

## 2. EB ウイルス感染と発がん

西 連 寺 剛

### はじめに

EB ウイルス (Epstein-Barr virus; EBV) はヒトに広く伝播しておりほとんどの健常成人に潜伏感染している<sup>1)</sup>。しかし、伝染性単核球症 (infectious mononucleosis; IM) の病因及び、バーキットリンパ腫 (Burkitt's lymphoma; BL), 上咽頭癌 (nasopharyngeal carcinoma; NPC), ホジキン病, B, T, NK リンパ腫などの悪性腫瘍と関連している<sup>2,3)</sup>。EBV は B 細胞向性であるが、上皮細胞, T 細胞, NK 細胞などにも感染し、その多様な標的が多彩な腫瘍発生と関わっている。EBV 感染の特徴は生体 (細胞) 内での潜伏と再活性化である。EBV は生存戦略として、宿主細胞内でウイルス遺伝子として潜伏し、細胞を増殖させる能力を有し、宿主からのシグナルを受けて再活性化し、ウイルスとして増殖する。EBV は、細胞の増殖機構を巧妙に利用し、宿主はそれを調節しながら共存する。免疫の欠陥が EBV 感染細胞の異常増殖を伴う発がんへ進展する。EBV の発がんへの関りは、宿主との共存関係の不成立と考えられる。

### 1. EBV 感染宿主細胞と多彩な腫瘍との関り

#### (1) B 細胞

EBV はアフリカの小児に見られる悪性腫瘍である BL の培養細胞から発見された<sup>4)</sup>。BL は B 細胞の腫瘍である。IM や EBV 抗体陽性の健常人末梢血からは EBV 感染 B 細胞株が樹立され、リンパ球に EBV を感染させると B 細胞株が樹立される。このように EBV は B 細胞向性であり、それは B 細胞表面に多量に発現されている EBV レセプター CD21 (補体レセプター CR2) 及び B 細胞の持つ性質に依存する。EBV は、エンベロープ蛋白 gp350/220 で CR2

に吸着し、細胞内へ侵入し、ウイルス遺伝子として潜伏する。EBV 初感染が乳幼児期では、ほとんど不顕性感染であるが免疫が発達した思春期では IM を発生する。EBV 既感染の健常人末梢血では B 細胞百万個に 1 個程の割合で潜伏感染しており、静止期の B 細胞は EBV 潜伏の格好な場所である。宿主の免疫低下により感染 B 細胞は、増殖抑制から解放されリンパ球増殖症 (lymphoproliferative disease; LPD) を誘発する。

#### (2) 上皮細胞の腫瘍

EBV 感染上皮細胞の悪性腫瘍 (癌) として NPC があり、更に唾液腺癌や胃癌に EBV 感染が見出される<sup>5-7)</sup>。AIDS 患者でみられる oral hairy leukoplakia は、上皮細胞の良性の異常増殖であるが、この部位での EBV 感染は潜伏でなくウイルス増殖が見られる。上皮細胞への *in vitro* での EBV 感染効率、極めて低い。上皮細胞株へ CR2 遺伝子を発現させたり、EBV 特異的抗 IgA 抗体が EBV を結合し、その複合体が上皮細胞内へ取り込まれ感染することが報告されている<sup>8)</sup>。G418 耐性遺伝子を組み込んだ EBV 感染 Akata 細胞株と胃癌由来上皮細胞株との共培養により効率に EBV が感染する<sup>9)</sup>。その Akata EBV を、上皮細胞へ感染させると悪性化が誘導される<sup>10)</sup>。いずれも CR2 以外の感染が指摘される。EBV 感染上皮細胞株は、未だ報告が極めて少ない<sup>11)</sup>。それらの上皮細胞株を用いた EBV 感染や発がんの分子レベルでの研究は最近になってからである<sup>12-17)</sup>。

#### (3) その他

EBV は T 細胞や、NK 細胞にも感染し、T リンパ腫、NK リンパ腫、白血病や慢性活動性 EBV 感染症などの、悪性疾患と関わっている<sup>18-22)</sup>。ホジキン病の腫瘍細胞 (Reed-Sternberg cells) にも EBV 感染が見られるが、その感染割合は、全体の 4-6 割程である。

### 2. EBV 潜伏遺伝子の機能と発がんとの関り

EBV の潜伏、再活性化、不死化やがん化の性状は EBV 遺伝子発現に依存する。EBV は 2 本鎖 DNA を持ち、ウイルス粒子内では直鎖状、細胞内では環状 DNA として、

鳥取大学医学部生命科学科生体情報機能学講座生体情報学分野 (〒683-8503 米子市西町86)

Epstein-Barr virus and oncogenesis

Takeshi Sairenji

Division of Biosignaling, Department of Biomedical Sciences, School of Life Science, Faculty of Medicine, Tottori University

