

1. EB ウイルスの感染様式とがん

村田 貴之

愛知県がんセンター研究所腫瘍ウイルス学部
現所属：名古屋大学大学院医学系研究科ウイルス学

Epstein-Barr (EB) ウイルスはガンマヘルペスウイルスに分類されるヒト腫瘍ウイルスである。進化学的観点からみても長期にわたって宿主と共存してきた、高度な生存戦略を備えたウイルスであり、複雑、巧妙な感染様式をとることで自身の維持、拡大を図っている。その感染様式は、潜伏感染と溶解感染のふたつに分けられ、潜伏感染から溶解感染への移行を再活性化と呼ぶ。さらに潜伏感染は主に0-IIIの4つに分類される。このような感染様式の相違や変遷は、ウイルスの維持拡大のみならずがん化のプロセスや臨床病態とも深く関わっており、その理解は重要である。本稿では、EBウイルスによる増殖性疾患の発生、維持、進展の機序について、我々の感染様式に関する研究成果を交えながら紹介したい。

はじめに

Epstein-Barr virus (EBV) はガンマヘルペスウイルス亜科に属し、エンベロープを有する dsDNA ウイルスである。170kbにも及ぶ長大なゲノムに80を超える遺伝子をコードしている¹⁾。EBVは唾液を介して感染を広げる病原性ウイルスであり、主にB細胞に感染する。巧妙に潜伏、再活性化を繰り返して維持拡大を図るため、ウイルスは終生にわたって排除され得ない。またB細胞だけでなく、少なくともT/NK細胞や上皮系細胞にも感染し、後述のように多様な増殖性疾患の原因となりうる²⁾。非常にユビキタなウイルスで、成人までに9割以上が既感染となっているのに対し、EBVによって実際に伝染性単核症や増殖性疾患を発症する割合は決して高くないため、他のウイルス性疾患に比較して楽観視されがちな面もあるが、一旦EBV陽性がんを発症すると多くは難治性で悪性度が高く、医学上重要なウイルスである。

EBV陽性がんは多段階発がんであり、ウイルスだけでなく宿主要因も重要な成因である。EBV陽性がんには多様ながんが含まれ、その成因についてはがん種ごとによく検討すべきであるが、広く当てはまると考えられる素因として、我々はおおまかに3つを提唱している²⁾。第一にEBVのコードするがん遺伝子の効果、第二に先天的な宿主遺伝素因や後天的に生じる宿主ゲノムのジェネティック、エピジェネティックな変化、第三に免疫系の関与である。EBVのコードするがん遺伝子には、例えばLatent membrane protein 1 (LMP1)、LMP2Aなどが挙げられ、それぞれCD40、B cell receptor (BCR) シグナルを模倣して恒常的に活性化することでがんの発生において重要なはたらきをする。先天的な遺伝素因としては、例えば家族性に発症するX-linked lymphoproliferative syndrome (XLP)が該当する。宿主ゲノムの後天的な異常としては、バーキットリンパ腫におけるimmunoglobulin (Ig)-Mycの転座や、種々のがんが報告されている特定の変異などが挙げられる。ウイルスDNAの宿主ゲノムへのインテグレーションも散見されるが、がん化への貢献は非常に限定的であろう。免疫/炎症系の関与は複雑で、免疫によってがんが抑制されるのみならず、場合によってはがんの発生、維持、進展が促される。免疫によるがんの抑制の例として、免疫抑制状態ではEBV陽性B細胞リンパ増殖性疾患/リンパ腫が高頻度で生じることなどがあげられる。一方で免疫/炎症系によるがんのサポートに関連することとして、そもそもEBV関連疾患には強力な免疫/炎症反応が伴うことが多

連絡先

〒466-8550
愛知県名古屋市昭和区鶴舞町65
名古屋大学大学院医学系研究科ウイルス学
TEL: 052-744-2450
FAX: 052-744-2452
E-mail: tmurata@med.nagoya-u.ac.jp

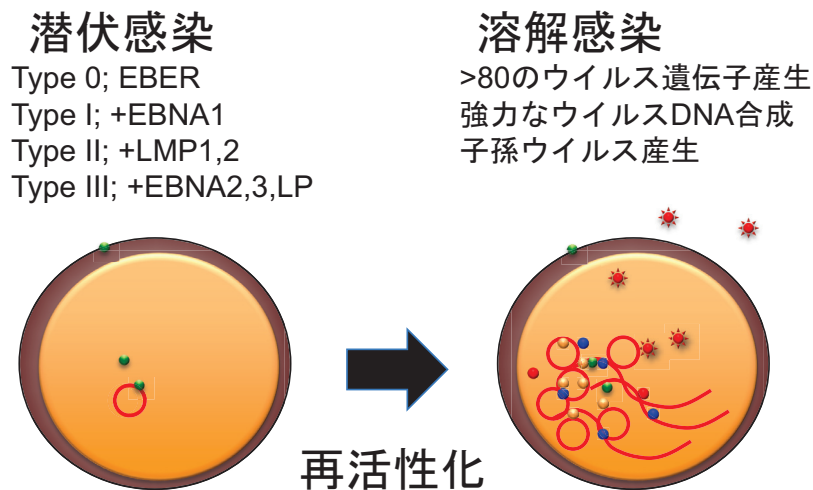


図1 EBVの感染様式

潜伏感染ではごく限られた遺伝子のみを発現するが、溶解感染ではウイルスの全ての遺伝子を発現し、強力なウイルスDNA合成が起こり、子孫ウイルスを産生する。潜伏感染は発現している遺伝子によって4つのパターンに分類されている。緑丸は潜伏感染随伴遺伝子、赤青黄丸は溶解感染随伴遺伝子を示す。EBV潜伏感染細胞では通常1細胞当たり数~数十コピーのウイルスゲノムが存在するが、ここでは単純化して1コピーのみ、赤輪で示している。(文献3より改)

い。例えばホジキンリンパ腫や胃癌、上咽頭癌においてはほぼ全例で、EBV陽性がん細胞の周囲にリンパ球の高度な浸潤が特徴的に観察される。これらのケースにおける浸潤リンパ球は、当初は腫瘍免疫反応と考えられていたが、現在では(少なくとも一部は)がんの維持進展をサポートする役割を担うとの説が有力になってきている。

