歳、23-86歳、ATL患者は男性63歳、50-83歳、女性59歳、43-81歳であった。

AC 604例のPVLの度数分布を図1に示した。PVLを平方根変換した連続変数において、第1四分位点(25パーセントイル値)である0.49%、中央値1.10% (結果は未記載)、さらにATL発症高危険因子として報告された4.00%<sup>7)</sup>を分位点として、0.00%, 0.01-0.49%, 0.50-0.99%, 1.00-3.99%, ≥4.00%の5群に分類した場合の各群に含まれるACの割合は、1.00-3.99%群が最も多く(196/604例, 32.5%), ≥4.00%群も21.7%を占めていた。

2. PVLとPA抗体価の関連性

PVLと抗体価の関連性をみるために、AC 604例についてPA法で抗HTLV-1抗体を定量し、PVLの5群における抗体価を比較した(表2)。PVL各群でのPA抗体価(x<sup>2</sup>n)について、ATL発症危険因子とされたPVL 4.00%を基準として比較したところ、≥4.00%群と、0.00%群(p<0.00001), 0.01-0.49%群(p<0.00001), 0.50-0.99%群(p=0.039)との間でPA抗体価に有意差

が認められ(表2), PVLが高いと抗体価も高くなるという関連性が認められた. PVL 1.00-3.99% 群との間には有意な差は認められなかったが (p=0.194), 抗体価がx2<sup>12</sup>以上を示した事例は 1.00-3.99% 群で 56例 (28.6%), ≥4.00% 群で 43例 (32.8%)と, ≥4.00% 群の方が高力価抗体を保有する事例が多く認められた(結果は未記載).

**3. PVL が検出限界以下を示す AC が産生する抗体の反応性**

AC 中の 49 例(8.1%)は, PVL が 0.00% を呈することから(図1), PV が検出限界以下の AC が産生する抗体の反応性について検討した. 表3にその抗 HTLV-1 抗体検出結果を示した. PA 法, LI 法および Gag p19-100 を抗原とした peptide-ELISA で 49 例すべてが陽性と判定された. また, WB 法で 1 例 (2.0%) が保留, Env gp46-175 及び gp46-288 を抗原とした peptide-ELISA で各々 12 例 (24.5%), 5 例 (10.2%) が陰性判定となった. 保留または陰性であった 18 例(重複事例を含むため対象は 15 件)について, 詳細な抗体の反応性を表4に示した. Gag 蛋白質に対する抗体は, 15

例すべての検体において, WB 法, peptide-ELISA 及び LI 法で検出された. 一方, Env 蛋白質に対する抗体は, WB 法で陽性が 6 例(40.0%), 弱陽性が 8 例(53.3%), 陰性が 1 例(6.7%), gp46-175 で陽性が 3 例(20.0%), gp46-288 で陽性が 10 例(66.7%), 両領域ともに陰性となった事例が 2 例(13.3%)であった. これら 2 法では Gag 蛋白質に比べ Env 蛋白質に対する抗体の陽性率は低下したが, LI 法では gp46 蛋白質に対する抗体は全例陽性, gp21 蛋白質では, 1 例(6.7%)の弱陽性を含む全例が陽性と判定された.

さらに, 7 回以上採血され, PVL が継続して 0.00% 近傍を示した AC 3 例について, PVL と抗体価との関連性を解析した(図2). 事例 a は 65 歳の女性で, 6 年間で 7 回のうち 4 回, PVL が検出限界以下を示したが, PA 抗体価は x2<sup>8</sup>以上, WB 法で陽性, Gag 蛋白質に対する抗体の陽性反応を持続していた(図2a). 事例 b は, 76 歳女性で, 7 年間において, 8 回中 4 回は PVL が 0.00% であったが, PA 抗体価は x2<sup>8</sup>以上, WB 法陽性, 抗 Gag 抗体価も維持されていた(図2b). 事

表2 AC をプロウイルス量で分類した群の PA 抗体価の比較

PVL range (%)	n	PA titer(x2 <sup>n</sup> )
0.00	49	8.37 ± 1.47
0.01-0.49	166	9.58 ± 1.70
0.50-0.99	62	10.23 ± 1.99
1.00-3.99	196	10.61 ± 1.59
≥4.00	131	10.82 ± 1.55

