

AMCoR

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

最新医学 (2006.12) 別冊 新しい診断と治療のABC46 潜伏感染ウイルスによる血液疾患 血液5:247~251.

潜伏感染ウイルスによる血液疾患
EBウイルスとT/NK細胞増殖症
(6)鼻NK/T細胞リンパ腫—発見の契機

原渕保明, 高原 幹

第2章

EBウイルスとリンパ球増殖症

EBウイルスとT/NK細胞増殖症： (6) 鼻NK/T細胞リンパ腫 — 発見の契機

要旨

鼻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NKあるいは $\gamma\delta$ T細胞由来のリンパ腫である。1990年、筆者らは本リンパ腫とEBウイルスの密接な関連性を世界に先駆けて発表した。本稿では、EBウイルス感染の発見の契機と、筆者らが現在検討している本腫瘍におけるEBウイルスのかかわりについて概説する。

はじめに

鼻NK/T細胞リンパ腫 (nasal NK/T-cell lymphoma, 表1) 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が高頻度に起り、予後が極めて不良である。また、古くはその本態や病因に対して議論の多かった疾患で、多種多様の名称で呼ばれていた。本稿では、本疾患がNK/T細胞リンパ腫に分類されるまでの歴史的背景、EBウイルスを発見した契機と、ウイルス学的な特徴を最近の知見を含め概説する。

古くは多種多様の名称で呼ばれていた

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については、1897年に McBride¹⁾ が “A case of rapid destruction of the nose and face” と題し最初に報告した。1921年になって Woods²⁾ が “Malignant granuloma of the nose” と名称して2例報告した。1933年 Stewart³⁾ は、本疾患の経過を3期に分けて “Stewart 症候群” の名称で発表した。1949年 Williams⁴⁾ は “Lethal granulomatous ulceration involving midline facial tissues” を報告し、

● キーワード

鼻NK/T細胞
リンパ腫
EBウイルス
EBER-1
IL-9
CD25

表1 鼻NK/T細胞リンパ腫の特徴

I. 臨床像

- 1) 従来、進行性鼻壊疽、致死性正中肉芽腫症、悪性肉芽腫症、多形細胞網症、悪性組織球症など、多種多様の名称がつけられていた。
- 2) 極東アジア（中国、台湾、韓国、日本）のほか、ペルーに多い。
- 3) 若～中年齢層（40歳代にピーク）に多い。性比はない。
- 4) 鼻腔または咽頭領域に初発し、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。
- 5) 早期から発熱などの全身症状を伴うことが多く、経過中に肺、皮膚、消化管などの他臓器浸潤や血球貪食症候群が高頻度に起る。
- 6) 浸潤破壊性病変の程度が予後と関連する。

II. 病理組織像

- 1) 病変部位の生検では「異型細胞の増殖を伴う炎症細胞浸潤と壊死組織」と診断されることが多く、HE染色では病理組織診断が困難な例が多い。
- 2) 腫瘍細胞の大小不同が著しく、非常に多形性に富む（pleomorphism）。
- 3) リンパ球、白血球、形質細胞などの炎症性細胞浸潤が混在する（polymorphism）。
- 4) 高範囲に壊死や肉芽組織を伴う。
- 5) 血管の細網繊維の増生が激しく、ところどころに血管壁内浸潤がみられる（angiocentric infiltration）。

