

図2 HIV治療のターゲット (CDC教育用スライドより引用)

細胞の遺伝子に組み込まれ一体化する。このようになったHIVウイルス遺伝子をプロウイルスとよび、このまま潜伏状態となることが出来るようになる。

#### 4. エンベロープを持つ

ウイルスがエンベロープを持つかは、病原体の消毒・不活化と関連して重要である。

エンベロープは脂質二重膜で、ウイルスが増殖した細胞の細胞膜に由来し、消毒によって変性を受けやすい。HIVはエンベロープを有するウイルスであり、高水準、中水準と一部の低水準消毒薬でも消毒効果が得られる。

#### HIVの感染細胞の特徴

HIVの感染は、細胞表面マーカーのうちCD4が陽性の細胞が標的となる。CD4陽性細胞としてはマクロファージ、リンパ球のうちヘルパー/サブプレッサーT細胞、神経のマクロファージ系細胞であるミクログリアなどが含まれる。

ウイルスが最初に感染するのは局所のマクロファージであるとされる。マクロファージでは、ウイルスが増殖してもマクロファージは死に

至らない。マクロファージで増殖したウイルスは、全身に播種されリンパ球にも感染が広がる。CD4陽性T細胞は、マクロファージなどの抗原提示細胞から抗原認識を受け、細胞性免疫の活性化など免疫調節のかなめの部分を担っている。

ウイルスが感染・増殖するとアポトーシスが誘導され、CD4陽性T細胞は細胞死に陥り数が減少する。この結果として細胞性免疫能が低下し、日和見病原体による感染症を発症するリスクが高くなる。

また、リンパ節や網内系、中枢神経支持組織などにウイルス感染が広がり、一部の細胞では潜伏感染状態となる。このような細胞に存在するウイルスが排除されるには、60年以上が必要とするシミュレーションもあり、いったん感染した生体からウイルスを排除することは事実上困難とされている。

#### HIV感染症の特徴

ウイルス感染症としてのHIV感染症は以下の点に特徴がある。

##### 1. 慢性ウイルス感染症

多くのウイルス感染症は、ウイルスの感染後潜伏期を経て急性感染症

状を呈し、ある一定期間のあと免疫が誘導されウイルスの排除が起こる。水痘・帯状疱疹ウイルスなどのヘルペス属ウイルスは、急性感染後体内に持続感染となるが、これは常に増殖がつづいているのではなく潜伏感染し、ときに再活性化を起こす。

これに対してHIV感染症は、急性感染期のあとも臨床症状は消失するものの、感染細胞からは常に新しいウイルスが産生されている。このため、免疫応答という観点からは常にウイルスからの抗原刺激がつづいていることになる。このような持続的なウイルス活性化状態が全身でつづく点がHIV感染症の特徴である。

##### 2. 細胞性免疫不全

HIVは、ウイルス排除に重要なCD4陽性細胞に感染し、その数を減らしていくウイルスである。HIVの感染は、CD4細胞が活性化されると促進される。HIV感染に伴いCD4細胞が活性化されると、よりCD4に侵入しやすくなるという、自己への攻撃を巧みに利用して感染・増殖を図っている。この結果として慢性進行性の細胞性免疫不全が進行し、HIVウイルス感染に伴う症状所見だけでなく、細胞性免疫不全による日和見感染症や悪性腫瘍が発生することなどが加わり、HIV感染症の病態を複雑なものにしている。

##### 3. 特異的免疫誘導が困難

HIV感染症ではウイルスが持続的に産生され、免疫応答を刺激しつづけているにもかかわらず、ウイルスの素早い抗原変化によって有効な免疫応答を引き起こすことが出来ず、慢性進行性の病態を形成している。このことは人工的な免疫誘導、すなわちワクチンの作製がきわめて困難となっている主要因でもある。

## Q25 医療器具の消毒法について教えてください。

**▶ A** HIVは、脂質二重膜のエンベロープを持つウイルスである。エンベロープを持つことは、種々の消毒に対して感受性が高い(弱い)ことにつながっており、医療で用いられる多くの消毒法がHIVの消毒に対して有効である。グルタールアルデヒドや次亜塩素酸ナトリウム、アルコールなどの高水準～中水準消毒薬であればいずれも容易に不活化される。表1にWHO(World Health Organization;世界保健機構)、および厚生労働省が示しているHIVのために有効な消毒方法と接触時間を示したが、この基準は十分な安全性を見込んだものであり、実際は消毒薬の標準的な接触時間で十分である。例えばエタノールでは15～30秒の接触でよい。クロルヘキシジンアルコール

表1 HIVの不活化実験などに基づくデータおよびWHOが示した消毒法

	HIVの不活化実験に基づくデータ	WHOが示した消毒法
オートクレーブ(滅菌)	121℃, 20分	121℃, 20分
煮沸	10分	20分
次亜塩素酸ナトリウム	100 ppm 30分 52.5 ppm 2～10分	0.5% 10～30分
グルタールアルデヒド	2% 15分	2% 10～30分
ホルマリン水	1%, 20分, 37℃ 0.5%	5% 10～30分
イソプロピルアルコール	50% 5分 35%	—
エタノール	80% 5分 50%	70% 10～30分
紫外線 ( $5 \times 10^5$ J/m <sup>2</sup> ) 放射線 ( $2 \times 10^5$ rad)	不活化されない	—

#### V. エイズに関連する諸問題

など、病院での手指消毒薬として使用されているものも、HIVに有効であることが報告されている。またクロルヘキシジンやトリクロサンなど、低水準消毒薬に分類される消毒薬も有効で、これらは市販の抗菌石鹸にも含まれている。

また、80℃10分以上の熱水消毒も可能である。したがって、消毒という点ではHIVを特別意識する必要はなく、ウイルスの消毒に用いられる方法(一般的には、B型肝炎ウイルスを対象とされることが多い)を用いれば十分である。消毒滅菌が可能なものであれば、HIV感染者専用の器具を用意しなければならない理由は全くなく、HIV感染者に使用したもので、適切な消毒・滅菌の後に汎用することが可能である。

HIV診療においては、血液・体液による汚染を除去するための消毒剤としてエタノールが頻用される。やや高価ではあるが、正常皮膚から患者周辺をよく触れる環境表面の消毒にまで使用可能で、湿潤や着色といった問題も起こりにくいというメリットがある。衣類や寝具は次亜塩素酸ナトリウムや煮沸などの方法が適している。

前述の通り、その他の医療器具は通常の消毒方法で十分であり、内視鏡もグルタールアルデヒドや過酢酸などによる、消毒行程を含んだ自動洗浄機による洗浄で十分である。

(安岡 彰)

## Q44 現在の日和見感染症はどうなっていますか？

▶ **A** HIV 感染症は、ウイルスが免疫細胞である CD4 細胞を破壊・減少させることによる細胞性免疫不全が、主要な病態のひとつである。免疫不全により通常では病原性を持たないか、頻度が少ない疾患に罹患する危険性が高まり、これを日和見感染症・日和見合併症（免疫不全を背景とする悪性腫瘍も含め、このように表記する場合もある）という。エイズに特徴的な病態（指標疾患）が 23 指定されているが、このうち 20 が日和見感染症である。指標疾患は国際的な基準であるため、いくつかは日本ではほとんどみられない。

日和見感染症は免疫不全の進行に伴い発症するため、強力な抗 HIV 療法（HAART；highly active antiretroviral therapy〔多剤併用療法〕）が導入され、免疫の回復がみられると発生頻度は下がると考えられており、実際米国や EU の報告では HAART が導入された 1996 年以降、日和見感染症の発生率は 1/3 まで低下してきている。

