

- tumor derived small RNAs”, 第75回日本血液学会学術集会、ロイトン札幌、札幌、2013年10月11日(2013年10月11日—10月13日)(口演発表)
- 13) Horie R, Watanabe M, Nakano K, Togano T, Kadin ME, Watanabe T, Higashibara M, “CD30 repression triggers global gene responses and anti-proliferative effects in Hodgkin lymphoma”, 第75回日本血液学会学術集会、ロイトン札幌、札幌、2013年10月12日(2013年10月11日—10月13日)(口演発表)
- 14) 佐藤均, Sanaz Firouzi, 渡邊俊樹, 矢持忠徳、「免疫不全マウスに連続継代移植されたヒト腫瘍細胞の継代5代目における染色体解析」、染色体学会第64回年会、富山大学五福キャンパス、富山、2013年11月8日—11月10日(ポスター発表)
- 15) 渡邊俊樹、「ウイルス複製を有利にするHTLV-1 Rexの新たな機能と宿主細胞への影響」、シンポジウム1 発癌ウイルス、第61回日本ウイルス学会学術集会、神戸国際会議場、神戸、2013年11月10日(2013年11月10日—11月12日)(招待講演)
- 16) 合田史, 片貝栄樹, 伊藤郁朗, 五十嵐恒雄, 渡邊俊樹, 佐藤正通、「第2子妊娠中にHIVに感染し、EFV内服中に第3子を妊娠した一症例」、第27回日本エイズ学会学術集会・総会、市民会館崇城大学ホール、熊本、2013年11月20日—11月22日(ポスター発表)
- 17) 唐澤伸明, 中野和民, 安東友美, 橋爪大明, 横山弘一, 渡邊俊樹、「宿主mRNA品質管理機構(NMD)抑制を司るHTLV-1 Rexの機能ドメインの解析」、第36回日本分子生物学会年会、神戸ポートアイランド、2013年12月5日(2013年12月3日—12月6日)(ポスター発表)
- 18) 渡邊俊樹、「ATL発症と病態の分子基盤解明の試み」、第11回東海リンパ腫フォーラム学術講演会、ホテルキャッスルプラザ、名古屋、2013年4月20日(招待講演)
- 19) 渡邊俊樹、「ATL多段階発癌の分子機構解明へのアプローチ」、第1回ATL疾患検討会、東京コンファレンスセンター・有明、東京、2013年7月13日(招待講演)
- 20) 渡邊俊樹、「診断と治療法開発につながるATLの分子病態解明の試み」、長崎県産婦人科学会地方会、島原、長崎、2013年8月11日(招待講演)
- 21) 渡邊俊樹、「HTLV-1総合対策3年目の現状」、長崎県ATLウイルス母子感染防止に関する講習会、長崎県医師会館、長崎、2013年12月18日(招待講演)
- 22) 小林誠一郎, 渡辺恵理, 石垣知寛, 中野和民, 矢持忠徳, 山岸誠, 浅沼里実, 大野伸広, 湯地晃一郎, 渡辺信和, 東條有伸, 渡邊俊樹, 内丸薫、「HAS-Flow法を用いたHTLV-1キャリア/くすぶり型ATL境界の検討」、第6回HTLV-1研究会・シンポジウム、東京大学医科学研究所、2013年8月25日(2012年8月23日—8月25日)(口演発表)
- 23) 中川翔太, 山岸誠, 藤川大, 中野和民, 宇都宮與, 内丸薫, 渡邊俊樹、「成人T細胞白血病細胞におけるポリコムタンパク質の過剰発現機構の解析」、第6回HTLV-1研究会・シンポジウム、東京大学医科学研究所、2012年8月24日—8月25日(ポスター発表)
- 24) 酒井直規, 山岸誠, 藤川大, 中野和民, 宇都宮與, 内丸薫, 渡邊俊樹、「ATL細胞におけるp38シグナル伝達系の異常とNF- κ B経路への影響」、第6回HTLV-1研究会・シンポジウム、東京大学医科学研究所、2012年8月24日—8月25日(ポスター発表)
- 25) 中川翔太, 山岸誠, 藤川大, 中野和民, 宇都宮與, 内丸薫, 渡邊俊樹、「ATLにおけるEZH2過剰発現の分子メカニズム」、第72回日本癌学会学術総会、パシフィコ横浜、横浜、2013年10月3日(2013年10月3日—10月5日)(ポスター発表)
- 26) 山岸誠, 片野晴隆, 中川翔太, 中野和民, 太田泰徳, 比島恒和, 岡田誠治, 渡邊俊樹、「リンパ腫におけるエピジェネティック依存的なmiRNAの発現異常とシグナル伝達系の活性化」、腫瘍別シンポジウム、第72回日本癌学会学術総会、パシフィコ横浜、横浜、2013年10月4日(2013年10月3日—10月5日)(口演発表)
- 27) 藤川大, 山岸誠, 黒川直也, 副島あい, 石田尚臣, 田中勇悦, 中野和民, 渡邊俊樹、「HTLV-1タンパク質Taxはポリコムタンパク質EZH2との相互作用を介してエピゲノムを攪乱する」第72回日本癌学会学術総会、パシフィコ横浜、横浜、2013年10月4日(2013年10月3日—10月5日)(ポスター発表)
- 28) 中野和民, 宇都宮與, 山口一成, 内丸薫, 渡邊俊樹、「スプライシングとmRNA品質管理機構の二重不全によるATL細胞でのPTC含

有異常転写産物の高発現とその影響」第72回日本癌学会学術総会、パシフィコ横浜、横浜、2013年10月5日（2013年10月3日—10月5日）（ポスター発表）

- 29) Yamagishi M, Katano H, Nakano K, Ota Y, Hishima T, Okada S, Watanabe T, “Coordinated epigenetic regulation of mRNAs activates simultaneous signaling in malignant lymphoma”, 第75回日本血液学会学術集会、ロイトン札幌、札幌、2013年10月11日（2013年10月11日—10月13日）（口演発表）
- 30) Kobayashi S, Watanabe E, Ishigaki T, Ohno N, Yuji K, Nakano K, Yamochi T, Watanabe T, Watanabe N, Tojo A, Uchimaru K, “The CD7 vs CADM1 plot in FACS is useful for selection of advanced HTLV-1 carriers”, 第75回日本血液学会学術集会、ロイトン札幌、札幌、2013年10月11日（2013年10月11日—10月13日）（ポスター発表）
- 31) Ly BTK, Chi HT, Yamagishi M, Kano Y, Hara Y, Nakano K, Sato Y, Watanabe T, “Inhibition of FLT3 expression by green tea catechins in FLT3 mutated-AML cells”, 第75回日本血液学会学術集会、ロイトン札幌、札幌、2013年10月12日（2013年10月11日—10月13日）（ポスター発表）
- 32) Yamagishi M, Fujikawa D, Kurokawa N, Soejima A, Nakagawa S, Nakano K, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Uchimaru K, Watanabe T, “Diverse ways of modulating Polycomb group function and host epigenome in adult T cell leukemia”, 第75回日本血液学会学術集会、ロイトン札幌、札幌、2013年10

月13日（2013年10月11日—10月13日）（口演発表）

- 33) 藤川大、山岸誠、中川翔太、黒川直也、副島あい、中野和民、宇都宮與、内丸薫、石田尚臣、田中勇悦、渡邊俊樹、「HTLV-1タンパク質TaxとPolycombタンパク質EZH2との相互作用を介して宿主細胞のエピゲノムを攪乱し、腫瘍化の進行に寄与する」、第61回日本ウイルス学会学術集会、神戸国際会議場、神戸、2013年11月12日（2013年11月10日—11月12日）（一般口演）
- 34) 中川翔太、山岸誠、藤川大、中野和民、宇都宮與、内丸薫、渡邊俊樹、「成人T細胞白血病におけるポリコムファミリーの過剰発現機構の解析」、第36回日本分子生物学会年会、神戸ポートアイランド、2013年12月5日（2013年12月3日—12月6日）（ポスター発表）
- 35) 酒井直規、山岸誠、藤川大、中野和民、宇都宮與、内丸薫、渡邊俊樹、「成人T細胞白血病におけるp38シグナル伝達系の異常とその意義」、第36回日本分子生物学会年会、神戸ポートアイランド、2013年12月4日（2013年12月3日—12月6日）（ポスター発表）

