

症例報告

EB ウイルス感染 CD8 陽性 T 細胞増殖で発症し、 再燃時に感染 B 細胞が増殖した血球貪食性 リンパ組織球症の 1 例

北野 ひとみ¹⁾ 藤井 洋輔¹⁾ 野坂 宜之¹⁾
八代 将登¹⁾ 嶋田 明¹⁾ 塚原 宏一¹⁾

要旨 EBV 関連血球貪食性リンパ組織球症 (EBV-HLH) の児で初発時に CD8 陽性 T 細胞に感染していたが、再燃時に B 細胞内に増殖を認めた症例を経験したので報告する。症例は 2 歳の女兒であり、発熱と汎血球減少から EBV-HLH と診断された。EBV-DNA 量と感染細胞のプロファイリングを行い、診断時には EBV-DNA 量の増加と CD8 陽性 T 細胞への感染を確認した。本児には HLH-2004 プロトコルに準じて治療を開始した。全血 EBV-DNA 量は一時的に検出感度未満まで低下したが、治療終了直後に再度増加した。感染細胞のプロファイリングにより B 細胞内への EBV 感染が疑われた。EBV-HLH の再発例では造血幹細胞移植を行うこともあるが、感染細胞の同定により B 細胞への感染が考えられたためリツキシマブを使用し、EBV-DNA 量は速やかに検出感度未満となった。EBV-DNA 定量と感染細胞の同定は EBV-HLH の治療方針の決定に有用であると考えられた。

はじめに

EBV 関連血球貪食性リンパ組織球症 (Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis : EBV-HLH) では、EBV が本来感染すべき B 細胞ではなく、T 細胞、NK 細胞に感染することにより組織球が活性化される。活性化した組織球が炎症性サイトカインを放出し、発熱、汎血球減少、組織障害、凝固障害などを引き起こす。EBV-HLH は急速に病状が進行する疾患であり、早期の診断と治療介入が望まれる¹⁾。

今回、われわれは初期に CD8 陽性 T 細胞に感染し発症した EBV-HLH の症例で、治療経過中に B

細胞内で EBV が増殖していたと思われる症例を経験したので報告する。

I. 症 例

患児：2 歳女兒

主訴：発熱

家族歴：免疫不全の家族歴を認めない。

既往歴：発達発育歴に異常はなく、感染を繰り返すなど免疫不全を疑うエピソードは認めない。

現病歴：X 年 X 月 26 日から発熱を認め、30 日に近医で血液検査を施行され、汎血球減少を認め前医に入院となった。汎血球減少、肝機能障害、高フェリチン血症、高トリグリセリド血症などを認

Key words : EBV 関連血球貪食性リンパ組織球症, EBV-DNA, 感染細胞, リツキシマブ

1) 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科小児医科学
〔〒 700-8558 岡山市北区鹿田町 2-5-1〕

表 1 初発時血液検査

| | | | | | |
|-------|----------------|---------------|------------|-----------------|--------------|
| WBC | 580/ μ L | PT | 15.8 sec | BUN | 7.5 mg/dL |
| Sg | 21.0% | APTT | 43.0 sec | Cre | 0.16 mg/dL |
| St | 21.0% | Fib | 55 mg/dL | CPK | 82 IU/L |
| Ly | 44.0% | FDP | 155 mg/mL | T-Chol | 115 mg/dL |
| Mo | 6.0% | D-dimer | 99.3 mg/mL | TG | 555 mg/dL |
| Eo | 1.0% | | | IgG | 1,722 mg/dL |
| Ba | 0.0% | TP | 6.0 g/dL | IgA | 92 mg/dL |
| At Ly | 3.0% | Alb | 3.0 g/dL | IgM | 42 mg/dL |
| Mt | 2.0% | T-Bil | 1.22 mg/dL | CRP | 1.85 mg/dL |
| My | 2.0% | D-Bil | 0.77 mg/dL | PCT | 5.76 ng/mL |
| RBC | 330 万/ μ L | AST | 255 IU/L | Ferritin | 39,192 ng/mL |
| Hb | 8.2 g/dL | ALT | 106 IU/L | s-IL 2R | 4,877 IU/mL |
| Plt | 4.5 万/ μ L | LDH | 2,384 IU/L | | |
| | | γ -GTP | 193 IU/L | EBV 抗体価 (EIA 法) | |
| | | ChE | 186 IU/L | VCA-IgM | 0 倍 |
| | | Na | 136 mmol/L | VCA-IgG | 80 倍 |
| | | K | 2.5 mmol/L | EBNA | 0 倍 |
| | | Cl | 99 mmol/L | | |