日本における日和見感染症の頻度を集計したものとしては、感染症発症報告書をもとにしたエイズ動向委員会発表のもの（図 1）と、厚生労働省の研究班が、全国 HIV 診療拠点病院を対象にアンケート調査したものがある。前者はすべての医師に報告義務があるため報告数が多いが、エイズ発症の最初のエピソードのみの報告であり、HIV 診断後 7 日以内に報告されるため、日和見感染症の診断は必ずしも適切でない可能性がある。一方後者は、各拠点病院の担当医師の協力によるもので、全数は把握されないものの、日本の日和見感染症の頻度としてはより正確なものであろうと考えられ、ここではそのデータを紹介する。これまでに集計された 2004 年までのデータでは、1995 年以降、報告数は増加傾向にあり、これは日本における HIV 感染者の増加、とくに日和見感染症

Q44 現在の日和見感染症はどうなっていますか？

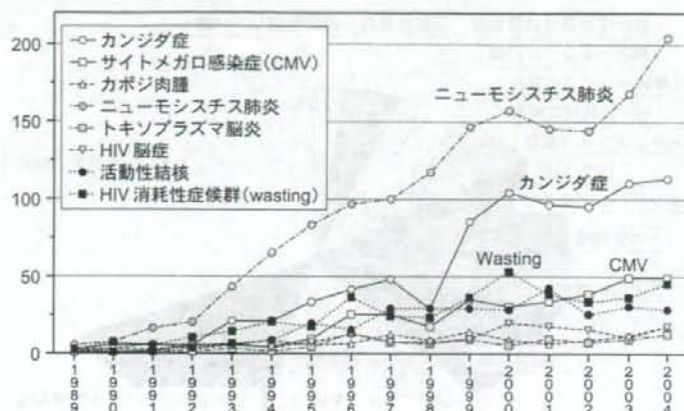


図1 日和見感染症の推移

報告されている日和見感染症は年々増加しており、特にニューモシスチス肺炎と（食道）カンジダ症で著しい。HIV 消耗性症候群は他疾患の除外診断によるので、報告時点で診断が確定していなかった症例が多く含まれている可能性がある。

（エイズ動向委員会報告）

を発症してから HIV 感染がわかる、いわゆる“いきなりエイズ”が増加していることを反映したものと思われる。HIV と診断されて 3 カ月以内（同時を含む）の患者が 70%以上を占めているが、2002 年以降の特徴として、再び HIV 感染症診断後 1 年以上経過した患者の頻度が増加してきている。一方 HAART 施行期間との関連では、HAART が 6 カ月以上継続されている患者の割合は 5% しかなく、ほとんどが HAART 未施行、または中断中の患者である。診断後 1 年以上経過した患者でも HAART 未施行か中断している例が多く、何らかの理由で定期受診をしていないか、HAART が施行できない患者において、日和見感染症を発症する頻度が増加しつつあると考えられる。

日和見感染症の疾患では、図 2 のようにニューモシスチス肺炎が最も多く、サイトメガロウイルス感染症、結核の順となっている。この中で特にニューモシスチス肺炎は年々頻度が増してきており、“いきなりエイズ”の多くがニュー

Ⅶ. エイズの合併症

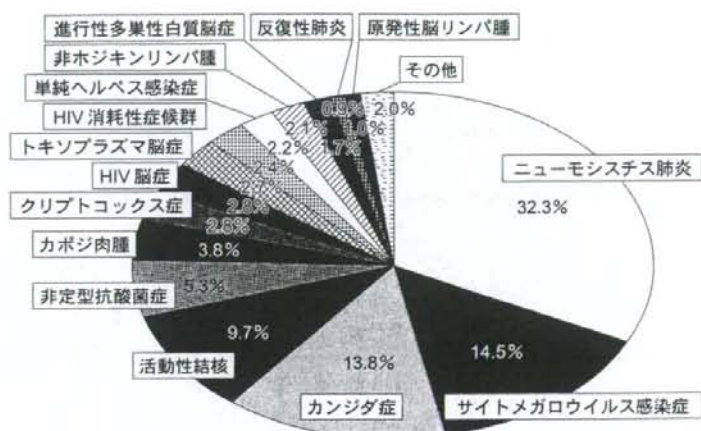


図2 エイズ指標疾患の頻度 (1995～2004年)

ニューモシチス肺炎, サイトメガロウイルス感染症, (食道)カンジダ症, 活動性結核, 非定型抗酸菌症の5疾患で, 全体の75%を占めている。

(厚生労働省科研「HAART時代の日和見合併症」研究班)

モシチス肺炎で発症している。また, カポジ肉腫や悪性リンパ腫, 脳原発リンパ腫などの悪性腫瘍の頻度が, 増加傾向にあるのも特徴的である。特に HIVに合併するリンパ腫は予後が悪く, 研究班での調査でも死亡率は51%に上っており, 今後注意が必要な疾患であるといえる。

まとめると, 日本においては日和見感染症の報告数は増加してきており, ニューモシチス肺炎や悪性リンパ腫など, いったん発症すると予後が悪い疾患が増加傾向にある。HIVの早期発見とHIVに合併する日和見感染症に対する診断技術の向上は, 現在も重要な課題であるといえる。

(安岡 彰)

## Q5 HIV感染で問題となる真菌症は？

▶ **A** HIV感染症では、ウイルスの持続感染・増殖により細胞性免疫が破壊され、種々の日和見病原体に感染しやすくなる。特徴的な疾患に罹患するようになるとAIDS発症と診断されるが、この指標となる疾患が23あり、次の5つの真菌症が含まれる(表1)。

表1 AIDS発症診断の指標となる真菌症

ニューモシスチス肺炎
食道カンジダ症
クリプトコックス症(肺感染以外:髄膜炎や全身播種など)
ヒストプラズマ症
コクシジオイデス症

このほかにHIVによくみられる真菌症を示す(表2)。

表2 HIVによくみられる真菌症

口腔カンジダ症
陰カンジダ症
アスペルギルス症(肺や副鼻腔、脳)
マルネッフェイ型ペニシリウム症

ニューモシスチス肺炎は、以前原虫に分類されていた *Pneumocystis jiroveci* (以前は *carinii*) による重症肺炎で、AIDS発症の4~6割が本症の発症による。AIDS患者が本症を発症した場合、死亡率は10~20%と重篤な肺炎である。ニューモシスチスは真菌に属するものの、一般的な抗真菌薬は無効で、ST (sulfamethoxazole, trimethoprim: サルファメトキサゾール剤とトリメトプ

リム) 合剤やペンタミジンによって治療を行う。治療開始に伴って生じる高度の炎症を抑えるために副腎皮質ステロイドホルモンを併用することで、以前と比べ大きく予後が改善した。

カンジダ症はもっとも頻度が高い HIV 関連真菌症で、口腔内に粘膜の発赤を伴った白苔をきたすケースが一番よくみられる(口腔カンジダ症)。この病変が食道まで波及し、胸部の中心付近の痛み(胸骨裏面痛)や嚥下時痛をきたした場合は食道カンジダ症で、AIDS 発症とみなされる。このほか、女性では陰カンジダ症もよく認められる。

カンジダ症の治療はアゾール系抗真菌薬の内服投与で、口腔のみの病変ではトローチやゲル製剤も有効である。治療は比較的容易で、治療開始後数日で粘膜所見の改善をみる。カンジダは皮膚や粘膜の常在菌であり、いったん治療してもくり返し発症しやすく、長期に渡る抗真菌薬の断続的使用から後述のように薬剤耐性が問題となることがある。

