

の発現は治療効果と関連しなかった。有害事象として grade2、3 の肝障害が、が 2 例 (2/5 40%) grade3 の好中球減少が 1 例 (1/5 10%)に認められた。いずれも ALL 治療時と比較し高いと考えられた。

D. 考察

① 今まで私たちは EBV-T/NK-LPDs 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 P-gp による薬剤の細胞外への排出がその原因のひとつであることがしめされた。今後は P-gp に影響を受けない薬剤の検討が望まれる。しかし、多くの化学療法剤は、P-gp により細胞外へくみ出されることが知られている。今回の結果では P-gp 阻害剤である CsA と Doxorubicin の併用の有効性も示唆されている。これらの結果をもとに今後多剤併用療法の開発を行っていく予定である。

② L-aspl は、EBV-T/NK-LPDs と同じく EBV 感染腫瘍で P-gp の発現が高く CHOP 抵抗性をしめす ENKL で効果を認めることは周知であり、さらに P-gp の影響を受けない。よって効果が期待された薬剤であったが治療効果は明らかにはならなかった。その原因のひとつは EBV-T/NK-LPDs の病態の複雑さにあると考える。今回の検討では、L-aspl の効果に影響を与えるとの報告もある AS の発現が患者ごとに大きく異なった。AS 発現のみならず、EBV-T/NK-LPDs は感染細胞、臨床像など、非常に多様性がある。今後は多くの症例を引き続き解析することで、それらの因子の詳細な検討を重ね、因子別の治療効果の検討が必要と考える。

E. 結論

EBV は LMP1 を介して NF- κ B を活性化し EBV 陽性 T・NK 細胞腫瘍発症の原因にな

る事が示された。また EBV-T/NK-LPDs の治療抵抗性の原因のひとつは P-gp であることも示された。

L-aspl の EBV-T/NK-LPDs に対する有効性は示せなかったが、今回の検討結果を元に今後、Bortezomib、CsA などを含めた新規治療法を検討する予定である。

F. 研究危険情報

なし。

G. 研究発表

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 Sci.* 105:592-9, 2014
- 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*, 99:671-52, 2014
- 3) Hattori T, Arai A, Yokota T, Imadome K, Tomimitu H, Miura O, Mizusawa H. Immune-mediated neuropathy with Epstein-Barr virus-positive T-cell lymphoproliferative diseases. *Internal Medicine*, 2014 in press
- 4) Nakatani K, Imai K, Shigeno M, Sato H, Tezuka M, Okawa T, Mitsui N, Isoda T, Tomizawa D, Takagi M, Nagasawa M, Kajiwara M, Yamamoto M, Arai A, Miura O, Kamae C, Nakagawa N, Honma K, Nonoyama S, Mizutani S, Morio T. Cord blood transplantation is associated with rapid B cell neogenesis compared with bone marrow

transplantation. Bone Marrow Transplant. 2014 Sep;49(9):1155-61.

5) Yoshimori M, Imadome K, Komatsu H, Wang L, Saitoh Y, Yamaoka S, Fukuda F, Kurata M, Koyama T, Shimizu N, Fujiwara S, Miura O, Arai A.

CD137 expression is induced by Epstein-Barr virus infection through LMP1 in T or NK cells and mediates survival promoting signals. PLoS One. 2014 Nov 19;9(11):e112564

6) 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, 56:159-66, 2014.

著作

1) 自己免疫性疾患に合併する悪性リンパ腫 リウマチ科 51 p415-420, 2014 科学評論社

2) Epstein-Barr ウイルス陽性腫瘍における制御性 T 細胞 臨床免疫・アレルギー科 62 p524-527, 2014 科学評論社

3) 看護病態 発熱 改訂 第 2 版 2014 年 11 月 1 日 (第一版 2011 年 11 月 1 日) 井上 智子 稲瀬直彦 編 p 2-6 医学書院

4) 今日の臨床サポート 改訂第 2 版 血球食 食症候群 エルゼビア

2. 学会発表

学会発表

1)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 細胞リンパ増殖症の EBV 陽性 T,NK 細胞は FOX-p3 を発現し T 細胞の増殖を抑制する

EB ウイルス感染症研究会 2014 年 3 月 20 日 東京

2)Arai A. Treatment for EBV-positive lymphoproliferative diseases NK 腫瘍研究会 2014 年 3 月 16 日 東京

3) 小松穂菜実、今留謙一、小山高敏、藤原成悦、三浦修、新井文子

EB ウイルスは T 細胞に感染後 LMPL1 を介して STAT3 を活性化し T 細胞リンパ腫発症に寄与しうる

第 76 回 日本血液学会 2014 年 10 月 31 日 大阪

4) 秋山弘樹、高瀬博、久保文人、三木徹、山本正英、富田誠、望月學、三浦修、新井文子 硝子体内投与に続く全身 MTX 投与は原発性眼内リンパ腫の中樞神経への進展を予防する

第 76 回 日本血液学会 2014 年 11 月 1 日 大阪

5)Ken-Ichi Imadome, Go Matsuda, Fuyuko Kawano, Eiichi Kodama, Ayako Arai, Norio Shimizu, and Shigeyoshi Fujiwara ; Preclinical studies of novel therapies for Epstein-Barr virus-associated diseases in humanized mouse models.39th International Herpesvirus Workshop, Kobe July

6)Ken-Ichi Imadome, Go Matsuda, Fuyuko Kawano, Eiichi Kodama, Ayako Arai, Norio Shimizu, and Shigeyoshi Fujiwara ; Applications of mouse models of EBV-associated diseases for the evaluation of novel therapies. 16th International Symposium on EBV and Associated Diseases. Brisbane, Australia – 2014

7) Makoto Arai, Ayako Arai, Shun-ichiro Izumi; Postgraduate education in Kampo (traditional Japanese) medicine: A current survey of clinical training hospitals. AMEE 2014 Milan

8) Hiroki Akiyama, Hiroshi Takase, Fumito Kubo, Tohru Miki, Masahide Yamamoto, Makoto, Tomita, Manabu Mochizuki, Osamu Miura, Ayako Arai; Systemic following intravitreal MTX administration prevents CNS infiltration of Primary intraocular lymphoma. 56th ASH Annual Meeting and Exposition San Francisco

9) Komatsu H, Imadome K, Shibayama H. Yada T,

Yamada M, Yamamoto K, Koyama T, Fujiwara S, Miura O, Arai A; STAT3 is activated by EBV in T or NK cells leading to development of EBV-T/NK-lymphoproliferative disorders. 56th ASH Annual Meeting and Exposition *San Francisco*

H. 知的財産権の出願・取得状況
なし

厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患等政策研究事業 (難治性疾患政策研究事業))
分担研究報告書

免疫抑制療法中に生じた EBV 関連リンパ増殖性疾患に関する研究
研究分担者 伊豆津宏二 虎の門病院 血液内科 部長

研究要旨

免疫抑制療法中に NK/T 細胞性 EBV 関連リンパ増殖性疾患が生じるという報告は少ない。当院で関節リウマチに対してメトトレキサート、エタネルセプト使用中に生じた節外性 NK/T 細胞リンパ腫・鼻型(ENKTL)の症例を経験した。病理学的所見は ENKTL の典型的なものであったが、メトトレキサート、エタネルセプトの中止により腫瘍が消失し、1年8ヶ月間再燃を認めていない。節外性 NK/T 細胞リンパ腫・鼻型は、免疫抑制療法中に生じる EBV 関連リンパ増殖性疾患として発症することがある。少なくとも一部の症例では免疫抑制療法中止により自然消退をきたす。

A. 研究目的

NK/T 細胞性 EBV 関連リンパ増殖性疾患が免疫抑制療法中に生じるという報告は少なく、B 細胞性 EBV 関連リンパ増殖性疾患と同様に免疫抑制療法中止による消退の有無については知見が乏しい。このため、NK/T 細胞性 EBV 関連リンパ増殖性疾患の特徴を明らかにし、免疫抑制療法中止による消退の有無について明らかにするために本症例研究を行った。

B. 研究方法

当科で経験した関節リウマチに対してメトトレキサート、エタネルセプト使用中に生じた節外性 NK/T 細胞リンパ腫・鼻型の症例について、臨床病理学的事項を後方視的に検討した。検討および発表にあたっては匿名化し、研究対象者の個人情報施設外にでることのないように配慮した。

C. 研究結果

当院で経験した症例は 54 歳女性で、25 年前に関節リウマチと診断され、15 年前よりメトトレキサート(総投与量 6g)、5 年前よりエタネルセプトを用いていた。

鼻閉感にて受診し、鼻腔腫瘍生検で節外性 NK/T 細胞リンパ腫・鼻型と診断された。免疫組織化学では、CD3+, CD56+, LMP1+, EBNA2 未検、TIA1+で、EBER 陽性と、通常の節外性 NK/T 細胞リンパ腫・鼻型の特徴を示していた。生検から1ヶ月後、メトトレキサート、エタネルセプトを休薬したところ、生検3ヶ月後には鼻閉感は改善し、耳鼻科的診察でも鼻腔腫瘍は消失していた。生検から1年8ヶ月を経過しているが、腫瘍の再燃は認めていない。

D. 考察

WHO 分類第 4 版によると、MIX 関連リ

ンパ増殖性疾患のうち、B細胞性が69%と大部分を占めるが、T細胞性が7%、NK細胞性は1例ということであった。文献検索ではRAに対するMTX投与中に発症したENKTLの報告が3例あり、1例はMTX中止のみで自然消退、2例はMTX中止のみでは改善せず、化学療法や放射線療法などが必要であった。

E. 結論

節外性NK/T細胞リンパ腫・鼻型は、免疫抑制療法中に生じるEBV関連リンパ増殖性疾患として発症することがある。少なくとも一部の症例では免疫抑制療法中止により自然消退をきたす。

F. 健康危険情報

該当事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

該当事項なし。

2. 学会発表

1. 梶大介、大田泰徳、山本豪、谷口修一、伊豆津宏二 メトトレキサート休薬のみで自然消退した関節リウマチ合併 Extranodal NK/T-cell lymphoma 第54回日本リンパ網内系学会総会 2014年6月21日

H. 知的所有権の取得状況

該当事項なし。

分担研究報告書

遺伝性 EB ウイルス関連リンパ増殖症に関する研究

研究分担者 森尾友宏 東京医科歯科大学大学院発生発達病態学分野 教授
 研究協力者 金兼弘和 東京医科歯科大学大学院発生発達病態学分野 准教授

研究要旨

遺伝性 EB ウイルス (EBV) 関連リンパ増殖症は X 連鎖リンパ症候群 (XLP) に代表される原発性免疫不全症であり、EBV に対する免疫応答の欠陥を特徴とし、臨床的には EBV 関連血球貪食性リンパ組織球症や悪性リンパ腫を呈する。まれであるが XLP に似た臨床像を呈する原発性免疫不全症があり、近年、全エクソーム解析等によって次々と原因遺伝子 (*ITK*, *CD27*, *MAGT1*, *STK4*, *CORO1A*, *PI3KCD*, *CTPS1*) が明らかとなってきた。本研究においてわが国における遺伝性 EBV 関連リンパ増殖症の原因ならびに病態を明らかとする。

A. 研究目的

X 連鎖リンパ症候群 (XLP) は EB ウイルス (EBV) に対する免疫応答の欠陥を有する原発性免疫不全症であり、EBV 関連血球貪食性リンパ組織球症 (HLH) や悪性リンパ腫を呈し、その原因遺伝子として *SH2D1A* (XLP1) ならびに *XIAP* (XLP2) が知られている。まれであるが XLP に似た臨床像を呈する原発性免疫不全症があり、全エクソーム解析等によって次々と原因遺伝子 (*ITK*, *CD27*, *MAGT1*, *STK4*, *CORO1A*, *PI3KCD*, *CTPS1*) が明らかとなってきた。わが国には慢性活動性 EBV 感染症を始めとする EBV 関連リンパ増殖症の患者が多数存在するが、XLP 以外の遺伝的背景は明らかではない。本研究においてわが国の遺伝性 EBV 関連リンパ増殖症の原因ならびに病態を明らかとする。

B. 研究方法

EBV 関連 HLH や悪性リンパ腫の患者のうち、家族歴を有する場合はもちろんであるが、孤発例であっても治療抵抗性や合併症を有する場合には原発性免疫不全症を基礎疾患としている可能性が高い。そのような患者を対象として、フローサイトメトリーならびに遺伝子解析によって XLP の診断を行う。XLP が否定された場合、可能な限り患者と両親の検体を採取し、全エクソーム解析を行う。候補遺伝子が見つかった場合には、機能解析を行う。

(倫理面への配慮)

本研究はヒト検体を用いて解析を行うものであり、検体量および採取時の苦痛には十分な配慮を行った。遺伝子解析については各種指針を遵守して、患者個人情報保護について十分な配慮を行った。

