

201324084A

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 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 藤原成悦

平成 26 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. 慢性活動性 EB ウイルス感染症の発症機構解明に関する研究 新井文子	9
2. CAEBV モデルマウスを用いた治療薬候補の評価に関する研究 今留謙一	15
3. Xenograft モデルを用いた EBV 関連 NK 細胞リンパ腫に対する HSP90 阻害剤の効果検証 木村宏	21
4. 新規 CAEBV 治療薬の開発と評価 児玉栄一	27
5. 慢性活動性 EB ウイルス感染症診断の迅速化に関する研究 清水則夫	33
6. 慢性活動性 EB ウイルス感染症原因遺伝子に関する研究 森尾友宏	39
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	41
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	47
IV. 研究成果の刊行物・別刷	53

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全エクソン配列決定による CAEBV 原因遺伝子の同定を目的として、患者 11 名およびその家族 16 名、合計 27 名の唾液から DNA を採取しエクソーム解析を行っている。このうち患者 2 名およびその家族 1 名、計 3 名で解析を終了した。検出された免疫関連遺伝子の variation について、さらに多くの患者 DNA を用いて解析を続けている。②EBV 陽性の B リンパ球増殖を示す IgG2 サブクラス欠損症の患者で *PIK3CD* 遺伝子の E1021K 変異が証明され、activated *PIK3CD* syndrome であることが判明した。③EBV 陽性 NK 細胞株 SNK6 を NOG マウスに移植し新しい EBV 関連 T/NK リンパ増殖性疾患モデルマウスを確立した。④CAEBV 患者の EBV 感染 T/NK 細胞では制御性 T 細胞のマーカーである FOXP3 が発現され、この細胞と共培養するとレスポンド T 細胞が減少した。⑤T 細胞に EBV が感染すると *activation-induced cytidine deaminase (AID)* 遺伝子の発現が誘導され、*c-Myc* 遺伝子に変異が導入された。⑥分子シャペロンの 1 つ heat-shock protein 90 (HSP90) を阻害する 17AAG および radicicol が *in vitro* と *in vivo* の両者において EBV 感染 T/NK 細胞株の増殖を抑制した。⑦脂質合成阻害薬 *simvastatin* は EBV 感染 T/NK 細胞の増殖を *in vitro* およびモデルマウスの両方で阻害した。⑧CAEBV 治療薬候補 S-FMAU をモデルマウスで評価したところ、末梢血および臓器中 EBV DNA 量の低下、体重減少の阻止などの効果が認められた。⑨CAEBV 診断の必須ステップであるリアルタイム PCR 法を簡便・迅速化するために固相化試薬キットを試作し良好な結果を得た。

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；東北大学大学院宮城地域医療
支援寄附講座・講師

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 細胞の増殖を病態の特徴とし、遷延するある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 発症の背景には遺伝子の異常に基づく微細な免疫不全が存在すると推測されている。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、EBV 感染 T 細胞・NK 細胞の増殖メカニズム解析を通じた新規治療標的分子の探索など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、in house database などのデータと照合し、変異を検出した。

2. EBV による遺伝子発現変化の解析

CAEBV 由来の EBV 感染 T 細胞・NK 細胞株および CAEBV 患者より分離した EBV 感染 T 細胞・NK 細胞を使用した。対照としては、EBV 陰性 T 細胞・NK 細胞株、健常者末梢血リンパ球を用いた。また、EBV 陰性 T 細胞株 Molt-4 に EBV を感染させ、その遺伝子発現に対する影響を調べた。

3. 新しいタイプの EBV 関連 T/NK リンパ増殖性疾患モデルマウスの作成

様々な EBV 陽性 T/NK 細胞株を免疫不全マウスの NOG マウスに様々な経路(皮

下、静脈内、腹腔内、筋肉内)で移植し、生着する細胞株を選び出した。

4. EBV DNA 迅速定量法の試み

リアルタイム PCR に必要な試薬を固相化することにより作業の簡便化と迅速化を図った。PP-strip では、LightCycler480 で使用する 8 well Strip に EBV 定量に使用するプライマー・プローブを安定化剤とともに減圧遠心法により固相化した。All-strip では、LightCycler480 で使用する 8 well Strip に EBV 定量に使用するプライマー・プローブに加えバッファー成分と増幅酵素 (EX-Taq; TakaraBio) を安定化剤とともに減圧遠心法により固相化した。

(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。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 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

昨年からの解析を継続し、患者 2 名およびその家族 1 名、計 3 名のエクソーム解析を終了した。2 名の患者に共通の変異

は認められなかったが、それぞれの患者から免疫関連遺伝子の variation が見つかった。また、分類不能型免疫不全症の患者から変異が見つかった遺伝子についても、homozygous あるいは heterozygous の variation が見つかった。これらの遺伝子については、さらに多くの患者においてその variation の有無を調べるために、サンガー法による遺伝子解析を開始した。さらに、今年度新たに 9 名の患者とその家族 15 名、合計 24 名より唾液 DNA を採取し解析を開始した。

2. 免疫不全症に合併する慢性 EBV 感染症の遺伝子解析

幼小児期から 20 年近く継続する IgG2 サブクラス欠損症で、近年 EBV 陽性のリンパ節腫大を呈した患者について候補遺伝子解析を行ったところ、PIK3CD 遺伝子の E1021K 変異が証明され、いわゆる activated PIK3CD syndrome であることが判明した。なお、この症例における EBV 感染リンパ球は B 細胞であった。

3. 新しいタイプの EBV 関連 T/NK リンパ増殖性疾患モデルマウスの作成

節外性 NK/T 細胞性リンパ腫由来の NK 細胞株 SNK6 は皮下接種により生着し、腫瘍を形成した。また、血中 EBV DNA 量も増加し、腫瘍体積と EBV-DNA の間には正の相関関係が認められた。腫瘍は血行性、リンパ行性に転移し、EBER 陽性細胞が、リンパ節・脾臓・腎臓および肝臓の一部に認められた。

4. EBV による T 細胞・NK 細胞遺伝子発現の変化

1) activation-induced cytidine deaminase (AID)