め、前医での骨髄検査で血球貪食像を認めたため血球貪食症候群と診断された。ステロイドパルス療法、ガンマグロブリン大量療法を施行されたが反応に乏しく、X+1月1日に当院に転院となった。

入院時現症：身長 86.3 cm (-0.7 SD)、体重 10.8 kg (-1.0 SD)、体温 38.5 °C、血圧 129/81 mmHg、脈拍 80 /分、SpO₂ 100 % (room air)。特異的顔貌なし。呼吸音は右肺野で減弱、心音は整、腹部はやや膨満、肝を肋骨弓下に右鎖骨中線上で約5 cm 触知した。脾は触知しなかった。皮膚は出血斑など異常所見を認めなかった。

入院時検査所見：血液検査では、血球貪食による汎血球減少、肝機能障害、サイトカインストームに伴うフェリチンおよび炎症マーカーの上昇、DIC の所見を認めた(表 1)。当院では、血球貪食性リンパ組織球症に対して EBV-DNA 定量と感染細胞の同定を行っている。PCR の方法は既報²⁾に準じて行っており、要約すると以下の通りである。MACS beads 法で患者の末梢血単核球を CD4、

CD8、CD19、CD56 に分離した。それぞれの細胞毎に TaqMan プローブ、プライマーを用いて real-time PCR 法を行った。配列は upstream 5'-CGGAAGCCCTCTGGACTTC-3'、downstream 5'-CCCTGTTTATCCGATGGAATG-3'、probe 5'-TGTACACGCACGAGAAATGCGCC-3'を用い positive control を使った検量線を用いて定量的に評価した。本症例の全血 EBV-DNA 量は 1.23×10^5 copies/mL であり主に CD8 陽性 T 細胞内に感染を認めた(表 2)。EBV 抗体価は初感染パターンを示した。全身造影 CT では両側頸部リンパ節腫脹、右側胸部に胸水の貯留と腹部に胆嚢周囲浮腫、肝腫大を認めた(図 1)。EB ウイルス関連血球貪食性リンパ組織球症の診断基準(表 3; 168 頁)において 8 項目中 5 項目以上を満した。

入院後経過 (図 2)：当院入院後 HLH-2004 プロトコル³⁾に準じてデキサメタゾン (DEX)、エトポシド (VP-16)、シクロスポリン A (CsA) による治療を開始した。入院 6 日目には全血 EBV-DNA

表2 初発時と再燃時のEBV感染細胞プロファイル

| | 初発時 | 再燃時 |
|-----------|---|---|
| 全血 | 1.23×10 ⁵ copies/mL | 1.14×10 ⁵ copies/mL |
| CD8+cell | 1.3×10 ⁴ copies/10 ⁶ CD8 | 3.9×10 ³ copies/10 ⁶ CD8 |
| CD19+cell | 3.1×10 ¹ copies/10 ⁶ CD19 | 2.2×10 ⁶ copies/10 ⁶ CD19 |

* : 当院では1.0×10³ copies/mL以上を有意な活動性増殖と判断している.