III. 表面形質と免疫遺伝子再構成

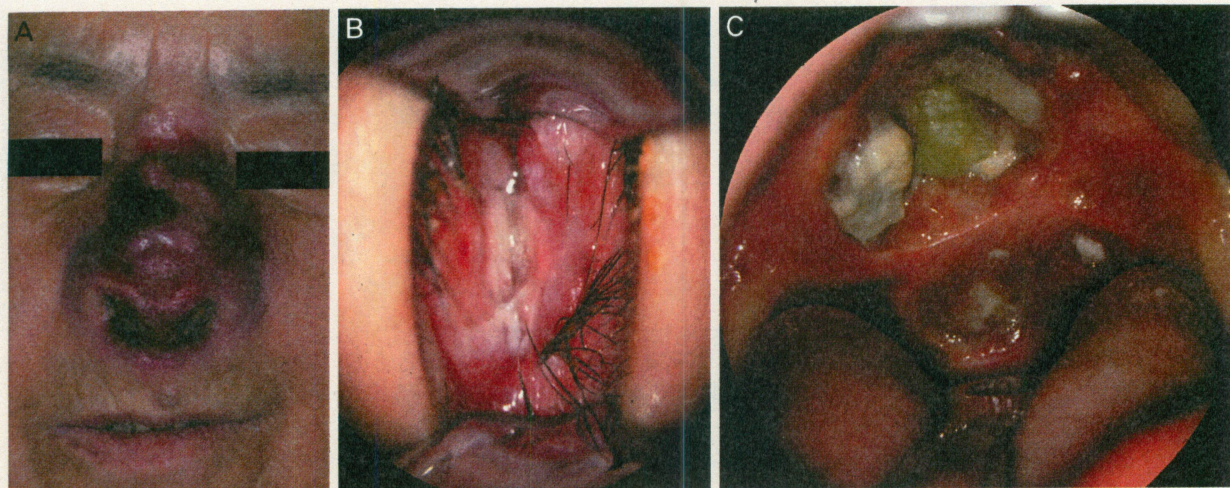
- 1) 全例が CD2⁺CD34⁺CD56⁺、時に CD16⁺。
- 2) 細胞起源として、少なくともNK細胞由来（CD2⁺CD3⁻CD34⁺CD56⁺、TCR遺伝子再構成⁻）と $\gamma\delta$ T細胞由来（CD2⁺CD3⁺CD34⁺CD56⁺TCR $\gamma\delta$ ⁺、TCR遺伝子再構成⁺）の2型が存在する。
- 3) パーフォリン⁺、Fasリガンド（FasL）⁺、granzyme B⁺で、機構的にも細胞傷害活性が高い。

IV. EBウイルス

- 1) 90%以上の症例がEBER1、EBNA1陽性。
- 2) 潜伏感染II型（EBNA1⁺、EBNA2⁻、EBNA3s⁻、LMP^{+/+}）の様式を示す。
- 3) 血清EBウイルス抗体価はVCA-IgG抗体とEA-IgG抗体が高値を示し、VCA-IgA抗体とEA-IgA抗体も陽性を示す症例もみられる。
- 4) 感染しているEBウイルスは単クローン性で、LMP遺伝子C末端に30塩基、10個のアミノ酸欠失を有する（本邦症例）。

lethal midline granuloma という臨床病名が用いられるようになった。1959年 Walton は、本疾患をウェゲナー肉芽腫症、malignant granuloma, reticulum cell sarcoma の3つに分類した⁵⁾。その後、ウェゲナー肉芽腫症は後2者とは全く異なる疾患であることが明らかになると、後2者の異同が注目を浴び、この時期からその本態に関する多種多様の報告が発表され、混乱を招くようになった。これまで、本疾患につけられた名称は、進行性鼻壊疽（rhinitis gangrenosa pro-

