

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

EB ウイルス蛋白質 EBNA1 が突然変異頻度に与える影響に関する研究

研究分担者 藤原成悦

国立成育医療研究センター研究所

免疫アレルギー・感染研究部 特任研究員

研究要旨

慢性活動性 EB ウイルス (EBV) 感染症 (CAEBV) では、何らかの免疫不全により EBV 感染 T 細胞或いは NK 細胞が増殖を続けた結果として細胞遺伝子に変異が生じ、EBV 陽性の悪性 T/NK 細胞リンパ腫の発症に至ると考えられる。本研究では EBV 蛋白質 EBNA1 が細胞遺伝子の突然変異頻度を上昇させる可能性について検討した。EBNA1 を遺伝子導入により発現させた BJAB 細胞における 6-TG 耐性細胞出現頻度は、対照と比べて約 3.2 倍であった。また、変異解析用シャトルベクター pZ189 を用いた変異頻度解析では、EBNA1 発現細胞は対照と比べて約 2.7 倍であった。EBV を感染させた BJAB クロンの 1 つは、対照と比べて約 2.9 倍の変異頻度を示した。以上の結果は EBNA1 が宿主遺伝子の突然変異頻度を上昇させる可能性を示している。増殖する EBV 感染細胞の全てで発現されている EBNA1 が突然変異頻度を上昇させているとすれば、CAEBV に限らずその発がんへの影響は大きいと考えられる。

A. 研究目的

慢性活動性 EB ウイルス (EBV) 感染症 (CAEBV) では、何らかの免疫不全により EBV 感染 T 細胞或いは NK 細胞が増殖を続けた結果として細胞遺伝子に変異が生じ、EBV 陽性の悪性 T/NK 細胞リンパ腫の発症に至ると考えられる。EBV の発がんにおける役割を明らかにするために、これまで悪性細胞に発現される EBV 蛋白質が細胞の生存・増殖・分化に与える影響が主に解析されてきた。しかし、EBV 感染により細胞遺伝子の突然が上昇し、発がんが促進される可能性に関する研究は少ない。そこで、増殖状態にある EBV 感染細胞の全てに発現される EBV 核抗原 1 (EBNA1) が突然変異頻度に与える影響を検討した。

B. 研究方法

ヒト B 細胞株 BJAB に EBNA1 発現ベクター pOH-SGE1 を導入し、EBNA1 発現クロンを 5 株作製した。同時に、ベクター pOH のみを導入した対照クロン 6 株を作製した。これらの細胞を 5 μ M の 6-thioguanine (6-TG) 添加培養液で培養し、*hprt* 遺伝子の変異により 6-TG 耐性を獲得した細胞の出現頻度を測定した。また、EBV 感染 BJAB クロンの 1 つ BJ/rEBV/9-9、EBNA1 発現 BJAB クロンの 1 つ BJ/OH-E1/7、および対照の 2 クロン (BJ/OH/4 および BJ/OH/5) に変異解析用シャトルベクター pZ189 を導入して変異頻度を測定した。pZ189 をこれらの細胞に導入し、3 日後に

表1. EBNA1の6-TG耐性細胞出現頻度に対する影響

BJAB/pOH-SGE1	BJAB/pOH
$7.5 \pm 1.0 \times 10^{-6}$	$0.5 \pm 0.2 \times 10^{-6}$
$6.4 \pm 0.9 \times 10^{-6}$	$1.8 \pm 0.5 \times 10^{-6}$
4.0×10^{-6}	2.4×10^{-6}
6.0×10^{-6}	2.5×10^{-6}
6.8×10^{-6}	3.4×10^{-6}
	1.0×10^{-6}
$6.1 \pm 1.3 \times 10^{-6}$ (Av.)	$1.9 \pm 0.8 \times 10^{-6}$ (Av.)

Hirt 方により回収、DpnI 消化により未複製プラスミドを除いた後、大腸菌 KS40/pKY241 に導入した。KS40/pKY241 の特性により、野生型 *supF* 遺伝子をもつ pZ189 が導入された場合は、IPTG および X-Gal 存在下で青色のコロニーを生じ、アンピシリン耐性、クロラムフェニコル耐性、ナリディクス酸感受性となる。一方 *supF* 遺伝子に変異がある場合は、上記 3 剤耐性の白色コロニーが生ずる。細胞より回収した pZ189 を導入した KS40/pKY241 をアンピシリン、クロラムフェニコル、ナリディクス酸の 3 剤添加培地および、アンピシリンとクロラムフェニコルの 2 剤添加培地で培養し、両者に生ずるコロニー数の比をもって、変異 *supF* 遺伝子の率とした。

(倫理面への配慮)

本研究は広く一般的に用いられているヒト細胞株を使用して行ったため、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」の対象とはならない。動物実験は行わなかった。本研究は所属機関の遺伝子組換え実験安全管理委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

EBNA1 発現 BJAB 細胞における 6-TG 耐性細胞出現頻度は $6.1 \pm 1.1 \times 10^{-6}$ であり、対照の $1.9 \pm 1.3 \times 10^{-6}$ に比べて高い値を示した (表 1)。また、BJ/rEBV/9-9 および

BJ/E1/7 で複製された pZ189 の変異頻度はそれぞれ $3.40 \pm 2.58 \times 10^{-4}$ 、 $3.11 \pm 1.46 \times 10^{-4}$ 、対照の BJ/OH/4 と BJ/OH/5 で複製された pZ189 の変異頻度はそれぞれ $1.13 \pm 0.50 \times 10^{-4}$ および $1.18 \pm 0.42 \times 10^{-4}$ であった (表 2)。アンピシリン、クロラムフェニコル、ナリディクス酸の 3 剤に耐性で白色のコロニーから回収した pZ189 の *supF* 遺伝子の塩基配列を解析したところ様々な変異の存在が確認された (図 1)。

表2. EBNA1(+)およびEBNA1(-) BJAB細胞における変異pZ189出現率

細胞	3剤耐性白色 コロニー数(A)	2剤耐性青色 コロニー数(B)	A/B
BJ/OH/4	7	176,852	3.96×10^{-5}
	4	89,506	5.75×10^{-5}
	13	119,306	1.09×10^{-4}
	7	54,311	1.29×10^{-4}
	24	188,141	1.28×10^{-4}
	18	129,304	1.39×10^{-4}
	21	124,295	1.61×10^{-4}
	9	48,387	1.86×10^{-4}
Average			$1.13 \pm 0.50 \times 10^{-4}$
BJ/OH/5	11	104,086	1.06×10^{-4}
	19	106,951	1.77×10^{-4}
	16	245,699	6.51×10^{-5}
	18	99,043	1.82×10^{-4}
	18	165,475	1.09×10^{-4}
	25	212,391	1.18×10^{-4}
	34	265,644	1.28×10^{-4}
Average			$1.18 \pm 0.42 \times 10^{-4}$
BJ/OH-E1/7	17	111,328	1.53×10^{-4}
	43	127,109	3.38×10^{-4}
	21	52,127	4.02×10^{-4}
	26	50,882	5.11×10^{-4}
	9	41,644	2.16×10^{-4}
	10	44,901	2.23×10^{-4}
	18	35,599	5.06×10^{-4}
Average			$3.11 \pm 1.46 \times 10^{-4}$
BJ/rEBV/9-9	26	163,469	1.60×10^{-4}
	91	142,075	6.41×10^{-4}
	21	30,170	6.96×10^{-4}
	35	140,034	2.50×10^{-4}
	32	127,287	2.51×10^{-4}
Average			$3.40 \pm 2.58 \times 10^{-4}$

D. 考察

以上の結果は、EBNA1 発現細胞では遺伝子の突然変異頻度が上昇している可能性を示している。EBV がコードする EBNA1、LMP1、EBNA3C が染色体異常の頻度を上昇させる (genetic instability) ことがこれ

