

臨床的寛解後も末梢血単核球中のEBウイルス DNA量が持続高値を呈したEBウイルス 関連血球貪食症候群の1例

柿崎周平, 大竹正俊, 山本克哉
黒澤寛史, 新堀哲也, 小沼正栄
奥山泉, 大沼祥子, 高柳勝
村田祐二, 中川洋

はじめに

血球貪食症候群 (HPS) は発熱持続, 血球減少, 肝機能障害, 肝脾腫, 凝固障害等をきたし, 時に重篤な転帰をとる疾患である。その病態生理では異常に活性化されたTリンパ球およびマクロファージにより産生された高サイトカイン血症が基礎になっていると考えられている¹⁾。このうちウイルス感染症に合併するものはウイルス関連血球貪食症候群 (VAHS) と呼ばれ, なかでも Epstein-Barr ウイルス (EBV) によるものは予後不良とされている²⁾。

近年, EBV 関連血球貪食症候群 (EBV-AHS) の診断および治療の効果判定に, Real-time PCR 法による EBV-DNA の定量が有用であることが報告されている³⁾。今回, 我々は Real-time PCR 法により末梢血単核球中の EBV-DNA 量を経時的に測定し, 臨床的寛解にもかかわらず EBV-DNA 量の高値が持続している EBV-AHS の1例を経験したので報告する。

症 例

患児: 11ヵ月, 女児

家族歴, 既往歴: 特記事項なし。

主訴: 発熱, 咳嗽

現病歴: 2000年5月10日より発熱および咳嗽

が出現し, 5月11日に某院に入院した。5月13日には全身痙攣が2分間みられたが, 髄液および頭部CTに異常は認められなかった。しかし, 呼吸困難, 腹部膨満, 汎血球減少および肝機能障害が出現したため, 5月14日に当科紹介入院となった。

入院時現症: 体重 8.6 kg, 体温 38.5°C, 顔色不良で多呼吸あり。胸部に湿性ラ音を聴取。腹部は膨満し肝を肋骨弓下に 5 cm 触知したが, 脾は腹水のため不明であった。

入院時検査所見 (表 1): 末梢血検査では汎血球減少がみられ, 血液生化学検査では肝機能障害, 低アルブミン血症, 低コレステロール血症が認められた。血清フェリチン値は 3,250 ng/ml と上昇し, また, DIC の所見もみられた。骨髄像は正形成で, 血球貪食像が散見され, 組織球比率は 2.8% であった。胸部 X 線像および CT では, 右側に胸水貯留がみられ, 腹部 CT では肝脾腫の他, 腹水を認めた。

入院後経過 (図 1): 入院後, 胸腔穿刺を施行し血清様の胸水を 120 ml 排除後, 持続吸引とし呼吸困難は消失した。DIC を合併した VAHS を考慮し, プレドニゾロン (PSL, 2 mg/kg/day), Nafamostat mesilate, 抗生剤およびアルブミン投与による治療を開始した。入院翌日, 高フェリチン血症および骨髄像での血球貪食像が確認され VAHS と診断した。メチルプレドニゾロン・パルス療法 (パルス療法) およびシクロスポリン A