86 Nishi-cho, Yonago 683-8503

稀に細胞染色体に組込まれて存在する<sup>2,3)</sup>。EBV DNA から約100遺伝子がコードされ、EBV 潜伏細胞では、極く限られた遺伝子のみが発現している。EBV encoded small RNA (EBER) という特徴的な RNA が発現されている。蛋白としては、核抗原 (EBV-nuclear antigen; EBNA)-1, -2, -3 A, -3 B, -3 C, -LP と潜伏感染膜蛋白 (latent infection membrane protein; LMP) -1, -2 A, -2 B である。これらの発現様式は宿主細胞の種類によって異なり、発現が最も少ない潜伏感染 I 型、それより多い II 型及び全てが発現される III 型に分類され、発がんとも密接に関わっている<sup>2,3)</sup>。

### (1) EBER

EBER は RNA である。しかし、最近になって発がんの機能を持つことが見出された<sup>23-26)</sup>。EBER はポリ A(-) RNA で、RNA ポリメラーゼ III により転写され、蛋白質には翻訳されず、 $10^6 \sim 10^7$  分子/細胞と多量に発現されている。EBER はアデノウイルスの VA 1, VA 2 遺伝子と相同性を持ち、double stranded RNA activated protein kinase (PKR) との結合性も類似している。PKR はインターフェロン (IFN) によって誘導され、翻訳開始因子 eIF 2 $\alpha$  をリン酸化しその活性を阻害するため、蛋白質合成が抑制され、ウイルス増殖が阻止される。EBER が IFN によるアポトーシス誘導に対して抵抗性を賦与し、そのアポトーシス抵抗性は EBER が PKR へ結合し、その活性化を阻害することが明らかにされた<sup>26)</sup>。BL 細胞は EBER により IL-10 を誘導し、IL-10 を自己増殖因子として増殖する<sup>25)</sup>。EBER は bcl-2 発現を高める<sup>24)</sup>。このように EBER は感染細胞の増殖及び生存維持に機能するため、細胞の不死化およびがん化への関わりが極めて濃厚である。

### (2) EBNA 1

EBNA 1 は EBV 遺伝子を細胞内へ維持する働きや、潜伏 EBV 遺伝子の転写を活性化するので EBNA 1 なしでは、EBV は潜伏できない。EBNA 1 は EBV DNA の複製起点である ori-P の DS 部位に 2 量体で結合し、ウイルス DNA の複製を導く<sup>27)</sup>。EBV DNA は、細胞の DNA ポリメラーゼにより、DNA 合成 (S) 期の初めに細胞 DNA 合成と同調して複製され安定に維持される。EBNA 1 は細胞遺伝子をも活性化するなど細胞不死化への関わりが示唆されている。しかし EBNA 自身が、細胞不死化やがん化を誘導することは知られていない。

### (3) EBNA 2

EBNA 2 は B リンパ球の不死化に中心的役割をしている。EBNA 2 は EBV 感染後に最初に発現され他の EBV 潜伏遺伝子群の発現を活性化するマスター転写因子で、細胞遺伝子 CD21, CD23, c-fgr なども活性化する。EBNA 2 はこれらの遺伝子のプロモーター上流にある EBNA-2

responsive element (RE) を介して、遺伝子を活性化する。EBNA-2 は RE に直接結合せず、細胞転写因子 RBP-jk と会合してそれぞれの遺伝子を活性化する<sup>28)</sup>。EBNA-2 と RBP-jk 複合体は活性型 Notch と類似の活性を示す。EBNA-2 および Notch が結合する RBP-jk の部位は同一であり、EBNA-2 の情報伝達経路と Notch 経路との関連が示唆される。

### (4) EBNA-3 A, -3 B, -3 C

EBNA-3 A, -3 B, -3 C は B リンパ球の不死化に必須である。EBNA-3 C は CD21 や LMP 1 の発現を誘導する。EBNA-3 C は EBNA-2 と同様に RBP-jk と相互作用し、DNA へ結合し、EBNA-2 の転写調節能を有する。EBNA-3 C はヒト転移抑制蛋白 Nm23-HI と特異的に結合し、それを抑制するなど癌転移との関りも示唆される<sup>29)</sup>。

### (5) EBNA-LP

EBNA-LP は EBNA-2 と同様、感染後最初に発現され EBNA-2 の co-activator として知られている。p53, RB 蛋白, 熱ショック蛋白との相互作用が知られる。EBNA-LP は B 細胞の不死化には必須でないが B リンパ球の不死化を促進する。EBNA-2 と共に細胞周期を G0 から G1 期へ移行させるサイクリン D 2 の発現を活性化する。

