

AMCoR

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

耳鼻咽喉科免疫アレルギー (2006.03) 24巻1号:1~9.

鼻性NK/T細胞リンパ腫のEBウイルス学的,分子腫瘍学的解析

原 遡 保 明、高 原 幹

■総説■

鼻性NK/T細胞リンパ腫のEBウイルス学的、分子腫瘍学的解析

原 淵 保明, 高 原 幹

旭川医科大学耳鼻咽喉科学・頭頸部外科学講座

はじめに

鼻性NK/T細胞リンパ腫 nasal NK/T-cell lymphoma は、鼻腔や咽頭に初発し、顔面正中部に沿って進行する破壊性の壊死性肉芽腫性病変を主体とするリンパ腫である(図1)。肺、皮膚、消化管などの他臓器への浸潤や血球貪食症候群が高頻度に出現し、非常に予後が不良な疾患である。また、病理組織診断が非常に困難なため、病変部位の生検では確定診断がなかなかつきにくいのが特徴である。したがって、従来その本態や病因に対して議論の多く、進行性鼻壊疽 rhinitis gangrenosa progressiva, 致死性正中肉芽腫症 lethal midline granuloma, 悪性肉芽腫症 malignant granuloma, 多形細胞網症 polymorphic reticulosis, 悪性組織球症 malignant histiocytosis など、多種多様の呼称がつけられていた時代もあった。しかし、1982年 Ishii ら¹⁾が腫瘍細胞の表面形質がT細胞型リンパ腫の特徴を有する6例を報告して以来、鼻性T細胞リンパ腫という名称が使われ²³⁾、その後、腫瘍細胞がT細胞とNK細胞の両者の表面抗原を有することが判明し、鼻性NK/T細胞リンパ腫という名称が現在広く使われている⁴⁵⁾。

病因的には、筆者ら⁶⁾が本疾患の腫瘍細胞内にEBウイルスDNAとEBウイルス特異的発癌蛋白が同定されることを報告して以来、本疾患の病因としてEBウイルスが一躍注目されるようになった⁷⁸⁾。本稿では、これまで筆者らが行った鼻性NK/T細胞リンパ腫に関するEBウイルス学的、分子腫瘍学的解析で得られた成績²³⁾⁶⁾⁹⁾⁻²⁰⁾²⁵⁾を中心に最近の知見を含めて概説する。

細胞起源はNK細胞と $\gamma\delta$ T細胞の2種類ある

本疾患の病理組織上の特徴は、①腫瘍細胞の大小不同が著しく非常に多形性に富み(pleomorphism)、②組織内にはリンパ球、白血球、形質細胞などの炎症性細胞浸潤が混在している(polymorphism)ことである。また、③高範囲に壊死や肉芽組織を伴い、④血管の細網繊維の増生が激しく、所々に血管壁内浸潤がみられる(angiocentric infiltration)(図2)。これらの組織学的特徴から polymorphic reticulosis と呼ばれたり、angiocentric lymphoma の範疇に分類

される場合もある。

表面形質は汎T細胞の抗原であるCD3, CD45RO, CD2が陽性で、NK細胞の抗原であるCD56も陽性を示す(図2)。これらの所見から鼻性NK/T細胞リンパ腫と呼ばれるようになった。CD56以外のNK細胞の抗原としては、CD16については陽性を示す症例を筆者らが検討した18例中4例に認めたが、CD57については全例発現されていなかった。他の抗原として、HLA-DR抗原は検索した13例全てに発現が認められた。また、腫瘍細胞にはパーフォリンやFasリガンド(FasL)が発現し、細胞接着分子 intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1)の発現が認められる¹¹⁾。これらの所見から、本疾患の浸潤破壊病変形成には、腫瘍細胞の高い細胞傷害活性や細胞接着分子、サイトカインが深く関わっている可能性が示唆される。

腫瘍細胞の起源としては、NK細胞由来の症例と $\gamma\delta$ T細胞由来の症例が存在すると思われる。従来、大半の報告はCD56+CD3-TCR-の表現型を有し、T細胞レセプター遺伝子再構成がみられないことからNK細胞由来とされてきた⁴⁾。しかしながら、T細胞レセプター遺伝子再構成が認められる症例も少なからず報告されている⁸⁾²¹⁾²²⁾。実際に、筆者は本疾患にT細胞レセプター遺伝子の再構成を認める症例を7例経験している¹⁰⁾(図3)。加えて、Nagata ら²³⁾は本疾患の原発巣よりCD56+CD3-TCR-の表現型を有するNK細胞由来の細胞株とCD56+CD3+TCR $\gamma\delta$ +の表現型を有し $\gamma\delta$ T細胞レセプター遺伝子の再構成を認める $\gamma\delta$ T細胞由来の細胞株を樹立したことから本腫瘍の起源としてNK細胞と $\gamma\delta$ T細胞の2種類があることを報告した。

p53, N-ras, K-ras, β -catenin 遺伝子変異がみられる

鼻性NK/T細胞リンパ腫では周囲に炎症細胞を伴いながらびまん性に浸潤する腫瘍特性から、腫瘍細胞のみを選択することが困難であった。筆者らは、レーザーマイクロダイセクション法により腫瘍細胞のみを組織切片より選択し採取し癌関連遺伝子p53, N, K-ras, β -cateninについて解析した¹⁶⁾。その結果、32例中6例(19%)にp53遺伝子変異を認めた。変異様式はtransitionが1例(17%)、transversionは5例(83%)であり、全変異が非CpG部位に存在していた。6例中2例(33%)はアミノ酸の変化を

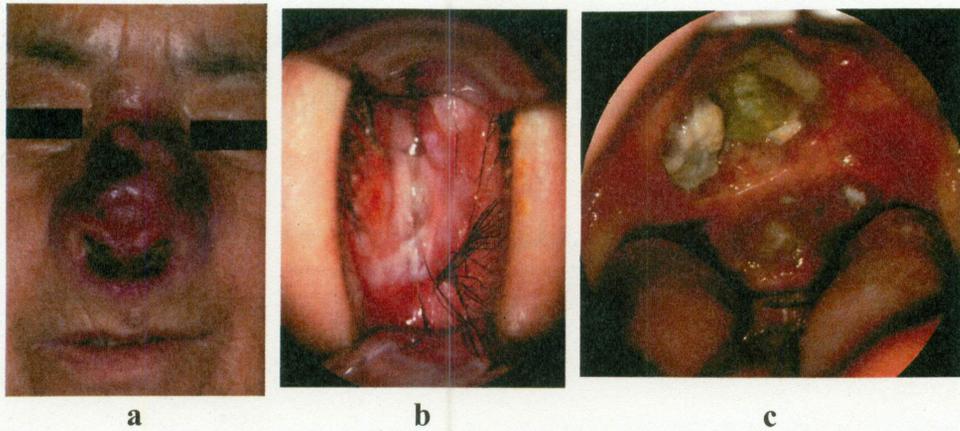


図1 鼻性NK/T細胞リンパ腫の局所所見。a) 顔面皮膚では腫瘍の浸潤により鼻先部の発赤を伴った硬結が認められる。b) 鼻腔所見では甲介の破壊や肉芽腫を認める。c) 口腔内所見では軟口蓋から硬口蓋にかけて広い欠損を認め、鼻腔内の壊死を伴った肉芽腫性病変が直視できる。

