

# AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

耳鼻咽喉科免疫アレルギー (2000.06) 18:140～141.

鼻性NK/T細胞リンパ腫におけるEBウイルス遺伝子塩基配列の検討

長峯正泰, 坂東伸幸, 高原幹, 柳内充, 林達哉, 小林吉史,  
原渕保明

## 49. 鼻性 NK/T 細胞リンパ腫における EB ウイルス遺伝子塩基配列の検討

○長峯正泰, 坂東伸幸, 高原 幹, 柳内 充, 林 達哉, 小林吉史, 原淵保明

旭川医科大学耳鼻咽喉科

### Sequence Variations of Epstein-Barr Virus LMP-1, LMP-2A Gene in Nasal NK/T Cell Lymphoma

Nagamine M, Bando N, Takahara M, Yanai M, Hayashi Y, Kobayashi Y, Harabuchi Y  
Dept. of Otolaryngology, Asahikawa Medical College

#### 1. はじめに

従来進行性鼻壊疽とよばれてきた疾患は、最近の研究によって NK 細胞または T 細胞を起源とする悪性リンパ腫であることが示され、近年鼻性 NK/T 細胞リンパ腫の名称が使われている。またその病因としてこれまで我々は EB ウイルスがその発症に深く関連していることを報告してきた。

鼻性 NK/T 細胞リンパ腫において発現が報告されている EB ウイルス遺伝子のうち、latent membrane protein (LMP) は 3 種類存在し、そのうち LMP-1 は細胞のアポトーシスを抑制することで感染細胞の増殖を促進し、細胞の不死化、腫瘍化への関与が示唆されている。LMP-2A はウイルスの潜伏感染の維持に重要な役割をはたしていると考えられている。これら LMP は細胞膜上に発現をみるため宿主の細胞障害性 T 細胞の標的となる。そのため感染細胞が宿主の免疫から回避するためのメカニズムとして、LMP 遺伝子中の塩基置換により、アミノ酸変異を生じる可能性が考えられている。そこで今回我々は、鼻性 NK/T 細胞リンパ腫中の EB ウイルス遺伝子 LMP-1、-2A についてその塩基配列を決定、これまでに報告されたウイルスの塩基配列と比較し、塩基多型、変異の有無およびアミノ酸の変化を検討した。

#### 2. 方法

対象は、NK/T 細胞リンパ腫と診断された 7 例で男性 5 例、女性 2 例年齢 36~74 歳（平均 42 歳）である。

はじめにそれぞれの凍結組織中から DNA を QIAGEN 社 QIAamp DNA mini kit を使用し回収した。次に目的とする遺伝子領域を polymerase

chain reaction (PCR) 法にて増幅し、1 回の PCR ではバンドが検出されないものには、nested PCR 法を施行した (図 1)。LMP-1 遺伝子は、約 17 万塩基対からなる EB ウイルスゲノム中 C 末側にコードされており、3 つの exon からなっている。これら 3 つの exon を含むよう設計した 1 組のプライマーで PCR を施行し 1.4kb の増幅産物を得た。次いでプライマーを追加、組み合わせを変えて、nested PCR を施行し、2 本の増幅産物を得た。塩基配列はこれら 2 種類の増幅産物に対して 4 種類のプライマーを用いて読み取った。同様に LMP-2A 遺伝子についても、その exon2-exon8 までを含むよう設計した 1 組のプライマーを用い PCR を施行しさらにプライマーをかえて nested PCR を施行して増幅産物を得たのち、exon6 領域を中心に塩基配列を読み取った。得られた増幅産物を鋳型にして、塩基配列をオートシーケンサー (ABI PRISM model 310<sup>®</sup>) にて決定、塩基配列およびアミノ酸配列について検討した。

#### 3. 結果

基準株としての B95-8 株、Radi 株と比較し、本症例 7 例全てで C 末端中 30 塩基、10 個のアミノ酸欠失を認めた (図 2)。

LMP-1 遺伝子 1, 158 塩基に関して、鼻性 NK/T 細胞リンパ腫 7 症例と B95-8 株とを比較した際、全 7 例で同一塩基であり、かつ B95-8 株とは異なる 1 塩基変異を生じた部位は 43ヶ所で、それにより 22ヶ所のアミノ酸変異がみられた。また本 7 症例中で塩基が一致せず、塩基多型を認めた部位は 11ヶ所存在し、その内アミノ酸多型は 10ヶ所であった。

LMP-2A に関して、B95-8 株と比較したところ

鼻性NK/T細胞リンパ腫7症例全てで、エキソン6中グアニンがシトシンとなる塩基置換があり、結果全例にセリンがスレオニンとなるアミノ酸変異を認めた(図3)。

#### 4. 考察

LMP-1 遺伝子中に認めた30塩基の欠失は、バーキットリンパ腫由来の Akata 株でも認めるなど、他の EB ウイルス関連疾患で多数報告されている。しかしながら正常人から分離される EBV においても30塩基欠失が多く報告されており、その腫瘍原性については今後更なる検討が必要と考えられた。今回示した LMP-1 遺伝子中のアミノ酸変異は、他の疾患の報告でもなされていたが、これらのうち

