

早期治療で軽快したEBV関連血球貪食症候群の一例

—その病態と治療効果判定における凝固線溶検査の有用性—

中西 良太¹⁾ 奥野 広子¹⁾ 堀之内晶子¹⁾ 吉井 三幸¹⁾
吉田 孝¹⁾ 多賀 崇²⁾ 石田 光明¹⁾ 岡部 英俊¹⁾

A case of Epstein – Barr Virus Associated Hemophagocytic Syndrome (EBVAHS) successfully recovered with the treatment from early phase
—Efficacy of laboratory examination of coagulation and fibrolysis for the evaluation of disease mechanism and therapeutic effect—

Ryouta NAKANISHI¹⁾ Hiroko OKUNO¹⁾ Akiko HORINOUCHE¹⁾ Miyuki YOSHI¹⁾
Takashi YOSHIDA¹⁾ Takashi TAGA²⁾ Mitsuaki ISHIDA¹⁾ Okabe HIDETOSHI¹⁾

1) Department of Clinical Laboratory, Shiga University of Medical Science Hospital (Seta Tsukinowa-cho, Otsu-shi, Shiga, 〒520-2192, JAPAN)

2) Department of Clinical Pediatrics, University of Medical Science Hospital

【要 旨】

我々は、3歳の女児で、早期治療で軽快した重症EBウイルス関連血球貪食症候群の一例を経験したので報告する。発熱の持続、白血球および血小板減少、肝逸脱酵素やCRPの高値を認め、入院後の検査所見でHLH2004のHPS診断基準を満たし、EBウイルス初期感染が判明してEBウイルス関連血球貪食症候群と診断された。免疫抑制療法と抗凝固療法では改善せず、入院4日目からHLH2004治療研究プロトコールに沿った治療と抗DIC療法として遺伝子組み換えトロンボモジュリンの投与を行った結果、入院6日目より解熱し肝機能が改善、DICも入院10日目には改善した。早期診断と迅速かつ適切な治療で各臓器へ浸潤した異型リンパ球様細胞（EBV感染CD8陽性細胞）などによって惹起されたサイトカインストームが抑制され、血管内皮細胞障害やDICの増悪を起こすことなく軽快退院となった。本病態に対して選択された治療効果を判断する上で凝固線溶マーカー検査は有用であると考えられた。

【はじめに】

血球貪食症候群（Hemophagocytic syndrome / Hemophagocytic lymphohistiocytosis : HPS / HLH）は、汎血球減少、高トリグリセライド血症や低フィブリノーゲン血症を伴う発熱と脾腫を特徴としている。石井らの5年間の全国調査から年間約80万人に1人が発症すると推定している。また、15歳未満の小児の発症が56.5%と多く、その内でEBウイルス関連血球貪食症候群（Epstein – Barr Virus Associated Hemophagocytic Syndrome :

EBVAHS）は50.9%と最も頻度が高い¹⁾。本症ではEBV感染によりT細胞やマクロファージが活性化され様々なサイトカインが過剰産生されて高サイトカイン血症を生じる。その結果、血管内皮、肝臓など諸種の組織障害や、マクロファージの貪食能の亢進を来たして血球減少、肝機能障害、発熱、DIC、高TG血症、高フェリチン血症など様々な病態を生じる²⁾。特に小児では致命的な経過を辿ることもあり早期発見と適切な治療を行うことは重要である。今回、我々は早期治療で軽快した小児の重症

1) 滋賀医科大学医学部附属病院 検査部（〒520-2192 滋賀県大津市瀬田月輪町） 2) 同 小児科
（平成24年11月6日受付・平成24年12月11日受理）

EBVAHSと思われる一例を経験し、その病態と治療選択の効果における凝固線溶検査の有用性について検討したので報告する。

【症例】

患者は3歳、女児。某年9月中旬より発熱を主訴として当院を受診し経過観察中、発熱5日目で食事摂取・服薬困難となり再受診し、白血球・血小板の減少、肝逸脱酵素やCRP高値を認めたため、血球貪食症候群や重症感染症が疑われ即日入院となった。既往歴：ロタウイルス、突発性発疹、肺炎（入院歴あり）。

