

201231147A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）

（H24-難治等（難）-一般-046）

慢性活動性 EB ウイルス感染症の発症機構解明と
新規治療法開発に関する研究

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 藤原成悦

平成 25 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）

（H24－難治等（難）－一般－046）

慢性活動性 EB ウイルス感染症の発症機構解明と
新規治療法開発に関する研究

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 藤原成悦

平成 25 年 3 月

目次

| | |
|---|----|
| I. 総括研究報告 | |
| 慢性活動性 EB ウイルス感染症の発症機構解明と新規治療法開発に関する研究 藤原成悦 | 1 |
| II. 分担研究報告 | |
| 1. EB ウイルスによる T および NK 細胞腫瘍発症機構の解析および慢性活動性 EB ウイルス感染症成人症例の治療法の開発に関する研究 新井文子 | 9 |
| 2. 慢性活動性 EB ウイルス感染症モデルマウスに対する抗 CD4 抗体治療実験 今留謙一 | 15 |
| 3. EB ウイルスがコードする miRNA 定量による EB ウイルス関連疾患診断への 応用研究 木村宏 | 19 |
| 4. 新規 CAEBV 治療薬の開発と評価 児玉栄一 | 23 |
| 5. EBV 感染 T/NK 細胞の維持と増殖における EBV miRNA の役割について 清水則夫 | 29 |
| 6. 慢性活動性 EB ウイルス感染症の遺伝的素因に関する研究 森尾友宏 | 35 |
| 7. CAEBV 原因遺伝子の同定を目的とする全エクソン配列解析 藤原成悦 | 39 |
| III. 研究成果の刊行に関する一覧表 | 45 |
| IV. 研究成果の刊行物・別刷 | 51 |

慢性活動性 EB ウイルス感染症の発症機構解明と 新規治療法開発に関する研究

研究代表者 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

研究要旨 ①慢性活動性 EB ウイルス (EBV) 感染症 (CAEBV) で想定される免疫不全の原因遺伝子同定を目標として全エクソン配列決定を開始した。今年度は患者およびその父母の合計 6 名の DNA について全エクソン領域の配列を決定し、現在バイオインフォマティクス解析を行っている。②CAEBV の病態を合併する免疫不全症患者における免疫能の異常を解析したところ、NKT 細胞の減少や、B および T 細胞新生能の低下を示す症例が見いだされた。③EBV がコードする microRNA (miRNA) をバイオマーカーとして利用することを目的としてその患者血漿中濃度を測定したところ、CAEBV 患者では miR-BART2-5p と miR-BART5 が、伝染性単核症患者では miR-BHRF1-1 と miR-BHRF1-2 が有意に上昇していた。④EBV が T 細胞に感染すると β インテグリンの発現が誘導され、fibronectin との相互作用により細胞死が抑制されることが分かった。⑤EBV が T 細胞に感染すると INF- γ 、IL-6、TNF- α などの産生が誘導され、これらのサイトカインに対する抗体により細胞死が亢進することが分かった。⑥成人 CAEBV 7 例に対する骨髄非破壊的同種造血幹細胞移植 (RIC) の成績を検討したところ、5 例が寛解を得、3 年全生存率は 71.4%であったことから、RIC は成人 CAEBV にも有効であると考えられた。⑦EBV がコードするチミジンキナーゼによりリン酸化されたのち細胞毒性を発揮する薬物をスクリーニングする実験系を開発し、CAEBV などの EBV 関連疾患治療薬候補 S-FMAU を見いだした。⑧EBV がコードする miR-BART9 が EBV 感染 T および NK 細胞の増殖に関与することを見だし、治療の標的となる可能性が示された。⑨CAEBV モデルマウスに抗 CD4 抗体を投与することにより、末梢血 EBV DNA 増加と体重減少の阻止、延命効果などの治療効果が認められ、CD4+T 細胞を標的とする治療法の可能性が示された。

研究分担者：

新井文子；東京医科歯科大学大学院血液
内科学・講師
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・室長
木村宏；名古屋大学大学院ウイルス学分
野・教授
児玉栄一；東北大学病院感染症科・助教

清水則夫；東京医科歯科大学難治疾患研
究所・准教授
森尾友宏；東京医科歯科大学大学院小児
科学・准教授

A. 研究目的

慢性活動性 EB ウイルス (EBV) 感染症
(CAEBV) は EBV 感染 T 或いは NK 細

胞の増殖を特徴とし、持続或いは再発を繰り返す伝染性単核症様症状を呈する。現在のところ造血幹細胞移植以外に根治的治療法はない。患者の免疫能の詳細な解析結果や分類不能型免疫不全症との合併例の存在から、CAEBV 発症の根底には微細な免疫不全が存在する可能性が浮上している。本研究では CAEBV の発症機構解明と新規治療法の確立を最終目標とし、エクソーム解析による原因遺伝子探索、新規治療標的分子の探索をはじめとする多角的な研究を進めた。

B. 研究方法

1. CAEBV 患者および両親からの DNA 採取とエクソーム解析

Oragene DNA 採取キットにより唾液より DNA を採取し、Agilent 社 SureSelect Human All Exon V4 キットを用いて全エクソン領域の DNA ライブラリーを作成した。次いで、illumina 社 HiSeq 1000 を用いてその塩基配列を決定した。得られた配列データをアラインメントプログラム BWA によりヒトゲノム配列 hg18 上に位置づけ、Genome analysis toolkit (GATK) などにより 1000 ゲノムプロジェクト、dbSNP、HapMap などのデータと照合し、変異を検出した。

2. EBV 関連疾患患者血漿中の miRNA 測定

対象は CAEBV 18 例 (男:女=11:7)、伝染性単核症 11 例 (男:女=6:5)。対照として EB ウイルス既感染健常成人 10 名 (男:女=8:2)。CAEBV 患者のうち 10 例は T 細胞性、8 例は NK 細胞性であった。採取した血漿 200 μ l から mirVana PARIS を用い miRNA を抽出した。次いで EBV がコードする 12 種類の miRNA

(miR-BHRF1-1,-2,-3, miR-BART1-5p, miR-BART2-5p, miR-BART4, miR-BART5, miR-BART7, miR-BART13, miR-BART15, miR-BART16, miR-BART22) を、TaqMan Reverse Transcription Kit と TaqMan MicroRNA Assays (Applied Biosystems) により定量した。

