

A) 治療前



B) 治療後



図 6. FOS 治療によって改善が認められた, 造血幹細胞移植患者における口腔内潰瘍性病変 (ACV 耐性 HSV-1 によることが確認されている) の病変 [九州大学医学部第一内科権藤久司博士 (現, 佐賀県立病院好生館副館長) 提供]¹⁰⁾

B) 治療上の注意

臓器移植患者等免疫不全患者における HSV による皮膚粘膜病変の治療には, ACV 治療に抵抗性を示す場合があります, 病変からのウイルス分離を実施したり, 病変から ν TK 遺伝子の全長を増幅してその塩基配列を決定した上で ACV に対する感受性を調べる必要があります。

引用文献

- 1) Kimura H, Ito Y, Futamura M, Ando Y, Yabuta Y, Hoshino Y, Nishiyama Y, Morishima T. Quantitation of viral load in neonatal herpes simplex virus infection and comparison between type 1 and type 2. *J Med Virol* 67:349–353, 2002
- 2) Kaneko H, Iida T, Aoki K, Ohno S, Suzutani T. Sensitive and rapid detection of herpes simplex virus and varicella-zoster virus DNA by loop-mediated isothermal amplification. *J Clin Microbiol* 43:3290–3296, 2005
- 3) Gaudreau A, Hill E, Balfour HH Jr, Erice A, Boivin G. Phenotypic and genotypic characterization of acyclovir-resistant herpes simplex viruses from immunocompromised patients. *J Infect Dis* 178:297–303, 1998

- 4) Saijo M, Suzutani T, De Clercq E, Niikura M, Maeda A, Morikawa S, Kurane I. Genotypic and phenotypic characterization of the thymidine kinase of ACV-resistant HSV-1 derived from an acyclovir-sensitive herpes simplex virus type 1 strain. *Antiviral Res* 56:253-262, 2002
- 5) Suzutani T, Saijo M, Nagamine M, Ogasawara M, Azuma M. Rapid phenotypic characterization method for herpes simplex virus and Varicella-Zoster virus thymidine kinases to screen for acyclovir-resistant viral infection. *J Clin Microbiol.* 38:1839-1844, 2000
- 6) Shiota T, Lixin W, Takayama-Ito M, Iizuka I, Ogata M, Tsuji M, Nishimura H, Taniguchi S, Morikawa S, Kurane I, Mizuguchi M, Saijo M. Expression of herpes simplex virus type 1 recombinant thymidine kinase and its application to a rapid antiviral sensitivity assay. *Antiviral Res* 91:142-149, 2011
- 7) Kim JH, Schaenman JM, Ho DY, Brown JM. Treatment of acyclovir-resistant herpes simplex virus with continuous infusion of high-dose acyclovir in hematopoietic cell transplant patients. *Biol Blood Marrow Transplant* 17:259-264, 2011
- 8) Saijo M, Suzutani T, Murono K, Hirano Y, Itoh K. Recurrent aciclovir-resistant herpes simplex in a child with Wiskott-Aldrich syndrome. *Br J Dermatol* 139(2):311-314, 1998
- 9) Engel JP, Englund JA, Fletcher CV, Hill EL. Treatment of resistant herpes simplex virus with continuous-infusion acyclovir. *JAMA* 263:1662-1664, 1990
- 10) Iino T, Gondo H, Ohno Y, Minagawa H, Iwasaki H, Maruyama T, Nakashima H, Niho Y. Successful foscarnet therapy for mucocutaneous infection with herpes simplex virus in a recipient after unrelated bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 18:1185-8, 1996
- 11) Saijo M, Yasuda Y, Yabe H, Kato S, Suzutani T, De Clercq E, Niikura M, Maeda A, Kurane I, Morikawa S. Bone marrow transplantation in a child with Wiskott-Aldrich syndrome latently infected with acyclovir-resistant (ACV(r)) herpes simplex virus type 1: emergence of foscarnet-resistant virus originating from the ACV(r) virus. *J Med Virol* 68:99-104, 2002
- 12) Piret J, Boivin G. Resistance of herpes simplex viruses to nucleoside analogues: mechanisms, prevalence, and management. *Antimicrob Agents Chemother* 55:459-472, 2011

水痘・带状疱疹ウイルス

神戸大学大学院医学研究科臨床ウイルス学

森 康子

第3版ハリソン内科学 173 章 p1157-1160

水痘・带状疱疹ウイルス感染症より抜粋

1. 治療

重症の免疫不全患者(例えば、移植レシピエントやリンパ増殖性悪性疾患患者)水痘でも带状疱疹(播種性带状疱疹も含む)でも、発症時はアシクロビル(acyclovir, ACV)を静脈内投与すべきである。

投与量は、10～12.5mg/kg を8時間ごとに7日間

低リスクの免疫不全患者においては経口のACVのプロドラッグであるvalacyclovirやペンシクロビルのプロドラッグであるfamciclovirもよい。

ACVを静脈内投与する際は、患者の免疫抑制療法を中断する方が望ましい。

眼部带状疱疹の患者は、直ちに眼科医を受診すべきである。

その治療は激痛に対する鎮痛薬とアトロピンの投与である。

ACV, valacyclovir, famciclovir, すべての薬物は治癒を早める。

2. 予防

水痘・带状疱疹ウイルス(VZV)感染予防には3つの方法が用いられる。第1は、水痘に罹患していない1歳を越えるすべての小児(12歳まで)とVZV抗体陰性と判明している成人には弱毒ワクチン(Oka株)接種が奨励されている。小児には1回のワクチン接種でよいが、成人は2回接種が望まれる。

さらに、水痘ワクチンは造血幹細胞移植後の带状疱疹の発症頻度を著明に減少させる。

第2の予防法は、感受性があり、水痘の合併症を発生するリスクが高い人が、かなりの曝露を受けた場合に行う水痘・带状疱疹免疫グロブリン varicella-zoster immune globulin (VZIG)の投与である。VZIGは、VZV曝露後96時間(72時間以内が望ましい)以内に投与すべきである。

Pediatr Nephrol (2011) 26:663-673 REVIEW

Aciclovir and Varicella-zoster-immunoglobulin solid-organ transplant recipients
Martina Prelog & Jörn Schönlau を翻訳し抜粋

3. 免疫抑制とVZIG

健常児でのACVやVZIGの使用における安全性や有効性を論じる報告は非常に少なく、またこれら薬剤の使用効果については賛否両論ある¹⁻⁴⁾。

VZV感受性の高い免疫不全児においては、明らかなVZVへの曝露72時間後から少

なくとも 96 時間後までの、VZIG 投与(5 – 25 IU/kg)が有効である事が報告されている⁵⁾。⁶⁾ しかしながら、免疫不全児に対する正確な VZIG 投与期間を決定しうる報告はなく、最も奏効した VZIG 使用時間の報告は産科からであり、96 時間での VZIG 投与により重篤な疾患を減少させたという報告である⁷⁾。一方、VZV に曝露した小児肝臓移植 18 症例においては、96 時間以内に VZIG 投与を行ったにも関わらず、8 症例において軽度な症状が認められた事も報告されている⁶⁾。