表 1. 入院時検査所見

WBC	2,800/ μ l	T-Bil	1.6 mg/dl	Pleural effusion	
RBC	358×10^4 / μ l	GOT	231 IU/l	Culture: <i>Candida albicans</i>	(+)
Hb	8.3 g/dl	GPT	96 IU/l	Candida 抗原	(-)
Ht	25.4%	ALP	423 IU/l		
Plt	2.8×10^4 / μ l	LDH	1,175 IU/l	Bone marrow	
Stab	22%	γ -GTP	324 IU/l	NCC	12.4×10^4 / μ l
Seg	16%	TP	4.4 g/dl	Mgk	68.75/ μ l
Mo	3%	Alb	2.7 g/dl	Hemophagocytosis	(+)
Ly	55%	BUN	8 mg/dl	Chromosome	46, XX
Aty Ly	4%	Cr	0.2 mg/dl		
		UA	4 mg/dl	EBV VCAIgM (ELISA)	(+)
ESR	3 mm/h	T-Cho	64 mg/dl	EBV EBNAIgG (ELISA)	(+)
CRP	2.62 mg/dl	TG	191 mg/dl	EBV VCAIgG (FA)	$\times 160$
		Ferritin	3,250 ng/ml	EBV VCAIgM (FA)	< 10
PT	52.0%			EBV EA-DRIgG (FA)	< 10
APTT	39.4 sec	sIL-2R	14,100 U/ml	EBV EBNA (FA)	$\times 10$
Fibg	61 mg/dl	U- β_2 MG	2,531 μ g/l	CMV IgM (EIA)	(-)
AT III	74%	NK activity	16%	CMV IgG (EIA)	(+)
FDP	16.6 μ g/ml	IFN- γ	199 IU/ml	(以上の抗体価は IVIG 投与後の値)	
		IL-6	8.4 pg/ml		
IgG	569 mg/dl	TNF- α	< 5 pg/ml	EBV-DNA (Real-time PCR 法)	
IgA	25 mg/dl	CD4/CD8ratio	0.21	7.2×10^5 copy/ μ gDNA	
IgM	29 mg/dl	Lymphoblastogenesis			
		PHA (S.I)	228.4		
		ConA (S.I)	1.1		

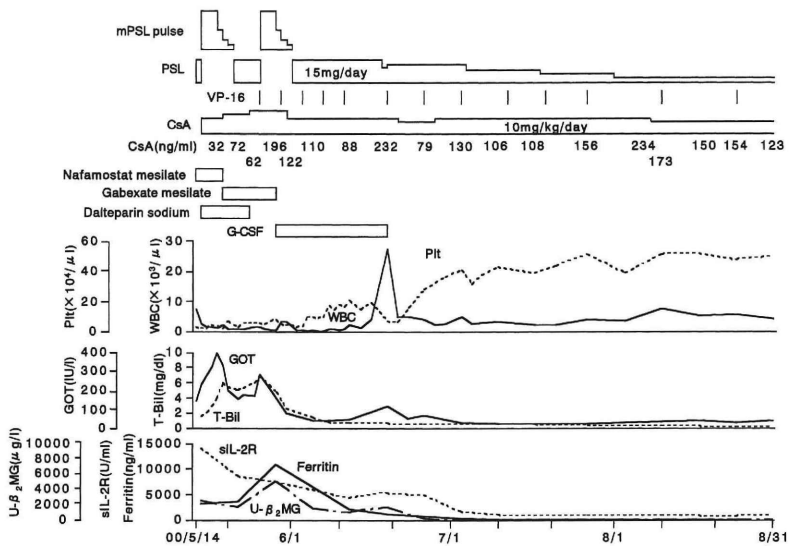


図 1. 臨床経過

(CsA 10 mg/kg/day) 経口投与の併用療法を開始した。2日後には解熱が得られ、5月16日以後胸水の貯留は消失したが、肝機能障害および黄疸の増強がみられた。5月19日に胸水培養において *Candida albicans* が陽性である結果が得られ、フルコナゾール (FCZ) を開始した。しかし、FCZ 開始前より胸部所見は改善しており、また血清カンジダ抗原も陰性であったことから *Candida albicans* が胸膜炎の病因とは考えにくく、2週間でFCZの投与は中止とした。5月23日より全身の発疹、5月24日より高熱が再現した。血中CsA濃度の上昇が不十分なためCsA投与量を15 mg/kg/day まで増量し治療濃度が得られた。この間、可溶性IL-2受容体 (sIL2-R) 値および尿中 β_2 ミクログロブリン (β_2 MG) 値の上昇、NK活性の軽度低下、インターフェロン- γ (INF- γ) 値の著増、IL-6値の上昇、CD4/CD8比の著減およびConAに対するリンパ球芽球化反応の著明な低値の報告が得られた。またガンマグロブリン製剤投与後の検査結果であるが、EBV VCAIgM (ELISA) が陽性であり、EBV-AHSと診断した。また後日に東北大学加齢医学研究所発達病態分野 (東北大学加齢研究達病態) にて検索したReal-time PCR法による末梢血単核球中のEBV-DNA量は著増しておりEBV-AHSの存在が確認された。尚、6月8日に同施設にて感染細胞のクロナリティーの検索を行ったが、単クローン性増殖を示唆するバンドは認められなかった。