3. EBV による T 細胞増殖誘発メカニズムの解析

EBV 感染 T (SNT8, 16, 16) および NK 細胞株 (SNK6)、CAEBV 患者末梢血より磁気ビーズ結合抗体により分離した新鮮 EBV 感染 T あるいは NK 細胞、in vitro で EBV を感染させたヒト T 細胞株 Molt-4 を用いて、インテグリンの発現とその機能、サイトカイン産生と特異抗体処理によるその機能阻害の影響等について解析した。

4. EBV 特異的治療薬スクリーニングシステムの開発と治療薬候補の同定

チミジンキナーゼ (TK) 遺伝子を欠損するヒト骨肉腫細胞株 143B に EBV TK, EBV phosphotransferase (PT)、あるいはヒト TK 遺伝子を導入し、EBV TK あるいは EBV PT 導入細胞に対して特異的に細胞毒性を示す薬剤を探した。

5. EBV 感染 T および NK 細胞における miRNA の発現と機能の解析

CAEBV 患者等から樹立された EBV 陽性 T (SNT8, 16, 16) および NK 細胞株 (SNK6, 10) から RNA を抽出し、miRNA マイクロアレイ (LC Sciences) により EBV miRNA の発現を解析した。また miR-BART9 の機能をアンチセンスオリゴヌクリオチドにより抑制した。

7. CAEBV モデルマウスの作成と抗 CD4 抗体投与の効果検証

CAEBV 患者末梢血単核細胞 (1×10^6 個) を NOG マウスに投与し、末梢血 EBV

DNA 量が 1×10^4 copies/ μ g DNA に達した時点で 100 μ g/mouse の OKT-4 抗体を 2 日連続で投与し、その後は週 1 回投与を続けた。

(倫理面への配慮)

CAEBV 患者および両親のエクソーム解析は「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、それ以外の患者試料を用いる研究は「臨床研究に関する倫理指針」に則って行われた。国立成育医療研究センターをはじめとする実施研究機関の倫理委員会の承認を得て研究を行った。骨髄非破壊的造血幹細胞移植に関する探索的臨床研究は、東京医科歯科大学医学部附属病院施設内審査委員会の承認を得て施行した。研究対象者或いは保護者に対しては、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によりインフォームドコンセントを取得した。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。

C. 研究結果

1. CAEBV 患者および両親のエクソーム解析

CAEBV 患者 6 名とその父母 7 名、合計 13 名からインフォームドコンセントを取得し、唾液から DNA を抽出した。また一部の対象者の末梢血より単核細胞を分離し、EBV 感染リンパ芽球様細胞株を樹立した。まず 3 名の患者とその父母から得られた計 6 検体の DNA について、全エクソン領域のライブラリーを作成し配列の決定を完了した。現在バイオインフォー

マティクス解析を行っている。

2. 免疫不全症に合併する CAEBV 患者における免疫能の解析

CAEBV を合併する分類不能型免疫不全症患者のなかには、NKT 細胞が減少している患者、KRECs/TRECs 低値で複合免疫不全のパターンを示す患者が存在することが明らかになった。

3. CAEBV 患者血漿中 EBV miRNA のバイオマーカーとしての応用

CAEBV 患者群では健常者と比べて miR-BART2-5p と miR-BART5 が有意に上昇していた。伝染性単核症患者群では miR-BHRF1-1 と miR-BHRF1-2 が有意に上昇していた。

4. EBV による T 細胞増殖誘発メカニズムの解析

EBV 感染により T 細胞の表面に β integrin である CD29 と CD49d の発現が誘導された。 β integrin のリガンドである fibronectin との相互作用により EBV 感染 T および NK 細胞の抗腫瘍薬 VP-16 による細胞死が抑制された。CAEBV 患者末梢血では INF- γ 、IL-6、TNF- α などのサイトカイン濃度が上昇していることが分かった。また EBV 感染 T および NK 細胞株はこれらのサイトカインを産生していた。さらに、抗 IL-6 抗体 tocilizumab あるいは抗 TNF- α 抗体 infliximab により VP-16 によるこれらの細胞の細胞死が亢進することが示された。これらの知見より、インテグリンや INF- γ 、IL-6、TNF- α などのサイトカインは、CAEBV 治療の標的分子となる可能性が考えられた。

5. CAEBV 成人症例に対する骨髄非破壊的同種造血幹細胞移植 (RIC) の効果検証

対象 CAEBV 患者 7 名の年齢は 20 歳から 62 歳。女性 5 例、男性 2 例。移植時病

勢は非活動性 5 例、活動性 1 例（発熱）、進行性 1 例（皮膚および筋への浸潤）であった。移植時活動性、進行性であった 2 例はそれぞれ敗血症、病气進行で移植後 12 日、46 日に死亡した。一方非活動性 5 例は全例寛解した。ATG を使用した 3 例は血中 EBV DNA が上昇したが、増殖した EBV 感染細胞はいずれもドナー由来 B 細胞で、Rituximab 投与で全例 EBV は陰性化した。

6. EBV 特異的治療薬スクリーニングシステムの開発と治療薬候補の同定

新規ヌクレオシド S-FMAU は EBV TK 導入細胞特異的に細胞毒性を示し、その 50%細胞毒性濃度は、EBV TK、EBV PT、human TK 導入細胞においてそれぞれ、 $0.11 \pm 0.053 \mu\text{M}$ 、 $>300 \mu\text{M}$ 、 $>300 \mu\text{M}$ であった。これらの値は、従来の抗ヘルペスウイルス薬であるアシクロビルおよびガンシクロビルの EBV TK 導入細胞に対する 50%毒性濃度（どちらも $>100 \mu\text{M}$ ）よりはるかに低く、強い EBV 感染細胞特異的細胞毒性を示している。また、S-FMAU は末梢血 B 細胞に EBV を感染させて 14 日後までの細胞増殖と EBV 産生を強く抑制した。

7. EBV 感染 T および NK 細胞の生存と増殖における miRNA の役割の解析

EBV 感染 T および NK 細胞株においては、miR-BART17-5p, miR-BART7, miR-BART1-3p, miR-BART9, miR-BART10 の 5 種類の EBV miRNA が高発現されていた。miR-BART9, miR-BART7, miR-BART17-5p の発現をアンチセンスオリゴヌクレオチドにより抑制すると EBV 感染 NK 細胞株 SNK6 の増殖が抑制された。一方 EBV 感染 T 細胞株 SNT16 の増殖は miR-BART9 の発現抑制により抑制

された。さらに、miR-BART9 の発現抑制により EBV の発がん蛋白質 LMP1 の発現レベルが低下した。これらの結果から、miR-BART9 をはじめとする EBV miRNA が有効な治療標的分子となる可能性が考えられた。

