

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 免疫アレルギー疾患等実用化研究事業 (移植医療技術開発研究分野)
(英語) Practical Research Project for Allergic Diseases and Immunology (Research on Technology of Medical Transplantation)
- 研究開発課題名： (日本語) 小児心臓移植後の移植後リンパ球増殖性疾患の診断及び治療法の開発に関する臨床的研究
(英語) Research for development of diagnostic and therapeutic strategies for posttransplant lymphoproliferative disorder in pediatric heart transplantation (PTLD)
- 研究開発担当者 (日本語) 国立研究開発法人国立循環器病研究センター 移植医療部部長 福嶋教偉
所属 役職 氏名： (英語) Norihide Fukushima ,Director, Department of Transplant Medicine, National Cerebral and Cardiovascular Center
- 実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) PTLD の全国調査・PTLD の治療法・治療後の免疫抑制維持療法について
開発課題名： (英語) National survey of PTLD and therapeutic strategies for PTLD
- 研究開発担当者 (日本語) 国立研究開発法人国立循環器病研究センター 移植医療部部長 福嶋教偉
所属 役職 氏名： (英語) Norihide Fukushima ,Director, Department of Transplant Medicine, National Cerebral and Cardiovascular Center
- 分担研究 (日本語) 成人心臓移植症例における PTLD の調査
開発課題名： (英語) Investigation of PTLD in Adult Heart Transplantation Case
- 研究開発担当者 (日本語) 国立研究開発法人国立循環器病研究センター 移植医療部
医長 築瀬正伸
所属 役職 氏名： (英語) A medical director, Department of Transplant Medicine, National Cerebral and Cardiovascular Center, Masanobu Yanase

分担研究 (日本語) PTLD の総合的治療について
開発課題名 : (英語) Multidisciplinary treatment for PTLD after pediatric heart transplantation

研究開発担当者 (日本語) 大阪大学大学院医学系研究科 小児科学 講師 小垣滋豊
所属 役職 氏名 : (英語) Shigetoyo Kogaki (Department of Pediatrics, Graduate School of Medicine, Osaka University, Associate Professor)

分担研究 (日本語) PTLD の血液学的診断と治療法の確立について
開発課題名 : (英語) Focus on the hematological diagnosis and treatment for PTLD

研究開発担当者 (日本語) 大阪大学大学院医学系研究科 小児科学 講師 橋井佳子
所属 役職 氏名 : (英語) Yoshiko Hashii (Department of Pediatrics, Graduate School of Medicine, Osaka University, Associate Professor)

分担研究 (日本語) 心移植後 PTLD の免疫抑制療法について
開発課題名 : (英語) Immunosuppressive therapy for heart recipients with PTLD

研究開発担当者 (日本語) 学校法人東京女子医科大学 心血管医科学 教授 布田伸一
所属 役職 氏名 : (英語) Professor, Department of Cardiovascular Medicine, Tokyo Medical and Dental University, Shinichi Nunoda

分担研究 (日本語) PTLD における Epstein-Barr ウイルスの解析及び EBV 感染症の制御に関する検討について
開発課題名 : (英語) Analysis of Epstein-Barr virus in PTLD and Control of EBV infection in pediatric heart transplant recipients

研究開発担当者 (日本語) 国立研究開発法人 国立成育医療研究センター 研究所 高度先進医療研究室長 今留 謙一
所属 役職 氏名 : (英語) Director , Department of Advanced Medicine for Infections, National Center for Child Health and Development, Ken-Ichi Imadome

分担研究 (日本語) PTLD の画像診断について
開発課題名 : (英語) Imaging modalities of PTLD

研究開発担当者 (日本語) 東京大学 心臓血管外科 教授 小野 稔
所属 役職 氏名 : (英語) Professor, Department of Cardiac Surgery The University of Tokyo, Minoru Ono