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし

エイズ関連リンパ腫の病理診断と病態

研究分担者 片野晴隆（国立感染症研究所感染病理部 室長）

研究協力者 大田泰徳（東京大学医科学研究所）、比島恒和（がん・感染症センター都立駒込病院）、坂本康太、上原妙子、福本 瞳、佐藤由子、長谷川秀樹（国立感染症研究所感染病理部）、関塚剛史、黒田 誠（国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター）

研究要旨：日本のエイズ関連リンパ腫症例について、WHO 分類第 4 版に基づいた病理組織分類の結果と診断フローチャートを英文誌へ掲載し、エイズ関連リンパ腫の正確な病理診断に寄与した。また、国内のエイズ関連リンパ腫のための病理診断窓口を東京大学医科学研究所病院にて継続している。日本におけるエイズ剖検例の調査を行い、31%にリンパ腫が検出されたこと、直接死因の 24%がリンパ腫であり、直接死因としては最も頻度の高い疾患であることを明らかにした。さらに、エイズ関連リンパ腫を含めた Epstein-Barr virus (EBV) 陽性リンパ腫のマイクロ RNA (microRNA, miRNA) を次世代シーケンサーにより解析し、EBV BHRF1 にコードされる miRNA 群がエイズ関連リンパ腫と膿胸後リンパ腫のみで発現していたこと、miRNA の発現を元にしたクラスター分類で、エイズ関連リンパ腫が他のリンパ腫と分類が可能であったことを明らかにした。これは宿主の免疫状態がウイルスの miRNA の発現に関与する可能性を臨床サンプルで示した初めてのデータである。

A. 研究目的

現在のリンパ腫の分類は2008年に発表された、WHO分類第4版が基本である。WHO分類第4版によると、エイズ関連リンパ腫には、びまん性大細胞性B細胞リンパ腫（diffuse large B cell lymphoma, DLBCL）やバーキットリンパ腫(Burkitt lymphoma, BL)、ホジキンリンパ腫(Hodgkin lymphoma, HL)、primary effusion lymphoma (PEL)、plasmablastic lymphoma (PBL) などの組織型がある(図1)。エイズ関連リンパ腫は一般に進行が早いことから、正確な診断のもとに、なるべく早く、個々の症例に応じた、適切な治療を開始する必要がある。しかし、

エイズ関連リンパ腫の病理組織診断には、いくつかの特殊な点がある。まず、エイズ関連リンパ腫では、それぞれの組織型で非典型像を示す例が多く、特に、形態の似通ったDLBCLとBLの鑑別はむずかしい。さらに、エイズ関連リンパ腫には、PELやPBLなど、ほとんどエイズ患者にしか見られないリンパ腫がある。PELやPBLはB細胞のマーカーであるCD20を発現しておらず、B細胞リンパ腫の診断すら容易ではない。こうした、エイズ関連リンパ腫の特殊性から、エイズ拠点病院の病理医は診断に苦慮する例を数多く経験してきている。そこで、前研究班では、エイズ関連リンパ腫の病理診

断について、診断フローチャートを作成し、日本国内の病理医がよく目にする「病理と臨床」誌に掲載した。また、過去の日本のエイズ関連リンパ腫症例を、この診断フローチャートを使用して、見直し、日本におけるエイズ関連リンパ腫の病理組織学的な特徴を明らかにした。本研究では前研究班で作成したエイズ関連リンパ腫の診断フローチャートのさらに普及させることと、病理診断のコンサルテーション窓口を開設することで、日本におけるエイズ関連リンパ腫の病理診断精度の向上を目的とした。さらに、本年度はエイズ剖検例におけるリンパ腫の頻度を明らかにすることで、日本におけるエイズ関連リンパ腫の現状のさらなる把握に努めた。

一方、エイズ関連リンパ腫の発症機構については、現在でも多くの点が不明で、病理診断と同時に、発症機構の解明についても本分担研究で取り組んだ。現在でも、エイズ関連リンパ腫の約半数はEpstein-Barr virus (EBV)陽性の日和見リンパ腫と考えられ、エイズ患者におけるEBV関連リンパ腫の発症機構の解明は特に重要である。EBVにはlatent membrane protein 1 (LMP1)などのいわゆるoncoprotein がコードされており、EBV関連日和見リンパ腫はEBVによる直接の発癌が考えられてきた。しかし、近年、様々な悪性腫瘍の発症にマイクロRNA (microRNA, miRNA) が関与することが報告されており、EBV関連リンパ腫でも、miRNAの働きが注目されている。miRNAは20塩基ほどの短いRNAで、ヒト細胞でも1,000種類以上がコードされ、miRNAの種類によっては細胞内に大量に発現していることが明らかになっている。miRNAの機能は特定のmessenger RNA (mRNA) の発現や機能を抑制することであり、多くの遺伝子発現の制御に関わっていると考えられている。前研究班で、EBV関連疾患において、real-time PCRを用いて、EBV miRNAの発現を検討した。しかし、近年、real-time PCRではとらえきれない多くのmiRNAの発現

を一度に捉えることができる次世代シーケンサーによる解析がmiRNAの定量、解析には非常に有力なツールになりつつある。そこで、本研究では次世代シーケンサーを用いて、EBV 陽性のエイズ関連リンパ腫症例におけるEBVのmiRNAの発現プロファイルを明らかにし、他のEBV関連腫瘍と比較することで、EBV 陽性エイズ関連リンパ腫の特徴を把握し、発症機構の解明につながる知見を得ることを目的とした

B. 研究方法

1. エイズ剖検例におけるリンパ腫の頻度

厚労科研エイズ対策研究事業「ART 早期化と長期化に伴う日和見感染症への対処に関する研究」(研究代表者 安岡彰市立大村市民病院副院長)の分担研究の一部として、剖検例の解析を行った。東京、および、大阪の主要エイズ拠点病院4院のHIV感染者の剖検例225例を対象とした。調査の詳細とリンパ腫以外の調査結果は当該研究班の報告書を参照されたい。悪性リンパ腫の組織分類はWHO第4版によった。

2. EBV 関連リンパ腫における miRNA 発現の解析

エイズ関連DLBCL (ARL) 3例、膿胸後リンパ腫 (PAL) 4例、methotrexate 関連リンパ腫(MTX) 5例、老人性EBV 関連B細胞性リンパ増殖症(ELD) 3例、ホジキンリンパ腫(HL) 2例につき、そのパラフィン切片からsmall RNAの抽出を行った。EBV 陽性の細胞株LCL (lymphoblastoid cell line)とRajiも検討した。Small RNAの抽出はHigh Pure miRNA extraction kit (ロシュ・ダイアグノスティックス)を用いた。次世代シーケンサーによるsmall RNAの網羅的解読は、イルミナ社のTruSeq small RNA kitにより、small RNAのライブラリー調整を行った後に、イルミナ社の次世代シーケンサ

ーを用いて miRNA の網羅的解析を行った。解析には CLC Genomics Workbench (CLC bio 社) を用いた。

Real-time PCR による miRNA の解析は miScript PCR system (Qiagen) の miScript Reverse Transcription Kit を用いて逆転写反応を行い、miScript Primer Assays および miScript SYBR Green PCR Kit を用いて行った。EBV の miRNA を検出する primer は miScript Primer Assays (Qiagen) を用いた。また、定量値を標準化するためにヒト miRNA である miR16 および miR21 を同様の方法で検出した。

(倫理面に対する配慮)

ヒト検体を用いた研究は国立感染症研究所、および、試料を提供した各院の倫理委員会の承認を得た (国立感染症研究所 ヒトを対象とする医学倫理委員会承認番号 272, 355, 356)。

C. 研究結果

1. 日本におけるエイズ関連リンパ腫の病理診断

前研究班で、日本のエイズ関連リンパ腫症例を WHO 分類第 4 版に基づき、病理組織分類を行ったが、その結果と、調査研究の過程で作成した病理診断フローチャートを国際英文誌へ掲載した (Ota et al. Cancer Med 2014) (図 2)。病理診断フローチャートは前研究班で 2012 年に和文誌「病理と臨床」に掲載したものとほぼ同じ内容であるが、Myc rearrangement を伴う DLBCL の該当する項目がないなどの問題点があった。今回の改訂版では、Myc rearrangement を伴う DLBCL は DLBCL に分類できるようするなど、細かい修正が加わっている。また、国内のエイズ関連リンパ腫のための病理診断窓口を東京大学医科学研究所病院 (研究協力者: 大田泰徳) にて継続している。平成 25 年は 1 施設から 1 例のコンサルテーションケースがあり、最終組織診断は HIV 関連リンパ節炎であり、リンパ腫は否定