8. CAEBV モデルマウスにおける抗 CD4 抗体の治療効果

4 頭のモデルマウスのうち 2 頭のマウスに OKT-4 を投与し、残り 2 頭には対照として isotype match 抗体を投与した。対照マウスは、抗体投与後も末梢血 EBV DNA 量の上昇と体重減少が継続し、患者末梢血単核細胞移植後 7-8 週でいずれも死亡したのに対し、OKT-4 投与マウスでは、EBV DNA 上昇と体重減少が阻止され、いずれも 15 週以上生存した。これらの結果から CD4+ T 細胞を標的とする治療法の可能性が確認された。今後は CD4+ T 細胞が EBV 感染 T および NK 細胞の増殖を指示する分子機構を解明し、有効性と安全性の高い治療標的分子を同定する必要があると考えられる。

D. 考察

CAEBV は家系内発症がほとんど知られていないが、分類不能型免疫不全症（CVID）患者の一部が CAEBV と区別できない病態を示すことが最近示されたため、CVID と合併していない症例においても何らかの遺伝子異常による微細な免疫不全がその発症に関わる可能性が注目されている。ヒトヘルペスウイルス 8 型（HHV-8）が原因となるカポジ肉腫においても、同ウイルスに対する免疫不全をまねき、同腫瘍の小児期発症を促進する遺伝子異常がエクソーム解析により同定されている。これらのことから、CAEBV

においてもエクソーム解析により、その原因となる遺伝子が同定される可能性が十分あると考えられる。明らかな免疫不全症と合併して発症した CAEBV 症例においては、NKT 細胞の減少や KERCs/TRECs 低値などの特徴が明らかにされつつあり、これらの特徴を参考にして原因遺伝子を探索することも有効であると考えられた。

健常者と比べて、CAEBV 患者群では miR-BART2-5p と miR-BART5 が、伝染性単核症患者群では miR-BHRF1-1 と miR-BHRF1-2 が有意に上昇していたことから、これらの miRNA がそれぞれの疾患の診断マーカーあるいは予後判定マーカーとなる可能性が生じている。miR-BART5 は p53-upregulated modulator of apoptosis (PUMA) を介してアポトーシスを抑制することが知られていることから、CAEBV においても、miR-BART5 が EBV 感染細胞のアポトーシス回避に関与する可能性が考えられる。

EBV TK は EBV 感染 T および NK 細胞において高発現されることが分かっているため、本研究で見いだされた S-FMAU は CAEBV などの EBV 関連 T/NK リンパ増殖性疾患に対して有効な治療薬となる可能性がある。現在 CAEBV モデルマウスにおいて S-FMAU の *in vivo* の効果を検証している。

探索的臨床研究により CAEBV に対する骨髄非破壊的前処置による造血幹細胞移植は成人例に対しても有効であることが示唆された。また、移植前の病状コントロールが必要であると考えられた。ATG 前処置では全例で EBV-B-LPD が見られたことから、ドナー由来 EBV 特異的細胞傷害性 T 細胞が EBV 感染細胞の除去

に関与することが示唆された。

E. 結論

CAEBV 原因遺伝子の同定を目指し、3名の患者とその父母を対象とするエクソーム解析を開始し、現在バイオインフォマティクス解析を行っている。CAEBV の根本原因である EBV 感染 T および NK 細胞の増殖のメカニズムとして、 β integrin と fibronectin の相互作用、TNF- α などのサイトカイン、miR-BART9 などの EBV microRNA の関与が示され、治療標的としての応用が考えられた。EBV がコードするチミジンキナーゼによりリン酸化されて細胞毒性を発揮する薬剤をスクリーニングする実験系を開発し新規治療薬候補 S-FMAU を見いだした。CAEBV モデルマウスを用いた解析により CD4+ T 細胞を標的とする治療法の可能性が確認された。血漿中の EBV miRNA を CAEBV の診断および予後判定マーカーとして利用する可能性が示された。CAEBV 成人例に対しても骨髄非破壊性造血幹細胞移植が有効であることが示された。

F. 健康危機情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) [Arai A](#), [Imadome K](#), Wang L, Nan W, Kurosu T, Wake A, Ohta Y, Harigai M, [Fujiwara S](#), and Miura O. Recurrence of chronic active Epstein-Barr virus infection from donor cells after achieving complete response through allogeneic bone marrow transplantation. *Intern Med* 51: 777-782,

2012.

2) Yang X, Wada T, Imadome K, Nishida N, Mukai T, Fujiwara M, Kawashima H, Kato F, Fujiwara S, Yachie A, Zhao X, Miyawaki T, Kanegane H. Characterization of Epstein-Barr virus (EBV)-infected cells in EBV-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in two patients with X-linked lymphoproliferative syndrome type 1 and type 2. *Herpesviridae* 2012, 3:1.

3) Imadome K, Fukuda A, Kawano F, Imai Y, Ichikawa S, Mochizuki M, Shigeta T, Kakiuchi T, Sakamoto S, Kasahara M, Fujiwara S. Effective control of Epstein-Barr virus infection following pediatric liver transplantation by monitoring of viral DNA load and lymphocyte surface markers. *Pediatr Transplant*. 2012 Nov;16(7):748-57.

4) Arai A, Nogami A, Imadome K, Kurata M, Murakami N, Fujiwara S, Miura O. Sequential monitoring of serum IL-6, TNF- α , and IFN- γ levels in a CAEBV patient treated by plasma exchange and immunochemotherapy. *Int J Hematol* 96(5): 669-673, 2012.

5) Iwata S, Saito T, Ito Y, Kamakura M, Gotoh K, Kawada J, Nishiyama Y, Kimura H. Antitumor activities of valproic acid on Epstein-Barr virus-associated T and natural killer lymphoma cells. *Cancer Sci* 103:375-8, 2012

6) Kimura H, Ito Y, Kawabe S, Gotoh K, Takahashi Y, Kojima S, Naoe T, Esaki S, Kikuta A, Sawada A, Kawa K, Ohshima K, Nakamura S. Epstein-Barr virus (EBV)-associated T/NK lymphoproliferative diseases in non-immunocompromised hosts: prospective analysis of 108 cases. *Blood*

119:673-86, 2012

7) Hirai Y, Yamamoto T, Kimura H, Ito Y, Tsuji K, Miyake T, Morizane S, Suzuki D, Fujii K, Iwatsuki K. Hydroa vacciniforme is associated with increased numbers of Epstein-Barr virus-infected $\gamma\delta$ T-cells. *J Invest Dermatol* 132:1401-8, 2012