C. 研究結果

これまでわれわれはわが国において XLP1 ならびに XLP2 をそれぞれ 30 例、20 例以上同定している。最近 XLP 以外の遺伝性 EBV 関連リンパ増殖症がいくつか報告されている (表)。

遺伝性疾患	遺伝形式	遺伝子	HLH	慢性EBV血症	リンパ腫	異常g	iNKT細胞
XLP1 (SAP欠損症)	XL	<i>SH2D1A</i>	+	-	+	+	↓
XLP2 (XIAP欠損症)	XL	<i>XIAP</i>	+	-	-	+	正常/↓
ITK欠損症	AR	<i>ITK</i>	+	+	+	+	↓
CD27欠損症	AR	<i>CD27</i>	+	+	+	+	正常/↓
XMEN (MAGT1欠損症)	XL	<i>MAGT1</i>	-	+	+	+	正常
STK4欠損症	AR	<i>STK4</i>	-	+	+	+	?
Coronin-1A 欠損症	AR	<i>CORO1A</i>	-	+	+	+	↓
APDS	AD	<i>PI3KCD</i>	-	+	+	+	正常
CTPS1欠損症	AR	<i>CTPS1</i>	-	+	+	-	↓
CAEBV	?	?	+	+	+	+	?

それぞれ HLH、慢性 EBV 血症、リンパ腫、異常ガンマグロブリン血症などの臨床的特徴を有し、一部の疾患では EBV 免疫応答に重要とされるインバリアント NKT 細胞の低下を認める。

1歳9か月時に全身リンパ節腫脹と顔面神経麻痺で発症した EBV 関連リンパ腫様肉芽腫症

の男児例を対象に全エキソーム解析を行ったところ、これまでにEBV関連リンパ増殖症とし報告のないA遺伝子が候補遺伝子として同定された。両親由来の複合ヘテロ接合体変異であった。リンパ球における蛋白発現が認められ、現在機能解析を行っているところである。

D. 考察

全エキソーム解析により、既知であるが、原発性免疫不全症の原因遺伝子が同定された。これまでにEBV関連リンパ増殖症との関連が知られていなかったが、予備的検討ではEBV特異的免疫応答の欠陥が認められ、新たな遺伝性EBV関連リンパ増殖症と考えられる。この症例の免疫学的解析をさらに行うとともに、その他の遺伝性EBV関連リンパ増殖症を対象に全エキソーム解析等による解析を進めていきたい。

E. 結論

PAPA症候群の診断基準、診断フローチャート、治療参考資料を策定した。また実際の患者において遺伝子解析を行うとともに、好中球を主体としてその機能解析を実施した。今後策定した診断基準、診断ガイドラインを基に診断を進めるとともに、機能解析を並行して行い、PAPA症候群と真に関連するPSTPIP1遺伝子変異、壊疽性膿皮症との異同につき、明らかにする必要がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Aguilar C, Lenoir C, Lambert N, Begue B, Brousse N, Canioni D, Berrebi D, Roy M, Gerart S, Chapel H, Schwerd T, Siproudhis L, Schappi M, Al-Ahmari A, Mori M, Yamaide A, Galicier L, Neven B, Routes J, Uhlig HH, Koletzko S, Patel S, **Kanegane H**, Picard C, Fischer A, Bensussan NC, Ruemmele F, Hugot JP, Latour S. Characterization of Crohn disease in X-linked inhibitor of apoptosis-deficient male patients and female symptomatic carriers. *Journal of Allergy & Clinical Immunology*. **134**:1131-41.e9, 2014.
2. Yabal M, Muller N, Adler H, Knies N, Gros CJ, Damgaard RB, **Kanegane H**, Ringelhan M, Kaufmann T, Heikenwalder M, Strasser A, Gros O, Ruland J, Peschel C, Gyrd-Hansen M, Jost PJ. XIAP restricts TNF- and RIP3-dependent cell death and inflammasome activation. *Cell Reports*. **7**:1796-808, 2014.

3. Kogawa K, Sato H, Asano T, Ohga S, Kudo K, Morimoto A, Ohta S, Wakiguchi H, **Kanegane H**, Oda M, Ishii E. Prognostic factors of Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in children: report of the Japan Histiocytosis Study Group. *Pediatric Blood & Cancer*. **61**:1257-62, 2014.

4. Fujiwara S, Kimura H, Imadome K, Arai A, Kodama E, **Morio T**, Shimizu N, Wakiguchi H. Current research on chronic active Epstein-Barr virus infection in Japan. *Pediatrics International*. **56**:159-66, 2014.

2. 学会発表

1. **森尾友宏**：免疫不全症・異常症におけるリンパ球亜群解析、ヒューマンイムノロジーフォーラム2014（シンポジウム）、京都、2014年12月13日
2. **森尾友宏**：原発性免疫不全症における遺伝子解析、第42回日本臨床免疫学会総会（シンポジウム）、東京、2014年9月26日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患等政策研究事業 (難治性疾患政策研究事業))
分担研究報告書

東北大学小児科において骨髄非破壊的前処置による造血幹細胞移植を施行した
小児 CAEBV 5 症例の検討

研究分担者 笹原洋二

東北大学大学院医学系研究科 発生・発達医学講座小児病態学分野 准教授

研究要旨

慢性活動性 EBV 感染症 (CAEBV) の根治療法としては、同種造血幹細胞移植が現在のところ唯一の治療法としてあげられる。以前より、本症に対する移植では、(1) 適切な移植時期、(2) 前治療の必要性、(3) 血管障害をはじめとする移植関連毒性 (RRT) の軽減、が検討課題とされている。今回我々は、CD4 陽性 T 細胞感染例 2 例、 γ δ T 細胞感染例 1 例、NK 細胞感染例 2 例の計 5 症例に対して、病状安定期に、化学療法前治療なしで、骨髄非破壊的前処置 (RIC) : Fludarabine (Flu) + Cyclophosphamide (CY) + Low-dose TBI を用いた造血幹細胞移植 (RIST) を施行したので、臨床的考察を加えて報告する。

A. 研究目的

慢性活動性 EBV 感染症 (CAEBV) の根治療法として最も重要な治療法は、同種造血幹細胞移植である。以前より、本症に対する移植では、移植時期、前治療の必要性、血管障害をはじめとする移植関連毒性 (RRT) の軽減が臨床的課題として挙げられている。今回我々は、当科で施行した 5 症例の臨床的検討を行い、その成果と問題点についてまとめることを目的とした。

B. 研究方法

当科で CAEBV と診断し、同種造血幹細胞移植を施行した 5 症例について、臨床所見をまとめ、上記問題点について検討した。症例の内訳は、CD4 陽性 T 細胞感染例 2 例、 γ δ T 細胞感染例 1 例、NK 細胞感染例 2 例の計 5 症例である。