4. 免疫抑制と ACV による抗 VZV 治療

カナダケベック州の小児病院からの報告によると、VZV 感染により入院を余儀なくされた健常人 644 人のうち、473 人(73.4%)は合併症治療が、30 人(4.7%)は ACV 経静脈投与が、141 人(21.9%)は対症療法が必要であったのに対し、免疫不全患者 136 人においては、それぞれ 46 人(33.8%)、85 人(62.5%)、5 人(3.7%)であった。これらのうち、5 例について死亡が確認され、免疫不全ではない小児 1 人、成人 1 人、免疫不全であった 3 人の成人が含まれた。いずれも ACV 投与は行っており、その死因は VZV 感染による合併症であった⁸⁾。

ACV の投与方法における報告は、局所的な帯状疱疹に対して経口投与した 13 例の骨髄移植症例と経静脈投与した 14 例の骨髄移植症例の比較であるが、いずれにおいても奏効している⁹⁾。

アザチオプリン等の免疫抑制治療の中断や減量は、急性 VZV 感染における ACV、VZIG 投与の補助的役割を果たすという報告がある^{10), 11)}。ミコフェノール酸モフェチルは、VZV 感受性を高めるとの報告^{12), 13)}がある一方で、少なくとも *in vitro* においては ACV の抗ウイルス効果を増強するため、使用を続けるというグループもある¹⁴⁾。ACV の使用は腎臓移植患者でのシクロスポリン A 使用時においても安全であり¹⁵⁾、また播種性の VZV 感染において明らかにハイリスクとなる免疫抑制剤はないとする報告もある¹⁶⁾。いずれにおいても VZV 感染による致死率の減少には、早期の高用量 ACV 投与が鍵であり¹⁶⁾、VZV 曝露より可能な限り早く ACV 投与を開始し、5 から 7 日間、さらに 14 日まで投与可能である^{1), 3)}。

5. 免疫抑制と ACV による VZV 予防

VZV 再活性化の危険性のある 77 例の造血細胞移植症例において、移植後最初の 1 年間の ACV 投与は、VZV 関連症状の予防において有効かつ安全であったが、移植後 2 年以降は、その有効性は認められなかった¹⁷⁾。本邦での成人同種造血幹細胞移植 242 例において、ACV による予防が免疫抑制療法終了、あるいは少なくとも移植後 1 年間続けられた報告がある。累積 VZV 再活性化は、34.7%の症例で認められたが、ACV 長期投与は、全体的な VZV 再活性化頻度を 50%から 20%まで明らかに減少させる、唯一の独立規定因子であった¹⁸⁾。別に報告された、同種末梢血幹細胞移植症例においても、長期 ACV 投与は VZV 感染における独立した予防因子であった¹⁹⁾。しかしながら、固形臓器移植後、1 ヶ月という期間でのア ACV 低用量予防についての報告はない。

6. まとめ

現在までのところ、最も VZV 曝露の危険性にさらされている免疫不全状態の固形臓器移植小児での、重篤な VZV 感染に対する完全な防御効果は、VZIG 予防投与においても、ACV 経静脈投与においても認められない。この事は、感受性のある移植対象者に対する移植前の患者本人への水痘ワクチン投与と、近親者へのワクチン投与が最も重要であるという事を示している。

引用文献

- 1) Asano Y, et al. Prophylaxis or modification of varicella by oral acyclovir after household exposure. *Arch Dis Child* 70:451-452, 1994
- 2) Dunkle LM, et al. A controlled trial of acyclovir for chickenpox in normal children. *N Engl J Med* 325:1539-1544, 1991
- 3) Huang YC, Lin TY, Chiu CH. Acyclovir prophylaxis of varicella after household exposure. *Pediatr Infect Dis J* 14:152-154, 1995
- 4) Yoshikawa T, et al. Persistence of protective immunity after postexposure prophylaxis of varicella with oral aciclovir in the family setting. *Arch Dis Child* 78:61-63, 1998
- 5) American Academy of Pediatrics Committee on Infectious Diseases: The use of oral acyclovir in otherwise healthy children with varicella. *Pediatrics* 91:674-676, 1993
- 6) McGregor RS, et al. Varicella in pediatric orthotopic liver transplant recipients. *Pediatrics* 83:256-261, 1989
- 7) van Der Zwet WC, et al. Neonatal antibody titers against varicella-zoster virus in relation to gestational age, birth weight, and maternal titer. *Pediatrics* 109:79-85, 2002
- 8) Rivest P, et al. Severe complications associated with varicella: Province of Quebec, April 1994 to March 1996. *Can J Infect Dis* 12:21-26, 2001
- 9) Ljungman P, et al. A randomized trial of oral versus intravenous acyclovir for treatment of herpes zoster in bone marrow transplant recipients. *Nordic Bone Marrow Transplant Group. Bone Marrow Transplant* 4:613-615, 1989
- 10) Broyer M, et al. Varicella and zoster in children after kidney transplantation: long-term results of vaccination. *Pediatrics* 99:35-39, 1997
- 11) Kashtan CE, et al. Outcome of chickenpox in 66 pediatric renal transplant recipients. *J Pediatr* 131:874-877, 1997
- 12) Lauzurica R, et al. Disseminated varicella infection in adult renal allograft recipients: role of mycophenolate mofetil. *Transplant Proc* 35:1758-1759, 2003
- 13) Rothwell WS, et al. Disseminated varicella infection in pediatric renal transplant recipients treated with mycophenolate mofetil. *Transplantation* 68:158-161, 1999
- 14) Jose MD, Roake JA, Robson RA. The role of mycophenolate mofetil in chickenpox after renal transplantation. *Transplantation* 70:242-243, 2000
- 15) Hayes K, et al. Safe use of acyclovir (Zovirax) in renal transplant patients on cyclosporine A therapy: case reports. *Transplant Proc* 24:1926, 1992
- 16) Fehr T, et al. Disseminated varicella infection in adult renal allograft recipients: four

- cases and a review of the literature. *Transplantation* 73:608–611, 2002
- 17) Boeckh M, et al. Long-term acyclovir for prevention of varicella zoster virus disease after allogeneic hematopoietic cell transplantation—a randomized double-blind placebo-controlled study. *Blood* 107:1800–1805, 2006
 - 18) Asano-Mori Y, et al. Long-term ultra-low-dose acyclovir against varicella-zoster virus reactivation after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Hematol* 83:472–476, 2008
 - 19) Kim DH, et al. Clinical efficacy of prophylactic strategy of long-term low-dose acyclovir for Varicella-Zoster virus infection after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Clin Transplant.* 22:770–779, 2008

サイトメガロウイルス

国立感染症研究所ウイルス第一部

井上 直樹

はじめに

サイトメガロウイルス(Cytomegalovirus, CMV)は、病理学的に「フクロウの目」(owl eye)様に感染細胞が染色されることから同定された。70年代初期には、先天性の脳障害を伴う子宮内感染を起こすことが認識され、その後、免疫抑制条件、即ち、移植やHIV感染において、重篤な日和見感染症を起こすことが明らかとなった。HAART療法の普及とともにHIV患者における重篤なCMV感染症は減少したが、先天性感染と移植患者における日和見感染は、依然として大きな問題である。また、日本造血細胞移植学会が「造血細胞移植ガイドライン サイトメガロウイルス感染症 第2版」を、日本臨床腎移植学会が「腎移植後サイトメガロウイルス感染症のガイドライン 2011」をそれぞれ刊行していることから、本節ではCMVについて一般的な事柄についてのみ概説し、当該移植分野の臨床的な詳細については各ガイドラインなどを、CMVに対する免疫学、検査法及び先天性感染については文献¹⁻³⁾を、それぞれ参照にされたい。