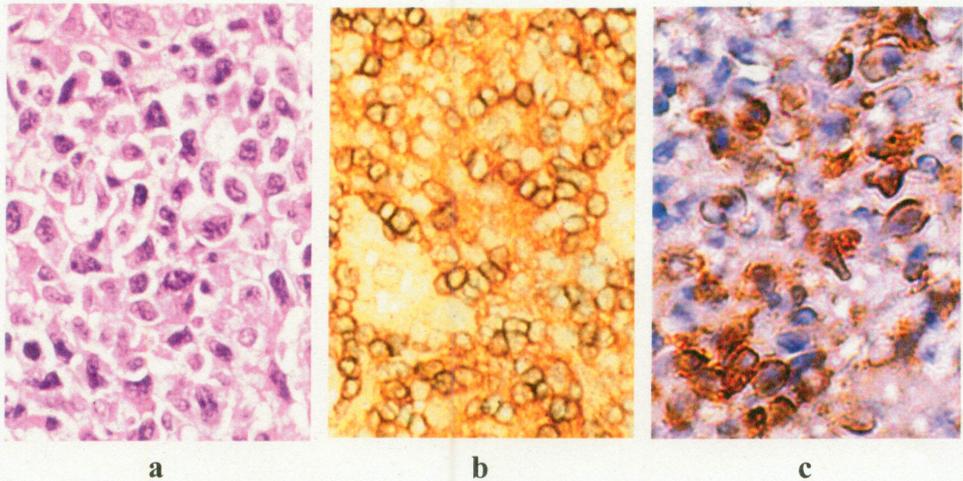


図2 腫瘍組織のHE染色像(a)とCD2(b)およびCD56(c)の免疫染色像。a) 異型性に富んだ大型細胞と小型細胞の浸潤を認める($\times 400$)。瀰漫性に浸潤しているほとんどの細胞の表面にT細胞(CD2:b)およびNK細胞(CD56:c)の抗原が陽性像を呈している。

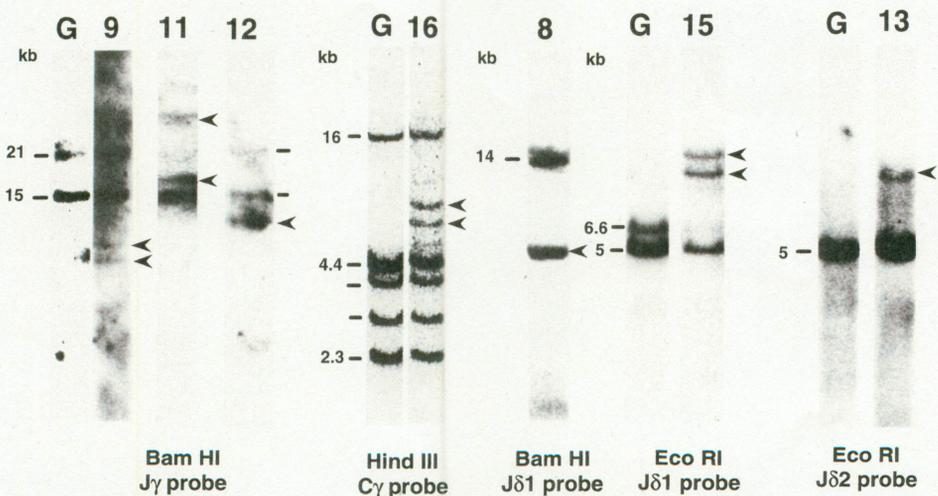
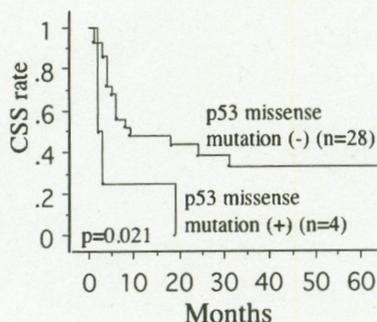


図3 サザンプロット法による免疫遺伝子学的解析¹⁰⁾。いずれの症例にも矢印で示す位置にT細胞レセプター遺伝子 γ または δ 鎖の再構成バンドを認める。生検にて得られた腫瘍組織のDNAを抽出した後、制限酵素(BamHI, EcoRI, およびHindIII)でDNAを切断し電気泳動し、ニトロセルロース膜に転写した後、J γ , C γ またはJ $\delta 1$ をコードしている³²P標識DNAプローベを反応した後、オートラジオグラフした¹⁰⁾。

表1 鼻性NK/T細胞リンパ腫におけるp53, Ras, β -cateninの遺伝子変異¹⁶⁾

遺伝子	Exon	Codon	変異	アミノ酸	missense/silent	変異様式	Tr/Tv
p53	8	281	G → T	Asp → Tyr	missense	G:C → T:A	Tv
	8	284	A → T	Thr	silent	A:T → T:A	Tv
	7	238	G → C	Cys → Ser	missense	G:C → C:G	Tv
	9	328	C → T	Phe	silent	G:C → T:A	Tr
	7	238	T → A	Cys → Ser	missense	A:T → T:A	Tv
	7	241	T → G	Ser → Ala	missense	T:A → G:C	Tv
N-ras	1	13	G → A	Gly → Ser	missense	G:C → A:T	Tr
K-ras	1	13	G → A	Gly → Asp	missense	G:C → A:T	Tr
β -catenin	3	47	T → C	Ser	silent	A:T → G:C	Tr
	3	31	C → T	Leu	silent	G:C → A:T	Tr
	3	32	G → A	Asp	silent	G:C → A:T	Tr
	3	24	A → G	His → Arg	missense	A:T → G:C	Tr
	3	56	C → T	Asp	silent	G:C → A:T	Tr
	3	60	T → C	Ser → Pro	missense	A:T → G:C	Tr
	3	60	T → C	Ser → Pro	missense	A:T → G:C	Tr
	3	67	C → A	Asp → Glu	missense	G:C → T:A	Tv

Tr: Transition. Tv: Transversion.