5月26日よりパルス療法を1クール追加するとともに、VP-16の投与をHLH-94プロトコル¹⁾に準じて開始した。翌日より解熱が得られ、肝機能障害および黄疸は漸次改善した。5月27日より白血球数が1,000/ μ l未満となったため、G-CSFの併用を行った。VP-16は6月1日以後1

週毎、さらに7月27日以後は2週毎の投与とした。PSLは漸減し8月初旬より3 mg/dayにて維持投与とし、CsAは8月8日以後は60 mg/day (7.5 mg/kg/day) で継続した。

7月下旬には肝機能、血清フェリチン値、sIL-2R値、尿中 β_2 MG値は正常化し、臨床的に寛解状態となった。7月21日に行ったCD4/CD8比は0.21から2.10に、NK活性は16%から68%に、ConAによるリンパ球芽球化反応のS.I.は1.1から95.3に上昇した。またINF- γ 値は199 IU/mlから0.2 IU/mlに、IL-6値は8.4 pg/mlから0.8 pg/mlに低下した。ウイルス抗体価の検索ではELISA法でのEBV VCAIgM(+), EBNAIgG(-), FA法でのVCAIgG 80倍, EA-DRiGg <10倍, VCAIgM <10倍, EBNA <10倍であった。

以後、特変なく経過し、sIL-2R値の軽度上昇がみられたが、血清フェリチン値は7月27日以後は100 ng/ml未満で経過した。しかし図2で示すごとくReal-time PCR法による末梢血単核球中のEBV-DNA量の高値が持続し、血清フェリチン値を含む臨床所見との解離がみられた。CsAを10月25日より50 mg/day、11月3日より40 mg/dayに漸減したが、臨床所見および血清フェリチン値に変化はみられなかった。11月7日に東北大学加齢研究達病態にてEBVの感染細胞の検索を行った結果、EBVは主にBリンパ球に感染していることが明らかになった。

11月16日に測定したEBV抗体価ではVCAIgG (FA)は640倍に上昇したが、VCAIgM (FA) 10倍, EA-DRiGg (FA) <10倍, EBNA (FA) <10倍とEBNAの陰性が持続している。12月1日に退院とし、以後外来にて治療継続中であるが、12月20日現在、著変はみられていない。

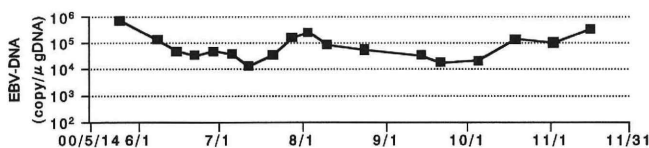


図2. Real-time PCR法による末梢血単核球中のEBV-DNA定量の変動

考 察

VAHS に関する本邦のアンケート調査では 72 例の VAHS のうち原因ウイルスが判明した 38 例中 28 例が EBV-AHS であり、その死亡率は 43% と高かったことが報告されている²⁾。また、川口ら⁴⁾によれば EBV 感染細胞のクロナリティーが単クローン性増殖を示した 12 例の EBV-HAS の転帰は急性期死亡 (3)、再発死亡 (2)、再発寛解 (1)、寛解 (6) と予後不良であったと報告されている。EBV-AHS が他の VAHS より重症例が多いのは、薬剤で高サイトカイン血症を一時的に減少させる事は可能であるが、病態の本質である EBV の感染した T リンパ球を排除できないためと考えられている⁵⁾。