EBVのひとつの大きな特徴として、B細胞を*in vitro*で高率に不死化(トランスフォーメーション)することが挙げられる。しかしこのB細胞の不死化はEBVによるがん化プロセスの一部の段階を模擬しているに過ぎない。多くのウイルスは、初感染時すぐに溶解感染を遂行して子孫ウイルスを大量に産生することで生存確率を高めるが、EBVの場合は、少なくとも一部はそれほど強力で自己複製を押し進めず、感染細胞では目立たないよう潜伏して免疫を逃れつつ、ゆりかごである細胞ごと複製してもらうことで維持拡大を図るといった進化的戦略をとっているといえる。実際のB細胞がん化の主なプロセスは、EBV陽性ナイーブB細胞が胚中心に移行し胚中心B細胞となった状態で、多様性獲得と選択という胚中心の機能を利用して(あるいは巧妙にその裏をかいて)進行する²⁾。

潜伏感染と溶解感染

EBVは宿主細胞内で潜伏感染と溶解感染(ウイルス産生感染)のうちいずれかの状態をとる³⁾(図1)。潜伏状態においてはウイルスの潜伏感染随伴遺伝子のみを発現し、サイレントな状態を保っている。ウイルスゲノムは環状のエピソームとして存在する。宿主細胞の複製に同調し

てS期に一度複製し、細胞分裂に応じて娘細胞に分配されることでそのゲノムを維持する。潜伏感染随伴遺伝子にはEBV-encoded small RNA 1,2 (EBER1,2), EBV nuclear antigen 1 (EBNA1), EBNA2, EBNA3A,B,C, EBNA-LP, LMP1, LMP2A,Bなどが存在する。その発現は宿主細胞の由来組織や状態、感染後の時間経過、免疫などによって、図1に示す主に4つの異なるパターンを示す。これらのうち、EBNA1はウイルスゲノムの宿主染色体への係留の機能をもつ。EBNA2とEBNA-LPは転写補助因子であり、EBNA3A,Cは宿主の癌抑制遺伝子のサイレンシングによりがん化に貢献する。

潜伏感染から溶解感染への切り替えを再活性化という。生体での再活性化のきっかけについては十分に明らかにはなっていないが、少なくとも培養細胞レベルにおいては、TPA、カルシウムイオノフォア、HDAC阻害剤、anti-Ig抗体などの刺激によって再活性化を実験的に誘導できる場合がある。このうちanti-Ig抗体は、EBV潜伏B細胞のBCRに結合して細胞内に刺激を伝達するものであるため、生体内においてもこれに類する刺激、すなわち抗原がEBV陽性メモリーB細胞上のBCRに結合し、B細胞を活性化するような刺激(病原体の感染によって抗原が増加した場合など)がひとつの主要なB細胞での再活性化の要因として挙げられている。また、唾液を介して感染が広がることから、口腔内や唾液腺、扁桃、咽頭などでは比較的高率に再活性化が生じているものと推測される。

再活性化に際しては(図2)、まずEBVのコードするimmediate-early (IE, 前初期/最早期)遺伝子であるBZLF1 (Zta,

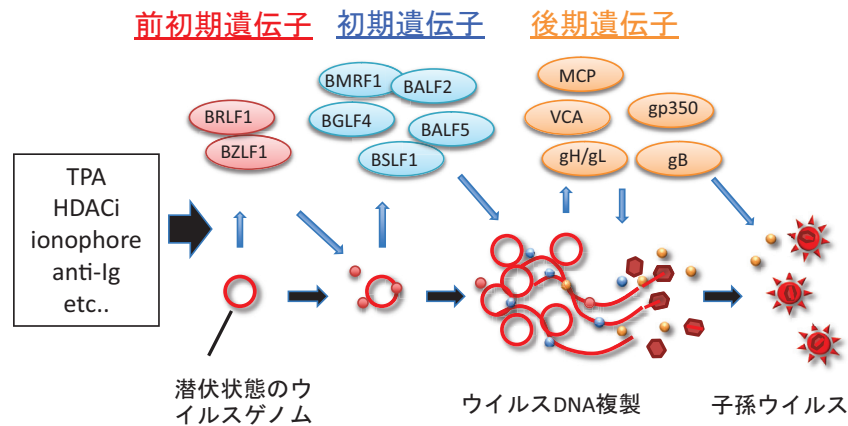


図2 EBV 溶解感染の進行

潜伏状態のウイルスゲノムに再活性化を誘導すると、前初期遺伝子、初期遺伝子の順でウイルス遺伝子が発現する。初期遺伝子によりウイルス DNA 合成が遂行され、後期遺伝子が発現する。最後に後期遺伝子の構造タンパクを利用して子孫ウイルスが形成される。(文献 Murata et al., Microbiol Immunol. in press より改)

ZEBRA, IE1)と、BRLF1(Rta, IE2)が発現する。これらは転写活性化因子であり、early (E, 初期)と呼ばれるクラスの遺伝子群の転写を活性化する。初期遺伝子にはウイルス DNA 複製に関わる遺伝子群が含まれており、これにより強力なウイルス DNA 合成が開始される。ウイルス DNA 合成ののち、主にウイルスの糖タンパクやカプシドなどの構成因子からなる late (L, 後期)クラスの遺伝子が発現する。集合した正二十面体のカプシドが合成されたゲノム DNA を取り込むとともに、DNA を単位長に切断し、核からの出芽、テグメントの獲得、糖タンパク、エンベロープの獲得により最終的に子孫ウイルスが形成される (Murata et al., Microbiol Immunol. in press) (図2)。

BZLF1 プロモーターと再活性化制御

前初期遺伝子のうち特に BZLF1 は b-Zip 型の転写因子をコードしており、潜伏状態からの再活性化に必要なかつ十分な、再活性化責任遺伝子である³⁾。BZLF1 の発現は転写レベルで厳密に制御されているため、BZLF1 の転写を研究することはすなわち、EBV 再活性化のメカニズムについて明らかにすることである。そこで我々を含む世界中の多くの研究者がこの BZLF1 のプロモーター領域に注目して研究を行ってきた。

