

原血症を認めたため ganciclovir 治療を行い, CMV 血症は消失した. EBV-DNA の増加に引き続き, 発熱・下痢・下血などの PTLD の症状を認めたため rituximab を投与したところ, EBV-DNA の減少, 症状の消退を見た.

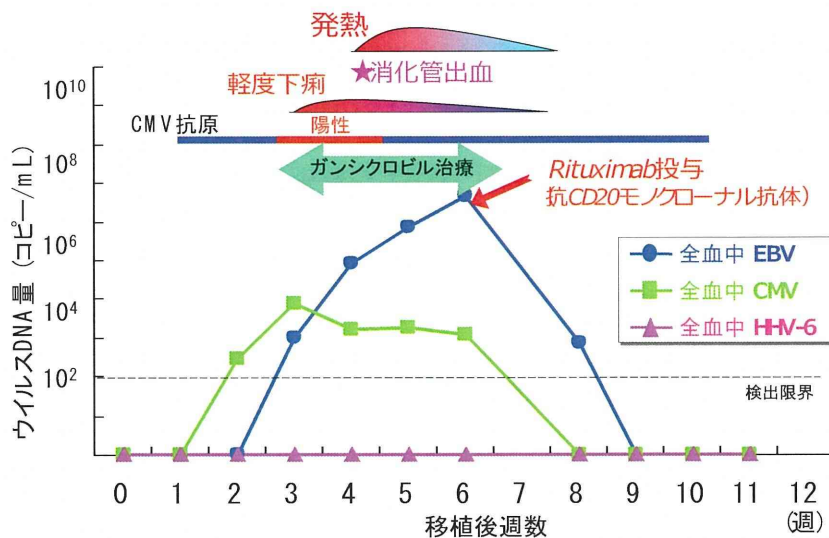


図 2. EBV-DNA 定量モニタリングにより早期診断され rituximab が有効であった造血幹細胞移植後の PTLD 患者の臨床経過

6. おわりに

EBV 関連 PTLD の診断・治療・管理について概説した。従来, PTLD は一旦進行すると難治であり, 有効な治療法がない致命率が高い疾患であった。PTLD 発症のリスク要因が明らかとなり, リアルタイム PCR 法による早期診断法の確立, テトラマーによるウイルス特異的 CTL の迅速同定が可能となった。これらの診断法・検査法の進歩とともに, ヒト型モノクローナル抗体である rituximab の実用化も相まって PTLD の管理・治療は大きな変革を迎えている。本稿で示したリアルタイム PCR 法・テトラマーによるウイルス特異的 CTL の迅速同定は, コマーシャルラボラトリーでも測定可能である。しかし未だ施設ごとに基準値・異常値が異なり, 標準化がなされていないばかりか, 健保採用もなされていない。最近, WHO より EBV-DNA 定量のための標準ウイルス粒子が認定・販売された。これら検査法の標準化・健保採用などにより, PTLD の診断・管理・治療法がより一般化・統一されることが望まれる。

7. 謝辞

本研究は名古屋大学医学部小児科, 同小児外科, 同移植・内分泌外科, 名古屋第一赤十字病院小児科, 愛知県がんセンター腫瘍免疫部との共同研究による。貴重な症例を提示して下さいました諸施設の先生方に深謝する。

引用文献

- 1) Cohen JI. Epstein-Barr virus infection. *N Engl J Med* 343:481-492, 2000.
- 2) Hale G et al.: Risks of developing Epstein-Barr virus-related lymphoproliferative disorders after T cell depleted marrow transplants. *Blood* 91:3079-3083, 1998.
- 3) Preiksatis JK et al: New development in the diagnosis and management of posttransplantation lymphoproliferative disorders in solid organ transplant patients. *Clin Infect Dis* 39:1016-1023, 2004
- 4) Gratama JW et al.: Epstein-Barr virus infection in bone marrow transplantation recipients. (eds. Thomas ED et al.), *Bone Marrow Transplantation*, Blackwell Scientific publication Boston: 429-442, 1994.
- 5) Swerdlow SH et al: Post transplant lymphoproliferative disorders. In *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, et al., eds . 4th ed, IARC Press, Lyon, p278-280, 2008
- 6) Savoie A et al.: Direct correlation between the load of Epstein-Barr virus-infected lymphocytes in the peripheral blood of paediatric transplant patients and risk of lymphoproliferative disease. *Blood* 83:2715-2722, 1994.
- 7) Riddler SA et a;: Increased levels of circulating Epstein-Barr virus (EBV)-infected lymphocytes and decreased EBV nuclear antigen antibody responses are associated with the development of posttransplant lymphoproliferative disease in solid-organ transplant recipients. *Blood* 84:972-984, 1994.
- 8) Lucas KG et al.: Semi-quantitative Epstein-Barr virus polymerase chain reaction analysis of peripheral blood from organ transplant patients and risk for the development of lymphoproliferative disease. *Blood* 92:3977-3978, 1998.
- 9) Rooney CM et al.: Early identification of Epstein-Barr virus-associated post-transplantation lymphoproliferative disease. *Br J Haematol* 89: 98-103, 1995.
- 10) Kimura H et al.: Quantitative analysis of Epstein-Barr virus load by using a real-time PCR assay. *J Clin Microbiol* 37:132-136, 1999.
- 11) Kimura H et al.: Measuring Epstein-Barr virus (EBV) load: the significance and application for each EBV-associated disease. *Rev Med Virol* 18: 305-319, 2008.
- 12) Hoshino Y et al.: Prospective Monitoring of the Epstein-Barr virus DNA by a real-time quantitative PCR after allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 115:105-111, 2001
- 13) Ono Y et al.: Simultaneous monitoring by real-time PCR of Epstein-Barr virus, human cytomegalovirus, and human herpesvirus 6 in juvenile and adult liver transplant recipients. *Transplant Proc* 40:3578-3582, 2008
- 14) Gotoh K et al.: Immunologic and virologic analyses in pediatric liver transplant recipients with chronic high Epstein-Barr viral loads. *J Infect Dis* 202:461-469, 2010
- 15) Kuzushima K et al.: Tetramer-assisted identification and characterization of epitopes recognized by HLA A*2402-restricted Epstein-Barr virus-specific CD8⁺ T cells. *Blood*

- 2003; 101:1460.
- 16) Sugaya N et al.: Quantitative analysis of Epstein-Barr virus (EBV)-specific CD8⁺ T cells in chronic active EBV infection. *J Infect Dis* 190:985-988, 2004
 - 17) Papadopoulos EB et al.: Infusion of donor leukocytes to treat Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorder after allogeneic bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 330: 1185-1191, 1994
 - 18) Rooney CM et al.: Use of gene-modified virus-specific T lymphocytes to control Epstein-Barr-virus related lymphoproliferation. *Lancet* 345:9-13, 1995
 - 19) Rooney CM et al.: Infusion of cytotoxic T cells for the prevention and treatment of Epstein-Barr virus-induced lymphoma in allogeneic transplant recipients. *Blood*. 92(5): 1549-1555, 1998
 - 20) Kuzushima K et al.: Establishment of anti-Epstein-Barr virus (EBV) cellular by adoptive transfer of virus-specific cytotoxic T lymphocytes from an HLA-matched sibling to a patient with severe chronic active EBV infection. *Clin Exp Immunol* 103:192-198, 1996.
 - 21) Imashuku S et al.: Unsuccessful CTL transfusion in a case of post-BMT Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorder (EBV-LPD). *Bone Marrow Transplantation*. 20:337-340, 1997
 - 22) Faye A. et al.: Anti-CD20 monoclonal antibody for post-transplant lymphoproliferative disorders. *Lancet* 352:1285, 1998
 - 23) Milpied N et al.: Humanized anti-CD20 monoclonal antibody (Rituximab) in post transplant B-lymphoproliferative disorder: a retrospective analysis on 32 patients. *Ann Oncol* 11 Suppl 1:113-116, 2000
 - 24) Verschuuren EA et al.: Treatment of posttransplant lymphoproliferative disease with rituximab: the remission, the relapse, and the complication. *Transplantation*. 73:100-104, 2002
 - 25) Muramatsu H et al.: CD20-negative Epstein-Barr virus-associated post-transplant lymphoproliferative disease refractory to rituximab in a patient with severe aplastic anemia. *Int J Hematol* 93:779-8, 2011
 - 26) Yang J et al.: Characterization of Epstein-Barr virus-infected B cells in patients with posttransplantation lymphoproliferative disease: disappearance after rituximab therapy does not predict clinical response. *Blood*. 96:4055-4063, 2000
 - 27) van Esser JW et al.: Prevention of Epstein-Barr virus-lymphoproliferative disease by molecular monitoring and preemptive rituximab in high-risk patients after allogeneic stem cell transplantation. *Blood*. 99:4364-4369, 2002
 - 28) Clave E et al.: Epstein-Barr virus (EBV) reactivation in allogeneic stem-cell transplantation: relationship between viral load, EBV-specific T-cell reconstitution and rituximab therapy. *Transplantation* 77:76-84, 2004
 - 29) Heslop HE: How I treat EBV lymphoproliferation. *Blood* 114:4002-4008, 2009
 - 30) Wada K, et al: Simultaneous quantification of Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and human herpesvirus 6 DNA in samples from transplant recipients by multiplex real-time PCR assay. *J Clin Microbiol* 45:1426-1432, 2007

ヒトヘルペスウイルス 6

藤田保健衛生大学医学部小児科学

吉川 哲史

1. はじめに

ヒトヘルペスウイルス β 亜科に属する human herpesvirus 6 (HHV-6)は、同じ亜科に属する human herpesvirus 7 (HHV-7), cytomegalovirus (CMV)と多くの生物学的類似点をもつ。HHV-6 はさらに生物学的性状やモノクローナル抗体に対する反応性、遺伝子塩基配列の相違などから variant A と variant B の二種類のサブタイプに分けられてきたが、最近の考え方としては HHV-6A, HHV-6B とそれぞれ別のヘルペスウイルスとしてとらえるようになってきている。現在わが国の移植患者で問題になっているのは HHV-6B であり、このウイルスは乳児期の熱性発疹症である突発性発疹(突発疹)の原因ウイルスとして知られている¹⁾。HHV-6B は乳児期に初感染した後宿主体内に潜伏感染し、その他のヒトヘルペスウイルス同様免疫抑制状態下で再活性化する。本邦ではほとんどの小児が乳幼児期にこのウイルスの初感染を受けるため、一般に臓器移植のドナー、レシピエントはいずれも抗体陽性の既感染者であることが多い²⁾。

前述のようにヒトヘルペスウイルスは移植患者において再活性化し、臨床的に問題となる。特に CMV は hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) などの様々な移植患者において多様な臨床症状を引き起こし、患者の罹病率と死亡率に大きな影響をおよぼす。HHV-6B も発見当初から移植患者において CMV 同様多彩な臨床症状に関与する可能性が考えられ、精力的に研究が進められ様々な事実が明らかになってきた。

2. HHV-6B のウイルス学

HHV-6B は 1986 年米国の Salahuddin らが AIDS やリンパ腫の患者末梢血より分離された³⁾。T 細胞、中でも CD4 陽性 T 細胞に親和性が高い。ウイルスは PHA 刺激臍帯血単核球、T 細胞樹立株 (MT-4, HSB-2 など) で増殖、巨細胞を形成する(図 1)。HHV-6B は 162 個のカプソメアーからなるヌクレオカプシドがエンベロープをかぶり、その間に厚いテグメント構造を有する。完全粒子の直径は約 150~200nm で、ヌクレオカプシド中に約 160kbp の二本鎖 DNA を保持している。

HHV-6 のレセプターは、麻疹ウイルス同様補体制御蛋白の一つである CD46 であることが明らかにされている。CD46 はヒトの有核細胞で発現しているが、HHV-6 は必ずしも全てのヒト細胞株に感染しないことから、その他のコレセプターの存在が考えられている。HHV-6A や HHV-6B は動物実験モデルがないため、ヒトでの感染、増殖動態は明らかではない。一部サルを用いた感染モデルはあるが、今のところ病態を再現するには至っていない。しかしながら、これまでの突発疹患児についての臨床ウイルス学的解析結果から初感染時の病態は以下のように考えられている。約 10 日から 14 日の潜伏期の後発病し、3 日から 4 日間程の有熱期には高頻度にウイルス血症を認め、解熱後の発疹期に NK 活性などの非特異的免疫機構や HHV-6 特異抗体が動員され、急速に血中からウイルス

が消退していく。また、このウイルスはリンパ球への親和性が強いことから、以前から宿主免疫を修飾するという数多くの *in-vitro* 実験成績がある⁴⁾。

3. 移植後 HHV-6B 感染の疫学と危険因子

HSCT 患者の約 40～50%に HHV-6 感染が認められる(表 1)。この発生率は診断方法により異なる。当然感度の高い polymerase chain reaction(PCR)法を用いれば発生頻度が高くなる。しかしながら、HHV-6B は末梢血単核球に潜伏感染するため、あまり高感度な PCR 法(例:nested PCR 法)を用いると潜伏感染と活動性感染の判別が困難になる。このような問題点を避けるため、われわれの施設では PCR 法だけでなく一貫してウイルス分離と血清診断を同時に実施してきた。ウイルス分離を基盤とした前方視的研究の結果も、HSCT 後 2～4 週に約 40%のレシピエントで HHV-6 のウイルス血症が確認されている^{5,6)}。PCR 法による単核球中ウイルス DNA 検出を基準とした解析では、HSCT 患者と他の固形臓器移植患者間で HHV-6B 感染の頻度に差はないが、ウイルス血症の頻度については HSCT 後の方が高頻度である⁵⁻¹⁰⁾。これはより強力な免疫抑制に伴い、強いウイルス増殖が起きていることを示唆しているものと思われる。

HSCT 患者における HHV-6B 感染のマネージメントを考える際に、HHV-6B 感染の危険因子を整理しておくことは重要である(表 2)。われわれの研究結果からは、HHV-6B のウイルス血症は同種骨髄移植の方が自家骨髄移植より有意に高頻度であることが明らかとなった($p=0.011$)。さらに、同種骨髄移植患者を対象にして種々の要因について検討した結果、基礎疾患が白血病あるいは悪性リンパ腫の場合その他の疾患(例:再生不良性貧血)に比べ有意に HHV-6 ウイルス血症のリスクが高いことが明らかとなった($p=0.02$)⁶⁾。さらに他のウイルス感染症同様非血縁者間移植のほうが血縁者間移植に比べ HHV-6 感染の頻度は高く⁹⁾、骨髄移植の方が末梢血幹細胞移植より¹⁰⁾、臍帯血移植はその他の HSCT よりいずれも HHV-6B 感染の頻度が高いことが示唆されている¹¹⁾。また、acute graft versus host disease (GVHD)の治療に使用される抗 CD3 モノクローナル抗体は、HHV-6B 感染と脳炎発症のリスクを増加させる(odds 比, 2.5;95%信頼区間, 1.3-4.7)という報告もある¹²⁾。よって、これらの危険因子を持つ HSCT 患者は特に注意深く HHV-6B 感染をモニタリングする必要がある。

