

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 EBV 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に関する研究

研究分担者：谷内江昭宏 金沢大学医薬保健研究域医学系 教授

**研究要旨**

慢性活動性 EBV 感染症とその類縁疾患の診療ガイドラインを作成するにあたり、個々の疾患の病態を明確に理解し、診断指標を提示することも重要な作業となる。本研究では、EBV-HLH における特異な病態、高サイトカイン血症と血球貪食、さらに合併する多臓器障害の発症機序を明らかにする目的で、炎症病態の解析を行った。強い HLH 病態では、EBV 感染 CD8<sup>+</sup> T 細胞クローンの活性化と増殖に伴い、sTNF-Rs 中でも sTNF-RII の著しい高値が観察された。このような特徴は、溶血性尿毒症性症候群や重症細菌感染症で見られる炎症病態とは異なるものであり、lymphohistiocytosis の特徴を反映していると考えられた。これららの解析が EBV-HLH の早期診断の一助となることが期待された。

**A. 研究目的**

本研究班における診療ガイドライン作成と患者レジストリの構築に関する研究に資する目的で、類縁疾患である EBV 関連リンパ組織球症 (EBV-HLH) の早期診断と病態評価の方法について検討する。

**B. 研究方法**

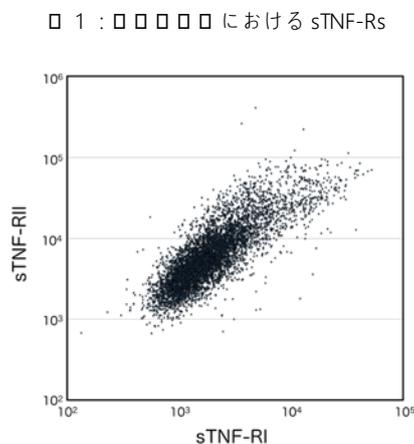
対象：EBV-HLH が疑われ、病態評価ならびに感染細胞の同定を依頼された症例 38 例を対象とした。疾患対照として、伝染性単核症 18 例、溶血性尿毒症性症候群 (HUS) 15 例、重症細菌感染症 17 例を対象とした。正常対照として、発熱や一般検査所見での炎症所見を認めない 128 例を用いた。

方法：血清 sTNF-RI、sTNF-RII は ELISA 法により定量した。それぞれの濃度を二次

元プロット表示し、その分布パターンの特徴を病態毎に比較した。さらに、sTNF-RII/RI 比率を症例間で比較検討した。

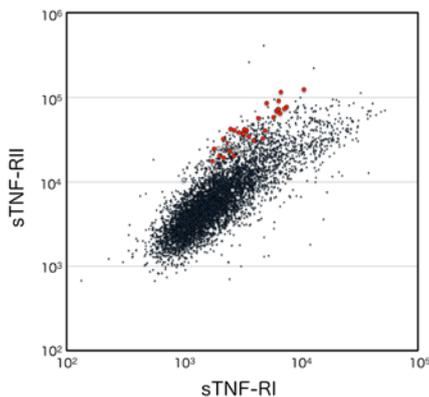
**C. 研究結果**

今回対象とした症例を含む、当研究室で検索対象とした炎症性病態を示す全 5,500 検体の sTNF-RII と sTNF-RI のプロットデータを作成した (図 1)。



EBV 感染症急性期における sTNF-Rs の分布を抽出して追加したものを図 2 に示す。伝染性単核症（白○）、EBV-HLH（赤○）のいずれにおいても、他の炎症性疾患とは異なり sTNF-RII が明らかな高値を示した。

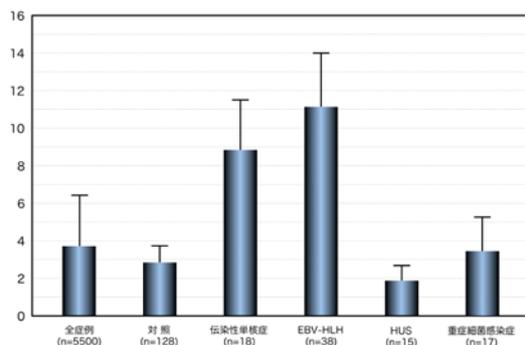
図 2 : EBV 感染症急性期における sTNF-Rs の分布



以上の検討から、EBV-HLH のような強いリンパ球・組織球の活性化や増殖を伴う炎症病態では sTNF-RII 優位のパターンが認められる可能性が示唆された。そこで、次に sTNF-RII/RI 比率を算定して、疾患による特徴を比較検討した。検討対象としては、正常対照、伝染性単核症、EBV-HLH に加えて、HUS ならびに重症細菌感染症などのいずれも強い炎症性サイトカイン産生を特徴とする疾患である。

正常対照に比べ、伝染性単核症や EBV-HLH では明らかに sTNF-RII 優位の炎症病態が特徴的であり、一方 HUS や重症細菌感染症ではこのような特徴は全く認められなかった（図 3）。

図 3 : 各疾患における sTNF-RII/RI 比率



EBV-HLH 症例では、治療介入による症状緩和とともに、sTNF-RII/RI 比率は正常対照と同レベルに低下した（データ示さず）。

#### D. 考察

可溶性 TNF 受容体 (sTNF-Rs) の由来は多様な細胞であるとされている。一方、sTNF-RI が生体内の全ての細胞に由来するのに対して、sTNF-RII は主にリンパ球・組織球に由来すると考えられている。したがって、リンパ球・組織球の強い活性化や増殖を伴う病態、HLH や MAS などでは、sTNF-Rs の増加とともに RII/RI 比率の偏りが観察されることが予想された。一方で、HUS や細菌感染症などでは、リンパ球の活性化や増殖を伴わず、このような偏りが認められないことが推測される。今回の検討では、典型的なリンパ増殖性疾患である伝染性単核症や EBV-HLH で RII/RI 比率の著しい増加が起こることが明らかとなった。またこのような特徴は病態と密接に関連して変動することも確認された。この結果から、血清サイトカインの中でも sTNF-Rs の分布が、炎症病態の正確な評価指標として、さらに治療反応性を見るための評価指標として有用であることが示唆された。

#### E. 結論

EBV-HLH ならびに関連疾患の病態評価のため sTNF-Rs の定量が有用であることが確認された。

#### F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Takamatsu H, Araki R, Nishimura R, Yachie A, Espinoza JL, Okumura H, Yoshida T, Kuzushima. Epstein-Barr virus-associated leukemic lymphoma after allogeneic stem cell transplantation. J Clin Virol. 2016; 80: 82-86.

### 2.学会発表

1. 東馬智子、松田祐介、村岡正裕、白橋徹志郎、榎暁子、岡本浩之、和田泰三、谷内江昭宏. 急性 EBV 感染症における血中可溶性 TNF 受容体濃度の検討. 第 48 回日本小児感染症学会 岡山. 2016 年 11 月 20 日

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

c-Myc 転座を有する EB ウイルス感染細胞における EBNA2 による細胞表面 IgG  
および c-Myc 発現の抑制に関する研究

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**

EB ウイルス (EBV) によるリンパ球増殖で重要な役割を果たす EBNA2 をバーキットリンパ腫 Akata 細胞に発現させるとその増殖が抑制されることを以前見出した。そのメカニズムを探るために EBNA2 発現後の細胞表面 IgG 遺伝子と c-Myc 遺伝子の発現を解析した。その結果、EBNA2 発現により c-Myc の発現が一過性に抑制されることが示され、このことが増殖抑制の引き金となる可能性があると考えられた。

**A. 研究目的**

EB ウイルス (EBV) がコードする核蛋白質の一つ EBNA2 は、このウイルスによるリンパ球不死化に必須の転写因子であり、不死化に関わる多くの EBV 遺伝子と細胞遺伝子の転写を活性化する。EBNA2 による転写活性化には、細胞蛋白質 RBP-J $\kappa$  との結合を介するものと、介さないものの二つの機構が知られている。我々はバーキットリンパ腫由来株細胞 Akata に EBNA2 を強発現させると潜在 EBV の複製サイクルが誘発されること、またこれとは独立に細胞増殖が抑制されることを、テトラサイクリン (tet) 制御発現ベクターを用いて示してきた。今回は EBNA2 のこれらの作用のメカニズムを知ることが目的として、EBNA2 発現後の細胞遺伝子発現の変化を解析した。

**B. 研究方法**

tet 制御下で野生型および RBP-J $\kappa$  結合

部位欠損 EBNA2 を発現させる 2 種類のプラスミド ( pTet-SGE2 と pTet-SGE2 (del. 248-382) ) を作製し、EBV 陽性および陰性の Akata 細胞に導入した。EBNA2 の過剰発現をさけるため、tet を除去したのち再添加することにより発現量を調節した。Akata 細胞の表面 IgG は flow cytometry 法、c-Myc 蛋白質はウエスタンブロット法で検出した。

(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**

**1. tet 再添加による EBNA2 発現量の調整**

tet を一旦培養液から除去した後 12~24 時間後に再添加し、EBV 感染細胞と同レベルの EBNA2 を数日間発現させることができた。以下の実験ではこの条件で EBNA2 発現を誘導した。

## 2. EBNA2 による細胞表面 IgG 発現の抑制

Tet を除去し野生型 EBNA2 を発現させると 24 時間後に IgG 発現が著減したが、48 時間後にはほぼ回復した (図 1)。RBP-J $\kappa$  結合部位 (248-382) を欠損する EBNA2 を発現させた場合は上記の IgG 発現の変化を誘導しなかった (図 1)。陰性対照として EBNA1 を発現させた場合も IgG 発現の抑制は認められなかった (図 1)。

## 3. EBNA2 による c-Myc 発現の抑制

IgG 発現の抑制に伴い c-Myc 蛋白質のレベルも 24 時間で低下し 48 時間で回復した (図 2)。

## D. 考察

EBNA2 により IgM 発現が抑制されること、また染色体転座により Ig 重鎖遺伝子エンハンサーの支配下にある c-myc も転写が抑制されることがすでに報告されている。今回の実験により、この現象が IgG についても確認され、EBNA2 発現が継続しているにも関わらず一過性であること、さらに RBP-J $\kappa$  との結合を介することが示された。Akata 細胞の増殖は Ig 重鎖遺伝子との相互転座による c-Myc の過剰発現に依存すると考えられるため、EBNA2 による Akata 細胞の増殖抑制は、この c-Myc 発現抑制によるものと推測された。

## E. 結論

Ig 重鎖遺伝子と c-Myc の相互転座を有する Akata 細胞では、EBNA2 により IgG 遺伝子発現が一過性に抑制され、これに伴い IgG エンハンサーの制御をうける c-Myc 遺伝子も同様の時間経過でその発現が抑制される

ことが分かった。これにより Akata 細胞の増殖が抑制されると考えられた。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Liao H, Sato H, Chiba R, Kawai T, Nakabayashi K, Hata K, Akutsu H, Fujiwara S, Nakamura H. Human cytomegalovirus downregulates SLITRK6 expression through IE2. *J. Neurovirol.* doi:10.1007/s13365-016-0475-y, published on line 16 Aug, 2016.

2) Arai A, Sakashita C, Hirose C, Imadome K, Yamamoto M, Jinta M, Fujiwara S, Tomita M, Shimizu N, Morio T, Miura O. Hematopoietic stem cell transplantation for adults with EBV-positive T- or NK-cell lymphoproliferative disorders: the efficacy and the predictive markers. *Bone Marrow Transplant* 51(6):879-82, 2016.

