

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591422

研究課題名(和文)同種造血細胞移植後ヒトヘルペスウイルス6脳炎の病態解析と発症予測

研究課題名(英文) Human herpesvirus-6 encephalitis after allogeneic stem cell transplantation: analysis of pathologic condition to predict the development.

研究代表者

緒方 正男(Ogata, Masao)

大分大学・医学部・講師

研究者番号：10332892

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：HHV-6脳炎は同種造血細胞移植後の予後不良の合併症である。移植早期の炎症と脳炎発症との関連について解析を行い、脳炎発症に繋がる病態の決定を目的とした。HHV-6脳炎発症20例を含む172例についてウイルス量とサイトカインの網羅的解析を行った。その結果HHV-6脳炎の発症にはウイルス量高値と特定のサイトカイン(IL-8, 10, 13, MCP-1, MIP-1b)が関係していた。脳炎発症例に絞った解析では髄液中ウイルス量と特定のサイトカイン(IL-5, -6, -8)が予後不良と関係していた。(結論)HHV-6脳炎の発症には高レベル再活性化のみでなく、サイトカインも関係する。

研究成果の概要(英文)：To elucidate the immunological pathogenesis of human herpesvirus (HHV)-6 encephalitis, we performed detailed cytokine study against 172 HCT recipients, including 20 patients with HHV-6 encephalitis. Seventeen kinds of cytokines in plasma samples collected weekly until 28 days after HCT, and cerebrospinal fluid (CSF) at the time of developing HHV-6 encephalitis were measured. The plasma IL-8, -10, -13, MCP-1, and MIP-1b were significantly higher in patients who developed HHV-6 encephalitis than those without HHV-6 encephalitis. High-level IL-6 predicted poor prognosis for patients with HHV-6 encephalitis. Among patients with HHV-6 encephalitis, IL-5, -6, and -8 in CSF were higher in patients who progress to severe status (died of encephalitis or sequelae) than in other patients. We suggest that several cytokines mediate the pathogenesis of HHV-6 encephalitis. Increased levels of cytokines in plasma and CSF predict development and poor prognosis of HHV-6 encephalitis.

研究分野：医師薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学

キーワード：造血細胞移植 ヒトヘルペス6 ヒトヘルペス6脳炎 サイトカイン

1. 研究開始当初の背景

同種造血細胞移植は白血病など難治性血液疾患の治療を目指す治療法であり、近年その件数は急速に増えている。最近同種造血細胞移植後のHHV-6脳炎の頻発が問題となっており、特に臍帯血移植において10%近い発症頻度が連続して報告されている。HHV-6脳炎発症例の予後は不良で、後遺症無く回復する症例は1-2割程度であり、発症機序に応じた予防法の確立が急務である。しかしながら、この疾患の発症機序は十分に明らかとされていない。HHV-6脳炎はHHV-6の再活性化に伴って発症する。しかしHHV-6の再活性化自体は移植症例の約半数にみられ、脳炎を来す症例はそのごく一部である。またHHV-6脳炎では頭部MRI所見も極めて左右対称な辺縁系脳炎所見を呈し、単純なウイルス感染症でない可能性がある。

HHV-6脳炎のほとんどは同種移植特異なサイトカインストーム症候群(生着前免疫反応、GVHD)に引き続いて発症する。このことはこの疾患の発症に免疫学的な機序が関係し、高サイトカイン血症が発症に関連している可能性を示す。

同種造血細胞移植後のサイトカイン動態とHHV-6再活性化、HHV-6脳炎発症との関連性の解析によりHHV-6脳炎発症機序を明らかとし、発症予測が可能となると考えられる。また高サイトカイン血症を来す状態の抑制によるHHV-6脳炎発症予防という新たな予防戦略の有効性が示される。

2. 研究の目的

全国より収集された造血幹細胞移植患者の血漿検体を用いて血漿サイトカインの動態を網羅的に解析し、同種造血細胞移植後HHV-6脳炎発症に関連するサイトカインの動態を解明する。これにより以下を明らかとする

- A) HHV-6脳炎の発症と関連するサイトカインと決定し、発症機序の一端を明らかとする。
- B) 発症予測に資するサイトカインを決定する。
- C) 高サイトカイン血症の抑制によるHHV-6脳炎発症予防という新たな予防戦略(臨床試験)の基礎と成るデータを提供する。

3. 研究の方法

移植後早期のサイトカイン動態の解析  
多施設共同研究で得られた血漿検体を用いて100例をこえる移植症例の血漿サイトカインの網羅的な解析を行う。測定サイトカインはIL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, G-CSF, GM-CSF, IFN-γ, MCP-1, MIP-1β, TNF-α, TNF-R1。各種サイトカインの動態とHHV-6再活性化、HHV-6脳炎発症、HHV-6脳炎重症化との関連性について解析を行う

4. 研究成果

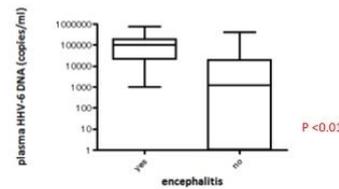
最終的にHHV-6脳炎発症例20例を含む移植症例172例について移植早期(day28以内)のHHV-6DNAと上記サイトカインの動態について測定、解析を行った。臨床的背景にはHHV-6脳炎発症例と非発症例で差を認めなかった。

HHV-6脳炎発症例と非発症例の臨床背景

	HHV-6脳炎発症例 n=20	HHV-6脳炎非発症例 n=152	P value
年齢中央値(範囲)	50(26-64)	51(17-71)	0.32
性別			
男性	15(75%)	90(59%)	0.22
女性	5(25%)	62(41%)	
病期			
標準リスク	4(20%)	52(34%)	0.31
高リスク	16(80%)	100(66%)	
前処置			
骨髄破壊的	10(50%)	61(40%)	0.55
骨髄非破壊的	10(50%)	91(49%)	
幹細胞			
臍帯血	10(50%)	75(49%)	0.13
非血縁骨髄	6(30%)	48(32%)	
血縁骨髄	4(20%)	11(7%)	
血縁末梢血	0(0%)	18(12%)	

HHV-6脳炎発症例のHHV-6DNA中央値は103,379copies/ml, 脳炎非発症例のHHV-6DNA中央値は1247copies/mlであり、脳炎発症例で有意に高値であった(P<0.001)。

HHV-6脳炎発症例と非発症例における血漿HHV-6 DNAの比較



HHV-6脳炎発症群のHHV-6 DNA中央値103379 copies/ml、非発症例では、中央値1247 copies/mlであり、脳炎発症群でHHV-6 DNA量は有意に高値であった。

血漿サイトカインの解析ではHHV-6再活性化を来した患者ではIL-8, IL-10, IL-12, MCP-1, MIP-1βが有意に高値であり、HHV-6脳炎を来した患者ではIL-8, IL-10, IL-13, MCP-1, MIP-1βが有意に高値であった

HHV-6脳炎発症例と非発症例におけるサイトカイン(ピーク値)の比較

	HHV-6脳炎(n=20)	HHV-6脳炎なし(n=152)	P
IL-1β (pg/ml)	1.64 (0.2-3.1)	1.7 (0.126-4)	0.85
IL-2 (pg/ml)	0.9 (0-12.0)	0 (0-161.6)	0.33
IL-4 (pg/ml)	2.0 (0.2-3.2)	1.5 (0-72.6)	0.48
IL-5 (pg/ml)	2.7 (23.3-366.2)	27.1 (1.9-878.7)	0.92
IL-6 (pg/ml)	120.7 (1.2-2713.1)	91.8 (7.0-26995.7)	0.22
IL-7 (pg/ml)	15.8 (5.9-59.6)	13.1 (4.5-118.4)	0.34
IL-8 (pg/ml)	122.1 (15.6-2053.3)	49.3 (6.9-8513.9)	<0.01
IL-10 (pg/ml)	19.2 (0-887.4)	9.6 (0-4710.9)	<0.01
IL-12 (pg/ml)	10.3 (0-95.7)	9.8 (0-85.9)	0.70
IL-13 (pg/ml)	12.6 (2.5-57.5)	5.8 (0.2-58.5)	<0.01
IL-17 (pg/ml)	13.8 (0-114.8)	8.1 (0-312.7)	0.34
GM-CSF (pg/ml)	42.0 (14.2-80.4)	44.8 (0-969.3)	0.83
IFN-γ (pg/ml)	99.3 (18.1-164.5)	77.1 (0-6247.0)	0.92
MCP-1 (pg/ml)	1533.3 (19.2-4737.7)	903.5 (65.4-6887.8)	<0.01
MIP-1β (pg/ml)	264.0 (64.3-2043.7)	171.5 (51.7-2000.3)	0.01
TNF-α (pg/ml)	25.1 (6.47-80.2)	24.9 (0-4299.9)	0.75
TNF-R1 (pg/ml)	3870.4 (2040-9376.2)	4003.7 (1049-18200)	0.89

血漿 IL-6 は HHV-6 脳炎の発症との関連性は認めなかったが、脳炎の重症化（死亡、後遺症）との関連性を認めた。

HHV-6脳炎発症例における重症化(死亡、後遺症)と血漿IL-6の関連

患者	血漿IL-6 (pg/mL)	揮散	HHV-6脳炎の転帰
1	2,713	あり	死亡
2	1,973	No	死亡
3	1,550	あり	死亡
4	879	あり	死亡
5	700	なし	完全回復
6	639	あり	記憶障害
7	289	なし	死亡
8	160	あり	死亡
9	87	なし	死亡
10	78	あり	死亡
11	64	なし	完全回復
12	63	なし	完全回復
13	48	あり	死亡
14	45	なし	完全回復
15	33	なし	完全回復
16	13	なし	記憶障害
17	10	なし	記憶障害
18	1.2	なし	完全回復

HHV-6 脳炎死亡率

≥中央値IL-6: 78%

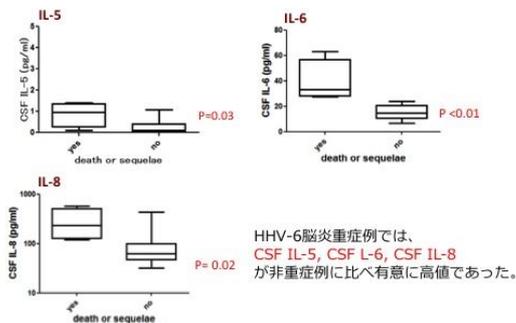
<中央値IL-6: 22%

(P=0.04)

血漿IL-6はHHV-6脳炎の重症度や予後と関連する

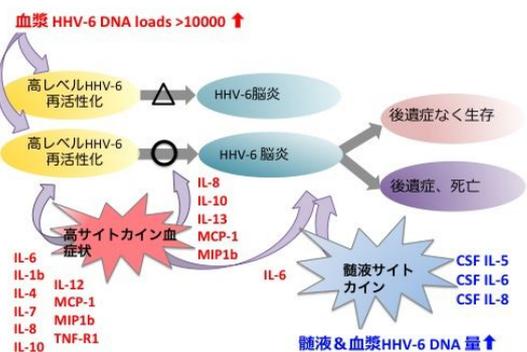
また脳炎発症例での髄液検体を用いて HHV-6 脳炎が重症化（後遺症、死亡）した例と非重症化例との比較を行った。HHV-6 脳炎重症化例は髄液中 HHV-6 DNA が高値 (463,396 copies/ml) であり (p<0.01)、また髄液中 IL-6, IL-8 が有意に高値であった。

HHV-6脳炎発症例における重症例(死亡、後遺症)と非重症例での髄液中サイトカイン濃度



以上より移植後 HHV-6 脳炎の発症には高レベルの HHV-6 再活性化が必須条件であるが、それのみではなく、血漿 IL-6, IL-8, マクロファージ関連のサイトカインが関係しており、脳炎の重症化に髄液中 HHV-6 DNA 値、IL-6, IL-8 が関係していることが示された。

