

b. プライマー・プローブ配列 (今年度検出系を作製した 6 種の mRNA 検出系について記す)

EBNA1

F-Primer: cagtagacctgggagcagattca

R-Primer: ctggccctcgtcagacat

Prbe : 6FAM-ccgcgccgtctcctttaagtgtg-iowaBK

EBNA2

F-Primer: ttagagagtggctgctacgcatt

R-Primer: agtgctgggttactggctaagc

Prbe:6FAM-cagtaaccaccagcgccaatctgtct-iBK

LMP1

F-Primer: ccctttgtatactcctactgatgatcac

R-Primer: acccgaagatgaacagcacaat

Prbe : 6FAM-ctcatcgctctctggaatttgcaagg-i BK

LMP2A

F-Primer: aagaagcgggcagaggaagt

R-Primer: ggcggtcacaacggtactaac

Prbe : 6FAM-atccagtatgcctgcctgtaattgtgtgc-iBK

LMP2B

F-Primer: gggaggccgtgctttagg

R-Primer: ggcggtcacaacggtactaac

Prbe : 6FAM-atccagtatgcctgcctgtaattgtgtgc-iBK

EBER2

F-Primer: aacgctcagtgcggtgcta

R-Primer: gaatcctgacttgcaaatgctcta

Prbe : 6FAM-cgaccggaggtcaagtcccgg-iowaBK

c. RT-PCR 条件

使用機器 : ABI7300

Primer 濃度 : 0.5  $\mu$ M

Probe 濃度 : 0.2  $\mu$ M

反応液組成

RNA 8  $\mu$ l

2X Buffer 10  $\mu$ l

Primer, Probe 0.6  $\mu$ l

Taq 酵素 0.4  $\mu$ l

RT 酵素 0.4  $\mu$ l

H<sub>2</sub>O 0.6  $\mu$ l

Total 20  $\mu$ l

反応条件

RT 反応 42°C5 分

Denature 95°C10 秒

PCR 反応 95°C5 秒, 60°C20 秒

45 サイクル

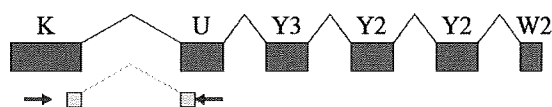
(倫理面への配慮)

倫理面の配慮が必要と考えられる研究は行わなかった。

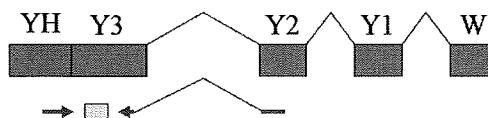
## C : 結果

1. EBV 潜伏感染遺伝子 mRNA 検出系の作製  
EBV ゲノム DNA を検出せず、各潜伏感染遺伝子 mRNA を特異的に検出できるように、エクソンの上流と下流にイントロンを挟むようにプライマーを設定し、エクソン内にプローブを設定した (下図参照)。この結果、EBV DNA からのシグナルは陰性で、各潜伏感染遺伝子 mRNA のみを検出することが可能となる。実際に EBV 潜伏感染細胞と EBV 陰性細胞を使用して確認したところ、EBV 潜伏感染遺伝子 mRNA を特異的に検出できる事が示された。

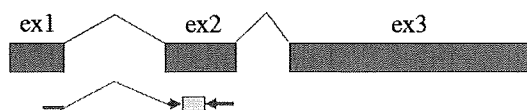
EBNA1 mRNA 定量系



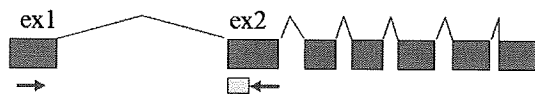
EBNA2 mRNA 定量系



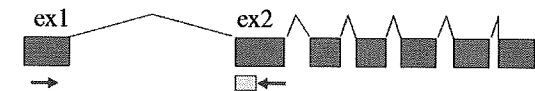
LMP1mRNA 定量系



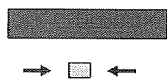
## LMP2A mRNA 定量系



## LMP2B mRNA 定量系



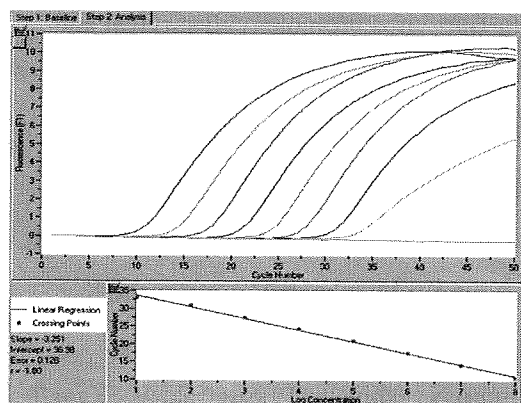
EBER2 mRNA 定量系に関しては、下図のようにイントロンを挟んだ形でプライマーを設定できないため、EBER2 mRNA の定量を行う場合には、サンプル RNA を 2 度十分に DNase 処理した後に RT-PCR を行うことで、ゲノム DNA に邪魔されず EBER2 を検出することが可能だった。



2. 作製した mRNA 定量系の交差反応性確認  
作製した *in vitro* 合成 RNA を使用し、各定量系の交差反応性を検討したところ、作製した 6 種類の定量系は特異的に目的とするウイルス RNA を検出することが可能な事を確認した。

### 3. 作製した mRNA 定量系の感度検定

作製した *in vitro* 合成 RNA を使用し、各定量系の感度検定を行ったところ、作製した 6 種類の定量系はすべて 10 copies/reaction の検出感度を持つ事を確認した。下図は 1 例として EBNA1 mRNA の感度検定を行った際の検量線を示す。



## D: 考 察

CAEBV は予後不良で、適切な治療が行われないとリンパ腫、多臓器不全、血球貪食症候群、などにより、数年から十数年でそのほとんどが死亡する。確立された治療法はないが、近年、造血幹細胞移植で完治した症例が報告され注目されている。合併症が少ない早期に移植すると予後が良いとされるが、急激に悪化する症例が多い事と移植関連死亡が多いことから、移植時期の決定には困難が付きまとう。したがって、造血幹細胞移植により CAEBV を治療する際、適切な時期に移植するためには病勢を測る客観的な指標が必要である。一方、患者末梢血中には CAEBV の原因細胞である EBV 潜伏感染 T/NK 細胞が持続的に検出されるため、細胞中に発現する EBV 潜伏感染遺伝子の種類・発現量と病状との間に関係があれば移植時期を確定するための有力な指標になる可能性がある。

潜伏感染遺伝子 12 種類の定量 PCR 系を確立し、感染細胞中に発現する潜伏感染遺伝子の種類と発現量を経時的に測定して病勢との比較を行うことを目的に研究を行い、6 種類の EBV 潜伏感染遺伝子定量系の作製をとバリデーション作業を終了している。今後、目標とする遺伝子の定量系作製を完了し、患者末梢血中に含まれる EBV 感染細胞中に発現する EBV 潜伏感染遺伝子の種類と量を経時的に測定し、受診の際に行う臨床検査結果との比較から、病勢と感染細胞中に発現する潜伏感染遺伝子の種類・量との間の関係を検討を行う予定である。

一方、我々は EBV 感染リンパ腫細胞中に発現する miRNAs がリンパ腫細胞の成立と関連していることを報告している (BLOOD, 114:3265-3275, 2009)。CAEBV 患者では、発症前の EBV 感染細胞からリンパ腫細胞が出

現すると考えられるが、リンパ腫細胞成立に miRNAs と EBV 潜伏感染遺伝子が協調的に働いている可能性があり、同時に検討を行う予定である。

CAEBV 研究は我が国が先頭を走っているため、本研究の成果は国際的に活用され治療成績向上に貢献すると期待される。

#### E: 結 論

CAEBV の病勢を測る指標を得る目的で研究を行った。潜伏感染遺伝子 12 種類の定量 PCR 系を確立し、感染細胞中に発現する潜伏感染遺伝子の種類と発現量を経時的に測定して病勢との関連の有無を検討する事を目指し、本年度は 6 種類の EBV 潜伏感染遺伝子定量系の作製をとバリデーション作業を終了した。