### 2. 学会発表

1) Iwata M, Nagasawa Y, Kitamura N, Nozaki T, Ishizuka E, Imadome K, Fujiwara S, Takei M. Epstein-Barr Virus-Induced Expression of Receptor Activator Nuclear Factor- $\kappa$ B Ligand on B cells is Possibly Responsible for Erosive Arthritis in Epstein-Barr Virus-Infected Humanized NOD/Shi-scid/ $\gamma$ cnull Mice. *American College of Rheumatology Annual Meeting*, Washington, D.C., Nov 11, 2016.

2) 川野布由子, 松田剛, 清水則夫, 伊藤守,

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治療薬の評価研究. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. 札幌. 2016 年 10 月 24 日.

- 3) Shibayama H, Imadome K, Sakashita C, Watanabe K, Shimizu N, Koyama T, Fujiwara S, Miura O, Arai A. In vitro and in vivo effects of proteasome inhibitor bortezomib on Epstein-Barr virus-positive T- or NK-cell lymphoproliferative diseases. 17th

International Symposium on EBV and associated diseases. Zürich, Aug 8, 2016.

## 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

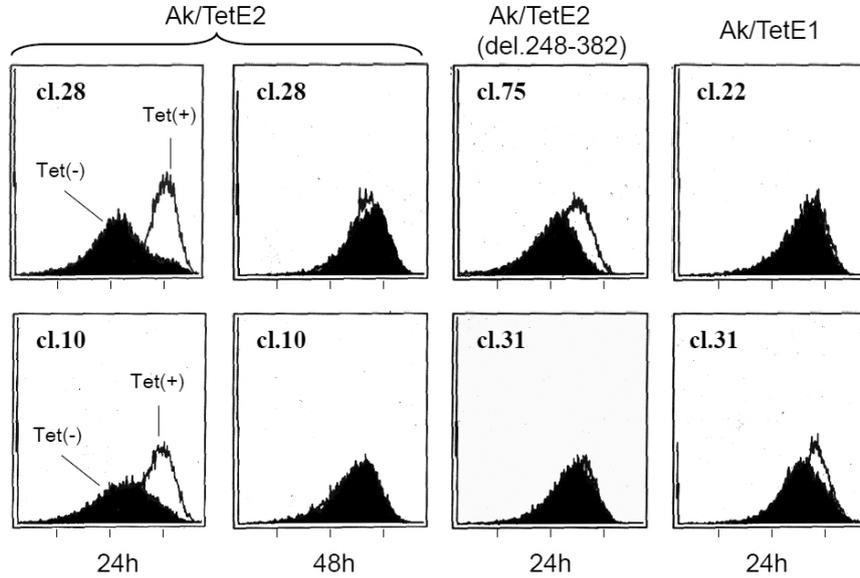


図1. EBNA2発現の誘導によるAkata細胞表面IgG発現の一過性の抑制.

野生型EBNA2を発現するAkata細胞 (Ak/TetE2) (cl. 28およびcl. 10)、RBP-J $\kappa$  結合部位欠損EBNA2を発現するAkata細胞 (Ak/TetE2 (del. 248-382)) (cl. 75およびcl. 31)、対照としてEBNA1を発現するAkata細胞 (Ak/TetE1) (cl. 22およびcl. 31) における細胞表面IgG発現レベルをフローサイトメトリーで測定した。これらの細胞ではテトラサイクリンを培養液から除去すると (Tet(-)) EBNA2が発現される。

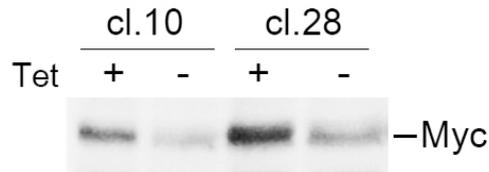


図2. EBNA2発現の誘導によるAkata細胞のc-Myc発現の抑制. Tet(-)としてEBNA2発現を誘導すると、24時間後にc-Myc発現は抑制された。

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 EBV 感染症の病理所見に関する研究

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**

慢性活動性 EBV 感染症(chronic active EBV infection, CAEBV)の理解において最も重要なことは、CAEBV は、一般的な感染症ではなく、むしろ、EB ウイルスの感染が、T 細胞かNK 細胞に限られる EBV 関連 T/NK 細胞リンパ球増殖症(EBV-associated T/NK cell lymphoproliferative disorders)で、病理形態的には反応性と言わざるをえないものや、いわゆる一部腫瘍化したもの、もしくは前腫瘍状態 (リンパ増殖性疾患)、また、病理学上悪性リンパ腫と区別ができないものまでも含まれていることである。このことを踏まえ、診療ガイドラインのための病理像の解説を行なった。

**A. 研究目的**

CAEBV は、症例によっては、長期に生存することもあり、中には治癒したと思われるものもある。このことが、疾患概念の理解をさらに複雑化している。また、CAEBV はあくまでも診断基準により診断され、病理的所見のみでは確定は困難であることを理解する必要があり、治療の対応が個々に異なることを理解することも重要であることを強調しながらの組織像が一般病理医、臨床医に浸透するため解説を行なう。

**B. 研究方法**

これまで、教室で診断した症例の組織像、遺伝子情報、臨床像を検討し診断確定できたものを使用し組織像のガイドライン作成を行なった。

(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**

病変臓器は、リンパ節、節外臓器と多岐に

渡り、腫瘍形成、潰瘍形成、水疱形成など肉眼像も多岐に渡り一定ではない、また組織像もリンパ球浸潤を主体とする非特異的な反応性病変や、明らかに悪性リンパ腫を思わせる異型リンパ球の増生を示すもので幅がある。また特定のリンパ球の単クローン性増殖が確認できるもの、できないものが見られる。腫瘍に近い病変のときは、劇症型 NK 細胞性白血病、節外性 NK/T 細胞リンパ腫； 鼻型、末梢性 T 細胞リンパ腫； 非特異型、肝脾 T 細胞リンパ腫、皮下脂肪織炎様 T 細胞リンパ腫と組織学的には、鑑別が困難である。

a) リンパ節：反応性に近い状態の所見としては、①リンパ濾胞の拡大 ②傍皮質の拡大 ③血管の増生、時として ④洞組織球症、まれに⑤壊死、核破砕物を伴う小肉芽腫の形成などが特徴であるが疾患特異的なものはない。腫瘍性に近い場合は、多型の異型の強いリンパ球が出現し、びまん多型のリンパ腫の像をとる。免疫組織学的特徴としては、TIA-1、Perforin、Granzyme B といっ

た細胞障害性分子陽性のリンパ球が拡大した傍皮質に多数認められ、その多くが EBER-ISH 陽性であるが EBER-LMP が陽性になることは少ない。免疫表現型は、T 細胞型の免疫染色を示すものと NK 細胞型のものがある。

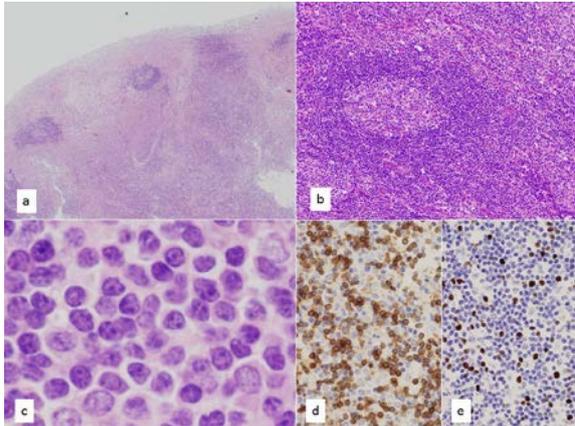


図 リンパ節の病理組織像

反応性に近い状態の所見の症例、傍皮質の拡大 (a) リンパ濾胞の腫大 (b) がみられ、濾胞間のリンパ球には異型はほとんどみられない(c)。CD3 陽性細胞が主体で(d)、EBER 陽性の EBV 感染細胞が多数見られる。

b)肝：①門脈域のみならず類洞内も含むびまん性の炎症細胞浸潤 ②慢性の肝障害が持続しているわりには線維化が目立たない。③肝細胞の淡明化と腫大。④脂肪変性。時に巣状になる。などの所見が参考になる。鑑別としてはB,C型肝炎、Wilson病などが挙げられる。類上皮肉芽腫の形成は他の臓器に比して目立たない。基本的に浸潤しているリンパ球の異型は目立たず、リンパ球の異型が強い場合は、リンパ腫と診断されることがある。

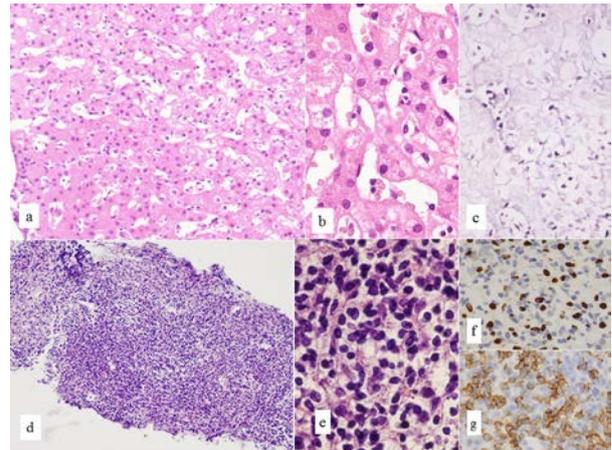


図. 肝臓の病理組織像

1) 類洞内に軽度のリンパ球浸潤のみ見られた症例(a, b, c)、類洞のみで肝細胞には変化はなく(a)、拡大しても、類洞のリンパ球は少数で異型は見られない(b)、しかしながら、EBER 陽性である(c)。

2) 門脈領域に多数リンパ球浸潤のみ見られた症例(d-g)、門脈領域に多数リンパ球浸潤がみられるが、線維化はみられない(d)、拡大すると若干異型を伴うリンパ球がみられ(e)、EBER 陽性(f)、CD8 陽性(g)である。

c)脾：肝脾腫は CAEBV においてはほぼ全例に認められる随伴症状であるにもかかわらず、組織学的には脾では肝よりもさらに非特異的で、うっ血程度しか所見がない場合がある。また、白脾髄の萎縮が見られる場合がある。このような場合でも EBER-ISH では EBV 感染細胞が多数認められる。

d)骨髄：正常造血は比較的保たれているが、リンパ球と組織球の増加および軽度の血球貪食像が特徴である。浸潤するリンパ球に異型は目立たないが、EBER-ISH は陽性である。一部の症例ではリンパ球に異型があり、リンパ腫の浸潤と診断される症例も見られる。

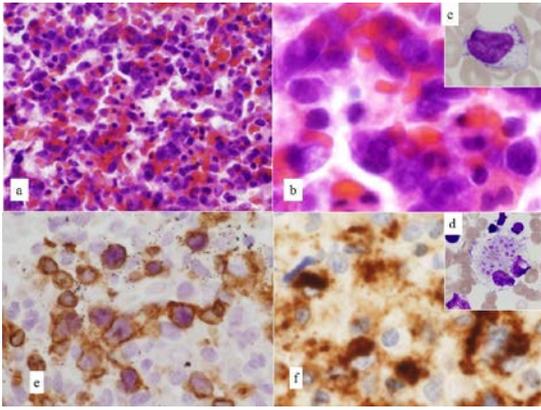


図. 骨髄の病理組織像

貧食症候群を伴う症例、過形成髄で(a)、拡大すると組織球の増加と若干大型の異型を伴うリンパ球がみられる(b)。末梢血の塗抹標本には、large granular lymphocyte がみられる(b)。また骨髄の塗抹標本では、貧食マクロファージがみられる(d)。CD3 (茶色) と EBV (紫) の二重染色をおこなうと CD3 陽性細胞に EBV が感染していることが確認できる(e)。CD68 陽性の組織球、マクロファージが多数みられる(f)。