いくつかの変異の組み合わせが疾患と関連している可能性もあり今後、症例を増やして検討する必要があると考えた。

LMP-2A 遺伝子中の今回みられたアミノ酸変異は、細胞障害性T細胞によって認識されるエピトープとなりうるとの報告がされているアミノ酸配列中の変異であった。EB ウイルス陽性健常者においては、セリンを有するものと、スレオニンを有するものがほぼ同数であるのに対し、ホジキン病、上咽頭癌では、セリンであるものが多く、また EB ウイルス陽性胃癌では、スレオニンであるものが多いとの報告があり、これらエピトープとなるアミノ酸配列中の変異と病態発生の関連性が鼻性NK/T細胞リンパ腫でも考えられた。

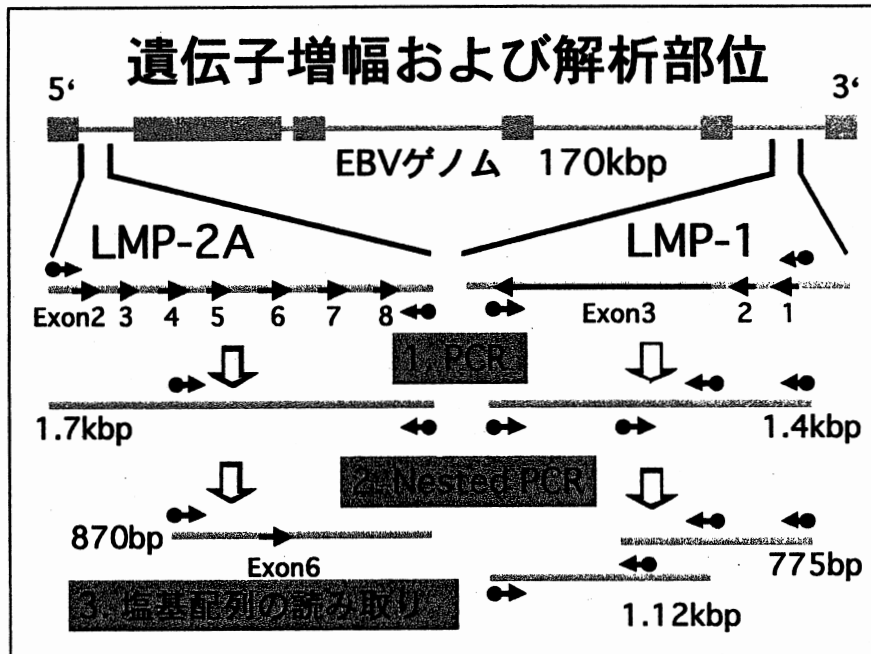


図1

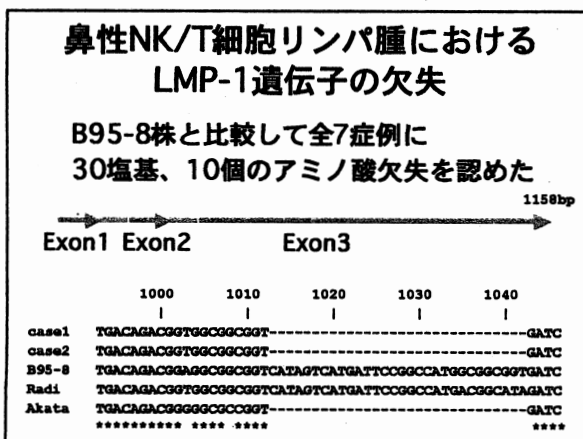


図2

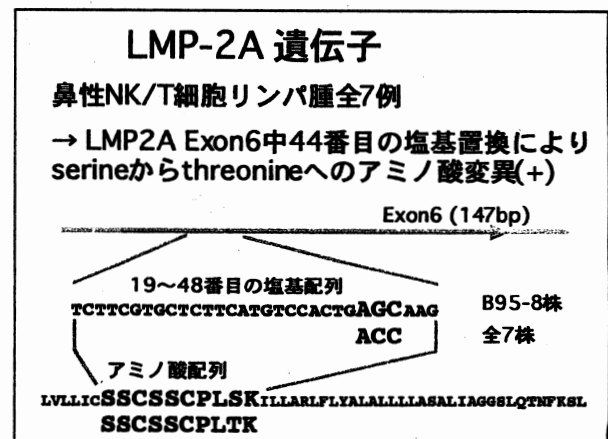


図3