

## EB ウイルスとヒトがんとの関係

所属機関 北海道医療大学看護福祉学部  
研究者名 大里 外譽郎

## 《研究の概要》

EB ウイルス (EBV) は、1964 年赤道東アフリカに多発する小児がん・バーキットリンパ腫に見い出され、以来これまでの研究から多様なヒト悪性腫瘍、すなわちバーキットリンパ腫のみならず上咽頭がん・種々のリンパ腫・ホジキン病・胸腺腫瘍・さらには胃がんの病因と密接に関連している可能性が示唆されている。本研究は、こうしたヒト EBV 発がんを日本人に多い胃がんに関心をもち、疫学的・実験的により明確にすることにある。その成果は、1) 日本のみならず世界各地の胃がんの約 10% に、EBV が潜在しがん化の指令を出していることが明らかになった。2) 正常胃粘膜細胞に EBV が持続感染しうることが知られた。3) EBV が潜在しがん化の指令を出している胃がんには、これらがん細胞の排除に働く免疫リンパ球が多数出現すると見られた。4) 免疫能の低下は、臓器移植患者の例のように悪性腫瘍としてのリンパ腫が生じやすく、これらのがんには EBV が潜在しがん化の指令を出していた。5) こうした免疫能の低下を防ぎ強化する手段を検索し、植物由来芳香性成分が効果的であることが知られた。

### 研究組織

主任研究者	大里外譽郎	北海道医療大学看護福祉学部教授 医博東北大・院昭和 37 修 EB ウイルス発がんの多様性
分担研究者	高田賢蔵	北海道大学医学部教授 医博北大・院昭和 55 修 EB ウイルス遺伝子のがん原性
	今井章介	北海道大学医学部助教授 医博札医大昭和 56 卒 EB ウイルス発がん宿主遺伝子
	青笹克之	大阪大学医学部教授 医博東北大昭和 48 卒 EB ウイルスによる免疫・神経・内分泌系発がん
	徳永正義	鹿児島大学医学部講師 医博昭和大昭和 46 卒 EB ウイルスによる消化器・呼吸器発がん

### 研究目的

EBV は、30 年前赤道アフリカ小児に多発するバーキットリンパ腫に、次いで中国南部の中年男性に高頻度に発生する上咽頭がんに見い出されて以来、これらの両悪性腫瘍との密接な関係が示されてきた。さらに最近、EBV は広く B 細胞リンパ腫・T 細胞リンパ腫・ホジ

キン病にその遺伝子が存在し情報発現していることが知られ、本邦に高頻度の胃がんにも病因的に関連することが、我が国の研究を中心に展開しつつある。本研究は、EBV とヒトがんとの病因的関係を明確にし、EBV のヒトがん発生における重要性を確立することを目的とする。

#### 研究計画・材料・方法

研究計画：1) 胃がんを中心に諸種悪性腫瘍について、腫瘍細胞内の EBV 遺伝子の有無・遺伝子発現の有無・病理学的特性・地域的差異を検索する。2) 胃を中心に正常組織への EBV 感染による悪性化の可能性を実験する。3) EBV 発がんの防御に重要な免疫機能増強の可能性を検索する。

材料・方法：1) リンパ腫・上咽頭がん・胃がん等諸種の悪性腫瘍組織について、EBV 遺伝子の存在と発現を、Southern blot 法・in situ hybrid 法・northern blot 法・western blot 法・蛍光抗体法等により検出を行った。2) EBV 陽性リンパ腫より EBV 遺伝子脱落のクローンを分離し、EBV 遺伝子のがん化機能を検索した。3) 胃等の正常培養細胞に EBV を接種し、薬剤耐性を指標に感染細胞を選択し、その性状を検索した。4) 自然環境より諸種植物因子を抽出し、免疫機能増強作用を検索した。

#### 研究成果

1) 本邦および世界各地の胃がんの約 10%に EBV 遺伝子の存在とその発現が検出され、こうした EBV 陽性胃がんは CDS 免疫リンパ球に富む特異な病理組織像を示した。2) 正常胃粘膜細胞への EBV 感染で、胃がん細胞に類似する EBV 遺伝子の発現を見た。3) EBV 陽性リンパ腫より EBV 遺伝子が脱落すると、リンパ腫の悪性形質もまた脱落することが示された。4) 一方、EBV 陽性リンパ腫の発生に有意の地域差が見られ、生活環境等の修飾因子の重要性が示唆された。5) EBV 陽性悪性リンパ腫の発生が、全身免疫抑制のみならず局所的な免疫不全状態も重要と見られた。5) 芳香性植物因子ピネン・リモネンが著しい免疫増強作用を包含することが示された。

#### 考察

以上の研究成果に基づき、今後の問題を考える。

EBV 関連腫瘍として最も最近示唆されてきた胃がんについて、正常胃粘膜への実験 EBV 感染が胃がん細胞の発生を再現しうるか、加えて EBV 陽性胃がんのリスク因子を明らかにする。2) EBV 諸遺伝子の EBV 発がんにおける役割並びにこれらウイルス遺伝子と共役する宿主側遺伝子の役割を明らかにする。3) EBV 発がんを左右する免疫能の低下の防止と増強を確立する。

#### 発表

- 1) Osato T, Takada K and Tokunaga M eds: Epstein-Barr Virus and Human Cancer, Gann Monograph on Cancer Research (Japanese Cancer Association, Japan Scientific Societies Press, Karger) 45: pp 1-185, 1998.
- 2) Osato T and Imai S: Epstein-Barr virus and gastric carcinoma. Seminars Cancer

- Biol 7: 175-182, 1996.
- 3) Imai S, Sugiura M and Osato T: Epstein-Barr virus-carrying and -expressing T-cell lines established from severe chronic active EBV infection. *Blood* 87: 1446-1457, 1996.
  - 4) Harabuchi Y, Imai S, Wakashima J, Hirao M, Kataura A, Osato T and Kon S: Nasal T-cell lymphoma causally associated with Epstein-Barr virus: Clinicopathologic, phenotypic, and genotypic studies. *Cancer* 77: 2137-2149, 1996.
  - 5) Sugiura M, Imai S, Tokunaga M, Koizumi S, Uchizasa M, Okamoto K and Osato T: Transcriptional analysis of Epstein-Barr virus gene expression in EBV-positive gastric carcinoma: Unique viral latency in the tumour cells. *Brit J Cancer* 74: 625-631, 1996.
  - 6) Hirao M, Harabuchi Y, Kataura A, Imai S and Osato T: Immunological role of human palatine tonsil in Epstein-Barr virus persistence. *Acta Oto-Laryngol Suppl* 523, 158-160, 1996.
  - 7) Azuma H, Sakata Y, Sasaki K, Oka T, Hironaka T, Hirai T, Imai S, Osato T and Okuno A: Hodgkin's disease developed in a patient with extremely high serum antibody titers against Epstein-Barr virus associated antigens without chronic illness. *J Pediatr Hematol Oncol* 18: 387-391, 1996.
  - 8) Shimizu N, Yoshiyama H and Takada K: Clonal propagation of Epstein-Barr virus (EBV) recombinants in EBV-negative Akata cells. *J Virol* 70: 7260-7263, 1996.
  - 9) Wen S, Shimizu N, Yoshiyama H, Miyazaki Y, Shinozaki F and Takada K: Association of Epstein-Barr virus with Sjogren's syndrome: Differential EBV expression between epithelial cells and lymphocytes in salivary glands. *Amer J Pathol* 149: 1511-1517, 1996.
  - 10) Tomita Y, Ohsawa M, Kanno H, Hashimoto M, Ohnishi A, Nakanishi H and Aozasa K: Epstein-Barr virus in Hodgkin's disease in Japan. *Cancer* 77: 186-192, 1996.
  - 11) Kanno H, Yasunaga Y, Ohsawa M, Taniwaki M, Luchi K, Naka N, Torikai K, Shimoyama M and Aozasa K: Expression of Epstein-Barr virus latent infection genes and oncogenes in lymphoma cell lines derived from pyothorax-associated lymphoma. *Int J Cancer* 67: 86-94, 1996.
  - 12) Kanno H, Yasunaga Y, Luchi K, Yamauchi S, Tatekawa T, Sugiyama H and Aozasa K: Interleukin-6 mediated growth enhancement of cell lines derived from pyothorax-associated lymphoma. *Lab Invest* 75: 167-173, 1996.
  - 13) Aozasa K: Pyothorax-associated lymphoma. *Int J Hematol* 65: 9-16, 1996.
  - 14) Kusuhara K, Takabayashi A, Ueda K, Minamishima I, Take H, Fujioka K, Imai S and Osato T: Breast milk is not a significant source for early Epstein-Barr virus or human herpesvirus 6 infection in infants: A seroepidemiologic study in 2 endemic areas of human T-cell lymphotropic virus type I in Japan.

