

5. EBウイルス 研究史 ～感染細胞と疾患の関わり～

大賀 正一

山口大学大学院医学系研究科 小児科学分野

Epstein-Barr ウイルス (EBV) が Burkitt リンパ腫株から発見されて半世紀が経過した。この間分子生物学、血液・免疫学および移植医療のめざましい進歩から、EBV の感染様式と病態への関与が明らかになった。EBV と宿主の関係は、疫学から、ゲノムの構造と機能、microRNA などの調節遺伝子、そして epigenetic 解析へと展開してきた。動物実験が困難であった EBV 感染モデルも、ヒト化マウスを用いた研究が進んでいる。EBV が CD21 を受容体として B 細胞に感染し、潜伏・再活性化する機構、獲得免疫の動態、自然免疫の関与など、病態生理の理解は深まった。一方、EBV が感染した T 細胞および NK 細胞によるリンパ増殖症 / リンパ腫の発症機構には未解明な部分が多い。本特集には、発がんウイルスとして EBV の基礎と臨床それぞれの項があるので、ここでは EBV 関連疾患の研究史を感染細胞と宿主の免疫から概観する。

1. はじめに

Epstein-Barr ウイルス (EBV) は、1964 年に Burkitt リンパ腫培養株より分離同定された¹⁾。この腫瘍原性ウイルスは、ヒトに初感染し伝染性単核症 (infectious mononucleosis: IM) をおこして生涯潜伏する²⁾。血清診断の確立が、まずこのウイルスの感染疫学を明らかにした。分子生物学と免疫学の進歩に伴い、B 細胞に発現する CD21 が EBV の主たる受容体と判明し、EBV DBA の定量が可能になり、感染様式と免疫応答の理解が深まった。原発性免疫不全症の病因解析、移植医療と免疫制御療法の進歩、HIV 出現と続発性免疫不全症の病態解析から EBV の臨床研究は進んだ。1980 年代後半から、EBV 陽性 T 細胞・NK 細胞腫瘍の患者、あるいは活動性感染が持続する患者 (慢性活動性 EBV 感染症: chronic active EBV infection:

CAEBV) が報告された。EBV 感染に伴う血球貪食症候群、再活性化と自己免疫疾患の関連、そして感染細胞の増殖・形質転換と腫瘍化の機序が研究されてきた³⁾。EBV 研究には動物モデルがなく、感染 B 細胞株 (large lymphoblastoid cell line: LCL など) の解析が中心であったが、近年ヒト化マウスを用いた研究も進んでいる。ここでは EBV 関連疾患の発症について、感染細胞とその免疫応答から概説する。

2. EBV の感染細胞

EBV は γ ヒトヘルペスウイルス (human herpes virus: HHV: HHV-4) である。ヒトを固有の宿主とし、その初感染は急性 IM を起こすがほとんどは不顕性である。臨床的に急性 IM の約 90% は EBV の初感染によるもので、残りは同じ HHV 亜科の cytomegalovirus (CMV: β HHV-5) による。EBV は唾液を介して咽頭上皮から侵入し B 細胞に感染する。EBV の *BLLF1* がコードするエンベロープタンパク gp350/220 が、B 細胞膜上の CD21 に結合し、細胞膜を融解し細胞内に侵入する⁴⁾。細胞内では、環状 2 本鎖 DNA (episome) として核内に保持される。細胞分裂時には、*EBNA1* を介して結合した染色体上に piggy-back されたまま、宿主の DNA polymerase により複製される⁵⁾。したがって、episome の terminal repeat (TR) 数から感染 B 細胞の clonality が推定される。急性感染後感染 B 細胞は

連絡先

〒755-8505

山口県宇部市南小串 1-1-1

山口大学大学院医学系研究科 小児科学分野

TEL: 0836-22-2411

FAX: 0836-22-2333

E-mail: ohgas@yamaguchi-u.ac.jp

表 1. EBV の潜伏様式、感染細胞の変化および関連リンパ系腫瘍

潜伏様式	latency 1	latency 2	latency 3	latency 0
EBV 感染細胞 ウイルス遺伝子 / 蛋白	EBNA1 LMP1, 2AB <i>EBERs</i> <i>BARTs</i>	EBNA1 LMP1, 2AB <i>EBERs</i> <i>BARTs</i>	EBNA1,2,3ABC,LP <i>EBERs</i> <i>BARTs</i>	 <i>EBERs</i> (<i>BARTs</i>)
細胞の変化 活性化 / 接着分子の発現 染色体異常	低度 高頻度	中等度 中等度	高度 低頻度	なし なし
EBV-CTL に対する反応性	抵抗性	抵抗性 ~ 感受性	感受性	免疫回避
リンパ系腫瘍	Burkitt リンパ腫	Hodgkin 病, EBV ⁺ T/NK 細胞 LPD**	B 細胞 LPD*	健常既感染者

* 移植後, 治療関連, AIDS 関連, 原発性免疫不全症関連, および膿胸関連リンパ腫などが含まれる。

ヒト末梢血から確立した Large lymphoblastoid cell lines (LCL) の感染様式は latency 3 型である。

** EBV⁺T/NK 細胞リンパ増殖性疾患は アジア型の慢性活動性 EBV 感染症を含む。

EBNA, EBV nuclear antigen; *BART*, BamH1-A rightward reading frame transcript; *EBERs*, EBV-encoded mRNAs; LMP, late membrane protein; CTL; cytotoxic T-lymphocyte (文献 6 より改変)