#### D. 考察

慢性活動性 EBV 感染症(chronic active EBV infection, CAEBV)の理解において、EB ウイルスの感染が、T 細胞か NK 細胞に限られる EBV 関連 T/NK 細胞リンパ球増殖症 (EBV-associated T/NK cell lymphoproliferative disorders)の状態、病理形態的には反応性と言わざるをえないものや、いわゆる一部腫瘍化したもの、もしくは前腫瘍状態 (リンパ増殖性疾患)、また、病理学上悪性リンパ腫と区別が可能な

いものまでも含まれていることを踏まえ、診療ガイドラインのための病理像の解説を行なった。

#### E. 結論

CAEBV の診療ガイドラインにより、今後、疾患の一般病理医、臨床医への理解が深まると思われる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

日本小児感染症学会 監修 慢性活動性 EBV 感染症とその類縁疾患の診療ガイドライン 2016 診断と治療社  
大島孝一 慢性活動性 EBV 感染症とその類縁疾患の病理 p15-21

##### 2. 学会発表

なし

#### 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 川崎医科大学皮膚科講師

### 研究要旨

慢性活動性 EB ウイルス感染症の類縁疾患である蚊刺過敏症と種痘様水疱症の診療ガイドライン適正化を目的として、臨床病型による予後解析と、治療介入を必要とする病態およびそのバイオマーカーの解析を行った。我々の提唱する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の病型分類は生命予後を反映する。予後不良因子として、これまで報告した発症年齢 9 歳以上、および再活性化シグナルである BZLF1mRNA 発現に加えて、血漿 EBV DNA 著増例と EBV 感染  $\alpha$   $\beta$  T 細胞優位例が認められた。

### A. 研究目的

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病型分類が生命予後を反映するか、また、治療介入を決断させる病態やバイオマーカーについて検証を行った。それらのデータを基に診療ガイドラインの適正化を目的とする。

### B. 研究方法

当科では、種痘様水疱症と蚊刺過敏症患者の診断拠点として、30 例超の症例について、前向き及び後ろ向きコホート調査を実施している (倫理委員会: 岡山大学 No. 419, 2011)。我々の提唱した病型分類が、生命予後を反映するかを統計的に検証した。また、

予後不良因子のバイオマーカーとして EB ウイルス遺伝子関連産物とリンパ球サブセット解析を実施した (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

我々の提唱した古典的種痘様水疱症 (classical hydroa vacciniiforme: cHV)、全身性種痘様水疱症 (systemic hydroa vacciniiforme: sHV)、蚊刺過敏症 (hypersensitivity to mosquito bites: HMB)、蚊刺過敏症と種痘様水疱症合併 (HMB+HV) の 4 型は生命予後 (Miyake T et al, Br J Dermatol 2015) を予測するのに有用であった。すなわち、cHV 患者は我々

のシリーズにおける死亡例はないが、HMB および sHV 患者の 50% 致死率は、それぞれ約 5 年と約 10 年であった。

## 2) 予後予測因子

これまで、1) 発症年齢が 9 歳以上であること、2) EB ウイルス再活性化マーカーの BZLF1 発現がみられることが予後不良因子と考えられた。

今回の検討では、EBV 再活性化マーカーの BZLF1 mRNA 発現は、流血中ではほとんど陰性であるが、皮膚病変部において発現がみられることが判明した。さらに、EB ウイルス再活性化下流の BRDF1 発現を調べてみると、EBV ウイルス再活性化は途中で発現が認められなくなるということが分かった。しかし、EB ウイルス感染リンパ球を *in vitro* で調べると、下流の再活性化マーカーは認められ、細胞株では virion 由来の EB ウイルス DNA が検出された。すなわち、生体においては EB ウイルス再活性化がおきるが、細胞傷害性 T 細胞などによって排除されるために、再活性化が途絶すると考えられた。(論文発表 1)

## 3) 予後を規定する EB ウイルス感染細胞サブセット

古典的種痘様水疱症では流血中に  $\gamma$   $\delta$  T 細胞の増加があり予後は良好であった。全身性種痘様水疱症は  $\gamma$   $\delta$  T 細胞と  $\alpha$   $\beta$  T 細胞優位型に分けられる。そのうち、 $\gamma$   $\delta$  T 細胞優位型の予後は良好であるが、 $\alpha$   $\beta$  T 細胞クローン優位型は、発症年齢が高く、成人や高齢者発症があり、死亡例が多い。これらの結果から、病型分類に加えて、EB ウイルス感染細胞サブセットを知ることは予後予測につながると考えられる。

## 4) 予後因子となる他のバイオマーカー

種痘様水疱症と蚊刺過敏症患者においては、EB ウイルス DNA 量は生命予後の予測因子にはならなかった (Miyake T et al Br J Dermatol, 2015)。今回は、血漿 EB ウイル

ス DNA を測定し、著増していた 2 例を解析して見ると、2 例とも重篤な血球貪食症候群を発症し、1 例はそのために死亡し、他の 1 例は骨髄移植を必要とした。血漿 EB ウイルス DNA が著増している例は重篤な合併症をきたすと考えられた。

## 5) 診断用検査の最適化

EB ウイルス関連疾患診断用に開発した検査キットの最適化を行い、他のヘルペスウイルス関連疾患を対照として、鋭敏度、特異度、尤度比を検定した。95% を超える鋭敏度と特異度が得られ、診断補助として十分に機能することを確認した (論文発表 2 : 特許継続中)。

## D. 考察

本研究では、慢性活動性 EB ウイルス感染症の類縁疾患である種痘様水疱症と蚊刺過敏症の予後因子として、1) 病型分類 (古典的および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)、2) 発症年齢 (9 歳以上)、3) 再活性化マーカー BZLF1 mRNA に加えて、4) EB ウイルス感染リンパ球サブセット、特に  $\gamma$   $\delta$  T 細胞と  $\alpha$   $\beta$  T 細胞を検査すること、5) 血漿 EB ウイルス DNA 測定が重要と思われた。今後、症例集積を続け、臨床検査データの解析を続け、バイオマーカーについては客観的な数値、閾値を示すことが求められている。

再活性化シグナル経路と患者細胞傷害性 T 細胞解析は、本症の病態を説明する重要な研究アプローチである。また、EB ウイルス感染リンパ球サブセット解析は、種痘様水疱症や蚊刺過敏症の病態と深く関係している。診断基準および診療ガイドラインの適正化には、これらの研究展開を同時に進めることが必要である。

## E. 結論

蚊刺過敏症と種痘様水疱症の予後因子を

解析した。その研究成果に付随して、本症の病態が明らかになってきた。さらに症例集積を行い、診断基準、重症度基準と診療ガイドラインの適正化を進める。

## 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.* 82(3):153-159, 2016
2. Miyake T, Yamamoto T, Hirai Y, **Iwatsuki K**. Differential diagnosis of herpetiform vesicles by a non-invasive, molecular method using crusts or blister roofs: Sensitivity, specificity and likelihood ratio. *J Dermatol Sci.* 84(3): 358-359, 2016
3. **岩月啓氏**. EB ウイルスと皮膚疾患：アレルギー疾患の発症病態形成に関する新たな知見. *臨床免疫・アレルギー科*, 65:575-582, 2016
4. 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 2016、日本小児感染症学会・監修 (**診療ガイドライン統括委員**として参加)、診断と治療社、2016.11.15

### 2. 学会発表

1. Miyake T, Yamamoto T, Hirai Y, **Iwatsuki K**. Markedly elevated EBV DNA load in plasma predicts the occurrence of HPS in hydroa vacciniforme and hypersensitivity to mosquito bites. 第 41 回日本研究皮膚

科学会. 仙台、2016 年 12 月 9-11 日

2. **Iwatsuki K**, Hirai Y, Miyake T, Yamamoto T. Risk factors for Epstein-Barr virus (EBV)-associated T/NK lymphoproliferative disorders. The 4th Eastern Asia Dermatology Congress. 東京、2016 年 11 月 16-18 日
3. **Iwatsuki K**, Hirai Y, Miyake T, Yamamoto T. A reactivation signal, BZLF-1, is a biomarker for severe phenotypes of cutaneous EBV-associated T/NK lymphoproliferative disorders. 3rd World Congress of cutaneous Lymphomas. New York, U.S.A., Oct 26-28, 2016
4. **Iwatsuki K**. Epstein-Barr virus (EBV)-related T/NK cell lymphoproliferative disorders in Asia. Asian Dermatological Congress 2016. Mumbai, India, Oct 13-16, 2016
5. **岩月啓氏**、木村 宏、伊藤嘉規. A reactivation signal, BZLF1, is a biomarker for severe phenotypes of EBV-associated T/NK lymphoproliferative disorders (再活性かマーカーBZLF-1 は重症型 EBV 関連 T/NK リンパ増殖症のバイオマーカー). 第 75 回日本癌学会学術総会. 横浜、2016 年 10 月 6-8 日
6. **Iwatsuki K**, Hirai Y, Miyake T, Yamamoto T. Lymphocyte subsets and reactivation markers related to severe phenotypes of cutaneous EBV-associated T/NK lymphoproliferative disorders. 46th Annual ESDR Meeting. Munich, Germany, Sep 7-10, 2016
7. 平井陽至、三宅智子、森実 真、濱田利久、北浦一孝、松谷隆治、**岩月啓氏**. 非バイアス次世代 TCR レパトア解析による EBV 関連リンパ増殖性疾患への応用. 第 32 回日本皮膚悪性腫瘍学会学術大会. 鹿児島、2016 年 5 月 27-28 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」

(4182227号、PCT/JP2006/317851)：本研究の基盤となった検査法（特許継続中）

### 2. 実用新案登録

特になし。

### 3. その他

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

蚊刺過敏症患者における蚊抽出物に対する反応性の研究

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**

蚊刺過敏症は、蚊に刺された部位に、水疱形成や壊死を伴う強い発赤腫脹を生じ、さらに発熱、リンパ節腫脹、肝脾腫などの全身症状を呈する疾患で、その基礎に EBV 感染 NK/T 細胞増殖症が存在する。本症の発症メカニズムについては現在なお不明な点が多い。本研究では、蚊の各種抽出物に対する蚊刺過敏症患者リンパ球の反応性について検討を行った。その結果、EBV-NK 細胞型蚊刺過敏症ではヒトスジシマカ唾液腺由来抗原刺激が発症に関わっており、一方、EBV-T 細胞型蚊刺過敏症の一部では、アカイエカ唾液腺由来抗原刺激が関与している可能性が示唆された。

**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、肝脾腫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、EBV 感染 NK 細胞増殖症を有する蚊刺過敏症患者について免疫学的検討を行い、患者 CD4<sup>+</sup> 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を明らかにし、さらに刺激する蚊の種類により、患者の T 細胞の反応性が異なることを見出した。本研究では、当科におけるこれまでのデータに加え、新たに EBV 感染 T 細胞増殖症を有する 3 症例についても解析を行い、蚊の種類と T 細胞の反応性との関係を検討した。

**B. 研究方法**

研究対象者：蚊刺過敏症と診断された 10

名 (男 5 名 : 5-27 歳、女 5 名 : 3~27 歳)。何れの患者も、蚊刺により局所に水疱、壊死、潰瘍を伴う激しい反応を繰り返しており、また局所反応に伴って 37.5 度以上の発熱を生じた経験を有している。これらの症例につき以下の項目を検討した。

- ① 患者末梢血の NK、CD4<sup>+</sup>T、CD8<sup>+</sup>T 細胞分画における EBV ゲノム数。
- ② 日本に生息する代表的な 4 種類の蚊 (ヒトスジシマカ、シナハマダラカ、アカイエカ、コガタアカイエカ) の唾液腺と中腸の各々から抽出した抗原 (最終濃度 : 4 μg/ml) を用いて患者末梢血単核球 (PBMC) を刺激し、4 日後に [<sup>3</sup>H]-チミジンの取り込みを測定。
- ③ 患者末梢血から NK、CD4<sup>+</sup>T、CD8<sup>+</sup>T 細胞分画を調整し、上記②で反応がみられた蚊の抽出抗原を用いて刺激を行い、 [<sup>3</sup>H]-チミジンの取り込みを測定。