HSCT 患者において HHV-6B 再活性化との関連性が示唆されている臨床像には様々なものがあるが(表 1)、これらの多くが本当に関連性があるかどうか最終結論には至っていない。移植後 HHV-6 脳炎が唯一確実な HHV-6B 関連の合併症と言える。そのため、これらの推定されている合併症に遭遇した際にも、HHV-6 の活動性感染があるかどうか正確に調べたうえでその他の可能性の鑑別を含め慎重に判断する必要がある。前述のように約半数の移植患者で HHV-6B 感染を生じるが、その好発時期は他のヘルペスウイルスと比べ早く、移植後 2 週間から 4 週間に集中している^{5,6)}。患者の臨床症状が HHV-6B 感染によるものかどうか疑う際に特徴的な好発時期を考慮することは重要である。

4. HHV-6 感染の臨床症状

1) 間質性肺炎

1991 年、Carrigan らが最初に HHV-6B 感染に伴う間質性肺炎 2 例を報告した¹³⁾。

一方の患者の気道分泌物からは繰り返しウイルス DNA が検出され、免疫組織化学

的検索で両者の肺組織に HHV-6 抗原が検出されている。その後 Cone らは、HSCT 後肺炎をおこした 15 例について半定量 PCR 法により肺組織中ウイルス DNA を定量し、特発性間質性肺炎の患者で HHV-6 DNA コピー数が高値であったことから HHV-6B と HSCT 後の間質性肺炎の関連性を示唆している¹⁴⁾。一方われわれが実施した小児例での検討では、HHV-6B 感染と肺炎との間に関連性を見出すことはできなかった⁶⁾。これが成人と小児の差によるものなのか、それとも人種差が間質性肺炎発症に関与しているのか今後さらに検討を進める必要がある。

2) Acute GVHD に類似した皮疹

前述のように、HSCT 患者において HHV-6B 感染は移植後 2~4 週間に好発する。その時期は移植されたドナー骨髄が生着し末梢血白血球数が増加する時期に一致し、acute GVHD の好発時期でもある。われわれは、HHV-6 のウイルス血症をきたした患者において、高率に発熱と acute GVHD 様の皮疹を生じることを見出した^{5,6)}。その後皮疹部のウイルス DNA の有無なども検討され¹⁵⁾、HHV-6 感染と acute GVHD との関連性解析が進められてきたがいまだ明確な答えは見つかっていない。In-vitro の検討で、HHV-6B は上皮細胞(A431 細胞)に感染し、それに伴い細胞表面上の HLA-ABC, HLA-DR, ICAM-1 などの発現が亢進することが明らかにされた¹⁶⁾。これは、HHV-6B 感染に伴い局所への炎症細胞浸潤が促進される可能性を示唆しており、acute GVHD 様皮疹の形成メカニズムを考える上で興味深い所見と考えられる。HHV-6B 感染に伴う皮疹形成メカニズムを考える上で重要な所見として、免疫不全乳児の HHV-6B 初感染では皮疹を欠くことがあげられる。乳児急性白血病患児¹⁷⁾や肝移植後の乳児¹⁸⁾では、発熱は認められるが解熱後の発疹は認められない。これは、突発疹の皮疹形成に宿主の免疫反応が重要な働きをしていることを示唆している。

3) 中枢神経症状

HHV-6B による中枢神経系合併症は、免疫機能の低下がない健康小児初感染例においてもしばしば報告されている。突発疹患児の熱性痙攣合併頻度が他の熱性疾患に比べ高いことや、in-vitro の研究でも HHV-6B が神経系の細胞に感染することが実証されており、HHV-6B は神経病原性を持ったウイルスといえる。移植後の HHV-6 感染に伴う中枢神経系合併症の中で特に注目すべき点は、記憶障害を伴い MRI などにより海馬に異常所見を認める脳炎症例が相次いで報告されている点である。いわゆる移植後急性辺縁系脳炎(post-transplant acute limbic encephalitis, PALE)の原因ウイルスのひとつと考えられている¹⁹⁾。このような症例の髄液中ウイルス DNA 量はかなり多く、突発疹罹患時の脳炎合併症例に比べ明らかに多量のウイルス DNA が存在している²⁰⁾。典型的な造血幹細胞移植後 HHV-6 脳炎の臨床経過は、記憶障害、痙攣重積、意識障害で発症し、急性期の脳脊髄液から高いコピー数の HHV-6 DNA が検出され確定診断される。好発時期は移植後 2 週間から 1 ヶ月半頃の早い時期に好発する。骨髄移植よりも臍帯血移植後に高率に発症し、ステロイド投与、移植前 HHV-6 IgG 抗体価低値が発症の危険因子として報告されている²¹⁾。画像診断では MRI 特に拡散強調画像(DWI)あるいは Fluid Attenuated Inversion Recovery (FLAIR) 法画像が有用で、海馬に異常所見を認める症例が多い²²⁾。ガンシクロビル、フォスカ

ルネット投与により脳脊髄液中のウイルス DNA は速やかに低下するが、記憶障害など神経症状の回復は遅れることがある。よって、抗ウイルス剤による中枢神経系でのウイルス増殖抑制は重要ではあるが、患者予後の改善には早期診断に基づく迅速な抗ウイルス剤投与を心がけるとともに、移植後 HHV-6 脳炎の病態解明を進めより適切な治療法も模索する必要がある。

4) 骨髄抑制

HSCT 後の骨髄抑制に CMV 感染の関与が示唆されているように、HHV-6B 感染も同様の可能性が指摘されている。In-vitro の研究でも、HHV-6 感染がコロニー増殖を抑制することが明らかにされている。さらにそのメカニズムについても、二つの可能性が考えられている。一つはサイトカインをはじめとした液性因子による間接的障害であり、もう一つは骨髄前駆細胞への HHV-6 感染による直接的障害である。しかしながら、われわれが実施したウイルス分離を基盤とした解析では、HHV-6B のウイルス血症と骨髄抑制の間に関連性は見出されなかった⁶⁾。

5) 二次性免疫抑制

HHV-6 は CD4 陽性リンパ球に親和性があるため宿主免疫反応への関与が示唆され、in-vitro の研究成績でこれを裏付ける様々な成績がある⁴⁾。移植患者における HHV-6 再活性化に伴い、宿主免疫の抑制が生じ種々の病原体に対する易感染性が起きる可能性が示唆されている。肝移植患者をはじめとした様々な移植患者における多数例の解析で、CMV、EBV といった他のヘルペスウイルスの再活性化頻度が増化する、あるいは真菌、細菌感染が助長されるという報告がある^{23,24)}。また、我々が実施した生体肝移植患者についての解析でも、HHV-6 感染群が非感染群に比べ生存率が有意に低いことが明らかになっている²⁵⁾。

