

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16063

研究課題名(和文)種痘様水疱症の重症化マーカーの検討

研究課題名(英文)The association between the severity of hydroa vacciniiforme and chemokines

研究代表者

三宅 智子(Miyake, Tomoko)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：30749627

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,400,000円

研究成果の概要(和文)：種痘様水疱症(Hydroa vacciniiforme;HV)は、日光露光部を中心に水疱、痂皮や瘢痕を認める小児に認める稀な疾患である。HVは、皮膚症状のみを認める古典型と、全身症状や肝機能障害等の血液検査異常と日光露光部以外に皮膚症状を認める全身型が存在する。しかし、ごくわずかではあるが、古典型から全身型へ移行することがあり、2つの病型を区別する診断マーカーが必要であると考えた。

本研究の結果、全身型HVの血漿中のmonokine induced by interferon- (MIG)は、古典型と比較して有意に上昇しており、血漿中のMIGは、HVの重症度マーカーになる可能性を考えた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

種痘様水疱症は、Epstein-Barr virusが関与する小児に認める稀な疾患である。本疾患は、皮膚のみに症状を認める古典型と全身症状(発熱、リンパ節腫脹や肝機能異常等の血液学的検査異常)を認める全身型の2型が存在する。全身型の場合は、化学療法や移植が必要となるが、ごく稀ではあるが古典型から全身型へ移行することもある。

本研究の結果、全身型HVの血漿中のmonokine induced by interferon- : MIG(体の免疫応答に関与する物質)の値は、古典型と比較して有意に上昇していた。以上の結果より、血漿中のMIGは、HVの重症度のマーカーとして臨床応用できる可能性を考えた。

研究成果の概要(英文)：Hydroa vacciniiforme (HV) is a rare photosensitivity disorder. Patients with classical HV (cHV) present with vesiculopapules on sun-exposed areas, while those with severe HV (sHV)/HV-like lymphoproliferative disorder show severe skin lesions on non-sun-exposed areas, fever, liver damage, or serious hemophagocytic syndrome. Patients with sHV have a poor prognosis, but a few patients with cHV progress to sHV during their clinical courses. We need a marker to distinguish sHV patients from patients with cHV.

We used real-time polymerase chain reaction or multiplex enzyme linked immunosorbent assay to analyze the cytokine and chemokine levels of the skin lesions and plasma of 9 cHV patients and 9 sHV patients. There were no significant differences in these cytokines of the skin lesions between sHV and cHV patients. MIG levels in the plasma of sHV patients were significantly higher than those in the plasma of cHV patients. Plasma MIG levels might be associated with severity in patients with HV.

研究分野：Epstein-Barr Virus

キーワード：Epstein-Barr Virus Hydroa vacciniiforme 重症化マーカー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

種痘様水疱症 (Hydora vaccini forme; HV) は、日光露光部の皮膚を中心に水疱、痂皮や癒痕のサイクルを繰り返す小児に認める疾患で、皮膚病変部に Epstein-Barr virus (EBV) を認める。本疾患は、皮膚症状のみの古典型 (cHV) と、発熱、リンパ節腫脹あるいは肝機能障害等の全身症状を認める全身型 (sHV) の2つの病型がある。古典型 HV の治療は、遮光のみで経過観察だが、全身型の場合は、化学療法や骨髄移植が必要となり、ごく稀ではあるが古典型から全身型へ移行する患者も存在し、明確な診断基準が必要である。本研究は、以下の背景を踏まえた上で研究を行った。

1) 慢性活動性 EBV 感染症の類縁疾患と考えられる HV や蚊刺過敏症患者 (Hypersensitivity mosquito bite: HMB) の予後不良因子は、発症年齢が、9歳以上であること、皮膚病変部に EBV 再活性化マーカーである BZLF1 mRNA が発現していることだった。2) HV 患者の末梢血単核球中や皮膚には、T 細胞が増加しているが、T 細胞が増加している HV 患者が存在する。3) 血漿中の EBV-DNA 量が高値の HV 患者は、血球貪食症候群を生じていた。4) 慢性活動性 EBV 感染症患者の血漿中は、EBV 感染細胞が T 細胞型より NK 細胞型で、IL13 が高値を認めた。

