

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）
（H26-難治等（難）-一般-071）

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

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 木村 宏

平成27（2015）年 3月

目 次

I . 総括研究報告		
	に関する研究	----- 1
木村宏 (資料)		
II . 分担研究報告		
1 . E B V 感染症研究会のこれまでの歩みと慢性活動性 E B V 感染症診断基準作成	谷内江昭宏	----- XX
2 . 慢性活動性 E B ウイルス感染症における感染細胞同定法の研究 : 異種移植モデルの応用	藤原成悦	----- XX
3 . N K / T リンパ腫における J A K 3 に関する研究	大島孝一	----- XX
4 . 種痘様水疱症・蚊刺過敏症の診療ガイドライン作成に向けたコホート調査	岩月啓氏	----- XX
5 . 慢性活動性 E B ウイルス感染症におけるワクチン過敏症の研究	浅田秀夫	----- XX
6 . E B ウイルス関連血球貪食症候群の治療戦略に関する研究	大賀正一	----- XX
7 . 慢性活動性 E B 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	澤田明久	----- XX
8 . E B V -positive T / N K lymphoproliferative diseases の病態解明と 新規治療法の開発	新井文子	----- XX
9 . 免疫抑制療法中に生じた E B V 関連リンパ増殖性疾患に関する研究	伊豆津宏二	----- XX
10 . 遺伝性 E B ウイルス関連リンパ腫増殖症に関する研究	森尾友宏	----- XX
11 . 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 C A E B V 5 症例の検討	笹原洋二	----- XX
12 . 慢性活動性 E B ウイルス感染症の診断指針の改訂 に関する研究	伊藤嘉規	----- XX
III . 研究成果の刊行に関する一覧表		----- XXX
IV . 研究成果の刊行物・別刷		----- XXX

目 次

I . 総括研究報告		
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		
木村 宏	-----	1
II . 分担研究報告		
1 . EBV感染症研究会のこれまでの歩みと慢性活動性EBV感染症診断基準作成		
谷内江昭宏	-----	XX
2 . 慢性活動性EBウイルス感染症における感染細胞同定法の研究		
：異種移植モデルの応用		
藤原成悦	-----	XX
3 . NK/Tリンパ腫におけるJAK3に関する研究		
大島孝一	-----	XX
4 . 種痘様水疱症・蚊刺過敏症の診療ガイドライン作成に向けたコホート調査		
岩月啓氏	-----	XX
5 . 慢性活動性EBウイルス感染症におけるワクチン過敏症の研究		
浅田秀夫	-----	XX
6 . EBウイルス関連血球貪食症候群の治療戦略に関する研究		
大賀正一	-----	XX
7 . 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		
澤田明久	-----	XX
8 . EBV-positive T/NK lymphoproliferative diseases の病態解明と新規治療法の開発		
新井文子	-----	XX
9 . 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		
伊豆津宏二	-----	XX
10 . 遺伝性EBウイルス関連リンパ増殖症に関する研究		
森尾友宏	-----	XX
11 . 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CAEBV5症例の検討		
笹原洋二	-----	XX
12 . 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		
伊藤嘉規	-----	XX
III . 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	XXX
IV . 研究成果の刊行物・別刷	-----	XXX

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))
総括研究報告書

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

研究代表者 木村 宏 名古屋大学大学院医学系研究科ウイルス学・教授

研究要旨

慢性活動性 EB ウイルス感染症、EB ウイルス関連血球貪食症候群、種痘様水疱症、蚊刺過敏症の 4 疾患は、それぞれ疾患概念が確立し異なる臨床像を持つが、EB ウイルスが感染した T 細胞・NK 細胞の増殖に端を発するという共通点がある。また、いずれの疾患も希少かつ難治であり治療指針が未確立な現在、疾患領域・診療科を超え、共通の指針に基づく診療ガイドラインを作成することが喫緊の課題である。本研究班は、4 疾患に対する診療ガイドラインを作成し、更にガイドラインに基づく登録制度(レジストリ)を確立、診療実態の把握・治療成績・長期予後に関する疫学調査を行い、本疾患群の全体像を明らかにすることを目的としている。

平成 26 年度は、診療ガイドライン作成のために、まず診療ガイドライン作成組織を構築し、ガイドラインの大枠・作成方法・スケジュールを決定した。更に 2003 年に制定されて以来改変されていない慢性活動性 EB ウイルス感染症診断基準の見直し及び改定に着手した。また、ガイドラインを作成するにあたって、必要な臨床/疫学情報・データの収集と整理を行った。診療ガイドライン・患者レジストリを確立することであれば、多彩で難治な慢性活動性 EB ウイルス感染症およびその類縁疾患の、実態解明、疾患予後改善、患者の生活の質改善につながると期待される。

研究分担者

浅田秀夫：奈良県立医科大学皮膚科・教授

新井文子：東京医科歯科大学大学院血液内
科学・講師

伊豆津宏二：虎の門病院血液内科・部長

伊藤嘉規：名古屋大学大学院医学系研究科
小児科学・講師

岩月啓氏：岡山大学大学院医歯薬学総合研
究科皮膚科学・教授

大賀正一：山口大学大学院医学系研究科小
児科学教授

大島孝一：久留米大学医学部病理・教授

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

澤田明久：大阪府立母子保健総合医療セン
ター・副部長

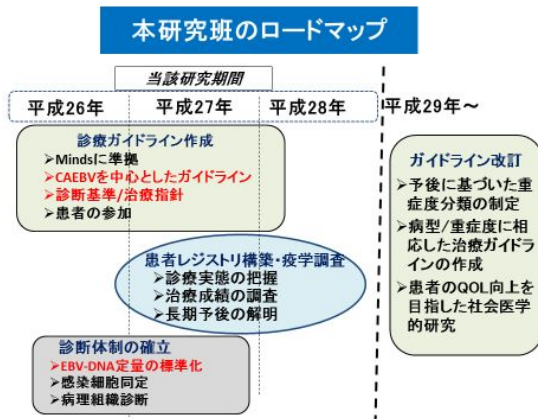
藤原成悦：国立成育医療研究センター研
究所母児感染研究部・部長

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

谷内江昭宏：金沢大学医薬保健研究域医学
系小児科学・教授

A. 研究目的

慢性活動性 EB ウイルス感染症、EB ウイルス関連血球貪食症候群、種痘様水疱症、蚊刺過敏症の 4 疾患は、それぞれ疾患概念が確立し異なる臨床像を持つが、EB ウイルスが感染した T 細胞・NK 細胞の増殖に端を発するという共通点がある。本疾患群は東アジアの小児および若年成人を中心に発症し、感染因子、遺伝因子など複数の要因が関わり、全身・局所的な病変を来すため、特定の疾患グループ/診療科に帰属させることが困難であった。また、いずれの疾患も希少かつ難治であり治療指針が未確立な現在、疾患領域・診療科を超え、共通の指針に基づく診療ガイドラインを作成することが喫緊の課題である。本研究班は、4 疾患に対する診療ガイドラインを作成し、更にガイドラインに基づく登録制度（レジストリ）を確立、診療実態の把握・治療成績・長期予後に関する疫学調査を行い、本疾患群の全体像を明らかにすることを目的としている。



「本研究班のロードマップ」に平成 26 年から 3 年間における研究計画の概要を示した。平成 26 年度は、診療ガイドライン作成のために、まず診療ガイドライン作成組織を構築し、ガイドラインの大枠・作成方法・スケジュールを決定した。更に 2003 年に制定されて以来改変されていない慢性活動性 EB ウイルス感染症診断基準の見直し及び改定に着手した。また、ガイドラインを作成

するにあたって、必要な情報・データの収集と整理を行った。

B. 研究方法

1) **診療ガイドライン作成**：分担研究者を中心として幅広い分野から診療ガイドライン組織を構築することとした。構成は Medical Information Network Distribution

Service (Minds) に準拠した。この組織により、診療ガイドライン作成に着手した。

2) **慢性活動性 EB ウイルス感染症診断基準の改定**：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。

3) **患者レジストリの構築**：レジストリ構築に備え、EBV 感染症研究会第 10 回～第 23 回抄録集ならびに、EBV 感染症研究会事務局資料をもとに、アンケート調査状況、研究会参加状況、発表内容について調査・分析した。

4) **遺伝性 EB ウイルス関連リンパ増殖症**：EBV 関連 HLH や悪性リンパ腫の患者のうち、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、全エキソーム解析を行う。候補遺伝子が見つかった場合には、機能解析を行った。

5) **NK/T 細胞リンパ腫における JAK3 に関する研究**：久留米大学およびタイ、マヒドン大学で診断を行った症例：ATLL：14 例、PTCL-NOS：11 例、CAEBV：4 例、AITL：11 例（久留米大学）、ENKTL 19 例（マヒドン大学）。遺伝子解析は JAK3 の exon13 領域を PCR 法で増幅し、遺伝子配列の解析を行っ

た。また、燐酸化 JAK2 に対する抗体を用い免疫染色を行った。

6) **種痘様水疱症・蚊刺過敏症のコホート調査**: 岡山大学病院皮膚科を受診あるいは検査を実施した 50 症例について予後調査を実施した。われわれが独自に開発した「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)を用いて診断的検査と同時に再活性化マーカーの解析を行う。

7) **慢性活動性 EB ウイルス感染症におけるワクチン過敏症**: 初診の 3 年前からインフルエンザワクチン接種を受ける度に、接種部位の発赤腫脹と、37~38 の発熱、全身倦怠感を認めるようになった 75 歳の女性患者について、ウイルス学・免疫学的な検討を行った。

8) **慢性活動性 EB ウイルス感染症における感染細胞同定法の研究**: EB ウイルス (EBV) 感染細胞の正確な同定が困難な症例において、免疫不全マウスに患者細胞を移植し感染細胞を生着させた後に感染細胞の正確な同定を試みた。

9) **EB ウイルス関連血球貪食症候群の治療戦略**: 単一施設 (九州大学) における 2000 年以降の EBV-HLH 22 名 (15 歳以上 4 名を含む) と全国調査 2003-08 年の EBV-HLH 98 名 (18 歳未満) を比較検討した。また、山口大学小児科における小児例と成人例の自験例の治療経過から、治療の最適化を検討した。

10) **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 CAEBV5 症例の検討**: 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、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、 $\gamma\delta$ T 細胞感染例 1 例、NK 細胞感染例 2 例の計 5 症例である。

11) **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**: 大阪府立母子保健総合医療センターでは、治療として 3 ステップ法からなる戦略をプラットフォームとしている。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による原病の根絶と造血・免疫能の再構築である。各ステップの効果判定や適正化について検証と改善を行っている。2014 年の症例 4 例について、その治療経過を後方解析した。

12) **免疫抑制療法中に生じた EBV 関連リンパ増殖性疾患**: 虎の門病院 血液内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。

13) **EBV-positive T/NK lymphoproliferative diseases の病態解明と新規治療法の開発**: EBV 感染症研究会診断指針に基づいて診断され、十分な肝腎機能を持つ患者に対し L-asparaginase を一日一回、6000 U/m² を隔日で 7 回投与した。主評価項目は一ヵ月後の末梢血 EBV-DNA 量の減少率、副評価項目は有害事象発現率とした。また、EBV 感染腫瘍細胞の Asparagine synthetase (AS) の発現を RT-PCR 法で解析し、L-asparaginase の効果との関連を検討した。(倫理面への配慮)

以上の研究は、各分担研究施設で承認の元に各種指針を遵守して、患者個人情報の保護について十分な配慮を行い、患者の文書による同意を患者の同意を得て施行した。遺伝子解析についても、倫理委員会の承認を受け、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) 診療ガイドライン作成 :

診療ガイドライン作成組織を示した(表1)。組織は、大筋の方針を決める統括委員会、ガイドラインの草稿・推奨を作る作成グループ、システマティックレビューチームの三層構造とした。医学・医療の専門家以外にも、患者の会代表、図書館協会委員を加えた。また、外部評価委員として、日本小児・血液がん学会・日本小児感染症学会・日本血液学会から委員を出していただいた。「ガイドラインの作成手順およびスケジュール」(表2)に示したごとく、統括委員会・作成委員会を通し、各疾患の定義・位置づけを確認し、慢性活動性EBV感染症診断基準の改定(後述)、疾患スコープ・クリニカルクエスチョン(CQ)作成にあたった。

2) 慢性活動性EBウイルス感染症診断基準

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。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。更に、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(詳細は分担研究者伊藤嘉規の報告を参照)。

3) **患者レジストリの構築:** アンケート発送施設は、内科系が圧倒的に多く、小児科、皮膚科、耳鼻咽喉科が続いた。産婦人科、眼科、病理学などは少数であった。回答した施設の中で該当症例ありとしたものは13施設のみであり、小児科施設が大部分を占めた。

4) **遺伝性EBウイルス関連リンパ増殖症:** 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。

5) NK/T細胞リンパ腫におけるJAK3に関する研究:

3例に4カ所の遺伝子変異を見つけたが、それらは、すべてENKTLの症例であり、ENKTLの15.8%に相当する。しかしながら、シンガポールからの報告は活性化に関する遺伝子変異であったが、我々の症例ではサイレントな変化であった。またJAK2の燐酸化を免疫染色で解析したところENKTLの30.8%が陽性であった。

6) 種痘様水疱症・蚊刺過敏症のコホート調査:

50例のコホート調査から、病型分類として古典的種痘様水疱症(cHV)、全身性種痘様水疱症(sHV)、蚊刺過敏症(HMB)と蚊刺過敏症に種痘様水疱症合併例(HV+HMB)に分類できた。この病型分類から、cHVに対して、sHV($p=0.016$)とHMB($P=0,015$)は有意に予後不良であった。検査データおよびEBウイルス関連分子マーカーでは、再活性化を示すBZLF-1 mRNAの発現があるグループでは全身症状が強く、予後不良であった。

7) 慢性活動性EBウイルス感染症におけるワクチン過敏症:

インフルエンザワクチンに特異的に反応するリンパ球とEBウイルス陽性CD8+Tリンパ球の相互作用が病態形成に深く関わっているものと考えられた。また、局所のEBウイルス感染細胞においてウイルス由来発がん蛋白LMP1ならびに細胞増殖マーカーKi-67の発現亢進を認めたことから、本症ではワクチン刺激が、蚊刺過敏症における蚊唾液腺抗原刺激と同様に発がんに影響を及ぼしている可能性が示唆された。

8) **慢性活動性EBウイルス感染症における感染細胞同定法の研究:** 一人のCAEBV患者

表 1 診療ガイドライン作成組織

【2-2 ガイドライン作成組織】

診療ガイドライン作成組織

(1) 診療ガイドライン作成主体	学会・研究会名	厚生労働省「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」研究班			
	関連・協力学会名	日本小児感染症学会			
	関連・協力学会名	日本皮膚科学会			
	関連・協力学会名	日本血液学会			
(2) 診療ガイドライン統括委員会	代表	氏名	所属機関/専門分野	所属学会	作成上の役割
	○	木村 宏	名古屋大学/感染症学	日本小児感染症学会/日本ウイルス学会	
		谷内江昭宏	金沢大学/小児科学	日本小児科学会/日本小児感染症学会	
		岩月啓氏	岡山大学/皮膚科学	日本皮膚科学会/日本皮膚悪性腫瘍学会	
	藤原成悦	成育医療研究センター/ウイルス学	日本ウイルス学会/日本癌学会		
(3) 診療ガイドライン作成事務局	代表	氏名	所属機関/専門分野	所属学会	作成上の役割
	○	川田潤一	名古屋大学/小児科学	日本小児感染症学会	
		佐藤好隆	名古屋大学/ウイルス学	日本ウイルス学会	
(4) 診療ガイドライン作成グループ	代表	氏名	所属機関/専門分野	所属学会	作成上の役割
	○	大賀正一	山口大学/小児科学	日本小児血液・がん学会	SCOPE/CQ作成
		浅田秀夫	奈良県立医科大学/皮膚科学	日本皮膚科学会	SCOPE/CQ作成
		伊豆津宏二	虎ノ門病院/血液内科学	日本血液学会	SCOPE/CQ作成
		伊藤嘉規	名古屋大学/小児科学	日本小児感染症学会	SCOPE/CQ作成
		大島孝一	久留米大学/病理学	日本病理学会	SCOPE/CQ作成
		奥中咲江	CAEBV患者会代表		SCOPE/CQ作成
		川田潤一	名古屋大学/小児科学	日本小児感染症学会	SCOPE/CQ作成
		木村 宏	名古屋大学/ウイルス学	日本小児感染症学会/日本ウイルス学会	SCOPE/CQ作成
(5) システマティックレビューチーム		氏名	所属機関/専門分野	所属学会	作成上の役割
		小嶋智美	日本医学図書館協会/ヘルスサイエンス情報		文献リスト作成
		新井文子	東京医科歯科大学/血液内科学	日本血液学会	CQ回答作成
		今留謙一	成育医療研究センター/ウイルス学	日本ウイルス学会	CQ回答作成
		笹原洋二	東北大学/小児科学	日本小児血液・がん学会	CQ回答作成
		澤田明久	大阪府立母子保健総合医療センター/小児科学	日本小児血液・がん学会	CQ回答作成
		濱田利久	岡山大学/皮膚科学	日本皮膚科学会	CQ回答作成
		村松秀城	名古屋大学/小児科学	日本小児血液・がん学会	CQ回答作成
		和田泰三	金沢大学/小児科学	日本小児感染症学会	CQ回答作成
(6) 外部評価委員会		氏名	所属機関/専門分野	所属学会	
		菊田 敦	福島県立医科大学/小児腫瘍学	日本小児血液・がん学会	
		中野貴司	川崎医科大学/小児科学	日本小児感染症学会	
	小松則夫	順天堂大学/血液内科学	日本血液学会		

慢性活動性EBウイルス感染症とその類縁疾患診療ガイドライン

【表2 ガイドラインの作成手順およびスケジュール】

作成目的の明確化	2014年6月22日
↓	
作成主体の決定	2014年6月22日
↓	
事務局・診療ガイドライン作成組織の編成 第一回診療ガイドライン統括委員会	2014年8月30日
↓	
診断基準改訂/スコープ・CQ作成開始 第一回診療ガイドライン作成委員会	2014年 12月2日
↓	
診断基準改訂/スコープ・CQ 討議	2014年 3月15日
↓	
スコープ・CQ完成/外部評価 システマティックレビュー開始	2015年 6月 予定
↓	
推奨作成	2015年 12月 予定
↓	
診療ガイドライン草案作成	2016年 2月 予定
↓	
外部評価・パブリックコメント募集	2016年 6月 予定
↓	
公開	2016年 12月 予定
↓	
普及・導入・評価	2016～2019年 予定
↓	
改訂	2019年 予定

末梢血単核細胞において、CD56+細胞分画に 1.3×10^6 copies/ μ g DNA、CD8+細胞分画に 8.6×10^3 copies/ μ g DNA の EBV DNA が検出され、感染細胞の正確な同定が困難であった。そこで末梢血単核細胞から CD56+細胞を抗体ビーズにより除去した後 NOG マウスに移植したところ、EBV 陽性の CD56-CD16+CD8+細胞が生着した。この結果より、この患者では、CD56+CD16+CD8-および CD56-CD16+CD8+の 2 つのフェノタイプの細胞に EBV が感染していたことが分かった。

9) **EB ウイルス関連血球貪食症候群の治療戦略**：小児全身性 EBV 陽性 T 細胞リンパ増殖症のうち、CAEBV と EBV-HLH を異なる疾患としてとらえること、とくに 感染細胞の同定と、早期免疫調節療法による介入が治療成績の向上に必須であることが示された。近年小児科領域では、EBV-HLH の治療成績が改善したが、思春期から若年成人における初感染 CD8 陽性 T 細胞感染型（いわゆる初感染 EBV-HLH）の重症例が増えていた。

10) **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 CAEBV5 症例の検討**：CAEBV 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、治癒を目指す可能性が示された。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、赤芽球癆への Rituximab 投与などの対応を要した。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。

11) **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**：2014 年の症例は 4 例。うち 3 例は治療初期より大阪府立母子保健総合医療センターでエントリーし、残る 1 例は化学療法に抵抗性で血球貪食症候群 (HPS) のフレアを発症しての転入であった。前者の 3 例では化学療法と併行して移植ドナー検索が可能で、計画的な移植が可能であった。後者の 1 例は緊急移植が一旦は奏効したが、原病の後遺症と推定される致死的経過を辿った。

12) **免疫抑制療法中に生じた EBV 関連リンパ増殖性疾患**：症例は 54 歳女性で、関節リウマチと診断され、メトトレキサートを用いていた。鼻閉感にて受診し、鼻腔腫瘤生検で節外性 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+、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。メトトレキサー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瘤は消失していた。

13) **EBV-positive T/NK lymphoproliferative diseases の病態解明と新規治療法の開発**：至適治療法開発のため、5 人の EBV-T/NK-LPDs 成人例に対し、L-asparaginase の効果を検討する前向き探索的研究を施行した。末梢血中 EBV 量は 1 例で 0.08 倍の減少を見たが、1 例で 22 倍に増加、2 例は不変であった。1 例は投与中鼻粘膜病変が増悪したため途中で中止した。ウイルス量の低下を見た症例では、発症から治療開始までの期間は 8 か月と他の患者より短かった。EBV 感染腫瘍細胞の Asparagine synthetase (AS) の発現は治療効果と相関しなかった。

13) **EBV-positive T/NK**

lymphoproliferative diseases の病態解明と新規治療法の開発：至適治療法開発のため、5 人の EBV-T/NK-LPDs 成人例に対し、L-asparaginase の効果を検討する前向き探索的研究を施行した。末梢血中 EBV 量は 1 例で 0.08 倍の減少を見たが、1 例で 22 倍に増加、2 例は不変であった。1 例は投与中鼻粘膜病変が増悪したため途中で中止した。ウイルス量の低下を見た症例では、発症から治療開始までの期間は 8 か月と他の患者より短かった。EBV 感染腫瘍細胞の Asparagine synthetase (AS) の発現は治療効果と相関しなかった。

D . 考察

本疾患群は我が国をはじめとする東アジアの小児および若年成人を中心に発症する。遺伝因子、感染因子など複数の要因が関わり、全身・局所的な病変を来すため、

特定の疾患グループ/診療科に帰属させることが困難であった。患者の会（SHAKEの会、<http://caebv.com>）との交流会においても、患者はしばしば受診診療科/施設に悩み、未だ医療従事者の認知が乏しく、しかるべき診断・治療を受けるまでに長期間を要していること、そして生活面においても長期にわたる支障を被っていることが指摘されている。よって、疾患領域・診療科を超え、共通の指針に基づく診療ガイドラインを作成することが急務である。また、医療の均てん化を図るべく、診断体制を整備することも喫緊の課題である。本疾患群に対して、診療科/領域そして小児/成人の枠を超えた研究体制を構築し、診療ガイドラインの作成・公開することにより、患者は早期に適切な医療を享受できる。

患者レジストリを確立することで、診療実態・治療成績・長期予後を把握できる。調査結果に基づき診療ガイドラインを改定し、重症度分類に基づいた診療を確立すれば、患者の予後改善につながる。また、診断・治療の均てん化で、本疾患群の治療成績が向上し、予後のみならず患者とその家族の「生活の質」向上を期待できる。更には、本疾患群の全体像と患者の実態を解明することは、新しい難病政策における医療費助成の仕組みを構築する際の必要な情報となりうると考えられる。

E . 結論

診療ガイドライン作成のために、まずガイドライン作成組織を構築し、ガイドラインの大枠・作成方法・スケジュールを決定した。更に2003年に制定されて以来改定されていない慢性活動性EBウイルス感染症診断基準の見直し及び改定に着手した。また、ガイドラインを作成するにあたって、必要な情報・データの収集と整理を行った。診療ガイドライン・患者レジストリを確立

することでできれば、多彩で難治な慢性活動性EBウイルス感染症およびその類縁疾患の、実態解明、疾患予後改善、患者の生活の質改善につながると期待できる。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1 . 論文発表

1. Kimura H, Karube K, Ito Y, Hirano K, Suzuki M, Iwata S, Seto M. Rare occurrence of JAK3 mutations in NK cell neoplasms in Japan. *Leukemia & Lymphoma* 55:962-3, 2014
2. Siddiquey MN, Nakagawa H, Iwata S, Kanazawa T, Suzuki M, Imadome KI, Fujiwara S, Goshima F, Murata T, Kimura H. Anti-tumor effects of suberoylanilide hydroxamic acid on Epstein-Barr virus-associated T- and natural killer- cell lymphoma. *Cancer Sci* 105:713-722, 2014
3. Ito T, Kawazu H, Murata T, Iwata S, Arakawa S, Sato Y, Kuzushima K, Goshima F, Kimura H. Role of latent membrane protein 1 (LMP1) in chronic active Epstein-Barr virus infection (CAEBV)-derived T/NK cell proliferation. *Cancer Med* 3: 787-795, 2014
4. Kanazawa T, Hiramatsu Y, Iwata S, Siddiquey MN, 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* 20:5075-84, 2014
5. Kawada JI, Ito Y, Iwata S, Suzuki M, Kawano Y, Kanazawa T, Siddiquey MN, Kimura H. mTOR inhibitors induce cell cycle arrest and inhibit tumor growth in

- Epstein-Barr virus-associated T and natural killer cell lymphoma cells. *Clin Cancer Res* 20:5412-22, 2014
6. Coleman CB, Wohlford EM, Smith NA, King CA, Ritchie JA, Baresel PC, Kimura H, Rochford R. Epstein-Barr virus Type 2 latently infects T-cells inducing an atypical activation characterized by expression of lymphotactic cytokines. *J Virol* [Epub ahead of print]
 7. 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.
 8. 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 S, 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.* 2013;91:242-8.
 9. Wada T, Muraoka M, Yokoyama T, Toma T, Kanegane H, Yachie A. Cytokine profiles in children with primary Epstein-Barr virus infection. *Pediatr Blood Cancer.* 2013;60:E46-8.
 10. Himuro Y, Miyagawa F, Fukumoto T, Hasegawa M, Kobayashi N, Asada H: Hypersensitivity to influenza vaccine in a case of Epstein-Barr virus-associated T lymphoproliferative disorder. *Br J Dermatol.* 2015 Feb 3. doi: 10.1111/bjd.13713. [Epub ahead of print]
 11. Kogawa K, Sato H, Asano T, Ohga S, Kudo K, Morimoto A, Ohta S, Wakiguchi H, Kanegane H, Oda M, Ishii E: Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in children: report from the Japan HLH/LCH Study Group. *Pediatr Blood Cancer* 61(7):1257-62, 2014
 12. Nanishi E, Hoshina T, Ohga S, Nishio H, Hara T: Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms during primary Epstein-Barr virus infection. *J Microbiol Immunol Infect* S1684-1182, 2014
 13. 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.* 2014; e-pub ahead of print.
 14. Iwatsuki K, Hamada T, Japan Skin Cancer Society-Lymphoma Study Group. Current therapy of choice for cutaneous lymphomas: complementary to the JDA/JSCS guidelines. *J Dermatol,* 2014; 41: 43-49
 15. Hamada T, Nakamura S, Ko YH, Yoshino T, Ohshima K, Matsuzawa T, Miura K, Takahashi T, Nomura H, Hoshino T, Suzuki D, Shimada S, Iwatsuki K. Epstein-Barr virus-associated T/natural killer-cell lymphomas in the elderly: The first consensus meeting in Kofu 2013. *J Dermatol* 2014; 41: 40-42.
 16. Guo Y, Arakawa F, Miyoshi H, Niino D, Kawano R, Ohshima K. Activated janus kinase 3 expression not by activating mutations identified in natural killer/T-cell lymphoma. *Pathol Int.* 2014;64(6):263-6.
 17. Chang ST, Lu YH, Lu CL, Weng SF, Lin SH, Kuo SY, Chuang YT, Takeuchi K, Ohshima K, Chuang SS. Epstein-Barr virus is rarely associated with diffuse large B cell lymphoma in Taiwan and carries a trend for a shorter median survival time. *J Clin Pathol.*

- 2014 Apr;67(4):326-32.
18. Satou A, Asano N, Nakazawa A, Osumi T, Tsurusawa M, Ishiguro A, Elsayed AA, Nakamura N, Ohshima K, Kinoshita T, Nakamura S. Epstein-Barr Virus (EBV)-positive Sporadic Burkitt Lymphoma: An Age-related Lymphoproliferative Disorder? *Am J Surg Pathol*. 2015 Feb;39(2):227-35.
 19. Yoshimori M, Imadome KI, Komatsu H, Wang L, Saitoh Y, Yamaoka S, Fukuda T, 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.
 20. Fukuda A, Imadome K-I, Sakamoto S, Shigeta T, Uchida H, Matsunami M, Sasaki K, Kanazawa H, Kawano F, Nakazawa A, Fujiwara S, and Kasahara M. Evaluation of the Immune Function Assay in Pediatric Living Donor Liver Transplantation. *Pediatr Transplant* 2014 Nov 23. doi: 10.1111/ptr.12402. [Epub ahead of print]
 21. Fujiwara S, Kimura H, Imadome K, Arai A, Kodama, E, Morio T, Shimizu N, and Wakiguchi H. Current research on chronic active Epstein-Barr virus infection in Japan. *Pediatr Int*, 56:159-66. 2014.
 22. Fujiwara S, Imadome K, and Takei M. Modeling EBV infection and pathogenesis in new-generation humanized mice. *Exp Mol Med* 47, e136; doi:10.1038/emm.2014.102 Published online 23 January 2015.
 23. Sawada A, Inoue M, Koyama-Sato M, Kondo O, Yamada K, Shimizu M, Isaka K, Kimoto T, Kikuchi H, Tokimasa S, Yasui M, Kawa K. Umbilical cord blood as an alternative source of reduced-intensity hematopoietic stem cell transplantation for chronic Epstein-Barr virus-associated T or natural killer cell lymphoproliferative diseases. *Biol Blood Marrow Transplant* 20: 214-221, 2014.
 24. 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
 25. 木村 宏、高橋恵美子、大島孝一. 小児EBV陽性T細胞性リンパ増殖性疾患. リンパ腫アトラス, 森茂郎、監修. 文光堂, p174-177, 2014
 26. 澤田明久, 井上雅美. 慢性活動性EBウイルス感染症の病態と治療. 日本造血細胞移植学会誌 3: 1-11, 2014.
 27. 新井文子. 血球貪食症候群. 今日の臨床サポート(改訂第2版)、エルゼビア, 東京, 2014
 28. 新井文子. 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 p2-6 医学書院
- ## 2. 学会発表
1. Kimura H. T/NK cell lymphomagenesis. EBV 50th Anniversary Conference, Keble College, Oxford, March 23-25, 2014
 2. 木村 宏. シンポジウム「ウイルス感染症診療のこれから」ウイルス関連血球貪食症候群. 第55回臨床ウイルス学会. 札幌. 2014年6月15日
 3. Kimura H. International Session- Epstein-Barr virus-associated lymphomas-. Current understanding of the role of Epstein-Barr virus in lymphomagenesis. The 12th annual meeting of Japanese Society of Medical Oncology, Fukuoka, July 18, 2014

4. Siddiquey MNA, Nakagawa H, Iwata S, Kanazawa T, Suzuki M, Imadome KI, Fujiwara S, Goshima F, Murata T, Kimura H. Anti-tumr effects of suberoylanilide hydroxamic acid on Epstein-Barr virus-associated T- and natural killer-cell lymphoma. The 39th International Herpesvirus Workshop, Kobe, July 22, 2014
5. 村田貴之、伊藤卓冬、川津英賢、岩田誠子、佐藤好隆、五島典、木村宏. 慢性活動性 EBV 感染症における LMP1 の役割. 第 73 回日本癌学会学術総会, 横浜、2014 年 9 月 25 日.
6. 鈴木道雄、岩田誠子、Siddiquey MNA、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 年 11 月 10 日.
7. 榊原康久、村岡正裕、和田泰三、東馬智子、谷内江昭宏. 蚊刺過敏症症例における蚊特異的 IgE の検出：好塩基球活性化試験を用いた解析. 第 46 回日本小児感染症学会 東京、2014 年 10 月 18 日
8. 氷室佑季子、福本隆也、森井武志、長谷川正俊、浅田秀夫：インフルエンザワクチン接種部位の持続する発赤が契機となり診断された EBV 関連 T 細胞増殖症の一例. 第 113 回日本皮膚科学会総会、京都、2014 年 5 月 30 日
9. 大賀正一：EB ウイルス感染症に伴う難治性疾患. 第 124 回山口県小児科医会総会・山口地方会 合同特別講演、宇部、2014 年 7 月 13 日
10. 大賀正一：リンパ増殖性疾患～Epstein-Barr ウイルスの関与する遺伝性素因～第 76 回 日本血液学会学術集会 教育講演、大阪、2014 年 10 月 31 日
11. 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
12. 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
13. Imadome K, Matsuda G, Kawano F, Kodama E, Arai A, Shimizu N, Fujiwara S. Applications of mouse models of EBV-associated diseases for the evaluation of novel therapies. 16th International Symposium on EBV and Associated Diseases. Brisbane, 16-19 July, 2014.
14. Imadome K, Matsuda G, Kawano F, Kodama E, Arai A, Shimizu N, Fujiwara S. Preclinical studies of novel therapies for Epstein-Barr virus-associated diseases in humanized mouse models. 39th Annual International Herpesvirus Workshop. Kobe, 20-23 July, 2014.
15. Honami Komatsu, Ken-Ichi Imadome, Tomotaka Yata, Takatoshi Kiyama, Shigeyoshi Fujiwara, Osamu Miura, Ayako Arai. STAT3 is activated by EBV infection through LMP1 in EBV-T-LPDs and can be a therapeutic target. 第 76 回日本血液学会、大阪、2014 年 10 月 31 日- 11 月 2 日
16. 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
17. 澤田明久、井上雅美、佐藤真穂、近藤 統、眞弓あずさ、井坂華奈子、樋口紘平、清水真理子、安井昌博、河 敬世. 慢性活動性 EB ウイルス感染症：成人および小児に

おける同種造血幹細胞移植成績の比較 .
第 36 回日本造血細胞移植学会 . 沖縄 .
2014 年 3 月 7-9 日 .

56th ASH Annual Meeting and Exposition.
San Francisco, Dec 5-8, 2014

18. Mayumi A, Sawada A, Maho Sato, Shimizu M, Ioi A, Higuchi K, Kondo O, Yasui M, Kawa K, Inoue M. Favorable impact of intensified conditioning regimen on the engraftment of cord blood transplantation for chronic Epstein-Barr virus-associated T or Natural Killer cell lymphoproliferative diseases. The 19th congress of the Asia-Pacific Blood and Marrow Transplantation. Hangzhou, China. 16th-19th/Oct/2014.
19. 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、東京、2014 年 3 月 20 日
20. Arai A. Treatment for EBV-positive lymphoproliferative diseases. NK 腫瘍研究会、東京、2014 年 3 月 16 日
21. 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.

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

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

EBV 感染症研究会のこれまでの歩みと慢性活動性 EBV 感染症診断基準作成

研究分担者氏名：谷内江昭宏 所属：金沢大学医薬保健研究域医学系 職名：教授

研究要旨

EBV 感染症研究会は 20 年以上前に慢性活動性 EBV 感染症の病態解明や治療法開発に関心を持つ小児科医を中心に発足した。以来、皮膚科、耳鼻咽喉科、内科領域の医師の参加も得て、広く EBV 関連リンパ増殖性疾患の病態解析を中心テーマに活動が継続されてきた。学術研究会の開催が主要な目的ではあったが、同時に埋もれて診断されていない症例発掘のためにアンケート調査を継続して施行してきた。さらに慢性活動性 EBV 感染症については診断基準を作成し論文発表も行ってきた。これらの成果は、本研究班における診療ガイドライン作成や患者レジストリ構築につながるものである。この報告書では、EBV 感染症研究会のこれまでの歴史を振り返る。

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、EBV 感染症研究会のこれまでの活動の経過を調査し分析する。

B . 研究方法

EBV 感染症研究会第 10 回～第 23 回抄録集ならびに、EBV 感染症研究会事務局資料をもとに、アンケート調査状況、研究会参加状況、発表内容について調査・分析した。

(倫理面への配慮)

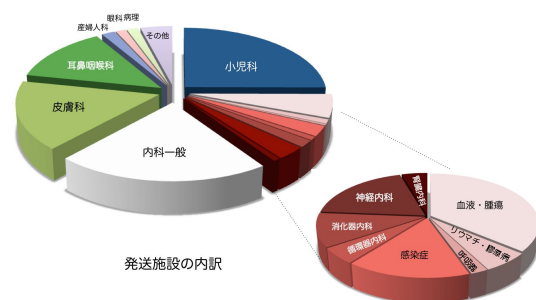
これまでの研究会発表資料に基づいた研究であり、倫理面で新たに配慮すべき事項はない。

C . 研究結果

アンケート発送施設は、内科系が圧倒的に多く、小児科、皮膚科、耳鼻咽

喉科が続いた。産婦人科、眼科、病理学などは少数であった。内科系の中では一般内科とされている施設が多かったが、専門が明らかな施設では血液・悪性腫瘍、感染症、神経内科を専門とするものが多く見られた(図 1)。

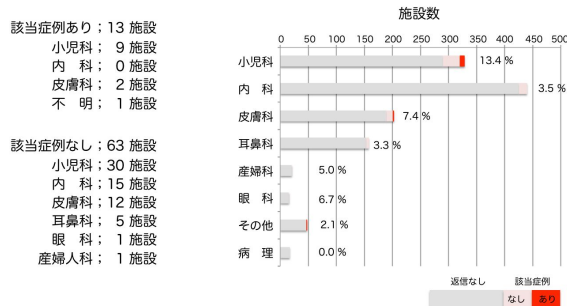
図 1 アンケート送付施設



送付されたアンケートに対する回答率は小児科が最も多く 13.4%、続いて皮膚科が 7.4%であった。最も送付施設数の多かった内科の回答率は低値にとどまった。回答した施設の中で該当症例ありとしたものは 13 施設のみ

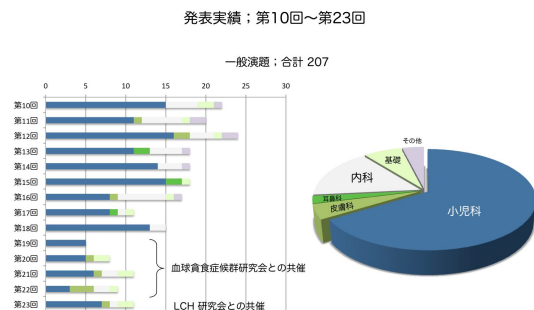
であり、小児科施設が大部分を占めた（図2）。

図2 アンケート回答率



研究会での発表実績は、毎回小児科が2/3を占めた。次いで内科、基礎、皮膚科が多く発表していた。当初は20演題前後であったが、ここ数年は他の研究会と前後しての開催ということもあり10演題程度の発表となっている（図3）。

図3 発表実績



特別講演のテーマは、その時々的重要な課題を反映している。図4で示すように、診断基準の作成、治療指針の作成が会員の重要な関心事であり続けたことがわかる。

図4 特別講演のテーマ

第10回：特別講演「慢性炎症とリンパ腫」	青登 亮之
特別講演「活性化自己リンパ球によるウイルス感染症の治療」	関根 輝彬
第11回：特別講演「消化管におけるEBウイルス感染症」	柳井 秀雄
第12回：特別講演「種痘株水疱症と蚊刺過敏症の病態について」	岩月 啓氏
第13回：シンポジウム「CAEBVの診断基準」	
第14回：特別講演「EBV関連悪性リンパ腫」	中村 栄男
第15回：特別講演「鼻性NK/T細胞リンパ腫とEBウイルス」	原田 保明
第16回：特別講演「EBVとリンパ球の増殖」	藤原 成悦
第17回：特別講演「EBVに関連した皮膚症状とその発症機序」	浅田 秀夫
第18回：特別講演「EBV-associated LPDについて」	大島 孝一
第19回：特別講演「慢性活動性EBV感染症の治療法」	河 敬世
第20回：シンポジウム「CAEBVの治療指針の作成に向けて」	
第21回：「慢性活動性EBV感染症治療指針作成に向けて」	澤田 明久
第22回：レクチャー「EBV感染症の病態と診断」	木村 宏
第23回：レクチャー「EBV関連リンパ増殖症の新展開」	金兼 弘和

D. 考察

EBV感染症研究会では、小児科医を中心に慢性活動性EBV感染症の診断基準が作成され、治療指針についての検討が重ねられてきた。これらの研究の中で、感染細胞の特異性と臨床像との関連、新たな診断指標の開発や予後に関する研究、造血幹細胞移植に関する知見などはいずれも重要な成果となった。これらの成果が希少疾患であるため診療ガイドラインの存在しないEBV関連リンパ増殖性疾患の診療に与えた影響は大きい。EBV感染症研究会における成果のいくつかは、研究会から英文論文として出版されている。

E. 結論

EBV感染症研究会での実績を踏まえて、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作成が推進されると期待される。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Wada T, Kanegane H, Ohta K, Katoh F, Imamura T, Nakazawa Y, Miyashita R, Hara J, Hamamoto K, Yang X, Filipovich

- AH, Marsh RA, Yachie A. Sustained elevation of serum interleukin-18 and its association with hemophagocytic lymphohistiocytosis in XIAP deficiency. *Cytokine*. 2014;65:74-8.
2. Wada T, Sakakibara Y, Nishimura R, Toma T, Ueno Y, Horita S, Tanaka T, Nishi M, Kato K, Yasumi T, Ohara O, Yachie A. Down-regulation of CD5 expression on activated CD8+ T cells in familial hemophagocytic lymphohistiocytosis with perforin gene mutations. *Hum Immunol*. 2013;74:1579-85.
3. 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 S, 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*. 2013;91:242-8.
4. Wada T, Muraoka M, Yokoyama T, Toma T, Kanegane H, Yachie A. Cytokine profiles in children with primary Epstein-Barr virus infection. *Pediatr Blood Cancer*. 2013;60:E46-8.
- 2.学会発表
1. 榊原康久、村岡正裕、和田泰三、東馬智子、谷内江昭宏 . 蚊刺過敏症症例における蚊特異的 IgE の検出：好塩基球活性化試験を用いた解析. 第 46 回日本小児感染症学会 東京. 2014 年 10 月 18 日
2. 和田泰三、金兼弘和、太田和秀、谷内江昭宏 . XIAP 欠損症における血清 IL-18 の持続高値 . 第 117 回日本小児科学会 名古屋 . 2014 年 4 月 11 日

H . 知的所有権の取得状況

特になし

慢性活動性 EB ウイルス感染症における 感染細胞同定法の研究：異種移植モデルの応用

研究分担者 藤原成悦 国立成育医療研究センター研究所・母児感染研究部・部長

研究要旨 EB ウイルス (EBV) 感染細胞の正確な同定が困難な症例において、免疫不全マウスに患者細胞を移植し感染細胞を生着させた後に感染細胞の正確な同定を試みた。一人の CAEBV 患者末梢血単核細胞において、CD56+細胞分画に 1.3×10^6 copies/ μ g DNA、CD8+細胞分画に 8.6×10^3 copies/ μ g DNA の EBV DNA が検出され、感染細胞の正確な同定が困難であった。そこで末梢血単核細胞から CD56+細胞を抗体ビーズにより除去した後 NOG マウスに移植したところ、EBV 陽性の CD56-CD16+CD8+細胞が生着した。この結果より、この患者では、CD56+CD16+CD8+および CD56-CD16+CD8+の 2 つのフェノタイプの細胞に EBV が感染していたことが分かった。NOG マウスへの移植を介することにより、通常の方法では困難な EBV 感染細胞の同定が可能になるケースが存在すると考えられる。

A. 研究目的

慢性活動性 EB ウイルス (EBV) 感染症の診断には、EBV がどのリンパ球分画に感染しているかを正確に決定する必要がある。通常この作業は、磁気ビーズを付着させた抗体により特定のリンパ球分画を分離し、それぞれの分画に含まれる EBV DNA 量をリアルタイム PCR 法により測定して行う。あるいは、flow-cytometric in situ hybridization (FISH) 法により、リンパ球表面に結合した抗体と in situ hybridization により検出された EBV RNA をフローサイトメーターで同時に検出することにより行う。しかし患者によっては、分離に必要な磁気ビーズ付抗体が入手できないマイナーな分画に感染している場合や、血液サンプル量が

非常に少ない場合などがあり、EBV 感染細胞の同定が困難になる。特に、複数の lineage の細胞に EBV DNA が検出される場合、実際に複数の lineage に感染しているのか、あるいは分画間のクロスコンタミネーションによるのかを見分けるのが困難な場合が多い。私たちは以前に CAEBV 患者末梢血単核細胞を免疫不全マウスの一系統である NOG マウスに移植すると、患者体内で増殖していたのと同じ EBV 感染細胞クローンが生着し全身性に増殖することを示した。このような異種移植モデルマウスでは EBV 感染細胞のみが選択的に増殖するため、そのフェノタイプ解析が容易であった。そこで、患者末梢血では EBV 感染細胞の正確な同定が困難な症例において、末梢血単核細胞

胞を NOG マウスに移植した後生着・増殖した細胞のフェノタイプを解析することにより、感染細胞の正確な同定を行うことを試みた。

B. 研究方法

1. CAEBV 患者

発熱、リンパ節腫脹、肝脾腫、肝機能障害、末梢血 EBV DNA 量上昇などの所見により CAEBV を疑われた。

2. リンパ球分画と EBV DNA 定量

比重遠心法により単核細胞分画を得た後、順番に磁気ビーズ付抗 CD19、抗 CD4、抗 CD8、抗 CD56、抗 CD14 抗体と反応させ、それぞれのマーカーを発現する細胞の分画を得た。単核細胞全体、それぞれの細胞分画、どの抗体とも反応しなかった分画のそれぞれについてリアルタイム PCR 法により EBV DNA 量を測定した。

3. NOG マウスへの異種移植

末梢血単核細胞より CD56⁺細胞を磁気ビーズ付抗体により除去した後、 5×10^5 個の細胞を 6 週齢の雌 NOG マウスの尾静脈内に接種した。接種後毎週末梢血 EBV DNA 量を測定し、 1×10^5 copies/ μ g DNA に達した段階で安楽死させ、全採血を行った。その後上記と同様の方法でリンパ球を分画し、それぞれの EBV DNA 量を測定した。

(倫理面への配慮)

本研究は直接ヒトを対象とする医療行為を含まないが、CAEBV 患者由来ヒト細胞を利用するため、ヘルシンキ宣言に則った倫理的配慮を必要とする。患者本人あるいは保護者に対して、本研究に関する十分な説明を文書と口頭で行い、自由意思による同意書への署名を得ることによりインフォームドコンセントを取得し

た。試料および臨床情報は匿名化され、患者の個人情報は厳重に管理された。動物実験においては、動物実験指針を遵守し、動物愛護の観点から十分な配慮をした。本研究は国立成育医療研究センターの倫理審査委員会および実験動物委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

本患者の末梢血解析の結果、各細胞分画の EBV DNA レベルは以下の通りであった：全単核細胞分画、 2.1×10^4 copies/ μ g DNA；CD19⁺分画、検出感度以下；CD4⁺分画、検出感度以下；CD8⁺分画、 8.6×10^3 copies/ μ g DNA；CD56⁺分画、 1.3×10^6 copies/ μ g DNA；CD14⁺分画、検出感度以下；その他(CD19⁻CD4⁻CD8⁻CD56⁻CD14⁻)、 6.5×10^2 copies/ μ g DNA。さらに詳しい解析により CD56⁺CD8⁻CD16⁺分画に確実に EBV が感染していることが判明した。しかし上記のように CD8⁺分画にも中程度の EBV DNA 量が検出されたことから、CD56⁺CD8⁻CD16⁺分画以外のフェノタイプの細胞にも感染している可能性が考えられた(図 1A)。そこでこの可能性を検証すること、またそのような細胞があるとしたらその詳細なフェノタイプを決定することを目的として NOG マウスへの移植実験を行った。患者末梢血単核細胞から磁気ビーズ付き抗体により CD56⁺細胞分画を除去した後 NOG マウスに移植した。患者末梢血において最も EBV DNA レベルが高かった CD56⁺分画を除いてもマウスに EBV 感染細胞が生着・増殖し、そのフェノタイプは CD56⁻CD16⁺CD8⁺であった(図 1B)。以上より、複数の lineage の細胞に EBV が感染していて患者末梢血を用いた解析ではそのフェノタイプ決定

が困難な場合でも、NOG マウスに移植し EBV 感染細胞を選択的に増幅することにより、詳細なフェノタイプ決定が可能となる場合があることが分かった。

D. 考察

CAEBV 患者末梢血単核細胞を NOG マウスに移植すると EBV 感染細胞が選択的に増殖するため、フェノタイプ解析のために十分な数の感染細胞を得ることができ、患者末梢血では不可能であった解析を行うことができた。以前に私たちは CAEBV 患者末梢血細胞を移植された NOG マウスでは、患者と同一の EBV 感染細胞クローンが増殖していることを示しており、マウスへの移植により患者のものと異なる感染細胞クローンが増殖した例は経験していない。以上より、複数の lineage に EBV が感染している場合や血液量が少ない場合など感染細胞のフェノタイプ決定が困難である場合に、NOG マウスへの移植を行うことにより正確な解析が可能になる場合があると考えられた。ただし、複数の感染細胞クローンが存在する場合、どのクローンも同じ効率でマウスに生着し同じスピードで増殖するかどうかは、ケースにより異なる可能性も考えられ、今後の検討が必要である。

E. 結論

複数の EBV 感染細胞クローンが存在するため、患者末梢血を用いて EBV 感染細胞のフェノタイプ解析が困難であった症例において、末梢血単核細胞を NOG マウスに移植し EBV 感染細胞を増殖させることにより、正確なフェノタイプ解析が可能となった症例を経験した。NOG マウスへの移植は EBV 感染細胞の正確な同定を

するための補助手段として有用であると考えられた。

F. 健康危機情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Siddiquey MN, Nakagawa H, Iwata S, Kanazawa T, Suzuki M, Imadome KI, Fujiwara S, Goshima F, Murata T, Kimura H. Anti-tumor effects of suberoylanilide hydroxamic acid on Epstein-Barr virus-associated T- and natural killer- cell lymphoma. *Cancer Sci.* 2014; 105(6):713-22.
- 2) Yoshimori M, Imadome KI, Komatsu H, Wang L, Saitoh Y, Yamaoka S, Fukuda T, 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.
- 3) Fukuda A, Imadome K-I, Sakamoto S, Shigeta T, Uchida H, Matsunami M, Sasaki K, Kanazawa H, Kawano F, Nakazawa A, Fujiwara S, and Kasahara M. Evaluation of the Immune Function Assay in Pediatric Living Donor Liver Transplantation. *Pediatr Transplant* 2014 Nov 23. doi: 10.1111/petr.12402. [Epub ahead of print]
- 4) Fujiwara S, Kimura H, Imadome K, Arai A, Kodama, E, Morio T, Shimizu N, and Wakiguchi H. Current research on chronic active Epstein-Barr virus infection in Japan. *Pediatr Int*, 56:159-66. 2014.
- 5) Fujiwara S, Imadome K, and Takei M.

Modeling EBV infection and pathogenesis in new-generation humanized mice. *Exp Mol Med* 47, e136; doi:10.1038/emm.2014.102
Published online 23 January 2015.

2 . 著書

なし

3 . 学会発表

(国際学会)

1) Imadome K, Matsuda G, Kawano F, Kodama E, Arai A, Shimizu N, Fujiwara S. Applications of mouse models of EBV-associated diseases for the evaluation of novel therapies. 16th International Symposium on EBV and Associated Diseases. Brisbane, 16-19 July, 2014.

2) Imadome K, Matsuda G, Kawano F, Kodama E, Arai A, Shimizu N, Fujiwara S. Preclinical studies of novel therapies for Epstein-Barr virus-associated diseases in humanized mouse models. 39th Annual International Herpesvirus Workshop. Kobe, 20-23 July, 2014.

3) Siddiquey M, Nakagawa H, Iwata S, Kanazawa T, Suzuki M, Imadome K, Fujiwara S, Goshima F, Murata T, Kimura H. Anti-tumor effects of suberoylanilide hydroxamic acid on Epstein-Barr virus-associated T- and natural killer-cell lymphoma. 39th Annual International Herpesvirus Workshop. Kobe, 20-23 July, 2014.

(国内学会)

1) Honami Komatsu, Ken-Ichi Imadome, Tomotaka Yata, Takatoshi Kiyama, Shigeyoshi Fujiwara, Osamu Miura, Ayako Arai. STAT3 is activated by EBV infection through LMP1 in EBV-T-LPDs and can be a therapeutic target. 第 76 回日本血液学会 2014.10.31 - 11.2 大阪.

H . 知的財産権の出願・登録状況

該当なし。

図 表

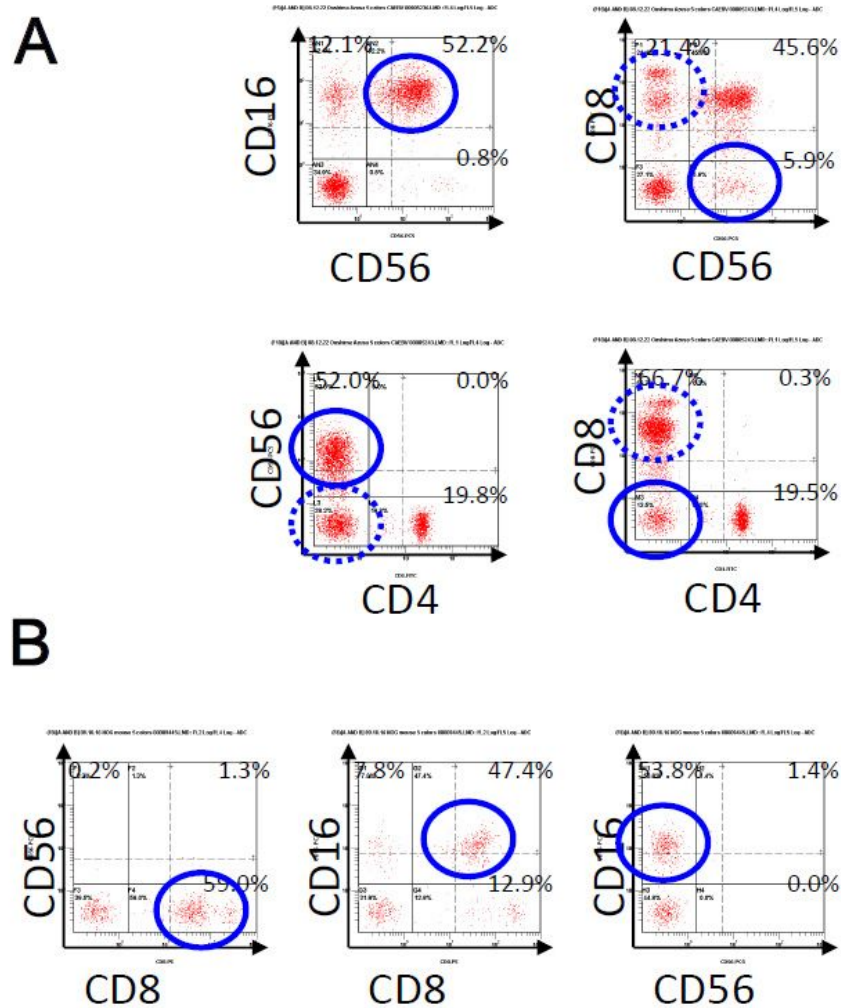


図 1. NOG マウスへの移植を介する EBV 感染細胞分画の決定. A. 患者末梢血単核細胞の解析. EBV DNA が確実に検出された分画を実線、低レベルで検出された分画を破線の丸で示す。B. 患者細胞を移植したマウス末梢血の解析. 患者末梢血単核細胞から CD56+細胞を除去した後 NOG マウスに移植した。EBV 感染細胞が生着した後末梢血単核細胞を解析した。EBV DNA が確実に検出された分画を実線の丸で示す。

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

NK/T 細胞リンパ腫における JAK3 に関する研究

研究分担者 氏名 大島孝一 所属 久留米大学医学部病理 職名 教授

研究要旨

最近シンガポールのグループより Janus Kinase 3 (JAK3)の活性化に関する遺伝子変異の報告があり、それらの遺伝子変異の解析を 59 例の末梢性 T 細胞性リンパ腫(PTCL) および節外性の NK/T 細胞性リンパ腫(ENKTL)について解析を行った。3 例に 4 カ所の遺伝子変異を見つけたが、それらは、すべて ENKTL の症例であり、ENKTL の 15.8%に相当する。しかしながら、シンガポールからの報告は活性化に関する遺伝子変異であったが、我々の症例ではサイレントな変化であった。また JAK2 の磷酸化を免疫染色で解析したところ ENKTL の 30.8%が陽性であった。

A . 研究目的

Janus Kinase 3 (JAK3)は造血細胞の分化に重要な役割を示されており、最近シンガポールのグループより Janus Kinase 3 (JAK3)の活性化に関する遺伝子変異の報告があり、35.4%の ENKTL での活性化遺伝子変異の報告が見られている。今回、それらの遺伝子変異の重要性を末梢性 T 細胞性リンパ腫(PTCL)および節外性の NK/T 細胞性リンパ腫(ENKTL)について解析を行った。

B . 研究方法

対症：久留米大学およびタイ、マヒドン大学で診断を行った症例：ATLL：14 例、PTCL-NOS：11 例、CAEBV：4 例、AITL：11 例(久留米大学)、ENKTL 19 例(マヒドン大学)

方法：ホルマリン固定材料、パラフィンブロックを用い解析を行った。遺伝子解析は JAK3 の exon13 領域を PCR 法で増幅し、遺伝子配列の解析を行った。また、

磷酸化 JAK2 に対する抗体を用い免疫染色を行った。

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

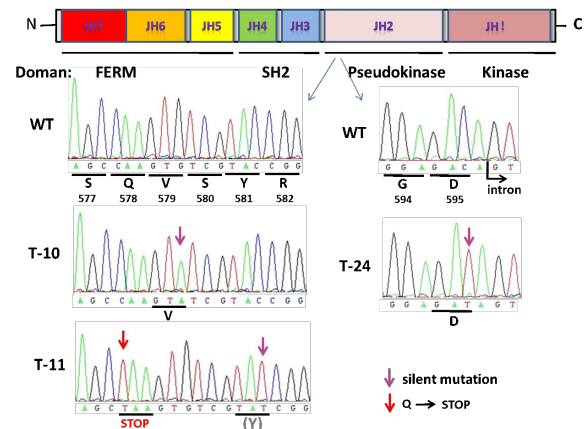


Figure 1. JAK3 mutation sites detected by singer sequencing

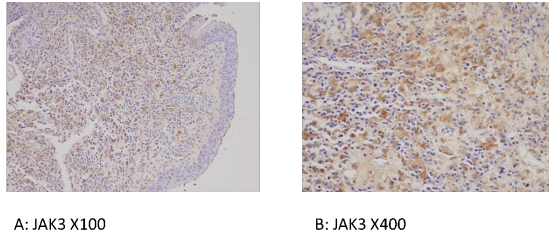


Figure 2. Immunostaining of JAK3 (phospho Y785) against NK/TCL

3例に4カ所の遺伝子変異を見つけたが、それらは、すべて ENKTL の症例であり、ENKTL の 15.8%に相当する。しかしながら、シンガポールからの報告は活性化に関する遺伝子変異であったが、我々の症例ではサイレントな変化であった。また JAK2 の磷酸化を免疫染色で解析したところ ENKTL の 30.8%が陽性であった。

D . 考察

Janus Kinase 3 (JAK3)は造血細胞の分化に重要な役割を示されており、これまで、ATLL やリンパ増殖性疾患での遺伝子変異の報告がある。また、最近シンガポールのグループより Janus Kinase 3 (JAK3)の活性化に関する遺伝子変異の報告があり、35.4%の ENKTL での活性化遺伝子変異の報告が見られている。しかしながら、我々の検索においては、3例に遺伝子変異を見つけたが、それらは、すべて ENKTL の症例でサイレントな変化であった。しかしながら、JAK2 の磷酸化を解析したところ ENKTL の 30.8%が活性化されており、遺伝子変異によらない活性化経路があると考えられる。

E . 結論

今後、JAK2 の活性経路の解析することで治療法の進展の可能性のあるものと考えられる。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1 . 論文発表

1. Activated janus kinase 3 expression not byactivating mutations identified in natural killer/T-cell lymphoma. Guo Y, Arakawa F, Miyoshi H, Niino D, Kawano R, Ohshima K. *Pathol Int.* 2014;64(6):263-6.
2. Epstein-Barr virus is rarely associated with diffuse large B cell lymphoma in Taiwan and carries a trend for a shorter median survival time. Chang ST, Lu YH, Lu CL, Weng SF, Lin SH, Kuo SY, Chuang YT, Takeuchi K, Ohshima K, Chuang SS. *J Clin Pathol.* 2014 Apr;67(4):326-32
3. MicroRNA-150 inhibits tumor invasion and metastasis by targeting the chemokine receptor CCR6, in advanced cutaneous T-cell lymphoma. Ito M, Teshima K, Ikeda S, Kitadate A, Watanabe A, Nara M, Yamashita J, Ohshima K, Sawada K, Tagawa H. *Blood.* 2014 Mar 6;123(10):1499-511
4. Loss of NDRG2 expression activates PI3K-AKT signalling via PTEN phosphorylation in ATLL and other cancers. Nakahata S, Ichikawa T, Maneesay P, Saito Y, Nagai K, Tamura T, Manachai N, Yamakawa N, Hamasaki M, Kitabayashi I, Arai Y, Kanai Y, Taki T, Abe T, Kiyonari H, Shimoda K, Ohshima K, Horii A, Shima H, Taniwaki M, Yamaguchi R, Morishita K. *Nat Commun.* 2014 Feb 26;5:3393.
5. Pediatric Subcutaneous Panniculitis-Like T-Cell Lymphoma with Favorable Result by Immunosuppressive Therapy: A Report of Two Cases. Nagai K, Nakano N, Iwai T, Iwai A, Tauchi H, Ohshima K, Ishii E. *Pediatr Hematol Oncol.* 2014 Mar 31. [Epub ahead of print]
6. Relationship between 2-deoxy-2-[(18)F]-fluoro-d-glucose uptake and clinicopathological factors in patients with diffuse large B-cell lymphoma. Hirose Y, Suefuji H, Kaida H, Hayakawa M, Hattori S, Kurata S, Watanabe Y, Kunou Y, Kawahara A, Okamura T, Ohshima K, Kage M,

- Ishibashi M, Hayabuchi N. Leuk Lymphoma. 2014 Mar;55(3):520-5.
7. Gene expression profiling of Epstein-Barr virus-positive diffuse large B-cell lymphoma of the elderly reveals alterations of characteristic oncogenetic pathways. Kato H, Karube K, Yamamoto K, Takizawa J, Tsuzuki S, Yatabe Y, Kanda T, Katayama M, Ozawa Y, Ishitsuka K, Okamoto M, Kinoshita T, Ohshima K, Nakamura S, Morishima Y, Seto M. Cancer Sci. 2014 May;105(5):537-44.
 8. CD5-positive follicular lymphoma characterized by CD25, MUM1, low frequency of t(14;18) and poor prognosis. Miyoshi H, Sato K, Yoshida M, Kimura Y, Kiyasu J, Ichikawa A, Ishibashi Y, Arakawa F, Nakamura Y, Nakashima S, Niino D, Sugita Y, Ohshima K. Pathol Int. 2014 Mar;64(3):95-103.
 9. Array-comparative genomic hybridization profiling of immunohistochemical subgroups of diffuse large B-cell lymphoma shows distinct genomic alterations. Guo Y, Takeuchi I, Karnan S, Miyata T, Ohshima K, Seto M. Cancer Sci. 2014 Apr;105(4):481-9.
 10. Microarray analysis of gene expression by microdissected epidermis and dermis in mycosis fungoides and adult T-cell leukemia/lymphoma. Hashikawa K, Yasumoto S, Nakashima K, Arakawa F, Kiyasu J, Kimura Y, Saruta H, Nakama T, Yasuda K, Tashiro K, Kuhara S, Hashimoto T, Ohshima K. Int J Oncol. 2014 Sep;45(3):1200-8.
 11. Dysregulation of BMI1 and microRNA-16 collaborate to enhance an anti-apoptotic potential in the side population of refractory mantle cell lymphoma. Teshima K, Nara M, Watanabe A, Ito M, Ikeda S, Hatano Y, Ohshima K, Seto M, Sawada K, Tagawa H. Oncogene. 2014 Apr 24;33(17):2191-203.
 12. Activated janus kinase 3 expression not by activating mutations identified in natural killer/T-cell lymphoma. Guo Y, Arakawa F, Miyoshi H, Niino D, Kawano R, Ohshima K. Pathol Int. 2014 Jun;64(6):263-6.
 13. Lineage-specific growth inhibition of NK cell lines by FOXO3 in association with Akt activation status. Karube K, Tsuzuki S, Yoshida N, Arita K, Kato H, Katayama M, Ko YH, Ohshima K, Nakamura S, Kinoshita T, Seto M. Exp Hematol. 2012 Dec;40(12):1005-1015.
 14. Comprehensive gene expression profiles of NK cell neoplasms identify vorinostat as an effective drug candidate. Karube K, Tsuzuki S, Yoshida N, Arita K, Kato H, Katayama M, Ko YH, Ohshima K, Nakamura S, Kinoshita T, Seto M. Cancer Lett. 2013 Jun 1;333(1):47-55.
 15. Molecular characterization of chronic-Type adult T-cell leukemia/lymphoma. Yoshida N, Karube K, Utsunomiya A, Tsukasaki K, Imaizumi Y, Taira N, Uike N, Umino A, Arita K, Suguro M, Tsuzuki S, Kinoshita T, Ohshima K, Seto M. Cancer Res. 2014 Nov 1;74(21):6129-38.
 16. Epstein-Barr Virus (EBV)-positive Sporadic Burkitt Lymphoma: An Age-related Lymphoproliferative Disorder? Satou A, Asano N, Nakazawa A, Osumi T, Tsurusawa M, Ishiguro A, Elsayed A, Nakamura N, Ohshima K, Kinoshita T, Nakamura S. Am J Surg Pathol. 2015 Feb;39(2):227-35.
- 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（難治性疾患政策研究事業）
分担研究報告書

種痘様水疱症・蚊刺過敏症の診療ガイドライン作成に向けたコホート調査

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 教授

研究要旨 慢性活動性 EB ウイルス感染症および類縁疾患である蚊刺過敏症や種痘様水疱症の生命予後の調査を行った。50例のコホート調査から、病型分類として古典的種痘様水疱症（cHV）、全身性種痘様水疱症（sHV）、蚊刺過敏症（HMB）と蚊刺過敏症に種痘様水疱症合併例（HV+HMB）に分類することは予後を予測するうえで妥当であると考えられた。コホート調査期間中には cHV の死亡例はなかったが、cHV に対して、sHV ($p=0.016$) と HMB ($P=0.015$) は有意に生命予後が不良であった。重症例および予後不良を示す分子マーカーとして EB ウイルス再活性化シグナルの BZLF-1 mRNA を見出した。これらの病型分類と生命予後に関する根拠をもとに、診断基準と重症度基準を作成した。診療ガイドラインの準備中である。

研究協力者

三宅智子 岡山大学病院皮膚科医員
山本剛伸 川崎医科大学皮膚科講師
平井陽至 ミュンヘン大学医学部研究員

A . 研究目的

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生命予後と、重症化および予後不良因子の解析を行い、診断基準と診療ガイドライン作成の科学的根拠とする。

- 1) 皮膚 EB ウイルス関連 T/NK リンパ球増殖症である蚊刺過敏症・種痘様水疱症のコホート調査を行う。
- 2) 同時に生体試料の保管を行う。
- 3) 重症化や予後不良を予見できる臨床検査データや分子マーカーを検証する。以上の研究は、倫理委員会承認を得て実施する。
- 4) 得られたデータから種痘様水疱症、蚊刺過敏症の診断基準と診療ガイドラインを作成する。

B . 研究方法

- 1) 蚊刺過敏症・種痘様水疱症のコホート調査

当院を受診あるいは検査を実施した 50 症例について予後調査を実施した。（倫理委員会：岡山大学 No.419, 2011）

2) 生体試料の保管

診断に用いた生体試料は、患者・家族の同意のもとで院内において保管している。新たな研究に試料を用いる場合には、再度、倫理委員会承認を得る。

3) 重症化や予後不良因子

われわれが独自に開発した「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）を用いて診断的検査と同時に再活性化マーカーの解析を行う。（倫理委員会：岡山大学 No.287, 2014）

4) 種痘様水疱症、蚊刺過敏症の診断基準と診療ガイドラインの作成

班員の討議をもとに診断基準を作成し、ガイドライン作成手順にしたがって診療ガイドライン作成準備を行う。

C . 研究結果

1) 蚊刺過敏症・種痘様水疱症のコホート調査

50 例のコホート調査から、病型分類として古典的種痘様水疱症（cHV）、全身性種痘様水疱症（sHV）、蚊刺過敏症（HMB）と蚊刺過敏症に種痘様水疱症合

併例 (HV+HMB) に分類できた (添付資料 1)。この病型分類から、cHV に対して、sHV ($p=0.016$) と HMB ($P=0.015$) は有意に予後不良であった (論文発表 1)。

細胞学的には、HMB は EB ウイルス感染 NK 細胞の増殖が特徴であった。小児 cHV は末梢血に EB ウイルス感染 T 細胞が増加しており、sHV のとくに成人例では T 細胞が増加する例が見られた。

生命予後を決める因子の一つは、発症年齢であり、9 歳以上の発症例は予後不良であった ($p<0.01$)。予後のよい cHV を除いても、やはり 9 歳以上の発症は予後不良であった ($p<0.01$)。

検査データおよび EB ウイルス関連分子マーカーでは、再活性化を示す BZLF-1 mRNA の発現があるグループでは全身症状が強く、予後不良であった。

2) 生体試料の保管

われわれが独自に開発した「ウイルス潜伏感染の検査方法および検査用キット」は、皮膚病変の痂皮や壊死組織を非観血的な方法で採取して、RNA 抽出と cDNA 作成を行う低侵襲検査である。材料は、乾燥状態で移送が可能である。検査に用いた試料 (50 検体以上) を当科で保管している。

3) 重症化や予後不良因子

検査データおよび EB ウイルス関連分子マーカーでは、再活性化を示す BZLF-1 mRNA の発現があるグループでは全身症状が強く、予後不良であった。

4) 種痘様水疱症、蚊刺過敏症の診断基準。

皮膚 EB ウイルス関連 T/NK リンパ球増殖症を、4 型に分類することは生命予後や重症化の観点から妥当と考えられた (添付資料 2)。

D . 考察

慢性活動性 EB ウイルス感染症や皮膚 EB ウイルス関連 T/NK リンパ球増殖症は、病態や予後が異なる。本研究では、cHV, sHV, HMB, HV+HMB の 4 型に分類することで、予後を予測することが可能になった。また、発症年齢が 9 歳未満の場合には比較的予後は良好だが、9 歳以降の発症例では予後が悪いことが分かった。さ

らに分子マーカーとして、BZLF-1 mRNA が予後不良を示すマーカーであると考えられた。

E . 結論

種痘様水疱症と蚊刺過敏症は、慢性活動性 EB ウイルス感染症の類縁疾患であるが、その診断には皮膚臨床所見、病理所見、免疫病理所見に加えて、EB ウイルス感染リンパ球サブセットの解析が必須である。また重症化および生命予後の予見には BZLF-1 mRNA のような再活性化マーカーのモニターが必要である。

標準的施設で用いる第一段階の診断基準に加えて、病態把握には拠点施設での専門的検査が、治療介入や予後を予見するために必要である。

F . 健康危険情報

特になし

G . 研究発表 (平成 26 年度)

論文発表

1. 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 vacciniiforme and hypersensitivity to mosquito bites. Br J Dermatol. 2014; e-pubahead of print.
2. Iwatsuki K, Hamada T, Japan Skin Cancer Society-Lymphoma Study Group. Current therapy of choice for cutaneous lymphomas: complementary to the JDA/JSCS guidelines. J Dermatol, 2014; 41: 43-49
3. Hamada T, Nakamura S, Ko YH, Yoshino T, Ohshima K, Matsuzawa T, Miura K, Takahashi T, Nomura H, Hoshino T, Suzuki D, Shimada S, Iwatsuki K. Epstein-Barr virus-associated T/natural killer-cell lymphomas in the elderly: The first consensus meeting in Kofu 2013. J Dermatol 2014; 41: 40-42.
4. Sugaya M, Tokura Y, Hamada T, Tsuboi R, Moroi Y, Nakahara T, Amano M, Ishida S, Watanabe D, Tani M, Ihn H, Aoi J, Iwatsuki K. Phase II study of i.v. interferon-gamma in Japanese patients with mycosis fungoides. J Dermatol

2014; 41: 50-56.

5. Tsukasaki K, Imaizumi Y, Tokura Y, Ohshima K, Kawai K, Utsunomiya A, Amano M, Watanabe T, Nakamura S, **Iwatsuki K**, Kamihira S, Yamaguchi K, Shimoyama M. Meeting report on the possible proposal of an extranodal primary cutaneous variant in the lymphoma type of adult T-cell leukemia-lymphoma. J Dermatol 2014; 41: 26-28.
6. Hamada T, Iwatsuki K. Cutaneous lymphoma in Japan: A nationwide study of 1733 patients. J Dermatol. 2014; 41: 3-10

学会発表

1. 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日において発表予定：抄録採択済み、アブストラクト賞を受賞）

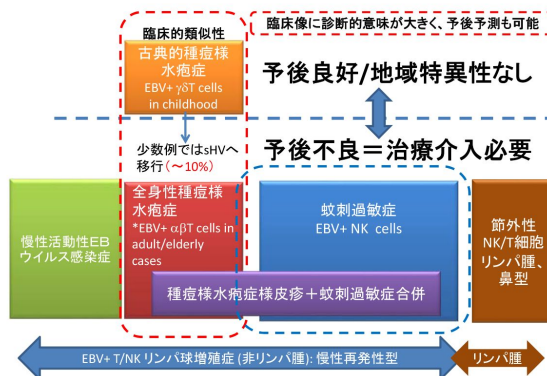
H . 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

「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

Tentative criteria for cHV, sHV and HMB

In addition to clinical features,
 1) systemic symptoms (high-grade fever, lymphadenopathy or hepatosplenomegaly) and/or
 2) abnormalities in "routine" blood tests* *gdT cell subset or molecular markers, not included

No. ↓	Yes. ↓	+ mosquito/insect bites or related episodes such as vaccination
cHV	sHV	



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 ウイルス感染症におけるワクチン過敏症の研究

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

インフルエンザワクチン接種の度に接種部位の発赤腫脹、発熱、全身倦怠感を生じた CD8⁺T 細胞型慢性活動性 EB ウイルス感染症患者について研究した結果、インフルエンザワクチンに特異的に反応するリンパ球と EB ウイルス陽性 CD8⁺T リンパ球の相互作用が病態形成に深く関わっているものと考えられた。また、局所の EB ウイルス感染細胞においてウイルス由来発がん蛋白 LMP1 ならびに細胞増殖マーカー Ki-67 の発現亢進を認めたことから、本症ではワクチン刺激が、蚊刺過敏症における蚊唾液腺抗原刺激と同様に発がんに影響を及ぼ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。慢性活動性 EB ウイルス感染症では、まれにワクチン接種によっても蚊刺過敏症と類似の症状をきたすことが知られているが、その病態の詳細は不明である。

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(特にヒトスジシマカ)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、EB ウイルスが感染している NK 細胞または T 細胞に作用して、ウイルスの再活性化や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、インフルエンザワクチン接種

により、繰り返し蚊刺過敏症類似の症状をきたした慢性活動性 EB ウイルス感染症患者について、その病態を研究した。

B . 研究方法

初診の 3 年前からインフルエンザワクチン接種を受ける度に、接種部位の発赤腫脹と、37~38 の発熱、全身倦怠感を認めるようになった 75 歳の女性患者について、以下の検討を行った。

EB ウイルス抗体価の測定ならびに末梢血中 EB ウイルスゲノム数の定量

EB ウイルス感染細胞の同定とクロナリティの検索

インフルエンザワクチンによる患者リンパ球の刺激試験

インフルエンザワクチン接種部位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

末梢血塗抹標本:大型の顆粒リンパ球の増多を確認。

血清抗 EB ウイルス抗体価:抗 VCA IgG が 320 倍とやや高値を示したが、それ以外の抗体価は、正常範囲内であった。

末梢血の EB ウイルス DNA 定量: 3.0×10^2 コピー/ μg

EBV-terminal repeat の Southern blotting: 単一バンドを検出し EB ウイルス感染細胞の単クローン性増殖を確認。

T 細胞受容体解析: β 鎖と γ 鎖の遺伝子再構成を検出。

インフルエンザワクチンによる患者リンパ球の刺激試験:トリチウムサイミジンの取り込みにより測定した結果、Stimulation Index は 1324% と著明な高値をみとめた。

ワクチン接種部位の発赤を伴った硬結の病理組織学的検討:脂肪織にリンパ球の著明な浸潤がみられ、血管周囲にはやや大型のリンパ球が密に浸潤していた。大型のリンパ球は、CD3, CD8, granzymeB, Ki-67, EBER, LMP1 が陽性、CD56 は陰性であった。

D . 考察

今回、CD8⁺T 細胞型慢性活動性 EB ウイルス感染症患者に生じたインフルエンザワクチン過敏症について研究した結果、患者リンパ球がインフルエンザワクチンに対して著しい反応を示したことから、ワクチン接種局所に EB ウイルス陽性 CD8⁺T 細胞が密に浸潤していたことから、インフルエンザワクチンに特異的なリンパ球と EB ウイルス陽性リンパ球の相互作用が病態形成に深く関

わっているものと推測された。また、蚊刺過敏症では、蚊唾液腺抗原刺激が CD4⁺T 細胞を介して EB ウイルス発がん蛋白 LMP1 の発現を誘発し、細胞増殖に関わるものと考えられているが、今回の症例でも EB ウイルス感染細胞において LMP1 ならびに細胞増殖マーカー Ki-67 の発現を認めたことから、本症ではワクチン刺激が、蚊刺過敏症における蚊唾液腺抗原刺激と同様に発がんに影響を及ぼしている可能性が示唆された。

E . 結論

慢性活動性 EB ウイルス感染症患者におけるインフルエンザワクチン過敏症の病態は、蚊刺過敏症と極めて類似していることが判明した。

F . 健康危険情報

該当なし。

G . 研究発表

1 . 論文発表

1. Himuro Y, Miyagawa F, Fukumoto T, Hasegawa M, Kobayashi N, Asada H: Hypersensitivity to influenza vaccine in a case of Epstein-Barr virus-associated T lymphoproliferative disorder. Br J Dermatol. 2015 Feb 3. doi: 10.1111/bjd.13713. [Epub ahead of print]
2. 浅田秀夫: 重症薬疹とウイルス感染 (特集: 重症薬疹の診断と治療 アップデート). アレルギー・免疫 21, 1214-9, 2014

2 . 学会発表

1. 浅田秀夫: ウイルスと薬疹の接点. 第 1 回総合アレルギー講習会 横浜, 2014 年 12 月 20 日.
2. 氷室佑季子、福本隆也、森井武志、長谷川正俊、浅田秀夫: インフルエンザワクチン接種部位の持続する発赤が契

機となり診断された EBV 関連 T 細胞
増殖症の一例. 第 113 回日本皮膚科学
会総会、京都. 2014 年 5 月 30 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

EB ウイルス関連血球貪食症候群の治療戦略に関する研究

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
下村 麻衣子 同・小児科学 助教
市村 卓也 同・小児科学 診療助教

研究要旨：慢性活動性 Epstein-Barr ウイルス (EBV) 感染症 (CAEBV) 患者は経過中に、血球貪食症候群/血球貪食性リンパ組織球症 (HLH) を発症することがある。一方、初感染 EBV 関連 HLH (EBV-HLH) の発症に引き続いて CAEBV の診断に至る例は極めて稀である。自験例の集積と全国調査から、小児全身性 EBV 陽性 T 細胞リンパ増殖症のうち、CAEBV と EBV-HLH を異なる疾患としてとらえること、とくに 感染細胞の同定と、早期免疫調節療法による介入が治療成績の向上に必須であることを示した。近年小児科領域では、EBV-HLH の治療成績が改善したが、思春期から若年成人における初感染 CD8 陽性 T 細胞感染型（いわゆる初感染 EBV-HLH）の重症例が増えていると思われ、この診断と治療の確立が急務である。

A . 研究目的

WHO 造血器腫瘍分類 2008 における小児全身性 EBV 陽性 T 細胞リンパ増殖症には、アジア型慢性活動性 EB ウイルス感染症 (CAEBV) と血球貪食症候群/血球貪食性リンパ組織球症 (EBV-HLH) の一部が含まれる。CAEBV の類縁疾患として、EBV-HLH 例のこれまでの自験例と全国調査から、その早期診断と治療介入について検討した。

B . 研究方法

単一施設における 2000 年以降の EBV-HLH 22 名 (15 歳以上 4 名を含む) と全国調査 2003-08 年の EBV-HLH 98 名 (18 歳未満) を比較検討した。また、山口大学小児科における小児例と成人例の自験例の治療経過から、治療の最適化を検討した。感染細胞の同定は、MACS ピーズおよび Cell Sorter 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 (九州大学及び山口大学小児科、成育医療センター 今留謙一先生)。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 を除いた例を EBV-HLH とした。欧米との疾患概念の違い (表 1) を考慮し、治療後の患者に HLH 再燃および易感染性などの基礎疾患が出現しなかったことを、治療中止後 1 年以上の観察から確認した。

(倫理面への配慮)

遺伝性 HLH の遺伝子解析は、倫理委員会の承認を受け、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。

表 1. 三大重症血球貪食症候群の疾患概念

	欧米	日本
FHL	単一遺伝子病	単一遺伝子病
EBV-HLH	B細胞感染と FHL素因が関与	T/NK細胞への初感染重症病型
CAEBV	感染B-LPDを伴う多彩な免疫不全	感染T/NK-LPDを伴う多彩な免疫不全

FHL: familial hemophagocytic lymphohistiocytosis

C . 研究結果

1) 単一施設と全国調査の比較

単一施設における 22 名の結果を表 2A に示す。グロブリン大量、ステロイドおよびシクロスポリンによる免疫調節療法後 48 時間以内に解熱傾向と全身状態の改善がみられない場合にエトポシド (VP16) を投与した。再燃の間隔が短くなった場合に多剤併用化学療法を、さらに再燃を繰り返す場合には同種造血細胞移植を行った。治療直前の寛解が 2 名、免疫調節療法後の寛解が 12 名、VP16 を含む化学療法による寛解が 1 名、移植後寛解が 1 名であった。死亡した 2 名はいずれも 16 歳以上で、それぞれ多剤併用化学療法後 1 名と造血細胞移植後 1 名であった。B 細胞感染の 1 名以外は全て T 細胞感染であった。解析できた T 細胞感染は全て CD8 陽性細胞であった。

全国調査の成績を表 2B に示す。93 名のうち 56 名 (60%) が HLH2004 に、それ以外の 40% が上記の免疫調節療法に反応し、84 名が寛解した。7 名 (8%) が再燃したが、再燃例は全例 2nd-line 治療もしくは移植 (1 名のみ) 後に寛解を得た。9 名が抵抗性で 8 名死亡、うち 7 名は発症 8 週未満の死亡であった。

表2. EBV-HLHの感染細胞とclonality

A. 単一施設 (対象: 15歳以上4を含む22名)			
生存初感染	20 (91%) ; 死亡2名は15歳以上		
Clonalityあり	19 (95%)		
EBV-TR, TCR	13 (93%),	7 (64%)	
主なEBV感染細胞	1 (0.6%)	15 (94%)	
B細胞, T細胞			
Shiraishi et al. PBC 2013			
B. 全国調査 (対象: 18歳未満98名)			
	生存 [n=90]	死亡 [n=8]	p 値
Clonalityあり, なし	28 (69%), 13 (14%)	0 (0%), 0 (0%)	0.049
未解析	49%	8%	
主なEBV感染細胞のみ	1 (3%)	0 (0%)	0.528
T/NK/B細胞	28 (97%)	4 (100%)	
未解析 (%)	60	4	
Kogawa et al. PBC 2014 [文献1]			

初感染 EBV-HLH は CD8 陽性 T 細胞感染で、小児の半数ほどは免疫調節療法を早期に行うべきであるという単一施設の観察が全国調査でも確認された。

2) 山口大学の症例検討

HLH2004 後に再燃した小児例に CHOP-VP16 を 2 回施行し、再燃なく治癒を得た。重症 EBV-HLH が VP16 に反応後再燃したが現在寛解を得て観察中である。いずれも初感染 EBV-HLH は CD8 陽性 T 細胞感染であり、発熱、血球減少と EBV-DNA 量の変化から治療中止を決定した。単純ヘルペスウイルス全身感染の新生児も HLH 診断基準の 4 項目を満たした段階で治療介入し後遺症なく治癒した。

D. 考察

初感染 CD8 陽性 T 細胞感染 EBV-HLH の小児は、免疫調節療法の早期介入により予後良好となることが明らかとなった。患児には基礎疾患が認められないことから、EBV による重症初感染像として CAEBV と区別することが重要である。5-10%の再燃例と思春期および若年成人の重症例に対する治療が今後の課題である。

E. 結論

EBV-HLH は初感染と再感染、感染細胞を確認し CAEBV とは異なる疾患概念として正確に診断し、早期治療介入を行うことが必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Kogawa K, Sato H, Asano T, Ohga S, Kudo K, Morimoto A, Ohta S, Wakiguchi H, Kanegane H, Oda M, Ishii E: Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in children: report from the Japan HLH/LCH Study Group. *Pediatr Blood Cancer* 61(7):1257-62, 2014

2) 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* 29:1-6, 2014

3) Nanishi E, Hoshina T, Ohga S, Nishio H, Hara T: Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms during primary Epstein-Barr virus infection. *J Microbiol Immunol Infect* S1684-1182, 2014

4) 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* 2015 (in press)

6) 下村麻衣子、大賀正一. 造血器悪性疾患 血球貪食症候群 / 血球貪食性リンパ組織球症. 特集小児血液疾患 - よくわかる最新知見 - 41. *小児科* 55 巻 11 号 1775-1781, 2014

7) 大賀正一. EB ウイルス研究史 ~感染細胞、病態と疾患の関わりから~. *ウイルス* 第 64 巻 1 号 67-74, 2014

8) 大賀正一. リンパ増殖性疾患 ~ Epstein-Barr ウイルスの関与する遺伝性素因 ~. *臨床血液* 55 巻; 2221-4, 2014

9) 脇口宏之 大賀正一. . 感染症 36. EB ウイルス感染症. *小児疾患診療のための病態生理* 1 改訂 5 版 東京医学社 2015 (印刷中)

2. 学会発表

1) 大賀正一: EB ウイルス感染症に伴う難治性疾患 第 124 回山口県小児科医会総会・山口地方会 合同特別講演 2014.7.13 宇部

2) 大賀正一: リンパ増殖性疾患 ~ Epstein-Barr ウイルスの関与する遺伝性素因 ~ 第 76 回 日本血液学会学術集会 教育講演 2014.10.31 大阪

3) 赤峰 哲、加藤稚子、瀧本智仁、石村匡崇、保科隆之、高田英俊、大賀正一、林田 真、田口智章、原寿郎: 発症時に肝不全を呈した家族性血球貪食性リンパ組織球症 (FHL) の 2 例. 第 117 回日本小児科学会学術集会 2014.4.11-13 名古屋

4) 脇口宏之, 平野玲史, 長谷川俊史, 大賀正一. 間質性肺炎とマクロファージ活性化症候群を合併した若年性皮膚筋炎患児のサイトカインプロファイル 第 24 回日本小児リウマチ学会総会 2014.10.3-5 仙台

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

本疾患に対する治療を探索し，3ステップからなる戦略（原病の鎮静，抑制，根絶）をベースにエビデンスを創造してきた．2014年の症例4例のうち，3例は順調に治療を終え，現在も無病生存中である．しかし治療抵抗性だった1例は緊急移植が一旦は奏効したが，原病の後遺症と推定される致死的経過を辿った．現時点の知見に基づいた治療ガイドラインの策定とともに，現戦略のさらなる進化と，治療反応性の悪い例に対する新たなコントロール法の創造が求められている．

A．研究目的

本疾患に確立された治療法は無い．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おり，その細部における最適化を探索する．

B．研究方法

治療として3ステップ法からなる戦略をプラットフォームとしている．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による原病の根絶と造血・免疫能の再構築である．各ステップの効果判定や適正化について検証と改善を行っている．

(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

2014年の症例は4例．うち3例は治療初

期より当センターでエントリーし，残る1例は化学療法に抵抗性で血球貪食症候群(HPS)のフレアを発症しての転入であった．前者の3例では化学療法と併行して移植ドナー検索が可能で，計画的な移植が可能であった．後者の1例は緊急移植が一旦は奏効したが，原病の後遺症と推定される致死的経過を辿った．

D．考察

前者の3例では，化学療法は1st line，2nd lineともEBV量の減少は1/10に至らず有効とは判定されなかったが，原病はnon-activeにコントロールされ，移植を迎えることができ，全例が無病生存中である．後者の1例はHPSのフレアがコントロールされないままの緊急移植であり，新たなコントロール法の必要性が感じられた．

E．結論

1st line 化学療法の効果判定法 2nd line

化学療法の標準化,移植のタイミングなど,エビデンスが創造されつつあり,現時点の知見に基づいた治療ガイドラインの策定とともに,現戦略のさらなる進化と,治療反応性の悪い例に対する新たなコントロール法の創造が求められている.

F . 健康危険情報

なし.

G . 研究発表

1 . 論文発表

1. 澤田明久,井上雅美.慢性活動性EBウイルス感染症の病態と治療.日本造血細胞移植学会誌 3: 1-11, 2014.

2. Sawada A, Inoue M, Koyama-Sato M, Kondo O, Yamada K, Shimizu M, Isaka K, Kimoto T, Kikuchi H, Tokimasa S, Yasui M, Kawa K. Umbilical cord blood as an alternative source of reduced-intensity hematopoietic stem cell transplantation for chronic Epstein-Barr virus-associated T or natural killer cell lymphoproliferative diseases. Biol Blood Marrow Transplant 20: 214-221, 2014.

2 . 学会発表

1. 澤田明久,井上雅美,佐藤真穂,近藤 統,眞弓あずさ,井坂華奈子,樋口紘平,清水真理子,安井昌博,河 敬世.慢性活動性EBウイルス感染症:成人および小児における同種造血幹細胞移植成績の比較.第36回日本造血細胞移植学会.沖縄.2014年3月7-9日.

2. Azusa Mayumi, Akihisa Sawada, Maho Sato, Mariko Shimizu, Aya Ioi, Kohei Higuchi, Osamu Kondo, Masahiro Yasui,

Keisei Kawa, Masami Inoue. Favorable impact of intensified conditioning regimen on the engraftment of cord blood transplantation for chronic Epstein-Barr virus-associated T or Natural Killer cell lymphoproliferative diseases. The 19th congress of the Asia-Pacific Blood and Marrow Transplantation. Hangzhou, China. 16th-19th/Oct/2014.

H . 知的所有権の取得状況

なし.

厚生労働省科学研究費補助金
(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

EBV-positive T/NK lymphoproliferative diseases の病態解明と新規治療法の開発

研究分担者 新井文子(東京医科歯科大学大学院血液内科学 講師)

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。私たちは EBV 陽性 T/NK リンパ増殖症(いわゆる慢性活動性 EB ウイルス感染症、EBV-positive T/NK lymphoproliferative diseases; EBV-T/NK-LPDs) の病態解明と新規治療法の開発を目的に以下の 2 項目について研究を行った。

EBV-T/NK-LPDs と P-glycoprotein (P-gp) 発現: EBV-T/NK-LPDs の EBV 感染腫瘍細胞では薬剤耐性に関与する分子 P-gp が強く発現し、薬剤排出機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。

EBV-T/NK-LPDs 成人例に対する L-asparaginase (L-aspar) 単剤療法の検討: 至適治療法開発のため、5 人の EBV-T/NK-LPDs 成人例に対し、L-aspar の効果を検討する前向き探索的研究を施行した。末梢血中 EBV 量は 1 例で 0.08 倍の減少を見たが、1 例で 22 倍に増加、2 例は不変であった。1 例は投与中鼻粘膜病変が増悪したため途中で中止した。ウイルス量の低下を見た症例では、発症から治療開始までの期間は 8 か月と他の患者より短かった。EBV 感染腫瘍細胞の Asparagine synthetase (AS) の発現は治療効果と関連しなかった。以上から EBV-T/NK-LPDs は早期に治療を導入することが良い治療反応性につながる可能性が示唆された。

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、近年 EBV 感染 T もしくは NK 細胞のクローン性増殖を伴う事が明らかになり、腫瘍であるとの位置づけがなされ、2008 年度版 WHO 造血器腫瘍分類にリンパ腫のひとつ、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、近年症例報告は増加している

が、その発症メカニズム、特に EBV が本当に腫瘍発症に寄与しているのかは証明されていない。また 2009 年度の研究で私達が明らかにしたとおり(業績、論文 1)、CHOP 療法、大量 Cytarabine 療法をはじめとする化学療法に抵抗性の症例が多く、予後は極めて不良である。

本研究では、それらの問題点を解析、解決するために、以下の 2 つの解析を行った。

EBV-T/NK-LPDs と MDR1 発現 :

EBV-T/NK-LPDs V 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。

EBV-T/NK-LPDs 成人例に対する L-asparaginase (L-asp) 単剤療法の検討 :

EBV-T/NK-LPDs 治療法確立のため L-asp 単剤の有効性を前向きに検討した。L-asp は EBV-T/NK-LPDs 同様 EBV 陽性 T/NK 腫瘍である extranodal NK/T-cell lymphoma nasal type (ENKL) 治療の中心的薬剤であり、同疾患に対しても単剤で有効であるとの報告がある。よって効果が期待された。

B . 研究方法

解析には EBV 陽性 T/NK リンパ増殖症細胞株 (SNT8,15,16, 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。

治療法開発のため EBV 感染症研究会診断指針に基づいて診断され、十分な肝腎機能を持つ患者に対し L-asp を一日一回、6000 U/m² を隔日で 7 回投与した。主評価項目は一ヵ月後の末梢血 EBV-DNA 量の減少率、副評価項

目は有害事象発現率とした。また、EBV 感染腫瘍細胞の Asparagine synthetase(AS)の発現を RT-PCR 法で解析し、L-asp の効果との関連を検討した。

(倫理面への配慮)

以上の研究は東京医科歯科大学倫理委員会で承認され(臨床試験は東京医科歯科大学医学部附属病院施設内審査委員会の承認、患者の文書による同意を患者の同意を得て施行した。 は UMIN-CTR へ登録し、施行した (UMIN 試験 ID : UMIN000003498)。

C . 研究結果

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。

対象患者は女性 5 名。年齢は 20 ~ 62 歳の成人。感染細胞は CD8 陽性 T 細胞 1 例、CD4 陽性細胞 2 例、CD56 陽性細胞 2 例であった。治療開始後一ヵ月後の末梢血中 EBV 量は、1 例で治療前の 0.08 倍へ減少を見たが、1 例で 22 倍に増加、2 例は不変であった。1 例は投与中鼻粘膜病変が増悪したため途中で投与を中止した。有害事象として、全例でフィブリノゲン、AT の低下を認め、新鮮凍結血漿および AT 製剤の投与を必要とした。Grade3 の肝障害を 1 例に、同 2 を 2 例に認めた。Grade3 の好中球減少を 1 例に認めた。ウイルス量の低下を見た症例では、発症から治療開始までの期間は 8 か月と他の患者より短かった。EBV 感染腫瘍細胞における AS

の発現は治療効果と相関しなかった。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

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。

L-asp 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-asp 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-kB 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-asp 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 p2-6 医学書院
- 4) 今日の臨床サポート 改訂第 2 版 血球貪食症候群 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 FOXP-3 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き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

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ュウマチ合併 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、全エキ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、全エキ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、全エキソーム解析を行う。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、患者個人情報の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エント 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ク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て報告のない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

全エクソーム解析により、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ク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、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、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、赤芽球瘻への 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、赤芽球瘻への 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、赤芽球瘻への 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

No.	Patient Age (years)	Sex	EBV positive site	Clinical manifestations	EBV genome (copies/ml EBV)	Therapy before transplant	Regimen of hematopoietic transplantation					Engraftment (day)	Complete chimerism (day)	EBV Specific CTLs	Outcomes Complications	
							Conditioning regimen (RIC)	Donor	HLA matched	Stem type	Cell number (cells/kg)					CY500 prephases
1.	8 male	+	CD4+ T	prolonged rash lymphadenopathy liver dysfunction secondary antibody anemia positive EBV EBV in CBP ADAM	1.3×10^3	medical management pretransplant	Flu 20 mg/m ² M4 CY 150 mg/m ² M4 TBI 3Gy M1	CR	NA	A-B	1.87×10^5	FK506 MTX	12	136	+/-	Remission
2.																EBV-positive Donor CD4+T cells infected with EBV
2.	8 male	+	CD4+ T	lymphadenopathy liver dysfunction positive EBV EBV in CBP	2.0×10^3	No	Flu 20 mg/m ² M4 CY 810 mg/m ² M4 TBI 3Gy M1	SABC	NA	A-B	1.73×10^5	Cell MTX	11	75	+/-	Acute CY500 Cocis II (2x4) → steroid therapy → improved
3.																Remission
2.	21 female	+	NK	lymphadenopathy respiratory allergy liver dysfunction hyper IgE	1.6×10^3	No	Flu 20 mg/m ² M5 CY 60 mg/kg M1 TBI 1Gy M1	CR	1 locus mismatch	A-B	1.18×10^5	FK506 MTX	19	168	+/-	Acute CY500 Cocis II (3x4), Dexamethasone, Remdesivir, azathioprine → improved
3.																Remission
4.	19 male	++	NK	lymphadenopathy EBV-BLST liver dysfunction hyper IgE AE	2.1×10^3	No	Flu 20 mg/m ² M5 CY 20 mg/kg M4 TBI 1Gy M1	CR	NA	A-B	1.87×10^5	FK506 MTX	21	129	+/-	Acquired pure red cell aplasia → Rituximab → improved
3.																Remission
2.	15 male	+	CD4+ T	lympho- vasculitis liver dysfunction	1.2×10^3	No	Flu 20 mg/m ² M5 CY 60 mg/kg M1 TBI 1Gy M1	SABC	NA	A-B	1.28×10^5	Cell MTX	14	161	+/-	Mixed chimera → Donor leukocyte infusion → improved
3.																Remission

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、経過毎の個別的な方針
 を検討する。

図2

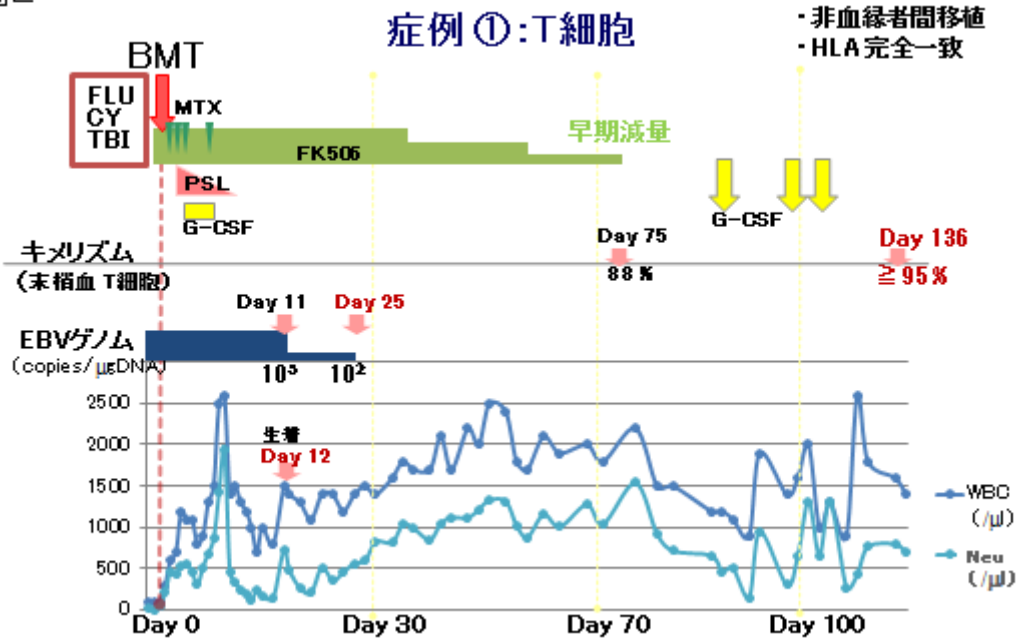


図3

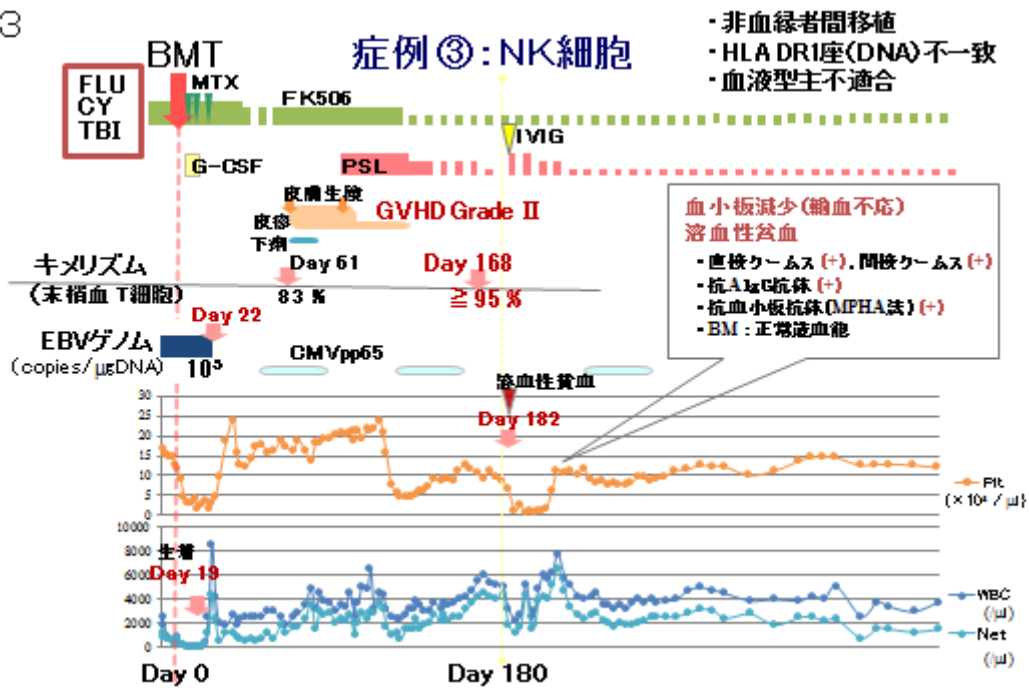


図4

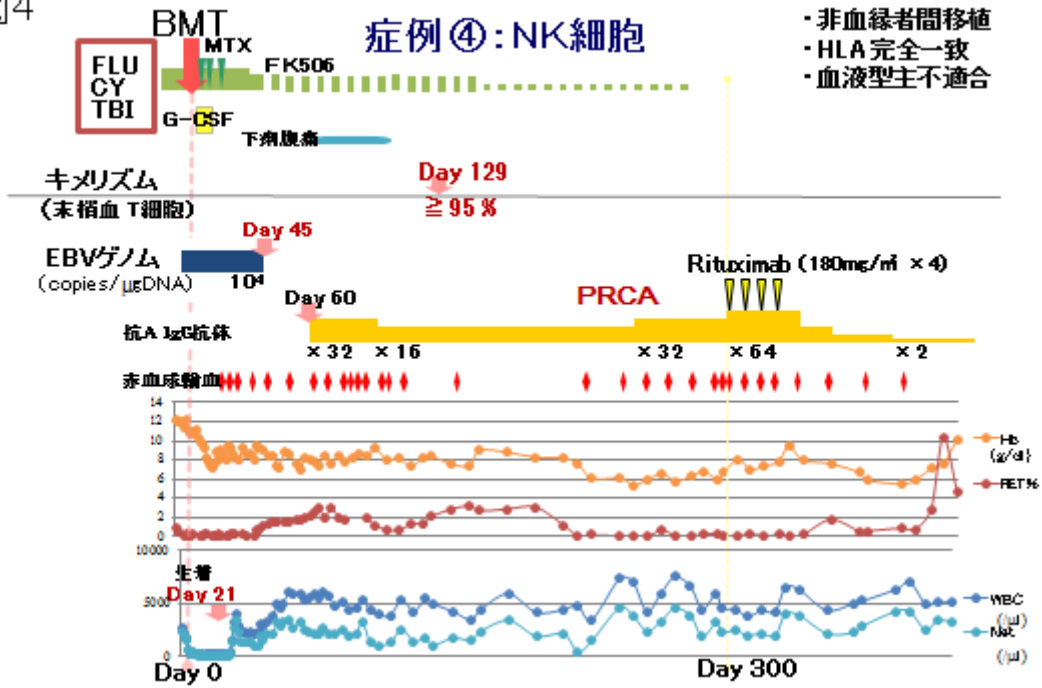


図5

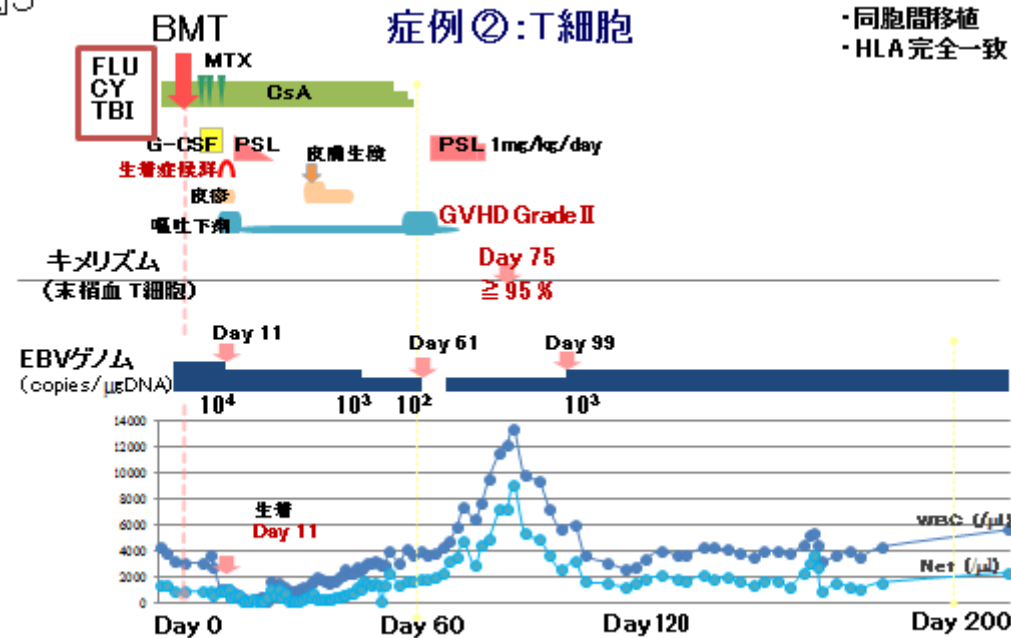


図6

症例2における移植後のTCRRepertoire解析

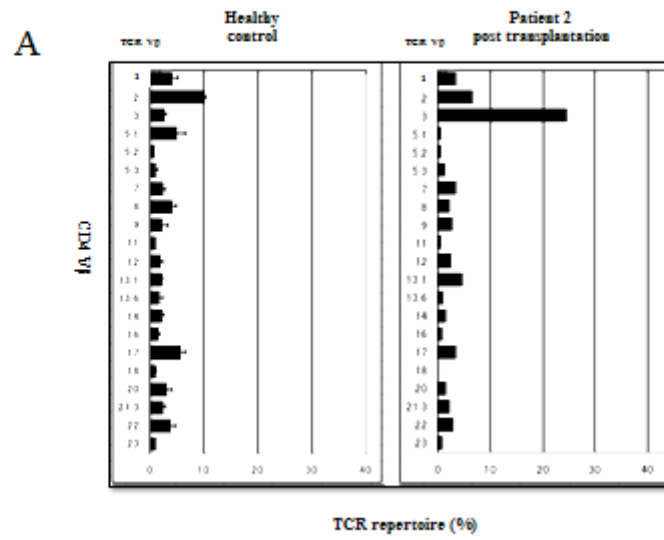
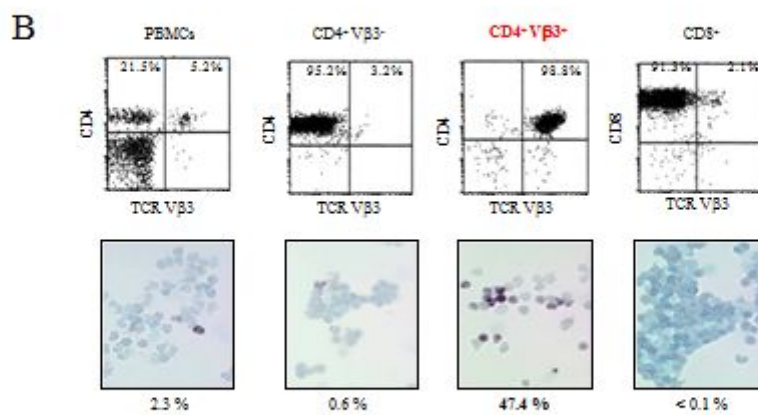


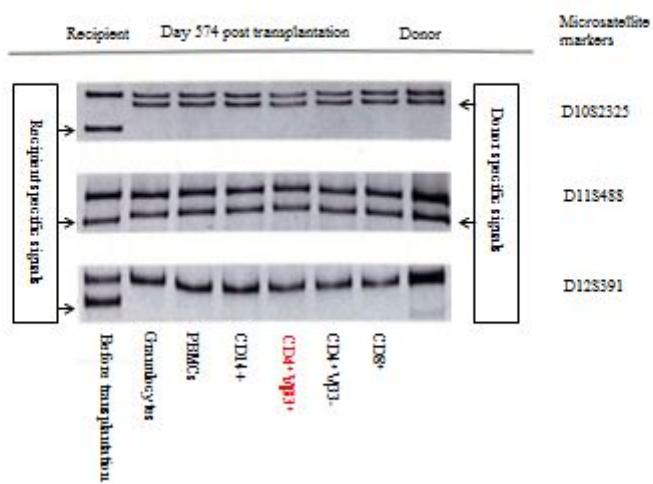
図6

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 EBEB 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 項目をみたますこと。

*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、伝染性単核症に従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

(図2) 慢性活動性EBウイルス感染症 (CAEBV) 診断基準
(厚生労働省研究班, 2014)

-
- 4) 伝染性単核症様症状が3か月以上持続(連続的または断続的)
 - 5) 末梢血または病変組織におけるEBウイルスゲノム量の増加
 - 6) T細胞あるいはNK細胞にEBウイルス感染を認める
 - 7) 既知の疾患とは異なること
-

以上の4項目をみたすこと。

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、血液、消化器、神経、呼吸器、眼、皮膚(種痘様水疱症・蚊刺過敏症)あるいは心血管合併症・病変(含動脈瘤・弁疾患)などを呈する場合も含む。(初感染に伴う)EBV関連血球貪食性リンパ組織球症、種痘様水疱症で皮膚症状のみのものはCAEBVには含めない。蚊刺過敏症および臓器病変・合併症を伴う種痘様水疱症は、CAEBVの範疇に含める。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、T細胞・NK細胞性リンパ腫・白血病などの発症をみる。

2) PCR法を用い、末梢血単核球分画における定量を行った場合、一般に $10^{2.5}$ (=316)コピー/ μ g 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ので用いない。組織診断にはin situ hybridization法等によるEBER検出を用いる。

3) EBウイルス感染標的細胞の同定は、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解析(B細胞、T細胞、NK細胞などを標識)とEBNA、EBERあるいはEBウイルスDNA検出などを組み合わせて行う。

4) 先天性・後天性免疫不全症、自己免疫・炎症性疾患、膠原病、悪性リンパ腫、白血病、医原性免疫不全などは除外する。鑑別診断、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) EBウイルス関連抗体価

蛍光抗体法による測定では、一般にVCA-IgG抗体価640倍以上、EA-IgG抗体価160倍以上が、抗体価高値の目安となる。加えて、VCA-IgA、VCA-IgMおよびEA-IgA抗体がしばしば陽性となる。患者では抗体価が高値であることが多いが、必要条件ではなく、抗体価高値を認めない症例も存在する。

b) クロナリティの検索

1. EBウイルスterminal repeat probeを用いたSouthern blot法
2. 遺伝子再構成検査(T細胞受容体など)

c) 病変組織の病理組織学的・分子生物学的評価(*記載項目の変更なし、図1を参照)

d) 免疫学的検討(*記載項目の変更なし、図1を参照)

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
木村宏,高橋恵美子,大島孝一	小児EBV陽性T細胞性リンパ腫増殖性疾患	森 茂郎	リンパ腫アトラス	文光堂	東京	2014	174-177
新井文子	発熱	井上智子 稲瀬直彦	看護病態	医学書院	東京	2014	2-6
浅田秀夫	蚊アレルギー診断の決め手	宮地良樹	苦手な外来皮膚疾患解決法	メディカルビュー社	東京	2014	230-1

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Murata T, Sato Y, Kimura H.	Modes of infection and oncogenesis by the Epstein-Barr virus.	Rev Med Virol	24	242-253	2014
Kimura H, Karube K, Ito Y, Hirano K, Suzuki M, Iwata S, Seto M.	Rare occurrence of JAK3 mutations in NK cell neoplasms in Japan.	Leukemia & Lymphoma	55	962-3	2014
Nagata K, Higaki K, Nakayama Y, Miyauchi H, Kiritani Y, Kanai K, Matsushita M, Iwasaki T, Sugihara H, Kuwamoto S, Kato M, Murakami I, Nanba E, Kimura H, Hayashi K.	Presence of Epstein-Barr virus-infected B lymphocytes with thyrotropin receptor antibodies on their surface in Graves' disease patients and in healthy individuals.	Autoimmunity	47	193-200	2014
Siddiquey MN, Nakagawa H, Iwata S, Kanazawa T, Suzuki M, Imadome KI, Fujiwara S, Goshima F, Murata T, Kimura H.	Anti-tumor effects of suberoylanilide hydroxamic acid on Epstein-Barr virus-associated T- and natural killer- cell lymphoma.	Cancer Sci	105	713-722	2014

Ito T, Kawazu H, Murata T, Iwata S, Arakawa S, Sato Y, Kuzushima K, Goshima F, Kimura H.	Role of latent membrane protein 1 (LMP1) in chronic active Epstein-Barr virus infection (CAEBV)-derived T/NK cell proliferation.	Cancer Med	3	787-795	2014
Kanazawa T, Hiramatsu Y, Iwata S, Siddiquey MN, 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	5075-84	2014
Kawada JI, Ito Y, Iwata S, Suzuki M, Kawano Y, Kanazawa T, Siddiquey MN, Kimura H.	mTOR inhibitors induce cell cycle arrest and inhibit tumor growth in Epstein-Barr virus-associated T and natural killer cell lymphoma cells.	Clin Cancer Res	20	5412-22	2014
木村 宏	エプスタインバーウイルス感染症. 感染症診療update.	日本医師会雑誌	第143巻 特別号 (2)	361-362	2014
Wada T, Kanegane H, Ohta K, Katoh F, Imamura T, Nakazawa Y, Miyashita R, Hara J, Hamamoto K, Yang X, Filipovich A H, Marsh RA, Yachie A,wa Y, Miyashita R, Hara J, Hamamoto K, Yang X, Filipovich AH, Marsh RA, Yachie A.	Sustained elevation of serum interleukin-18 and its association with hemophagocytic lymphohistiocytosis in XIAP deficiency.	Cytokine	65	74-78	2014
Yoshimori M, Imadome KI, Komatsu H, Wang L, Saitoh Y, Yamaoka S, Fukuda T, 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	19	e112564	2014
Fujiwara S, Imadome K, and Takei M.	Modeling EBV infection and pathogenesis in new-generation humanized mice	Exp Mol Med	47	e136	2015
Chang ST, Lu YH, Lu CL, Weng SF, Lin SH, Kuo SY, Chuang YT, Takeuchi K, Ohshima K, Chuang SS.	Epstein-Barr virus is rarely associated with diffuse large B cell lymphoma in Taiwan and carries a trend for a shorter median survival time.	J Clin Pathol	67(4)	326-32	2014

Kato H, Karube K, Yamamoto K, Takizawa J, Tsuzuki S, Yatabe Y, Kanda T, Katayama M, Ozawa Y, Ishitsuka K, Okamoto M, Kinoshita T, Ohshima K, Nakamura S, Morishima Y, Seto M.	Gene expression profiling of Epstein-Barr virus-positive diffuse large B-cell lymphoma of the elderly reveals alterations of characteristic oncogenetic pathways.	Cancer Sci	105(5)	537-44	2014
Guo Y, Arakawa F, Miyoshi H, Niino D, Kawano R, Ohshima K.	Activated janus kinase 3 expression not by activating mutations identified in natural killer/T-cell lymphoma.	Pathol Int	64(6)	263-6	2014
Satou A, Asano N, Nakazawa A, Osumi T, Tsurusawa M, Ishiguro A, Elsayed AA, Nakamura N, Ohshima K, Kinoshita T, Nakamura S.	Epstein-Barr Virus (EBV)-positive Sporadic Burkitt Lymphoma: An Age-related Lymphoproliferative Disorder?	Am J Surg Pathol	39(2)	227-35	2015
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	e-pub ahead of print		2014
Iwatsuki K, Hamada T, Japan Skin Cancer Society-Lymphoma Study Group	Current therapy of choice for cutaneous lymphomas: complementary to the JDA/JSCS guidelines.	J Dermatol	41	43-49	2014
Hamada T, Nakamura S, Ko YH, Yoshino T, Ohshima K, Matsuzawa T, Miura K, Takahashi T, Nomura H, Hoshino T, Suzuki D, Shimada S, Iwatsuki K	Epstein-Barr virus-associated T/natural killer-cell lymphomas in the elderly: The first consensus meeting in Kofu 2013.	J Dermatol	41	40-42	2014
Tsukasaki K, Imaizumi Y, Tokura Y, Ohshima K, Kawai K, Utsunomiya A, Amano M, Watanabe T, Nakamura S, Iwatsuki K, Kamihira S, Yamaguchi K, Shimoyama M	Meeting report on the possible proposal of an extranodal primary cutaneous variant in the lymphoma type of adult T-cell leukemia-lymphoma.	J Dermatol	41	26-28	2014

木村摩耶、三宅智子、山口麻里、野田和代、濱田利久、青山裕美、岩月啓氏、山本剛伸	自己免疫性水疱症に対する免疫抑制療法中に発症した致死性EBウイルス関連中枢性リンパ腫	西日本皮膚科	76	279-280	2014
浅田秀夫	重症薬疹とウイルス感染	アレルギー・免疫	21	1214-9	2014
Nanishi E, Hoshina T, Ohga S, Nishio H, Hara T	Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms during primary Epstein-Barr virus infection	J Microbiol Immunol Infect	48(1)	109-12	2015
澤田明久, 井上雅美	慢性活動性EBウイルス感染症の病態と治療	日本造血細胞移植学会誌	3	1-11	2014
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
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	In press		2014
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
新井文子	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	524-527	2014
Elsayed AA, Asano N, Ohshima K, Izutsu K, Kinoshita T, Nakamura S.	Prognostic significance of CD20 expression and Epstein-Barr virus (EBV) association in classical Hodgkin lymphoma in Japan: A clinicopathologic study.	Pathol Int	64	336-45	2014

Yabal M, Muller N, Adler H, Knies N, Gros CJ, Damgaard R B, 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
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
Kawano Y, Kawada J, Ito Y	Epstein-Barr Virus MicroRNAs in Plasma as Potential Biomarkers for Chronic Infections.	J Infect Dis	209(8)	1298-300	2014