リンパ組織で増殖し, 胚中心で潜伏型細胞となる²⁾。既感染者の末梢血には EBV 感染 B 細胞が 100 万個あたり数個潜伏している⁶⁾。健康人の末梢血に EBV を感染させると LCL 細胞株が樹立されるが, 急性 IM 患者から Cherry, Lamont, B95-8 などの株が分離されている。この EBV 感染 B 細胞株の解析から, ウイルスの特性が明らかにされてきた。B 細胞以外の感染細胞の樹立が困難であり, X 連鎖無 γ グロブリン血症の患者には EBV 特異的細胞傷害性 T 細胞 (cytotoxic T-lymphocyte: CTL) のメモリーがないこと⁷⁾, などから CD21 が B 細胞の主たる受容体とされる。急性 IM 患者由来の扁桃組織の免疫染色などから上皮と, B 細胞以外のリンパ球にも, 感染細胞の存在が示唆される⁸⁾。実際に EBV 感染 T 細胞や NK 細胞株が CAEBV 患者から樹立される^{9,10)}。CD21 欠損型無 γ グロブリン血症患者も EBVgp350 の結合は著減するが¹¹⁾, 最近 CD35 が新たな受容体として注目されている¹²⁾。

EBV の潜伏様式は latency 0 ~ 3 に分類され, ウイルス特異的遺伝子・蛋白の発現が制限されている (表 1)⁶⁾。健常既感染者の潜伏細胞では *EBER* と *BARTs* のみが発現している (latency 0)。EBV は再活性化すると episome が開裂して線状となり, 感染力のあるウイルス粒子として細胞外に放出される (lytic/replicative phase)。このとき 100 種類以上の遺伝子とその産物を産生する。潜伏期に発現する late membrane protein-1 (LMP1) と EBV nuclear antigen-2 (EBNA2) には腫瘍原性があり, その分子機構は詳細に解析されてきた。LMP1 や EBNA の制御による腫瘍発生の抑制, あるいは *BZLF1* などの発現調節などのほかに, epigenetic な制御機構が注目されている¹³⁾。EBV の産生する microRNA の解析が進み, 現在見つかったい

るその発現パターンは潜伏期と増殖期で異なる¹⁴⁾。最近, 長期培養細胞株に関しては, ゲノムの不安定性などから解析の問題点が指摘されている¹⁵⁾。EBV と, 宿主の関係は包括的な情報解析へと向かっている¹⁶⁾。

3. EBV に対する宿主の免疫応答

初感染後に EBV はリンパ組織から末梢血, 全身へと拡大する。NK 細胞と T 細胞が初期防御の重要な免疫担当細胞である。これらは増殖, 活性化して, IL-1, TNF- α , IFN- γ などの炎症性サイトカインを産生し, 細胞傷害活性を発揮する⁶⁾。最近, EBV 初感染の末梢血におけるトランスクリプトーム発現プロファイルは, 他のウイルスとは異なり Dengue ウイルス感染に類似して, 血球貪食症候群様であることが報告された¹⁷⁾。活性化 CD8 陽性 T 細胞は, 形態学的には異型リンパ球として, 機能的には CTL として働く。顆粒をもつ異型細胞は活性化 NK 細胞を含む。急性 IM の症状はこの免疫反応から説明される。T 細胞抗原受容体 (TCR) の complementarity determining region (CDR) 解析から, 急性期は T 細胞集団のダイナミックな増殖と収束が観察される。EBV-CTL の動態は特定の MHC pentamer などを用いて患者末梢血で確認できる。感染細胞は EBV 抗原の発現を抑え, ウイルス由来の viral IL-10 などの抑制性サイトカインを発現し免疫回避する¹⁸⁾。液性免疫では gp350 に対する中和抗体が再感染を防御する。EBV 特異免疫の成立後, 感染細胞の EBV は, メモリー B 細胞に終生潜伏する (胚中心モデル)。しばしば無症候性に再活性化し新たな感染源となる。

近年, Toll-like receptor (TLR) などの自然免疫を担う分子・遺伝子をセンサーとする細胞内の免疫監視機構が明らかになってきた。TLR9 は EBV を認識し自然免疫応答

表 2. EBV 感染細胞による腫瘍性疾患の特性

EBV 陽性腫瘍性疾患	EBV 関連 (%)	感染腫瘍細胞	潜伏様式 (latency)	ハイリスク集団	
リンパ系					
Burkitt リンパ腫	浸淫地	100	B	I	マラリア流行地
	散発	10-85	B	I	
Hodgkin リンパ腫	混合細胞型	60-80	B	II	
	結節硬化型	15-20	B	II	
Lymphomatoid granulomatosis		100	B	II	欧米
DLBCL/LPD	膿胸型	100	B	II	結核 (慢性炎症)
	高齢者型	50-100	B	I, II, (III)	高齢による T 細胞不全
	移植後	>90	B	III	心、肺、小腸移植
	原発性免疫不全	1-15	B, (稀 T)	II, III	T 細胞不全
AIDS 関連リンパ腫*		30-100	B	I, II, III	HIV 感染者, HHV8
Aggressive NK 細胞白血病		>90	NK	II	アジア
節外 NK/T 細胞リンパ腫 鼻性		100	NK, T	II	東アジア
全身型 EBV 陽性 T 細胞 LPD		100	T	II	アジア (T 細胞) 型 CAEBV
種痘様水疱瘡様リンパ腫		100	$\gamma\delta$ T, NK	II	アジア, ネイティブアメリカン
非リンパ系腫瘍					
鼻咽頭がん		100	LEL	I, II	東アジア, アフリカ
胃がん		90, 5-15	LEL, 腺がん	I, II	慢性炎症 (<i>H.pylori</i> など)
AIDS 関連肉腫		100	平滑筋肉腫	?	HIV 感染者

* 中枢神経, 原発性滲出性および形質細胞性リンパ腫を含む. 原発性滲出性リンパ腫はほぼヒトヘルペスウイルス 8 (HHV8) と co-infection がみられる. 血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫も EBV 感染 B 細胞が増殖するとされるが, T 細胞の腫瘍化には *RHOA* 変異が関与することが明らかとなった. DLBCL; diffuse large B cell lymphoma, EBV, Epstein-Barr virus; HIV, human immunodeficiency virus; NK, natural killer; LEL, lymphoepithelioma type (文献 3 より改変)

を発動し, 潜伏 B 細胞の増殖を制御している¹⁹⁾. 一方, EBV 側は TLR9 の発現と機能を制御し免疫回避をはかる. EBV 由来 *BPLF1* は TLR を介して免疫回避に寄与するようである²⁰⁾. 細菌, ウイルス, マラリア原虫の DNA は EBV 潜伏と増殖のバランスに影響する. 宿主の pattern recognition receptors の多型と鼻咽頭がん発症の関与が報告された²¹⁾. TLR7 は LMP1 の発現を誘導し IFN を促進させ SLE の増悪因子となる可能性も示唆されている²²⁾.