以上の背景より、HV の重症化に、EBV の再活性化、EBV の感染細胞型、EBV の DNA 量やサイトカインが関与している可能性を考えた。

2. 研究の目的

本研究は、予後良好な古典型 HV と予後不良と考えられる全身型 HV の重症化マーカーを検討し、これらの疾患の診断基準を明確にすることを目的としている (図 1)。

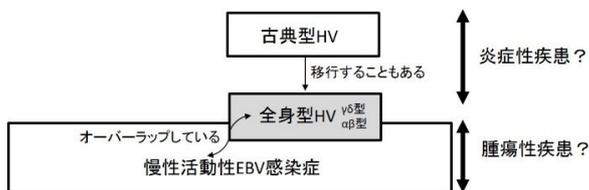


図 1; 古典型 HV と全身型 HV の疾患概念の仮説

3. 研究の方法

1. 型と型HV患者のEBV再活性化マーカーと予後の検討。

自施設は、HV 患者の血液から、フローサイトメーターにより、T 細胞の分画を と細胞に分けて解析している。本研究では、解析を行ってきた型と型の全身型 HV 患者の予後調査を行うため、後ろ向き追跡調査を行う。集積したデータから、EBV 感染細胞と EBV 再活性化マーカー (BZLF1 mRNA) の発現の関連や EBV 感染細胞と予後の統計学的検討を行う。

2. HV 患者血液中の EBV DNA 量と皮膚症状、血液学的検査所見の検討

自施設では経時的に HV 患者の血液検査を行っており、経過中の皮膚症状あるいは血液学的検査所見と EBV-DNA 量に関して、相関を認めないかにて統計学的に検討を行う。

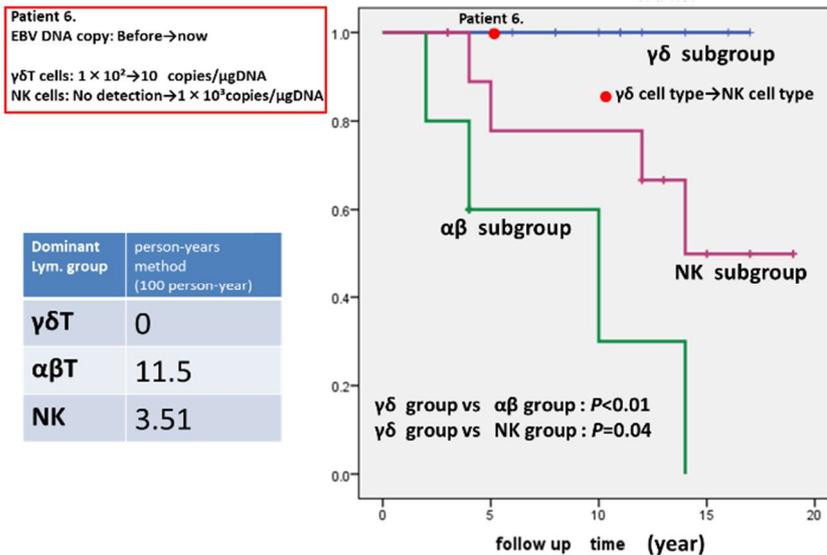
3. HV 患者の皮膚病変部と血清/血漿中のサイトカインの検討

患者血漿/血清 (診断時あるいは初診時) あるいは皮膚病変部からの cDNA から、multiplex ELISA (MILLIPLEX MAP Human Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel - Immunology Multiplex Assay) あるいは real-time PCR 法の相対定量にてサイトカインの測定を行い、古典型と全身型のサイトカインの値を統計学的に検討する。