までに報告されているが、点突然変異を誘発するという報告はないように思われる。EBNA1 は慢性活動性 EBV 感染症の EBV 感染 T/NK 細胞など、増殖状態にある EBV 感染細胞の全てで発現されるため、これらの細胞では非感染細胞と比べて高率に変異が生じ、悪性細胞が出現する可能性があると考えられる。

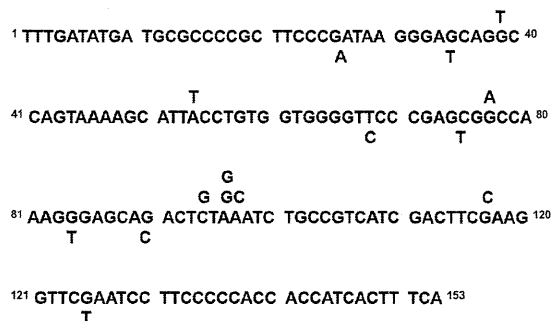


図 1. 3 剤耐性白色コロニーから回収された pZ189 の *supF* 遺伝子に見つかった変異。

E. 結論

EBNA1 を発現する細胞では遺伝子突然変異の頻度が上昇していることが示唆された。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yoshimori M, Komatsu H, Imadome K, Kurata M, Yamamoto K, Koyama T, Shimizu N, Fujiwara S, Miura O, Arai A. P-glycoprotein is expressed and causes resistance to chemotherapy in EBV-positive T-cell lymphoproliferative diseases. *Cancer Med.* 4(10):1494-504, 2015.
2. Usui M, Fujikawa T, Osawa M, Hakii

C, Ikumi N, Nozaki T, Kitamura N, Fujiwara S, Takei M. Self-assembly formed by a short DNA probe pair: application for highly sensitive mRNA species detection. *Biochem Biophys Res Commun* 27:467(4):1012-8, 2015.

3. Matsuda G, Imadome K-I, Kawano F, Mochizuki M, Ochiai N, Morio T, Shimizu N, and Fujiwara S. Cellular immunotherapy with ex vivo expanded cord blood T cells in a humanized mouse model of EBV-associated lymphoproliferative disease. *Immunotherapy* 7:335-341, 2015.

2. 学会発表

1. Fujiwara S. Humanized mouse models of Epstein-Barr virus infection and associated diseases. The 3rd Beijing Conference on Histiocytosis. October 25, 2015, Beijing.
2. 川野布由子、児玉栄一、清水則夫、松田剛、藤原成悦、今留謙一. 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医薬 S-FMAU の評価研究. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会、福岡、2015 年 11 月 23 日.

H. 知的所有権の取得状況

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

日本におけるランゲルハンス細胞組織球症 20 例の BRAF V600E 変異解析に
関する研究

研究分担者 氏名 大島孝一 所属 久留米大学病理学教室 職名 教授

研究要旨

LCH (ランゲルハンス細胞組織球症) の 20 例に対して BRAF のエクソン 15 に対する変異解析を行ったところ、4 例に V600E の変異を認めた。BRAF V600E に特異的な抗体を用いた免疫染色で BRAF V600E 変異症例を同定することはいずれの場合も困難であった。BRAF V600E の有無と予後との関連は認めなかった。

A. 研究目的

ランゲルハンス細胞組織球症 (LCH: Langerhans Cell Histiocytosis) は組織球のクローナル増殖によって特徴づけられる疾患である。非常に稀な疾患であり、罹患率は 8-9/100 万人である。浸潤様式によって単一臓器型 (single system) と多臓器型 (multi system) に分類される。無治療で寛解となる症例から全身に浸潤し死に至ることもあり臨床経過は様々である。標準的な治療方法は未確立である。近年、LCH に症例において、がん原遺伝子のひとつである BRAF に変異 (V600E 変異) が共通していることが米国 (57%)、欧州 (38%)、中国 (56%) からみられるが、本邦からの報告はまだない。今回、我々は、日本における LCH 患者 20 名に対して V600E 変異の有無を評価した。

B. 研究方法

当病院の症例並びに当病院に病理診断コンサルテーションのあった 20 例を解析対象とした。パラフィン固定済みの標本から

DNA を抽出した。BRAF のエクソン 15 における変異である V600E に関してダイレクトシーケンス法を用いて塩基配列を確認した。BRAF V600E に対する特異的な抗体を用いて免疫染色を行った。

(倫理面への配慮) ヘルシンキ宣言に従って研究を実施した。

C. 研究結果

LCH (ランゲルハンス細胞組織球症) の 20 例に対して BRAF のエクソン 15 に対する変異解析を行ったところ、4 例に V600E の変異を認めた。BRAF V600E に特異的な抗体を用いた免疫染色で BRAF V600E 変異症例を同定することはいずれの場合も困難であった。BRAF V600E の有無と予後との関連は認めなかった。

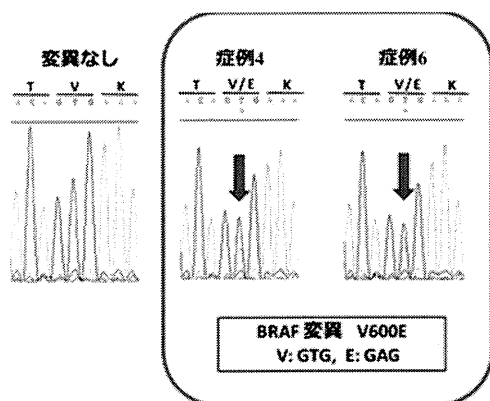


図 症例 4，6 に BRAF V600E に変異が見られる。

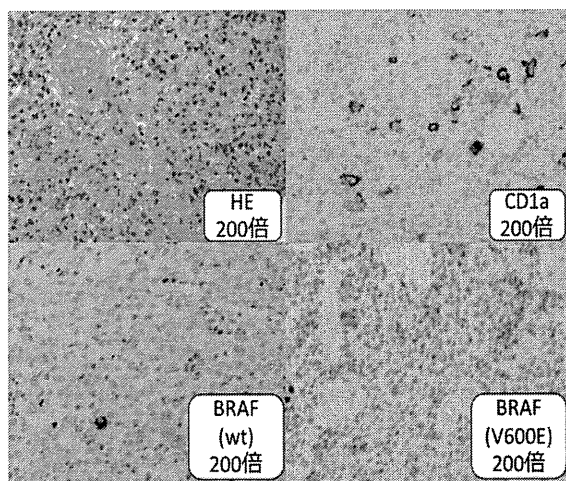


図 ランゲルハンス細胞組織球症、組織像は好酸球を伴い、細胞質の豊かな細胞が増殖し、CD1a 陽性である。BRAF (WT) が一部陽性で、BRAF (V600E) が一部陽性である。

D. 考察

本邦外での LCH に症例において、BRAF (V600E) を有する症例は 38-57% との報告がある。BRAF はがん原遺伝子のひとつではあるが、LCH における driver mutation であることを積極的に支持する報告はない。組織球系腫瘍の ECD: Erdheim-Chester disease (LCH を合併) における BRAF V600E 陽性症例で、BRAF V600E 阻害剤の Vemurafenib が奏功したという報告がある。治療に関しては今後の検討課題である。

E. 結論

本邦の LCH (ランゲルハンス細胞組織球症) の 20 例に対して BRAF のエクソン 15 に対する変異解析を行ったところ、4 例に V600E の変異を認めた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし (準備中)

2. 学会発表

佐々木裕哉 三好寛明 大島孝一. 日本におけるランゲルハンス細胞組織球症 20 例の BRAF V600E 変異解析. 2014 年 日本血液学会

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

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

慢性活動性 EB ウイルス感染症および類縁疾患 (蚊刺過敏症と種痘様水疱症)
の診断基準と診療ガイドラインに関する臨床情報の解析
研究分担者 岩月啓氏 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚科学分野・教授

研究要旨

慢性活動性 EB ウイルス感染症 (CAEBV) および類縁疾患である蚊刺過敏症と種痘様水疱症のコホート調査を行った。病型を古典的種痘様水疱症、全身性種痘様水疱症、蚊刺過敏症、蚊刺過敏症と種痘様水疱症合併例に分類することが、予後を規定することが明らかになった。発症年齢 9 歳以上、および再活性化シグナルである BZLF1 mRNA 発現は予後不良因子であった。活性化シグナルおよび EB ウイルス感染リンパ球サブセットは病態と予後に関与する可能性が示唆された。本年度得られた研究成果を組み入れた診断基準と診療ガイドライン作成を行った。

研究協力者

濱田利久 岡山大学病院皮膚科講師
三宅智子 岡山大学病院皮膚科助教
平井陽至 岡山大学病院皮膚科助教
山本剛伸 川崎医大皮膚科講師

A. 研究目的

慢性活動性 EB ウイルス感染症 (CAEBV) および類縁疾患である蚊刺過敏症と種痘様水疱症のコホート調査結果から、予後因子を見出す。得られたエビデンスをもとに診断基準と診療ガイドラインを作成する。

B. 研究方法

当科を受診あるいは検査依頼を受けた症例の診断的検査を行い、コホート調査を実施した (倫理委員会: 岡山大学 No. 419, 2011)。病型分類を作成し、生命予後を解析し、重症化および予後不良となる BZLF1 発現の関連を検討する (倫理委員会: 岡山大学 No. 287, 2014)

C. 研究結果

1) 病型分類と予後

病型を古典的種痘様水疱症 (classical hydroa vacciniiforme)、全身性種痘様水疱症 (systemic hydroa vacciniiforme)、蚊刺過敏症 (hypersensitivity to mosquito bites)、蚊刺過敏症と種痘様水疱症合併例の 4 型に分類することが、予後を規定することが明らかになった (図 1) (論文発表 3)。

2) 発症年齢と予後

発症年齢が 9 歳未満は予後が良好であった。予後の良好な古典的種痘様水疱症が小児期に発症するために、この群を除外して生命予後を解析しても、発症年齢が 9 歳以上の群では予後は悪いことが判明した (論文発表 3)。

3) 再活性化マーカーと予後

超早期の再活性化シグナルである BZLF1 mRNA 発現は、予後不良因子であった。EBV 再活性化マーカーの BZLF1 mRNA 発現は、

流血中では陰性であるが、EBV 関連上皮系ではほぼ全例で発現がみられる。リンパ球系では、リンパ腫症例では陽性や、全身型炎症反応をきたす病型（全身性種痘様水疱症、蚊刺過敏症）では 3 分の 1 程度で発現がみられる。（論文発表 1）、そのような例では全身性炎症があり、生命予後が不良であった（論文発表 3）。

4) EB ウイルス感染細胞サブセットと予後
EB ウイルス感染リンパ球サブセットを解析すると、古典的種痘様水疱症では流血中に $\gamma \delta T$ 細胞の増加があり、全身性種痘様水疱症では $\gamma \delta T$ 細胞と $\alpha \beta T$ 細胞の両方が有意のクローンとして存在する（論文発表 2）。小数例ながら、 $\alpha \beta T$ 細胞クローン優位型では死亡例が多く、感染細胞サブセットが予後に関与する可能性が示唆された。

D. 考察

本研究では、慢性活動性 EB ウイルス感染症（CAEBV）の類縁疾患である蚊刺過敏症と種痘様水疱症の予後因子は、1) 病型分類（古典的および全身型種痘様水疱症、蚊刺過敏症、蚊刺過敏症と種痘様水疱症合併例）、2) 発症年齢（9 歳以上）、3) 再活性化マーカー BZLF1 mRNA であることが明らかになった。さらに、EB ウイルス感染細胞サブセット、特に $\gamma \delta T$ 細胞と $\alpha \beta T$ 細胞を検査することが、さらに精度をあげた予後因子として重要と思われた。これらの因子を診断基準および診療ガイドラインに組み入れることで、治療介入の適応や、予後推定に役立つものと考えられる。

再活性化シグナルは予後因子として重要なだけでなく、種痘様水疱症や蚊刺過敏症の病態と深く関係している。すなわち、再活性化によって生じる EB ウイルス遺伝子由来の neo-antigen は、細胞障害性 T 細胞のターゲットになり、全身性炎症反応を起こし、予後を規定する因子となると考え

られる。

E. 結論

蚊刺過敏症と種痘様水疱症の予後因子は、1) 我々の提唱した病型分類、2) 発症年齢（9 歳以上）、3) 再活性化マーカー BZLF1 mRNA 発現であった。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yamamoto T, Hirai Y, Miyake T, Hamada T, Yamasaki O, Morizane S, Fujimoto W, **Iwatsuki K**. Epstein-Barr virus reactivation is induced, but abortive, in cutaneous lesions of systemic hydroa vacciniforme and hypersensitivity to mosquito bites. *J Dermatol Sci*, in press 2016
2. Nomura H, Suzuki H, Egami S, Yokoyama T, Sugiura M, Tomita K, Imada M, Taniguchi K, Yoshino T, **Iwatsuki K**. A patient with elderly-onset atypical hydroa vacciniforme with an indolent clinical course. *Br J Dermatol* 2015; 173:801-805.
3. Miyake T, Yamamoto T, Hirai Y, Otsuka M, Hamada T, Tsuji K, Morizane S, Suzuki D, Aoyama Y, **Iwatsuki K**. Survival rates and prognostic factors of Epstein-Barr virus-associated hydroa vacciniforme and hypersensitivity to mosquito bites. *Br J Dermatol* 2015; 172: 56-63.

2. 学会発表

1. 三宅智子、**岩月啓氏**他：種痘様水疱症と蚊刺過敏症における血球・血漿 EBV DNA 定量の臨床的意義の検討（第 79 回日本皮膚科学会東京・東部支部合同学術大会 2016 年 2 月 20、21 日）

2. 三宅智子、岩月啓氏他：痂皮と水疱蓋を用いた種痘様水疱症と蚊刺過敏症の低侵襲診断的検査の鋭敏度と特異度に関する研究(第 114 回日本皮膚科学会総会 2015 年 5 月 28-31 日)

