

マルホ皮膚科セミナー

2021年1月4日放送

「第119回日本皮膚科学会総会 ⑰ 教育講演26-4

EBウイルス関連皮膚疾患：病態からみた診断の進め方」

川崎医科大学 皮膚科
准教授 山本 剛伸

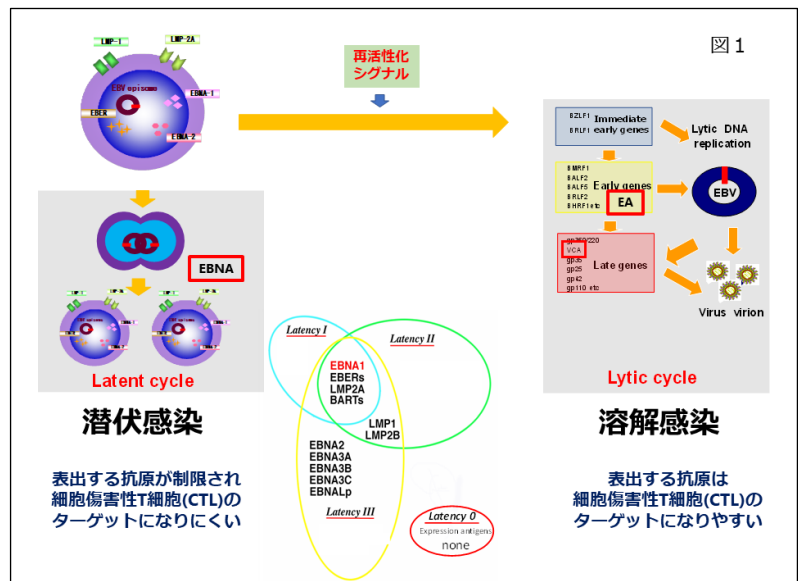
はじめに

EBウイルス(EBV)は様々な疾患に関与しており、病態も複雑です。このため、稀なEBV関連皮膚疾患の診断のために、疾患や検査法の特徴を理解することが重要です。今回は、多種多様なEBV関連皮膚疾患の病態に応じた検査の進め方を述べさせていただきます。

EBVについて

EBVは二本鎖DNAウイルスであり、大半は感染細胞の核内にエピゾームとして環状に存在します。標的細胞は主としてB細胞ですが、その他一部の上皮細胞、NK・T細胞にも感染します。日本人成人の9割以上に潜伏感染している普遍的なウイルスであり、乳幼児期に不顕性感染をきたす例が多く、一部の例で様々なEBV関連疾患を引き起こします。

EBVは、他のヘルペスウイルス科と同様に2つの感染サイクル(潜伏感染と溶解感染)があります(図1)。通常の感染



状態である潜伏感染は、宿主細胞の分裂と同調してウイルス DNA の複製が行われるもので、ウイルス粒子は作成されません。潜伏感染状態にある EBV 感染 B 細胞は不死化します。また抗ウイルス薬を用いても潜伏感染細胞を駆逐することはできないため、生涯にわたり共存していくこととなります。潜伏感染時に発現する EBNA、LMP1 など抗原の表出は非常に限られており、細胞障害性 T 細胞(CTL)のターゲットとなりにくい環境を自ら作り出しており、EBV と免疫担当細胞との間にバランスが保たれています。抗原の発現パターンにより、Latency 0-III に分類されます。健常キャリアでは、EBV は末梢血中の B 細胞に 1/10⁶ 細胞の割合で潜伏感染しており、ごく一部の細胞が再活性化シグナルを経て、溶解感染に移行します。溶解感染は、ウイルス粒子を大量に産生するサイクルです。溶解感染時には多数の抗原を表出し、CTL のターゲットとなりやすい特徴があります。

