

# EB ウイルス関連 NK/T リンパ球増殖症と皮膚症状

奈良県立医科大学皮膚科学講座

浅田 秀夫

## EB VIRUS-ASSOCIATED NK/T CELL LYMPHOCYTOSIS AND CUTANEOUS MANIFESTATION

HIDEO ASADA

Department of Dermatology, Nara Medical University School of Medicine

Received February 18, 2009

**Abstract:** EB ウイルス(EBV)は、ヘルペスウイルス科の腫瘍ウイルスである。EBV が感染した NK または T 細胞性のリンパ球増殖症では、しばしば「種痘様水疱症」や「蚊アレルギー」という特異な皮膚疾患を合併することが知られてきている。これらの疾患の病態形成に EBV の潜伏感染や再活性化がいかにかかわっているのかについて紹介する。

**Key words:** Epstein-Barr virus, hydroa vacciniforme, hypersensitivity to mosquito bites, NK/T cell lymphocytosis

### 1. はじめに

EB ウイルス(EBV: Epstein-Barr virus)は、パーキットリンパ腫培養細胞から発見されたヘルペスウイルス科の腫瘍ウイルスで、主に B 細胞に感染し、リンパ腫を発症させる。発見後、伝染性単核症や上咽頭癌の原因ウイルスであることが判明し、その後の検討で、様々な腫瘍との関連性が指摘されてきている。造血器系腫瘍では、B 細胞のみならず、NK 細胞や T 細胞の増殖性疾患にも見いだされるようになり、興味深いことに、これらの疾患において、しばしば小水疱・壊死を伴う丘疹の多発(種痘様水疱症)や、蚊刺に対する局所、全身の過剰な免疫反応(蚊アレルギー)が合併することが明らかとなり注目されてきている。

本稿では、まず EBV について概説し、次に種痘様水疱症および蚊アレルギーと EBV とのかかわりについて、自験例の検討から得られた知見を交えて解説を試みる。

### 2. EBV 感染の概要

EBV は 1964 年に Epstein ら<sup>1)</sup>によってパーキットリンパ腫培養細胞から発見されたヘルペスウイルス科に属するウイルスで、B 細胞に感染し不死化させる腫瘍ウイル

スであることが知られている。このウイルスは世界中に広く分布しており、日本人の成人ではほぼ 100% に感染がみられる。EBV に既感染の健常者は口腔から感染性ウイルス粒子を排出しているため、通常、ヒトは幼少児期に周囲の人々から唾液を介して初感染を受ける。

幼少児期の感染では不顕性感染の場合が多いが、思春期や若年成人に初感染が起きると、ウイルスが感染した B 細胞に対して EBV 特異的細胞障害性 T 細胞を中心とした激しい免疫応答が起こり、伝染性単核症を発症する。侵入 EBV に対する宿主の免疫反応は、不顕性感染、伝染性単核症のいずれの場合も基本的には同じで、細胞障害性 T 細胞を中心とした免疫機構が無限増殖能を秘めた EBV 感染 B 細胞を常に監視することとなり、生体と EBV は平衡・調和の状態を終生維持してゆく。しかし、AIDS 患者や臓器移植後の免疫不全状態では、この細胞障害性 T 細胞がうまく機能せず、しばしば B 細胞増多症(日和見リンパ腫)を発症する。

近年、B 細胞系の腫瘍のみならず、様々な腫瘍と EBV との関連性が指摘されてきている。造血器系では上記のパーキットリンパ腫、日和見リンパ腫の他、最近では、NK 細胞、T 細胞などの B 細胞以外のリンパ球増殖症との関係が注目されてきており、また固形癌では古くより



図1. 種痘様水疱症  
8才, 男児. 顔面に中心臍窩を伴う小水疱, 痂痕が散在. 皮疹部の浸潤細胞中にEBウイルスを検出した.

知られている上咽頭癌のほか, 胃癌, 唾液腺癌, 平滑筋肉腫の一部からもこのウイルスが検出されるとの報告が蓄積してきている.

### 3. 種痘様水疱症

種痘様水疱症は, 従来, 光線過敏症のひとつとして分類されてきた疾患であり, 紫外線, 特にUVA(長波長紫外線)の反復照射で病変を誘発できることが多い. 1862年 Bazin<sup>2)</sup>が, 幼少期に発症し, 日光暴露により顔面や手背に, 種痘に類似した水疱性丘疹や痂皮を付着した丘疹が多発し, 痂痕を残す疾患として提唱した(図1). その後, 本症とポルフィリン症, アミノ酸代謝異常症との異同に関し一時混乱が見られたが, 現在では, 独立疾患として一般に認められている. 本症は通常, 成人になるにつれ自然治癒する.