8) Isobe Y, Aritaka N, Setoguchi Y, Ito Y, Kimura H, Hamano Y, Sugimoto K, Komatsu N. T/NK-cell type chronic active Epstein-Barr virus (EBV) disease in adults: an underlying condition for EBV-associated T/NK-cell lymphoma. *J Clin Pathol* 65: 278-82, 2012

9) Kawabe S, Ito Y, Gotoh K, Kojima S, Matsumoto K, Kinoshita T, Iwata S, Nishiyama Y, Kimura H. Application of flow cytometric in situ hybridization assay to Epstein-Barr virus-associated T/NK lymphoproliferative diseases. *Cancer Sci* 103: 1481-8, 2012

10) Ito Y, Kimura H, Maeda Y, Hashimoto C, Ishida F, Izutsu K, Sueoka E, Isobe Y, Takizawa J, Hasegawa Y, Kobayashi H, Okamura S, Kobayashi H, Yamaguchi M, Suzumiya J, Hyo R, Nakamura S, Kawa K, Oshimi K, Suzuki R. Pretreatment EBV-DNA copy number is predictive of response and toxicities to SMILE chemotherapy for extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type. *Clin Cancer Res* 18: 4183-4190, 2012

11) Ko Y-H, Kim H-J, Oh Y-H, Park G, Lee S-S, Huh J, Kim C-W, Kim I, Ng S-B, Tan S-Y, Chuang S-S, Nakamura N, Yoshino T, Nakamura S, Kimura H, Ohshima K. EBV-associated T and NK cell lymphoproliferative disorders: Consensus report of the 4th Asian Hematopathology

Workshop. *J Hematopathol* 5:319–324, 2012

12) Ito Y, Kawamura Y, Iwata S, Kawada J, Yoshikawa T, Kimura H. Demonstration of type II latency in T lymphocytes of Epstein-Barr Virus -associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer* 60: 326-328, 2013.

13) Honda F, Kano H, Kanegane H, Nonoyama S, Kim E-S, Lee S-K, Takagi M, Mizutani S, Morio T. Btk negatively regulates ROS production and stimulation-induced apoptosis in human neutrophils. *Nature Immunol.* 13: 369-378, 2012.

14) Xiaoguang Li, Hua Qian, Fusako Miyamoto, Takeshi Naito, Kumi Kawaji, Kazumi Kajiwara, Toshio Hattori, Masao Matsuoka, Kentaro Watanabe, Shinya Oishi, Nobutaka Fujii, Eiichi N. Kodama. A simple, rapid, and sensitive system for the evaluation of anti-viral drugs in rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 424:257-261 2012.

15) Kazuki Izumi, Kumi Kawaji, Fusako Miyamoto, Kazuki Shimane, Kazuya Shimura, Yasuko Sakagami, Toshio Hattori, Kentaro Watanabe, Shinya Oishi, Nobutaka Fujii, Masao Matsuoka, Mitsuo Kaku, Stefan G. Sarafianos, and Eiichi N. Kodama. Mechanism of Resistance to S138A Substituted Enfuvirtide and its Application to Peptide Design. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* in press 2013.

2. 著書・総説

1) 新井文子. 慢性活動性EBウイルス感染症. Chronic active EBV infection (CAEBV) 正しい診断のために内科医が

知っておくべき事. *内科* 110 巻 263-266, 2012.

2) 森尾友宏:分類不能型免疫不全症 *日本臨床* 70:2011-2021, 2012.

3) 森尾友宏:分類不能型免疫不全症 Update *日本臨床免疫学会雑誌* 35:14-22, 2012.

4) 児玉栄一、宮本総子 新しい抗ウイルス剤開発の考え方 *臨床と微生物* 40:51-55, 2013

3. 学会発表 (国際学会)

1) Fujiwara S. Mouse Models of Epstein-Barr Virus-Related Diseases. 1st Samsung Humanized Mice Symposium, April 14, 2012, Seoul.

2) Imadome K, Yajima M, Arai A, Nakazawa A, Kawano F, Ichikawa S, Shimizu N, Yamamoto N, Morio T, Ohga S, Nakamura H, Ito M, Miura O, Komano J, Fujiwara S. Novel Mouse Xenograft Models of Chronic Active EBV Infection and EBV-Associated Hemophagocytic Lymphohistiocytosis Reveals a Critical Role of CD4+ T Cells in the Proliferation of EBV-Infected T and NK Cells. VII. International Conference on Rare Diseases and Orphan Drugs. 2012.2.4-6 Tokyo.

3) Kimura H. Chronic active Epstein-Barr virus infection and related diseases in Japan. Asian Hematopathology Symposium, Soul, Jan 29, 2012.

4) Morio T. Primary Immunodeficiencies due the Defect in Signaling Molecules. 2012 KSMCB Annual Meeting. Seoul, Korea. October 2012.

(国内学会)

1) 藤原成悦. EB ウイルス関連疾患の病

態を再現するモデルマウス. 北海道大学 遺伝子病制御研究所研究集会 「感染・免疫・炎症・発癌」. 平成 24 年」6 月 8 日、札幌.

2) 藤原成悦. EB ウイルス関連 T/NK リンパ増殖性疾患の病態を再現するモデルマウス. 第 19 回ヘルペス感染症フォーラム、平成 24 年 8 月 24 日、札幌.

3) 新井文子. 慢性活動性 EB ウイルス感染症は悪性腫瘍か? 第 52 回日本リンパ網内系学会総会 シンポジウム V リンパ増殖性疾患: 良性か? 悪性か? 2012 年 6 月 16 日 福島.

4) 仁多美奈子、山本正英、今留謙一、藤原成悦、三浦修、新井文子

Chronic active Epstein-Barr virus infection 成人例に対する骨髄非破壊的前処置を用いた造血幹細胞移植成績

第 34 回日本造血細胞移植学会総会 2012 年 2 月 24 日 大阪

5) 仁多美奈子、山本正英、今留謙一、藤原成悦、三浦修、新井文子. Chronic active Epstein-Barr virus infection 成人例に対する骨髄非破壊的前処置を用いた造血幹細胞移植成績. 第 34 回日本造血細胞移植学会総会 2012 年 2 月 24-25 日 大阪.

6) Ayako Arai, Ken-Ichi Imadome, Ludan Wang, Honami Komatsu, Takatoshi Koyama, Ayako Nogami, Shigeyoshi Fujiwara, Osamu Miura. Inflammatory cytokines can be molecular targets for treatment of CAEBV. 第 74 回日本血液学会総会、2012 年 10 月 18-20 日、京都.