【入院時現症】

咽頭・扁桃にて発赤あり。肝臓1横指触知（2cm）。

【検査所見（表1）】

入院時の検査所見では、白血球・血小板減少を認め、凝固検査ではPT、APTTの延長、フィブリノーゲン（FIBG）の減少、凝固・線溶分子マーカーの上昇、生化学検査では肝逸脱酵素およびTG、CRP、フェリチン、可溶性IL-2レセプターの上昇がみられた。また、EBウイルスのVCA-IgG抗体陽性、

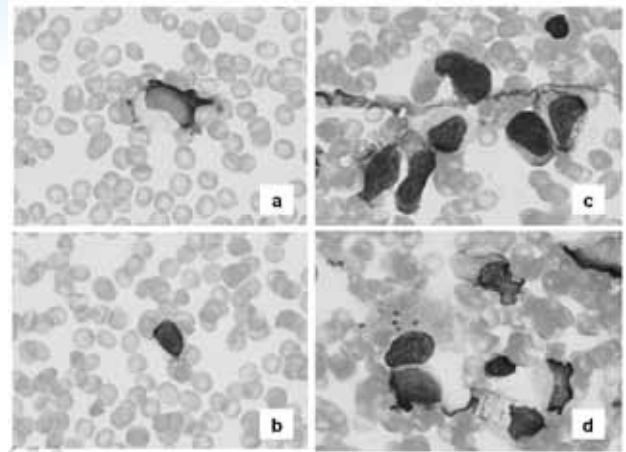


図1：末梢血液像（a, b）、骨髄像（c, d）

EBNA抗体陰性でEBV初期感染と考えられた。末梢血液像では好中球減少に伴う相対的な大リンパ球の増加のみで異型リンパ球の増加は認めなかった（図1-a, b）。一方、骨髄像では異型リンパ球様細胞10.3%を含む大リンパ球の増加（図1-c）と血球貪食像を認めるマクロファージの増加がみられた（図1-d）。

さらに、骨髄のIn situ hybridizationと免疫染色によるEBV感染の精査を実施した結果、骨髄に浸潤しているリンパ球の多くがCD3・CD8陽性細胞で、その多くがEBER陽性であり、EBVの感染細胞であることを確認した（図2）。本症例は日

RBC	465×10 ⁴ /μl	TP	6.1 g/dl	Fe	176 μg/dl
Hb	12.0 g/dl	Alb	3.3 g/dl	UIBC	100 μg/dl
Ht	34.7 %	AST	259 U/l	フェリチン	29,868.0 ng/ml
WBC	1,100 /μl (異型リンパ球様細胞 1.0%)	ALT	84 U/l	sIL-2R	21,900 U/ml
PLT	19×10 ³ /μl	LDH	3,136 U/l	EBV-抗VCA-IgG抗体	160倍(+)
PT-sec	17.1 sec (PT-C: 11.5 sec)	ALP	569 U/l	EBV-抗VCA-IgM抗体	20倍(-)
PT-INR	1.54	γ-GT	73 U/l	EBV-抗EB-DR-IgG抗体	10倍(-)
APTT	58.5 sec (APTT-C: 29.0 sec)	CHE	340 U/l	EBV-抗EBNA抗体	10倍(-)
FIBG	115 mg/dl	LAP	729 U/l		
HEP	42 %	T-Bill	1.0 mg/dl		
ATIII	75 %	Na	126 mmol/l		
プロテインC	51 %	K	3.9 mmol/l		
DD	53.6 μg/ml	Cl	97 mmol/l		
TAT	113.1 ng/ml	BUN	11.8 mg/dl		
PIC	6.1 μg/ml	Cre	0.34 mg/dl		
SF	6.9 μg/ml	CRP	8.75 mg/dl		
tPAI-1	316.4 ng/ml	T-Cho	81 mg/dl		
		TG	238 mg/dl		
		Glu	125 mg/dl		

表1.入院時検査所見

本小児白血病リンパ腫研究グループ (Leukemia/Lymphoma Study Group: JPLSG) HLH2004によるHPS診断基準³⁾を満たしEBVAHSと診断された。

