

HTLV-1感染防止を目指した 抗HTLV-1ヒト免疫グロブリン 製剤 (HTLV-IG) の開発

水上 拓郎

国立感染症研究所
血液・安全性研究部
第4室 室長

成人T細胞白血病(ATL)

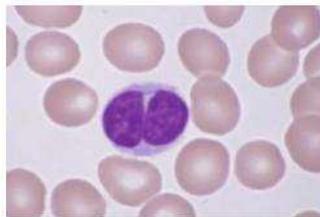
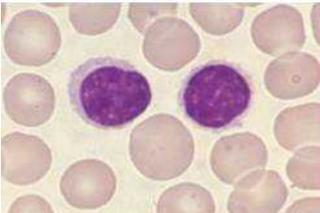
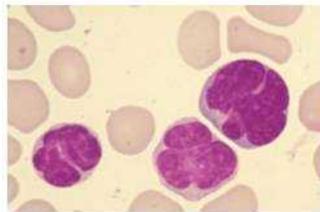
定義

HTLV-1感染Tリンパ球が腫瘍化し、クローン性に増殖した事によって発症する疾患

臨床疫学的特徴

ATL細胞

- 疫学：西南日本に多い
- 発症：家族内発症
平均発症年齢60歳
- 感染：母乳感染・性感染・輸血
- 予後は極めて不良



リンパ節腫大

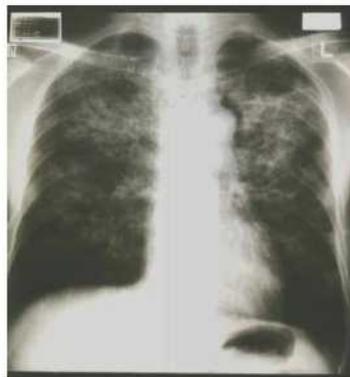


感染症

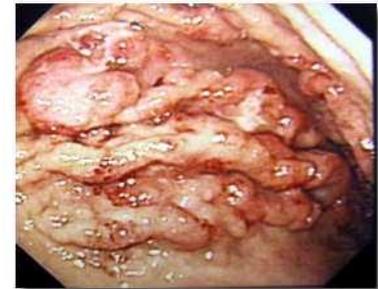
皮膚の発疹



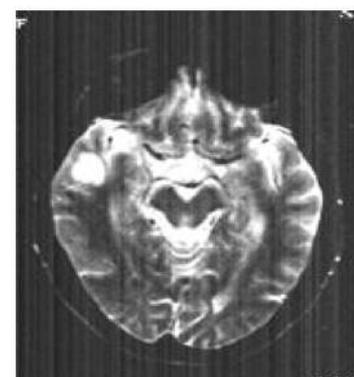
骨融解



胃への浸潤



脳への浸潤



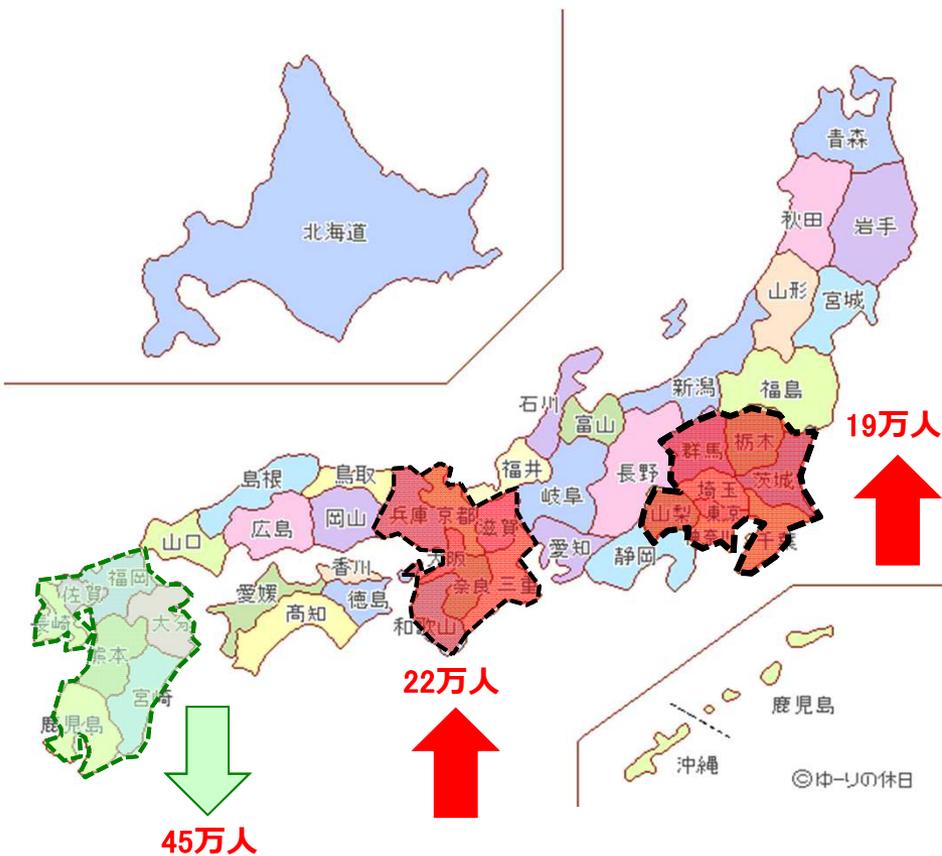
日本におけるHTLV-1感染者数とATL患者数の推移

ATL患者数

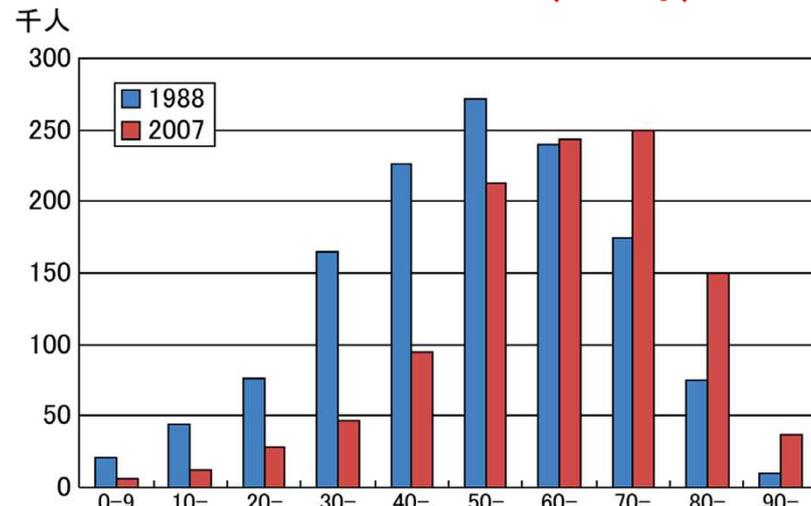
地域	平成2年	平成20年
全国	700名	1000名以上↑

HTLV-1感染者数

地域	平成2年	平成20年
全国	120万人	108万人
九州	61万人	45万人
近畿	20万人	22万人↑
関東	13万人	19万人↑



感染者数(キャリア数)の推移
 130万5千人 (1988年) → 107万9千人 (2007年)