これら EBNA-LP の機能活性化に必須なリン酸化部位が最近同定された<sup>30)</sup>。

### (6) LMP-1

LMP-1 は、がん遺伝子として知られ、ヒトケラチノサイトやラットやマウス線維芽細胞を悪性化する。B リンパ球の不死化に必須であり、LMP-1 トランスジェニックマウスでは B 細胞リンパ腫を発生する<sup>31)</sup>。B 細胞活性のマーカーである CD23 や、増殖受容体 CD40 や、増殖に関係する NF- $\kappa$ B, 接着因子である LFA や ICAM-1, 抗アポトーシス活性をもつ Bcl-2 の発現や IL-10 などのサイトカインを誘導する多機能を有する。上皮細胞では、分化を阻止し、EGF 及び EGF レセプターを活性化することや、基底膜のコラーゲンを分解する matrix metalloproteinase 9 を活性化し、NPC などの発がん・転移にも関りが示されている<sup>32)</sup>。

### (7) LMP-2 A

LMP-2 A は、膜を 12 回貫通する蛋白で、B 細胞レセプター (BCR) の  $\alpha$ -,  $\beta$ -鎖に存在する immunoreceptor tyrosine-based activation motifs (ITAMS) を C 末側に有する。LMP 2 A 及び BCR は Src ファミリーチロシンキナーゼのメンバーである Lyn と結合し、Lyn によって ITAMS 内のチロシンリン酸化は Syk チロシンキナーゼを引きよせ、PLC- $\gamma$ 2 から IP3-DAG シグナルを活性化し細胞を生存へ向かわせる<sup>33)</sup>。BCR からのシグナルによって B 細胞

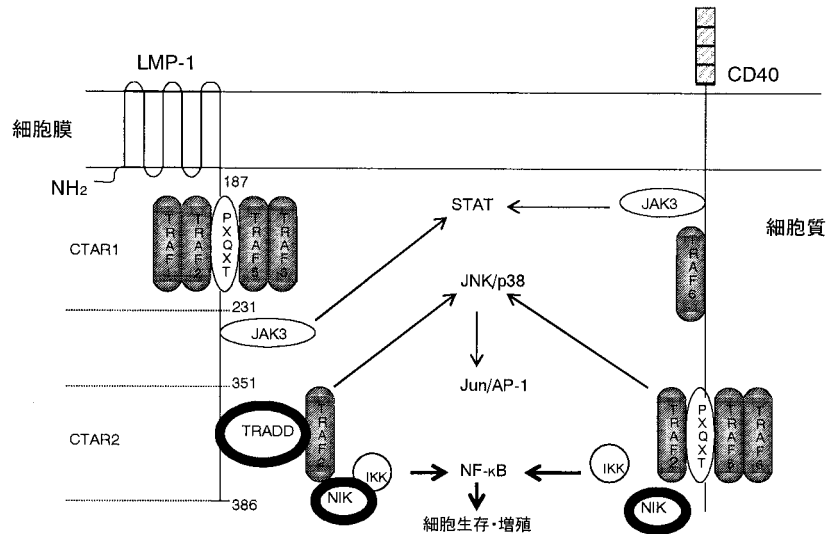


図1 LMP-1とCD40シグナルとの関連  
LMP-1は、CD40のシグナル経路に働きNF-κBを活性化し、細胞増殖のシグナルを伝達する（文献33より改変）。

内EBVの再活性化及びアポトーシスは誘導されるが、LMP-2A発現は、そのシグナルを抑制し、EBV再活性化及びアポトーシスを阻害する<sup>34</sup>。

### 3. LMP-1の構造と細胞増殖機能

LMP-1はEBVのがん遺伝子として最も良く研究されている。LMP-1は63-kDの膜蛋白質で、細胞膜を6回貫通している（図1）。B細胞の増殖やアポトーシスのシグナルに関連するtumour-necrosis-factor(TNF)-receptor-associated factors (TRAF)ファミリー蛋白と結合している<sup>35,36</sup>。LMP-1のC末端には2カ所のNF-κB活性化領域が存在する。1カ所は187から231番目の部分でTRAF結合配列(Pro-X-Glu-X-Thr;PXQXT)領域(CTAR1)である。この領域からは細胞増殖開始のシグナルが送られる。もう1カ所は351から386部分のアミノ酸領域(CTAR2)でTNF-receptor associated deth domain (TRADD)を介してTRAF2分子が結合している。この領域は不死化細胞増殖のシグナルが伝達される。LMP-1の持つ多彩な機能はNF-κB活性化により誘導される。CTAR2のNF-κB活性化領域にTRAF2が結合し、NF-κBの強力な活性化がおこる。このTRAFを介したNF-κBのシグナルは、TNFレセプターファミリーCD40の細胞増殖シグナル伝達と極めて類似している<sup>37</sup>。CD40はそのリガンドと結合したときのみ、C末端のTRAF結合ドメインへTRAFを結合し細胞の増殖を進行させる。一方LMP-1は、細胞外からのリガンドによる活性化シグナルなしにTRAF結合ドメインでTRAF分子と結合しており、恒常的にそのシグナル伝達経路を活性化し、細胞増殖のシグナルを常時ONの活性化状態にする。CD40及びLMP-