図4 p53遺伝子変異と患者予後¹⁶⁾。p53遺伝子のミスセンス変異を持つ症例 (n=4) は持たない症例 (n=28) に比べ有意に疾患特異的生存率 (cause-specific survival rate; CSS rate) が低下している (p=0.021)。

伴わないサイレント変異であった。また、32例中5例(16%)に合計8部位の β -catenin遺伝子変異を認めた。N, K-ras遺伝子の変異を認めたものは32例中1例(3%)のみであった(表1)。また、種々の遺伝子変異、過剰発現と予後の相関を検討した所、p53遺伝子変異症例は遺伝子変異のない症例に比べ予後が有意に不良であった(図4)。鼻性NK/T細胞リンパ腫におけるp53遺伝子変異の報告として、Liら²⁴⁾は中国、日本各地域での本疾患患者42例中20例(48%)に認めたと報告している。その検討によれば地域によってp53遺伝子変異頻度が異なり、大阪府では22%であったと報告している。本研究の検討¹⁶⁾では19%であり、北海道においても同様の頻度であるといえる。変異様式については大阪府、北海道では80%以上が非CpG部位の

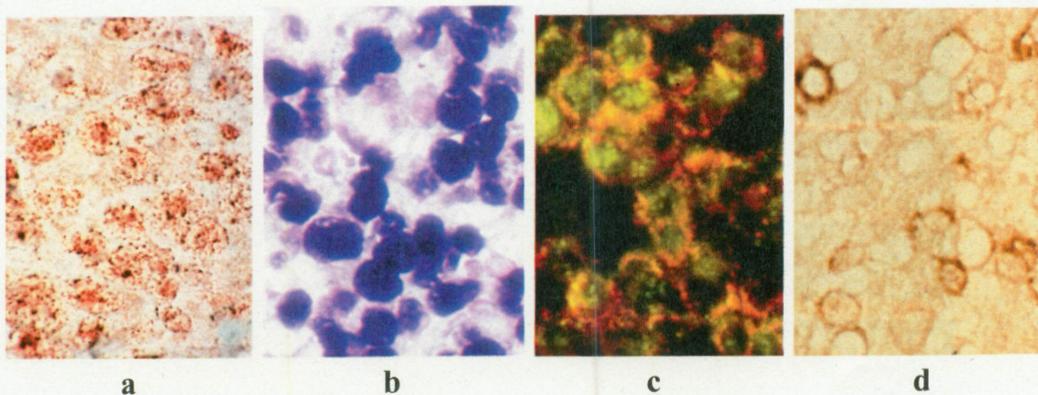


図5 腫瘍組織におけるEBウイルス遺伝子の発現。a) EBウイルスDNAのin situ hybridization像(×400)。ほとんどの細胞の核にEBウイルスDNA発現がみられる。EBウイルスDNAのBam H1 V領域をビオチン標識したものをプローブに用い、組織切片上で反応させ、avidin-biotin peroxidase法にて同定した。b) EBER-RNAのin situ hybridization像(×400)。腫瘍細胞の核に一致して多くの細胞が陽性像を呈している。c) EBNA1とCD2の蛍光抗体2重染色像(×400)。EBNA1をFITC蛍光抗体補体法で緑に、T細胞抗原であるCD2をphycoerythrin avidin-biotin蛍光抗体法で赤に、同一切片上で染色した。EBNA1を発現している細胞のほとんどがCD2陽性であることが確認される。d) LMP1 (latent membrane protein)の染色像(×400)。細胞膜弱陽性の細胞が瀰漫性に浸潤している中に強陽性を示す細胞が散在している。単クローン抗体(CS1-4)を用いてavidin-biotin peroxidase法にて同定した。

transeversion型であったが, 中国, 沖縄ではCpG部位のtransition型が多く認められていた。したがって, 鼻性NK/T細胞リンパ腫におけるp53遺伝子変異は頻度だけではなく, 変異様式も地域によって異なる可能性が考えられた。

EBウイルス潜伏型感染II型を呈する

1990年, 筆者らは鼻性NK/T細胞リンパ腫5例の腫瘍組織にEBウイルスDNAとEBウイルス関連核内抗原蛋白1 (EBV-determined nuclear antigen: EBNA1) が発現していることを証明し, 本腫瘍とEBウイルスの密接な関連性を世界に先駆けて発表した(図5)⁶⁾。当時, EBウイルスの関連性が証明されていた悪性リンパ腫としてはパーキットリンパ腫と日和見リンパ腫などのB細胞悪性リンパ腫のみであり, EBウイルスと悪性腫瘍の関連性に新たな疾患概念を与えた。EBNA1とCD2の蛍光抗体2重染色ではEBNA1発現している細胞がCD2陽性であることが確認され, EBウイルスに感染したB細胞でないことは明らかである(図5)。その後, 本疾患とEBウイルスの関連性を示した報告が相次ぎ, 現在では本疾患はEBウイルス関連腫瘍の代表的腫瘍のひとつとして広く認識されるようになった。これまで筆者らは本疾患35例についてEBV-encoded small nuclear early region (EBER)-1の発現を解析した結果, 35例中33例(94%)にその発現を認めている(図5)。

EBウイルス発癌遺伝子について, RT-PCR(図6), ウェスタンブロット法(図6)および免疫組織学的に検討したところ, 全例がEBNA1(+), EBNA2(-), EBNA3s(-)

であった。latent membrane protein (LMP) 1については免疫組織学的に検討したところ32例中15例(48%)に陽性であった(図6)²⁵⁾。以上の解析から, 鼻性NK/T細胞リンパ腫におけるEBウイルス感染様式は上咽頭癌と同様に潜伏型感染II型に分類される。さらに, EBウイルスDNAのterminal repeatをプローブにしてEBウイルスDNAクロナリティーをサザンブロット法にて解析したところ, 単クローン性EBウイルスDNAが同定される(図7)¹⁰⁾。したがって, EBウイルスは腫瘍化した鼻性NK/T細胞リンパ腫細胞に感染したのではなく, 本腫瘍の病因および腫瘍性増殖に深く関わっていることが示唆される。

EBウイルスは腫瘍性増殖に関わっている

それでは, どのようにEBウイルスは本腫瘍の病因および腫瘍性増殖に関わっているのでしょうか? 筆者ら¹⁷⁾は, cDNAマイクロアレイ法を用いて鼻性NK/T細胞リンパ腫細胞株SNK6とEBウイルス陰性のNKリンパ腫細胞株NK92の二者間でmRNAの発現を比較した。その結果, SNK-6とNK92間でmRNAの発現に差のみられた分子として, IL-9が認められた(図8a)。RT-PCRにて各種リンパ腫細胞株に対してmRNAの発現を検討したところ, IL-9mRNAはEBウイルス陽性細胞株であるSNK6とSNT8に特異的に発現していた(図8b)。また蛋白レベルでもSNK6とSNT8の培養上清においてIL-9の存在が認められ, フローサイトメトリーによる検討にて, IL-9の受容体が細胞表面に発現していることが明らかとなった(図9)。