厚生労働科学研究費
 「HTLV-1実態調査班」
 H20年度報告より

HTLV-1総合対策 [2011年度]

発症予防

キャリア全員がATLにはならない（5%前後が発症）なので、ATL発症高危険群を同定し、**発症介入**を行う（HTLV-1総合対策2011）

治療

ATL治療法の開発（IFN/AZT治療等）、同種造血幹細胞治療
新規治療法（CCR4抗体）、ワクチン



感染防止

輸血感染

献血者スクリーニング（抗体検査）の導入により完全阻止

性感染

水平感染の可能性が高いが、詳細は不明（避妊具）

母子感染の防止

母乳から人工乳へ

全国一律妊婦抗体検査（2010年11月より）

断乳しても3%程度 感染する！



針刺し事故等緊急事態に
対する**治療オプション**がない



告知された方に短期・長期母乳・凍結母乳など
選択はあっても**治療オプション**がない現状

新しい革新的感染予防法の開発が必要！

抗HTLV-1ヒト免疫グロブリン によるHTLV-1感染予防法の開発-1 (*in vitro*)



日本赤十字社
Japanese Red Cross Society

抗体陽性血漿より抗HTLV-1ヒト免疫グロブリンの製造

高力価HTLV-IG

HTLV-IG

佐竹正博先生 (日本赤十字中央血液研究所)
田所憲治先生 (日本赤十字中央血液研究所)

30種類の
HTLV-1陽性
献血血液



高力価HTLV-IGを用いたIn vitro系を用いた感染防止実験

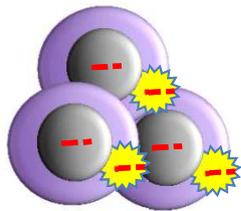
HTLV-1
感染細胞

HTLV-1
非感染細胞

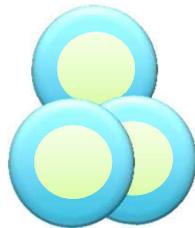
高力価IG
通常IG

FACS解析

核酸増幅試験



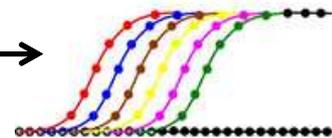
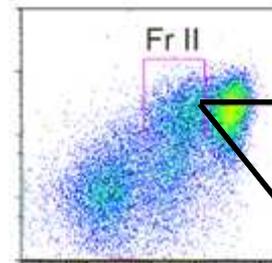
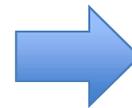
+



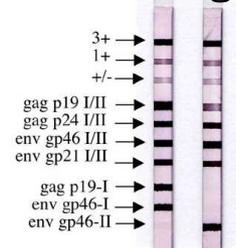
±



60日



Western
Blotting



MT-2

+

Jurkat細胞



プロウイルス量

SLB-1

+

Jurkat細胞



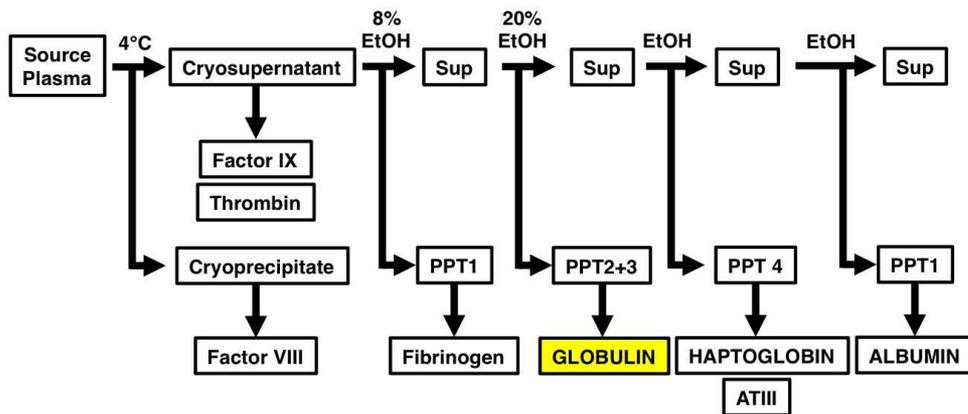
シンシチウム形成

結 果

1. HTLV-1感染細胞株を用いて*in vitro*のHTLV-1感染系を構築した。
2. 日赤献血由来、HTLV-1抗体陽性血清でスクリーニングを行った。
抗体陽性**献血者のPVL%が高く、env, gagの力価が高い抗体が感染抑制効果が高かった**。中にはPVL%が低い感染抑制が認められる検体もあった。Pep180力価との相関は認められなかった。
3. シンシチウム形成を抑制する系を立ち上げた。30種類のHTLV-1陽性血漿を用いてスクリーニングを行った結果、**PVL%が高く、env, gagの力価が高い抗体がシンシチウム形成抑制効果が高かった**。中には、献血者のPVL%が低くても、シンシチウム形成抑制能が強い検体が認められた。Pep180力価との相関は認められなかった。
4. 高力価グロブリン製剤作製の候補検体は、無症候性キャリアのうち、**PVL%が高い検体を候補とするのがよい**事が明らかとなった。

HTLV-1陽性血漿からのグロブリンの精製

COHN-OBCLEY COLD ETHANOL FRACTIONATION



副作用の原因となる重合物の除去

[25%の場合]

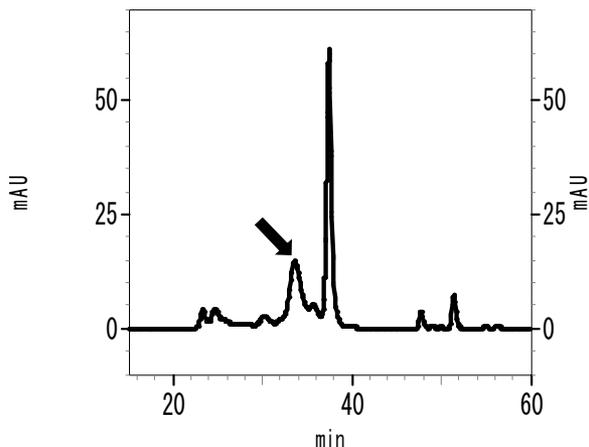
Plasma
 ↓
 (8%EtOH, pH7.47 (22.5°C))
 ↓
 SI
 ↓
 (25%EtOH, pH 6.73(22.4°C))
 ↓
 PII+III
 ↓
 (20%EtOH, pH6.66(20.5°C))
 ↓
 PII+III-W (17%EtOH, pH5.48(22.0°C))
 ↓
 SIII