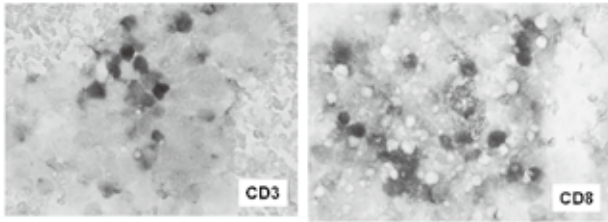


図2: EBER-ISHと免疫染色の二重染色 (骨髓像)。EBER-ISH (DAB); Brown、CD3 又はCD8 (ALP); Red

【臨床経過と検査データの推移 (図3~5)】

EBVAHSに起因する高サイトカイン血症に伴う凝固系の亢進と凝固阻止因子の低下がみられ、DICの合併と判断し、入院初日よりプレドニゾン (PSL) や γ -グロブリンの単独療法およびDIC治療目的でATⅢ製剤やフラグミンによる抗凝固療法を施行した。しかし、LDHの上昇や肝腫大など肝機能障害が悪化、DICも改善せず、入院4日目からHLH2004治療研究プロトコル (HLH2004PROT) に沿った治療を選択してデキサメタゾン (DEXA)、シクロスポリンA (CSA)、VP16の投与を開始した。さらに、抗DIC療法として遺伝子組換えトロンボモジュリン (リコモジュリン: r-TM)⁴⁾を投与した。当初は肝腫大やDICも改善がみられずにICU管理となったが、入院6日目より解熱し、AST、ALT、LDHも低下した。DICもICU入室時にはthrombin-antithrombin complex (TAT) / plasmin- α 2 plasmin inhibitor complex (PIC) 比が上昇し凝固優位であったが次第に低下、全身状態も徐々に改善して入院後52日目には軽快退院となった。

【考察】

通常、EBVはB細胞上のCD21を介して感染し、CD8陽性T (CD8+T) 細胞は反応性に増加する。しかし、EBVAHSにおいてはCD8+T細胞へのEBV感染と感染細胞のクローナルな増殖・活性化が認められる事が多いのが特徴である⁵⁾。CD8+T