CAEBV 由来 EBV 感染 T 細胞・NK 細胞株と患者より分離した新鮮 EBV 感染細胞

では AID の発現が認められたが、対照の EBV 陰性細胞株と健常者末梢血リンパ球では認められなかった。また、Molt-4 細胞に EBV を感染させると AID の発現が誘導され、がん遺伝子 *c-Myc* に変異が導入された。

2) 制御性 T 細胞マーカー FoxP3

CAEBV 由来 EBV 感染 T 細胞・NK 細胞株と患者より分離した新鮮 EBV 感染細胞では FoxP3 の発現が認められた。また、患者から分離した EBV 感染 T 細胞と共培養するとレスポンド T 細胞数が減少したことから、制御性 T 細胞様の機能を有することが示唆された。

5. CAEBV 治療薬候補の検討

LMP1 の発現抑制を指標として小分子阻害薬パネルをスクリーニングしたところ、HSP90 阻害薬である 17AAG と radicicol が特定された。17AAG と radicicol は SNK6 など EBV 陽性 T/NK 細胞の増殖を抑制した。また、上記の SNK6 細胞移植モデルマウスにおいては、腫瘍形成後に投与すると、腫瘍縮小と血中 EBV DNA 量の低下が認められ、治療効果を有すると考えられた。

脂質合成阻害薬 *symvastatin* は CAEBV 由来 EBV 感染 T 細胞・NK 細胞株と患者より分離した新鮮 EBV 感染細胞の増殖を阻害し、アポトーシスを誘導した。*symvastatin* はまた CAEBV モデルマウスにおいて末梢血 EBV DNA レベルを低下させた。

6. CAEBV モデルマウスによる治療薬候補 S-FMAU の評価

CD4 タイプ、CD8 タイプ、NK タイプそれぞれの CAEBV 患者末梢血細胞を移植して作成したモデルマウス 5 頭ずつに S-FMAU を投与してその効果を検証した。

いずれのタイプのモデルマウスにおいても末梢血 EBV-DNA 量が投与前と比較して 1/100-1/1000 に減少した。また、解剖時の臓器中 EBV-DNA 量も多く臓器で減少していた。S-FMAU はさらに、モデルマウスの体重減少も抑制する効果を示した。

7. EBV DNA 迅速定量法の試み

PP-strip あるいは All-strip を用いた定量のいずれにおいても、1 反応中に EBV 陽性細胞由来 1 個分の DNA が含まれる場合まで検出可能だった。

D. 考察

CAEBV は、発症年齢と進行のスピード、合併症の有無とその種類等に関してきわめて多様性に富む。これまでに解析された 2 症例に共通した変異あるいは variation は認められていないが、このような CAEBV の臨床的多様性からみて、複数の遺伝子が関わる (genetic heterogeneity) 可能性が十分考えられる。今後は、より多くの患者 DNA を用いてエクソーム解析を行い、複数の患者に変異が認められる遺伝子に焦点を絞り検索を進めていく計画である。PIK3CD 遺伝子の変異により発症したと考えられる activated PIK3CD syndrome 患者の EBV 感染は B 細胞であったため、典型的な CAEBV とは異なっているが、免疫不全により EBV 感染リンパ球の増殖が続くという根本は共通であると考えられる。

AID は免疫グロブリン遺伝子のクラススイッチや体細胞変異に関わる酵素であり、免疫グロブリン以外の遺伝子にも変異を導入するため、がん化を促進すると考えられる。EBV 感染により T 細胞・NK 細胞に AID 発現が誘導されがん遺伝子

c-Myc に変異が導入されたことは、CAEBV に合併するリンパ腫においても AID が重要な役割を果たすことを示唆している。

CAEBV の EBV 感染 T 細胞が FoxP3 を発現し、制御性 T 細胞様の機能を示したことから、CAEBV で認められる免疫能低下が、EBV 感染 T 細胞自身による T 細胞応答の抑制による可能性が考えられた。

EBV 感染 NK 細胞株 SNK6 の移植によるモデルマウスは、均一の細胞を移植して多数のマウスを得ることができると考えられる。治療薬候補の評価に適したものと考えられる。

HSP90 阻害薬の 17AAG と radicicol や、symvastatin は、いずれも in vitro と in vivo の両方で EBV 感染 T/NK 細胞の増殖を抑制したため、CAEBV 治療薬候補の 1 つであると考えられる。

E. 結論

①CAEBV 患者 2 名およびその家族 1 名、計 3 名でエクソーム解析を終了した。検出された免疫関連遺伝子の variation について、さらに多くの患者 DNA を用いて解析を続けている。②EBV 陽性の B リンパ球増殖を示す IgG2 サブクラス欠損症の患者で PIK3CD 遺伝子の E1021K 変異が証明され、activated PIK3CD syndrome であることが判明した。③EBV 陽性 NK 細胞株 SNK6 を NOG マウスに移植し新しい EBV 関連 T/NK リンパ増殖性疾患モデルマウスを確立した。④CAEBV 患者の EBV 感染 T/NK 細胞では制御性 T 細胞のマーカーである FOXP3 が発現され、この細胞と共培養するとレスポンダー T 細胞が減少した。④T 細胞に EBV が感染すると AID 遺伝子の発現が誘導され、*c-Myc* 遺伝子に

変異が導入されることが分かった。④分子シャペロンの 1 つ HSP90 を阻害する 17AAG および radicicol が in vitro と in vivo の両者において EBV 感染 T/NK 細胞株の増殖を抑制することが示された。⑤脂質合成阻害薬 simvastatin は EBV 感染 T/NK 細胞の増殖を in vitro およびモデルマウスの両方で阻害することが示された。⑥ CAEBV 治療薬候補 S-FMAU をモデルマウスで評価したところ、末梢血および臓器中 EBV DNA 量の低下、体重減少の阻止などの効果が認められた。⑦CAEBV 診断の必須ステップであるリアルタイム PCR 法を簡便・迅速化するために固相化試薬キットを試作し良好な結果を得た。