1は、mitogen-activated protein kinase (MAPK) kinase (MAPKK)の1つ、NF-κB inducing kinase (NIK)を活性化し、NF-κBを活性化してB細胞のアポトーシスを抑制し、増殖へと向わせる。NF-κBの活性化はCTAR1からのシグナルでも起きるがCTAR2からの活性化がその中心である。更に、TRAF2はc-Jun N-terminal kinase (JNK)/p38/JunAP-1を、JAK3はSTATを活性化し、細胞増殖のシグナルとなる<sup>38</sup>。このようにEBVはLMP-1で、宿主のCD40のシグナル経路を利用し、それを常時ONの状態にし細胞を増殖させる。CTAR2部位の遺伝子欠失や変異はEBV発がんに関わるという魅力的なデータが多い。しかし、その欠失や変異は健康人と胃癌からのEBVでも同様で発がんへの関与は、未解決である<sup>39</sup>。

### 4. LMP-1はTGF-β1シグナルの異常を誘導する

筆者らは、種々の腫瘍で知られているTGF-β1による細胞増殖の抑制、およびアポトーシスの異常に着目した。EBV感染上皮細胞株GT38及びGT39は、多量のTGF-β1を産生し、TGF-β1による増殖抑制及びアポトーシスに対して耐性を示すが、その高濃度ではEBV再活性化が誘導されることを見出した<sup>16</sup>。TGF-β1によるEBV再活性化と細胞増殖抑制のシグナル経路は異なり、前者は、Smad系、後者は、Ras/MAPK/p21系のシグナルを介する（図2）。これらの細胞株では、MAPK (Erk1, 2)が恒常的にリン酸化されており、TGF-β1を加えてもそのリン酸化の増強は見られない<sup>40</sup>。Raf/Ras/MAPKの活性化によりMAPKの恒常的リン酸化はLMP-1遺伝子、またはras変異遺伝子(Ras12V)を導入したHSC-39細胞(TGF-β1感受性コントロール)でも同様に起こることを

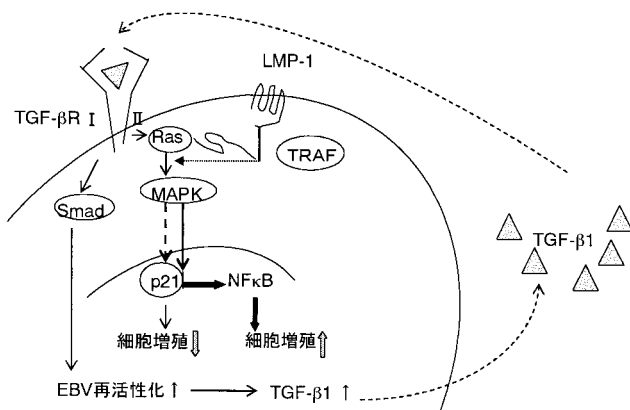


図2 TGF-β1とLMP-1シグナルとの関連  
TGF-β1からの細胞増殖抑制シグナルはLMP-1によって細胞増殖シグナルへ変換される。

見出した。TGF-β1による細胞増殖抑制機構が働かないのは、LMP-1によるMAPKの恒常的リン酸化から、NF-κBを活性化し、それが細胞増殖への強力なアクセルとなり、細胞増殖を抑制するp21からのブレーキがきかないことを明らかにした。TGF-β1及びTGF-β1シグナルの異常は、EBV発がんにおいて重要な因子であることが示唆される。TGF-β1はNPCを始めとするEBV関連疾患の患者血清中で高いレベルで検出されている。このTGF-β1シグナル異常はLMP-1が発現されている潜伏感染Ⅱ及びⅢ型のNPCやLPDの発がんのモデルに適用させる。

## 5. 免疫と発がんの関り

EBV特異的細胞障害性T細胞(cytotoxic T lymphocyte;CTL)はEBV感染細胞を殺す腫瘍免疫の中心である。EBNAやLMPがその標的となり、感染細胞は排除される。LCLは、Ⅲ型感染で全ての潜伏遺伝子が発現され、容易にCTLの標的となる。Ⅱ型感染はそれにつき、Ⅰ型感染は、EBNA1発現のみでCTLの標的とならない<sup>3)</sup>。EBNA1は、細胞内プロテオソームによる分解を抑制するためEBNA1のみを発現する腫瘍細胞ではそれを抗原提示できないと説明される。BLはEBNA1のみ、胃癌は、それに近い発現を示し<sup>6,7,41)</sup>、CTLを回避すると考えられる。

