

【第114回生涯教育講座】

感染に伴って起こるがん： Epstein-Barr ウイルス関連胃癌を中心に

よし やま ひろ のり かね ひろ ゆう いち キム ヒョジ
 吉 山 裕 規 金 廣 優 一 Kim Hyoji
 ムッター アムリザル リカルド ティミー いい ざさ ひさし
 Muchtar Amrizal Ricardo Timmy 飯 笹 久

キーワード：持続感染，発癌，Epstein-Barr ウイルス，胃癌

はじめに

感染症は、インフルエンザやエボラ出血熱のように、感染後急性増悪して患者を死に至らしめる感染様式をとるものと、水痘带状疱疹のように初感染後に免疫が成立し、症状が収まるが、慢性持続感染するものがある。特に後者は、宿主の免疫防御機構が働かない状況で再発し、宿主の免疫機構が再活性化して再び潜伏感染状態になるという課程を繰り返す。そのようなもののなかで、感染細胞を増殖機転に導いて自己の複製を行うという生存戦略を行うために、人間に腫瘍を形成するものがある。成人T細胞白血病、子宮頸癌、肝臓癌、胃癌などが微生物の長期持続感染の結果の腫瘍であることがわかってきた。我々が研究対象としている Epstein-Barr (EB) ウイルスは、Bリンパ球、Tリンパ球、NK細胞、上皮細胞などに感染し、腫瘍形成を行う。世界中で90%近いヒトがEBウイルスに感染しているが、一部のヒトからのみ腫瘍が発生する。我々は、EBウイルスの発

癌機構を明らかにし、予防治療へ役立てることを目標にしている。

1. 感染症と癌

全世界の癌患者の20%近くは感染症が原因となっている¹⁾。ピロリ菌、肝炎ウイルス（B型とC型）、パピローマウイルス、ヒトT細胞白血病ウイルス、私の研究対象の Epstein-Barr (EB) ウイルスなどの感染が癌の原因になる。感染症が原因で発生する癌は、感染症の対策を行うことで予防あるいは治療することができる。ピロリ菌に対する抗生物質とプロトンポンプインヒビターを用いた除菌療法、C型肝炎ウイルスに対するインターフェロンやウイルス剤（プロテアーゼ阻害剤、NS5A 複製複合体阻害剤）を組み合わせたウイルス排除療法、パピローマウイルスに対するワクチンによる予防接種などが行われるようになった。そのため、ピロリ菌、C型肝炎ウイルス、パピローマウイルス感染に伴う発癌は将来的には減少すると予想される。一方、ワクチンや抗菌薬が開発されていない感染症の場合は、感染拡大の防止策が行われる。輸血や入院患者に対するB型肝炎ウイルス感染有無の検査、母乳を介したヒトT細

Hironori YOSHIYAMA et al.

島根大学医学部微生物学講座

連絡先：〒693-8501 出雲市塩冶町89-1

島根大学医学部微生物学講座

胞白血病ウイルス伝播の予防策，食べ物の口移しをやめることによるピロリ菌やEBウイルス伝播の減少，などの予防対策が行われ，有効な治療薬やワクチンがない微生物の感染頻度も低下しつつある。とは言え，治療法や予防法が行われているのは一部の先進国のみであり，全世界で見ると，まだまだ感染症に伴う癌は多く発生している。

微生物の長期の持続感染は腫瘍の発生を促すことがある。一方，インフルエンザウイルスのように感染細胞から沢山のウイルスが放出され，感染細胞が死んでしまうような組織破壊の強い感染では腫瘍は形成されない。パピローマウイルスやEBウイルスなどは，宿主の染色体に付着して，細胞増殖に伴う染色体の分裂に一致して，自分の子孫を増やすという戦略をとる。このような場合，ウイルス遺伝子は自分が感染している細胞を増やすことに働く。増殖している細胞は遺伝子の変異を蓄積しやすいため，一部の持続感染細胞はだんだん増殖性に変化していく。図1はパピローマウイルスによる多段階発がんのモデルで，この様に遺伝子の変異が蓄積して最終的に癌になる。