まず、エピジェネティクスについて、溶解感染随伴遺伝子プロモーターは潜伏状態において非常に高度に CpG DNA メチル化を受けており、強力にサイレンシングされているが、溶解感染随伴遺伝子の中では唯一 BZLF1 プロモーターの CpG メチル化レベルは明らかに低く保たれている。このことは、BZLF1 が刺激に反応して迅速に転写活性化できる前初期遺伝子遺伝子であることと矛盾しない。一方でこのプロモーターは、潜伏状態においては、

CpG メチル化以外の何らかのシステムによって抑制を受けているはずである。我々は、この BZLF1 プロモーターの抑制は、ヒストン修飾によってもたらされていることを明らかにした。この領域は特にヒストン H3K9me2/3, H3K27me3, H4K20me3, 低アセチル化などにより修飾されており^{4,5)}、抑制性のヘテロクロマチンに近い状態になっていた。一方で逆に、BZLF1 プロモーター活性化には、ヒストン高アセチル化、H3K4me3 などの活性化マーカーが随伴していることが観察された (図3)^{4,5)}。

ただし、これらの抑制性ヒストン修飾のうち、どの修飾が最も主要な抑制効果を具現しているかは、実は細胞や、あるいは培養条件などによっても大きく異なる。例えば Raji では H3K27me3 と H4K20me3 が、Akata では低アセチル化が、B95-8 では H3K9me3 が重要であるようだ。すなわち、CpG メチル化以外のなんらかの BZLF1 抑制機構を獲得した細胞が潜伏状態を成立維持させることができるものであり、その抑制の種類は問わないようである^{4,5)}。実際には潜伏状態にある EBV 陽性細胞 1 細胞当たりにつき数十コピー程度のウイルスゲノムが存在しており、そのうち最も抑制レベルの低かったウイルスゲノムの抑制が解除されれば、BZLF1 の発現には十分である。このため単純に ChIP をすると、どの細胞株からも H3K27me3, H3K9me2/3 や CpG メチル化さえもある程度のレベルで検出される。しかし例えば Akata では H3K27me3 などの修飾を受けているゲノムコピーはあっても、少なくとも一部はそれらの修飾を受けておらず、HDAC 阻害剤だけで BZLF1 の発現が誘導できることとなる。

なお先述のように、BZLF1 以外の溶解感染関連遺伝子は全て高度に CpG メチル化されている。これらのウイルス遺伝子は、通常であれば発現までに CpG 脱メチル化さ

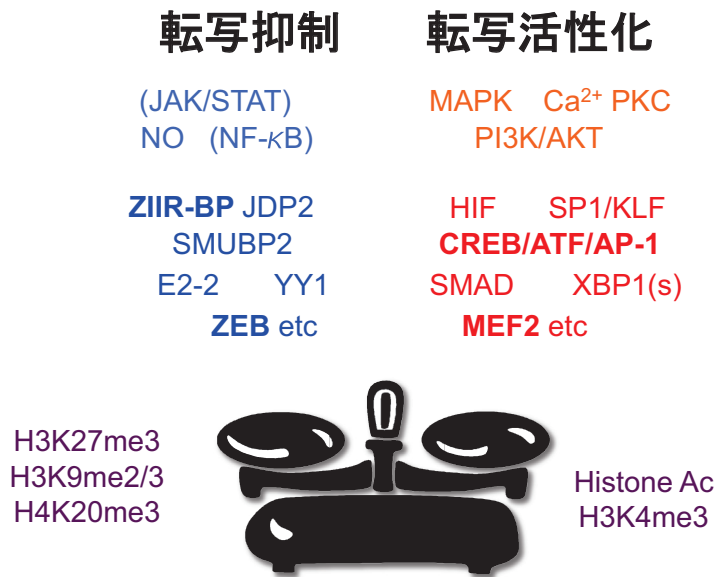


図3 再活性化を制御する転写因子，シグナルとエピジェネティクス

EBVの再活性化は，転写活性化と抑制の因子のバランスによって制御されている．通常は抑制性の因子が強いはたらくため潜伏状態が維持されるが，場合によっては活性化因子の作用が亢進し，再活性化に至る．（文献3より改）

れなければならず，長い時間が必要となるはずであるが，実はBZLF1にはCpGメチル化したモチーフに効率よく結合し転写活性化するという特徴があり，これによって，高度に抑制されていた下流遺伝子の発現が短時間で強力に促され，タイムリーな溶解感染の進行が可能となる^{3,4)}．

潜伏，再活性化においてBZLF1プロモーターのエピジェネティクスを仲介，制御するのは，転写因子である．我々はcDNAライブラリを用いたファンクショナルスクリーニングと，結合サイトに点変異を導入した組み換えウイルスの解析により，この活性化にはMEF2，CREB/ATF/AP-1/C/EBP/XBP-1(s)などのb-Zip型転写因子，Sp1が重要な役割を果たしていることを明らかにした^{3,6)}（図3）．また，BZLF1プロモーターの抑制には，ZEB，JDP2などのほか，図3のような因子が報告されている^{7,8)}．潜伏状態においては，抑制性因子のシグナル／転写因子がより強力に作用しており，逆に活性化因子のシグナル／転写因子が強力になるとBZLF1発現が誘導されるというバランスが再活性化を制御している．

EBV感染様式の変遷とがん化

EBVは細胞に感染するとすぐに潜伏感染となる，との考えが広く受け入れられてきた．しかしながら最近の研究により，EBVは感染直後，潜伏状態に入る前に一時的にabortiveな溶解感染状態となり，溶解感染関連遺伝子の少なくとも一部を発現すること⁹⁾（図4,5），さらにこのabortiveな溶解感染は，少なくともナイーブ，メモリーB細胞不死化の効率向上に重要な役割を果たしていることが

示された¹⁰⁾．このメカニズムは明らかではないが，溶解感染状態になることでウイルスもしくは細胞のサイトカインや増殖因子の放出が増強され，オートクラインもしくはパラクライン的に細胞の増殖を促すものと推測されている．この一時的な溶解感染状態はB細胞だけでなく上皮系の細胞でも観察されている¹¹⁾．いずれも培養細胞レベルでは数週間程度でかなり沈静化し，潜伏状態となる．