(倫理面への配慮)

本研究は、奈良県立医科大学の倫理委員会の承認を得た上で、患者からインフォームドコンセントを得て施行した。

### C. 研究結果

#### ① 蚊刺過敏症 10 名の内訳：

【EBV-NK 細胞型蚊刺過敏症】NK 細胞中に EBV DNA が検出された患者が 7 名（男 4 名、女 3 名）。

【EBV-T 細胞型蚊刺過敏症】CD4<sup>+</sup>T 細胞中に EBV DNA が検出された患者が 3 名（男 1 名、女性 2 名）。

#### ② 各種蚊抽出抗原により、患者 PBMC を刺激した結果、ヒトスジシマカに対して強い反応を示したものが 8 名であった。一方、ヒトスジシマカ、アカイエカに同程度の反応を認めたものが 1 名、アカイエカに対して強く反応したものが 1 名であった。アカイエカに反応が見られた 2 症例は、EBV-T 細胞型蚊刺過敏症の患者であった。また、コガタアカイエカに対する反応性はアカイエカと良く関連していた。一方、シナハマダラカに反応したのは 1 例のみで、反応はごく軽度であった。また、唾液腺由来抗原刺激と中腸由来抗原刺激を比較した結果、患者リンパ球は唾液腺抽出物に対してより強く反応することが判明した。

#### ③ 蚊刺過敏症患者 10 名全例で、CD4<sup>+</sup>T 細胞分画が蚊唾液腺抗原に対して反応することが確かめられた。

### D. 考察

今回の解析の結果、EBV-NK 細胞型蚊刺過敏症が、ヒトスジシマカに対して過敏反応を示すのに対して、EBV-T 細胞型蚊刺過敏症では、アカイエカに対して過敏反応を示す症例が目立っていた。今後の症例の蓄積により、EBV-NK 細胞型と EBV-T 細胞型との間で蚊に対する反応性に違いが見られるのかどうかについて検討を要すると考えられ

た。また、蚊刺過敏症を引き起こす蚊の抗原は未だ同定されていないが、中腸抽出物と比べて、唾液腺抽出物の刺激により患者リンパ球がより強く反応したことから、蚊刺過敏症の責任抗原は蚊の唾液腺中に多量に存在する物質であろうと推測される。今回得られた知見は、蚊刺過敏症の責任抗原の同定、蚊刺過敏症の診断やスクリーニングのための検査法の開発に役立つものと考えられる。

### E. 結論

EBV-NK 細胞型蚊刺過敏症ではヒトスジシマカ唾液腺由来抗原が発症に関わっており、一方、EBV-T 細胞型蚊刺過敏症では、一部でアカイエカ唾液腺由来抗原が関与している可能性が示唆された。

### F. 健康危険情報

該当なし。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. 浅田秀夫：ヘルペスウイルスとアレルギー，薬剤性過敏症症候群．臨床免疫・アレルギー科65(6)，569-574, 2016
2. 浅田秀夫：薬疹を見逃さない：ウイルス性発疹症との鑑別点．日本医事新報4826, 38-44, 2016

#### 2. 書籍

1. 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2016（日本小児感染症学会監修）、診断と治療社

#### 3. 学会発表

1. 浅田秀夫：蚊刺過敏症と EB ウイルス感染症．第 80 回 日本皮膚科学会東京支部学術大会、横浜、2017 年 2 月 11 日
2. 福盛知珠、谷野祥子、小川浩平、浅田秀夫：丹毒様皮疹を呈した

pseudolymphoma の 1 例. 第 457 回大阪  
地方会、大阪、2016 年 10 月 8 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

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の  
診療ガイドライン作成と患者レジストリの構築に関する研究  
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、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。

**1) EBV 関連疾患診療ガイドラインの作成:** 班員として参加し、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。ガイドラインは 2016 年 11 月に公開された。

**2) CAEBV 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報告した。

**3) プロテアソーム阻害剤 bortezomib の CAEBV に対する効果の検証:** Bortezomib は EBV 感染腫瘍細胞の増殖を抑制するとともに、その炎症性サイトカイン産生能も抑制させることが明らかになった。この結果をもとに、2015 年から bortezomib の効果を検証する医師主導臨床試験を開始した。

#### 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。2016 年に同分類が改訂された際には、蚊刺過敏症、種痘様水疱症を包括した、CAEBV として、T、NK 細胞腫瘍の一つに

明記された。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。診断基準とともに、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) CAEBV 診断基準および診療ガイドラインの作成:** CAEBV 診断基準を作成、公開した。研究班にて立案されたクリニカルクエストのうち、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) CAEBV 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行った CAEBV (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) プロテアソーム阻害剤 bortezomib の CAEBV に対する効果の検証：CAEBV では NF- $\kappa$ B の恒常的活性化を認めることから、同分子の抑制効果をもつプロテアソーム阻害剤 bortezomib の効果を検証した。

## B. 研究方法

1) EBV 関連疾患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ションに対し、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) CAEBV 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) プロテアソーム阻害剤 bortezomib の CAEBV に対する効果の検証：細胞生存、アポトーシス、サイトカイン産生能は、それぞれ、XTT assay、Annexin V assay、Taqman 法による real time PCR assay を用いて検証した。

モデルマウスは、CAEBV 患者末梢血単核球を NOD/Shi-scid, IL-2R  $\gamma$ KO mice の尾静脈から移植し作成した。Bortezomib は週に 2 回 1.67 mg/kg を腹腔内投与した。

(倫理面への配慮)

2, 3) 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。モデルマウスの実験は東京医科歯科大学動物実験委員会の承認を得て施行した。

## C. 研究結果

1) EBV 関連疾患診療ガイドラインの作成：CAEBV 診断基準は研究班にて作成した。診療ガイドラインは以下の項目を担当した。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。それぞれに対し、以上の推奨コメントを作成した。2016 年、日本小児感染症学会、日本血液学会でパブリックコメントを募集したのちに監査を受け、同 11 月より公開となった。

2) CAEBV 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。非血縁間移植は骨髄 11 例、臍帯血 2 例で、1 例は両者を施行した。血縁者間移植は骨髄移植を 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 102.5 コピー/ $\mu$ 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相関することを見出した。以上は論文で発表した。(文献 1)

3) プロテアソーム阻害剤 bortezomib の CAEBV に対する効果の検証 :

Bortezomib が EBV 陽性 T/NK 細胞株および CAEBV 患者細胞に対し増殖抑制、アポトーシス誘導および炎症性サイトカイン産生抑制効果を示すことを見出した。CAEBV モデルマウスに Bortezomib すると、末梢血中の EBV DNA 量が減少した。以上から Bortezomib は CAEBV の腫瘍、炎症両方の臨床像に有効であることが示された。

#### D. 考察

1) 診療ガイドラインの作成 : 診断基準、のフローチャートにより、これまでと比べ迅速かつ正確な診断が可能となり、広く診療に役立つことが望まれる。一方で治療についてはエビデンスが少ないことが改めて明らかになった。今後は化学療法の効果や、造血幹細胞移植の長期予後を中心に、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) CAEBV 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、そのためには、抗炎症作用を有する薬物治療法の開発が望まれる。

3) プロテアソーム阻害剤 bortezomib の

CAEBV に対する効果の検証 :

Bortezomib は CAEBV の腫瘍、炎症両方の臨床像に有効であることが示された。これまで私たちは CAEBV において NF- $\kappa$ B が恒常的に活性化していることを明らかにしている。NF- $\kappa$ B は bortezomib の標的の一つと考えられる。これらのデータをもとに、有効性を検証する探索的試験(試験名 UMIN 番号 UMIN000023019) を 2015 年から開始した。

#### E. 結論

- 1) EBV 関連疾患診療ガイドラインを作成、公表した。
- 2) 成人 CAEBV では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。
- 3) Bortezomib は EBV 感染腫瘍細胞の増殖を抑制するとともに、その炎症性サイトカイン産生能も抑制する。

#### F. 健康危険情報

#### G. 研究発表

- 1) 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 Transplant. 2016 Jun;51(6):879-82. doi: 10.1038/bmt.2016.3
- 2) Akiyama H, Takase H, Kubo F, Miki T, Yamamoto M, Tomita M, Mochizuki M, Miura O, Arai A. High-dose methotrexate following intravitreal methotrexate administration in preventing

- central nervous system involvement of primary intraocular lymphoma. *Cancer Sci.* 2016 Oct;107(10):1458-1464. doi: 10.1111/cas.13012.
- 3) Yui S, Yamaguchi H, Imadome K, Arai A, Takahashi M, Ohashi R, Tamai H, Moriya K, Nakayama K, Shimizu A, Inokuchi K. Epstein-Barr Virus-positive T-cell Lymphoproliferative Disease Following Umbilical Cord Blood Transplantation for Acute Myeloid Leukemia. *J Nippon Med Sch.* 2016;83(1):35-42. doi: 10.1272/jnms.83.35.
  - 4) Yonese I, Imadome K, Kobayashi D, Yamamoto K, Miura O, Arai A. Severe mosquito bite allergy with clonally proliferating EBV-positive T-cells developing into peripheral T-cell lymphoma: a case report. *Int J Clin Exp Pathol* 2016;9:8709-15
  - 5) 金兼弘和、新井文子. 慢性活動性 EB ウイルス感染症. *感染・炎症・免疫* 2016, 46: p63-66
  - 6) 新井文子. 慢性活動性 EB ウイルス感染症の問題点. *血液内科* 2016, 73:p400-404.
  - 7) 木村宏編集, 新井文子, 今留謙一, 澤田明久ら. 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 2016, 日本小児感染症学会 監修, 診断と治療社 初版 2016年11月15日発行
- 2.学会発表
- 1) 天野永一郎, 大久保卓哉, 服部高明, 齊藤麻美, 東山雄一, 児矢野繁, 田中章景, 新井文子, 三浦修, 横田隆徳. 慢性活動性 EB ウイルス感染症に合併した末梢神経障害の臨床的特徴. 第 57 回日本神経学会学術大会 2016 年 5 月 19 日 神戸
  - 2) 柴山春奈、今留謙一、小野澤枝里香、甘楽明穂、青木奨、三浦修、小山高敏、新井文子. EBV 陽性 T,NK リンパ増殖症における EBV 特異的 CTL 活性. 第 5 回日本血液学会関東甲信越地方会. 7 月 2 日新潟
  - 3) 小野澤枝里香、柴山春奈、今留謙一、甘楽明穂、青木奨、小山高敏、三浦修、新井文子. 慢性活動性 EB ウイルス感染症における炎症性サイトカインの産生の解析. 第 5 回日本血液学会関東甲信越地方会. 7 月 2 日新潟
  - 4) 米瀬一朗、今留謙一、小林大輔、山本浩平、三浦修、新井文子. 蚊刺過敏症で発症し T 細胞リンパ腫へ進展した EB ウイルス陽性 T リンパ増殖症. 第 5 回日本血液学会関東甲信越地方会. 7 月 2 日新潟
  - 5) 小野澤枝里香、柴山春奈、今留謙一、甘楽明穂、青木奨、小山高敏、三浦修、新井文子. 慢性活動性 EB ウイルス感染症における炎症性サイトカインの産生の解析. 第 13 回 EB ウイルス研究会. 7 月 9 日東京
  - 6) 米瀬一朗、今留謙一、小林大輔、山本浩平、三浦修、新井文子. 蚊刺過敏症で発症し T 細胞リンパ腫へ進展した EB ウイルス陽性 T リンパ増殖症. 第 13 回 EB ウイルス研究会. 7 月 9 日東京
  - 7) Haruna Shibayama, Ken-ichi Imadome, Chizuko Sakashita, Ken Watanabe, Norio Shimizu, Takatoshi Koyama, Shigeyoshi Fujiwara, Osamu Miura, Ayako Arai. In vitro and in vivo effects of proteasome inhibitor bortezomib on Epstein-Barr virus-positive T- or NK-cell lymphoproliferative diseases. 第 78 回日本血液学会総会.10 月 14 日.横浜
  - 8) 足立拓也、鳥井原彰、大山潤、立石宇