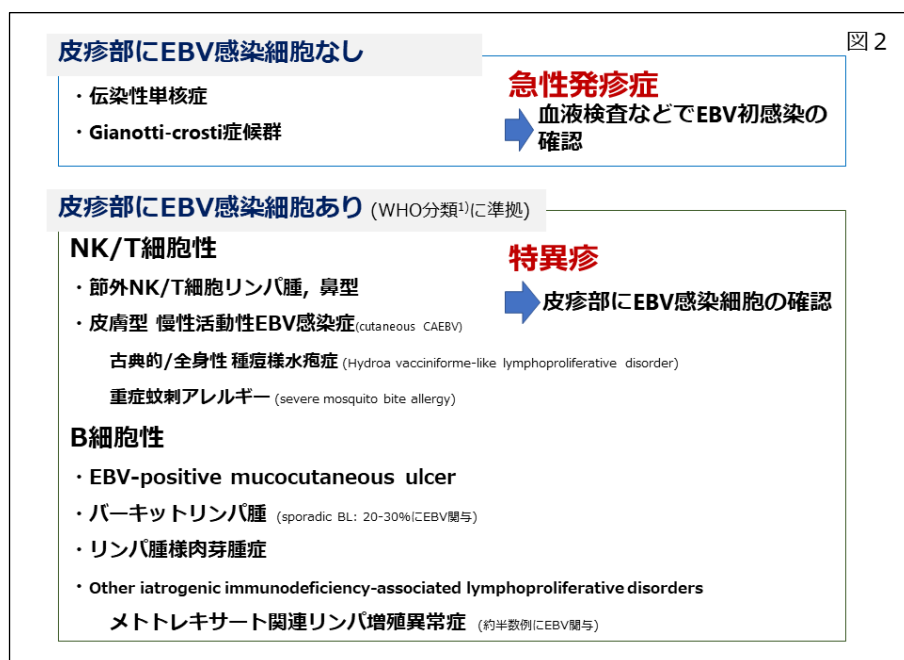
EBV 関連皮膚疾患について

EBV が関与する皮膚疾患として、大きく 2 種類に区別されます(図 2)。つまり、急性発疹症として皮疹を呈する伝染性単核症・Gianotti-crosti 症候群などは、皮疹部に EBV 感染細胞を認めません。EBV 感染細胞に対する CTL を中心とした宿主の免疫反応によって皮疹を呈するものです。大半例が自然治癒する予後良好な疾患群です。

もう一方は、特異疹として EBV 感染細胞が皮膚病変部に認められる節外性 NK/T 細胞リンパ腫、鼻型、皮膚型慢性活動性 EBV 感染症(古典的/全身性 種痘様水疱症、重症蚊刺アレルギー)、メトトレキサート関連リンパ増殖異常症(約半数例に EBV 関与)など稀な疾患が該当します¹⁾。反応性に認められるものや、一部腫瘍化したもの、悪性リンパ腫まで含まれており、自然軽快する例から生命予後が不良な例まで存在します。