4. 感染細胞からみた EBV 関連疾患

EBV 感染症の病態は免疫能に依存するため, 感染細胞から病態を考えて治療を行う必要がある. EBV 関連疾患の病態を腫瘍と炎症にわける.

EBV 関連腫瘍性疾患にはリンパ系と非リンパ系がある (表 2). リンパ系腫瘍には Burkitt リンパ腫などの B 細胞系が多い. EBV が宿主ゲノムに integrate されることは例外的である^{23,24)} それぞれの latency が, 細胞特性と免疫応答性から整理される. マラリアなどさらなる外因が, 感染 B 細胞の腫瘍化 transfromation を促進する. 一方, 高齢者や移植後, HIV 感染症では, 免疫不全により, 制御できない感染 B 細胞の増殖 (リンパ増殖症) を起こす. 膿胸関連リンパ腫も慢性炎症が発症誘因とされる. Wiskott-Aldrich 症候群などの原発性免疫不全症に EBV 関連リンパ腫が合併する^{25,26)}. NK 細胞, T 細胞が感染する腫瘍は latency 2 型をとり LMP1 の腫瘍化への関与が示唆される. 非リンパ系腫瘍では, EBV の増殖の場である上皮由来の鼻咽頭がんと胃がんがあり, ウイルス特異的血清

IgA 抗体の高値が観察される.

慢性炎症を伴う主な EBV 関連疾患は, SLE, シェグレン症候群, および関節リウマチなどである²⁷⁻²⁹⁾. 多発性硬化症³⁰⁾ や薬剤性過敏症候群 (drug induced hypersensitivity syndrome: DIHS) も非腫瘍性 EBV 関連疾患である³¹⁾. これらの病態は感染 B 細胞の再活性化と EBV 特異的抗原の molecular mimicry から説明されてきた. DIHS に関しては, EBV 再活性化に伴う活性化 CD8⁺T 細胞の関与が注目されるが, 他のヘルペスウイルスの再活性化とも関連する. 急性 IM のアンピシリン薬疹にも, 活性化 CD8⁺T 細胞が関与するとされている.

腫瘍に分類できないリンパ増殖性疾患に, EBV 関連血球貪食性リンパ組織球症 (EBV-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis: EBV-HLH) と慢性活動性 EBV 感染症 (chronic active EBV infection) がある³²⁾. EBV-HLH は小児期にみられる EBV 初感染の急性重症型として, わが国では独立した疾患概念として捉えられている³³⁾. CD8 陽性 T 細胞が感染標的細胞となりこれがクローン増殖する³⁴⁾. 一方, CAEBV は EBV 再活性化を伴う難治性疾患で, 様々なリンパ球に感染した細胞を排除できず, 同種造血幹細胞移植のみが根治療法である^{35,36)}. アジアからは T 細胞および NK 細胞に感染するものが, 欧米では B 細胞に感染するものが報告されてきた. したがって, 疾患概念については欧米と議論になってきた. アジア人に多い鼻咽頭がんのように EBV 変異株による免疫回避の発症機構も想定されたが, アジア型 EBV-HLH と CAEBV の患者からこれまでに特異な EBV 株が分離同定された報告はない³⁷⁾. 欧米

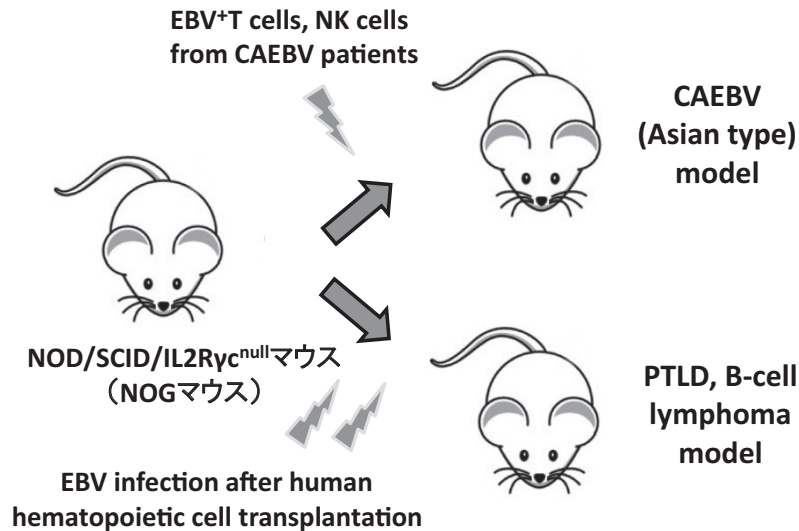


図1 EB ウイルスの T/NK 細胞感染型と B 細胞感染型のマウスモデル

NOD/SCID/IL2Ryc^{null} (NOG) マウスにヒト造血細胞を移植した“ヒト化マウス”に EBV を感染させ、EBV 陽性 B 細胞感染型 LPD (下) として解析する。NOG マウスに、T/NK 細胞感染アジア型 CAEBV 患者由来の感染細胞重群を移入すると CAEBV モデルとなる (上)。(文献 63 と 64 のマウスを模式化)