クリプトコックス症は、一般に、菌を含む粉塵を吸入することによって肺に初発病変を起こすことが多いが、HIV 感染者では肺には明確な病変をきたすことはさほど多くなく、直接髄膜炎を起こしやすい。また、HIV 感染者のクリプトコックス髄膜炎は、頭痛や嘔気といった髄膜刺激症状が軽度で、発熱と軽度の頭痛程度で髄膜炎としての所見が比較的乏しいまま、衰弱と意識障害が進むという経過をとることが多い。発見が遅れると播種性病変となっていて救命が困難であったり、一命をとりとめても著しい障害を残すことがあるなど、注意が必要な真菌症である。

ヒストプラズマ症は日本にはなく、輸入感染症として発症する。これまで外国人 HIV 感染者に発症したヒストプラズマ症が数例報告されている。

コクシジオイデス症はアメリカ大陸の風土病真菌症であり、日本では HIV 感染者での報告はまだない。

アスペルギルス症は AIDS 指標疾患ではないが、高度免疫不全状態では肺や副鼻腔の感染が起こりやすい。高度免疫不全で死亡した例の解剖所見では、肺などにアスペルギルスの病変が認められることが少なくない。



## 1 深在性真菌症の疫学・環境

マルネツフェイ型ペニシリウム症は、タイ北部からミャンマー、中国の雲南省にかけてみられる風土病的真菌症で、皮膚の結節病変や菌血症を起こす。この地域（特にタイ）から来日した HIV 感染者では、考慮する必要がある。

HIV にみられる真菌症で問題となる点は、免疫不全が持続しているため治療への反応が悪く、長期治療が必要な点である。再燃・再発が多いため、免疫不全が改善しない限り、生涯の再発予防（2次予防）が必要である場合が多い。

また、口腔・食道カンジダ症などのようにくり返し治療が必要となる場合もあり、頻回に薬剤にさらされるため、薬剤に対する耐性を獲得することがある。アゾール（フルコナゾールなど）に対する *Candida albicans* の耐性化がよく知られており、この耐性はアゾール系薬すべてに交叉耐性を示す。治療は軽度耐性の場合は投与量増量で対応するが、高度耐性の場合はキャンディンやポリエンなど異なる系統の薬剤による治療が必要となる。

（安岡 彰）

## Q36 口腔・食道カンジダ症の治療法は？

▶ **A** カンジダは口腔・食道の常在菌であるため、喀痰や口腔・食道拭  
い液などの微生物検査で陽性となっても、感染症を発症している  
とはいえない。口腔カンジダ症・食道カンジダ症は、肉眼的あるいは内視鏡に  
よって、口腔や食道に菌の増殖した淡黄白色の“白苔”の付着が確認され、粘  
膜の発赤、びらん、増殖性変化を伴った場合のみが治療対象となる(図1、2)。

口腔カンジダ症は軽度の免疫不全(高齢、糖尿病、副腎皮質ステロイドホルモ  
ンの吸入など)に加えて、口腔の保清が十分でない場合に発症する可能性があ  
る。また HIV 感染症では、免疫不全前駆症として重要であり、くり返す口腔



図1 口腔カンジダ症

軟口蓋から硬口蓋にかけて乳白色の白苔が付着し、周辺は発  
赤・びらんが認められる。舌にも厚い白苔がみられる。



図2 食道カンジダ症

食道は全周性に厚い白苔に覆われ、正常粘膜は認められない。

カンジダ症をみた場合は HIV 抗体検査をすすめるべきである。

食道カンジダ症は、ほとんどは HIV 感染者でみられ、AIDS 発症疾患の 1 つとされている。多くの患者では口腔カンジダ症もみられ、これに加えて前胸部の中心の痛み(胸骨裏面痛)が認められれば、臨床的には食道カンジダ症と診断される。しかし、HIV 感染者に上部消化管内視鏡を行ってみると、口腔にはカンジダの病変がなくても高度の食道病変がみられる場合もあるため、胸骨裏面痛や嚥下痛、嚥下困難、原因不明のやせがみられる場合には積極的な内視鏡検査がすすめられる。

口腔カンジダ症の治療には、アゾール系抗真菌薬の経口の全身投与と、トローチやシロップ剤による局所投与がある。前者はすみやかに効果が期待できるが、肝障害などの副作用を考慮する必要がある、後者は全身の副作用はほとんどみられないが、軽快までにやや時間を要し、また 1 日 4～6 回の服用が必要と、やや煩雑である。投与方法および投与量は次の通りである。

#### IV よくみる真菌症の治療

- ・フルコナゾール（ジフルカン®）  
50～100 mg 1日1回 7～14日
- ・イトラコナゾール（イトリゾール®）  
50～200 mg 1日1回 7～14日
- ・クロトリマゾールトローチ（エンベシドトローチ®）  
1回1錠1日5回口腔内で溶解
- ・ミコナゾールゲル（フロリドゲル®）  
1回10～20 mLを口腔内に含んだ後嚥下1日4回

食道カンジダ症は口腔カンジダ症で用いられる局所治療薬は無効で、アゾール系抗真菌薬の経口投与が行われる。経口摂取困難な場合は、治療開始数日は点滴投与も行われる。第一選択はフルコナゾール（ジフルカン® またはプロジフ®）100～200 mg/日を1日1回、1～3週間投与する。

いずれのカンジダ症も、口腔・食道にびらんや潰瘍を形成する疾患との鑑別が重要となる。口腔では単純ヘルペスや特発性の口腔アフタ、梅毒・クラジミアの咽頭病変など、食道ではサイトメガロウイルス食道潰瘍や単純ヘルペス、HIVウイルスによる食道潰瘍などが挙げられる。

HIVにみられる口腔・食道カンジダ症は反復性であるが、比較的容易に治療が可能であり、通常、発症予防投与は行わない。しかし、治療終了後すぐに再発する場合や難治例では、フルコナゾール100～200 mg/日の持続的な予防投与が考慮される。

HIV感染者のカンジダ症では、アゾール系抗真菌薬を長期投与することになるため、アゾール系抗真菌薬に対する耐性を獲得することがあり、注意を要する（Q5・Q15参照）。

（安岡 彰）

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yasuhisa Abe, Daisuke Matsubara, Hiroyuki Gatanaga, Shinichi Oka, Satoshi Kimura, Yuki Sasao, Kiyoshi Saitoh, Takeshi Fujii, Yuko Sato, Tetsutaro Sata and Harutaka Katano	Distinct expression of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-encoded proteins in Kaposi's sarcoma and multicentric Castleman's disease	Pathology International	56	617-624	2006
Md. Zahidunnabi Dewan, Hiroshi Terunuma, Masakazu Toi, Yuetsu Tanaka, Harutaka Katano, Xuewen Deng, Hiroyuki Abe, Tadashi Nakasone, Naoki Mori, Tetsutaro Sata and Naoki Yamamoto	Potential role of natural killer cells in controlling growth and infiltration fo AIDS-associated primary effusion lymphoma cells	Cancer Sci	97	1381-1387	2006
Takayuki Kanno, Yuko Sato, Tetsutaro Sata, Harutaka Katano	Expression of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-incoded K10/10.1 protein in tissues and its interaction with poly(A)-binding protein	VIROLOGY	352	100-109	2006
Hiroshi Minoda, Norio Usui, Tetsutaro Sata, Harutaka Katano, Hiromi Serizawa and Shinya Okada	Human Herpesvirus-8 in Kaposi's Sarcoma of the Conjunctiva in a Patient with AIDS	Jpn J Ophthalmol	50	7-11	2006
Y Yanagisawa, Y Sato, Y Asahi-Ozaki, E Ito, R Honma, J Imai, T Kanno, M Kano, H Akiyama, T Sata, F Shinkai-Ouchi, Y Yamakawa, S Watanabe and H Katano	Effusion and solid lymphomas have distinctive gene and protein expression profiles in an animal model of primary effusion lymphoma	J Pathol	209	464-473	2006