精製効率 37.4%
 グロブリン含量 97.3%

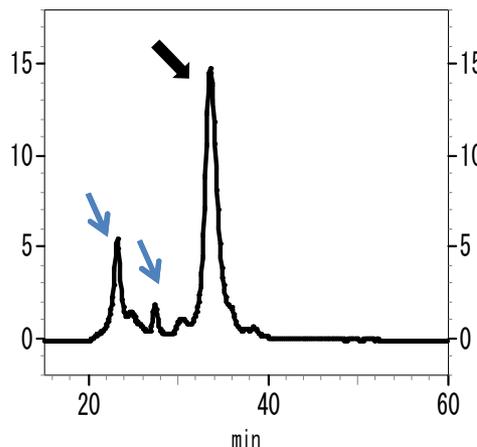


カラム : G3000SWXL 2本
 流速 : 0.5ml/min
 Buffer: 0.05% NaN₃, 0.1M NaSO₄,
 1/7.5M Phosphate buffer (pH7.0)

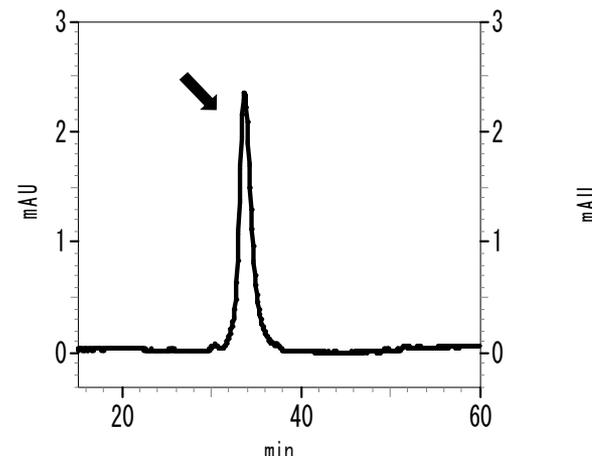
血漿



P II + III



SIIIグロブリン分画

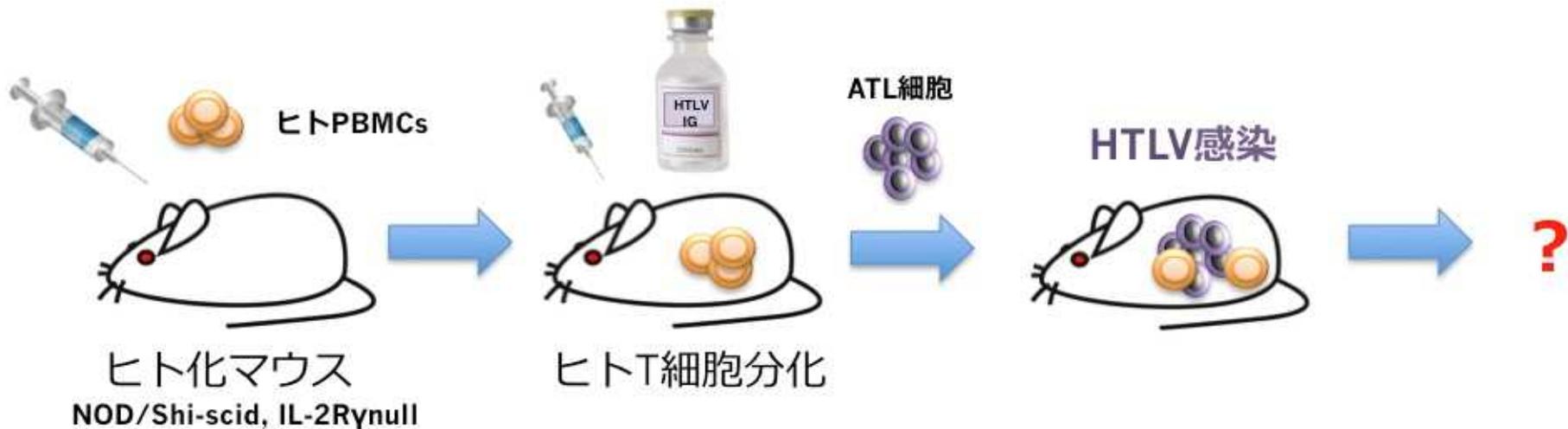


実験レベルとしては良質の免疫グロブリンの製造に成功した

抗HTLV-1ヒト免疫グロブリン によるHTLV-1感染予防法の開発-2 (*in vivo*)