4 . 研究成果

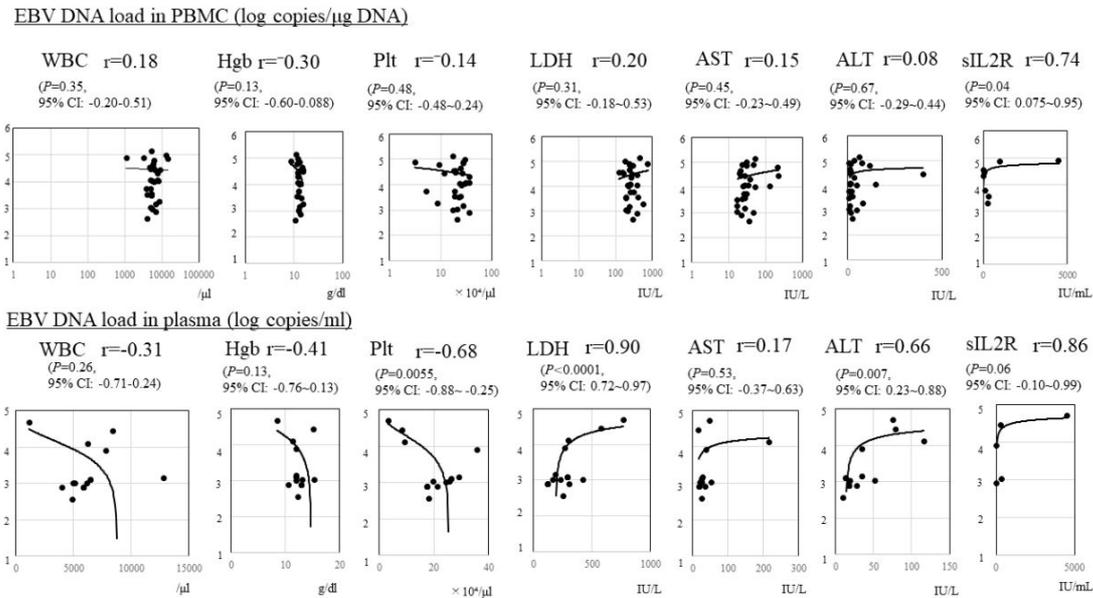
結果 : EBVの感染細胞型と予後との関連の検討の結果、 T細胞にEBVが感染している方が、 細胞にEBVが感染しているより予後良好であった(図2)。また EBV が感染している細胞型として、B 細胞型 (MTX リンパ腫)、NK 細胞型(蚊刺過敏症)、 細胞型(cHV とsHV)と 細胞型(sHV)と、EBV の再活性化マーカーの発現との関連を統計学的に検討した結果、EBV が感染する細胞の種類とEBV の再活性化の関連は、明らかな有意差を認めなかった。一方EBV が T 細胞に感染した場合は、全例でEBV の再活性化を認めなかった。

図2 : EBVの感染細胞型と予後の検討



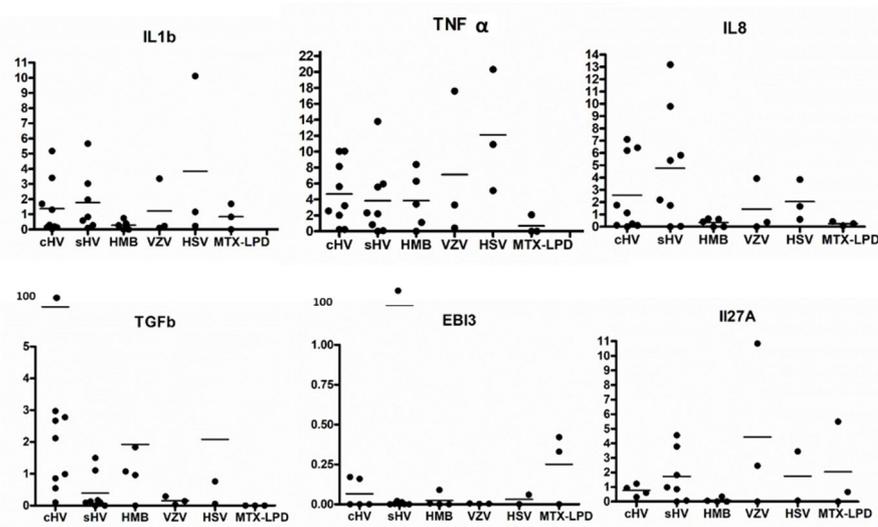
結果 : 経過中の血液検査の値と EBV DNA 量の関連を検討した結果、血球中の EBV DNA 量は、白血球、ヘモグロビン、血小板、LDH、AST、ALT や sIL2R の値と明らかな相関を認めなかった。また血漿中の EBV DNA 量も同様に検討をおこなった結果、ALT と LDH は、血漿中の EBV DNA 量と正の相関を認め、Plt では、負の相関を認めた(図3)。また血漿中の EBV DNA 量は、cell free の EBV DNA 断片を測定していると考えられており、本検討で、血漿中で EBV DNA 量が高値を示した患者は、血球貪食症候群を認めていた。一方、予後や経過中の皮膚症状と血球・血漿中の EBV DNA 量は、それぞれ明らかな関連を認めなかった。(Tomoko Miyake *et al.* The aim of the measurement of Epstein-Barr virus DNA in hydroa vacciniforme and hypersensitivity to mosquito bites. now printing. Journal of Medical Virology. <https://doi.org/10.1002/jmv.25811>).