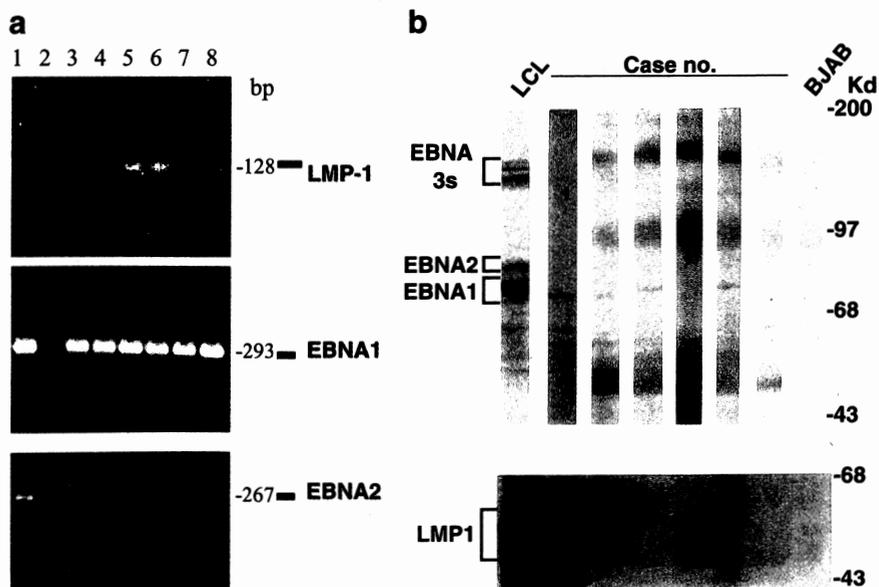


図6 RT-PCR法(a)とウェスタンブロット法(b)によるEBウイルス遺伝子の解析²⁵⁾。a) 鼻性NK/T細胞リンパ腫(3-8)ではLMP1およびEBNA1のmRNAは発現しているが, EBNA2mRNAの発現は認められない。1は陽性コントロールのB95-8細胞株, 2は陰性コントロールのHeLa細胞株²⁵⁾。b) 鼻性NK/T細胞リンパ腫(1-6)では全例にEBNA1蛋白の発現をみとめるが, EBNA2およびEBNA3sの発現は認められない。LMP1蛋白は4例(症例1, 4, 3, 2)では発現しているが, 2例(症例5, 6)では発現を認めなかった。LCL:陽性コントロールとしたEBウイルス陽性のリンパ芽球細胞株。BJAB:陰性コントロールのBJAB細胞株。

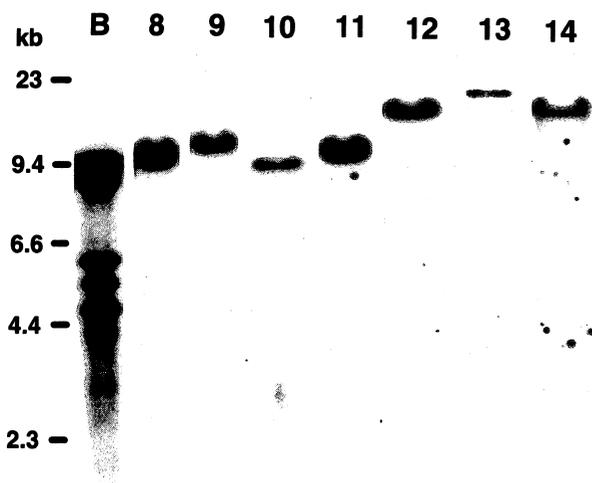


図7 サザンブロット法によるEBウイルスゲノム・クロナリティーの解析¹⁰⁾。鼻性NK/T細胞リンパ腫症例(8~14)では単一バンドが検出され、腫瘍細胞には単クローン性のEBウイルスDNAが存在していることが証明される。一方、EBウイルス陽性B95-8細胞株(B)では複数のバンドが検出され、多クローン性増殖であることがわかる。

さらに、SNK6とSNT8の細胞増殖能はIL-9中和抗体存在下で著明に抑制されたことから、IL-9はautocrineの機序によりその細胞増殖に関わっていることが明らかになった(図10)。また、本疾患組織におけるIL-9蛋白の発現を免疫染色にて検討したところ、IL-9は62%の症例で、IL-9

受容体は全例で陽性であった。Yangら²⁶⁾は、潜伏型感染様式に関わらずEBウイルス感染細胞に必ず発現すると言われるEBERがIL-9の産生を促すと報告しており、本腫瘍においてもEBERがIL-9の産生に関わっている可能性が示唆される。

先に述べたように鼻性NK/T細胞リンパ腫は潜伏型感染II型に分類され、EBウイルス発癌蛋白としてはEBER, EBNA1, LMP1が発現している。この中で、LMP1は最も癌原性が高いとされている。最近になって、種々のサイトカインがB細胞系のEBウイルス陽性細胞株においてLMP1の発現を増強すると報告されている²⁷⁾。筆者ら¹⁸⁾は、種々のサイトカイン刺激による鼻性NK/T細胞リンパ腫細胞株SNK-6のLMP1発現動態を調べた結果、IL-10が強いLMP1発現増強因子であることを見いだした(図11)。IL-10刺激は細胞増殖、アポトーシス細胞数には影響を与えなかったが、IL-2受容体のひとつであるCD25の発現を増強した。CD25の発現増強はEBウイルス陰性NK細胞株(NKL)では認められなかったため、IL-10自体の作用とは考えにくく、LMP1を介した作用と考えられる(図12)。CD25の発現増強によりIL-2への感受性が亢進することが報告されている²⁸⁾。したがって、鼻性NK/T細胞リンパ腫細胞株SNK-6ではLMP1はCD25の発現亢進を促すことにより、IL-2の感受性を高めていることが示唆された。鼻性NK/T細胞リンパ腫の局所では多数の炎症細胞浸潤が認められるため、IL-2, IL-10などの種々のサイトカ