II. 成果の概要（総括研究報告）

<和文>

Retrospective な症例検討

- 大阪大学、東京女子医科大が経験した小児心臓移植後の PTLD 発症症例各々10 及び 5 症例について、臨床症状、治療経過及び予後を retrospective に検討した
- 具体的には、これまでに当該施設で PTLD 発症例について、臨床症状、画像検査、検査所見（特に EBV 関連検査）、病理学的所見、治療経過及び予後を retrospective に検討中である
- 治療経過については、免疫抑制プロトコールの推移、EBV-derived B-cell PTLD の発生抑制が期待される mTOR 阻害剤（everolimus）や化学療法の効果を検討すると共に、合併症（発熱、扁桃腺炎、腫瘍、気道閉塞、消化管穿孔、サイトカインショック、移植臓器での増殖など）について検討中である
- 検査については、PET 検査、生検が、診断、治療効果を見るのに有用であった
- 同時に、当該施設が経験した成人心臓移植例 230 例中、PTLD 発症例は 6 例で、の臨床症状、画像検査、検査所見（特に EBV 関連検査）、病理学的所見、治療経過及び予後を retrospective に検討した。現在データ解析中である。

心臓移植後の全国調査

- 2016 年に海外渡航移植された 6 名、国内移植された 51 例の解析を行い、国内で管理されている心臓移植症例（新規・継続、小児・成人共）の PTLD の実態について上記項目は調査した。小児例 1 例で、成人例の発症は認められなかった。発症例は、治療中である。
- 本症例の発症は発熱、腹痛であり、PET 検査と生検により確定診断された。

Prospective な症例検討

- 2016 年に海外渡航移植された 6 名、国内移植された 51 例の解析を行い、心臓移植症例（新規・継続、小児・成人共）の PTLD の実態について上記項目は調査した。1 例の発症を認め、治療中である。本症例は、EBV の primary infection 例で、sIL2R も高値で、ステロイド、リツキシマブ治療反応した。
- 本症例の発症は発熱、腹痛であり、PET 検査と生検により確定診断された。
- 現在、末梢血・骨髓液・髄液の採取、腫瘍またはリンパ節の生検を行い、種々の EBV 関連検査を行い、EBV の遺伝子的又は免疫応答的な特徴を解析中である。
- 当該施設において、成人の国内外で心臓移植を受けた症例について、PTLD 発症例はなかった。
- PTLD の発症にかかわらず、当該施設患者で PTLD 未発症例並びに、今後治療に関する症例において、定期的に EBV 関連検査・sIL2R などを follow-up し、その後の EBV 関連疾患や PTLD の発症の有無、発症形態を調査中である。
- PTLD が疑われた、あるいは確定診断された症例においては、臨床症状、画像検査、検査所見、病理学的所見、治療経過及び予後を検討すると共に、定期的に EBV 関連検査・sIL2R などを follow-up 中である。

PTLD における Epstein-Barr ウイルスの解析及び EBV 感染症の制御に関する検討について

- EBV 関連疾患の特性として移植臓器近傍でまず感染細胞が増殖し、ある程度増殖してから末梢血中に感染細胞が出てくることが多いことがこれまでの我々の研究で明らかとなった。
- つまり末梢血中の血球成分に存在する感染細胞が末梢血検体から検出された時は既に、移植臓器近傍では感染細胞の増殖が進んでいる可能性が大きい。
- 以上を踏まえて 2 年目以降は移植直後から定期的に 2 週間～4 週間に 1 回、EBV と日和見感染関連ウイルス (HSV-1, HSV-2, CMV, VZV, HHV-6, HHV-7, HHV-8, JCV, BKV, ADV, ParvoB19, HBV) をモニタリングし早期発見、早期治療介入（できる範囲での免疫抑制剤量の減少など）を目指し PTLD 予防のためのプロトコルの作成を目指す。
- EBV 関連 PTLD に対する治療法の開発は EBV 特異的新規治療薬の開発と EBV 感染を阻害する中和抗体の開発を進めている。新規治療薬はヒト化マウスを利用した薬剤効果を進め非臨床 POC 習得を目指している。1 年目の達成状況は概ね計画通りに進んでいる。

<英文>

Retrospective analysis of Japanese heart transplant recipients with PTLD

- In pediatric heart transplant recipients with PTLD who had been treated at Osaka University and Tokyo
- Women's Medical University, 15 children have been suffering from PTLD and clinical signs and symptoms, image examination, laboratory examination (especially EBV associated tests), pathological findings, clinical course and outcomes of them retrospectively.
- PET and histological tests were useful to determine diagnosis and stage of PTLD.
- In 230 adults patients who had been treated at centers of this research members, 6 adults developed PTLD and all patients were successfully treated with rituximab and so on, but one died of sudden death.

National survey of Japanese heart transplant recipients with PTLD

- In 6 overseas transplanted children and 51 patients transplanted in Japan in 2016, one child developed PTLD due to primary EBV infection. She was successfully treated with steroid and rituximab.
- Her initial symptoms were fever and abdominal pain and she was diagnosed as PTLD by PET and lymph node biopsy.

Prospective analysis of Japanese heart transplant recipients with PTLD

- In 6 overseas transplanted children and 51 patients transplanted in Japan in 2016, one child developed PTLD due to primary EBV infection. She was successfully treated with steroid and rituximab.
- She was diagnosed as PTLD by PET and lymph node biopsy.
- By sampling her peripheral blood, bone marrow liquid and cerebrospinal fluid and biopsy of tumors or lymph nodes, EBV associated examination will be performed.
- Regardless of PTLD development, we are planning to perform routine EBV associated examinations in all heart transplant patients treated at the center of the research members.

Analysis of Epstein-Barr virus in PTLD and Control of EBV in factin in pediatric heart transplant recipients

- From our previous studies, EBV infected cells usually grow around the transplanted graft at first and get into the blood stream after some interval. After then, EBV infected cells are detected in the peripheral blood cells.
- Therefore, when EBV infected cells are detected in the peripheral blood cells, proliferation of EBV infected cells already expand around the graft.
- From these findings, EBV and other opportunistic infection related viruses (HSV-1, HSV-2, CMV, VZV, HHV-6, HHV-7, HHV-8, JCV, BKV, ADV, ParvoB19, HBV) will be routinely monitored (once in every 2 to 4weeks after transplantation) to detect EBV and opportunistic infection earlier and treat the patients with PTLD as soon as possible.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 2 件、国際誌 12 件）