では、EBV-HLH は家族性 HLH (Familial HLH: FHL) のような HLH を起こしやすい遺伝的素因のある患者に発症した疾患と考えられている³⁸⁻⁴⁰⁾。CAEBV も EBV に対する特異的免疫不全症の一病型と考えられてきた。したがって、いずれも B 細胞が感染する疾患と考えられている。これは、歴史的に致死性 IM である X 連鎖リンパ増殖症 (X-linked lymphoproliferative disease: XLP) が、EBV 特異的免疫不全症とされてきたからであろう。XLP は現在 XLP1 と XLP2 に分類され、*SAP/SH2D1A* と *XIAP/BIRC4* がそれぞれの原因遺伝子として同定されている⁴¹⁾。XLP として ITK および CD27 変異も報告された^{42,43)}。Chédiak 東症候群 (CHS) 患者も EBV 感染の重症化が知られていた⁴⁴⁾。CHS は、*Lyst 1* 遺伝子変異による顆粒異常症で、細胞傷害活性が低下する。Perforin 異常症 (FHL2) を代表とする先天性分泌顆粒放出異常症 (Hermansky-Pudlak 症候群 2 型: *AP3B1* 異常, Griscelli 症候群 2 型: *Rab27A* 異常) は HLH をきたす原発性免疫異常症である。しかし、これらは、EBV 以外のウイルス感染を契機としても HLH を発症するため、“EBV 特異的”とはいえない。ヘルペス脳炎などヘルペスウイルスの異常経過を呈する例に遺伝性免疫不全症が発見されたことから、EBV-HLH が遺伝病とする考え方が欧米では支配的である。最近も XMEN などの新しい EBV 関連免疫不全症が見つかった⁴⁵⁾。XLP2 の HLH 患者も B 細胞感染型であることが確認されたが⁴⁶⁾、“初感染 CD8 陽性 T 細胞増殖” EBV-HLH 患者にまだ原因遺伝子は同定されていない。同胞例の報告もない。アジア型 EBV-HLH 患者のうち同種造血幹細胞移植をうけずに寛

解した児は健常既感染者となる^{47,48)}。EBV-HLH (初感染 CD8 陽性 T 細胞増殖型) を浸透率の高い単一遺伝子病として説明するのは難しそうである。

CAEBV のとらえ方も、欧米⁴⁹⁾と日本⁵⁰⁾で大きく異なる。WHO のリンパ腫分類で、2008 年に初めて小児全身性 EBV 陽性 T 細胞リンパ増殖症 (EBV-positive systemic T-cell lymphoproliferative disease of childhood) が定義された⁵¹⁾。これは腫瘍の分類であるが、重症 CAEBV の約 75%がこの小児全身性 EBV 陽性 T 細胞リンパ増殖症と重複する。アジア型 CAEBV の症候でもある種痘様水疱症と蚊刺過敏症は別に扱われている。EBV-HLH と CAEBV は EBV 陽性 T 細胞リンパ増殖症であるが、臨床像と治療反応性が異なる。前者で同種造血細胞移植を必要とする例はごく稀であるが、後者は同種造血細胞移植が唯一の根治療法である⁵²⁾。T/NK 細胞感染型 EBV-HLH と CAEBV は欧米からも報告されるようになった⁵³⁻⁵⁶⁾。成人発症 EBV-HLH も増加している⁵⁷⁾。EBV-HLH と CAEBV に対する rituximab や TNF α 遮断薬などの生物学的製剤は感染細胞から適応を考慮すべきかもしれない^{58,59)}。アジア型の EBV-HLH は「基礎疾患のない宿主に発症する EBV 感染 CD8 陽性 T 細胞の急激なクローン増殖を特徴とする初感染の異常経過」、そして CAEBV は「EBV 感染 T/NK 細胞のクローン増殖を制御することができない EBV 特異的免疫不全症」として、治療をすすめるのが現段階では実践的であろう。

5. 新しい解析法

EBV 陽性 B 細胞リンパ腫を免疫不全マウスに接種し、

EBNA や LMP1 を制御して、腫瘍の解析が行われてきたが、初感染モデルはなかった⁶⁰⁾。最近、ヒト化 NOG マウスを用いて⁶¹⁾、EBV の B 細胞感染型モデル^{62,63)} と T 細胞感染型モデル⁶⁴⁾ が作成された (図 1)。前者はヒト造血細胞系を移植した NOG マウスに EBV を感染させたものである。アジア型 CAEBV のモデルでは、患者由来の EBV 感染 T/NK 細胞亜群を生着させて、患者で観察された感染細胞の増殖と組織浸潤、皮膚病変などが再現できる⁶⁴⁾。細胞株では不十分であった治療モデルとしても有用である。

EBV の T/NK 細胞への感染機構は明らかではない。最近 CD35 がもうひとつの主要な EBV 受容体として見つかった¹²⁾。CD35 は補体関連分子で、B 前駆細胞に発現するが非 B 細胞リンパ球の感染経路となるかどうかは明らかでない。CAEBV 患者には、異なるサブセットにまたがる感染細胞の oligoclonal 増殖が認められ^{65,66)}、慢性活動性感染の経過中に感染細胞集団の拡大が予想される。アジア型 CAEBV 患者の感染 T 細胞の起源に関しては、胸腺分化の初期に発現する CD21 陽性 T 前駆細胞への感染の可能性から⁶⁷⁾、私たちが高精度分画細胞を用いて検討し、EBV⁺ $\gamma\delta$ T 細胞 (V γ 9 δ 2) のクローン増殖例では、末梢の未熟な DNT 細胞 (DN1・DN2 の分化段階) に感染起源を想定した⁶⁸⁾。さらに CAEBV 患者の骨髄 CD34 陽性細胞は EBV 感染を免れていることを確認した。CAEBV 患者の末梢で優位な感染細胞亜群は長く一定しており、 $\gamma\delta$ T 細胞感染型は CD4⁺T 細胞感染型に移行しない。組織浸潤する感染細胞は変化しうる。CAEBV 患者に続発する T/NK 細胞リンパ腫は主たる感染細胞と同一クローンとは限らない。今後、モデルマウスを使って病態解析のみならず、予防と治療に関する研究の発展が期待される⁶⁹⁾。

