

総括研究報告書

1. 研究開発課題名： 慢性活動性 EB ウイルス感染症とその類縁疾患に対する革新的治療薬を実現するための統合的研究体制の構築

2. 研究開発代表者： 藤原成悦（国立成育医療研究センター研究所 免疫アレルギー・感染研究部）

3. 研究開発の成果

慢性活動性 EB ウイルス（EBV）感染症およびその類縁疾患は原因不明の難治性疾患であり、根治には造血幹細胞移植を要するが、移植合併症が頻発するため、より安全な治療法の開発が急務である。これらの疾患はいずれも、EBV が感染した T あるいは NK 細胞の無制限な増殖に端を発するため、感染細胞の増殖制御という共通のアプローチが可能である。本研究は、EBV 感染細胞に選択的毒性を示す薬物を見出すための独自のスクリーニング法や独自の疾患モデルマウスを応用して慢性活動性 EBV 感染症に有効な治療薬シーズを見出すことを目的とする。また、既存薬剤のこれらの疾患への適応拡大に向けての研究を併せて行っている。

(1) 既存治療薬の慢性活動性EBV感染症への適応拡大に向けた研究

成人T細胞白血病治療薬として認可された抗CCR4抗体モガムリズマブが、EBV感染T/NK細胞を抗体依存性細胞傷害（ADCC）により殺傷することをこれまでに報告してきた。本年度は、慢性活動性EBV感染症および類縁疾患38例を検討し17例（45%）がCCR4を発現すること、陽性者の病型としては γ δ T細胞に感染した種痘様水疱症が多いことを示した。半数近くの患者でモガムリズマブが有効である可能性が示された。

細胞の増殖・分化に重要な役割を果たすJAK/STAT経路はEBV感染T/NK細胞においても活性化されている。本年度はJAK2阻害薬ルクソリチニブおよびJAK3阻害薬トファシチニブを検討したところ、いずれもEBV感染T/NK細胞に対して、増殖抑制、アポトーシス誘導などの効果を示したため、モデルマウスを用いたin vivoの検討を計画している。

プロテアソーム阻害薬ボルテゾミブの探索的臨床研究については、東京医科歯科大学血液内科、同大学臨床試験管理センター、国立成育医療研究センター臨床研究開発センター、ヤンセンファーマの各担当者が参加する会議を3回開催し、進め方を協議している。また、東京医科歯科大学倫理審査委員会に計画書を提出しその承認を得た。

(2) EBV 特異的治療薬シーズのスクリーニング

上記のスクリーニング法により、約300種類の核酸誘導体を調べたが、十分なEBV特異性をもつ化合物は見つかっていない。しかし、見出された複数のヒット化合物の構造活性相関から、閉環状化合物がEBV酵素により認識されやすいことが分かった。EBV陽性NK細胞株KAI3の増殖を指標とする方法では、新規天然物薬1,300種類をスクリーニングしたが、EBV感染細胞特異的な効果を示すものは見つかっていない。

(3) ゲノム編集技術によるEBV感染細胞増殖制御

EBV遺伝子*LMP1*はEBV感染T/NK細胞の生存と増殖に重要な役割を果たす。プラスミドに*LMP1*遺伝子を挿入し、CRISPR/Cas9による配列特異的な切断が起こるとGFPを発現し細胞が緑色蛍光を発する実験系を構築した。現時点では配列特異的な切断は認められていないが、今後新しいガイドRNAにより検討を続ける予定である。

(4) 病態解明およびEBV感染細胞増殖機構の解析

モデルマウスの解析からCD4陽性T細胞がEBV感染T/NK細胞のin vivoでの増殖に必須の役割を果たすことが分かっている。このマウスにOKT4抗体を投与してCD4陽性細胞を除去したところ、生存期間の延長、体重減少の抑制、末梢血中EBV DNA量の減少などの効果が認められたため、治療への応用を検討している。

EBV感染T/NK細胞株において、EBVがコードする小分子RNAであるEBERが細胞のRNAセンサーであるRIG-I

やTLR-3により認識され、インターフェロンや炎症性サイトカインの産生を誘導することが示された。EBERを分子標的とする治療法の可能性が考えられる。

種痘様水疱症では、EBV遺伝子*BZLF1*の病変部における発現が全身性（重症型）のタイプでのみ認められ予後判定因子と考えられた。また、「痂皮や壊死組織を用いた低侵襲性EBウイルス遺伝子発現診断法」を用いて特異度、鋭敏度、陽性尤度比の高いEBER検出が可能となった。さらに、EBNA1など数種類のEBV遺伝子発現を同時に簡便に定量するためのReady-to-Use試薬の作成を完了し、本研究対象疾患の病勢や治療効果の判定に応用することを検討している。

4. その他

特になし