#### 1) 重症型種痘様水疱症様皮疹とEBV

1980年代から, 種痘様水疱症に類似しているが, 典型例よりも皮疹が大きく, 数が多く, 深い浸潤を伴い, 日光暴露部以外にも同様の皮疹が見られ, 時に発熱や肝機能異常を伴う重症型の種痘様水疱症様皮疹の症例が, 日本, 韓国, 台湾, メキシコなどで報告される様になった. 種痘様水疱症は通常, 加齢により軽快する予後良好な疾患とされているが, これらの重症型では, しばしば悪性リンパ腫や血球貪食症候群に移行することが指摘されてい

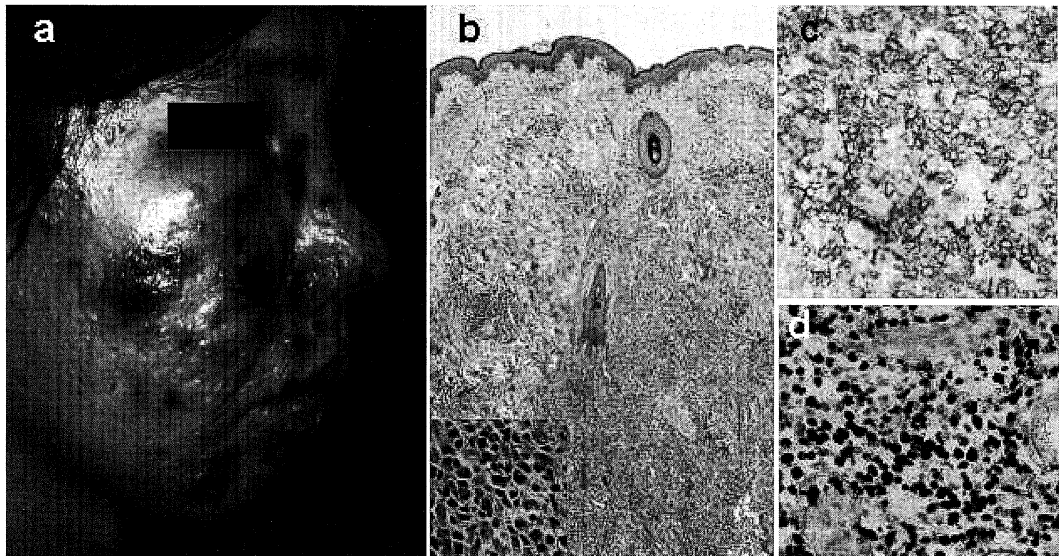


図2. 重症型種痘様水疱症様皮疹  
a, 顔面に壊死を伴う紅色丘疹が繰り返し出現. b, 丘疹のHE染色像とその強拡大像. c, 浸潤細胞のCD8抗原の免疫染色. d, EBERプローブを用いたin situ hybridizationにより, 浸潤細胞中にEBウイルスを検出.  
(文献5より引用・改変)

る<sup>3, 4)</sup>。注目すべきことに、この皮疹部にEBVが感染したTまたはNK細胞が浸潤していることが知られるようになり<sup>5, 6, 7)</sup>、この重症型の種痘様水疱症様皮疹とEBV感染NK/T細胞増殖症との関連性が、近年明らかとなってきた。

## 2) 種痘様水疱症とEBV

重症型種痘様水疱症様皮疹の発症にEBVの関与が明らかになったことから、岩月らは<sup>8)</sup>、種痘様水疱症の典型例についても、EBVとの関連性を検討した。その結果、ほとんどすべての症例の病変部、あるいは光線誘発皮疹に、EBV感染NK/T細胞が浸潤していることが判明し、本症の病因としてEBV感染NK/T細胞増殖症が一躍脚光を浴びるようになった。しかし、重症化して悪性リンパ腫に移行する症例と自然治癒してゆく症例との間で何が異なるのか、本症がいかなるメカニズムで光線過敏をおこすのかなど、未だ解明されていない点も多い。

## 3) 重症型種痘様水疱症様皮疹を呈した自験例の検討

以下に、われわれが経験した重症型の種痘様水疱症様皮疹を呈したEBV感染T増殖症を紹介し<sup>9)</sup>、この患者か

ら樹立したEBV感染T細胞株の解析により得られた知見についても述べる<sup>6)</sup>。

### 【症例】

36歳男性。顔面および口腔粘膜の壊疽性丘疹が、5年以上にわたって繰り返しまられ、組織検査にて病巣部の真皮にCD8<sup>+</sup>T細胞の密な浸潤を認めた(図2)。また、EBVに対する抗体価もVCA-IgG x5120, EA-IgG x640と高値を示していた。末梢血液像のギムザ染色ならびにリンパ球表面マーカーの解析とT細胞受容体の再構成の解析にてCD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>の細胞質にアズール顆粒を有する大型リンパ球(large granular lymphocytes; LGL)が単クローン性に増殖していることが判明した。EBER-1をプローブとして用いたin situハイブリダイゼーション法により皮疹部にEBV陽性細胞の密な浸潤をみとめ、さらにEBV BamHI-W fragmentをプローブとして用いたサザンブロッティング法の結果、CD8<sup>+</sup>白血球細胞中にEBVゲノムが証明された。

