

令和 5 年 5 月 29 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08258

研究課題名(和文)日本人若年者に好発する木村病(軟部好酸球肉芽腫)の病因および病態の解明

研究課題名(英文) Etiology and pathology of Kimura disease (eosinophilic granuloma of soft tissue) with a predilection for Japanese young individuals

研究代表者

藤枝 幹也 (FUJIEDA, Mikiya)

高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・教授

研究者番号：60209020

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：木村病(軟部好酸球肉芽腫)は、頭頸部のリンパ節腫脹や皮下軟部組織に腫瘤を形成し、慢性の経過をたどる疾患である。若年者に多く、東アジア特に日本人に多く発症するのが特徴である。これまで原因は明らかにされていなかったが、本研究において皮膚に指向性を示すヒトポリオーマウイルス6型(HPyV6)のDNAとウイルス由来抗原が木村病組織から検出され、しかも持続感染していたことから木村病の病因や病態修飾因子としての関連性が示唆された。さらに本研究で検出されたHPyV6の遺伝子型は全て日本/アジア型変異株であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、ウイルス抗原の発現を伴う高ウイルス量のHPyV6が木村病から検出され、これまで不明であった木村病の病因との関連性が示唆された。さらに、日本人発症の木村病から検出されたHPyV6株は全て日本/アジア型変異株あることが示された。このウイルス遺伝子型が、日本人に好発し欧米人では発生頻度が低いという木村病発症率の地理的相違に關与する可能性が示された。これらの研究結果を基に、木村病の病勢診断や新規治療法開発に向けた研究へと発展させることが期待できる。

研究成果の概要(英文)：The prevalence of eight cutaneous human polyomaviruses (HPyVs) in Kimura disease was investigated, using biopsy specimens obtained from Japanese patients. Human polyomavirus 6 (HPyV6) DNA with a relatively high viral load was frequently found in specimens from patients with Kimura disease. Immunohistochemistry revealed the expression of the HPyV6-derived antigen. HPyV6 was detected consistently even when the disease recurred after treatment. The HPyV6 strains studied here were all of the Asian/Japanese genotypes. The presence of high HPyV6 DNA load, expression of viral antigen, and persistent infection during clinical course suggest that HPyV6 is associated with the pathogenesis of Kimura disease in a subject of patients. Worldwide studies are expected to understand whether the Asian/Japanese HPyV6 genotype is related preferentially to the incidence of the disease with an ethnic predilection for Asian populations.

研究分野：ウイルス学、小児科学

キーワード：ウイルス 炎症 皮下腫瘍

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

リンパ節腫脹をきたす原因には感染症、感染症以外による反応性、腫瘍性などがある。多くの感染性・反応性リンパ節炎は原病のコントロールとともに治癒するが、リンパ節腫脹が遷延する病因不明の疾患があり、その病態解明が望まれる。木村病（軟部好酸球肉芽腫）は、頭頸部のリンパ節腫脹や皮下軟部組織に無痛性腫瘤を形成し、再発・再燃を繰り返し慢性の経過をたどる疾患である。末梢血と病変組織での好酸球増加および血中 IgE の増加を特徴とする。20 歳未満の若年者や、東アジア、特に日本人に多く発症し、欧米出身者では少ないのも特徴である。木村病の発生には微生物感染による I 型アレルギーの関与が推測されてきたが、原因は明らかにされていない。

### 2. 研究の目的

ヒトポリオーマウイルスはこれまでに 14 種類が見つかり、そのうち以下に示す 8 種類は皮膚に指向性を示ことが知られている。

- ・メルケル細胞ポリオーマウイルス (Merkel cell polyomavirus; MCPyV)
- ・ヒトポリオーマウイルス 6 型 (human polyomavirus 6; HPyV6)
- ・ヒトポリオーマウイルス 7 型 (human polyomavirus 7; HPyV7)
- ・ヒトポリオーマウイルス 9 型 (human polyomavirus 9; HPyV9)
- ・ヒトポリオーマウイルス 10 型 (human polyomavirus 10; HPyV10)
- ・Trichodysplasia spinulosa-associated polyomavirus (TSPyV)
- ・New Jersey polyomavirus (NJPyV)
- ・Lyon IARC polyomavirus (LIPyV)

