

1. EBウイルスによる発癌機構

岩切 大, Samanta Mrinal, 高田 賢蔵

北海道大学遺伝子病制御研究所 癌ウイルス分野

EBウイルス (EBV) は様々な癌との関連が知られている DNA 腫瘍ウイルスである。癌細胞内において EBV は潜伏感染を維持しており、発現するウイルス遺伝子の種類により潜伏感染様式は 1 型から 3 型に分けられる。EBV は B リンパ球をトランスフォーム (不死化) し、すべての潜伏感染遺伝子が発現する 3 型感染のリンパ芽球様細胞株 (LCL) とする活性をもつが、その機構は免疫不全状態での日和見リンパ腫などの発生のモデルとも考えられている。一方 1 型や 2 型の癌では遺伝子発現が限定されるが、これまでの研究により核抗原 EBNA1、膜蛋白質 LMP1 や LMP2A などの発癌に関わる機能が明らかとされ、また我々は小 RNA である EBEBER が発癌において重要な役割を果たしていることを明らかにした。本稿では最近までに明らかにされている EBV による発癌の分子機構について概観する。

はじめに

Epstein-Barr ウイルス (EBV) はバーキットリンパ腫 (BL) から最初のヒト癌ウイルスとして 1964 年に分離された。その後現在までに上咽頭癌やホジキンリンパ腫、NK/T リンパ腫、AIDS や臓器移植などに伴う日和見リンパ腫、胃癌などへの関与が明らかにされており、これらは EBV 関連癌と呼ばれる。これらの癌細胞において EBV は潜伏感染状態を維持しており、発現しているウイルス遺伝子の機能が発癌に関与している。

EBV 関連癌で発現するウイルス遺伝子

EBV は約 170kb の二本鎖 DNA ウイルスで、成人の場合ほとんどが EBV に感染している。初感染時の疾患として伝染性単核球症が知られるが、多くは不顕性感染となり、B リンパ球において終生潜伏感染が維持される。一方で前述の通り、EBV 感染は一部の例において癌の発生へ関与するということが明らかとなっている。つまり、EBV 感染 = 発癌ではなく、何らかのコファクター (免疫異常や感染細

胞の遺伝子変化など) が EBV による発癌に寄与しているということである。EBV は癌細胞において潜伏感染し、完全長のウイルスゲノムが染色体に組み込まれずにプラスミドとして維持されている。表 1 に各種 EBV 関連癌とそれらにおいて発現している EBV 遺伝子を示す。各々の癌において発現する EBV 遺伝子は異なり、そのパターンにより潜伏感染様式は 3 つに大別される。このうち、BL や胃癌、上咽頭癌の約 3 分の 2 の症例などにおいて認められる 1 型は発現する遺伝子が最も限定され、EBV 核抗原 (EBV-nuclear antigen: EBNA) 1、EBV がコードする小 RNA (EBV-encoded small RNAs: EBEBERs)、BamHIA rightward transcripts (BARTs)、および一部の症例で膜蛋白質である Latent membrane protein (LMP) 2A が発現しているのみである。これらに LMP1、LMP2B の発現が加わった 2 型は上咽頭癌の約 3 分の 1、ホジキンリンパ腫や NK/T リンパ腫で見られる。EBV は *in vitro* において B リンパ球を無限増殖可能なリンパ芽球様細胞株 (Lymphoblastoid cell line: LCL) へとトランスフォームする活性をもつ (B リンパ球の不死化とよばれる)。LCL は潜伏感染遺伝子すべてを発現する 3 型を示し、日和見リンパ腫などでは LCL 様の腫瘍細胞が増殖していると考えられる。しかし正常な免疫状態では EBNA3 などが CTL の標的となるため LCL 様の細胞の増殖はおこりにくく、遺伝子発現の限定された I 型、II 型の潜伏感染様式を示す腫瘍細胞が増殖可能であると考えられる^{38, 44, 53}。

連絡先

〒060-0815 札幌市北区北 15 条西 7
北海道大学遺伝子病制御研究所 癌ウイルス分野
TEL : 011-706-5072
FAX : 011-706-7564
E-mail : iwakiri@igm.hokudai.ac.jp

表1 EBV 関連癌における潜伏感染遺伝子発現様式

潜伏感染様式	EBNA1	EBNA2	EBNA3s	LMP1	LMP2A	LMP2B	BARTs	EBERs	関連疾患
1	+	-	-	-	+/-	-	+	+	BL、胃癌 上咽頭癌
2	+	-	-	+	+	+	+	+	ホジキンリンパ腫
3	+	+	+	+	+	+	+	+	(LCL) 日和見リンパ腫

BL:バークキットリンパ腫 LCL:リンパ芽球様細胞株

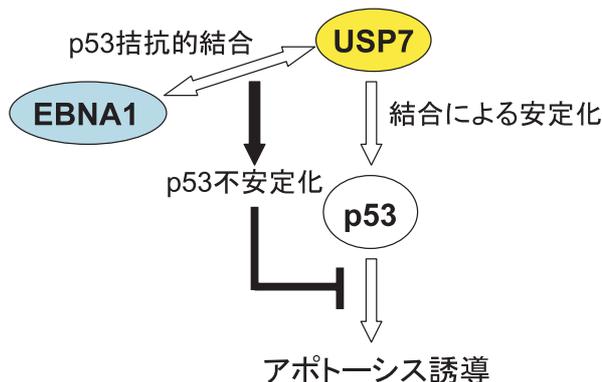
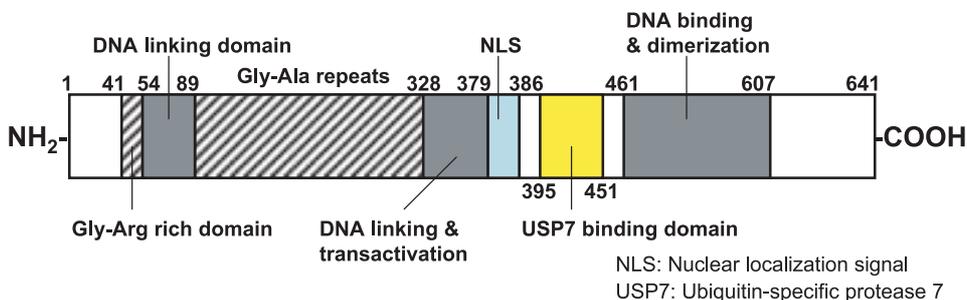


図1 EBNA1 の機能ドメインとアポトーシス抑制作用

EBV 潜伏感染遺伝子の機能

1) EBNA1

EBNA1 は EBV 感染細胞内で細胞分裂がおこる際の EBV ゲノムの複製と維持に必須であることが知られているが、最近 EBNA1 のアポトーシス抑制作用に関する報告がなされている。Sugden らにより、BL 細胞においてドミナントネガティブ EBNA1 を発現させその機能を抑制するとアポトーシスとなることから、EBNA1 はアポトーシス抑制作用をもつということ、さらに EBNA1 は p53 により誘導されるアポトーシスを抑制するということが報告され²⁴⁾、また Flappier らは、EBNA1 が p53 の安定化に働く HAUSP/ MDM2 に p53 と競合的に結合する結果、p53 の不安定化をもたらす p53 を介したアポトーシスを抑制するということを明らかにし⁴⁰⁾、EBNA1 が発癌に寄与している可能性が示されている (図 1)。

2) EBNA2

EBNA2 は転写活性化因子であり、DNA 結合能はもたないが宿主 DNA 結合蛋白質である RBP-J κ 、PU.1 との結合を介し、CD23、c-fgr、c-myc などの宿主遺伝子およびウイルス遺伝子 LMP1、LMP2 などの転写活性化をおこす^{12,16)}。B リンパ球の不死化能をもたない P3HR-1 細胞株 EBV は EBNA2 が欠損しているが、欠失している EBNA2 を補うことで不死化能が回復することから EBNA2 は B リンパ球の不死化に必須であることが示された^{13,7)}。これには EBNA2 のもつ LMP1 や c-myc の転写活性化能が関与していると考えられる。また EBNA2 と結合する RBP-J κ は Notch シグナルの伝達分子であり、通常は転写抑制に働くが活性型 Notch (Notch1C) によりその抑制が解除され転写活性化がおこることが知られている。つまり RBP-J κ との結合を介し転写活性化をおこす EBNA2 の機能は Notch1C と同様であると推測され、B リンパ球の不死化における EBNA2

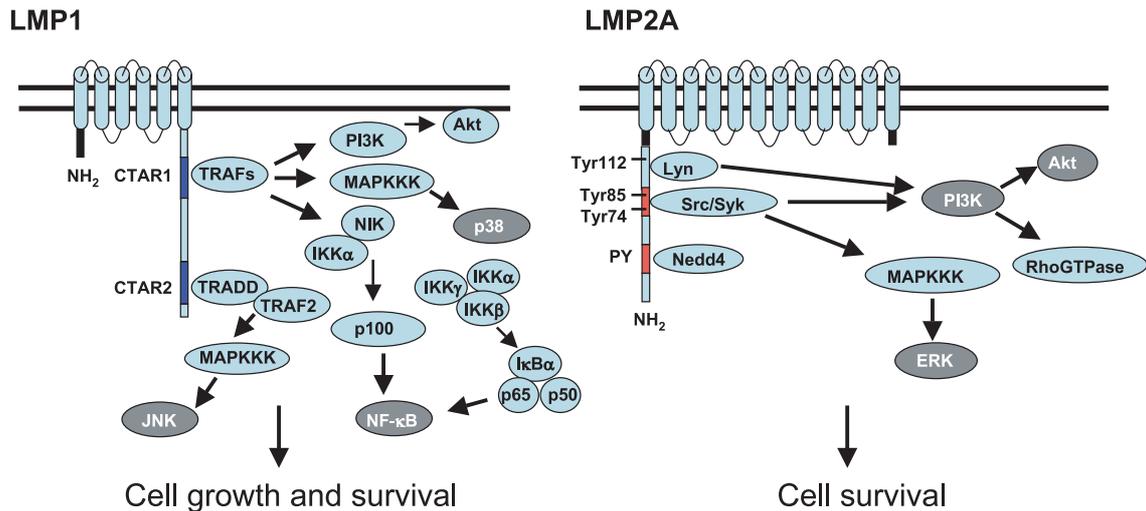


図2 LMP1, LMP2A によるシグナル伝達とその作用

の作用が Notch1C によって置換できるということから、EBNA2 が Notch シグナルを模倣していることが示唆されている¹¹⁾。

3) EBNA3 (A,B,C)

EBNA3 ファミリーは Bam HIE 断片上に一列にコードされる、高い相同性を示す遺伝子群である。EBNA2 と競合的に RBP-J κ と結合し、EBNA2 の転写活性化作用を抑制する機能をもつことが知られている。欠損ウイルスを用いた解析から、B リンパ球の不死化には EBNA3A と 3C が必須であり、3B は必須ではないことが明らかとなっている⁴⁷⁾。

4) EBNA-LP

EBNA2 と協調的に機能し、EBNA2 による転写活性化を増強する作用を持つことが知られ、EBNA-LP の部分欠損ウイルスでは B リンパ球の不死化効率は著明に低下することが報告されている^{30,43)}。最近、EBNA-LP によりケモカインである TARC の発現が誘導され、LCL でも TARC が産生されていることが報告されたが、B リンパ球不死化における TARC の役割については明らかになっていない²²⁾。

5) LMP1

LMP1 の C 末側細胞内領域 (c-terminal activating region: CTAR) には TRAF や TRADD などが会合して細胞内シグナル伝達を惹起し、NF- κ B や、AP-1, JNK, p38MAPK 経路を恒常的に活性化する^{15, 25, 10, 9)} (図2)。これは B リンパ球の活性化、増殖をおこす CD40 からのシグナル伝達と同様の経路であり、LMP1 は CD40 からのシグナル伝達を模倣すると考えられている⁴⁹⁾。さらにトランスジェニックマウスではリンパ腫がおこること、げっ歯類の繊維芽細胞株をトランスフォームできることから、LMP1 は癌遺伝子の機能をもつと考えられる^{28,50)}。また LMP1 による NF- κ B 活性化はアポトーシス抑制作用をもたらす。

LMP1 は B リンパ球の不死化に必須である²³⁾ が、NF- κ B 活性化の抑制は LCL のアポトーシスを誘導する²⁾ ことから、NF- κ B 活性化は B リンパ球の不死化に寄与していると考えられている。このほか LMP1 は BCL2 などの抗アポトーシス因子や IL-6 などのサイトカイン発現を誘導する^{8, 17)} という報告や p16 の発現抑制作用をもつことも報告されている³⁵⁾。

6) LMP2A

LMP2A の N 末細胞内領域には Lyn や Syk といったチロシンキナーゼが会合し、恒常的なシグナル活性化をおこすと考えられている (図2)。LMP2A トランスジェニックマウスを用いた解析では、B 細胞抗原レセプター (BCR) 陰性の B リンパ球が末梢リンパ組織に出現する³⁾ ことから、LMP2A がプレ BCR からのシグナル伝達を模倣し、生存シグナルを誘導 (アポトーシスを回避) している可能性が示唆され、これには RAS/PI3K/Akt 経路の活性化が関与すると報告されている³⁷⁾。一方 BCR を介する刺激は潜伏感染している EBV の溶解感染を誘導 (EBV の活性化) するが、LMP2A 発現下ではその誘導に必要な Lyn や Syk がリクルートされているために EBV 活性化は抑制される。そのため LMP2A は EBV の潜伏感染維持に働いていると考えられている³¹⁾。LMP2A は上皮細胞においてもシグナル分子として機能し、PI3 キナーゼ経路の活性化を誘導し細胞を悪性転換するという報告⁴¹⁾ や、MAP キナーゼの経路を活性化する⁵⁾ などの報告があり、発癌への寄与が示唆されている。

7) EBER

EBER は 2 本鎖構造をもつ、蛋白質に翻訳されない小 RNA で、EBER1 と EBER2 からなり、RNA ポリメラーゼ III により転写される。大部分は核に局在し、最大 10^7 コピー

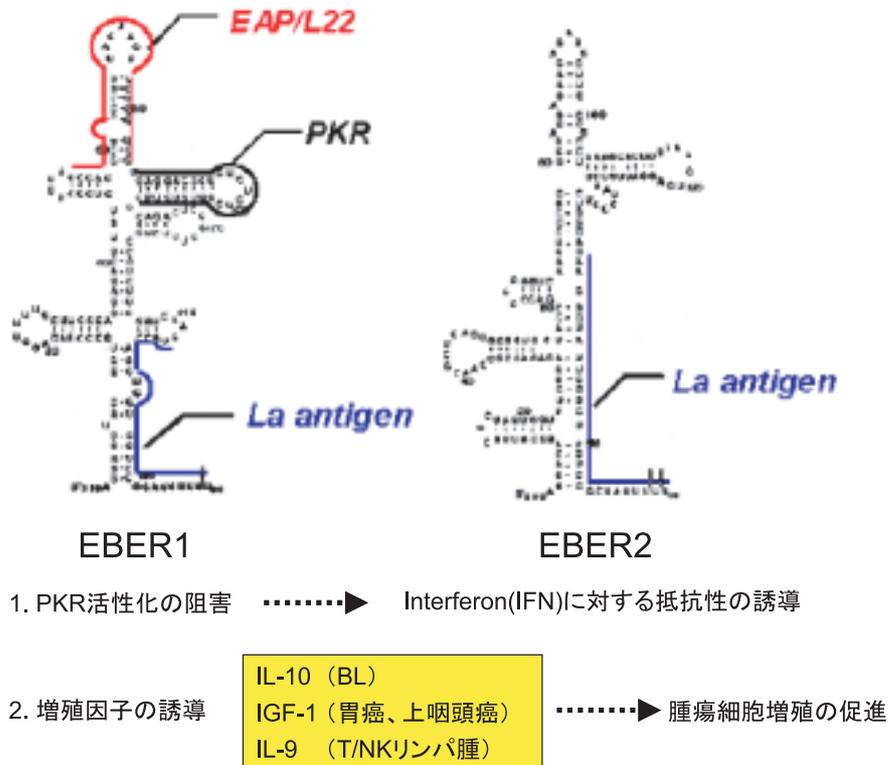


図3 EBERの構造と機能 (図は結合する細胞内蛋白質とその領域を示す)

存在する。EBERはアデノウイルスのVA1,VA2,細胞のU6小RNAとその構造が類似しており,La,EAP/L22,PKRなどの細胞内蛋白質と結合する^{45,46,6)}(図3)。我々はEBER欠損ウイルスではB細胞の不活化効率が低下することを明らかにしている⁵¹⁾。またEBERはPKRに結合しその活性を抑制することでBL細胞ではインターフェロン(IFN),上皮細胞ではFasにより誘導されるアポトーシスに対する抵抗性をもたらすこと^{32,33)}、さらにBL細胞でIL-10,Tリンパ球においてIL-9,胃癌細胞や上咽頭癌細胞においてインスリン様増殖因子(IGF)-1の発現を誘導し,オートクライン作用によりEBV感染細胞の増殖を促進するなど,EBERが発癌において重要な役割を果たしていることが我々の研究により明らかとなった^{26,52,20,21)}。

8) その他

BARTsはすべての感染細胞で発現しているが,蛋白質に翻訳されているかどうかは結論が出ていない。BARF1はCSFレセプターホモログで,細胞の形質転換能をもつことが報告されている⁵⁰⁾。溶解感染遺伝子と考えられていたが,最近EBV陽性胃癌でBARF1の発現が認められるとの報告がなされ⁵⁴⁾、我々も胃癌,上咽頭癌組織におけるBARF1の発現を明らかにするなど⁴¹⁾、発癌への関与が示唆されている。

EBV 遺伝子は発癌にどうかかわっているか

1) EBVのBリンパ球の不活化活性と発癌

EBVによるBリンパ球の不活化活性はin vivoにおいても3型を示す日和見リンパ腫などの成立に寄与していると予想され,EBNA2やLMP1のもつ活性が主要な役割を果たしていると考えられる。また最近EBVがBリンパ球に感染するとCD40Lが誘導され,これがLCLの生存に寄与しているということが明らかにされた¹⁸⁾が,CD40Lの誘導機構については明らかになっていない。1型感染癌であるBLは,c-myc遺伝子の免疫グロブリン遺伝子領域への転座によっておこるc-mycの発現調節の異常が発癌に寄与すると考えられているが,染色体転座をおこす危険性の高い細胞が不活化される,あるいはすでに転座をおこした細胞が不活化されることにより増殖することで,元々3型であった細胞から,EBNA2,LMP1の活性に依存することなく増殖可能で免疫原性の低い1型のBL細胞へと転換するという可能性を示す報告もなされている³⁶⁾。

2) ホジキンリンパ腫発生へのLMP1,LMP2Aの寄与

ホジキンリンパ腫では,EBV陽性陰性に関わらずHodgkin Reed-Sternberg(HRS)細胞でNF- κ Bの恒常的な活性化が認められ,これがアポトーシス抵抗性に寄与しているということが報告されている。このためEBV陽性の症例ではLMP1のNF- κ Bの活性化作用がその成立に重要な役割

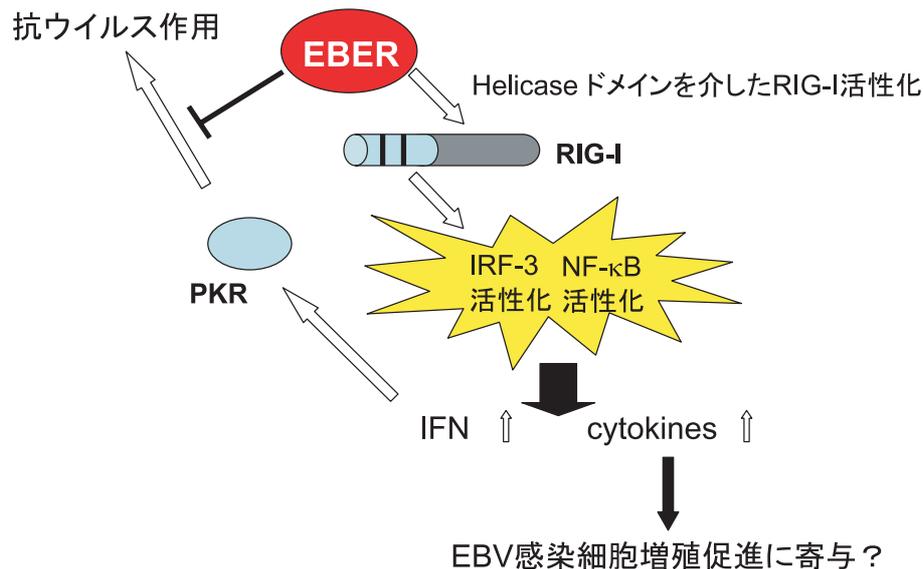


図4 EBVと宿主自然免疫機構の相互作用

を果たしていると考えられている。免疫グロブリンの genotype から HRS 細胞は胚中心 (germinal center: GC) における体細胞突然変異により生じた crippled GC B cell であると考えられている。体細胞突然変異をおこした B リンパ球のうち、高いアフィニティーの表面免疫グロブリンを持つものは抗原レセプターおよび CD40 からのシグナルを受け生存可能となるが、crippled GC B cell は免疫グロブリンの抗原に対するアフィニティーが低く、生存シグナルを受け取れずに死滅すると考えられる。そのため LMP2A による抗原レセプターシグナルの模倣、LMP1 による CD40 シグナルの模倣が HRS 細胞の生存に寄与している可能性が示唆されている¹⁴⁾。これに関し最近、扁桃の GC B リンパ球を EBV でトランスフォームすると、crippled GC B cell-LCL の増殖が認められるという、この仮説を支持する報告がなされている^{1,4,29)}。

3) EBV の発癌活性

BL や胃癌などの 1 型感染癌では発現遺伝子が最も限定されている。我々は、これまでの研究によりこれら 1 型の遺伝子発現のみで細胞が悪性形質を獲得するということが明らかにした。1 型の潜伏感染パターンを示す BL 細胞株より EBV ゲノムが脱落したクローンを分離することに成功したが、これと EBV 陽性クローンとを比較すると、EBV 陽性クローンでみられる悪性形質が EBV 陰性クローンでは失われていた²⁷⁾。つまり、EBV の存在が BL 細胞の悪性形質維持に必須であることがわかった。さらに我々はそれまで樹立が困難であった上皮細胞など様々な培養細胞株への EBV の持続感染系の開発に成功した¹⁹⁾。それらを用いた解析は、EBV 感染細胞が in vivo の EBV 関連癌における遺伝子発現と同一のパターンを維持するため EBV の発

癌機構研究にきわめて有用であり、EBV が胃上皮細胞の増殖促進に寄与していることも我々が初めて明らかにした³⁴⁾。その後の解析を通じて我々は、抗アポトーシス活性や増殖因子誘導作用など先に述べた EBV の活性を明らかとするに至っている。さらに最近我々は、二本鎖 RNA (dsRNA) 構造をもつ EBV が、ウイルスに対する自然免疫機構の担い手の一つで細胞内 dsRNA 認識分子である Retinoic acid-inducible gene (RIG) -I と相互作用し、これを活性化することを見いだした³⁹⁾。RIG-I の活性化はインターフェロン産生など抗ウイルス作用をもたらすことが知られているが、EBV は PKR の抑制などでこれをブロックする一方、RIG-I 活性化により先に述べたサイトカイン産生を誘導しようと推測され、EBV が宿主免疫機構と巧みに相互作用し発癌に寄与しているという可能性が示されている (図 4)。

おわりに

これまでに明らかにされてきた EBV による発癌機構について概説した。EBV による発癌機構の研究の進展は EBV を標的とした癌の治療法開発につながるということが期待され、さらなる発癌機構の解明が待たれる。

文 献

- 1) Bechtel D, Kurth J, Unkel C, Kuppers R.: Transformation of BCR-deficient germinal-center B cells by EBV supports a major role of the virus in the pathogenesis of Hodgkin and posttransplantation lymphomas. *Blood* 106: 4345-4350, 2005.
- 2) Cahir-McFarland ED, Davidson DM, Schauer SL, Duong J, Kieff E.: NF-kappa B inhibition causes spon-

- taneous apoptosis in Epstein-Barr virus-transformed lymphoblastoid cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 6055-6060, 2000.
- 3) Caldwell RG, Wilson JB, Anderson SJ, Longnecker R.: Epstein-Barr virus LMP2A drives B cell development and survival in the absence of normal B cell receptor signals. *Immunity* 9: 405-411, 1998.
 - 4) Chaganti S, Bell AI, Pastor NB, Milner AE, Drayson M, Gordon J, Rickinson AB.: Epstein-Barr virus infection in vitro can rescue germinal center B cells with inactivated immunoglobulin genes. *Blood* 106: 4249-4252, 2005.
 - 5) Chen SY, Lu J, Shih YC, Tsai CH.: Epstein-Barr virus latent membrane protein 2A regulates c-Jun protein through extracellular signal-regulated kinase. *J Virol* 76: 9556-9561, 2002.
 - 6) Clarke PA, Schwemmler M, Schickinger J, Hilse K, Clemens MJ.: Binding of Epstein-Barr virus small RNA EBNA1 to the double-stranded RNA-activated protein kinase DAI. *Nucleic Acids Res* 19: 243-248, 1991.
 - 7) Cohen JI, Wang F, Mannick J, Kieff E.: Epstein-Barr virus nuclear protein 2 is a key determinant of lymphocyte transformation. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 9558-9562, 1989.
 - 8) Eliopoulos AG, Stack M, Dawson CW, Kaye KM, Hodgkin L, Sihota S, Rowe M, Young LS.: Epstein-Barr virus-encoded LMP1 and CD40 mediate IL-6 production in epithelial cells via an NF- κ B pathway involving TNF receptor associated factors. *Oncogene* 14: 2899-2916, 1997.
 - 9) Eliopoulos AG, Gallagher NJ, Blake SM, Dawson CW, Young LS.: Activation of p38-mitogen activated protein kinase pathway by Epstein-Barr virus -encoded latent membrane protein 1 coregulates interleukin-6 and interleukin-8 production. *J Biol Chem* 274 : 16085-16096, 1999.
 - 10) Gires O, Kohlhuber F, Kilger E, Baumann M, Kieser A, Kaiser C, Zeidler R, Scheffer B, Ueffing M, Hammerschmidt W.: Latent membrane protein 1 of Epstein-Barr virus interacts with JAK3 and activates STAT proteins. *EMBO J* 18: 3064-3073, 1999.
 - 11) Gordadze AV, Peng R, Tan J, Liu G, Sutton R, Kempkes B, Bornkamm GW, Ling PD.: Notch1C partially replaces EBNA2 function in B cells immortalized by Epstein-Barr virus. *J Virol* 75: 5899-5912, 2001.
 - 12) Grossman SR, Johannsen E, Tong R, Yalamachili R, Kieff E.: The Epstein-Barr virus nuclear antigen 2 transactivator is directed to response elements by the J κ recombination signal binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 7568-7572, 1994.
 - 13) Hammerschmidt W, Sugden B.: Genetic analysis of immortalizing functions of Epstein-Barr virus in human B lymphocytes. *Nature* 340: 393-397, 1989.
 - 14) Hammerschmidt W, Sugden B.: Epstein-Barr virus sustains Burkitt's lymphomas and Hodgkin's disease. *Trends Mol Med* 10: 331-336, 2004.
 - 15) Hammarskjöld ML, Simurda MC.: Epstein-Barr virus latent membrane protein transactivates the human immunodeficiency virus type 1 long terminal repeat through induction of NF- κ B activity. *J Virol* 66: 6496-501, 1992.
 - 16) Hsieh J, Hayward SD.: Masking of the CBF1/RBPJ κ transcriptional repression domain by Epstein-Barr virus EBNA2. *Science* 268: 560-563, 1995.
 - 17) Huen DS, Henderson SA, Croom-Carter D, Rowe M.: The Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 (LMP1) mediates activation of NF- κ B and cell surface phenotype via two effector regions in its carboxy-terminal cytoplasmic domain. *Oncogene* 10: 549-560, 1995.
 - 18) Imadome K, Shirakata M, Shimizu N, Nonoyama S, Yamanashi Y.: CD40 ligand is a critical effector of Epstein-Barr virus in host cell survival and transformation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 7836-7840, 2003.
 - 19) Imai S, Nishikawa J, 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.
 - 20) Iwakiri D, Eizuru Y, Tokunaga M, Takada K.: Autocrine Growth of Epstein-Barr Virus-Positive Gastric Carcinoma Cells Mediated by an Epstein-Barr Virus-Encoded Small RNA *Cancer Res* 63: 7062-7067, 2003.
 - 21) Iwakiri D, Sheen TS, Chen JY, Huang DP, Takada K.: Epstein-Barr virus-encoded small RNA induces insulin-like growth factor 1 and supports growth of nasopharyngeal carcinoma-derived cell lines. *Oncogene* 24: 1767-1773, 2005.
 - 22) Kanamori M, Watanabe S, Honma R, Kuroda M, Imai S, Takada K, Yamamoto N, Nishiyama Y, Kawaguchi Y.: Epstein-Barr virus nuclear antigen leader protein induces expression of thymus- and activation-regulated chemokine in B cells. *J Virol* 78: 3984-3993, 2004.
 - 23) Kaye KM, Izumi KM, Kieff E.: Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 is essential for B-lymphocyte growth transformation. *Proc. Natl Acad. Sci USA* 90: 9150-9154, 1993.
 - 24) Kennedy G, Komano J, Sugden B.: Epstein-Barr virus provides a survival factor to Burkitt's lymphomas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 14269-14274, 2003.
 - 25) Kieser A, Kilger E, Gires O, Ueffing M, Kolch W, Hammerschmidt W.: Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 triggers AP-1 activity via the c-Jun N-terminal kinase cascade. *EMBO J* 16: 6478-6485, 1997.
 - 26) Kitagawa N, Goto M, Kurozumi K, Maruo S, Fukayama M, Naoe T, Yasukawa M, Hino K, Suzuki T, Todo S, Takada K.: Epstein-Barr virus-encoded poly(A)-RNA supports Burkitt's lymphoma growth through interleukin-10 induction. *EMBO J* 19: 6742-6750, 2000.
 - 27) Komano J, Maruo S, Koizumi K, Oda T, Takada K.: Oncogenic role of Epstein-Barr virus-encoded RNAs in Burkitt's lymphoma cell line Akata. *J Virol* 73: 9827-9831, 1999.
 - 28) Kulwichit W, Edwards RH, Davenport EM, Baskar JF, Godfrey V, Raab-Traub N.: Expression of the Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 induces B cell

- lymphoma in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95: 11963-11968, 1998.
- 29) Mancao C, Altmann M, Jungnickel B, Hammerschmidt W.: Rescue of "crippled" germinal center B cells from apoptosis by Epstein-Barr virus. *Blood* 106: 4339-4344, 2005.
 - 30) Mannick JB, Choen JI, Birkenbach M, Marchini A, Kieff, E.: The Epstein-Barr virus nuclear protein encoded by the leader of the EBNA RNAs is important in B-lymphocyte transformation. *J Virol* 65: 6826-6837, 1991.
 - 31) Miller C L, Lee, J H, Kieff E, Longnecker R.: An integral membrane protein (LMP2) blocks reactivation of Epstein-Barr virus from latency following surface immunoglobulin cross-linking. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 772-776, 1994.
 - 32) Nanbo A, Inoue K, Adachi-Takasawa K, Takada K.: Epstein-Barr virus RNA confers resistance to interferon- α -induced apoptosis in Burkitt's lymphoma. *EMBO J* 5: 954-965, 2002.
 - 33) Nanbo A, Yoshiyama H, Takada K.: Epstein-Barr virus-encoded poly(A)- RNA confers resistance to apoptosis mediated through Fas by blocking the PKR pathway in human epithelial intestine 407 cells. *J Virol* 79: 12280-12285, 2005.
 - 34) Nishikawa J, Imai S, Oda T, Kojima T, Okita K, Takada K.: Epstein-Barr virus promotes epithelial cell growth in the absence of EBNA2 and LMP1 expression. *J Virol* 73: 1286-1292, 1999
 - 35) Ohtani N, Brennan P, Gaubatz S, Sanij E, Hertzog P, Wolvetang E, Ghysdael J, Rowe M, Hara E.: Epstein-Barr virus LMP1 blocks p16INK4a-RB pathway by promoting nuclear export of E2F4/5. *J Cell Biol* 162: 173-183, 2003.
 - 36) Polack A, Hortnagel K, Pajic A, Christoph B, Baier B, Falk M, Mautner J, Geltinger C, Bornkamm GW, Kempkes B.: c-myc activation renders proliferation of Epstein-Barr virus (EBV)-transformed cells independent of EBV nuclear antigen 2 and latent membrane protein 1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93: 10411-10416, 1996.
 - 37) Portis T, Longnecker R.: Epstein-Barr virus (EBV) LMP2A mediates B-lymphocyte survival through constitutive activation of the Ras/PI3K/Akt pathway. *Oncogene* 53: 8619-8628, 2004.
 - 38) Rickinson AB, Kieff E.: Epstein-Barr virus Fields B. N. Knipe D. M. Howley P. M. eds. *Virology*, 4th Ed. 2575-2627, Lippincott-Raven Philadelphia, 2001.
 - 39) Samanta M, Iwakiri D, Kanda T, Imaizumi T, Takada K. EB virus-encoded RNAs are recognized by RIG-I and activate signaling to induce type I IFN. *EMBO J* 25: 4207-4214, 2006.
 - 40) Saridakis V, Sheng Y, Sarkari F, Holowaty MN, Shire K, Nguyen T, Zhang RG, Liao J, Lee W, Edwards AM, Arrowsmith CH, Frappier L.: Structure of the p53 binding domain of HAUSP/USP7 bound to Epstein-Barr nuclear antigen 1 implications for EBV-mediated immortalization. *Mol Cell* 18: 25-36, 2005.
 - 41) Scholle F, Bendt KM, Raab-Traub N.: Epstein-Barr virus LMP2A transforms epithelial cells, inhibits cell differentiation, and activates Akt. *J Virol* 74: 10681-10689, 2000.
 - 42) Seto E, Yang L, Middeldorp J, Sheen TS, Chen JY, Fukayama M, Eizuru Y, Ooka T, Takada K.: Epstein-Barr virus (EBV)-encoded BARTF1 gene is expressed in nasopharyngeal carcinoma and EBV-associated gastric carcinoma tissues in the absence of lytic gene expression. *J Med Virol* 76: 82-88, 2005.
 - 43) Sinclair AJ, Palmero I, Peters G, Farrell P.J. : EBNA-2 and EBNA-LP cooperate to cause G0 and G1 transition during immortalization of resting human B lymphocytes by Epstein-Barr virus. *EMBO J* 13: 3321-3328, 1994.
 - 44) 高田賢藏 監修 柳井秀雄, 清水則夫 編 「EBウイルス」 診断と治療社 2003.
 - 45) Toczyski DP, Steitz JA.: EAP, a highly conserved cellular protein associated with Epstein-Barr virus small RNAs (EBERs). *EMBO J* 10: 459-466, 1991.
 - 46) Toczyski DP, Matera AG, Ward DC, Steitz JA.: The Epstein-Barr virus (EBV) small RNA EBER1 binds and relocalizes ribosomal protein L22 in EBV-infected human B lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 3463-3467, 1994.
 - 47) Tomkinson B, Robertson E, Kieff E.: Epstein-Barr virus nuclear proteins EBNA-3A and 3-C are essential for B-lymphocyte growth transformation. *J Virol* 67: 2014-2025, 1993.
 - 48) Uchida J, Yasui T, Takaoka-Shichijo Y, Muraoka M, Kulwichit W, Raab-Traub N, Kikutani H.: Mimicry of CD40 signals by Epstein-Barr virus LMP1 in B lymphocyte responses. *Science* 286: 300-303, 1999.
 - 49) Wang D, Liebowitz D, Kieff E.: An EBV membrane protein expressed in immortalized lymphocytes transforms established rodent cells. *Cell* 43: 831-840, 1985.
 - 50) Wei MX, Ooka T.: A transforming function of the BARTF1 gene encoded by Epstein-Barr virus. *EMBO J* 8: 2897-2903, 1989.
 - 51) Yajima M, Kanda T, Takada K.: Critical role of Epstein-Barr Virus (EBV)-encoded RNA in efficient EBV-induced B-lymphocyte growth transformation. *J Virol* 79: 4298-4307, 2005.
 - 52) Yang L, Aozasa K, Ohimi K, Takada K.: Epstein-Barr virus (EBV)-encoded RNA promotes growth of EBV-infected T cells through interleukin-9 induction. *Cancer Res* 64: 5332-5337, 2004.
 - 53) Young LS, Rickinson AB.: Epstein-Barr virus: 40 years on. *Nat Rev Cancer* 4: 757-768, 2004.
 - 54) zur Hausen A, Brink AA, Craanen ME, Middeldorp JM, Meijer CJ, van den Brule AJ.: Unique transcription pattern of Epstein-Barr virus (EBV) in EBV-carrying gastric adenocarcinomas: expression of the transforming BARTF1 gene. *Cancer Res* 60: 2745-2748, 2000.

Mechanisms of EBV-mediated oncogenesis

Dai IWAKIRI, Mrinal SAMANTA, Kenzo TAKADA

Department of Tumor Virology, Institute for Genetic Medicine

Hokkaido University

N15 W7 Kita-ku, Sapporo, 060-0815, Japan

e-mail: iwakiri@igm.hokudai.ac.jp

Epstein-Barr virus (EBV) is the DNA tumor virus, which is known to be relevant to various cancers. EBV maintains latent infection in cancer cells, and there are three types of latent infection (type I-III) according to the patterns of viral latent genes expression. EBV has the ability to transform B cells into immortalized lymphoblastoid cell lines (LCL) showing type III latency, in which all latent genes are expressed. The mechanism of B-cell transformation has provided a model of EBV-associated lymphomas in immunosuppressed individuals. In type I and II latency, the limited numbers of latent genes are expressed. Previous studies have demonstrated the oncogenic functions of latent EBV genes including nuclear antigen EBNA1, membrane protein LMP1 and LMP2A. In addition, we have demonstrated that EBV-encoded small RNA EBEBs play a significant role in oncogenesis. Here we summarize recent progresses in the studies on molecular mechanisms of EBV-mediated oncogenesis.