沈静化すると，B細胞においてはデフォルトで潜伏感染III型のパターンに落ち着く（図5）．なおII型をデフォルトパターンと表現している研究者もいるが，我々はIII型がB細胞でのデフォルトパターンであると考えている²⁾．その根拠としては，III型こそがB細胞に感染させた時にはじめに例外なく生ずる潜伏様式であること，また，I型のパーキットリンパ腫細胞を長期培養していると（II型ではなく）III型にドリフトする場合があること，を挙げている．III型の遺伝子発現パターンにはB細胞特異的な転写因子などが関与しており，基本的にB細胞に特化した潜伏型であると言える．III型潜伏感染では比較的多くのウイルス遺伝子を発現しており，B細胞を不死化するには強力な効果を発揮できるが，多くのウイルス遺伝子を発現しているということは免疫のターゲットを多く発現しているということでもあり，時間経過とともに遺伝子発現はサイレンシングされて（あるいはサイレンシングに成功した細胞だけが免疫を逃れて生存し），II，I，0型へと変遷していく傾向がある（図5）．また，B細胞の成熟段階に応じた変化も報告されている．胚中心B細胞では主にII型もしくはI型，メモリーB細胞では最終的に0型になる（図

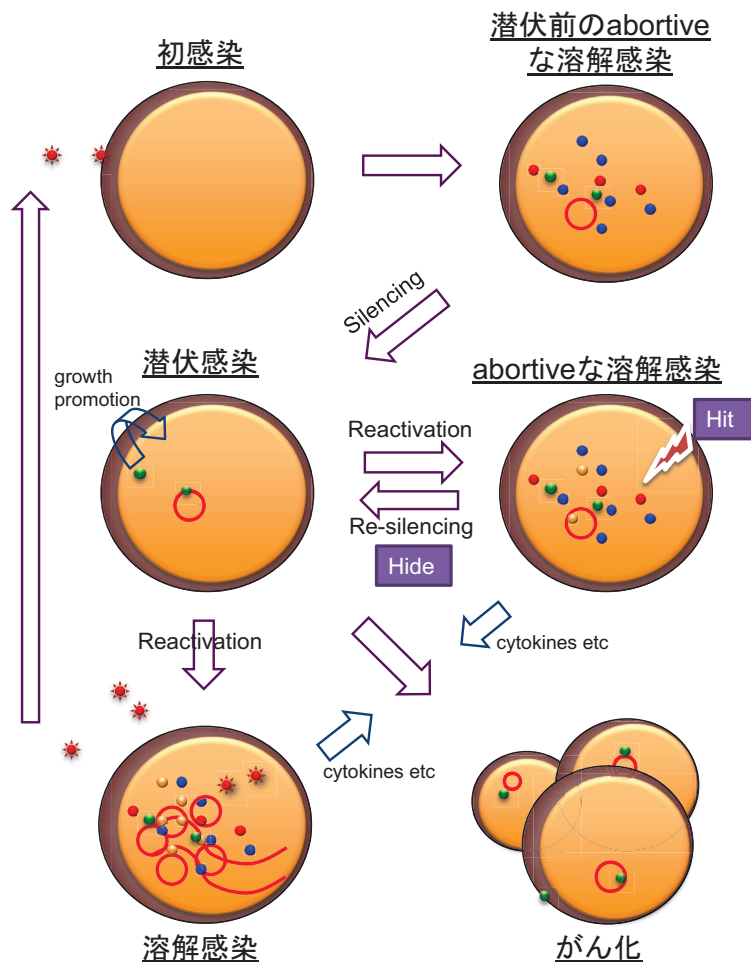


図4 EBV 感染様式の変遷

EBV は初感染時、一時的に abortive な溶解感染状態となった後、潜伏感染となる。潜伏状態にあることは感染細胞のがん化に重要であるが、一部が再活性化しサイトカイン等を放出することで、周囲の細胞の増殖を促進すると考えられる。再活性化の程度が弱いと abortive となって再び潜伏感染に戻ると推測されるが、溶解感染状態ではゲノム不安定性が誘導されやすい状況にあるため、潜伏 / 溶解感染を行き来することでより効率よく変異が蓄積されている可能性がある (Hit & Hide 仮説)。緑丸は潜伏感染随伴遺伝子、赤、青、黄丸はそれぞれ前初期、初期、後期遺伝子を表す。(文献2より改)

5). 潜伏随伴遺伝子の発現減少とともに宿主のゲノムには徐々にジェネティック / エピジェネティックな改変が生じ、当初不死化に必要であったウイルス遺伝子発現の漸減を補って余りあるような変異を蓄積し、p16^{INK4A} などががん抑制遺伝子のサイレンシングに成功した場合、がん化していくものと考えられる²⁾ (図5)。また、胚中心 B 細胞では免疫多様性獲得のために activation-induced cytidine deaminase (AID) が高発現しており、転座や変異が起こりやすい環境になっていることも特筆される。

一方で B 細胞以外の細胞では主に II 型がデフォルトの潜伏状態となる²⁾ (図5)。ただし、いくつかの胃癌細胞系等では、I 型になるという報告もあり¹²⁾、必ずしも衆目の一致するところではない。いずれにしても徐々にウイルス遺伝子は減少していく傾向にあり、その間に宿主ゲノム

のジェネティック / エピジェネティックな変化を蓄積していくものである (図5)。

また、一旦潜伏状態に入った EBV 陽性細胞の一部が再活性化し、ウイルスもしくは細胞のサイトカインや増殖因子の放出を促進することで、周囲の EBV 潜伏細胞の増殖を促すこともあると考えられ、溶解感染という状態もがん化に一定の役割を果たしていると考えられている³⁾ (図4)。我々はこの考えをさらに押し進め、世界に先駆けて “Hit and Hide” という仮説を提唱している^{2,3)}。再活性化に移行した EBV 陽性細胞のうち一部は abortive となり、再び潜伏状態に戻るのではないかという考えである (図4)。溶解感染状態においては宿主ゲノムの不安定性を誘導しやすい BZLF1、BGLF4 (キナーゼ)、BGLF5 (ヌクレアーゼ) などが発現しており、溶解感染状態と潜伏感染状態を行き