表1 世界の感染症に起因するがん患者の数 (2012年)

細菌・ウイルス	患者数
ピロリ菌	770,000
パピローマウイルス	640,000
B及びC型肝炎ウイルス	590,000
EBウイルス	120,000
カボジ肉腫ウイルス	44,000
成人T細胞白血病ウイルス	3,000
ビルハルツ住血吸虫、肝吸虫など	2,000
総ての感染症	2,200,000

2. EBウイルス関連癌

私が研究対象にしているEBウイルスの腫瘍化機構を説明する。EBウイルスは殆どの人(90%)が感染しているが，一部の感染者のみが癌に罹患する。癌になる確率は高くはないが，多くの人々が感染しているため，例えば胃癌全体の10%を占めているEBウイルス関連胃癌の我が国での新規罹患数は年間5000例にのぼる。

1) EBウイルスの特徴

小児期のEBウイルス初感染では無症候のまま持続感染が成立するが，思春期にEBウイルスに

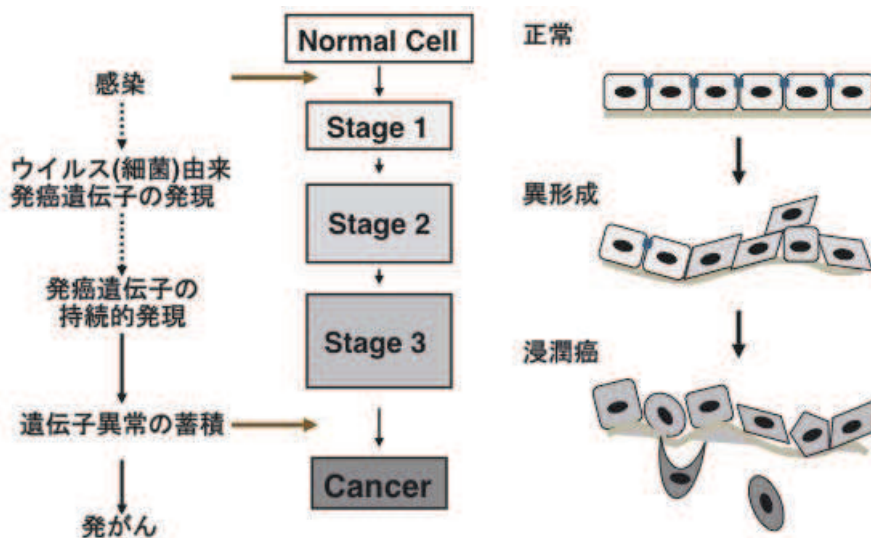


図1 発がんの多段階モデル

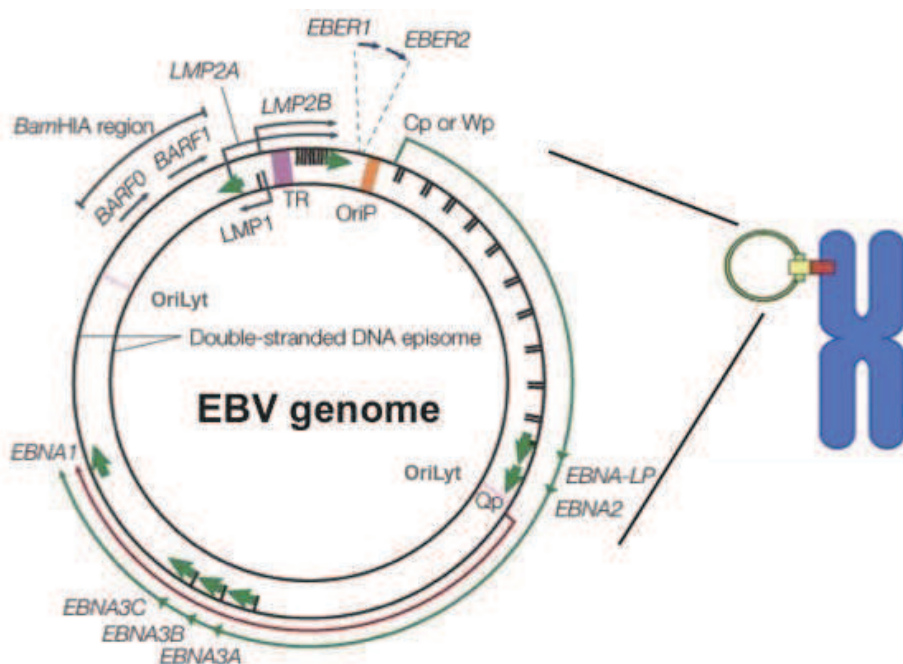
初感染すると伝染性単核症になる²⁾。日本では25歳くらいまでに殆どの人がEBウイルスに感染するとされ、潜伏感染の形でウイルスを終生保持する。EBウイルスが潜伏感染するのはBリンパ球で、このBリンパ球はリンパ節の奥深く潜んで、細胞性免疫からの攻撃を回避している。しかし、EBウイルスは、体の局所において細胞性免疫の低下とともに、しばしば再活性化し、増殖複製する³⁾。