貴秀、新井文子、工藤琢巳、高瀬博、  
大西威一郎. 術前診断が困難であった  
右後頭葉の節外性 NK/T 細胞リンパ腫  
の一例 第 449 回 日本医学放射線学  
会 関東地方定期大会 2016 年 12 月  
10 日 東京

#### 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

同種造血幹細胞移植後の T 細胞性移植後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**

同種造血幹細胞移植後リンパ増殖性疾患(PTLD)はほとんどが B 細胞性であるが、稀に T 細胞性 PTLD(T-PTLD)がみられる。当科で 2004~2009 に行われた同種移植 467 例中 5 例で T-PTLD がみられた。年齢中央値 49 歳、移植片は臍帯血 3 例、血縁者末梢血幹細胞 1 例、非血縁者骨髄 1 例、1 例のみが免疫抑制療法中であった。4 例が EBER in situ hybridization 陽性で、4 例とも末梢血 EBV-DNA 高値(中央値  $3.2 \times 10^5$ /mL)であった。原病が CAEBV であった 1 例を除いて 4 例は診断後 100 日以内に死亡に至った。

**A. 研究目的**

T 細胞性移植後リンパ増殖性疾患(T-PTLD)は稀であり、患者背景、細胞生物学的特徴、予後を含む臨床像が不明である。このため、これらを明らかにするために本臨床研究を行った。

**B. 研究方法**

当科で経験した T-PTLD の 5 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**

当科で 2004~2009 年に行われた同種移植 467 例中 5 例で T-PTLD がみられた。年齢中央値 49 歳(43~63 歳)、男性 1 例、原病は悪性リンパ腫、急性リンパ性白血病、慢性活動性 EBV 感染症(CAEBV)、骨髄線維症、重症再生不良性貧血がそれぞれ 1 例、移植片は臍帯血 3 例、血縁者末梢血幹細胞 1 例、非血縁者骨髄 1 例であった。移植から T-PTLD 診断までの期間中央値は 57 ヶ月

(中央値; 10-115 ヶ月)で、T-PTLD 発症時、1 例のみが免疫抑制療法中であった。発症時、発熱、肝障害、血球減少をみる事が多く、2 例で血球貪食症候群がみられた。EBER in situ hybridization 陽性は 4/5 例で、4 例とも末梢血 EBV-DNA 高値(中央値  $3.2 \times 10^5$ /mL)、EBV のクローナリティーが確認できた 2 例はいずれもクローナリティーが認められた。であった。原病が CAEBV であった 1 例を除いて 4 例は診断後 100 日以内に死亡に至り、4 例が T-PTLD が死因となった。

**D. 考察**

T-PTLD に関するまとまった既報はなく、本症例シリーズは同種造血幹細胞移植後の稀な病態についての貴重な情報となる。

**E. 結論**

T-PTLD は稀な病態で、当科で経験した症例の多くは移植後晩期免疫抑制療法中止後の発症であった。EBV-DNA 定量や病変組織の EBER in situ hybridization が診断に有用

であった。化学療法抵抗性で、極めて予後不良の病態と考えられる。

#### **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. 西田彩、湯淺光博、景山康生、石綿一哉、高木伸介、山本久史、山本豪、森有紀、内田直之、伊豆津宏二、和氣敦、牧野茂義、谷口修一 同種造血幹細胞移植後に T 細胞性移植後リンパ増殖疾患を発症した 5 例の検討 第 39 回日本造血細胞移植学会 ポスター. 松江、2017 年 3 月 3 日

#### **H. 知的所有権の取得状況**

該当事項なし。

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

EBV-DNA 定量と感染細胞同定から判断する血球貪食症候群の治療戦略

研究分担者 大賀 正一 九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野 教授  
研究協力者 石村 匡崇 九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野 助教  
江口 克秀 同 医員  
園田 素史 同 医員  
東 良紘 山口大学大学院医学系研究科・小児科学 診療助教  
保科 隆之 産業医科大学小児科 講師

**研究要旨** : Epstein-Barr ウイルス (EBV) が病態に関与する血球貪食症候群/血球貪食性リンパ組織球症 (HLH) の根治をめざして、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。再発例および難治例に対しては、基礎疾患となる遺伝性 HLH と続発性の要因を否定して、①EBV 非関連 HLH、②EBV 初感染型 HLH、③EBV 再感染型 HLH、にわけた。②③については主たる感染細胞と EBV 量の推移から治療方針を決定した。EBV 非関連 HLH では新生児の単純ヘルペスウイルス (HSV) 関連 HLH と家族性 HLH が主体で重症肝不全を呈し予後不良であった。EBV 初感染型の 3 例は CD8 陽性 T 細胞感染型で、造血細胞移植を必要としなかった。急性リンパ性白血病治療中に発症した EBV-HLH 例は、T 細胞感染が証明されず、短期ステロイド療法のみで HLH は軽快し、白血病の治療経過も順調である。一方、T 細胞持続感染例は無治療で EBV-DNA 量が低下したものの、再上昇なく EBV 関連リンパ増殖症 (EBV-LPD) を発症し化学療法抵抗性となった。HLH を 3 病型に分け、EBV-DNA 量と感染細胞の推移を検討して治療選択を決定することが重要である。

**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) の初発症状あるいは経過中に発症する危急症で病勢制御が難しい。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。基礎疾患がなければ、小児初感染 T 細胞型 EBV-HLH は重症型でも造血細胞移植が必須ではない。HLH 患者の治療戦略における感染細胞同定の意義を検討した。

**B. 研究方法**

九州大学、山口大学と産業医科大学で診断され、治療を受けた HLH 例を検討した。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 ビーズカセルソーターを用いて純化した細胞から抽出した DNA を用いて、EBV-DNA を real-time PCR 法により定量した。解析の一部は、成育医療センター 今留謙一先生のご協力を得た。患児を①EBV 非関連 HLH、②EBV 初感染型 HLH、③EBV 再感染型 HLH、に分類し、②と③については主たる感染細胞と EBV 量の推移から治療方針を決定した。

(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) EBV の初感染と再活性化がない HLH

2016 年は九大小児科では EBV 感染の関与しない HLH は新生児 4 例(うち HSV-HLH 2 例)で、家族性 HLH はなかった。それまでの 4 年間に経験した家族性 HLH は、FHL3 (*MUNC13-4* 異常) が 1 例、FHL2 (*PRF1* 異常) が 4 例であった。HSV-HLH の 2 例は早期に acyclovir と methyl-prednisolone パルス療法を開始することができたが、1 例のみ救命が可能であった。

これら新生児発症例は新生児ヘモクロマトーシスとの鑑別が困難であった。初回投与の高用量 $\gamma$ グロブリン療法の効果は明らかではなかった。

### 2) EBV 初感染型 HLH

2016 年は CD8 細胞感染型初感染 EBV-HLH を 3 例経験したが、移植を必要としたものはなかった。ほかに白血病治療中の 2 歳男児が EBV-HLH を発症した。B 前駆細胞性急性リンパ性白血病 (ALL) の標準リスク群と診断された。診断時に抗 EBNA 抗体は陰性であった。寛解導入療法と早期強化療法開始後 (WBC 300/ $\mu$ L) に高熱が持続した。抗菌薬、抗真菌剤、 $\gamma$ グロブリン製剤に反応せず頸部リンパ節腫脹と肝脾腫が出現し、低形成骨髄に血球貪食像を認めた。高 EBV-DNA ( $3.6 \times 10^4$  コピー)、高フェリチン (20,306 ng/mL)、高可溶性 IL-2 受容体 (2,480 U/mL) 血症から EBV-HLH と診断した。このときの純化 T 細胞の EBV-DNA は感度未満であった。PSL 1mg/kg/day を開始後解熱し、血球も回復した。EBV の再活性化もなくその後の ALL の治療経過にも問題はなかった。

### 3) EBV 再感染型 HLH

24 歳女性。6 歳、EBV 感染症と診断され、肝障害が持続し 11 歳まで経過観察された。14 歳、臀部に皮下膿瘍を認め、皮膚生検から EBV-LPD と診断された。無治療で軽快し CAEBV として経過観察された。EBV 感染細胞は NK 細胞優位で病変部に EBV-TR の clonality も確認された。その後、無症状となり EBV-DNA も全血法で下限レベルに低下した。23 歳、両側披裂部に喉頭 EBV-LPD (CD4 細胞感染) を発症し気管切開術を受けた。全血法 EBV-DNA 量の再上昇はないが、病変部に CD4 陽性 EBER 陽性細胞が同定され

た (久留米大学病理 大島孝一教授) XIAP 変異/多型を認め、プレドニンに反応したが多剤併用化学療法にも抵抗性となっている。

## D. 考察

新生児発症例では、乳幼児に多い初感染型 CD8 陽性 EBV-HLH はみられず、重症型は新生児ヘモクロマトーシスとの鑑別が困難な家族性 HLH と HSV-HLH が主体であった。前者には造血細胞移植が必須で、後者には不要であるが、いずれも早期診断に至っても救命は非常に難しいことが明らかとなった。診断がつく前に、高用量 $\gamma$ グロブリン療法の反応性をみることは有用であると思われる。HSV-HLH では抗ウイルス薬とステロイドパルス療法の開始時期が重要である。

白血病の治療中汎血球減少の時期に初感染型 EBV-HLH を来した例では、T 細胞感染は証明されず、ステロイドの早期投与で軽快した。既報告の ALL 治療中に発症した EBV-HLH 3 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。基礎疾患を有する EBV-HLH においても、EBV 量と感染細胞の同定は治療選択に有用な情報を得ることができた。

一方、長期観察中の CAEBV 患者では HLH ではなく局所での EBV-LPD の発症が問題となり、EBV 量と感染細胞の同定のみならず治療方針の決定には、その推移と遺伝的背景の検討が必要であることが示唆された。

## E. 結論

稀少なながらも極めて重症で、治療選択にも難渋する HLH に対して、年齢によるヘルペスウイルスの関与と宿主の遺伝的素因を考慮しながら、治療選択を立てることが必要である。本研究により、診療ガイドラインの課題を明確にすることができた。

## F. 健康危険情報

介入試験でなくこれに関する情報はない。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Harada M, Honda Y, Hoshina T, Ohga S, Ohshima K, Kusuhara K: Successful resolution of Epstein-Barr virus infection-associated