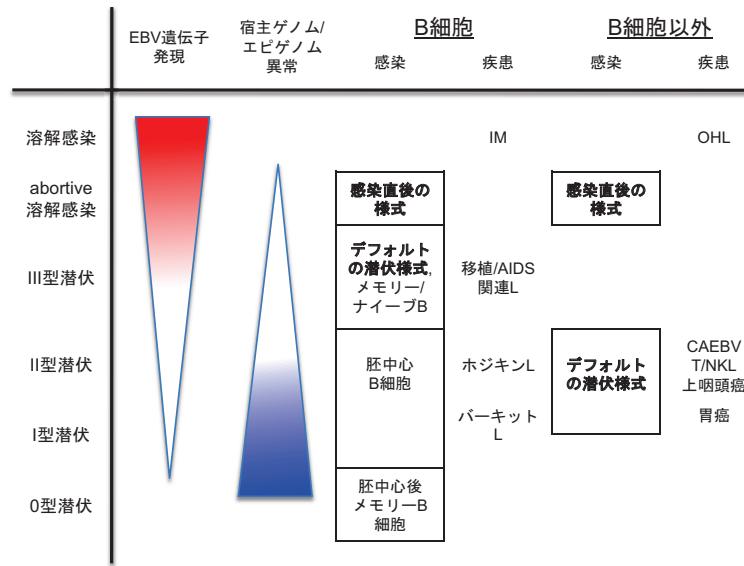


図5 EBV 感染様式のダイナミックな変化と病態

EBV は感染後、時間経過とともにウイルス遺伝子を段階的に漸減させる一方、感染細胞はジェネティック / エピジェネティックな異常や変化を蓄積させていく傾向がある。IM, infectious mononucleosis; OHL, oral hairy leukoplakia. (文献2より改)

来することでより効率よく変異を蓄積できるのではないかと考えている。Hit and Hide 仮説がどれだけ EBV 陽性がんの発生に寄与しているのかは、さらなる検討が必要であるが、いずれにしても EBV 感染様式と増殖性疾患発症のプロセスには大きな関係があることは確かであろう。

個々の EBV 関連疾患の成因

EBV は多様な増殖性疾患の原因となる。これらの原因として共通して考えられる部分もあるが、がん種ごとに異なるメカニズムや病理もあり、やはり個々に検討することが必須である。ここでは主な EBV 陽性がんの成因について個別に紹介したい。

EBV 陽性がんについて述べる前に、伝染性単核（球）症についてもここで紹介したい。乳幼児期に初 EBV 感染を受けると不顕性、もしくはカゼ程度の軽い症状となることが多いが、青年期以降に初感染を受けた場合には伝染性単核症を発症することがある。伝染性単核症は発熱、扁桃炎、倦怠、リンパ腫脹等を主徴とし、その本態は、EBV に感染した B 細胞を排除しようとして生じる T 細胞の過剰な活性化やサイトカインの過剰産生（サイトカインストームと呼ばれる）である。なぜ乳幼児期よりも青年期以降の方が強力な反応が起こるのか、未だ定かではないが、ここでは2つの仮説を紹介したい。ひとつは、青年期までに感染した他の病原体等とのクロスリアクトがあり、EBV に対する免疫が強化されるという説である。しかしもしそれが正しければ青年期以降 EBV に初感染するとより容易にウイルスを封じ込めることができるはずであり、免疫の

交差だけでは説明がつかないと考えられる。別の仮説では、NK から CTL への重心変化が挙げられている。この説は、特に溶解感染状態にある EBV 陽性 B 細胞の排除には NK 細胞のほうが CTL より効果的という推測と、伝染性単核症では CTL が強力に活性化する一方で NK 細胞は減少しているとの観察に基づいている¹³⁻¹⁵。伝染性単核症は初感染であり、他の EBV 関連疾患に比較して溶解感染にある細胞の比率が高い。溶解感染においては human leukocyte antigen class I (HLA-I) の細胞表面への発現が強く抑制されるが^{16,17}、HLA-I は CTL の抗原認識に必要であり、同時に NK 細胞の活性化を忌避させる。さらに溶解感染時には、NK 細胞の活性化を促す NKG2D や DNAM1 などのレセプターを増強するという報告もある¹⁸。乳幼児期には NK 細胞による排除がメジャーにはたらいっているが、成長につれて雑多な抗原にさらされ相対的に CTL の貢献比率が高まり、しかし CTL では溶解感染状態にある EBV を効果的に排除できず、アクセルを過剰に踏んでしまうのではないかとこの考えである。数週間から長くても数ヶ月で自然治癒することもあり、伝染性単核症に対する治療は対症療法にとどまっているが、人為的に感染様式を制御することができれば伝染性単核症を軽快させる余地があると考えられる。

バーキットリンパ腫は、ヒトで最初に発見されたウイルス陽性がんである¹⁹。アフリカでの発症が多く、胚中心 B 細胞由来で、Ig と Myc の転座を特徴とする。ウイルス陰性であっても Ig-Myc の転座は低い確率で起こりうる現象であり、EBV が感染することでその確率が高まってい

る（もしくは排除されにくくなっている）と考えられる。Myc 転座の他に、TP53 や RB2 の変異が報告されている^{20,21)}。アフリカでのエンデミックバーキットにおいてはほぼ 100% で EBV 陽性となっており、生体でのがんの維持進展にはウイルスの存在が重要であると考えられるが、一方で有名な Akata 細胞のほか、多くのバーキット由来細胞から EBV 陰性株が単離、維持できていることから、バーキットリンパ腫の腫瘍性増殖におけるウイルスの貢献は、少なくとも培養細胞レベルでは決して高くない。ウイルスは I 型潜伏感染をとっていることが多く、発現している EBV 遺伝子数は限定的である。一部は Wp-restricted という、EBNA2 の欠損を伴う複雑な様式をとる。免疫抑制関連リンパ腫などでもバーキットタイプの転座が見受けられることから、宿主の免疫状態も発症の原因のひとつであろう。