移植後早期の免疫反応、高サイトカイン血症とHHV-6脳炎発症と予後



これらの結果は移植後早期の特有の免疫反応が HHV-6 脳炎発症と関連するとの臨床所見と合致している。この免疫反応を免疫抑制剤で十分に制御することが脳炎の予防や重症化を阻止出来ると考えられた。特定のサイトカインの動きのみで発症予測は困難であるが、発症前 IL-6 が 70 pg/ml を越えている場合には HHV-6 脳炎の予後は極めて不要 (80%死亡) であった。そのような発症例では早期より重症化を見越した体制で治療を行う必要があると考えられた。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計4件)

1. Toriumi N, Kobayashi R, Yoshida M, Iguchi A, Sarashina T, Okubo H, Suzuki D Sano H, Ogata M, Azuma H.

Risk factors for human herpesvirus 6 reactivation and its relationship with syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion after stem cell transplantation in pediatric patients. J Pediatr Hematol Oncol. 2013 [Epub ahead of print]

2. Ogata M, Satou T, Kadota J, Saito N, Yoshida T, Okumura H, Ueki T, Nagafuji K, Kako S, Uoshima N, Tsudo M, Itamura H, Fukuda T.

Human herpesvirus 6 (HHV-6) reactivation and HHV-6 encephalitis after allogeneic hematopoietic cell transplantation: a multicenter, prospective study. Clin Infect Dis.2013; 57: 671-681.

3. Ogata M, Satou T, Inoue Y, Takano K, Ikebe T, Ando T, Ikewaki J, Kohno K, Nishida A, Saburi M, Miyazaki Y, Ohtsuka E, Saburi Y, Fukuda T, Kadota J.

Foscarnet against human herpesvirus (HHV)-6 reactivation after allo-SCT: breakthrough HHV-6 encephalitis following antiviral prophylaxis. Bone Marrow Transplant.2013; 48:257-264.

4. Pellett PE, Ablashi DV, Ambros PF, Agut H, Caserta MT, Descamps V, Flamand L, Gautheret-Dejean A, Hall CB, Kamble RT, Kuehl U, Lassner D, Lautenschlager I, Loomis KS, Luppi M, Lusso P, Medveczky PG, Montoya JG, Mori Y, Ogata M, Pritchett JC, Rogez S, Seto E, Ward KN, Yoshikawa T, Razonable RR.

Chromosomally integrated human herpesvirus 6: questions and answers. Rev Med Virol.2012; 22: 144-155.

〔学会発表〕(計 13 件)

1. Takata H, Ogata M, Satou T, Honda S, Yoshida N, Nashimoto Y, Moroga Y, Takano K, Ikebe T, Kohno K, Shirao K, Kadota J, Ueki T, Kobayashi H, Takeda W, Kirihara T, Sato K, Fujiwara Y, Shimizu I, Hiroshima Y, Sumi M.

Saliva as a potential route of virus entry into the CNS in HHV-6 encephalitis after allogeneic HCT.

第 75 回日本血液学会学術集会 2013/10/11, 札幌

2. Takano K, Ogata M, Satou T, Shirao K, Kadota J, Miyazaki Y, Saitou N, Ueki T, Okumura H, Nagafuji K, Kako S, Uoshima N, Fukuda T.

Correlations of cytokine concentration in plasma and CSF with outcome of HHV-6 encephalitis.

第 75 回日本血液学会学術集会 2013/10/11, 札幌

3. Ogata M, Satou T, Kadota J, Saito N, Yoshida T, Okumura H, Ueki T, Nagafuji K, Kako S, Uoshima N, Tsudo M, Itamura H, Fukuda T.

Human herpesvirus 6 (HHV-6) reactivation and HHV-6 encephalitis after allogeneic hematopoietic cell transplantation: a multicenter, prospective study.