F. 健康危機情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Fujiwara S, Kimura H, Imadome K, Arai A, Kodama E, Morio T, Shimizu N, and Wakiguchi H. Current studies on chronic active Epstein-Barr virus infection in Japan. *Pediatrics International*, 2014, in press.
- 2) Fujiwara S. Reproduction of Epstein-Barr virus infection and pathogenesis in humanized mice. *Immune Network*, 2014, in press.
- 3) Arai A, Yamaguchi T, Komatsu H, Imadome K, Kurata M, Nagata K, Miura O. Infectious mononucleosis accompanied by clonal proliferation of EBV-infected cells and by the infection on CD8-positive cells. *Int J Hematol*, 2014 in press.
- 4) 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

5) Ohta R, Imai M, Kawada J, Kimura H, Ito Y. Interleukin-17A-producing T lymphocytes in chronic active Epstein-Barr virus infection. *Microbiol Immunol* 57:139-44, 2013

6) Kawano Y, Iwata S, Kawada J, Gotoh K, Suzuki M, Torii Y, Kojima S, Kimura H, Ito Y. Plasma viral MicroRNA profiles reveal potential biomarkers for chronic active Epstein-Barr virus infection. *J Infect Dis* 208: 771-9, 2013

7) Murata T, Iwata S, Siddiquey NA, Kanazawa T, Goshima F, Kimura H, Tsurumi T. Heat shock protein 90 inhibitors repress latent membrane protein 1 (LMP1) expression and proliferation of Epstein-Barr virus-positive natural killer cell lymphoma. *PLoS One* 8:e63566, 2013

8) Ito Y, Suzuki R, Torii Y, Kawa K, Kikuta A, Kojima S, Kimura H. HLA-A*26 and HLA-B*52 are associated with a risk of developing EBV-associated T/NK lymphoproliferative disease. *Blood e-Letter* ID: bloodjournal_el; 8085, 2013

9) Kato S, Miyata T, Takata K, Shimada S, Ito Y, Tomita A, Elsayed AA, Takahashi E, Asano N, Kinoshita T, Kimura H, Nakamura S. Epstein-Barr virus-positive cytotoxic T-cell lymphoma followed by chronic active Epstein-Barr virus infection-associated T/NK-cell lymphoproliferative disorder: a case report. *Hum Pathol* 44:2849-52, 2013

10) Kimura H, Kawada J, Ito Y. Epstein-Barr virus-associated lymphoid malignancies: the expanding spectrum of hematopoietic

neoplasms. Nagoya J Med Sci 75: 169-79, 2013

11) Kamae C, Nakagawa N, Sato H, Honma K, Mitsuiki N, Ohara O, Kanegane H, Pasic S, Pan-Hammerstrom Q, van Zelm MC, Morio T, Imai K, Nonoyama S. Common variable immunodeficiency classification by quantifying T-cell receptor and immunoglobulin κ -deleting recombination excision circles..J Allerg Clin Immunol. 131: 1437-40, 2013.

12) Machida S, Tomizawa D, Tamaichi H, Okawa T, Endo A, Imai K, Nagasawa M, Morio T, Mizutani S, Takagi M. Successful Treatment of Diffuse Large B-Cell Lymphoma in a Patient With Ataxia Telangiectasia Using Rituximab. J Pediatr Hematol Oncol. 35: 482-5, 2013.

2. 著書・総説

1) 新井文子. EB ウイルス陽性リンパ腫の発症機構. 最新医学 68:48-55, 2013

2) 新井文子. 慢性活動性 EBV 感染症 Chronic active EBV infection (CAEBV) と言われてきた疾患 ～EBV 陽性 T, NK リンパ増殖症 EBV-T/NK-LPDs～. 成人病と生活習慣病 43:1073-78, 2013.

3) 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.

4) 北條浩彦、清水則夫(分担執筆). 原理からよくわかるリアルタイム PCR 完全実験ガイド 最強のステップ UP シリーズ. 北條浩彦編 「基本編ー原理と基本知識ーリアルタイム PCR を使った解析の基本 10 プライマー/プローブの設計手順②マルチプレックスの場合」 p72-74 羊土社, 2013

5) 清水則夫、渡邊健、外丸靖浩(分担執筆).

原理からよくわかるリアルタイム PCR 完全実験ガイド 最強のステップ UP シリーズ. 北條浩彦編 「実践編ープロトコールを中心にーIV章 遺伝子量解析 15 ウイルス感染症を診断する ウイルスゲノムの定性的検査と定量的検査」p192-202 羊土社, 2013

6) 山田尚、森尾友宏、古川恵一: EB ウイルス感染症のピットホール 成人病と生活習慣病 43: 1021-32, 2013.

3. 学会発表 (国際学会)

1) Fujiwara S. Reproduction and Analysis of Epstein-Barr Virus Pathogenesis in Humanized Mice. 4th International Workshop on Humanized mice. Sep 30, 2013, Seoul.

2) Fujiwara S. Reproduction of Epstein-Barr Virus-Associated Lymphoproliferative Diseases in Humanized Mice. Fall Conference of the Korean Association of Immunologists. Nov 8, 2013.

3) Matsuda G, Imadome K, Yajima M, Ochiai N, Mochizuki M, Kawano F, Shimizu N, Komano J, Yamamoto N, Fujiwara S. A humanized mouse model of cell-mediated immunotherapy against EBV-associated lymphoproliferative disorder. 38th Annual International Herpesvirus Workshop, Jul 20-24, 2013, Grand Rapids.

4) Ayako Arai, Ken-Ichi Imadome, Ludan Wang, Honami Komatsu, Yukino Chiba, Yasunori Saitoh, Shoji Yamaoka, Shigeyoshi Fujiwara, Osamu Miura. NF- κ B is a potential molecular target of EBV-positive T- or NK-cell lymphoproliferative disorders. The 18th Congress of European Hematology Association Jun 15, 2013, Stockholm.