ホジキンリンパ腫²²⁾ の大きな特徴として、EBV 陽性で腫瘍性に増殖する Hodgkin and Reed-Sternberg (HRS) 細胞と、その周囲に EBV 陰性の非腫瘍性リンパ球が高度に浸潤していることが挙げられる。HRS 細胞も胚中心由来で、本来であればアポトーシスによる死滅を誘導される crippled と呼ばれる変異を Ig 遺伝子に持つケースがみうけられることから、死すべき運命にあった胚中心 B 細胞であっても EBV に感染していたために生残、増殖してしまっているものであると考えられている²³⁾。胚中心 B 細胞の生存、増殖には少なくとも BCR と CD40 からのシグナルが必要であるが、EBV は LMP2A と LMP1 というそれぞれのレセプターの活性型のホモログをコードしており、これらがホジキンリンパ腫の成因として重要な役割を果たしている。この点からも、ホジキンリンパ腫が（I 型ではなく）II 型潜伏様式をとっていることの重要性が理解できる。EBV 陽性ホジキンリンパ腫の増殖における EBV 依存性は高いが、EBV 陽性率は例えばほぼ 100% 陽性となるエンデミックバーキット等に比較すると低い。EBV 陽性 / 陰性ホジキンリンパ腫の詳細な解析から、いずれにおいても CD95/FAS, A20, Rel といった NF- κ B シグナルに関係する因子の変異が多く報告されており²⁴⁻²⁷⁾、NF- κ B シグナルが構成的に活性化している状態であった。LMP1 は NF- κ B シグナルを活性化することを合わせて考えると、ホジキンリンパ腫においては、EBV によって、もしくはそれ以外の何らかの理由で NF- κ B シグナルを活性化することが腫瘍性増殖に重要であることが強く示唆される。さらに、HLA 多型の影響も多く報告されていること、AIDS 患者でもホジキンリンパ腫が散見されることから、免疫の関与も示されている。

臓器移植や AIDS などによる免疫抑制に伴う B 細胞リンパ増殖性疾患 / リンパ腫には EBV が随伴していることが多い^{28,29)}。いわゆる日和見タイプの発症で、その分類は多岐にわたり、まとめて全体像を記述することが困難である。胚中心もしくは胚中心後 B 細胞由来で、免疫系に

よる制御を受けにくいことから III 型という比較的多くウイルス遺伝子を発現する様式をとることが多く、ウイルス依存性も高い場合が多い。しかし例えば、AIDS 関連のバーキットリンパ腫やホジキンリンパ腫ではそれぞれ I 型、II 型となる。

EBV は T, NK 細胞にも感染し、増殖性疾患を引き起こすことがある³⁰⁾。EBV 陽性 T/NK 細胞増殖性疾患は特に東アジア地域で多く、また予後も悪い傾向にあり、我が国においても深刻な問題である。chronic active EBV (CAEBV, 慢性活動性 EBV 感染症), extranodal NK/T cell lymphoma (ENKTL), aggressive NK leukemia (ANKL) の 3 つのクラテリティアにおいてはほぼ全例で EBV 陽性である。CAEBV においては、明らかな免疫疾患がないにも関わらず EBV が T 細胞もしくは NK 細胞に感染し、クローナリティーをもって増殖することが認められる³¹⁾。発熱、倦怠、肝脾腫、リンパ節腫脹のほか、蚊刺過敏症、種痘様水疱症、血球貪食症候群などを伴うことがある。ウイルスに対する一部の CTL 活性が減弱しているとの報告があり、免疫系の関与もあると想定される。CAEBV の定義である発熱、倦怠、リンパ節腫脹を伴わない例も報告されており、この齟齬に対応すべく木村らは EBV 関連 T/NK リンパ増殖性疾患という定義を新たに提唱している。また一部のケースにおいて、CAEBV はさらに悪性化の転帰をとり、ENKTL や ANKL になることが知られている³²⁾。T/NK 増殖性疾患 / リンパ腫において EBV は II 型の潜伏様式をとることが多く、少なくとも CAEBV の細胞増殖における LMP1 の重要性を我々も確認している (Ito et al., Cancer Med, in press)。一方で、時間経過とともに LMP1, LMP2A などの発現は徐々に減じ、宿主ゲノムに変異が蓄積されていくようである。そのような変異として、TP53, K-Ras, β -catenin, FoxO3, Blimp1 などの報告がある^{33,34)}。

上咽頭癌は特に中国南部で好発する上皮細胞の癌である³⁵⁾。生検ではほぼ全例が EBV 陽性であることから、*in vivo* でのウイルス依存性は高いと推測されるが、分離培養した細胞ではほとんどの場合ウイルスが脱落して陰性となっている。II 型もしくは I 型の潜伏様式が見られることから、T/NK リンパ腫と同様徐々にウイルス遺伝子がサイレンシングされて、その発現が減弱していついていものと考えられる。上咽頭癌に随伴する変異として、Rassif1A, P16^{INK4A}, TP53, Bcl-2, Cyclin D1 などが報告されている³⁶⁻³⁹⁾。疫学的には EBV のほか、塩漬けの魚やタバコの消費との関連が知られており、また HLA 多型との関連を示唆する論文も多い。

胃癌の 10% 弱で EBV が陽性となっている⁴⁰⁾。胃癌において EBV は I 型の感染様式をとっているが、培養細胞レベルで EBV を胃上皮細胞に感染させると II 型となることを我々は観察しているので、上咽頭癌同様デフォルトでは II 型と我々は考えている⁴¹⁾。胃癌ではデフォルトで I

型との報告もあるが、いずれにしても感染直後には abortive な溶解感染をとることから、一時的には LMP1, LMP2A を発現しているはずであり、これらのがん遺伝子が胃癌の発生に関与している可能性がある。TP53, ARID1 の変異が報告されている⁴²⁾ ほか、P16^{INK4A} や E-cadherin などのサイレンシングも EBV 陽性胃癌に随伴する事象として明らかにされている⁴³⁻⁴⁵⁾。上咽頭癌と胃癌、2つの EBV 陽性上皮性悪性腫瘍において、いずれもその周囲に高度なリンパ球の浸潤が見られる。このような腫瘍組織に付随して生じるリンパ球の高度な浸潤は、EBV 陽性がんの特徴といえる。

終わりに

このように EBV の増殖、潜伏様式や、EBV 陽性がんの成因、維持進展機構は複雑で興味が尽きない。また複雑であるためか誤った情報も氾濫している一方で、学術書を開いても高度に専門的であったり長過ぎたりして、全体を俯瞰するような平易な総説があまりないように感じていた。本稿では少しでも多くの人に EBV について知って頂きたいとの考えで、特に感染様式という切り口から EBV 陽性がんの成り立ちについて紹介させて頂いた。