IMはEBV未感染のヒトが初感染を受け発症する。感染B細胞のLPDで自己のEBV感染免疫の成立と共に自然に快復する。異型性リンパ球が出現するが、それはEBV感染細胞に反応するCTL細胞である。しかしX-linked lymphoproliferative disease(XLP)はEBVの初感染で致命的となる。XLP遺伝子を持つ男子の75%はEBV初感染後1ヵ月以内で死亡する。それはsignaling lymphocyte activation molecule(SLAM;CD150)遺伝子の変異が原因である<sup>42)</sup>。EBV感染細胞を抑制するTやNK細胞の機能の欠損による免疫不全でXLPを発症すると考えられる。し

かし、このXLPはEBV感染のみで起こり、他のウイルス感染の免疫は正常である。AIDSや臓器移植では、Bリンパ腫が見られる。すなわち、HIV感染や免疫抑制剤によるCTLを中心とした免疫の低下により、休眠状態のEBV感染B細胞が活性化するⅢ型感染のLPDである。これらのLPDではポリクローナルな増殖性から、感染細胞でウイルスが増殖し、他のB細胞へ感染が拡大し、増殖してきたことを示唆している。

BLは、EBV疾患の代表としてあげられる。BLは必ず染色体転座を伴っている。第8染色体短腕の一部が第14、2または22長腕への相互転座が見られる。t(8,14)の転座では免疫グロブリン遺伝子のプロモーターの支配下となり、c-myc遺伝子が恒常的に活性化され細胞が増殖する。しかし、EBVとの関りは不明であった。EBVは不要か？BLではEBNA1とEBERのみが発現されているⅠ型である。BL細胞は、EBERによりIL-10を産生し、オートクライン的に増殖因子となる。EBERはc-myc遺伝子をも活性化することが明らかにされた<sup>23-26)</sup>。

NPCや胃癌もEBV感染から発症へ至る機構は明らかでない。感染細胞が産生するサイトカイン関りが注目される。NPCではLMP1がEGF及びそのレセプターを活性化し、それがNPC癌細胞の増殖を促進している。EBV遺伝子BCRF1はIL-10の遺伝子と高い相同性を持つ、ウイルスIL-10(vIL-10)をコードする<sup>43)</sup>。IL-10、IL-6はB細胞の増殖を促進し、T細胞を抑制する作用を持つ。EBV再活性化は発がんとは無関係と思われるが、NPCでは発がんに先立ってVCA-IgA抗体及びEBV-DNA抗体が上昇することが長期のフォローアップにより確認された<sup>44)</sup>。我々は、EBV再活性化しB細胞からIL-10が誘導されることを見出し<sup>45)</sup>、胃癌でもEBV再活性化を認めた<sup>41)</sup>。EBV再活性化、サイトカイン産生と発がんの関りは今後の検討課題である。

## 6. 発がん予防・治療へ向けて

第1には感染に対する予防である。新たなEBV感染は中和抗体で阻止できるのでIMやXLPなどの初感染で起る疾患は、ワクチンによって予防できる。BLやNPCの多発地帯では、その対象となると考えられる。エンベロープ蛋白gp350/220やそのペプチドが実用化へ向けられている。第2には、患者のCTL活性の賦活である<sup>46)</sup>。感染B細胞のLPDではドナー末梢PBLからCD3陽性細胞を分画し、LPD患者へ輸血する養子CTL免疫による。更には自己またはドナーのCTLを*in vitro*で増殖活性化させ、患者に移入することで、EBV感染細胞を破壊する治療が行われ良い成績も報告されている<sup>47)</sup>。第3にはCD20、CD21やCD24に対するモノクローナル抗体でLPDの感染細胞を特異的に破壊することが、治療も試験的に試みられている。IFN-αは輸血後のLPDに効果があると報告されて

いる。アデノウイルスベクターを用いたNPCへの適応など治療方法の研究が試みられている<sup>48)</sup>。EBV遺伝子をがん細胞から除去すると細胞の悪性化を失うことから、EBV遺伝子発現をアンチセンス遺伝子で抑制したり、EBVゲノムをハイドロキシウレアなどの化学薬剤で除去や、潜伏EBV遺伝子の特異的に再活性化させ細胞死に導く研究も行われている。

### おわりに

EBVが発見されてから38年になる。未知のヒトがんウイルスから血清学、疫学、ウイルス学、分子生物学の多くの研究者達の努力により、ウイルスの性状、ウイルス遺伝子の個々の機能が解明されてきた。新しい疾患が次々と見出され、EBVは臨床的にも極めて重要なウイルスとしての認識はますます増大し、LPDでは免疫治療が開始された。EBVはほとんどの健康人に潜伏していることから、ヒトとの共存がEBV本来の性状あり、腫瘍は、その共存破壊と考えられる。この破壊は宿主の免疫低下であり、免疫を回避して増殖する細胞側の要因も存在する。細胞におけるウイルスの生存戦略を正しく解明し、発がんのシグナルを断つことが、EBV発がんの克服へ向けての研究である。