1. **Fukushima N, Ono M**, Saiki Y, Sawa Y, Nunoda S, Isobe M. Registry Report on Heart Transplantation in Japan (June 2016). *Circ J*. 2017 Feb 24;81(3):298-303.
2. Nakatani T, **Fukushima N, Ono M**, Saiki Y, Matsuda H, Nunoda S, Sawa Y, Isobe M. The Registry Report of Heart Transplantation in Japan (1999-2014). *Circ J*. 80(1): 44-50, 2016.
3. **福嶋教偉**、小野 稔、齋木佳克。日本における心臓移植報告（2015 年度）日本心臓移植研究会。移植。51(2,3): 160-164, 2016
4. 小垣滋豊。小児心臓移植患者の遠隔期の管理。日本小児循環器学会雑誌。2017, 33(1) : 24-35
5. Fujino T, Kinugawa K, Nitta D, Imamura T, Maki H, Amiya E, Hatano M, Kimura M, Kinoshita O, Nawata K, Komuro I, **Ono M**: Donor age is a predictor of early low output after heart transplantation. *J Cardiol* 2016 May; 67(5): 477-482
6. Nitta D, Kinugawa K, Imamura T, Endo M, Amiya E, Hatano M, Takahashi Y, Iriyama T, Kinoshita O, Nagamatsu T, Nawata K, **Ono M**, Komuro I: Successful Pregnancy and Delivery in a Heart Transplantation Recipient. *Int Heart J* 2016 May; 57(3): 383-5.
7. Kikuchi R, Mizuta K, Urahashi T, Sanada Y, Yamada N, Onuma E, **Ono M**, Endo M, Sato I, Kamibeppu K: Development of the Japanese Version of the PedsQL™ Transplant Module. *Pediatr Int* 2017 Jan; 59(1): 80-88.
8. Yamaguchi H., Ishida T., Yokoi T., Tanaka T., Maruyama A., Nagase H., Hasegawa D., **Imadome K.**, Takeda H., Kosaka Y., Uetani Y . Clinically Mild Encephalitis/Encephalopathy With a Reversible Splenic Lesion Accompanied by Epstein-Barr Virus Hemophagocytic Lymphohistiocytosis: A Case Report and Review of the Literature. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2017 Mar;39(2):e92-e96.
9. Takada H*., **Imadome K***., Shibayama H., Yoshimori M., Wang L., Saitoh Y., Uota S., Yamaoka S., Koyama T., Shimizu N., Yamamoto K., Fujiwara S., Miura O., Arai A. (* *contributed equally to this work*) EBV induces persistent NF-κB activation and contributes to survival of EBV-positive neoplastic T- or NK-cells. *PLoS One*. 2017 Mar 27;12(3):e0174136. doi:
10. **Imadome K.**, Fujiwara S. Generation and analysis of humanized mouse model of EBV infection. *Methods Mol Biol*. 2017; 1532:241-254
11. Yamada Y., Osumi T., **Imadome K.**, Takahashi E., Ohye T., Yoshikawa T., Tomizawa D., Kato M., Matsumoto K Transmission of chromosomally integrated humanherpesvirus 6 via cord blood transplantation. *Transpl Infect Dis*. 2017 Feb;19(1).
12. Matsui S, Takeda Y, Isshiki Y, Yamazaki A, Nakao S, Takaishi K, Nagao Y, Hasegawa N, Togasaki E., Shimizu R., Kawajiri C., Sakai S., Mimura N., Takeuchi M., Ohwada C., Sakaida E., Iseki T., **Imadome K.**, Nakaseko C. Chronic active Epstein-Barr virus infection with marked pericardial effusion successfully treated with allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Rinsho Ketsueki*. 2016 May;57(5):624-9.
13. Arai A., Sakashita C., Hirose C., **Imadome K.**, Yamamoto M., Jinta M., Fujiwara S., Tomita M., Shimizu N., Morio T., Miura O Hematopoietic stem cell transplantation for adults with EBV-positive T- or NK-

cell lymphoproliferative disorders: efficacy and predictive markers. Bone Marrow Transplant. 2016 Jun; 51(6):879-82.