そうすると、ウイルス抗原が増えるため免疫が活性化してウイルス抗原を表面に提示している感染細胞を破壊する。潜伏感染状態の細胞のみが生き残る。このように、潜伏感染と再活性化を繰り返して、EBウイルスは大部分の人において無害な共存関係を確立している。

ところが、一部の人で、EBウイルスは癌を起こす。EBウイルスはBリンパ球と上皮細胞に感染するため、これらの細胞由来の多種類の癌が生じる。Bリンパ球系ではBurkittリンパ腫、ホジキンリンパ腫、AIDSの脳腫瘍（Bリンパ腫）、

移植後のリンパ腫等がある。上皮細胞では、上咽頭癌と10%の胃癌が代表的なEBウイルス関連癌である。その他、まれにTリンパ球やNK細胞にEBウイルスが感染することがあり、免疫調節機能を持つこれらの細胞が感染し腫瘍化すると免疫機能がかく乱されて重篤な病状を示す。

このウイルスの遺伝子は大きな二本鎖DNA分子構造をとっている（図2）。EBウイルスが潜伏感染と溶解増殖感染の二つの感染様式をとることができるのは、溶解感染と潜伏感染を開始するそれぞれの複製開始点を使うからである。また、ウイルスゲノムは宿主染色体に付着しており、細胞分裂で染色体が増えるのに伴いウイルスゲノムも娘細胞に伝播する。ウイルス遺伝子は全部で85個くらいであるが、潜伏感染時に発現する遺伝子は、多くても9個、少ない場合は1個ないし0個である。数少なく発現する遺伝子蛋白の指令で自分のゲノムの複製維持が可能である。そして、免疫監視機構の低下に伴って潜伏感染細胞は溶解感