対象検体総数: 604 例

p value: \*p=0.194 \*\*p=0.039 \*\*\*p<0.00001

表3 PVL 0.00% を示す AC49 例での抗 HTLV-1 抗体の反応性

抗体検出法	陽性		陰性		保留	
	n	%	n	%	n	%
PA 法	49	100.0	0	0.0	0	0.0
WB 法	48	98.5	0	0.0	1	2.0
LI 法	49	100.0	0	0.0	0	0.0
peptide-ELISA						
Gag p19-100	49	100.0	0	0.0	0	0.0
Env gp46-175	37	75.5	12	24.5	0	0.0
Env gp46-288	44	89.8	5	10.2	0	0.0

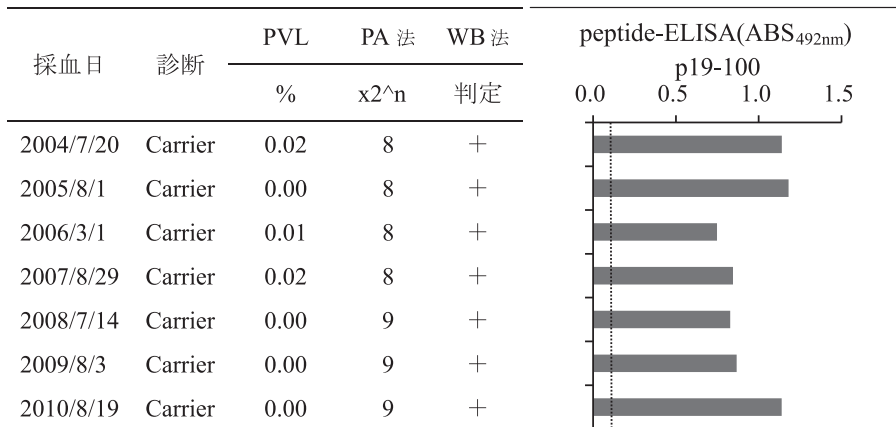
表4 保留及び陰性を示した AC での各抗体検査系における反応性

No.	PA 法	WB 法		peptide-ELISA			LI 法		
	x2 <sup>n</sup>	Gag	Env	p19-100	gp46-175	gp46-288	p19	gp46	gp21
1	4	+	-	+	-	+	+	+	±
2	7	+	±	+	-	+	+	+	+
3	7	+	±	+	-	+	+	+	+
4	7	+	±	+	-	+	+	+	+
5	8	+	±	+	-	+	+	+	+
6	8	+	±	+	-	+	+	+	+
7	9	+	±	+	-	+	+	+	+
8	8	+	+	+	-	+	+	+	+
9	9	+	+	+	-	+	+	+	+
10	11	+	+	+	-	+	+	+	+
11	5	+	+	+	+	-	+	+	+
12	6	+	+	+	+	-	+	+	+
13	7	+	+	+	+	-	+	+	+
14	7	+	±	+	-	-	+	+	+
15	7	+	±	+	-	-	+	+	+

WB 法及び LI 法における判定: 各試薬の添付文書の基準に従い, 弱陽性コントロールが示すバンドの濃度よりも濃いあるいは同等の場合を (+), 薄い場合を (±) 及びバンドが目視できない場合を (-) とした.

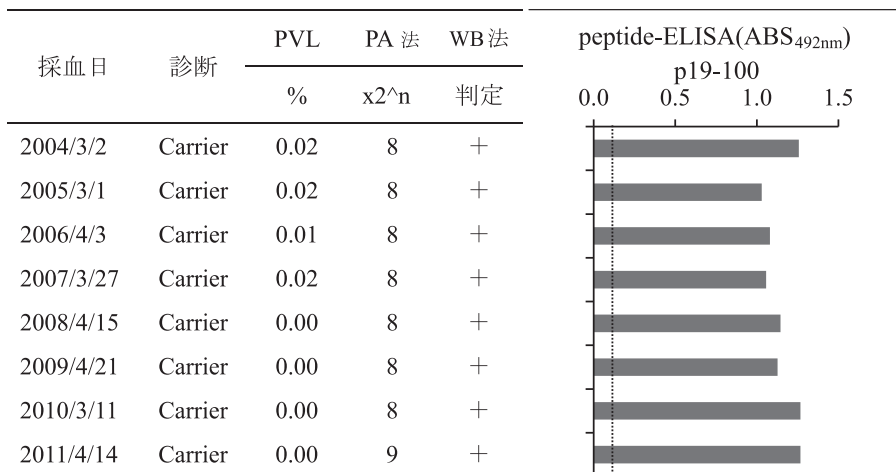
(a)