的であった。

2. エイズ剖検例におけるリンパ腫の頻度

東京、および、大阪地区のエイズ拠点病院におけるエイズ剖検例 225 例の検索では剖検例で非ホジキンリンパ腫を合併していた症例は 71 例 (32%) であった (図 3)。これは悪性腫瘍としてはカポジ肉腫の 38 例 (17%) を上回り、最も頻度の高い悪性腫瘍であった。なお、非エイズ指標悪性腫瘍の合併も約 9% の剖検例に見られ、肝癌、肺癌などの頻度が高かった。剖検例の死因の調査では、リンパ腫が死因となった症例は 24% に及び、死因としては最も頻度の高い疾患であった。リンパ腫の組織型は DLBCL が 7 割以上を占め、生検例を含めた調査とは結果が異なる。

3. EBV 関連疾患における miRNA 発現の解析

エイズ関連 DLBCL (ARL) 3 例、膿胸後リンパ腫 (PAL) 4 例、methotrexate 関連リンパ腫 (MTX) 5 例、老人性 EBV 関連 B 細胞性リンパ増殖症 (ELD) 3 例、ホジキンリンパ腫 (HL) 2 例について解析を行った。これらのいずれの症例も *in situ* hybridization で EBER の発現が確認された。次世代シーケンサーによりすべての small RNA の配列を解読したところ、EBV の miRNA は症例によって異なり、annotate された read の 0-34% を占めていた。平均すると ARL では 17% と高く、ホジキンリンパ腫では 1% と低い (表 1)。EBV の miRNA の発現をもとに heat map とクラスター解析を行うと、ARL, PAL は同一のクラスターに分類された (図 4A)。これは、これらの症例がいずれも EBV latency III の腫瘍であることが反映した結果であった。また、EBV の miRNA のクラスター分類を見ると、BHRF1 にコードされる 3 つの miRNA が同一のクラス

ターに分類された。これらの結果は real-time PCR を用いた miRNA の発現解析でも確認された (図 4B)。ヒト miRNA も含めた解析において、miRNA ごとに発現の差を解析すると、ELD と比べて ARL で発現の高いヒト miRNA は miR-19b, miR-101-2, miR-155 など、いずれもリンパ腫、腫瘍などとの関連が報告されている分子であった。EBV の miRNA では miR-BHRF1-1-3 の 3 つがほとんど ARL と PAL のみに発現がみられ、EBV latency III との関連が示唆された。

D. 考察

エイズ関連リンパ腫の病理診断は、その後の治療方針を決める上で極めて重要な診断プロセスである。リンパ腫の診断は近年の分子生物学的な研究の進歩に添う形で、1990 年代から頻繁に改訂されてきた。現在使用されている最新の分類である WHO 分類第 4 版は、分子生物学的なエビデンスを多く取り入れ、比較的理理解されやすい分類になっているが、それでも、エイズ関連リンパ腫については、記述として、曖昧な点が残し、診断実務上、苦慮する例が多い。エイズ関連リンパ腫のための病理診断フローチャートは、国際誌に発表したことで、日本のみならず、国際的にもエイズ関連リンパ腫の正確な病理診断に寄与できるものと考えられる。

エイズ剖検例の調査では、あらためて、リンパ腫が生命予後を左右する重要な疾患であることが認識された。もっとも頻度の高い死因であることが、臨床上、治療が困難であったことが推察される。リンパ腫の組織型が生検を含めた結果と異なるのは、死因に直結した、予後の悪いリンパ腫が多く含まれているためと思われる。

リンパ腫における EBV miRNA の発現は、これまで、いくつか報告があるが、T/NK リンパ腫の報告が多く、B リンパ腫、

とくにエイズ関連リンパ腫の EBV miRNA の発現を網羅的に見た報告はこれまでほとんど見当たらない。次世代シーケンサーは miRNA の発現プロファイルを見るにはきわめて有力なツールであり、ヒトを含めたすべての miRNA が一度の解析で同定される。ARL と PAL で miR-BHRF1 の miRNA が検出されたことは、miR-BHRF1 にコードされる miRNA が latency III のリンパ腫に限定して発現すること、ないしは、miR-BHRF1 が ARL, PAL のマーカーとなりうることを示している。とくに miR-BHRF1-1 は ARL に高いリード数が検出されており、診断的価値を検討する必要がある。興味深いことに ARL に高発現するヒト miRNA も同定されており、これらはいずれも、ヒト発癌との関与が報告されている。これら miRNA の機能と ARL 発症との関連も今後の検討課題である。

E. 結論

日本のエイズ関連リンパ腫の病理組織診断のためのフローチャートを英文国際誌へ掲載した。また、国内のエイズ関連リンパ腫のための病理診断窓口を開設し、診断支援を行った。日本におけるエイズ剖検例の調査を行い、リンパ腫が直接死因としては最も頻度の高い疾患であることを示した。さらに、次世代シーケンサーを用い、EBV 陽性リンパ腫の miRNA の発現プロファイルを明らかにした。

F. 研究発表

1. 論文発表
- (1) Ota Y, Hishima T, Mochizuki M, Kodama Y, Moritani S, Oyaizu N, Mine S, Ajisawa A, Tanuma J, Uehira T, Hagiwara S, Yajima K, Koizumi Y, Shirasaka T, Kojima Y, Nagai H, Yokomaku Y, Shiozawa Y, Koibuchi T, Iwamoto A, Oka S, Hasegawa H, Okada S, Katano H: *Classification of AIDS-related lymphoma cases between*

1987 and 2012 in Japan based on the WHO classification of lymphomas, fourth edition. **Cancer Med** 2014. 3:143-153.

- (2) Kariya R, Taura M, Suzu S, Kai H, Katano H, Okada S: *HIV protease inhibitor Lopinavir induces apoptosis of primary effusion lymphoma cells via suppression of NF-kappaB pathway.* **Cancer Lett** 2014. 342:52-59.

2. 学会発表

- (1) 片野晴隆、坂本康太、吉岡妙子、関塚剛、福本瞳、佐藤由子、長谷川秀樹、黒田誠 カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV/HHV-8) 関連疾患におけるウイルス miRNA の発現 第 102 回 日本病理学会総会. 札幌。2013.4.
- (2) 片野晴隆、比島恒和、坂本康太、上原妙子、佐藤由子、長谷川秀樹、関塚剛、黒田誠. EBV 関連疾患におけるウイルス miRNA の発現プロファイル 第 10 回 EB ウイルス研究会 京都 2013 年 7 月
- (3) 菅野 隆行、上原 妙子、福本 瞳、長谷川 秀樹、片野 晴隆 抗血管新生薬による KSHV 再活性化 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 2013.11. 神戸
- (4) 片野晴隆、比島恒和、坂本康太、上原妙子、佐藤由子、長谷川秀樹、関塚剛、黒田誠 EBV 関連リンパ増殖性疾患におけるウイルス miRNA の発現プロファイル 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 2013.11. 神戸
- (5) 片野晴隆、味澤篤、田沼順子、萩原将太郎、岡慎一、矢嶋敬史郎、小泉祐介、上平朝子、鯉渕智彦、岩本愛吉、横幕能行、小島勇貴、永井宏和、岡田誠治. 日本におけるエイズ関連リンパ腫の病理組織分類 第 27 回日本エイズ学会学術集会総会 熊本

2013.11.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし。
2. 実用新案登録
なし。
3. その他
なし。

表 1. 組織型別の全リード数と annotated read に占める EBV miRNA の割合

	サンプル	n	Total reads (average)	Annotated reads (%)	EBV miRNA (%)
細胞株	LCL	1	1,174,245	1,025,206 (87.3%)	7.7%
	Raji	1	331,204	31,341 (9.5%)	8.5%
病理組織	エイズ関連リンパ腫(ARL)	3	251,396	99,787 (39.2%)	17.4%
	膿胸後リンパ腫(PAL)	4	532,976	31,366 (5.7%)	13.5%
	MTX 関連 LPD(MTX)	5	654,811	125,479 (17.9%)	4.4%
	老人性 EBV-LPD (ELD)	3	366,155	64,865 (17.3%)	11.7%
	ホジキンリンパ腫(HL)	2	1,521,028	115,976 (8.8%)	1.2%