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

本研究に関わる特許：「ウイルス潜伏感染の検査方法および検査用キット」（特許 4182227 号、PCT/JP2006/317851）：本研究の基盤となった検査法

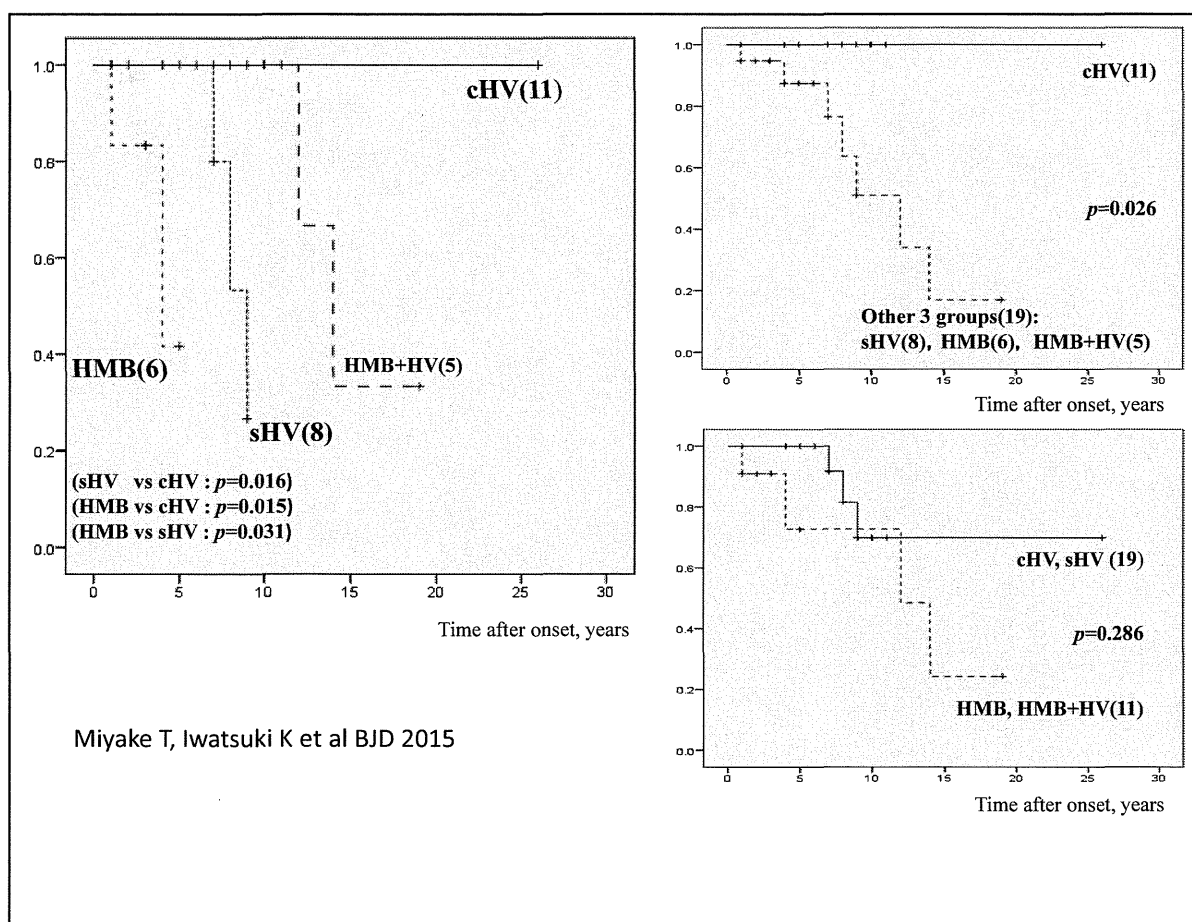
2. 実用新案登録

特になし。

3. その他

特になし。

図 1 種痘様水疱症と蚊刺過敏症の生命予後



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

蚊刺過敏症から EB ウイルス関連悪性リンパ腫への移行過程についての研究

研究分担者 浅田秀夫 奈良県立医科大学皮膚科 教授

研究要旨

蚊刺過敏症の発症から 6 年後に悪性リンパ腫を生じた症例について、悪性リンパ腫の発症前後の病態の変化を検討した。その結果、免疫抑制療法に対する治療抵抗性と皮膚病変の組織学的変化が悪性化を判断する手がかりとなった。一方、末梢血単核球中の EBV DNA のコピー数や増殖リンパ球の表面マーカーには明らかな変化はみられなかった。

A. 研究目的

慢性活動性 EB ウイルス (EBV) 感染症では、しばしば蚊刺過敏症を合併することが知られている。蚊刺過敏症とは、蚊に刺された局所に発赤腫脹、壊死を伴う強い局所反応に加え、発熱、リンパ節腫脹、肝機能障害などの全身症状を呈する疾患である。

われわれはこれまでに、蚊刺過敏症患者について免疫学的検討を行い、患者の CD4⁺ T 細胞が蚊の唾液腺抽出物の刺激により著しく活性化すること、さらに、この活性化された T 細胞が、EBV が感染している NK/T 細胞に作用して、細胞の腫瘍化に関わっていることを明らかにした。本研究では、蚊刺過敏症発症から約 6 年後に悪性リンパ腫に移行した症例について、悪性化前後の病態の変化を検討した。

B. 研究方法

研究対象者: 22 歳、女性。14 歳頃から顔面に種痘様水疱症が出現し、16 歳頃から毎年夏に蚊刺により水疱を伴う発赤腫脹や、発熱、リンパ節腫脹を繰り返すようになっ

た。21 歳時には蚊刺以外の切創や毛包炎の部位に壊死・潰瘍が多発するようになり発熱を繰り返すようになったが、浸潤リンパ球に異型性はみられなかった。皮膚病変はステロイド全身療法に対して抵抗性を示し、シクロスポリンの内服が奏効した。しかし、半年後に発熱を伴う皮膚壊死の再燃を認め、浸潤 T 細胞に明らかな異型性をみとめたため、臍帯血ミニ移植を施行した。

この症例につき悪性リンパ腫発症の前後で以下の項目を検討した。

- ① EBV 抗体価の経時的測定ならびに末梢血単核球中 EBV ゲノム数の定量
- ② EBV 感染細胞の同定とクロナリティの検索
- ③ 各種蚊唾液腺抽出液による患者リンパ球の刺激試験
- ④ 皮疹部の皮膚の病理組織学的検討

(倫理面への配慮)

今回の研究は、すべて診療上必要な医療行為のみに限定して、患者からインフォームドコンセントを得た上で行った。

C. 研究結果

- ① 末梢血塗抹標本:大型の顆粒リンパ球の増多をみとめたが、悪性リンパ腫の発症前後で、細胞数、形態に明らかな変化は見られなかった。
- ② 血清抗 EBV 抗体価:抗 VCA-IgG x320-640、EADR-IgG x80-160 と高値を示したが、悪性リンパ腫の発症前後で、有意な変化はなかった。
- ③ 末梢血単核球中 EBV DNA 定量: $2.2-5.0 \times 10^4$ コピー/ μg 。悪性リンパ腫の発症前後で、有意な変化はなかった。
- ④ EBV-terminal repeat の Southern blotting: 悪性リンパ腫の発症前から末梢血中に EBV 感染細胞の単クローン性増殖を確認。
- ⑤ T 細胞受容体解析: 悪性リンパ腫発症前から β 鎖と γ 鎖の遺伝子再構成をみとめた。
- ⑥ 蚊唾液腺抽出物による患者リンパ球の刺激試験: ヒトスジシマカよりもむしろアカイエカに対して強い反応をみとめ、悪性リンパ腫の発症前後で変化は見られなかった。
- ⑦ 皮疹部の病理組織学的検討:
〈悪性リンパ腫発症前〉21 歳時の皮膚潰瘍辺縁の皮膚生検では、真皮から脂肪織にリンパ球の密な浸潤がみられたが、異型性には乏しかった。CD3、CD4、グランザイム B、EBER が多数の細胞で陽性。CD56 は陰性。
〈悪性リンパ腫発症後〉22 歳時の再燃した皮膚潰瘍辺縁の生検では、EBER 陽性の明らかに異型なリンパ球の密な浸潤を認めた。リンパ球表面マーカーは、前年と同様であった。LMP-1 の発現にも明らかな差は見られなかった。