Case Report

## Distinct expression of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-encoded proteins in Kaposi's sarcoma and multicentric Castleman's disease

Yasuhisa Abe,<sup>1</sup> Daisuke Matsubara,<sup>2</sup> Hiroyuki Gatanaga,<sup>1</sup> Shinichi Oka,<sup>1</sup> Satoshi Kimura,<sup>1</sup> Yuki Sasao,<sup>2</sup> Kiyoshi Saitoh,<sup>2</sup> Takeshi Fujii,<sup>2</sup> Yuko Sato,<sup>3</sup> Tetsutaro Sata<sup>3</sup> and Harutaka Katano<sup>3</sup>

<sup>1</sup>AIDS Clinical Center and <sup>2</sup>Department of Pathology, International Medical Center of Japan and <sup>3</sup>Department of Pathology, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan

The expression of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV/HHV-8)-encoded proteins is herein demonstrated in Kaposi's sarcoma (KS) and multicentric Castleman's disease (MCD) in a single lymph node derived from a patient with acquired immunodeficiency syndrome. Immunohistochemistry revealed that both lytic and latent KSHV proteins were expressed in cells of the MCD lesion. KSHV-encoded viral interleukin-6 was also detected in follicular dendritic cells of the germinal center. Cytoplasmic localization of open reading frame 59 protein and latency-associated nuclear antigen suggested KSHV activation in the MCD lesion. Moreover, a high copy number of KSHV was detected in the blood. Clinically, pegylated-liposomal doxorubicin induced regression of not only KS, but also lymphadenopathy of the MCD lesion with a decrease in KSHV load and human interleukin-6 in the blood. To the best of the authors' knowledge this is the first case demonstrating differential expression of virus proteins in two KSHV-associated diseases, KS and MCD, in the same section. The case confirms lytic KSHV infection in MCD, and suggests that clinical symptoms of MCD might be closely linked with KSHV activation.

**Key words:** Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus, Kaposi's sarcoma, multicentric Castleman's disease, open reading frame 59, viral interleukin-6

Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV/HHV-8) infection is associated with the pathogenesis of Kaposi's sarcoma (KS), primary effusion lymphoma (PEL; body cavity-based lymphoma) and some cases of multicentric Castleman's disease (MCD).<sup>1-5</sup> KSHV, a large DNA virus, encodes more than 80 viral genes/proteins in its genome. Similar to

other herpes viruses, KSHV infection can be characterized as lytic or latent.<sup>4</sup> During lytic infection, KSHV is activated, producing numerous lytic proteins, and virions are packaged and released from the cells. In this process, DNA synthesis and expression of virion structural protein genes are required. Latent infection is characterized by persistence of the viral genomes as a covalently closed circular episome with limited viral gene expression.<sup>4,6</sup>

The differences between these two types of infection are strongly associated with their clinical courses. KSHV-associated malignancies such as KS and PEL are associated with latent KSHV infection. KS is one of the major opportunistic tumors in homosexual acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) patients.<sup>7</sup> Previous immunohistochemistry showed that almost all spindle cells in KS expressed KSHV-encoded latency-associated nuclear antigen (LANA), whereas expression of lytic proteins such as open reading frame (ORF) 59, ORF50, and viral interleukin-6 (vIL-6) were rare in the KS cells, implying that KS cells are infected with KSHV in the latent phase.<sup>1-3</sup> Although a small number of PEL cells express several lytic KSHV proteins, almost all usually express LANA in the nucleus, suggesting that latent KSHV infection is predominant among PEL cells. Thus, latent KSHV infection plays an important role in the pathogenesis of KSHV-associated malignancies.

In contrast, the pathogenesis of lytic KSHV infection is relatively unclear. MCD is a rare systemic lymphoid hyperplasia characterized by constitutional symptoms such as generalized lymphadenopathy, hepatosplenomegaly and polyclonal hyperimmunoglobulinemia and a high level of serum interleukin-6 (IL-6).<sup>8-10</sup> Follicular hyperplasia with proliferation of plasma cells and hyaline vascular alterations in the lymph node are histological hallmarks of MCD. KSHV is frequently detected in MCD tissues obtained from patients with human immunodeficiency virus (HIV) infection.<sup>5,11-13</sup> Lytic gene products encoded by KSHV are frequently expressed by B cells in the mantle zone of MCD lesions. This

Correspondence: Harutaka Katano, DDS, PhD, Department of Pathology, National Institute of Infectious Diseases, 1-23-1 Toyama, Shinjuku, Tokyo 162-8640, Japan. Email: katano@nih.go.jp

Received 13 February 2006. Accepted for publication 15 June 2006.

© 2006 Japanese Society of Pathology

observation is compatible with the finding that KSHV-positive PEL cells express CD138, but not Bcl6,<sup>14</sup> suggesting that KSHV infects post-germinal center B cells in the lymph node. The KSHV-positive cells in MCD lesion express various lytic proteins such as ORF50, ORF59, ORF65 and K8 proteins, whereas those expressions are very rare in KS lesions. These data suggest the predominance of lytic infection and a different pathogenesis from KSHV-associated malignancies such as KS and PEL.<sup>3</sup>

KS has frequently been reported among AIDS patients with MCD.<sup>8</sup> Here, we present a case of MCD complicated with KS in a single lymph node. This case clearly showed differential expression of viral proteins in two KSHV-associated diseases, providing the evidence that KSHV is highly activated in patients with MCD and strongly suggesting that MCD is related to acute KSHV infection.

### CLINICAL SUMMARY

A 35-year-old homosexual Japanese man was admitted to AIDS Clinical Center with a 5 month history of high fever, lymphadenopathy, bicytopenia (anemia and thrombocytopenia), splenomegaly, purple macula and hoarseness. His body temperature was 40°C. Many lymph nodes, each >2 cm in diameter, were palpable in cervical, axillary and inguinal lesions. Macula was observed on the face, limbs, soma and also in the oral cavity. Laboratory analysis indicated anemia (hemoglobin 7.5 g/dL), severe thrombocytopenia (platelets  $3.8 \times 10^9$ /mL), elevated transaminase (aspartate aminotransferase 80 IU/L, alanine aminotransferase 87 IU/L), and CRP 6.17 mg/dL. Chronic Epstein-Barr virus (EBV) infection was detected by serology and polymerase chain reaction (PCR). Serological and PCR assays demonstrated that the patient was HIV-1 positive. Biopsy revealed involvement of KS cells in the axillary lymph node. Because of severe thrombocytopenia and anemia with development of KS and lymphadenopathy, blood transfusions (red blood cells and platelets) were performed several times. Two weeks after admission, the patient's hoarseness worsened and he complained of dyspnea. His airway was shown to be almost completely obstructed by larynx edema due to KS lesions. A tracheotomy was performed to maintain his airway and pegylated-liposomal doxorubicin (Doxil 20 mg/mm<sup>2</sup>; Alza, Mountain View, CA, USA) was initiated at 2 week intervals. One week after the introduction of this treatment, his larynx edema and general lymphadenopathy were resolved. No evidence of recurrence was observed during the following 6 months.

### MATERIALS AND METHODS

All samples including biopsy and blood were taken from the patient under informed consent. Serial sections were pre-

pared and stained with HE for light microscopy, or subjected to immunohistochemistry. Immunohistochemical staining was visualized using the biotin-streptavidin-peroxidase method with 3-3'-diaminobenzidine as the chromogen, as previously described.<sup>3</sup> Anti-KSHV-LANA, ORF59, K8, and vIL-6 rabbit polyclonal antibodies established by our group in previous studies<sup>3,15,16</sup> were used as primary antibodies.