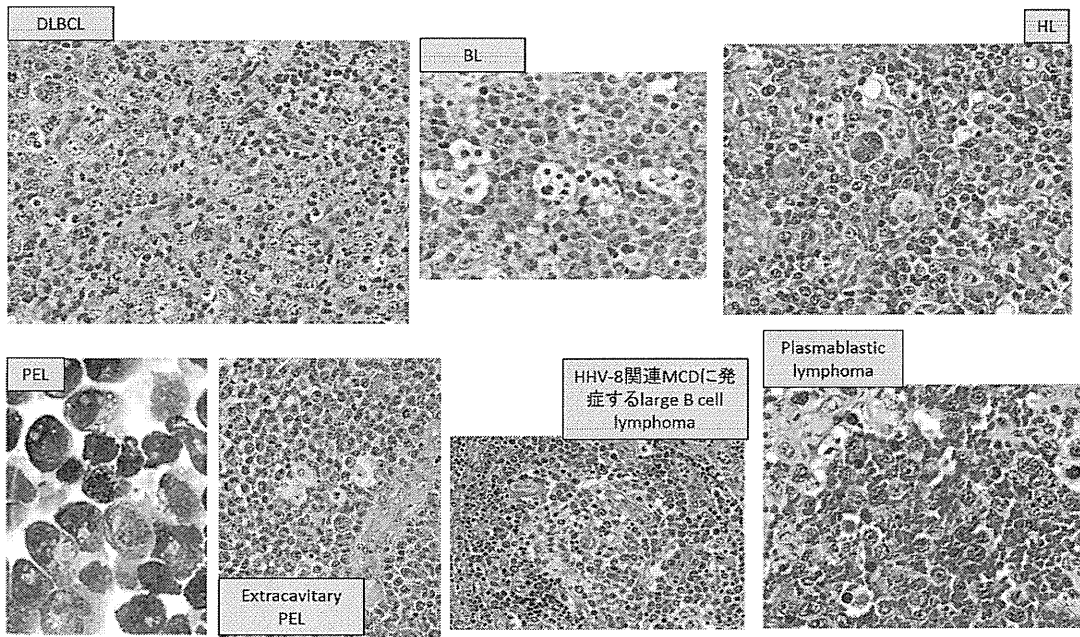


図1 エイズ関連リンパ腫の代表的な組織型

左上から DLBCL, BL, HL, 左下から PEL, Extracavitary PEL, HHV-8 関連 MCD に発症する large B-cell lymphoma, PBL の組織型を示す。DLBCL: diffuse large B-cell lymphoma, BL: Burkitt lymphoma, PBL: plasmablastic lymphoma, PEL: primary effusion lymphoma, HL: Hodgkin lymphoma, MCD: multicentric Castleman disease.

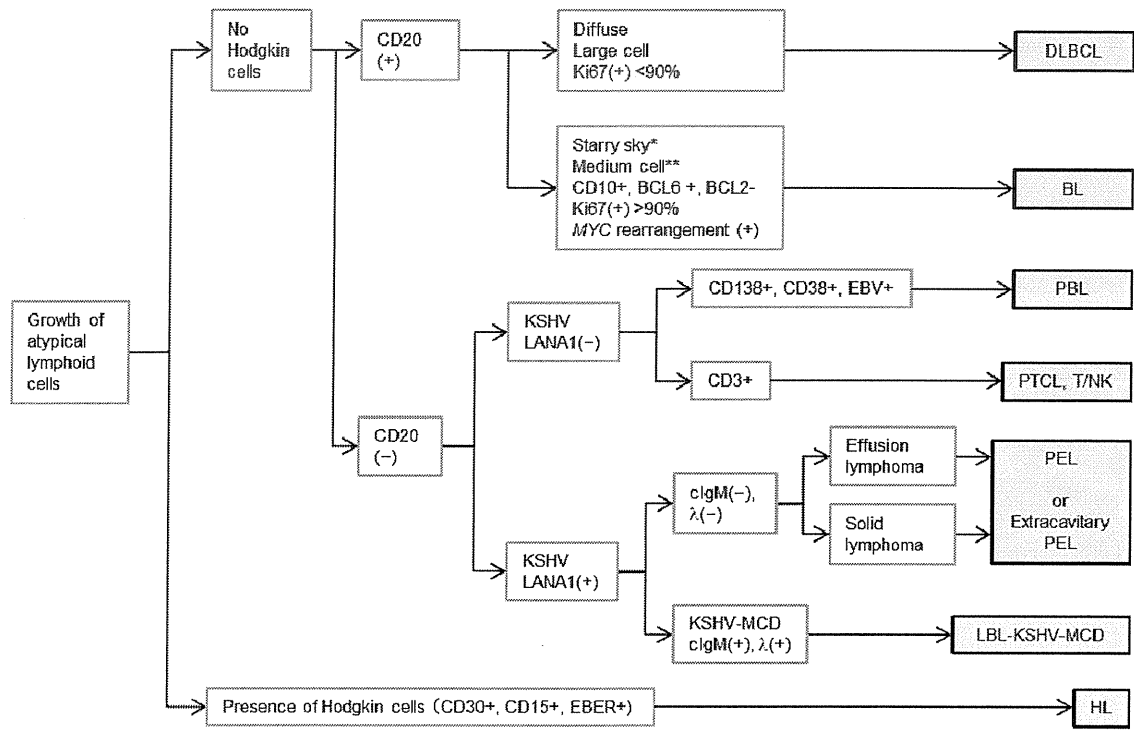


図2 エイズ関連リンパ腫診断のためのフローチャート(改訂版)

CD20 陽性の場合、BL、DLBCL の鑑別が必要である。エイズ関連 BL では *starry sky* は必ずしも明瞭ではなく(*)、細胞の大きさも大型細胞が混ざることが多い(**)。形態的に BL として典型的でなくても、CD10、BCL6、BCL2、MIB1 の免疫染色と *myc* の再構成の結果が BL として矛盾しなければ、BL に分類する。CD20 陰性の症例では KSHV、EBV の検索を行い、KSHV 陽性であれば PEL か Large B-cell lymphoma arising in KSHV-associated MCD のどちらかに分類される。後者は KSHV 関連 MCD に合併し、cIgM、λ 陽性である点が PEL との鑑別点である。PEL と同じ免疫学的表現型を持ち、体腔以外に固形腫瘍を形成する KSHV 陽性リンパ腫は *extracavitary PEL* に分類する。CD20 陰性、CD138 ないし CD38 陽性、EBV 陽性、KSHV 陰性で *plasmablastic* な形態を持つリンパ腫は *plasmablastic lymphoma* に分類する。HL は CD30 陽性、CD15 陽性、EBV 陽性のホジキン細胞が診断の決め手となる。

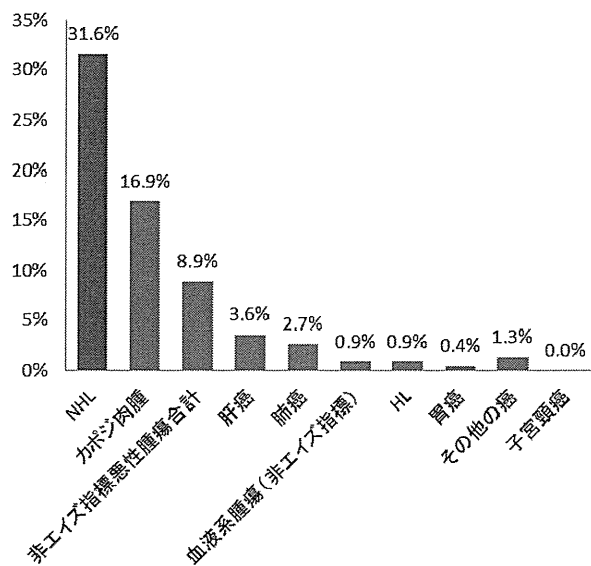
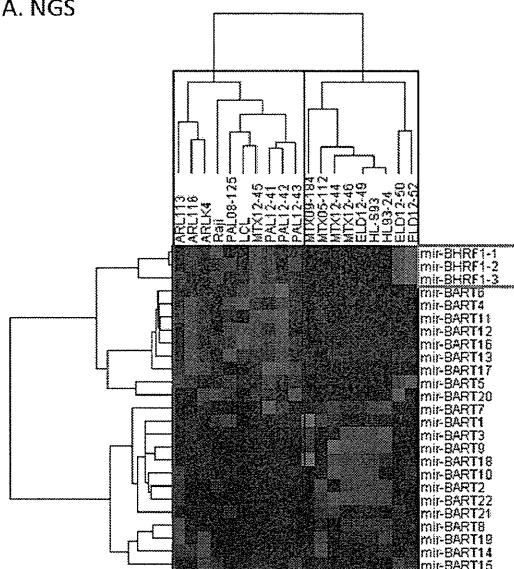


図3 エイズ剖検例に見られた悪性腫瘍。

非ホジキンリンパ腫 (NHL) が最も多く、31%のエイズ剖検例にみられた。非エイズ指標悪性腫瘍も約9%に見られ、肝癌、肺癌などの頻度が高い。

A. NGS



B. Real-time PCR

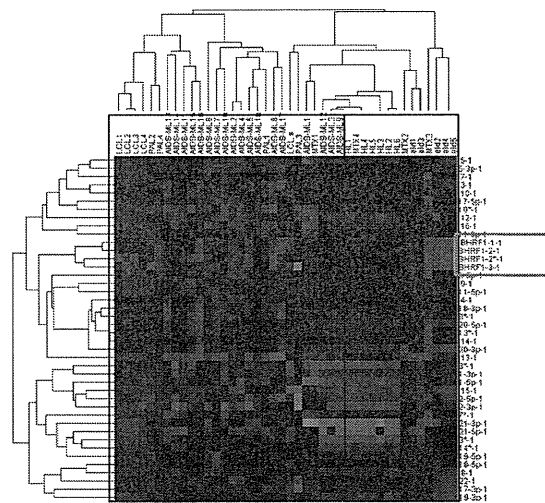


図4 EBV-miRNA の発現による heat map とクラスター分類。A は next generation sequencer (NGS) の結果を、B は real-time PCR によるもの。A, B ともに ARL と PAL は同一のクラスターに入っている。また、BHRF1 の miRNA も同一のクラスターに分類されている。

免疫不全状態における EBV モニタリングに関する研究

研究分担者 藤原成悦 （独）国立成育医療研究センター研究所母児感染研究部 部長

研究要旨 移植後の免疫不全状態にある患者において、定期的に末梢血 EBV DNA 量を測定し、その結果に基づき免疫抑制剤の用量を調節することは一般的に行われており、EBV 関連リンパ増殖性疾患の予防につながっている。私たちは当センターの移植患者に対して同様のアプローチにより良好な結果を得ているが、HIV-1 感染者においても同様な EBV DNA モニタリングを行い、エイズリンパ腫の予防あるいは preemptive therapy を行うことが原理的に可能であると考えている。今年度は、当センターにおける移植患者 EBV DNA モニタリングの状況を報告し、併せて EBV DNA が増加した 2 名の HIV-1 感染者において EBV 感染細胞の同定を行った結果を報告する。

A. 研究目的

EB ウイルス (EBV) は B リンパ球を主な標的細胞とし、これを無制限に増殖するリンパ芽球様細胞株にトランスフォームする能力をもつ。正常な免疫能をもつ感染宿主では、このリンパ芽球様細胞は EBV 特異的細胞傷害性 T 細胞により除去されるため、EBV 感染は不顕性感染にとどまる。しかし、移植後や HIV-1 感染者の免疫不全状態では、リンパ芽球様細胞が免疫監視機構をのがれて増殖するため、移植後リンパ増殖性疾患やエイズリンパ腫のような日和見リンパ腫を発症することがある。この移植後リンパ増殖性疾患の発症予防あるいは早期発見を目的として、臓器移植あるいは造血幹細胞移植後に免疫抑制剤の投与を受けている患者においては、末梢血 EBV DNA 量を定期的に測定し、これが上昇した場合は免疫抑制剤の用量を下げるなどの対処をすることが一般的に行われており、有効な手段となっている。一方 HIV-1 感染者においては CD4 陽性細胞数などを免疫能の指標として定期的に測定しているが、EBV DNA のモニタリングは行われていない。ART 導入後のエイズリンパ腫は、EBV 陽性のびまん性大型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL) が減少し、バーキットリンパ腫が増加している。バーキットリンパ腫は免疫能の極度の低下を示

さない HIV-1 感染者にも発症するため、CD4 陽性細胞数によるモニタリングが不十分となる可能性も考えられる。そこで私たちは、移植後の EBV DNA モニタリングを範として、HIV-1 感染者の EBV DNA モニタリングによる発症予防あるいは早期発見が可能であるかどうかを検討する研究を計画した。まず初めに少数の感染者においてパイロット的に定期的に EBV DNA を測定し、種々の免疫能の指標や臨床所見との関連を検討する。今年度は、末梢血 EBV DNA 量が上昇した HIV-1 感染者における EBV 感染細胞の同定や免疫学的解析の結果について報告する。

B. 研究方法

1. 末梢血 EBV DNA 量の測定

全血よりキアゲン社自動核酸精製装置 BIOROBOT EZ1 を用いて DNA を精製した。この DNA を鋳型として、EBV の BALF5 遺伝子上に設定したプライマーを用いて、Applied Biosystems 社 7500 型リアルタイム PCR 装置により EBV DNA を定量した。

2. EBV 感染細胞の同定

末梢血より Lymphosepar I による比重遠心法により単核細胞を分離し、磁気ビーズを結合させた抗体を用いて CD4 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T

細胞、CD56 あるいは CD16 陽性 (CD3 陰性) NK 細胞、 $\gamma\delta$ T 細胞などの分画を得た。各分画より上記の方法で DNA を抽出し EBV DNA 量を定量した。

(倫理面への配慮)

移植患者の EBV モニタリングとリンパ球マーカー解析に関する研究については、国立成育医療研究センター倫理委員会の承認を得て行った。研究対象者からはインフォームドコンセントを取得した。検体は匿名化され個人情報は厳密に管理された。HIV-1 感染者に対する同様の研究については、現在同倫理委員会の審査を申請しており、承認を得た上で開始する予定である。

C. 研究結果

1. 移植後免疫不全状態における EBV DNA モニタリングの結果と免疫能の関係について

成育医療研究センターにおいては年間約 40 例の生体肝移植手術が行われる。その全例に対して毎週 EBV DNA 量を測定している。測定値が 5×10^2 copies/ μ g DNA を超えた場合はフローサイトメトリーによるリンパ球表面マーカー解析を行う。ここでは主に CD8⁺/HLA-DR⁺の活性化 T 細胞数を免疫能の指標とし、その変化を免疫抑制剤投与量決定の参考とした。代表的症例の末梢血 EBV DNA 量の変化と図 1 に示す。本症例は、移植手術後 20 日目から EBV DNA 量が増加し 27 日目には 2×10^3 copies/ μ g DNA に達した (図 1)。その時点のリンパ球解析では CD8⁺/HLA-DR⁺細胞は 5.8%と低値を示した (図 2)。そこで免疫抑制剤のサイクロスポリン A の投与量を 400 mg/day から漸次 60 mg/day まで減量したところ、術後 34 日後から EBV DNA 量が低下し始め、54 日目には測定感度以下まで低下した。その間、CD8⁺/HLA-DR⁺細胞の割合は 9.2%, 36.1%と上昇した (図 2)。この症例からは、免疫抑制剤の用量と EBV DNA 量が正に相関し、これらと CD8⁺/HLA-DR⁺細胞数が負に相関することが示唆された。このような EBV モニタリングを 140 症例に行った結果の解析から、上記の傾向が確認されたため、これらの数値に基づく EBV 感染管理のアルゴリズム

を公表した (Pediatr Transplant 16:748-57, 2012)。現在までの約 200 症例からは EBV 関連リンパ増殖性疾患が発症していない。

2. HIV-1 感染者における EBV DNA モニタリングの可能性について

現在研究班内の医療機関と連携をとり HIV-1 感染者の血液を定期的に採取しモニタリングを行うための体制を構築中である。体制が整い次第各研究機関の倫理委員会の承認を得てパイロット研究を開始する予定である。

これまでに大阪医療センターの依頼を受け、末梢血 EBV DNA 量が軽度上昇した HIV-1 感染者において EBV 感染細胞の同定を行っている。症例 1 は末梢血 (全血) EBV DNA 量が 2.8×10^2 copies/ μ g DNA、分画後は CD19⁺ (B 細胞) 分画が 1.0×10^3 copies/ μ g DNA、CD8⁺ (T 細胞) 分画が 4.0×10^2 copies/ μ g DNA であった。両分画ともに全血分画より高い数値であったため、どちらにも EBV が感染していると考えられた。T 細胞免疫能の低下による EBV 感染 B 細胞の増殖の可能性が考えられる。また、数値は低いが CD8⁺ (T 細胞) 分画の増加は EBV 関連血球貪食性リンパ組織球症の所見と一致しているため、警戒が必要であると考えられた。症例 2 では、血漿中の EBV DNA 量が 1.2×10^2 copies/ml であり、全血では検出感度以下であったが、分画を行うと CD3⁺/CD16⁺/CD56⁺の NK 細胞分画に感染していることが突き止められた。この結果は、HIV-1 感染者においては B 細胞以外の EBV 感染リンパ球が増加することがあるという以前の報告に一致していた。