6) ciHHV-6 の影響

最近、稀に HHV-6 ゲノムが宿主染色体に組み込まれていることが明らかとなっている。頻度は 0.5% から 2% 程度とされており、HHV-6A、B 共に起こし得る²⁶⁾。ヒトヘルペスウイルスの中で唯一 HHV-6 だけが起こすユニークな現象である。宿主染色体のテロメア領域に組み込まれることが明らかとなっており、宿主に直接的な影響を与えることはないとされているが、in-vitro での再活性化が明らかになっており²⁷⁾、in-vivo でも同様に再活性化し間接的な影響を与える可能性が示唆されている。前記の二次性免疫抑制同様、ciHHV-6 移植患者では、細菌等に対する易感染性が報告されている²⁸⁾。現時点では、real-time PCR 法により、末梢血中 1×10^6 copies/ml のような極めて高コピーの HHV-6 DNA が検出された場合 ciHHV-6 の可能性を考慮する必要がある。

5. HHV-6 感染の診断

現在実施されている HHV-6B の実験室的診断法を表 3 にまとめた。ウイルス分離は活動性ウイルス感染を検出するのに最も良い手法であるが、その工程には多くの手間がかかり判定まで約 2 週間必要である。それに比べ、PCR 法は迅速なウイルス感染の診断法

として極めて有用な方法である。しかしながら、HHV-6B は CMV と同じように初感染後末梢血単核球に潜伏感染するため、末梢血単核球からの PCR 法によるウイルス DNA 検出を感染の指標とすると、潜伏感染と活動性感染の区別が難しい。この問題を解決するために二つの方法が紹介されている。血清 PCR 法と定量的 PCR 法である²⁹⁾。TaqMan system を用いたリアルタイム PCR 法は現時点で HSCT や他の臓器移植患者において活動性ウイルス感染を評価するのに最適の方法と考えられる。ウイルス DNA 量がウイルスの増殖動態を間接的に反映すると考えられ、リアルタイム PCR 法でウイルス量をモニタリングすることは、このような患者の治療方針決定に重要な情報をもたらす。それ以外に、RT-PCR も活動性ウイルス感染モニタリングに適している³⁰⁾。最近我々の施設ではリアルタイム RT-PCR 法による HHV-6B 遺伝子発現モニタリング系を確立した。先のリアルタイム PCR による DNA 量のモニタリングでは、ウイルス分離後も比較的高いコピー数のウイルス DNA 量が持続するが、リアルタイム RT-PCR 法によるウイルス mRNA のモニタリングでは、ウイルス分離時期と遺伝子転写産物の検出時期が極めて良く一致する。

これ以外に HHV-6B 感染と疾患との関連性を調べる方法として、パラフィン包埋組織を用いた病理学的解析が挙げられる。HHV-6B の構造蛋白に対する種々のモノクローナル抗体を用いて免疫組織学的検索をすることは、ヒトに普遍的かつ潜伏感染するウイルスの病原性を議論する際にきわめて重要である。

6. 治療

In-vitro の研究でも示されているように、ganciclovir, foscarnet, cidofovir が HHV-6B と HHV-7 に効果がある。しかし、HHV-6B は CMV 同様ウイルス特異的チミジンキナーゼを欠くため、それによるリン酸化が薬剤の効果発現に必要な acyclovir の抗ウイルス効果は低い³¹⁾。HCMV の UL97 と機能的なホモログである HHV-6 U69 遺伝子産物は、ganciclovir をリン酸化することが明らかにされた³²⁾。Ganciclovir 存在下で継代された HHV-6B 変異株 (ganciclovir 耐性株) は、U69 遺伝子に変異が発見されている。幸い患者から ganciclovir 耐性の HHV-6B が分離されたという報告はないが、今後 HSCT 患者をはじめとした移植患者においては ganciclovir 耐性ウイルスのサーベイランスも必要と思われる。

一方、*in-vivo* の成績を見てみると、重篤な HHV-6B 感染症合併患者に ganciclovir や foscarnet が有効であったとのいくつかの症例報告はあるが、HHV-6B 感染に対する抗ウイルス薬の効果を一重盲検法で正確に評価した報告はない。Singh と Paterson は骨髄移植や臓器移植後の HHV-6 脳炎例をまとめ、この中で ganciclovir や foscarnet の治療を受けた 8 例中 7 例が治癒し治療を受けなかった 7 例では治癒しなかったと述べている³³⁾。Zerr らも ganciclovir や foscarnet が HSCT 後 HHV-6B 脳炎に効果があるかどうかを後方視的に調査し、8 例の HSCT 後 HHV-6B 脳炎患者で脳脊髄液内のウイルス DNA 量の減少を認めたと述べている³⁴⁾。しかし、ganciclovir と foscarnet はそれぞれ骨髄抑制と腎毒性という副作用があるため、主治医は患者の全身状態を考慮しこれら二剤の中から適切な薬剤を選ばなければならない。前述のように *in-vitro* の研究では HHV-6 は acyclovir に感受性が乏しいが、Wang らは HHV-6 感染予防に高用量 acyclovir が有効であると報告している³⁵⁾。Acyclovir は ganciclovir や foscarnet より毒性が少ないため、もしこの方法

が本当に有効であれば臨床的有用性は高く今後その予防効果を正確に評価する必要がある。

HSCT 後 HHV-6 脳炎予防のために、抗ウイルス剤の preemptive treatment や prophylactic treatment が試みられている。最近、Ogata²¹⁾らや Ishiyama³⁶⁾による血清中の HHV-6 DNA 検出を指標とした ganciclovir や foscarnet の preemptive treatment の成果が報告されたが、HHV-6 脳炎を完全に防ぐには至らず、次いで foscarnet の予防投与成績が金沢大学から報告されている。Foscarnet (90mg/kg/day) を通常の移植であれば移植後 7 日目から 14 日目まで、臍帯血移植の場合は 7 日目から 18 日目まで投与するというプロトコールで、対象症例は少ないものの安全性に問題はなく、脳炎の発症を防ぐことができたとされている³⁷⁾。今後より大規模な研究により、安全かつ有効な予防法確立が望まれる。

7. まとめ

HHV-6B は HSCT 後の重要な日和見感染性病原体である。いくつかの移植後臨床症状と HHV-6B 感染との関連性が示唆されているが、最終的結論はいまだに出ていない。疑わしい患者が発生した場合には、正しいウイルス学的診断法に基づき正確な診断(活動性感染)を下し早期に適切な抗ウイルス療法を実施することが重要と考えられる。

引用文献

- 1) Yamanishi K, Okuno T, Shiraki K, et al. Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthem subitum. *Lancet* 1:1065-1067, 1988
- 2) Yoshikawa T, Suga S, Asano Y, et al. Distribution of antibodies to a causative agent of exanthem subitum (human herpesvirus-6) in healthy individuals. *Pediatrics* 84:675-677, 1989
- 3) Salahuddin SZ, Ablashi DV, Markham PD, Josephs SF, Sturzenegger S, Kaplan M, Halligan G, Biberfeld P, Wong-Staal F, Kramarsky B, et al. Salahuddin Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. *Science* 234:596-601, 1986
- 4) Lusso P HHV-6 and the immune system: mechanisms of immunomodulation and viral escape. *J Clin Virol* 37 Suppl 1:S4-10, 2006
- 5) Yoshikawa T, Suga S, Asano Y, et al. Human herpesvirus-6 infection in bone marrow transplantation. *Blood* 78:1381-1384, 1991
- 6) Yoshikawa T, Asano Y, Ihira M, et al. Human herpesvirus 6 viremia in bone marrow transplant recipients: clinical features and risk factors. *J Infect Dis* 2002;185:847-853.
- 7) Yoshikawa T, Suga S, Asano Y, et al. Prospective study of human herpesvirus-6 infection in renal transplantation. *Transplantation* 54:879-883, 1992
- 8) Yoshikawa T, Ihira M, Suzuki K, et al. Human herpesvirus 6 infection after living related liver transplantation. *J Med Virol* 62:52-59, 2000
- 9) Ljungman P, Wang FZ, Clark DA, et al. High levels of human herpesvirus 6 DNA in peripheral blood leukocytes are correlated to platelet engraftment and disease in allogeneic stem cell transplant patients. *Br J Haematol* 111:774-781, 2000