(倫理面への配慮)

患者に関する個人情報の保護について十分に配慮し、臨床情報をまとめた。臨床研究に関する倫理指針 (平成 20 年厚生労働省告示第 415 号) を遵守して行った。

C. 研究結果

表 1 に 5 症例の臨床所見の概要を示す。3 症例が T 細胞感染型、2 例が NK 細胞感染型であった。移植前の化学療法は施行せず、症例 1 のみ cooling 療法を先行させた。移植前処置は骨髄非破壊的前処置 (RIC) : Fludarabine (Flu) + Cyclophosphamide (CY) + Low-dose total body irradiation (TBI) を採用し、図 1 にその移植レジメンの概要を示す。図 2-5 に症例 1-4 における各々の移植後臨床経過を示す。EBV ゲノムの消失は、同胞間の症例 2 を除き速やかで

あった。全例生存中であり、血管関連を含めて RRT は軽微であり、移植後 QOL は良好に保たれている。最終的に全例で完全キメラを得たが、経過中の混合キメラの克服に対しては、免疫抑制剤の早期減量、赤芽球瘍への Rituximab 投与などの対応を要した。症例 2 は HLA 一致同胞ドナーからの移植であったが、移植後ドナー T 細胞に再度 EBV が感染した極めて稀な症例である。感染細胞の解析により、モノクローナルな感染細胞を同定できた症例であり、図 6A-C に移植後の TCR レパトア解析、EBV 感染細胞同定、キメリズム解析結果を示す。これらの解析の結果、ドナーの CD4・Vβ3 陽性 T 細胞に EBV が感染したことを同定できた。

D. 考察

CAEBV 感染症に対する造血幹細胞移植は、前処置法や移植ソースなどまだ臨床的に解決すべき点が多い。今回の 5 症例は全て同様の前処置にて移植を施行した。その結果、病状安定期に、前化学療法を行わず、RIC によって、治癒を目指しうる可能性が示された。RIC: Flu+CY+low-dose TBI にて最終的に完全キメラを得たが、経過中の混合キメラの克服に対しては、免疫抑制剤の早期減量、赤芽球瘍への Rituximab 投与などの対応を要したため、前処置法については更なる検討が必要である。EBV ゲノムの消失は、RIC によっても速やかであった。全例生存中であり、血管関連を含めて RRT は軽微であり、移植後の長期的 QOL は良好に保たれており、RIST の利点が十分生かされている結果となった。今後は、全国規模で症例を蓄積し最適な移植法について検証する必要があると考えられる。

E. 結論

1. CAEBV 感染症に対する造血幹細胞移植では、(1)(Cooling 後の)病状安定期、

(2) 化学療法なし、(3)RIST によって、治癒を目指しうる可能性が示された。

2. Flu+CY+low-dose TBI にて最終的に完全キメラを得たが、経過中の混合キメラの克服に対しては、免疫抑制剤の早期減量、赤芽球瘍への Rituximab 投与などの対応を要した。
3. EBV ゲノムの消失は、同胞間の症例 2 を除き、速やかであった。
4. 全例で血管関連を含めて RRT は軽微であった。全例生存中であり、移植後の長期的 QOL は良好に保たれている。
5. 小児科領域では、RIST が主体となりつつある。至適前処置については、全国規模で症例を蓄積し検証する必要がある。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Watanabe Y, Sasahara Y, Satoh M, Looi CY, Katayama S, Suzuki T, Suzuki N, Ouchi M, Horino S, Moriya K, Nanjyo Y, Onuma M, Kitazawa H, Irie M, Niizuma H, Uchiyama T, Rikiishi T, Kumaki S, Minegishi M, Wada T, Yachie A, Tsuchiya T, Kure S. A case series of CAEBV of children and young adults treated with reduced intensity conditioning and allogeneic bone marrow transplantation; a single center study. *Eur. J. Haematol.*, 91: 242-248, 2013.

2. 学会発表

笹原洋二、渡辺祐子、小沼正栄、新妻秀剛、内山徹、力石健、峯岸正好、土屋滋
骨髓非破壊的前処置にて同種骨髓移植を施行した慢性活動性 EBV 感染症 4 症例の臨床的検討

第 34 回日本造血細胞移植学会（大阪）、平成 24 年 2 月 24-25 日

笹原洋二、大内芽里、鈴木信、堀野智史、小沼正栄、入江正寛、内山徹、力石健、峯岸正好、呉繁夫

当科における CAEBV 移植 5 症例の検討

第 36 回仙台 BMT 懇話会（仙台）、平成 25 年 1 月 21 日

笹原洋二、渡辺祐子、小沼正栄、入江正寛、内山徹、力石健、呉繁夫、和田泰三、谷内江昭宏

同胞間同種骨髄移植後、ドナー T 細胞に EBV ゲノムが確認された CAEBV の 1 例

第 22 回 EBV 感染症研究会（東京）、平成 25 年 3 月 16 日

H. 知的財産権の出願・登録状況 （予定を含む。）

1. 特許取得

特になし。

2. 実用新案登録

特になし。

3. その他

特になし。

表 1

Pt. Age (years)	Disease onset (years)	EBV positive cells	Clinical manifestations	EBV genome (copies/ μ g DNA)	Therapy before transplant	Regimens of bone marrow transplantation						Engraftment (day)	Complete chimera (day)	EBV Specific CTLs	Outcome
						Conditioning regimen (RIC)	Donor	HLA matched	Blood type	Cell number (cells/kg)	GVHD prophylaxis				Complications
1.															Remission
8 male	7	CD4+ T	generalized rash lymphadenopathy liver dysfunction coronary artery-aneurysm positive EBV DNA in CSF ADEM	1.3×10^5	modified HLH2004 protocol	Flu 30 mg/m ² × 4 CY 750 mg/m ² × 4 TBI 3Gy × 1	UR	full	A→AB	1.97×10^8	FK506 sMTX	12	136	- → +	
2.															EBV-positive Donor CD4+ T cells infected with EBV
8 male	8	CD4+ T	lymphadenopathy liver dysfunction positive EBV DNA in CSF	2.0×10^5	No	Flu 30 mg/m ² × 4 CY 820 mg/m ² × 4 TBI 3Gy × 1	Sibling	full	A→AB	5.73×10^8	CsA sMTX	11	75	+ → +	Acute GVHD Grade II (gut) → steroid therapy → improved
3.															Remission
21 female	8	NK	lymphadenopathy mosquito allergy liver dysfunction hyper IgE	1.6×10^5	No	Flu 30 mg/m ² × 5 CY 60 mg/kg × 2 TBI 2Gy × 2	UR	DR 1 locus mismatched	A→O	1.16×10^8	FK506 sMTX	19	168	+ → +	Acute GVHD Grade I (skin), Thrombocytopenia, Hemolytic anemia → steroid+ γ -globulin → improved
4.															Remission
19 male	13	NK	lymphadenopathy EBV-HLH liver dysfunction hyper IgE AR	2.1×10^5	No	Flu 30 mg/m ² × 5 CY 30 mg/kg × 4 TBI 2Gy × 2	UR	full	A→O	3.67×10^8	FK506 sMTX	21	129	- → +	Acquired pure red cell aplasia → Rituximab → improved
5.															Remission
15 male	6	$\gamma\delta$ T	hydroa-vacciniiforme liver dysfunction	1.2×10^5	No	Flu 30 mg/m ² × 5 CY 60 mg/kg × 2 TBI 2Gy × 2	Sibling	full	AB→AB	3.30×10^8	CsA sMTX	14	161	+ → +	Mixed chimera → Donor leukocyte infusion → improved