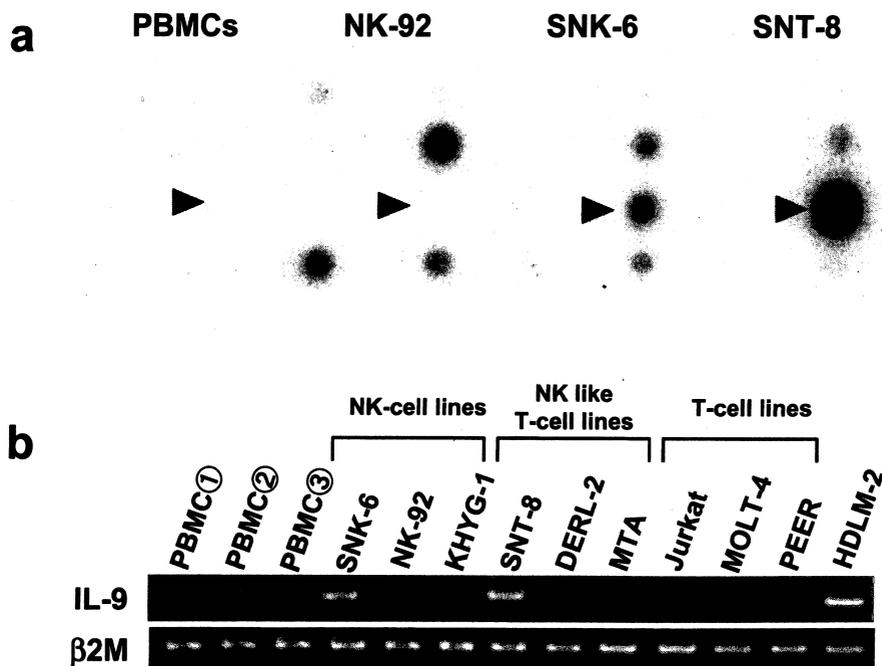


図8 cDNAマイクロアレイ(a)とRT-PCR(b)におけるIL-9mRNA発現の解析¹⁷⁾。a) SNK6(鼻性NK/T細胞リンパ腫由来のEBV陽性NK細胞株), SNT8(鼻性NK/T細胞リンパ腫由来のEBV陽性 γ δ T細胞株), NK92(NK細胞白血病由来のEBV陰性NK細胞株), 正常末梢血単核球(PBMCs)におけるIL-9(矢印)のマイクロアレイの結果を示す。SNK6細胞とSNK8細胞ではIL-9mRNAの発現が認められるが、PBMCsやNK-92細胞には認められない。b) 種々の細胞株, PBMCsにおけるIL-9mRNAのRT-PCR像。SNK6細胞とSNK8細胞ではIL-9mRNAの発現が特異的に認められるが、PBMCsや他の細胞株には認められない。

インが発現していると予想される。LMP1 はその IL-2 の作用を増強させることにより, 間接的に細胞増殖に関わっていることが示唆された¹⁸⁾。

感染 EB ウィ ル ス に は ア ミ ノ 酸 変 異 が み ら れ る

EB ウィ ル ス は 他 の ヘル ペ ス ウィ ル ス と 同 様 に ヒ ト に 広 く 潜 伏 感 染 し て お り, 日 本 で は 成 人 の 95% が 感 染 し て い

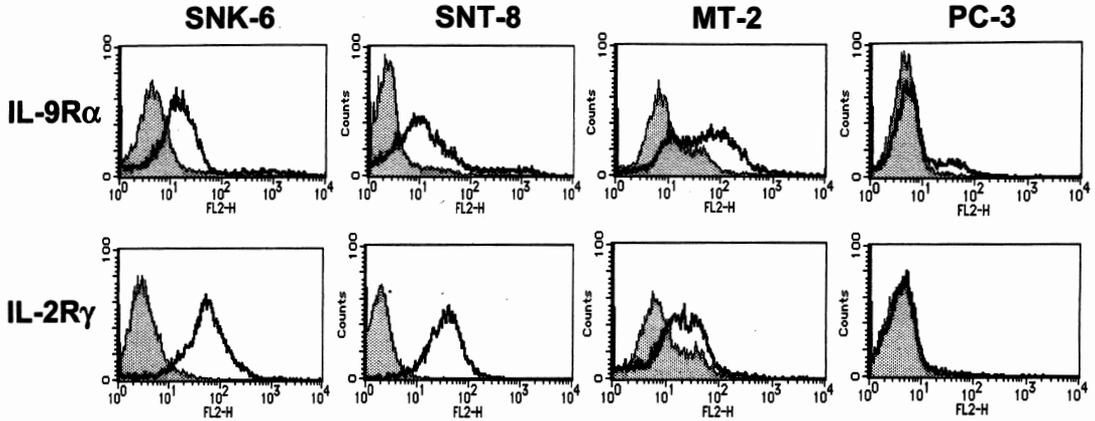


図 9 フローサイトメトリーによる IL-9 受容体の解析¹⁷⁾。SNK6 細胞, SNT8 細胞共に IL-9 の受容体である IL-9Rα と IL-2Rγ の発現が認められる。MT-2 は成人 T 細胞性白血病細胞株であり陽性コントロールとして, PC3 は前立腺癌由来細胞株であり陰性コントロールとして用いた。

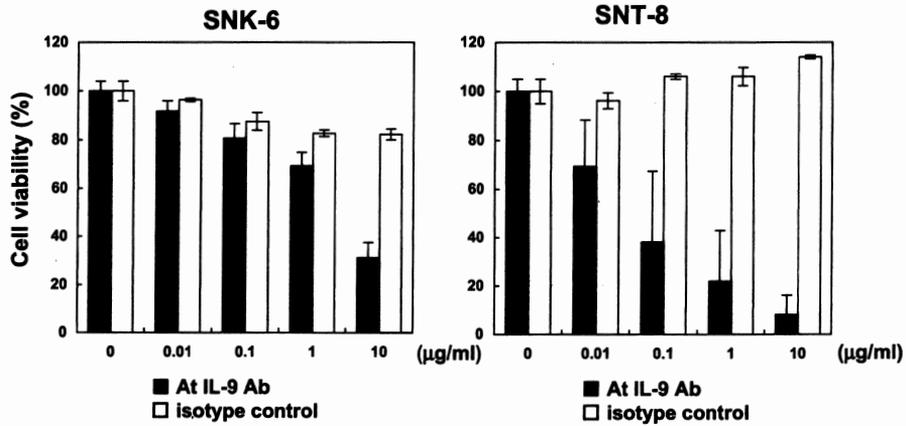


図 10 IL-9 中和抗体の存在, 非存在下での SNK6 細胞と SNT8 細胞の細胞増殖能 (MTT アッセイ)¹⁷⁾。IL-9 中和抗体 (At IL-9 Ab) の濃度依存性に両細胞株の細胞増殖能は抑制される。