1. CMVのゲノム構造と生物学的特徴

CMVの正式名称はヒトヘルペスウイルス5(HHV-5)であり、ベータヘルペスに分類される。CMVは様々な細胞・組織に感染することができる。一方で、宿主域は狭く、ヒトCMVはヒトにのみ、マウスCMVはマウスにのみしか感染できない。

実験室株であるAD169について1989年に全ゲノム配列が報告されたが、強毒のToledo株及び生ワクチンの治験に用いられたTowne株の解析からAD169株には10kb以上の欠失変異領域があること、この領域の方向性が両株で逆転していることなどが明らかになり、新鮮分離株の塩基配列解析の必要性が認識された。最近、健常児より分離されたMerlin株をはじめとして、いくつかの臨床株の全塩基配列が決定されている。各株間のゲノム構造の比較と増殖性を図1に模式的に示した。

多くの新鮮分離株の解析から、CMVの大半の遺伝子で塩基配列は極めて保存されているが、糖蛋白B(gB)やgHなど特定のウイルス遺伝子に多様性(多型)があることが明らかとなってきた。この多型を利用して、感染経路の解析が可能となるとともに、多型の生物学的な意義について検討されてきた。例えば、興味深いことに骨髄移植患者の白血球分画においては4種類すべてのgBの遺伝子型が検出されるのに対してT細胞分画では1型が全く検出されないことが明らかにされた⁴⁾。後述するが、多型のなかでも、型特異的なgH抗体エピトープを利用して、異なるCMV株の重感染を血清学的に証明できるようになってきた。

2. 感染経路と感染状況

CMVは、幼少時に感染し、ほとんどが不顕性感染の形で、生涯その宿主に潜伏感染す

る。母乳を介した感染に加え、小児の唾液や尿には大量の CMV が検出されることから家族内での感染が主な感染経路と考えられる。先天性感染の感染経路の分析では、子供がいる妊婦の大半が自らの子供が排泄する CMV 株に感染したと考えられる。このほか、輸血による感染、性行為による感染もみられる。

20-30 年前の調査では、我国の成人における CMV 抗体陽性率は 80~90%であったが、若年者を中心に 60%台まで低下してきている⁵⁾。初感染予防も含めた CMV 感染症の予防対策を考慮する必要がある。

3. CMV 感染症

他のヘルペスウイルスの場合と同様に、「感染」と「感染症」を区別することが重要である。「感染」は、感染歴として血清学的に陽性である潜伏感染と現在の体内から CMV が検出される活動性の感染とに分かれる。「感染症」は、肺炎・網膜炎・臓器障害など臨床症状を伴う場合を指す。活動的感染は、感染症の前段階ではあるが、かならずしも感染が感染症に移行するわけではない。CMV 感染症を発症するのは主に胎児(先天性感染児として出生)、未熟児、移植・AIDS・先天性免疫不全などの免疫抑制条件下の患者などである。

乳幼児期の自然による初感染は、無症候性である一方、思春期以降の初感染では、倦怠感・悪心・筋肉痛・頭痛・発熱・肝脾腫・肝機能異常・異型リンパ球症など伝染性単核球症様の症状を示す場合もある。外科手術などで大量輸血を受けて初感染した場合にも、同様の症状を示し重症化しやすい。

妊婦が初感染した場合、およそ半数程度で胎盤を通して胎児の先天性感染が発生する。死産の約 15%が先天性 CMV 感染によるというオーストラリアの調査結果が最近報告されている⁶⁾。出生した先天性感染児の約 2 割に低体重出生、小頭症、点状出血、血小板減少、肝脾腫、黄疸、難聴、網膜炎などの臨床症状が見られ、脳内石灰化や脳室拡大などの頭部画像所見の異常を加えると約 3 割が症候性である⁷⁾。また、一部の感染児においては、出生時無症候性であっても、遅発性に難聴や精神発達遅滞が発症する。現在の我国における先天性 CMV 感染の頻度は全出生児 300 人当たり 1 人と他の先天性代謝異常よりも多く、その早期対策が望まれている⁷⁾。

未熟児では、母乳を介した感染により肝機能異常、間質性肺炎、単核球症などが起こることがあるが、難聴・網膜炎など先天性感染で見られる神経学的障害の発症リスクは小さい。凍結融解処理した母乳の使用が推奨されているが、この処理で感染性 CMV 量は 1/10~1/100 に減少するが完全には不活化されない。

移植においては、CMV 感染症は主に移植後 3~12 週に発症するが、移植後 100 日以降においても遅発性に発症する場合がある。CMV 感染は様々な臓器に関与するため、多様な病態を示す。発熱(38℃以上)、倦怠感、関節痛、筋肉痛などの全身症状の他に、肺炎、胃腸炎、脾炎、網膜炎などの局所症状が知られる。血算・生化学検査所見としては、骨髄抑制(白血球減少、血小板減少)、異型リンパ球の出現、肝機能異常などが見られる。移植後は様々な要因によって、肺炎、消化器病変、肝機能異常を呈するため、CMV 感染症の診断においては、可能であれば、病変に関与する部位、臓器での活動性 CMV 感染を同定する必要がある。同定に当たっては、生検組織が得られた場合には病理学的検査の実施が重要である。なお、CMV 網膜炎は特徴的な所見のみでも診断可能で

ある。病変部位からの検体が得られない状況では抗原血症法や PCR 法の結果から、活動性 CMV 感染の有無を総合的に判断する。なお、文献などで感染症の頻度を比較する際には、感染症に何を含めているかの定義が重要になる。移植における定義については、文献を参照されたい⁸⁾。

4. CMV の検査

活動的な CMV 感染は、ウイルス分離、CMV 抗原血症(アンチゲネミア)、ウイルス DNA や RNA の PCR などでの検出、細胞・組織病理学的な感染細胞の検出などをもって診断する。具体的な検査法は以下の通り。詳細は、総説を参考にされたい。

1) 血清学的検査

ELISA(EIA)法を用いて CMV 特異的 IgG 及び IgM を測定する。IgG は市販キットもしくは検査会社いずれの場合にも確定的結果が提供される。IgM については、この陽性のみをもって初感染を断定することは、その特異性から不十分であり、CMV IgG 抗体価の感染直後と一定期間経過後のペア測定、CMV 特異的 IgG avidity index 測定(初感染では低値)、もしくは血清学に代わる血中 CMV の検出のための検査を実施するべきである。なお、安価でありオーダーする機会が多い補体結合反応(CF)法は、感度に問題があることから薦められない。骨髄バンクドナーの CMV 抗体価は通常 CF 法で測定されているため、陰性結果を過信してはならない。血清学的検査は、移植後の CMV 感染症のリスク予想に重要である。移植前のドナー(D)・レシピエント®の血清学的状況、特に D 陽性(D+)R 陰性(D-)では、リスクが高い。