そこで、本研究では皮膚指向性ヒトポリオーマウイルスに着眼し、木村病組織からこれらのウイルスが検出されるかどうかを調べた。すなわち、木村病と他の遷延する表在性リンパ節腫脹をきたす疾患を対象に、皮膚指向性ポリオーマウイルスの感染率およびウイルス量を調べ、検出されたウイルスの DNA 配列や遺伝子型を詳細に解析した。

### 3. 研究の方法

木村病を主に、他の遷延性リンパ節腫脹をきたす疾患（菊池病、アトピー性皮膚炎などの皮膚疾患に伴う皮膚病性リンパ節症、キャッスルマン病）のホルマリン固定パラフィン包埋組織を使用した。これまでに知られている上記の 8 種類の皮膚指向性ポリオーマウイルスについて、その感染率とウイルス量を定量的リアルタイム PCR 法で調べた。PCR 陽性例では、その PCR 産物を DNA シークエンス解析に供し、ウイルスゲノム配列を同定し、変異解析と系統解析（最尤系統樹解析）を行った。さらに免疫組織染色法でウイルス由来蛋白である small T (ST) 抗原の検出を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) 皮膚指向性ヒトポリオーマウイルス DNA の検出

木村病 7 例、菊池病 38 例、皮膚病性リンパ節症 28 例、キャッスルマン病 4 例について、8 種類の皮膚指向性ポリオーマウイルスの DNA が検出されるかを調べた。さらに、好酸球性血管リンパ球増殖症 (angiolymploid hyperplasia with eosinophilia; ALHE) についてもヒトポリオーマウイルスが検出されるかどうかを調べた。ALHE は頭頸部に好発する硬い結節で、内皮細胞からなる血管増生があり、血管の周囲に好酸球の浸潤を伴う。このように ALHE は木村病と組織学的類似性を示すが、木村病は異常血管の増生に乏しい点で鑑別される。

その結果を下表に示す。

	ウイルス DNA 陽性数 (%)								
	症例数	HPyV6	HPyV7	MCPyV	TSPyV	HPyV9	HPyV10	NJPyV	LIPyV
木村病	7	4 (57)	1 (20)	0	0	0	0	0	0
ALHE	5	4 (80)	0	0	0	0	0	0	0
菊池病	38	3 (8)	0	0	0	0	0	0	0
皮膚病性リンパ節炎	28	1 (4)	0	1 (4)	0	0	0	0	0
キャッスルマン病	4	0	0	0	0	0	0	0	0

木村病 7 例中 4 例 (57%) から HPyV6 が検出された。その検出率は、菊池病 (3/38 [8%])、皮膚病性リンパ節症 (1/28 [4%])、キャッスルマン病 (0/4 [0%]) と比べて有意に高

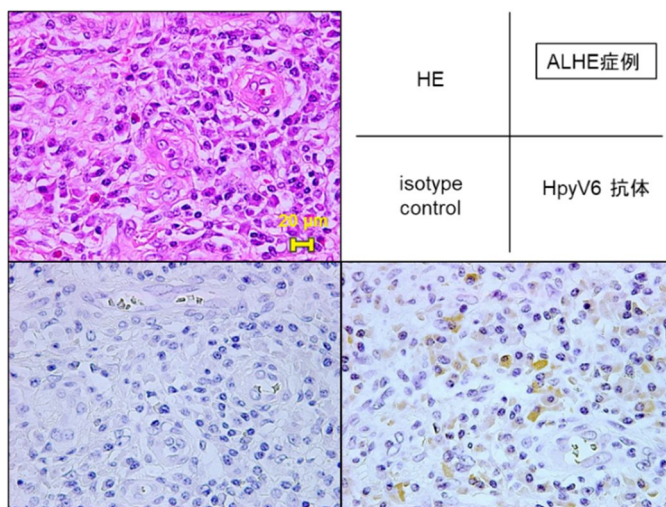
い結果であった。同様に ALHE でも有意に高い HPyV6 検出率 (4/5 [80%]) が得られた。一方で、他のヒトポリオーマウイルス (HPyV7、MCPyV、TSPyV、HPyV9、HPyV10、NJPyV、LIPyV) に関しては皮膚病性リンパ節症の 1 例から MCPyV が検出されたのみであった。