図2 EBウイルスゲノムの染色体結合と潜伏感染遺伝子のマップ



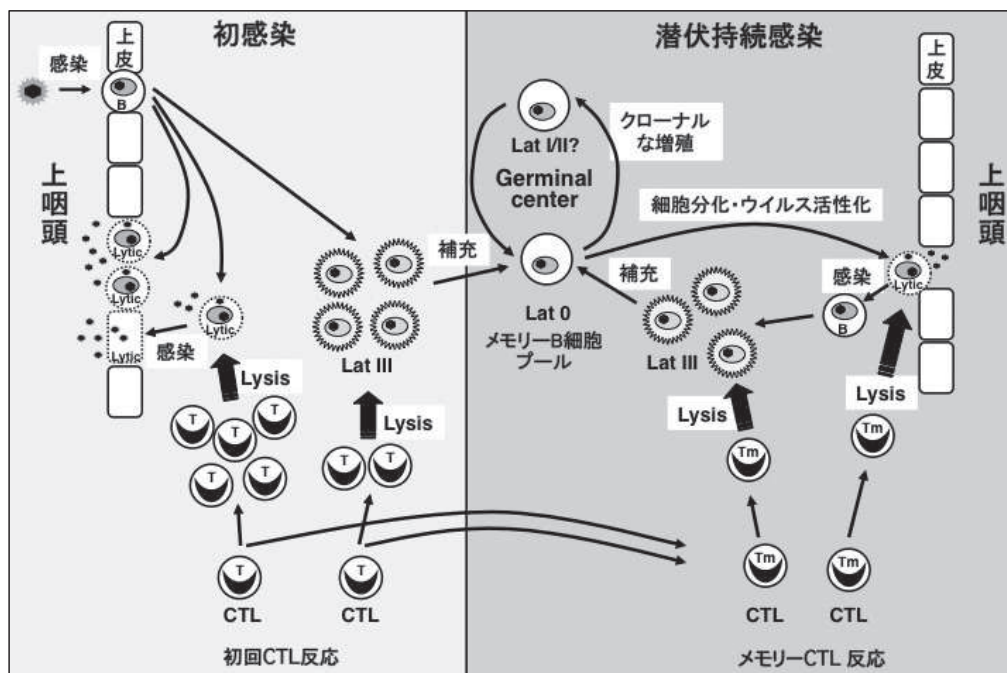


図3 EBウイルスの初感染, 潜伏感染, 再活性化

染に移行し, 多くの子孫ウイルスを産生する。

2) EBウイルスの感染様式

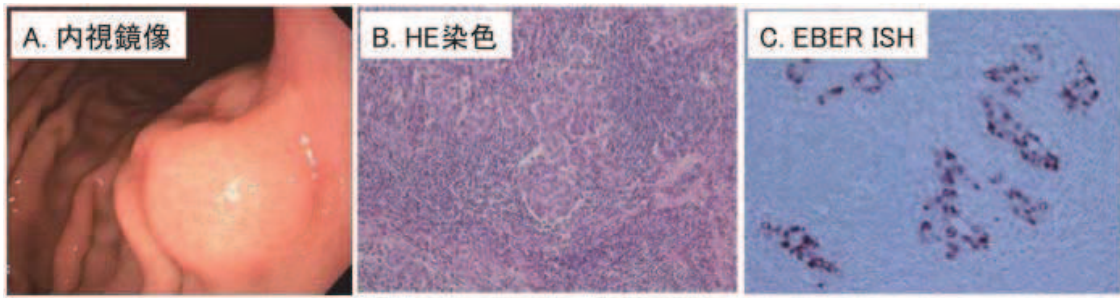
図3にEBウイルスの感染様式を示す。若者の伝染性単核症が kissing disease とも言われるように, 唾液中に分泌されたEBウイルスは, 咽頭粘膜の表面に存在するBリンパ球に初感染して増える。初感染におけるウイルスの大量増殖は咽頭発赤等を起す。咽頭粘膜部のBリンパ球で増えたウイルスは上皮細胞に感染伝達され増殖する。感染細胞は最初はウイルス増殖を行うため, 免疫Tリンパ球がウイルスの異種抗原を認識して, 感染細胞ごと破壊する。そのため殆どウイルス抗原を出さない潜伏感染様式を示す細胞のみが(Bリンパ球も上皮細胞も)生き残る。加齢や紫外線に当たること等により, 細胞性免疫の低下に伴い, 咽頭部で潜伏感染細胞が増殖溶解感染に移行し, ウイルスを放出する。すると, メモリーTリンパ球がウイルス抗原を認識して増殖し, ウイルス産生細胞を攻撃する。潜伏感染型のBリンパ球細胞