図3：血液検査とEBVDNA量との関連



結果 -1：cHV とsHV とともに皮膚病変部でのサイトカインの解析の結果は、IL1 , TNF , IL8が湿疹病変部と比較して、上昇している傾向があったが、これらのサイトカインはcHV とsHV では明らかな有意差を認めていなかった。また追加検討として、類縁疾患であるHMBや他のヘルペス感染症である水痘帯状疱疹ウイルス感染症 (Varicell zoster virus: VZV感染症)、単純ヘルペス感染症 (Herpes simplex: HSV感染症)やEBVが関与していたMTX関連リンパ増殖性疾患 (Lymphoproliferative disorder: LPD)の病変部も同様に検討を行ったが、症例数の関係で比較検討は困難であったが、明らかな傾向は認めなかった(図4)。

図4：皮膚病変部でのサイトカインの検討



IL4とIL12Bは検出感度以下 IFN γ とIL6、IL12A、iL18は対照が0となり比較検討ができなかった。

結果 -2：HV患者の血漿中のmultiplex ELISAによるサイトカイン(IFN , IL4, IL6, IL10, IL2, IL8, IP10, MCP2, MIG, MIP1, TNF)の検討の結果は、sHV患者の血漿中では、MIGの上昇を認め、cHV患者の血漿中の値と有意差を認めた(図5)。またcHVとsHVを分ける基準値となるMIGの値をROC曲線にて検討した。その結果、MIG;152pg/mlで感度・特異度ともに89%であった(図6)。