D. 考察

本症例は、種痘様水疱症、蚊刺過敏症で始まり、EBV 感染 T 細胞増殖症から悪性リンパ腫を発症した症例である。本症例の蚊刺過敏症の特徴として、①比較的典型的な蚊刺過敏症を呈していたにもかかわらず、EBV の局在が NK 細胞ではなく、CD4 陽性 T 細胞であった点、②ヒトスジシマカではなく、アカイエカに過敏症がみられた点、③皮膚病巣に対してステロイド全身投与の効果が乏しく、シクロスポリンが奏効した点が挙げられる。シクロスポリンが効いた理由として、本症例は EBV 感染細胞が NK 細胞ではなく T 細胞であったことから、T 細胞に選択的に働くシクロスポリンが奏効したのではないかと考えられる。本症例は発症から 5 年以上の期間、免疫抑制療法を主体とした対象療法でコントロールできていたが、最終的に悪性リンパ腫に進展した。悪性リンパ腫を発症する前後で、末梢血単核球中の EBV DNA のコピー数や増殖リンパ球の表面マーカーには明らかな変化はみられず、免疫抑制療法に対する治療抵抗性と皮膚病変の組織像が悪性化を判断する手がかりとなった。今後、症例の蓄積により悪性リンパ腫への移行を早期に予測するためのマーカーを明らかにしてゆくことが重要な課題であると考えられる。

E. 結論

自験例では、蚊刺過敏症発症から悪性リンパ腫への移行を判断する上で、皮膚病変の免疫抑制薬に対する反応性と浸潤細胞の異型性が手掛かりとなった。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Miyagawa F, Iioka H, Fukumoto T, Kobayashi N, Asada H: A case of CD8+ primary cutaneous peripheral T-cell lymphoma arising from tissue-resident memory T (TRM) cells in the skin. Br J Dermatol, 173(2):612-4, 2015
2. 浅田秀夫：ウイルス感染症の検査と診断（小児皮膚アトラス Special Review). 皮膚科の臨床57(6), 674-80, 2015
3. 浅田秀夫：EBウイルス感染症(特集：見てわかる小児の皮膚疾患). 小児科診療78(11), 1634-8, 2015

2. 学会発表

1. 浅田秀夫. 皮膚科領域のヘルペスウイルス感染症－最近の話題を中心に. 第80回 日本皮膚科学会山梨地方会（甲府市）2015年4月4日

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

慢性活動性 EB ウイルス感染症とその類縁疾患の診療ガイドライン作成と患者レジストリの作成

EB ウイルス関連血球貪食症候群診療における EBV-DNA 定量と感染細胞同定の意義

研究分担者	大賀 正一	山口大学大学院医学系研究科・小児科学	教授
研究協力者	東 良紘	山口大学大学院医学系研究科・小児科学	診療助教
	市村 卓也	同・小児科学	助教
	湯尻 俊昭	同・病態制御内科学	准教授
	保科 隆之	産業医科大学小児科	講師

研究要旨：慢性活動性 Epstein-Barr ウイルス（EBV）感染症（CAEBV）との鑑別を必要とする EBV 関連血球貪食症候群/血球貪食性リンパ組織球症（HLH）の診療ガイドライン作成にむけて、患者の EBV-DNA 量と感染細胞を同定し、治療反応性を検討した。成人発症の初感染 T 細胞感染型の EBV-HLH 例は極めて重症であったが、etoposide が奏効し造血細胞移植を行わずに軽快した。小児期発症初感染型の EBV-HLH の 2 例も etoposide を使用せず、 γ グロブリンかつ/またはステロイド療法で軽快し再燃はなかった。このうち 1 例は急性リンパ性白血病の治療中に発症し T 細胞には感染していない EBV-HLH であった。短期ステロイド療法のみで軽快し、白血病治療を継続して HLH も白血病も再燃・再発はない。急性リンパ性白血病治療中の EBV 初感染は稀だが、既報告例はすべて感染細胞の同定がされておらず化学療法後に死亡している。初感染 EBV-HLH 症例における感染細胞の同定は、治療戦略の決定において臨床的意義が高いと考えられる。

A. 研究目的

血球貪食症候群/血球貪食性リンパ組織球症（EBV-HLH）は慢性活動性 EB ウイルス感染症（CAEBV）との鑑別が困難であり、WHO 造血器腫瘍分類 2008 では小児全身性 EBV 陽性 T 細胞リンパ増殖症に分類される。基礎疾患なければ、わが国の小児 EBV-HLH は、初感染 T 細胞型が多く重症型でも根治には必ずしも同種造血細胞移植を必要としない。EBV-HLH 患者の治療法決定における感染細胞同定の意義を検討した。

B. 研究方法

山口大学と産業医科大学で経験した EBV-HLH 例について検討した。EBV-HLH は、HLH2004 の診断基準を満たし、末梢血に EBV-DNA が検出され、かつ既知の免疫不全症と CAEBV を除いた例とした。CAEBV の診断には EBV 感染症研究会の診断基準を用いた。感染細胞の同定は、MACS ビーズを用いて純化した細胞より抽出した DNA を用いて、EBV-DNA を real-time PCR 法により定量した（山口大学小児科、成育医療センター 今留謙一先生）。

（倫理面への配慮）

遺伝性 HLH を含む遺伝子解析は倫理委員会の承認をうけ、対象患者とその家族に同意書を取得して行い必要に応じて、遺伝カウンセリングを行った。

C. 研究結果

1) 基礎疾患のない EBV-HLH

小児期発症初感染 EBV-HLH の 1 例は高用量 γ グロブリン療法で速やかに軽快した。19 歳の重症 EBV-HLH は VP16 に反応したものの再燃し、VP16 を繰り返して寛解を得た。初回 VP16 後の骨髄は無～低形成ながら、残存細胞の約 30% に EBER 陽性細胞を確認した。寛解後は CD8 陽性細胞の EBV-DNA 量が感度限界（40copy/ μ gDNA）となった。基礎疾患のない初感染 T 細胞型としてその後造血細胞移植は行わず、観察しているが再燃はない。

2) 基礎疾患のある EBV-HLH

B 前駆細胞性急性リンパ性白血病の標準リスク群と診断し、寛解導入療法を開始した 2 歳男児。初診時の EBV は未感染パターンであった。早期強化療法開始 31 日目から 38℃ を超える発熱が持続した。WBC 300/ μ L と骨髄抑制の状態であり、発熱性好中球減少症と判断し、抗菌薬、抗真菌剤、G-CSF、ガンマグロブリン製剤を開始したが解熱せず、Day34 から頸部リンパ節腫脹、鼻閉、肝脾腫が出現した。Day41 の骨髄検査では骨髄は低形成であり、血球貪食像を認めた。同時期に提出した EBV-DNA PCR 定量（ 3.6×10^4 コピー）、血清フェリチン（20,306 ng/mL）、可溶性 IL-2 受容体（2,480 U/mL）が高値であったことから EBV 感染に伴う HLH と診断した。

T細胞分画のEBV-DNAは感度未満であった。Day44からPSL 1mg/kg/dayの投与を開始したところ速やかに解熱し、血球も回復した。以後、EBVの再活性化をきたすことなく経過し、維持療法を継続中である。

既報告のALL治療中に発症したEBV-HLH3例の感染細胞はいずれも確認されていないが、転帰は死亡であった(表1)。

表 1. ALL治療中に発症したEBV-HLHの報告例

患者	性	年齢 (歳)	ALLの病型	EBV感染時の ALL治療相	EBV-HLHの治療	転帰	報告年
1	M	9	不明	再寛解導入 ^{*1}	PSL	死亡	1981
2	M	5	pre-cortical T-ALL	維持療法	PSL, vinblastine cyclophosphamide	死亡	2005
3	M	9	pre B-ALL	維持療法	DEX, CsA, etoposide	死亡	2006
4	M	2	pre B-ALL	寛解導入	PSL	生存	本例

^{*1} 患児は完全寛解30か月後に左精巣再発を来した。

D. 考察

B細胞が著減するALL治療中にはEBV初感染はまれであるが、EBV-HLHを発症したときには初感染かどうか、また感染細胞を確認することが治療選択に重要である。過剰な化学治療には注意が必要である。