- 5) Ayako Arai, Masato Horino, Ken-Ichi Imadome, Kohsuke Imai, Ludan Wang, Go Matsuda, Kasumi Hamazaki, Honami Komatsu, Morito Kurata, Tetsuya Kurosu, Shigeyoshi Fujiwara, Osamu Miura. Epstein-Barr virus Induces Activation-Induced Cytidine Deaminase Expression in T or NK Cells Leading to Mutagenesis and Development of Lymphoma 55th Annual meeting of American Journal of Hematology, December 7, 2013, New Orleans.
- 6) Kawano Y, Iwata S, Kawada JI, Gotoh K, Suzuki M, Torii Y, Kimura H, Ito Y. Circulating Viral MicroRNAs Are Potential Biomarkers for Disease Status in Chronic Active Epstein-Barr Virus Infection. The 38th International Herpesvirus Workshop, Grand Rapids, USA, July 22, 2013
- 7) Kawada JI, Ito Y, Iwata S, Kawano Y, Kanazawa T, Siddiquey MN, and Kimura H. mTOR inhibitors induce cell cycle arrest and inhibit tumor growth in Epstein-Barr virus-associated T and natural killer cell lymphoma. The 38th International Herpesvirus Workshop, Grand Rapids, USA, July 22, 2013,
(国内学会)
- 1) 今留 謙一、松田 剛、川野 布由子、千葉 祐規乃、新井 文子、中澤 温子、伊藤 守、清水 則夫、藤原 成悦. 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治療薬 3 剤の評価研究. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会、2013 年 11 月 11 日、神戸.
- 2) 堀野雅人、今留謙一、今井耕輔、王路丹、松田剛、浜崎霞、小松穂菜実、倉田盛人、藤原成悦、三浦修、新井文子. EBV は T、NK 細胞に感染後 AID 発現とそれによる遺伝子変異蓄積をもたらす腫瘍発症に寄与する. 第 75 回日本血液学会学術集会、平成 25 年 10 月 11 日、札幌.
- 3) 王路丹、今留謙一、小松穂菜実、福田哲也、倉田盛人、藤原成悦、三浦修、新井文子. EBV の感染により T、NK 細胞では IL-2 の存在下 CD137 発現が誘導され細胞生存が亢進する. 第 75 回日本血液学会学術集会、平成 25 年 10 月 11 日、札幌.
- 4) 小松穂菜実、今留謙一、王路丹、倉田盛人、小山高敏、藤原成悦、三浦修、新井文子. EBV 陽性 T、NK 細胞は FOXP-3 を発現し制御性 T 細胞同様 T 細胞の増殖を抑制する. 第 75 回日本血液学会学術集会、平成 25 年 10 月 11 日、札幌.
- 5) Ayako Arai, Masato Horino, Wang Ludan, Ken-Ichi Imadome, Kasumi Hamasaki, Morito Kurata, Ayako Ichikawa, Shigeyoshi Fujiwara, Osamu Miura. Simvastatin Induces Apoptosis in EBV-Positive T- or NK-Cell Lymphoproliferative Disorders and Anti-Tumor Effects in Xenograft Models The 4th JSH International Symposium May 24, 2103, Matsuyama.
- 6) Ayako Arai, Morito Kurata, Shigeyoshi Fujiwara, Osamu Miura. EBV induces AID expression in T or NK cells leading to mutagenesis and development of lymphoma 第 72 回日本癌学会総会 シンポジウム 10 月 4 日 横浜.
- 7) EBV-T/NK-LPD (CAEBV, EBV-HLH etc.)の病態と診断 今留謙一 第 75 回日本血液学会 教育講演 2013.10.11, 10.13 札幌
- 8) 森尾友宏: 悪性腫瘍を合併する免疫不全症、第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会 (シンポジウム)、福岡、2013 年

11月29日 - 12月1日

9) 森尾友宏：免疫不全症候群から学ぶ human immunology、第41回日本臨床免疫学会総会（シンポジウム）、山口、2013年11月27日 - 29日

10) 森尾友宏：易感染性、自己免疫、悪性腫瘍の分子基盤としての原発性免疫不全症、平成25年度遺伝子病制御研究所研究集会、北海道、2013年10月25日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1) 特許第5205609号. ウイルス検出用オリゴヌクレオチドセット、EBV、CMV 及び HHV-6 の分析方法及び検出キット. 発明者；木村 宏、西山幸廣、和田かおる、久

保田直実特許取得日：2013年3月1日

2) 特許第5429679号: ウイルス感染細胞の検出・同定法及びキット. 発明者；木村 宏、西山幸廣. 特許取得日：2013年12月13日

3) 児玉栄一 日本（京都大学・ヤマサ醤油株式会社と共同）エプスタイン・バーウイルス関連疾患に対する薬剤およびにそのスクリーニング法 特願2009-532175 特許5326173号 2008年9月8日出願 登録平成25年8月2日

4) 児玉栄一 中国（PCT出願）同上 特許番号2013092600196320 登録平成25年9月26日

研究要旨

慢性活動性 EB ウイルス感染症 (CAEBV) の病態および発症機構について、以下を解析し報告した。

① Activation-induced cytidine deaminase (AID) の発症への関与について

EBV が感染すると T 細胞では DNA に積極的に変異を導入する酵素である AID が発現し、その標的である *cMyc* 遺伝子の変異が増加することを観察した。これは EBV により腫瘍発症に寄与する遺伝子変異が起こりうることを示唆しており、CAEBV 発症の分子機序の一つと考えられた。

② FOX-p3 の発症への関与について

EBV が感染すると T 細胞では制御性 T 細胞の Master 分子である FOX-p3 が RNA レベルおよび蛋白レベルで発現が亢進すること、そして EBV 陽性 T 細胞は *in vitro* での共培養にて Responder T 細胞に対し抑制的に働く、すなわち制御性 T 細胞様の性質を獲得することを観察した。これは CAEBV 発症の機序の一つと考えられた。

③ HMG-CoA 還元酵素阻害剤 Simvastatin の効果について

Simvastatin は、CAEBV 患者から樹立した EBV 陽性 T 細胞株、および患者から分離した EBV 陽性 T 細胞に対し、濃度依存性に apoptosis を誘導することを観察した。さらに Simvastatin 処理によって EBV 陽性 T 細胞における LMP1 の発現が抑制されることも認められた。同薬は本邦でも広く使用されている薬剤であり臨床応用の可能性もある。

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。

本年度は、それらの問題点を解析、解決するために、以下の 2 つの分子、Activation-induced cytidine deaminase (AID)、FOX-p3 に注目し、その発症への関与