ヒト化マウスを用いた高力価HTLV-IGの有効性の検討

HTLV-IG 感染前投与

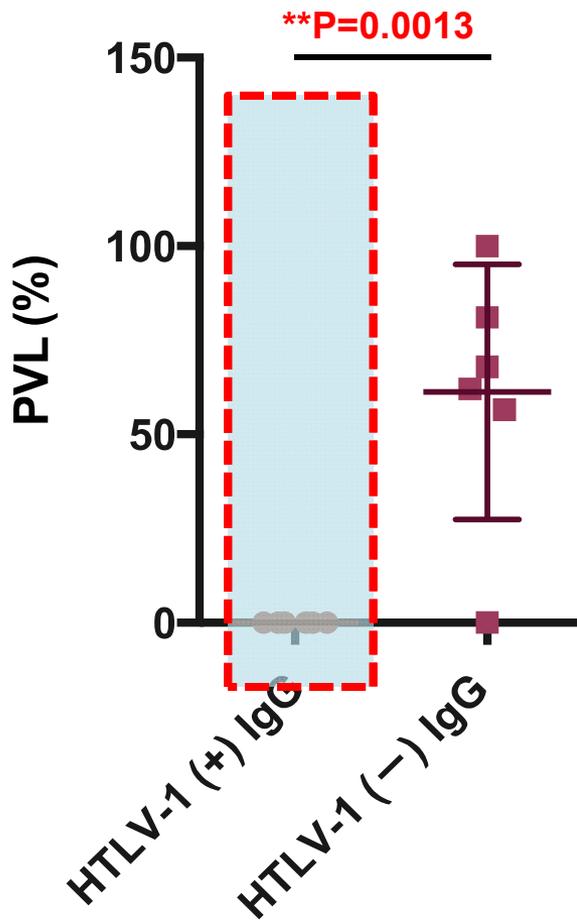


HTLV-IG 感染後投与

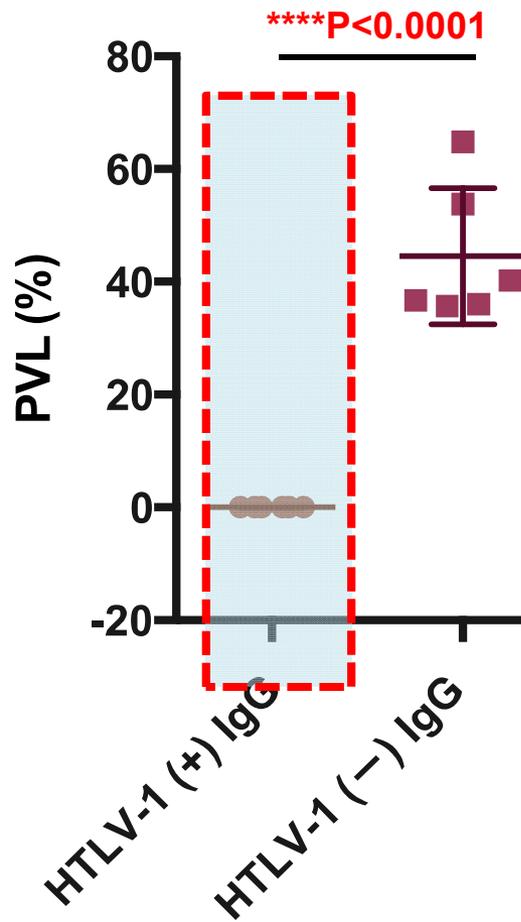


In vivo HTLV-1感染モデルにおける HTLV-IG 有効性の検討 (Day 11)

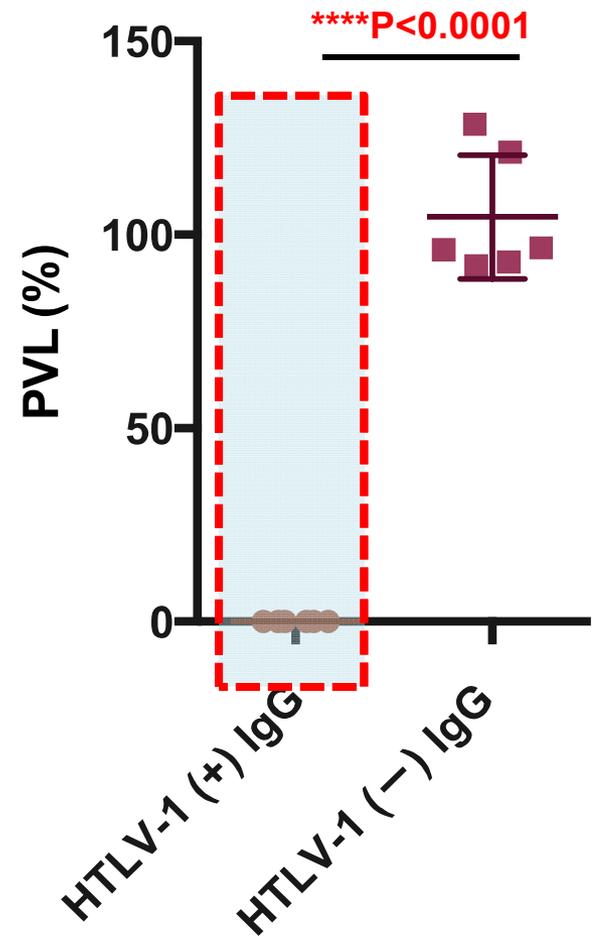
末梢血



脾臓

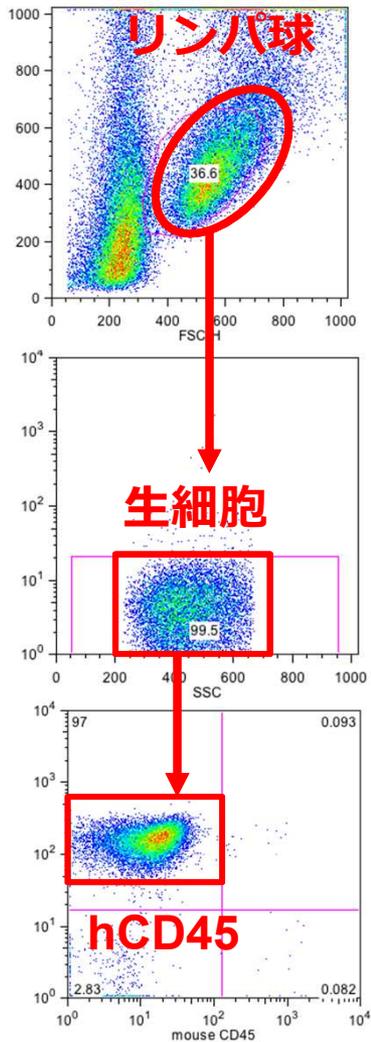


腹腔内



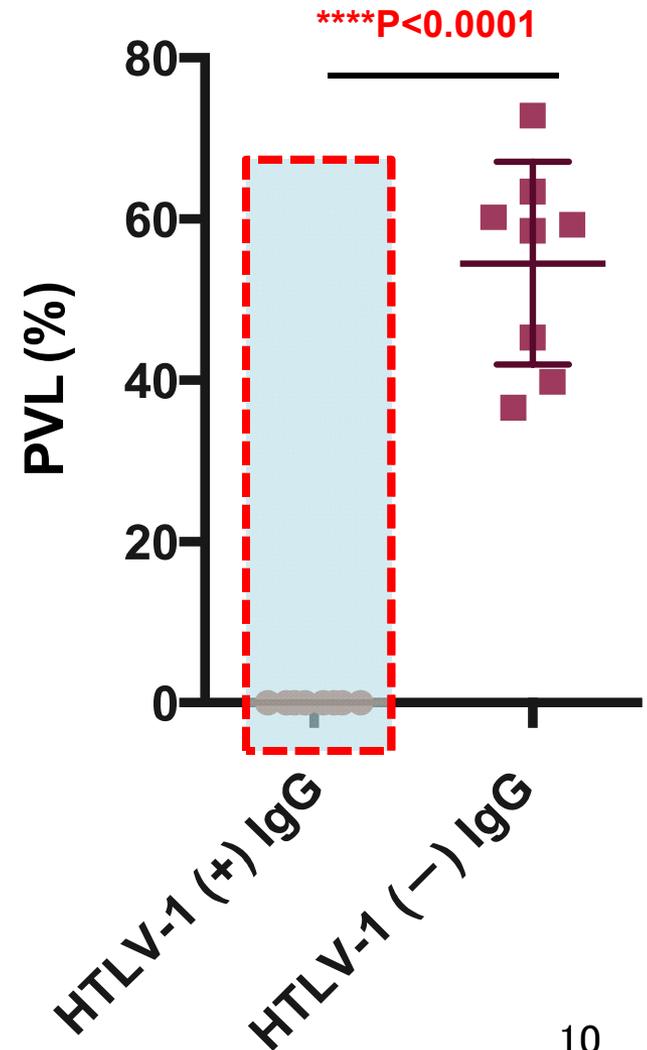
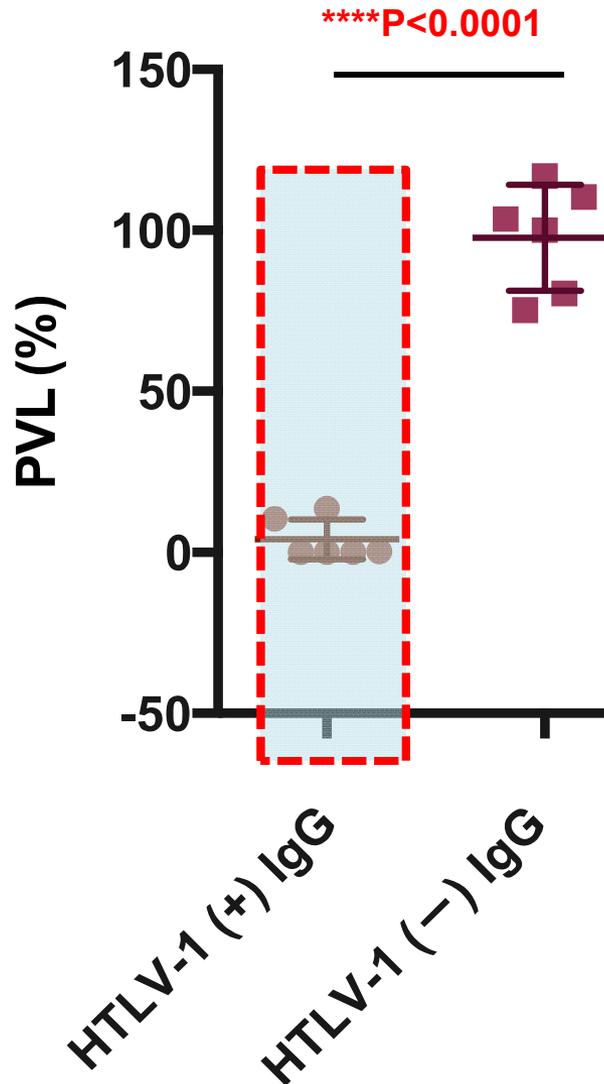
In vivo HTLV-1感染モデルにおける HTLV-IG 有効性の検討 (Day 11)