14. Yui S., Yamaguchi H., **Imadome K.**, Arai A., Takahashi M., Ohashi R., Asayama T., Kondo A., Moriya K., Nakayama K., Dan K., Shimizu S., Inokuchi K. Epstein-Barr virus positive T cell lymphoproliferative disease following cord blood transplantation for acute myeloid leukemia. J Nippon Med Sch. 2016 ;83(1):35-42.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. **Fukushima N, Ono M**, Saiki Y, Sawa Y. Impact of support period and type of ventricular assist device on patient survival after heart transplantation: Japanese Heart Transplantation Registry 2016. 37th Annual Scientific Sessions of International Society for Heart and Lung Transplantation. April 2017, ポスター 国外
2. **Fukushima N, Ono M**, Kogaki S, Sawa Y. Japanese Registry for Pediatric Heart Transplantation: The First Report 2017. 37th Annual Scientific Sessions of International Society for Heart and Lung Transplantation. April 2017, 口頭 国外
3. **Fukushima N, Ono M**, Saiki Y, Ooka T, Tanoue T, Saito S, Fukushima S. The Role of Japanese Medical Consultant System on Improving Outcomes of Cardiac Recipients from Old Donors or Donors Who Died of Post-Resuscitation and Anoxia. The International Society of Heart and lung transplantation. April 2016 ポスター 国外
4. **小野 稔**: わが国における補助人工心臓と心臓移植 (口演). 第 23 回日本体外循環技術医学会関東甲信越地方会大会教育講演. 2016 年 4 月 鬼怒川 (国内)
5. D.Nitta, K. Kinugawa, T. Imamura, M. Endo, H. Maki, E. Amiya, M. Hatano, O. Kinoshita, K. Nawata, **M. Ono** and I. Komuro: The Number of Human Leukocyte Antigen DR Mismatch Is Associated with Early Post-Transplant Acute Cellular Rejection Among Heart Transplantation Recipients. 36th Annual Scientific Sessions of International Society for Heart and Lung Transplantation. April 2016, ポスター 国外
6. T. Imamura, K. Kinugawa, D. Nitta, M. Hatano, Y. Itoda, M. Kimura, O. Kinoshita, H. Yamauchi, K. Nawata and **M. Ono**: Novel Effect of Everolimus in Heart Transplant Recipients – Attenuation of Myocardial Hypertrophy and Improvement of Diastolic Function.. 36th Annual Scientific Sessions of International Society for Heart and Lung Transplantation. April 2016, ポスター 国外
7. 縄田 寛、木村光利、木下 修、山内治雄、平田康隆、波多野 将、網谷英介、新田大介、遠藤美代子、加賀美幸江、根本真理子、小室一成、**小野 稔**: 東大病院における心移植術後の遠隔成績と社会復帰の現況 (口演). 第 52 回日本移植学会総会、2016 年 9 月 東京
8. 外丸靖洋、渡邊健、清水則夫、**今留謙一** EB ウイルスゲノムコピー数の簡便・迅速な定量系の構築 第 25 回 EB ウイルス感染症研究会 2016.3.20 東京
9. 星野頭宏、金兼弘和、高木正稔、**今留謙一**、鹿間芳明、土居岳彦、岡田賢、小林正夫、今井耕輔、森尾友宏 CTLA4 欠損症は EB ウイルスに対して易感染性を示す 第 25 回 EB ウイルス感染症研究会 2016.3.20 東京