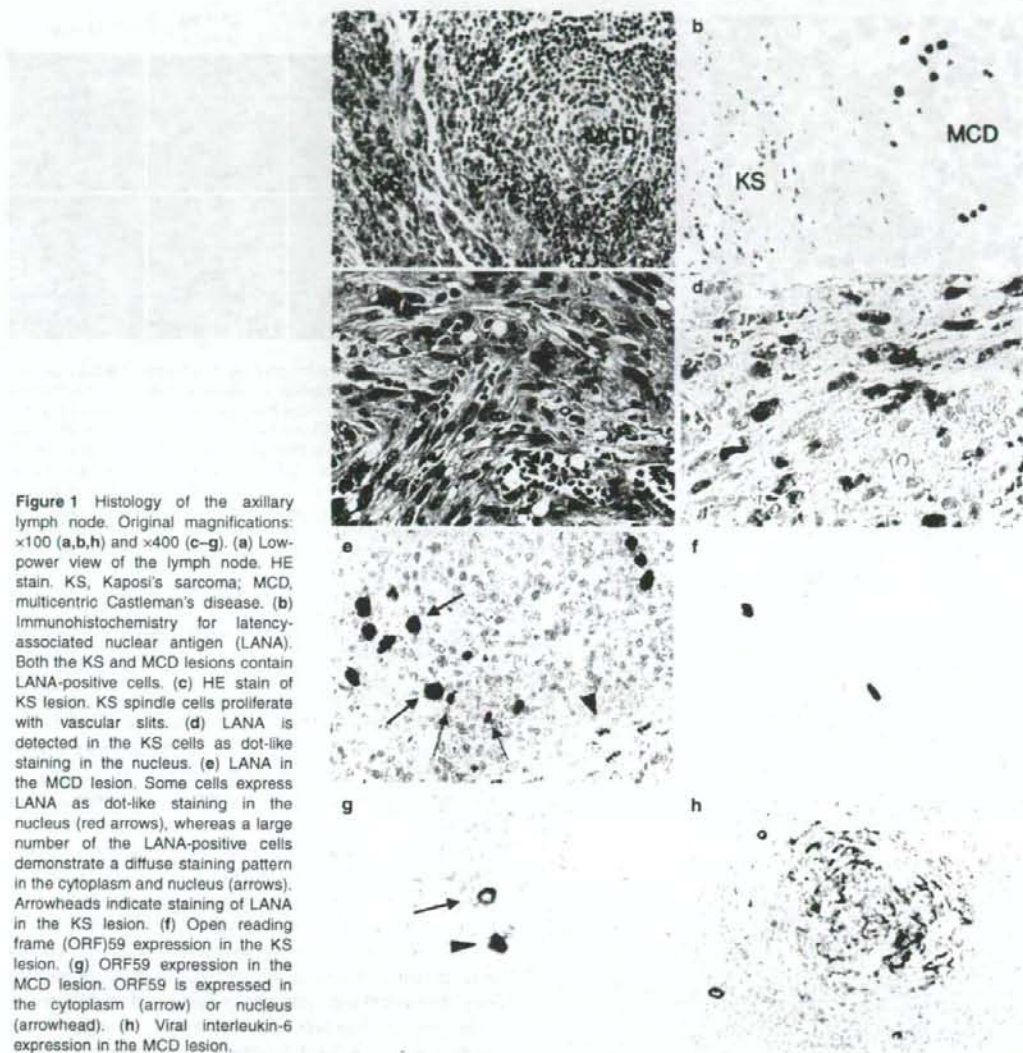
KSHV-positive PEL cell lines, TY-1 and BCBL-1, were cultured in RPMI 1640 containing 10% fetal bovine serum in 5% CO<sub>2</sub> at 37°C.<sup>17,18</sup> Twenty ng/mL of tetradecanoylphorbol acetate (TPA) was added to the culture medium. TY-1 and BCBL-1 were spotted onto glass slides and fixed with cold acetone for 10 min. Diluted anti-ORF59 rabbit polyclonal antibody<sup>16</sup> or patient serum was then reacted for 60 min in a moisture chamber. The slides were washed and fluorescein isothiocyanate (FITC)-conjugated goat antirabbit IgG or antihuman Igs (Biosource International, Camarillo, CA, USA) was applied as the second layer for 30 min at 37°C. After counterstaining with propidium iodide (PI, 50 µg/mL), the slides were mounted with buffered glycerin. Imaging was performed using a confocal microscope equipped with an argon-krypton laser (LSM-MicroSystem, Carl-Zeiss, Jena, Germany). PI and FITC were stimulated at 488 nm and the emission patterns of the two fluorescences were collected separately and overlaid using a computer to create two-color images.

Serum antibodies to KSHV were detected with enzyme-linked immunosorbent assay and immunofluorescence assay as previously described.<sup>19</sup> Virus copy number in the blood was detected with real-time PCR as previously described.<sup>20</sup>

### PATHOLOGICAL FINDINGS

#### Detection of both KS and MCD in a single lymph node

Histologically, a biopsy sample of the axillary lymph node demonstrated large lymphoid follicles and KS spindle cell proliferation (Fig. 1a). KS spindle cells proliferated and formed interweaving fascicles with vascular slits mainly in the sinus, expanding to the interfollicular space of the lymph node and infiltrating the surrounding fat tissue. Vascular slits formed by KS spindle cells contained erythrocytes configured linearly (Fig. 1c). Extravasated erythrocytes were abundant between KS spindle cells, and they were sometimes phagocytosed by macrophages. Some hyaline globules and mitotic figures were identified in the KS lesion. The biopsy sample also showed partly involuted germinal centers surrounded by small lymphocytes and a hyaline vascular change-like onion skin appearance (Fig. 1a). Proliferation of small vessels in the follicles and perifollicular area was observed, and plasma cell proliferation was noted in the interfollicular space. These observations fitted the histological criteria of MCD.<sup>8,9</sup> These two lesions, KS and MCD, were present side by side, but not



**Figure 1** Histology of the axillary lymph node. Original magnifications:  $\times 100$  (a,b,h) and  $\times 400$  (c–g). (a) Low-power view of the lymph node. HE stain. KS, Kaposi's sarcoma; MCD, multicentric Castleman's disease. (b) Immunohistochemistry for latency-associated nuclear antigen (LANA). Both the KS and MCD lesions contain LANA-positive cells. (c) HE stain of KS lesion. KS spindle cells proliferate with vascular slits. (d) LANA is detected in the KS cells as dot-like staining in the nucleus. (e) LANA in the MCD lesion. Some cells express LANA as dot-like staining in the nucleus (red arrows), whereas a large number of the LANA-positive cells demonstrate a diffuse staining pattern in the cytoplasm and nucleus (arrows). Arrowheads indicate staining of LANA in the KS lesion. (f) Open reading frame (ORF)59 expression in the KS lesion. (g) ORF59 expression in the MCD lesion. ORF59 is expressed in the cytoplasm (arrow) or nucleus (arrowhead). (h) Viral interleukin-6 expression in the MCD lesion.

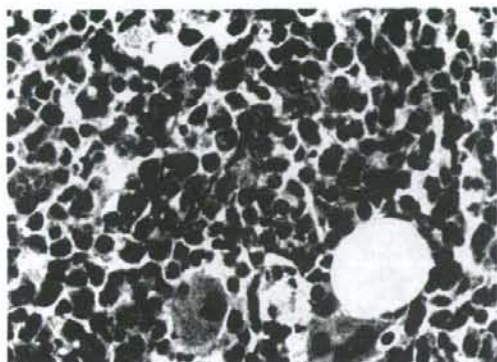
mixed. KS spindle cells were not found in the lymphoid follicles with MCD. However, proliferation of plasma cells in the interfollicular space was found close to KS lesions. Thus, the lymph node was determined as containing both KS and MCD lesions.