6. おわりに

EBV 発見後の分子生物学とゲノム医学、そして移植医療の進歩がこのウイルスと宿主の関わりを解明してきた。このウイルスの制御によって、腫瘍の発症や進展を臨床的にどの程度抑制できるだろうか？ EBV-HLH と CAEBV に有効な分子標的療法が開発されるだろうか？ EBV ワクチンが初感染を予防し、EBV 関連疾患を根絶させる日が来るだろうか？ 次の半世紀には、大きなゲノム情報と特異な潜伏様式を持つこの DNA ウイルスと私たちの関係が、レトロウイルスとは異なる共進化の概念⁷⁰⁾ から理解されるようになるかも知れない。

参考文献

- 1) Epstein MA, Achong BG, Barr YM. Virus particles in cultures lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *Lancet*. 1964;1(7335):702-3.
- 2) Thorley-Lawson DA, Hawkins JB, Tracy SI, Shapiro M. The pathogenesis of Epstein-Barr virus persistent infection. *Curr Opin Virol*. 2013;3(3):227-32.
- 3) Rickinson AB. Co-infections, inflammation and oncogenesis: Future directions for EBV research. *Semin Cancer Biol*. 2014 (in press)
- 4) Nemerow GR, Wolfert R, McNaughton ME, Cooper NR. Identification and characterization of the Epstein-Barr virus receptor on human B lymphocytes and its relationship to the C3d complement receptor (CR2). *J Virol*. 1985;55(2):347-51.
- 5) Young LS, Rickinson AB. Epstein-Barr virus: 40 years on. *Nat Rev Cancer*. 2004 ;4(10):757-68.
- 6) Ohga S, Nomura A, Takada H, Hara T: Epstein-Barr virus associated diseases in childhood-Immunological aspects of Epstein-Barr virus infection. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2002; 44:203-15.
- 7) Faulkner GC, Burrows SR, Khanna R, Moss DJ, Bird AG, Crawford DH. X-Linked agammaglobulinemia patients are not infected with Epstein-Barr virus: implications for the biology of the virus. *J Virol*. 1999 ;73(2):1555-64.
- 8) Anagnostopoulos I, Hummel M, Kreschel C, Stein H. Morphology, immunophenotype, and distribution of latently and/or productively Epstein-Barr virus-infected cells in acute infectious mononucleosis: implications for the interindividual infection route of Epstein-Barr virus. *Blood*. 1995;85(3):744-50.
- 9) Imai S, Sugiura M, Oikawa O, Koizumi S, Hirao M, Kimura H, Hayashibara H, Terai N, Tsutsumi H, Oda T, Chiba S, Osato T. Epstein-Barr virus (EBV)-carrying and -expressing T-cell lines established from severe chronic active EBV infection. *Blood*. 1996 ;87(4):1446-57.
- 10) Oyoshi MK1, Nagata H, Kimura N, Zhang Y, Demachi A, Hara T, Kanegane H, Matsuo Y, Yamaguchi T, Morio T, Hirano A, Shimizu N, Yamamoto K. Preferential expansion of Vgamma9-JgammaP/Vdelta2-Jdelta3 gammadelta T cells in nasal T-cell lymphoma and chronic active Epstein-Barr virus infection. *Am J Pathol*. 2003 ;162(5):1629-38.
- 11) Thiel J, Kimmig L, Salzer U, Grudzien M, Lebrecht D, Hagen T, Draeger R, Voelxen N, Bergbreiter A, Jennings S, Gutenberger S, Aichem A, Illges H, Hannan JP, Kienzler AK, Rizzi M, Eibel H, Peter HH, Warnatz K, Grimbacher B, Rump JA, Schlesier M. Genetic CD21 deficiency is associated with hypogammaglobulinemia. *J Allergy Clin Immunol*. 2012 ;129(3):801-10.
- 12) Ogembo JG, Kannan L, Ghiran I, Nicholson-Weller A, Finberg RW, Tsokos GC, Fingerroth JD. Human complement receptor type 1/CD35 is an Epstein-Barr Virus receptor. *Cell Rep*. 2013 ;3(2):371-85.
- 13) Tempera I, Lieberman PM. Epigenetic regulation of EBV persistence and oncogenesis. *Semin Cancer Biol*. 2014 (in press)
- 14) Klinke O, Feederle R, Delecluse HJ. Genetics of Epstein-Barr virus microRNAs. *Semin Cancer Biol*. 2014 (in press)
- 15) Oh JH, Kim YJ, Moon S, Nam HY, Jeon JP, Lee JH, Lee JY, Cho YS. Genotype instability during long-term