F: 健康危険情報      なし

#### G: 研究発表

##### 論文発表

1. Nagasawa M., Ogawa K., Nagata K., Shimizu N. Serum granulysin as a possible biomarker of NK cell neoplasm. *Br J Haematol.* 2009 Nov 13. [Epub ahead of print]
2. Yajima M, Imadome KI, Nakagawa A, Watanabe S, Terashima K, Nakamura H, Ito M, Shimizu N, Yamamoto N, Fujiwara S. T Cell-Mediated Control of Epstein-Barr Virus Infection in Humanized Mice. *J Infect Dis.* 2009 Oct 15. [Epub ahead of print]
3. Iwata S, Wada K, Tobita S, Gotoh K, Ito Y, Demachi-Okamura A, Shimizu N, Nishiyama Y, Kimura H. Quantitative Analysis of Epstein-Barr Virus (EBV)-Related Gene Expression in Patients with Chronic Active EBV Infection. *J Gen Virol.* 2009 Sep 30. [Epub ahead of print]
4. Yamanaka Y., Tagawa H., Takahashi N., Watanabe A., Guo Y-M., Iwamoto K., Yamashita J., Saitoh H., Kameoka Y., Shimizu N., Ichinohasama R., and Sawada K. Aberrant overexpression of microRNAs activate AKT signaling via down-regulation of tumor suppressors in natural killer-cell lymphoma /leukemia. *Blood* 114: 3265 – 3275, 2009
5. Moriai S, Takahara M, Ogino T, Nagato T, Kishibe K, Ishii H, Katayama A, Shimizu N and Harabuchi Y. Production of Interferon- $\gamma$ -Inducible Protein-10 and Its Role as an Autocrine Invasion Factor in Nasal Natural Killer/T-Cell Lymphoma Cells. *Clin Cancer Res.* 15(22):6771-6779, 2009
6. Miyagawa Y., Kiyokawa N., Ochiai N., Imadome K., Horiuchi Y., Onda K., Yajima M., Nakamura H., Katagiri Y., Okita H., Morio T., Shimizu N., Fujimoto J. and Fujiwara S. Ex vivo expanded cord blood CD4 T lymphocytes exhibit a distinct expression profile of cytokine-related genes from those of peripheral blood origin. *Immunology* 128:405-419, 2009.
7. Imadome K, Shimizu N, Yajima M, Watanabe K, Nakamura H, Takeuchi H, Fujiwara S. CD40 signaling activated by Epstein-Barr virus promotes cell survival and proliferation in gastric carcinoma-derived human epithelial cells. *Microbes Infect.* 11(3):429-433, 2009 .
8. Ono Y., Terashima K., Liu A., Yokoyama M., Yokoshima K., Mizukami M., Watanabe K., Mochimaru Y., Furusaka T., Shimizu N., Yamamoto N., Ishiwata T., Sugisaki Y., Yagi T.

and Naito Z. Follicular dendritic cell sarcoma with microtubuloreticular structure and virus-like particle production *in vitro*

*Pathol.Int.* **59**: 332-344, 2009

9. Miyanaga M, Sugita S, Shimizu N, Morio T, Miyata K, Maruyama K, Kinoshita S, Mochizuki M. A significant association of viral loads with corneal endothelial cell damage in cytomegalovirus anterior uveitis. *Br. J. Ophthalmol.* 2009, in press.

10. 山本 紗也香、杉田 直、森尾 友宏、清水 則夫、望月 學 眼部帯状疱疹の涙液中の水痘・帯状疱疹ウイルスDNA量 臨床眼科 2009; 63: 707-710.

#### 国内学会発表

1. 清水一史, 渡辺 哲, 佐々木 裕, 芝田敏克, 井口晃史, 下平義隆, 田中寅彦, 黒田和道, 清水則夫, 山本直樹, 山本樹生、重度免疫不全NOGマウスにおけるインフルエンザウイルス感染「強毒変異ウイルスの出現」第57回 日本ウイルス学会 学術集会 10月、東京

2. 今留謙一、矢島美彩子、川野布由子、清水則夫、中村浩幸、渡辺哲、寺嶋一夫、山本直樹、藤原成悦 EBウイルス関連T/NKリンパ増殖性疾患モデルマウスの作製と解析、第57回 日本ウイルス学会 学術集会 10月、東京

3. 矢島美彩子、今留謙一、渡辺哲、寺嶋一夫、中村浩幸、清水則夫、山本直樹、藤原成悦 EBV感染ヒト化NOGマウスモデルにおけるT細胞応答、第57回 日本ウイルス学会 学術集会10月、東京

4. 清水則夫、森尾友宏 造血幹細胞移植後生物モニタリングシステムの改良と普及に向けて、平成21年度 第2回班会議「同種造血幹細胞移植成績の一元化登録と国際間の

共有及びドナーとレピシエントのQOLを視野に入れた成績の向上に関する研究」班 1月東京

5. 杉田 直、堀江真太郎、山田由季子、望月學、渡邊 健、片山未来、清水則夫 感染性眼内炎の眼内液を用いた細菌 Broad-range 定量PCRシステムの有用性の検討 第113回日本眼科学会総会 4月東京

#### 国際学会発表

Sugita S, Shimizu N, Watanabe K, Katayama M, Horie S, Takase H, Sugamoto Y, Mochizuki M. Use of broad-range quantitative polymerase chain reaction in the diagnosis of bacterial endophthalmitis. 10<sup>th</sup> International Ocular Inflammation Society Congress, Prague, 5/30-6/2, 2009.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

慢性活動性EBウイルス感染症の実態解明と診断法確立に関する研究  
研究分担者 東京医科歯科大学・大学院・発生発達病態学分野 森尾友宏)

研究要旨

慢性活動性EBV感染症は予後不良のEBV-DNA量の増加とT細胞あるいはNK細胞への感染を特徴とする疾患であるが、その原因や最適な根治的治療についてはまだ明らかになっていない。この研究では当科で加療をおこなった11名のCAEBV患者についてその臨床像、検査データ、免疫学的データ、EBVコピー数、EBV感染細胞、EBV特異的T細胞などにつき検討した。

A. 研究目的

CAEBVは、持続あるいは再発する伝染性単核症様症状と、末梢血および病変組織におけるEBVDNA 量の増加を特徴とする予後不良の疾患である。

本疾患においては発症機構や病態の解明が不十分であるため、疾患概念が不明確であり、造血幹細胞移植以外に根本的治療法はない。

成人症例と小児症例が疾患として同一であるかどうかについても議論がある。本研究では、CAEBV の患者数と治療実態に関する調査を行うとともに、小児科で実際に診療を行い、感染細胞を解析する立場とし、CAEBVの臨床像を正確に記載し、患者由来EBV 感染細胞の特性を調べることで、病態を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

1) 当院CAEBV患者における臨床データの集積  
過去に診療し、加療を行った11名の患者について、その臨床像、EBVコピー数、感染細胞、治療に対する反応などについて、データベースを構築する。

2) ウイルス感染細胞の同定  
B, CD4, CD8, NK細胞に精製分離し、その後real time PCRを行うことにより、感染細胞を同定した。また、研究分担者により開発された方法を用いてFACSにて解析できるシステムを構築する。

3) ウイルスに対する特異的T細胞応答の解析  
健康人及び患者の末梢血リンパ球に、EBNA1, BZLF1ペプチドで刺激後にIFN- $\gamma$  capture assayを用いて、特異的応答を示す細胞群を同定する。  
(倫理面への配慮)

本研究は、患者検体を用いて解析を行う。診療に役立つ情報が得られるが、採取量及び、採取時の苦痛には十分な配慮を行う。また

C. 研究結果

1) 当院CAEBV患者における臨床データの集積  
11症例の情報を収集した。Hydroa vacciniformeを示すものが3名、発熱・多臓器障害で発症したものが6名、蚊刺過敏症で発症したものが2名であった。またNK細胞に感染しているものが5名、 $\gamma$   $\delta$  T細胞に感

染しているものが2名、T細胞に感染しているものが4名であった。その後2例はリンパ腫を発症していた。C HOP, High dose AraCに対する反応は一時的に認めるがコピー数はゼロには至らず、7例で移植を行い、3例が生存している。

2) ウイルス感染細胞の同定

Immunomagnetic beads法による細胞精製とreal time PCRによりウイルス感染細胞の同定が可能となっている。一方FACSによる解析は、single color解析では十分な解像度を得るまでに至っているが、multi-colorではまだ改善の余地がある。

3) 特異的T細胞免疫応答の解析

健康人ではCD4, CD8 T細胞共に0.1-0.5%にEBNA1 specificあるいはBZLF1 specific T細胞が認められた。その%は個人差が大きく、またEBNA1 specific, BZLF1 specific T細胞の%は必ずしも合致しなかった。

D. 考察

今回の解析では、小児におけるCAEBV患者の実態（臨床像及び検査データ）が比較的詳細に明らかになったものと思われる。リンパ腫に至った症例も2例あり、また経過を追って症状が加わり、あるいは悪化する可能性があり、経過を予測できる指標の確立も重要と思われる。