### 【EBV陽性T細胞株の解析】

上記の患者の末梢血液中の白血球細胞を40 U/ml

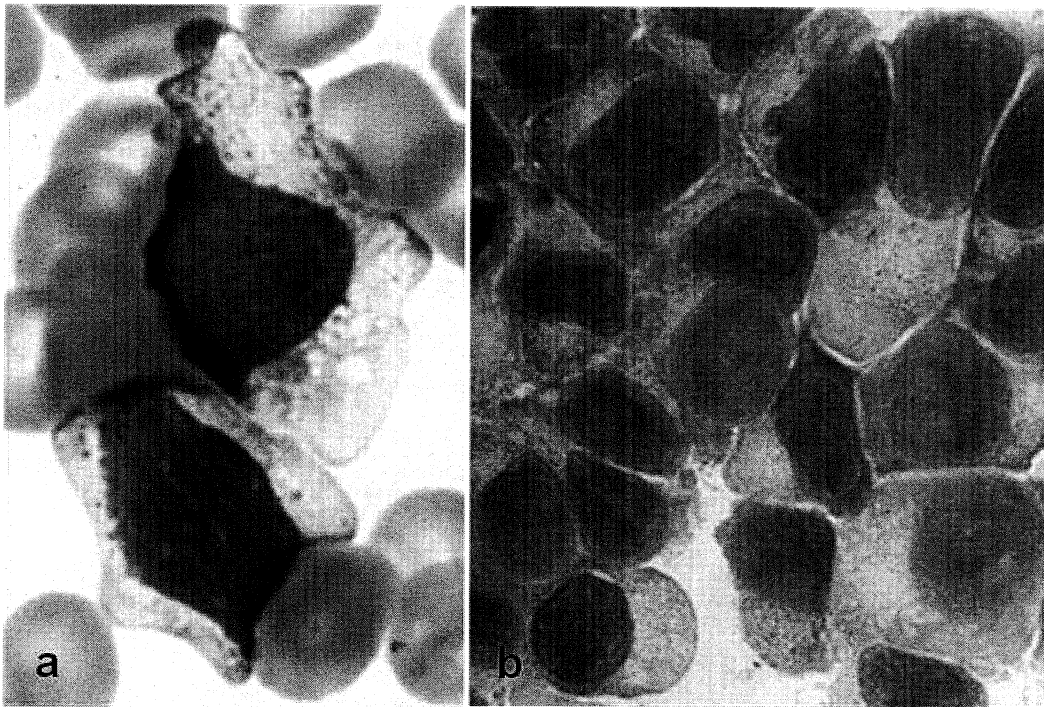


図3. EBウイルス陽性T細胞

a, 患者末梢血のギムザ染色。アズール顆粒を有する大型リンパ球をみとめる。b, 患者末梢血から樹立したEBウイルスゲノム陽性T細胞株。  
(文献6より引用・改変)

IL-2 存在下で 100 代以上継代を繰り返すことにより、EBV ゲノム陽性 T 細胞株を樹立した<sup>6)</sup> (図 3)。解析の結果、単一クローンのウイルス DNA が環状構造をとって、細胞あたり約 5 個存在していること、EBNA2 陰性、EBERs, EBNA1, LMP1 陽性の Latency II 型を示し、非 B 細胞系 EBV 関連腫瘍の上咽頭癌や Hodgkin 病と同一のパターンであること、TPA 刺激によりウイルスが再活性化し、早期抗原およびキャプシド抗原の発現がみられることが判明した。

#### 4. 蚊アレルギー

蚊アレルギーとは、蚊やブヨに刺された部位に、水疱形成や壊死を伴う強い発赤腫脹を生じ(図 4)、さらに発熱、リンパ節腫脹、肝機能障害などの全身症状を呈する疾患で、小児～若年で発症することが多い。以前より、長期の観察で多くの症例が、リンパ網内系腫瘍を発症して死に至ることが知られていた<sup>9)</sup>。近年、蚊アレルギーの基礎に NK(まれに T)細胞増殖症があることが報告され<sup>10)</sup>、この NK/T 細胞に EBV が感染していることも明らかとなってきた<sup>11)</sup>。蚊アレルギーの発症機序について

は、現在なお不明な点も多いが、単に「蚊に対するアレルギー反応」というだけではなく、その発症に NK/T 細胞中に潜伏している「EBV の再活性化」が深く関わっていることが明らかとなってきている。以下にその根拠となるわれわれの知見を紹介し、さらに本症における発症のメカニズム、診断のポイント、治療法についても言及する。

##### 1) 蚊アレルギーの発症メカニズム

##### 【患者 CD4<sup>+</sup> T 細胞の蚊唾液腺抗原に対する過敏性】

EBV 感染 NK 細胞増殖症を基礎にもつ蚊アレルギー患者について、蚊唾液腺抽出抗原を用いた免疫学的検討を試み、以下の結果を得た<sup>12)</sup>。①末梢血リンパ球を CD4<sup>+</sup> T, CD8<sup>+</sup> T, NK の各サブセットに分けて、それぞれのサブセットを種々の蚊唾液腺抗原で刺激したところ、患者の CD4<sup>+</sup> T 細胞が著しい増殖反応を示すことが判明した。②この CD4<sup>+</sup> T 細胞の反応性に関して、蚊の種類による特異性を検討する目的で、日本に生息する代表的な 4 種類の蚊(ヒトスジシマカ、シナハマダラカ、アカイエカ、コガタアカイエカ)の唾液腺抗原を用いて患者末梢血単核球を刺激した結果、ほとんどの症例でヒトスジシマ

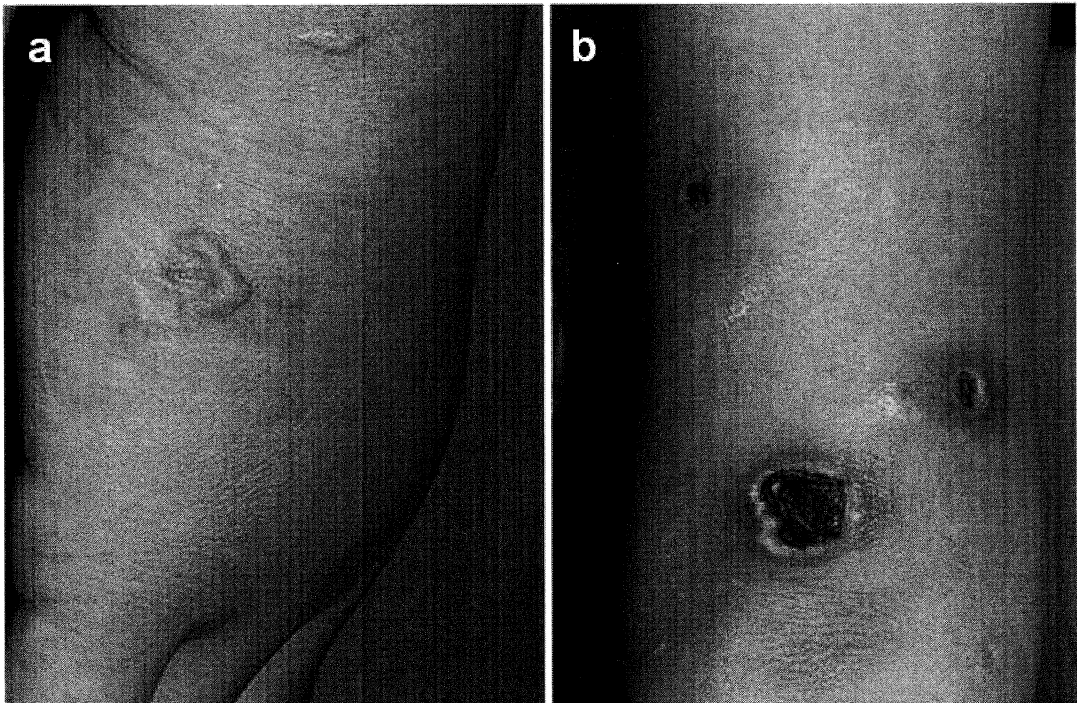


図 4. 蚊アレルギーの臨床像  
蚊刺後 2 日目、局所に水疱形成を伴う著大な腫脹が見られ(a)、10 日目には壊死化をみとめた(b)。  
(文献 12 より引用・改変)

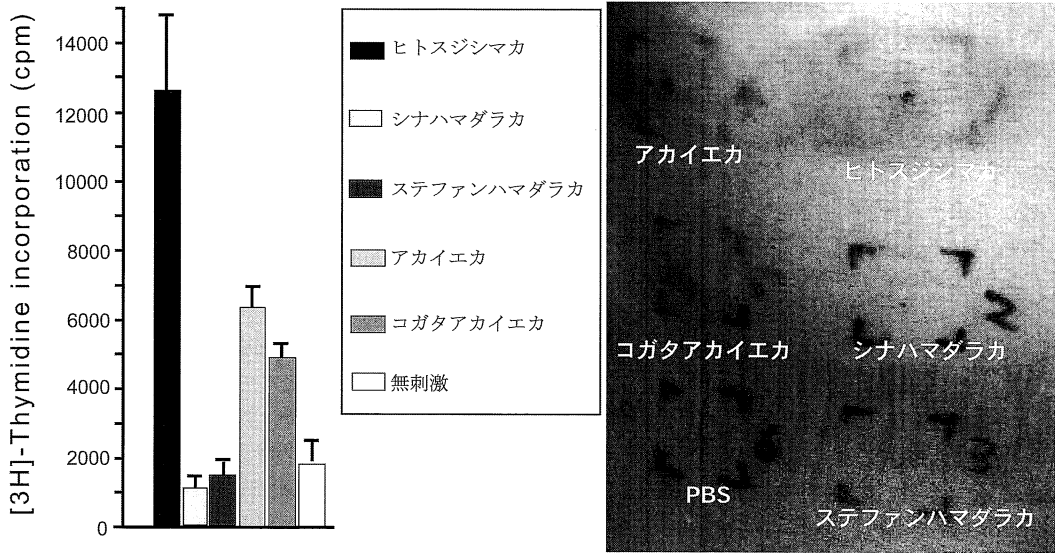


図 5. 種々の蚊唾液腺抗原に対する CD4<sup>+</sup>T 細胞の増殖反応と皮膚反応  
 CD4<sup>+</sup>T 細胞の増殖反応もプリックテストによる皮膚反応も共に、ヒトスジシマカの唾液腺抗原に対して最も強い反応を示し、皮膚反応と CD4<sup>+</sup>T 細胞の反応パターンはよく相関していた。  
 (文献 12 より引用・改変)