Human CD45
細胞分取



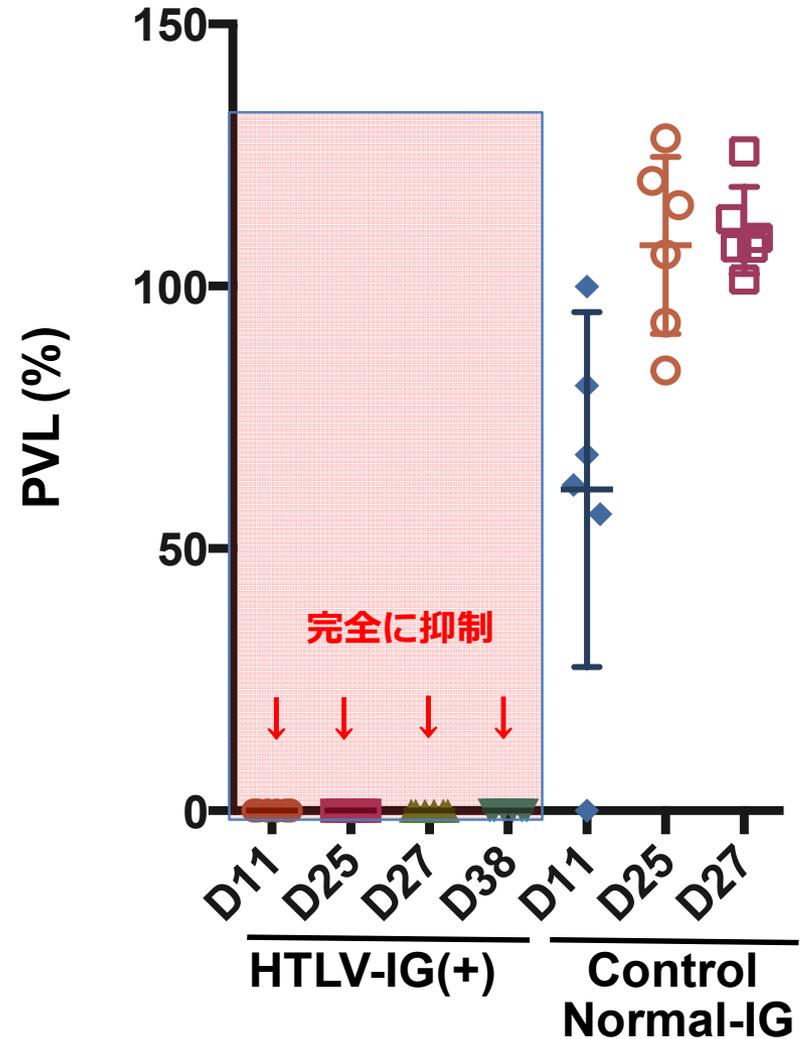
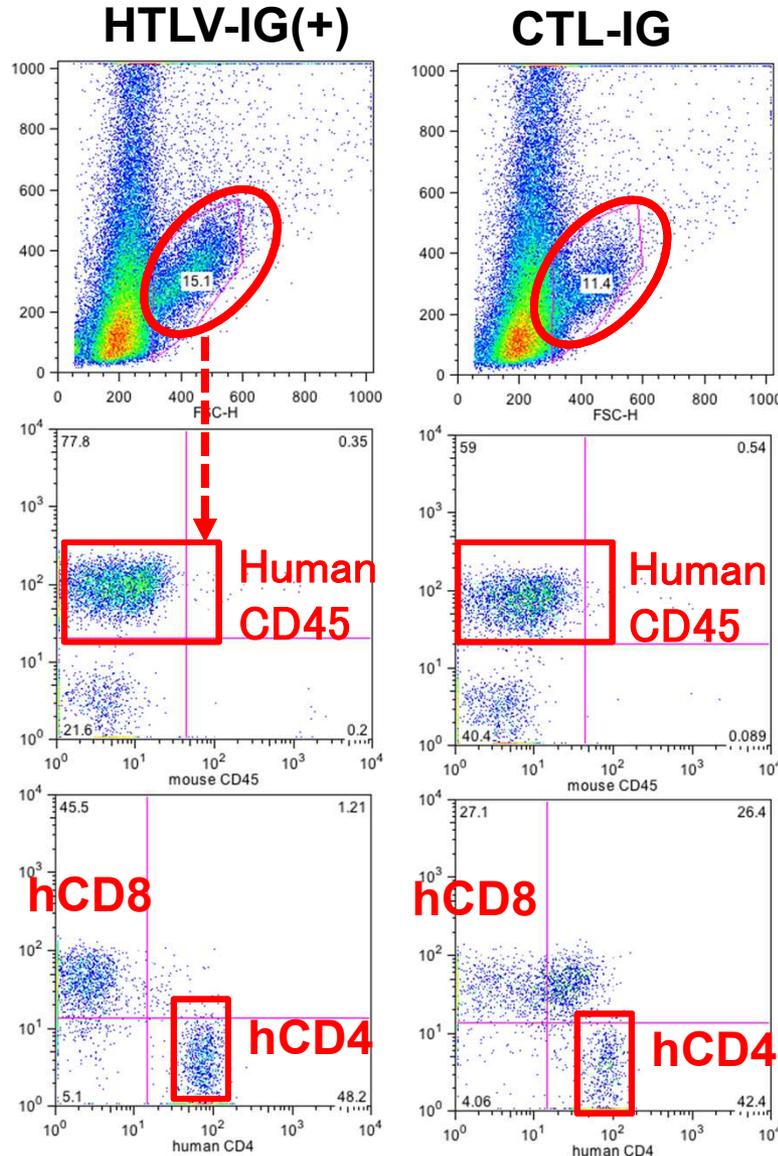
腹腔内ヒトCD45細胞