また成人症例との異同については、今後の大きな課題であると考え。小児疾患においてはまた、遺伝子異常症の可能性も念頭において解析にあたる必要性を感じている。

E. 結論

当院小児科において診療を行った11症例について、その臨床像、検査データ、EBV感染細胞などについて詳細な解析を行った。

F. 健康危険情報

報告すべき健康被害、健康危険情報はない。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Albert MH, Bittner TC, Nonoyama S, Notarangelo LD, Burns S, Imai K, Espanol T, Fasth A, Pellier I, Strauss G, **Morio T**, Gathmann B, Noordzij JG, Fillat C, Hoenig M, Nathrath M, Meindl A, Pagel P, Wintergerst U, Fischer A, Thrasher AJ, Belohradsky BH, Ochs HD. X-linked thrombocytopenia (XLT) due to WAS mutations: Clinical characteristics, long-term outcome, and treatment options. *Blood*. 2010 Feb 19. [Epub ahead of print]
  2. Oba D, Hayashi M, Minamitani M, Hamano S, hisaka N, Kikuchi A, Kishimoto H, Takagi M, **Morio T**, Mizutani S. Autopsic study of cerebellar degeneration in siblings with ataxia-telangiectasia-like disorder (ATLD). *Acta Neuroathologica*. 2010. (in press).
  3. Inoue H, Takada H, Kusuda T, Goto T, Ochiai M, Kinjo T, Muneuchi J, Takahata Y, Takahashi N, **Morio T**, Kosaki K, Hara T. Successful cord blood transplantation for a CHARGE syndrome with CHD7 mutation showing DiGeorge sequence including hypoparathyroidism. *Eur J Pediatr*. 2010 Jan 6. [Epub ahead of print]
  4. Nanki T, Takada K, Komano Y, **Morio T**, Kanegane H, Nakajima A, Lipsky PE, Miyasaka N. Chemokine receptor expression and functional effects of chemokines on B cells: implication in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2009 Oct 5;11(5):R149. [Epub ahead of print]
  5. Miyanaga M, Sugita S, Shimizu N, **Morio T**, Miyata K, Mochizuki M. A significant association of viral loads with corneal endothelial cell damage in cytomegalovirus anterior uveitis. *Br J Ophthalmol*. 2009 Sep 3. [Epub ahead of print]
  6. Hasegawa D, Kaji M, Takeda H, Kawasaki K, Takahashi H, Ochiai H, **Morio T**, Omori Y, Yokozaki H, Kosaka Y. Fatal degeneration of specialized cardiac muscle associated with chronic active Epstein-Barr virus infection. *Pediatr Int*. **51**:846-8, 2009.
  7. Miyagawa Y, Kiyokawa N, Ochiai N, Imadome K-I, Horiuchi Y, Onda K, Yajima M, Nakamura H, Katagiri YU, Okita H, **Morio T**, Shimizu N, Fujimoto J, Fujiwara S. *Ex vivo* expanded cord blood CD4 T lymphocytes exhibit a distinct expression profile of cytokine-related genes from those of peripheral blood origin. *Immunology* **128**:405-419, 2009.
  8. Morinishi Y, Imai K, Nakagawa N, Sato H, Horiuchi K, Ohtsuka Y, Kaneda Y, Taga T, Hisakawa H, Miyaji R, Endo M, Oh-Ishi T, Kamachi Y, Akahane K, Kobayashi C, Tsuchida M, **Morio T**, Sasahara Y, Kumaki S, Ishigaki K, Yoshida M, Urabe T, Kobayashi N, Okimoto Y, Reichenbach J, Hashii Y, Tsuji Y, Kogawa K, Yamaguchi S, Kanegane H, Miyawaki T, Yamada M, Ariga T, Nonoyama S. *J. Pediatr*. **155**: 829-833, 2009.
  9. **Morio T**, Takahashi N, Watanabe F, Honda F, Sato M, Takagi M, Imadome KI, Miyawaki T, Delia D, Nakamura K, Gatti RA, Mizutani S. Phenotypic variations between affected siblings with ataxia-telangiectasia: ataxia-telangiectasia in Japan. *Int. J. Hematol*. **90**:455-462, 2009.
  10. Isoda T, Ford A, Tomizawa D, van Delft F, De Castro DG, Mitsuiki N, Score J, Taki T, Takagi M, **Morio T**, Saji H, Greaves M, Mizutani S. Immunologically silent cancer clone transmission from mother to offspring. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **106**: 17882-5. 2009.
  11. Uchisaka N, Takahashi N, Sato M, Kikuchi A, Mochizuki S, Imai K, Nonoyama S, Ohara O, Watanabe F, Mizutani S, Hanada R. **Morio T.**: Two brothers with ataxia-telangiectasia-like disorder with lung adenocarcinoma. *J. Pediatr*. **155**:435-438, 2009.
  12. Futagami Y, Sugita S, Fujimaki T, Yokoyama T, **Morio T**, Mochizuki M. Bilateral anterior granulomatous keratouveitis with sunset glow fundus in a patient with autoimmune polyglandular syndrome. *Ocul Immunol Inflamm*. **17**:88-90, 2009.
  13. Takahashi N, Matsukoto K, Saito H, Nanki T, Miyasaka N, Kobata T, Azuma M, Lee S-K, Mizutani S. **Morio T.**: Impaired CD4 and CD8 effector function and decreased memory T-cell populations in ICOS deficient patients. *Immunol*. **182**:5515-5527, 2009.
  14. Yoshida H, Kusuki S, Hashii Y, Ohta H. **Morio T**, Ozono K.: *Ex vivo*-expanded donor CD4 T lymphocyte infusion against relapsing neuroblastoma: A transient Graft-versus-Tumor effect. *Pediatr Blood Cancer* **52**:895-897, 2009
2. 学会発表  
(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)
1. Tomohiro Morio : Infusion of Ex-vivo Expanded Donor T-Lymphocytes for Intractable Infections and Leukemia. 第32回日本造血細胞移植学会シンポジウム「Cell Therapy for Intractable Infection

s and Malignant Diseases」2010年2月19日～20日、浜松

2. Tomohiro Morio: Common variable immunodeficiency (CVID): Molecular basis of immune dysfunction The 2nd Symposium for PID in Asia February 4 - 5, 2010 Kazusa Academia Hall

3. 森尾友宏: 分類不能型免疫不全症の全国調査と亜群同定。第3回日本免疫不全症研究会 2010年1月31日、東京

4. 森尾友宏、渡辺信和、高橋聡、中内啓光: HL A-Flow法による SCID-臍帯血ミニ移植後のキメリズム解析 厚生労働省難治性疾患克服研究事業 原発性免疫不全症候群に関する調査研究班 平成21年度班会議2010年1月29日 東京

5. 梶原道子、森尾友宏: *ex vivo* 増殖臍帯血 T 細胞 輸注療法臨床試験プロトコール 厚生労働科学研究免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 「臍帯血を用いる造血幹細胞移植技術の高度化と安全性確保に関する研究」班平成21年度第二次班会議、2010年1月30日、東京

6. 清水則夫、森尾友宏: 平成21年度厚生労働科学研究(免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業) 「同種造血幹細胞移植成績の一元化登録と国際間の共有およびドナーとレシピエントのQOLを視野に入れた成績の向上に関する研究」研究代表者 谷口修一、2010年1月31日 東京

7. 清河信敬、恩田恵子、今留謙一、矢島美佐子、中村宏紀、片桐洋子、森尾友宏、藤本純一郎、藤原成悦: ドナーリンパ球輸注を目的とした臍帯血由来活性化 CD4 細胞の性状解析、第39回日本免疫学会総会・学術集会、2009年12月2日～4日、大阪

8. 森尾友宏、水谷修紀: Basic to Clinical: Artemis/Cernunos/Lig4 deficiency、第51回日本小児血液学会、2009年11月27日～29日、東京

9. 満生紀子、遠藤明史、小野敏明、高木正稔、長澤正之、森尾友宏、水谷修紀: 当科における原発性免疫不全症に対する骨髄非破壊の前処置による移植の検討、第51回日本小児血液学会 2009年11月27日～29日、東京

10. 遠藤明史、満生紀子、小野敏明、高木正稔、長澤正之、森尾友宏、水谷修紀: RISTにて臍帯血移

植後、TMA、血球貪食症候群を発症し死亡した X 連鎖重症複合型免疫不全症の1例、第51回日本小児血液学会、2009年11月27日～29日、東京

11. 森尾友宏: *ex vivo* 増殖臍帯血 T 細胞輸注療法の臨床研究、政策創薬総合研究事業平成21年度「臍帯血 DLI の実用化と細胞治療製剤の医薬品化へ向けてのトランスレーショナルリサーチ」(研究代表者 藤原成悦)、2009年10月20日、東京

12. 満生紀子、大川哲平、高橋考治、遠藤明史、青木由貴、小野敏明、落合央、峯岸志津子、高木正稔、梶原道子、長澤正之、森尾友宏、水谷修紀: RISTによる非血縁臍帯血移植を施行した SCID3 例、小児 H-SCT 研究会、2009年10月9日、東京

13. 長澤正之、小野敏明、遠藤明史、青木由貴、磯田健志、富澤大輔、高木正稔、梶原道子、森尾友宏、水谷修紀: 当科における同種造血幹細胞移植(1995-2007年)の検討、第112回日本小児科学会学術総会、2009年4月17日～19日、奈良

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

APPLICATION OF SYNOVIUM-DERIVED MESENCHYMAL STEM CELLS (MSCs) FOR CARTILAGE OR MENISCUS REGENERATION (米国国際特許出願中YCT-1301) 出願人: 関矢一郎、発明者: 宗田大、森尾友宏、清水則夫、黒岩保幸

##### 2. 実用新案登録

該当なし

##### 3. その他

該当なし

平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金 分担研究報告書  
(難治性疾患克服研究事業 H21-難治-一般-094) 研究

研究課題名(公募番号):