- subculture of lymphoblastoid cell lines. *J Hum Genet.* 2013 ;58(1):16-20.
- 16) Arvey A, Tempera I, Tsai K, Chen HS, Tikhmyanova N, Klichinsky M, Leslie C, Lieberman PM. An atlas of the Epstein-Barr virus transcriptome and epigenome reveals host-virus regulatory interactions. *Cell Host Microbe.* 2012 ;12(2):233-45.
 - 17) Dunmire SK, Odumade OA, Porter JL, Reyes-Genere J, Schmeling DO, Bilgic H, Fan D, Baechler EC, Balfour HH Jr, Hogquist KA. Primary EBV infection induces an expression profile distinct from other viruses but similar to hemophagocytic syndromes. *PLoS One.* 2014;9(1):e85422.
 - 18) Ohga S, Nomura A, Takada H, Tanaka T, Furuno K, Takahata Y, Kinukawa N, Fukushima N, Imai S, Hara T. Dominant expression of interleukin-10 and transforming growth factor-beta genes in activated T-cells of chronic active Epstein-Barr virus infection. *J Med Virol.* 2004 ;74(3):449-58.
 - 19) Zauner L, Nadal D. Understanding TLR9 action in Epstein-Barr virus infection. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2012 ;17:1219-31.
 - 20) van Gent M, Braem SG, de Jong A, Delagic N, Peeters JG, Boer IG, Moynagh PN, Kremmer E, Wiertz EJ, Ovaa H, Griffin BD, Rensing ME. Epstein-Barr virus large tegument protein BPLF1 contributes to innate immune evasion through interference with toll-like receptor signaling. *PLoS Pathog.* 2014 ;10(2):e1003960.
 - 21) Moumad K, Lascorz J, Bevier M, Khyatti M, Ennaji MM, Benider A, Huhn S, Lu S, Chouchane L, Corbex M, Hemminki K, Försti A. Genetic polymorphisms in host innate immune sensor genes and the risk of nasopharyngeal carcinoma in North Africa. *G3 (Bethesda).* 2013 ;3(6):971-7.
 - 22) Valente RM, Ehlers E, Xu D, Ahmad H, Steadman A, Blasnitz L, Zhou Y, Kastanek L, Meng B, Zhang L. Toll-like receptor 7 stimulates the expression of Epstein-Barr virus latent membrane protein 1. *PLoS One.* 2012;7(8):e43317.
 - 23) Morissette G, Flamand L. Herpesviruses and chromosomal integration. *J Virol.* 2010 ;84(23):12100-9.
 - 24) Khoury JD, Tannir NM, Williams MD, Chen Y, Yao H, Zhang J, Thompson EJ; TCGA Network, Meric-Bernstam F, Medeiros LJ, Weinstein JN, Su X. Landscape of DNA virus associations across human malignant cancers: analysis of 3,775 cases using RNA-Seq. *J Virol.* 2013 ;87(16):8916-26.
 - 25) Tran H, Nourse J, Hall S, Green M, Griffiths L, Gandhi MK. Immunodeficiency-associated lymphomas. *Blood Rev.* 2008 ;22(5):261-81.
 - 26) Bax HI, Freeman AF, Anderson VL, Vesterhus P, Laerum D, Pittaluga S, Wilson WH, Holland SM. B-cell lymphoma in a patient with complete interferon gamma receptor 1 deficiency. *J Clin Immunol.* 2013 ;33(6):1062-6.
 - 27) Draborg AH, Duus K, Houen G. Epstein-Barr virus in systemic autoimmune diseases. *Clin Dev Immunol.* 2013 ;2013:535738
 - 28) Kivity S, Arango MT, Ehrenfeld M, Tehori O, Shoenfeld Y, Anaya JM, Agmon-Levin N. Infection and autoimmunity in Sjogren's syndrome: A clinical study and comprehensive review. *J Autoimmun.* 2014 (in press)
 - 29) Takeuchi M, Sato Y, Yasui H, Ozawa H, Ohno K, Takata K, Gion Y, Orita Y, Tachibana T, Itoh T, Asano N, Nakamura S, Swerdlow SH, Yoshino T. Epstein-Barr Virus-infected Cells in IgG4-related Lymphadenopathy With Comparison With Extranodal IgG4-related Disease. *Am J Surg Pathol.* 2014 (in press)
 - 30) Ruprecht K, Wunderlich B, Gieß R, Meyer P, Loebel M, Lenz K, Hofmann J, Rosche B, Wengert O, Paul F, Reimer U, Scheibenbogen C. Multiple sclerosis: The elevated antibody response to Epstein-Barr virus primarily targets, but is not confined to, the glycine-alanine repeat of Epstein-Barr nuclear antigen-1. *J Neuroimmunol.* 2014 (in press)
 - 31) Ozcan D, Seçkin D, Bilezikçi B, Arslan H. The role of human herpesvirus-6, Epstein-Barr virus and cytomegalovirus infections in the etiopathogenesis of different types of cutaneous drug reactions. *Int J Dermatol.* 2010 ;49(11):1250-4.
 - 32) Okano M, Gross TG. Acute or chronic life-threatening diseases associated with Epstein-Barr virus infection. *Am J Med Sci.* 2012 ;343(6):483-9.
 - 33) Yachie A, Kanegane H, Kasahara Y. Epstein-Barr virus-associated T-/natural killer cell lymphoproliferative diseases. *Semin Hematol.* 2003 ;40(2):124-32.
 - 34) Kasahara Y, Yachie A, Takei K, Kanegane C, Okada K, Ohta K, Seki H, Igarashi N, Maruhashi K, Katayama K, Katoh E, Terao G, Sakiyama Y, Koizumi S. Differential cellular targets of Epstein-Barr virus (EBV) infection between acute EBV-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis and chronic active EBV infection. *Blood.* 2001 ;98(6):1882-8.
 - 35) Okano M, Kawa K, Kimura H, Yachie A, Wakiguchi H, Maeda A, Imai S, Ohga S, Kanegane H, Tsuchiya S, Morio T, Mori M, Yokota S, Imashuku S. Proposed guidelines for diagnosing chronic active Epstein-Barr virus infection. *Am J Hematol.* 2005 ;80(1):64-9.
 - 36) Kimura H, Morishima T, Kanegane H, Ohga S, Hoshino Y, Maeda A, Imai S, Okano M, Morio T, Yokota S, Tsuchiya S, Yachie A, Imashuku S, Kawa K, Wakiguchi H; Japanese Association for Research on Epstein-Barr Virus and Related Diseases. Prognostic factors for chronic active Epstein-Barr virus infection. *J Infect Dis.* 2003 ;187(4):527-33.
 - 37) Kelesidis T, Humphries R, Terashita D, Eshaghian S, Territo MC, Said J, Lewinski M, Currier JS, Pegues D. Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in Los Angeles County. *J Med Virol.* 2012 ;84(5):777-85.
 - 38) Risma K, Jordan MB. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: updates and evolving concepts. *Curr Opin Pediatr.* 2012 ;24(1):9-15.
 - 39) Parvaneh N, Filipovich AH, Borkhardt A. Primary immunodeficiencies predisposed to Epstein-Barr virus-driven haematological diseases. *Br J Haematol.* 2013 ;162(5):573-86.
 - 40) Koganti S, de la Paz A, Freeman AF, Bhaduri-McIn-