図1 鼻 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。

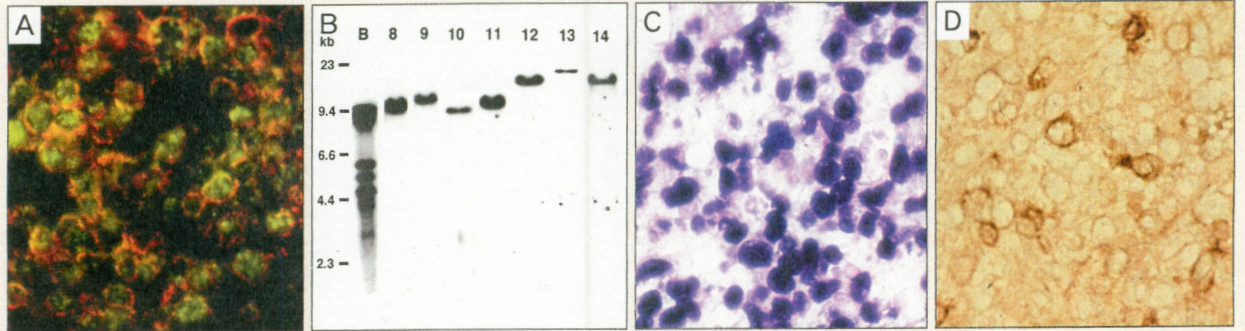
B, C：鼻腔所見では甲介の破壊や肉芽腫を認め、口腔内所見では軟口蓋から硬口蓋にかけて広い欠損を認め、鼻腔内の壊死を伴った肉芽腫性病変が直視できる。

gressiva)⁶⁾、致死性正中肉芽腫症 (lethal midline granuloma)⁴⁾、悪性肉芽腫症 (malignant granuloma)⁵⁾、多形細網症 (polymorphic reticulosis)⁷⁾、悪性組織球症 (malignant histiocytosis) などである。しかし、1982年、Ishii ら⁸⁾が腫瘍細胞の表面形質がT細胞型を有する6例を報告して鼻T細胞リンパ腫という名称がついた⁹⁾。その後、腫瘍細胞がT細胞およびNK細胞の両者の表面抗原を有することが判明し、現在では鼻NK/T細胞リンパ腫という名称で呼ばれている。リンパ腫細胞の起源としては、現在では、 $CD56^+CD3^-TCR^-$ の表現型を有するNK細胞と、 $CD56^+CD3^+TCR\gamma\delta^+$ の表現型を有し $\gamma\delta$ T細胞受容体遺伝子の再構成を認める $\gamma\delta$ T細胞の2種類があることを明らかにされている¹⁰⁾¹¹⁾。病因的には、筆者ら¹²⁾が本疾患とEBウイルスの密接な関連性を最初に報告して以来、EBウイルス関連腫瘍の1つとして分類されるようになった。

EBウイルス発見の契機

EBウイルスが発見された当初は、*in vitro*にてB細胞に親和性があり、伝染性単核球症やバーキットリンパ腫などのB細胞増殖疾患との関連性が指摘されていたが、T細胞リンパ腫やNK細胞リンパ腫との関連性は報告されていなかった。1986年、“New England Journal”

図2 腫瘍細胞におけるEBウイルス関連タンパク、遺伝子の発現



- A : EBNA1 と CD2 の蛍光抗体 2 重染色像 (×400). EBNA1 を緑, CD2 を赤で蛍光免疫染色した. 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.
- B : 鼻 NK / T 細胞リンパ腫における単クローン性 EBウイルスゲノムの同定 (サザンブロット像). 鼻 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. B は B95-8 細胞株¹⁵⁾.
- C : 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.
- D : LMP 1 (latent membrane protein) の染色像 (×400). 細胞膜弱陽性の細胞がびまん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.

略語 : 巻末の略語集参照

誌の letter 欄に “Association of Epstein-Barr virus with lethal midline granuloma”¹³⁾ という記事が掲載された. その記事では腫瘍細胞ではなく, その周囲に浸潤している B 細胞に EBウイルスが感染しているのであろうと考察していた. 筆者らはこの考察に疑問を抱き, 患者から得られた組織の凍結切片を用いて EBウイルス関連核内抗原 (EBNA)-1 の染色を行った. すると, 周囲の炎症細胞ではなく, 腫瘍細胞の核に EBNA-1 が染色された¹⁴⁾. その後, 確信を得るために, サザンブロット法, ウェスタンブロット法などで EBウイルスの DNA やタンパクを同定し, EBウイルスの密接な関連性を世界に先駆けて発表した¹²⁾. EBNA-1 と T 細胞抗原の蛍光抗体 2 重染色では EBNA-1 発現している細胞が T 細胞の抗原を有することが確認され, 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 2 A). さらに, 本リンパ腫には, 単クローン性 EBウイルス DNA が検出される (図 2 B)¹⁰⁾¹⁵⁾. したがって, EBウイルスは本腫瘍の病因および腫瘍性増殖に深くかかわっていることが示唆される.