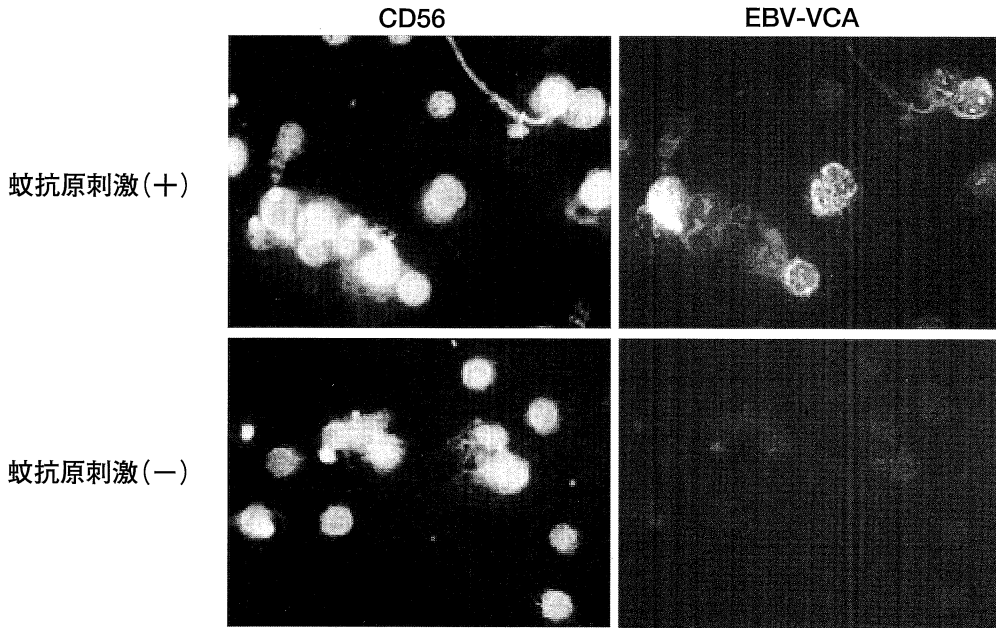


図 6. NK 細胞における EB ウイルスの再活性化  
 抗 CD56 抗体、抗 VCA 抗体による二重染色。ヒトスジシマカ唾液腺抗原刺激を受けた CD4<sup>+</sup>T 細胞と、同一患者由来の NK 細胞との混合培養の結果、NK 細胞の一部に EB ウイルスの capsid 抗原 (VCA) の発現がみられた (右上の写真)。  
 (文献 12 より引用・改変)

カの唾液腺抗原に対して特異的に強い反応を示した。③各種蚊唾液腺抗原によるブリックテストの結果、患者の皮膚反応は、CD4<sup>+</sup>T細胞の反応性とよく相関していることが明らかとなった(図5)。

【蚊抗原刺激を受けたCD4<sup>+</sup>T細胞によるEBV再活性化の誘発】

患者CD4<sup>+</sup>T細胞をヒトスジシマカ唾液腺抗原で刺激した後、同一患者由来のNK細胞とともに試験管内で混合培養した後、EBVの再活性化関連抗原の発現を免疫染色により調べた結果、NK細胞中に潜伏しているEBVが再活性化することが明らかになった(図6)。次に、実際の生体内でも蚊抗原刺激にともなってEBVの再活性化が誘導されるかどうかを調べる目的で、患者血中のEBV DNA量をreal-time PCR法により測定したところ、蚊アレルギーに伴う熱発時には、平常時よりも血漿中のEBV DNA量が増加していることが判明した。

以上の結果をまとめると、蚊アレルギーにおいては、蚊唾液腺抗原により活性化したCD4<sup>+</sup>T細胞が、NK細胞中に潜伏感染しているEBVの再活性化を誘発し、このEBVの再活性化が「いわゆる伝染性単核症様の全身症状」の発現にかかわっている可能性が推測された<sup>12)</sup>(図7)。

【蚊抗原刺激によるEBV感染NK細胞の発癌の促進】

蚊唾液腺抗原刺激CD4<sup>+</sup>T細胞が蚊アレルギー患者のNK細胞の発癌におよぼす影響を検討する目的で、EBV発癌において最も重要な発癌蛋白として知られているlatent membrane protein 1 (LMP1)に注目して、蚊抗原刺激とLMP1発現との関係を検討した。蚊アレルギー患者の末梢血単核球をヒトスジシマカ唾液腺抗原で刺激後、LMP1 mRNAの発現をRT-PCR法にて、またタンパク質レベルの発現を免疫染色にて経時的に検討した。その結果、LMP1 mRNA(図8)ならびにLMP1抗原の発現が著明に亢進し、この発現増強はCD4<sup>+</sup>T細胞を介していることが判明した<sup>13)</sup>。そこで、発癌遺伝子の発現増強に伴い、NK細胞の増殖が、実際に亢進しているのかどうかを検討する目的で、患者末梢血単核球の培養系に蚊唾液腺抗原を加え、NK細胞数を経時的に測定した。その結果、NK細胞数は培養14日目まで増え、その後漸減するものの28日目でも培養開始時点とほぼ同数が保たれていた。一方、非刺激群では、NK細胞数は漸減し、28日目にはほとんどすべてのNK細胞が死滅した(図9)。以上の結果から蚊唾液腺抗原刺激は、EBVの再活性化により蚊アレルギーを誘発するだけではなく、EBVの発癌蛋

