<症例報告>

急性肝炎として発症した HHV-6単核症の1例 —特に非アイソトープ標識 ISH 法を用いた, 肝生検組織中のウイルス感染細胞の同定

井本 勉¹⁾ 金 守良¹⁾ 稲城 玲子²⁾ 内田 俊和³⁾
林 祥剛⁴⁾ 佐々木一憲¹⁾ 新谷 繁之¹⁾

要 旨：症例は28歳，主婦，生来健康。1995年2月8日に結婚，5月8日より微熱，咽頭痛出現，某医に肝障害を指摘され5月20日紹介入院した。主たる入院時現症は，体温37.6℃，左頸部のリンパ節腫脹，咽頭炎，肝脾腫，であり，主たる入院時検査成績は，GOT(467 IU)，GPT(504 IU)，LDH(899 IU)の上昇と，異型リンパ球の出現(4.5%)を伴う著明な単核球増多(79.0%)であった。ウイルスマーカーの検索から，A，B，C型肝炎ウイルス，EBV，CMVの関与は否定されたが，HHV-6のIgG型抗体(×640)及びIgM型抗体(×40)が検出された。5月21日採取の肝生検組織は急性肝炎像を呈し，ISH法により肝細胞核及び肝類洞壁細胞核にHHV-6ゲノム陽性所見を得た。以上よりHHV-6単核症と診断した。患者は対症療法のみで軽快した。自験の単核症を呈した疾患64例のうち，かかる例は1例のみであり，肝の免疫組織学的検査を実施し，感染細胞を同定した成人のHHV-6単核症の報告例はこれが最初と思われる。

索引用語： HHV-6単核症 急性HHV-6肝炎 ISH法 肝細胞(核)
肝類洞壁細胞(核)

はじめに

私達は結婚後3カ月目に急性肝炎として発症したhuman herpesvirus type 6(HHV-6)単核症の1例を経験したので文献的考察を加えて報告する。かつ，自験例の単核症を呈した疾患のうち，かかる症例の頻度を求めるとともに，パラフィン包埋肝生検組織を用いてin situ hybridization(ISH)法によるウイルス感染細胞の同定を試みたので提示する。

症 例

症例：28歳，主婦。

主訴：微熱，倦怠感，咽頭痛。

家族歴：糖尿病性素因(+)，父，糖尿病。

既往歴：特記事項なし。飲酒歴，輸血歴もない。

現病歴：1995年2月8日に結婚した。同年5月8日頃から微熱，倦怠感あり，次第に咽頭痛を自覚した。5月15日某医を受診し，肝機能異常を指摘され，5月20日に当院に入院した。

入院時現症：身長158cm，体重46kg，体温37.6℃，血圧114/70mmHg，脈拍69/分，整。意識清明。皮膚に著見なし。結膜に黄疸，貧血なし。左頸部に大豆大のリンパ節を2個触知し，軽度の咽頭炎を認める。胸部の理学的所見に異常なし。肺肝境界第6肋骨，腹部

A case of HHV-6 mononucleosis occurred as acute hepatitis with special reference to the identification of virus infected cells in liver biopsy specimen using non-isotopic ISH procedure

Susumu IMOTO¹⁾, Soo Ryang KIM¹⁾, Reiko INAGI²⁾, Toshikazu UCHIDA³⁾, Yoshitake HAYASHI⁴⁾, Kazunori SASAKI¹⁾ and Shigeyuki SHINTANI¹⁾

¹⁾Department of Gastroenterology, Kobe Asahi Hospital

²⁾Department of Microbiology, Osaka University Medical School

³⁾The Second Department of Pathology, Showa University Medical School

⁴⁾The First Department of Pathology, Kobe University Medical School

¹⁾神戸朝日病院消化器科，²⁾大阪大学細菌学教室，³⁾昭和大学第2病理学教室，⁴⁾神戸大学第1病理学教室

<受付日1999年9月28日>

は平坦で肝を右中鎖骨線上半横指触知、脾濁音の拡大を認めるが脾は触知せず。

入院時検査成績(表1)：末梢血では、白血球数は正常であったが、白血球分画で単核球増多が著明で、大型の異型リンパ球も認められた。血液生化学検査では GOT, GPT, LDH の中等度の上昇がみられた。血清学的検査では IgG の軽度の、IgM の中等度の増量が認められた。Paul-Bunnell 反応は陰性であった。血中自

己抗体については抗平滑筋抗体が検出された。肝炎ウイルスマーカーの検索から A, B, C 型の肝炎ウイルスの感染は否定された。ヘルペス群ウイルスの関連抗体の検索では Epstein-Barr Virus(EBV), cytomegalovirus(CMV)とも既感染像を示したが、HHV-6 については IgG 型抗体及び IgM 型抗体が検出され初感染が疑われた。

