

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27年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 木村 宏

平成28（2016）年 3月

目 次

I . 総括研究報告	
慢性活動性EBウイルス感染症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	1
木村 宏	
II . 分担研究報告	
1 . 慢性活動性EBV感染症診断基準作成のための病態評価	
EBV-HLHを中心にした解析	
谷内江昭宏	14
2 . EBウイルス蛋白質EBNA 1 が突然変異頻度に与える影響に関する研究	
藤原成悦	18
3 . 日本におけるランゲルハンス細胞組織球症20例のBRAF V600E 変異解析に関する研究	
大島孝一	22
4 . 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	
岩月啓氏	24
5 . 蚊刺過敏症からEBウイルス関連悪性リンパ腫への移行過程についての研究	
浅田秀夫	28
6 . EBウイルス関連血球貪食症候群診療におけるEBV-DNA定量と感染細胞同定の意義	
大賀正一	32
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	34
8 . 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	
新井文子	36
9 . リンパ腫病理分野における慢性活動性EBV感染症に関する検討	
伊豆津宏二	42
10 . EBV関連リンパ増殖症とその類縁疾患に関する研究	
金兼弘和	44
11 . 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	
笹原洋二	48
12 . 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	
今留謙一	52
13 . 慢性活動性EBウイルス感染症における診断的意義のあるウイルスDNA量の後方視的検討	
伊藤嘉規	56
III . 研究成果の刊行に関する一覧表	60

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性リンパ組織球症、種痘様水疱症、蚊刺過敏症の 4 疾患は、それぞれ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、疾患領域・診療科を超えた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、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 27 年度は、まず慢性活動性 EB ウイルス感染症の診断基準を改定した。また、EB ウイルス関連血球貪食性リンパ組織球症に対する診断基準を新たに作成した。ガイドライン本文に記載する疾患の臨床的特徴・疾患スコア・診療アルゴリズムを、慢性活動性 EB ウイルス感染症、EB ウイルス関連血球貪食性リンパ組織球症、種痘様水疱症、蚊刺過敏症の疾患ごとに作成した。更に臨床的に問題となるクリニカルクエスチョンを全体で 25 個選定し、文献検索・システマティックレビューを実施した。診療ガイドラインの確立は、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

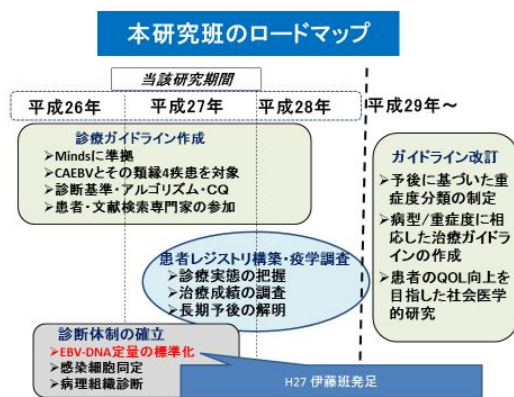
浅田秀夫：奈良県立医科大学皮膚科・教授
新井文子：東京医科歯科大学大学院血液内科
学・講師
伊豆津宏二：虎の門病院血液内科・部長
伊藤嘉規：名古屋大学大学院医学系研究科
小児科学・准教授
今留謙一：国立成育医療研究センター研究
所・室長
岩月啓氏：岡山大学大学院医歯薬学総合研究
科・教授
大賀正一：山口大学大学院医学系研究科小児科
学・教授
大島孝一：久留米大学医学部病理・教授

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
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
谷内江昭宏：金沢大学医薬保健研究域医学系・
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性リンパ組織球症、種痘様水疱症、蚊刺過敏症は、我が国の小児・若年成人に特有な希少疾患である。これら 4 疾患は疾患概念が確立し、それぞれが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。

本研究ではこれら 4 疾患の実態解明と予後改善を目指し、診療ガイドライン作成に従事している。「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。平成 27 年度は、診療ガイドラインの骨格である本文、診療アルゴリズム、クリニカルクエスチョン (CQ) を作成した。また、本年度より、[慢性活動性 EB ウイルス感染症とその類縁疾患の診断・治療効果評価の向上を目指した EB ウイルス DNA 量のエビデンスの構築] AMED 伊藤班が発足し、同班と連携して、ウイルス DNA 定量の標準化を行っていくこととした。



B . 研究方法

1) **診療ガイドライン作成**：平成 26 年度組織した診療ガイドライン統括委員会・作成グループ・システマティックレビューチームにより、診療ガイドライン作成を進めた。組織構成員と役割分担を表 1 に示す。

2) **慢性活動性 EB ウイルス感染症診断基準の改定**：前年度、EB ウイルス感染症研究会の診断指針を元に改訂案作成に着手した。本年度は、EB ウイルス感染症研究会での公開討論（平成 27 年 3 月 15 日）を踏まえ、慢性活動性 EB ウイルス感染症診断基準（2015 年厚生労働省研究班）としてまとめた。

3) **患者レジストリの構築**：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が確立されれば、患者の予後改善にもつながる。本年度は患者レジストリの構築のための資料・情報の収集に努めた。

4) **中央診断体制の構築**：前年度に構築した中央診断体制（病理診断：久留米大学、ウイルス学的診断：名古屋大学および成育医療研究センター）に基づいて、慢性活動性 EB ウイルス感染症診断を実施した。

5) **診療ガイドライン作成のための情報収集**：診断基準・診療アルゴリズム作成・CQ に対する回答/解説作成のために、慢性活動性 EB ウイルス感染症とその類縁疾患に関する情報収集を、各分担者が行った。（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**：「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・作成委員会にて、各疾患の定義・位置づけを確認し、診療ガイドラインアルゴリズム・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**
EB ウイルス感染症研究会の診断指針を、EB ウイルス感染症研究会での公開討論(平成27年3月15日)を踏まえ、平成28年第一回班会議(平成27年6月27日)にて議論した。診断基準に加え、重症度分類も加味した形で、慢性活動性 EB ウイルス感染症診断基準(2015年厚生労働省研究班)としてまとめた(表3)。同様に、新たに EB ウイルス関連血球貪食性リンパ組織球症に関する診断基準を作成した(表4)。

次いで、それぞれの疾患に対して、クリニカルクエスチョンを(全体で25個)選定した。日本医学図書館協会に依頼し文献検索を行い、班員からなるレビューチームによりシステマティックレビューを実施した。

3) **患者レジストリの構築**：情報収集を行ったところ、慢性活動性 EB ウイルス感染症が、指定難病に選定される可能性があることが明らかとなった。指定難病になれば、厚労省の指導の元、患者申請・情報収集を行うことになる。平成28年3月に予定されている指定難病の第三次追加発表を待って、レジストリ構築を始めることとした。

4) **中央診断体制の構築**：前年度に構築した中央診断体制に基づいて、慢性活動性 EB ウイルス感染症とその類縁疾患の中央診断を実施し・患者集積をした。

5) **診療ガイドライン作成のための情報収集**

蚊刺過敏症から EB ウイルス関連悪性リンパ腫への移行過程について(分担：浅田秀夫)：蚊刺過敏症の発症から6年後に悪

性リンパ腫を生じた症例について、悪性リンパ腫の発症前後の病態の変化を検討した。免疫抑制療法に対する治療抵抗性と皮膚病変の組織学的変化が悪性化を判断する手がかりとなる一方、末梢血単核球中の EBV DNA のコピー数や増殖リンパ球の表面マーカーには明らかな変化はみられなかった。

EBV 関連 T/NK リンパ増殖性疾患成人例に対する造血幹細胞移植の効果の検討(分担：新井文子)：東京医科歯科大学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関連することを見出した。

リンパ腫病理分類における慢性活動性 EB ウイルス感染症の位置づけ(分担：伊豆津宏二)：WHO 分類第4版では、慢性活動性 EB ウイルス感染症に関連する疾患として、小児全身性 EBV 陽性 T 細胞リンパ増殖性疾患や種痘様水疱症用リンパ腫などが定義されている。この他に、EBV 関連リンパ増殖性疾患としてアグレッシブ NK 細胞白血病や一部の末梢性 T 細胞リンパ腫(分類不能型)との鑑別が問題となることを報告した。

診断的意義のあるウイルス DNA 量の後方視的検討(分担：伊藤嘉規)：慢性活動性 EB ウイルス感染症と確定診断した症例107例について、後方視的に検討し、末梢血単核が診断に適しており、EB ウイルス関連の伝染性単核症に対しての診断的カットオフ値は=1,700 IU/μgDNA と考えられた。

EBV 関連疾患のウイルス学的解析と感染細胞同定(分担：今留謙一)：中央診断として、EBV 関連 T/NK 細胞感染リンパ増殖性疾患に対し192件、確定診断後の治療評価962件の解析をした。また、EBV 関連 B 細胞リンパ増殖性疾患に対し72件の解析を行った。

蚊刺過敏症と種痘様水疱症のコホート調査 (分担：岩月啓氏)：病型を古典的種痘様水疱症、全身性種痘様水疱症、蚊刺過敏症、蚊刺過敏症と種痘様水疱症合併例に分類すると、予後が異なることが明らかになった。発症年齢 9 歳以上、および再活性化シグナルである BZLF1mRNA 発現は予後不良因子であった。活性化シグナルおよび EB ウイルス感染リンパ球サブセットは病態と予後に関与する可能性が示唆された。

EB ウイルス関連血球貪食症候群診療における EBV-DNA 定量と感染細胞同定の意義 (分担：大賀正一)：患者の EBV-DNA 量と感染細胞を同定し、治療反応性を検討した。成人発症の初感染 T 細胞感染型症例は極めて重症であったが、etoposide が奏効し造血細胞移植を行わずに軽快した。小児期発症初感染型の 2 例も etoposide を使用せず、 γ グロブリンかつ/またはステロイド療法で軽快し再燃はなかった。初感染 EB ウイルス関連血球貪食症候群症例における感染細胞の同定は、治療戦略の決定において臨床的意義が高いと考えられた。

日本におけるランゲルハンス細胞組織球症の BRAF V600E 変異解析 (分担：大島孝一)：ランゲルハンス細胞組織球症) の 20 例に対して BRAF のエクソン 15 に対する変異解析を行ったところ、4 例に V600E の変異を認めた。BRAF V600E の有無と予後との関連は認めなかった。

EBV 関連リンパ増殖症とその類縁疾患に関する研究 (分担：金兼弘和)：EB ウイルス関連リンパ増殖症をきたす原発性免疫不全症として、ZAP70 異常症を同定した。エクソーム解析によって遺伝子変異を同定し、病態として NKT 細胞や EBV 特異的 T 細胞の欠損を示した。ZAP70 変異例の一部の症例は、EBV に選択的に易感染性を有して EBV 関連リンパ増殖性疾患を発症し得る新たな疾患群である可能性がある。

文献検索とクリニカルクエスションの作成 (分担：笹原洋二) 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、について文献検索を行い、推奨グレード、要約、解説、引用文献をまとめた。

治療戦略のエビデンス創造に関する研究 (分担：澤田明久)：2015 年の慢性活動性 EB ウイルス感染症患者 4 例のうち、3 例は治療抵抗性で、別プログラムの緊急対応を必要とした。全例に造血細胞移植を施行できたが、病状不安定な 3 例は最終的に重篤な高サイトカイン血症に陥り永眠された。治療プロトコルから外れる症例をいかに救命するかは未解決の大きな課題である。

