

## 論文内容の要旨

### Serological and molecular study of peripheral T/NK-cell proliferative disease/lymphoma in Thailand

(タイにおける末梢 T/NK 細胞増殖症／リンパ腫に関する  
血清学的・分子生物学的研究)

高雄 さとみ

非ホジキンリンパ腫の 12%を占める成熟 T および NK 細胞腫瘍は一般にアジア系、または遺伝的にアジア系と近い人類集団に多くみられる。タイにおける 2000 年の新規登録がん患者は 3,613 人で、そのうちリンパ腫患者の割合は男性で 4.7%、女性で 2.5%であった。今日までにタイ南部を中心に多くの T 細胞疾患/リンパ腫患者が見つかり、原因不明の本疾患は末梢 T/NK 細胞増殖症/リンパ腫 (PTPD/L) という名称で分類された。PTPD/L の患者は、様々な臨床症状を呈し、多様な病理学的所見および結果を示す。その多くは進行が早く予後不良であり、多臓器にわたる腫瘍細胞の浸潤が顕著である。これまでに、これら腫瘍細胞の一部で Epstein-Barr ウイルス (EBV) 転写 RNA (EBERs) が発現していることがわかった。

EBV は 1964 年に発見された $\gamma$ -ヘルペスウイルスの一種で、そのウイルスキャリアは世界に広く分布している。このウイルスは B 細胞親和性を示し、細胞を不死化することができる。EBV の感染は、伝染性単核症やバーキットリンパ腫、上咽頭がん、胃がん、ホジキン病、移植後リンパ増殖性疾患、エイズ関連リンパ腫などで確認されている。これまで B 細胞親和性ウイルスとして知られていた EBV が近年、慢性活動性 EBV 感染症を含む T 細胞や NK 細胞の致命的なリンパ組織増殖性疾患、鼻腔の節外性 NK/T 細胞リンパ腫や NK 細胞白血病とも密接に関連することがわかってきた。

本研究の目的は、PTPD/Lにおける臨床病理学的、免疫学的な側面を明らかにし、疾病を特徴づけることにある。EBVの状態と患者の宿主免疫状態を解明するために血清学的・分子生物学的分析をおこなった。タイ国ソクラ県におけるPTPD/L患者172人を本研究の対象とし、対照群にはソクラ県在住の健康な123人を充てた。診断は病理組織学的検査によってなされ、悪性T細胞リンパ腫の分類は主にWHO分類法に従った。

血清学的には、疾病の指標となる抗EA-IgG抗体および抗VCA-IgG抗体の抗体価がPTPD/L患者で有意に高かった ( $P = 0.002$ ,  $P < 0.001$ )。患者139人のうち93人(66.9%)で末梢T細胞にEBVゲノムが確認され、悪性病変部位における浸潤T細胞については検査した22検体すべてがEBERs陽性であった。このように、PTPD/Lの患者でEBV感染T細胞が高頻度に検出されたことは本研究の注目すべき結果の1つであり、EBVがPTPD/Lの発生に重要な役割を果たしていることが示唆された。本疾患では複数の臓器が同時に侵されている症例が多く、このことにEBV感染末梢T細胞が関与しているのではないかと推察される。PTPD/LにおいてEBVはI型(54.5%)およびII型(45.5%)の潜伏感染を示したが、II型に関してはLMP1の発現が弱いタイプだったのでI/II型と決定した。

B細胞親和性のEBVがどのようにしてT細胞に感染するのかは先行研究でもまだはっきりとは解明されていない。CD21はEBVがB細胞に感染する際のレセプターであるが、これがT細胞でも発現していることがある。しかし、PTPD/L患者数例のT細胞ではCD21の発現は検出できなかった。また、EBVはCD21以外にウイルス糖タンパクgp42とHLA-DRとの結合によりB細胞に感染することができる。本研究では、フローサイトメトリー法による細胞表面抗原の解析からPTPD/L患者の末梢T細胞がHLA-DR陽性で、それらの細胞がDNA1 $\mu$ gあたり5,806~1,355,582 copiesのウイルスゲノムを含有することが明らかになった。このことから、T細胞に発現するHLA-DRがEBVのT細胞感染において何らかの働きをする可能性が考えられた。

