

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 21 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24791055

研究課題名(和文) 新規薬剤治療中の小児リウマチ疾患における重症ウイルス感染症の発症予測・病態の解析

研究課題名(英文) Virological analysis of patients with pediatric rheumatic disease treated with novel biological agents

研究代表者

川田 潤一 (Kawada, Jun-ichi)

名古屋大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：20532831

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：難治性の若年性特発性関節炎(JIA)の治療には、サイトカインの作用を遮断する生物学的製剤が用いられ、予後の劇的な改善を認めている。一方で、サイトカインの遮断に伴い免疫機能が抑制されることで、潜伏感染しているウイルスの再活性化が懸念されている。本研究では、生物学的製剤で治療中のJIA患者において、3種類のヘルペス属ウイルス(EBV、CMV、HHV-6)の再活性化の解析を前方視的に行った。2年の観察期間中に、高頻度でHHV-6やEBVの再活性化が確認されたが、これらのウイルスに起因すると考えられる臨床症状は認めなかった。

研究成果の概要(英文)：Juvenile idiopathic arthritis (JIA) is the most common chronic rheumatic inflammatory disorder of childhood. Biological agent to inhibit cytokine signaling has been used for the treatment of severe JIA, but patients receiving biological might be at increased risk of reactivation of herpesviridae such as EBV. We prospectively monitored viral load of EBV, CMV, and HHV-6 in JIA patients treated with tocilizumab, an anti-interleukin 6 receptor monoclonal antibody, for 2 years. EBV and HHV-6 were frequently detected by PCR in most patients. On the other hand, reactivation of EBV and HHV-6 with clinical events was not observed during the observation period.

研究分野：小児感染症学

キーワード：若年性特発性関節炎 ウイルス感染症 生物学的製剤

1. 研究開始当初の背景

若年性特発性関節炎 (juvenile idiopathic arthritis; JIA) は、小児期発症のリウマチ性疾患の中では最も高頻度に見られる疾患である。JIA の一部は従来の免疫抑制剤等による治療に抵抗性であるが、病態に関連したサイトカインの作用を遮断する新規の生物学的製剤が難治性の JIA の治療に応用されるようになり、疾患の予後は劇的な改善をみた。

一方で、生物学的製剤によって遮断されるサイトカインは、生体の免疫能にとっても重要な役割を担っている。そのため、生物学的製剤の使用により惹起される易感染状態についての問題が指摘されている。特に、TNF 製剤の使用は、結核や B 型肝炎ウイルスの再活性化のリスクであることが知られている。また、抗 IL-6 受容体抗体 (トシリズマブ) は、難治性の JIA に用いられることが多いが、免疫能の低下による、細菌感染やウイルス感染の重症化が懸念されている。

Epstein-Barr ウイルス (EBV)、サイトメガロウイルス (CMV)、ヒトヘルペスウイルス 6 型 (HHV-6) などのヘルペスウイルス属は、ヒトに普遍に感染し、宿主の免疫が低下した状態では再活性化することが知られており、特に臓器移植後の感染症として重要である。一方で、生物学的製剤の使用下において、ヘルペスウイルス属が再活性化するかについての知見は存在していない。また、生物学的製剤の使用下において、細菌感染が重症化しやすいことも知られているが、ウイルスの初感染像の病態については不明な点が多い。特に小児期はウイルス感染症に罹患する機会が多いため、生物学的製剤使用中のウイルス感染症の特徴についての知見が望まれていた。

2. 研究の目的

JIA の治療に広く用いられるようになった、抗 IL-6 受容体抗体であるトシリズマブ使用下における、ヘルペスウイルス属の再活性化の有無を前方視的に解析することを主目的とした。さらに、トシリズマブ使用下でウイルスの初感染をきたした患者の臨床症状の特徴や、JIA の疾患活動性に与える影響についても検討した。

3. 研究の方法

難治性の JIA のため、トシリズマブの定期投与が行われている JIA 患者を対象とした。定期的 (2~4 週毎) に患者末梢血の採取を行い、血球より DNA を抽出し、マルチプレックス定量 PCR 法により EBV、HHV-6、CMV のウイルス量を、前方視的にモニタリングした。

トシリズマブ治療中に、インフルエンザウイルスの初感染をきたした患者の臨床データを集積した。また、トシリズマブを使用していない JIA 患者の臨床像と比較することで、トシリズマブのインフルエンザ感染症に