7) Ludan Wang, Ken-Ichi Imadome, Honami Komatsu, Takatoshi Koyama, Shigeyoshi Fujiwara, Osamu Miura, Ayako Arai. EBV infection enhances T-cell adhesion and survival contributing to EBV-T-LPD

development. 第 74 回日本血液学会総会、2012 年 10 月 18-20 日、京都.

8) 木村 宏. ウイルス学の基礎よりみた臓器移植後の感染症. 第 48 回日本移植学会総会、教育セミナー. 名古屋 2012 年 9 月 22 日.

9) 木村 宏. CAEBV 診療の問題点: 今、求められている研究とは? 第 3 回 CAEBV 患者交流会. 京都 2012 年 10 月 20 日

10) 木村 宏. EBV と血液・腫瘍性疾患. 第 74 回日本血液学会学術集会 教育講演. 京都 2012 年 10 月 21 日

11) 木村 宏. 難治性 EB ウイルス感染症 ~EBV-HLH と CAEBV の病態から治療まで~: CAEBV ~アジア型と欧米型~. 第 44 回日本小児感染症学会学術集会 ワークショップ. 小倉 2012 年 11 月 24 日.

12) 木村 宏. EB ウイルスリンパ関連 T/NK リンパ増殖性疾患. 第 43 回、日本小児感染症学会、教育講演. 岡山 (2011.10)

13) 森尾友宏: Multivirus specific cytotoxic T-cells for post-transplant virus infection.、第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会 (シンポジウム)、横浜、2012 年 11 月 30 日-12 月 2 日.

14) 吉山 裕規、高田 賢蔵、南保 明日香、清水 則夫 EBV 遺伝子 BNLF2a と BNLF2 b は溶解感染初期と潜伏期に発現し、腫瘍化に関与する 第 60 回日本ウイルス学会学術集会 2012 年 11 月 15 日 大阪市.

H. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし。

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

EB ウイルスによる T および NK 細胞腫瘍発症機構の解析および
慢性活動性 EB ウイルス感染症成人症例の治療法の開発に関する研究
分担研究者 新井文子（東京医科歯科大学大学院血液内科学 講師）

研究要旨

慢性活動性 EB ウイルス感染症（CAEBV）の病態解明と新規治療法の開発を目的に以下の3項目について研究を行った。

① CAEBV における integrin 発現とその意義について

EBV は T 細胞に感染すると細胞表面に β integrin である CD29, CD49d の発現を誘導し、感染細胞の β integrin のリガンドである fibronectin (FN) への接着を亢進させた。FN への接着による CD29、CD49d の活性化によって EBV 陽性 T/NK 細胞の VP-16 による細胞死は抑制された。以上から EBV は T/NK 細胞において integrin の発現誘導を介し腫瘍化に働くと考えられた。

② CAEBV における炎症性サイトカイン産生とその意義について

CAEBV 患者6人では、INF- γ 、IL-6、and TNF- α の血清中の濃度は健常者に比べ高値をしめした。*in vitro* の解析では EBV 感染により T 細胞ではこれらのサイトカインの産生が亢進することが示された。さらに抗サイトカイン抗体薬である、infiximab や tocilizumab は VP-16 による抗腫瘍効果を亢進させた。以上から CAEBV では EBV 陽性 T/NK 細胞による炎症性サイトカイン産生が亢進しており、病態形成に寄与しており治療標的となりうることを示された。

③ CAEBV 成人例に対する非血縁同種造血幹細胞移植の有効性：Chronic active Epstein-Barr Virus (EBV) infection (CAEBV) 成人例に対する骨髄非破壊的同種造血幹細胞移植 (RIC) の成績を検討した。7 例中 5 例が寛解を得、3 年全生存率は 71.4% であった。以上から、RIC は成人 CAEBV にも有効であると考えられた。

A. 研究目的

慢性活動性 Epstein-Barr ウイルス感染症（CAEBV）は、近年 EBV 感染 T もしくは NK 細胞のクローン性増殖を伴う事が明らかになり、腫瘍であるとの位置づけがなされ、2008 年度版 WHO 造血器腫瘍分類にリンパ腫のひとつとして記載された。疾患の周知に従い、近年症例報告は増加しているが、その発症メカニズム、特に EBV が本当に腫瘍発症に寄与して

いるのかは証明されていない。また CHOP 療法、大量 Cytarabine 療法をはじめとする化学療法に抵抗性の症例が多く、予後は極めて不良である。本研究では、それらの問題点を解析、解決するために、以下の3つの解析を行った。

① CAEBV における integrin 発現とその意義について

CAEBV の病態について β integrin であ

る CD29、CD49d の発現に注目して解析した。②CAEBV における炎症性サイトカイン産生とその意義について

EBV 陽性 T/NK リンパ増殖症腫瘍病態形成におけるサイトカインの意義を解析した。

③ CAEBV 成人例に対する非血縁同種造血幹細胞移植の有効性：CAEBV 根治療法として、移植治療の有効性が報告されているが、そのほとんどが小児例であり成人例のまとまった報告はないため報告した。

B. 研究方法

① CAEBV における integrin 発現とその意義について

解析には EBV 陽性 T/NK リンパ増殖症細胞株 (SNT8,15,16, SNK6: 清水則夫博士より供与)、および CAEBV 患者の末梢血から磁気ビーズを用いて分離した EBV 感染細胞を用いた。対照には EBV 陰性 T および NK 細胞腫瘍株および健常者末梢血リンパ球を用いた。In vitro での EBV 感染は EBV 陽性細胞 B95-8 の培養上清から抽出した EBV を MOLT4 培養液中に加え感染させて行った。

② CAEBV における炎症性サイトカイン産生とその意義について

解析は①同様、EBV 陽性 T/NK リンパ増殖症細胞株 (SNT8,15,16, SNK6: 清水則夫博士より供与)、および CAEBV 患者の末梢血から磁気ビーズを用いて分離した EBV 感染細胞を用い、炎症性サイトカイン産生は RT-PCR および ELISA 法で検討した。

③ CAEBV 成人例に対する非血縁同種造血幹細胞移植の有効性

診断基準：CAEBV は 1. 血球中 EBV DNA が $1 \times 10^{2.5}$ コピー/ μgDNA 以上、2.