木村病から検出された HPyV6 量は、38.4 コピー/ $10^3$  cells (平均値) 21.0 コピー/ $10^3$  cells (中央値) で、ALHE から検出された HPyV6 量は、1.8 コピー/ $10^3$  cells (平均値) 1.4 コピー/ $10^3$  cells (中央値) であり、他の疾患から検出されたウイルス量より有意に多かった。

さらに木村病 (4 例) と ALHE (3 例) 患者の再発症例の全てから HPyV6 が再検出され、HPyV6 の持続感染が示唆された。HPyV6 DNA 陽性木村病のうち、1 例がネフローゼ症候群を、また 1 例がアトピー性皮膚炎を合併していた。

### (2) HPyV6 由来抗原の検出

HPyV6 のゲノムが検出された木村病および ALHE 症例において、病変組織でウイルス抗原の発現が認められるかを調べた。HPyV6 の ST 抗原に反応する抗体を用いて免疫染色を行った。その結果、木村病 3 例と ALHE 3 例において、散在するリンパ球の核および細胞質に陽性所見が認められた (下図)。一方、HPyV6 DNA 陰性の木村病では調べた全例でこの抗体との反応性はみられなかった。またアイソタイプを一致させた陰性コントロール抗体においても反応はなかった。以上のように、HPyV6 DNA の検出のみならず、ウイルス抗原の発現が認められたことは、HPyV6 が一部の木村病や ALHE の発症や病態修飾に関与することを示唆する。



### (3) HPyV6 ゲノムの系統解析と変異解析

木村病および ALHE から検出された日本人由来の HPyV6 の LT および ST 遺伝子の部分領域 (378 bp) について、GenBank に登録されている世界各地由来のヒトポリオーマウイルス 6 型配列と合わせて系統解析を行った。その結果、本研究で検出されたヒトポリオーマウイルス 6 型のゲノムは全て日本/アジアのクレードに属し、欧米からの検出例とは異なる遺伝子型を持つことが明らかとなった。

次にシーケンス解析を行った結果、木村病および ALHE から検出された日本人由来の HPyV6 株は日本/アジア型変異株に特異的なゲノム変異を有することが明らかとなった。すなわち、HPyV6 欧米株と比べて、今回検出された HPyV6 日本株は LT および ST 領域以下の変異が認められた。

ヌクレオチド配列部位 4009, G A; 4011, T C (Ser Ala); 4074, A C (Ser Ala); 4308, A G; 4327, T C; 4340, T A; 4435, A C (Asp Glu).