EB ウイルス蛋白質 EBNA1 が突然変異頻度に与える影響 (分担：藤原成悦)：EBNA1 を遺伝子導入により発現させた BJAB 細胞における 6-TG 耐性細胞出現頻度は、対照と比べて約 3.2 倍であった。また、変異解析用シャトルベクター pZ189 を用いた変異頻度解析では、EBNA1 発現細胞は対照と比べて約 2.7 倍であった。EBV を感染させた BJAB クローンの 1 つは、対照と比べて約 2.9 倍の変異頻度を示した。以上の結果は EBNA1 が宿主遺伝子の突然変異頻度を上昇させる可能性を示していた。

診断基準作成のための病態評価 (分担：谷内江昭宏)：従来より提唱している EB ウイルス関連血球貪食症候群の早期診断について、より多くの症例を積み重ねて得られた経験をもとに血清サイトカイン解析と細胞解析の意義についてまとめた。Neopterin を中心とした炎症性サイトカインの高値と、末梢血中 HLA-DR++ CD5- CD8+ T 細胞クローンの異常増加は本疾患に特徴的な所見であることが確認された。

表1 診療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
		金兼弘和	東京医科歯科大学/小児科	日本小児感染症学会/日本小児血液・がん学会	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	日本医学図書館協会	文献リスト作成
	石原千尋	名古屋大学附属図書館/ヘルスサイエンス情報	日本医学図書館協会	文献リスト作成
	金田佳子	富山大学附属図書館/ヘルスサイエンス情報	日本医学図書館協会	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

【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/アルゴリズム・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/アルゴリズム・CQ 討議（第 24 回 EB ウイルス感染症研究会）	2014 年 3 月 15 日
↓	
第二回診療ガイドライン統括委員会 第二回診療ガイドライン作成委員会	2015 年 6 月 27 日
↓	
アルゴリズム・CQ 決定、SR 開始	2015 年 8 月 3 日
↓	
外部評価（中間報告）	2015 年 8 月 24 日
↓	
推奨文・解説 提出	2015 年 12 月 11 日
↓	
第三回診療ガイドライン作成委員会 推奨文・要約のブラッシュアップ	2015 年 12 月 23 日
↓	
CQ 推奨文の討議（第 25 回 EB ウイルス感染症 研究会）	2015 年 12 月 23 日
↓	
診療ガイドライン草案編集	2016 年 4-5 月
↓	
外部評価・パブリックコメント募集	2016 年 6 月 予定
↓	
公開・出版	2016 年 11 月 予定
↓	
普及・導入・評価	2016～2019 年 予定
↓	
改訂	2019 年 予定

表 3

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、2015 年)

-
- 1) 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)
 - 2) 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
 - 3) T 細胞あるいは NK 細胞に EB ウイルス感染を認める
 - 4) 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状・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。臓器病変・合併症を伴う種痘様水疱症・蚊刺過敏症は、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が、この場合は、基礎疾患としての CAEBV の診断は変更されない。

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/ 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 (ホジキンリンパ腫、節外性 NK/T 細胞リンパ腫-鼻型、血管免疫芽球形 T 細胞リンパ腫、末梢性 T 細胞リンパ腫-非特定型など)、白血病 (アグレッシブ NK 細胞性白血病など)、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

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)

d) 免疫学的検討

1. 末梢血マーカー分析 (含 HLA-DR)
2. 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)
3. 各種サイトカイン検索

重症度分類

軽症：慢性活動性 EB ウイルス感染症と診断後、全身症状・主要臓器の合併症がなく経過観察する症例。

重症：全身症状・主要臓器の合併症がある症例。

表 4

**EB ウイルス関連血球貪食性リンパ組織球症 (EBV-HLH) の診断基準
(厚生労働省研究班、2015 年)**

以下の 1 と 2 のいずれも満たす

1. EB ウイルス DNA が末梢血中に増加している
2. 以下の 8 項目のうち、初診時 5 つ以上、再燃・再発時 3 つ以上を満たす
 - 1) 発熱 38.5
 - 2) 脾腫あり
 - 3) 血球減少 (末梢血の少なくとも 2 系統に以下の異常あり):
ヘモグロビン < 9.0 g/dL, 血小板 < 100,000/μL, 好中球 < 1,000/μL
 - 4) 高トリグリセリド血症 (空腹時 265 mg/dL) または低フィブリノーゲン血症 (150 mg/dL)
 - 5) NK 細胞活性低値または欠損
 - 6) 血清フェリチン 500 ng/mL
 - 7) 可溶性 IL-2 受容体 2,400 U/mL
 - 8) 骨髓、脾臓、またはリンパ節に血球貪食像あり、悪性所見なし

付記 診断に有用な所見:

- (a) 髄液の細胞増多 (単核球) および/または髄液蛋白増加
- (b) 肝で慢性持続性肝炎に類似した組織像

診断を示唆する他の所見: 髄膜刺激症状、リンパ節腫大、黄疸、浮腫、皮疹、肝酵素上昇、低蛋白・低 Na 血症、VLDL 値上昇、HDL 値低下

注意 発症時に上記の基準をすべて満たすわけではなく、経過と共にいくつかを満たすことが少なくない。基準を満たさない場合は注意深く観察し、基準を満たした (同時期に症状・所見が揃った) 時点で診断する。

重症度分類

EB ウイルス関連血球貪食性リンパ組織球症は、迅速な治療介入を必要とする疾患であり、全例が重症と考えられる。

D . 考察

慢性活動性 EB ウイルス感染症とその類縁疾患の本態はかなり解明されてきたが、未だ不明な点が多い。また、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。さらに、いずれの疾患も難治・予後不良であり、効果的な治療法も未確立であるのが現状である。

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、そして生活面で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。

平成 27 年度は、慢性活動性 EB ウイルス感染症の診断基準を改定し、新たに重症度分類も加えた。また、EB ウイルス関連血球貪食症候群に対する診断基準を新規作成した。次いで、それぞれの疾患に対して、診療アルゴリズムおよびクリニカルクエスチョンを作成し、文献検索・システマティックレビューを実施した。

平成 28 年度中には 4 疾患を包括した診療ガイドラインが完成する予定である。診療ガイドラインが確立されれば、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。

E . 結論

慢性活動性 EB ウイルス感染症、EB ウイルス関連血球貪食性リンパ組織球症、種痘様水疱症、蚊刺過敏症の 4 疾患に対する診療ガイドライン作成のため、本疾患群に関する診療情報を集積し、診断基準改訂・診療アルゴリズム作成・CQ 作成・システマティックレビューを行った。診療ガイドラインならびに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. 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 22:268-271, 2016
2. Suzuki M, Takeda T, Nakagawa H, Iwata S, Watanabe T, Siddiquey MN, Goshima F, Murata T, Kawada JI, Ito Y, Kojima S, Kimura H. The heat shock protein 90 inhibitor BIIB021 suppresses the growth of T and natural killer cell lymphomas. Front Microbiol 6:280, 2015
3. Watanabe T, Narita Y, Yoshida M, Sato Y, Goshima F, Kimura H, Murata T. The Epstein-Barr virus BDLF4 gene is required for efficient expression of viral

- late lytic genes. *J Virol* 89(19):10120-4, 2015
4. Narita Y, Sugimoto A, Kawashima D, Watanabe T, Kanda T, Kimura H, Tsurumi T, Murata T. A herpesvirus specific motif of Epstein-Barr virus DNA polymerase is required for the efficient lytic genome synthesis. *Sci Rep* 5:11767, 2015
 5. Morishima S, Nakamura S, Yamamoto K, Miyauchi H, Kagami Y, Kinoshita T, Onoda H, Yatabe Y, Ito M, Miyamura K, Nagai H, Moritani S, Sugiura I, Tsushita K, Mihara H, Ohbayashi K, Iba S, Emi N, Okamoto M, Iwata S, Kimura H, Kuzushima K, Morishima Y. Increased T-cell responses to EBV with high viral load in patients with EBV-positive diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 56:1072-8, 2015
 6. Hattori T, Arai A, Yokota T, Imadome K, Tomimitu H, Miura O, Mizusawa H. Immune-mediated neuropathy with Epstein-Barr virus-positive T-cell lymphoproliferative diseases. *Intern Med.* 54(1):69-73,2015
 7. Jinta M, Imadome K, Komatsu H, Yoshimori M, Kurata M, Fujiwara S, Miura O, Arai A. L-Asparaginase monotherapy for EBV-positive T/NK lymphoproliferative diseases: A pilot Study. *Journal of Medical and Dental Sciences*, 30;62(1):1-9,2015
 8. Yoshimori M, Takada H, Imadome K, Kurata M, Yamamoto K, Koyama T, Shimizu N, Fujiwara S, Miura O, Arai A. P-glycoprotein is expressed and causes resistance to chemotherapy in EBV-positive T-cell lymphoproliferative diseases. *Cancer Med.* 10:1494-504,2015
 9. Nomura H, Suzuki H, Egami S, Yokoyama T, Sugiura M, Tomita K, Imada M, Taniguchi K, Yoshino T, Iwatsuki K. A patient with elderly-onset atypical hydroa vacciniforme with an indolent clinical course. *Br J Dermatol* 173:801-805,2015
 10. 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* 172: 56-63,2015
 11. Yang X, Nishida N, Zhao X, Kanegane H. Advances in Understanding the Pathogenesis of Epstein-Barr Virus-Associated Lymphoproliferative Disorders. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 14:462-71, 2015
 12. Matsuda G, Imadome K-I, Kawano F, Mochizuki M, Ochiai N, Morio T, Shimizu N, and Fujiwara S. Cellular immunotherapy with ex vivo expanded cord blood T cells in a humanized mouse model of EBV-associated lymphoproliferative disease. *Immunotherapy* 7:335-341,2015.
 13. Sakakibara Y, Wada T, Muraoka M, Matsuda Y, Toma T, Yachie A. Basophil activation by mosquito extracts in patients with hypersensitivity to mosquito bites. *Cancer Sci.* 106:965-71,2015
 14. Yui S, Yamaguchi H, Imadome K, Arai A, Takahashi M, Ohashi R, Asayama T, Kondo A, Moriya K, Nakayama K, Dan K, Shimizu S, Inokuchi K. Epstein-Barr virus positive T cell lymphoproliferative disease following cord blood transplantation for acute myelogenous leukemia. *The Journal of Nippon Medical School*, in press 2016
 15. Arai A, Sakashita C, Hirose C, Imadome

- K, Yamamoto M, Jinta M, Fujiwara S, Tomita M, Shimizu N, Morio T, and Miura O. Hematopoietic stem cell transplantation for adults with EBV-positive T- or NK-cell lymphoproliferative disorders: efficacy and predictive markers. Bone Marrow Transplantation, in press 2016
16. 木村 宏. Epstein-Barr ウイルス関連 T/NK リンパ増殖性疾患. 血液専門医テキスト第2版 日本血液学会、編. 南江堂、p437-439, 2015
 17. 村田貴之、木村 宏. EBV による発がん機構. 血液内科 71:181-186, 2015
 18. 浅田秀夫: EBウイルス感染症(特集:見てわかる小児の皮膚疾患). 小児科診療 78(11): 1634-8, 2015
 19. 新井文子. Epstein-Barr virus によるリンパ系腫瘍発症分子機構. 臨床血液 56(3):269-77, 2015
 20. 今留謙一、藤原成悦、大賀正一. EBV 関連リンパ増殖性疾患—疾患概念と病態解析研究—. 血液内科 71(2):187-193, 2015
- ## 2.学会発表
1. Kimura H. EBV Infection and Hematological Malignancy. 27th International Association for Comparative Research on Leukemia and Related Diseases Symposium. Paris, Sep 21, 2015
 2. Kawada JI, Torii Y, Suzuki M, Murata T, Yoshiyama H, Kimura H, Ito Y. EBV infection of human monocytes induces AIM2 inflammasome activation. 40th Annual International Hepesvirus Workshop, Boise, USA, July 25-29, 2015
 3. Ando S, Kawada JI, Suzuki M, Watanabe T, Torii Y, Murata T, Kimura H, Ito Y. Antitumor activity of Tofacitinib on Epstein-Barr virus-associated lymphoma cells. 40th Annual International Hepesvirus Workshop, Boise, USA, July 25-29, 2015
 4. Watanabe T, Kimura H, Goshima F, Murata T. Roles of Epstein-Barr virus BGLF3.5 Gene and Two Upstream Open Reading Frames in Lytic Viral Replication in HEK293 Cells. 40th Annual International Hepesvirus Workshop, Boise, USA, July 25-29, 2015
 5. Akira Toriihara, Reiko Nakajima, Ayako Arai, Masashi Nakadate, Koichiro Abe, Kazunori Kubota, Ukihide Tateishi. FDG-PET/CT of Epstein-Barr virus-related lymphoproliferative disorders: knowledge for rapid and appropriate diagnosis. 102nd Scientific Assembly and Annual Meeting of Radiological Society of North America, Chicago, Nov 29- Dec 4, 2015
 6. Akihisa Sawada, Current Understanding and Management of Chronic Active Epstein-Barr Virus Infection. The 2nd China International Forum of Pediatric Development. Beijing, China. Oct 11, 2015
 7. Fujiwara S. Humanized mouse models of Epstein-Barr virus infection and associated diseases. The 3rd Beijing Conference on Histiocytosis. Beijing, China. Oct 25, 2015
 8. Murata T, Kimura H. Epstein-Barr virus: Replication and Pathogenesis. 第63回日本ウイルス学会学術集会. 福岡、2015年11月22日
 9. Murata T, Sato Y, Kanda T, Yoshiyama H, Goshima F, Kimura H. Induction of Epstein-Barr virus oncoprotein LMP1 by transcription factor AP2. 第74回日本癌学会学術総会. 名古屋、2015年10月8日

10. 木村 宏. 感染症関連ガイドライン：これまでとこれから ヘルペスウイルス感染症. 第 47 回日本小児感染症学学術集会 シンポジウム. 福島、2015 年 10 月 31 日
11. 木村 宏. CAEBV 診療ガイドラインの概要と進捗状況. 第 25 回 EB ウイルス感染症研究会 ワークショップ. 東京、2016 年 3 月 20 日
12. 浅田秀夫. 皮膚科領域のヘルペスウイルス感染症 - 最近の話題を中心に. 第 80 回 日本皮膚科学会山梨地方会. 甲府市、2015 年 4 月 4 日
13. 伊藤嘉規, 鈴木道雄, 川田潤一, 木村 宏. 慢性活動性 EB ウイルス感染症における診断的意義のある末梢血単核球分画中ウイルス DNA 量の解析. 第 47 回日本小児感染症学会. 福島、2015 年 10 月 31 日-11 月 1 日
14. 三宅智子, 岩月啓氏他：種痘様水疱症と蚊刺過敏症における血球・血漿 EBV DNA 定量の臨床的意義の検討. 第 79 回日本皮膚科学会東京・東部支部合同学術大会. 東京、2016 年 2 月 20、21 日
15. Yoshinori Tanaka, Akiko Sugiyama, Toshiaki Yujiri, Mayumi Tanaka, Yukinori Nakamura, Mari Ohtsuji, Ryoussuke Tsuruta, Shouichi Ohga, Yukio Tanizawa: Treatment of EBV-HLH in a young adult: a case report. 第 77 回日本血液学会学術集会 教育講演. 金沢、2015 年 10 月 16-18 日
16. 佐々木裕哉 三好寛明 大島孝一. 日本におけるランゲルハンス細胞組織球症 20 例の BRAF V600E 変異解析. 第 77 回日本血液学会学術集会. 金沢、2015 年 10 月 16-18 日
17. 樋口紘平, 五百井彩, 眞弓あずさ, ほか. 化学療法忌避のため 8 年間対症療法で経過観察された慢性活動性 EB ウイルス感染症の 1 例. 日本小児血液・がん学会総会 2015; 266. 抄録番号 P37-3-4. 山梨、2015 年 11 月 29 日.

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

慢性活動性 EBV 感染症診断基準作成のための病態評価
EBV-HLH を中心にした解析

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

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、分担研究者らが従来より提唱している EBV-HLH の早期診断について、より多くの症例を積み重ねて得られた経験をもとに血清サイトカイン解析と細胞解析の意義についてまとめた。Neopterin を中心とした炎症性サイトカインの高値と、末梢血中 HLA-DR⁺⁺ CD5⁻ CD8⁺ T 細胞クローンの異常増加は本疾患に特徴的な所見であることが確認された。これらの手法を早期診断・早期治療介入の有用なツールとして提案する。

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、類縁疾患である EBV-HLH 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、紹介施設より病態評価ならびに感染細胞の同定を依頼されて症例を対象とした。

方法：サイトカイン・プロファイリングについては、血清 neopterin、IL-6、IL-18、sTNF-RI、sTNF-RII について ELISA 法により定量、さらにこれら複数の炎症指標のパターンを radar chart に表示してプロファイル解析を施行。末梢血リンパ球亜群分布は、flow cytometry (FCM) 法により解析。さらに、TCR V β repertoire 特異抗体を用いて V β repertoire 分布を評価し、単クロー

ン性細胞増殖の可能性について検討した。また異常 CD8⁺ T 細胞について、CD8⁺ T 細胞における HLA-DR 発現ならびに CD5 発現を同時に解析し、HLA-DR⁺⁺ CD5⁻ 細胞集団の有無を確認した。

C . 研究結果

今回の研究では、EBV-HLH と診断した 2 症例について、血清サイトカイン・プロファイルならびに細胞解析によりその病態の変化を経時的に評価した。比較して用いた臨床指標は末梢血中の EBV copy 数、フェリチン値である。

症例 1 は汎血球減少、肝脾腫、高フェリチン値などで発症した典型的な EBV-HLH 症例。発症早期の細胞解析で、CD8⁺ T 細胞中に HLA-DR 強陽性、CD5 陰性細胞集団が多数確認された。しかし、TCR V β repertoire 分布解析で

は、市販の抗 $\text{V}\beta$ 抗体で確認できる $\text{V}\beta$ repertoire 陽性細胞の増殖を検出することはできなかった。血清サイトカイン・プロファイル解析では、多くの炎症性サイトカインが高値を示したが、IL-6 値の著明な増加は認められなかった。以降、治療開始後の経過を CD8^+ T 細胞の HLA-DR/CD5 発現とサイトカイン・プロファイルを指標に評価した（図 1）。

早期診断が可能であったこともあり、症例 1 は経口ステロイド剤投与のいで速やかに炎症病態は改善傾向を示した。良好な臨床経過と一致して、血清フェリチン値は速やかに低下、末梢血中 EBV copy 数も減少した。細胞解析でも CD8^+ T 細胞中の $\text{HLA-DR}^{++}\text{CD5}^-$ 細胞の比率は急速に減少した。

症例 2 は、発症早期より EBV 急性感染症と診断されたが、当初は伝染性単核症と考えられ、肝機能増悪後も重症伝染性単核症として保存的治療が継続された。EBV-HLH の可能性が危惧され細胞解析が施行された時点で発症後 1 ヶ月を経ている。症例 1 と異なり、当初より著しい高サイトカイン血症を認め、特に neopterin は異常高値を示した。またこの症例でも CD8^+ T 細胞中に HLA-DR 強陽性、CD5 陰性細胞集団を確認、さらにこの細胞が TCR $\text{V}\beta 1$ 陽性であることを確認した。以降、細胞解析では CD8^+ T 細胞中の $\text{CD5}^- \text{V}\beta 1^+$ 細胞として比率を評価した。

この症例では、細胞解析、サイトカイン・プロファイルいずれのデータも一旦改善傾向を示したが、異常細胞は消失し、炎症病態は再増悪した。末梢血中 EBV copy 数も高値を維持し、フェリチンもわずかな低下に留まった（図 2）。

図 1：症例 1 の経過

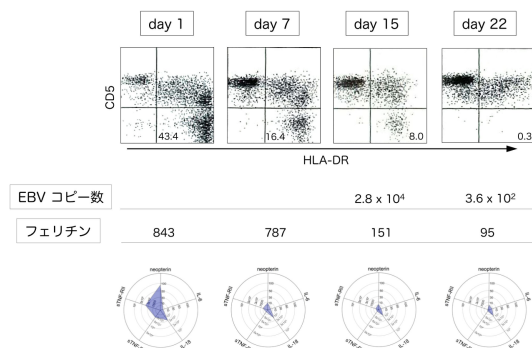
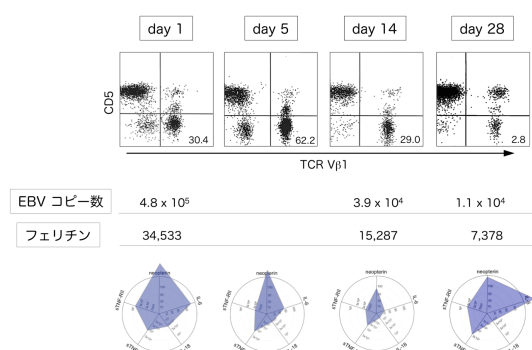


図 2：症例 1 の経過

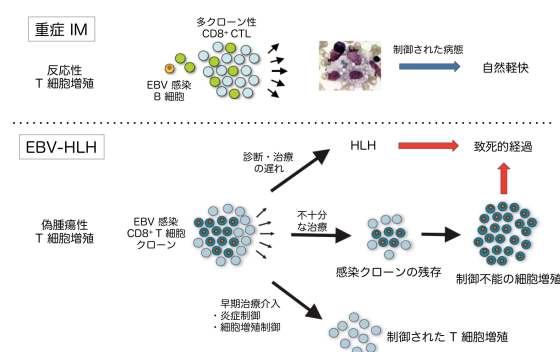


D．考察

EBV 感染に関連した重篤な病態の中でも、血球貪食を伴う病態はしばしば致命的な経過をたどることから、早期の的確な診断と治療介入が必須である。一方で、EBV 関連血球貪食症候群（EBVAHS）という診断名は、その病態の本質が全く異なる二つの疾患が混同されている可能性が示唆される。B 細胞への EBV 感染と反応性の T 細胞活性化にとどまる重症伝染性単核症と、 CD8^+ T 細胞クローンへの ectopic な感染と活性化・増殖を本態とする EBV-HLH は発症当初より明確に区別されるべき病態である（図 3）。そのためには、当初より細胞解析とサイトカイン・プロファイリングを駆使

した病態解析を用いて早期診断を行い、治療介入後の経過を評価することは極めて有用であると考えられた。

図3：EBV 関連血球貪食症候群



E．結論

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にあたって、特に重要な類縁疾患である EBV-HLH の病態評価のための指標を提供することの意義が確認された。

F．健康危険情報

特になし

G．研究発表

1．論文発表

1. Sakakibara Y, Wada T, Muraoka M, Matsuda Y, Toma T, Yachie A. Basophil activation by mosquito extracts in patients with hypersensitivity to mosquito bites. Cancer Sci. 2015; 106:965-71.

2. Wada T, Yasumi T, Toma T, Hori M, Maeda S, Umeda K, Heike T, Adachi S, Usami I, Yachie A. Munc13-4 deficiency with CD5 downregulation on activated CD8+ T cells. Pediatr Int. 2014; 56: 605-8.

2.学会発表

1. 伊川泰広、西村良成、野口和寛、福田正基、藤木俊寛、黒田梨恵、荒木来太、前馬秀昭、谷内江昭宏．血清サイトカインプロファイルの解析はランゲルハンス細胞組織球症の病勢把握に有用である～好酸球性肉芽腫症と Letterer-Sive 病におけるサイトカインプロファイルの相違．第 39 回 LCH 研究会 東京． 2015 年 3 月 15 日
2. Yasuhiro Ikawa, Ryosei Nishimura, Raita Araki, Toshihiro Fujiki, Masaki Fukuda, Rie Kuroda, Hideaki Maeba, Akihiro Yachie. IL-18 overexpression is a central player in Langerhans cell histiocytosis associated with hemophagocytic syndrome: elucidating the mechanisms of LCH associated with HPS. 第 56 回 日本小児血液・がん学会学術集会. 岡山 2014 年 11 月 28 日

H．知的所有権の取得状況

特になし

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 ウイルス蛋白質 EBNA1 が突然変異頻度に与える影響に関する研究

研究分担者 藤原成悦

国立成育医療研究センター研究所

免疫アレルギー・感染研究部 特任研究員

研究要旨

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

A . 研究目的

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

B . 研究方法

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

表1. EBNA1の6-TG耐性細胞出現頻度に対する影響

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

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

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

C . 研究結果

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

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

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

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

D . 考察

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

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

```

1 TTTGATATGA TGCGCCCCGC TTCCCGATAA GGGAGCAGGC 40
      A T
41 CAGTAAAGC ATTACCTGTG GTGGGGTTCC CGAGCGGCCA 80
      T A
      G GC
81 AAGGGAGCAG ACTCTAAATC TGCCGTCATC GACTTCGAAG 120
      T C
121 GTTCGAATCC TTCCCCCACC ACCATCACTT TCA 153
      T

```

図 1.3 剤耐性白色コロニーから回収された pZ189 の *supF* 遺伝子に見つかった変異。

E . 結論

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

F . 健康危険情報

該当なし

G . 研究発表

2 . 論文発表

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

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

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

2.学会発表

1. Fujiwara S. Humanized mouse models of Epstein-Barr virus infection and associated diseases. The 3rd Beijing Conference on Histiocytosis. October 25, 2015, Beijing.
2. 川野布由子、児玉栄一、清水則夫、松田剛、藤原成悦、今留謙一．難治性 EB ウイルス関連 T/NK リンパ増殖性疾患モデルマウスを用いた新規治療医薬 S-FMAU の評価研究．第 63 回日本ウイルス学会学術集会、福岡、2015 年 11 月 23 日．

H . 知的所有権の取得状況

該当なし

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

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

研究分担者 氏名 大島孝一 所属 久留米大学病理学教室 職名 教授

研究要旨

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

A . 研究目的

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

B . 研究方法

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

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

(倫理面への配慮) ヘルシンキ宣言に従って研究を実施した。

C . 研究結果

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

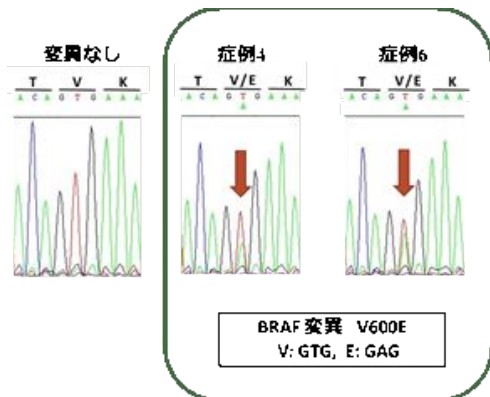


図 症例 4 , 6 に BRAF V600E に変異が見られる。

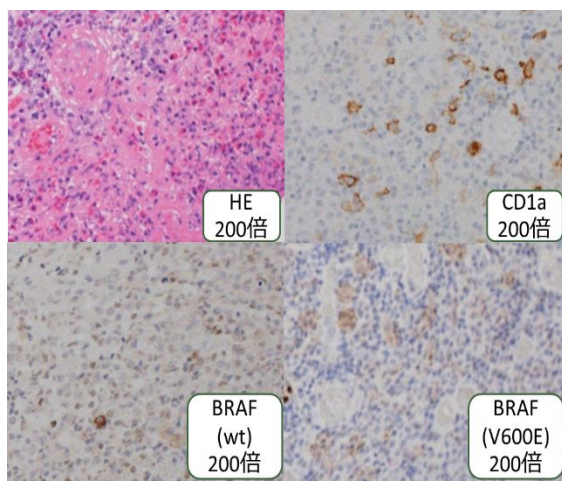


図 ランゲルハンス組織球症、組織像は好酸球を伴い、細胞質の豊かな細胞が増殖し、CD1a 陽性である。BRAF (WT) が一部陽性で、BRAF (V600E) が一部陽性である。

D . 考察

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

E . 結論

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

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

3 . 論文発表

なし (準備中)

2 . 学会発表

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

H . 知的所有権の取得状況

1 . 特許取得

なし

2 . 実用新案登録

なし

3 . その他

なし

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

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

研究要旨

慢性活動性 EB ウイルス感染症 (CAEBV) および類縁疾患である蚊刺過敏症と種痘様水疱症のコホート調査を行った。病型を古典的種痘様水疱症、全身性種痘様水疱症、蚊刺過敏症、蚊刺過敏症と種痘様水疱症合併例に分類することが、予後を規定することが明らかになった。発症年齢 9 歳以上、および再活性化シグナルである BZLF1mRNA 発現は予後不良因子であった。活性化シグナルおよび EB ウイルス感染リンパ球サブセットは病態と予後に関与する可能性が示唆された。本年度得られた研究成果を組み入れた診断基準と診療ガイドライン作成を行った。

研究協力者

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

A . 研究目的

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

B . 研究方法

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

C . 研究結果

1) 病型分類と予後

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

2) 発症年齢と予後

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

3) 再活性化マーカーと予後

超早期の再活性化シグナルである BZLF1mRNA 発現は、予後不良因子であった。

EBV再活性化マーカーのBZLF1 mRNA発現は、流血中では陰性であるが、EBV 関連上皮系ではほぼ全例で発現がみられる。リンパ球系では、リンパ腫症例では陽性や、全身型炎症反応をきたす病型（全身性種痘様水疱症、蚊刺過敏症）では3分の1程度で発現がみられる。（論文発表1）そのような例では全身性炎症があり、生命予後が不良であった（論文発表3）

4）EB ウイルス感染細胞サブセットと予後

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

D . 考察

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

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

起こし、予後を規定する因子となると考えられる。

E . 結論

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

F . 健康危険情報

特になし。

G . 研究発表

1. 論文発表

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

2 . 学会発表

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

大会 2016 年 2 月 20、21 日)

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

H . 知的所有権の取得状況

1 . 特許取得

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

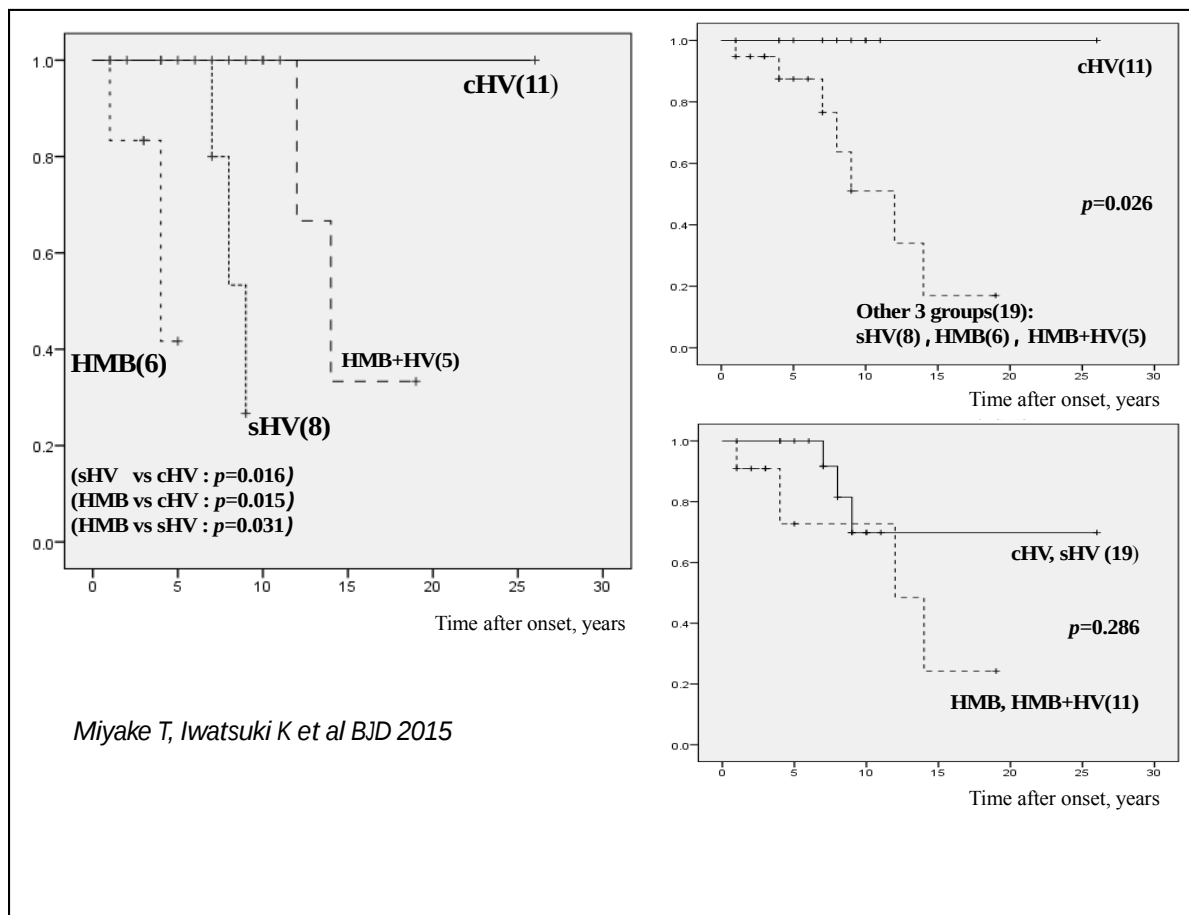
2 . 実用新案登録

特になし。

3 . その他

特になし。

図 1 種痘様水疱症と蚊刺過敏症の生命予後



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

蚊刺過敏症から EB ウイルス関連悪性リンパ腫への移行過程についての研究

研究分担者 浅田秀夫 奈良県立医科大学皮膚科 教授

研究要旨

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

A . 研究目的

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

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

B . 研究方法

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

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

この症例につき悪性リンパ腫発症の前後で以下の項目を検討した。

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

(倫理面への配慮)

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

C . 研究結果

末梢血塗抹標本:大型の顆粒リンパ球の増多をみとめたが、悪性リンパ腫の発症前後で、細胞数、形態に明らかな変化は見られなかった。

血清抗 EBV 抗体価:抗 VCA-IgG x320-640、EADR-IgG x80-160 と高値を示したが、悪性リンパ腫の発症前後で、有意な変化はなかった。

末梢血単核球中 EBV DNA 定量: $2.2-5.0 \times 10^4$ コピー/ μg 。悪性リンパ腫の発症前後で、有意な変化はなかった。EBV-terminal repeat の Southern blotting: 悪性リンパ腫の発症前から末梢血中に EBV 感染細胞の単クローン性増殖を確認。

T 細胞受容体解析: 悪性リンパ腫発症前から β 鎖と γ 鎖の遺伝子再構成をみとめた。

蚊唾液腺抽出物による患者リンパ球の刺激試験: ヒトスジシマカよりもむしろアカイエカに対して強い反応をみとめ、悪性リンパ腫の発症前後で変化は見られなかった。

皮疹部の病理組織学的検討:

<悪性リンパ腫発症前> 21 歳時の皮膚潰瘍辺縁の皮膚生検では、真皮から脂肪織にリンパ球の密な浸潤がみられたが、異型性には乏しかった。CD3、CD4、グランザイム B、EBER が多数の細胞で陽性。CD56 は陰性。

<悪性リンパ腫発症後> 22 歳時の再燃した皮膚潰瘍辺縁の生検では、EBER 陽性の明らかに異型なリンパ球の密な浸潤を認めた。リンパ球表面マーカーは、前年と同様であった。LMP-1 の発現にも明らかな差は見られなかった。

D . 考察

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

E . 結論

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

F . 健康危険情報

該当なし。

G . 研究発表

府市) 2015 年 4 月 4 日

4 . 論文発表

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

2 . 学会発表

3. 浅田秀夫. 皮膚科領域のヘルペスウイルス感染症 - 最近の話題を中心に. 第 80 回 日本皮膚科学会山梨地方会 (甲

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（難治性疾患実用化研究事業）
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

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

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

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

A . 研究目的

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

B . 研究方法

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

（倫理面への配慮）

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

C . 研究結果

1) 基礎疾患のない EBV-HLH

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

2) 基礎疾患のある EBV-HLH

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

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

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

表 1. ALL治療中に発症したEBV-HLHの報告例

患者	性	年齢 (歳)	ALLの病型	EBV感染時の ALL治療相	EBV-HLHの治療	転帰	報告年
1	M	9	不明	再寛解導入 ^{*1}	PSL	死亡	1981
2	M	6	pre-cortical T-ALL	維持療法	PSL, vinblastine cyclophosphamide	死亡	2005
3	M	9	pre B-ALL	維持療法	DEX, CsA, etoposide	死亡	2006
4	M	2	pre B-ALL	寛解導入	PSL	生存	本例

^{*1} 患児は完全寛解30か月後に左精巣再発を来した。

D. 考察

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

E. 結論

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

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Okada S, Hasegawa S, Suzuki Y, Matsubara T, Shimomura M, Okuda M, Ichiyama T, Ohga S: Acute pericardial effusion representing the TNF- α -mediated severe inflammation but not the coronary artery outcome of Kawasaki disease. Scand J Rheumatol 44(3):247-252, 2015

2) Maeba S, Hasegawa S, Shimomura M, Ichimura T, Takahashi K, Motoyama M, Fukunaga S, Ito Y, Ichiyama T, Ohga S: Successful treatment of corticosteroid with antiviral therapy for a neonatal liver failure with disseminated herpes simplex virus infection. Am J Perinatol Reports 5(2):e089-092, 2015

3) Hoshina T, Ohga S, Fujiyoshi J, Nanishi E, Takimoto T, Kanno S, Nishio H, Saito M, Akeda Y, Oishi K, Hara T: Memory B-cell pools predict the immune response to pneumococcal conjugate vaccine in immunocompromised children. J Infect Dis 213(5):848-855, 2016

4) 今留謙一、藤原成悦、大賀正一: EBV関連リンパ増殖性疾患—疾患概念と病態解析研究—。血液内科 71巻2号 187-193, 2015

5) 大賀正一: 第 部各論(疾患)第1章 血液・

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

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

2. 学会発表

1) 大賀正一: シンポジウム: CAEBV 診療ガイドライン作成にあたって。EBV-HLH 診療 -アルゴリズムの提案。

第24回EBウイルス感染症研究会, 2015年3月15日, 東京

2) 大賀正一: 難治性EBウイルス感染症とその遺伝的背景。第37回 近畿小児血液・がん研究会教育セミナー講演 2015年2月14日, 京都

3) 大賀正一: EBウイルスとその関連疾患。小野田医師会学術講演会 特別講演, 2015年1月21日, 小野田

4) 石井榮一, 渡邊智之, 中沢洋三, 今村俊彦, 金兼弘和, 柳沢龍, 細谷要介, 森谷邦彦, 鬼頭敏幸, 中川慎一郎, 土居岳彦, 大賀正一, 塩田曜子, 工藤寿子, 森本哲。日本におけるHLH-2004プロトコールによる血球貪食性リンパ組織球症の治療成績。第57回日本小児血液・がん学会学術集会, 2015年11月27-29日, 甲府

5) 木村献, 長谷川俊史, 前場進治, 元山将, 市村卓也, 下村麻衣子, 高橋一雅, 福永真之介, 大賀正一: 早期のステロイドパルスと抗ウイルス療法が奏功した全身型単純ヘルペス感染症の新生児例。第57回日本小児血液・がん学会学術集会, 2015年11月27-29日, 甲府

6) Yoshinori Tanaka, Akiko Sugiyama, Toshiaki Yujiri, Mayumi Tanaka, Yukinori Nakamura, Mari Ohtsuji, Ryousuke Tsuruta, Shouichi Ohga, Yukio Tanizawa: Treatment of EBV-HLH in a young adult: a case report. 第77回日本血液学会学術集会 教育講演, 2015年10月16-18日, 金沢。

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

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

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

研究分担者 氏名：澤田明久

所属：大阪府立母子保健総合医療センター 職名：血液・腫瘍科，副部長

研究要旨

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

A．研究目的

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

B．研究方法

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

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

C．研究結果

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

D．考察

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

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

移植後早期に亡くなられた。

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

E . 結論

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

F . 健康危険情報

なし。

G . 研究発表

1 . 論文発表

なし。

2 . 学会発表

1. 樋口紘平 ,五百井彩 ,眞弓あずさ ,ほか .
化学療法忌避のため 8 年間対症療法で経過観察された慢性活動性 EB ウイルス感染症の 1 例 . 日本小児血液・がん学会総会 2015; 266 . 抄録番号 P37-3-4 . 山梨 . 2015 年 11 月 29 日 .
2. Mariko Shimizu, Akihisa Sawada, Maho Sato, et al. Six cases of late-onset

EBV-associated PTLD. 日本血液学会総会 2015; 1513. 抄録番号 OS-3-45 .石川 . 2015 年 10 月 18 日 .

3. Akihisa Sawada, Current Understanding and Management of Chronic Active Epstein-Barr Virus Infection. The 2nd China International Forum of Pediatric Development. Beijing, China. 2015 年 10 月 11 日 .
4. 眞弓あずさ ,澤田明久 ,佐藤真穂 ,ほか .
慢性 EBV 関連 T/NK 細胞リンパ増殖症に対する臍帯血移植における最適な前処置法 . 日本造血細胞移植学会総会 2015; 203. 抄録番号 09-2 . 兵庫 . 2015 年 3 月 6 日 .
5. 五百井彩 ,佐藤真穂 ,眞弓あずさ ,ほか .
慢性活動性 EB ウイルス感染症による重症血球貪食症候群に対し緊急 PBSCT が奏効した 1 例 . 日本造血細胞移植学会総会 2015; 252. 抄録番号 P5-71 . 兵庫 . 2015 年 3 月 6 日 .

H . 知的所有権の取得状況

1 . 特許取得

なし。

2 . 実用新案登録

なし。

3 . その他

なし。

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
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

分担研究者 新井文子（東京医科歯科大学大学院血液内科学 講師）

研究要旨

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

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

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

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

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

A．研究目的

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

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

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

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

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

B．研究方法

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。

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

EBV-T/NK-LPDs と MDR1 発現：解析には EBV 陽性 T/NK リンパ増殖症細胞株 (SNT8,15,16, SNK6: 清水則夫博士より供与) および EBV-T/NK-LPDs 患者の末梢血から磁気ビーズを用いて分離した EBV 感染細胞を用いた。対照には EBV 陰性 T および NK 細胞腫瘍株を用いた。それらにおける P-gp の発現を RNA (RT-PCR) および蛋白

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

(倫理面への配慮)

の研究は東京医科歯科大学倫理委員会及び東京医科歯科大学医学部附属病院施設内審査委員会の承認、患者の文書による同意を得て施行した。

C．研究結果

EBV 関連疾患診療ガイドラインの作成：CAEBV に対する治療介入時期：感染細胞の表現型やクローナリティは、CAEBV 診断後の治療介入の判断に有用は明らかではない。CAEBV の予後因子：肝障害、発症年齢 (8 歳以上) は予後不良因子である。しかし、治療方針決定に有用か否かは明らかでない。EBV 陽性血球貪食性リンパ組織球症に対し治療介入時期：EBV-HLH の診断、治療選択に際して感染細胞の表現型の解析、クローナリティの解析の有用性は明らかでない。以上の推奨コメントを作成した。

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

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

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

D．考察

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

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

EBV-T/NK-LPDs と MDR1 発現：
EBV-T/NK-LPDsの治療抵抗性は、P-gpによ

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

E．結論

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

F．健康危険情報
なし。

G．研究発表

1．論文発表

原著論文

英文

- 1) Hattori T, Arai A, Yokota T, Imadome K, Tomimitu H, Miura O, Mizusawa H.
Immune-mediated neuropathy with Epstein-Barr virus-positive T-cell lymphoproliferative diseases. Intern Med. 2015;54(1):69-73. doi: 10.2169/internalmedicine.54.3173. Epub 2015 Jan 1.
- 2) Jinta M, Imadome K, Komatsu H, Yoshimori M, Kurata M, Fujiwara S, Miura O, Arai A.
L-Asparaginase monotherapy for EBV-positive T/NK lymphoproliferative diseases: A pilot Study. Journal of Medical and Dental Sciences, 2015 Mar 30;62(1):1-9. doi: 10.11480/620101.
- 3) Hirokawa M, Sawada K, Fujisima N, Teramura M, Bessho M, Dan K, Tsurumi H, Nakao S, Urabe

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

The Journal of Nippon Medical School, 2016

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

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

Bone Marrow Transplantation, 2016

総説

1) 新井文子

Epstein-Barr virus によるリンパ系腫瘍発症分子機構

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

2) 新井文子

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

3) 新井文子

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

4) 新井文子

Epstein-Barr virus と Burkitt リンパ腫
Ayako Arai
Epstein-Barr virus and Burkitt lymphoma
血液内科 71 (2):214-219, 2015

書籍

1) 新井文子

伝染性単核球症
血液研修ノート 永井良三 監修
診断と治療社, 2016

2 . 学会発表

国内学会

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

東京. 2015 年 3 月 15 日

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

国際学会

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

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

H. 知的財産権の出願・取得状況
なし。

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

リンパ腫病理分類における慢性活動性 EBV 感染症に関する検討

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

現行のリンパ腫・リンパ増殖性疾患の分類である WHO 分類第 4 版では、慢性活動性 EBV 感染症に関連する疾患として、小児全身性 EBV 陽性 T 細胞リンパ増殖性疾患や種痘様水疱症用リンパ腫などが定義されている。この他に、EBV 関連リンパ増殖性疾患としてアグレッシブ NK 細胞白血病や一部の末梢性 T 細胞リンパ腫（分類不能型）との鑑別が問題となる。臨床症状と血液 EBV-DNA 定量のみでは鑑別が困難で組織の病理診断が可能であれば行うべきであるが、鑑別困難例が存在する。

A . 研究目的

現行のリンパ腫・リンパ増殖性疾患の分類である WHO 分類第 4 版における慢性活動性 EBV 感染症（CAEBV）の位置づけと問題点を明らかにする。

B . 研究方法

当科で経験した CAEBV との関連性が示唆される T/NK 細胞リンパ腫・白血病の症例について、臨床病理学的な診断上の問題点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ないように配慮した。

C . 研究結果

1) アグレッシブ NK 細胞白血病（ANKL）との鑑別点

汎血球減少症、肝障害を来した 54 歳男性。骨髓中に EBV 陽性腫瘍細胞の集簇を認め、NK 細胞からなる異型細胞が 10%程度みられ

た。EBV クローナリティー（サザンブロット）陽性。Asparaginase を含む化学療法の後、同種造血幹細胞移植を行ったが、再発し、原病死した。CAEBV が背景にあると考えられたが、ANKL と診断する骨髓・血液腫瘍細胞割合が WHO 分類では定義されていない。

2) 小児全身性 EBV 陽性 T 細胞リンパ増殖性疾患との鑑別点

血小板減少、肝障害を来した 37 歳男性。肝脾腫を認め、血液・骨髓に CD7- のクローン性の T 細胞集団がみられた。血液 EBV 10e6 copy/WBC 10e6、EBV クローナリティー陽性。骨髓生検により病理学的には末梢性 T 細胞リンパ腫・分類不能型（PTCL-NOS）と診断されたが、CAEBV や小児全身性 EBV 陽性 T 細胞リンパ増殖性疾患との鑑別が問題となった。

D . 考察

久留米大学の大島らにより、CAEBV と関連したリンパ増殖性疾患の組織像（polymorphic vs monomorphic）と EBV 感染

細胞のクローナリティーによるカテゴリー分類が提唱されている (Pathol Int 2008)。しかし病理組織学的に明らかなリンパ腫・白血病に至っていない場合でも重症の血球貪食症候群を来し、治療介入を要することがある。また、EBV 陽性リンパ増殖性疾患の病理分類 (PTCL-NOS、ANKL、小児全身性 EBV 陽性 T 細胞リンパ増殖性疾患) の定義が現行の WHO 分類では明確でない点がある。すでに治療法が確立している T/NK 細胞リンパ腫・白血病 (または CAEBV からそれらへの移行例) と CAEBV の鑑別が重要であるが、現時点では基準が明確でない可能性がある。

E . 結論

CAEBV の診断時には T/NK 細胞リンパ腫・白血病の除外が必要であるが、鑑別困難例がある。

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
該当事項なし。

H . 知的所有権の取得状況

該当事項なし。

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 関連リンパ増殖症とその類縁疾患に関する研究

研究分担者 金兼 弘和 東京医科歯科大学大学院発生病態学分野 准教授
星野 顕宏 富山大学医学部小児科 大学院生

研究要旨

EB ウイルス関連リンパ増殖症をきたす原発性免疫不全症の代表疾患は X 連鎖リンパ増殖症候群であるが、その他の疾患も少なからず存在する。その一つとして、ZAP70 異常症を同定した。エクソーム解析によって遺伝子変異を同定し、病態として NKT 細胞や EBV 特異的 T 細胞の欠損を示した。ZAP70 変異例の一部の症例は、EBV に選択的に易感染性を有して EBV-LPD を発症し得る新たな疾患群である可能性がある。

A . 研究目的

EB ウイルス関連リンパ増殖症 (EBV-LPD) を主な臨床所見とする原発性免疫不全症の代表疾患は X 連鎖リンパ増殖症候群 (XLP) である。XLP 以外の疾患も少なからず存在するが、原因遺伝子をはじめ不明ことが多い。それらの疾患群に対して、診療ガイドラインや患者レジストリの作成にあたって、患者検体の解析を行うことを目的とした。

B . 研究方法

EBV-LPD をきたした 2 歳男児の血液検体を用いて、遺伝学的・免疫学的解析を行った。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保護者に対し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

エクソーム解析によって、ZAP70 複合ヘテロ変異を同定した。細胞表面マーカー染色および次世代シーケンサーを用いた T 細胞受容体配列解析によって、NKT 細胞の欠損と EBV 特異的 T 細胞の欠損を示した。また、CD8⁺T 細胞が欠損している通常の ZAP70 欠損症とは異なり、少数の機能的な CD8⁺T 細胞が存在することを示した。この機序として、スプライスサイト変異がありながらも一部の細胞で正常なスプライシングが行われていたことを証明した。

D . 考察

EBV に対する感染防御に重要な NKT 細胞と EBV 特異的 T 細胞の欠損によって、EBV-LPD をきたした。一方で、機能的な T 細胞が存在するために、EBV に対して選択的な易感染性であったと考えられた。

E . 結論

ZAP70 変異例の一部の症例は、EBV に選択的に易感染性を有して EBV-LPD を発症し得る新たな疾患群である可能性がある。また、XLP ではない EBV-LPD に対して診断や解析に関する一つの方法を確立した。

F . 健康危険情報

特になし。

G . 研究発表

1 . 論文発表

1. Yang X, Nishida N, Zhao X, Kanegane H. Advances in Understanding the Pathogenesis of Epstein-Barr Virus-Associated Lymphoproliferative Disorders. Iran J Allergy Asthma Immunol. 14:462-71 2015
2. Okuno Y, Hoshino A, Muramatsu H, Kawashima N, Wang X, Yoshida K, Wada T, Gunji M, Toma T, Kato T, Shiraishi Y, Iwata A, Hori T, Kitoh T, Chiba K, Tanaka H, Sanada M, Takahashi Y, Nonoyama S, Ito M, Miyano S, Ogawa S, Kojima S, Kanegane H. Late-Onset Combined Immunodeficiency with a Novel IL2RG Mutation and Probable Revertant Somatic Mosaicism. J Clin Immunol. 35:610-4 2015
3. Nishida N, Yang X, Takasaki I, Imai K, Kato K, Inoue Y, Imamura T, Miyashita R, Kato F, Yamaide A, Mori M, Saito S, Hara J, Adachi Y, Miyawaki T, Kanegane H. Dysgammaglobulinemia Associated With Glu349del, a Hypomorphic XIAP Mutation. J Invest Allergol Clin Immunol. 25:205-13 2015
4. Shiota M, Yang X, Kubokawa M, Morishima T, Tanaka K, Mikami M, Yoshida K, Kikuchi M, Izawa K, Nishikomori R, Okuno Y, Wang X, Sakaguchi H, Muramatsu H, Kojima S, Miyano S, Ogawa S, Takagi M, Hata D, Kanegane H. Somatic Mosaicism for a NRAS Mutation Associates with Disparate Clinical Features in RAS-associated Leukoproliferative Disease: a Report of Two Cases. J Clin Immunol. 35:454-8 2015
5. Yang X, Hoshino A, Taga T, Kunitsu T, Ikeda Y, Yasumi T, Yoshida K, Wada T, Miyake K, Kubota T, Okuno Y, Muramatsu H, Adachi Y, Miyano S, Ogawa S, Kojima S, Kanegane H. A female patient with incomplete hemophagocytic lymphohistiocytosis caused by a heterozygous XIAP mutation associated with non-random X-chromosome inactivation skewed towards the wild-type XIAP allele. J Clin Immunol. 35:244-8 2015
6. Kato T, Crestani E, Kamae C, Honma K, Yokosuka T, Ikegawa T, Nishida N, Kanegane H, Wada T, Yachie A, Ohara O, Morio T, Notarangelo LD, Imai K, Nonoyama S. RAG1 deficiency may present clinically as selective IgA deficiency. J Clin Immunol. 35:280-8 2015
7. 金兼弘和. 遺伝性 Epstein-Barr ウイルス関連増殖性疾患. 日本小児血液・がん学会雑誌. 52:119-26 2015

2 . 学会発表

1. 星野顕宏、金兼弘和、森本哲、川原勇太、

2. 山下基、高島健浩、満生紀子、今井耕輔、吉田健一、小川誠司、森尾友宏．EBウイルス関連リンパ増殖症で発症したZAP70欠損症の一例．第24回EBウイルス感染症研究会 東京．2015年3月15日
 3. 岡野翼、金兼弘和、小野真太郎、足洗美穂、小林千佳、星野顕宏、満生紀子、青木由貴、高木正稔、今井耕輔、森尾友宏．XIAP欠損症に伴う炎症性腸疾患 日本小児リウマチ学会総会・学術集会 金沢． 2015年10月11日
- H . 知的所有権の取得状況
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

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。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。

B . 研究方法

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。

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 (B 4)。

【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

なし

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構築に関する研究

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

H27 年度は引き続き全国から寄せられた EBV 関連疾患のウイルス学的解析と感染細胞同定などの診断に必要な中央診断を行った。また、診療ガイドライン作成班において「CAEBV/HLH/HMB/HV の診断や病態の評価に、どのような検体・手法を用い EBV ゲノムを検出することが推奨されるか？」におけるクリニカル・クエション(CQ)の作成を行った。

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その作成のための全国から寄せられる EBV 関連疾患の中央診断とウイルス学的解析をおこなう。

B . 研究方法

診療ガイドライン作成班において「CAEBV/HLH/HMB/HV の診断や病態の評価に、どのような検体・手法を用い EBV ゲノムを検出することが推奨されるか？」におけるクリニカル・クエション(CQ)の作成はそれぞれの疾患に即した検体・手法の指定と解説を記す。第1案作成後、班会議により修正案を議論し、修正版の作成までを H27 年度中におこなう。

ウイルス学的解析は FCM 解析による細胞表面マーカー解析と末梢血中の血球成分中・血漿成分中から DNA を抽出し、それぞれについてリアルタイム PCR 法を用い

た定量解析をおこなう。

(倫理面への配慮)

患者名等の個人情報保護には細心の注意を払い取り扱う。患者名は ID 番号を付け臨床情報と患者名を切り離し結果報告をする。

C . 研究結果

「CAEBV/HLH/HMB/HV の診断や病態の評価に、どのような検体・手法を用い EBV ゲノムを検出することが推奨されるか？」におけるクリニカル・クエション(CQ)の作成をし、班会議における議論によって出された修正案に従って修正版までの作成を完了した。

中央診断としては EBV 関連 T/NK 細胞感染リンパ増殖性疾患(EBV-T/NK-LPD)に対し 192 件、確定診断後の治療評価 962 件の解析をおこなった。

EBV 関連 B 細胞リンパ増殖性疾患(B-LPD)に対し 72 件の解析をおこなった。移植医療(心臓、肺、肝臓、腎臓、小腸、造血幹細胞)後の治療評価および移植後リンパ増殖性疾患

(PTLD)の予防・診断に対すし 2344 件の解析をおこなった。

D . 考察

正確な診断をするためには診断基準と診療ガイドラインの存在が不可欠である。

また、中央診断することで正確な疾患名と患者数を把握することができる。しかし、中央診断する機関への費用（検査費用・人件費）負担が集中してしまうことが問題である。そのための費用すべてを研究班ないし行政が補助しない限り、今後も中央診断を続けることは困難と言える。

E . 結論

正確な診断をするためには診断基準と診療ガイドラインの作成および情報発信が重要である。中央診断は正確な疾患名と患者数を把握する上で続ける必要を強く感じる。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1 . 論文発表

- 5 . Epstein-Barr virus positive T cell lymphoproliferative disease following cord blood transplantation for acute myeloid leukemia.Yui S., Yamaguchi H., Imadome K., Arai A., Takahashi M., Ohashi R., Asayama T., Kondo A., Moriya K., Nakayama K., Dan K., Shimizu S., Inokuchi K.J. Nippon Med. School 2016 (in press)
- 6 . P-glycoprotein is expressed and causes resistance to chemotherapy in EBV-positive T-cell lymphoproliferative diseases. Yoshimori M., Takeda H., Imadome K., Kurata M., Yamamoto K., Koyama T., Shimizu N., Fujiwara S., Miura

O., Arai A. Cancer Med. 2015 Jul 8. Doi: 10.1002/cam4.494.

- 7 . L-Asparaginase monotherapy for EBV-positive T/NK lymphoproliferative diseases: A pilot Study.

Jinta M., Imadome K., Komatsu H., Yoshimori M., Kurata M., Fujiwara S., Miura O., Arai A. J Med Dent Sci. 2015 Mar30 ;62(1):1-9. doi:10.11480/620101.

- 8 . Successful Immunosuppressive Therapy for Severe Infectious Mononucleosis in a Patient with Clonal Proliferation of EBV-infected CD8-positive Cells.

Hosoi H., Sonoki T., Murata S., Mushino T., Kuriyama K., Nishikawa A., Hanaoka N., Oshima K., Imadome K., Nakakuma H. Intern Med. 2015 Jun ;54(12): 1537-41. Doi: 10.2169/internalmedicine.54.3201

- 9 . Cellular immunotherapy with ex vivo expanded cord blood T cells in a humanized mouse model of EBV-associated lymphoproliferative disease. Matsuda G., Imadome K., Kawano F., Mochizuki M., Ochiai N., Morio T., Shimizu N., Fujiwara S. Immunotherapy. 2015 Apr; 7(4):335-41. Doi: 10.2217/imt.15.2.

- 10 . Immune-mediated Neuropathy with Epstein-Barr virus-positive T-cell Lymphoproliferative Disease. Hattori T., Arai A., Yokoyama T., Imadome K., Tomimitsu H., Miura O., Mizusawa H. Intern Med. 2015; 54(1):69-73. doi: 10.2169/internalmedicine.54.3173.

- 11 . Modelong EBV infection and pathogenesis in new-generation humanized mice. Fujiwara S., Imadome K., Takei M.

Exp Mol Med. 2015 Jan 23; 47: e135.

Doi: 10.1038/emm.2014.88. Review.

- 1 2 . Use of serial assessment of disease severity and liver biopsy for indication of liver transplantation in pediatric Epstein-Barr virus-induced fulminant hepatic failure. Nakazawa A., Nakano N., Fukuda A., Sakamoto S., Imadome K., Kudo T., Matsuoka K., Kasahara M. Liver Transpl. 2015 Mar ;23(3): 362-8. Doi: 10.1002/lt.24052
- 1 3 . Evaluation of the immune function assay in pediatric living donor liver transplantation. Fukuda A., Imadome K., Sakamoto S., Shigeta T., Uchida H., Matsunami M., Sasaki K., Kanazawa H., Kawano F., Nakazawa A., Fujiwara S., Kasahara M. Pediatr Transplant. 2015 Mar; 19(2): 144-52. Doi: 10.1111/ptr.12402.
- 1 0 . 「EBV 関連リンパ増殖性疾患：概念と病態解析研究の進歩」. 今留謙一 . **血液内科** 2015 科学評論社 第 71 巻第 2 号

2 . 学会発表

1. 今留謙一 . 「ヒト化マウスを用いた EB ウイルス関連疾患モデルの作製と応用」～ヒト免疫システムの構築の現状と展望～. 第 22 回福岡血液研究会 . 2015 年 11 月 20 日 (福岡 招聘講演)
2. 今留謙一 . 「ヒト化マウスを用いた疾患モデルマウスの作製と応用」. 高知大学大学院 DC セミナー . 2015 年 7 月 24 日 (高知 招聘講演)

H . 知的所有権の取得状況

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

慢性活動性 EB ウイルス感染症における診断的意義のあるウイルス DNA 量の
後方視的検討

研究分担者 伊藤 嘉規 名古屋大学大学院医学系研究科小児科学・准教授

研究要旨

慢性活動性 EB ウイルス感染症の診断は、(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) 除外診断に基づいて行われている。EB ウイルス感染のウイルス学的な診断には、リアルタイム PCR 法による EBV DNA 定量が汎用されるが、診断に用いる血液検体種、診断的意義を持つ EBV DNA 量についてはエビデンスが少ない。CAEBV と確定診断した症例 107 例について、後方視的に検討し、末梢血単核が診断に適しており、EB ウイルス関連の伝染性単核症に対しての診断的カットオフ値は $10^{3.2}$ ($=1,700$) IU/ μ gDNA と考えられた。

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。診療ガイドラインを整備し、診療水準を向上させることが重要課題である。本症の診断は、(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) 除外診断に基づいて行われている。(2)に関しては、血液検体中の EB ウイルス DNA の検出・定量が汎用されているが、どの血液検体種が診断に有用かのエビデンスに乏しい、測定値を国際的に統一された表記で表示することが普及していない点などが、課題として残されている。こうした課題についてエビデンスを提供することは、ガイドライン整備に大切である。

B . 研究方法

【対象・方法】1998-2014 年に CAEBV と確定診断した症例 107 例について検討した。末梢血単核球(PBMC)103 検体および血漿/血清 95 検体中の EBV DNA 量を測定した。また、同時期の EBV 関連伝染性単核球症(EBV-IM) 53 例の検体 (PBMC 37、血漿/血清 42 検体)、および健常既感染者・免疫異常のない通院患者(対照群) 181 例の検体 (PBMC 39、血漿/血清 181) 中の EB ウイルス DNA 量と比較検討した。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。診断的意義のある EBV 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) PBMC 中の EBV DNA 量は、CAEBV 群 (median、 $10^{4.2}$ IU/ μ gDNA) が EBV-IM 群 (median、 $10^{2.1}$ IU/ μ gDNA) ・対照群より有意に高値だった。CAEBV において PBMC では EB ウイルス DNA が陽性である一方、同じ採血検体から得た血漿では、EB ウイルス DNA が検出されない場合が認められた (13/86、図 1)。

(2) CAEBV 群における診断的意義のある PBMC 中 EB ウイルス DNA 量は、対象群に対して $10^{2.0}$ IU/ μ gDNA (感度 99.0%、特異度 97.4%、図 2)、EBV-IM 群に対して $10^{3.2}$ IU/ μ gDNA (感度 81.6%、特異度 86.5%、図 2)であった。

D . 考察

(1) EB ウイルス DNA が急性期に血漿・血清で検出されない症例が存在することから、PBMC 中の EB ウイルス DNA 量がより診断的意義を持つと考えられた。

(2) ROC 曲線より診断的カットオフ値を算出した。対照群を EBV-IM および健常既感染者・免疫異常のない通院患者と設定したが、CAEBV と病態の近い疾患を設定する、健常既感染者数を増やす、前向きに検討するなどの改善点が考えられた。

E . 結論

CAEBV 診断において、PBMC 中の EB ウイルス DNA 量がより診断的意義を持つと考えられた。さらに、ROC 曲線より診断的カットオフ値の算出を試みた。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

14 . 論文発表

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 Rep 5(2):e089-92 2015
5. Suzuki M, Takeda T, Nakagawa H, Iwata S, Siddiquey M, Goshima F, Murata T, Kawada J, Ito Y, Kojima S, Kimura H. The heat shock protein 90 inhibitor BIIB021 suppresses the growth of T and natural killer cell lymphomas. Front Microbiol 6:280 2015
6. Kamiya Y, Kawada J, Kawano Y, Torii Y, Kawabe S, Iwata N, Ito Y. Serum microRNAs as potential biomarkers of juvenile idiopathic arthritis. Clin Rheumatol 34(10):1705-12 2015
7. Kawashima N, Ito Y, Sekiya Y, Narita A, Okuno Y, Muramatsu H, Irie M, Hama A, Takahashi Y, Kojima S. Choreito formula for BK virus-associated hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Biol Blood Marrow Transplant 21(2):319-25 2015
8. Kawano Y, Suzuki M, Kawada J, Kimura H, Kamei H, Ohnishi Y, Ono Y, Uchida H, Ogura Y, Ito Y. Effectiveness and safety of immunization with live-attenuated and inactivated vaccines for pediatric liver transplantation recipients. Vaccine 33(12):1440-5 2015

2 . 学会発表

4. 安藤将太郎, 川田潤一, 鈴木道雄, 渡辺崇広, 鳥居ゆか, 吉山裕規, 清水則夫, 木村宏, 伊藤嘉規. EBV 関連腫瘍におけるトファシチニブの抗腫瘍効果の検討.

- 第 63 回日本ウイルス学会学術集会. 福岡. 2015 年 11 月 22-24 日
5. 鈴木道雄, 川田潤一, 村松秀城, 濱麻人, 高橋義行, 小島勢二, 伊藤嘉規. 化学療法施行後に水痘ワクチン株による水痘を発症した一例. 第 19 回日本ワクチン学会. 犬山. 2015 年 11 月 14-15 日
 6. 伊藤嘉規, 鈴木道雄, 川田潤一, 木村宏. 慢性活動性 EB ウイルス感染症における診断的意義のある末梢血単核球分画中ウイルス DNA 量の解析. 第 47 回日本小児感染症学会. 福島. 2015 年 10 月 31 日-11 月 1 日
 7. Morioka H, Hirabayashi A, Iguchi M, Tomita Y, Kato D, Ito Y, Yagi T. The first point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in a Japanese university hospital: a pilot study. IDWeek 2015, San Diego, USA. October 7-11, 2015
 8. Kawada JI, Torii Y, Suzuki M, Murata T, Yoshiyama H, Kimura H, Ito Y. EBV infection of human monocytes induces AIM2 inflammasome activation. 40th Annual International Hepesvirus Workshop, Boise, USA, July 25-29, 2015
 9. Ando S, Kawada JI, Suzuki M, Watanabe T, Torii Y, Murata T, Kimura H, Ito Y. Antitumor activity of Tofacitinib on Epstein-Barr virus-associated lymphoma cells. 40th Annual International Hepesvirus Workshop, Boise, USA, July 25-29, 2015
 10. 鳥居ゆか, 安藤将太郎, 神谷泰子, 川田潤一, 村田貴之, 吉山裕規, 木村宏, 伊藤嘉規. EB ウイルス初感染時のヒト単核球細胞におけるインフラマソーム活性. 第 29 回ヘルペスウイルス研究会. 長崎. 2015 年 6 月 4-6 日
 11. 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, 木村宏, 伊藤嘉規. 血漿中 miRNA 定量による先天性サイトメガロウイルス感染症のバイオマーカーの検討. 第 89 回日本感染症学会. 京都. 2015 年 4 月 16 -17 日
 12. 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. 先天性サイトメガロウイルス感染症に対する経口バルガンシクロピルの治療効果の検討. 第 89 回日本感染症学会. 京都. 2015 年 4 月 16-17 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

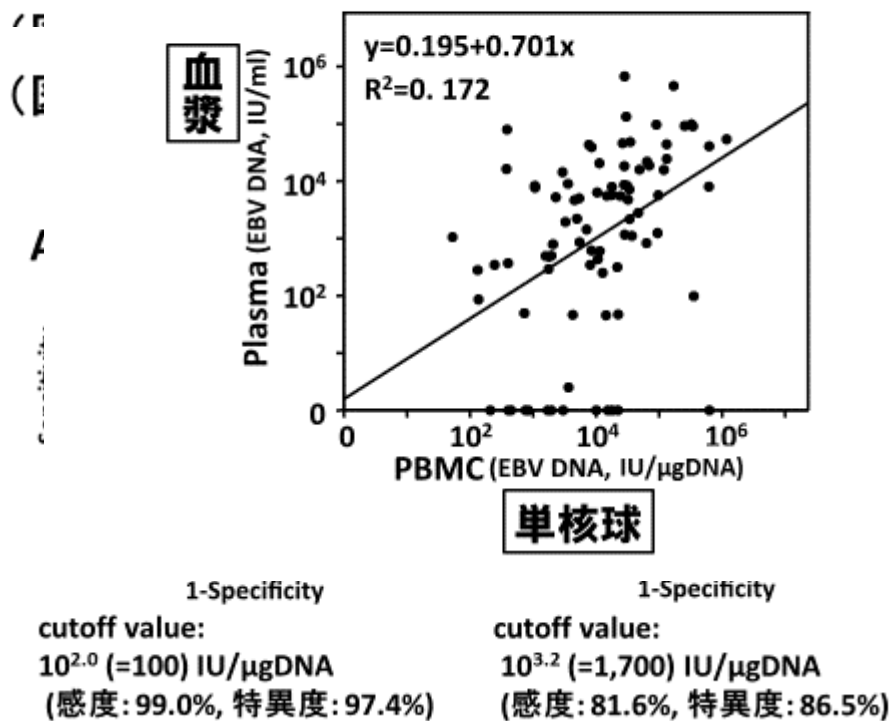
なし

3 . その他

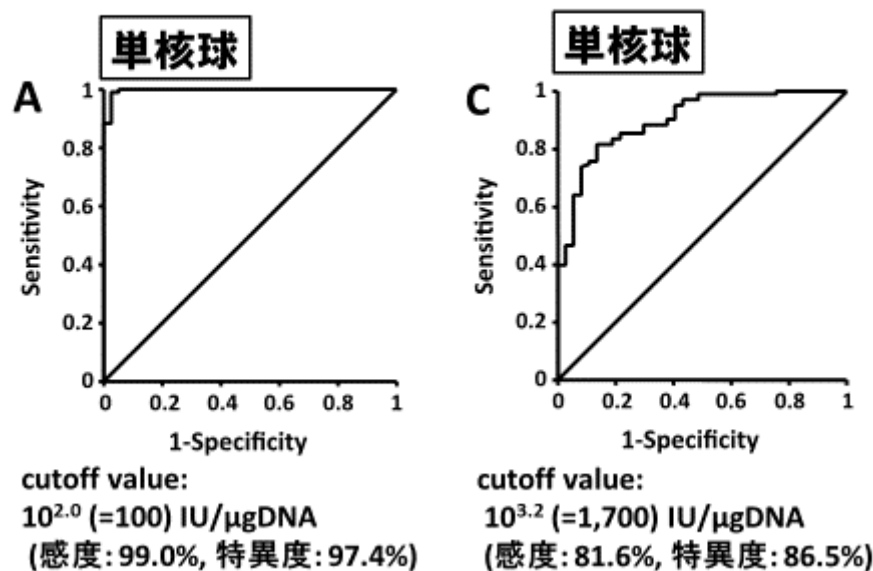
なし

単核球

(図1)EBウイルスDNA量の相関



(図2)ROC曲線



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	Epstein-Barr ウイルス関連 T/NK リンパ増殖性疾患	日本血液学会	血液専門医テキスト第2版	南江堂	東京	2015	p437-439
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～	宮坂信之	日本臨床別冊「免疫症候群（第2版）－その他の免疫疾患を含めて－」	日本臨床社	東京	2016	p721-726
高木正稔 金兼弘和	A. 造血器腫瘍 9. リンパ増殖性疾患	日本小児血・がん学会	小児 血液・腫瘍学	診断と治療社	東京	2015	p503-506

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
Suzuki M, Takeda T, Nakagawa H, Iwata S, Watanabe T, Siddiquey MN, Goshima F, Murata T, Kawada JI, Ito Y, Kojima S, Kimura H.	The heat shock protein 90 inhibitor BIIB021 suppresses the growth of T and natural killer cell lymphomas.	Front Microbiol	6	280	2015
Nagata K, Nakayama Y, Higaki K, Ochi M, Kanai K, Matsushita M, Kuwamoto S, Kato M, Murakami I, Iwasaki T, Nanba E, Kimura H, Hayashi K.	Reactivation of persistent Epstein-Barr virus (EBV) causes secretion of thyrotropin receptor antibodies (TRAbs) in EBVinfected B lymphocytes with TRAbs on their surface.	Autoimmunity	11	1-8	2015
Yoshimori M, Komatsu H, Imadome K, Kurata M, Yamamoto K, Koyama T, Shimizu N, Fujiwara S, Miura O, Arai A.	P-glycoprotein is expressed and causes resistance to chemotherapy in EBV-positive T-cell lymphoproliferative diseases.	Cancer Med	4(10)	1494-504	2015

Matsuda G, Imadome K-I, Kawano F, Mochizuki M, Ochiai N, Morio T, Shimizu N, and Fujiwara S.	Cellular immunotherapy with ex vivo expanded cord blood T cells in a humanized mouse model of EBV-associated lymphoproliferative disease.	Immunotherapy	7(4)	335-341	2015
Sakakibara Y, Wada T, Muraoka M, Matsuda Y, Toma T, Yachie A.	Basophil activation by mosquito extracts in patients with hypersensitivity to mosquito bites.	Cancer Sci	106	965-971	2015
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 hydropa vacciniforme and hypersensitivity to mosquito bites.	J Dermatol Sci	in press		2016
Nomura H, Suzuki H, Egami S, Yokoyama T, Sugiura M, Tomita K, Imada M, Taniguchi K, Yoshino T, Iwatsuki K.	A patient with elderly-onset atypical hydropa vacciniforme with an indolent clinical course.	Br J Dermatol	173	801-805	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 hydropa vacciniforme and hypersensitivity to mosquito bites.	Br J Dermatol	172	56-63	2015
浅田秀夫	EB ウイルス感染症	小児科診療	78 巻 11 号	1634-8	2015
今留謙一、藤原成悦、大賀正一	EBV関連リンパ増殖性疾患—疾患概念と病態解析研究—	血液内科	71巻 2号	187-193	2015
Yui S., Yamaguchi H., Imadome K., Arai A., Takahashi M., Ohashi R., Asayama T., Kondo A., Moriya K., Nakayama K., Dan K., Shimizu S., Inokuchi K.	Epstein-Barr virus positive T cell lymphoproliferative disease following cord blood transplantation for acute myeloid leukemia.	J Nippon Med School	in press		2016

Jinta M., Imadome K., Komatsu H., Yoshimori M., Kurata M., Fujiwara S., Miura O., Arai A.	L-Asparaginase monotherapy for EBV-positive T/NK lymphoproliferative diseases: A pilot Study.	J Med Dent Sci	62(1)	1-9	2015
Hattori T., Arai A., Yokoyama T., Imadome K., Tomimitsu H., Miura O., Mizusawa H.	Immune-mediated Neuropathy with Epstein-Barr virus-positive T-cell Lymphoproliferative Disease.	Intern Med	54(1)	69-73	2015
Arai A, Sakashita C, Hirose C, Imadome K, Yamamoto M, Jinta M, Fujiwara S, Tomita M, Shimizu N, Morio T, and Miura O.	Hematopoietic stem cell transplantation for adults with EBV-positive T- or NK-cell lymphoproliferative disorders: efficacy and predictive markers.	Bone Marrow Transplantation	in press		2016
新井文子	EBV 陽性 T,NK リンパ増殖症 発症機構	日本臨床	3: Suppl 8	55-59	2015
Yang X, Nishida N, Zhao X, Kanegane H.	Advances in Understanding the Pathogenesis of Epstein-Barr Virus-Associated Lymphoproliferative Disorders.	Iran J Allergy Asthma Immunol	14(5)	462-471	2015
Yang X, Hoshino A, Taga T, Kunitsu T, Ikeda Y, Yasumi T, Yoshida K, Wada T, Miyake K, Kubota T, Okuno Y, Muramatsu H, Adachi Y, Miyano S, Ogawa S, Kojima S, Kanegane H.	A female patient with incomplete hemophagocytic lymphohistiocytosis caused by a heterozygous XIAP mutation associated with non-random X-chromosome inactivation skewed towards the wild-type XIAP allele.	J Clin Immunol	35(3)	244-248	2015
金兼弘和	遺伝性Epstein-Barrウイルス関連増殖性疾患	日本小児血液・がん学会雑誌	52(2)	119-126	2015