

## 資料5-2

### XMRVに関する文献報告

血液事業部会運営委員会委員 岡田 義昭

文献番号	文献名	報告国	要約
1	Furuta R, Miyazawa T, Sugiyama T, et al., Retrovirology. 2011, Mar 17;8:20  No association of xenotropic murine leukemia virus-related virus with prostate cancer or chronic fatigue syndrome in Japan	日本	日本の前立腺癌患者67人、慢性疲労症候群患者100人、健常人500人の血液を用いてXMRVの感染リスクを評価した。XMRVの gag の CA タンパクに対する抗体陽性者がいたが、XMRV 由来の他のウイルス抗原に対する抗体陽性者はいなかった。CA 抗体陽性の前立腺癌患者の末梢単核球から XMRV の遺伝子が検出されたが、再現性が乏しく、また培養法を用いても XMRV を分離することはできなかった。一方、慢性疲労症候群患者の血漿及び末梢単核球から XMRV の遺伝子を核酸増幅法で検索したが全て陰性であった。これらの結果は、日本の前立腺癌や慢性疲労症候群の発症と XMRV 感染との関連がないことを示唆している。
2	Shin H, Bateman L, Schlaberg R, et al., J Virol. 2011, May 4. [Epub ahead of print]  No evidence of murine-like gammaretroviruses in CFS patients previously identified as XMRV-infected	米国	同じ地域に住む100例の慢性疲労症候群患者と200例の健常人の血液から、1) XMRV 及び XMRV 類似ウイルスの遺伝子、2) これらのウイルスに対する抗体、3) 高感受性細胞を使用したウイルス分離、をプラインドで実施したが、全て陰性であった。また、過去2年間繰り返して陽性とされた14例のCFS患者を同様に検査したが1例も XMRV 及び XMRV 類似のウイルス遺伝子、抗体は検出できなかった。さらに Taq polymerase 中に少量のマウスDNAがコンタミしていることを発見し、これによって NAT の 5% が陽性となった。
3	Knox K, Carrigan D, Simmons G, et al., Science. 2011, Jun 2 [Epub ahead of print]  No evidence of murine-like gammaretroviruses in CFS patients previously identified as XMRV-infected	米国	ネバダ州の1つの医療機関から提供された過去に XMRV 陽性と判断された43名を含む慢性疲労症候群患者61名の血液を核酸増幅法、血清学的検査、感染性ウイルスの検出、等を用いて再評価したところ、XMRV や他のマウス白血病ウイルス (MLV) は全く検出されなかつた。以前 science に掲載された「慢性疲労症候群から高率に XMRV が検出された」という報告に用いられた多くの検体を提供した同一の医療機関からの検体であることから、診断や患者の集団の差からこれらの結果の不一致を説明できない。原因として、核酸増幅法に用いる酵素に添加されているマウス単クローニング抗体や実験室で用いられているマウス単クローニング抗体から MLV の遺伝子が検出されること、細胞で継代した XMRV (VP62DU145) は塩基配列に複数の変異が認められたが検体から検出された複数の XMRV の塩基配列は VP62 や 22RV1 由来のものと一致したこと、等から実験室内での検体へこれらが混入したためだと思われる。さらに XMRV や異種指向性 MLV は補体によって不活化されることから、実際には人では感染が成立できないことも示唆された。
4	Paprotka T, Delviks-Frankenberry K, et al., Science. 2011, Jun 2. [Epub ahead of print]  Recombinant origin of the retrovirus XMRV	米国	XMRV を産生するヒト前立腺癌株の CWR22Rv1 と CWR-R1 は CWR22 株由来である。CWR22 はヌードマウスで継代された細胞株であり、継代の初期の細胞株からは XMRV は検出されなかつた。一方、継代に用いたマウスから PreXMRV-1 と PreXMRV-2 の 2 つのプロウイルスが検出され、前半と後半でそれぞれ XMRV と 99.92% のホモロジーがあり、2 つのプロウイルスが組み換えを起こし、XMRV になったと考えられる。この組み換えが別々に生じる可能性は低く、ヒトの疾患と関連した XMRV はヒトサンプルへの混入のためであることを示している。
5	Alberts B, Science. 2011, Jun 2 [Epub ahead of print]  Editorial expression of concern	米国	文献3と4は Lombardiらが science に発表した「慢性疲労症候群患者の 67% から XMRV が検出された」という 2009 年の論文が、実験室内や解析に用いた試薬へのウイルスのコンタミだつたことを強く支持している。そのため Lombardi らの論文の正当性に疑惑があるので彼らの論文にこれらの懸念があることを添付した。XMRV と慢性疲労症候群との因果関係の有無について NIH の後援によって研究が行われており、science 誌としては結果を待っている。
6	Simmons G, Glynn S A, Komaroff A L, et al., Science 22 Sep. 2011  Failure to Confirm XMRV/MLVs in the Blood of Patients with Chronic Fatigue Syndrome: A Multi-Laboratory Study	米国	慢性疲労症候群 (CFS) とマウスレトロウイルスとの関係が論争されている。そこで、これまで XMRV 陽性とされた 15 検体 (内 CFS 患者由来 14 検体) と 15 の陰性検体を集め、9 施設でプラインド形式で NAT、ウイルス培養、抗体の 3 つの方法で XMRV を検出した。NAT は 7 つの施設で 血漿、PBMC、全血を用いて実施され、6 施設では全て陰性であったが、1 施設のみが過去に陽性と判断された 1 検体が 2 回の試験で 1 回陽性となつた。しかし、その施設では陰性コントロールが 2 検体陽性となつた。また、抗体検出では、組み換え蛋白、又はウイルスから精製したタンパクを抗原に用いた 2 施設では全ての検体から抗体は検出されなかつた。一方、SFFV ウィルスの抗原を発現している細胞を用いてフリーサイトメーターで XMRV の抗体を検出した 2 施設では陰性コントロールで 15 検体中 8 例及び 6 例が抗体陽性、過去に陽性とされた 15 検体では 5 例と 10 例が抗体陽性と判断された。この 2 施設では、再現性に一致が見られなく、陰性コントロールと陽性検体とに有意の差が認められなかつた。以上の結果は、現在の試験法では血液から XMRV / MLV は再現的に検出されないこと、及び、血液のスクリーニングを実施する正当性がないことを示している。