2) ウイルス分離

検体としては、尿、咽頭拭い液、血液(白血球)、気管支肺胞洗浄(BAL)液、髄液などを用い、ヒト線維芽細胞(MRC5 やヒト胎児肺線維芽細胞など)に検体を接種し、特徴的な細胞変性効果(cytopathic effect:CPE)の出現を確認する。検体を培養プレートに接種直後に 400 x g で 30 分遠心すると感染効率が上昇する。他のウイルス感染の可能性がある場合には、免疫染色や PCR 法により CMV の抗原や DNA の検出を行い最終確定する。先天性感染児の尿などウイルス量の多い場合を除き、CPE 出現まで盲継代を 1 週間 1 回の頻度で数回行う。このため実際にウイルス分離できるまでに数週間を要する場合が多く、早期診断や先制治療による早期介入(preemptive therapy)への利用価値は低い。但し、抗ウイルス薬であるガンシクロビル(GCV)に対する耐性を確定するためには、ウイルス分離がなされていることが望ましい。

3) ウイルス迅速同定(シェルバイアル法)

尿、血液、BAL 液などの検体を濾過除菌し、スライドガラス上のヒト線維芽細胞に接種する。遠心し接種効率を高め、1~3日培養後、スライドを固定し、CMV 抗原に対するモノクローナル抗体と反応させ、最終的に DAB などで染色する。迅速であること、BAL 液を検体とした場合に CMV 肺炎を診断できることがメリットであるが、血液検体などでのモニタリング目的には感度が低く薦められない。

4) CMV 抗原血症検査 (CMV アンチゲネミア法)

末梢血より分離した多形核白血球(好中球)を、スライド1枚に対して15万個サイトスピンによりスメアにしたものを用いて、CMVpp65 抗原に対するモノクローナル抗体と反応させ、ペルオキシダーゼ法により CMV 抗原陽性細胞(多形核白血球)を検出する方法で、半日以内に結果が得られる。我国では、モノクローナル抗体の違いから、HRP-C7法とC10/11法があるが、同様な結果が得られる。移植におけるCMV感染診断の感度および特異性は高く(>85%)、一定量以上の陽性細胞検出でGCVなどの抗ウイルス薬投与を開始するpreemptive therapyの指標となっている。一方、欠点としては、末梢血中の多形核白血球が少ない場合には測定できず、感度も低下すること、目視で計数するため主観が入りこむ余地があること、固定法、染色法など微妙な条件設定の違いが影響する場合(例えば海外での治験結果との比較などで)があることに注意が必要である。

5) リアルタイムPCR法

血漿(血清)やBAL液などの検体を用いてCMV DNAを増幅し定量的に検出する方法である。高い感度、特異性に加えて迅速に結果が得られる。欠点としては、同一の検査会社を用いない限り施設間で異なる方法や定量標準を用いていることから、移植におけるpreemptive therapy開始の指標値(cut-off値)を統一できない場合もある。少なくとも定量標準は、WHOが昨年行った国際標準品の制定作業により、試験法が異なっても一定の標準化が可能となった。なお、PCRによるCMV感染のモニタリングでは、全血や組織検体を用いた場合、潜伏感染状態のCMV DNAが検出されるため、血漿などの細胞成分を含まない検体を用いる。血漿を用いた定量PCR法とCMV抗原血症検査の比較試験は国内外で多数行われ、定量PCR法は、CMV抗原血症検査と同等もしくはそれ以上の感度・特異度があることが確立している。なお、我国では定量PCR法に保険適応がなく、依然としてCMV抗原血症検査が使用されている現状がある。核酸ベースの検査としては、活動性の感染時に発現するmRNAを検出するNASBA(nucleic acid sequence based amplification)法やTRC(transcription-reverse transcription Concerted reaction)法などがある。

6) 細胞・組織病理学的検査

組織標本やBAL液において巨細胞核内封入体を有する細胞を検出する。抗CMVモノクローナル抗体を用いた免疫組織染色法でCMV抗原を検出し最終確定することが望ましい。

5. CMV感染および感染症のリスク因子

移植の場合、移植臓器、同種・自家移植、HLAの適合・不適合、移植前処置など様々な条件により、CMV感染症の頻度やリスクが異なる。

1) ドナー・レシピエントの血清学的状況

移植においては、ドナー(D)・レシピエント(R:患者)のCMV血清学的陽性・陰性は、D+R-で高リスク、D-R-で低リスクであり、最も重要なリスク因子である。造血幹細胞移

植では、D-R+の場合、再活性化した場合に CMV に対するメモリーを有さないため重篤な感染症を発症するリスクがある。いずれにしても、抗体状況に基づきドナーを選択できる余地は、ほとんどないため、リスク患者として管理を強化するしか手立てはない。

近年、異なる型の CMV 株による再感染が明らかになってきた結果、D+R+であっても、両者に感染している株が異なる場合には、再感染が起こる可能性がある。実際、図 2 に示したように、腎移植では gH 遺伝子の 2 つの型を血清学的に判定した場合、DR 間の gH 型が不一致であると CMV 感染症の頻度が高くなる⁹⁾。こうした結果は、現時点では腎移植についてしか検討されていないため、どこまで普遍化できるかについては、わかっていない。

2) レシピエントの遺伝的背景

最近、自然免疫関連遺伝子などの遺伝子多型がリスク因子となることが知られてきた。肝移植では、TLR2 遺伝子の R753Q 変異が、CMV から TLR2 を介した自然免疫の誘導能が低いため、重症化する傾向が指摘されている¹⁰⁾。なお、R753Q 変異は、一般的な日本人には見られない多型である。他の TLR 遺伝子や TLR2 の多型部位が、関与するかについての詳細な検討はなされていない。

3) 治療法に関連したリスク

高リスク因子としては、GVHD 発症、全身ステロイド投与、移植前治療のプリンアナログの使用、CD34 陽性細胞移植、骨髄破壊的前処置、HLA 不一致血縁者間移植、T 細胞除去移植、抗胸腺細胞抗体投与などがある。

6. 予防と治療

1) CMV 初感染の予防

先天性感染の予防策がないため、妊婦に対し、幼少な子供が先天性感染の最大のリスクであること、予防として手洗いや消毒をこころがけ、経口での接触を避けることを啓発する必要がある。

免疫抑制者や未熟児への輸血において、患者が CMV 血清学陰性の場合には、可能であれば、CMV 陰性血液製剤を選択することが望ましいが、我国では、血液製剤は白血球除去がなされており、CMV 血清陽性製剤を用いても、初感染リスクは低い。

R-への移植においては、D-の提供臓器が望ましい。D+R-のみならず D-R-の移植であっても、CMV 初感染のモニタリングを実施する。

2) 移植における抗ウイルス薬投与の考え方(図 2)

抗原血症法によるモニタリングが確立される以前は、移植後 CMV 感染症が発生した場合に対症療法的に抗ウイルス薬投与が行われてきた。モニタリングが確立して以降、米国では、移植患者に対し移植から 100 日間を目途に全例に対し抗ウイルス薬の予防投与(prophylactic therapy)が行われているが、欧州及び我国では、CMV 抗原血症もしくはウイルス DNA 血症をモニタリングし、臓器ごとに決められた一定量以上に CMV 量が増加した場合には、先制治療が実施されている。先制治療後に予防的に長期投与の方がいいとする見解もある。予防投与と先制治療の両方法の選択に関しては長い