- tosh S. B lymphocytes from patients with a hypomorphic mutation in STAT3 resist Epstein-Barr virus-driven cell proliferation. *J Virol.* 2014 ;88(1):516-24.
- 41) Yang X, Kanegane H, Nishida N, Imamura T, Hamamoto K, Miyashita R, Imai K, Nonoyama S, Sanayama K, Yamaide A, Kato F, Nagai K, Ishii E, van Zelm MC, Latour S, Zhao XD, Miyawaki T. Clinical and genetic characteristics of XIAP deficiency in Japan. *J Clin Immunol.* 2012 ;32(3):411-20.
 - 42) Huck K, Feyen O, Niehues T, Rüschemdorf F, Hübner N, Laws HJ, Teliëps T, Knapp S, Wacker HH, Meindl A, Jumaa H, Borkhardt A. Girls homozygous for an IL-2-inducible T cell kinase mutation that leads to protein deficiency develop fatal EBV-associated lymphoproliferation. *J Clin Invest.* 2009 ;119(5):1350-8.
 - 43) Veillette A, Pérez-Quintero LA, Latour S. X-linked lymphoproliferative syndromes and related autosomal recessive disorders. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2013 ;13(6):614-22.
 - 44) Nagai K, Ochi F, Terui K, Maeda M, Ohga S, Kanegane H, Kitoh T, Kogawa K, Suzuki N, Ohta S, Ishida Y, Okamura T, Wakiguchi H, Yasukawa M, Ishii E. Clinical characteristics and outcomes of chédiak-Higashi syndrome: a nationwide survey of Japan. *Pediatr Blood Cancer.* 2013 ;60(10):1582-6.
 - 45) Li FY1, Chaigne-Delalande B, Su H, Uzel G, Matthews H, Lenardo MJ. XMEN disease: a new primary immunodeficiency affecting Mg2+ regulation of immunity against Epstein-Barr virus. *Blood.* 2014 ;123(14):2148-52.
 - 46) Yang X, Wada T, Imadome K, Nishida N, Mukai T, Fujiwara M, Kawashima H, Kato F, Fujiwara S, Yachie A, Zhao X, Miyawaki T, Kanegane H. Characterization of Epstein-Barr virus (EBV)-infected cells in EBV-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in two patients with X-linked lymphoproliferative syndrome type 1 and type 2. *Herpesviridae.* 2012 ;3(1):1.
 - 47) Shiraishi A, Ohga S, Doi T, Ishimura M, Takimoto T, Takada H, Miyamoto T, Abe Y, Hara T. Treatment choice of immunotherapy or further chemotherapy for Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer.* 2012 ;59(2):265-70.
 - 48) Kogawa K, Sato H, Asano T, Ohga S, Kudo K, Morimoto A, Ohta S, Wakiguchi H, Kanegane H, Oda M, Ishii E. Prognostic factors of Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in children: Report of the Japan Histiocytosis Study Group. *Pediatr Blood Cancer.* 2014 ;61(7):1257-62.
 - 49) Cohen JI, Jaffe ES, Dale JK, Pittaluga S, Heslop HE, Rooney CM, Gottschalk S, Bollard CM, Rao VK, Marques A, Burbelo PD, Turk SP, Fulton R, Wayne AS, Little RF, Cairo MS, El-Mallawany NK, Fowler D, Sportes C, Bishop MR, Wilson W, Straus SE. Characterization and treatment of chronic active Epstein-Barr virus disease: a 28-year experience in the United States. *Blood.* 2011 ;117(22):5835-49.
 - 50) Kimura H, Ito Y, Kawabe S, Gotoh K, Takahashi Y, Kojima S, Naoe T, Esaki S, Kikuta A, Sawada A, Kawa K, Ohshima K, Nakamura S. EBV-associated T/NK-cell lymphoproliferative diseases in nonimmunocompromised hosts: prospective analysis of 108 cases. *Blood.* 2012 ;119(3):673-86.
 - 51) Cohen JI, Kimura H, Nakamura S, Ko YH and Jaffe ES: Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disease in non-immunocompromised hosts: a status report and summary of an international meeting, 8-9 September 2008. *Ann Oncol.* 2009; 20:1472-82.
 - 52) Kawa K, Sawada A, Sato M, Okamura T, Sakata N, Kondo O, Kimoto T, Yamada K, Tokimasa S, Yasui M and Inoue M: Excellent outcome of allogeneic hematopoietic SCT with reduced-intensity conditioning for the treatment of chronic active EBV infection. *Bone Marrow Transplant.* 2011; 46:77-83.
 - 53) Sonke GS, Ludwig I, van Oosten H, Baars JW, Meijer E, Kater AP and de Jong D: Poor outcomes of chronic active Epstein-Barr virus infection and hemophagocytic lymphohistiocytosis in non-Japanese adult patients. *Clin Infect Dis.* 2008; 47:105-8.
 - 54) Beutel K, Gross-Wieltsch U, Wiesel T, Stadt UZ, Janka G and Wagner HJ: Infection of T lymphocytes in Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in children of non-Asian origin. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 53:184-90.
 - 55) Fox CP, Shannon-Lowe C, Gothard P, Kishore B, Neilson J, O'Connor N and Rowe M: Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults characterized by high viral genome load within circulating natural killer cells. *Clin Infect Dis.* 2010; 51:66-9.
 - 56) Klion AD, Mejia R, Cowen EW, Dowdell KC, Dunleavy K, Fahle GA, Holland-Thomas N, Maric I, Pittaluga S, Raffeld M, Santos C, Stetler-Stevenson M, Krogmann T, Shatzer AN, Turk SP, Yin Y, Xi L, Prussin C, Cohen JI. Chronic active Epstein-Barr virus infection: a novel cause of lymphocytic variant hypereosinophilic syndrome. *Blood.* 2013; 121(12):2364-6.
 - 57) Elazary AS, Wolf DG, Amir G, Avni B, Rund D, Yehuda DB and Svirid S: Severe Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic syndrome in six adult patients. *J Clin Virol.* 2007; 40:156-9.
 - 58) Imashuku S, Kudo N, Kubo K, Yachie A. Are regimens containing rituximab effective in the initial treatment of Epstein-Barr virus-positive natural killer cell lymphoproliferative disease-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis? *Int J Hematol.* 2013; 98(3):375-7.
 - 59) Chellapandian D, Das R, Zellek K, Wiener SJ, Zhao H, Teachey DT, Nichols KE; EBV-HLH Rituximab Study Group. Treatment of Epstein Barr virus-induced hemophagocytic lymphohistiocytosis with rituximab-containing chemo-immunotherapeutic regimens. *Br J Haematol.* 2013;162(3):376-82.
 - 60) Nasimuzzaman M1, Kuroda M, Dohno S, Yamamoto T, Iwatsuki K, Matsuzaki S, Mohammad R, Kumita W, Mizuguchi H, Hayakawa T, Nakamura H, Taguchi T, Wakiguchi H, Imai S. Eradication of Epstein-Barr virus episome and associated inhibition of infected

- tumor cell growth by adenovirus vector-mediated transduction of dominant-negative EBNA1. *Mol Ther*. 2005 ;11(4):578-90.
- 61) Chatterjee B, Leung CS, Münz C. Animal models of Epstein Barr virus infection. *J Immunol Methods*. 2014 (in press).
- 62) Yajima M, Imadome K, Nakagawa A, Watanabe S, Terashima K, Nakamura H, Ito M, Shimizu N, Yamamoto N, Fujiwara S. T cell-mediated control of Epstein-Barr virus infection in humanized mice. *J Infect Dis*. 2009 ;200(10):1611-5.
- 63) Sato K, Misawa N, Nie C, Satou Y, Iwakiri D, Matsuo-ka M, Takahashi R, Kuzushima K, Ito M, Takada K, Koyanagi Y. A novel animal model of Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in humanized mice. *Blood*. 2011 ;117(21):5663-73.
- 64) Imadome K, Yajima M, Arai A, Nakazawa A, Kawano F, Ichikawa S, Shimizu N, Yamamoto N, Morio T, Ohga S, Nakamura H, Ito M, Miura O, Komano J, Fujiwara S. Novel mouse xenograft models reveal a critical role of CD4+ T cells in the proliferation of EBV-infected T and NK cells. *PLoS Pathog*. 2011;7(10):e1002326.
- 65) Toyabe S, Harada W and Uchiyama M: Biclinal expansion of T cells infected with monoclonal Epstein-Barr virus (EBV) in a patient with chronic, active EBV infection. *Clin Exp Immunol*. 2003; 134:92-7.
- 66) Endo R, Yoshioka M, Ebihara T, Ishiguro N, Kikuta H and Kobayashi K: Clonal expansion of multiphenotypic Epstein-Barr virus-infected lymphocytes in chronic active Epstein-Barr virus infection. *Med Hypotheses*. 2004; 63:582-7.
- 67) Paterson RL, Kelleher C, Amankonah TD, Streib JE, Xu JW, Jones JF, Gelfand EW. Model of Epstein-Barr virus infection of human thymocytes: expression of viral genome and impact on cellular receptor expression in the T-lymphoblastic cell line, HPB-ALL. *Blood*. 1995 ;85(2):456-64.
- 68) Ohga S, Ishimura M, Yoshimoto G, Miyamoto T, Takada H, Tanaka T, Ohshima K, Ogawa Y, Imadome K, Abe Y, Akashi K, Hara T. Clonal origin of Epstein-Barr virus (EBV)-infected T/NK-cell subpopulations in EBV-positive T/NK-cell lymphoproliferative disorders of childhood. *J Clin Virol*. 2011 ;51(1):31-7.
- 69) Balfour HH Jr. Progress, prospects, and problems in Epstein-Barr virus vaccine development. *Curr Opin Virol*. 2014 (in press)
- 70) Villarreal L. Viruses and host evolution: virus-mediated self identity. *Adv Exp Med Biol*. 2012;738:185-217.

History of research on Epstein-Barr virus ~ target cells of infection, and disease ~

Shouichi OHGA

Department of Pediatrics, Yamaguchi University Graduate School of Medicine, 1-1-1 Minami-kogushi, Ube, JAPAN

Half a century has passed since Epstein-Barr virus (EBV) particles were isolated from the cultured lymphoblasts of Burkitt lymphoma. During the period, molecular biology, hematology/immunology, and transplantation medicine made amazing progress, that clarified the mode of infection and pathophysiology of the virus in human diseases. Research strategies on the relationship between EBV and human have expanded to the epidemiology, structures and functions of both genomes, regulatory genes including microRNA, and the nature of epigenetics. Although no animal models of EBV infection long hampered the completion of *in vivo* experiments, humanized mice have broken through a barrier of *in vitro* study on EBV-infected cell lines. Our understanding of the life cycle of EBV has continued to deepen about the infection via the CD21 receptor expressed on B cells, the latency, reactivation/reinfection, and transformation, and also the dynamics of T-cell immune response and the intracellular immunosurveillance beyond acquired and innate immunity. On the other hand, the disease entity of life-threatening lymphoproliferative disease of EBV-infected T cells or NK cells is on controversial. The other parts of this special issue include the recent topics of the basic and clinical researches of EBV as the oncogenic virus. Then, we herewith overview the research history of EBV with special reference to the infected cells and host immune responses in EBV-associated diseases.