### 文 献

- 1) Ikuta, K., Satoh, Y., Hoshikawa, Y., and Sairenji, T. (2000). Detection of Epstein-Barr virus in salivas and throat washings in healthy adults and children. *Microbes and Infection* **2**, 115-120.
- 2) Kieff, E. and Rickinson, A. B. (2001) Epstein-Barr virus and its replication. *Fields Virology*, 4th ed. Knipe, D. M., Howley, P. M. et al., eds. pp. 2511-2573, Lippincott-Williams and Wilkins.
- 3) Rickinson, A. B., and Kieff, E. (2001) Epstein-Barr virus. *Fields Virology*, 4th ed, Knipe D. M., Howley, P. M. et al., eds. pp. 2575-2627, Lippincott-Williams and Wilkins.
- 4) Epstein, M. A., Achong, B. G., and Barr, Y. M. (1964) Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *Lancet* **I**, 702-703.
- 5) Tokunaga, M., Land, C. E., Uemura, Y., Tokudome, T., Tanaka, S., and Sato, E. (1993) Epstein-Barr virus gastric carcinoma. *Am. J. Pathol.* **143**, 1250-1254.
- 6) Imai, S., Koizumi, S., Sugiura, M., Tokunaga, M., Uemura, Y., Yamamoto, N., Tanaka, S., Sato, E., and Osato, T. (1994) Gastric carcinoma: monoclonal epithelial malignant cells expressing Epstein-Barr virus latent infection protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **91**, 9131-9135.
- 7) Fukayama, M., Hayashi, Y., Iwasaki, Y., Chong, J., Ooba, T., Takizawa, T., Koike, M., Mizutani, S., Miyaki, M., and Hirai, K. (1994) Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma and Epstein-Barr virus infection of the stomach. *Lab. Invest.* **71**, 73-81.
- 8) Gan, Y-J., Chodosh, J., Morgan, A., and Sixbey, J. W. (1997) Epithelial cell polarization is a determinant in the infectious outcome of immunoglobulin A-mediated entry by Epstein-Barr virus. *J. Virol.* **71**, 519-526.
- 9) Yoshiyama, H., Imai, S., Shimizu, N., and Takada, K. (1997) Epstein-Barr virus infection of human gastric carcinoma cells: implication of the existence of a new virus receptor different from CD21. *J. Virol.* **71**, 5688-5691.
- 10) Nishikawa, J., Imai, S., Oda, T., Kojima, T., Okita, K., and Takada, K. (1999) Epstein-Barr virus promotes epithelial cell growth in the absence of EBNA 2 and LMP 1 expression. *J. Virol.* **73**, 1286-1293.
- 11) Tajima, M., Komuro, M., and Okinaga, K. (1998). Establishment of Epstein-Barr virus-positive human gastric epithelial cell lines. *Jpn. J. Cancer Res.* **89**, 262-268.
- 12) Gao, X., Tajima, M., and Sairenji, T. (1999) Nitric oxide down-regulates Epstein-Barr virus reactivation in epithelial cell lines. *Virology* **258**, 375-381.
- 13) Murakami, M., Hoshikawa, Y., Satoh, Y., Ito, H., Tajima, M., Okinaga, K., Miyazawa, Y., Kurata, T., and Sairenji, T. (2000) Tumorigenesis of Epstein-Barr virus-positive epithelial cell lines derived from gastric tissues in the SCID mouse. *Virology* **277**, 20-26.
- 14) Kanamori, M., Tajima, M., Satoh, Y., Hoshikawa, Y., Miyazawa, Y., Okinaga, K., Kurata, T., and Sairenji, T. (2000) Differential effects of TPA on cell growth and Epstein-Barr virus reactivation in epithelial cell lines derived from gastric tissues and B cell line Raji. *Virus Genes* **20**, 117-125.
- 15) Gao, X., Ikuta, K., Tajima, M., and Sairenji, T. (2001) 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate induces Epstein-Barr virus reactivation via NF- $\kappa$ B and AP-1 as regulated by protein kinase C and mitogen-activated protein kinase. *Virology* **286**, 91-99.
- 16) Fukuda, M., Ikuta, K., Yanagihara, K., Tajima, M., Kuratsune, H., Kurata, T., and Sairenji, T. (2001) Effect of transforming growth factor- $\beta$  1 on the cell growth and Epstein-Barr virus reactivation in EBV-infected epithelial cell lines. *Virology* **288**, 109-118.
- 17) Kanamori, M., Murakami, M., Takahashi, T., Kamada, N., Tajima, M., Okinaga, K., Miyazawa, Y., Kurata, T., and Sairenji, T. (2001) Spontaneous reduction in Epstein-Barr virus (EBV) DNA copy in EBV-infected epithelial cell lines. *Microbes and Infection* **3**, 1085-1091.
- 18) Asada, H., Okada, N., Hashimoto, K., Sairenji, T., Hirota, S., Nomura, S., Kitamura, Y., and Yoshikawa, K. (1994) Establishment and characterization of the T-cell line, EBT-8 latently infected with Epstein-Barr virus large granular lymphocyte leukemia. *Leukemia* **8**, 1415-1423.
- 19) Ohsawa, T., Morimura, T., Hagari, Y., Kawakami, T., Mihara, M., Hirai, K., Ikuta, K., Murakami, M., Sairenji, T., and Mihara, T. (2001) A case of exaggerated mosquito-bite hypersensitivity with Epstein-Barr virus positive inflammatory cells in the bite lesion. *Acta Derm Venereol* **81**, 360-363.
- 20) Okamura, T., Hatsukawa, Y., Arai, H., Inoue, M., and