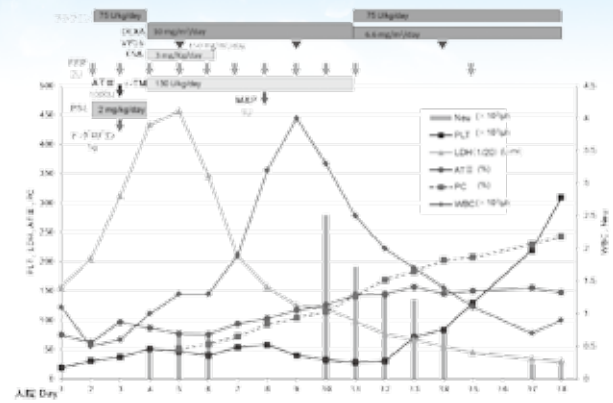


図3: 臨床経過と検査データ (WBC, PLT, LDH, ATⅢ, PC) の推移

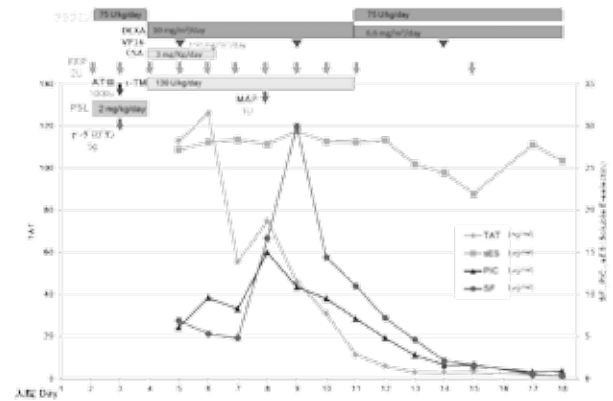


図4: 臨床経過と凝固線溶マーカーの推移1

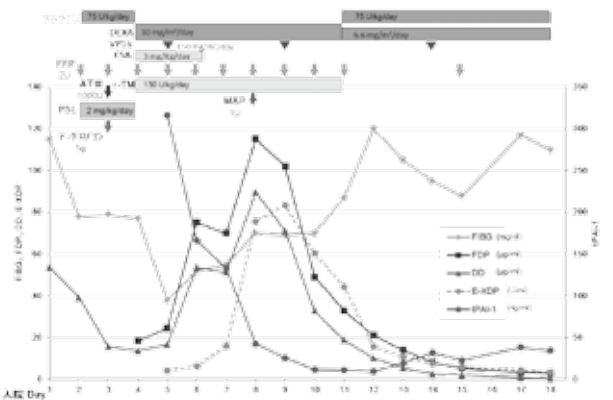


図5: 臨床経過と凝固線溶マーカーの推移2

細胞は抗原刺激などで活性化されて細胞障害性T細胞となり、マクロファージと共にウイルス感染に対する免疫反応の中心となるが、EBVに感染したCD8+T細胞はIFN- γ やTNF- α の産生を増強するとともにTNF- α のアポトーシス誘導を阻害する事も報告されている⁶⁾。さらに活性化されたマクロファージからIL-1やIL-6の産生などが相まって、様々なサイトカインが過剰産生 (サイトカイン

ストーム)され、臓器障害などの病態を引き起こすと考えられている。EBVAHS例においては、発熱や血球減少、DICの程度が軽度で、全身状態が保たれている軽症例では、経過観察もしくはステロイドや γ -グロブリンの単独療法のみでコントロール可能な例も多い。しかし、単独療法を施行しても治療抵抗性を示す場合やサイトカインストームによって血管内皮細胞障害を引き起して、DICの重症化や多臓器不全を呈する例などにはHLH2004PROTに沿った治療が選択されている⁷⁾。

本症例においても、骨髓のIn situ hybridizationと免疫染色の結果から、EBV感染細胞(異型リンパ球様細胞)はCD8+T細胞であることを確認した。

入院初日からのPSLや γ -グロブリンの単独療法で白血球数や血小板数については軽度に増加したが、発熱は持続し、LDHなどの肝逸脱酵素は急激に上昇、凝固検査結果からもDICの改善を認められなかった。このことから、活性化されたT細胞やマクロファージの増殖・浸潤やサイトカインストームは抑制されず、EBVAHSの重症化と判断してHLH2004PROTに基づいた治療とDICに対してr-TM投与の治療が選択された。

HLH2004PROTの初期治療は、VP16とデキサメタゾンにシクロスポリンAを併用してEBV感染T細胞やマクロファージを直接攻撃して排除するとともにアポトーシスを誘導、さらにサイトカインの産生を阻害して強力な免疫抑制を行うことを目的としている。

本症例では、HLH2004PROTに従った治療によって、入院後から上昇を続けたLDHは低下(9,127→2,502U/l)し、白血球や血小板数も次第に増加した(WBC:1.0→4.0×10³/ μ l、PLT:5.1→13.0×10⁴/ μ l;入院15日目)(図4)。入院6日目には解熱し全身状態も徐々に改善した。これは、サイトカインストームの原因となった異型リンパ球様細胞やマクロファージの各臓器への浸潤や貪食能の亢進が抑制とr-TM投与などの抗DIC療法の併用によって血球減少や肝機能が改善した結果であると

考えられた。

サイトカインストームによって血管内皮細胞が活性化されると組織因子を発現、フィブリンや血小板の沈着が起って凝固系の活性化や微小血栓形成を生じ、結果としてDICが惹起されることは周知の事実である⁸⁾。EBVAHSでは、サイトカインストームにより不可逆性の血管内皮細胞障害を引き起こし、多臓器不全を呈するなどDICが重症化する例も多い。本症例において、HLH2004PROTに従った治療とr-TM投与開始時には、TAT/PIC比は18.5と上昇がみられ凝固優位のDICの状況と考えられた(図5)。また、plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)はサイトカインストームによって血管内皮細胞における産生が著しく亢進して高値(316.4ng/ml)となり線溶抑制の結果として血栓形成を増強して、DICをさらに悪化させたものと考えられた。HLH2004PROTによる治療とr-TMによる抗DIC療法ならびに抗炎症作用によって、サイトカインストームが抑制されると共にPAI-1は急激に低下(316.4→25.5ng/ml)した。さらに、白血球の増加に伴いsoluble fibrin(SF)の上昇(6.9→30.0 μ g/ml)がみられたが、線溶マーカーであるPICが上昇(6.1→15.0 μ g/ml)、TAT/PIC比も入院10日目には3.2と低下し凝固線溶能は徐々に正常化した。PICの推移に連動してFDP(115.1 μ g/ml)、D-dimer(D-D:89.6 μ g/ml)も上昇し、好中球の増加に伴ってcross-linked fibrin degradation products by leukocyte elastase(E-XDP)の上昇(4.3→83.3U/ml)もみられた(図6)。プラスミン及びエラスターゼの両者による線溶が機能し、FIBGの上昇とともに徐々に正常化したと考えられた。