女性 65 歳



(b)

女性 76 歳



(c)

男性 53 歳

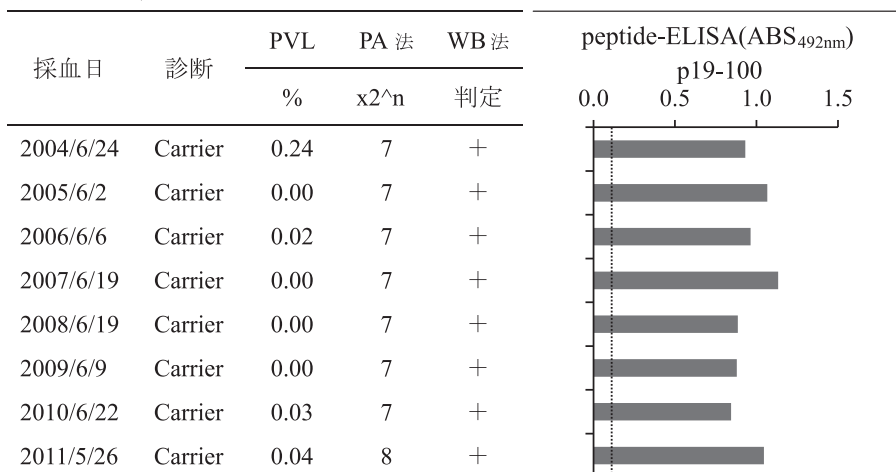


図2 PV が検出限界近傍を示す AC の連続検体における PVL と抗体価の推移

AC (3 例) において、継続的に 5 回以上採取され、PV が検出限界近傍を示す事例の PVL と各検査法による抗 HTLV-1 抗体の抗体価の推移を示した。左のカラムから、対象検体の採血日、診断 (Carrier, 無症候性 HTLV-1 キャリア)、PVL (プロウイルス量, %), PA 法による抗体価 (x2<sup>n</sup>), WB 法による判定 (+, 陽性) を示し、peptide-ELISA (抗原 Gag p19-100) による抗体価については、縦軸の項目に各採血検体、横軸に吸光度 (492nm) を示した。peptide-ELISA 結果内の点線は、陽性判定基準となるカットオフ値 (Cut off value, COV: p19-100, 0.13) を示した。カットオフ値の算出方法と定義は、陰性コントロール (n=96) の抗原に対する吸光度の平均値+3SD の値をカットオフ値として、その吸光度以上を示す事例を陽性と判定することとした。(a) 事例 a: 女性 65 歳, (b) 事例 b: 女性 76 歳, (c) 事例 c: 男性 53 歳

表5 ATL発症者におけるPVL 0.00% (寛解) 群と>20.00% (未治療) 群間でのpeptide-ELISA抗体価の比較

PVL range (%)	n	peptide-ELISA (ABS <sub>492nm</sub> )		
		p19-100	gp46-175	gp46-288
0.00* <sup>1</sup>	11	1.29 ± 0.54	1.02 ± 0.46	0.54 ± 0.46
>20.00* <sup>2</sup>	51	1.39 ± 0.22	0.98 ± 0.50	0.67 ± 0.49
p value		0.293	0.812	0.404