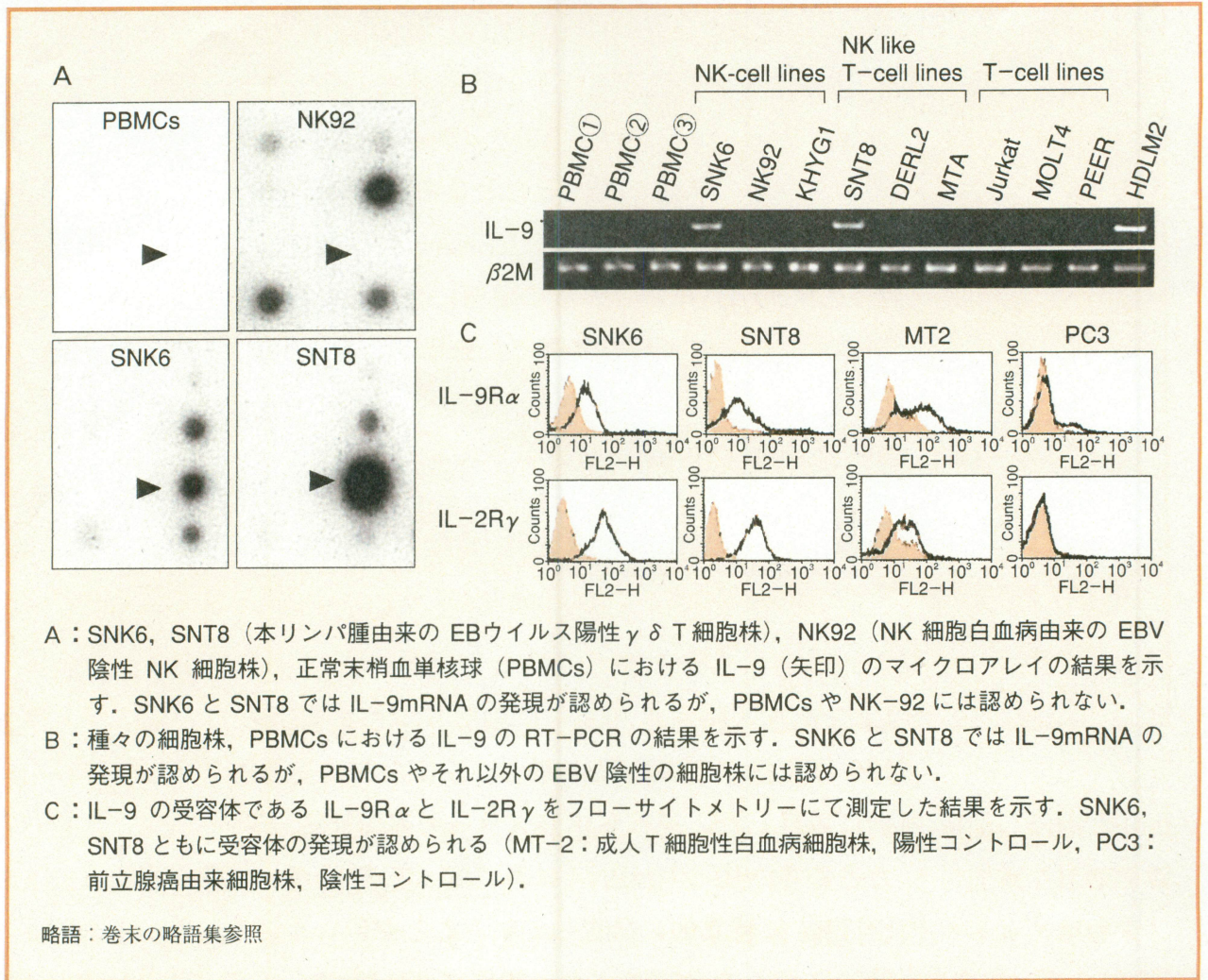
EBウイルス潜伏型感染Ⅱ型を呈する

EBウイルス関連疾患はその感染様式の違いから3タイプに分かれる。本リンパ腫におけるEBウイルス遺伝子やEBウイルス遺伝子関連タンパクの発現を検討したところ、EBV-encoded small nuclear early region (EBER)-1 と EBNA-1 は全例、潜伏期膜タンパク質1 (LMP-1) は約50%の症例に発現していた(図2C, D)。一方、EBNA-2 はいずれの症例にも発現は認められなかった¹⁵⁾¹⁶⁾。したがって、鼻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タイプⅡに分類される。

EBウイルスは腫瘍性増殖にかかわっている

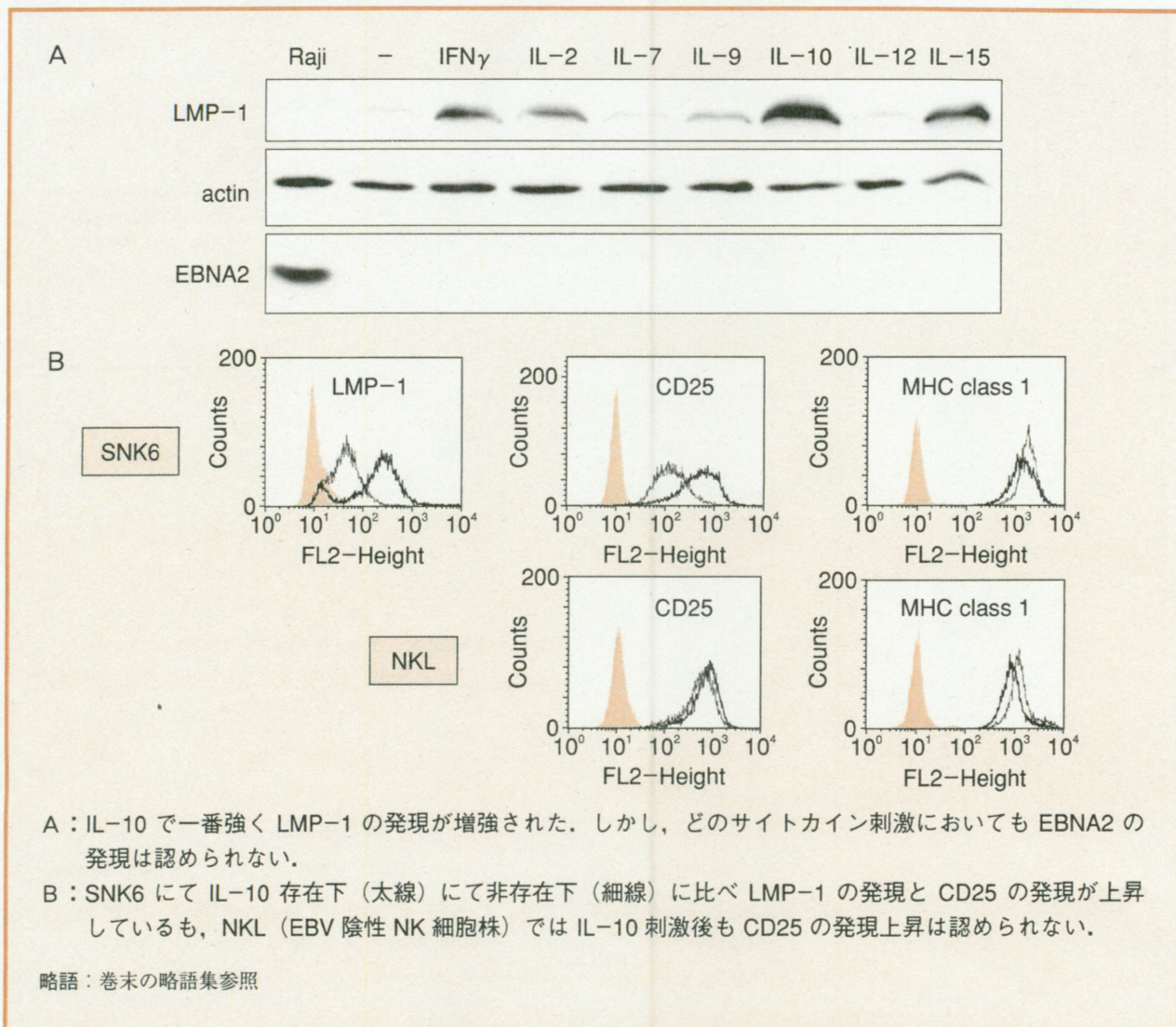
それでは、EBウイルスは本腫瘍の病因にどのようにかかわっているのでしょうか？筆者ら¹⁷⁾は、cDNA マイクロアレイ法を用いてEBウイルス陽性鼻NK/T細胞リンパ腫細胞株(SNK6)¹¹⁾と陰性NK細胞株(NK92)を比較し、SNK6にて発現が上昇しているIL-9に着目した。逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(RT-PCR)法を行ったところ、IL-9 mRNAは鼻NK/T細胞リンパ腫細胞株(SNK6, SNT8)に特異的に発現していることが明らかになった。その培養上清にはIL-9が産生され、細胞表面にはIL-9受容体の発現が証明された(図3)。さらに、IL-9中和抗体によって細胞増殖能は抑制されたことから、IL-9はautocrine作用によって本腫瘍の細胞増殖にかかわっていることが明らかになった。また、患者の腫瘍組織を染色したところ、IL-9は62%の症例で、またIL-9受容体は100%の症例で陽性であった。これらの現象はEBウイルス陰性細胞には認めないことから、IL-9の産生にEBウイルスが深く関連していることが示唆される。