肝生検組織所見(図1, 2, 3)：5月21日(入院第2

表1 入院時検査成績

〔一般検査〕

検血 赤血球数 $462 \times 10^4/\text{mm}^3$, 色素量 13.4g/dl, 白血球数 $8700/\text{mm}^3$,
血液像 N 17.0(St 7.0, Seg 10.0), E 3.5, B 0.5, Mo 2.0, L 72.5, atyp.L 4.5,
血小板数 $22.4 \times 10^4/\text{mm}^3$

検尿 蛋白(±)以外著見なし

検便 潜血(-), 虫卵(-)

血沈 10mm(中等価)

〔血液生化学検査〕

総ビリルビン 0.6mg/dl, GOT 467IU, GPT 504IU, LDH 899IU, アミラーゼ 80SU,
Al-P 10.4KAU, γ -GTP 31IU, 総蛋白 7.0g/dl, Alb 58.0%, α_1 -Glob 3.9, α_2 5.1, β 10.5,
 γ 22.5, Ch-E Δ pH 0.69, プロトロンビン時間 80%

〔血清学的検査〕

IgG 1952mg/dl, IgA 261mg/dl, IgM 456mg/dl, CRP 0.5 mg/dl, Paul-Bunnell 反応(-) $\cdots \times 14$

〔免疫学的検査〕

ANA(-), ASMA(+) $\cdots \times 20$, AMA(-), Coombs 試験 直接(-), 間接(-), RA(-)

〔肝炎ウイルスのウイルス学的検査〕

HAV : anti-HA(-), anti-HA-IgM(-)

HBV : HBsAg(-), anti-HBs(-), anti-HBc(-)

HCV : anti-HCV(2nd)(-), HCV-RNA(-)

〔ヘルペス群ウイルスのウイルス学的検査〕

EBV : VCA-IgG-Ab(+) $\cdots \times 320$, VCA-IgM-Ab(-) $\cdots < 10$,

EA-IgG-Ab(-) $\cdots < 10$, EBNA-Ab(+) $\cdots \times 80$

CMV : CF-Ab(+) $\cdots \times 32$, EA-IgG-Ab(+) $\cdots \times 64$, MA-IgM-Ab(-) $\cdots < 10$

HHV-6 : HHV-6-IgG-Ab(+) $\cdots \times 640$, HHV-6-IgM-Ab(+) $\cdots \times 40$

図1 肝生検組織：急性肝炎の像が認められた。
(H.E染色, $\times 100$)

図2 肝生検組織：中央部の肝細胞核に HHV-6 ゲノムが検出された。(非アイソトープ標識 ISH 法, $\times 1000$)

病日)に肝生検を実施した。類洞内のリンパ球の連鎖状配列がみられたがその程度は軽く、また門脈域にリンパ球反応は殆ど認められなかった。その他、好酸体、巣状壊死などが観察された。組織学的には急性肝炎の所見であった。なお、パラフィン包埋肝組織の薄切切片につき、HHV-6 glycoprotein H 内に設定した digoxigenin 標識 PCR プローブ¹⁾を用い ISH 法で HHV-6ゲノムを検索したところ、少数の肝細胞核及び肝類洞壁細胞核に陽性シグナルが検出された。

入院後の経過(表2)：種々の検索成績から HHV-6 単核症と診断し、対症療法のみで経過を観察したが、順調に回復し1995年6月29日に退院した。なお、後日、

図3 肝生検組織：中央部の肝類洞壁細胞核に HHV-6ゲノムが検出された。(非アイソトープ標識 ISH 法, ×1000)

入院時と退院時のペア血清について、HHV-6では更に1995年12月9日の採血血清について、EBV, CMV, HHV-6の関連抗体価を測定したところ、EBV, CMVの既感染が再確認され、HHV-6・IgG 抗体の8倍の下降と IgM 抗体の陰性化から HHV-6の初感染が改めて証明された。因みに1995年5月27日に採血した新郎の血清 HHV-6・IgG 抗体価は×40, IgM 抗体価は<10で、HHV-6の既感染者即ち HHV-6のキャリアーと考えられた。

考 案

Salahuddin ら²⁾により1986年に発見された HHV-6 は、その後 type A, type B の二つの遺伝子型に分別されることが証明された³⁾。type A の臨床的意義は現在なお不明であるが、type B は乳児の突発性発疹の起因ウイルスの一つである⁴⁾他、肝障害、劇症肝炎、髄膜炎、脳炎、間質性肺炎、心筋炎の発生等々、臨床像に広がりが見られ⁵⁾、主として思春期以降の初感染では、伝染性単核症類似の症状を呈する例の存在することが知られてきた^{6,7)}。