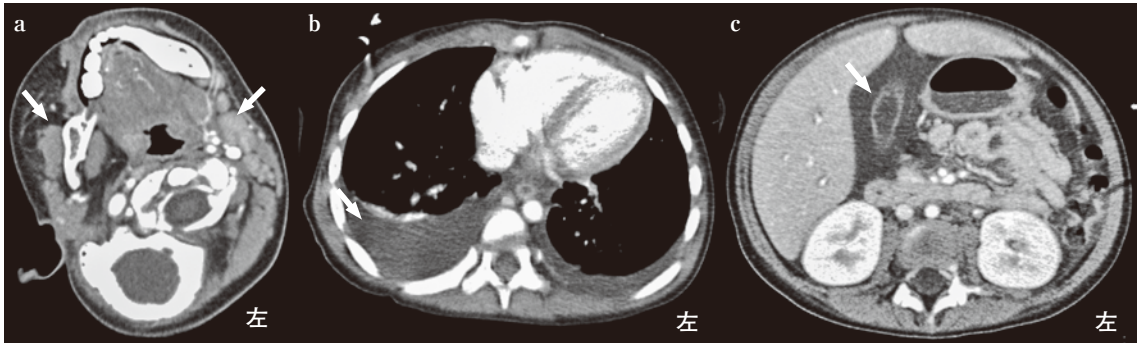


図1 初診時画像検査

- a. 頸部造影CT：両側リンパ節腫大（矢印）
- b. 胸部造影CT：右胸水貯留（矢印）
- c. 腹部造影CT：著明な胆嚢浮腫（矢印）、肝腫大（グリソン鞘周囲の浮腫）

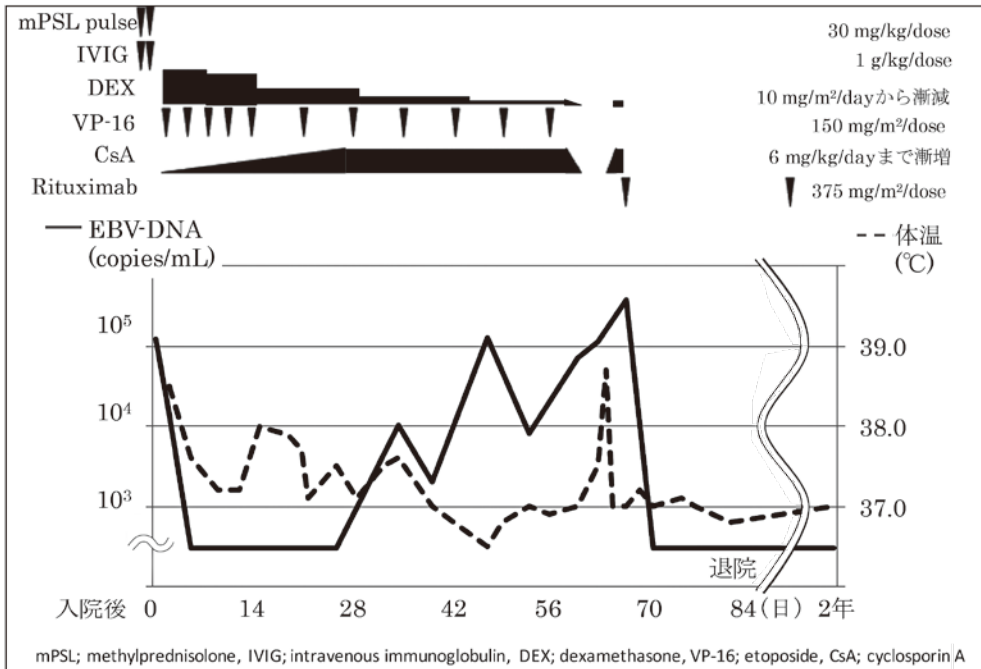


図2 入院中臨床経過

表3 EBウイルス関連血球貪食性リンパ組織球症 (EBV-HLH) 診断基準

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 $\geq 38.5^{\circ}\text{C}$
 - 2) 脾腫
 - 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 $< 9.0 \text{ g/dL}$, 血小板 $< 100,000/\mu\text{L}$, 好中球 $< 1,000/\mu\text{L}$
 - 4) 高トリグリセリド血症 (空腹時 $\geq 265 \text{ mg/dL}$)
または低フィブリノーゲン血症 ($\leq 150 \text{ mg/dL}$)
 - 5) NK細胞活性低値または欠損
 - 6) 血清フェリチン $\geq 500 \text{ ng/mL}$
 - 7) 可溶性IL-2受容体 $\geq 2,400 \text{ U/mL}$
 - 8) 骨髄, 脾臓, またはリンパ節に血球貪食像あり, 悪性所見なし

(厚生労働省研究班)

表4 再燃時血液検査

| | | | | | |
|-----|------------------------|---------|----------------------|----------|-------------|
| WBC | 5,520 / μL | PT | 12.3 sec | Na | 137 mmol/L |
| Ne | 48.1 % | APTT | 36.0 sec | K | 3.7 mmol/L |
| Ly | 44.2 % | Fib | 247 mg/dL | Cl | 106 mmol/L |
| Mo | 6.7 % | D-dimer | 1.0 $\mu\text{g/mL}$ | BUN | 5.1 mg/dL |
| Eo | 0.5 % | | | Cre | 0.22 mg/dL |
| Ba | 0.5 % | TP | 5.9 g/dL | CPK | 20 IU/L |
| RBC | 308 万 / μL | Alb | 3.8 g/dL | CRP | 0.89 mg/dL |
| Hb | 8.2 g/dL | T-Bil | 0.36 mg/dL | PCT | 0.058 ng/mL |
| Plt | 18.2 万 / μL | AST | 64 IU/L | Ferritin | 221.1 ng/mL |
| | | ALT | 119 IU/L | s-IL 2R | 1,061 IU/mL |
| | | LDH | 253 IU/L | | |

量は検出感度未満まで低下し発熱などの臨床症状の改善を認めた。その後、臨床症状の増悪は認めなかったが、入院30日目より全血EBV-DNA量が検出されるようになった。プロトコールを終了した直後(入院64日目)に発熱を認めた。EBウイルス関連血球貪食性リンパ組織球症の診断基準(厚生労働省研究班)において8項目中1項目を満たすのみで厳密には再燃の定義に当てはまらなかったが(表3, 表4), 貧血と血小板低下の進行があり, 全血EBV-DNA量が $1.14 \times 10^5 \text{ copies/mL}$ と急激に増加していたためEBV-HLHの再燃と判断しDEX, CsAによる治療を再開した。治療再開後解熱したが, 全血EBV-DNA量のさらなる増加を

認めた。再度感染細胞の同定を行ったところ, B細胞内での増殖を認めた(表2)。感染B細胞を標的にリツキシマブを投与して, 2日後に臨床症状の改善およびEBV-DNAの消失を認めた。リツキシマブに伴う有害事象はみられなかった。同治療を2クール施行し, 以後再燃なく2年以上経過している。

II. 考 察

ウイルス関連血球貪食性リンパ組織球症(HLH)の原因ウイルスは, EBVが約60%を占めており, 他のウイルス感染が関与するHLHと比べてEBV-HLHでは重症例が多く認められる⁴⁾。本

邦における EBV-HLH の死亡率は 43% と高く⁵⁾、早期の診断と治療が望まれる。EBV-HLH の治療は HLH-2004 のプロトコルに準じて行われることが多い。再燃の頻度は明らかではないが、治療に抵抗性で再燃を繰り返す難治例に対しては造血幹細胞移植が行われることもある⁶⁾。

一般的に、血中 EBV-DNA は上記治療後 3~6 カ月後までに陰性化するとされるが⁷⁾、本症例は治療開始 1 週間で EBV-DNA は検出感度未満まで低下した。治療開始後約 1 カ月で臨床症状の改善、および血清フェリチンなどの炎症マーカーも低下したため、当初は初期治療が奏功した典型的な EBV-HLH と判断された。その後 EBV-DNA が陽転化し発熱を認め DEX, CsA による治療を再開したが反応に乏しかった。EBV-HLH の再燃としては、CRP の微増以外に炎症マーカーの上昇は認めず非典型的であり、再度感染細胞の同定を行った。初回治療前と異なり主に B 細胞内で EBV の増殖がみられた。リツキシマブは EBV 感染 B 細胞に対して治療効果があり⁴⁾、今回は造血幹細胞移植を避けリツキシマブでの治療を先行した。その後は速やかに解熱し EBV-DNA 量の著明な低下を認めた。