今後筆者は、これまでメインに行ってきた、感染様式制御機構についての研究を継続するほか、大腸菌内遺伝子組み換えの系を駆使してウイルス遺伝子の機能解析にも力を入れて行きたい。EBV のコードする遺伝子には、IL-10, Bcl-2, BCR や CD40 のホモログ, G protein-coupled receptor (GPCR), キナーゼ, ヌクレアーゼ, 脱ユビキチン/Nedd 化酵素など非常に興味深い遺伝子も含まれ、さらに全く手つかずで機能未知の遺伝子も少なくない。ウイルス遺伝子機能解析を通して、新たな創薬ターゲットが創出できることも期待される。また、EBV の特徴のひとつである免疫/炎症系との関係についても取り組んでいきたい。

謝辞

本研究は、愛知県がんセンター研究所腫瘍ウイルス学部 鶴見達也部長、名古屋大学大学院医学系研究科木村宏教授のご指導ご理解の元、研究室内外の多くの方々の援助を得て行われました。お世話になっております先生方に深謝申し上げます。

参考文献

- 1) Tsurumi T, Fujita M, Kudoh A (2005) Latent and lytic Epstein-Barr virus replication strategies. *Rev Med Virol* 15: 3-15.
- 2) Murata T, Sato Y, Kimura H (2014) Modes of infection and oncogenesis by the Epstein-Barr virus. *Rev Med Virol*.
- 3) Murata T, Tsurumi T (2013) Switching of EBV cycles between latent and lytic states. *Rev Med Virol*.

- 4) Murata T, Tsurumi T (2013) Epigenetic modification of the Epstein-Barr virus BZLF1 promoter regulates viral reactivation from latency. *Front Genet* 4: 53.
- 5) Murata T, Kondo Y, Sugimoto A, Kawashima D, Saito S, et al. (2012) Epigenetic Histone Modification of Epstein-Barr Virus BZLF1 Promoter during Latency and Reactivation in Raji Cells. *J Virol* 86: 4752-4761.
- 6) Murata T, Narita Y, Sugimoto A, Kawashima D, Kanda T, et al. (2013) Contribution of myocyte enhancer factor 2 family transcription factors to BZLF1 expression in Epstein-Barr virus reactivation from latency. *J Virol* 87: 10148-10162.
- 7) Murata T, Noda C, Saito S, Kawashima D, Sugimoto A, et al. (2011) Involvement of Jun Dimerization Protein 2 (JDP2) in the Maintenance of Epstein-Barr Virus Latency. *J Biol Chem* 286: 22007-22016.
- 8) Yu X, Wang Z, Mertz JE (2007) ZEB1 regulates the latent-lytic switch in infection by Epstein-Barr virus. *PLoS Pathog* 3: e194.
- 9) Wen W, Iwakiri D, Yamamoto K, Maruo S, Kanda T, et al. (2007) Epstein-Barr virus BZLF1 gene, a switch from latency to lytic infection, is expressed as an immediate-early gene after primary infection of B lymphocytes. *J Virol* 81: 1037-1042.
- 10) Kalla M, Schmeinck A, Bergbauer M, Pich D, Hammerschmidt W (2010) AP-1 homolog BZLF1 of Epstein-Barr virus has two essential functions dependent on the epigenetic state of the viral genome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107: 850-855.
- 11) Shannon-Lowe C, Adland E, Bell AI, Delecluse HJ, Rickinson AB, et al. (2009) Features distinguishing Epstein-Barr virus infections of epithelial cells and B cells: viral genome expression, genome maintenance, and genome amplification. *J Virol* 83: 7749-7760.
- 12) Yoshiyama H, Imai S, Shimizu N, 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.
- 13) Rickinson AB, Long HM, Palendira U, Munz C, Hislop AD (2014) Cellular immune controls over Epstein-Barr virus infection: new lessons from the clinic and the laboratory. *Trends Immunol* 35: 159-169.
- 14) Chijioke O, Muller A, Feederle R, Barros MH, Krieg C, et al. (2013) Human natural killer cells prevent infectious mononucleosis features by targeting lytic Epstein-Barr virus infection. *Cell Rep* 5: 1489-1498.
- 15) Williams H, McAulay K, Macsween KF, Gallacher NJ, Higgins CD, et al. (2005) The immune response to primary EBV infection: a role for natural killer cells. *Br J Haematol* 129: 266-274.
- 16) Griffin BD, Gram AM, Mulder A, Van Leeuwen D, Claas FH, et al. (2013) EBV BILF1 evolved to downregulate cell surface display of a wide range of HLA class I molecules through their cytoplasmic tail. *J Immunol* 190: 1672-1684.
- 17) Horst D, van Leeuwen D, Croft NP, Garstka MA, Hislop AD, et al. (2009) Specific targeting of the EBV lytic phase protein BNLF2a to the transporter associated with antigen processing results in impairment of HLA class I-restricted antigen presentation. *J Immunol*