与える影響を解析した。

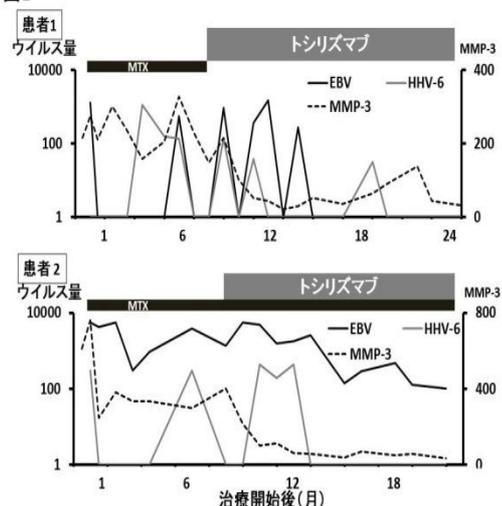
4. 研究成果

(1) トシリズマブ使用中の JIA 患者におけるヘルペスウイルス属のモニタリング

EBV、HHV-6、CMV の前方視的なモニタリングを行った患者の例を図 1 に示した。患者 1 は、多関節型 JIA の症例である。トシリズマブを導入する前にメソトレキセート (MTX) が使用されていたが、MTX 治療中の時期より、EBV および HHV-6 が間欠的に検出されていた。この患者は、MTX による治療効果が不十分であり、8 ヶ月の時点からトシリズマブが導入された。トシリズマブの導入後は、関節炎は軽快し、関節炎の指標であるマトリックスプロテアーゼ-3 (MMP-3) の値も漸減した。ウイルス量のモニタリングを継続したが、EBV、HHV-6 とともに、トシリズマブ開始によりウイルス量が増加することはなく推移し、またそれらのウイルスに起因すると思われる臨床症状も認めなかった。また、CMV は経過中一度も検出されなかった。

患者 2 も難治性の多関節型 JIA の症例である。患者 1 と同様に、MTX による治療が行われたが効果不十分であり、トシリズマブが導入された。この患者では、トシリズマブ導入前より EBV が持続的に検出されていた。MTX は、EBV を再活性化させるとの報告もあるため、EBV の持続的な検出は、MTX が関与している可能性が示唆された。この患者では、トシリズマブの導入により、さらなる EBV の再活性化が懸念されたが、興味深いことに、トシリズマブの導入により EBV 量が増加することはなく、むしろ漸減傾向であった。IL-6 の過剰な状態は、EBV 感染 B 細胞の増殖を促進させるという報告もあるため、トシリズマブの投与は EBV の増殖に対して、抑制的に働く可能性が示唆された。なお、患者 2 においても、CMV は経過中、一度も検出されなかった。

図 1



同様の検討をトシリズマブ使用中の JIA 患者計 4 例に行ったが、一過性もしくは持続的に EBV や HHV-6 が検出されたものの、それら

のウイルスに起因すると思われる臨床症状はみとめなかった。また、トシリズマブの投与開始前後で、ウイルス量が明らかに増加した症例はみられなかった。CMV については、いずれの患者でも検出されなかった。

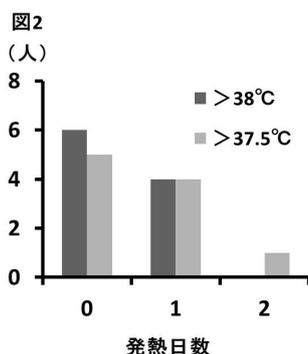
研究期間の都合もあり、前方視的に長期間観察を行った症例は4例のみであったが、その他にも、トシリズマブ治療中に発熱や肝障害を認めた患者で、EBV、CMV、HHV-6 の測定を12例に行った。少量～中等量のウイルス量が検出される症例が複数みられたが、臨床症状との関連については、評価が困難であった。

詳細に検討できたのは数症例にとどまり、明確な結論は得られなかったが、トシリズマブの投与は、従来の免疫抑制剤とは異なり、ヘルペス属ウイルスの再活性化の危険因子ではない可能性が示唆された。このことは、ウイルスの制御における IL-6 の役割を考慮するうえでも興味深い知見と考えられた。

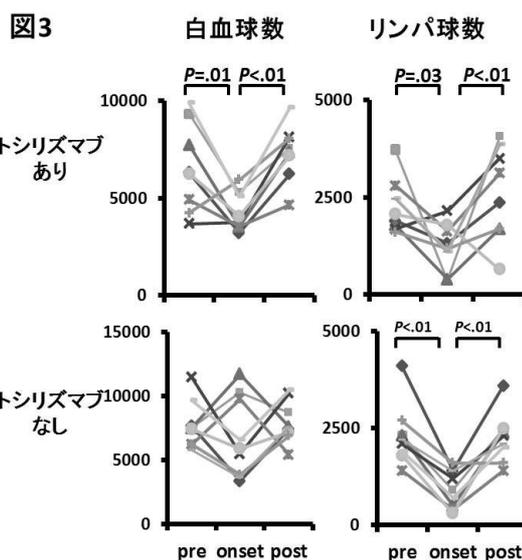
(2) トシリズマブ治療中の JIA 患者における、インフルエンザ感染症の病態に関する検討