EBV-HLH の初発時と再燃時で EBV 感染細胞が異なったという報告はない。EBV は T 細胞と B 細胞どちらにも感染しうるが、EBV-HLH の初発時、再発時いずれにおいても感染細胞の同定がされている症例が少ないため、T 細胞と B 細胞の重複感染や感染細胞の移行などが認識されていない可能性がある。今回の症例では、初発の時点で T 細胞、B 細胞共に感染していた。しかし、HLH-2004 プロトコル³⁾に準じた治療により最終的に B 細胞の感染が顕在化した、もしくは EBV-HLH の治療終了後に T 細胞から B 細胞に感染細胞が移行したと考えられた。現在までに本症例において免疫異常を示唆するような既往はなく、リツキシマブの治療以後の再発や多臓器不全などの合併はなかった。慢性活動性 EBV 感染症 (CAEBV) へ移行した可能性も念頭において定期的に PCR を施行しているが、2 年以上ウイルスの再増殖を認めないため、CAEBV への移行ではなく感染細胞の移行のみが起こったと考えられた。この現象

の解釈については、今後の症例の蓄積が不可欠である。

EBV-HLH の初期診断および治療効果判定に real-time PCR による EBV-DNA 量のモニタリングは有用とされているが、当施設ではそれに加え感染細胞の同定を行っている。本症例の経験を通して、感染細胞の同定が治療方針決定に有用であり、また初発時のみならず再燃時にも感染細胞の同定を行うことが重要であることが示唆された。EBV-HLH 治療経過中に T 細胞から B 細胞に主たる感染細胞が移行した本症例は、過去に報告がなく貴重な症例であると考えられた。

結 語

CD8 陽性 T 細胞に感染し再燃時に B 細胞内で増殖した EBV 関連血球貪食症候群の 1 例を経験した。EBV 感染細胞の同定が EBV-HLH の治療選択に有用であり、さらなる症例の蓄積が望まれる。

日本小児感染症学会の定める利益相反に関する開示事項はありません。

文 献

- 1) 谷内江昭宏: EBV-HLH の病態: 早期診断・早期治療介入のためのサイトカインプロファイリングと細胞解析. 小児感染免疫 23: 43-50, 2011
- 2) Kimura H, et al: Quantitative analysis of Epstein-Barr virus load by using a real-time PCR assay. J Clin Microbiol 37: 132-136, 1999
- 3) Henter JL, et al: HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. Pediatr Blood Cancer 48: 124-131, 2007
- 4) 土居岳彦, 他: EB ウイルス関連血球貪食症候群. 医学のあゆみ 238: 1053-1057, 2011
- 5) 生嶋 聡, 他: 小児科領域における hemophagocytic syndrome に関する全国アンケート調査. 日本小児血液学会雑誌 6: 560-568, 1992
- 6) 河 敬世: 血球貪食症候群の病態と治療. 日本内科学会雑誌 93: 164-170, 2004
- 7) 大賀正一, 他: 難治性 EB ウイルス関連疾患に対する治療の現況. 臨床とウイルス 34: 152-157, 2006

A case of EBV-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis with proliferation of virus-infected B cells on relapse

Hitomi KITANO¹⁾, Yosuke FUJII¹⁾, Nobuyuki NOSAKA¹⁾,
Masato YASHIRO¹⁾, Akira SHIMADA¹⁾, Hirokazu TSUKAHARA¹⁾

1) *Department of Pediatrics, Okayama University Graduate School of Medicine,
Dentistry and Pharmaceutical Sciences*

This study presented a 2-year-old girl with Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis (EBV-HLH); i.e. EBV infecting her CD8 positive T-cells on disease onset, and being detected preferentially in her B-cells on relapse. She was admitted to this hospital with fever and pancytopenia, and received a diagnosis of EBV-HLH. The EBV genome copy number was monitored in the infected cells by real-time PCR in order to assess disease activity and response to therapy. The EBV genome was detected initially in the T cells. Treatment was started based on the hemophagocytic lymphohistiocytosis(HLH) -2004 protocol during which EBV genome copies became undetectable temporarily, but 1.14×10^5 copies/ml of the EBV genome were detected at the end of treatment. The EBV genome was detected preferentially in B cells at re-examination. EBV-HLH relapse usually requires hematopoietic stem cell transplantation; however, rituximab is thought to be effective for EBV infection in B cells. After rituximab treatment, EBV genome copies became undetectable persistently. Monitoring the EBV genome copy number and infected cells may be useful in treatment decisions for EBV-HLH.

(受付：2017年2月6日，受理：2017年5月8日)

* * *