10. 柴山春奈、今留謙一、藤原成悦、渡邊健、清水則夫、坂下千瑞子、小山高敏、三浦修、新井文子
EBV 陽性 T,NK リンパ増殖症に対する Bortezomib の有用性の検討 第 25 回 EB ウイルス感染症研究会 2016.3.20 東京
11. 鳥井原彰、新井文子、中館雅志、山本浩平、今留謙一、三浦修、立石宇貴秀 EB ウイルス陽性 T/NK リンパ増殖性疾患の FDG-PET/CT 所見とその有用性の検討第 25 回 EB ウイルス感染症研究会 2016.3.20 東京
12. 野老翔雲、並木剛、乾恵子、三浦圭子、渡邊健、b、新井文子、横関博雄 皮疹部に血球貪食像を認め血球貪食症候群を合併した EBV-positive NK-lymphoproliferative disease の 1 例 第 25 回 EB ウイルス感染症研究会 2016.3.20 東京
13. 山下友佑、田村志宣、小畑裕史、大岩健洋、栗山幸大、村田祥吾、細川裕樹、西川彰則、金澤伸雄、今留謙一、園木孝志 治療抵抗性 EB ウイルス関連血球貪食症候群を発症した低身長・知的発達障害を有する 1 成人例 第 25 回 EB ウイルス感染症研究会 2016.3.20 東京
14. 東良紘、小林光、三宅晶子、太田陽香、市村卓也、田原晋作、原浩貴、山下裕司、b、藤原成悦、大島孝一、大賀正一 長期間全身 EBV 感染の再活性化を認めず咽頭 T-LPD を発症した CAEBV の 1 例 第 25 回 EB ウイルス感染症研究会 2016.3.20 東京
15. 吉田仁典、大隅朋生、今留謙一、宮澤永尚、伊藤玲子、岩淵英人、義岡孝子、中澤温子、富澤大輔、加藤元博、松本公一 節外性 NK/T 細胞リンパ腫、鼻型様の所見を呈した SMILE 療法が奏功した小児全身性 EBV 陽性 T 細胞リンパ増殖症の 1 例 第 25 回 EB ウイルス感染症研究会 2016.3.20 東京
16. 松田剛、今留謙一 EB ウイルス EBNA3C の新たな局在化シグナル 第 30 回ヘルペスウイルス研究会 2016.6.16 東京
17. 川野布由子、新井文子、伊藤守、清水則夫、松田剛、藤原成悦、今留謙一 難治性 EB ウイルス関連 T/NK リンパ増殖性疾患モデルマウスを用いた治療薬の評価研究 第 30 回ヘルペスウイルス研究会 2016.6.16 東京
18. 古田頌子、川野布由子、渡邊健、松岡浩、清水則夫、松田剛、今留謙一 EBV 関連難治性疾患における病態予測因子の探索と感染細胞産生 sFas の役割について 第 30 回ヘルペスウイルス研究会 2016.6.16 東京
19. 小野澤枝里香、柴山春奈、今留謙一、甘楽明穂、青木奨、小山高敏、三浦修、新井文子 慢性活動性 EB ウイルス感染症における炎症性サイトカインの産生の解析 第 13 回 EB ウイルス研究会 2016.7.9 東京
20. 米瀬一朗、今留謙一、小林大輔、山本浩平、三浦修、新井文子 蚊刺過敏症で発症し T 細胞リンパ腫へ進展した EB ウイルス陽性 T リンパ増殖症 第 13 回 EB ウイルス研究会 2016.7.9 東京
21. 外丸靖浩、渡邊健、清水則夫、今留謙一 EB ウイルスゲノムコピー数の簡単迅速定量系の構築 第 13 回 EB ウイルス研究会 2016.7.9 東京
22. 渡邊健、今留謙一、外丸靖浩、小島尚美、森尾友宏、清水則夫 EBV 潜伏感染遺伝子 mRNA の網羅的定量による EBV 関連疾患の迅速診断 第 13 回 EB ウイルス研究会 2016.7.9 東京
23. 松田剛、今留謙一 Identification and functional analysis of Epstein-Barr virus EBNA3C Nuclear localization signs 14(NLS4) 第 13 回 EB ウイルス研究会 2016.7.9 東京
24. Haruna Shibayama, Ken-Ichi Imadome, Chizuko Sakashita, Ken Watanabe, Fuyuko Kawano, Norio Shimizu, Takatoshi Koyama, Shigeyoshi Fujiwara, Osamu Miura, Ayako Arai In vitro and in vivo effects

of bortezomib on EBV-T/NK-LPDs 第78回日本血液学会学術集会 2016.10.14 横浜

25. Masayo Yamamoto, Motohiro Shindo, Yasumichi Toki, Mayumi Hatayama, Katsuya Ikuta, Ryoji Kobayashi, Masami Inoue, **Ken-Ichi Imadome**, Yoshihiro Torimoto, Toshikatsu Okumura Two cases of Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disease 第78回日本血液学会学術集会 2016.10.14 横浜
26. Go Matsuda, **Ken-Ichi Imadome** Identification and functional analysis of Epstein-Barr virus EBNA3C Nuclear localization signal 4(NLS4) 第64回日本ウイルス学会学術集会 2016.10.24 札幌
27. Fuyuko Kawano, Go Matsuda, Norio Shimizu, Mamoru Ito, Shigeyishi Fujiwara, **Ken-Ichi Imadome** The study of drug evaluation using the model mouse of EBV-T/NK-LPD 第64回日本ウイルス学会学術集会 2016.10.24 札幌
28. 松田剛、今留謙一 EB ウイルス核遺伝子 EBNA3C の新たな核局在化シグナル(NLS)の発見と複数の NLS の戦略的使用 第39回日本分子生物学会年会 2016.12.1 横浜
29. 山澤 翔、林 玲匡、牛久 綾、那須 涼、小倉 瑞生、今留謙一、黒川 峰夫、深山 正久 EBV 陽性 T 細胞リンパ腫の治療後に EBV 陽性 B 細胞リンパ腫が出現した一例 第73回日本病理学会関東支部学術集会 2016.12.10 東京

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

無し

(4) 特許出願

無し