血液学者および病理学者にとって、T細胞リンパ腫の分類は長年の課題であり難問である。PTPD/Lの診断も臨床症状と病理組織学的な所見に基づいており、明確な診断基準は確立されていなかった。そこで、本疾患にEBV感染が深く関係していることがわかったので、診断と予後の予測を目的として患者血漿中でのEBV DNAの検索をおこなった。血漿中のウイルスDNAの頻度はPTPD/L患者( $n = 23$ )と対照群( $n = 22$ )においてそれぞれ100.0%と0.0%で、検出されたEBV DNAの多く(87.0%)はウイルス粒子由来であり、患者血漿中のEBV DNAが主にウイルスタンパク質の殻に覆われた状態で存在することが示唆された。血漿中のウイルス粒子と患者の予後との間に関連はみられなかったものの、簡便なこの血漿ウイルスDNA検査は、全か無かの結果が迅速に出せる上に患者への負担も少なく、PTPD/Lの今後の診断の一助となることが期待される。次に、T細胞にウイルス感染が確認された患者(EBV関連PTPD/L (EBV-PTPD/L)) 86人についてEBV DNAの定量分析をおこなったところ、対照群111人と比較して有意に高い値を示し(中央値4906.5 copies/ml, 50~9,144,000 copies/ml) ( $P < 0.001$ )、その上、ウイルスコピー数と予後の重篤さとに相関が見られた。血

漿 EBV DNA の定量分析は、前述の定性分析では不可能だった患者の予後と結果を予測する上で非常に有用であり、より信頼性の高い PTPD/L の指標になると考えられる。また、血漿 EBV DNA 量は患者の状態を反映しているため、今後、本疾患の有効な治療法が見つければ治療の効果をモニターすることも可能となるであろう。

EBV-PTPD/L の発生に関わる宿主側の因子を明らかにするため、EBV の BCRF1 領域と高い相同性を示すインターロイキン-10 (IL-10) の血中濃度を調べた。患者 (n = 63) の血中 IL-10 濃度は対照群 (n = 111) と比較して有意に高い値を示し (中央値 52.2 pg/ml、< 5.0 ~ 2998.8 pg/ml) ( $P < 0.001$ )、その上、血中 IL-10 レベルと予後の重篤さとに相関が見られた。また、EBV-PTPD/L 患者の血漿 EBV DNA と血中 IL-10 レベルは正の相関 ( $r_s = 0.360$ 、 $P = 0.004$ ) を示した。血中 IL-10 の測定は、患者の予後と結果を予測する上で非常に有用である。患者と対照群の血中 IL-10 濃度の違いは何に起因するのかを明らかにするために、付加的な実験をおこなって両グループの遺伝的背景を調べた。IL-10 遺伝子プロモーター領域の 3 つの多型 (G-1082A、C-819T、C-592A) は *in vitro* で IL-10 産生量に関与すると言われていたが、EBV-PTPD/L でみられた高い血中 IL-10 濃度に特定の遺伝子型およびハプロタイプは関連していなかった。

PTPD/L において EBV が I 型と I/II 型 (LMP1 の発現が弱い II 型) の潜伏感染を示したことから、EBV がウイルスタンパク質をより低く発現することで細胞障害性 T 細胞による抗原認識からの回避を有利にしていると考えられる。また、最近のマウスモデルでの研究でリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスの持続感染で IL-10 が重要な役割を果たすことが示されたが、患者の血漿 EBV DNA と血中 IL-10 レベルは正の相関を示すという本研究で得られた知見から推察するに、EBV-PTPD/L においてウイルスを排除するような宿主の免疫反応から EBV が逃れる上で高濃度の血中 IL-10 という環境が何らかの働きをしているとも考えられる。今回の実験では IL-10 を測定する際にヒト由来のものとウイルス由来のものを区別していないが、両者が判別できれば、EBV が宿主の免疫監視機構を掻い潜るのにウイルス由来の IL-10 がどの程度寄与しているか明らかになるであろう。

本研究では、PTPD/L という新たな T/NK 細胞疾患について特に EBV の感染という観点から様々な検索をおこない、多くの知見を得ることができた。今後疾病をより詳しく解明するために、患者の遺伝的背景や後天的背景についてのさらなる研究が待たれる。