D. 考察

移植後の患者に対して定期的に末梢血 EBV DNA 量を測定し、その変動に対応して免疫抑制剤の用量を調節することは現在ほとんどの医療機関で一般的に行われていて、これにより EBV 関連リンパ増殖性疾患の予防或いは早期発見による preemptive therapy が可能となっている。私たちも成育医療研究センターにおいて肝移植症例全例に対してこの EBV DNA モニタリングを行い、必要に応じてリンパ球表面マーカー解析を追加して行い、良好な結果を得ている。

HIV-1 感染者においてもその免疫能の低下に一致して EBV 感染細胞数が増加し、EBV DNA 量も上昇することが知られている。末梢血中の EBV 感染細胞は大多数が B 細胞であるが、一部 T 細胞および NK 細胞を含むことも報告されている。しかし、移植後のように EBV DNA 量をモニタリングし、エイズリンパ腫の発症予防或いは preemptive therapy に役立てようとする取り組みは行われていないように考えられる。末梢血 EBV DNA 定量、分画による EBV 感染細胞の同定、リンパ球マーカー解析による T 細胞免疫能の簡易測定は HIV-1 感染者においても原理的に可能である。EBV 感染細胞が増加している場合は、その細胞分画から RNA を抽出し RT-PCR 法により EBV 遺伝子発現を解析することも可能である。特に T 細胞に対して免疫原性の高い EBNA3, EBNA2 などの EBV 遺伝子の発現が認められた場合は T 細胞免疫能の顕著な低下が推測されるなど、感染者の免疫能について多くの情報が得られる可能性もある。ART の導入により HIV-1 感染者が極度の免疫不全状態に陥ることは希になり、バーキットリンパ腫などある程度免疫能が保たれた状態でも発症するリンパ腫が増加している。CD4⁺ T 細胞数のみでなく EBV DNA 量や EBV 遺伝子発現パターンなど幅広い指標により感染者の免疫能を追跡することは、より効果的なエイズリンパ腫予防につながる可能性があると考えられる。

E. 結論

移植後の EBV 関連リンパ増殖性疾患は末梢血 EBV DNA モニタリングにより予防あるいは preemptive therapy が可能となっている。HIV-1 感染者において同様の EBV DNA モニタリングを行い、エイズリンパ腫の予防あるいは preemptive therapy につなげることは原理的に可能であると考えられる。

F. 健康危機情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Fujiwara S, Kimura H, Imadome K, Arai A,

Kodama, E, Morio T, Shimizu N, and Wakiguchi H. Current studies on chronic active Epstein-Barr virus infection in Japan. *Pediatrics International*, 2014, in press.

2) Fujiwara S. Reproduction of Epstein-Barr virus infection and pathogenesis in humanized mice. *Immune Network*, 2014, in press.

3) Fujiwara S, Matsuda G, and Imadome K. Humanized mouse models of Epstein-Barr virus infection and associated diseases. *pathogens* 2: 153-176, 2013.

4) Nakamura H, Liao H, Minami K, Toyoda M, Akutsu H, Miyagawa Y, Okita H, Kiyokawa N, Umezawa A, Imadome K, Inoue N, and Fujiwara S. Human cytomegalovirus induces apoptosis in neural stem/progenitor cells derived from induced pluripotent stem cells by generating mitochondrial dysfunction and endoplasmic reticulum stress. *Herpesviridae* 4:2, 2013.

2. 学会発表

(国際学会)

1) Fujiwara S. Reproduction and Analysis of Epstein-Barr Virus Pathogenesis in Humanized Mice. 4th International Workshop on Humanized mice. Sep 30, 2013, Seoul.

2) Fujiwara S. Reproduction of Epstein-Barr Virus-Associated Lymphoproliferative Diseases in Humanized Mice. Fall Conference of the Korean Association of Immunologists. Nov 8, 2013.

3) Matsuda G, Imadome K, Yajima M, Ochiai N, Mochizuki M, Kawano F, Shimizu N, Komano J, Yamamoto N, Fujiwara S. A humanized mouse model of cell-mediated immunotherapy against EBV-associated lymphoproliferative disorder. 38th Annual International Herpesvirus Workshop, Jul 20-24, 2013, Grand Rapids.

(国内学会)

1) 今留 謙一、松田 剛、川野 布由子、千葉 祐規乃、新井 文子、中澤 温子、伊藤 守、清水 則夫、藤原 成悦. 難治性 EB ウイルス関連 T/NK リンパ増殖性疾患モデルマウスを用

いた新規治療薬 3 剤の評価研究. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会、2013 年 11 月 11 日、神戸.

- 2) 堀野雅人、今留謙一、今井耕輔、王路丹、松田剛、浜崎霞、小松穂菜実、倉田盛人、藤原成悦、三浦修、新井文子. EBV は T、NK 細胞に感染後 AID 発現とそれによる遺伝子変異蓄積をもたらす腫瘍発症に寄与する. 第 75 回日本血液学会学術集会、平成 25 年 10 月 11 日、札幌.
- 3) 王路丹、今留謙一、小松穂菜実、福田哲也、倉田盛人、藤原成悦、三浦修、新井文子. EBV の感染により T,NK 細胞では IL-2 の存在下

CD137 発現が誘導され細胞生存が亢進する. 第 75 回日本血液学会学術集会、平成 25 年 10 月 11 日、札幌.

- 4) 小松穂菜実、今留謙一、王路丹、倉田盛人、小山高敏、藤原成悦、三浦修、新井文子. EBV 陽性 T,NK 細胞は FOXP3 を発現し制御性 T 細胞同様 T 細胞の増殖を抑制する. 第 75 回日本血液学会学術集会、平成 25 年 10 月 11 日、札幌.

H. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)
該当なし。

図 表

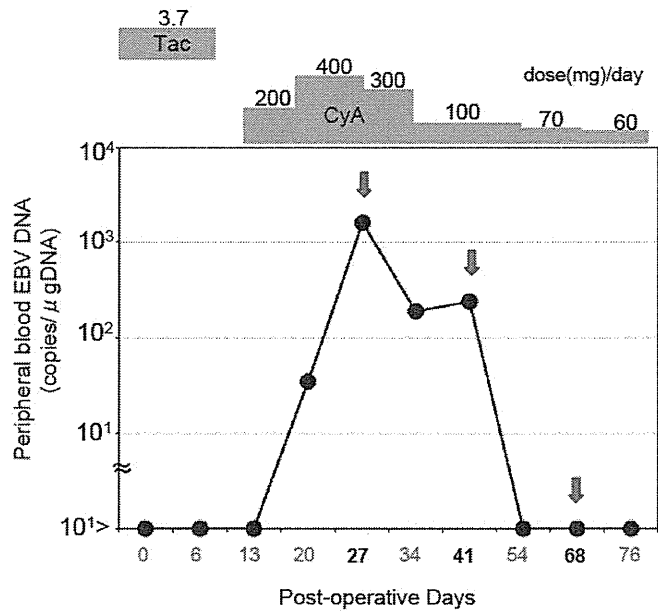


図 1. 小児生体肝移植後の 1 症例における末梢血 EBV DNA 量の変化. 上部に免疫抑制剤のタクロリムスおよびサイクロスポリン A の投与量を示す。矢印の日付にフローサイトメトリーによるリンパ球表面マーカー解析を行った。

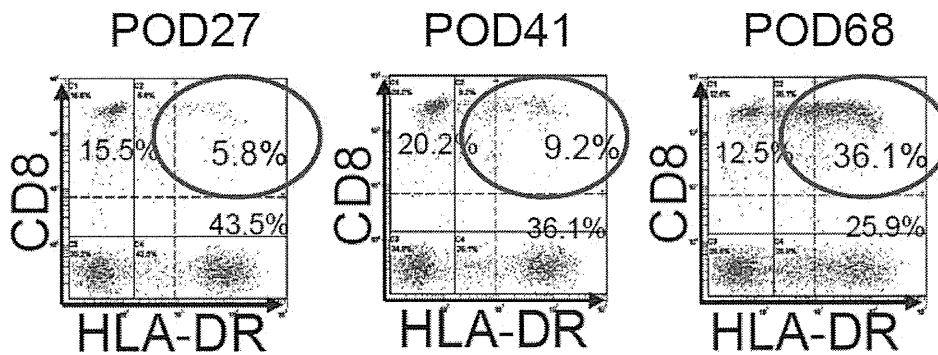


図 2. 小児生体肝移植後の 1 症例における CD8⁺/HLA-DR⁺活性化 T 細胞数の変化. 移植手術後 (POD) 27, 41, 68 日目のフローサイトメトリーの結果を示す。

高度免疫不全マウスを用いた抗エイズ関連悪性リンパ腫療法の 評価系の樹立と抗体療法の評価

研究分担者者 岡田 誠治 熊本大学エイズ学研究センター 教授

研究要旨 エイズリンパ腫の病態解析と新規治療法の開発に供するために、エイズ関連悪性リンパ腫のマウスモデルの樹立を試みている。高度免疫不全マウス(NOD/Rag-2/Jak3 欠損マウスまたはNOD/Scid/Jak3 欠損マウス)腹腔内にヒト Primary effusion lymphoma (PEL)細胞株を移植することにより、PEL マウスモデルを樹立した。これらマウスを用いて HIV-1 プロテアーゼ阻害薬のうちの Lopinavir(LPV)と Ritonavir(RTV)、及び抗 CD47 抗体に抗リンパ腫作用があることを証明した。また、日本人エイズ関連 PEL から新たな PEL 細胞株(GTO)を樹立した。

A. 研究目的

本研究の目的は、エイズ関連悪性リンパ腫のマウスモデルを作成し、エイズ関連リンパ腫の標準的な治療法、新規治療法の開発に供することである。本年度は、HIV-1 感染者にかなり特異的に発症し予後不良の Primary effusion lymphoma (PEL)のマウスモデルを用いて、HIV-1 プロテアーゼ阻害薬及び抗 CD47 抗体の抗腫瘍効果について検討を行った。また、新規 PEL 細胞株(GTO)を樹立した。

B. 研究方法

ヒト Primary effusion lymphoma (PEL)細胞株 (BCBL-1, TY-1, BC-1, BC-3)に HIV-1 プロテアーゼ阻害薬(LPV, RTV, DRV)を添加し、MTT 法によりその効果を調べた。NF- κ B 阻害作用は、Western blot 法、プロモーターアッセイなどにより解析した。

高度免疫不全マウス NOD/Rag-2/Jak3 欠損マウス (NRJ マウス) は、NOD マウスに Rag-2 欠損マウス (熊本大学生命資源研究・支援セン

ターから供与) または Jak-3 欠損マウス (理化学研究所 RCAI 齊藤隆博士から供与)を 10 世代交配し、更に NOD Rag-2 マウスと NOD Jak3 欠損マウスを交配して作成した。

NOJ マウスまたは NRJ マウス腹腔に PEL 細胞株 BCBL-1 を移植して PEL モデルマウスを作成し、更に HIV-1 プロテアーゼ阻害薬及び抗 CD47 抗体投与の有効性を検証した。

PEL 細胞株の樹立は、患者心嚢水由来の PEL 細胞を 10-20%FCS/RPMI1640 培地で半年間継代後、Phenotype 解析を行った。

(倫理面への配慮)

免疫不全マウスの作成及び移植実験等の動物実験は、熊本大学動物実験委員会の承認を得た上で「熊本大学動物実験指針」に従い実施した。動物実験は、「熊本大学動物実験指針」を遵守し、極力動物の苦痛軽減に配慮して行っている。動物実験における実験処置に対する倫理基準では、カテゴリー B (動物に対してほとんど不快感を与えないと思われる実験) レベルの実験であり、解析時には「動物の処分方法に関

する指針」を遵守して、頸椎脱臼により安楽死させた。

ヒト腫瘍細胞を用いた研究は、熊本大学大学院生命科学研究部等疫学・一般倫理委員会及びヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会の承認のもと、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」及び「臨床研究に関する倫理指針」を遵守して行われた。

C. 研究結果

1) HIV-1 プロテアーゼ阻害薬の抗 PEL 効果の検討

LPV, RTV 及び DRV の抗腫瘍効果を MTT 法により検討した。その結果、LPV と RTV の両者に強い抗 PEL 効果が認められたが、DRV には抗腫瘍効果は認められなかった。LPV と RTV 添加により Annexin V 陽性細胞の増加と caspase 3 活性の増加が認められたことから、これらの薬剤は、PEL にアポトーシスを誘導する事が判明した。

PEL 細胞株に LPV 添加後、NF- κ B カスケードの活性化制御を検討した。その結果、IKK α/β のリン酸化の抑制と NF- κ B プロモーター活性の低下が認められた。従って、LPV は NF- κ B 阻害作用を呈することで抗腫瘍効果を発揮する事が示唆された。

NOJ マウス腹腔に PEL 細胞株 BCBL-1 を移植して PEL 発症マウスモデルを作成した。PEL 発症マウスモデルに LPV を腹腔内投与した。その結果、LPV 投与群では、明らかな腹水量の低下と転移の抑制が認められた。

2) 抗 CD47 抗体の抗 PEL 効果の検討

ヒトマクロファージと PEL 細胞株 BCBL-1 を抗 CD47 抗体の非存在下、存在下で培養したところ、抗 CD47 抗体存在下ではマクロファージによる食食の増加が認められた。

PEL 細胞株 BCBL-1 を NRJ マウス腹腔内に移植し、無治療群、抗 CD47 抗体投与群にわけて観察したところ、無治療群では、マウスへの腫瘍細胞の生着と腹水の貯留を認めた。一方、抗 CD47 抗体投与群では、腹水量の減少、遠隔臓器への浸潤抑制を認めた (Eur J Cancer, in press 図 1)。

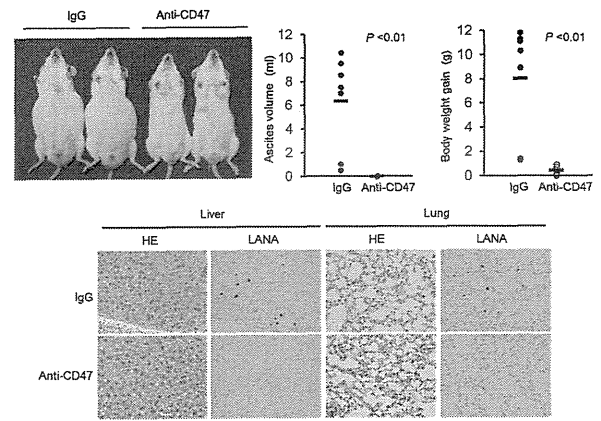


図 1. 抗 CD47 抗体の抗腫瘍効果。PEL マウスモデルにおいて、CD47 抗体投与により腹水生成は阻害された。肝臓及び肺への転移も抑制された。

3) 新規 PEL 株の樹立

日本人エイズ合併 PEL 心嚢水より分離した PEL 細胞を 10-20%FCS/RPMI1640 培地で継代培養したところ、細胞株が樹立され、GTO を名付けられた(図 2)。GTO では、免疫グロブリン H 鎖の再構成が認められ (図 2B)、CD3 陰性、CD20 弱陽性、CD30 弱陽性、CD38 陽性、CD138 陽性であり (図 2C)、興味深いことに CD4 陽性であった。ウイルス学的には HHV-8 陽性、EBV 陰性、HIV-1 陰性であった。GTO は NRJ マウス体内で BCBL-1 等の他の PEL 細胞株に比して早期に腫瘍性腹水を形成した。

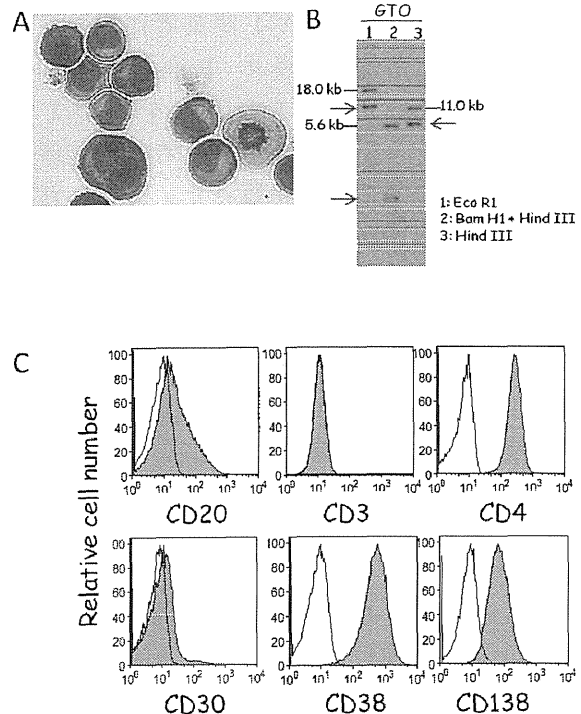


図 2. 新規 Primary effusion lymphoma 細胞株, GTO.