#### Differential expression of viral proteins in KS and MCD

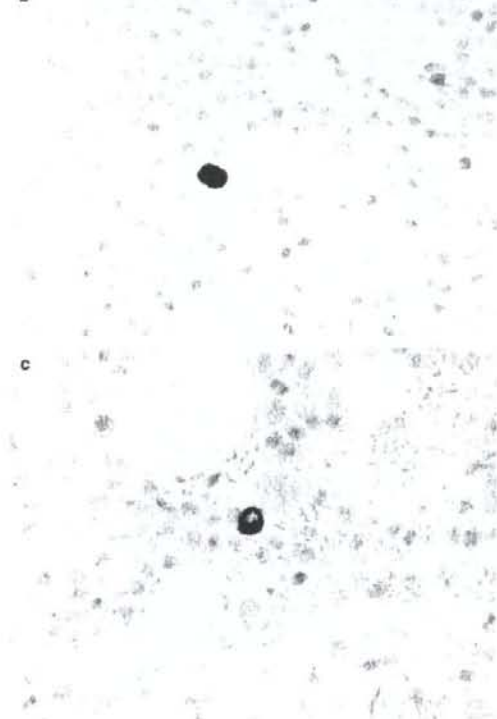
Thus far, no case of coexisting KS and MCD in the same lymph node of an AIDS patient has been reported. Differen-

tial expression of viral proteins have been demonstrated in KS and MCD samples, but these studies were performed using different sections from different patients.<sup>1–3</sup> To confirm the expression of viral proteins in KS and MCD lesions, we performed immunohistochemistry of the section in which KS and MCD were shown to coexist. Immunohistochemistry revealed KSHV-encoded vIL-6, ORF 50, ORF59, K8, and LANA expression in mantle zone cells in the MCD lesion (Fig. 1 and data not shown). Interestingly, KSHV-encoded vIL-6 was also detected in follicular dendritic cells (FDC) in



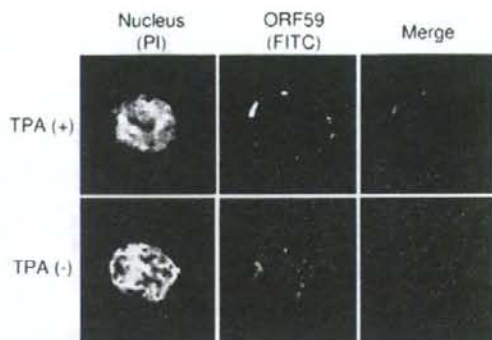


b



c

**Figure 2** Histology of the bone marrow. Original magnification:  $\times 400$ . (a) HE stain. Plasma cell proliferation is shown in the center of the panel. (b) Immunohistochemistry for latency-associated nuclear antigen (LANA). A small number of bone marrow cells express LANA. (c) A few cells express open reading frame (ORF)59 protein in the cytoplasm.



**Figure 3** Expression of the open reading frame (ORF)59 protein in tetradecanoylphorbol acetate (TPA)-stimulated and unstimulated Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV)-infected primary effusion lymphoma (PEL) cell lines. A KSHV-positive cell line, TY-1, was stimulated with TPA then smeared on a slide glass. ORF59 protein is stained with anti-ORF59 rabbit polyclonal antibody as the primary antibody. Fluorescein isothiocyanate (FITC)-labeled anti-rabbit Ig antibody was used as the secondary antibody (green). The nucleus was counterstained with propidium iodide (PI; red). A small number of unstimulated TY-1 cells expressed ORF59 protein in the nucleus (lower panels). Although the nuclear localization of ORF59 protein was predominant in TPA-stimulated TY-1, some of the stimulated TY-1 cells expressed ORF59 protein in the cytoplasm (upper panels). BCBL-1 demonstrated similar results (data not shown). Original magnification:  $\times 400$ .

the germinal center of MCD (Fig. 1h). Because the FDC were negative for LANA (Fig. 1b,e), it is suggested that a large amount of vIL-6 was trapped by the FDC in the form of immune complex. In contrast, the KS cells expressed LANA with rare expression of lytic proteins (Fig. 1b,e-g). Immunohistochemistry also revealed different subcellular localization of LANA between KS and MCD (Fig. 1e). LANA expression was localized in the cytoplasm and nucleus in MCD (Fig. 1e), but in the nucleus only as a dot-like staining pattern in the KS cells (Fig. 1e). Subcellular localization of ORF59 protein was also different between KS and MCD. In MCD, expression was observed in the cytoplasm or nucleus of mantle zone B cells (Fig. 1g); however, expression was confined to the nucleus in only a few KS cells, with no expression in the cytoplasm (Fig. 1f). These data clearly demonstrate the distinctive expression of viral proteins in KS and MCD lesions.

#### KSHV-infected cells in the bone marrow

Histology of a bone marrow biopsy showed hypercellular features with plasma cell proliferation (Fig. 2a), but there was no histological evidence of MCD or lymphoma in the bone marrow. Immunohistochemistry showed a small number of LANA-positive cells (Fig. 2b). Interestingly, ORF59-positive

signals were also found in the cytoplasm of the bone marrow cells (Fig. 2c). In this case, severe anemia and thrombocytopenia were also seen, whereas histology of the bone marrow showed trilineage hematopoiesis. No evidence of hemophagocytosis was found.

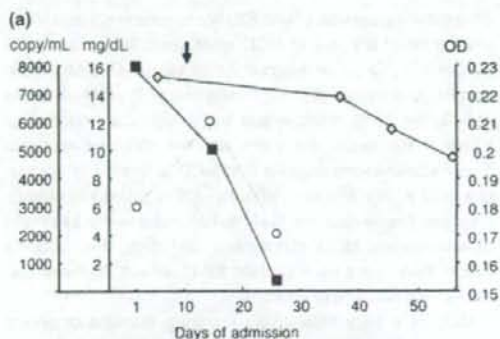
#### Cytoplasmic localization of ORF59 in KSHV-infected PEL cell lines

ORF59 protein is known as a DNA-processing factor of KSHV.<sup>21</sup> During replication of KSHV-DNA in infected cells, ORF59 protein processes DNA synthesis with KSHV-encoded DNA polymerase (ORF9). Thus, ORF59 protein is expressed in the lytic phase of KSHV infection and is required for DNA replication of KSHV. Because the *ORF59* gene has a nuclear localization signal in its sequence, transfection of the *ORF59* gene to mammalian cells results in nuclear localization of the ORF59 protein.<sup>22</sup> However, immunohistochemistry demonstrated that a large number of the ORF59-positive cells in the mantle zone of the MCD lesion expressed ORF59 protein in the cytoplasm (Fig. 1f). Moreover, ORF59-positive cells in the bone marrow also demonstrated cytoplasmic localization of the ORF59 protein (Fig. 2c).

To assess the different subcellular localizations of ORF59 protein in KSHV infection, we investigated expression of the ORF59 protein in KSHV-infected PEL cell lines, TY-1 and BCBL-1, with or without phorbol ester stimulation. An immunofluorescence assay demonstrated that TPA induced expression of ORF59 protein in 30–50% of the cells. The localization of ORF59 protein was predominantly in the nucleus and occasionally in the cytoplasm (Fig. 3).<sup>23</sup> A small portion (<5%) of unstimulated PEL cells also expressed the ORF59 protein but they were located only in the nucleus. Thus, these data suggest that cytoplasmic localization of the ORF59 protein is seen only in lytic KSHV infection.