さらに、筆者らは種々のサイトカインにてSNK6細胞を刺激したところ、IL-10刺激によってEBウイルス癌原タンパクのLMP-1とIL-2受容体の1つであるCD25の発現が上昇することを見いだした(図4)¹⁸⁾。これらの現象はEBウイルス陰性細胞には認めないことから、LMP-1がCD25発現を上昇させ、IL-2の感受性を高めることによって細胞増殖が亢進されると考えられる。

図3 SNK6, 腫瘍組織における IL-9, IL-9 受容体の発現 (文献¹⁷⁾より引用)

感染 EBウイルスにはアミノ酸変異がみられる

EBウイルスはヒトに広く潜伏感染しているが、ごく一部にだけに EBウイルス関連腫瘍が発症する。その要因としてそのウイルスが特殊で抗原性が低い可能性も考えられる。そこで、筆者ら¹⁹⁾は LMP-1 に着目し、腫瘍組織からの DNA を増幅後、その全塩基配列とアミノ酸配列を解析した。その結果、全 7 例にて上咽頭癌で認められる LMP-1 遺伝子 C 末端中 30 塩基欠失と、点突然変異を認めた。また、最も抗原提示しうるヒト白血球抗原 (HLA)-A2 拘束性細胞傷害性 T 細胞 (CTL) エピトープは YLLEMLWRL (codon 125-133) の部位とされ、上咽頭癌と同様に、全自験例でその部位での変異を認めた。同様に全症例に変異が認められる codon 54-62, codon 118-126 の部位は他に報告がなく本リンパ腫での EBウイルス株の特徴である可