HHV-6の既感染者、ことに成人は唾液からウイルスを排泄し、多くの場合経口または経気道的に感染を成立させるといわれている⁵⁾。本邦の HHV-6の血清疫学的調査では生後6カ月～1歳にかけて殆どの乳児が初感染をうけることが明らかにされており⁸⁾、米国ではこれより少し遅れるものの2～3歳までに殆どの乳幼児が初感染をうけることに変わりはない⁹⁾。したがって本邦、米国ともに青壮年期に HHV-6の初感染をうけることは

表2 複数血清による EBV, CMV 及び HHV-6関連抗体価の測定

検査項目(基準値)	採血年月日		
	'95年5月20日	'95年6月29日	'95年12月9日
EBV			
VCA・IgG-Ab (<10)	320	320	n.d.
VCA・IgM-Ab (<10)	<10	<10	n.d.
EA・IgG-Ab (<10)	<10	<10	n.d.
EBNA-Ab (<10)	80	80	n.d.
CMV			
CF-Ab (<4)	32	32	n.d.
EA・IgG-Ab (<8)	64	32	n.d.
MA・IgM-Ab (<8)	<8	<8	n.d.
HHV-6			
HHV-6・IgG-Ab (<10)	640	1280	160
HHV-6・IgM-Ab (<10)	40	40	<10

VCA : viral capsid antigen, EA : early antigen, EBNA : EBV-associated nuclear antigen, CF : complement fixation, MA : membrane antigen, n.d. : not determined

少ないが、HHV-6単核症例が散発的に報告されている^{6,7)}。

Steeper ら⁶⁾は、単核症の母数の記載を欠くが、非 EBV、非 CMV の単核症27例を蒐集し、うち8例は HHV-6単核症であったと述べ、病因不明の単核症中かなりの率を占めることを強調するとともに本症の臨床的、検査室的所見を総括して報告している。本例は単核症を呈し、発熱、頸部リンパ節腫脹、咽頭炎、脾腫等々、すべて Steeper ら⁶⁾の記載に一致し、意義深いことに突発性発疹を欠く点も共通していた。これらに加え諸検査成績、特に複数血清によるウイルス抗体価の測定及び ISH 法による肝組織の検索から HHV-6単核症と診断した。かつ、単核症を来したことから HHV-6の遺伝子型は type B と推測された。因みに HHV-6の潜伏期間は7日～14日といわれており⁹⁾、他者からの飛沫感染も否定できないが、接触頻度から考えて、おそらくは、HHV-6キャリアーである新郎からの感染によるものと推定された。自験の単核症を呈した64例中61例は EBV 初感染症(43例)、CMV 初感染症(15例)、EBV と CMV の重複初感染症¹⁰⁾(2例)、EBV と HBV の重複初感染症¹¹⁾(1例)で、残りの非 EBV、非 CMV の3例中1例が本例であったにすぎず単核症例のうち稀少例に属すると考えられる。

HHV-6単核症ではしばしば肝が侵襲されるが^{6,7)}、肝生検を実施した例や肝組織内のウイルス感染細胞を同定した例は見当たらない。自験例の観察では、伝染性単核症や CMV 単核症の際にみられる急性肝炎の肝組織像^{12,13)}と質的に差異はないようであったが、門脈域のリンパ球反応の微弱なのが目についた。しかしこれが HHV-6単核症の際にみられる急性肝炎に特徴的な所見か否かについては多数の症例の集積を待たねばならない。私達は更にパラフィン包埋肝の薄切切片につき HHV-6特異プローブを用い ISH 法を施行し、肝細胞核及び肝類洞壁細胞核に陽性シグナルを検出した。Inagi ら¹⁴⁾は、HHV-6は、ヒト肝癌細胞由来の Hep G2細胞に直接感染し、炎症性サイトカイン(インターロイキン8)の産生を亢進させる、その結果肝内でサイトカイン仲介性炎症反応が惹起される可能性がある、と報告している。したがって、肝細胞に感染のみられた自験例の肝障害にもかかる機序の作動を考えねばならない。Tajiri ら¹⁵⁾は20カ月の男児にみられた、HHV-6による慢性肝炎例の肝生検組織について ISH 法を施行し、肝細胞、肝類洞壁細胞、胆管上皮細胞のそれぞれの核に HHV-6ゲノムを検出しているが、自験例では胆管上皮細胞核に陽