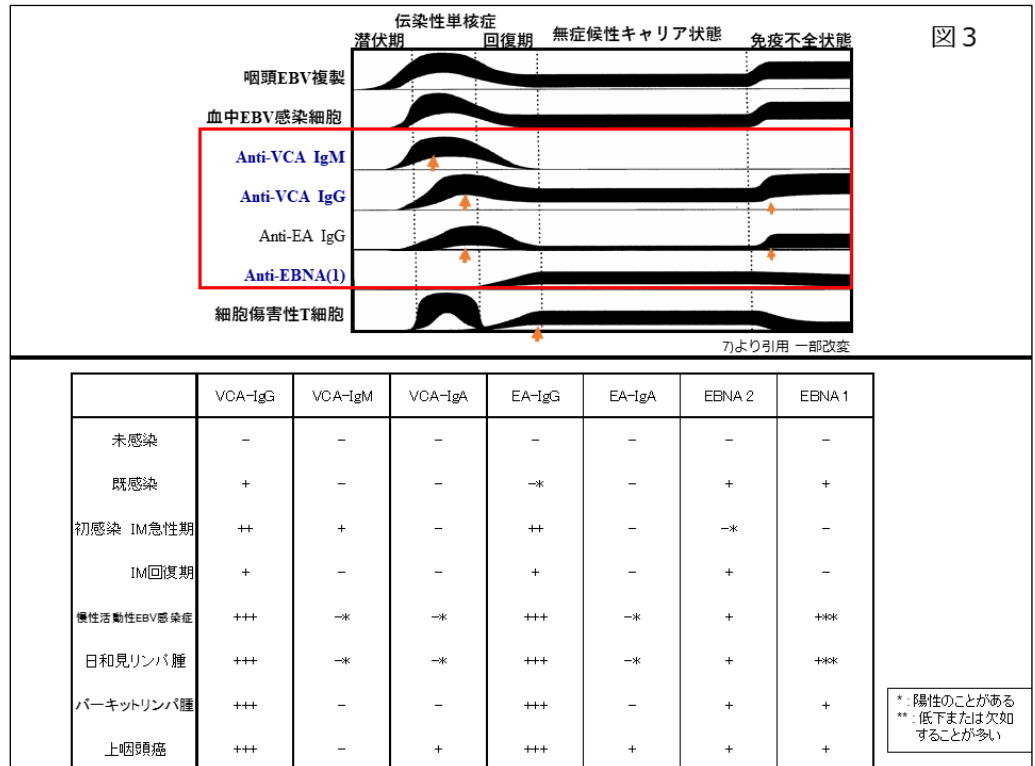
EBV 関連皮膚疾患の診断について

EBV 関連皮膚疾患を疑った場合、種々の検査を行い総合的に診断します。そのためには、疾患について熟知しておくとともに、各種検査の特徴も理解しておく必要があります。



1. 血清 EBV 抗体価

血清 EBV 抗体は、3 種類(EA・VCA・EBNA)の抗体測定が臨床応用されています。EA、VCA はそれぞれ溶解感染の Early genes、Late genes に発現する蛋白、EBNA は潜伏感染に発現する主に EBNA 1 に対する抗体を測定するものです(図 3)。測定法は蛍光抗体法(FA 法)と酵素免疫法(EIA 法)がありますが、EBV の場合は、蛍光抗体法が



一般的に用いられます。抗 VCA 抗体、抗 EA 抗体は、IgG・IgM・IgA のサブクラスまで測定できます。VCA IgG 抗体が感染歴を反映し、VCA IgM 抗体が初感染急性期を表します。EA IgG 抗体は疾患の活動性を反映し、EBNA 抗体は慢性感染症・健常キャリアなど感染後長期間経過したことを示します。

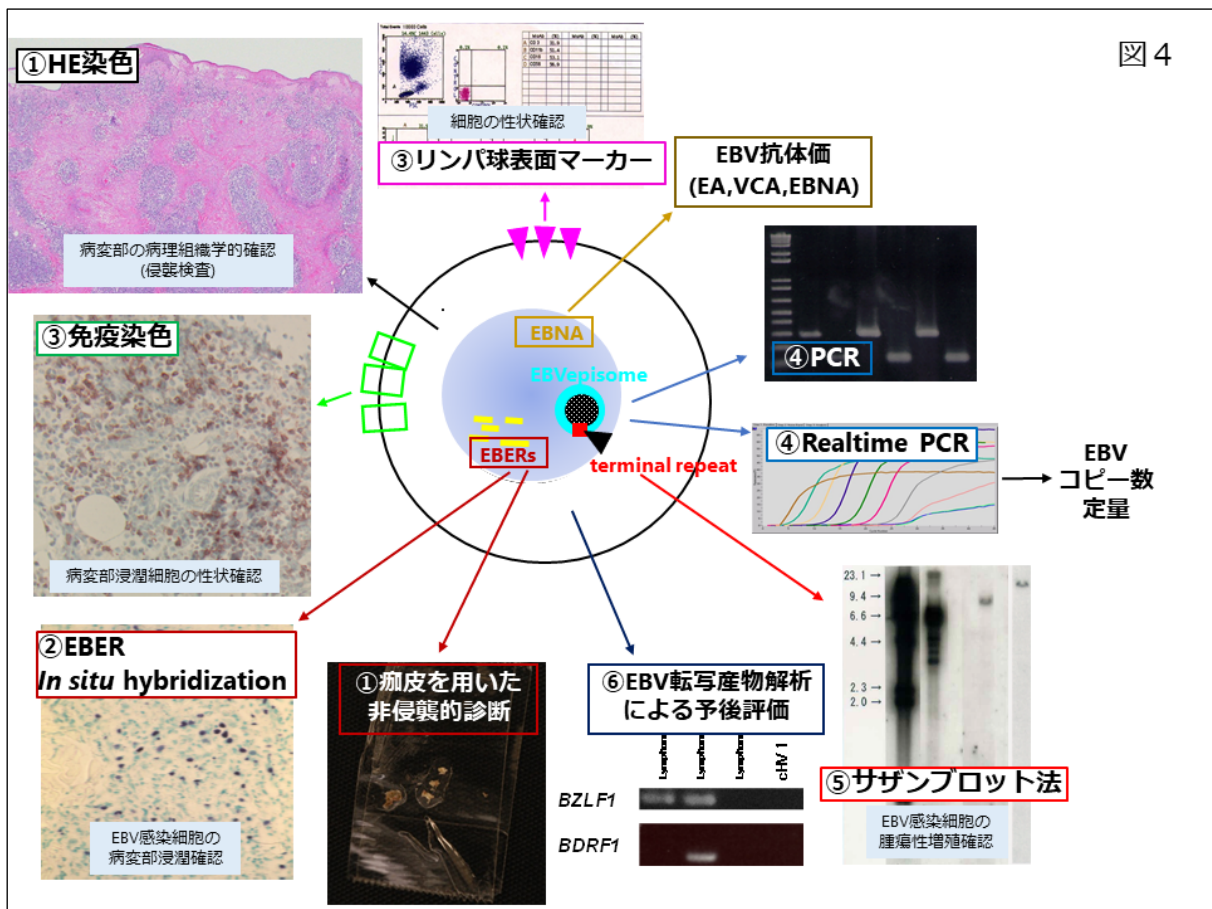
EBV 関連疾患であっても正常既感染の抗体パターンをとることが多く、血清抗体価測定だけで診断に結びつくのは、初感染時に発症する伝染性単核症、Gianotti-crosti 症候群などに限られます。