以上の結果から、次の結論を導いた。ウイルス抗原の発現を伴う高ウイルス量の HPyV6 が木村病と ALHE から高頻度に検出され、かつ持続感染していたことから、1948 年にわが国で初の症例報告以来ずっと不明であった木村病の病因との関連性が示唆された。さらに、日本人発症の木村病から検出された HPyV6 株は全て日本/アジア型変異株であり、このウイルス遺伝子型が、わが国に発生頻度が高いという木村病発症率の地理的相違に関与する可能性が示された。これらの研究結果を基に、木村病の病勢診断や新規治療法開発に向けた研究へと発展させることが期待できる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Yamada Ayako, Hasegawa Takanori, Fujieda Mikiya, Morita Hideaki, Matsumoto Kenji	4. 巻 71
2. 論文標題 Protease-digested egg-white products induce oral tolerance in mice but elicit little IgE production upon epicutaneous exposure	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Allergology International	6. 最初と最後の頁 528 ~ 535
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2022.03.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Nakajima Kimiko, Nakajima Hideki, Araki Mariko, Fujieda Mikiya, Sano Shigetoshi	4. 巻 5
2. 論文標題 Dyskeratosis, a characteristic histopathological feature, seen in a patient with systemic juvenile idiopathic arthritis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Cutaneous Immunology and Allergy	6. 最初と最後の頁 136 ~ 138
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cia2.12227	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yabuuchi Tomoo, Miura Kenichiro, Shimizu Satoru, Kaneko Naoto, Ishizuka Kiyonobu, Kanda Shoichiro, Chikamoto Hiroko, Akioka Yuko, Fujieda Mikiya, Hattori Motoshi	4. 巻 7
2. 論文標題 Cancer After Pediatric Kidney Transplantation: A Long-term Single-center Experience in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Transplantation Direct	6. 最初と最後の頁 e687 ~ e687
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/TXD.0000000000001137	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Hashida Yumiko, Higuchi Tomonori, Nakajima Kimiko, Ujihara Takako, Murakami Ichiro, Fujieda Mikiya, Sano Shigetoshi, Daibata Masanori	4. 巻 140
2. 論文標題 Human Polyomavirus 6 with the Asian-Japanese Genotype in Cases of Kimura Disease and Angiolymphoid Hyperplasia with Eosinophilia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Investigative Dermatology	6. 最初と最後の頁 1650 ~ 1653.e4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jid.2019.12.027	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shibata Takehiko, Makino Airi, Ogata Ruiko, Nakamura Shigeki, Ito Toshihiro, Nagata Kisaburo, Terauchi Yoshihiko, Oishi Taku, Fujieda Mikiya, Takahashi Yoshimasa, Ato Manabu	4. 巻 130
2. 論文標題 Respiratory syncytial virus infection exacerbates pneumococcal pneumonia via Gas6/Axl-mediated macrophage polarization	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Investigation	6. 最初と最後の頁 3021 ~ 3037
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/JCI125505	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hara Mariko, Morimoto Noriko, Suzuki Noriomi, Tsuchihashi Nana, Komori Manabu, Yoshihama Keisuke, Fujii Kae, Yamaguchi Sota, Tsunoda Mayumi, Tomisato Syuta, Takahashi Nozomi, Oyake Koichiro, Okuba Yuzuru, Fujieda Mikiya, Matsumoto Kenji	4. 巻 76
2. 論文標題 Transcriptome analysis reveals two distinct endotypes and putative immune pathways in tonsils from children with periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis syndrome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Allergy	6. 最初と最後の頁 359 ~ 363
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/all.14477	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 藤枝幹也
2. 発表標題 EBウイルス (EBV) とPTLD EBV動態と監視を中心に
3. 学会等名 第56回日本臨床腎移植学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 三浦健一郎、藪内智朗、藤枝幹也、服部元史
2. 発表標題 最近の腎移植後感染症-予防と治療- EBウイルス 移植後リンパ増殖性疾患
3. 学会等名 第53回日本臨床腎移植学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 前田美咲、長尾佳樹、藤枝幹也
2. 発表標題 human metapneumovirus感染症で入院した児の中耳炎合併率の評価
3. 学会等名 第15回日本小児耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	樋口 智紀  (Higuchi Tomonori)  (00448771)	高知大学・教育研究部医療学系基礎医学部門・講師   (16401)	
研究分担者	橋田 裕美子  (Hashida Yumiko)  (00767999)	高知大学・教育研究部医療学系基礎医学部門・助教   (16401)	
研究分担者	大畑 雅典  (Daibata Masanori)  (50263976)	高知大学・教育研究部医療学系基礎医学部門・教授   (16401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------