\*<sup>1</sup> PVL=0.00 群は全例治療により完全寛解に導入された11症例

\*<sup>2</sup> PVL>20.00 群はATL診断後未治療51症例

例cは、53歳男性で、7年間での8回中4回でPVが検出されなかったが、PA抗体価 $x2^7$ 以上、WB法陽性、抗Gag抗体陽性であった(図2c)。

#### 4. ATL発症者におけるPVLと抗体価の推移

ATL発症者を対象にPVLが0.00%の11例と>20.00%を示す51例について、peptide-ELISA抗体価としての吸光度(ABS<sub>492nm</sub>)の平均値を比較した(表5)。3領域ともPVL 0.00% 群と>20.00% 群において、有意な差は認められなかった(各々  $p=0.293$ ,  $p=0.812$ ,  $p=0.404$ )。さらに、治療を行ったATL発症者が保有する抗体とPVLの推移について検討を行い、その典型的な3症例を図3に示した。症例aは、急性型ATLを発症した60歳女性で、治療前はPVLが187.23%と著しい高値であったが、非破壊的同種造血幹細胞移植後2年間の経過において、PVLは低下し、検出されなくなった。しかしながら、抗体はPA法で各々 $x2^{10}$ ,  $x2^9$ の力価を保ち、WB法でも陽性は持続し、Env gp46の2領域に対する抗体は低下傾向ながら陽性で、Gag p19-100に対しては高い抗体価が維持されていた(図3a)。症例bは、リンパ腫型ATLの診断から1年後に急性型に転化した53歳女性で、発症時のPVLは8.26%、9カ月後に33.21%、急性転化時には107.52%とPVLは急激な上昇を示したが、PA抗体価は変動なく $x2^{12-13}$ を示し、WB法で陽性、peptide-ELISAの3領域に対しても高い抗体価を持続していた。その後、非破壊的同種造血幹細胞移植によりPVLは0.07%まで低下し完全寛解に至るが、WB法で陽性、PA法で $x2^7$ 、peptide-ELISAの3領域についても吸光度は各々1/3程度まで低下したもののカットオフ値(COV)の5倍以上の抗体反応性を維持していた(図3b)。症例cは58歳男性で、リンパ腫型ATL診断時のPVLは0.15%と低い値を示していたが、PA法で $x2^{12}$ 、WB法で陽性、peptide-ELISA抗体価もCOVの6倍から12倍を示した。その後化学治療によってPVLが検出限界以下となったが、PA抗体価 $x2^{11}$ 、WB法陽性を示し、peptide-ELISAでも治療前の70%以上の力価が持続していた(図3c)。

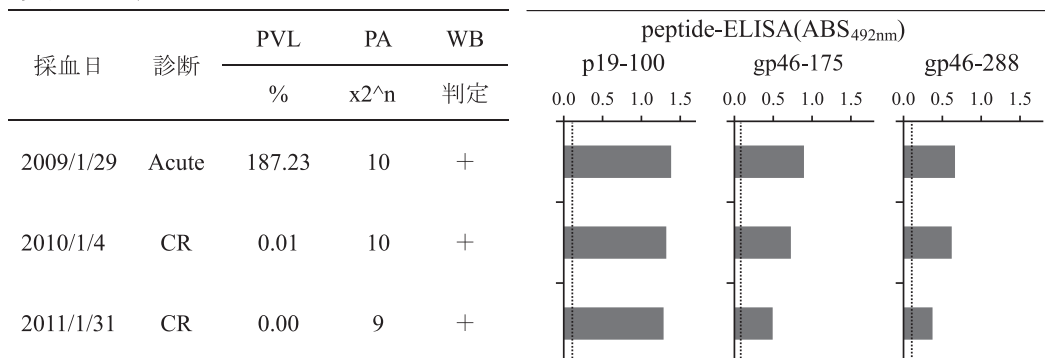
## 考 察

我々は、AC 604例とATL発症者71例について、PA法およびpeptide-ELISAによる抗体価とWB法、LI法での反応性とPVLとの関連について解析した。ACのうちPVL 4.54%以上と高値のグループ(1,218例中25.0%を占める)からATLに進展しやすいという報告<sup>7)</sup>は、本研究におけるPVL $\geq 4.00\%$  群の分布が21.7%である結果と一致しており、ATL発症危険群の基礎集団を形成すると思われる。またPVL $\geq 4.00\%$  群のPA抗体価は、0.00%から0.99%までの3群に対し有意差があり(各々  $p=0.039$ ,  $p<0.00001$ ,  $p<0.00001$ )、PVLの上昇に伴うPA抗体価の上昇が示され(表2)、HTLV-1感染者が保有する特異抗体の抗体価が、PVLと相関を示し、PVの増幅を反映することを示唆している。このことは、献血者AC群におけるWB法での検出抗体の減衰に伴い、PVLが減少すること<sup>15)</sup>と一致し、PVLの変動が抗体産生と同調することを示している。PVL $\geq 4.00\%$  群でのPA抗体価の平均値より算出した $x2^8$ 以上(平均値+標準偏差上限値)の抗体価を示す場合、PVLが4.00%より高値を示す事例が含まれる可能性がある。