- 10) Maeda Y, Teshima T, Yamada M, et al. Monitoring of human herpesviruses after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation and bone marrow transplantation. *Br J Haematol* 105:295–302, 1999
- 11) Sashihara J, Tanaka-Taya K, Tanaka S, et al. High incidence of human herpesvirus 6 infection with a high viral load in cord blood stem cell transplant recipients. *Blood* 100:2005–2011, 2002
- 12) Zerr DM, Gooley TA, Yeung L, et al. Human herpesvirus 6 reactivation and encephalitis in allogeneic bone marrow transplant recipients. *Clin Infect Dis* 33:763–771, 2001
- 13) Carrigan DR, Drobyski WR, Russler SK, et al. Interstitial pneumonitis associated with human herpesvirus 6 infection after marrow transplantation. *Lancet* 338:147–149, 1991
- 14) Cone RW, Hackman RC, Huang, M.L., et al. Human herpesvirus 6 in lung tissue from patients with pneumonitis after bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 329:156–161, 1993
- 15) Yoshikawa T, Ihira M, Ohashi M, et al. Correlation between HHV-6 infection and skin rash after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 28:77–81, 2001
- 16) Yoshikawa T, Goshima F, Akimoto, S., et al. Human herpesvirus 6 infection of human epidermal cell line: pathogenesis of skin manifestations. *J Med Virol* 71:62–68, 2003
- 17) Yoshikawa T, Kobayashi I, Asano Y, et al. Clinical features of primary human herpesvirus-6 infection in an infant with acute lymphoblastic leukemia. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 15:424–426, 1993
- 18) Yoshikawa T, Ihira M, Suzuki K, et al. Primary human herpesvirus 6 infection in liver transplant recipients. *J Pediatr* 138:921–925, 2001
- 19) Seeley WW, Marty FM, Holmes TM, et al. Post-transplant acute limbic encephalitis: clinical features and relationship to HHV-6. *Neurology* 69:156–65, 2007.
- 20) Kawamura Y, Sugata K, Ihira M, et al. Different characteristics of human herpesvirus 6 encephalitis between primary infection and viral reactivation. *J Clin Virol* 51:12–19, 2011
- 21) Ogata M, Kikuchi H, Satou T, et al. Human herpesvirus 6 DNA in plasma after allogeneic stem cell transplantation: incidence and clinical significance. *J Infect Dis* 193:68–79, 2006
- 22) Noguchi T, Mihara F, Yoshiura T, et al. MR imaging of human herpesvirus-6 encephalopathy after hematopoietic stem cell transplantation in adults. *AJNR Am J Neuroradiol* 27:2191–2195, 2006
- 23) Humar A, Kumar D, Caliendo AM, et al. Clinical impact of human herpesvirus 6 infection after liver transplantation. *Transplantation* 73:599–604, 2002
- 24) Rogers J, Rohal S, Carrigan DR, et al. Human herpesvirus-6 in liver transplant recipients: role in pathogenesis of fungal infections, neurologic complications, and outcome. *Transplantation* 69:2566–2573, 2000
- 25) Ohashi M, Sugata K, Ihira M, et al. Human herpesvirus 6 infection in adult living related liver transplant recipients. *Liver Transpl* 14:100–109, 2008
- 26) Pellett PE, Ablashi DV, Ambros PF et al. Chromosomally integrated human herpesvirus 6: questions and answers. *Rev Med Virol*. 2011 Nov 4. doi: 10.1002/rmv.715.
- 27) Arbuckle JH, Medveczky MM, Luka J, et al. The latent human herpesvirus-6A genome

- specifically integrates in telomeres of human chromosomes in vivo and in vitro., *Proc Natl Acad Sci USA* 107:5563–5568, 2010
- 28) Lee SO, Brown RA, Razonable RR. Clinical significance of pretransplant chromosomally integrated human herpesvirus-6 in liver transplant recipients. *Transplantation* 92:224–229, 2011
 - 29) Ihira M, Yoshikawa T, Suzuki K, et al. Monitoring of active HHV-6 infection in bone marrow transplant recipients by real time PCR; comparison to detection of viral DNA in plasma by qualitative PCR. *Microbiol Immunol* 46:701–705, 2002
 - 30) Yoshikawa T, Akimoto S, Nishimura N, et al. Evaluation of active human herpesvirus 6 infection by reverse transcription-PCR. *J Med Virol* 70:267–272, 2003
 - 31) Yoshida M, Yamada M, Tsukazaki T, et al. Comparison of antiviral compounds against human herpesvirus 6 and 7. *Antiviral Res* 40:73–84, 1998
 - 32) De Bolle L, Michel D, Mertens T, et al. Role of the human herpesvirus 6 u69-encoded kinase in the phosphorylation of ganciclovir. *Mol Pharmacol* 62:714–721, 2002
 - 33) Singh N, Paterson DL. Encephalitis caused by human herpesvirus-6 in transplant recipients: relevance of a novel neurotropic virus. *Transplantation* 69:2474–2479, 2000
 - 34) Zerr DM, Gupta D, Huang ML, et al. Effect of antivirals on human herpesvirus 6 replication in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis* 34:309–317, 2002
 - 35) Wang FZ, Dahl H, Linde A, et al. Lymphotropic herpesviruses in allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 88:3615–3620, 1996
 - 36) Ishiyama K, Katagiri T, Hoshino T, et al. Preemptive therapy of human herpesvirus-6 encephalitis with foscarnet sodium for high-risk patients after hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 46:863–869, 2011
 - 37) Ishiyama K, Katagiri T, Ohata K, et al. Safety of pre-engraftment prophylactic foscarnet administration after allogeneic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis* 14:33–39, 2011

表 1 造血幹細胞移植患者における human herpesvirus 6 感染の概要

感染頻度: 40-50% (HHV-6 感染頻度は診断方法の感度に影響される)*

感染時期: 移植後 2-4 週*

感染の臨床症状

発熱*

皮疹

移植片対宿主病 (GVHD)

生着不全 (顆粒球, 血小板)

骨髄抑制

間質性肺炎

脳炎 / 脳症#

血栓性微小血管症

腸炎

間接的効果

宿主免疫力低下に伴う他のヘルペスウイルス, 細菌, 真菌感染の助長*

#中枢神経系症状と HHV-6 感染の因果関係はほぼ確立していると考えられ, 現在では抗ウイルス療法の対象

*固形臓器移植でも同様; 固形臓器移植ではこの他に拒絶反応との関連性が示唆されている

表 2 造血幹細胞移植患者における HHV-6 感染の危険因子

同種骨髄移植 > 自家骨髄移植

臍帯血幹細胞移植 > 骨髄移植と末梢血幹細胞移植

非血縁者間移植 > 血縁者間移植

基礎疾患: 白血病 / リンパ腫 > その他の疾患

(再生不良性貧血, 神経芽細胞種, 代謝性疾患など)

GVHD の予防治療: OKT 3 抗体の使用

表 3 HHV-6 感染症の診断方法とその特徴

1. 血清学的診断: 急性ウイルス感染症の優れた指標. HHV-6 と HHV-7 間の交叉反応を考慮する必要がある.
2. ウイルス分離: 急性ウイルス感染症の優れた指標. 操作が煩雑.
3. 定性 PCR 法: 検体に末梢血単核球を使用する際は, PCR 法の感度が活動性感染と潜伏感染を区別するために非常に重要となる. 血清や脳脊髄液の上清成分のような細胞成分を含まない体液は活動性ウイルス感染検出に適している.
4. 定量 PCR (real-time PCR) 法: ウイルス DNA 量の推移 (ウイルス増殖の程度) を評価できる.
5. RT-PCR: 活動性ウイルス感染の優れた指標.
6. Antigenaemia 法: 方法の有用性は肝移植で報告されている. 骨髄移植での大規模調査が必要である.
7. 抗原検出 (免疫組織化学分析): ウイルス感染の部位 (組織, 細胞レベル) が特定できる.
8. *In situ hybridization*: 活動性感染と潜伏感染の区別は難しい. *RNA In situ hybridization* が活動性ウイルス感染を検出するために必要である.