図 1

東北大小児科における CAEBV に対する RIST レジメン

前処置法

Fludarabine (Flu) 30mg/m² x5days
Cyclophosphamide (CY) 60mg/kg x2days
Low-dose TBI 3-4Gy

GVHD 予防

同胞間 CyA + short-term MTX
非血縁者間 FK506 + short-term MTX

支持療法

当科における合併症予防法、治療法に従って施行。
週 1 回血液 Gミーティングにて症例、経過毎の個別の方針を検討する。

図2

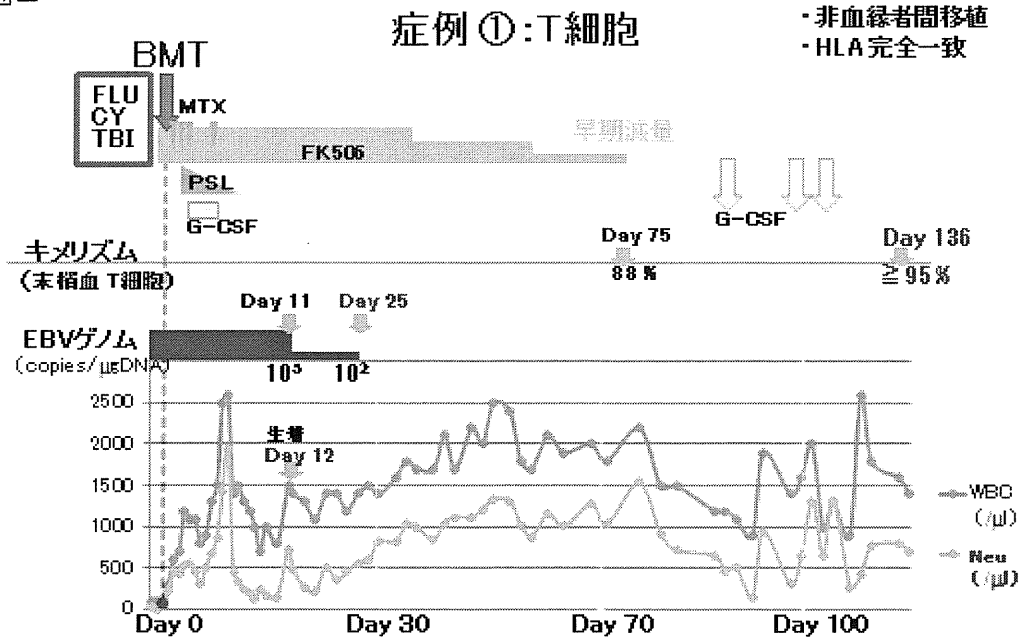


図3

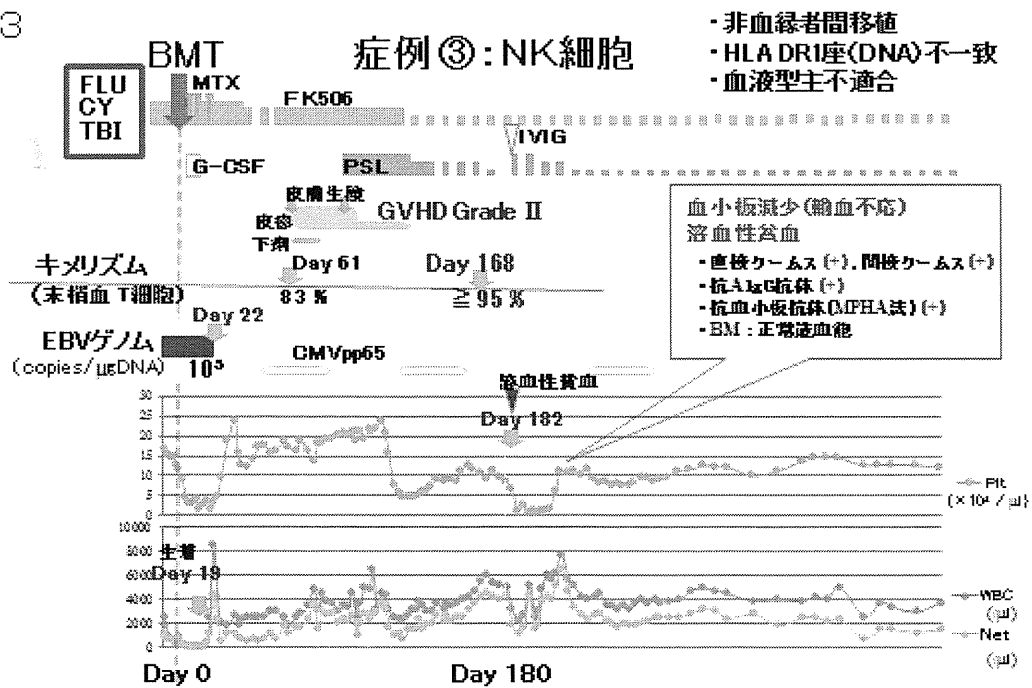


図4

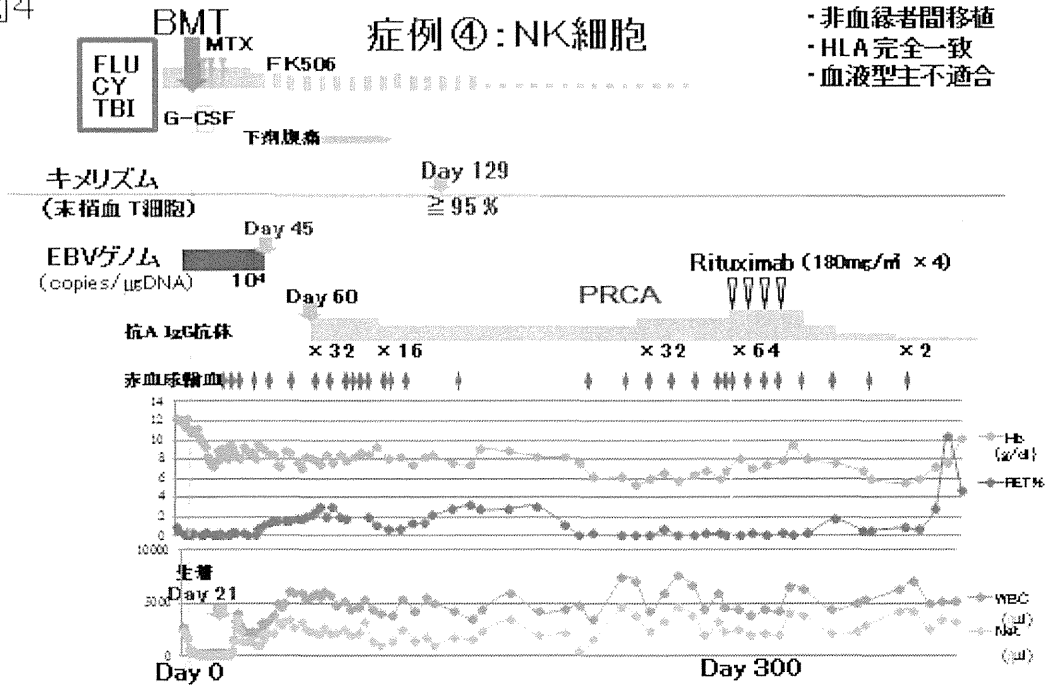


図5

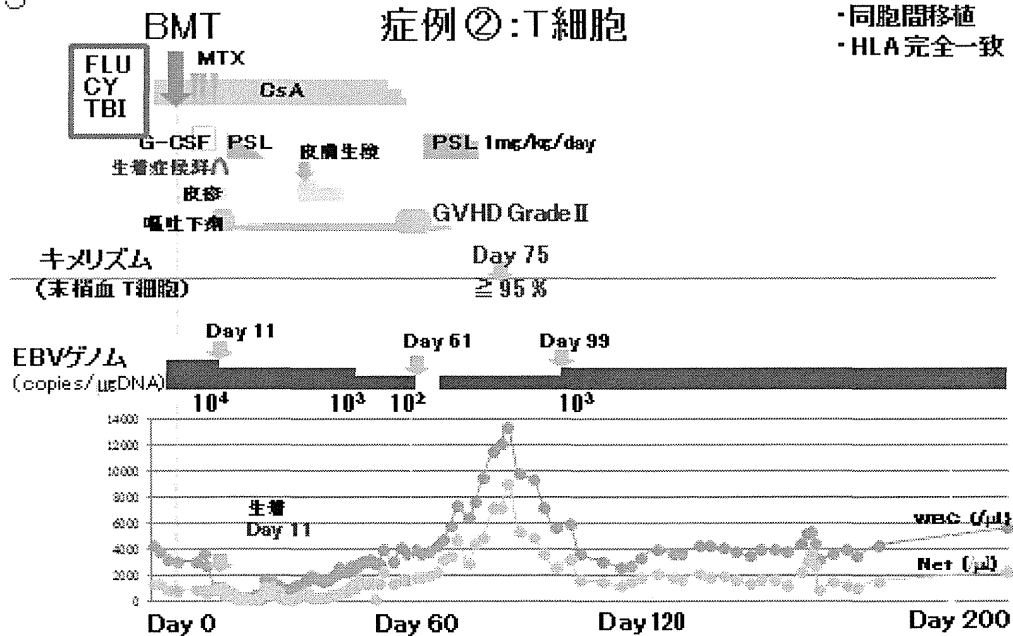


図6

症例2における移植後のTCRrepertoire解析

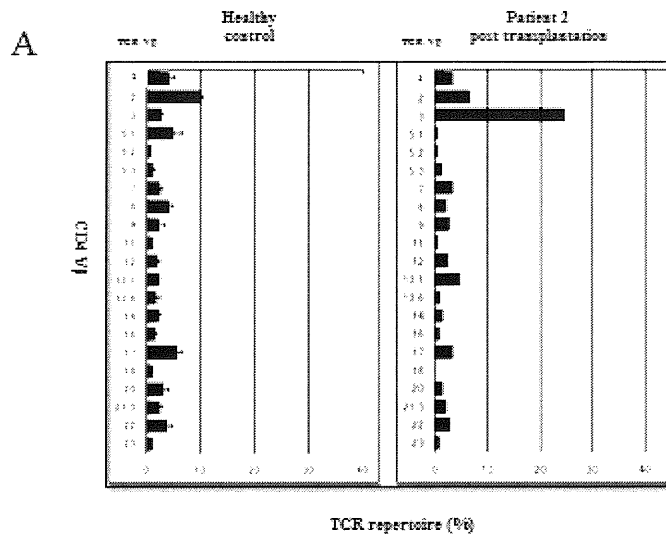
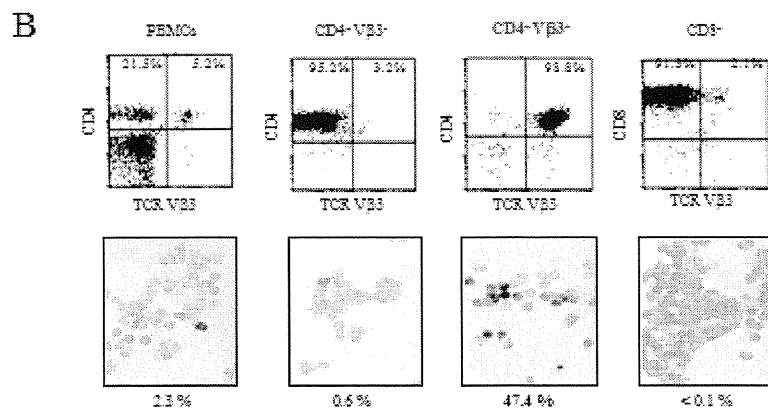