- Kawa, K.(2000) Blood stem-cell transplantation for chronic active Epstein-Barr virus with lymphoproliferation. *Lancet* **356**, 223-224.
- 21) Kasahara, Y., Yachle, A., Takei, K., Kanegane, C., Okada, K., Ohta, H., Seki, H., Igarashi, N., Maruhashi, K., Katayama, K., Katoh, E., Terao, G., Sakiyama, Y., and Koizumi, S.(2001) Differential cellular targets of Epstein-Barr virus (EBV) infection between acute EBV-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis and chronic active EBV infection. *Blood* **15**, 1882-1888.
  - 22) Nagata, H., Konno, A., Kimura, N., Zhang, Yu., Kimura, M., Demachi, A., sekine E., Yamamoto, K., and Shimizu, N.(2001) Characterization of novel natural killer (NK)-cell and  $\gamma\delta$  T-cell lines established from primary lesions of nasal T/NK-cell lymphomas associated with the Epstein-Barr virus. *Blood* **97**, 708-713.
  - 23) Komano, J., Maruo, S., Kurozumi, K., Oda, Takanori., and Takada, K. (1999) Oncogenic role of Epstein-Barr virus-encoded RNAs in Burkitt's lymphoma cell line Akata. *J. Virol.* **73**, 9827-9831.
  - 24) Komano, J., and Takada, K. (2001) Role of bcl-2 in Epstein-Barr virus induced malignant conversion of Burkitt's lymphoma cell line Akata. *J. Virol.* **75**, 1561-1564.
  - 25) Kitagawa, N., Goto, M., Kurozumi, K., Maruo, M., Fukayama, T., Naoe, M., Yasukawa, K., Hino, T., Suzuki, S., Toda, S. and Takada, K. (2000) Epstein-Barr virus-encoded poly(A)-RNA supports Burkitt's lymphoma growth through interleukin-10 induction. *EMBO J.* **19**, 6742-6750.
  - 26) Nanbo, A., Inoue, K., Adachi-Takasawa, K., and Takada, K. (2002) Epstein-Barr virus RNA confers resistance to interferon- $\alpha$ -induced apoptosis in Burkitt's lymphoma. *EMBO J.* **21**, 954-965.
  - 27) Shirakata, M., Imadome, K., and Hirai, K. (1999) Requirement of replication licensing for the dyad symmetry element-dependent replication of the Epstein-Barr virus oriP minichromosome. *Virology* **263**, 42-54.
  - 28) Harada, S., Yalamanchiri, R., and Kieff, E. (2001) Epstein-Barr virus nuclear protein 2 has at least two N-Terminal domains that mediate self-association. *J. Virol.* **75**, 2482-2487.
  - 29) Subramaniam, C., Murray, A. C. II., and Robertson, E.S. (2001) Epstein-Barr virus nuclear protein EBNA-3C interacts with the human metastatic suppressor Nm23-H1 : A molecular link to cancer metastasis. *Nature Medicine* **7**, 350-355.
  - 30) Yokoyama, A., Tanaka, M., Matsuda, G., Kato K., Kanamori, M., Kawasaki, H., Hirano, H., Kitabayashi, I., Ohki, M., Kirai, K. and Kawaguchi, Y. (2001) *J. Virol.* **75**, 5119-5128.
  - 31) Kulwichit, W., Edwards, R.H., Davenport, E.M., Baskar, J.F., Godfrey, V., Raab-Traub, N. (1998) Expression of the Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 induces B cell lymphoma in transgenic mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **95**, 11963-11968.
  - 32) Takeshita, H., Toshizaki, T., Miller, W. E., Sato, H., Furukawa, M., Pagano, J. S., and Raab-Traub, N. (1999) Matrix metalloproteinase 9 expression is induced by Epstein-Barr virus latent membrane protein C-terminal activation regions 1 and 2. *J. Virol.* **73**, 5548-5555.
  - 33) Thorley-Lawson, D. A. (2001) Epstein-Barr virus : exploiting the immune system. *Nature reviews* **1**, 75-82.
  - 34) Caldwell, R. G., Willson, J. B., Anderson, S. J., and Longnecker, R. (1998) Epstein-Barr virus LMP 2 A drives B cell development and survival in the absence of normal B cell receptor signals. *Immunity* **9**, 405-411.
  - 35) Mosialos, G., Birkenbach, M., VanArsdale, T., Ware, C., Yalamanchili, R., and Kieff, E. (1995) The Epstein-Barr virus transforming protein LMP 1 engages signaling proteins for the tumor necrosis factor receptor family. *Cell* **80**, 389-399.
  - 36) Kenneth, I., and Kieff, E. (1997) The Epstein-Barr virus oncogene product latent membrane protein 1 engages the tumor necrosis factor receptor-associated death domain protein to mediate B lymphocyte growth transformation and activate NF- $\kappa$ B. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **94**, 12592-12597.
  - 37) Uchida, J., Yasui, T., Takaoka-Shichijo, Y., Muraoka, M., Kulwichit, W., Raab-Traub, N., and Kikutani, H. (1999) Mimicry of CD40 signals by Epstein-Barr virus LMP 1 in B lymphocyte responses. *Science* **286**, 300-303.
  - 38) Eliopoulos, A. G., Blake, S.M. S., Floettmann, E., Rowe, M., and Youngo, L. (1999) Epstein-Barr virus-encoded latent membrane protein 1 activates the JNK pathway its extreme C terminus via a mechanism involving TRADD and TRAF 2. *J. Virol.* **73**, 1023-1035.
  - 39) Mori, S., Itoh, T., Tokunaga, M., and Eizuru, Y. (1999) Deletions and single-base mutations within the carboxy-terminal region of the latent membrane protein 1 oncogene in Epstein-Barr virus-related gastric cancer of southern Japan. *J. Med. Virol.* **57**, 152-158.
  - 40) Fukuda, M., Kurosaki, W., Yanagihara, K., Kuratsune, H. and Sairenji, T. (2002) A mechanism in Epstein-Barr virus oncogenesis : Inhibition of transforming growth factor- $\beta$  1-mediated induction of MAPK/p21 by LMP 1. *Virology* **302**, 310-320.
  - 41) Hoshikawa, Y., Sato, Y., Murakami, M., Maeta, M., Kaibara, N., Ito, H., Kurata, T., and Sairenji, T. (2002) Evidence of lytic infection of Epstein-Barr virus (EBV) in EBV-positive gastric carcinoma. *J Med Virol* **84**, 1-9.
  - 42) Sayos, J., Wu, C., N. Morra, M., Zhang, X., Allen, D., van Schaik, S., Notarangelo, L., Geha, R., Roncarolo, M. G., Oettgen, H., De Vries, J. E., Aversa, G., and Terhorst, C. (1998) The X-linked lymphoproliferative-disease gene product SAP regulates signals induced through the co-receptor SLAM. *Nature* **395**, 462-469.
  - 43) Moore, K. W., Vieira, P., Fiorentino, D. F., Trounstein, M. L., Khan, T. A., and Mosmann, T. R. (1990) Homology of cytokine synthesis inhibitory factor (IL-10) to the Epstein-Barr virus gene BCRF 1. *Science* **248**, 1230-1234.
  - 44) Chien, Y. C., Chen, Y. J., Liu, M. Y., Yang, H. I., Hsu, M. M., Chen, C. J., and Yang, C. S. (2001) Serologic markers of Epstein-Barr virus infection and nasopharyngeal carcinoma in Taiwanese men. *N. Engl. J. Med.*