を解析した。また治療薬候補として HMG-CoA 還元酵素阻害剤 Simvastatin (SV) に注目した。

① AID の発症への関与

AID は、DNA 中の cytidine 基からアミノ基を取り除き uridine 基とする 24kDa の酵素である。胚中心 B 細胞で高く発現しており、免疫グロブリン遺伝子に変異を起こすことで体細胞突然変異やクラススイッチに必須の役割を担っている。AID は免疫グロブリン遺伝子以外にも体細胞突然変異を引き起こし得り、*TP53*, *cMYC*, *PIM1*, *RHOH* などの癌遺伝子への変異は B 細胞の悪性腫瘍化と関連している。このように様々な遺伝子に変異を起こす蛋白であるため、AID は通常その発現が厳しく制御されている。B 細胞が EBV に感染すると、LMP1 を介して AID 発現が誘導され、*cMyc* の転座を誘導することは知られており、このこ

とからEBVによるリンパ腫発症にAIDが関与していると考えられている。近年AIDトランスジェニックマウスはT細胞リンパ腫を発症すること、そしてCAEBV患者の末梢血中TまたはNK細胞にAIDが発現していることが報告されている。そこで、EBV感染によってTまたはNK細胞でAID発現が誘導され、同細胞の腫瘍化の原因となっているのではないかと仮説を立て、検証した。

② FOX-p3の関与について

細胞障害性T細胞が認められない例や免疫不全例の合併例の報告からCAEBV発症には宿主免疫の異常が関与していると推測されていた。制御性T細胞(Treg)は免疫反応を負に制御するリンパ球である。患者細胞におけるTregの機能を解析するため、そのMaster geneであるFOX-p3に注目した。

③ SVの効果

SVは脂質合成阻害によるRaftの生成阻害や、細胞内分子のFarnesylationやGeranylationの阻害によって細胞内シグナル伝達経路を抑制することが知られている。SVは脂質合成阻害によるLMP1の機能抑制によってlymphoblastoid cell linesの増殖を抑制し、細胞死を誘導することが報告されているためSVは、LMP1を発現するT細胞リンパ腫であるCAEBVに対しても抗腫瘍効果を示すと考え検証した。

B. 研究方法

解析にはEBV陽性T/NKリンパ増殖症細胞株(SNT8,13,15,16, 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培養液に加え感染させて行った。

(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、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

① AIDの発症への関与

SNT8、SNT13、SNT15、SNT16、SNK6の5細胞、およびCAEBV患者12例(CD4感染型5例、CD8感染型3例、CD56感染型4例)から分離したEBV陽性細胞においてAID発現がmRNAおよび蛋白質レベルで認められた。またMOLT4細胞および臍帯血由来T細胞にin vitroでEBVを感染させるとHisec2000を用いたシーケンス解析でcMyc変異の亢進が認められた。

以上は日本血液学会総会、日本癌学会総会および米国血液学会年次総会で発表した。

② FOX-p3の関与について

SNT8、SNT15、SNT16、SNK6の5細胞、およびCAEBV患者11例(CD4感染型2例、CD8感染型4例、 $\gamma\delta$ 感染型1例、CD56感染型4例)から分離したEBV陽性細胞においてFOX-p3の発現がmRNAおよび蛋白質レベルで認められた。患者由来のEBV陽性T細胞と共培養すると、健常者CD4陽性細胞との共培養と比較し、レスポナーT細胞数は減少した。

以上は日本血液学会総会で発表した。

③ SVの効果について

CAEBV細胞株SNT8、SNT15はSV処理により増殖が濃度依存性に抑制され、apoptosisが亢進した。CAEBV患者9例(CD4感染型5例、CD8感染型2例、 $\gamma\delta$ 感染型1例、CD56感染型1例)の末梢血単核球もSV処理により7例で増殖が濃度依存性に抑制されapoptosisが亢進した。SVの投与によりCAEBVモデルマウスでは末梢血中EBV-DNA量が低下した。

以上はEBウイルス感染症研究会およびJSH International Symposiumで発表した。

D. 考察

以上の結果から、CAEBV の発症は、EBV の感染により T (もしくは NK) 細胞で発現が亢進した AID により生じた cMyc などの遺伝子変異によって細胞の増殖、不死化が亢進した結果、発症する可能性が示唆された。今後は AID 発現の分子機構や、腫瘍発症に寄与しうる変異導入の詳細な解析を特に患者細胞で行い仮説を裏付けたい。また最近 AID に対し抑制作用を持つ薬剤が報告されており、それらの効果も検証したい。

Fox-p3 の EBV 感染細胞での発現亢進の結果は、EBV が感染した T 細胞は Treg 様の性質を獲得することで抗腫瘍免疫を抑制し疾患が発症する可能性を提案している。今後は感染実験や共培養刺激でそれらを明らかにしていく予定である。

E. 結論

EBV は B 細胞腫瘍のみならず T,NK 細胞腫瘍の原因にもなりうると考えられた。EBV-T/NK-LPD 発症には腫瘍細胞のみならず背景因子も重要な働きをすると考えられた。SV は高脂血症に対し認可された供給可能な薬剤であり今後の臨床応用が期待される。

F. 研究危険情報なし。

G. 研究発表

1. 刊行物

原著論文

1) Wang L, Sato-Otsubo A, Sugita S, Takase H, Mochizuki M, Usui Y, Goto H, Koyama T, Akiyama H, Miura O, Ogawa S, Arai A. High-resolution genomic copy number profiling of primary intraocular lymphoma by single nucleotide polymorphism microarrays. *Cancer Science*, 2014 in press.

2) Arai A, Yamaguchi T, Komatsu H, Imadome K, Kurata M, Nagata K, Miura O.

Infectious mononucleosis accompanied by clonal proliferation of EBV-infected cells and by the infection on CD8-positive cells. *Int J Hematol*, 2014 in press.

3) Fujiwara S, Kimura H, Imadome K, Arai A, Kodama, E, Morio T, Shimizu N, and Wakiguchi H. Current studies on chronic active Epstein-Barr virus infection in Japan.

Pediatrics International, 2014, in press.

4) 福田祥子、神田紗也香、高瀬博、小林大輔、新井文子、望月學
急速に進行した劇症の原発性眼内リンパ腫の一例
眼科臨床紀要 2014 in press.