#### KSHV load in the blood and the link with clinical symptoms

Based on the histology and immunohistological data, KSHV was suggested as being highly activated in this patient. To confirm the activity of KSHV, KSHV load in the blood was monitored. Real-time PCR showed a high titer of KSHV-DNA in the blood ( $8.0 \times 10^3$  copies/mL) on admission (Fig. 4a). However, after treatment with pegylated-liposomal doxorubicin, the KS lesion rapidly regressed and the KSHV load dramatically decreased to  $2 \times 10^2$  copies/mL (Fig. 4a). Serum hIL-6 also decreased from 19.6 pg/mL to 5.2 pg/mL. Retrospective analysis using stored serum samples showed that this patient did not have KSHV IgM antibody, but rather



(b)



**Figure 4** Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV) infection and the clinical course of (a) KSHV load (■; copy/mL), KSHV antibody (◇; optical density (OD); cut-off = 0.1) in the blood, and CRP (○; mg/dL). Liposomal doxorubicin was introduced on day 15 (arrow). (b) Results of immunofluorescence assay. Tetracyanophorbol acetate-stimulated TY-1 cells were stained with the patient's serum as the primary antibody and fluorescein isothiocyanate-conjugated antihuman Igs goat antibody was used as the secondary antibody. The serum contained not only antibodies to latency-associated nuclear antigen (arrows), but also antibodies to lytic KSHV protein (arrowhead). Original magnification:  $\times 400$ .

possessed KSHV IgG antibody (Fig. 4b). Titers of KSHV antibody gradually reduced during admission (Fig. 4a). These data suggest that the KSHV load in the blood was tightly linked with the clinical symptoms of this patient.

#### DISCUSSION

In the present study we demonstrated MCD with a KS lesion in an HIV-positive patient. To the best of our knowledge, this is the first study to immunohistochemically demonstrate differential expression of virus proteins in two KSHV-associated diseases, KS and MCD, in the same section. In addition to

differential expression of lytic KSHV proteins in KS and MCD, several novel features of MCD were seen: (i) accumulation of vIL-6 in FDC; (ii) cytoplasmic localization of ORF59 protein specific to activated KSHV-infected cells; (iii) KSHV-infected cells in the bone marrow; and (iv) a high copy number of KSHV in the blood and a link with the clinical symptoms. These observations suggest that MCD is related to the lytic phase of KSHV infection, whereas KS is related to chronic infection. These data are likely to be useful in the treatment of both KS and MCD, suggesting, as it does, that reducing KSHV load might be important for treatment of these diseases with lytic KSHV infection.

MCD is a very rare disease among immunocompetent individuals, and the incidence among HIV-infected patients is much higher than among the general population.<sup>9</sup> In HIV-infected patients, MCD is generally observed in conjunction with KS.<sup>9</sup> KSHV has been detected frequently in HIV-infected patients with MCD, although KSHV infection is rare among immunocompetent patients with MCD.<sup>13</sup> KSHV infection in MCD was previously shown to differ from that in KS not only with regard to the infected cell type but also viral gene expression.<sup>1-3</sup> The findings of lytic and latent proteins in the present study were compatible with the results reported previously.<sup>1-3</sup>

KSHV-infected cells express various kinds of lytic proteins encoded by KSHV, such as ORF50, ORF59 and K8, in mantle zone B cells in MCD lesions. In contrast, KS cells express only LANA, predominantly in the nucleus, and expression of lytic proteins is rare. In the present study we demonstrated subcellular localization of viral proteins in MCD (B cells) and KS (KS cells). Among the viral proteins, subcellular localization of ORF59 protein is important for recognition of the status of virus infection. Our *in vitro* study (Fig. 3) and previous reports showed that the cytoplasmic expression of ORF59 protein was induced only in lytic infection.<sup>3,23</sup> In the present case, the cytoplasmic expression of ORF59 protein was observed only in the MCD lesion, not the KS lesion, suggesting replication of the virus in the former lesion only. Like ORF59, cytoplasmic expression of LANA in B cells of MCD lesions also suggests the lytic replication of the infected cells. Thus, the present case clearly demonstrated differential expression of viral proteins in two KSHV-associated diseases, suggesting different roles of KSHV in the pathogenesis of KS and MCD.

vIL-6 is thought to play an important role in the pathogenesis of MCD<sup>12,24</sup> and has been shown to act as an autocrine or paracrine factor of lymphoproliferative conditions.<sup>25</sup> vIL-6 has approximately 50% similarity with the hIL-6 gene at the amino acid level,<sup>26</sup> and was previously shown to induce the production of hIL-6 in cells harvested from the lymph node of a patient with MCD.<sup>27</sup> In the present case, cells in the mantle zone of MCD expressed vIL-6 in the cytoplasm. Moreover, vIL-6 was detected in FDC in the germinal center. FDC

trap various antigens in the form of immune complex and present them to B cells,<sup>28</sup> and many viral antigens such as HIV p24 have been detected in FDC in the lymph nodes.<sup>29</sup> This is the first case demonstrating vIL-6 in the FDC of MCD. It was clear that the FDC were not infected with KSHV, because they were negative for LANA. Thus, the staining of vIL-6 in the FDC suggests accumulation of vIL-6-immunocomplex in FDC because of a high level of vIL-6 in the serum or lymph fluid. In this case, hIL-6 was also elevated before pegylated-liposomal doxorubicin administration and an increased number of plasma cells was also detected in the bone marrow cells. Surprisingly, KSHV-infected cells were also detected in the bone marrow. KSHV-positive cells have been reported in the bone marrow of patients with MCD, suggesting that plasmablastic cells or bone marrow stromal cells were positive for KSHV.<sup>30,31</sup> In the present case, KSHV-infected cells in the bone marrow also expressed ORF59 protein in cytoplasm (Fig. 2c). Considering these data, it was suggested that KSHV infection and vIL-6 expression played a role in the pathogenesis of this aggressive case.

MCD has a poor prognosis with a rapidly fatal clinical course.<sup>8</sup> Although there is no standard treatment for MCD, symptomatic cases are often treated with chemotherapy,<sup>32,33</sup> corticosteroids,<sup>33-35</sup> interferon- $\alpha$ ,<sup>36</sup> monoclonal antibody to hIL-6<sup>37-39</sup> or anti CD20 monoclonal antibodies.<sup>40,41</sup> In the present study serum KSHV concentrations were shown to be linked with the clinical symptoms of MCD, and a recent study revealed that antiviral agents against KSHV were effective in three patients with KSHV-associated MCD.<sup>42</sup> In the present case, pegylated-liposomal doxorubicin induced regression of not only KS, but also lymphadenopathy of the MCD lesion. Currently pegylated-liposomal doxorubicin is the treatment of choice for KS,<sup>43</sup> but it has rarely been reported as a treatment for MCD. Administration of pegylated-liposomal doxorubicin has been shown to reduce KSHV load,<sup>44,45</sup> and in the present case administration caused a decrease in KSHV copy number with a reduction in the KS lesion, resulting in a favorable outcome. Thus, pegylated-liposomal doxorubicin had an effect not only on KS in the present case, but also on MCD by reducing the viral load in the blood, suggesting a possible therapy for complications associated with KS and MCD. Antiviral drugs might be effective in reducing the viral load in the blood with MCD, but not KS, and therefore a combination of pegylated-liposomal doxorubicin and antiviral drugs is considered a treatment option for cases of KS with MCD. However, further case studies will be needed to assess the effectiveness of this therapy.

#### ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by Health and Labor Sciences Research Grants on HIV/AIDS and Measures for Intractable

Diseases from the Ministry of Health, Labor and Welfare, Japan (grants H15-AIDS-005 to H.K., and 17243601 to T.S.), a Grant-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, Japan (grant 17590365 to H.K.), and a grant for Research on Health Sciences focusing on Drug Innovation from the Japan Health Sciences Foundation (grant SA14831 to H.K.).

## REFERENCES

- Parravicini C, Chandran B, Corbellino M *et al*. Differential viral protein expression in Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-infected diseases: Kaposi's sarcoma, primary effusion lymphoma, and multicentric Castlemann's disease. *Am J Pathol* 2000; **156**: 743-9.
- Dupin N, Fisher C, Kellam P *et al*. Distribution of human herpesvirus-8 latently infected cells in Kaposi's sarcoma, multicentric Castlemann's disease, and primary effusion lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; **96**: 4546-51.
- Katano H, Sato Y, Kurata T, Mori S, Sata T. Expression and localization of human herpesvirus 8-encoded proteins in primary effusion lymphoma, Kaposi's sarcoma, and multicentric Castlemann's disease. *Virology* 2000; **269**: 335-44.
- Moore PS, Chang Y. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. In: Knipe DM, Howley PM, eds. *Field's Virology*, 4th edn. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, 2001: 2803-33.
- Soulier J, Grollet L, Oksenhendler E *et al*. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-like DNA sequences in multicentric Castlemann's disease. *Blood* 1995; **86**: 1276-80.
- Miller G, Riggsby MO, Heston L *et al*. Antibodies to butyrate-inducible antigens of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in patients with HIV-1 infection. *N Engl J Med* 1996; **334**: 1292-7.
- Antman K, Chang Y. Kaposi's sarcoma. *N Engl J Med* 2000; **342**: 1027-38.
- Casper C. The aetiology and management of Castlemann disease at 50 years: Translating pathophysiology to patient care. *Br J Haematol* 2005; **129**: 3-17.
- Frizzera G, Banks PM, Massarelli G, Rosai J. A systemic lymphoproliferative disorder with morphologic features of Castlemann's disease. Pathological findings in 15 patients. *Am J Surg Pathol* 1983; **7**: 211-31.
- Yoshizaki K, Matsuda T, Nishimoto N *et al*. Pathogenic significance of interleukin-6 (IL-6/BSF-2) in Castlemann's disease. *Blood* 1989; **74**: 1360-67.
- Parravicini C, Corbellino M, Paulli M *et al*. Expression of a virus-derived cytokine, KSHV vIL-6, in HIV-seronegative Castlemann's disease. *Am J Pathol* 1997; **151**: 1517-22.
- Oksenhendler E, Carcelain G, Aoki Y *et al*. High levels of human herpesvirus 8 viral load, human interleukin-6, interleukin-10, and C reactive protein correlate with exacerbation of multicentric castlemann disease in HIV-infected patients. *Blood* 2000; **96**: 2069-73.
- Suda T, Katano H, Delsol G *et al*. HHV-8 infection status of AIDS-unrelated and AIDS-associated multicentric Castlemann's disease. *Pathol Int* 2001; **51**: 671-9.
- Gaidano G, Gioghini A, Gattai V *et al*. Association of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-positive primary effusion lymphoma with expression of the CD138/syndecan-1 antigen. *Blood* 1997; **90**: 4894-900.
- Katano H, Sato Y, Kurata T, Mori S, Sata T. High expression of HHV-8-encoded ORF73 protein in spindle-shaped cells of Kaposi's sarcoma. *Am J Pathol* 1999; **155**: 47-52.
- Katano H, Sata T, Suda T *et al*. Expression and antigenicity of human herpesvirus 8 encoded ORF59 protein in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *J Med Virol* 1999; **59**: 346-55.
- Katano H, Hoshino Y, Morishita Y *et al*. Establishing and characterizing a CD30-positive cell line harboring HHV-8 from a primary effusion lymphoma. *J Med Virol* 1999; **58**: 394-401.
- Renne R, Zhong W, Herndier B *et al*. Lytic growth of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) in culture. *Nat Med* 1996; **2**: 342-6.
- Katano H, Iwasaki T, Baba N *et al*. Identification of antigenic proteins encoded by human herpesvirus 8 and seroprevalence in the general population and among patients with and without Kaposi's sarcoma. *J Virol* 2000; **74**: 3478-85.
- Lallemant F, Desire N, Rozenbaum W, Nicolas JC, Marechal V. Quantitative analysis of human herpesvirus 8 viral load using a real-time PCR assay. *J Clin Microbiol* 2000; **38**: 1404-8.
- Chan SR, Chandran B. Characterization of human herpesvirus 8 ORF59 protein (PF-8) and mapping of the processivity and viral DNA polymerase-interacting domains. *J Virol* 2000; **74**: 10 920-29.
- Chen Y, Clustea M, Ricciardi RP. Processivity factor of KSHV contains a nuclear localization signal and binding domains for transporting viral DNA polymerase into the nucleus. *Virology* 2005; **340**: 183-91.
- Chan SR, Bloomer C, Chandran B. Identification and characterization of human herpesvirus-8 lytic cycle-associated ORF 59 protein and the encoding cDNA by monoclonal antibody. *Virology* 1998; **240**: 118-26.
- Aoki Y, Tosato G, Fonville TW, Pittaluga S. Serum viral interleukin-6 in AIDS-related multicentric Castlemann disease. *Blood* 2001; **97**: 2526-7.
- Chatterjee M, Osborne J, Bestetti G, Chang Y, Moore PS. Viral IL-6-induced cell proliferation and immune evasion of interferon activity. *Science* 2002; **298**: 1432-5.
- Moore PS, Boshoff C, Weiss RA, Chang Y. Molecular mimicry of human cytokine and cytokine response pathway genes by KSHV. *Science* 1996; **274**: 1739-44.
- Mori Y, Nishimoto N, Ohno M *et al*. Human herpesvirus 8-encoded interleukin-6 homologue (viral IL-6) induces endogenous human IL-6 secretion. *J Med Virol* 2000; **61**: 332-5.
- Imal Y, Yamakawa M. Morphology, function and pathology of follicular dendritic cells. *Pathol Int* 1996; **46**: 807-33.
- Wenig BM, Thompson LD, Frankel SS *et al*. Lymphoid changes of the nasopharyngeal and palatine tonsils that are indicative of human immunodeficiency virus infection. A clinicopathologic study of 12 cases. *Am J Surg Pathol* 1996; **20**: 572-87.
- Meggetto F, Cesarman E, Mourey L, Massip P, Delsol G, Brousset P. Detection and characterization of human herpesvirus-8-infected cells in bone marrow biopsies of human immunodeficiency virus-positive patients. *Hum Pathol* 2001; **32**: 288-91.
- Bacon CM, Miller RF, Noursadeghi M, Du McNamara CMQ, Dogan A. Pathology of bone marrow in human herpes virus-8 (HHV8)-associated multicentric Castlemann disease. *Br J Haematol* 2004; **127**: 585-91.
- Chronowski GM, Ha CS, Wilder RB, Cabanillas F, Manning J, Cox JD. Treatment of unicentric and multicentric Castlemann disease and the role of radiotherapy. *Cancer* 2001; **92**: 670-76.
- Herrada J, Cabanillas F, Rice L, Manning J, Pugh W. The clinical behavior of localized and multicentric Castlemann disease. *Ann Intern Med* 1998; **128**: 657-62.
- Frizzera G, Peterson BA, Bayrd ED, Goldman A. A systemic lymphoproliferative disorder with morphologic features of Castlemann's disease: Clinical findings and clinicopathologic correlations in 15 patients. *J Clin Oncol* 1985; **3**: 1202-16.