- 345, 1877-1882.
- 45) Sairenji, T., Ohnishi, E., Inouye, S., and Kurata, T. (1998) Induction of interleukin-10 on activation of Epstein-Barr virus in EBV-infected B-cell lines. *Viral Immunol.* **11**, 221-231.
- 46) Kuzushima, K., Hoshino, Y., Fujii, K., Yokoyama, N., Fujita, M., Kiyono, T., Kimura, H., Morishima, T., Morishima, Y., and Tsurumi, T. (1999) Rapid determination of Epstein-Barr virus-specific CD<sup>8+</sup>T cell frequencies by flow cytometry. *Blood.* **94**, 3094-3100.
- 47) Rooney, C. M., Smith, C. A., Na, C. Y. C., Loftin, S. K., Sixbey, J. W., Gan, Y., Strivastave, Deo-Kumar, Bowman, L. C., Krance, R. A., Brenner, M. K., and Heslop, H. E. (1998) Infusion of cytotoxic T cells for the prevention and treatment of Epstein-Barr virus induced lymphoma in allogeneic transplant recipients. *Blood* **92**, 1549-1555.
- 48) Li, JH., Chia, M., Shi, W., Nag, D., Strathdee, CA., Huang, D., Klamut, H., and Liu, FF. (2002) Tumor-targeted gene therapy for nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Res.* **62**, 171-178.