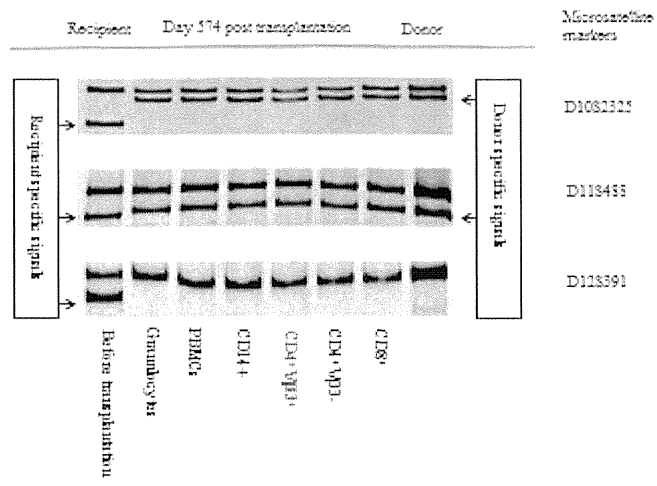
図6

各細胞分画でのEBER-1 in situ hybridization



各細胞分画でのキメラリズム解析

C



厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患等政策研究事業 (難治性疾患政策研究事業))
分担研究報告書

慢性活動性 EB ウイルス感染症の診断指針の改訂に関する研究

研究分担者 伊藤 嘉規 名古屋大学大学院医学系研究科小児科学・講師

研究要旨

EB ウイルス感染症研究会は、2003 年に慢性活動性 EB ウイルス感染症の診断指針を公表した。この指針は、(1) 臨床所見・経過、(2) EB ウイルス感染のウイルス学的な診断、(3) 除外診断から構成されている。診断指針が作成されてから 10 年以上が経過し、ウイルス学的診断については、研究の進展を反映した記述に更新することが望ましいと考えられる。さらに、本症の最近の疾患概念も念頭におき、診断指針の改定案を作成した。

A. 研究目的

慢性活動性 EB ウイルス感染症は、日本における発生頻度は年間 100 例程度と稀な疾患であるが、東アジアに集積している特徴と、診断法の向上により、疾患の認知が広がっている。本研究班では、本症の診療を向上させる目的で、本症の診断指針の改定を目指しており、その案を作成した。

B. 研究方法

2003 年に EB ウイルス感染症研究会より公表された本症の診断指針の内容について、近年の論文・学会発表を参考に、更新が必要と思われる部分を記載した改訂案を作成した。

C. 研究結果

(1) 現在の診療指針を図 1 に、改訂案(「診断基準」とした)を図 2 示す。

(2) 改訂部分についての考え方を以下に列挙する。

a) 診断指針の項目 1): 臨床経過の記述をより具体的にし、伝染性単核症症状の持続

期間を 3 か月以上とした。項目 1) に対応する補足条項では、種痘様水疱症・蚊刺過敏症と本症との関連についての記述を加えた。

b) 診断指針の項目 2): 現在はウイルス学的診断として、定量 PCR 法により血液検体中のウイルス DNA を測定するか、採取した組織中の EBER を in situ hybridization により検出するのが一般的である。そのため、EB ウイルスゲノム量の増加を診断に必要な項目とした。対応する補足条項では、定性 PCR 法を推奨しないことを記載した。

c) 診断指針の項目 3): 本症は EB ウイルスが T/NK 細胞に感染し増殖することが病態の中心であるとの理解が進んだ。そのため、診断指針では補足条項に記載されていた感染細胞の同定を診断基準の一項目として設定した。

d) 診断指針の項目 4): 遺伝子診断による免疫不全症の診断が大きく進歩した。また、白血病・リンパ腫などとの鑑別が重要であり、補足条項には除外する疾患について、より具体的に記述した。

D. 考察

本症はまれな疾患であり、診断指針は存在するものの、保険収載のある明確な診断方法が確立していないために、一般的に確定診断が困難である。そのため、診断されない症例、診断の遅れにより病態が進行した症例が少なくないと考えられる。早期診断・早期治療介入は本症の予後を改善することが期待されるため、研究の進展を反映させた診断基準の公表は、本症の診療を向上させる。

本症の診断において、ウイルス学的に EB ウイルスの持続的な活動感染を示すことは必須である。一般的に、EB ウイルス感染の診断には特異的抗体価が使用される。特異的抗体価の異常値は本症の特徴の一つであるが、病勢を反映せず、抗体価の以上を示さない場合も少なくないことが問題点である。一方、リアルタイム PCR に代表される定量 PCR 法は、ウイルス DNA 量を測定できるため、極めて有用である。しかし、定量 PCR 法は、保険収載されていない、体外診断薬が存在しないために測定法が統一されていない、という 2 つの大きな解決課題が存在する。保険収載に向けては「EB ウイルス感染症迅速診断(リアルタイム PCR 法)」が先進医療の認定を受け、測定法については WHO が国際的に統一した定量値の表示法を定めるなど、今後の進展が期待される。組織診断は最も有効な方法と考えられるが、侵襲性を伴うことから、選択された症例で行われる状況は今後も変わらないと考えられる。

本症は、近年、EB ウイルス関連 T/NK リンパ増殖性疾患の一つと考えられている。EB ウイルスが持続感染した T/NK 細胞が免疫機構による排除を受けず、増殖することが本態である。そのため、T/NK 細胞における EB ウイルス感染の確認を、フローサイトメータやリンパ球の組織染色などを応用し

て施設毎に行われているのが現状である。測定手法は専門施設に限られるものの、T/NK 細胞への EBV ウイルス感染の有無は本症の診断に必須と考えられるため、診断基準案では、新たな項目として設定した。

E. 結論

慢性活動性 EB ウイルス感染症の診断指針について、近年の研究成果を反映した「診断基準」として改訂することを目指した案を作成した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kato T, Nishida T, Ito Y, Murase M, Murata M, Naoe T. Correlations of programmed death 1 expression and serum IL-6 level with exhaustion of cytomegalovirus-specific T cells after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Cell Immunol*, 288(1-2):53-59, 2014.
- 2) Hara S, Kawada J, Kawano Y, Yamashita T, Minagawa H, Okumura N, Ito Y. Hyperferritinemia in Neonatal and Infantile Human Parechovirus-3 Infection in Comparison with Other Infectious Diseases. *J Infect Chemothe*, 20(1):15-9, 2014.
- 3) Yamashita Y, Ito Y, Isomura H, Takemura N, Okamoto A, Motomura K, Tsujiuchi T, Natsume A, Wakabayashi T, Toyokuni S, Tsurumi T. Lack of presence of the human cytomegalovirus in human glioblastoma. *Modern Pathol*, 27(7):922-9, 2014.