慢性活動性 EB ウイルス感染症の実態解明と診断法確立に関する研究( 21210201 )

CAEBV の患者発生状況と治療実態に関する研究

研究代表者 藤原成悦

分担研究者 脇口 宏

研究要旨

慢性活動性 EB ウイルス感染症(Chronic active EBV infection; CAEBV)は、T 細胞およびNK細胞への EB ウイルス感染に基づく腫瘍性リンパ増殖症で、数年経過で進行し致死的となる重症難治性疾患である。この疾患の現況を把握する目的で、アンケートによる全国調査を行い、患者発生状況を検討した。2005 年～2009 年の報告患者数は、平均 23.8 人/年で、2001～2004 年度までの 20 人～27 人(平均 23.8 人/年)と同等であった。診療科は小児科から 48%が、内科から 47%が、それぞれ症例の報告があり、2001～2004 年と比べ、内科からの報告が増加し、小児科に報告数で肩を並べていた。患者の診断時年齢は 6 歳～20 歳にピークがあり、発症年齢は多い順に 0～5 歳、6～10 歳、11 歳～15 歳であり、この疾患が慢性の経過をとること、診断に年余の期間を要する現状などが確認された。さらに 30 歳代～60 歳代にも多くが分布しており、青年・壮年に加えて高齢者の報告も増加する傾向がみとめられた。2005 年～2009 年報告例の平均死亡率は 23.6%で、2001～2004 年の 30.5%よりも低い値となっていた。根治療法は造血幹細胞移植であり、これら治療の進歩が予後改善に貢献している可能性がある。今後、二次調査で詳細を明らかにする予定である。

分担研究者

高知大学小児思春期医学 脇口 宏(教授)

協力研究者

前田明彦(講師)、佐藤哲也(助教)、堂野純孝(助教)、  
久川浩章(講師)、藤枝幹也(准教授)

A.研究目的

慢性活動性 EB ウイルス感染症(Chronic active EBV infection; CAEBV)は、T 細胞およびNK細胞への EB ウイルス感染に基づく腫瘍性リンパ増殖症で、数年経過で進行し致死的となる重症難治性疾患である。患者は主として小児や働き盛りの若年青年層が主体であることから、この疾患の病態解明、治療の開発は

患者個人にとっても、また、社会にとっても極めて重要である。

従来、CAEBV はわが国、韓国、台湾から多数報告例がみられた。近年、ヨーロッパから同疾患患者の報告がなされはじめており、注目度も上がっている。わが国では約 20 年前から熱心に研究されており、学術的にも診療レベルも高く、パイオニア的な役割を担っているこ



とから、本研究の意義は国際的にもきわめて高い。

今回の研究は、CAEBV の実態を把握し、対策に役立てることを目的とした。

## B. 研究方法

小児科、皮膚科、内科、耳鼻咽喉科を対象に、約 2000 の診療科にアンケート調査票を郵送し、発症時および診断時年齢、性別、死亡の有無、診断名、施設名について回答してもらい、CAEBV 患者発生状況を調査し集計した。今回は 2005～2009 年度の一次調査の結果を集計解析し、2001～2004 年の報告と比較検討する。

(倫理面への配慮)

アンケート調査では患者氏名はすべて匿名化し患者の個人情報の守秘を徹底した。

## C-D. 研究結果と考察

2005 年～2009 年の報告患者数は、それぞれ 12 人、19 人、37 人、18 人、33 人、平均 23.8 人/年で、2001～2004 年度までの 20 人～27 人(平均 23.8 人/年)と同等であった。うちわけは、男が 52%、女が 48%で(2001 年～2004 年は男が 44%、女が 56%)あった(図1)。診療科は小児科から 48%が、内科(血液内科が最多)から 47%がそれぞれ症例が報告され、2001～2004 年の小児科 56%、内科 35%と比べ、内科からの報告が増加し(図2)、小児科に報告数で肩を並べていた。患者の診断時年齢は 6 歳～20 歳にピークがあり、発症年齢は(図3)多い順に 0～5 歳、6～10 歳、11 歳～15 歳であり、診断時年齢(図4)とずれがあり、この疾患が慢性の経過をとること、診断に年余の期間を要する現状などが確認された。さらに 30 歳代～60 歳代にも多くが分布しており、青年・

壮年に加えて高齢者の報告も増加する傾向がみとめられた。長期経過を正確に反映はしないが、2005 年～2009 年報告例の平均死亡率は(図5)23.6%で、2001～2004 年の 30.5%よりも低い値となっていた。

## E. 結論

CAEBV はほぼ同様の頻度で発症が認められており、従来小児科で診療されることが圧倒的に多かったが、内科で診療される患者数が増加していた。内科医師の疾患認知度が向上していることが推測された。根治療法は造血幹細胞移植であるが、そのタイミング、ドナー、Regimen 選択など課題が残されているものの、これら治療法の進歩が予後改善に貢献している可能性がある。今後、二次調査で詳細を明らかにする予定である。小児科医師のみならず内科医師に対して、疾患認知度を向上させるべく、継続的な啓発活動を行うことも重要である。治療プロトコルの確立が急がれる。同時に、2002 年に作成した診断指針についても診断感度・特異度について評価が必要な時期にきている。

## F. 健康危険情報 特になし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Uchiyama J, Maeda Y, Takemura I, Chess-Williams R, Wakiguchi H, Matsuzaki S: Blood kinetics of four intraperitoneally-administered therapeutic candidate bacteriophages in healthy and neutropenic mice. *Microbiol Immunol*53:301-304, 2009
- 2) Uchiyama J, Rashel M, Matsumoto T, Sumiyama Y, Wakiguchi H, matsuzaki S: Characteristics of a novel *Pseudomonas*

- aeruginosa bacteriophage, PAJU2, which is generally related to bacteriophage D3. *Virus Res* 139:131-134, 2009
- 3) DOHNO S, MAEDA A, ISHIURA Y, SATO T, FUJIEDA M, WAKIGUCHI H: Diagnosis of infectious mononucleosis caused by Epstein-Barr virus in infants. *Pediatr Internat* (in press)
- 4) 前田明彦, 藤枝幹也, 脇口宏: 世界標準にはるかに及ばないわが国の予防接種体制-水痘ワクチンの2回接種の必要性. *日本医師会雑誌* 138: 694-696, 2009
- 5) 前田明彦, 脇口宏: 特集: 小児の治療指針「水痘、帯状疱疹」小児科診療増刊号(73巻増刊号) (印刷中)
- 6) 前田明彦, 藤枝幹也, 佐藤哲也, 脇口宏: 広範囲血液・尿化学検査、免疫学的検査(3) サイトメガロウイルス(CMV). *日本臨床* (印刷中)
- 7) 佐藤哲也, 前田明彦, 藤枝幹也, 脇口宏: 特集: 小児の治療指針「EBウイルス感染症」小児科診療増刊号(73巻増刊号) (印刷中)
- 8) 前田明彦, 脇口宏: 特集: 小児の治療指針「水痘、帯状疱疹」小児科診療増刊号(73巻増刊号) (印刷中)
- 9) 玉城 渉, 前田明彦, 木原一樹, 山遠 剛, 高杉尚志, 堂野純孝, 佐藤哲也, 藤枝幹也, 小倉英郎, 脇口宏: 妊婦健診で母の梅毒血清反応が陰性であった先天梅毒の1例. *小児感染免疫* 21:357-362, 2009
- 10) 森田 拓, 荒木まり子, 石原正行, 前田明彦, 堂野純孝, 藤枝幹也, 脇口宏, 占部智子, 松本 学: *Campylobacter* 腸炎を契機に急性腎不全を来したIgA腎症の1例. *日本小児腎不全学会雑誌* 29:84-86, 2009
- 11) 脇口 宏: 小児感染症のすべて. II 感染症の原因微生物別に小児感染症を考える. 13. サイトメガロウイルス, EBウイルス. *化学療法の領域* 25(増):1095-1104, 2009
- 12) 久川浩章, 脇口 宏: 小児における抗菌薬の適正使用. *臨床と研究* 86:487-491, 2009
- 13) 脇口 宏: 小児の無菌性髄膜炎. 今日の治療指針 2009(山口徹, 北原光夫, 横井次矢・総編集):1039-1039, 医学書院 2009
- 14) 脇口 宏: 第10章. 感染症, 寄生虫疾患. 細菌感染症 B.1. 髄膜炎菌感染症(1308-1310頁), D.6. 百日咳(1327-1328頁), ウイルス感染症 7. 突発性発疹(1357-1358頁), 8. 急性灰白髄炎(1357-1357頁), 9. コクサッキーウイルス・エコー(ECHO)ウイルス感染症(1359-1360頁). *新臨床内科学*(第9版)(高久文麿, 尾形悦郎, 黒川清, 矢崎義雄・監修), 医学書院 2009
- 15) 脇口 宏, 藤枝幹也: III感染症など 31. インフルエンザ, 32. 麻疹, 33. 風疹. 目で見る小児救急(五十嵐隆・編):132-137, 文光堂 2009
- 16) 脇口 宏: 成人の百日咳. こどもの感染症のみかた(砂川慶介, 森島恒雄, 堤裕幸, 津村直幹・編):123-124, 臨床医薬研究会 2009
- 17) 脇口宏, 藤枝幹也: III感染症など 31. インフルエンザ, 32. 麻疹, 33. 風疹. 目で見る小児救急(五十嵐隆・編) pp132-137, 文光堂 2009
- 18) 脇口宏: 第14章 感染症 A 総論, B ウイルス感染症, C クラミジア感染症, D リケッチア感染症. *標準小児科学*(森川昭廣監修) pp324-353 医学書院 2009
- 19) 脇口宏: 第15章 呼吸器疾患 E 上気道疾患, F 下気道疾患. *標準小児科学*(森川昭