EBV 感染細胞が T 細胞か NK 細胞、3. 6 ヶ月以上持続する伝染性単核球症様症状を有する、4. 感染細胞が単クローン性である、のうち、1 と 2 に加え、3 もしくは 4 を示すものとした。

研究期間：2009 年から 2011 年まで当施設で治療した 7 例を対象とした。その経過を後方視的に解析した。

(倫理面への配慮)

以上の研究は東京医科歯科大学倫理委員会で承認され (臨床試験は東京医科歯科大学医学部附属病院施設内審査委員会の承認、患者の文書による同意を患者の同意を得て施行した。

C. 研究結果

①CAEBV における integrin 発現とその意義について 感染によって MOLT4 はその凝集が亢進した。細胞表面には β integrin である CD29、CD49d の発現が感染によって誘導された。 β integrin のリガンドである FN への接着によって EBV 陽性 T/NK 細胞の VP-16 による細胞死は亢進した。

②CAEBV における炎症性サイトカイン産生とその意義について CAEBV 患者 6 人について INF- γ 、IL-6、TNF- α の血清中の濃度を解析したところ、健常者に比べ優意に高値をしめした。1 名の患者では疾患重症度と相関した。EBV 陽性 T/NK 細胞株においてこれらサイトカインの RNA レベルでの発現を認めた。さらに、EBV 陽性 T/NK 細胞株 SNT8 において、培養上清中 TNF- α 濃度の上昇を認めた。MOLT4 への EBV の in vitro の感染によって TNF- α 遺伝子の発現が誘導された。さらに抗サイトカイン抗体薬である、

infiximab や tocilizumab は VP-16 による抗腫瘍効果を亢進させた。以上から CAEBV では EBV 陽性 T/NK 細胞による炎症性サイトカイン産生が亢進し、病態形成に寄与しており治療標的となりうることを示された。

③CAEBV 成人例に対する非血縁同種造血幹細胞移植の有効性

患者は年齢は 20 歳から 62 歳。女性 5 例、男性 2 例。EBV 感染細胞は CD4、CD8、CD56 陽性細胞がそれぞれ 3 例、2 例、2 例。移植時病勢は非活動性 5 例、活動性 1 例（発熱）、進行性 1 例（皮膚および筋への浸潤）であった。移植は非血縁骨髄 6 例、臍帯血 1 例で、HLA は全アリル一致 5 例、血清型一致で 1 アリル（DR）不一致 1 例。臍帯血例は 3 アリル（A、B、DR）不一致であった。前処置は Flu+Mel+TBI 3 例、Flu+Mel+ATG 4 例で、GVHD 予防は FK か CsA+短期 MTX を用いた。移植時活動性、進行性であった 2 例はそれぞれ敗血症、病期進行で移植後 12 日、46 日に死亡。非活動性 5 例は移植後観察期間 6~39 か月で全例寛解した。ATG 使用 3 例は移植後 2 週~2 か月後に血中 EBV DNA が上昇した。感染細胞はいずれもドナー由来 B 細胞で、Rituximab 投与で全例 EBV は陰性化した。2 例で EBV 特異的ドナー CTL を確認した。

D. 考察

①CAEBVにおけるintegrin発現とその意義について

EBVによるT細胞での β integrin発現亢進は細胞の不死化に加え、臓器浸潤にも関与し、治療標的になりうると思われた。今後はマウスモデルを用いた検討を加えた上で抗 VLA 抗体など、細胞接着阻害剤の効果を検討する新規治療法開発に向

け治療法開発臨床試験を行う予定である
②CAEBV における炎症性サイトカイン産生とその意義について 今まで私たちは CAEBV に対し CHOP 療法をはじめとした化学療法が抵抗性を示すことを明らかにしてきた。今回の結果から炎症性サイトカインは病態形成に関与し、またその抑制は治療標的になりうると思われた。今後、探索的研究を実施する予定である。

③CAEBV 成人例に対する非血縁同種造血幹細胞移植の有効性

CAEBV に対する骨髄非破壊的前処置による造血幹細胞移植は成人例に対しても有効であるが、移植前の病状コントロールが必要である。ATG 前処置では全例で EBV-B-LPD が見られた。ドナー由来 CTL が抗腫瘍効果を示している可能性が示唆された。

E. 結論

CAEBV の新規治療法として integrin、炎症性サイトカインが治療標的になりうると思われた。また小児のみならず成人例でも造血幹細胞移植が有効であると思われた。

F. 研究危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 刊行物

原著論文

1) ○Arai A, Imadome K, Wang L, Wu N, Kurosu T, Wake A, Yamamoto H, Ota Y, Harigai M, Fujiwara S, Miura O.

Recurrence of chronic active Epstein-Barr virus infection from donor cells after achieving complete response through

allogeneic bone marrow transplantation

Int Medicine,51(7):777-82.2012

2) 内田慧美、本間りこ、五十嵐愛子、倉田盛人、今留謙一、大本英次郎、三浦修、○新井文子

血漿中 EBV-DNA 量を経時的に測定した EBV 陽性 Hodgkin リンパ腫

臨床血液, 53(1):87-91.2012

3) 山本 正英, 桑川 華恵, 佐々木 宏治, 村田 諭孝, 大木 学, 黒須 哲也, 福田 哲也, ○新井 文子, 村上 直己, 三浦 修

再生不良性貧血の経過中に薬疹に伴い生じた著明な反応性形質細胞増加

臨床血液 53(5):526-30, 2012

4) ○Arai A, Nogami A, Imadome KI, Kurata M, Murakami N, Fujiwara S, Miura O.

Sequential monitoring of serum IL-6, TNF- α , and IFN- γ levels in a CAEBV patient treated by plasma exchange and immunochemotherapy.

Int J Hematol. 2012 Sep 16. [Epub ahead of print]

5) Keiko Yagi, Kouhei Yamamoto, Shigeaki Umeda, Shinya Abe, Shiho Suzuki, Iichiroh Onishi, Susumu Kirimura, Masashi Fukayama, ○Ayako Arai, Toshihiko Murayama, Michihiro Hidaka, Masanobu Kitagawa, Morito Kurata

Expression of multidrug resistance 1 gene in B-cell lymphomas: association with follicular dendritic cells

著作

1) ○新井文子

慢性活動性 EB ウイルス感染症

Chronic active EBV infection (CAEBV)