5) Yagi K, Yamamoto K, Umeda S, Abe S, Suzuki S, Onishi I, Kirimura S, Fukayama M, Arai A, Kitagawa M, Kurata M. Expression of multidrug resistance 1 gene in B-cell lymphomas: association with follicular dendritic cells. *Histopathology*. 62:414-20. 2013.

著作

1) 新井文子. PLL の診断と治療. *Diagnosis and treatment of PLL*. 血液内科.66:351-358, 2013

2) 新井文子. EB ウイルス陽性リンパ腫の発症機構. *最新医学* 68:48-55, 2013

3) 新井文子.慢性活動性 EBV 感染症 Chronic active EBV infection (CAEBV) と言われてきた疾患 ～EBV 陽性 T,NK リンパ増殖症 EBV-T/NK-LPDs～. *成人病と生活習慣病* 43:1073-78, 2013

4) 新井文子.

血液疾患

ポケットサイズのステロイド診療マニュアル
新興医学出版社 (宮坂信之) 2013年3月
31日 p113-121

5) 新井文子.

フローサイトメトリー、染色体分析、FISH、
遺伝子診断
腫瘍病理鑑別診断アトラス 造血器腫瘍 第
一部 検鏡前の確認事項 I 骨髄評価のため
の基礎知識 文光堂 (定平吉都、北川昌伸)
2013年5月29日 p23-33

2. 学会発表

学会発表

- 堀野雅人, 王路丹, 今留謙一, 市川理子,
藤原成悦, 三浦修, 新井文子
慢性活動性 Epstein-Barr Virus 感染症に対する
高脂血症治療薬 simvastatin の抗腫瘍効果の検
討
第23回 EB ウイルス感染症研究会 2013年3
月16日 東京
- Ayako Arai, Masato Horino, Wang Ludan,
Ken-Ichi Imadome, Kasumi Hamasaki, Morito
Kurata, Ayako Ichikawa, Shigeyoshi Fujiwara,
Osamu Miura
Simvastatin Induces Apoptosis in EBV-Positive T-
or NK-Cell Lymphoproliferative Disorders and
Anti-Tumor Effects in Xenograft Models
The 4th JSH International Symposium May 24,
2103, Matsuyama
- Ayako Arai, Ken-Ichi Imadome, Ludan Wang,
Honami Komatsu, Yukino Chiba, Yasunori Saitoh,
Shoji Yamaoka, Shigeyoshi Fujiwara, Osamu
Miura
NF- κ B is a potential molecular target of
EBV-positive T- or NK-cell lymphoproliferative
disorders
The 18th Congress of European Hematology
Association Jun 15, Stockholm
- 内田慧美 大谷悠祐 岡田啓五 秋山弘樹,
渡邊健 坂下千瑞子 長尾俊景 山本正英
福田哲也 黒須哲也 新井文子 三浦修
心外膜への浸潤を認めた enteropathy-associated
T cell lymphoma

第170回日本血液学会例会 7月11日 東京
5) Ayako Arai, Morito Kurata, Shigeyoshi Fujiwara,
Osamu Miura.

EBV induces AID expression in T or NK cells
leading to mutagenesis and development of
lymphoma

第72回日本癌学会総会 シンポジウム 10月
4日 横浜

6) Masato Horino, Ken-Ichi Imadome, Kohsuke
Imai, Ludan Wang, Go Matsuda, Kasumi
Hamazaki, Honami Komatsu, Morito Kurata,
Tetsuya Kurosu, Shigeyoshi Fujiwara, Osamu
Miura, Ayako Arai,

EBV induces AID expression in T or NK cells
leading to mutagenesis and development of
lymphoma

第75回 日本血液学会総会 10月12日 札幌

7) Ludan Wang, Ken-ichi Imadome, Tetsuya
Fukuda, Honami Komatsu, Morito Kurata,
Shigeyoshi Fujiwara, Osamu Miura, Ayako Arai

CD137 is induced by EBV in the presence of IL-2
in T or NK cells and mediates a survival signal

第75回 日本血液学会総会 10月12日 札幌

8) Honami Komatsu, Ken-Ichi Imadome, Ludan
Wang, Morito Kurata, Takatoshi Koyama,
Shigeyoshi Fujiwara, Osamu Miura, Ayako Arai

EBV-positive cells from CAEBV express FOX-p3
and suppress the proliferation of the effector T
cells

第75回 日本血液学会総会 10月12日 札幌

9) Hiroki Akiyama, Keigo Okada, Toshikage
Nagao, Masahide Yamamoto, Tetsuya Kurosu,
Tetsuya Fukuda, Ayako Arai, Osamu Miura.

First line immunosuppressive therapy with horse
or rabbit ATG for aplastic anemia

第75回 日本血液学会総会 10月12日 札幌

10) Shunsuke Yui, Hiroki Yamaguchi, Ken-Ichi
Imadome, Ayako Arai, Toshio Asayama, Asaka
Kondo, Keiichi Moriya, Kazutaka Nakayama,

Kazuo Dan, Koiti Inokuchi

A case report for EBV-positive

T-lymphoproliferative disease developed after cord
blood transplantation for AML.

第 75 回 日本血液学会総会 10 月 12 日 札幌

11) Ayako Arai, Masato Horino, Ken-Ichi
Imadome, Kohsuke Imai, Ludan Wang, Go
Matsuda, Kasumi Hamazaki, Honami Komatsu,
Morito Kurata, Tetsuya Kurosu, Shigeyoshi
Fujiwara, Osamu Miura

Epstein-Barr virus Induces Activation-Induced
Cytidine Deaminase Expression in T or NK Cells
Leading to Mutagenesis and Development of
Lymphoma

55th Annual meeting of American Journal of
Hematology

December 7, New Orleans

H. 知的財産権の出願・取得状況

なし

「CAEBV モデルマウスを用いた治療薬候補の評価に関する研究」

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。

今年度は ①メインの感染細胞分画のシフトが短期間に認められた症例について感染細胞の株化とそれぞれの感染細胞の EBV 遺伝子解析、増殖・活性化の比較検討 ②我々が開発した CAEBV モデルマウスを用いて新規治療薬候補である F-SMAU の *in vivo* での薬剤評価をおこなった。(1)シフト前後のそれぞれのメイン感染細胞での EBV 遺伝子発現に違いは無かったが、シフト後の感染細胞の方が異所性 CD40 遺伝子の発現が強く、増殖能も強いことが示された。現在、サイトカインアレイによる感染細胞産生サイトカインのプロファイリングをおこなっている。(2)当研究班で新規治療薬候補として研究を進めている S-FMAU の *in vivo* での薬剤効果について検討した結果、腫瘍細胞を特異的に標的としモデルマウス末梢血中の EBV-DNA 量は 1/100 ~ 1/1000 の減少が見られた。今後マウスの匹数を増やし、投薬期間の検討、一日の投薬回数の検討、末梢血中 EBV-DNA 量が低いものから高いものまで様々な病態での投与などをおこなう予定である。