図5: HV患者の血漿中のmultiplex ELISAによるサイトカインの検討

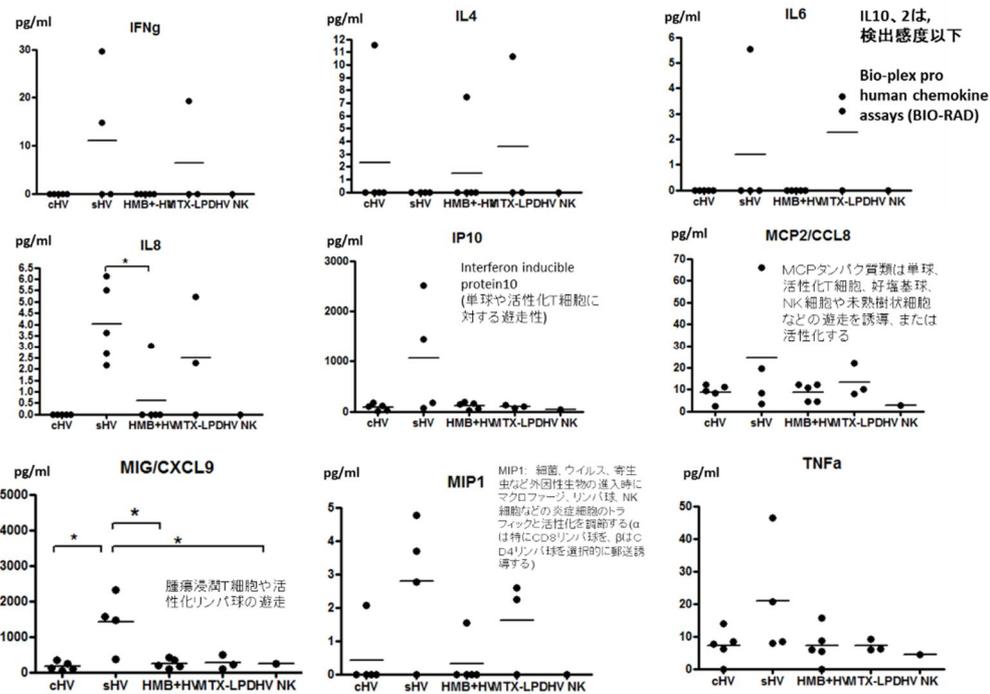
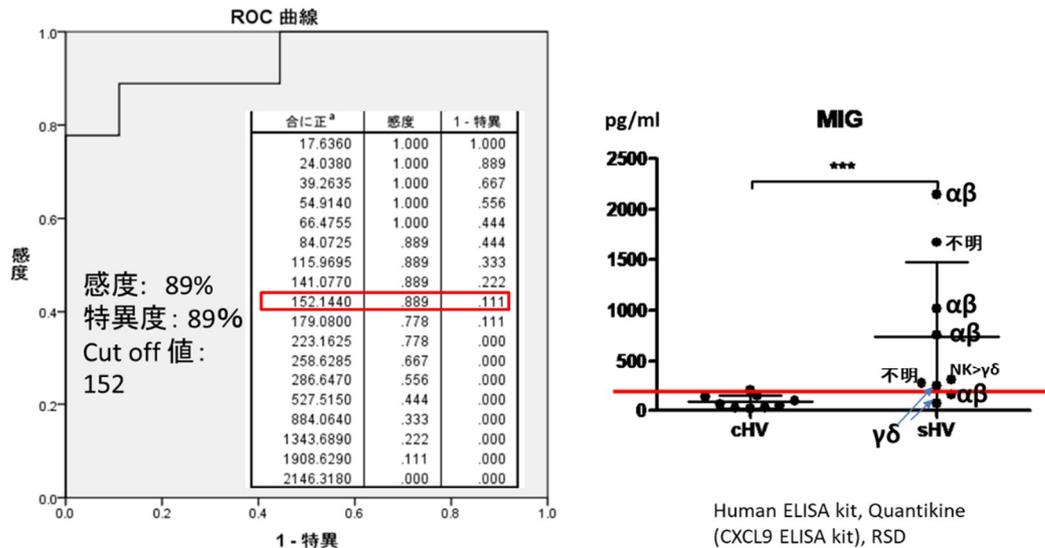


図6: cHVとsHVの血漿中のMIGの値のROC曲線による検討



MIG (pg/ml)	cHV	sHV	Healty volunteer	SNT8 (EBV+γδTcell 株)	AITK-4 (EBV+αβTcell株)
Mean	60.7	737.3	56.7	19.4	10.0
Median	85.1	302.3			

以上の検討より、1) EBVが T細胞に感染している状態は重症化しない可能性、2) 血漿中のEBVのDNA量は、予後や疾患自体の特異性は認めないが、宿主自体のEBVに対する免疫応答に関連していること、3) 血漿中のMIGの上昇はHVの重症度のマーカーになる可能性を考えた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tomoko Miyake, Keiji Iwatsuki, Yoji Hirai, Takenobu Yamamoto, Toshihisa Hamada, Kazuyasu Fujii, Hideaki Imamura, Shin Morizane	4. 巻 予定
2. 論文標題 The aim of the measurement of Epstein Barr virus DNA in hydroa vacciniiforme and hypersensitivity to mosquito bites	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Medical Virology	6. 最初と最後の頁 予定
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/jmv.25811	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 Keiji IWATSUKI Tomoko MIYAKE Yoji HIRAI Takenobu YAMAMOTO	4. 巻 29
2. 論文標題 Hydroa vacciniiforme and hydroa vacciniiforme-like lymphoproliferative disorder: Disease spectrum, responsible T-cell subsets and prognosis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Eur J Dermatol	6. 最初と最後の頁 21-28
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ejca.2018.07.312	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 三宅智子
2. 発表標題 種痘様水疱症と蚊刺過敏症における血球・血漿EBVDNA定量の臨床的意義の検討
3. 学会等名 EBウイルス感染症研究会
4. 発表年 2019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