正しい診断のために内科医が知っておくべき事

内科 110 巻 p263-266, 2012

2. 学会発表

学会発表

1) 今留謙一、矢島美沙子、○新井文子、中澤温子、川野由布子、大賀正一、森尾友宏、清水則夫、伊藤守、山本直樹、藤原成悦

第 21 回 EB ウイルス感染症研究会
2012 年 3 月 17 日 東京

EB ウイルス関連血球貪食症候群モデルマウスの作成と解析

1) ○新井文子

慢性活動性 EB ウイルス感染症は悪性腫瘍か？

第 52 回日本リンパ網内系学会総会 シンポジウム V リンパ増殖性疾患：良性か？悪性か？2012 年 6 月 16 日 福島

2) 仁多美奈子、山本正英、今留謙一、藤原成悦、三浦修、○新井文子

Chronic active Epstein-Barr virus infection 成人例に対する骨髓非破壊的前処置を用いた造血幹細胞移植成績

第34 回日本造血細胞移植学会総会2012 年2月24日 大阪

3) 岡田啓五、○新井文子、秋山めぐみ、秋山弘樹、渡邊大介、長尾俊景、山本正英、黒須哲也、福田哲也、東田修二、小山高敏、村上直己、三浦修、小児科 森尾友宏

高 IgE 症候群に合併し、骨髓移植後早期に再発し肺胞蛋白症を併発した急性骨髓性白血病

168 回日本血液学会例会

2012 年 7 月 28 日東京

1) ○Ayako Arai, Ken-Ichi Imadome, Ludan Wang, Honami Komatsu, Takatoshi Koyama, Ayako Nogami, Shigeyoshi Fujiwara, Osamu Miura

Inflammatory cytokines can be molecular targets for treatment of CAEBV.

第 74 回日本血液学会総会 2012 年 10 月
21 日 京都

2) Ludan Wang, Ken-Ichi Imadome,
Honami Komatsu, Takatoshi Koyama,
Shigeyoshi Fujiwara, Osamu Miura,
○Ayako Arai

EBV infection enhances T-cell adhesion and
survival contributing to EBV-T-LPD
development

第 74 回日本血液学会総会 2012 年 10 月
20 日 京都

H. 知的財産権の出願・取得状況
なし

慢性活動性 EB ウイルス感染症モデルマウスに対する抗 CD4 抗体治療実験

研究分担者 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 感染防御研究室室長)

研究要旨

慢性活動性 EB ウイルス感染症(CAEBV)の疾患モデルマウスの作製を行い、病態発現機構の解明と新規治療薬の開発を目指した。

これまでの研究で EBV 感染 T/NK 細胞が NOG マウスに生着し増殖するためには非感染 CD4⁺T 細胞の存在が必須であることが明らかとなった。H24 年度は CEABV モデルマウス内の EBV-DNA 量が高値を示した (10E4 copies/μgDNA 以上)ところで非感染 CD4⁺T 細胞の除去を抗 CD4 抗体(OKT4 抗体)で行い、治療への応用に関する検討を行った。OKT4 抗体を投与した後、末梢血中の EBV-DNA は減少をはじめ、マウスの体重減少も軽減した。また、解剖の結果、非感染 CD4⁺T 細胞の除去による EBV 感染 T/NK 細胞の減少が示された。

本研究により、非感染 CD4⁺細胞を標的とした感染 T および NK 細胞制御の可能性が示された。今後は非感染 CD4⁺細胞のキャラクタリゼーションを行うとともに、感染 T/NK 細胞のマウス内での生着・増殖を助けているものが CD4⁺細胞における何であるのか (CD4⁺細胞の産生するサイトカインであるのか、細胞表面分子による相互作用なのか) について研究を進めていく。

A. 研究目的

CAEBV は感染細胞が存在する分画の CD4, CD8, $\gamma\delta$ -T, NK タイプの 4 つのタイプに分類される。この全てのタイプのモデルマウスを作製し、*in vivo* における新規治療薬候補の評価を行い、新規治療薬の開発を目指した。また、モデルマウスを使用し病態発現のメカニズムの解明を進めた。

B. 研究方法

CAEBV 患者の末梢血から PBMC を分離し、 1×10^6 細胞(PBMC)をマウス尾静脈より移植する。移植後毎週、移植マウスの採血をし、末梢血中の EBV-DNA 定量解析と FCM 解析によるヒト細胞の生着および増殖をチェックする。感染細胞を含めたヒト細胞の増殖と末梢血 EBV-DNA 量が 1×10^4 copies/μgDNA 以

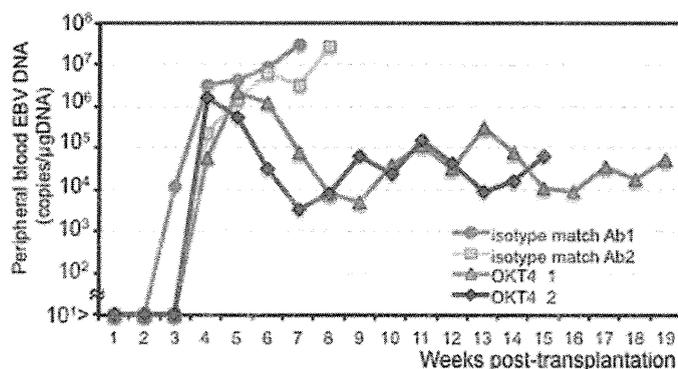
上になった時点で抗 CD4 抗体(OKT4 抗体)をマウス尾静脈より投与する。OKT4 抗体は2日連続で1回 100 μ g 投与する。その後は通常週 1 回/週で、体重減少が 2g 以上ある時に限り 2 回/週 (2 日連続投与) する。OKT4 抗体投与後も毎週採血し末梢血中の EBV-DNA 定量解析と FCM 解析を行なう。コントロール群には PBS を投与する。採血に当たっては、国立成育医療研究センター倫理委員会の承認を得ており、本研究への参加を求める前に、患者本人、あるいは保護者、あるいは両者に対して文書および口頭により研究内容等の十分な説明をおこない、自由意思により参加の有無を決定するための環境を整える。また、同意後も自由に撤回できることを説明する。検体は取得する医療機関担当者により連結可能匿名化され、匿名化照合表は施錠のうえ厳重に保管される。従って、研究者には提供者の個人情報伝えられず、その漏洩の危険はない。学会・論文発表の際には、個人を特

定する情報を含めないため、プライバシーは保護される。

C. 研究結果

患者 PBMC(CD8 タイプ)投与 4 週目 1×10^6 copies/ μ gDNA で OKT4 抗体の投与を開始した。OKT4 抗体の 2 日連続投与により末梢血中の CD4⁺T 細胞は消滅する。PBS 投与マウスは 6,7 週で死亡し、EBV-DNA 量も 10^7 copies/ μ gDNA 以上になった。一方、OKT4 抗体を投与したマウスでは、末梢血 EBV-DNA 量がおおよそ 10^2 copies/ μ gDNA の減少が認められ、生存も 15~19 週まで延長した (図 1 参照)。末梢血中の EBV ゲノム量が増加に転じてくる時期の末梢血の FCM 解析結果を見ると僅かであるが CD4⁺T 細胞が検出された。