2. EBER *in situ* hybridization 法

皮疹部に EBV 感染細胞が存在することを証明するために行われる、侵襲的検査法です。

Epstein-Barr virus-encoded small RNAs (EBERs)は蛋白に翻訳されない RNA で、EBV 潜伏感染細胞内で普遍的に発現しており、大部分が核に局在しています。

この EBER1 領域をプローブとした *in situ* hybridization 法は、EBV 感染細胞を病理組織学的に証明する優れた検査法であり、頻用されています(図 4)。生検などで採取した病理組織切片を用いて染色し、EBV 感染細胞に一致して陽性所見が得られます。



3. 免疫染色/リンパ球表面マーカー解析

免疫染色は、特異抗体を用いて浸潤細胞の特徴を病理組織学的に検出する方法です。ウイルス特異蛋白の検出の他、リンパ球の性状(B/T/NK細胞)も特異抗体を用いて同定することができます(図4)。

リンパ球表面マーカー解析は免疫染色と同様に細胞の性状を確認する目的で行われます。末梢血やリンパ節などから細胞を収集し、一次抗体を反応させた後、個々の細胞をフローサイトメーターにより、増加しているリンパ球サブセットを解析します。

4. PCR法/RT-PCR法

様々な検体(生検組織・痂皮・壊死組織・血液など)からDNAまたはRNAを抽出し、EBV由来の遺伝子を増幅することにより、検体中にEBVの存在を証明する方法です。末梢血中には健常キャリアでも一定の割合でEBV感染細胞が存在しているため、PCR法によるEBVの確認を行う際には判定に注意が必要です。

EBV転写産物をRT-PCR法で検出することにより、潜伏感染パターン、溶解感染の存在を確認することができます(図1)。特異疹として発症するEBV関連皮膚疾患の多くはLatency IIであり、一部の症例で皮疹部においてEBVの再活性化(溶解感染)が誘導されます²⁾。