18<sup>th</sup> Congress of the European Hematology Association. 2013/6/13, Stockholm

4. 緒方正男. 同種造血細胞移植後 HHV-6 脳炎. 第 35 回日本造血細胞移植学会総会. 2013/3/7, 金沢

5. 緒方正男. 同種造血細胞移植における HHV-6 感染症: HHV-6 脳炎を中心として.

第 60 回日本化学療法学会西日本支部総会、第 55 回日本感染症学会中日本地方会学術集会、第 82 回日本感染症学会西日本地方会(招待講演). 2012/11/5, 福岡

6. Ogata M, Satou T, Kadota J, Saito M, Ueki T, Yoshida T, Okumura H, Nagafuji K, Kako S, Uoshima N, Tsudo M, Ichinohe T, Fukuda T.

Multicenter prospective study of HHV-6 reactivation and its effect on CNS after allogeneic SCT.

第 74 回日本血液学会学術集会. 2012/10/20, 京都

7. 緒方正男. 同種造血細胞移植後 HHV-6 脳炎,

第 17 回日本神経感染症学会(招待講演) 2012/10/19, 京都

8. 緒方正男. 同種造血細胞移植後 HHV-6 脳炎: 解明と克服に向けて.

第 27 回ヘルペスウイルス研究会(招待講演) 2012/6/7, あいち健康プラザ

9. 高野久二子, 緒方正男, 井上佑子, 門田淳一, 佐分利益穂, 佐分利能生.

同種造血細胞移植後 human herpesvirus-6 (HHV-6) 脳炎の発症には HHV-6 再活性化のレベルと IL-6 高値が関連する.

第 86 回日本感染症学会総会. 2012/4/25 長崎

10. 井上佑子, 緒方正男, 高野久二子, 門田淳一, 佐分利益穂, 佐分利能生

同種造血細胞移植後 HHV-6 再活性化のモニタリングにおける、血漿及び全血を用いた real-time PCR 法の比較.

第 86 回日本感染症学会総会. 2012/4/25 長崎

11. 緒方正男: 同種造血細胞移植後 HHV-6 脳炎. 第 34 回日本造血細胞移植学会(招待講演) 2012/2/24, 大阪市

12. Takano K, Ogata M, Satou T, Inoue Y, Moroga Y, Ikebe T, Ando T, Ikewaki J, Kohno K, Saburi M, Nishida A, Miyazaki Y, Ohtsuka E, Saburi Y, Kadota J.

High plasma IL-6 level before HHV-6 reactivation is key factors of HHV-6 encephalitis development.

第 73 回日本血液学会学術集会. 2011/10/14, 名古屋

13. Takano K, Satou T, Ogata M, Ikewaki J, Kohno K, Miyazaki Y, Ohtsuka E, Saburi Y, Kadota J.

Plasma human herpesvirus 6 (HHV-6) DNA loads and interleukin-6 concentration as factors in the development of HHV-6 encephalitis after allogeneic

hematopoietic stem cell transplantation. The 16<sup>th</sup> Congress of European Hematology Association 2011/6/10, London

〔図書〕(計 1 件)

Flammand L, Lautenschlager I, Krueger G, Ablashi E (編). Human herpesviruses HHV-6A, HHV-6B & HHV-7.

Chapter 13. Zerr DM & Ogata M. HHV-6A and HHV-6B in recipients of hematopoietic cell transplantation (p217-234). Elsevier Science.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

緒方 正男 (OGATA, Masao)

大分大学・医学部・講師

研究者番号：10332892

(2) 研究分担者

佐藤 隆子 (SATOU, Takako )

大分大学・医学部・研究補佐員

研究者番号：90420645

幸野 和洋 (KOHNO, Kazuhiro)

大分大学・医学部・助教

研究者番号：80420644

門田 淳一 (KADOTA, Jun-ichi)

大分大学・医学部・教授

研究者番号：50233838

高野 久仁子 (TAKAN0, Kuniko)

大分大学・医学部・特任助教

研究者番号：20617427