- hemophagocytic lymphohistiocytosis during the treatment course of acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Neonatol*. 2017 (in press)
2. Hori M, Yasumi T, Shimodera S, Shibata H, Hiejima E, Oda H, Izawa K, Kawai T, Ishimura M, Nakano N, Shirakawa R, Nishikomori R, Takada H, Morita S, Horiuchi H, Ohara O, Ishii E, Heike T: A CD57+ CTL degranulation assay effectively identifies familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 3 patients. *J Clin Immunol*. Jan; 37(1): 92-99, 2017
  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. Nanishi E, Hoshina T, Takada H, Ishimura M, Nishio H, Uehara T, Mizuno Y, Hasegawa S, Ohga S, Nagao M, Igarashi M, Yajima S, Kusuo Y, Onishi N, Sasahara Y, Yasumi T, Heike T, PID-Infection Study Group, Hara T: A nation-wide survey of medically preventable viral infections in patients with primary immunodeficiency diseases. *J Infect*. 73(4):358-368, 2016
  5. Okada S, Azuma Y, Suzuki Y, Yamada H, Wakabayashi M, Korenaga Y, Akase H, Hasegawa S, Ohga S: Adjunct cyclosporine therapy for refractory Kawasaki disease in a very young infant. *Pediatr Int*. 58(4):295-298, 2016
  6. 市村卓也、大賀正一：VII. 原発性免疫不全症候群 5. 免疫調節不全症 (1) 家族性血球貪食性リンパ組織球 (FHL) 症候群 ①Perforin 欠損症 (FHL2) . 日本臨床別冊「免疫症候群 (第2版) III - その他の免疫疾患を含めて-」日本臨床社 2016 (印刷中)
  7. 市村卓也、大賀正一：VII. 原発性免疫不全症候群 5. 免疫調節不全症 (1) 家族性血球貪食性リンパ組織球 (FHL) 症候群 ② UNC13D/Munc13-4 欠損症 (FHL3) . 日本臨床別冊「免疫症候群 (第2版) III - その他の免疫疾患を含めて-」日本臨床社 2016 (印刷中)
  8. 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. Ohga S: Differential diagnosis and treatment response of Langerhans cell histiocytosis (LCH). The 57th Autumn Meeting of Korean Society of Hematology “Working Party III : Histiocytosis” Nov. 12th, 2016 Daejeon, Korea
    2. Ohga S: Hemophagocytic lymphohistiocytosis and primary immunodeficiency diseases. “Breakfast Symposium” in The 57th Autumn Meeting of KSH. Nov. 12th, 2016, Daejeon, Korea
    3. 大賀正一：CAEBV とその類縁疾患の病態解明と治療法確立. 日本医療研究開発機構研究費・難治性疾患実用化研究事業 厚生労働科学研究費補助金・難治性疾患政策研究事業 日本医療研究開発機構研究費・難治性疾患実用化研究事業 平成28年度 第2回合同研究班会議 藤原班 木村班 伊藤班. 班会議 2016年12月18日 東京都
    4. 保科隆之、大賀正一、名西悦郎、神野俊介、西尾壽乗、齋藤光正、原 寿郎：免疫不全小児の結合型肺炎球菌ワクチンに対する免疫応答低下の要因の検討. 第48回日本小児感染症学会総会・学術集会 2016年11月19-20日 岡山市
    5. 江口克秀、石村匡崇、園田素史、白石暁、小野宏彰、古賀友紀、高田英俊、大賀正一： *Mycrobacterium kansasii* 感染症を契機に血球貪食性リンパ組織球症 (HLH) を発症した MonoMAC 症候群. 第58回日本小児血液・がん学会学術集

会 平成 28 年 12 月 15 日—17 日 東京都

6. 石村匡崇、江口克秀、園田素史、白石暁、高田英俊、大賀正一：家族性血球貪食性リンパ組織球 (FHL) の診断、治療の課題. 第 58 回日本小児血液・がん学会学術集会 平成 28 年 12 月 15 日—17 日 東京都
7. 石村匡崇、今留謙一、園田素史、江口克秀、白石暁、高田英俊、大賀正一：2 名の健常児を出産した未治療  $\gamma$   $\delta$  T 細胞型 CAEBV の女性例. 第 26 回 EB ウイルス感染症研究会 2017 年 3 月 19 日 東京都

#### 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**

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において, EB ウイルス関連血球貪食性リンパ組織球症 (EBV-HLH) のクリニカル・クエスション (CQ) 10~13 (主に治療領域) において, 主執筆者として対応した. 本ガイドラインの完成版は平成 28 年度に発表されたが, 本疾患に対する新たなエビデンス創出に向け, 実臨床における基礎研究ならびに治療研究が今後も必要であると考えられた.

**A. 研究目的**

EB ウイルス関連血球貪食性リンパ組織球症 (EBV-HLH) の診断や治療にいくつかの臨床研究が行われてきたが, まとまった診療ガイドラインは無かった.

**B. 研究方法**

本疾患の治療に関係のある約 1000 の英文と和文の論文をシステムチック・レビューした. (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**

CQ10 治療開始基準, CQ11 治療法の選択, CQ12 治療抵抗性である場合の追加検査, CQ13 その場合の同種造血幹細胞移植について記載した.

**D. 考察**

現時点でのガイドラインとして策定を完

遂できた. しかし本疾患は難病であり, 過去のエビデンスでは不十分で, 不明な点も多く残されていた.

**E. 結論**

現時点でのガイドラインが策定されたが, 本疾患は不明な点も多い難病であることがあらためて示された.

**F. 健康危険情報**

なし.

**G. 研究発表**

1. 論文発表

1. 澤田明久. EB ウイルス感染と血液疾患. 臨床血液 57: 2267-2274, 2016.

2. 学会発表

1. 澤田明久. EB ウイルス感染と血液疾患. 第 78 回日本血液学会学術集会. 教育講演. 横浜, 2016 年 10 月 14 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

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 ウイルス関連リンパ増殖症に対する網羅的診断法に関する研究

研究分担者 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**

EB ウイルス (EBV) は伝染性単核症に限らず、血球貪食性リンパ組織球症や悪性リンパ腫などのリンパ組織球症 (LPD) をきたすが、遺伝的欠陥による EBV-LPD も知られている。X 連鎖リンパ増殖症候群 (XLP) に限らず、多数の XLP 類縁疾患が同定されている。遺伝的 EBV-LPD の原因遺伝子が増えており、遺伝子解析に時間とコストを有するようになってきた。そこで比較的安価でかつ迅速に EBV-LPD を網羅的に診断すべく、対象となる 23 遺伝子のターゲットシーケンス法を開発した。

**A. 研究目的**

遺伝学的に EBV 関連リンパ増殖症 (EBV-LPD) を発症する疾患が知られており、代表的なものは X 連鎖リンパ増殖症候群 (XLP) である。XLP 以外にも ITK 欠損症、CD27 欠損症などが報告されている。EBV-LPD の原因遺伝子がどんどん増えており、コストと時間を要するようになってきた。診断ガイドラインの作成にあたっては正確な EBV-LPD の診断は欠かせない。そこで迅速にかつ比較的安価に EBV-LPD を診断すべくターゲットシーケンスによる網羅的診断法を開発する。

**B. 研究方法**

対象遺伝子は、XLP の原因として知られている *SH2D1A*、*XIAP* に加え、XLP 様疾患の原因遺伝子と EBV-LPD の合併が多くみられる原発性免疫不全症の原因遺伝子を

含めて 23 遺伝子を設定した。これらの遺伝子についてエキソン近傍のイントロンを含む領域を増幅するプライマーを設定し、マルチプレックス PCR にてすべてのアンプリコンを増幅する。増幅されたアンプリコンを次世代シーケンサーにて塩基配列を決定し、既知の SNP を除いたものを候補遺伝子とする。

(倫理面への配慮)

本研究は東京医科歯科大学倫理委員会の承認を受け、臨床検体を得る際には、本人または保護者に対して文書を用いて十分な説明を行い、インフォームドコンセントを得た。また患者を匿名化することで個人情報保護した。

**C. 研究結果**

すでに遺伝子変異が明らかな患者サンプルを用いた精度検証では、調べた 8 遺伝子

について確実に変異が検出できることを確認した。現在まで EBV-LPD が疑われる患者 16 名において網羅的診断法を行い、2 名で原因遺伝子(*PRF1*、*SH2D1A*)を同定した。

#### D. 考察

網羅的診断法により、EBV-LPD の原因遺伝子が迅速かつ正確に特定されることがわかり、臨床的にも有用であることが証明された。

#### E. 結論

EBV-LPD は免疫化学療法や造血細胞移植などの治療を早期に行わないと予後不良なこともある。ターゲットシーケンスによる網羅的診断法は、EBV-LPD の早期診断に有用であることが示唆された。今後さらなる症例の蓄積によって、本診断法の有用性を明らかにしたい。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Ono S, Okano T, Hoshino A, Yanagimachi M, Hamamoto K, Nakazawa Y, Imamura T, Onuma M, Niizuma H, Sasahara Y, Tsujimoto H, Wada T, Kunisaki R, Takagi M, Imai K, Morio T, Kanegane H. Hematopoietic Stem Cell Transplantation for XIAP Deficiency in Japan. *J Clin Immunol* 37:85-91, 2017.
2. Suzuki T, Sasahara Y, Kikuchi A, Kakuta H, Kashiwabara T, Ishige T, Nakayama Y, Tanaka M, Hoshino A, Kanegane H, Abukawa D, Kure S. Targeted Sequencing and

Immunological Analysis Reveal the Involvement of Primary Immunodeficiency Genes in Pediatric IBD: a Japanese Multicenter Study. *J Clin Immunol* 37:67-79, 2017.

3. Tsujita Y, Mitsui-Sekinaka K, Imai K, Yeh TW, Mitsuki N, Asano T, Ohnishi H, Kato Z, Sekinaka Y, Zaha K, Kato T, Okano T, Takashima T, Kobayashi K, Kimura M, Kunitsu T, Maruo Y, Kanegane H, Takagi M, Yoshida K, Okuno Y, Muramatsu H, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Kojima S, Ogawa S, Ohara O, Okada S, Kobayashi M, Morio T, Nonoyama S.. Phosphatase and tensin homolog (PTEN) mutation can cause activated phosphatidylinositol 3-kinase  $\delta$  syndrome-like immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 138:1672-1680.e10, 2016.

##### 2. 学会発表

1. Kanegane H. Recent advances in primary antibody immunodeficiency and immunoglobulin replacement therapy. 21th Congress of Chinese Pediatric Society, Zhuhai, China. Oct 23, 2016
2. Kanegane H, Hoshino A, Takashima T, Yeh T-W, Okano T, Yamashita M, Imai K, Morio T. Selective dysregulation of Epstein-Barr virus infection in hypomorphic *ZAP70* mutation. A Symposium for Researchers and Clinicians on XLP/WAS, London, U.K. Sep 26, 2016.

- |  |  |
|--|--|
| <p>3. Ono S, Okano T, Hoshino A, Yanagimachi M, Takagi M, Imai K, Morio T, Kanegane H. Hematopoietic stem cell transplantation for XIAP deficiency in Japan. A Symposium for Researchers and Clinicians on XLP/WAS, London, U.K. Sep 26, 2016.</p> <p>4. Kanegane H. Use of flow cytometry in PID diagnosis. APSID Spring School, Hong Kong, China. April 29, 2014.</p> <p>5. Kanegane H. Immunoglobulin</p> | <p>replacement for agammaglobulinemia – intravenous or subcutaneous? APSID Main Congress, Hong Kong, China. May 1, 2014.</p> |
|--|--|

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に関する研究

研究分担者 氏名 笹原洋二

所属 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  
職名 准教授

**研究要旨**

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において、クリニカルクエスチョン (CQ) 作成を分担した。分担した内容は、種痘様水疱症の治療方針決定に有用な予後因子、臓器病変のない種痘様水疱症への治療介入の必要性、蚊刺過敏症の治療方針決定に有用な予後因子、臓器病変のない蚊刺過敏症への治療介入の必要性、の 4 項目である。昨年度作成した内容を更に吟味し、それぞれの CQ に対して文献検索を行い、推奨グレード、要約、解説、引用文献をまとめた。

**A. 研究目的**

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において、クリニカルクエスチョン (CQ) 作成を分担し、その完成に寄与することを目的とした。

後因子

4. 臓器病変のない蚊刺過敏症への治療介入の必要性

(倫理面への配慮)

個人情報の内容については CQ の内容に含まれないように配慮した。

**B. 研究方法**

昨年度作成した内容を更に検討するため、詳細な文献検索をもとに、以下の 4 項目について、推奨グレード、要約、解説、引用文献をまとめた。

1. 種痘様水疱症の治療方針決定に有用な予後因子
2. 臓器病変のない種痘様水疱症への治療介入の必要性
3. 蚊刺過敏症の治療方針決定に有用な予

**C. 研究結果**

以下に当該 4 項目に対して作成した推奨グレードと要約を示す。

1. 種痘様水疱症の治療方針決定に有用な予後因子

【推奨グレード】

全身症状のない古典型種痘様水疱症の生命予後は良好である。種痘様水疱症の治療方針決定には、予後因子である発症年齢と皮膚病変での EBV 活性化マーカーである転

写因子 BZLF1mRNA 発現の有無の検討を推奨する (B4)。

【要約】

古典型種痘様水疱症の生命予後は良好であるが、全身症状を伴う症例や蚊刺過敏症合併例の予後は低下した。本邦50症例(内追跡可能であった30症例)の解析では、統計学的解析にて有意差のある予後不良因子として抽出された因子は、1) 発症年齢が9歳以上、2) 皮膚病変での BZLF1 mRNA の発現陽性例、であった。

2. 臓器病変のない種痘様水疱症への治療介入の必要性

【推奨グレード】

臓器病変のない種痘様水疱症症例では一般的に予後良好であり、積極的な化学療法や造血幹細胞移植などの治療介入が必要となる症例は少ない (C4)。

【要約】

臓器病変のない種痘様水疱症症例では予後良好であり、積極的な化学療法や造血幹細胞移植などの治療介入が必要となる症例は少ないと考えられる。全身症状を伴う症例では予後不良な症例が含まれており、更に検討が必要である。

3. 蚊刺過敏症の治療方針決定に有用な予後因子

【推奨グレード】

蚊刺過敏症の全般的な長期予後は不良である。蚊刺過敏症の治療方針決定に有用な予後因子である発症年齢と皮膚病変での EBV 活性化マーカーである転写因子 BZLF1mRNA 発現の有無の検討を推奨する (B4)。

【要約】

本邦で蚊刺過敏症のみの症例の予後解析では、6例中2例、および9例中4例の死亡例が報告されている。統計学的解析にて有

意差のある予後不良因子として抽出された因子は、1) 発症年齢が9歳以上、2) 皮膚病変での BZLF1 mRNA の発現陽性例、であった。

4. 臓器病変のない蚊刺過敏症への治療介入の必要性

【推奨グレード】

臓器病変のない蚊刺過敏症症例の予後解析は症例数がまだ少ないが、造血幹細胞移植による治療介入の必要性は十分あると考えられる。(C4)。

【要約】

臓器病変のない HMB 症例での予後解析は症例数が少ないものの、全般的に長期予後は不良であることから、造血幹細胞移植による治療介入の必要性は十分あると考えられる。発症年齢や EBV 活性化状態の予後因子および個々の臨床経過によって治療介入を検討する必要がある、今後多症例での予後解析が必要である。

D. 考察

種痘様水疱症および蚊刺過敏症はいずれも EB ウイルス感染症の類縁疾患であるが、稀少疾患であるため、これまで予後因子および治療介入の必要性に対するエビデンスのまとまった評価はなされていなかった。これまでの主要な文献を検索し、推奨グレード、要約、解説をまとめたが、主要文献が限られているため、その選択に細心の注意を要した。しかしながら、現時点までの文献を網羅し、内容を検討しながら作成したため、臨床的に有用な内容として CQ を作成することができた。

E. 結論

種痘様水疱症および蚊刺過敏症における治療方針決定に有用な予後因子、臓器病変のない症例への治療介入の必要性について、

それぞれ推奨グレード、要約、解説、引用文献をまとめた。

稀少疾患であり、この2疾患の予後因子と治療介入の必要性を、これまでの文献をもとに要約したことは、本疾患の理解と臨床指針として有用であった。

#### F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Ono S, Okano T, Hoshino A, Yanagimachi M, Hamamoto K, Nakazawa Y, Imamura T, Onuma M, Niizuma H, Sasahara Y, Tsujimoto H, Wada T, Kunishima R, Takagi M, Imai K, Morio T, Kanegane H. Hematopoietic stem cell transplantation for XIAP deficiency in Japan. J Clin Immunol, 37: 85-91, 2017.

##### 2. 学会発表

なし

#### 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に関する研究

研究分担者 氏名：今留 謙一

所属：国立成育医療研究センター研究所高度先進医療研究室 職名：独立室長

**研究要旨** 慢性活動性 EB ウイルス感染症(CAEBV)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のために CAEBV と EBV 関連血球貪食性リンパ組織球症(EBV-HLH)、蚊刺過敏症(HMB)に対し、EBV がどの細胞に感染しているかを診断する感染細胞同定解析を行った。日本全国から依頼があり H28 年度は 128 件の解析を行った。単一の細胞にのみ感染している症例は少なく、複数の細胞分画に感染細胞が存在する症例が多く見られた。感染細胞として検出された分画は B 細胞、CD4<sup>+</sup>T 細胞、CD8<sup>+</sup>T 細胞、 $\gamma$   $\delta$ -T 細胞、NK 細胞が存在した。慢性活動性 EB ウイルス感染症(CAEBV)とその類縁疾患の診療ガイドライン作成の一員として作成を進めた。

#### A. 研究目的

慢性活動性 EB ウイルス感染症(CAEBV)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のために、正確な患者診断と把握が不可欠である。感染細胞同定解析を始めとした解析・診断を行うことによる正確な診断・患者把握を目的とし中央診断的役割を目指した。

#### B. 研究方法

CAEBV, EBV-HLH, HMB が疑われる症例について、国立成育医療研究センター研究所高度先進医療研究室に末梢血を送ってもらい、診断のための様々な解析を行い正確な患者把握を目指した。

#### C. D. E 研究結果・考察・結論

日本全国から依頼があり H28 年度(H28 年 4 月 - H29 年 2 月)は 128 件の解析を行った。単一の細胞にのみ感染している症例は少なく、複数の細胞分画に感染細胞が存在する症例が多く見られた。感染細胞として検出された分画は B 細胞、CD4<sup>+</sup>T 細胞、CD8<sup>+</sup>T 細胞、 $\gamma$   $\delta$ -T 細胞、NK 細胞が存在した。このうち CAEBV と HMB の合併症例が 5 件、CAEBV と EBV-HLH の合併症例が 2 件であった。解析時にすでに薬剤投与などの加療が開始されていて、解析における検体の状態が適当でないものも多く見られた。今後診断に当たって採血のタイミングも含め検

体採取のプロトコールの作成も課題であることが明らかとなった。検体の扱い、解析については成育医療研究センターにおいて倫理申請を行い、患者の同意も得て行っている。

## F. 健康危険情報

なし。

## G. 研究発表

学会発表

[招待講演・特別講演・シンポジウム・ワークショップ]

- 1) 今留謙一「臓器横断的シンポジウム3 移植後感染症（小児）移植治療後の日和見感染症関連ウイルス疾患の病態把握と治療戦略」第52回日本移植学会 2016.9.30（東京 招聘講演）
- 2) 今留謙一「EB関連T/NK細胞リンパ増殖症の病態把握と診断および治療戦略」第10回北海道小児先進医療研究会 2016.11.8（旭川 招聘講演）

[国際学会発表]

1. In vitro and in vivo effects of proteasome inhibitor bortezomib on Epstein-Barr virus-positive T- or NK-cell lymphoproliferative diseases. Shibayama H, Imadome K, Sakashita C, Watanabe K, Shimizu N, Koyama T, Fujiwara S, Miura O, Arai A. 17th International Symposium on EBV and associated diseases. 08 - 12 August 2016, Zurich, Switzerland 16-19 July, 2014 Brisbane

[一般演題発表]

1. 松田剛、今留謙一 EBウイルスEBNA3Cの新たな局在化シグナル 第30回ヘルペスウイルス研究会 2016.6.16 東京
2. 川野布由子、新井文子、伊藤守、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治療薬の評価研究

第30回ヘルペスウイルス研究会  
2016.6.16 東京

3. 古田頌子、川野布由子、渡邊健、松岡浩、清水則夫、松田剛、今留謙一 EBV 関連難治性疾患における病態予測因子の探索と感染細胞産生 sFas の役割について 第30回ヘルペスウイルス研究会 2016.6.16 東京
4. 小野澤枝里香、柴山春奈、今留謙一、甘楽明穂、青木奨、小山高敏、三浦修、新井文子 慢性活動性EBウイルス感染症における炎症性サイトカインの産生の解析  
小野澤枝里香、柴山春奈、今留謙一、甘楽明穂、青木奨、小山高敏、三浦修、新井文子 第13回EBウイルス研究会 2016.7.9 東京
5. 米瀬一朗、今留謙一、小林大輔、山本浩平、三浦修、新井文子 蚊刺過敏症で発症しT細胞リンパ腫へ進展したEBウイルス陽性Tリンパ増殖症 第13回EBウイルス研究会 2016.7.9 東京
6. 外丸靖浩、渡邊健、清水則夫、今留謙一 EB ウイルスゲノムコピー数の簡単迅速定量系の構築 第13回EBウイルス研究会 2016.7.9 東京
7. 渡邊健、今留謙一、外丸靖浩、小島尚美、森尾友宏、清水則夫 EBV 潜伏感染遺伝子 mRNA の網羅的定量による EBV 関連疾患の迅速診断 第13回EBウイルス研究会 2016.7.9 東京
8. 松田剛、今留謙一 Identification and functional analysis of

- Epstein-Barr virus EBNA3C Nuclear  
第 13 回 EB ウイルス研究会 2016.7.9  
東京
9. Haruna Shibayama, Ken-Ichi Imadome,  
Chizuko Sakashita, Ken Watanabe,  
Fuyuko Kawano, Norio Shimizu,  
Takatoshi Koyama, Shigeyoshi Fujiwara,  
Osamu Miura, Ayako Arai  
In vitro and in vivo effects of bortezomib  
on EBV-T/NK-LPDs 第 78 回日本血液  
学会学術集会 2016.10.14 横浜
10. Masayo Yamamoto, Motohiro Shindo,  
Yasumichi Toki, Mayumi Hatayama,  
Katsuya Ikuta, Ryoji Kobayashi, Masami  
Inoue, Ken-Ichi Imadome, Yoshihiro  
Torimoto, Toshikatsu Okumura  
Two cases of Epstein-Barr virus-  
associated lymphoproliferative disease  
第 78 回日本血液学会学術集会  
2016.10.14 横浜
11. Go Matsuda, Ken-Ichi  
Imadome Identification and functional  
analysis of Epstei –Barr virus EBNA3C  
localization signal 4(NLS4)  
Nuclear localization signal 4(NLS4)  
第 64 回日本ウイルス学会学術集会  
2016.10.24 札幌
12. Fuyuko Kawano, Go Matsuda, Norio  
Shimizu, Mamoru Ito, Shigeyishi  
Fujiwara, Ken-Ichi Imadome The study  
of drug evaluateon using the model  
mouse of EBV-T/NK-LPD  
第 64 回日本ウイルス学会学術集会  
2016.10.24 札幌
13. 松田剛、今留謙一 EB ウイルス核遺伝  
子 EBNA3C の新たな核局在化シグナル  
(NLS)の発見と複数の NLS の戦略的使  
用 第 39 回日本分子生物学会年会  
2016.12.1 横浜
14. 山澤翔、林玲匡、牛久綾、那須涼、  
小倉瑞生、今留謙一、黒川峰夫、深山  
正久 EBV 陽性 T 細胞リンパ腫の治  
療後に EBV 陽性 B 細胞リンパ腫が出現  
した一剖検例  
第 73 回日本病理学会関東支部学術集会  
2016.12.10 東京

## 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 ウイルス感染症の重症度判定における  
血液中 EB ウイルス DNA 量の有用性の検討  
研究分担者 伊藤嘉規 名古屋大学大学院医学系研究科 准教授

**研究要旨**

2016 年 11 月に慢性活動性 EB ウイルス感染症の診療ガイドラインが公表された。本疾患はこれまで重症度分類が存在しなかったが、今回の診療ガイドラインでは、全身症状・腫瘍臓器の合併症の有無により、「軽症」と「重症」に分類されることとなった。本疾患では、EB ウイルス DNA 量は、バイオマーカーと考えられ、診断以外にもその有用性が検討されている。そのため、重症度群別に血液中の EB ウイルス DNA 量を測定し、検討した。血液検体は、全血、末梢血単核球、血漿に分けて解析した。ROC 曲線による解析から血漿中の EB ウイルス DNA 量が重症度判定に有用な可能性が示唆された。

**A. 研究目的**

慢性活動性 EB ウイルス感染症 (CAEBV) は、特定のリンパ球に EB ウイルスが持続感染することにより、長期的に多くの患者が白血病・リンパ腫様の病態に進展する疾患群を形成する、日本の小児・若年成人に特有な難病である。診療ガイドラインの必要性から本研究班で準備が進められ、2016 年 11 月に慢性活動性 EB ウイルス感染症の初めての診療ガイドラインが公表された。本疾患はこれまで重症度分類が存在しなかったが、今回の診療ガイドラインでは、全身症状・腫瘍臓器の合併症の有無により、「軽症」と「重症」に分類されることとなった。本症の診断は、EB ウイルス DNA 量が重要な基準であるが、EB ウイルス DNA 量が、重症度を反映すれば、バイオマーカーとしての利用価値が高まると考えられる。こうした観点から、CAEBV 重症度による「軽症」群と「重症」群における EB ウイルス DNA 量を比較検

討した。

**B. 研究方法**

【対象・方法】2014 年 7 月から 2016 年 11 月までに CAEBV と確定診断した症例 55 例について検討した。55 例を全身症状・腫瘍臓器の合併症の有無により、「軽症」と「重症」に分類したところ、軽症は 29 例、重症は 26 例であった。同一採取血液検体由来の、全血・末梢血単核球 (PBMC) ・血漿別に検体中の EB ウイルス DNA 量を測定した。EB ウイルス DNA 定量は、自施設の定量システムを、WHO が規定した「標準物質」によりキャリブレーションし、測定値を IU (国際単位) で表記した。重症度を区別できる EB ウイルス DNA 値の検討は、ROC 曲線を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究は倫理委員会の承認後、患者・代諾者の同意を得て行った。

## C. 研究結果

### (1) 重症例における臨床所見

重症例 26 例において認められた臨床所見は、発熱、肝脾腫、肝障害、リンパ節腫脹、皮膚症状（種痘様水疱症・蚊刺過敏症）、2 系統以下の血球減少、汎血球減少の順に頻度が高かった。

### (2) 軽症と重症の 2 群間での EB ウイルス DNA 量の比較

2 群のウイルス量を図 1 に示す。血液検体種別の比較では、全血と末梢血単核球で、軽症と重症の EB ウイルス量に有意差を認めた。

### (3) ROC 曲線による解析

軽症と重症を分ける EB ウイルス量を検討したところ、全血では、カットオフ値、 $10^{4.6}$  (38,000 IU/mL)、感度 86.4%、特異度 50.0%であった。PBMC では、カットオフ値、 $10^{5.8}$  (63,000 IU/ $\mu$ gDNA)、感度 78.9%、特異度 63.6%であった。血漿では、カットオフ値、 $10^{2.7}$  (500 IU/mL)、感度 85.4%、特異度 75.0%であった(図 2)。

## D. 考察

(1) CAEBV における EB ウイルス量を軽症、重症群間で比較したところ、重症群において EB ウイルス量が多くなり、EB ウイルスの増殖が活動的、あるいは感染細胞が多いことが臨床所見に反映されると思われた。

(2) ROC 曲線より 2 群間を分けるカットオフ値を算出した。血漿における感度・特異度が、全血・PBMC より優れていると考えられるが、症例の蓄積が必要である。

## E. 結論

ROC 曲線による解析から全血、PBMC に比較

して、血漿中の EB ウイルス DNA 量が重症度判定に有用な可能性が示唆された。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Ando S, Kawada J, Watanabe T, Suzuki M, Sato Y, Torii Y, Asai M, Goshima F, Murata T, Shimizu N, Ito Y, Kimura H. Tofacitinib Induces G1 Cell-Cycle Arrest and Inhibits Tumor Growth in Epstein-Barr Virus-Associated T and Natural Killer Cell Lymphoma Cells. *Oncotarget*, 7(47):76793-76805, 2016
2. Kamiya Y, Hasegawa T, Takegami Y, Horiba K, Ando S, Torii Y, Kidokoro H, Taichi K, Natsume J, Kawada J, Ito Y. Primary psoas abscess caused by group A streptococcus in a child: Case report with microbiologic findings. *J Infect Chemother*, 22(12):811-4, 2016.
3. Kawano Y, Kawada J, Kamiya Y, Suzuki M, Torii Y, Kimura H, Ito Y. Analysis of circulating human and viral microRNAs in patients with congenital cytomegalovirus infection. *J Perinatol*, 36(12):1101-5, 2016
4. Kawada J, Okuno Y, Torii Y, Okada R, Hayano S, Ando S, Kamiya Y, Kojima S, Ito Y. Identification of Viruses in Cases of Pediatric Acute Encephalitis and Encephalopathy Using Next-Generation Sequencing. *Sci Rep*, 6:33452, 2016
5. Ito Y, Suzuki M, Kawada J, Kimura H. Diagnostic values for the viral load in peripheral blood mononuclear cells of patients with chronic active Epstein-Barr virus disease. *J Infect Chemother*, 22(4):268-71, 2016.

### 2. 学会発表

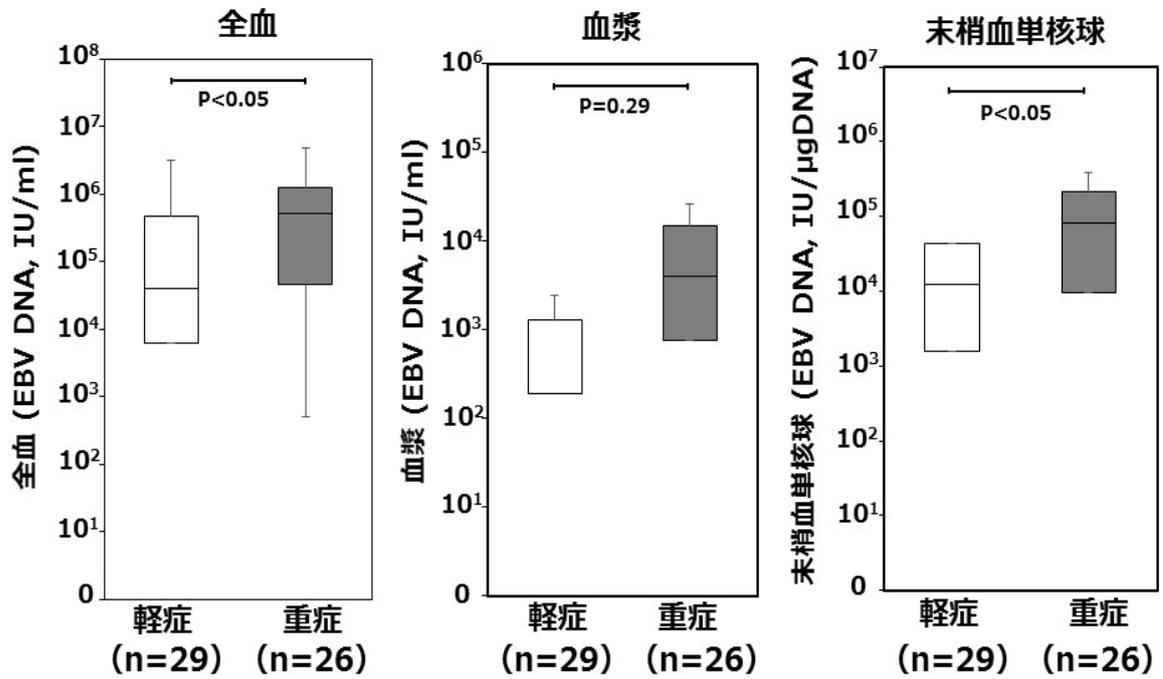
1. 川田潤一、安藤将太郎、渡辺崇広、佐藤好隆、鳥居ゆか、五島典、村田貴之、清水則夫、伊藤嘉規、木村宏、EBV 関連 T および NK リンパ腫におけるトファシチニブの抗腫瘍効果の検討、第 26 回 EB

- ウイルス感染症研究会、東京、2017. 3. 19
2. 堀場千尋、川田潤一、奥野友介、手塚宜行、鈴木高子、安藤将太郎、神谷泰子、鳥居ゆか、高橋義行、伊藤嘉規、小児血流感染症における病原微生物診断への次世代シーケンサーの応用、第 48 回日本小児感染症学会総会・学術集会、岡山、2016. 11. 19-20
  3. 古波藏都秋、河邊慎司、岩田直美、川田潤一、伊藤嘉規、サイトメガロウイルス関連血球貧食性リンパ組織球症(CMV-HLH)の診断に苦慮した乳児例、第 48 回日本小児感染症学会総会・学術集会、岡山、2016. 11. 19-20
  4. 鈴木良輔、河野好彦、辻健史、堀場千尋、川田潤一、伊藤嘉規、水痘の潜伏期に敗血症性ショックを呈した 1 例、第 48 回日本小児感染症学会総会・学術集会、岡山、2016. 11. 19-20
  5. 伊藤嘉規、メタボローム解析が明らかにしたインフルエンザ脳症における新規バイオマーカー候補、第 10 回メタボロームシンポジウム、山形県鶴岡市、2016. 10. 19-21
  6. Jun-ichi Kawada, Yusuke Okuno, Yuka Torii, Kazuhiro Horiba, Takako Suzuki, Shotaro Ando, Yasuko Kamiya, Yoshinori Ito, Next-generation sequencing for the identification of viruses in pediatric acute encephalitis and encephalopathy. IDSA 2016, New Orleans, October 26-30
  7. 伊藤嘉規、新生児ヘルペス単純ヘルペスウイルスによる母子感染、第 52 回日本周産期・新生児医学会学術集会、富山、2016. 7. 16-18
  8. 川田潤一、鳥居ゆか、安藤将太郎、鈴木高子、神谷泰子、小島勢二、伊藤嘉規、次世代シーケンサーを用いた急性脳炎・脳症の病原ウイルスの検出、第 119 回日本小児科学会学術集会、札幌市、2016. 5. 13-15
  9. 永田佳純、河野好彦、前田剛志、松沢麻衣子、林誠司、川田潤一、伊藤嘉規、加藤徹、長井典子、胎児期脳 MRI で特徴的な所見を呈した先天性サイトメガロウイルス感染症の 1 例、第 119 回日本小児科学会学術集会、札幌市、2016. 5. 13-15
2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
なし

## H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
なし

(図1) 2群間におけるEBウイルスDNA量の比較



(図2) ROC曲線 (血漿)