がリンパ節のなかに長期間潜む。この循環を繰り返して, ウイルスは一生持続感染する。

3. EBウイルス関連胃癌

私は, EBウイルスに感染した上皮細胞が腫瘍化する機構を研究し, 特に, EBウイルス関連胃癌を研究対象としている。図4はEBウイルス関連胃癌を示すが, 著名な炎症細胞浸潤が特徴的である⁴⁾。一方, 柵状の上皮構造を示す腫瘍細胞は全ての細胞にウイルスが感染しており, ウイルス核酸が腫瘍細胞の中で in situ hybridization 法によって染色される。EBウイルス関連胃癌は全世界に分布し, 胃癌全体の約10%程度がEBウイルス関連胃癌と言われる。

このウイルスのゲノムはウイルス粒子中では線状の形で存在している。線状ゲノムは細胞に感染すると同時に, 繰り返し配列(Terminal Repeat: TR)のところで相同組み換えが起こって環状になる(図5)。このため最初に感染成立した環状



[[izasa H et al. EBV-associated gastric carcinoma. *Viruses* 2012; 4, 3420-3439.より改変引用]

図4 EBウイルス関連胃癌

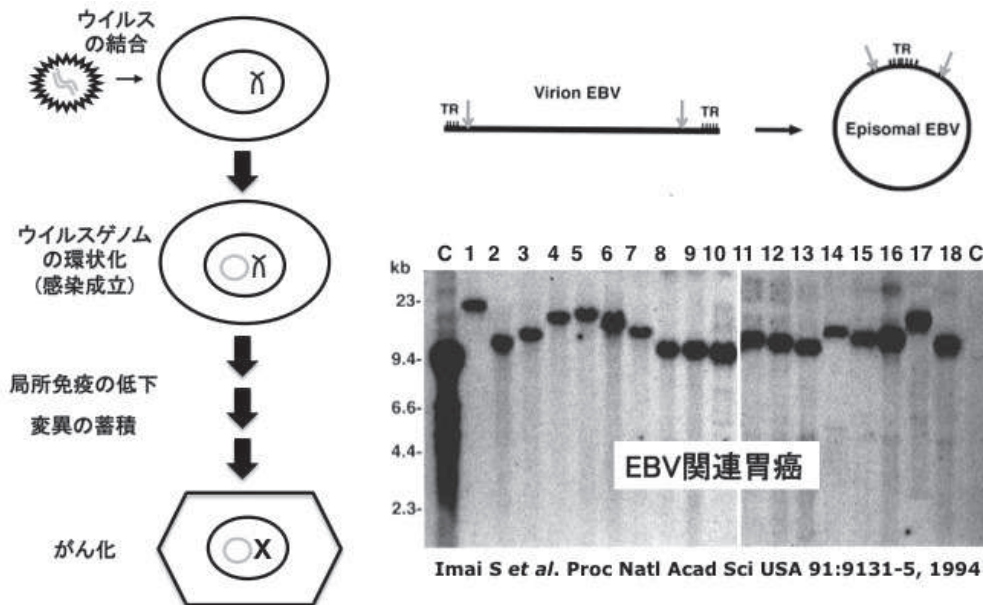


図5 単一のEBウイルス感染細胞が腫瘍を形成

ゲノムのウイルスが細胞増殖とともにずっと増えていく。胃癌患者由来の腫瘍細胞中の環状ウイルスゲノムを、ゲノム端のTRの両側で切ってその長さを較べると一定の長さのものしか認められない⁵⁾。即ち、腫瘍中のすべてのEBウイルスのTR領域の長さが全部同じで一種類である。しかも、その長さは違う患者さんの腫瘍では異なり、1番目の患者さんの胃癌由来のウイルスゲノムに較べて、2番目の患者さんの胃癌由来のウイルスゲノムはちょっと短い。要するに、細胞への最初の感

染時にTRの数が決定し、同一起源の感染細胞が癌になるということを意味する。ウイルスに感染した細胞が最終的に癌になる。

4. EBウイルス関連上皮性腫瘍の腫瘍化機構

EBウイルス感染細胞は非感染細胞に較べて増殖性を示す。軽い腫瘍状態にあつて自立性増殖を行うが悪性形質の強くないMDCK細胞株にEBウイルスを感染させることができる。このMDCK細胞の、EBウイルス感染株、ウイルス