今回の検討において、ACの8.1%でPVLが検出限界以下を示し、PVが検出されないHTLV-1感染者の存在が確認された。これらPVが末梢血中に認められないACが産生する抗体の各抗体検出系における反応性は抗原による相違を示すものの、HTLV-1に対する特異的な抗体を保有していた。表4で示した事例No.1は、WB法でGag蛋白質に対し陽性、Env陰性を示し、peptide-ELISAではgp46-288陽性であることからgp46蛋白質のC末端領域に反応する抗体を保有するにもかかわらず、WB法ではその抗体を検出できなかった。また、LI法ではgp46とgp21両方で陽性であることから、WB法とLI法で使用しているEnv抗原の差異が反応性に反映されている。peptide-ELISAによる抗Env抗体の反応性をみると、事例No.1~10はgp46-288のみ、No.11~13はgp46-175のみに対して陽性を示していた。このような個体差を網羅的に検出するためには、ここで示した相補的抗原を組み合わせた使用が有効である。事例No.14と15の抗Env抗体の反応性は、WB法では弱陽性、LI法では陽性を示すが、gp46-175とgp46-288は共に陰性判定で、gp46の全長蛋白質あるいはpeptide-ELISA抗原とは異なる領域に反応しやすい抗体を保有すると考えられた。今回検討した抗体検出系の中で、LI法ではPVLが検出限界以下の49例全てにおいてEnv蛋白質に対する抗体が検出されており、LI法に用いられた固相化Env抗原は、特異抗体の検出に適していることが示唆される。また、WB法でEnv蛋白質に対して陰性及び弱陽性を示した事例9例も、LI法では抗Env

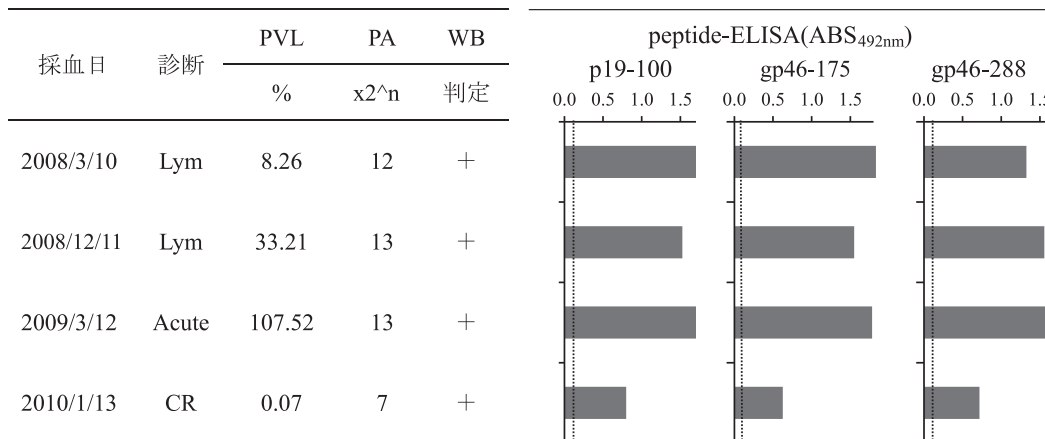
(a)

女性 60歳



(b)

女性 53歳



(c)