インフルエンザは、冬季に流行する代表的なウイルス感染症である。発熱を主症状とし、多くは数日の経過で治癒するが、高齢者や免疫抑制状態にある患者ではしばしば重篤な経過をたどることが知られている。一方で、トシリズマブ治療の患者がインフルエンザに罹患した際の臨床像に関するまとまった報告はない。

トシリズマブ治療中にインフルエンザに罹患した小児患者の発熱期間を図2に示す。大変興味深いことに、過半数の患者において、インフルエンザ罹患にも関わらず、38 以上の発熱を認めなかった。また、38 以上の発熱を認めた4例も1日で解熱していた。ほとんどの症例で抗インフルエンザ薬が用いられていたため、自然経過よりも有熱期間が短縮している可能性を勘案しても、短期間の発熱もしくは高熱をきたさない症例が多いと考えられた。このことは、従来報告されている、トシリズマブ使用による、感染症症状のマスクングを示唆しており、トシリズマブ使用中の感染症の診断が困難であることが、インフルエンザでも示された。



次に、インフルエンザ罹患時の血液検査の結果を、トシリズマブ使用中の JIA 患者と、使用していない JIA 患者とで比較した。結果を図3に示す。インフルエンザ罹患時には、一過性のリンパ球減少をきたすことが知られているが、リンパ球減少は、トシリズマブ使用群、非使用群の両群で観察された。一方で、白血球数の減少は、トシリズマブ使用群でのみ観察された。好中球数などを含めた白血球減少が、トシリズマブ群でのみ観察された原因は不明である。今回得られた結果からは、トシリズマブ使用中のインフルエンザは、発熱を伴わない例や、短期間の発熱にとどまる例が多く、臨床診断が困難であるが、白血球数やリンパ球の減少は、トシリズマブ使用中の患者においても観察され、診断の一助となることが示唆された。



今回検討した患者では、幸いインフルエンザ感染症の重症化は見られなかったが、積極的な診断と抗ウイルス薬の投与が奏功していた可能性は否定できない。トシリズマブ投与下では、細菌の二次感染が重篤化する可能性があるため、インフルエンザの流行期には、ワクチンの接種とともに、積極的な診断と治療が必要と考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計13件)

Kawada, J., Ito, Y., Iwata, S., Suzuki, M., Kawano, Y., Kanazawa, T., Siddiquey, M.N. & Kimura, H. mTOR Inhibitors Induce Cell Cycle Arrest and Inhibit Tumor Growth in Epstein-Barr Virus-Associated T and Natural Killer Cell Lymphoma Cells. *Clinical cancer research*, 査読有, 21: 2014, 5412-22. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-3172
Hara, S., Kawada, J., Kawano, Y., Yamashita, T., Minagawa, H.,

Okumura, N. & Ito, Y. Hyperferritinemia in neonatal and infantile human parechovirus-3 infection in comparison with other infectious diseases. *Journal of infection and chemotherapy*, 査読有、20: 2014, 15-9. DOI: 10.1016/j.jiac.2013.11.002

Torii, Y., Kimura, H., Hayashi, K., Suzuki, M., Kawada, J., Kojima, S., Katano, Y., Goto, H. & Ito, Y. Causes of vertical transmission of hepatitis B virus under the at-risk prevention strategy in Japan. *Microbiol Immunol*, 査読有、57: 2013, 118-21. DOI: 10.1111/1348-0421.12009

Suzuki, M., Torii, Y., Kawada, J., Kimura, H., Kamei, H., Onishi, Y., Kaneko, K., Ando, H., Kiuchi, T. & Ito, Y. Immunogenicity of inactivated seasonal influenza vaccine in adult and pediatric liver transplant recipients over two seasons. *Microbiol Immunol*. 査読有、57: 2013, 715-22. DOI: 10.1111/1348-0421.12086

Ohta, R., Imai, M., Kawada, J., Kimura, H. & Ito, Y. Interleukin-17A-producing T lymphocytes in chronic active Epstein-Barr virus infection. *Microbiol Immunol*, 査読有、57: 2013, 139-44. DOI: 10.1111/1348-0421.12010