EBV-AHS の治療としては他の HPS の治療と同様に重症度により、無治療経過観察、ステロイド剤常用量投与、パルス療法、CsA 投与、VP-16 投与さらには造血幹細胞移植などによる治療が行われる。一般に VAHS の治療においては二次癌の可能性のある VP-16 は禁忌であるが、PCR 法で EBV に感染した T リンパ球が単クローン性に増殖している EBV-AHS では VP-16 投与を積極的に行うべきとされている⁵⁾。HLH-94 プロトコール¹⁾は Dexamethasone と VP-16 による 8 週間の初期治療を行った後に CsA を追加して維持療法を行う治療法であるが、好中球減少が著明な場合の初期治療としては VP-16 の代わりに CsA を短期間投与した後に VP-16 を開始したほうが安全であろうと考えられている⁶⁾。本症例においてはパルス療法と CsA 投与の併用療法で初期治療を行い、EBV-AHS と診断された入院 13 日目より VP-16 の投与を開始し、重篤な感染症の合併をきたすことなく順調に寛解が得られた。

EBV-AHS の治療効果の判定に PCR 法による EBV-DNA 量の経時的変化が重要であることは以前から指摘されてきた⁵⁾。これまでの方法は手技が煩雑であり、再現性に乏しいなどの欠点があったが、Real-time PCR 法により簡便かつ迅速に EBV-DNA の定量が測定可能となった。原ら³⁾

は同法により末梢血単核球中に $10^{2.5}$ copy/ μ gDNA 以上の EBV-DNA 量が検出されたときには症候性 EBV 感染症としての診断的意義があるとしている。また EBV-DNA をモニタリングすることにより EBV 関連疾患の病態の把握と治療効果の判定や予後の推定にも応用可能としている。

EBV-AHS においては EBV が T リンパ球に感染し、感染した T リンパ球が単クローン性に増殖していることが病態の本質とされている⁵⁾。本症例では臨床的寛解後も Real-time PCR 法による EBV-DNA 量の高値が持続した。感染細胞の検索結果ではほとんどが B リンパ球に EBV が存在していた。この事が T リンパ球に感染した EBV-AHS に比較し、患児が臨床的寛解を維持している理由かもしれない。しかし何故通常は容易に免疫学的に排除される EBV 感染細胞が、患児の体内で残存し続けているかは今後の検討を待たねばならない。従って本症例の治療をいつまで継続するかに関しては現在のところ不明であり、EBV-DNA 量を経時的に測定しつつ慎重に経過観察していく予定である。尚、EBV-DNA 量を経時的に測定した EBV-AHS の報告はまだ少なく今後の症例の蓄積が必要である。

ま と め

- 1) 臨床的寛解後も Real-time PCR 法における EBV-DNA 量の高値が持続した EBV-AHS の 1 例を報告した。
- 2) EBV-DNA の存在した細胞は、ほとんどが B リンパ球であり、その結果 EBV-DNA 量が高値にもかかわらず臨床的には寛解状態を維持している理由と考えられた。
- 3) Real-time PCR 法による EBV-DNA の定量は EBV-AHS の治療経過のモニタリングに有用であり、さらなる症例の蓄積が必要である。

稿を終えるにあたり、EBV に関しての種々の検索をしていただき、また適切な助言を賜りました東北大学加齢医学研究所発達病態分野の土屋 滋教授はじめ諸先生方に深謝いたします。

尚, 本論文の要旨は第52回北日本小児科学会(2000年9月, 札幌市)にて発表した。

文 献

- 1) 河 敬世: 血球貪食症候群とウイルス感染. 日児誌 **104**: 1166-1171, 2000
- 2) 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. 日小血会誌 **6**: 560-568, 1992
- 3) 原 紳也 他: Real-time PCR 法による Epstein-Barr ウイルスの検出. 小児科 **40**: 1563-1569, 1999
- 4) 川口裕之 他: EB ウイルス感染による血球貪食症候群. 日常診療と血液 **7**: 1005-1010, 1997
- 5) 菊田英明: Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic syndrome. 小児内科 **28**: 1604-1607, 1996
- 6) 木下由美子 他: 治療開始1ヵ月後に真菌性敗血症で死亡した Epstein-Barr ウイルス関連血球貪食症候群の1例. 日小血会誌 **13**: 46-50, 1999