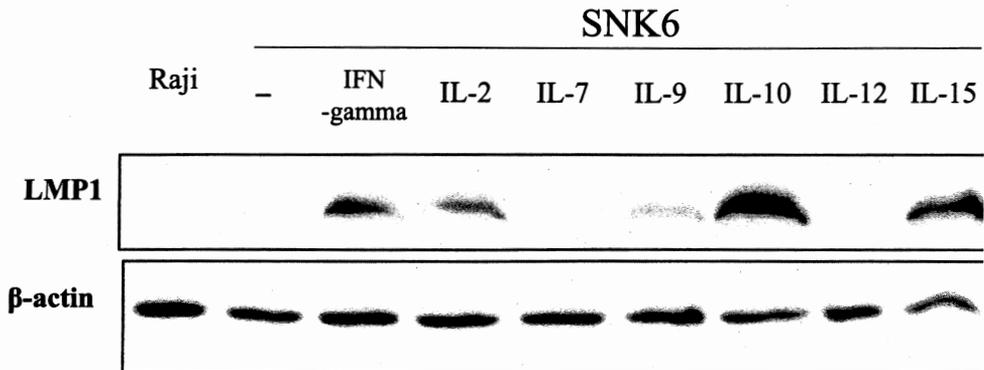


図 11 サイトカイン刺激による SNK6 細胞における LMP1 発現の変化 (ウェスタンブロット法)¹⁸⁾。鼻性 NK/T 細胞リンパ腫由来の SNK6 細胞株では LMP1 発現が認められ, IL-2, IL-10, IL-15, INF-γ 刺激によって発現が亢進し, 特に IL-10 が LMP1 発現を最も増強する。一方, Raji 細胞では LMP1 発現は認めない。

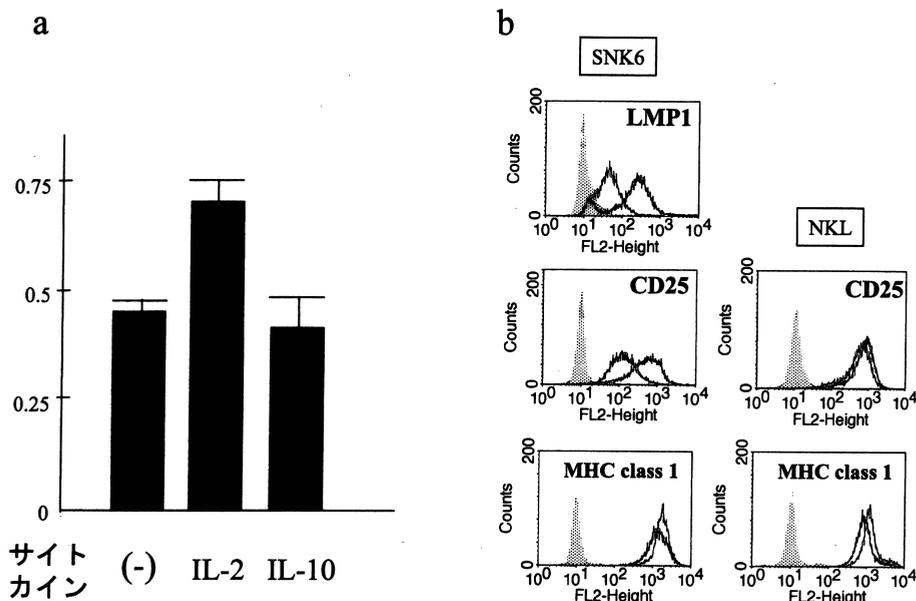


図 12 IL-10 刺激による SNK6 細胞の細胞増殖能の変化 (a) と表面抗原の発現変化 (b)¹⁸⁾。a) IL-2, IL-10 存在下での生細胞数を MTT アッセイの結果として示す。IL-2 刺激にて生細胞数は上昇するも、IL-10 刺激では非刺激のもと変化は認められない。b) IL-10 存在下 (太線)、非存在下 (細線) での LMP1 の発現と CD25 の発現をフローサイトメトリーの結果として示す。SNK6 にて IL-10 により LMP1 と CD25 の発現上昇が認められるも、NKL (EBV 陰性 NK 細胞株) では IL-10 刺激後も CD25 の発現上昇は認められない。IL-10 は種々の細胞株で MHC class 1 の発現を低下させる事が知られているが、刺激にて両細胞株共に低下が認められ IL-10 自体が作用していると考えられる。

る。そのごく一部にだけに EB ウイルス関連腫瘍が発症するのだが、その要因として感染するウイルスが特殊で病原性が高い可能性も考えられる。そこで、筆者ら¹⁹⁾は EB ウイルス遺伝子のうち、癌原性が最も強く、また細胞傷害性 T 細胞 (CTL) エピトープの一部を構成する LMP1 に着目した。すなわち、腫瘍組織から DNA を抽出し、nested PCR 法にて LMP1 遺伝子を増幅し、その全塩基配列およびアミノ酸配列を解析し、一般的な B95-8 株での塩基配列と比較検討を行った。その結果、検索した 7 例全てで上咽頭癌での報告²⁹⁾³⁰⁾と類似する LMP1 遺伝子 C 末端中 30 塩基、10 個のアミノ酸欠失と、点突然変異を認めた。変異が細胞内シグナル伝達部位 (C-terminal NF- κ B activation region) に位置する場合、その伝達障害により LMP1 の機能が低下することが知られているが³¹⁾、自験例での変異はその外に存在し LMP1 の機能は塩基配列的に保たれている可能性が示唆された。また、最も抗原提示し得る HLA-A2 拘束性 CTL エピトープは YLLEMLWRL (codon 125-133) の部位とされるが³²⁾、本検討の 7 例全例においてその部位での変異を認めた (表 2)。これらは上咽頭癌での報告されている変異と極めて類似し³⁰⁾、実際にこれらの変異を持つペプチドは HLA-A2 拘束性 CTL の反応を著しく低下させることが確認されている³²⁾。また他部位の候補エピトープ、特に上記エピトープと同様に全症例に変異が認められる codon 54-62, codon 118-126 の部位については他に変異の報告がなく本リンパ腫における EB ウイルス株の特徴である可能性が示唆された。これらのことから、鼻性 NK/T 細胞リンパ腫に感染している EB ウイルス株は CTL

の認識エピトープの遺伝子変異を持つことにより、その攻撃を回避している可能性が示唆された¹⁹⁾。

血清 EB ウイルス DNA 量は病勢パラメーターである

近年、EB ウイルス関連腫瘍である上咽頭癌、ホジキン病などにおいて、血清を検体としたリアルタイム PCR 法により EB ウイルス DNA 量を測定し、それらの臨床への有用性について検討した報告が認められる³³⁾。筆者ら²⁰⁾は、LMP1 と BamHI W 領域の異なる部位に対する 2 種のプライマーを用いて鼻性 NK/T 細胞リンパ腫患者血清中の EB ウイルス DNA 量をリアルタイム PCR 法によって測定し