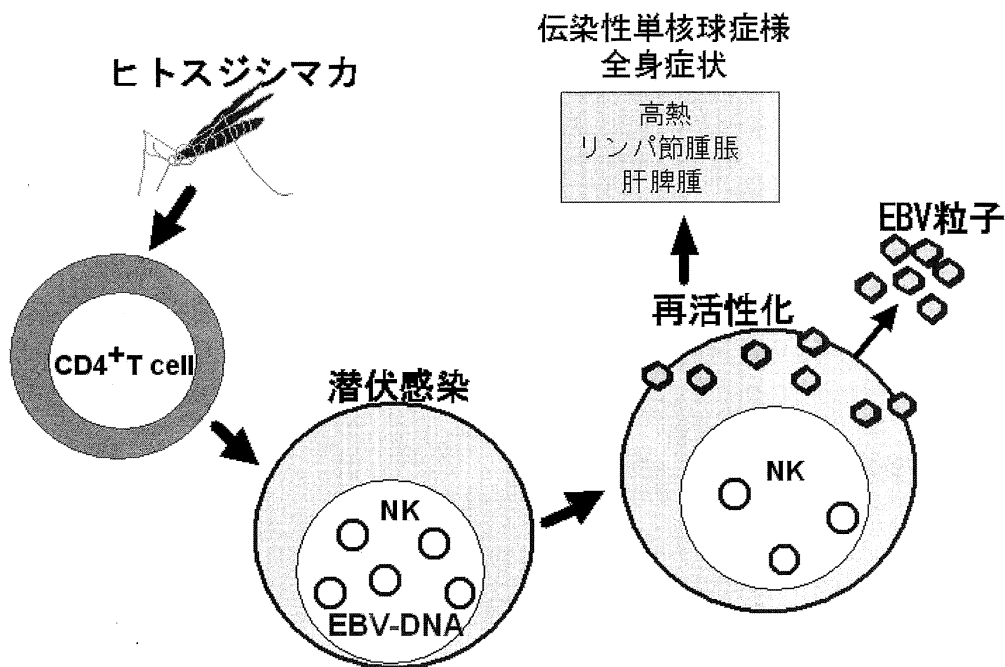


図7. 蚊アレルギーの発症機序。

蚊唾液腺抗原刺激により活性化したCD4<sup>+</sup>T細胞が、NK細胞中に潜伏感染しているEBウイルスの再活性化を誘発し、伝染性単核症様の全身症状が引き起こされるものと考えられる。(文献12より引用・改変)

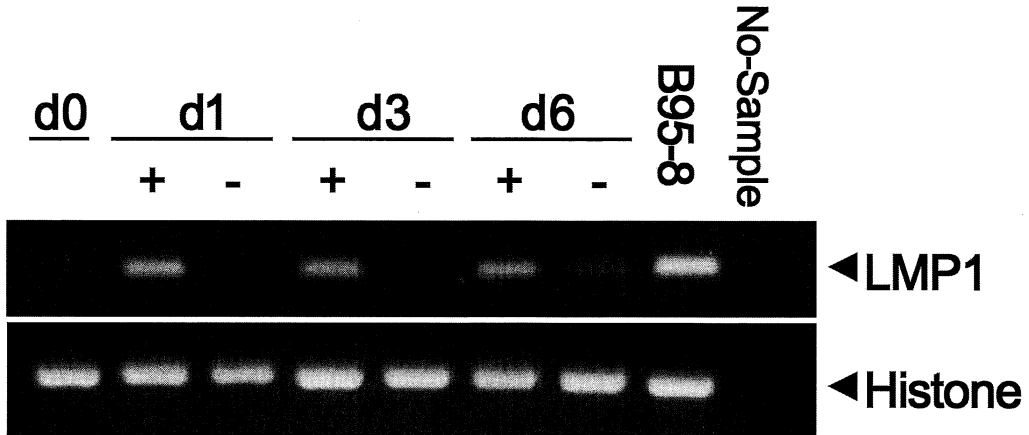


図 8. 蚊抗原刺激による発癌遺伝子発現の増強。

蚊アレルギー患者の末梢血単核球をヒトスジシマカ唾液腺抗原で刺激後、1, 3, 6日目のLMP1 mRNAの発現をRT-PCR法にて検出。蚊唾液腺抗原刺激群(+)では非刺激群(-)と比べ、LMP1 mRNAの発現の増強がみられた。B95-8: 陽性コントロール。

(文献 13 より引用・改変)

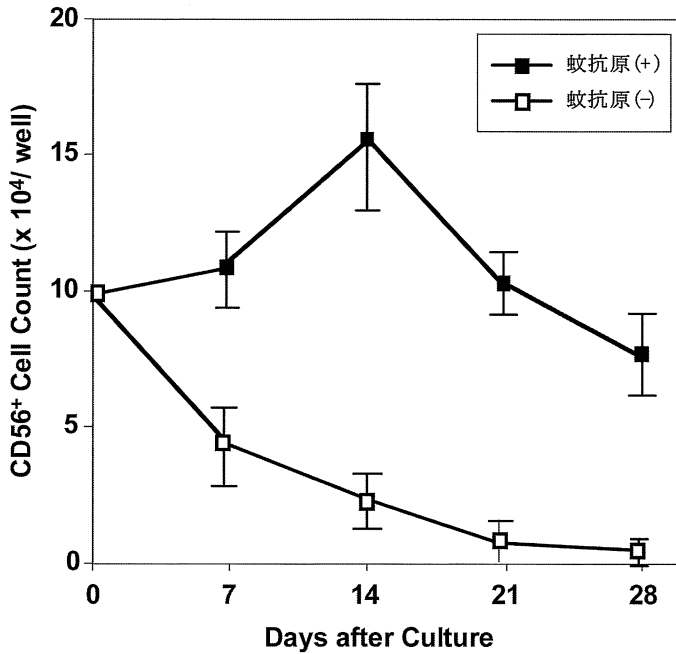


図 9. 蚊抗原刺激によるNK細胞の増殖亢進。

患者末梢血単核球の培養系に7日に1度のペースでヒトスジシマカ蚊唾液腺抗原を加え、NK細胞数を経時的に測定。蚊唾液腺抗原添加群では非添加群と比べ、NK細胞数が長期間保たれていた。