E. 結論

EBVの感染時期と感染細胞の同定がEBV-HLHの治療方針決定には重要な情報となる。。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Okada S, Hasegawa S, Suzuki Y, Matsubara T, Shimomura M, Okuda M, Ichiyama T, Ohga S: Acute pericardial effusion representing the TNF- α -mediated severe inflammation but not the coronary artery outcome of Kawasaki disease. Scand J Rheumatol 44(3):247-252, 2015
- 2) Maeba S, Hasegawa S, Shimomura M, Ichimura T, Takahashi K, Motoyama M, Fukunaga S, Ito Y, Ichiyama T, Ohga S: Successful treatment of corticosteroid with antiviral therapy for a neonatal liver failure with disseminated herpes simplex virus infection. Am J Perinatol Reports 5(2):e089-092, 2015
- 3) Hoshina T, Ohga S, Fujiyoshi J, Nanishi E, Takimoto T, Kanno S, Nishio H, Saito M, Akeda Y, Oishi K, Hara T: Memory B-cell pools predict the immune response to pneumococcal conjugate vaccine in immunocompromised children. J Infect Dis 213(5):848-855, 2016
- 4) 今留謙一、藤原成悦、大賀正一: EBV関連リンパ増殖性疾患—疾患概念と病態解析研究—。血液内科 71巻2号 187-193, 2015
- 5) 大賀正一: 第II部各論(疾患)第1章 血液・造

血器疾患. C 免疫異常 1 原発性免疫不全症 d 免疫調節障害: 血球貪食症候群など. 小児血液・腫瘍学 pp. 414-416, 診断と治療社 2015

6) 東良紘、大賀正一: EBウイルス〜EBウイルス感染症が関与する免疫異常〜。日本臨床別冊「免疫症候群(第2版)II-その他の免疫疾患を含めて」 pp. 721-726, 日本臨床社 2016

2. 学会発表

- 1) 大賀正一: シンポジウム: CAEBV診療ガイドライン作成にあたって. EBV-HLH診療-アルゴリズムの提案. 第24回EBウイルス感染症研究会, 2015年3月15日, 東京
- 2) 大賀正一: 難治性EBウイルス感染症とその遺伝的背景. 第37回近畿小児血液・がん研究会教育セミナー講演 2015年2月14日, 京都
- 3) 大賀正一: EBウイルスとその関連疾患. 小野田医師会学術講演会 特別講演, 2015年1月21日, 小野田
- 4) 石井榮一, 渡邊智之, 中沢洋三, 今村俊彦, 金兼弘和, 柳沢龍, 細谷要介, 森谷邦彦, 鬼頭敏幸, 中川慎一郎, 土居岳彦, 大賀正一, 塩田曜子, 工藤寿子, 森本哲. 日本におけるHLH-2004プロトコールによる血球貪食性リンパ組織球症の治療成績. 第57回日本小児血液・がん学会学術集会, 2015年11月27-29日, 甲府
- 5) 木村献, 長谷川俊史, 前場進治, 元山将, 市村卓也, 下村麻衣子, 高橋一雅, 福永真之介, 大賀正一: 早期のステロイドパルスと抗ウイルス療法が奏功した全身型単純ヘルペス感染症の新生児例. 第57回日本小児血液・がん学会学術集会, 2015年11月27-29日, 甲府
- 6) Yoshinori Tanaka, Akiko Sugiyama, Toshiaki Yujiri, Mayumi Tanaka, Yukinori Nakamura, Mari Ohtsuji, Ryousuke Tsuruta, Shouichi Ohga, Yukio Tanizawa: Treatment of EBV-HLH in a young adult: a case report. 第77回日本血液学会学術集会 教育講演, 2015年10月16-18日, 金沢.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

- 1. 特許取得 なし
- 2. 実用新案登録 なし
- 3. その他 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

慢性活動性 EB ウイルス感染症とその類縁疾患に対する
治療戦略のエビデンス創造に関する研究

研究分担者 氏名：澤田明久

所属：大阪府立母子保健総合医療センター 職名：血液・腫瘍科，副部長

研究要旨

本疾患に対し，3ステップ（原病の鎮静，抑制，根絶）からなる治療プロトコルで対応してきた．しかし2015年の症例4例のうち，3例は治療抵抗性で，別プログラムの緊急対応を必要とした．全例に造血細胞移植 HSCT を施行できたが，病状不安定な3例は最終的に重篤な高サイトカイン血症（フレア）に陥り永眠された．治療プロトコルから外れる症例をいかに救命するかは未解決の大きな課題である．

A. 研究目的

慢性活動性 EB ウイルス（EBV）感染症（CAEBV）およびその類縁疾患に確立された治療法は無く，治療法の確立のため当センターでは一貫した戦略に基づいて治療している．また治療抵抗性の高サイトカイン血症（フレア）などに対しては別プログラムの緊急対応を確立する必要がある．

B. 研究方法

治療法として3ステップからなるプロトコルを用いている．すなわちステップ1：免疫化学療法による原病の鎮静，ステップ2：多剤併用化学療法により原病の抑制，ステップ3：同種造血幹細胞移植（HSCT）による原病の根絶と造血・免疫能の再構築である．しかしフレアに対しては緊急 HSCT へ早急に移行する必要がある．（倫理面への配慮）

研究試料の採取，および造血幹細胞移植の施行にあたっては，文書による同意を得ている．

C. 研究結果

2015年の症例は4例．うち初感染 EBV-HLH は2例，CAEBV は2例であった．CAEBV の1例（A）は計画的に同種臍帯血移植（CBT）まで施行でき，現在無病生存中である．しかし他の3例は原病がコントロールできず，同種 HSCT に漕ぎつけたものの最終的には死亡された．

D. 考察

死亡例3例のうち1例（B）は8年間治療を忌避されてきた CAEBV 例であった．EBV 感染 T 細胞（EBV+T）の腹部臓器浸潤が高度で，巨大動脈瘤破裂，反復性膵炎のため全身状態が安定せず，緊急 CBT を施行するもフレアによる多臓器不全となった．原病が制御できる間に HSCT すべきである．

残り2例は制御不能の初感染 EBV-HLH で，1例（C）は移植後に病勢を一旦は安定させることに成功したが，フレアが再燃して多臓器不全に至った．1例（D）は移植前からフレアによる多臓器不全が進行しており，

移植後早期に亡くなられた。

移植前の全身状態は、HSCT の成否に大きく関わる。A のように安定期のうちに治療を完遂できることが理想であるが、B は自らの人生観を貫かれたのかも知れない。一方、病初期から制御不能の初感染 EBV-HLH は、HSCT が奏効する場合もあるが、C の奏効は一過性、D は進行性であり、決して予後は良くない。

E. 結論

治療プロトコールから外れる症例をいかに救命するかは未解決の大きな課題であり、個々の症例で可能性を追求している現状である。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

- 樋口紘平, 五百井彩, 眞弓あずさ, ほか.
化学療法忌避のため8年間対症療法で経過観察された慢性活動性 EB ウイルス感染症の1例. 日本小児血液・がん学会総会 2015; 266. 抄録番号 P37-3-4. 山梨. 2015 年 11 月 29 日.
- Mariko Shimizu, Akihisa Sawada, Maho Sato, et al. Six cases of late-onset EBV-associated PTL. 日本血液学会総会 2015; 1513. 抄録番号 OS-3-45. 石川. 2015 年 10 月 18 日.
- Akihisa Sawada, Current Understanding and Management of Chronic Active Epstein-Barr Virus Infection. The 2nd China International Forum of Pediatric Development. Beijing, China.

2015 年 10 月 11 日.