脾臓ヒトCD45細胞



In vivo HTLV-1感染モデルにおける HTLV-1 IgGの**感染前**投与の有効性の検討 (Day 38)

末梢血



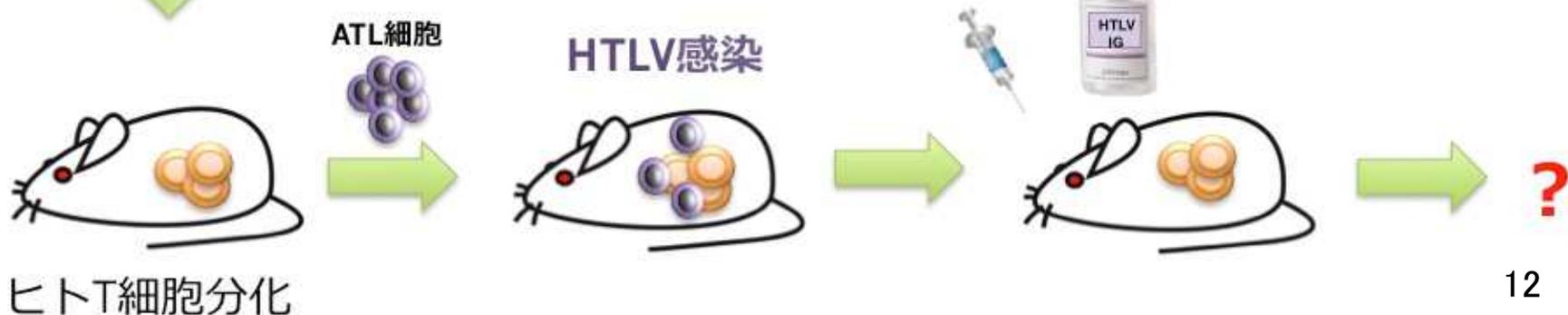
抗HTLV-1ヒト免疫グロブリン によるHTLV-1感染予防法の開発-2 (*in vivo*)

ヒト化マウスを用いた高力価HTLV-IGの有効性の検討

HTLV-IG 感染前投与



HTLV-IG 感染後投与



抗HTLV-1ヒト免疫グロブリン によるHTLV-1感染予防法の開発-2 (*in vivo*)

ヒト化マウスを用いた高力価HTLV-IGの有効性の検討

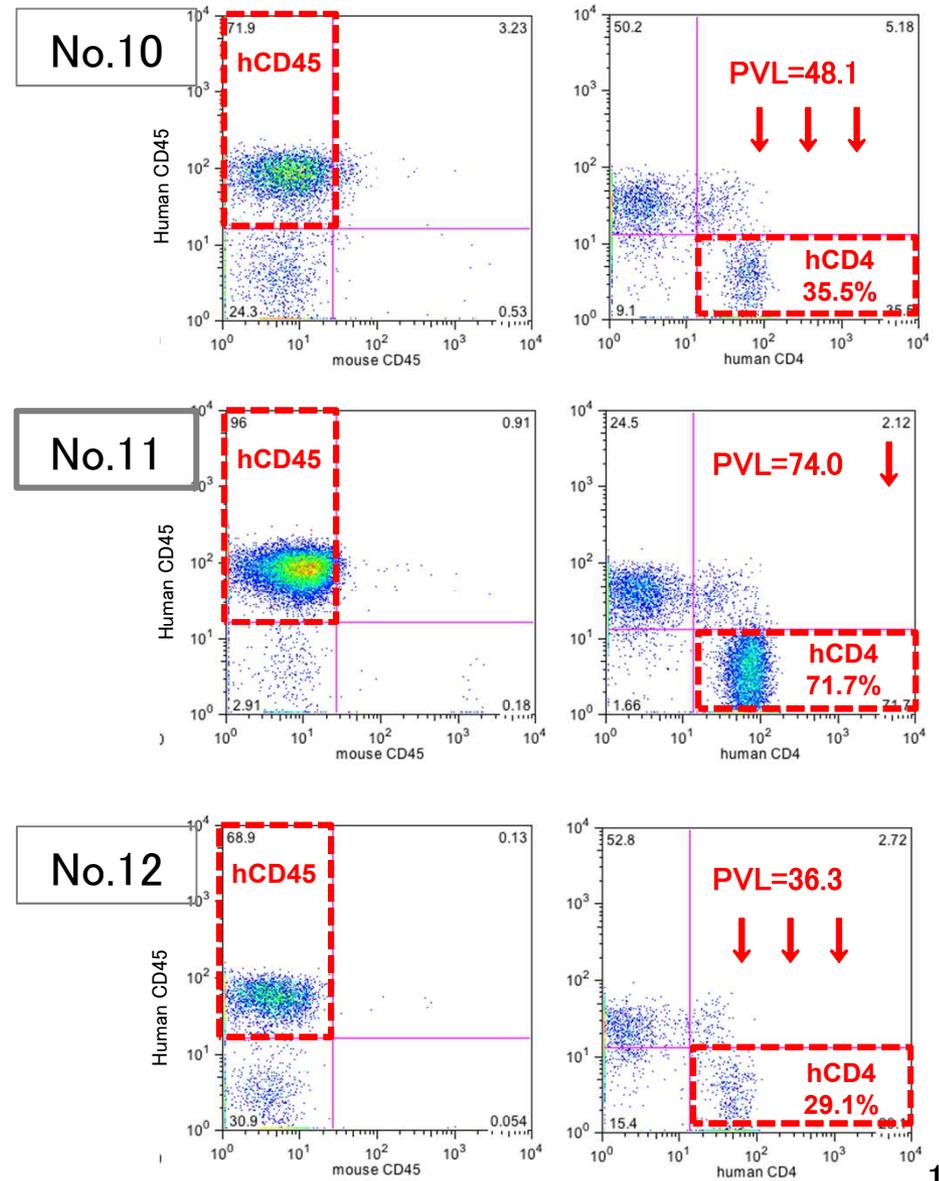
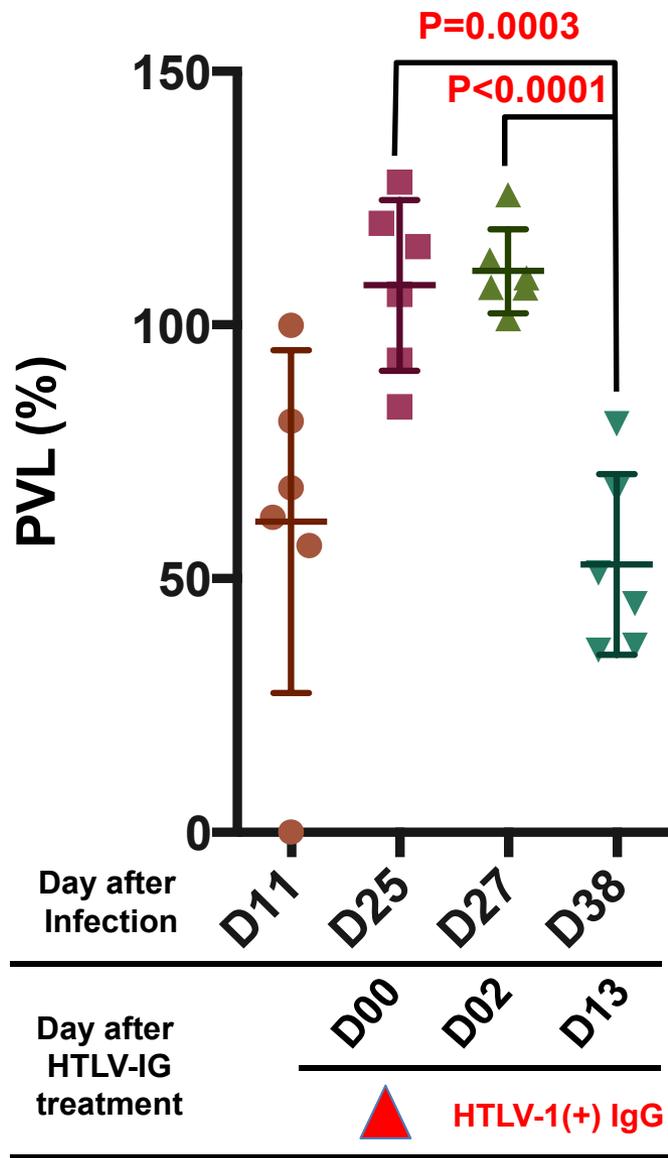
HTLV-IG 感染前投与