(文献 13 より引用・改変)

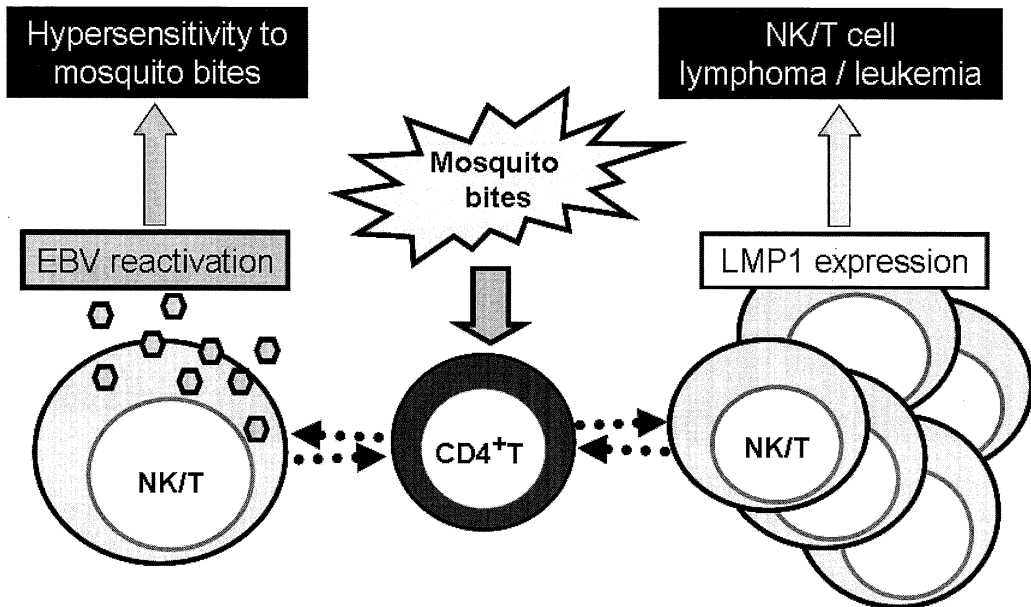


図 10. 蚊アレルギーおよびNK/T細胞リンパの発症機序

蚊唾液腺抗原刺激により活性化したCD4<sup>+</sup>T細胞は、NK/T細胞中に潜伏感染しているEBVの再活性化を誘発し、伝染性単核症様の全身症状を引き起こす。一方、この活性化CD4<sup>+</sup>T細胞はNK/T細胞中のEBVの発癌遺伝子LMP1の発現を亢進させることによりNK/T細胞の腫瘍化にも関わっている。

(文献14より引用・改変)

白LMP1の発現を亢進させることによりNK細胞の増殖/発癌にも重要な役割を担っている可能性が示唆された(図10)<sup>13, 14)</sup>。

## 2) 蚊アレルギーの診断

本症の診療上の問題点として、健康人(特に子供)でも、時に蚊にさされた部位に水疱形成を伴うほどの激しい炎症反応を呈することがあり(ここでは便宜上「偽の蚊アレルギー」と呼ぶ)、真の「蚊アレルギー」との鑑別が困難な場合がある。我々の外来では、「蚊アレルギー」を疑われて他院から紹介されてくるケースや、「蚊アレルギー」について知識のある親が、「我が子が、白血病になるのでは?」と心配して子供を連れてこられるケースをしばしば経験するが、その多くは、EBV感染NK細胞増殖症とは無関係の「偽の蚊アレルギー」である。そこで、両者を鑑別する手がかりとなる所見を以下に述べる。

- ① 局所の炎症反応に伴い、熱発、全身倦怠感、リンパ節腫脹などの全身症状が出現したことがあるかどうか。
- ② 1年以上前の蚊刺部に癬痕が残っているかどうか。
- ③ 顔面の種痘様水疱症類似の皮膚症状(蚊刺とは無関係に生じ、頻度は高くはないが、あれば診断の有力な手掛

かりとなる)。

④ EBV抗体価検査で、抗VCA-IgG抗体が320倍以上、または抗EA-IgG抗体が20倍以上(EBVの活動性が疑われる)。

⑤ 血清中total IgEの高値(RASTでは、蚊に対するIgEだけでなく、ダニなどの環境抗原に対するIgEも上昇している)。

⑥ 末梢血中の異型リンパ球増多(アズール顆粒を有する大型のリンパ球が増加するが、異型性は明瞭でない場合も多く、目視でチェックする必要がある)。

上記①～⑥の項目に照らして、鑑別を試みた結果、EBV関連の「蚊アレルギー」が強く疑われた場合、末梢血中のEBV DNA量をリアルタイム-PCR法で定量し、10<sup>25</sup>コピー/ug DNA以上あれば、ほぼ診断できる。さらに、FACSやマグネットビーズによる細胞分離法と、PCR法やin situ hybridization法によるウイルス検出法を組み合わせ、大型顆粒リンパ球(多くはCD56やCD16などのNK細胞マーカー陽性)の中に、EBVの存在を証明できれば、確定診断に至る。