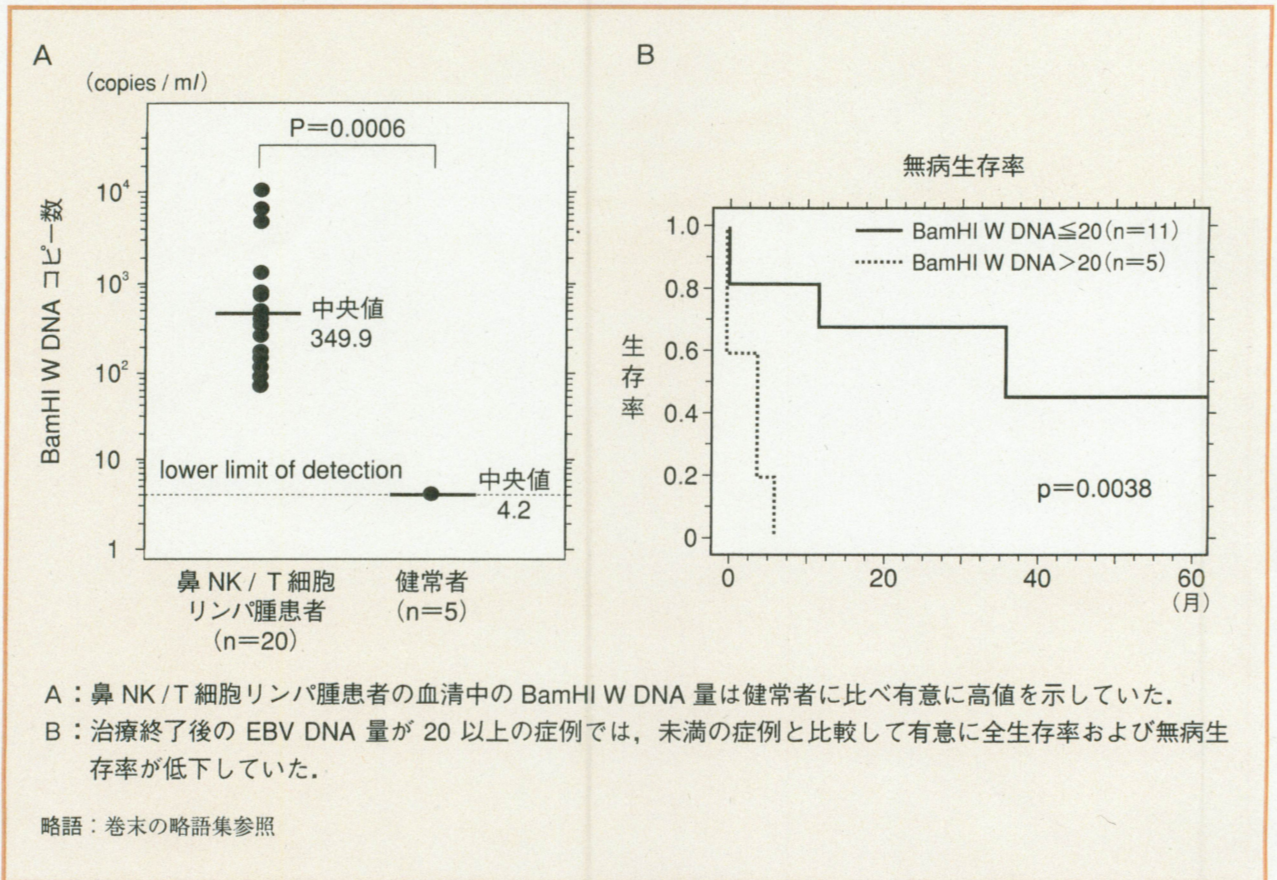
図4 IL-10 刺激下での SNK6 における LMP-1 と CD25 の発現 (文献¹⁸⁾ より引用)

能性が示唆された。これらのことから、鼻 NK/T 細胞リンパ腫に感染している EBウイルス株は CTL の認識エピート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る。

血清 EBウイルス-DNA 量は 診断と病勢のパラメーターである

本疾患の診断や病勢のパラメーターとして、筆者らは血清中の EBウイルス-DNA 量に着目しリアルタイム PCR 法によって測定した²⁰⁾。その結果、患者と健常者の比較を行ったところ、患者血清では有意に DNA 量が高かった (図 5 A)。先に述べたように本疾患の診断は困難な症例も多く、血清中の EBウイルス-DNA 量は本疾患の