- 眞弓あずさ, 澤田明久, 佐藤真穂, ほか.
慢性 EBV 関連 T/NK 細胞リンパ増殖症に対する臍帯血移植における最適な前処置法. 日本造血細胞移植学会総会 2015; 203. 抄録番号 09-2. 兵庫. 2015 年 3 月 6 日.
- 五百井彩, 佐藤真穂, 眞弓あずさ, ほか.
慢性活動性 EB ウイルス感染症による重症血球貪食症候群に対し緊急 PBSCT が奏効した1例. 日本造血細胞移植学会総会 2015; 252. 抄録番号 P5-71. 兵庫. 2015 年 3 月 6 日.

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

慢性活動性 EB ウイルス感染症とその類縁疾患の
診療ガイドライン作成と患者レジストリの構築

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

Epstein-Barr virus (EBV) は B 細胞のみならず、T 細胞や NK 細胞腫瘍にもそのゲノムを認め、腫瘍発症に関与すると考えられるが、その分子機序は明らかになっていない。本研究助成金により EBV 陽性 T/NK リンパ増殖症 (EBV-positive T/NK lymphoproliferative diseases; EBV-T/NK-LPDs；慢性活動性 EB ウイルス感染症、蚊刺過敏症、種痘様水疱症を含む) の予後を改善し、より有効な診断、治療法を確立するため、以下の 3 項目を遂行し、以下の結果を得た。

診療ガイドラインは今後検証を受けたのちに公表し、よりよい診療へとつなげていく。また研究結果をもとに、より有効な治療法の開発を今後も行っていく。

1) EBV 関連疾患診療ガイドラインの作成：CAEBV に対し、適切な治療介入時期はいつか、および予後予測因子は何か、また EBV 陽性血球貪食性リンパ組織球症の適切な治療介入時期はいつか、について、抽出された文献をもとに解説および推奨コメントを作成した。

2) EBV-T/NK-LPDs 成人例に対する造血幹細胞移植の効果の検討：東京医科歯科大学血液内科で同種造血幹細胞移植を施行した全 13 例を後方視的に解析し、小児を中心とした既報と比較し生存率が低いこと、前処置開始時の疾患活動性および sIL2R 値、さらに移植後 1 か月内の末梢血中 EBV DNA 量の陰性化が予後と相関することを見出した。

3) EBV-T/NK-LPDs と P-glycoprotein (P-gp) 発現：EBV-T/NK-LPDs の EBV 感染腫瘍細胞は薬剤耐性に関与する分子 P-gp が強く発現し、薬剤排出能を示すことを見出した。さらに P-gp の阻害剤 Cyclosporin A 処理により Etoposide による apoptosis 誘導は亢進することが示された。以上から P-gp は EBV-T/NK-LPDs の化学療法耐性の原因のひとつであることが示された。

A. 研究目的

慢性活動性 Epstein-Barr ウイルス (EBV) ウイルス感染症 (CAEBV) は、発熱、肝機能障害、リンパ節腫脹などの持続する炎症症状を示す疾患であるが、EB ウイルスに感染した T もしくは NK 細胞のクローン性増殖を伴う事が近年明らかになり、2008 年度版 WHO 造血器腫瘍分類ではリンパ腫のひとつ、EBV-positive T/NK lymphoproliferative

diseases (EBV-T/NK-LPDs) として記載された。疾患の周知に従い、近年報告は増加しているが、その診断、病態把握、そして治療は一般には非常に難しい。有効な薬物治療も確立されてはおらず、日常診療の場で生じる多くの問題点についての適切な指針（診療ガイドライン）の作成が強く望まれていた。本研究では、これらを解析、解決するために、以下を行った。

① **診療ガイドラインの作成**：研究班にて立案されたクリニカルクエスチョンのうち、CAEBV に対する治療介入時期および予後因子、また EBV 陽性血球貪食性リンパ組織球症に対し治療介入時期を担当し、抽出された文献をもとに推奨コメントを作成した。

② **EBV-T/NK-LPDs 成人例に対する造血幹細胞移植成績の後方視的解析**：東京医科歯科大学血液内科で同種造血幹細胞移植を行った EBV-T/NK-LPDs 成人例を後方視的に解析しその予後と予後に関与する因子を検討した。

③ **EBV-T/NK-LPDs と MDR1 発現**：EBV-T/NK-LPDs の化学療法抵抗性の原因について、薬剤耐性に関与する分子のひとつ、P-glycoprotein (P-gp) に注目し、その発現量、機能を患者の細胞を用いて解析した。

B. 研究方法

① **診療ガイドラインの作成**：Minds ガイドライン作成マニュアルに基づいて作成した。具体的には、本研究班にて立案されたクリニカルクエスチョンに対し、関連する文献を 2015 年 10 月までの期間、Pubmed、医中誌などを用いてあるいはハンドサーチより抽出し、それらに対するエビデンスレベルに基づいた推奨を作成した。

② **EBV-T/NK-LPDs 成人例に対する造血幹細胞移植成績の後方視的解析**：2008 年から 2014 年に当施設で allo-HSCT を施行した 13 例の経過を後方視的に解析した。

③ **EBV-T/NK-LPDs と MDR1 発現**：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 EBV-T/NK-LPDs 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 細胞腫瘍株を用いた。それらにおける P-gp の発現を RNA (RT-PCR) および蛋白

(Western blotting) レベルで確認した。また P-gp の薬剤排出機能を Rhodamine efflux assay で検討した。対照には、EBV 陽性 B 細胞リンパ腫細胞株、EBV 陰性 T および NK 細胞腫瘍株を用いた。また、これらの細胞に対し P-gp 阻害剤 Cyclosporin A (CsA) を用いて Etoposide に対する apoptosis の変化を検討した。

(倫理面への配慮)

②③の研究は東京医科歯科大学倫理委員会及び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得て施行した。

C. 研究結果

① **EBV 関連疾患診療ガイドラインの作成**：CAEBV に対する治療介入時期：感染細胞の表現型やクローナリティは、CAEBV 診断後の治療介入の判断に有用は明らかではない。

CAEBV の予後因子：肝障害、発症年齢 (8 歳以上) は予後不良因子である。しかし、治療方針決定に有用か否かは明らかでない。

EBV 陽性血球貪食性リンパ組織球症に対し治療介入時期：EBV-HLH の診断、治療選択に際して感染細胞の表現型の解析、クローナリティの解析の有用性は明らかでない。

以上の推奨コメントを作成した。

② **EBV-T/NK-LPDs 成人例に対する造血幹細胞移植の効果の検討**：患者は 20 歳から 64 歳、女性 7 例、男性 6 例。非血縁骨髄 11 例、臍帯血 2 例で 1 例は両者を施行、血縁骨髄 1 例に施行した。骨髄移植例中 HLA 型は 7 例で全一致、2 例で DR1 アリル、2 例で A1 座、1 例で A1 アリル Cw1 座不一致。前処置は Flu + Mel に加え 3 例で TBI、6 例で ATG、4 例で両者を追加した。6 か月以上生存した例は 8 例で、全例で移植後 1 か月以内に末梢血中 EBV-DNA が $10^{2.5}$ コピー/ μ gDNA 未満となり

完全寛解と判定した。Grade1、2の急性GVHDを4例、PTLDを3例が発症したが全例Rituximabが著効した。2例が進行、1例が敗血症で死亡した。3年無病生存率および全生存率が53.8%および61.5%であり、小児を中心とした報告例（54.5%、95.0% Kawa et al. BMT, 2011,46, p77）に比べ生存率が低かった。前処置開始時の疾患活動性およびsIL2R値、さらに移植後1か月内の末梢血中EBV DNA量の陰性化が予後と関連することを見出した。（文献7）

③ EBV-T/NK-LPDs と MDR1 発現：EBV-T/NK-LPDs EBV陽性T/NK細胞株および12例のEBV-T/NK-LPDs患者細胞でP-gpが強く発現し、薬剤排出機能を示すことを見出した。以上はコントロール細胞では認められなかった。さらにP-gpの阻害因子CsAによりこれらの細胞でEtoposideによるapoptosis誘導は亢進することが示された。以上からP-gpはEBV-T/NK-LPDsの化学療法耐性に寄与することが示された。（文献4）