表 2 LMP1 蛋白の T 細胞エピトープと鼻性 NK/T 細胞リンパ腫患者 7 例の EB ウイルス株におけるアミノ酸変異¹⁹⁾

部位	エピトープ	変異エピトープ	症例番号
32-40	LLLALLFWL		
51-59	ALLVLYSFA	ALLVLYSFG	1, 2
54-62	VLYSFALML	VLYSFGMLML	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7
92-100	LLLIALWNL		
110-118	VLFIFGCLL	LLFIFGCLL	1, 2
118-126	LVLGIWIYL	LVLGLWIYF	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7
125-133	YLLEMLWRL	YFLEILWRL	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7
152-160	ILLIALYL		
159-167	YLQQNWWTL		
167-175	LLVDLLWLL		
173-181	WLLLFLAIL	WLLLFMAIL	4, 5, 6
		WILLFMAIL	7

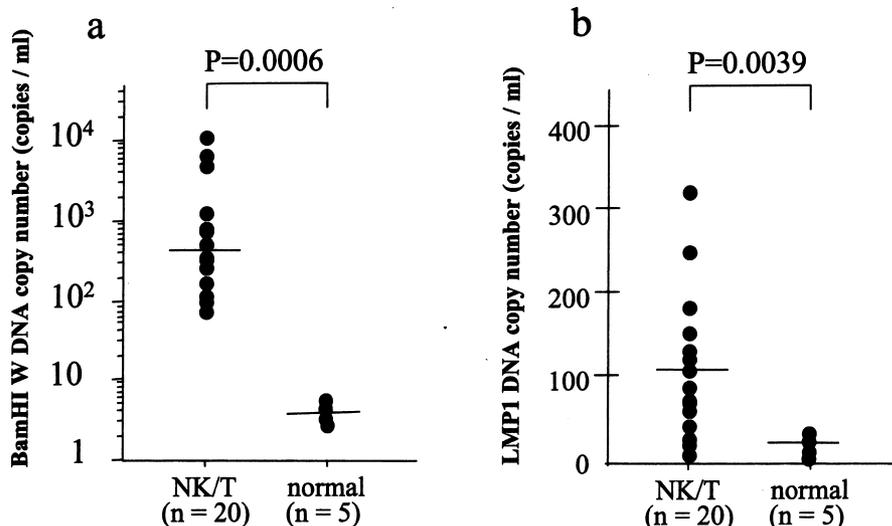


図13 リアルタイムPCR法による血清EBV DNA量の解析²⁰⁾。鼻性NK/T細胞リンパ腫患者血清中のBamHI W DNA量 (a) とLMP1 DNA量 (b) は極めて高値であるが、健常者では測定限界以下である。

た。患者と正常人血清中BamHI W DNA, LMP1 DNA量の比較を行ったところ、患者血清では有意に両DNA量が多かった(図13)。次に臨床経過によるDNA量の推移を検討したところ、治療によってDNA量は低下し、再発によって上昇した。予後との関連性について検討したところ、治療前のBamHI W DNA量が700copy/ml以上の症例は有意に700copy/ml未満の症例と比較して全生存率および無病生存率が不良であった。また、治療前LMP1 DNA量が50copy/ml以上の症例では50copy/ml以上の症例と比較して両生存率が有意に不良であった。治療後、臨床的に完全寛解とした症例であっても、DNA量が20copy/ml以上の症例では有意に生存率が不良であった(図14)。以上のことから血清EBウイルス量は本疾患の患者予後の判定や、その治療効果、病勢を反映する非常に有効なパラメーター

であることが示された²⁰⁾。

おわりに

これまでの解析結果からEBウイルスは本腫瘍の腫瘍化に密接に関連していることが明らかにされたが、未だ不明な点が多い。しかし、最近になって本腫瘍の細胞株が樹立され、*in vitro*における検討が進んで来ている。今後はより多様な本腫瘍におけるEBウイルスの関わりが明らかにされると思われる。

加えて、本疾患の組織学的多様性や他臓器親和性、疫学的因子、発症プロモーターなど未だ不明な点も多い。また、臨床的にもこの予後の極めて悪い疾患をいかに治療するかなど検討を要する課題が残っていると云えよう。

文献

- 1) Ishii, Y., Yamanaka, N., Ogawa, K., et al.: Nasal T-cell lymphomas as a type of so-called "lethal midline granuloma". *Cancer* **50**: 2336-2344, 1982.
- 2) Yamanaka, N., Harabuchi, Y., Sambe, S., et al.: Non-Hodgkin's lymphoma of Waldeyer's ring and nasal cavity. *Cancer* **56**: 768-776, 1985.
- 3) Yamanaka, N., Kataura, A., Sambe, S., et al.: Midfacial T cell lymphoma: Characterization by monoclonal antibodies. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* **94**: 207-211, 1985.
- 4) Jaffe, E.S., Chan, J.K., Su, I.J., et al.: Report of the Workshop on Nasal and Related Extranodal Angiocentric T/Natural Killer Cell Lymphomas. Definitions, differential diagnosis, and epidemiology. *Am. J. Surg. Pathol.* **20**: 103-111, 1996.
- 5) Jaffe, E.S., Harris, N.L., Diebold, J.: World health organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues. A progress report. *Am. J. Clin. Pathol.* **111** (Suppl

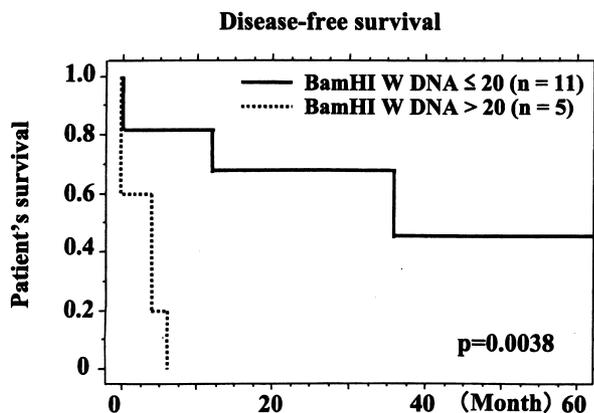


図14 鼻性NK/T細胞リンパ腫患者の治療後血清EBV DNA量と無病生存率²⁰⁾。治療終了後、臨床的に完全寛解と判断した症例であっても、血清EBV DNA量が20copy/ml以上の症例では全例1年以内に再燃し、未満の症例と比較して有意に無病生存率が低下していた。