- 4) Kawano Y, Kawada J, Ito Y. Epstein-Barr Virus MicroRNAs in Plasma as Potential Biomarkers for Chronic Infections. *J Infect Dis* 209:1298-1300, 2014.
- 5) Kanazawa T, Hiramatsu Y, Iwata S, Siddiquey M, Sato Y, Suzuki M, Ito Y, Goshima F, Murata T, Kimura H. Anti-CCR4 Monoclonal Antibody Mogamulizumab for the Treatment of EBV-Associated T- and NK-Cell Lymphoproliferative Diseases. *Clin Cancer Res*, 20(19); 5075-84, 2014.
2. 学会発表
- 1) 伊藤嘉規、単純ヘルペスウイルスによる母子感染、第 117 回日本小児科学会学術集会、名古屋、2014. 4. 11-13.
- 2) 伊藤嘉規、河野好彦、鳥居ゆか、安藤将太郎、神谷泰子、鈴木道雄、川田潤一、木村宏、国際標準物質を用いた Epstein-Barr ウイルス・サイトメガロウイルス定量 PCR 系の標準化、第 88 回日本感染症学会学術講演会、福岡、2014. 6. 18-20.
- 3) Yoshinori Ito, Yoshihiko Kawano, Yuka Torii, Hajime Sato, Kazunori Sasaki, Tamaki Fujimori, Metabolome me analysis reveals involvement of the tryptophan-kynurenine pathway in human herpesvirus 6 encephalopathy, IHW 2014, Kobe, 2014. 7. 19-23.
- 4) Michio Suzuki, Tadashi Takeda, Hikaru Nakagawa, Seiko Iwata, Mohammed NA Siddiquey, Fumi Goshima, Yoshinori Ito, Takayuki Murata, Tatsuya Tsurumi, Hiroshi Kimura, Inhibitor B11B021 suppresses cell growth of EBV-associated T and natural killer cell lymphoma, IHW 2014, Kobe, 2014. 7. 19-23.
- 5) Jun-ichi Kawada, Michio Suzuki, Yuka Torii, Yoshihiko Kawano, Tomomi Kotani, Fumitaka Kikkawa, Hiroshi Kimura, Yoshinori Ito, IHW 2014, Kobe, 2014. 7. 19-23.
- 6) 鈴木道雄、河野好彦、鳥居ゆか、鈴木高子、安藤将太郎、神谷泰子、川田潤一、木村宏、伊藤嘉規、小児期生体肝移植例に対する移植後ワクチン接種の検討、第 46 回日本小児感染症学会総会・学術集会、東京、2014. 10. 18-19.
- 7) 河野好彦、川田潤一、鈴木高子、安藤将太郎、神谷泰子、鈴木道雄、鳥居ゆか、伊藤嘉規、先天性サイトメガロウイルス感染症におけるバイオマーカーとしての血漿中ウイルス由来・ヒト由来 miRNA の解析、第 46 回日本小児感染症学会総会・学術集会、東京、2014. 10. 18-19
- 8) 川田潤一、鈴木高子、安藤将太郎、神谷泰子、鈴木道雄、鳥居ゆか、木村宏、伊藤嘉規、バルガンシクロビルで治療した先天性サイトメガロウイルス感染症でのウイルス量の検討、第 46 回日本小児感染症学会総会・学術集会、東京、2014. 10. 18-19.
- 9) 鳥居ゆか、川田潤一、村田貴之、吉山裕規、鈴木道雄、木村宏、伊藤嘉規、EB ウイルスの単球細胞における Inflammasome 活性化の解析、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014. 11. 10-12.
- 10) 鈴木道雄、岩田誠子、Mohammed NA Siddiquey、佐藤好隆、伊藤嘉規、五島典、村田貴之、木村宏、EBV 関連 T/NK リンパ腫・リンパ増殖性疾患に対するヒト化抗 CCR4 抗体の効果の解析、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014. 11. 10-12.

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

(図 1) 慢性活動性 EB ウイルス感染症(CAEBV)診断指針

(EB ウイルス感染症研究会, 2003)

- 1) 持続的あるいは再発する伝染性単核症様症状
- 2) VCA, EA 抗体価高値を伴う異常な EB ウイルス抗体反応または病変組織(含末梢血)における EB ウイルスゲノム量の増加
- 3) 慢性に経過し既知の疾患とは異なること*

以上の 3 項目をみたすこと。

*経過中しばしば EB ウイルス関連血球貪食性リンパ組織球症、主に T 細胞・NK 細胞リンパ増殖性疾患/リンパ腫などの発症をみる。一部は蚊刺過敏症などの皮膚病変をとまなう。

補足条項

1. 伝染性単核症様症状とは、一般に発熱・リンパ節腫脹・肝脾腫などをさす。加えて、伝染性単核症に由来主に報告される血液、消化器、神経、呼吸器、眼、皮膚あるいは心血管合併症状・病変(含動脈瘤・弁疾患)などを呈する場合も含む。
2. VCA, EA 抗体価高値とは一般に VCA-IgG 抗体価 640 倍以上、EA-IgG 抗体価 160 倍以上がひとつの目安となる。加えて、VCA および EA-IgA 抗体がしばしば陽性となる。
3. 診断の確定、病型の把握のために以下の臨床検査の施行が望まれる。
 - a) 病変組織(含末梢血)の EB ウイルス DNA, RNA, 関連抗原およびクロナリテイの検索
 1. PCR 法 (定量、定性)

末梢血における定量を行った場合、一般に $10^{2.5}$ コピー/ μg DNA 以上がひとつの目安となる。定性の場合、健常人でも陽性となる場合がある。
 2. In situ hybridization 法 (EBER などの同定)
 3. 蛍光抗体法など (EBNA, LMP などの同定)
 4. Southern blot 法 (含 EB ウイルスクロナリテイの検索)
 5. EB ウイルス感染標的細胞の同定

蛍光抗体法、免疫組織染色またはマグネットビーズ法などによる各種マーカー陽性細胞(B 細胞、T 細胞、NK 細胞、単球/マクロファージ/組織球などを標識)と EBNA、EBER あるいは EBV DNA 検出などを組み合わせて行う。
 - b) 病変組織の病理組織学的・分子生物学的評価
 1. 一般的な病理組織所見
 2. 免疫組織染色
 3. 染色体分析
 4. 遺伝子再構成検査(免疫グロブリン、T 細胞受容体など)
 - c) 免疫学的検討
 1. 一般的な免疫検査(細胞性免疫 [含 NK 細胞活性]・抗体・補体・食細胞機能など)
 2. 末梢血マーカー分析(含 HLA-DR)
 3. 各種サイトカイン検索