OKT4 抗体投与マウスを解剖し FCM 解析を行った。その結果、脾臓・肝臓に CD4⁺T 細胞が検出され、感染細胞分画も検出された。NK タイプや $\gamma\delta$ -T タイプでも同様の結果を得ている。



(図 1)CD8 タイプモデルマウスでの CD4 除去による感染 CD8⁺T 細胞の増殖阻害の検討

D. 考察

OKT4 抗体を投与したマウスの生存延長、体重減少の阻止と EBV ゲノム量の減少により非感染 CD4⁺T 細胞の除去による感染 T/NK 細胞増殖阻害効果は明ら

かである。コントロールの PBS 投与マウスは末梢血中の EBV ゲノム量は減少することなく、上昇し 8 週目で 2 匹とも死亡している。一方、OKT4 抗体投与マウスの寿命は毛並みが悪く運動能も

低下した所で解剖しているが、2倍以上の生存を示している。EBV ゲノム量が検出感度以下にならないのは、臓器に浸潤している感染細胞が OKT4 抗体の影響が低く生き残っている CD4⁺T 細胞のヘルプにより増殖し、末梢血中に供給される可能性が考えられる。今回、10⁶ copies/μgDNA で OKT4 抗体の投与を開始したが、現在患者で初診時に見つかる時が多いゲノム量である 10⁴ copies/μgDNA レベルでの投与開始実験を行なっている。マウスの中では末梢血ゲノム量が陰性になるものも出始めている。EBV 感染 T/NK 細胞が NOG マウスに生着し増殖するためには非感染 CD4⁺T 細胞の存在が必須であり、非感染 CD4⁺T 細胞の除去による感染細胞の減少を誘導できた。今後、1.非感染 CD4⁺T 細胞の感染細胞への cell to cell による影響であるのか？ 2. 非感染 CD4⁺T 細胞の産生するサイトカイン・ケモカインが影響しているのか？ を検討するとともに非感染 CD4⁺T 細胞がどのような細胞であるのか(regT 細胞、Th1、Th17 etc.)を明らかにしていき、治療薬・標的分子の開発を進めていく。

E. 結語

EBV が T 細胞や NK 細胞に感染して起こる難治性疾患である CAEBV の感染細胞制御法として CD4⁺T 細胞を標的とした治療法の可能性が示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- ① Yang X*, Wada T*, **Imadome K***, Nishida N, Mukai T, Fujiwara M, Kawashima H, Kato F, Fujiwara S, Yachie A, Zhao X, Miyawaki T,

Kanegane H.

Characterization of Epstein-Barr virus (EBV)-infected cells in EBV-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in two patients with X-linked lymphoproliferative syndrome type1 and 2. (* **contributed equally to this work**) Herpesviridae. 2012 Feb 10;3(1):1.

- ②Uchida E, Honma R, Igarashi A, Kurata M, **Imadome K**, Omoto E, Miura O, Arai A.

Sequential monitoring of plasma EBV-DNA level in a patient with EBV-positive Hodgkin lymphoma. Rinsho Ketsueki. 2012 Jan;53(1):87-91.

- ③Arai A, **Imadome K**, Wang L, Wu N, Kurosu T, Wake A, Yamamoto H, Ota Y, Harigai M, Fujiwara S, Miura O.

Recurrence of chronic active Epstein-Barr virus infection from donor cells after achieving complete response through allogeneic bone marrow transplantation. Intern Med. 2012 ;51(7):777-82.

- ④**Imadome K**, Fukuda A, Kawano F, Imai Y, Ichikawa S, Mochizuki M, Shigeta T, Kakiuchi T, Sakamoto S, Kasahara M, Fujiwara S.

Effective control of Epstein-Barr virus infection following pediatric liver transplantation by monitoring

of viral DNA load and lymphocyte surface markers. *Pediatr Transplant.* 2012 Jul 5. 1399-3046

⑤ Iijima K, Yamada H, Miharuru M, **Imadome K**, Miyagawa Y, Akimoto S, Kobayashi K, Okita H, Nakazawa A, Fujiwara S, Fujimoto J, Kiyokawa N.

ZNF385B is characteristically expressed in germinal center B cells and involved in B-cell apoptosis *Eur J Immunol.* 2012 Sep 4. doi: 10.1002/eji.201242530.

⑥ Arai A, Nogami A, **Imadome K**, Kurata M, Murakami N, Fujiwara S, Miura O.
Sequential monitoring of serum IL-6, TNF- α , and IFN- γ levels in a CAEBV patient treated by plasma exchange and immunochemotherapy.
Int J Hematol. 2012 Sep 16.

2. 学会発表

① EB ウイルス関連血球貪食症候群モデルマウスの作製と解析 第 21 回 EBV 感染症研究会 2012 東京
今留謙一、矢島美沙子、新井文子、中澤温子、川野布由子、大賀正一、森尾友宏、清水則夫、伊藤守、山本直樹、藤原成悦

② 難治性 EB ウイルス関連 T/NK リンパ増殖性疾患モデルマウスを用いた新

規薬剤の評価研究 第 9 回 EBV 研究会 2012 鳥取

今留謙一、川野布由子、千葉祐規乃、新井文子、中澤温子、大賀正一、森尾友宏、清水則夫、伊藤守、藤原成悦

③ 小児生体肝移植後の EBV ゲノム定量モニタリングの重要性と免疫抑制剤減量に伴う EBV 特異的 CTL 誘導の検討 第 60 回日本ウイルス学会 2012 大阪

今留謙一、福田晃也、川野布由子、今井由美、望月雅司、山田千尋、重田孝信、坂本靖介、笠原群生、藤原成悦

④ Novel Mouse Xenograft Models of Chronic Active EBV Infection and EBV-Associated Hemophagocytic Lymphohistiocytosis Reveals a Critical Role of CD4+ T Cells in the Proliferation of EBV-Infected T and NK Cells VII International Conference on Rare Diseases and Orphan Drugs 2012 Tokyo

Ken-Ichi Imadome, Misako Yajima, Ayako Arai, Atsuko Nakazawa, Fuyuko Kawano, Sayumi Ichikawa, Norio Shimizu, Naoki Yamamoto, Tomohiro Morio, Shouichi Ohga, Hiroyuki Nakamura, Mamoru Ito, Osamu Miura, Jun Komano, and Shigeyoshi Fujiwara