議論が重ねられてきたが、両者ともに長所・短所があり、どちらを選択しても GCV を用いる限り大勢に変化はないというところで議論は落ち着いている¹¹⁾。先制治療でのリアルタイム PCR 法の普及で、先制治療が徐々に主流になりつつある。先制治療の場合、GCV 投与の開始の指標となる CMV 量(cut-off 値)は、臓器やリスク因子などで異なるため、各施設のエビデンスの蓄積によるところが大きく、患者ごとの対応が求められる。可能な限り高い cut-off 値を設定することにより、GCV の過剰投与を防ぎ、結果として副反応である骨髄抑制がもたらす真菌などの感染症を回避することが、より一層求められている。長期的には副作用を憂慮する必要がないような GCV にとって代わる薬剤の開発が求められている。

3) 免疫グロブリン投与の考え方

移植患者に対して免疫グロブリン投与により、細菌感染や GVHD など CMV 感染の間接的影響が低下したとする報告もあるが、投与の有無で生存率の改善に差はなく、逆に類洞閉塞症候群の増加のリスクがあることから、CMV 感染予防目的で投与は勧められない。妊婦の重篤な胎内感染に対する効果が報告されているが、ランダム化二重盲検の大規模臨床試験は現在進行中の段階である。一方、先天性感染児に対する効果については明確なエビデンスはない。

4) 養子免疫法

抗ウイルス剤治療以外にも、移植患者を対象とし、養子免疫療法などの研究も進んでいる。これは CMV に対する CTL を造血幹細胞移植の場合はドナーの末梢血から、一方、臓器移植の場合はレシピエントの末梢血から樹立し、in vitro で増殖させ患者に戻す治療法である。従来 donor leukocytes transfusion(DLT)などの方法も用いられてきたが、養子免疫療法の方がより CMV に対して特異的に治療が行える。しかしながら、コストや施設の負担を勘案すると簡単に普及する方法ではない。

おわりに

先天性 CMV 感染の対策で最も鍵となるワクチンの開発は遅々として進んでいない。移植分野においても、ワクチンを移植ドナーに接種することにより免疫能を惹起し、患者の早期の免疫構築により CMV 感染症を防ぐことや、CMV 血清学陰性患者に移植前にワクチンを接種することで初感染を防ぐことも検討されている。歴史的には、移植患者を対象に Towne 株弱毒生ワクチンが接種されたが、あまりに弱毒であったために感染症の軽減は図れるが、感染防御には不十分であると報告された。そこで、強毒株とのキメラが作製され、第 1 相の臨床試験で、その安全性が確認されたが、その後の進展はない。一方、第 2 子以降を将来生みたい CMV 陰性の母親に gB サブユニットワクチンを投与した臨床試験では、一定の感染防御効果が見られたが、実用化には程遠い状況にある。現在、ウイルスベクターを用いたサブユニットワクチンや DNA ワクチンが開発されつつあり、数年のうちには方向性が見えてくると思われる。

引用文献

1. Crough T, Khanna R. Immunobiology of human cytomegalovirus: from bench to bedside. *Clin Microbiol Rev* 22:76–98, 2009
2. Inoue N. Chapter 84 Human herpesvirus 5 (cytomegalovirus). pp.949–962 *In: (Ed) Liu D, “Molecular detection of human viral pathogens” Taylor & Francis CRC Press, 2011.*
3. Kenneson A, Cannon MJ. Review and meta-analysis of the epidemiology of congenital cytomegalovirus (CMV) infection. *Rev Med Virol* 17:253–276, 2007
4. Meyer-König U, Vogelberg C, Bongarts A, Kampa D, Delbrück R, Wolff-Vorbeck G, Kirste G, Haberland M, Hufert FT, von Laer D. Glycoprotein B genotype correlates with cell tropism in vivo of human cytomegalovirus infection. *J Med Virol* 55:75–81, 1998
5. 東寛, 高梨美乃子, 神前昌敏, 佐藤博行, 石丸文彦:1996年から2009年の間における妊婦のサイトメガロウイルス抗体保有率の推移について. *日本周産期・新生児医学会雑誌* 46:1273–1279, 2011
6. Iwasenko JM, Howard J, Arbuckle S, Graf N, Hall B, Craig ME, Rawlinson WD. Human cytomegalovirus infection is detected frequently in stillbirths and is associated with fetal thrombotic vasculopathy. *J Infect Dis* 203:1526–1533, 2011
7. Koyano S, Inoue N, Oka A, Moriuchi H, Asano K, Ito Y, Yamada H, Yoshikawa T, Suzutani T; Japanese Congenital Cytomegalovirus Study Group. Screening for congenital cytomegalovirus infection using newborn urine samples collected on filter paper: feasibility and outcomes from a multicentre study. *BMJ Open* 1:e000118, 2011
8. Ljungman P, Griffiths P, Paya C. Definitions of cytomegalovirus infection and disease in transplant recipients. *Clin Infect Dis* 34:1094–1097, 2002
9. Ishibashi K, Tokumoto T, Tanabe K, Shirakawa H, Hashimoto K, Kushida N, Yanagida T, Inoue N, Yamaguchi O, Toma H, Suzutani T. Association of the outcome of renal transplantation with antibody response to cytomegalovirus strain-specific glycoprotein H epitopes. *Clin Infect Dis* 45:60–67, 2007
10. Kang SH, Abdel-Massih RC, Brown RA, Dierkhising RA, Kremers WK, Razonable RR. Homozygosity for the Toll-like receptor 2 R753Q single-nucleotide polymorphism is a risk factor for cytomegalovirus disease after liver transplantation. *J Infect Dis* 205:639–646, 2012
11. Torres-Madriz G, Boucher HW. Immunocompromised hosts: perspectives in the treatment and prophylaxis of cytomegalovirus disease in solid-organ transplant recipients. *Clin Infect Dis* 47:702–711, 2008