廣監修)pp386-404 医学書院 2009

2. 学会発表

- 1) 石原正行、佐藤哲也、森田拓、石浦嘉人、堂野純孝、前田明彦、藤枝幹也、脇口宏、堤康、久野正貴、田中絵里子、近本裕子、秋岡祐子、服部元史:血清中 EB ウイルスの検出は小児腎移植患者の PTLD 発症の予測因子となるか. 第 44 回日本小児腎臓病学会学術集会、2009 年 6 月、東京
- 2) 前田明彦、佐藤哲也、堂野純孝、脇口宏: シンポジウム:炎症疾患をどう理解するか「EB ウイルス関連血球貪食性リンパ組織球症(EBV-HLH)」。第 41 回日本小児感染症学会 2009 年 11 月福井
- 3) 佐藤哲也、前田明彦、石原正行、高杉尚志、堂野純孝、久川浩章、藤枝幹也、脇口宏、上松一永:低 $\gamma$ -グロブリン血症とBリンパ球減少に慢性活動性 EBV 感染症を合併した 1 女性例. 第 20 回 EB ウイルス感染症研究会、2009 年 3 月、東京

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし

図 1

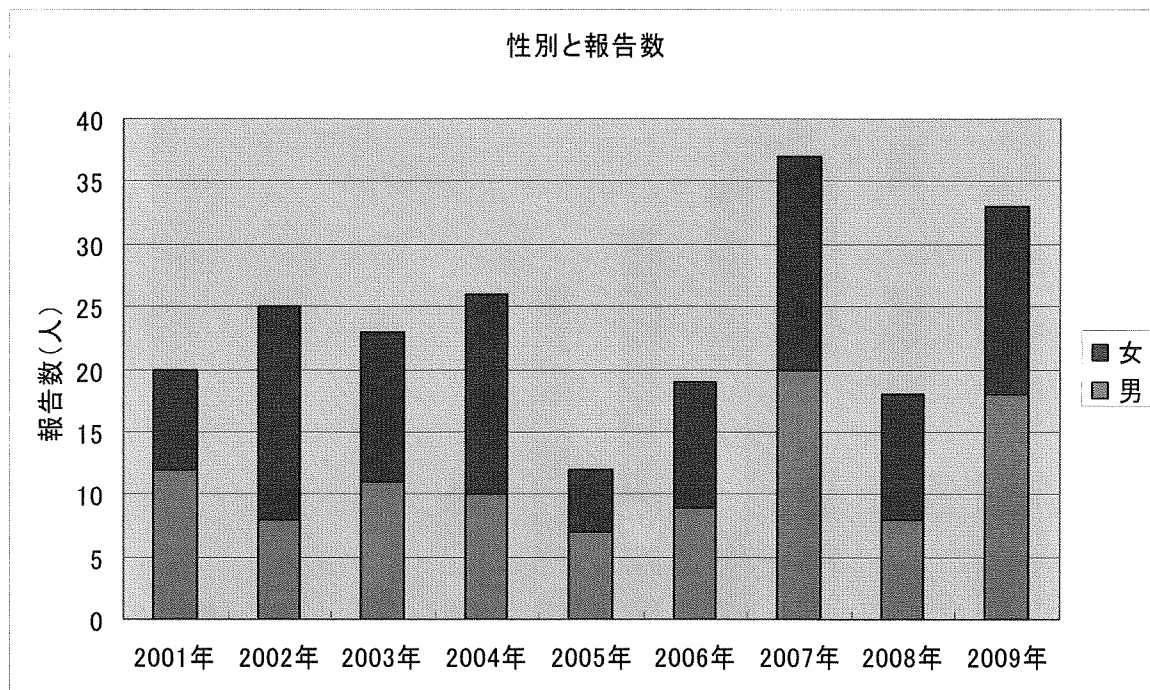


図 2

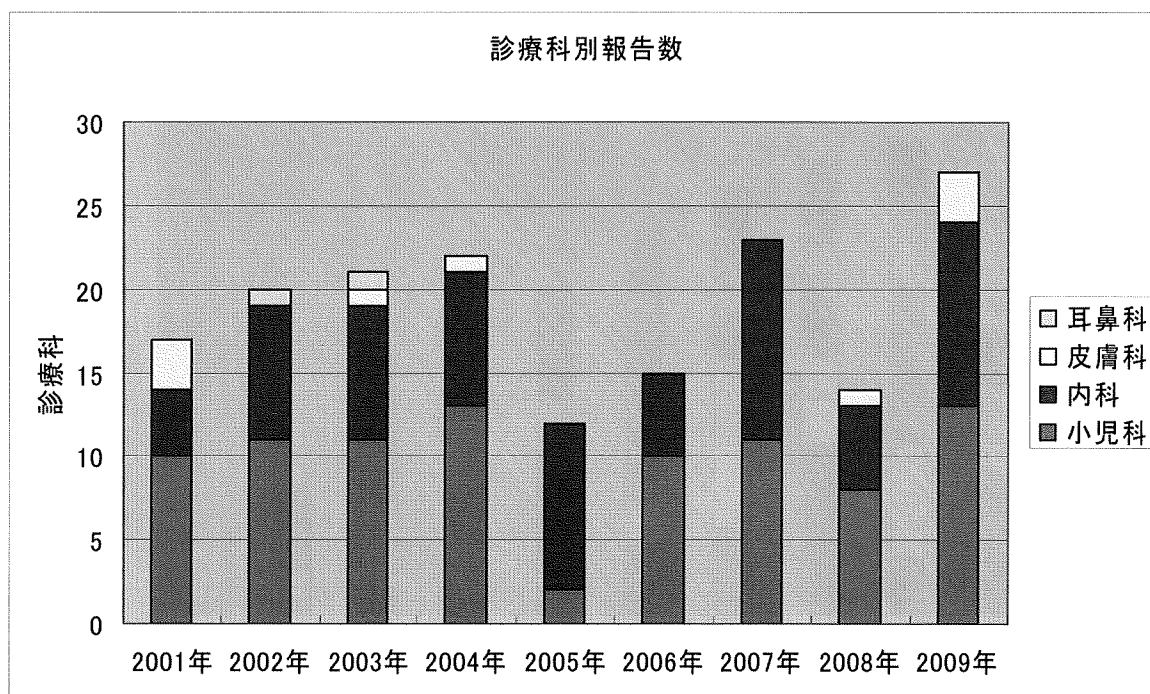


図 3

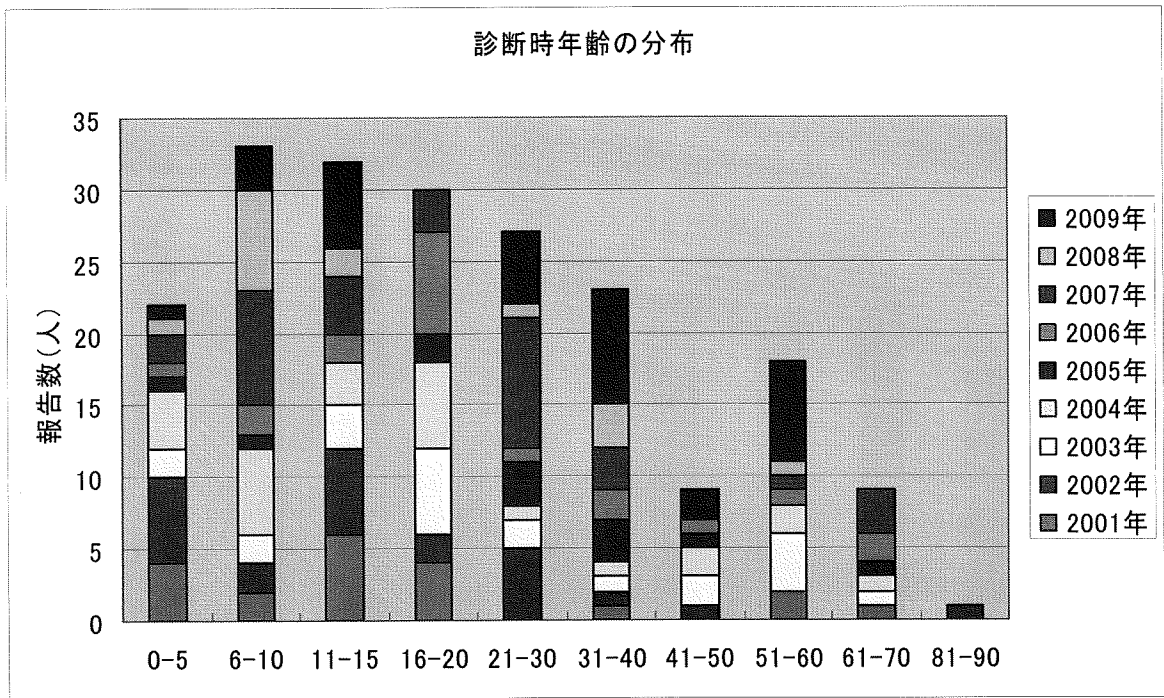


図 4

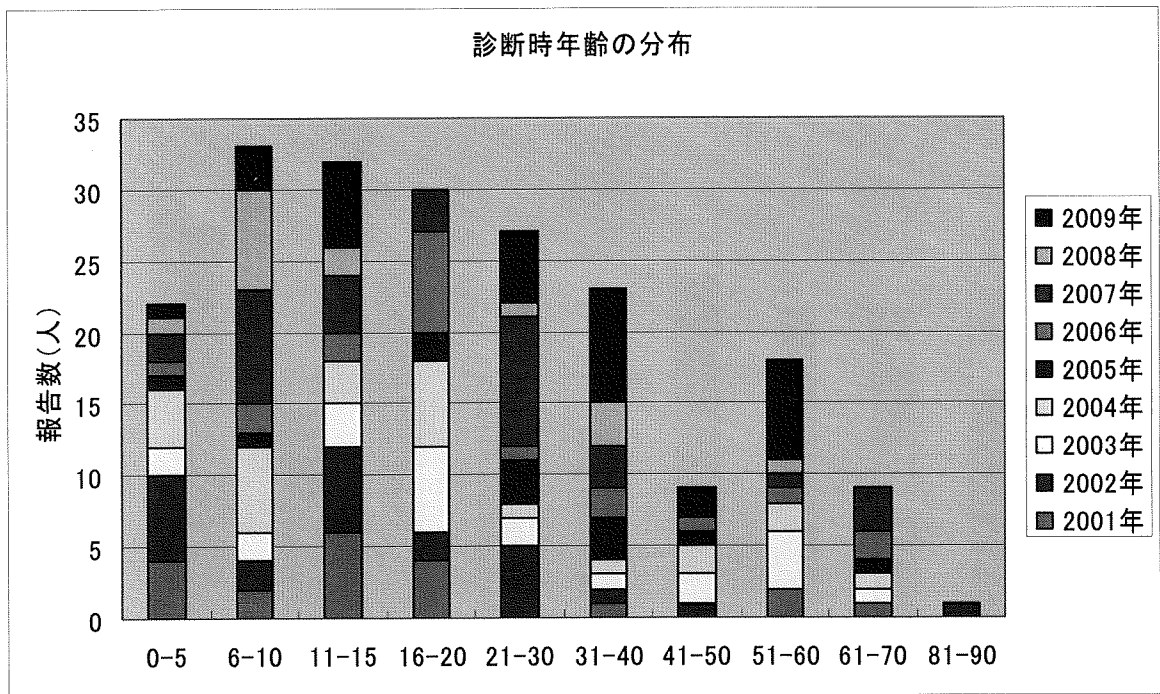
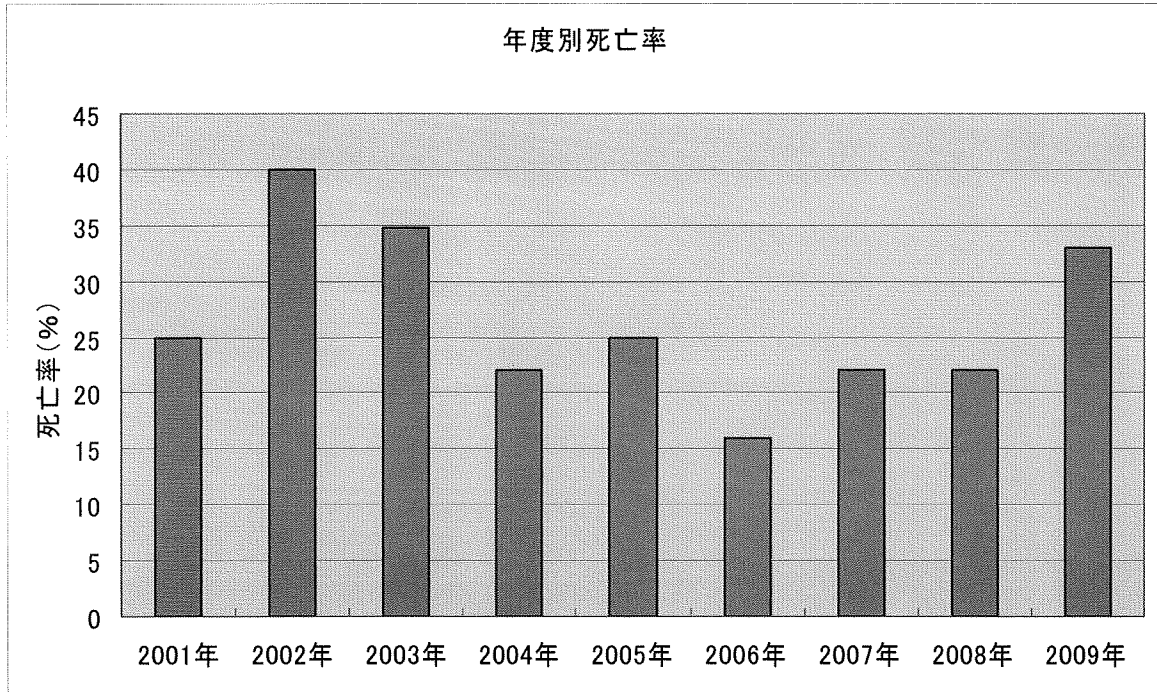


图 5



## CAEBV の病態解析および疾患モデル作製

研究分担者 藤原成悦 国立成育医療研究センター研究所・母児感染研究部・部長

研究協力者 今留謙一 国立成育医療研究センター研究所 母児感染研究部  
矢島美彩子 国立成育医療研究センター研究所 母児感染研究部  
新井文子 東京医科歯科大学医学部血液内科  
山本直樹 国立感染症研究所エイズ研究センター