HTLV-IG 感染後投与



In vivo HTLV-1感染モデルにおける HTLV-IG 感染後投与の有効性の検討 (Day 38)



現在までの成果

1. **HTLV-1の*in vitro* スクリーニング系を構築し、感染抑制スクリーニング試験の確立に成功した。**
2. 日本赤十字社との共同研究によりHTLV-1陽性献血血液のスクリーニングを行い**PVL 4以上の血漿がHTLV-1感染を抑制する事**を明らかにした。
3. HTLV-1陽性献血血液より製剤レベルの**抗HTLV-1ヒト免疫グロブリン (HTLV-IG)の製剤化**に成功した。
4. HTLV-1の**ヒト化マウス**を用いた*in vivo* 感染モデルを構築し、**HTLV-IGが感染を100%抑える事**を明らかにした。
5. また、**感染後20-30日ではウイルスを50%程度減少させる事**が明らかとなった。
6. **新薬候補**として期待できる！

臨床応用を目指した抗HTLV-1ヒト免疫グロブリンによるHTLV-1感染予防法の開発と安全性に関する研究

1. **[水上拓郎代表]** ウイルス安全性の高い製剤を作成するための技術開発及び安全性を確認する試験法(*in vitro*, *in vivo*, 核酸検査(NGS等を含む))の開発。→HTLV-1陽性原料血漿基準
2. **[大隈和分担]** ヒト化マウスを用いたHTLV-1感染モデルの改良と有効性・安全性の検討
3. **[佐竹正博分担]** 日本赤十字社との共同研究により実際のHTLV-1陽性血液の性状・パターン解析→HTLV-1陽性原料血漿基準
4. **[明里宏文分担]** 霊長類を用いた有効性・安全性の確認、また母子感染予防を含めた感染防御能及び安全性を明らかにする。
5. **[内丸薫分担]** HTLI-IG製剤の情報提供を医師やキャリアの方へ行い、製剤ニーズの明確化、リスクベネフィットの検討、キャリアの方へのアンケート等を行い、より求められる製剤をつくるネットワーク基盤を構築。

臨床応用へ向けた課題 1

1. ウイルス安全性の高い製剤を作成するための技術開発及び安全性を確認する最先端の試験法(*in vitro*, *in vivo*, 核酸検査)の開発。

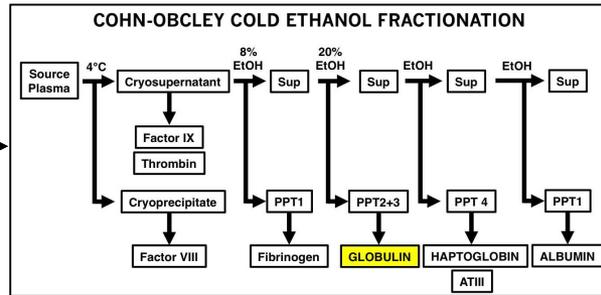
PVL 4 以上

免疫グロブリン精製

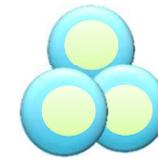
in vitro
長期安全性

in vivo
長期安全性

不活化工程



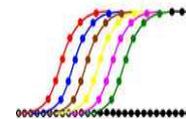
高感度
NAT検査



HTLV-1
非感染細胞



ヒト化
マウス



大量の感染細胞
のスパイク

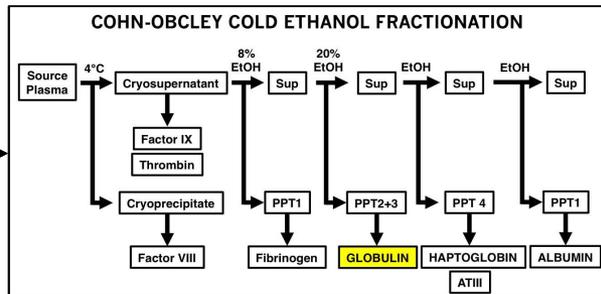
PVL 100 以上

免疫グロブリン精製

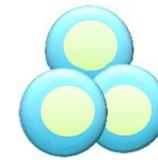
in vitro
長期安全性

in vivo
長期安全性

不活化工程



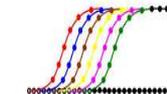
高感度
NAT検査



HTLV-1
非感染細胞



ヒト化
マウス

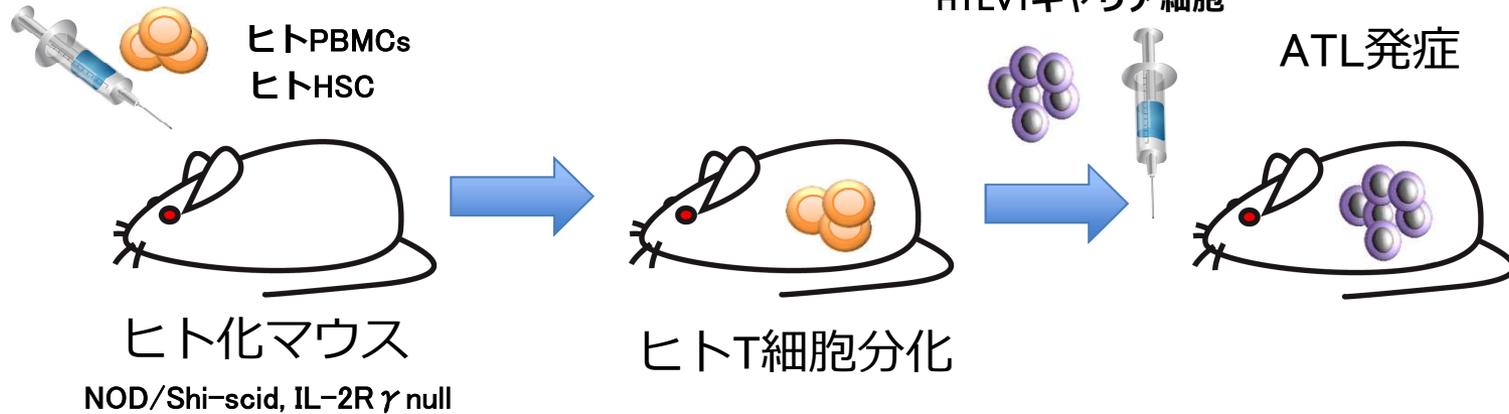


製造過程におけるウイルスクリアランスを指標に安全性マージンを設定し、**HTLV-1陽性献血血液の原料基準を策定**する

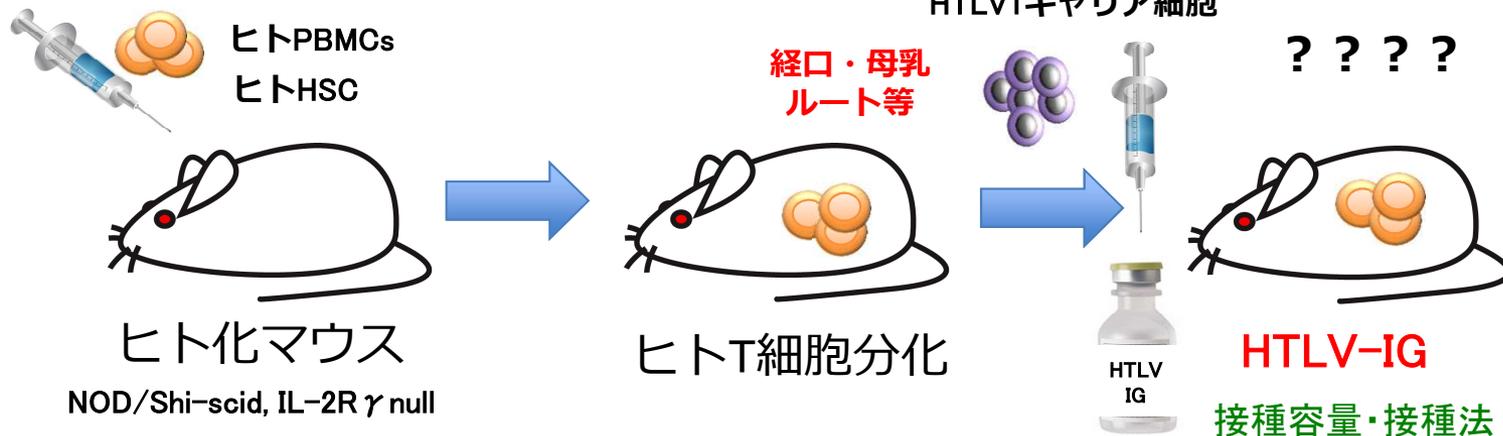
ヒト化マウスを用いたHTLV-1感染モデルの改良とIGの有効性・安全性の検討

よりヒトに近いモデルの構築と感染モデルの構築

既存のHTLV-1感染モデル



新規HTLV-1感染予防モデルの開発



臨床応用へ向けた課題 2

日本赤十字社との共同研究により実際のHTLV-1陽性血液のパターン解析・性状解析と原料血漿基準の検討

実際の抗体陽性者のPVL等を鑑みて、**HTLV-1陽性献血血液の原料基準を策定**する

臨床応用へ向けた課題 3

霊長類を用いた有効性・安全性の確認、また母子感染予防を含めた感染防御能及び安全性の検討

臨床応用へ向けた課題 4

HTLI-IG製剤の情報提供を治療医師やキャリアの方へ行い、製剤ニーズの明確化、リスクベネフィットの検討、医師やキャリアの方へのアンケート等を行い、より求められる製剤をつくるネットワーク基盤を構築。

本研究の意義と期待される成果・厚生行政への貢献

感染予防法の確立

HTLV1感染について、**HTLV-IGの感染阻止に関する有効性**を示す

ヒト臨床へのTRS

ヒト化マウス及び**霊長類モデル**を用いる事で、ヒト生体内で有効性・安全を確認でき、**ヒトへの外挿**が可能となる

新薬開発/国際貢献

HTLV-1抗体陽性血漿は**日本で入手可能なため**、**高品質のHTLV-IGは日本発で開発・製造可能**。世界的には数千万人のキャリアがあり、**国際貢献・展開**も可能。

厚生行政

HTLVワクチン（AMED研究費 代表 長谷川秀樹）が成功すれば、**HTLV-IG + Vaccineとの組み合わせ**でHBVの母子感染予防のような感染予防策が実施可能となり、感染制御が可能となる。

新薬開発

新たな有効抗体の検査・ヒト化抗体開発・修飾抗体のキャリア

研究班

代表	水上 拓郎	国立感染症研究所	血液・安全性研究部	第4室室長
分担	浜口 功	国立感染症研究所	血液・安全性研究部	部長
	大隈 和	国立感染症研究所	血液・安全性研究部	第1室室長
	松岡 佐保子	国立感染症研究所	血液・安全性研究部	第2室室長
	佐竹 正博	日本赤十字社	中央血液研究所	
	明里 宏文	京都大学霊長類研究所	所長	
	内丸 薫	東京大学医科学研究所	准教授	
協力	野島 清子	国立感染症研究所	血液・安全性研究部	研究員
	松本 千恵子	日本赤十字中央血液研究所		
	蕎麦田理英子	日本赤十字中央血液研究所		