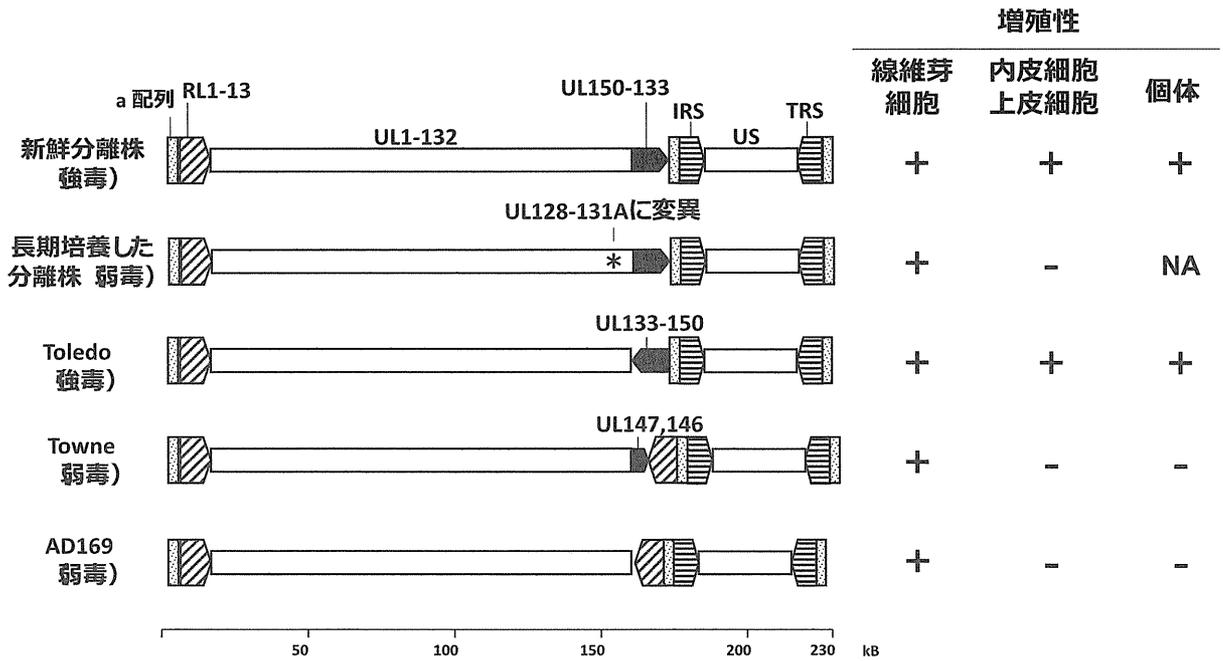


図1. CMV株の構造と増殖性

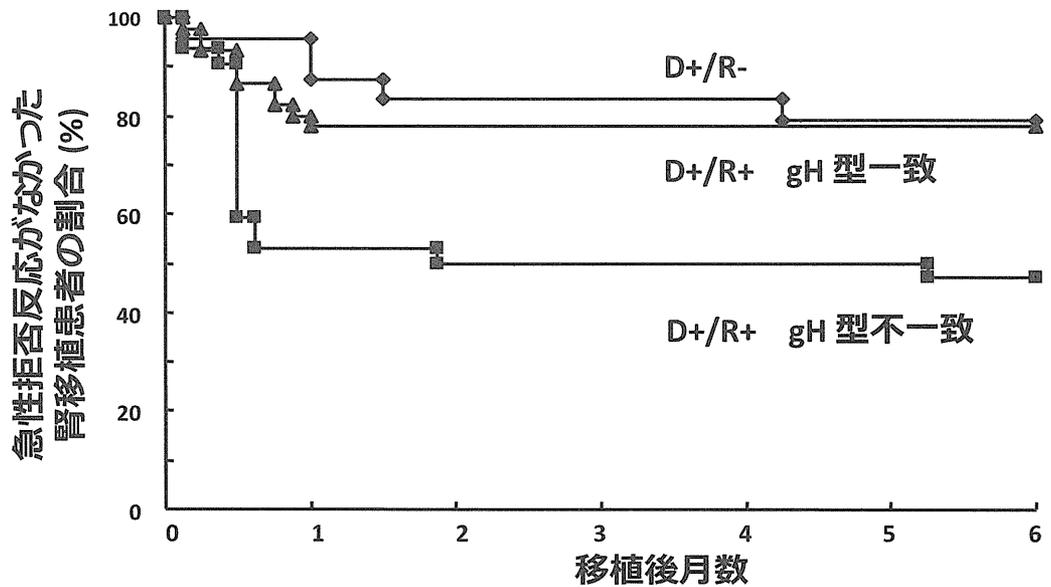
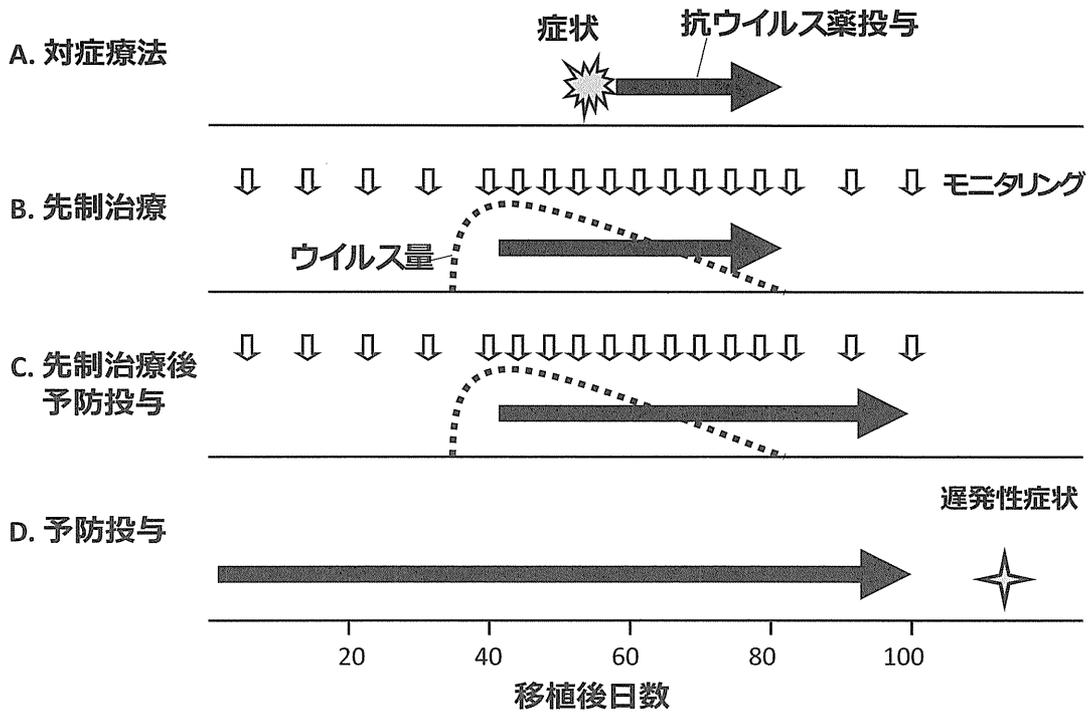


図2. gH血清型のDR間相違とCMV感染症の頻度 (Ishibashi et al., 2007)



方法	利点	欠点
先制治療	抗ウイルス薬の過剰投与がないため、 1) 患者の副作用が減少 2) 耐性株出現の可能性の減少	1) 継続的モニタリングの必要性 2) 体内でのCMV増殖は速いため、モニタリング直後にCMVが活動的になると次のモニタリングまでにCMV感染症が発生し治療が遅れるリスク
予防投与	1) 継続的モニタリングが不要 2) 確実にCMVの再活性化を防ぐ	1) 低リスク患者への過剰な抗ウイルス薬投与による無用な副作用の発生リスク 2) 長期投与のため薬剤耐性株出現の可能性 3) 特異的T細胞免疫の構築の遅れからくる遅発性感染症のリスク

図 3. 移植患者の CMV 感染症への抗ウイルス薬投与の考え方

EB ウイルス

名古屋大学大学院医学系研究科, ウイルス学 木村 宏

名古屋大学大学院医学系研究科, 移植・内分泌外科学 木内哲也

要旨 : Epstein-Barr virus (EBV) による移植後リンパ増殖症 (post transplant lymphoproliferative disorder: PTLD) は臓器・造血幹細胞移植後のヘルペスウイルス感染症の代表的疾患である。PTLD は一旦発症すると進行が早く、診断に難渋することが多い上に、致死率が高い難治疾患であった。近年、定量 PCR 法を用いた EBV-DNA モニタリングが広く行われるようになり、また抗ヒト CD20 モノクローナル抗体である rituximab による新規治療法の確立により、PTLD の治療法に進歩がみられ、その予防・管理法は変貌しつつある。