研究要旨 慢性活動性 EB ウイルス (EBV) 感染症 (CAEBV) には疾患モデル動物が存在せず、発症メカニズム解明や治療薬開発の障害となっている。我々は CAEBV 患者末梢血単核細胞を免疫不全マウス NOD/Shi-*scid*/IL-2R  $\gamma$  c<sup>null</sup> (NOG マウス) に移植することにより、CAEBV 異種移植モデルの作成に成功した。このモデルでは、EBV 感染 T あるいは NK 細胞の増殖と全身臓器への浸潤、latency II 型 EBV 遺伝子発現、高サイトカイン血症など、CAEBV に特徴的な病態が再現されていた。このモデルは、CAEBV 発症メカニズムの解明や新規治療薬 (法) の開発への応用が可能と考えられる。

### A. 研究目的

慢性活動性 EB ウイルス (EBV) 感染症 (CAEBV) は、持続あるいは再発する伝染性単核症様症状、末梢血および病変組織における EBV DNA 量の増加、EBV 感染 T あるいは NK 細胞のモノクローナルあるいはオリゴクローナルな増殖と全身組織への浸潤を特徴とする予後不良の疾患である。患者では EBV に対する T 細胞免疫応答が低下していることを示すデータが得られており、免疫不全の存在が示唆されるが、一方で EBV 感染細胞のモノ (オリゴ) クローナルな増殖のように腫瘍を思わせる所見もあり、発症メカニズムは全く不明である。抗ウイルス薬、細胞治療、免疫抑制療法、免疫賦活療法、化学療法など多くの治療法が試されてき

たが、現在根治を期待できるのは造血幹細胞移植のみである。CAEBV の発症メカニズム解明や治療法開発が遅れている理由の一つは疾患モデル動物の不在である。我々は、以前免疫不全マウスの一系統 NOD/Shi-*scid*/IL-2R  $\gamma$  c<sup>null</sup> (NOG マウス) にヒト造血幹細胞を移植して作成したヒト化マウスを用いて EBV 感染モデルを作成した。今回はその経験にもとづき、NOG マウスに CAEBV 患者末梢血単核細胞を移植することにより CAEBV の異種移植モデルを作成することを試みた。

### B. 研究方法

1. NOD/Shi-*scid*/IL-2R  $\gamma$  c<sup>null</sup> (NOG マウス)  
NOG マウスは NOD/Shi-*scid* マウスと、IL-2 受容体コモン  $\gamma$  鎖ノックアウトマウ

スを掛け合わせたもので、造血幹細胞を含めたヒト造血系細胞の生着に最も適した免疫不全マウスの一つである。雌 6~8 週齢の NOG マウスを実験動物中央研究所より購入し、国立感染症研究所無菌飼育室で飼育した。