図5 リアルタイム PCR における EBV DNA 量の測定と予後との関連



診断に極めて有効と考えられる。治療前の各 DNA 量と患者予後との関連性について検討したところ、治療前の血清 DNA 量が高い症例は有意に全生存率および無病生存率が不良であった。さらに、治療によって臨床的および組織学的に完全寛解と判断された症例の治療後に採取した血清中の DNA 量を測定したところ、EBウイルス-DNA が同定された症例では再燃する症例が多く、全生存率および無病生存率が有意に不良であった (図 5 B)。したがって、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と考えられる。

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てきた。今後は、これらの解析結果を LMP1 や EBNA などの EBウイルス関連タンパクを標的とした遺伝子療法や免疫療法に応用することによって、新たな治療法の開発が期

待できる。

原 渕 保 明 ・ 高 原 幹

文 献

- 1) McBride P: Photographs of a case of rapid destruction of the nose and face. *J Laryngol Otol* 12: 64-66, 1897.
- 2) Woods R: Malignant granuloma of nose. *Brit Med J* 2: 65-66, 1921.
- 3) Stewart J P: Progressive lethal granulomatous ulceration of the nose. *J Laryngol Otol* 48: 657-701, 1933.
- 4) Williams H L: Lethal granulomatous ulceration, involving midline facial tissues. *Ann Otol Rhino and Laryngol* 58: 1013-1055, 1949.
- 5) Walton E W: Non-healing glaucoma of the nose. *J Laryngol Otol* 73: 242-260, 1959.
- 6) Kraus E J: Uber ein eigenartiges Granulom aer Nasen-, Rachen- und Mundhohle. *Verh Dtsch Ges Pathol* 24: 43, 1929.
- 7) Eichel B S, et al: Primary lymphoma of the nose including a relationship to lethal midline granuloma. *Am J Surg* 112: 597-605, 1966.
- 8) Ishii Y, et al: Nasal T-cell lymphomas as a type of so-called "lethal midline granuloma". *Cancer* 50: 2336-2344, 1982.
- 9) Yamanaka N, et al: Midfacial T cell lymphoma: Characterization by monoclonal antibodies. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 94: 207-211, 1985.
- 10) Harabuchi Y, et al: Nasal T-cell lymphoma causally associated with Epstein-Barr virus: Clinicopathologic, phenotypic, and genotypic studies. *Cancer* 77: 2137-2149, 1996.
- 11) Nagata H, 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 (3): 708-713, 2001.
- 12) Harabuchi Y, et al: Epstein-Barr virus in nasal T-cell lymphomas in patients with lethal midline granuloma. *Lancet* 335 (8682): 128-130, 1990.
- 13) Vilde J L, et al: Association of Epstein-Barr virus with lethal midline granuloma. *N Engl J Med* 313 (18): 1161, 1985.
- 14) 原渕保明: EBウイルスとの出会い. *耳鼻免疫アレルギー* 18 (4): 35-36, 2001.
- 15) Minarovits J, 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 (Pt 1): 77-84, 1994.
- 16) Takahara M, 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 (1): 86-95, 2004.
- 17) Nagato T, et al: Expression of interleukin-9 in nasal natural killer/T-cell lymphoma cell lines and patients. *Clin Cancer Res* 11 (23): 8250-8257, 2005.
- 18) Takahara M, et al: Concomitant increase of LMP1 and CD25 (IL-2-receptor alpha) expression induced by IL-10 in the EBV-positive NK lines SNK6 and KAI3. *Int J Cancer* 119 (12): 2775-2783, 2006.
- 19) Nagamine M, et al: Sequence variations of Epstein-Barr virus LMP1 gene in nasal NK/T-cell lymphoma. *Virus Genes* 34 (1): 47-54.

20) Ishii H, et al: Clinical usefulness of serum EBV DNA levels of BamHI W and LMP1

for nasal NK/T-cell lymphoma.
J Med Virol. (in press)