5. 痂皮/壊死組織を用いた非侵襲的診断

病変部痂皮/壊死組織をサンプルとし、EBER をターゲットとした RT-PCR 法は、痛みや侵襲を伴うことなく EBV 潜伏感染の証明を行うことができる検査法です。感度・特異度とも高く、EBV 関連皮膚疾患を疑った場合に、最初に行うべき検査法として勧められます³⁾(図 4)。この方法により、EBV 転写産物解析による予後評価に応用でき、EBV 再活性化マーカーである *BZLF1* や *BDRF1* が皮膚病変部で検出される例は予後不良であることがわかっています⁴⁾。

6. EBV コピー数定量(realtime PCR 法)

血液サンプルより DNA を抽出し、PCR 法で EBV コピー数を定量する方法です。EBV 初感染で発症する伝染性単核症や Gianotti-crosti 症候群では VCA IgM 抗体が陽性になる前より EBV コピー数が増加しているため、急性発疹症発症早期の診断に有用です。また、慢性活動性 EBV 感染症診断基準の補足条項に $10^{2.5}$ コピー/ μ gDNA 以上を目安とすることが明記されています⁵⁾。末梢血単核球中の EBV コピー数は予後を反映するわけではありませんが、血漿中の EBV コピー数の著増は血球貪食性リンパ組織球症を併発しやすいとされています⁶⁾。

7. サザンブロット法(EBV-terminal repeat)

EBV DNA の両末端には直列繰り返し配列(terminal repeat(TR))が存在します。EBV 感染細胞が腫瘍性に増殖している場合には、TR の繰り返し回数が同じウイルス DNA が複製され、単一サイズの TR を含んだ DNA 断片が Southern blot 法でシグナルとして検出されます。組織、末梢血などをサンプルとし、EBV 感染細胞の腫瘍性増殖の確認目的で用いられます。

おわりに

EBV 関連皮膚疾患は、自然に治癒する予後良好な疾患から、強力な治療を必要とする予後不良な疾患まで様々存在します。小児例も多く、診断にあたっては、極力侵襲の少ない検査から進めていくべきと考えます。

文献

- 1) Quintanilla-Martinez L, KO YH, Kimura H, et al: EBV-positive T-cell and NK-cell lymphoproliferative diseases of childhood. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues (Swerdlow SH, et al, eds), 4th ed, IARC, Lyon, pp 355-363, 2017.
- 2) Yamamoto T, Hirai Y, Miyake T, et al: Epstein-Barr virus reactivation is induced, but abortive, in cutaneous lesions of systemic hydroa vacciniforme and hypersensitivity to mosquito bites. *J Dermatol Sci*, **82**: 153-159, 2016.
- 3) Yamamoto T, Tsuji K, Suzuki D, et al: A novel, noninvasive diagnostic probe for hydroa vacciniforme and related disorders: detection of latency-associated Epstein-Barr virus transcripts in the crusts. *J Microbiol Methods*, **68**: 403-407, 2007.
- 4) Miyake T, Yamamoto T, Hirai Y, et al: Survival rates and prognostic factors of Epstein-Barr virus-associated hydroa vacciniforme and hypersensitivity to mosquito bites. *Br J Dermatol*, **172**: 56-63, 2015.
- 5) 日本小児感染症学会(監): 慢性活動性 EB ウイルス感染症とその類縁疾患の診療ガイドライン 2016, 診断と治療社, pp 8-23, 2016.
- 6) Miyake T, Iwatsuki K, Hirai Y, et al: The aim of the measurement of Epstein-Barr virus DNA in hydroa vacciniforme and hypersensitivity to mosquito bites. *J Med Virol*, in press.
- 7) Hislop AD, Taylor G, Sause D, et al: Cellular responses to viral infection in humans: lessons from Epstein-Barr virus. *Annu Rev Immunol*, **25**: 587-617, 2007.

図の説明

図 1 EBV の感染様式と潜伏感染パターン

EBV は CTL のターゲットになりにくい潜伏感染(Latency 0-III)とターゲットになりやすい溶解感染が存在する。

図 2 代表的な EBV 関連皮膚疾患

EBV 関連皮膚疾患は、皮疹部に EBV 感染細胞を認めない急性発疹症と皮疹部に EBV 感染細胞が存在するタイプ(特異疹)に分類される。

図 3 血清 EBV 抗体価の発現パターン

図 4 EBV 関連皮膚疾患(特異疹)の診断に用いる検査