図 1. HHV-6B 感染に伴う典型的な細胞変性効果



抗ヘルペスウイルス薬とその使い方

国立感染症研究所ウイルス第一部第四室

井上 直樹

1. はじめに

米国においてサイトメガロウイルス(CMV)網膜炎への適用が認められている IE2 遺伝子に対するアンチセンス RNA である fomivirsen を除き、現時点で臨床利用可能な抗ヘルペス薬の最終標的は、ウイルス DNA ポリメラーゼによる DNA 合成である。こうした薬剤は、移植医療をはじめとしてヘルペスウイルスによる様々な感染症に対して大変有効であることが実証されている。一方で、長期使用に伴う耐性株出現、第 1 選択薬剤自身や耐性株に対する第 2 選択薬剤の毒性などから新規薬剤が求められる状況にある。既存薬の作用機序、薬剤投与の考え方、耐性変異、新規薬剤開発について、本節では概説する。

2. 既存薬の作用機序

現在、欧米も含め承認されている主な抗ヘルペス薬について、図 1 に化学構造を、図 2 に作用機序をまとめた。

アシクロビル(ACV, ゾビラックス®)は、DNA 複製過程においてデオキシグアニジン(dG)に対して拮抗的に DNA に取り込まれる。ACV のバリンエステル化体プロドラッグであるバラシクロビル(VACV, バルトレックス®)は、血中でバリン基がとれて ACV と同様に作用する。ACV 及び VACV では、デオキシリボースの 2' 及び 3' の部分がとれた非環状構造をしているため、3' 位で次のヌクレオチドとの結合ができなくなり、DNA 複製反応が途切れることとなる。即ち、ACV, VACV は DNA 鎖伸長阻害薬(Chain terminator)として作用する。DNA に ACV が取り込まれるためには、三リン酸化され ACV-TP となる必要があるが、最初のーリン酸化、即ち ACV-MP 合成は、HSV 及び VZV にコードされるチミジンキナーゼ(TK)により特異的に行われる。細胞のキナーゼにより二リン酸及び三リン酸目は付与される。ACV の高い特異性は、非感染細胞内では ACV のーリン酸化が起らないこと、ACV-TP に対して、ウイルス DNA ポリメラーゼが宿主の DNA ポリメラーゼより 30 倍親和性が高いことにより規定されている。なお、1) EBV や HHV-8 が属する γ ヘルペスウイルス亜科は TK をコードするが ACV のリン酸化効率が低いため、2) CMV, HHV-6, HHV-7 などの β ヘルペスウイルス亜科は TK を持たないため、いずれも抗ウイルス薬として ACV を用いることはできない。

ペンシクロビル(PCV, デナビル®)や PCV のプロドラッグであるファミシクロビル(FCV, ファムビル®)は、ACV と異なり 3' -OH を有するが、ACV と同様にウイルス TK によりーリン酸化され、三リン酸体 PCV-TP は DNA ポリメラーゼの阻害剤となる。ACV と比して細胞内での半減期が 10 倍以上長いことが特徴であり、FCV は 2009 年に保険収載された。作用機序が ACV と同じであるため ACV 耐性株に対して交差耐性があり、第 2 選択薬として用いることはできない。

ガンシクロビル(GCV, デノシン®)は、ACV と類似した薬剤として開発されたデオキシグ

アノシンのデオキシリボースの 2' を削ったものである。バリンエステル化されたプロドラッグがバルガンシクロビル(VGCV, バリキサ[®])である。GCV 及び VGCV は、ACV よりもデオキシグアノシンに構造が近いので、細胞の酵素でリン酸化されやすい。全てのヘルペスウイルスに対して活性を有するが、HSV や VZV では TK によって、CMV ではウイルスがコードする UL97 プロテインキナーゼによってリン酸化される。ACV 同様に細胞の酵素によって二リン酸、三リン酸化され、ウイルス DNA ポリメラーゼを競合的に阻害しウイルス DNA 複製を阻害する。ACV 耐性 HSV 株は GCV に対しても交差耐性である。

ビダラビン(araA, アラセナー-A[®])は、デオキシアデノシンの誘導體で糖の 2' 位の水酸基が上向きに結合しているアラビノフラノシル基を持つ。この薬剤のリン酸化は全て細胞の酵素によって行われ、三リン酸体となった後、dATP の代わりに DNA 鎖に取り込まれ、DNA 合成を阻害する。本剤の特異性は細胞の DNA ポリメラーゼよりもウイルスの DNA ポリメラーゼ に対する親和性が高いということのみであるため、他の薬剤に比べ選択性は低い。なお、アラビノフラノシルシチジン(araC)は抗ガン剤として使用されている。

シドフォビル(CDV)は、長時間作用性のヌクレオチド類似物質で、ヘルペスウイルス科のみならず、アデノウイルス、ヒトパピローマウイルス、ヒトポリオーマウイルスなどの DNA ウイルスの複製を阻害する。CDV は、ACV や GCV 耐性株に対しても有効である。我国においては、未承認である。

ホスカルネット(FOS, ホスカビル[®])は無機ピロリン酸の有機類似物質であり、細胞内でリン酸化されることなく、特異的にウイルスの DNA ポリメラーゼのピロリン酸結合部位に直接作用し、その活性を抑制して抗ウイルス効果を示す。ACV 耐性株や他のヘルペスウイルスに対しても有効である。そのほかに、抗ヘルペス薬として最初に開発された 1960 年代より臨床で用いられている薬剤にイドクスウリジン(IDU)がある。IDU は、ハロゲン化されたチミジンである最も古い抗ウイルス薬であり、ウイルス TK でリン酸化されるが、宿主細胞の TK でもリン酸化されるため選択性が低い。IDU には突然変異原性があり容易に薬剤耐性ウイルスを誘導することからも、適応は眼科領域に限られている。