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。さらに、短期間にメイン感染細胞が別の分画にシフトした症例についてウイルス学的・免疫学的解析をおこなうことで、病態変化・腫瘍性獲得・免疫応答からの回避との関連について明らかにすることを

目指す。

B. 研究方法

(1)患者末梢血より PBMC を分離(4×10^5 細胞)し、ヒト血清培地で感染細胞株の樹立をおこなう。また、シフト前の感染細胞とシフト後の感染細胞を分離し株化と EBV 遺伝子発現解析をおこなう。

(2)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

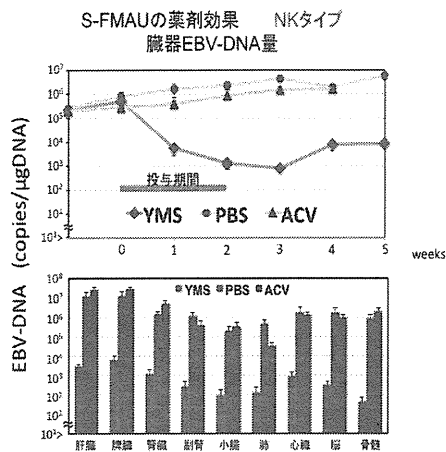
ヒト細胞の生着および増殖をチェックする。感染細胞を含めたヒト細胞の増殖と末梢血 EBV-DNA 量が 1×10^4 copies/ μ gDNA 以上になった時点で S-FMAU をマウス尾静脈より 80mg/kg/day、5 日連続投与する。F-SMAU 投与後も毎週採血し末梢血中の EBV-DNA 定量解析と FCM 解析による細胞表面抗原マーカー解析を行なう。コントロール群には PBS、アシクロビル(ACV)を投与する。採血に当たっては、国立成育医療研究センター倫理委員会の承認を得ており、本研究への参加を求める前に、患者本人、あるいは保護者、あるいは両者に対して文書および口頭により研究内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

(1)短期間での感染細胞変化症例の解析：EBV-T/NK-LPD 症例の検査・解析を進める過程で、短期間での主要感染細胞分画変化を示した 2 症例を経験した。①症例 1：来院時の診断では種痘様水疱症（感染細胞 $\gamma\delta$ -T 細胞）から 1 年後、慢性活動性 EB ウイルス感染症 (CAEBV)(感染細胞 CD16⁺/56⁻NK 細胞)

に移行 ②症例 2：来院時の診断では蚊刺過敏症（感染細胞 CD16⁺/56⁺NK 細胞）であったが、来院時の診断では CAEBV への移行を確認。来院時から 1 ヶ月経過した時点で感染細胞のメイン細胞が CD16⁺/56⁻NK 細胞から CD16⁺/56⁺NK 細胞へシフトしていた。その後、造血幹細胞移植治療施行両症例とも感染細胞分画変化前後での EBV 遺伝子発現の差はなく Latency II 型であった。また、IFN- γ ,IL-8 の産生能の違いはなく、異所性 CD40 発現も同レベルの発現が認められた。現在サイトカインアレイ解析を進めている。症例 2 の感染細胞 CD16⁺/56⁺NK 細胞と感染細胞 CD16⁺/56⁻NK 細胞では感染細胞 CD16⁺/56⁻NK 細胞の方が増殖速度は早いことが示された。また、EBV-TR を利用したクロナリティー解析では両分画ともモノクロナールであり、バンドのサイズも同じであった。今後は症例 2 での細胞表面マーカー推移が宿主免疫応答回避および腫瘍性獲得との関連性について検討する予定である。

(2)新規治療薬候補 S-FMAU の in vivo での評価研究：当研究班で新規治療薬候補として研究を進めている S-FMAU の in vivo での評価を CAEBV(CD4 タイプ、CD8 タイプ、NK タイプ)モデルマウスでそれぞれ 5 匹ずつおこなった。全てのタイプで投与前から末梢血 EBV-DNA 量が 1/100～1/1000 の減少が見られ、解剖時の臓器中 EBV-DNA 量も多くの臓器で減少しており、感染細胞の臓器浸潤抑制の効果も示された。



D. 考察

S-FMAU を投与したマウスの生存延長、体重減少の阻止と末梢血中および臓器中 EBV ゲノム量の減少が示されたことで、S-FMAU 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、アシクロビル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、上昇し投与開始から 4 週目で死亡するマウスが出た(それぞれ 5 匹中、CD8 タイプ : PBS 2 匹, ACV 2 匹、NK タイプ : PBS 4 匹, ACV 5 匹、CD8 タイプ : PBS, ACV とともに死亡ゼロ)が、S-FMAU 投与群では死亡マウスはいなかった。今回、 10^5 copies/ μ gDNA で S-FMAU 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 10^4 copies/ μ gDNA レベルでの投与開始実験を行なっている。今後、1.投与期間の検討 2. 一日の投与回数の検討をおこなう。

一方、感染細胞が $\gamma\delta$ -T 細胞から NK 細胞に変化した症例と CD16⁺/56⁺NK 細胞から CD16⁺/56⁻NK 細胞に変化した症例について解析した結果、異所性 CD40

の発現増強などアポトーシス抵抗性を示す遺伝子発現が検出され、感染細胞が徐々に死にくい細胞へと移行しつつある可能性が示された。今後、感染細胞シフトと免疫応答回避・腫瘍性獲得との関連性も含め詳細に解析していく予定である。