- Microbiol Immunol 41: 309-312, 1997.
- 15) Yoshiyama H, Imai S, Shimizu, N and Takada K: 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, 1997.
  - 16) Koide J, Takada K, Sugiura M, Sekine H, Ito T, Saito K, Mori S, Takeuchi T, Uchida S and Abe T: Spontaneous establishment of an Epstein-Barr virus-infected fibroblast line from the synovial tissue of a rheumatoid arthritis patient. J Virol 71: 2478-2481, 1997.
  - 17) Wen S, Mizugaki Y, Shinozaki F and Takada K: Epstein-Barr virus infection in salivary gland tumors: Lytic EBV infection in nonmalignant epithelial cells surrounded by EBV-positive T-lymphoma cells. 227: 484-487, 1997.
  - 18) Yanai H, Nishikawa J, Mizugaki Y, Shimizu N, Takada K, Matsusaki K, Tada T, Matsumoto Y, Tada M and Okita K: Endoscopic and pathologic features of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. Gastrointest Endosco 45: 236-243, 1997.
  - 19) Yanai H, Takada K, Shimizu N, Mizugaki Y, Tada M and Okita K: Epstein-Barr virus infection in non-carcinomatous gastric epithelium. J Pathol 183: 293-298, 1997.
  - 20) Kanno H, Naka N, Yasunaga Y, Yamauchi S, Hashimoto M and Aozasa K: Production of the immunosuppressive cytokine, interleukin-10, by Epstein-Barr virus expressing pyothorax-associated lymphoma: Possible role in the development of overt lymphoma in immunocompetent hosts. Amer J Pathol 150: 349-357, 1997.
  - 21) Aozasa K, Ohsawa M and Kanno H: Pyothorax-associated lymphoma. Adv in Anat Pathol 4: 58-63, 1997.
  - 22) Tomita Y, Ohsawa M, Qiu K, Hashimoto M, Yang W-I, Kim G-E and Aozasa K: Epstein-Barr virus in lymphoproliferative diseases in the sino-nasal region: Close association with CD56+ immunophenotype and polymorphic reticulosis morphology. Int J Cancer 70: 9-13, 1997.
  - 23) Qiu K, Tomita Y, Hashimoto M, Ohsawa M, Kawano K, Wu D-M and Aozasa K: Epstein-Barr virus in gastric carcinoma in Suzhou, China and HLA-subtype. Int J Cancer 71: 155-158, 1997.
  - 24) Yasunaga Y, Hoshida Y, Hashimoto M, Miki T, Okuyama A and Aozasa K: Malignant lymphoma of the kidney: Report of eight cases. J Surg Oncol 64: 207-211, 1997.
  - 25) Hoshida T, Tsukuma H, Yasunaga Y, Xu N, Fujita MO, Satoh T, Ichikawa Y, Kurihara K, Imanishi M, Matsuno Y and Aozasa K: Cancer risk after renal transplantation in Japan. Int J Cancer 71: 517-520, 1997.
  - 26) Hoshida Y, Kusakabe H, Furukasa H, Kasugai T, Miwa H, Ishiguro S and Aozasa K: Reassessment of gastric lymphoma adopting the modern concept MALT (mucosa-associated lymphoid tissue). Analysis of 53 patients. Cancer 80: 1151-1159, 1997.

- 27) Kanno H, Naka N, Yasunaga Y and Aozasa K: Role of immunosuppressive cytokine, interleukin-10, in the development of pyothorax-associated lymphoma. *Leukemia* 11 suppl 3: 525-526, 1997.
- 28) Arikawa J, Tokunaga M, Sato E, Tanaka S and Land CE: Morphological characteristics of Epstein-Barr virus-related early gastric carcinoma: A case control study. *Pathol Int* 47: 360-367, 1997.
- 29) Arikawa J, Tokunaga M, Tanaka S, Sato E, Haraguchi K, Yamamoto A, Toyohira O and Tsuchimochi A: Epstein-Barr virus-positive multiple early gastric cancer and dysplasia: A case report. *Pathol Int* 47: 730-734, 1997.
- 30) Sidagis J, Ueno K, Tokunaga M, Ohshima M and Eizuru Y: Molecular epidemiology of Epstein-Barr virus in EBV-related malignancies. *Int J Cancer* 72: 72-76, 1997.
- 31) Galetskiy SA, Tsvetnov W, Land CE, Afanasiev TA, Petrovichev NN, Gurtsevitch VE and Tokunaga M: Epstein-Barr virus-associated gastric cancer in Russia. *Int J Cancer* 73: 786-789, 1997.
- 32) Osato T: Epstein-Barr virus infection and oncogenesis. *Gann Monogr Cancer Res* 45: 3-16, 1998.
- 33) Harabuchi Y, Imai S, Kataura A, Osato T and Kon S: Nasal T-cell lymphoma causally associated with Epstein-Barr virus. *Gann Monogr Cancer Res.* 45: 129-137, 1998.
- 34) Takada K: The Burkitt's lymphoma line Akata. *Gann Monogr Cancer Res.* 45: 19-28, 1998.
- 35) Yanai H, Shimizu N, Mizugaki Y, Nishikawa J, Yoshiyama H, Tada M, Okita K and Takada K: The gastric mucosa surrounding Epstein-Barr virus-associated gastric cancers. *Gann Monogr Cancer Res.* 45: 103-108 1998.
- 36) Mizugaki Y, Sugawara Y, Shinozaki F and Takada K: Detection of Epstein-Barr virus in oral papilloma *Jap J Cancer Res* 89: 604-607, 1998.
- 37) Imai S, Nishikawa J and Takada K: Cell-to-cell contact as an efficient mode of Epstein-Barr virus infection of diverse human epithelial cells. *J Virol* 72: 4371-4378, 1998.
- 38) Imai S: Virological basis of Epstein-Barr virus-positive gastric carcinoma *Gann Monogr Cancer Res* 45: 77-86, 1998.
- 39) Aozasa K, Ohsawa M, Tomita Y and Kanno H: EBV and malignant lymphoma. *Gann Monogr Cancer Res* 45: 117-127, 1998.
- 40) Tomita Y, Ohsawa M, Hashimoto M, Qui K, Yang W-I, Park C-I and Aozasa K: Plasmacytoma of the gastro-intestinal tract in Korea: Higher incidence rate than in Japan and EBV-association. *Oncology* 55: 27-32, 1998.
- 41) Murakami K, Ohsawa M, Hu S-X, Kanno H, Aozasa K and Nose M: A case of large vessel arteritis associated with chronic active Epstein-Barr virus infection. *Arth Rheum* 41:369-373, 1998.