Kimura, H., Kawada, J. & Ito, Y. Epstein-Barr Virus-Associated Lymphoid Malignancies: The Expanding Spectrum of Hematopoietic Neoplasms. *Nagoya Journal of Medical Science*, 査読有、75: 2013, 161-67. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24640173>

Kawano, Y., Iwata, S., Kawada, J., Gotoh, K., Suzuki, M., Torii, Y., Kojima, S., Kimura, H. & Ito, Y. Plasma viral microRNA profiles reveal potential biomarkers for chronic active Epstein-Barr virus infection. *The Journal of infectious diseases*, 査読有、208: 2013, 771-9. DOI: 10.1093/infdis/jit222

Kawada, J., Kitagawa, Y., Iwata, N. & Ito, Y. Clinical characteristics of influenza virus infection in juvenile idiopathic arthritis patients treated with tocilizumab. *Mod Rheumatol*, 査読有、23: 2013, 972-6. DOI: 10.1007/s10165-012-0780-0

Kawada, J., Ito, Y., Torii, Y., Kimura, H. & Iwata, N. Remission of juvenile idiopathic arthritis with primary Epstein-Barr virus infection. *Rheumatology*, 査読有、52:2013, 956-8. DOI: 10.1093/rheumatology/kes299

Ito, Y., Kawamura, Y., Iwata, S., Kawada, J., Yoshikawa, T. & Kimura, H. Demonstration of type II latency in T lymphocytes of Epstein-Barr Virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer*, 査読有、60: 2013, 326-8. DOI: 10.1002/pbc.24319

Imahashi, N., Nishida, T., Ito, Y., Kawada, J., Nakazawa, Y., Toji, S., Suzuki, S., Terakura, S., Kato, T., Murata, M. & Naoe, T. Identification of a novel HLA-A*24:02-restricted adenovirus serotype 11-specific CD8(+) T-cell epitope for adoptive immunotherapy. *Mol Immunol*, 査読有、56: 2013, 399-405 DOI: 10.1016/j.molimm.2013.05.232

Kawada, J., Iwata, N., Kitagawa, Y., Kimura, H. & Ito, Y. Prospective monitoring of Epstein-Barr virus and other herpesviruses in patients with juvenile idiopathic arthritis treated with methotrexate and tocilizumab. *Mod Rheumatol*, 査読有、22: 2012, 565-70. DOI: 10.1007/s10165-011-0552-2

Kawada, J., Arai, N., Nishimura, N., Suzuki, M., Ohta, R., Ozaki, T. & Ito, Y. Clinical characteristics of norovirus gastroenteritis among hospitalized children in Japan. *Microbiol Immunol*, 査読有、56: 2012, 756-9. DOI: 10.1111/j.1348-0421.2012.00498.x

〔学会発表〕(計 18 件)

川田潤一 予防接種の最近の話題:2014.3月26日 岡崎市医師会予防接種指定講演会 愛知県岡崎市・岡崎市公衆衛生センター

川田潤一、伊藤嘉規、岩田誠子、河野好彦、Mohammed Alam Siddiquey、木村宏 mTOR 阻害薬の EBV 関連 T/NK リンパ腫に対する抗腫瘍効果の検討:2013.11月10日-12日 第61回日本ウイルス学会学術集会 兵庫県神戸市神戸国際会議場
伊藤嘉規、河野好彦、鳥居ゆか、安藤将太郎、神谷泰子、鈴木道雄、川田潤一、木村宏 国際標準物質を用いた EBV・CMV 定量 PCR 系の標準化 2013.10月26日 第45回日本小児感染症学会学術集会 北海道札幌市・札幌コンベンションセンター

鳥居ゆか、河野好彦、神谷泰子、鈴木道雄、川田潤一、伊藤嘉規 メタボローム解析を用いたインフルエンザ脳症・HHV-6 脳症におけるの新規バイオマーカーの探索:2013.10月26日 第45回日本小児感染症学会各術集会 北海道札幌市

川田潤一 EB ウイルス感染と関節炎:

2013.10月11-13日 第23回小児リウマチ学会学術集会 埼玉県さいたま市・ラフレさいたま
Kawada J, Ito Y, Iwata S, Kawano Y, Kanazawa T, Siddiquey NA, Kimura H. mTOR inhibitors induce cell cycle arrest and inhibit tumor growth in Epstein-Barr virus-associated T and natural killer cell lymphoma: 2013. July20-24, 38th Annual International Herpesvirus Workshop, DeVos Place , Grand Rapids, USA
Kawano Y, Iwata S, Kawada J, Gotoh K, Suzuki M, Torii Y, Kimura H, Ito Y. Circulating Viral MicroRNAs Are Potential Biomarkers for Disease Status in Chronic Active Epstein-Barr Virus Infection:2013. July20-24, 38th Annual International Herpesvirus Workshop, DeVos Place , Grand Rapids, USA
河野好彦、鳥居ゆか、川田潤一、安藤将太郎、神谷泰子、鈴木道雄、木村宏、伊藤嘉規 リアルタイム PCR 法を用いた EBV・CMV 定量系への国際単位の導入：2013.5月30日-6月1日 第28回ヘルペスウイルス研究会 兵庫県淡路市・ウエスティンホテル淡路
川田潤一、伊藤嘉規、岩田誠子、河野好彦、金沢哲広、Mohammed Nure Alam Siddiquey、木村宏 EBV 関連 T/NK リンパ腫に対する mTOR 阻害薬の抗腫瘍効果の検討：2013.5月30日-6月1日 第28回ヘルペスウイルス研究会 兵庫県淡路市・ウエスティンホテル淡路
鳥居ゆか、河野好彦、神谷泰子、鈴木道雄、川田潤一、伊藤嘉規 メタボローム解析を用いたインフルエンザ脳症の新規バイオマーカーの探索：2013.4月19日-21日 第116回日本小児科学会学術集会 広島県広島市・広島国際会議場
川田潤一、河野好彦、神谷泰子、鈴木道雄、鳥居ゆか、木村宏、伊藤嘉規 新生児聴覚スクリーニングを契機に診断されバルガンシクロビル(VGCV)で治療した先天性サイトメガロウイルス(CMV)感染症の3例：2013.3月17日 第28回東海ヘルペス群ウイルス感染症研究会 愛知県名古屋市・名古屋大学
河野好彦、川田潤一、神谷泰子、鈴木道雄、鳥居ゆか、小島勢二、伊藤嘉規 新生児聴覚スクリーニングを契機に診断されバルガンシクロビル(VGCV)で治療した先天性サイトメガロウイルス(CMV)感染症の3例：2013.2月3日 第257回日本小児科学会東海地方会 愛知県名古屋市・名古屋大学
鈴木道雄、鳥居ゆか、神谷泰子、河野好彦、川田潤一、木村宏、伊藤嘉規 水痘罹患後に血球貪食性リンパ組織球症を続

発した1例：2012.11月24-25日 第44回日本小児感染症学会総会・学術集会 福岡県小倉市・北九州国際会議場
伊藤嘉規、河村吉紀、岩田誠子、川田潤一、吉川哲史、木村宏 EB ウイルス関連血球貪食性リンパ組織球症例におけるウイルス感染細胞の性状を中心とした病態解析：2012.11月24-25日 第44回日本小児感染症学会総会・学術集会 福岡県小倉市北九州国際会議場
河野好彦、岩田誠子、川田潤一、神谷泰子、鈴木道雄、鳥居ゆか、木村宏、伊藤嘉規 慢性活動性 EB ウイルス感染症におけるEBウイルス由来miRNAの血漿中バイオマーカーとしての応用：2012.11月13-15日 第60回日本ウイルス学会学術集会 大阪府大阪市・グランキューブ大阪
Kawano Y, Iwata S, Kawada J, Kimura H, Ito Y Plasma Viral MicroRNA Profiles Reveal Potential Biomarkers for Chronic Active Epstein-Barr Virus Infection: 2012. Oct17-22, Infectious Diseases Society of America meeting, San Diego Convention Center, San Diego, USA
Kawada J, Ito Y, Torii Y, Kimura H, Iwata N Remission of Juvenile Idiopathic Arthritis with Primary Epstein-Barr Virus Infection: 2012.July31-Aug8, 2012 EBV Meeting/International Congress on Oncogenic Herpesviruses and Associated Diseases, Sheraton Philadelphia City Center Hotel, Philadelphia, USA
川田潤一 小児呼吸器感染症の最近の話題とガイドライン 2011 について：2012.7月14日 瀬戸旭小児科医会学術講演会 愛知県瀬戸市・瀬戸市旭医師会館
河野好彦、岩田誠子、川田潤一、神谷泰子、鈴木道雄、鳥居ゆか、木村宏、伊藤嘉規 慢性活動性 EB ウイルス感染症における血漿中ウイルス由来 miRNA 量の検討：2012.6月7-9日 第27回ヘルペスウイルス研究会 愛知県知多郡東浦町・あいち健康プラザ健康宿泊館プラザホール

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川田 潤一 (KAWADA, Jun-ichi)
名古屋大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：20532831

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし

(4) 研究協力者

伊藤 嘉規 (ITO, Yoshinori)
名古屋大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：20373491