- 1): S18-S12, 1999.
- 6) Harabuchi, Y., Yamanaka, N., Kataura, A., et al.: Epstein-Barr virus in nasal T-cell lymphomas in patients with lethal midline granuloma. *Lancet* **335**: 128-130, 1990.
 - 7) Weiss, L.M., Gaffey, M.J., Chen, Y.-Y., et al.: Frequency of Epstein-Barr viral DNA in "Western" sinonasal and Waldeyer's ring non-Hodgkin's lymphoma. *Am. J. Surg. Pathol.* **16**: 156-162, 1992.
 - 8) Kanavros, P., Lescs, M.C., Briere, J., et al.: Nasal T-cell lymphoma: a clinicopathologic entity associated with peculiar phenotype and with Epstein-Barr virus. *Blood* **81**: 2688-2695, 1993.
 - 9) Harabuchi, Y., Kataura, A., Kobayashi, K., et al.: Lethal midline granuloma (peripheral T-cell lymphoma) after lymphomatoid papulosis. *Cancer* **70**: 835-839, 1992.
 - 10) Harabuchi, Y., Imai, S., Wakashima, J., et al.: Nasal T-cell lymphoma causally associated with Epstein-Barr virus: Clinicopathologic, phenotypic, and genotypic studies. *Cancer* **77**: 2137-2149, 1996.
 - 11) Harabuchi, Y., Kataura, A., Imai, K.: Circulating intercellular adhesion molecule-1 and its cellular expression in head and neck non-Hodgkin's lymphomas, including lethal midline granuloma. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* **105**: 634-642, 1996.
 - 12) Harabuchi, Y., Tsubota, H., Ohguro, S., et al.: Prognostic factors and treatment outcome in non-Hodgkin's lymphoma of Waldeyer's ring. *Acta Oncologica* **36**: 413-420, 1997.
 - 13) 原淵保明, 今井章介, 形浦昭克: リンパ腫とEBウイルス 鼻性T細胞リンパ腫. *日本臨床* **55**: 394-399, 1997.
 - 14) Harabuchi, Y., Imai, S., Kataura, A., et al.: Nasal T-cell lymphoma causally associated with Epstein-Barr virus. In: Epstein-Barr virus and human cancer. Osato, T., Takada, K., Tokunaga, M., editors. Tokyo: Japan Scientific Societies Press; 1998. pp. 129-137.
 - 15) 原淵保明: 鼻性NK/T細胞リンパ腫の病態と臨床. *耳鼻臨床* **93**: 341-352, 2000.
 - 16) Takahara, M., Kishibe, K., Bandoh, N., et al.: 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, 2004.
 - 17) Nagato, T., Kobayashi, H., Kishibe, K., et al.: Expression of interleukin-9 in nasal natural killer/T-cell lymphoma cell lines and patients. *Clin. Cancer Res.* **11**: 8250-8257, 2005.
 - 18) Takahara, M., Kis, L., Nagy, N., et al.: Concomitant increase of LMP1 and CD25 (IL-2-receptor alpha) expression induced by IL-10 and INF-gamma in the EBV-positive NK lines SNK6 and KAI3. in submission.
 - 19) Nagamine, M., Takahara, M., Kishibe, K., et al.: Sequence variations of Epstein-Barr virus LMP1 gene in nasal NK/T-cell lymphoma. *Virus Gene*. in press.
 - 20) Ishii, H., Ogino, T., Berger, C., et al.: Clinical and virological significance of serum EBV DNA in nasal NK/T-cell lymphoma patients. in submission.
 - 21) Gaulard, P., Henni, T., Marolleau, J.P., et al.: Lethal midline granuloma (polymorphic reticulosis) and lymphomatoid granulomatosis. Evidence for a monoclonal T-cell lympho proliferative disorder. *Cancer* **62**: 705-710, 1988.
 - 22) Aozasa, K., Ohsawa, M., Tomita, Y., et al.: Polymorphic reticulosis is a neoplasm of large granular lymphocytes with CD3+ phenotype. *Cancer* **75**: 894-901, 1995.
 - 23) Nagata, H., Konno, A., Kimura, N., et al.: Characterization of novel natural killer (NK)-cell and gammadelta T-cell lines established from primary lesions of nasal T/NK-cell lymphomas associated with the Epstein-Barr virus. *Blood* **97**: 708-713, 2001.
 - 24) Li, T., Hongyo, T., Syaifudin, M., et al.: Mutations of the p53 gene in nasal NK/T-cell lymphoma. *Lab. Invest.* **80**: 493-499, 2000.
 - 25) Minarovits, J., Hu, L.F., Imai, S., et al.: Clonality, expression and methylation patterns of the Epstein-Barr virus genomes in lethal midline granulomas classified as peripheral angiocentric T cell lymphomas. *J. Gen. Virol.* **75**: 77-84, 1994.
 - 26) Yang, L., Aozasa, K., Oshimi, K., et al.: Epstein-Barr virus (EBV)-encoded RNA promotes growth of EBV-infected T cells through interleukin-9 induction. *Cancer Res.* **64**: 5332-5337, 2004.
 - 27) Kis, L.L., Nishikawa, J., Takahara, M., et al.: In vitro EBV-infected subline of KMH2, derived from Hodgkin lymphoma, expresses only EBNA-1, while CD40 ligand and IL-4 induce LMP-1 but not EBNA-2. *Int. J. Cancer* **113**: 937-945, 2005.
 - 28) Asao, H., Takeshita, T., Ishii, N., et al.: Reconstitution of functional interleukin 2 receptor complexes on fibroblastoid cells: involvement of the cytoplasmic domain of the gamma chain in two distinct signaling pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**: 4127-4131, 1993.
 - 29) Knecht, H., Martius, F., Bachmann, E., et al.: A deletion mutant of the LMP1 oncogene of Epstein-Barr virus is associated with evolution of angioimmunoblastic lymphadenopathy into B immunoblastic lymphoma. *Leukemia* **9**: 458-465, 1995.
 - 30) Lin, J.C., Cherng, J.M., Lin, H.J., et al.: Amino acid changes in functional domains of latent membrane protein 1 of Epstein-Barr virus in nasopharyngeal carcinoma of southern China and Taiwan: prevalence of an HLA A2-restricted 'epitope-loss variant'. *J. Gen. Virol.* **85**: 2023-2034, 2004.
 - 31) Devergne, O., Hatzivassiliou, E., Izumi, K.M., et al.: Association of TRAF1, TRAF2, and TRAF3 with an Epstein-Barr virus LMP1 domain important for B-lymphocyte transformation: role in NF-kappaB activation. *Mol. Cell Biol.* **16**: 7098-7108, 1996.
 - 32) Duraiswamy, J., Burrows, J.M., Bharadwaj, M., et al.: Ex vivo analysis of T-cell responses to Epstein-Barr virus-encoded oncogene latent membrane protein 1 reveals highly conserved epitope sequences in virus isolates from diverse geographic regions. *J. Virol.* **77**: 7401-7410, 2003.
 - 33) Lei, K.I., Chan, L.Y., Chan, W.Y., et al.: Diagnostic and prognostic implications of circulating cell-free Epstein-Barr virus DNA in natural killer/T-cell lymphoma. *Clin. Cancer Res.* **8**: 29-34, 2002.