- 42) Ohsawa M, Hashimoto M, Yasunaga Y, Shingu N and Aozasa K: Characteristics of non-Hodgkin's lymphoma complicated with renal cell malignancies. *Oncology* 55: 482-486, 1998.
- 43) Kanno H and Aozasa K: Mechanisms for the development of pyothorax-associated lymphoma *Pathol Int* 48: 653-664, 1998.
- 44) Hongyo T, Kurooka M, Taniguchi E, Luchi K, Nakajima Y, Aozasa K and Nomura T: Frequent p53 mutation at dipyrimidine sites in patients with pyothorax-associated lymphoma. *Cancer Res* 58: 1105-1107, 1998.
- 45) Kanno H, Ohsawa M, Luchi K, Nakatsuka S, Yamamoto S, Nishioka M and Aozasa K: Appearance of different clone of Epstein-Barr virus genome in recurrent tumor of pyothorax-associated lymphoma (PAL) and a mini-review of PAL. *Leukemia* 12: 1288-1294, 1998.
- 46) Kojya S, Itokazu T, Noda Y, Ezaki M, Tomita Y, Ohsawa M and Aozasa K: Site specific localization of Epstein-Barr virus in the pharyngeal carcinoma. *Jpn J Cancer Res* 89: 510-515, 1998.
- 47) Yang W-I, Cho M-S, Tomita Y, Ohsawa M and Aozasa K: Epstein-Barr virus and gastrointestinal lymphomas in Korea. *Yonsei Medical J* 39: 268-276, 1998.
- 48) Tori M, Fujii Y, Minami M, Ohsawa M, Aozasa K and Matsuda H: Hodgkin's disease of the chest wall: Report of a case. *Surg Today* 28: 853-856, 1998.
- 49) Tashiro Y, Arikawa J, Ito T and Tokunaga M: Clinico-pathological findings of Epstein-Barr virus-related gastric cancer. *Gann Monogr Cancer Res* 45: 87-97, 1998.
- 50) Torii T, Konishi K, Sample J and Takada K: The truncated form of the Epstein-Barr virus LMP1 is dispensable or complimentable by the full-length form in virus infection and replication. *Virology*, in press.
- 51) Komano J, Sugiura M and Takada K: Epstein-Barr virus contributes to the malignant phenotype and apoptosis resistance in Burkitt's lymphoma cell line Akata. *J Virol*, in press.
- 52) Mizuki M, Ueda S, Tagawa S, Shibayama H, Nishimori Y, Shibano M, Asada H, Tanaka M, Nagata S, Kobayashi M, Sozuki K, Machii T, Aozasa K, Kitani T and Kanekura Y: Natural killer cell-derived large granular lymphocyte lymphoma of lung developed in a patient with hypersensitivity to mosquito bites and reactivated Epstein-Barr virus infection. *Am J Hematol*, in press.
- 53) Ohsawa M, Shingu N, Miwa H, Yoshihara H, Kubo M, Tsukuma H, Teshima H, Hashimoto M and Aozasa K: Risk of non-Hodgkin's lymphoma in patients with hepatitis C virus infection. *Int J Cancer*, in press.
- 54) Tokunaga M and Land CE: Epstein-Barr virus involvement in gastric cancer: Biomarker for lymph node metastasis. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, in press.
- 55) Tokunaga M: Epstein-Barr virus as a pathogen of gastric carcinoma In

Bioregulation and Its Disorders in the Gastric Carcinoma. Blackwell Science  
Japan Tokyo, in press.