但し、①～⑥のすべての項目が揃うことはむしろ稀である。「蚊アレルギー」では、①②④が比較的良好に見られ



るため、重要な所見であるといえるが、①の蚊刺に伴う全身症状は、蚊刺の際に常にみられる訳ではなく、時と場合により、高熱が出たり、微熱～無症状の場合まで様々である。ウイルス抗体価についても、稀に抗VCA-IgG抗体が160倍以下の場合があり、我々も抗VCA-IgG抗体価が80倍で、抗EA-IgG抗体も検出感度以下にもかかわらず末梢血中のEBV DNA量が異常高値( $10^8$ コピー/ $\mu$ g DNA以上)を示した症例を経験している。

### 3) 蚊アレルギーの治療と予防

まず、蚊刺を避けることが重要であるが、完全に阻止するのは困難である。蚊刺後、速やかに局所に強力な副腎皮質ステロイド軟膏を塗布する。高熱、肝障害、リンパ節腫脹などの全身症状に対しては、副腎皮質ステロイドの全身投与を行う。全身症状が、体内で再活性化したEBVによる炎症反応であることを考えると、副腎皮質ステロイドの投与とともに、アシクロビル、ピダラビンなどの抗ウイルス薬を併用することも一法である。ただし、潜伏状態にあるウイルスへの効果や感染細胞の増殖阻止効果は期待できない。また血中のEBV DNA量および感染細胞数を経時的に測定し、白血病、リンパ腫への移行に注意する必要がある。

## おわりに

EBV感染に関連した皮膚症状としてこれまで、伝染性単核症、パーキットリンパ腫などがよく知られていた。近年、分子生物学的手法を用いたウイルス検索法により、従来原因不明とされてきた蚊アレルギーや種痘様水疱症などの疾患が、EBV感染NKあるいはT細胞増殖症の皮膚症状として捉えられるようになってきており、EBV関連皮膚疾患の概念が拡大しつつある。しかし、これらの疾患の病態解明に関する研究はまだ緒に就いたばかりであり、今後さらに検討を進めてゆく必要がある。

## 謝 辞

本研究にあたり、多くの先生方に貴重な症例をご紹介いただき、また多大なご協力を得たことを付記し、ここに深謝いたします。

## 文 献

- Epstein, M. A., Achong, B. G. and Barr, Y. M. : Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *Lancet* **1** : 702-703, 1964.
- Bazin, E. : L-ions th-riques et cliniques sur les affectations g-riques de la place. Paris: Delabrage, vol. 1 : p.132, 1862.
- Oono, T., Arata, J., Masuda, T., et al : Coexistence of hydroa vacciniforme and malignant lymphoma. *Arch. Dermatol.* **122** : 1306-1309, 1986.
- 池谷敏彦, 新田悠紀子, 鈴木敏子 ほか : 特異な経過をとった小児の悪性リンパ腫. *日皮会誌.* **101** : 1423-1431, 1991.
- Asada, H., Okada, N., Tei, H., et al: Epstein-Barr virus-associated large granular lymphocyte leukemia with cutaneous infiltration. *J. Am. Acad. Dermatol.* **31** : 251-255, 1994.
- Asada, H., Okada, N., Hashimoto, K., et al : Establishment and characterization of the T-cell line, EBT-8 latently infected with Epstein-Barr virus from large granular lymphocyte leukemia. *Leukemia* **8** : 1415-1423, 1994.
- Cho, K. H., Kim, C. W., Lee, D. Y., et al: An Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative lesion of the skin presenting as recurrent necrotic papulovesicles of the face. *Br. J. Dermatol.* **134** : 791-796, 1996.
- Iwatsuki, K., Xu, Z., Takata, M., et al : The association of latent Epstein-Barr virus infection with hydroa vacciniforme. *Br. J. Dermatol.* **140** : 715-721, 1999.
- Hidano, A., Kawakami, M., Yago, A. : Hypersensitivity to mosquito bite and malignant histiocytosis. *Jpn. J. Exp. Med.* **52** : 303-306, 1982.
- Tokura, Y., Tamura, Y., Takigawa, M., et al: Severe hypersensitivity to mosquito bites associated with natural killer cell lymphocytosis. *Arch. Dermatol.* **126** : 362-368, 1990.
- Ishihara, S., Ohshima, K., Tokura, Y., et al: Hypersensitivity to mosquito bites conceals clonal lymphoproliferation of Epstein-Barr viral DNA-positive natural killer cells. *Jpn. J. Cancer Res.* **88** : 82-87, 1997.
- Asada, H., Miyagawa, S., Sumikawa, Y., et al : CD4<sup>+</sup> T lymphocyte-induced Epstein-Barr virus reactivation in a patient with severe hypersensitivity to mosquito bites and Epstein-Barr virus infected NK cell lymphocytosis. *Arch. Dermatol.* **139** : 1601-1607, 2003.
- Asada, H., Saito-Katsuragi, M., Niizeki, H., et

al: Mosquito salivary gland extracts induce EBV-infected NK cell oncogenesis via CD4<sup>+</sup> T cells in patients with hypersensitivity to mosquito bites. *J. Invest. Dermatol.* **125** : 956-961, 2005.

14) **Asada, H.**: Hypersensitivity to mosquito bites: a unique pathogenic mechanism linking Epstein-Barr virus infection, allergy and oncogenesis. *J. Dermatol. Sci.* **45** : 153-160, 2007.