の LMP-1 蛋白発現細胞株, 対照の MDCK 細胞を, NK 細胞とマクロファージの活性が低く, T と B 細胞は欠失している, NOD-SCID マウスへの移植実験を行った。そうすると EB ウイルス感染細胞を移植したマウスでは腫瘍がどんどん大きくなった。対照の正常細胞も, II 型と III 型の潜伏感染時に発現するウイルスの LMP-1 蛋白を発現させた細胞も増殖した。しかし, 腫瘍のサイズがウイルス感染細胞に較べてはるかに小さかった。これより, EB ウイルスに感染した細胞が生体において強い腫瘍形成性を示すことがわかった (図 6)⁶⁾。LMP-1 はトランスジェニックマウスの実験で造腫瘍性が確認されている⁷⁾が, EB ウイルスそのものはさらに腫瘍形成性が高いことがわかる。しかも, LMP-1 蛋白は EB ウイルス関連胃癌では発現しない。

それではウイルス感染細胞がどのようなステップで腫瘍を形成するであろうか。腫瘍化に働くものとして, 潜持続感染細胞で発現する EBNA-1, EBER, BARTs などのウイルス遺伝子産物が作用することが考えられる。EBNA-1 は survivin

の誘導などにより抗アポトーシスに働く⁸⁾。EBER は PKR の活性化を阻害し, インターフェロン誘導を阻害する。アポトーシスが阻害され, EBV 持続感染細胞の生存に働く⁹⁾。BARTs は EB ウイルスゲノムの Bam HI A 領域にコードされる転写産物で BARF 1 と多くの micro RNA を含む¹⁰⁾。Long non-coding RNA も存在し, 近年多くの報告が行われており, 代表的なものだけを挙げる。BARF1 蛋白は, 潜伏感染時も発現し, colony stimulating factor-1 receptor 類自体としてインターフェロン α の誘導を阻害すると考えられている。BART microRNA は40個も存在し, ウイルス側のターゲット遺伝子 (BZLF1, LMP-1, LMP-2A など) からは潜伏感染の維持に働くことがわかる。一方, 宿主側のターゲットには, アポトーシス関連遺伝子 (PUMA, Bim, CASP3 など) や免疫応答 (IL-12p40, CXCL11, MICB など) に関わる遺伝子が報告されており, アポトーシス阻害や免疫回避に働いている。

一方, 我々は, これらとは異なるメカニズムによる発がん促進経路の存在に気づいた。最近の報

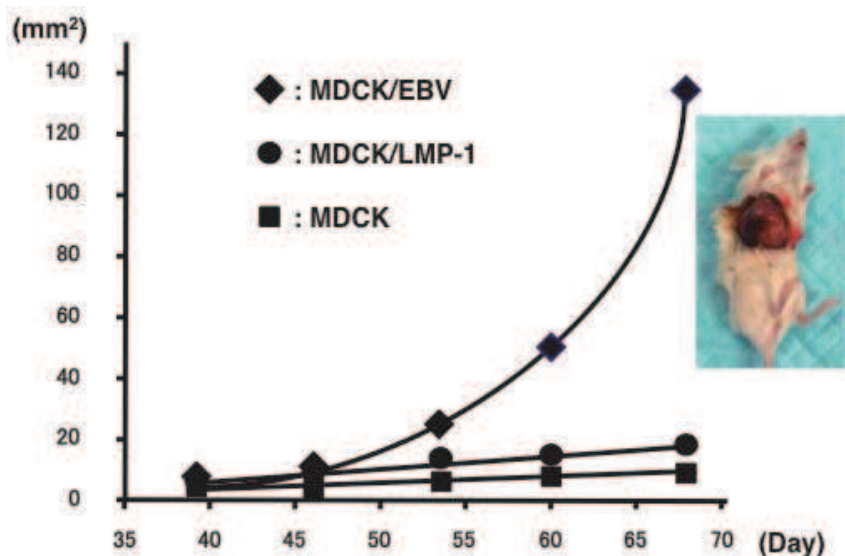


図 6 EB ウイルス感染細胞は造腫瘍性が強い

告で EB ウイルス関連胃癌は他の胃癌とは全く異なる遺伝子異常を蓄積していることが示された。染色体転座は少ない代わりに、宿主ゲノムの cytidine が thymidine に変換されている変異が多かった。これより、我々は、EB ウイルス感染によって cytidine deaminase 活性を持つ APOBEC 遺伝子群が活性化すると考え、このことを明らかにした。EB ウイルス感染に伴う APOBEC の誘導はウイルス遺伝子、宿主遺伝子、ミトコンドリア遺伝子に変異を誘導すると考えられ、現在その解析を行っている。

おわりに

本稿では EB ウイルス関連癌のうち上皮性腫瘍に集中してまとめさせていただいた。リンパ球系

の腫瘍はウイルス性のオンコジーンの間与がもつと多く、サイトカインの発現も異なるため他の機会に譲りたい。感染に伴う発がんは、感染性微生物という作用点が明らかになっており、実験による発がんメカニズムの解明が行われやすいとともに、診断や治療法の開発も、原因不明の癌に比べ、行われやすいと考え、精力的に研究を行っている。

これまでの研究成果をまとめる目的で、最近、診断と治療社から、「EB ウイルス：改訂第3版」(ISBN 978-4-7878-2154-6) および「EB ウイルス関連胃癌」(ISBN 978-4-7878-2216-1) という本を出版いたしました。EB ウイルス関連疾患に興味を持っていただき、広く知っていただければと思います。是非ご一読いただければ、大変ありがたいことだと思います。

参考文献

- 1) Plummer M et al. Global burden of cancers attributable to infections in 2012: a synthetic analysis. *Lancet Glob Health* 9: e 609-e 616, 2016.
- 2) Fields Virology Sixth edition "Epstein-Barr virus" Knipe DM. and Howley PM. (Ed.) Tolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins. 2013.
- 3) Iizasa H et al. Dysbiotic infection in the stomach. *World J Gastroenterol* 21: 11450-11457, 2015.
- 4) Iizasa H et al. EBV-associated gastric carcinoma. *Viruses* 4: 3420-3439, 2012.
- 5) Imai S et al. Gastric carcinoma: monoclonal epithelial malignant cells expressing Epstein-Barr virus latent infection protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 9131-9135, 1994.
- 6) 金廣優一ら: EB ウイルスの胃上皮細胞への感染と不死化. 柳井秀雄, 西川 潤, 清水則夫, 吉山裕規 (編集) EB ウイルス関連胃癌, 診断と治療社, 53-59, 2016.
- 7) Cancer Genome Atlas Research Network: Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature* 513: 202-209, 2014.
- 8) Lu J et al. Epstein-Barr Virus nuclear antigen 1 (EBNA1) confers resistance to apoptosis in EBV-positive B-lymphoma cells through up-regulation of survivin. *Virology* 410: 64-75, 2011.
- 9) Iwakiri D. Multifunctional non-coding Epstein-Barr virus encoded RNAs (EBERs) contribute to viral pathogenesis. *Virus Res* 212: 30-8, 2016.
- 10) 瀬戸絵理: BARTs, BARF 1, microRNA. 高田賢藏 (監修), 柳井秀雄, 清水則夫, 吉山裕規 (編集) EB ウイルス, 改定第3版. 診断と治療社, p36-40, 2015.
- 11) Kanehiro Y et al. EBV infection induces APOBEC 3-dependent mitochondrial DNA mutation in epithelial cells. *Book of abstracts*, p 57 : 17th International Symposium on Epstein Barr virus and associated diseases, Aug. 8-12 th 2016.