1. はじめに

臓器・造血幹細胞移植時には、移植片や輸血・血液製剤を介したウイルスの初感染が起こりうるばかりでなく、細胞性免疫の抑制・再構築の遅れに伴う再活性化により、ヘルペスウイルスを初め様々なウイルス感染症が問題となる。Epstein-Barr virus (EBV) による移植後リンパ増殖症 (post transplant lymphoproliferative disorder: PTLD) は、移植関連ヘルペスウイルス感染症の代表的疾患である。本症は一旦発症すると進行が早く、診断に難渋することが多い上に、有効な治療法が確立されていない致死率が高い疾患であった。本稿では、造血幹細胞移植後のリンパ増殖症を中心に、その発症メカニズム・診断・治療について、最近の知見・進歩を交え概説する。

2. 病態生理と疫学

EBV は γ ヘルペスウイルス亜科に属し、咽頭より唾液などを介して侵入し、naïve B 細胞に感染し不死化・増殖させる¹⁾。感染 B 細胞は natural killer (NK) 細胞、EBV 特異的細胞障害性 T 細胞 (CTL) らにより制御される。EBV は二本鎖環状 DNA である episome の形で memory B 細胞の核内に存在し、ごく一部のウイルス関連遺伝子を発現するのみで宿主の免疫より逃れ、潜伏感染を維持する。通常健常人では血液中の EBV 感染細胞は B 細胞に局限し、一定のレベル以下に制御されている (約 10^5 個に1個の B 細胞に EBV が潜伏感染)。免疫抑制状態では EBV の免疫逃避機構が優り、ウイルスの再活性化が起こる。ことに造血幹細胞移植ではレシピエントの血液系細胞を根絶するための強力な化学療法に引き続き、拒絶・GVHD 予防のため免疫抑制が行われる。また、移入された幹細胞からウイルス特異免疫が再構築されるまでに一定の期間を要するため、移植されたグラフトに含まれる EBV 感染 B 細胞が芽球化し、PTLD を発症する。一方、臓器移植においては、造血幹細胞移植のように、骨髄破壊的な化学療法は行われなため、移植時の免疫抑制は強くない。しかし、グラフトを介して EBV 初感染が起こる場合は、PTLD の発症率は高くなる。また、臓器移植では、免疫抑制剤を生涯に渡って投与しなければならぬため、PTLD が発症する危険も生涯にわたって続くことになる。

PTLD の頻度は同種骨髄移植全体で 1%未満であるが、抗 CD3 モノクローナル抗体処理を

用いた T 細胞除去を行った移植では 12~24%に達する。一方, T 細胞除去と同時に B 細胞除去を行うと EBV 関連 PTLD の発生は少ないと報告されている²⁾。ちなみに固形臓器移植では複数内臓移植 13-33%, 小腸移植 7-11%, 心臓・肺移植 9.4%, 肺移植 1.8-7.9%, 心臓 3.4%, 肝移植 2.2%, 腎臓移植 1%の順に発生頻度が高い³⁾。

3. 臨床徴候と発症時期

造血幹細胞移植後の PTLD の発症時期は移植後1カ月~4年に及んでおり early onset type が約 2/3 を占める。また early onset type の 77%は発症後 11 日(中央値)で死亡している⁴⁾。

- 1) Early onset type: もっとも頻度が高く, 80 日以内に発症する。ドナー由来の B 細胞が増殖し, 急速に進行する。
- 2) Intermediate type: 80~180 日。ドナー, レシピエント由来が半々。必ずしも急性移植片対宿主病 (GVHD) や抗 CD3 モノクローナル抗体の使用歴はない。生着不全を伴うことが多い。
- 3) Late onset type: 1年以上発症, ホスト由来が大多数。graft failure 例が大部分, 先天性免疫不全症例に多い。

EBV 関連 PTLD の症状は発熱, リンパ節腫大, 肝脾腫, 下痢・下血などである。末梢血, 骨髓に異形リンパ球, M 蛋白が検出されることもある。臨床症状は非特異的なものが多く, ことに深部リンパ節が腫張したときには見逃されやすいため, 臨床診断は必ずしも容易でない。

一方, 固形臓器移植後の PTLD は, 原則としてレシピエント由来の B 細胞によって生じる。前述のごとく, 生涯にわたって PTLD が発症する可能性があるが, 移植時に移植片を介して EBV 初感染が起こった場合には, 早期の発症リスクが高まる。Late onset の PTLD は B 細胞性のみならず, T 細胞性のものも少なからず認められる。

4. 診断

前項に述べたごとく, 本症の臨床診断は容易でなく, また, 移植後のウイルス特異的抗体産生不良や, 感染症予防のために用いられるγグロブリンの存在などため, 抗体価の測定による血清学的診断は役立たない。

従来, PTLD の確定診断は病理組織学的に行われてきた。病変組織では大型の免疫芽球様リンパ球の浸潤を見る。またこれらの細胞は EBV-encoded small RNA (EBER)陽性である。一方, 病理組織診断法は侵襲強く, その適応は採取可能なリンパ節が存在するときのみに限られる。病理学的には良性(polyclonal)から悪性(monoclonal)まで多様な病態が含まれる。病態は病理学形態と clonality により表 1 のごとく分類される⁵⁾。

表 1. PTLD の病理分類(文献 5 より抜粋・改編)

分類	病理像		EBV	遺伝子	
	構造消 失	所見		IgH/TCR	その他
早期病変	無	小リンパ球, 形質細胞, ±免疫芽球, ±過形成濾胞	しばしば陽性	ポリクローナル B 細胞(稀にモノクローナル B 細胞)	無
Polymorphic PTLD	有	すべてのリンパ球の成熟像	しばしば陽性	モノクローナル B 細胞/非クローン性 T 細胞	一部 BCL6 の体細胞変異
Monomorphic PTLD	通常有	非ホジキンリンパ腫の診断基準を満たす	様々	クローナル B 細胞/T 細胞	通常陽性
ホジキンリンパ腫タイプ PTLD	有	古典的ホジキンリンパ腫の診断基準を満たす	陽性	IgH は検出されない	不明

PTLD 発症時には末梢血単核球中の EBV-DNA が指数関数的に増加するため⁶⁾, 定量的 PCR 法による EBV-DNA の測定が診断に有用である⁷⁻⁹⁾. リアルタイム PCR 法は蛍光標識したプローブを用い, 増幅した遺伝子産物の特異蛍光を Ar レーザーにより, 閉鎖チューブ内でリアルタイムに検出するもので, 簡便, 迅速, 高い再現性を有し, ウイルスの定量測定に適する¹⁰⁻¹¹⁾. EBV-DNA は免疫不全患者のみならず健常人でも血球中に検出されるが, ほとんどは $10^{2.5}$ copy/ μ gDNA 未満である¹⁰⁾. 我々は EBV 関連リンパ増殖症のリスクの高い血液幹細胞移植患者を対象に, 前方視的に末梢血単核球中の EBV-DNA の定量を行った¹²⁾. 移植後約 30日頃より, EBV-DNA の増加が認められ, 80 日頃まで持続した(図 1). EBV 関連リンパ増殖症は一旦発症すると急速に進行し, 難治性であることから, ハイリスクと考えられる造血幹細胞移植では, 末梢血中の EBV-DNA を前方視的にモニタリングし, 早期発見に努めるのが望ましい¹¹⁾.