性シグナルを見出し得なかった。乳児や免疫不全の宿主に発した CMV 感染症の剖検肝と健康成人に発した急性 CMV 肝炎の間でも、肝組織内のウイルス感染細胞について同様の差異が認められている^{13),16,17)}。分子生物学的手法を用いた DNA 解析により、HHV-6はヒト CMV によく似たウイルスであることが証明されている¹⁸⁾ ことと併せ興味深い事実と思われる。

結 語

急性肝炎として発症した HHV-6単核症の1成人例を経験し、症例の概要を述べた。自験の単核症を呈した疾患64例のうち、かかる例は1例のみであった。ISH 法により肝生検組織内のウイルス感染細胞は肝細胞(核)及び肝類洞壁細胞(核)と同定された。

文 献

- 1) 野村慎太郎：DIGラベルプローブの作製法 2 PCR プローブ。「非アイトープ実験プロトコル」野村慎太郎、稲澤譲治著、秀潤社、東京、1994、p22—23
- 2) Salahuddin SZ, Ablashi DV, Markham PD, et al: Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. *Science* 234 : 596—601, 1986
- 3) Ablashi DV, Agut H, Berneman Z, et al: Human herpesvirus-6 strain groups: A nomenclature. *Arch Virol* 129 : 363—366, 1993
- 4) Yamanishi K, Okuno T, Shiraki K, et al: Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthem subitum. *Lancet* i : 1065—1067, 1988
- 5) 布上 董：突発性発疹(HHV6, HHV7感染症)、臨床とウイルス 23(増刊号)：85—88, 1995
- 6) Steeper TA, Horwitz CA, Ablashi DV, et al: The spectrum of clinical and laboratory findings resulting from human herpesvirus-6(HHV-6) in patients with mononucleosis-like illness not resulting from Epstein-Barr virus or cytomegalovirus. *Am J Clin Pathol* 93 : 776—783, 1990
- 7) Akashi K, Eizuru Y, Sumiyoshi Y, et al: Brief report: severe infectious mononucleosis-like syndrome and primary human herpesvirus 6 infection in an adult. *N Engl J Med* 329 : 168—171, 1993
- 8) Yoshikawa T, Suga S, Asano Y, et al:

- Distribution of antibodies to a causative agent of exanthem subitum (human herpesvirus-6) in healthy individuals. *Pediatrics* 84 : 675—677, 1989
- 9) Brown NA, Sumaya CV, Liu C-R, et al : Fall in human herpesvirus 6 seropositivity with age. *Lancet* ii : 396, 1988
- 10) 井本 勉, 内田俊和, 金 守良 : 健康成人に発し, 高度のトランスアミナーゼ値の上昇を認めた, EBV と CMV の重複初感染による急性肝炎の 1 例. *肝臓* 38 : 496—500, 1997
- 11) 井本 勉, 松本秀敏, 大矢美香子, 他 : HBV と EBV の同時初感染例の検討—特に HBs 抗原キャリアーへの移行の機序について—. *肝臓* 26 : 797, 1985
- 12) 井本 勉, 松井俊二郎 : 既知ウイルス感染症に伴った肝障害—肝炎ウイルスによるものを除く. *医学のあゆみ* 151 : 775—779, 1989
- 13) 井本 勉, 倉田 毅, 井上恭一, 他 : 健康成人に発した急性 CMV 肝炎例の光顕的観察ならびに ABC 法による CMV 抗原の検出. *肝臓* 31 : 216—217, 1990
- 14) Inagi R, Guntapong R, Nakao M, et al : Human herpesvirus 6 induces IL-8 gene expression in human hepatoma cell line, Hep G2. *J Med Virol* 49 : 34—40, 1996
- 15) Tajiri H, Tanaka-Taya K, Ozaki Y, et al : Chronic hepatitis in an infant, in association with human herpesvirus-6 infection. *J Pediatr* 131 : 473—475, 1997
- 16) Ten Napel Chr HH, Houthoff HJ, The TH : Cytomegalovirus hepatitis in normal and immune compromised hosts. *Liver* 4 : 184—194, 1984
- 17) 小財健一郎, 鹿毛政義, 神代正道 : 乳児サイトメガロウイルス感染肝の臨床病理学的研究. *Minophagen Medical Review* 36 : 411—412, 1991
- 18) Berneman ZN, Ablashi DV, Li G, et al : Human herpesvirus 7 is a T-lymphotropic virus and is related to, but significantly different from, human herpesvirus 6 and human cytomegalovirus. *Proc Natl Acad Sci USA* 89 : 10552—10556, 1992
-