- 182: 2313-2324.
- 18) Pappworth IY, Wang EC, Rowe M (2007) The switch from latent to productive infection in Epstein-Barr virus-infected B cells is associated with sensitization to NK cell killing. *J Virol* 81: 474-482.
 - 19) Rowe M, Kelly GL, Bell AI, Rickinson AB (2009) Burkitt's lymphoma: the Rosetta Stone deciphering Epstein-Barr virus biology. *Semin Cancer Biol* 19: 377-388.
 - 20) Gaidano G, Ballerini P, Gong JZ, Inghirami G, Neri A, et al. (1991) p53 mutations in human lymphoid malignancies: association with Burkitt lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88: 5413-5417.
 - 21) Cinti C, Leoncini L, Nyongo A, Ferrari F, Lazzi S, et al. (2000) Genetic alterations of the retinoblastoma-related gene RB2/p130 identify different pathogenetic mechanisms in and among Burkitt's lymphoma subtypes. *Am J Pathol* 156: 751-760.
 - 22) Brauninger A, Schmitz R, Bechtel D, Renne C, Hansmann ML, et al. (2006) Molecular biology of Hodgkin's and Reed/Sternberg cells in Hodgkin's lymphoma. *Int J Cancer* 118: 1853-1861.
 - 23) Kanzler H, Kuppers R, Hansmann ML, Rajewsky K (1996) Hodgkin and Reed-Sternberg cells in Hodgkin's disease represent the outgrowth of a dominant tumor clone derived from (crippled) germinal center B cells. *J Exp Med* 184: 1495-1505.
 - 24) Cabannes E, Khan G, Aillet F, Jarrett RF, Hay RT (1999) Mutations in the I κ B α gene in Hodgkin's disease suggest a tumour suppressor role for I κ B α . *Oncogene* 18: 3063-3070.
 - 25) Krappmann D, Emmerich F, Kordes U, Scharschmidt E, Dorken B, et al. (1999) Molecular mechanisms of constitutive NF- κ B/Rel activation in Hodgkin/Reed-Sternberg cells. *Oncogene* 18: 943-953.
 - 26) Muschen M, Re D, Brauninger A, Wolf J, Hansmann ML, et al. (2000) Somatic mutations of the CD95 gene in Hodgkin and Reed-Sternberg cells. *Cancer Res* 60: 5640-5643.
 - 27) Schmitz R, Hansmann ML, Bohle V, Martin-Subero JJ, Hartmann S, et al. (2009) TNFAIP3 (A20) is a tumor suppressor gene in Hodgkin lymphoma and primary mediastinal B cell lymphoma. *J Exp Med* 206: 981-989.
 - 28) Capello D, Rossi D, Gaidano G (2005) Post-transplant lymphoproliferative disorders: molecular basis of disease histogenesis and pathogenesis. *Hematol Oncol* 23: 61-67.
 - 29) Carbone A (2003) Emerging pathways in the development of AIDS-related lymphomas. *Lancet Oncol* 4: 22-29.
 - 30) Fox CP, Shannon-Lowe C, Rowe M (2011) Deciphering the role of Epstein-Barr virus in the pathogenesis of T and NK cell lymphoproliferations. *Herpesviridae* 2: 8.
 - 31) Kimura H (2006) Pathogenesis of chronic active Epstein-Barr virus infection: is this an infectious disease, lymphoproliferative disorder, or immunodeficiency? *Rev Med Virol* 16: 251-261.
 - 32) Kimura H, Ito Y, Kawabe S, Gotoh K, Takahashi Y, et al. (2012) EBV-associated T/NK-cell lymphoproliferative diseases in nonimmunocompromised hosts: prospective analysis of 108 cases. *Blood* 119: 673-686.
 - 33) Takahara M, Kishibe K, Bandoh N, Nonaka S, Harabuchi Y (2004) P53, N- and K-Ras, and beta-catenin gene mutations and prognostic factors in nasal NK/T-cell lymphoma from Hokkaido, Japan. *Hum Pathol* 35: 86-95.
 - 34) Karube K, Nakagawa M, Tsuzuki S, Takeuchi I, Honma K, et al. (2011) Identification of FOXO3 and PRDM1 as tumor-suppressor gene candidates in NK-cell neoplasms by genomic and functional analyses. *Blood* 118: 3195-3204.
 - 35) Lo KW, Chung GT, To KF (2012) Deciphering the molecular genetic basis of NPC through molecular, cytogenetic, and epigenetic approaches. *Semin Cancer Biol* 22: 79-86.
 - 36) Lo KW, Huang DP (2002) Genetic and epigenetic changes in nasopharyngeal carcinoma. *Semin Cancer Biol* 12: 451-462.
 - 37) Choi PH, Suen MW, Huang DP, Lo KW, Lee JC (1993) Nasopharyngeal carcinoma: genetic changes, Epstein-Barr virus infection, or both. A clinical and molecular study of 36 patients. *Cancer* 72: 2873-2878.
 - 38) Vera-Sempere FJ, Burgos JS, Botella MS, Morera C (1997) Immunohistochemical expression of Bcl-2 oncoprotein in EBV-associated nasopharyngeal carcinoma correlated to histological type and survival. *Histol Histopathol* 12: 9-18.
 - 39) Tsang CM, Yip YL, Lo KW, Deng W, To KF, et al. (2012) Cyclin D1 overexpression supports stable EBV infection in nasopharyngeal epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109: E3473-3482.
 - 40) Fukayama M (2010) Epstein-Barr virus and gastric carcinoma. *Pathol Int* 60: 337-350.
 - 41) Noda C, Murata T, Kanda T, Yoshiyama H, Sugimoto A, et al. (2011) Identification and characterization of CCAAT enhancer-binding protein (C/EBP) as a transcriptional activator for Epstein-Barr virus oncogene latent membrane protein 1. *J Biol Chem* 286: 42524-42533.
 - 42) Wang K, Kan J, Yuen ST, Shi ST, Chu KM, et al. (2011) Exome sequencing identifies frequent mutation of ARID1A in molecular subtypes of gastric cancer. *Nat Genet* 43: 1219-1223.
 - 43) Kaneda A, Matsusaka K, Aburatani H, Fukayama M (2012) Epstein-Barr virus infection as an epigenetic driver of tumorigenesis. *Cancer Res* 72: 3445-3450.
 - 44) Kaneda A, Kaminishi M, Yanagihara K, Sugimura T, Ushijima T (2002) Identification of silencing of nine genes in human gastric cancers. *Cancer Res* 62: 6645-6650.
 - 45) Hino R, Uozaki H, Murakami N, Ushiku T, Shinozaki A, et al. (2009) Activation of DNA methyltransferase 1 by EBV latent membrane protein 2A leads to promoter hypermethylation of PTEN gene in gastric carcinoma. *Cancer Res* 69: 2766-2774.

Lifecycles of EBV and Cancer

Takayuki MURATA

Division of Virology, Aichi Cancer Center Research Institute

Present affiliation : Department of Virology, Nagoya University Graduate School of Medicine

Epstein-Barr virus (EBV) is a member of gamma-herpesvirus, which can cause various types of tumor. Coexisting with the host for a long period of time, it has evolved unique and sophisticated strategy for survival by taking complicated, tactical modes of infection. Such modes include latent and lytic infections, and latent state is further categorized into four types. Differences and transitions in such lifestyles are significantly associated not only with virus amplification, but also with pathology and advancement of the disorders. I here review oncogenesis and pathogenesis of EBV-related disorders, especially focusing on our recent results on the modes of EBV infection.