D. 考察

① 診療ガイドラインの作成：今後パブリックコメントを募ったのちに監査を受け、公表を予定している。広く診療に役立つことが望まれる。エビデンスが少ないことが明らかになった。少しでも多くのエビデンスを積み上げる必要性がある。

② EBV-T/NK-LPDs 成人例に対する造血幹細胞移植の効果の検討：小児と比較し成人は罹病期間が長く、疾患悪性度がより増していることが予後不良の原因と予測された。診断後より早い時期に、疾患活動性を制御した状態での移植が望まれ、そのための治療法の開発が望まれる。

③ EBV-T/NK-LPDs と MDR1 発現：EBV-T/NK-LPDsの治療抵抗性は、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。

E. 結論

成人EBV陽性T/NKリンパ増殖症へのallo-HSCTは有効であるが移植前の病勢コントロールが必要である。有効な薬物治療の開発は急務であるがP-gpはその分子標的の一つとして注目される。

F. 健康危険情報 なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

原著論文

英文

1) 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. Intern Med. 2015;54(1):69-73. doi: 10.2169/internalmedicine.54.3173. Epub 2015 Jan 1.

2) Jinta M, Imadome K, Komatsu H, Yoshimori M, Kurata M, Fujiwara S, Miura O, Arai A. L-Asparaginase monotherapy for EBV-positive T/NK lymphoproliferative diseases: A pilot Study. Journal of Medical and Dental Sciences, 2015 Mar 30;62(1):1-9. doi: 10.11480/620101.

3) Hirokawa M, Sawada K, Fujisima N, Teramura M, Bessho M, Dan K, Tsurumi H, Nakao S, Urabe

A, Fujisawa S, Yonemura Y, Kawano F, Oshimi K, Sugimoto K, Matsuda A, Karasawa M, Arai A, Komatsu N, Harigae H, Omine M, Ozawa K, Kurokawa M for the PRCA Collaborative Study Group.

Long-term outcome of patients with acquired chronic pure red cell aplasia following immunosuppressive therapy: a final report of the nationwide cohort study 2004/2006 by the Japan PRCA collaborative study group

Br J Haematol. 2015 Jun;169(6):879-86. doi: 10.1111/bjh.13376. Epub 2015 Mar 25.

4) Yoshimori M, Takada H, Imadome K, Kurata M, Yamamoto K, Koyama T, Shimizu N, Fujiwara S, Miura O, Arai A.

P-glycoprotein is expressed and causes resistance to chemotherapy in EBV-positive T-cell lymphoproliferative diseases.

Cancer Med. 2015 Oct;4(10):1494-504. doi: 10.1002/cam4.494. Epub 2015 Jul 8.

5) Kudo D, Ohashi K, Komeno K, Nakamura Y, Shinagawa A, Yoshida C, Katsura Y, Ota I, Kakihana K, Kobayashi T, Kawai N, Kato A, Arai A, Yamamoto K, Toyota S, Kumagai T, Ohwada A, Miki T, Hori M, Okoshi Y, Kojima H, and Sakamaki H.

Efficacy and safety of bortezomib-containing induction chemotherapy for autologous stem cell transplantation-eligible Japanese multiple myeloma patients -A phase 2 multicenter trial- International Journal of Myeloma 5(3): 12-22, 2015

6) Yui S, Yamaguchi H, Imadome K, Arai A, Takahashi M, Ohashi R, Asayama T, Kondo A, Moriya K, Nakayama K, Dan K, Shimizu S, Inokuchi K.

Epstein-Barr virus positive T cell lymphoproliferative disease following cord blood transplantation for acute myelogenous leukemia

The Journal of Nippon Medical School, 2016

7) Arai A, Sakashita C, Hirose C, Imadome K, Yamamoto M, Jinta M, Fujiwara S, Tomita M, Shimizu N, Morio T, and Miura O.

Hematopoietic stem cell transplantation for adults with EBV-positive T- or NK-cell lymphoproliferative disorders: efficacy and predictive markers.

Bone Marrow Transplantation, 2016

総説

1) 新井文子

Epstein-Barr virus によるリンパ系腫瘍発症分子機構

臨床血液 2015;56(3):269-77. doi: 10.11406/rinketsu.56.269.

2) 新井文子

EBV 陽性 T,NK リンパ増殖症発症機構
Intensivist, 7(2) 357-362, 2015

3) 新井文子

EBV 陽性 T,NK リンパ増殖症発症機構
日本臨床 3 Suppl 8 55-59, 2015

4) 新井文子

Epstein-Barr virus と Burkitt リンパ腫

Ayako Arai

Epstein-Barr virus and Burkitt lymphoma
血液内科 71 (2):214-219, 2015

書籍

1) 新井文子

伝染性単核球症

血液研修ノート 永井良三 監修

診断と治療社, 2016

2. 学会発表

国内学会

1) 小松穂菜実、今留謙一、柴山春奈、矢田知隆、山田桃子、山本浩平、小山高敏、藤原成悦、三浦修、新井文子. EBV 陽性 T,NK リンパ増殖症における STAT3 の恒常的活性化とその意義. 第 24 回 EBV 感染症研究会.

東京. 2015 年 3 月 15 日

- 2) 高橋 洋如、高瀬 博、寺田 裕紀子、鴨居 功樹、新井 文子、大野 京子. 両眼性汎ぶどう膜炎症状を呈した EB ウイルス陽性 T リンパ増殖症の 2 例. 第 119 回日本眼科学会総会. 札幌. 2015 年 4 月 16 日
- 3) 今井 彩乃、高瀬 博、松田 剛、今留 謙一、大西 威一郎、鴨居 功樹、望月 學、大野 京子、新井 文子. 脳病変より節外性 NK/T 細胞リンパ腫と確定診断された EB ウイルス陽性ぶどう膜炎の 1 例. 第 49 回日本眼炎症学会. 大阪. 2015 年 7 月 15 日
- 4) 新井文子. MLL-AF9 遺伝子転座を伴う難治性の乳腺原発骨髓肉腫の一例. 第 3 回日本血液学会関東地方会. 東京. 2015 年 3 月 21 日
- 5) 新井文子. 第 3 回日本血液学会関東地方会. つくば. 2015 年 7 月 4 日
- 6) 新井文子、高瀬博、山本浩平、秋山弘樹、望月學、三浦修. 原発性硝子体網膜リンパ腫の遺伝子発現プロファイリング. 第 77 回日本血液学会総会. 金沢 2015 年 10 月 17 日

国際学会

- 1) Makoto Arai, Ayako Arai, Shun-ichiro Izumi
Postgraduate education in Kampo (traditional Japanese) medicine: A current survey of clinical training hospitals
An International Association of Medical Education (AMEE) Sep.8.2015 Glasgow

- 2) Akira Toriihara, Reiko Nakajima, Ayako Arai, Masashi Nakadate, Koichiro Abe, Kazunori Kubota, Ukihide Tateishi
FDG-PET/CT of Epstein-Barr virus-related lymphoproliferative disorders: knowledge for rapid and appropriate diagnosis.
102nd Scientific Assembly and Annual Meeting of Radiological Society of North America, Chicago, Nov 29- Dec 4 2015.
- 3) Ayako Arai, Hiroshi Takase, Kouhei Yamamoto, Hiroki Akiyama, Manabu Mochizuki, Osamu Miura
Gene expression profiling of primary vitreoretinal lymphoma
57th ASH Annual Meeting and Exposition Dec.5. 2015. Orlando

H. 知的財産権の出願・取得状況
なし。