男性 58歳

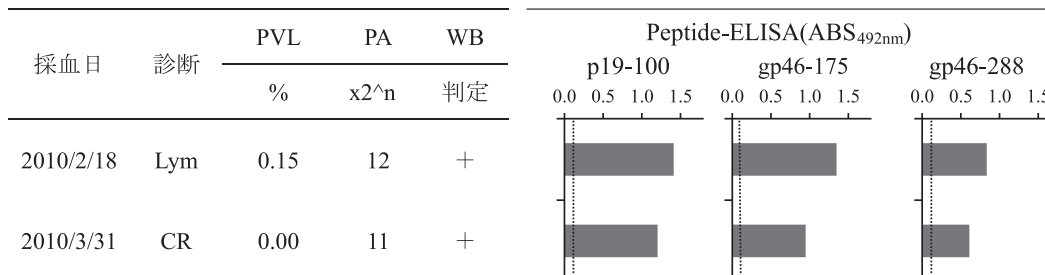


図3 ATL発症者のPVLと抗体価の推移

ATL発症後、治療により完全寛解に至った3症例のPVLと各検査法による抗HTLV-1抗体の抗体価の推移を示した。左のカラムから、対象検体の採血日、診断（Acute、急性型ATL；Lym、リンパ腫型ATL；CR、完全寛解）、PVL（プロウイルス量、%）、PA法による抗体価（x2<sup>n</sup>）、WB法による判定を示し、peptide-ELISAによる抗体価については、縦軸に各採血検体、横軸に吸光度（492nm）を示した。peptide-ELISA結果内の点線は、陽性判定基準となるカットオフ値（Cut off value, COV；p19-100, 0.13；gp46-175, 0.12；gp46-288, 0.14）を示した。カットオフ値の算出方法と定義は、図2に示した。（a）事例a；女性60歳2009年7月非破壊的同種造血幹細胞移植施行によりCR、（b）事例b；女性53歳2009年10月非破壊的同種造血幹細胞移植施行によりCR、（c）事例c；男性58歳2010年3月化学療法によりCR。

抗体が明らかな陽性反応を呈し、LI法は、PVが検出されないHTLV-1感染者を見出すために有用な方法である。さらに、PVL 0.00% 近傍を示すACの最大7年間にわたる観察の結果、全例でHTLV-1の特異的抗体が確認され、末梢血中のPVLが検出限界近傍を呈し無症候であっても、生体内での継続的なHTLV-1構造蛋白質の抗原提示が示された。さらに、献血者でのWB法判定保留事例の37.2%にPVが検出されていること<sup>15)</sup>から、PV検出やLI法の適用は、現在HTLV-1感染確定試験として用いられているWB法に対して補完的に機能し、HTLV-1感染者の確定に寄与すると考えられる。

一方、ATL発症者においては、PVの検出の有無にかかわらず高い抗体価が維持されており、抗体力価の定量は発症予測に有効である可能性と同時に、腫瘍細胞では抗体産生の誘導に影響を及ぼす抗原発現は非常に少ないことが示唆される。ATL発症者の保有する特異抗体に関して、既報<sup>16)17)</sup>のように、親和性や産生量を反映する抗体価がPVLに依存しないことが示され、ATL細胞における遺伝子発現が無い可能性も考えられる。

## 結 語

今回の解析から、抗HTLV-1抗体検査の定量的検査が生体内のPVの存在や増幅を反映する重要な指標となり、ATL発症高危険群抽出に応用できる検査法であることを示した。また、PVを検出できないHTLV-1感染者が存在しており、抗HTLV-1抗体検出系は、感染の判定に有用な方法と考えられる。固相化抗原が異なる各検査法での抗体反応性に相違がみられたことは、HTLV-1感染者が産生する抗体のエピトープに個体差があることを示唆し、これらのエピトープを網羅した抗原種を用いた改良抗体検査系の採用が、献血者への的確で速やかな情報提供と利益還元につながる。

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：本研究は厚生労働科学研究費補助金H23-新興一般-016の助成を受けたものです。

## 文 献

- 1) Uchiyama T, Yodoi J, Sagawa K, et al: Adults T-cell leukemia: clinical and hematologic features of 16 cases. *Blood*, 50: 481—492, 1977.
- 2) Poiesz BJ, Ruscetti FW, Gadzar AF, et al: Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of patients with cutaneous T-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 77: 7415—7419, 1980.