D. 考察

HIV-1 感染者では高頻度に悪性リンパ腫が発症し、HIV-1 感染者の長期予後を規定する重要な合併症となっている。以前は、HIV-1 のコントロールがされていない免疫不全の状態での脳原発悪性リンパ腫やびまん性大細胞性リンパ腫の合併が多かった。最近では、HIV-1 感染がコントロールされている症例においてバーキットリンパ腫やホジキンリンパ腫が発症する例が増えており注意が必要である。これらの悪性リンパ腫の半数以上が EB ウイルス (Epstein-Barr virus: EBV) 感染が原因とされている。HHV-8 や EBV 感染による NF- κ B 活性化が悪性リンパ腫発症の主因のひとつとされており、NF- κ B はこれらの悪性リンパ腫治療の分子標的として注目を浴びている。本研究では、LPV 及び RTV に抗 NF- κ B 活性があることを証明した。これらの薬剤は、エイズ関連悪性リンパ腫の治療のみならず、予防にも有効である可能性が示唆された。今後、HIV-1 感染者で LPV 長期投与群と非投与群における LPV の悪性腫瘍予防効果の検証が必要であろう。また、LPV と RPV には ER ストレス誘導作用があるため、投与中は ER ストレスに起因する様々な副作用に対して注意が必要であることが示唆された (Free Radic Biol Med, 2013)。

CD47-SIRP α シグナルは、マクロファージの貪食作用抑制に重要である。多くの腫瘍細胞は CD47 を高発現しているため、マクロファージによる貪食から免れており、"Don't eat me" シグナルと呼ばれている。最近、抗 CD47 抗体により、この "Don't eat me" シグナルをブロックすることにより、マクロファージが抗腫瘍作用を発揮することが判明し、臨床応用が期待されている。本研究において、PEL における抗 CD47 抗体の有用性が証明された。また、本研究で用いた PEL マウスモデルは、抗体療法の有用性の検証に有用なモデル系である。

HIV-1 感染者からの PEL 細胞株樹立は、これまでに 10 株程度が報告されており、本邦からはわずか 1 株である。PEL は症例数が少ないため、細胞株を用いた病態解析や薬剤感受

性検査は、PEL の新規治療法開発に重要である。樹立された細胞株 GTO は、日本人由来でマウスに生着しやすいことからその有用性が期待される。

E. 結論

エイズ関連悪性リンパ腫のマウスモデルを用いて、HIV-1 プロテアーゼ阻害薬のうちの Lopinavir(LPV)と Ritonavir(RTV)に抗 NF- κ B 作用を介した抗 PEL 作用があることを示した。また、抗 CD47 抗体による抗体療法の有用性を示した。本マウスモデルは、今後エイズ関連悪性リンパ腫の新たな治療法の開発に役立つことが期待される。また、これらの LPV, RTL は、PEL のみでなく NF- κ B が活性化している他の悪性リンパ腫 (ホジキン病や EBV を起因とする非ホジキンリンパ腫など) の予防と治療に有効である可能性が示された。

新規 PEL 細胞株は、今後 PEL の病態解析や薬剤感受性検査への有用性が期待される。

F. 健康危機情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- Goto H, Kojima Y, Matsuda K, Kariya R, Taura M, Kuwahara K, Nagai H, Katano H, and Okada S. Efficacy of anti-CD47 antibody-mediated phagocytosis with macrophages against primary effusion lymphoma. *Eur J Cancer* in press
- Endo M, Yamamoto Y, Nakano M, Matsuda T, Odagiri H, Horiguchi H, Miyata K, Kadomatsu T, Motokawa I, Okada S, Iwase H, Oike Y. Serum ANGPTL2 Levels Reflect Clinical Features of Breast Cancer Patients: Implications for The Pathogenesis of Breast Cancer Metastasis. *Int J Biol Markers* in press
- Kojima Y, Hagiwara S, Uehira T, Ajisawa A, Kitanaka A, Tanuma J, Okada S, Nagai H. Clinical Outcomes of AIDS-related Burkitt Lymphoma: A Multi-Institution in Japan. *Jpn*

4. Puthdee N, *Vaeteewoottacharn K, Seubwai W, Wonkchalee O, Keawkong W, Juasook A, Pinloar S, Pairojkul C, Wongkham C, Okada S, Boonmars T, Wongkham S. Establishment of an Allo-Transplantable Hamster Cholangiocarcinoma Cell Line and Its Application for In Vivo Screening of Anti-cancer Drugs. *Korean J Parasitol* 51(6):711-717, 2013
5. Ota Y, Hishima T, Mochizuki M, Kodama Y, Moritani S, Oyaizu N, Mine S, Ajisawa A, Tanuma J, Uehira T, Hagiwara S, Yajima K, Koizumi Y, Shirasaka T, Kojima Y, Nagai H, Yokomaku Y, Shiozawa Y, Koibuchi T, Iwamoto A, Oka S, Hasegawa H, Okada S, *Katano H. Classification of AIDS-related lymphoma cases between 1987 and 2012 in Japan based on the WHO Classification of Lymphomas, fourth edition. *Cancer Med* in press
6. Vaeteewoottacharn K, Michai M, Srikoon P, Hattori S, Kariya R, Matsuda K, Wongkuham S, and *Okada S. Potent reactive oxygen species JNK-p38 activation by sodium salicylate potentiates death of primary effusion lymphoma cells. *Anticancer Res* in press
7. *Suzuki K, Hattori S, Marks K, Ahlenstiel C, Maeda Y, Ishida T, Millington M, Boyd M, Symonds G, Cooper DA, Okada S, and Kelleher AD. Promoter targeting shRNA suppresses HIV-1 infection in vivo through transcriptional gene silencing. *Molecular Therapy-Nucleic Acids* 2:e137, 2013
8. Motoyama K, Onodera R, Okamatsu A, Higashi T, Kariya R, Okada S, and *Arima H. Potential use of the complex of doxorubicin with folate-conjugated methyl- β -cyclodextrin for tumor-selective cancer chemotherapy. *J Drug Target* in press
9. Chen J, Zhao R, Semba U, Oda M, Suzuki T, Toba K, Hattori S, Okada S, and *Yamamoto T. Involvement of cross-linked ribosomal protein S19 oligomers and C5a receptor in definitive erythropoiesis. *Exp Mol Pathol* 95(3):364-375, 2013
10. Kariya R, Taura M, Suzu S, Kai H, Katano, and *Okada S. HIV protease inhibitor Lopinavir induces apoptosis of primary effusion lymphoma cells via suppression of NF- κ B pathway. *Cancer Lett* 342(1):52-59, 2014
11. Taura M, Kariya R, Kudo E, Goto H, Iwawaki T, Amano M, Suico MA, Kai H, Mitsuya H, and *Okada S. Comparative analysis of ER stress response by HIV protease inhibitors: Lopinavir but not Darunavir induces potent ER stress response via ROS/JNK pathway. *Free Radic Biol Med* 65C:778-788, 2013
12. Srikoon P, Kariya R, Kudo E, Goto H, Vaeteewoottacharn K, Taura M, Wongkham S, and *Okada S. Diethyldithiocarbamate suppress NF- κ B dependent metastatic pathway in cholangiocarcinoma cell line. *Asian Pac J Cancer Prev* 14(7):4441-4446, 2013
13. Vaeteewoottacharn K, Kariya R, Matsuda K, Taura M, Wongkham C, Wongkham S, and *Okada S. Perturbation of proteasome function by bortezomib leading to ER stress induced apoptotic cell death in cholangiocarcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 139(9):1551-1562, 2013
14. Silsirivanit A, Araki N, Wongkham C, Vaeteewoottacharn K, Pairojkul C, Kuwahara K, Narimatsu Y, Sawaki H, Narimatsu H, Okada S, Sakaguchi N, Wongkham S. CA-S27: A novel Lewis A associated carbohydrate epitope is diagnostic and prognostic for cholangiocarcinoma. *Cancer Sci* 104(10):1278-1284, 2013
15. Onodera R, Motoyama K, Okamatsu A, Higashi T, Kariya R, Okada S, and Arima H. Involvement of cholesterol depletion from lipid rafts in apoptosis induced by methyl- β -cyclodextrin. *Int J Pharm*