3. 抗ウイルス薬の投与

ACV では、5-10mg/kg の点滴静注を 8 時間ごと、もしくは 1-4g の内服を 1 日 6 回行う。ACV の経口吸収は 5%程度であるが、VACV では 60%程度と改善されたため、500mg 錠 x2 を 12 時間おき服用となっている。ACV を投与されている免疫不全患者における有害作用には、腎不全、静脈炎、発疹、および神経毒性(嗜眠、錯乱、発作、昏睡)が含まれる。血栓性血小板減少性紫斑病/溶血性尿毒症症候群(TTP/HUS)も報告されている。移植患者においては、HSV や VZV の再活性化予防に有効であることから、移植数日前ないしは移植後早期に ACV を経口もしくは点滴で投与する。「骨髄移植における HSV 感染症の発症抑制」への適用では移植後 35 日までの ACV 投与となっているが、長期少量投与を移植後 1 年以上継続することで単純ヘルペスや帯状疱疹などの発症はリバンウンドなく抑えることが可能であることが明らかになってきている[1,2]。今後 ACV の代わりに使用されることが多くなってくると思われる FCV の国内での適応は帯状疱疹のみであるが、米国等では単純疱疹と帯状疱疹が適応とされている。

ACV が著効しない(かならずしも耐性ではない)HSV や VZV 株による単純ヘルペス脳炎や帯状疱疹には、araA を使用する。その副作用としては、主に骨髄機能抑制などがある。

さらに、長期投与、大量投与により、精神神経障害（振戦、しびれ、錯乱等）が発現しやすくなることが示唆されている。

GCV は主に CMV 感染症対策に使用されてきた。経口 GCV の生体内利用率はわずか 6～9%であり、標準的投与量（1g、1日3回）に対して 12カプセル/日を要するが、生体内利用率の高い製剤 VGCV で、450mg 錠剤 2錠、1日1回または1日2回が服用される。GCV の副作用は ACV より強く、骨髄抑制（特に好中球減少）や催奇形性、精子形成の低下、発ガン性などを持つことが明らかとなっている。重度の好中球減少（500/ μ L 未満）の場合は、顆粒球コロニー刺激因子または顆粒球マクロファージコロニー刺激因子を使った骨髄刺激か、または薬物投与の中止が必要となる。比較的まれな有害作用としては、発疹、発熱、窒素血症、肝機能障害、悪心、および嘔吐がある。米国では、移植患者に対し移植から 100 日間を目途に予防投与が行われているが、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 preemptive な早期介入がとられている。予防投与と早期介入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。

FOS については、日本造血細胞移植学会が早急な保険適用を求める要望書を 2008 年 4月に厚生労働省へ提出し、昨年、点滴静注用ホスカビル注 24mg/mL の製造販売承認事項一部変更承認により、造血幹細胞移植患者における CMV 血症及び感染症が適応に追加された。造血幹細胞移植において、臍帯血移植における HHV-6 関連脳症の発症頻度が明らかに高率であることから、リスクの高い期間に限って FOS などの抗ヘルペス薬の予防投与する、ないしは早期介入が可能となるようなモニタリングを行い FOS の preemptive 投与が検討されている。移植前 HHV-6 の抗体価が低い場合に、HHV-6 の移植後再活性化が起こりやすい傾向があることから、移植前に抗体価を測定しハイリスク症例に対してのみ予防投与を行うという考え方もある。

CDV は、ACV や GCV 耐性出現に際して FOS や araA が使用できない場合に有用と考えられているが、我国においては未承認であるため、幅広い適応についての検討はなされていない。副作用としては、腎障害、代謝性アシドーシス、好中球減少などがある。

いずれにしても、既存の抗ヘルペス薬は、潜伏感染しているウイルスを除去するわけではなく、移植後の宿主の免疫が回復するまでの一過性の封じ込め策である一方、骨髄抑制や腎毒性などの副反応と無縁ではないことを理解しておくことは重要である。

4. 薬剤耐性

健常者での ACV 耐性 HSV 株の出現頻度は 0.1-0.7%程度であるが、免疫不全者では 4-7%程度に上昇する。ウイルス TK によるリン酸化が ACV、VACV の活性には必須であるため、HSV や VZV における ACV 耐性変異のほとんど（95%程度）が、この TK 遺伝子の活性を消失もしくは減少させるものである。TK 以外の変異は、DNA ポイメラーゼ遺伝子中に見られる。DNA ポイメラーゼはウイルスの増殖に必須であることから、酵素の立体構造を大きく変えるような変異を有するウイルスは産生されない。このため、酵素活性を保ったままで ACV に対する親和性を低下させる変異は限られており、ACV に対する耐性度も一般的に低い。

HSV 及び VZV の ACV 耐性変異株は多数解析されており、特定のアミノ酸領域に大半

の変異が同定される。HSV の場合には、ウイルス分離が容易であり、生物学的な方法でも耐性株か否かを決定できる。しかし、VZVの場合やHSVであっても検体が髄液・涙液などウイルス量が限られていることが少なからずある場合や保存材料しか手には入らない場合などには、TK 及び DNA ポリメラーゼの変異が同定されることが知られる遺伝子領域についてウイルス DNA を PCR で増幅後、塩基配列を決める方が、労力・時間両面から見ると得策である。但し、塩基配列から薬剤耐性を決定する場合には、薬剤耐性とは無関係にたまたま存在する polymorphic 変異なのか薬剤耐性変異かを区別するために、薬剤投与前もしくは初期の検体と比較することが望ましい。図 3 及び図 4 に HSV 及び VZV の TK 及びポリメラーゼ遺伝子に見られる ACV 耐性変異を示す[3,4]。塩基配列から薬剤耐性かどうかを判定できない場合に有用な方法として、1) TK 遺伝子を大腸菌などで発現させ、その酵素活性を測定する[5]、2) TK 遺伝子を培養細胞で発現させ、ACV 耐性変異 HSV 株の TK 欠損を相補可能かを検討する[6]、3) レポーター細胞を用いて迅速な生物学的検討をする[7]、などが実施可能である。

TK 変異株の増殖能は野生株に比べて 1/10 程度に低下するため、病原性も低下し、ほとんどの場合は宿主の免疫系により抑え込まれ問題とはならない。一方で、免疫不全者では TK 変異株の増殖を抑え込むことができず、治療に反応しない慢性の感染症を引き起こす場合があるため注意が必要である。

移植患者において、GCV 耐性 CMV 株が出現してくることは少ないが、宿主の免疫の状態によって耐性ウイルスの出現率は異なり、心臓移植や腹部の臓器移植(肝臓など)では 1.5-2%、肺移植で 5-9%である。GCV の一リン酸化に必要な UL97 が CMV の増殖に必須であるため、耐性であるが増殖性に影響を与えないような変異は限られている。CMV に対する GCV の効き方は、HSV に対する ACV の効き方に比べ緩やかであり、時として、効果が見られないことから耐性株が出現した可能性があると思われがちであるが、こうした症例をこれまでに多数経験してきたが、投与後 2 週間もすれば次第に効果が明確になる場合に多く、耐性によるものであることは、ほぼない。CMV の場合、ウイルス分離に 2-3 週程度を要する場合も多く、生物学的方法で GCV 耐性か感受性かを決めるのは、相当の手間と時間がかかり、臨床的対応が困難となる。このため、耐性変異が知られる UL97 及びポリメラーゼ遺伝子の特定の領域を解析するのが簡便かつ現実的である。決定した塩基配列を張り付ければ、既知の耐性変異が存在するかを解析できる便利な web サイト(www.informatik.uni-ulm.de/ni/mitarbeiter/HKestler/hcmv/)もある。変異があるが既知置換が報告されておらず生物学的方法による検討が必要な場合には、CMV 力価を迅速に決定できるレポーター細胞などを用いる。

近年、検体の種類(髄液、唾液、血液、尿など)によりウイルス株が薬剤感受性であるか耐性であるかが異なる compartmentalization と呼ばれる現象が報告されてきているため、病態を反映すると思われる検体中に耐性株が出現したのかどうかを解析しないと、薬剤感受性試験の臨床的な意義がなくなることがある[8,9]。