- 3) Yoshida M, Miyoshi I, Hinuma Y, et al: Isolation and characterization of retrovirus from cell lines of human adult T-cell leukemia and its implication in the disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 79: 2031—2035, 1982.
- 4) Satake M, Yamaguchi K, Tadokoro K: Current prevalence of HTLV-1 in Japan as determined by screening of blood donors. *J Med Virol*, 84: 327—335, 2012.
- 5) Yamaguchi K, Watanabe T: Human T lymphotropic virus type-I and adult T-cell leukemia in Japan. *Int J Haematol*, 76: 240—245, 2002.
- 6) Fukushima T, Miyazaki Y, Honda S, et al: Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation provides sustained long-term survival for patients with adult T-cell leukemia/lymphoma. *Leukemia*, 19: 829—834, 2005.
- 7) Iwanaga M, Watanabe T, Utsunomiya A, et al: Human T-cell leukemia virus type I (HTLV-1) proviral load and disease progression in asymptomatic HTLV-1 carriers: a nationwide prospective study in Japan. *Blood*, 116: 1211—1219, 2010.
- 8) Etoh K, Tamiya S, Yamaguchi K, et al: Persistent clonal proliferation of human T-lymphotropic virus type I-infected cells in vivo. *Cancer Res*, 57: 4862—4867, 1997.
- 9) Andersson S, Thorstensson R, Bodoy 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.
- 10) Watanabe M, Ohsugi T, Shoda M, et al: Dual targeting of transformed and untransformed HTLV-1-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) 上平 憲, 中島茂宏, 深堀由起子, 他: ルーチン検査における抗HTLV-1抗体の測定法に関する問題点と再評価. *臨床病理*, 38: 783—788, 1990.
- 12) Miyakoshi H, Sugimoto M, Igarashi H, et al: Improvement of simultaneous detection of antibodies to Gag and envelope antigens of human T-lymphotropic virus type I by Western Blot assay. *J Clin Microbiol*, 30: 2555—2559, 1992.
- 13) Sabino EC, Zrein M, Taborda CP, et al: Evaluation of the INNO-LIA HTLV I/II assay for confirmation of human T-cell leukemia virus-reactive sera in blood bank donations. *J Clin Microbiol*, 37: 1324—1328, 1999.

- 14) 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.
- 15) 相良康子, 後藤信代, 井上由紀子, 他: 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*, 62: 18—24, 2014.
- 16) Kinoshita T, Shimoyama M, Tobinai K, et al: Detection of mRNA for the tax1/rex1 gene of human T-cell leukemia virus type I in fresh peripheral blood mononuclear cells of adult T-cell leukemia patients and viral carriers by using the polymerase chain reaction. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 86: 5620—5624, 1989.
- 17) Ohshima K, Kikuchi M, Masuda Y, et al: Defective provirus form of human T-cell leukemia virus type I in adult T-cell leukemia/lymphoma: clinicopathological features. *Cancer Res*, 51: 4639—4642, 1991.

## ANALYSIS OF THE ANTIBODIES FOR HTLV-1 STRUCTURAL PROTEINS AND PROVIRAL LOAD IN PERIPHERAL BLOOD FROM HTLV-1-INFECTED INDIVIDUALS

Yukiko Inoue<sup>1</sup>, Maiko Morita<sup>1</sup>, Nobuyo Goto<sup>1</sup>, Yasuko Sagara<sup>1</sup>, Kazuo Irita<sup>1</sup>, Tadanori Yamochi<sup>2</sup>, Toshiki Watanabe<sup>2</sup>, Masako Iwanaga<sup>4</sup>, Isao Hamaguchi<sup>3</sup> and Hiroyuki Kiyokawa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Japanese Red Cross Kyushu Block Blood Center

<sup>2</sup>Laboratory of Tumor Cell Biology, Department of Medical Genome Sciences, Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo

<sup>3</sup>Department of Safety Research on Blood and Biological Products, National Institute of Infectious Diseases

<sup>4</sup>Health-Care Center, The Jikei University of School of Medicine

### Abstract:

HTLV-1 antibody testing has been widely used to detect HTLV-1 infection, and high proviral load (PVL) has been reported as one of the risk factors for development of ATL. In this study, we measured the titer of antibodies for HTLV-1 in infected individual using 675 samples from participants enrolled in the Joint Study on Predisposing Factors of ATL Development (JSPFAD). The anti-HTLV-1 antibody titer in particle agglutination assay (PA) rose along with PVL, indicating a correlation between antibody titer and PVL. The titer may represent an easy-to-measure biomarker for the risk of ATL development. In 49 of 604 asymptomatic HTLV-1 carriers (8.1%), PV was not observed; however, antibodies were detected. Furthermore, sequential samples for seven years from identical participants, whose PVLs were around the detectable threshold throughout the donation period, held positive on antibody tests. While all the examined ATL patients in complete remission were negative for PV detection, they continued to show clearly positive for anti-HTLV-1 antibodies. These observations suggest the existence of HTLV-1-infected individuals without appearance of PV in peripheral blood. Antibody testing, in addition to PV detection, is therefore essential for diagnosis of HTLV-1 infection.

### Keywords:

HTLV-1, proviral load, anti-HTLV-1 antibody, antibody titer, antibody test