## 2. CAEBV 患者末梢血単核細胞の移植

末梢血より Ficoll 比重遠心法により単核細胞を分離し、 $1 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$  細胞を尾静脈より注射した。移植後定期的に、末梢血中の EBV DNA 量およびヒト CD45<sup>+</sup> 細胞数を測定し、EBV 感染細胞生着の指標とした。

## 3. EBV の DNA 定量および遺伝子発現解析

EBV DNA は木村らの方法を用いてリアルタイム PCR 法により測定した。EBV 遺伝子の発現解析は、RT-PCR 法、免疫化学染色、in situ hybridization (EBER の場合) によった。

## 4. リンパ球解析

表面マーカー発現解析は、ベックマン・コールター社 Cytomics FC500 を用いて行った。種々のリンパ球分画を Miltenyi 社磁気ビーズを用いて単離した。

## 5. サイトカイン定量

ELISA 法によりヒトサイトカインを特異的に定量した。

### (倫理面への配慮)

本研究は直接ヒトを対象とする医療行為を含まないが、CAEBV 患者由来ヒト細胞を利用するため、ヘルシンキ宣言に則った倫理的配慮を必要とする。患者本人あるいは保護者に対して、本研究に関する十分な説明を文書と口頭で行い、自由意思による同意書への署名を得ることでよりインフォームドコンセントを取得し

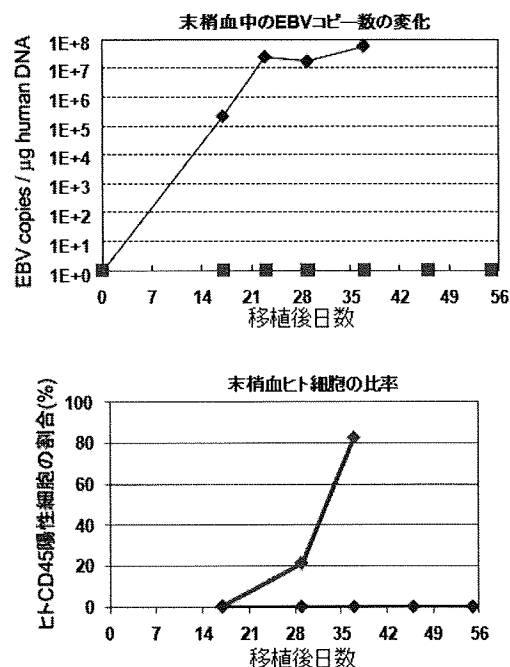


図 1. CAEBV 患者末梢血単核細胞移植後のマウス末梢血における EBV DNA 量 (上) 及びヒト CD45<sup>+</sup> 細胞の率 (下) の変化

た。試料および臨床情報は匿名化され、患者の個人情報には厳重に管理された。動物実験においては、動物実験指針を遵守し、動物愛護の観点から十分な配慮をした。本研究は国立成育医療研究センターおよび国立感染症研究所の倫理委員会および実験動物委員会の承認を得ている。

## C. 研究結果

### 1. CAEBV 患者由来 EBV 感染 T 及び NK 細胞の NOG マウスへの生着

CD4<sup>+</sup>細胞感染型 2 例、CD8<sup>+</sup>細胞感染型 2 例、 $\gamma\delta$ T 細胞感染型 2 例、NK 細胞感染型 3 例、計 9 例の CAEBV 患者から末梢血単核細胞を分離して NOG マウスに移植したところ、全例において EBV 感染細胞が生着した。移植後 3~10 週間後にヒト CD45<sup>+</sup> 細胞が増加し始め、ほぼ同時に EBV DNA 量も増加し、高いものでは  $1 \times 10^7$  copies/ $\mu$ g DNA に達した。代表的 1 例 (CD8<sup>+</sup>



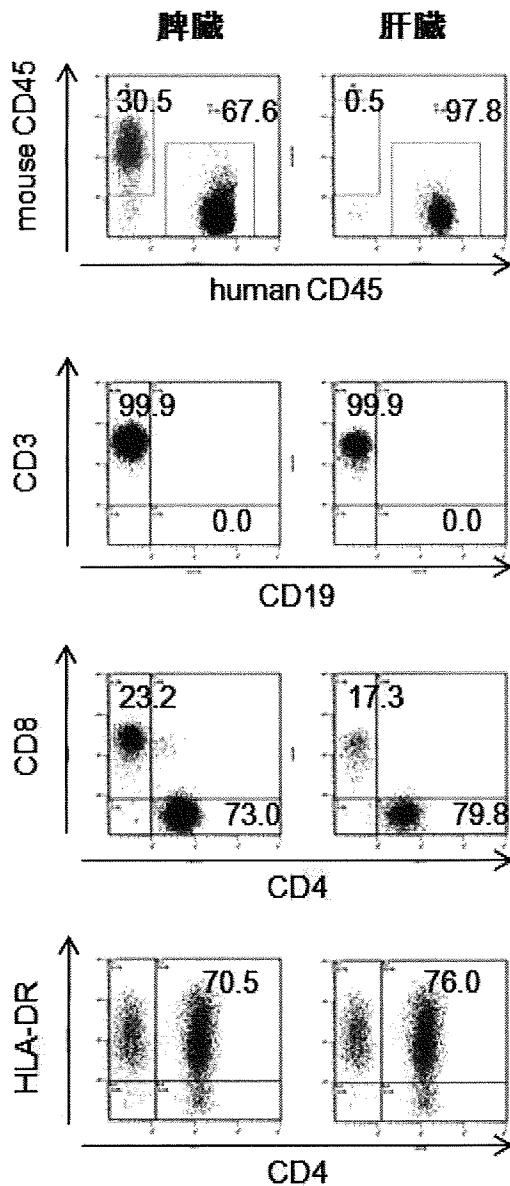


図 2. CAEBV 末梢血単核細胞移植マウスにおける脾臓及び肝臓リンパ球の表面マーカー解析. CD4<sup>+</sup>細胞に EBV が感染するタイプの患者からの移植例. 大部分が CD4<sup>+</sup>細胞、残りは主に CD8<sup>+</sup>細胞であった。CD4<sup>+</sup>細胞分画のみに EBV が検出された。

細胞感染型) の結果を図 1 に示す。

## 2. CAEBV 患者末梢血単核細胞移植マウスのリンパ球解析

マウスの末梢血 EBV DNA 量とヒト CD45<sup>+</sup>細胞が増加した段階で表面蛋白質

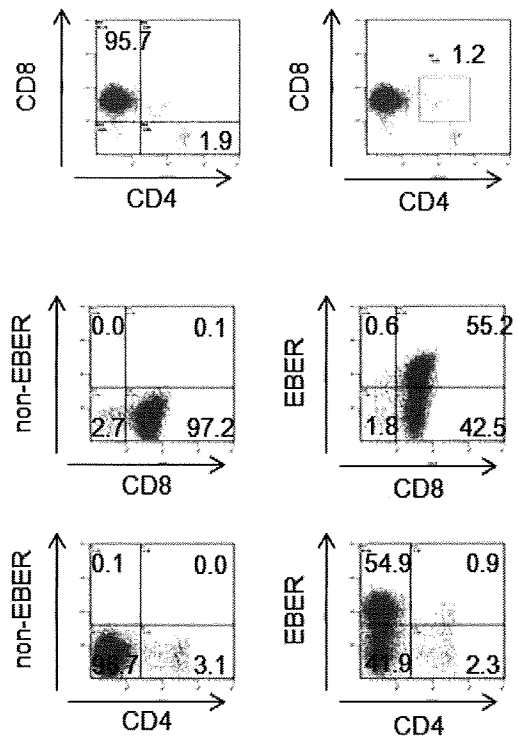


図 3. CAEBV 末梢血単核細胞移植マウスの脾臓における EBV in situ hybridization 及び表面マーカー解析. CD8<sup>+</sup>細胞に EBV が感染した症例から移植したマウスの結果を示す。

発現を解析したところ、患者のタイプ、すなわち CD4<sup>+</sup>細胞感染型、CD8<sup>+</sup>細胞感染型、 $\gamma$ T 細胞感染型、NK 細胞感染型の区別に一致して、該当するリンパ球分画が主に増加していた (図 2)。また EBV DNA はこのリンパ球分画のみから検出された。患者末梢血で EBV が検出されなかったリンパ球分画もマイナーな分画としてマウス末梢血に認められたが (図 2)、ここからは EBV DNA は検出されなかった。EBER の in situ hybridization と表面マーカー発現をフローサイトメトリーにより同時に検出したところ、患者末梢血で EBV が検出された分画と同一の分画のみから EBER が検出された (図 3)。患者末梢血とレシピエントマウス末梢血で認められる EBV 感染細胞が同一起源であることを示すために T 細胞抗