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 の新規治療薬として S-FMAU の効果が示された。

感染細胞の主要分画の変化により異所性 CD40 遺伝子発現の増強、増殖能亢進などの違いが見られた。

F. 研究発表

① 論文発表

1. Fujiwara S., Matsuda G., Imadome K. Humanized Mouse Models of Epstein-Barr Virus Infection and Associated Diseases *Pathogens* 2013, 2(1), 153-176; doi:10.3390/pathogens2010153
2. Yamamoto N., Nishimura N., Takeuchi M., Ito T., Yokozaki H., Hirase S., Kubokawa I., Mori T., Yanai T., Hayakawa A., Takeshima Y., Nishio H., Matsuo M., Imadome K., Iijima K. The emergence of CD20-/CD19- tumor cells after rituximab therapy for Epstein-Barr virus-associated post-transplant lymphoproliferative disorder complicated with hemophagocytic lymphohistiocytosis

European Journal of Pediatrics 2013,
doi:10.1007/s00431-013-2181-6

② 学会発表

1. 分類不能型免疫不全症に合併した慢性活動性 EB ウイルス感染症 (CAEBV) の 1 例
川上由香里、坂本めぐみ、鷺尾健、小倉香奈子、福永淳、錦織千佳子、早川晶、今井耕輔、今留謙一、井上雅美
関西免疫不全症研究会 2013.7.27 神戸
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治療薬 3 剤の評価研究
今留謙一、松田剛、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、濱崎霞、原口摩耶、上市裕子、清水則夫、伊藤守、藤原成悦
第 10 回 EB ウイルス研究会 2013.7.12 京都
3. 小児肝移植後 EB ウイルス感染症への対策
福田晃也、今留謙一、坂本靖介、佐々木健吾、内田孟、濱野郁美、重田孝信、中澤温子、笠原群生
第 49 回日本移植学会 2013.9.5 – 9.7 京都
4. 小児心移植後の移植後リンパ増殖性疾患(PTLD)
加藤文代、老谷嘉樹、本間哲、今留謙一、杉原茂孝、布田伸一
第 49 回日本移植学会 2013.9.5 – 9.7 京都
5. 特徴的な皮疹から EBV 関連皮膚リンパ球増殖症と診断した 2 例
榊真一郎、今留謙一、新関寛徳、余谷暢之、橋本直也、阪井祐一、中舘尚也、石黒精
第 68 回神奈川血液研究会 2013.9.7 横浜
6. The regulation of “inflammatory niche” with tumor derived small RNAs.
Natsuko Yamakawa, Kazuaki Yokoyama, Jun Lu, Ken-Ichi Imadome, Toshiki Watanabe, Ryoichi Horie, Katsuto Hozumi, Takashi Yahata, Kiyoshi Ando, Naoya Nakayama, Ai Kotani
第 75 回日本血液学会 2013.10.11 – 10.13 札幌
7. EBV-positive cells from CAEBV express FOX-p3 and suppress the proliferation of the effector T cells
Honami Komatsu, Ken-Ichi Imadome, Ludan Wang, Morito Kurrata, Takatoshi Koyama, Shigeyoshi Fujiwara, Osamu Miura, Ayako Arai
第 75 回日本血液学会 2013.10.11 – 10.13 札幌
8. CD137 is induced by EBV in the presence of IL-2 in T or NK cells and mediates a survival signal
Ludan Wang, Ken-Ichi Imadome, Honami Komatsu, Tetsuya Fukuda, Morito Kurata, Shigeyoshi Fujiwara, Osamu Miura, Ayako Arai
第 75 回日本血液学会 2013.10.11 – 10.13 札幌
9. EBV induces AID expression in T or NK cells leading to mutagenesis and development of lymphoma

- Masato Horino, Ken-Ichi Imadome, Kohsuke Imai, Ludan Wang, Go Matsuda, Kasumi Hamasaki, Honami Komatsu, Morito Kurata, Tetsuya Kurosu, Shigeyoshi Fujiwara, Osamu Miura, Ayako Arai
第 75 回日本血液学会 2013.10.11 – 10.13 札幌
10. A case report for EBV-positive T-lymphoproliferative disease developed after CBT for AML
Shunsuke Yui, Hiroki Yamaguchi, Ken-Ichi Imadome, Ayako Arai, Toshio Asayama, Asaka Kondo, Keiichi Moriya, Kazutaka Nakayama, Kazuo Dan, Koichi Inokuchi
第 75 回日本血液学会 2013.10.11 – 10.13 札幌
11. EBV-T/NK-LPD (CAEBV, EBV-HLH etc.)の病態と診断
今留謙一 第 75 回日本血液学会 教育講演 2013.10.11, 10.13 札幌
12. 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治療薬 3 剤の評価研究
今留謙一、松田剛、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、濱崎霞、原口摩耶、上市裕子、清水則夫、伊藤守、藤原成悦
第 56 回日本ウイルス学会 2013.11.10 神戸
13. 難聴、発熱で発症し膠原病様症状を呈した慢性活動性 Epstein-Barr virus 感染症 (CAEBV) の 1 例
大谷一博, 野田健太郎, 浮地太郎, 金月 勇, 今留謙一, 黒坂大太郎
第 41 回日本臨床免疫学会
2013.11.27-11.29 下関
14. EBV 関連リンパ増殖症を契機に明らかとなった、低ガンマグロブリン血症を伴わず、memory B 細胞が減少した 1 男児例
小林千恵, 鈴木涼子, 酒井愛子, 福島紘子, 福島敬, 神保教広, 増本幸二, 里見介史, 野口雅之, 南木融, 中澤温子, 今留謙一, 小野寺雅史, 須磨崎亮
第 55 回日本小児血液がん学会
2013.11.29 – 12.1 福岡
15. 特徴的な皮疹から EBV 関連皮膚リンパ球増殖症と診断した 2 例
榊真一郎, 今留謙一、新関寛徳、余谷暢之、橋本直也、阪井祐一、中舘尚也、石黒精
第 55 回日本小児血液がん学会
2013.11.29 -12.1 福岡
16. The regulation of “inflammatory niche” with tumor derived small RNAs.
YAMAKAWA Natsuko, IMADOME Ken-Ichi, HOZUMI Katsuto, ANDO Kiyoshi, KOTANI Ai
第 42 回日本免疫学会 2013.12.11 – 12.13 幕張