5. 新規薬剤開発の状況

ここでは、比較的話題とされる新規薬剤のみを取り上げため、新規薬剤の詳細な開発状況は総説などを参照されたい[10-12]。

ピリミジン基の 5 位にブロモウラシル基のついたデオキシチミジンである BVDU(プリブジ

ン)は、経口吸収もよく、VZV に対して特に効果があり、欧州では帯状疱疹の治療薬として使用されている。しかしながら、その類似化合物 BVaraU(ソリブジン)は BVDU 以上に帯状疱疹に効果があったが、発売直後に相当数の死者を出し、販売中止となった。thymidine phosphorylase により産生される薬剤からの分解フリーベースが抗ガン剤である 5-FU の dihydropyrimidine dehydrogenase (DHP)による分解経路を阻害したための副反応が原因であった。BVDU に構造・作用機序が似た一連の bicyclic nucleoside (BCNA) アナログのひとつ CF1743 のバリンエステル化体である FV-100 は、VZV 特異的で EC50 が ACV の 1/1000 と帯状疱疹への効果が期待されている。BVDU や BVaraU と異なり、フリーベースが DHP を阻害しないため、抗ガン剤との相互作用による副反応はない。但し、チミジンキナーゼ(TK)によるリン酸化が必要なため ACV 耐性株に効果はない。健常者への投与における薬理動態と安全性に問題はな、帯状疱疹を対象とした第 2 相治験 (NCT00900783)も 2010 年末に完了し、2 回目の第 2 相治験プロトコールが 2011 年 9 月時点で FDA に提出されている。

広範囲の DNA ウイルスに効果がある CDV は経口吸収率が低く腎毒性等の問題があった。このため膜透過性が向上した誘導体 CMX001 が開発された。他薬剤で治療不能な重篤症例に対する多施設非盲検試験(NCT01143181)及び幹細胞移植での CMV 感染症予防の治験(NCT00942305)が進行中で、51 回 ICAAC(2011 年)で安全性に問題なしと経過報告された。CMV に加えて HHV-6・HHV-8 にも効果が見られる化合物として CDV の methylenecyclopropane 修飾核酸アナログの cyclopropavir も第 1 相治験が進行中である。

新たな阻害標的としてヘリカーゼ・プライメース (helicase-primase) があり、酵素活性阻害を指標に同定されたリードを改変して得られた BAY57-1293 や ASP2151 等が知られる。抗 HSV 阻害剤では EC50 が 0.01-0.1 μ M と極めて低く、マウスモデルでも効果があった。但し、BAY57-1293 では耐性出現頻度が高いことが問題である。アステラス社開発の ASP2151 は HSV に加え VZV に対しても EC50 が 0.1 μ M と低い。ASP2151 は、性器ヘルペスに対する偽薬との比較及び帯状疱疹に対するバラシクロビルとの比較の第 2 相治験が行われたが、健常人を対象とした安全性確認のための多施設二重盲検試験 (NCT00870441)で重大有害事象が発生したため、治験打ち切りとなった。一方、AiCuris 社が開発した helicase-primase 阻害剤 AIC316 は、HSV2 陽性者を用量の異なる 4 群と偽薬群に分け、ウイルス排出を検討する第 2 相治験(NCT01047540)を行い、排出量が用量に応じ減少すること、耐性株が検出されなかったことを 51 回 ICAAC で発表した。

カプシドにゲノム DNA を注入する入口にあたるポータル蛋白やカプシドにゲノム DNA を注入する際にユニット長に切断する酵素 terminase に作用する BDCRB などの阻害薬が現在開発中である。中でも、AIC246 は、EC50 が 5nM と低く、FDA Fast track の対象となり、幹細胞移植での CMV 感染症予防の第 2 相治験(NCT01063829)の結果分析中だが、少なくとも免疫抑制剤との相互作用はなさそうだ。

Maribavir は BDCRB 類似化合物だが、terminase ではなく CMV UL97 が標的である。UL97 は、DNA 複製に必須な polymerase-associated protein UL44 のリン酸化やカプシドの核から細胞質への放出に関与するなど多機能な蛋白であり、その機能を marivabir は阻害する。第 1-2 相治験での良好な成績をもとに、幹細胞移植での CMV 感染症予防を指標とした第 3 相治験が行われたが、薬効不十分という結果に終わった。EBV 感染症に

も効果があるとされるが、そのための治験は進んでいない。

6. おわりに

既存薬はその有効性がすでに移植医療で実証されているが、まだまだ改良の余地がある。しかしながら、HSV 以外のヘルペスウイルスに対する薬剤は、感染阻害の測定自体が面倒であったり、動物モデルがなかったりといった限界のために、開発は遅い状況にある。In silico や生化学的活性に基づく high-throughput 検索を可能とするためには、地道な基礎研究と新規薬剤標的を同定可能とする生物学的スクリーニング法の改良が必要と考えられる。

引用文献

- 1) Kanda Y, Mineishi S, Saito T, Saito A, Yamada S, Ohnishi M, Chizuka A, Niiya H, Suenaga K, Nakai K, Takeuchi T, Makimoto A, Tanosaki R, Kami M, Tanaka Y, Fujita S, Watanabe T, Kobayashi Y, Tobinai K, Takaue Y. Long-term low-dose acyclovir against varicella-zoster virus reactivation after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 28:689-692, 2001
- 2) Boeckh M, Kim HW, Flowers ME, Meyers JD, Bowden RA. 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
- 3) Piret J, Boivin G. Resistance of herpes simplex viruses to nucleoside analogues: mechanisms, prevalence, and management. *Antimicrob Agents Chemother* 55:459-472, 2011
- 4) Andrei G, Topalis D, Fiten P, McGuigan C, Balzarini J, Opdenakker G, Snoeck R. In vitro-selected drug-resistant varicella-zoster virus mutants in the thymidine kinase and DNA polymerase genes yield novel phenotype-genotype associations and highlight differences between antiherpesvirus drugs. *J Virol* 86:2641-2652, 2012
- 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) Wang GQ, Suzutani T, Yamamoto Y, Fukui Y, Nozawa N, Schmid DS, Kurane I, Inoue N. Generation of a reporter cell line for detection of infectious varicella-zoster virus and its application to antiviral studies. *Antimicrob Agents Chemother* 50:3142-3145, 2006
- 8) Brink AA, van Gelder M, Wolffs PF, Bruggeman CA, van Loo IH. Compartmentalization of acyclovir-resistant varicella zoster virus: implications for sampling in molecular

diagnostics. Clin Infect Dis 52:982–987, 2011

- 9) Hamprecht K, Eckle T, Prix L, Faul C, Einsele H, Jahn G. Ganciclovir-resistant cytomegalovirus disease after allogeneic stem cell transplantation: pitfalls of phenotypic diagnosis by in vitro selection of an UL97 mutant strain. J Infect Dis 187:139–143, 2003
- 10) Dropulic LK, Cohen JI. Update on new antivirals under development for the treatment of double-stranded DNA virus infections. Clin Pharmacol Ther.88:610–619, 2010
- 11) Prichard MN, Kern ER. The search for new therapies for human cytomegalovirus infections. Virus Res 157:212–221, 2011
- 12) 井上直樹, 橋本楓, 福地早希 「新規抗ヘルペスウイルス薬開発の現状」日本臨床 2012年4月号

図1 抗ヘルペス薬の化学構造