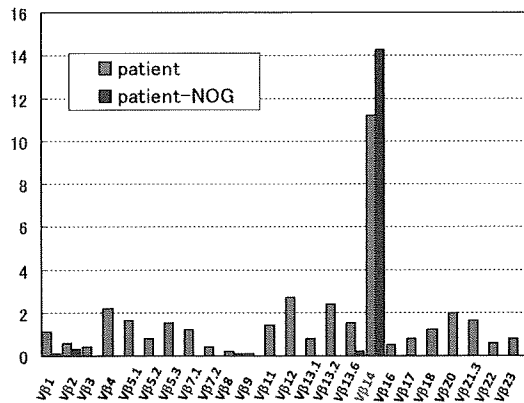


図 4. CAEBV 末梢血単核細胞移植マウスの末梢血における T 細胞抗原受容体レパトワ解析

原受容体のレパトワ解析を行った (図 4)。解析を行った症例では、患者末梢血、マウス末梢血ともに Vβ14 発現細胞のモノクローナルな増殖が認められた。

### 3. CAEBV 患者末梢血単核細胞移植マウスの病理学的解析

移植後マウス末梢血中に EBV DNA とヒト CD45<sup>+</sup>細胞が認められた段階で安楽死させ病理学的検討を行った。肉眼的には脾臓の腫大が著名であった。顕微鏡的には、脾、肝、肺、小腸などに EBER<sup>+</sup>細胞の著名な浸潤を認めた。In situ hybridization と免疫化学染色を同時に行ったところ EBER<sup>+</sup>細胞はヒト CD45RO<sup>+</sup>であることが示された (図 5)。

### 4. EBV 遺伝子発現解析

EBV 感染 T 細胞が生着したマウスの脾臓から RNA を抽出し、RT-PCR 法により EBV 遺伝子発現を解析した (図 6)。EBNA1, LMP1, LMP2A, LMP2B, EBER の発現が認められたが、EBNA2 の発現は認められなかった。EBNA のプロモーターは Qp が用いられ、Cp/Wp から転写された mRNA は検出されなかった。すなわち、CAEBV 患者で認められる、latency II 型遺

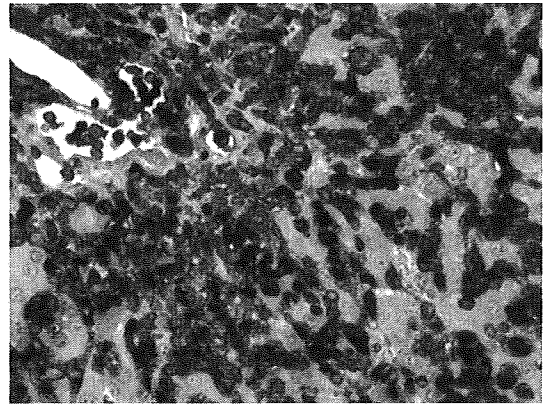


図 5. CAEBV 末梢血単核細胞移植マウスの肝臓における EBER とヒト CD45RO の二重染色。

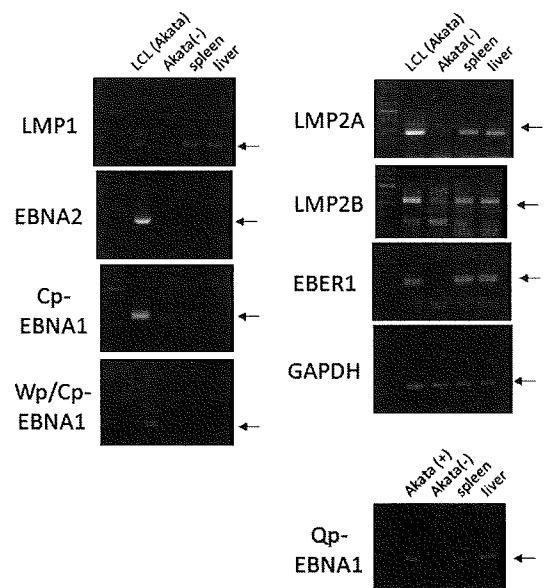


図 6. CAEBV 末梢血単核細胞移植マウスの脾臓における EBV 遺伝子発現解析。

伝子発現がマウスにおいても維持されると考えられた。

### 5. マウス末梢血中ヒトサイトカインの定量

EBV 感染 NK 細胞が生着したマウスの末梢血から ELISA 法によりヒトサイトカインを定量した。ドナーとなった患者と同レベルの IL-8, RANTES, IFN-γが検出され、マウスにおいても高サイトカイン血症が維持されると考えられた (図 7)。

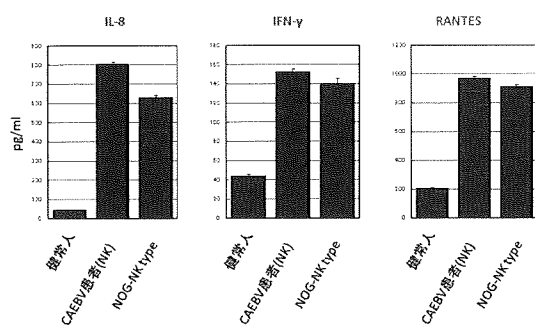


図 7. CAEBV 末梢血単核細胞移植マウス末梢血におけるヒトサイトカインの定量。

#### D. 考察

本研究により CAEBV 患者末梢血の EBV が免疫不全 NOG マウスに生着し増殖しうることが示された。T 細胞抗原受容体レパトワ解析により患者末梢血中に存在する EBV 感染 T 細胞と、その患者から移植を受けたマウス末梢血中の EBV 感染 T 細胞が同一クローンに属することが示された。マウスの EBV 感染細胞は従来 CAEBV 患者で示されていた latency II 型であること、血中 IL-8, IFN- $\gamma$ , RANTES などが上昇し高サイトカイン血症であることなどから、CAEBV の基本病態のいくつかが再現されていると考えられた。このマウスを用いて、CAEBV 発症メカニズムの解析と治療薬(法)の開発が可能と考えられる。

末梢血単核細胞から EBV 感染 T あるいは NK 細胞を分離した後に NOG マウスに移植する実験を行ったが、一部を除いて生着しなかった。EBV 感染細胞以外の細胞が NOG マウスへの生着において果たす役割について現在検討している。

#### E. 結論

CEBV 患者末梢血単核細胞を NOG マウスに移植する異種移植モデルは、EBV 感

染 T および NK 細胞の増殖、latency II 型 EBV 遺伝子発現、高サイトカイン血症など CAEBV の主要病態のいくつかを再現していた。このモデルを用いて発症機構の解明と治療薬(法)の開発が進展することが期待される。

#### F. 健康危機情報

該当なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Miyagawa, Y., Kiyokawa N., Ochiai, N., Imadome, K., Horiuchi, Y., Onda K., Yajima, M., Nakamura, H., Katagiri, U., Okita H., Morio, T., Shimizu, N., Fujimoto, J., and Fujiwara, S. Ex vivo expanded cord blood CD4 T lymphocytes exhibit distinct expression profile of cytokine-related genes from those of peripheral blood origin. *Immunology* 128: 405-419, 2009.
- 2) Inomata H, Takei M, Nakamura H, Fujiwara S, Shiraiwa. H., Kitamura N, Hirohata S, Masuda H, Takeuchi J, and Sawada S. Epstein-Barr-Virus-Infected CD15 (Lewis X)-Positive Hodgkin-Lymphoma-like B Cells in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Open Rheumatol J.* 3: 41-47, 2009.
- 3) Yajima, M., Imadome, K., Nakagawa, A., Watanabe, S., Terashima, K., Nakamura, H., Ito, M., Shimizu, N., Yamamoto, N., and Fujiwara, S. T-cell-mediated control of Epstein-Barr virus infection in humanized mice. *J Infect Dis.* 200: 1611-1615, 2009.
- 4) Arai, A., Imadome, K., Fujiwara, S. and Miura O. Autoimmune hemolytic anemia accompanied by reactivation of an

Epstein-Barr virus infection with suppressed CTL response to EBV-infected cells in an elderly man. *Inter. Med.* 49: 325-329, 2010.

2. 著書

なし

3. 学会発表

1) Fujiwara S, Yajima M, Imadome K, Nakagawa A, Watanabe S, Terashima K, Nakamura H, Ito M, Shimizu N, and Yamamoto N. T cell-mediated control of Epstein-Barr virus infection in humanized mice. 14th International Conference on Immunobiology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infections, Oct. 6-8, Kobe.

2) 今留謙一、矢島美彩子、川野布由子、清水則夫、中川温子、伊藤守、中村浩幸、山本直樹、藤原成悦. NOG マウスを用いた慢性活動性 EB ウイルス感染症異種移植モデルの作製と解析. 第 6 回 EB ウイルス研究会、2009 年 6 月 5 日、東京.

3) 今留謙一、矢島美彩子、川野布由子、清水則夫、中村浩幸、渡邊哲、寺嶋一夫、山本直樹、藤原成悦. EB ウイルス関連 T/NK リンパ増殖性疾患モデルマウスの作成と解析. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会. 2009 年 10 月 25 日、東京.

4) 今留謙一、矢島美彩子、山本直樹、中村浩幸、藤原成悦. NOG マウスを用いた慢性活動性 EBV 感染症異種移植モデル. 第 39 回日本免疫学会学術集会. 2009 年 12 月 2 日、大阪.

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし。