

慢性活動性 EBV 病の疾患レジストリ情報に基づく病型別根治療法の確立に関する研究

研究分担者 和田泰三 金沢大学医薬保健研究域医学系 教授

研究協力者 松田裕介 金沢大学医薬保健研究域医学系 助教

研究要旨

慢性活動性 EBV 病 (CAEBV) の疾患レジストリ情報に基づく病型別根治療法を確立するためには、個々の病態を理解することが重要である。本研究では、CAEBV 類縁疾患である EBV 関連血球貪食性リンパ組織球症の感染細胞の特徴を PrimeFlow RNA アッセイを用いて直接評価した。その結果、以前の報告と同様に CD5 発現の低下した活性化 CD8 陽性 T 細胞であることが示された。フローサイトメトリーを用いた簡便な EBV 感染細胞の同定は、EBV 感染の病態を理解し、鑑別診断を進める上で重要であり、今後も臨床応用されていくことが期待される。

A. 研究目的

慢性活動性 EBV 病 (CAEBV) の類縁疾患である EBV 関連血球貪食性リンパ組織球症 (EBV-HLH) は、小児では多くの場合、EBV の初感染に伴い、急激な経過で病勢が進展する重篤な疾患である。初感染 EBV-HLH は、主に EBV 感染 CD8 陽性 T 細胞がモノクローナルに増殖し、炎症性サイトカインを過剰に産生するために発症すると考えられている。初感染 EBV-HLH と他の原因の HLH と鑑別するためには、迅速な EBV 感染細胞の同定が求められる。我々は以前に、初感染 EBV-HLH における感染細胞は、CD5 の発現低下した活性化 CD8 陽性 T 細胞として検出できることを報告した (J Infect Dis 2010)。しかし当時は EBER 陽性細胞を直接フローサイトメトリーで検出することは困難であり、間接的な形で示されていた。本研究では、最近開発された PrimeFlow RNA アッセイ

を用いて、CD5 発現の低下している CD8 陽性 T 細胞が、EBER 陽性の EBV 感染細胞であるか否かを直接証明することを目的とした。

B. 研究方法

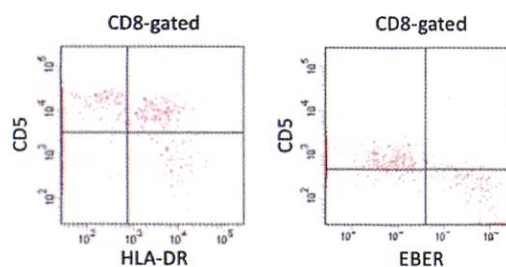
【症例】2 歳女児。発熱と嘔吐を主訴に近医を受診、新型コロナウイルスおよびインフルエンザ抗原検査は陰性で経過観察となった。発熱が続くため、2 日後に再診したが、血液検査に大きな異常は認められなかった。さらに 3 日後、紹介医を受診し汎血球減少と肝機能障害等を指摘され、当科に紹介された。HLH-2004 診断基準を満たし、HLH と診断された。EBV 関連抗体検査は初感染パターンで、末梢血全血の EBV-DNA 定量は 6.2 logIU/mL と著明な高値を示した。磁気ビーズを用いて末梢血単核球から CD8 陽性 T 細胞と CD19 陽性 B 細胞を単離、サイトスピン標本を作成し、EBER1 in

situ ハイブリダイゼーションを行ったところ、CD8 陽性 T 細胞への選択的な EBV 感染が示された。以上より、初感染 EBV-HLH と診断した。

C. 研究結果

末梢血リンパ球サブセット解析では、CD5 発現が低下し、HLA-DR を強く発現した活性化 CD8 陽性 T 細胞が検出された (図;左)。

PrimeFlow RNA アッセイは、フローサイトメトリー上で RNA とタンパクを同時に検出できる検査法である。細胞内のスモール RNA である EBER と細胞表面タンパクである CD8 と CD5 を染色し解析したところ、EBER 陽性細胞は CD8 陽性 T 細胞に認められ、CD5 陰性の分画に主として存在していることが示された (図;右)。



図：EBV 感染細胞の解析

D. 考察

本症例は初感染 EBV-HLH と考えられ、EBV 感染細胞は CD8 陽性 T 細胞と予想された。実際、従来法である単離したリンパ球を用いての EBER1 in situ ハイブリダイゼーションで CD8 陽性 T 細胞が感染細胞であることが示された。最近開発された PrimeFlow RNA アッセイでも EBV 感染細胞は CD8 陽性 T 細胞であるこ

とが示された。EBER と細胞表面抗原の同時染色により、CD5 発現の低下している CD8 陽性 T 細胞が、EBER 陽性であることが、今回初めて直接的に示された。今後、症例を増やして、EBV-HLH における EBV 感染細胞の特徴をさらに検討していく予定である。

E. 結論

初感染 EBV-HLH 急性期における EBV 感染 CD8 陽性 T 細胞の特徴は、CD5 の発現低下であることが改めて示された。CD5 発現を含めたリンパ球サブセット解析は、EBV-HLH 診断のスクリーニングとして簡便で有用であることが示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mizuta M, Inoue N, Shimizu M, et al. Distinct roles of IL-18 and IL-1 β in murine model of macrophage activation syndrome. J Allergy Clin Immunol. 2023;152:940-948.
- 2) Sakumura N, Yokoyama T, Usami M, et al. CD169 expression on monocytes as a marker for assessing type I interferon status in pediatric inflammatory diseases. Clin Immunol. 2023;250:109329.
- 3) Noguchi K, Ikawa Y, Takenaka M, et al. Protocol for a high titer of BaEV-Rless pseudotyped lentiviral vector: Focus on syncytium formation and detachment. J Virol Methods. 2023;314:114689.

2. 学会発表

1) 宇佐美雅章、山上綾子、東玖美、神川愛純、松田裕介、横山忠史、井美暢子、東馬智子、今留謙一、和田泰三、EBV の再活性化を伴い、治療選択に難渋した難治性潰瘍性大腸炎の女兒例。第 24 回日本小児 IBD 研究会学術集会。埼玉。令和 6 年 2 月 7 日。

3. 一般向け講演会
なし

H. 知的財産権の出現・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし