

5. Epstein-Barr ウイルス (EBV) と カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV, HHV-8)

片野 晴隆

国立感染症研究所感染病理部

エプスタイン・バーウイルス (Epstein-Barr virus, EBV) とカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus, KSHV, human herpesvirus 8, HHV-8) はガンマヘルペスウイルスのメンバーであり、ともにリンパ球に感染し、リンパ腫などの悪性腫瘍の原因となる。8つのヒトヘルペスウイルスの中で発癌と関連する唯2つのウイルスであり、長らく発癌との関連を中心に研究が進んできた点は、他のヒトヘルペスウイルスと大きく異なる。EBVが発見されたのが1964年、KSHVは1994年に発見されたが、KSHVの解析がEBVを参考に急速に進んだ結果、現在、この2つのウイルスに関する知見を比べても30年の差は感じない。近年の2つのウイルスの研究に共通する大きな進歩は、ウイルスの発現するsmall RNAに関する知見が広がったことであろう。EBVとKSHVは他のウイルスに先駆けて、その遺伝子上にマイクロRNAをコードされていることが明らかになった。一方で、腫瘍化との関連についてはいまだに明らかでない部分が多い。本稿ではこれらのウイルスの基本的な知識を要約した上で、近年に明らかになった主なウイルス学的知見を概観する。

A. エプスタイン・バーウイルス Epstein-Barr virus (EBV)

1. 疫学と関連疾患

もともとはバーキットリンパ腫から発見されたが、現在ではほぼすべてのヒトが保持しているウイルスであり、多彩な疾患から検出されることが明らかになっている¹⁻³⁾。青年期での初感染は伝染性単核症の原因になるが、ほとんどの人は小児期に初感染を経験し、その際には無症状であることが多い。7歳頃までに初感染を経験する人が多いが、近年の日本人では、初感染の時期が遅くなっているようだ。日本人血清を用いた研究によると、1980年代までは5-7歳児の約9割がEBVに既感染であったのに対し、1990年代後半では同年代の子供の既感染率は約7割まで落ち込んで

いた⁴⁾。成人における感染率は変化がないことから、これらの統計はEBV初感染の高年齢化が起きていることを示している。小児期の衛生状態の改善が原因であろう。小児期に感染した後、EBVの再活性化による伝染性単核症様の症状を繰り返す病態が慢性活動性EBV感染症である。慢性活動性EBV感染症ではT細胞またはNK細胞にEBVが感染し、激しい免疫応答により宿主側の細胞が傷害される⁵⁾。再発を繰り返すうちにT細胞がクローナルな増殖を示すこともある。近年ではマウスを用いた慢性活動性EBV感染症の動物モデルが開発され、病態の解明が期待されている⁶⁾。

発見以来、EBVは悪性腫瘍との関連が注目されているが、2008年に改訂された血液リンパ系腫瘍のWHO分類では従来EBV関連腫瘍として知られるバーキットリンパ腫、日和見リンパ腫、ホジキンリンパ腫、鼻型節外性NK/T細胞リンパ腫、lymphomatoid granulomatosisなどに加え、慢性活動性EBV感染症、老人性EBウイルス陽性びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、膿胸後リンパ腫などの疾患が新たにEBV関連として加えられた⁷⁾。その多くは日本における研究成果が認められた結果である点は特筆に値する。血液リンパ系以外にも胃癌をはじめ、鼻咽頭癌、平滑筋肉腫などいくつかの悪性腫瘍からEBVが高頻度に検出されている。

連絡先

〒162-8640

東京都新宿区戸山1-23-1

国立感染症研究所 感染病理部

TEL: 03-5285-1111 内線 2627

FAX: 03-5285-1189

E-mail: katano@nih.go.jp

表1 EBV 関連悪性腫瘍における EBV 潜伏感染遺伝子の発現様式

	Latency I	Latency II	Latency III
EBER	+	+	+
EBNA1	+	+	+
EBNA2	-	-	+
EBNA3s	-	-	+
LMP1	-	+	+
LMP2A	+/-	+	+
疾患	バーキットリンパ腫, 胃癌	ホジキンリンパ腫 鼻咽頭癌	日和見リンパ腫

表2 EBV の潜伏感染タンパク

遺伝子名	機能
EBNA-1	宿主 DNA に結合し, 細胞分裂の際のウイルスゲノムの保持と複製に必要. Cp プロモーターの活性化.
EBNA-2	不死化に主要な働き. Notch1IC や RBP-Jκ を介して Cp (LMPs), CD21, CD23, c-myc のプロモーター活性の亢進.
EBNA-3A	RBP-Jκ に結合し, 転写活性に関与. LMP-1 の転写活性化. Chk2/cds1 に結合.
EBNA-3B	RBP-Jκ に結合し, 転写活性に関与.
EBNA-LP	MDM2 と結合し, p53 の安定化と不活化.
EBNA-3C	RBP-Jκ に結合し, 転写活性に関与. HDAC1 などと結合し, 染色体の remodeling に関与. pRb, p27 の発現抑制.
LMP-1	CD40 シグナルの活性化を引き起こし, NF-κB の恒常的活性化, 抗アポトーシス作用などにより, EBV による細胞増殖, 不死化に主要な働き.
LMP-2	ERK, Jun の活性化, PI3K/AKT の活性化による細胞増殖, NF-κB の活性化, Stat3 を介した DNMT1 の発現亢進.

2. EBV 関連悪性腫瘍における潜伏感染タンパク発現

ヒト B 細胞に *in vitro* で EBV を感染させると B 細胞が不死化し, それを免疫不全マウスに移植すると腫瘍を形成することから, EBV の造腫瘍性は明らかである⁸⁾. しかし, 実際のヒト体内での造腫瘍性に関しては, 疾患ごとに発現するウイルスタンパクが異なり, EBV の関わり方もさまざままで, 単純ではない. EBV が関連する悪性腫瘍では EBV は潜伏感染しており, EBV がコードするタンパクのうち, ごく限られた遺伝子のみが発現している. EBV 関連腫瘍は EBV 遺伝子の発現様式により, 古くから 3 つのパターン (latency I-III) に分類されている (表 1)⁹⁾. それぞれの EBV 潜伏感染タンパクの現在分かっている代表的な機能を表 2 に示す.

Latency I のバーキットリンパ腫では EBNA1 と EBER しか発現しない. バーキットリンパ腫での主要な病因は c-myc の転座に伴う細胞周期の制御不全であり, 腫瘍細胞の増殖そのものに EBV は必要ない. しかし, EBV が脱落したバーキットリンパ腫細胞株に EBV を再感染させると増殖能が亢進することから, EBV はバーキットリンパ腫細胞

の増殖を促進する働きがある¹⁰⁾. この際に重要な役割をはたすのが後述の EBER と EBNA1 と考えられる. EBNA1 はウイルス DNA を感染細胞の染色体に結合させ, 分裂時には娘細胞にウイルス DNA を引き継ぐ際に重要な働きを示す¹¹⁾. しかし, 近年, dominant negative EBNA1 を導入するとアポトーシスを誘導できることが示され, EBNA1 そのものが腫瘍形成と関連する可能性が指摘されている¹²⁾. Latency III の日和見リンパ腫ではすべての EBV 潜伏感染遺伝子の発現が認められる. そのなかでも, 腫瘍化に重要なのは LMP-1 と EBNA2 である. LMP1 は哺乳類細胞を単独で形質転換する機能を持つ, 明らかな癌タンパクである¹³⁾. 転写活性化因子である EBNA2 は LMP-1 の発現を促進する^{14, 15)}. Latency II のホジキンリンパ腫や鼻咽頭癌では LMP-1 と EBER は発現しているものの, 他の潜伏感染タンパクの発現は抑えられていることから, LMP-1 と EBER による作用により細胞増殖が継続されているようだ.

3. EBER

EBV-encoded small RNA (EBER) はタンパクをコード

表 3 KSHV が検出された疾患

KSHV が常に検出され原因ウイルスと考えられている疾患	カポジ肉腫 (すべての病型), primary effusion lymphoma (KSHV 関連固形リンパ腫を含む)
KSHV が一部の症例で検出され, KSHV 陽性例では KSHV が疾患の原因に関連すると考えられている疾患	Multicentric Castleman's disease (POEMS (polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, M protein, skin changes) syndrome を含む), 初感染時の熱性斑点状丘疹 febrile maculopapular skin rash, hemophagocytic syndrome
KSHV が検出された報告はあるが, 現在では関連が否定的である疾患	多発性骨髄腫, 原発性肺高血圧症, ボーエン病, 扁平上皮癌, Paget 病, actinic keratosis など.

しない 170b 程度の EBV の小転写物で, EBER1 と EBER2 の 2 つがある¹⁶⁻¹⁸⁾. すべての EBV 感染細胞の核に豊富に発現しており, EBER を検出する in situ hybridization は, 病理組織における EBV 感染細胞を同定する最も感度のよい方法である¹⁹⁾. EBER はこの数年, 北大高田グループにより精力的に解析され, その役割が明らかにされつつある. EBER の役割の一つは造腫瘍性に関するものであり, EBER 欠損ウイルスでは B 細胞を不死化させる効率が低下すること, EBV 陰性 Akata 細胞に EBER を高発現させるとソフトアガーでの増殖能を獲得し, SCID マウスでの造腫瘍性が促進されることなどが示されている²⁰⁻²²⁾. EBER の発現と IL-10 の発現はパラレルに動き, IL-10 はバーキットリンパ腫細胞の増殖にオートクラインに働く²³⁾. EBER による IL-10 誘導の機構は, EBER が RIG-I に認識され, IRF-3 の活性化を誘導することと関連しているようだ^{24, 25)}. EBER は RIG-I との結合を通して, 同時に NF- κ B も活性化し, I 型 IFN の発現を誘導するが, 一方で EBER は IFN シグナルの下流である PKR に結合し, その活性を阻害することで IFN に対する抵抗性を獲得する. これらの結果は EBER が EBV 関連悪性腫瘍の病態において, きわめて重要な役割を担っていることを示している. さらに, EBV の急性感染症においても EBER は重要である. EBER は伝染性単核球症や慢性活動性 EBV 感染症などの患者血清中に検出され, TLR3 により認識されることで, 様々なサイトカインを誘導する²⁶⁾. つまり, これらの患者における異常なサイトカイン誘導の原因が EBER である可能性が示されている.

4. マイクロ RNA

マイクロ RNA (micro RNA, miRNA) は約 20 mer の小さな RNA 断片で, 60 mer 程度の未成熟 miRNA から dicer で切り出され, 20 mer の成熟型 miRNA となる²⁷⁻²⁹⁾. miRNA の働きは mRNA の翻訳阻害や標的 mRNA の分解を通して, 転写後調節を行うとされる. mRNA の 3' 側の非転写領域を標的とすることが多く, 標的遺伝子配列が短いことから, 一つの miRNA には複数の標的 mRNA が存在する. EBV は

BamHI A 断片の BART といわれる領域に mir-BART1 から mir-BART22 の約 20 の miRNA をコードするクラスター領域を持っており, さらに BHRF1 領域にも 3 個の miRNA をコードする³⁰⁾. 変異体まで含めると, 約 40 個の成熟 miRNA をコードしていることになる. Lymphoblastoid cell line (LCL) やバーキットリンパ腫の細胞株ではすべての miRNA が発現しているが, その発現量は細胞株ごとに大きく異なり, 一方で, 鼻咽頭癌のサンプルでは mir-BHRF1 のクラスターの miRNA は全く発現していない^{31, 32)}. それぞれの miRNA の機能については余りまだ解析が進んでいないが, mir-BART2 が EBV の DNA polymerase である BALF5 を標的とし, EBV の潜伏感染維持に寄与していること, mir-BART のいくつかは LMP-1 の発現を抑制していることなどが示されている^{33, 34)}. Latency と絡んで, miRNA がどのような働きをしているかが, 今後の研究課題であろう.

5. エピジェネティック異常と疾患

EBV 関連腫瘍のうち, 胃癌, 鼻咽頭癌, ホジキンリンパ腫などでは, p14^{ARF}, p16^{INK4A}, E-cadherin, p73 のような癌抑制遺伝子のプロモーター領域に多くのメチル化が検出されている³⁵⁻³⁸⁾. これにより, 癌抑制遺伝子の発現が抑制されることがこれらの腫瘍の発症メカニズムに重要と考えられる. EBV 陽性胃癌では, EBV 陰性の胃癌や周辺組織と比べるとメチル化の頻度が有意に高く, メチル化が EBV 感染により誘発されているのは明らかである^{35, 38, 39)}. 癌における de novo の DNA メチル化には宿主の DNMT1 が重要な役割を果たしていることが知られているが, EBV 関連の鼻咽頭癌では LMP-1 が胃癌では LMP-2A がそれぞれ, DNMT1 の発現を亢進し, DNA のメチル化を誘導している点が示されている^{40, 41)}.

B. カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV)

1. 疫学と関連疾患

カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (Kaposi's sarcoma-

associated herpesvirus, KSHV, ヒトヘルペスウイルス 8, human herpesvirus 8, HHV-8ともいわれる)はエイズに合併したカポジ肉腫から発見された最も新しいヒトヘルペスウイルスである^{42, 43}). KSHVの日本人健常者における抗体保有率は1%程度であり, 他のヒトヘルペスウイルスと異なり感染率は低い^{44, 45}). KSHVが感染したヒトは必ずカポジ肉腫を発症するわけではなく, エイズなどの免疫不全者にカポジ肉腫は発症する. KSHVはすべてのカポジ肉腫症例から検出されることから, カポジ肉腫との関連は疑いがない. これまで, KSHVはカポジ肉腫以外にも様々な疾患から検出されてきたが, 疾患との関連が明らかになったのはカポジ肉腫, primary effusion lymphoma (PEL)や一部の multicentric Castleman's disease (MCD)などに限られる(表3)⁴³). 昨今, 日本ではカポジ肉腫患者が増加している⁴⁶). カポジ肉腫はエイズ患者では男性同性愛者にはほぼ限定して発症することから, KSHVは男性同性愛者の間に広く感染していることが推察される⁴⁷⁻⁵⁰). この数年, 日本の新規 HIV 感染者の約7割が同性間の性交渉による感染である(厚生労働省エイズ動向委員会). これらの事実を勘案すると, 本邦でカポジ肉腫が増加しているのは, 男性同性愛のエイズ患者が増加していることに起因しており, カポジ肉腫症例はさらに増加していくことが見込まれる.

2. KSHV 感染の分子メカニズム

この数年で KSHV の感染の分子メカニズムが急速に明らかにされつつある⁵¹). KSHV の細胞への吸着はエンベロープの糖タンパク質である K8.1A や gB が細胞表面のヘパラン硫酸と結合することで起こり, ヘパラン硫酸は attachment receptor の役割を果たす⁵²⁻⁵⁴). 吸着に成功したウイルスの gB が KSHV の entry receptor の一つである integrin $\alpha 3 \beta 1$ (CD 49c/29) に特異的に結合し, ウイルスのエンベロープと宿主細胞の細胞膜の膜融合が開始する⁵⁵). 接着細胞においては細胞内輸送タンパクである CD98-xCT が integrin $\beta 1$ の近傍に存在し, やはり KSHV のレセプターとして働く⁵⁶). また, KSHV の樹状細胞におけるレセプターとして DC-SIGN (CD209) が同定されているが⁵⁷), in vivo で樹状細胞に対する感染はまれである. これらのレセプター分子はいずれも細胞膜表面の lipid raft 上に存在し, KSHV との結合により下流にある Src, PI3-K, Rho-GTPase, Dia-2 などのシグナル伝達分子を活性化する⁵⁸). レセプター分子と結合した KSHV は膜融合後に, ウイルスカプシドを含むエンドゾームが形成され, 同時に, 微小管形成が促進される. エンドゾームに取り込まれた KSHV カプシドは微小管まで運ばれ, ここで Rho-GTPase により活性化された PKC ζ と MEK により, 細胞質内へ放出される. 放出されたカプシドはダイニンモータータンパクによって微小管に沿って核内へ輸送される⁵⁹). さらに Rho-

GTPase により活性化された PKC ζ と MEK は核内の ERK1/2 をリン酸化し, 結果, NF- κ B の構成的活性化を誘導し, ウイルス遺伝子の発現を誘導する⁶⁰).

3. ウイルスの増殖と遺伝子発現

核内に入った KSHV には他のヘルペスウイルスと同様, lytic (溶解性感染, または増殖感染) と latent (潜伏感染) の2つの感染状態がある. KSHV は潜伏感染が優位であり, KSHV を感染させた感染細胞はほとんど溶解感染を示すことなく潜伏感染に移行する⁶¹). カポジ肉腫や PEL などの発症部位でも溶解感染細胞はまれで, ほとんどの細胞は KSHV の潜伏感染状態にある⁶²). しかし, 近年の PEL 細胞を解析した研究からは, PEL 細胞のある一定の割合の細胞が常に溶解性感染の状態にあり, そこからごく少量の溶解性感染タンパクが発現することで周囲の微小環境を整え, 感染細胞が増殖しやすい環境を作っていることが推察されている⁶³).

(1) 潜伏感染遺伝子

KSHV の潜伏感染遺伝子は, latency-associated nuclear antigen 1 (ORF73, LANA-1), v-cyclin (ORF72), viral FLICE-inhibitory protein (K13, v-FLIP), Kaposin (K12), LANA-2 などに限られる(表4). これらの遺伝子は KSHV の K12 から ORF73 がコードされる領域, 及び, K10.5 (LANA2) から転写される産物であり, さらに ORF71 から ORF73 は同じプロモーター (LANA promoter) から転写される⁶⁴). Kaposin は K12 領域にコードされ, LANA promoter に加え, 独自のプロモーターから転写される⁶⁵). LANA-1 は潜伏感染タンパクの中でも最も重要で, 発現量の高いタンパクである. LANA-1 はカポジ肉腫, PEL を含む KSHV 感染細胞には必ず検出される⁶²). LANA-1 は単独では完全な形質転換能は持っていないものの, 表3に示すような多彩な機能を発揮することで, 宿主細胞を最終的に癌化の方向に向かわせる多機能タンパクであると考えられている. Kaposin は K12 にコードされるタンパク群で, ひとつの mRNA から翻訳開始点の異なる少なくとも3つタンパク (Kaposin A, B, C) が翻訳される⁶⁶). KSHV の他の潜伏感染タンパクである viral cyclin (v-cyclin), v-FLIP, LANA-2 は LANA-1 と異なり, カポジ肉腫でつねに高発現が証明されているタンパクではない点に注意が必要である.

(2) 溶解性感染遺伝子

KSHV がコードする約90の遺伝子のうち, 前項で挙げた潜伏感染遺伝子以外はすべて溶解性感染で発現する遺伝子である(表4). したがって, 溶解性感染遺伝子は種類も多く, 機能も様々であるが, いずれもカポジ肉腫や PEL ではまれな発現しか見られない⁶²). KSHV では ORF50 (RTA; regulator of transcription activation) が immediate early protein として, latent から lytic への switching protein の役割を持っている⁶⁷). ORF50 は K8 (K-bZIP) を

表 4 KSHV の主要なタンパク

遺伝子名	発現時期	特徴, 機能
LANA-1	latent	KSHV 感染細胞で常に検出される. KSHV エピゾームを核内染色体につなぎ止め, 有糸分裂の際のウイルスゲノムの保持と複製に必要. p53 と結合し, p53 依存性のアポトーシスを阻害 Rb と結合し, Rb-E2F の経路を阻害 GSK-3 β と結合し, β -catenin の細胞質内過剰貯留を誘導
LANA -2	latent	PEL のみで発現. IRF のホモログ. p53 の細胞死を阻害.
Kaposin	latent	Kaposin A : 形質転換? Kaposin B, C : MAP kinase-associated protein kinase 2 (MK2) のアダプタータンパクとして, サイトカイン遺伝子の発現誘導に関与
v-cyclin	latent	cyclinD1 のホモログ. P27Kip1 を抑制, 細胞を S 期に誘導.
v-FLIP	latent	抗アポトーシス
ORF50 (RTA)	Lytic (IE)	Lytic switch protein, 転写活性化因子
K1	lytic	形質転換能
K8	Lytic (early)	転写活性化因子
K3, K5	Lytic (IE/early)	MHC クラス I の発現抑制
vIL-6	Lytic (early)	VEGF の発現を誘導 Stat3 の恒常的活性化を誘導 IFN- α の抗ウイルス作用を阻害
vIRF-1	Lytic (early)	IFN シグナルの抑制. 形質転換能あり?
vMIPs,	Lytic (early)	K4/4.1(vMIP-II, III), K6(vMIP-I) にコードされる. ケモカイン受容体に結合し血管新生
vBcl-2,	Lytic (early)	アポトーシスを阻害
vGPCR	Lytic (early)	形質転換能. IL-8 と結合, VEGF の誘導
K15	Lytic	TRAF と結合し NF-kB の活性化

誘導し, K8 がさらに他のウイルス遺伝子の転写活性化因子として働く. early 転写産物はウイルス DNA 合成に先立って転写される⁶⁸⁾. 溶解性感染関連タンパクのうち, viral interleukin 6 (vIL-6), vBcl-2, viral Interferon regulatory factor 1 (vIRF-1), vMIP-I, II, vGPCR などはヒト遺伝子のホモログであり, その翻訳産物は, 宿主本来の分子の機能を阻害することにより免疫回避機構, 発癌機構に関与する. こうした働きはウイルス分子が宿主分子の本来の機能を乗っ取ってしまうことに喩え, 分子海賊行為 (molecular piracy) といわれる.

4. KSHV 関連疾患の病因メカニズム

KSHV 関連疾患であるカポジ肉腫, PEL, MCD の間で, KSHV 感染との関わり方は異なる. KSHV の生体内でのリザーバーは B 細胞であり, カポジ肉腫の発症には KSHV が B 細胞から血管内皮細胞に感染することが必要である. KSHV に感染した血管内皮細胞では細胞側の遺伝子発現の reprogramming が起こり, 血管内皮細胞のマーカーである Factor VIII-related antigen の発現が抑制され, それに代わり, リンパ管内皮のマーカーである Podoplanin が高発現する⁶⁹⁾. その後, 血管内皮細胞は KSHV により形質転換

を起こし, 増殖をはじめ, すべての細胞で LANA-1 を発現する. この状態が初期のカポジ肉腫である. 溶解性感染関連タンパクの発現はごくまれで, 1% 以下の細胞にみとめられるにすぎない⁶²⁾. PEL はリザーバーである B 細胞が KSHV により腫瘍化したものと考えられるが, KSHV の B 細胞への感染には B 細胞の分化が深く関係する. すなわち, PEL 細胞の由来は CD138 陽性の post germinal center B cell であり, その他の分化段階の B 細胞に KSHV が感染した報告はない⁷⁰⁾. PEL 細胞にも LANA-1 の発現が必ず認められ, 同時に, 溶解性感染タンパクである vIL-6 の発現がカポジ肉腫より高頻度に見られる. 一方で, MCD では潜伏感染タンパク以外にも多くの溶解性感染タンパクの発現が認められる^{62, 71)}. MCD は KSHV の急性感染症ともいえる疾患であり, vIL-6 が高発現することが疾患の成立に重要である.

5. マイクロ RNA

KSHV では K12 領域に変異体を含めると 17 種類の miRNA がコードされている⁶⁵⁾. PEL 細胞株を対象に high through put のシークエンサーを用いた研究では miR-K4 が検出されたウイルス miRNA の約 8 割を占め, KSHV

miRNAには特に3'側に多くのvariationが見られたことが報告されている⁷²⁾。KSHV miRNAの標的分子に関して、これまでにすでに多くの報告がある。主なものではBCL2と関連するBCLAF1(miR-K5)、抗腫瘍因子であるTHBS1、NF- κ Bの抑制因子であるIkB α (miR-K1)などがあり、腫瘍の抑制因子や抗アポトーシス因子、ウイルスの複製を抑えるような分子を標的としている報告が多い⁷³⁻⁷⁵⁾。

6. 動物モデルとワクチン

KSHVはヒト以外にはほとんど感染せず、マウスやラットなどの小動物では免疫反応は起こるものの、持続感染には至らない。サルですら持続感染に至った報告はなく、KSHVの動物モデルの作製は困難と考えられていた。しかし、最近になって、マーマセットを使った感染実験系が報告され、最初の感染動物モデルとして注目されている⁷⁶⁾。KSHVを感染させると抗体価が上がるばかりでなく、潜伏感染が成立し、一部の接種動物にはカポジ肉腫に近似した疾患ができたという。これまでのところKSHVに対するワクチンの開発はされていないが、マウスへの接種実験では血清中の抗体価が上がり、接種マウスの血清はin vitroでの感染をブロックできる⁷⁷⁾。今後、動物実験系を用いたワクチン開発へ進展することが期待される。

終わりに

EBVとKSHVはともに100kbpを超え、ヒト発癌ウイルスの中では、そのサイズの上で、最も大きなものに分類されるであろう。コードしているタンパクはそれぞれで数十を超え、疾患ごとに発現タンパクが異なることで、その発癌機構は複雑を極め、解明は容易ではない。ウイルス分離などの旧来のウイルス学的手法が通じないこれら2つのウイルスに対して、近年の強力な分子生物学的手法が次々と新しい事実を明らかにしていく様は、謎のベールが一枚ずつ剥がされていくような感がある。ワクチン開発などの予防法の開発にはほど遠いが、現在進行している分子生物学的解析が将来の有効な予防法や治療法の開発に結びついていくことを期待したい。

引用文献

- 1) Epstein MA, Achong BG, Barr YM: Virus Particles in Cultured Lymphoblasts from Burkitt's Lymphoma. *Lancet* 1:702-703, 1964.
- 2) Kieff ED, Rickinson AB: Epstein-Barr virus and its replication, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
- 3) Rickinson AB, Kieff ED: Epstein-Barr virus, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
- 4) Takeuchi K, Tanaka-Taya K, Kazuyama Y, Ito YM, Hashimoto S, Fukayama M, Mori S: Prevalence of Epstein-Barr virus in Japan: trends and future prediction. *Pathol Int* 56:112-116, 2006.

- 5) Kimura H, Hoshino Y, Kanegane H, Tsuge I, Okamura T, Kawa K, Morishima T: Clinical and virologic characteristics of chronic active Epstein-Barr virus infection. *Blood* 98:280-286, 2001.
- 6) Yajima M, Imadome K, Nakagawa A, Watanabe S, Terashima K, Nakamura H, Ito M, Shimizu N, Honda M, Yamamoto N, Fujiwara S: A new humanized mouse model of Epstein-Barr virus infection that reproduces persistent infection, lymphoproliferative disorder, and cell-mediated and humoral immune responses. *J Infect Dis* 198:673-682, 2008.
- 7) Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW: WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC), 2008.
- 8) Katamine S, Otsu M, Tada K, Tsuchiya S, Sato T, Ishida N, Honjo T, Ono Y: Epstein-Barr virus transforms precursor B cells even before immunoglobulin gene rearrangements. *Nature* 309:369-372, 1984.
- 9) Rowe M, Lear AL, Croom-Carter D, Davies AH, Rickinson AB: Three pathways of Epstein-Barr virus gene activation from EBNA1-positive latency in B lymphocytes. *J Virol* 66:122-131, 1992.
- 10) Shimizu N, Tanabe-Tochikura A, Kuroiwa Y, Takada K: Isolation of Epstein-Barr virus (EBV)-negative cell clones from the EBV-positive Burkitt's lymphoma (BL) line Akata: malignant phenotypes of BL cells are dependent on EBV. *J Virol* 68:6069-6073, 1994.
- 11) Rawlins DR, Milman G, Hayward SD, Hayward GS: Sequence-specific DNA binding of the Epstein-Barr virus nuclear antigen (EBNA-1) to clustered sites in the plasmid maintenance region. *Cell* 42:859-868, 1985.
- 12) 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.
- 13) Mosialos G, Birkenbach M, Yalamanchili R, VanArsdale T, Ware C, Kieff E: The Epstein-Barr virus transforming protein LMP1 engages signaling proteins for the tumor necrosis factor receptor family. *Cell* 80:389-399, 1995.
- 14) 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 U S A* 86:9558-9562, 1989.
- 15) Grossman SR, Johannsen E, Tong X, Yalamanchili R, Kieff E: The Epstein-Barr virus nuclear antigen 2 transactivator is directed to response elements by the J kappa recombination signal binding protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91:7568-7572, 1994.
- 16) Arrand JR, Rymo L: Characterization of the major Epstein-Barr virus-specific RNA in Burkitt lymphoma-derived cells. *J Virol* 41:376-389, 1982.
- 17) Howe JG, Shu MD: Epstein-Barr virus small RNA (EBER) genes: unique transcription units that combine RNA polymerase II and III promoter elements. *Cell* 57:825-834, 1989.
- 18) Lerner MR, Andrews NC, Miller G, Steitz JA: Two small RNAs encoded by Epstein-Barr virus and com-

- plexed with protein are precipitated by antibodies from patients with systemic lupus erythematosus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 78:805-809, 1981.
- 19) Randhawa PS, Jaffe R, Demetris AJ, Nalesnik M, Starzl TE, Chen YY, Weiss LM: Expression of Epstein-Barr virus-encoded small RNA (by the EBER-1 gene) in liver specimens from transplant recipients with post-transplantation lymphoproliferative disease. *N Engl J Med* 327:1710-1714, 1992.
 - 20) 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.
 - 21) Komano J, Maruo S, Kurozumi 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.
 - 22) Yamamoto N, Takizawa T, Iwanaga Y, Shimizu N: Malignant transformation of B lymphoma cell line BJAB by Epstein-Barr virus-encoded small RNAs. *FEBS Lett* 484:153-158, 2000.
 - 23) 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.
 - 24) 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.
 - 25) Samanta M, Iwakiri D, Takada K: Epstein-Barr virus-encoded small RNA induces IL-10 through RIG-I-mediated IRF-3 signaling. *Oncogene* 27:4150-4160, 2008.
 - 26) Iwakiri D, Zhou L, Samanta M, Matsumoto M, Ebihara T, Seya T, Imai S, Fujieda M, Kawa K, Takada K: Epstein-Barr virus (EBV)-encoded small RNA is released from EBV-infected cells and activates signaling from Toll-like receptor 3. *J Exp Med* 206:2091-2099, 2009.
 - 27) Ambros V: The functions of animal microRNAs. *Nature* 431:350-355, 2004.
 - 28) Bartel DP: MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 116:281-297, 2004.
 - 29) Rana TM: Illuminating the silence: understanding the structure and function of small RNAs. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8:23-36, 2007.
 - 30) Pfeffer S, Zavolan M, Grasser FA, Chien M, Russo JJ, Ju J, John B, Enright AJ, Marks D, Sander C, Tuschl T: Identification of virus-encoded microRNAs. *Science* 304:734-736, 2004.
 - 31) Cosmopoulos K, Pegtel M, Hawkins J, Moffett H, Novina C, Middeldorp J, Thorley-Lawson DA: Comprehensive profiling of Epstein-Barr virus microRNAs in nasopharyngeal carcinoma. *J Virol* 83:2357-2367, 2009.
 - 32) Pratt ZL, Kuzembayeva M, Sengupta S, Sugden B: The microRNAs of Epstein-Barr Virus are expressed at dramatically differing levels among cell lines. *Virology* 386:387-397, 2009.
 - 33) Barth S, Pfuhl T, Mamiani A, Ehse C, Roemer K, Kremmer E, Jaker C, Hock J, Meister G, Grasser FA: Epstein-Barr virus-encoded microRNA miR-BART2 down-regulates the viral DNA polymerase BALF5. *Nucleic Acids Res* 36:666-675, 2008.
 - 34) Lo AK, To KF, Lo KW, Lung RW, Hui JW, Liao G, Hayward SD: Modulation of LMP1 protein expression by EBV-encoded microRNAs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:16164-16169, 2007.
 - 35) Chang MS, Uozaki H, Chong JM, Ushiku T, Sakuma K, Ishikawa S, Hino R, Barua RR, Iwasaki Y, Arai K, Fujii H, Nagai H, Fukayama M: CpG island methylation status in gastric carcinoma with and without infection of Epstein-Barr virus. *Clin Cancer Res* 12:2995-3002, 2006.
 - 36) Kwong J, Lo KW, To KF, Teo PM, Johnson PJ, Huang DP: Promoter hypermethylation of multiple genes in nasopharyngeal carcinoma. *Clin Cancer Res* 8:131-137, 2002.
 - 37) Garcia MJ, Martinez-Delgado B, Cebrian A, Martinez A, Benitez J, Rivas C: Different incidence and pattern of p15INK4b and p16INK4a promoter region hypermethylation in Hodgkin's and CD30-Positive non-Hodgkin's lymphomas. *Am J Pathol* 161:1007-1013, 2002.
 - 38) Chong JM, Sakuma K, Sudo M, Ushiku T, Uozaki H, Shibahara J, Nagai H, Funata N, Taniguchi H, Aburatani H, Fukayama M: Global and non-random CpG-island methylation in gastric carcinoma associated with Epstein-Barr virus. *Cancer Sci* 94:76-80, 2003.
 - 39) Fukayama M: Epstein-Barr virus and gastric carcinoma. *Pathol Int* 60:337-350, 2010.
 - 40) Tsai CL, Li HP, Lu YJ, Hsueh C, Liang Y, Chen CL, Tsao SW, Tse KP, Yu JS, Chang YS: Activation of DNA methyltransferase 1 by EBV LMP1 Involves c-Jun NH(2)-terminal kinase signaling. *Cancer Res* 66:11668-11676, 2006.
 - 41) Hino R, Uozaki H, Murakami N, Ushiku T, Shinozaki A, Ishikawa S, Morikawa T, Nakaya T, Sakatani T, Takada K, Fukayama M: Activation of DNA methyltransferase 1 by EBV latent membrane protein 2A leads to promoter hypermethylation of PTEN gene in gastric carcinoma. *Cancer Res* 69:2766-2774, 2009.
 - 42) Chang Y, Cesarman E, Pessin MS, Lee F, Culpepper J, Knowles DM, Moore PS: Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *Science* 266:1865-1869, 1994.
 - 43) Ganem D: Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *Fields Virology*, 5th ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007.
 - 44) Fujii T, Taguchi H, Katano H, Mori S, Nakamura T, Nojiri N, Nakajima K, Tadokoro K, Juji T, Iwamoto A: Seroprevalence of human herpesvirus 8 in human immunodeficiency virus 1-positive and human immunodeficiency virus 1-negative populations in Japan. *J Med Virol* 57:159-162, 1999.
 - 45) Katano H, Iwasaki T, Baba N, Terai M, Mori S, Iwamoto A, Kurata T, Sata T: Identification of antigenic proteins encoded by human herpesvirus 8 and

- seroprevalence in the general population and among patients with and without Kaposi's sarcoma. *J Virol* 74:3478-3485, 2000.
- 46) 安岡彰, 照屋勝治: 日本における AIDS 指標疾患の動向. 平成 21 年度 厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業 「日和見感染症の診断/治療およびそれを端緒とする HIV 感染者の早期発見に関する研究」報告書:16-31, 2010.
 - 47) Antman K, Chang Y: Kaposi's sarcoma. *N Engl J Med* 342:1027-1038, 2000.
 - 48) Engels EA, Atkinson JO, Graubard BI, McQuillan GM, Gamache C, Mbisa G, Cohn S, Whitby D, Goedert JJ: Risk factors for human herpesvirus 8 infection among adults in the United States and evidence for sexual transmission. *J Infect Dis* 196:199-207, 2007.
 - 49) Casper C, Wald A, Pauk J, Tabet SR, Corey L, Celum CL: Correlates of prevalent and incident Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection in men who have sex with men. *J Infect Dis* 185:990-993, 2002.
 - 50) Smith NA, Sabin CA, Gopal R, Bourbouliou D, Labbet W, Boshoff C, Barlow D, Band B, Peters BS, de Ruiter A, Brown DW, Weiss RA, Best JM, Whitby D: Serologic evidence of human herpesvirus 8 transmission by homosexual but not heterosexual sex. *J Infect Dis* 180:600-606, 1999.
 - 51) Chandran B: Early events in Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection of target cells. *J Virol* 84:2188-2199, 2010.
 - 52) Akula SM, Pramod NP, Wang FZ, Chandran B: Human herpesvirus 8 envelope-associated glycoprotein B interacts with heparan sulfate-like moieties. *Virology* 284:235-249, 2001.
 - 53) Birkmann A, Mahr K, Ensser A, Yaguboglu S, Titgemeyer F, Fleckenstein B, Neipel F: Cell surface heparan sulfate is a receptor for human herpesvirus 8 and interacts with envelope glycoprotein K8.1. *J Virol* 75:11583-11593, 2001.
 - 54) Wang FZ, Akula SM, Pramod NP, Zeng L, Chandran B: Human herpesvirus 8 envelope glycoprotein K8.1A interaction with the target cells involves heparan sulfate. *J Virol* 75:7517-7527, 2001.
 - 55) Akula SM, Pramod NP, Wang FZ, Chandran B: Integrin alpha3beta1 (CD 49c/29) is a cellular receptor for Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV/HHV-8) entry into the target cells. *Cell* 108:407-419, 2002.
 - 56) Kaleeba JA, Berger EA: Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus fusion-entry receptor: cystine transporter xCT. *Science* 311:1921-1924, 2006.
 - 57) Rappocciolo G, Jenkins FJ, Hensler HR, Piazza P, Jais M, Borowski L, Watkins SC, Rinaldo CR, Jr.: DC-SIGN is a receptor for human herpesvirus 8 on dendritic cells and macrophages. *J Immunol* 176:1741-1749, 2006.
 - 58) Raghu H, Sharma-Walia N, Veettil MV, Sadagopan S, Caballero A, Sivakumar R, Varga L, Bottero V, Chandran B: Lipid rafts of primary endothelial cells are essential for Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus/human herpesvirus 8-induced phosphatidylinositol 3-kinase and RhoA-GTPases critical for microtubule dynamics and nuclear delivery of viral DNA but dispensable for binding and entry. *J Virol* 81:7941-7959, 2007.
 - 59) Naranatt PP, Krishnan HH, Smith MS, Chandran B: Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus modulates microtubule dynamics via RhoA-GTP-dependent signaling and utilizes the dynein motors to deliver its DNA to the nucleus. *J Virol* 79:1191-1206, 2005.
 - 60) Sharma-Walia N, Krishnan HH, Naranatt PP, Zeng L, Smith MS, Chandran B: ERK1/2 and MEK1/2 induced by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) early during infection of target cells are essential for expression of viral genes and for establishment of infection. *J Virol* 79:10308-10329, 2005.
 - 61) Bechtel JT, Liang Y, Hvidding J, Ganem D: Host range of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in cultured cells. *J Virol* 77:6474-6481, 2003.
 - 62) Katano H, Sato Y, Kurata T, Mori S, Sata T: Expression and localization of human herpesvirus 8-encoded proteins in primary effusion lymphoma, Kaposi's sarcoma, and multicentric Castlemann's disease. *Virology* 269:335-344, 2000.
 - 63) Grundhoff A, Ganem D: Inefficient establishment of KSHV latency suggests an additional role for continued lytic replication in Kaposi sarcoma pathogenesis. *J Clin Invest* 113:124-136, 2004.
 - 64) Dittmer D, Lagunoff M, Renne R, Staskus K, Haase A, Ganem D: A cluster of latently expressed genes in Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *J Virol* 72:8309-8315, 1998.
 - 65) Cai X, Lu S, Zhang Z, Gonzalez CM, Damania B, Cullen BR: Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus expresses an array of viral microRNAs in latently infected cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:5570-5575, 2005.
 - 66) McCormick C, Ganem D: The kaposin B protein of KSHV activates the p38/MK2 pathway and stabilizes cytokine mRNAs. *Science* 307:739-741, 2005.
 - 67) Sun R, Lin SF, Gradoville L, Yuan Y, Zhu F, Miller G: A viral gene that activates lytic cycle expression of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:10866-10871, 1998.
 - 68) West JT, Wood C: The role of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus/human herpesvirus-8 regulator of transcription activation (RTA) in control of gene expression. *Oncogene* 22:5150-5163, 2003.
 - 69) Wang HW, Trotter MW, Lagos D, Bourbouliou D, Henderson S, Makinen T, Elliman S, Flanagan AM, Alitalo K, Boshoff C: Kaposi sarcoma herpesvirus-induced cellular reprogramming contributes to the lymphatic endothelial gene expression in Kaposi sarcoma. *Nat Genet* 36:687-693, 2004.
 - 70) Jenner RG, Maillard K, Cattini N, Weiss RA, Boshoff C, Wooster R, Kellam P: Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-infected primary effusion lymphoma has a plasma cell gene expression profile. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:10399-10404, 2003.

- 71) Dupin N, Fisher C, Kellam P, Ariad S, Tulliez M, Franck N, van Marck E, Salmon D, Gorin I, Escande JP, Weiss RA, Alitalo K, Boshoff C: Distribution of human herpesvirus-8 latently infected cells in Kaposi's sarcoma, multicentric Castleman's disease, and primary effusion lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:4546-4551, 1999.
- 72) Umbach JL, Cullen BR: In-depth analysis of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus microRNA expression provides insights into the mammalian microRNA-processing machinery. *J Virol* 84:695-703, 2010.
- 73) Ziegelbauer JM, Sullivan CS, Ganem D: Tandem array-based expression screens identify host mRNA targets of virus-encoded microRNAs. *Nat Genet* 41:130-134, 2009.
- 74) Samols MA, Skalsky RL, Maldonado AM, Riva A, Lopez MC, Baker HV, Renne R: Identification of cellular genes targeted by KSHV-encoded microRNAs. *PLoS Pathog* 3:e65, 2007.
- 75) Lei X, Bai Z, Ye F, Xie J, Kim CG, Huang Y, Gao SJ: Regulation of NF-kappaB inhibitor IkappaBalpha and viral replication by a KSHV microRNA. *Nat Cell Biol* 12:193-199, 2010.
- 76) Chang H, Wachtman LM, Pearson CB, Lee JS, Lee HR, Lee SH, Vieira J, Mansfield KG, Jung JU: Non-human primate model of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection. *PLoS Pathog* 5:e1000606, 2009.
- 77) Sakamoto K, Asanuma H, Nakamura T, Kanno T, Sata T, Katano H: Immune response to intranasal and intraperitoneal immunization with Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in mice. *Vaccine* 28:3325-3332, 2010.

Epstein-Barr virus (EBV) and Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV, HHV-8)

Harutaka KATANO

Department of Pathology, National Institute of Infectious Diseases
1-23-1 Toyama, Shinjuku, Tokyo 162-8640, Japan.
katano@nih.go.jp

Epstein-Barr virus (EBV) and Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV or human herpesvirus 8, HHV-8) are members of gamma-herpes virus family. Both viruses infect to B cells and cause malignancies such as lymphoma. Since EBV and HHV-8 are so-called 'oncovirus', their oncogenecities have been focused in the researches on EBV and KSHV for a long time. EBV was discovered in 1964, whereas KSHV was identified in 1994. However, KSHV was analyzed rapidly in these fifteen years. One of the recent progresses in the research on EBV and KSHV is that virus-encoded small RNAs were identified in their genomes and characterized. EBV is the first human virus in whose genome microRNA was identified. The oncogenecity of EBV and KSHV remains unclear. Here, I discuss the pathogenesis by EBV and KSHV with special reference to recent progress in this field.