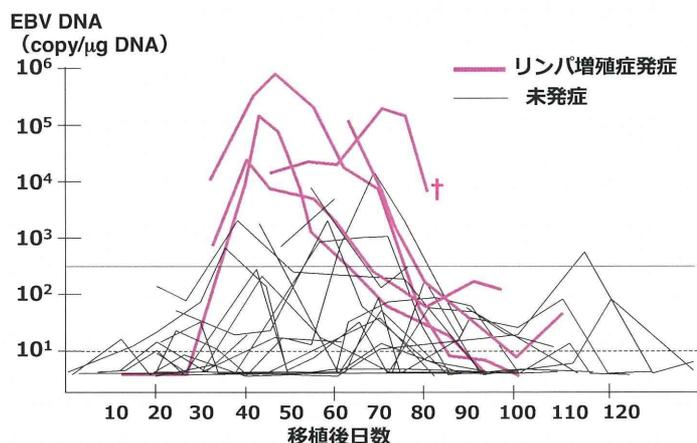


図1. 造血幹細胞移植患者の血液中 EBV-DNA の推移(文献 12 より抜粋)

臓器移植後の PTLD の早期発見にも EBV-DNA 定量は有用である¹³⁾. しかし, 免疫抑制剤を長期に使用することから, EBV 再活性化が持続的もしくは間欠的に生じ, 高 EBV-DNA 血症が持続する症例が少なからず認められる¹⁴⁾. これらの患者から将来的に PTLD が発症するかどうかについては議論のあるところである.

造血幹細胞移植における PTLD の発症危険因子として, 原疾患が先天性免疫不全症, HLA 不一致または非血縁移植, 抗 CD3 モノクローナル抗体処理による T 細胞除去, anti-thymocyte globulin の使用, 極めて強い免疫抑制療法などが挙げられている. PTLD の発症にはレシピエントの細胞性免疫状態が深く関わっており, その制御・管理にはウイルス量の測定のみならず, ウイルス特異的細胞性免疫のモニタリングも重要であることがわかる. ウイルスに対する細胞性免疫は, ウイルス特異的 CTL に他ならず, これを定量的解析することは感染症の発症リスクの評価, 治療選択などに役立つ. 従来から, Cr 放出法による細胞傷害性試験, ELISPOT 法, Flow cytometry を用いた細胞内サイトカイン解析などによりウイルス特異的 CTL が測定されてきた. しかし, これらのウイルス特異的 CTL 測定法は, 手技が煩雑であるか, 定量性に欠けるなど臨床応用するには問題点が多かった. 近年, MHC class I 抗原, β_2 ミクログロブリン, 抗原ペプチドからなる tetrameric MHC-peptide complex(テトラマー)を用いた EBV 特異的 CTL の迅速同定が可能となった. テトラマーの合成のためには, 特定の HLA が認識できる抗原エピトープの同定が必要である. 葛島らにより日本人特有の HLA A2402 拘束的な EBV エピトープのいくつかが同定され¹⁵⁾, それぞれに対してテトラマーが合成された. これらのテトラマーを用いることで, 移植後の EBV 特異的細胞性免疫が再構築されているかどうかを簡便に判断できるようになった. 我々も, EBV に対するテトラマーを用い, ウイルス特異的細胞性免疫の定量評価の臨床応用を行っている^{14, 16)}.

5. 治療と管理

PTLD の初期段階では免疫抑制剤の減量により退縮が期待できる. しかし, 一旦進行した場合は難治である. 抗ウイルス剤の有効性は証明されていない. また化学療法に対しては抵

抗性を持つことが多い。造血幹細胞移植後のリンパ増殖症に対してはドナーリンパ球輸注が有効である¹⁷⁾。ドナーリンパ球輸注はドナー末梢血中にわずかに含まれる EBV 特異的 CTL をレシピエントに移入し、体内での増殖を期待するものである。ドナーの協力が得られさえすれば、骨髄移植財団を介した非血縁移植でも実施可能である。一方、ドナーリンパ球輸注は致命的な合併症である GVHD の誘因となる恐れもあり、その使用に関しては一定の制限がある。

ドナー末梢血より ex vivo に EBV 特異的 CTL を誘導し必要な細胞数まで増殖させた後、患者に投与するいわゆる養子免疫療法 (adoptive immunotherapy) は、GVHD を引き起こす allo-reactive T cell クローンを含まないため DLT にくらべ GVHD の危険が少ない¹⁸⁾。LPD を発症するリスクの高い移植にあらかじめ予防的に EBV 特異的 CTL を投与した試みもある¹⁹⁾。我が国においても EBV 特異的 CTL を樹立し患者に投与した報告はある^{20,21)}。しかし、EBV 特異的 CTL を樹立するのは特殊な施設・技術を要するため一般施設には普及していない。また CTL はドナー末梢血から誘導しなくてはならないため、骨髄バンクを介した非血縁移植では実施上制約がある。

近年、ヒト型の CD20 モノクローナル抗体である rituximab が EBV 関連 PTLD に用いられるようになった^{22,23)}。本剤は元来、B 細胞性リンパ腫の治療に開発されたものであるが、同じく B 細胞性であるリンパ増殖症にも有効である。ドナーリンパ球輸注がドナーの協力が必要であるのに対して、rituximab はすべての患者に投与できる。また、GVHD が起こる懸念もない。rituximab の合併症として低ガンマグロブリン血症や CD20 陰性 PTLD の再発が指摘されている^{24,25)}。使用後の EBV-DNA の減少が必ずしも臨床効果と平行しないとの報告もあるが²⁶⁾、rituximab は簡便性・安全性に優れ、極めて有用な治療法である。近年では、PTLD の発症リスクが極めて高い移植に対して、EBV のウイルスモニタリングを行い、ウイルス量の増加が認められた場合に、rituximab を先制治療として用いる試みもなされている²⁷⁾。さらには、rituximab の投与決定に際して、テトラマーによるウイルス特異的細胞性免疫能の評価が有用であるとの報告もなされている²⁸⁾。

PTLD の管理法については、施設/国によって様々で、ガイドラインも策定されていない。前述のごとく、同種骨髄移植全体における PTLD の発生率は低い。よってウイルス DNA の経時的なモニタリングは、移植患者全例が対象になるのではなく、本症の発症の可能性が高いハイリスク患者に限って行うべきであろう。早期発見例では免疫抑制剤の減量により PTLD の退縮が期待できる。一方、画像診断および臨床症状のフォローを行い、PTLD の発症が認められた場合には rituximab 投与の適応がある。限局的なものに対しては、外科的切除・放射線治療が有効である可能性もある。PTLD 発症のリスクが極めて高い場合には EBV-DNA 高値を認めた時に、rituximab の先制投与も考慮されよう。米国の Heslop らは PTLD 管理/治療に関するフローチャートを示している²⁹⁾。

F. 症例提示

図 2 に EBV-DNA 定量モニタリングにより早期診断され rituximab が有効であった造血幹細胞移植後の PTLD 症例を提示した³⁰⁾。この患者は、特発性再生不良性貧血で、非血縁骨髄移植を受けた 4 歳女児である。PTLD のリスク因子である anti-thymocyte globulin を移植の前処置として投与されていたため、移植前より HHV-6, CMV, EBV の経時的なウイルス量の漸減を、リアルタイム PCR 法でモニタリングしていた。血液中 CMV-DNA の増加及び CMV 抗