文献番号	文献名	報告国	要約
7	Silverman R H, Das Gupta J, Lombardi V C, et al., Science 2011, Sep. 22 Partial Retraction to "Detection of an Infectious Retrovirus, XMRV, in Blood Cells of Patients with Chronic Fatigue Syndrome"	米国	Science 326,585(2009)に報告した慢性疲労症候群患者(CFS)の末梢血単核球DNAからのXMRV遺伝子検出に關し、XMRVのエンベロープ遺伝子、XMRVが挿入されていたプラスミドのネオマイシン遺伝子、同プラスミドにあるCMVのプロモーターと挿入されているXMRV遺伝子との結合部分、計3箇所をそれぞれ増幅するプライマーを用いてPCRを再度実施した。15例のCFS患者のうち6例からenvが検出された。しかし、陽性となつた検体は同時にプラスミド由來の2つの遺伝子も陽性であった。塩基配列の解析からXMRVを組み込まれたVP62(プラスミドの名前)由来と考えられた。以上から、以前報告した論文のデーターから該当する部分を撤回する。
8	Tang S, Zhao J, Haleyur, et al., PLoS One. 2011, 6(11):e27391 Absence of Detectable XMRV and Other MLV-Related Viruses in healthy Blood Donors in the United States	米国	以前の報告で献血者の6.8%からマウス白血病ウイルスに關連したウイルス遺伝子が検出されたNIH Blood Bankから提供を受けた71検体の末梢単核球と110検体の血漿から核酸を抽出し、XMRVのgag領域を増幅するPCR法を行った。また、血漿の33検体については、レトロウイルスが感染するとGFPが発現する遺伝子改変細胞を用いて血漿中の感染性ウイルスの有無を解析した。計算上は少なくとも3~4検体が陽性となると考えられたが、PCR法及び培養法による検討では全て陰性であった。以上から米国の供血者においてXMRV、及びマウス白血病ウイルスに關連したウイルスは存在しないことが示された。
9	Dodd RY, Hackett Jr J, Linnen JM, et al., Transfusion 2011, Nov 21 Xenotropic murine leukemia virus-related virus does not pose a risk to blood recipient safety	米国	全米の6つの血液センターからの13,399検体の血液からp15Eとgp70の2つの抗原を用いてXMRVのenvelopeに対する抗体とgag(p30)に対する抗体の有無を検討した。p15Eに対して29検体、gp70は93検体、p30では2検体が抗体陽性であった。しかし、2つのenvelopeに対して共に抗体陽性となつた検体はなかった。これらの抗体陽性となつた検体は核酸増幅検査(TMA)では全て陰性であった。また、米国赤十字とエール大学で保管していた供血者3741検体ではp15Eに対して5検体、gp70に対して20検体が抗体陽性であったが、2つの抗原に共に抗体陽性となつた検体はなかった。さらに頻回に輸血を受けた患者109人由來の830検体を検査したところ、p15Eに対して1検体、gp70に対しては20検体(2人の受血者由來)が抗体陽性であった。これら3名への供血者に抗体陽性者はいなかつた。以上から、供血者と受血者計17,249におけるXMRVに対する抗体の存在は確認できなかつた。また、109人の受血者と供血者計1763検体の核酸増幅検査(TMA)では、XMRVの遺伝子は検出できなかつた。これらは、XMRV及び類似ウイルスが大きなドナー集団に存在しないこと、及び輸血による感染の証拠がないことを示している。
10	Qiu X, Swanson P, Tang N, et al., Transfusion. 2011, Oct 24 Seroprevalence of xenotropic murine leukemia virus-related virus in normal and retrovirus-infected blood donors	米国	1000人の米国献血者、100人のHIV-1に感染したカメリーン人、1988年に採血された486人のHTLV-1に感染した日本人及び156人のHTLV-1非感染の日本人、311人の性感染症の検査を受けた患者、以上の血漿を用いてXMRVのエンベロープ(p15Eとgp70)に反応する抗体の有無を化学発光免疫測定法を用いてスクリーニングし、陽性の場合はウエスタンプロット法を行った。米国の献血者3名と性感染症の検査を受けた患者2名がgp70だけに陽性であった。一方、HTLV-1感染者は20名がp15Eに、4名がgp70に対して陽性となつた。何れもPCRではXMRVの遺伝子は検出されなかつた。HTLV-1感染者が陽性となつた理由としてp15EにXMRVとHTLV-1との間に良く似たアミノ酸配列が存在することが推定され、数例では、この類似した配列のペプチドを合成して抗体測定系に添加したところ抑制が確認された。
11	Stieler K, Schindler S, Schlomm T, et al., PLoS One. 2011, 6(10):e25592 No detection of XMRV in Blood Samples and Tissue Sections from Prostate Cancer Patients in Northern Europe	ドイツ	北ヨーロッパの前立腺癌患者におけるXMRV感染を検出するために前立腺癌患者92例とコントロール7例から末梢血を採取した。単核球を活性化後に核酸を抽出しPCRを実施した。また、その内の67例は前立腺癌細胞株(LNCap)と混合培養し8週間後にPCRとウエスタンプロット法にてXMRVの感染の有無を検索した。さらに培養後の上清を逆転写酵素の発現があると蛍光を発する細胞に添加し、感染の有無を調べた。これらの全てでXMRVの感染は検出できなかつた。また、前立腺肥大、gradeの異なる前立腺癌及び乳がんや結腸がん等の組織アレイを2種のXMRVに対する特異的抗体用いてXMRVのウイルス抗原の有無を検索したがウイルス抗原が発現している確証はなかつた。
12	Katzourakis A, Hue Stephane, Kellam P, et al., J. Virol 2011, vol. 85, 10909-10913 Phylogenetic Analysis of Murine Leukemia Virus Sequences from Longitudinally Sampled Chronic Fatigue Syndrome Patients Suggests PCR Contamination Rather than Viral Evolution	英国	PNAS誌(vol.107:15874-15879,2010)にAlterらは、慢性疲労症候群患者からXMRVとは異なるマウスレトロウイルスが検出された、と報告した。ウイルスが検出された患者8例は初回のサンプリングから15年後に再度サンプリングすることができ、内7例の患者からgag遺伝子が検出されていた。6例の配列がデータベースに登録されていたのでこれを用いてウイルスの変異を解析した。初回の塩基配列と15年後の塩基配列を比較したところ、感染者の体内でのウイルスの分子進化とは異なり、初回のウイルスとは関連しない内因性のマウスレトロウイルスの配列であった。これらはウイルスの進化よりも検体のコンタミを示唆している。