これらの凝固線溶能の動態から、適切な治療選択によってサイトカインストームによる血管内皮細胞障害が抑制され、凝固優位のDICに対して線溶能が亢進したことで、凝固・線溶のバランスが回復し病態が改善・軽快したものと考えられた。本病態に対して選択された治療の効果を判断する上で凝固線溶マーカー検査は有用であると考えられた。

【まとめ】

今回、重症化したEBVAHSの一症例を経験したが、早期診断と迅速かつ適切な治療で、臓器へのEBV感染CD8+細胞の浸潤と本細胞などによって惹起されるサイトカインストームを抑制することができた。その結果、高サイトカイン血症による不可逆性の血管内皮細胞障害とDICの増悪を回避して軽快退院できたものと考えられた。また、本病態に対して選択された治療の効果を判断する上で凝固線溶マーカー検査は有用であると考えられた。

Abstract :

We report 3 year-old girl suffering from severe Epstein-Barr Virus Associated Hemophagocytic Syndrome. She was suffering from persistent fever, laboratory examination revealed leukocytopenia and thrombocytopenia, increase of liver enzymes and CRP. Her laboratory data satisfied the criteria of HPS according to HLH2004 and she was turned out to be in the early phase of EB virus infection. Immuno-suppression and anti-coagulant therapy were not effective. She was treated according to the therapeutic protocol of HLH2004 and received recombinant human soluble thrombomodulin dose to improve DIC from 4th hospital day. From 6th hospital day, high fever was relieved and liver dysfunction began to improve. DIC was also improved on the 10th hospital day. In this case, early diagnosis and appropriate treatment from the early phase of onset prevented severe complication of cytokine storm induced by EB virus infected atypical CD8(+) cell and subsequent DIC was successfully controlled by the appropriate treatment. For the evaluation of the patient condition and the effect of treatment, laboratory examination of coagulation and fibrinolysis markers was quite useful.

【参考文献】

- 1) Ishii E, Ohga S, Imashuku S, et al : Nationwide Survey of Hemophagocytic Lymphohistiocytosis in Japan . Int J of Hematol, 86 : 2007, 58-65
- 2) Henter J, Horne A, Aric? M, et al : HLH2004 ; Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis . Pediter Blood Cancer, 48 : 2007, 124-131
- 3) 河 敬世. 井上 雅美. 澤田 明久. 小山 真穂 : 小児?成人にみられるEBV-associated T/NK-cell LPDの特徴 . 臨床血液, 49 : 2008, 390-396
- 4) Abeyama K, Stern David M, Ito Y, Koichi K, et al : The N-terminal domain of thrombomodulin sequesters high-mobility group-B1 protein, a novel antiinflammatory mechanism . J of Clin Invest, 115 (5) : 2005, 1267-1273
- 5) Kasahara Y, Yachie A, Takei K, et al : Differential cellular targets of Epstein-Barr virus (EBV) infection between acute EBV-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis and chronic active EBV infection. Blood, 98 : 2001, 1882-1888
- 6) Chuang H. Lay J. Chuang S. Hsieh W. Chuang Y. Su I. : Epstein-Barr Virus (EBV) latent membrane protein-1 down-regulates Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) receptor-1 and confers resistance to TNF- α -induced Apoptosis in T cells . Am J Pathol, 170 : 2007, 1607-1617
- 7) 藤野 寿典 : 血球貪食症候群の治療 - 異常値のメカニズムを中心に - . BLOOD MASTER - 血液疾患症例に学ぶ -, Vol.7「血球貪食症候群」: 2010, 39-51
- 8) 加藤 格 : 血球貪食症候群の病態-異常値のメカニズムを中心に-. BLOOD MASTER - 血液疾患症例に学ぶ-, Vol.7「血球貪食症候群」: 2010, 3-17