

遺伝子発現解析による慢性活動性 EB ウイルス感染症 (CAEBV) の浸潤免疫細胞の プロファイリングに関する研究

研究分担者：大島 孝一 久留米大学・医学部・教授

研究協力者：河本 啓介

研究要旨

慢性活動性 EB ウイルス感染症 (CAEBV) は EB ウイルスに対する免疫異常の関与が示唆されている。本研究では遺伝子発現解析による浸潤免疫細胞の特徴と臨床予後の関連を調査したものである。CAEBV の活動期においては濾胞性ヘルパー T 細胞と B 細胞関連遺伝子の発現が高く、浸潤 B 細胞数、EBV 陽性 B 細胞数の増加が見られた。また、病理組織学的な類縁疾患との比較で CAEBV に特徴的な遺伝子発現が認められ、これらの知見は CAEBV に特徴的な臨床症状や予後を説明するものと考えられた。近年は新たな研究手法が開発されてきている。本研究の結果をもとに、それらの研究手法を用いながら今後も CAEBV の病態解析を深めていく予定である。

A. 研究目的

慢性活動性 EB ウイルス感染症 (Chronic active Epstein-Barr virus infection disease; CAEBV) は再発性・持続性の伝染性単核球様症状を呈し、その後 T/NK 細胞リンパ腫や血球貪食症候群を合併する難治性かつ予後不良の疾患である。CAEBV の発症は EB ウイルスに対する免疫異常、すなわち EBV 感染細胞と免疫逃避や過剰な免疫反応に関連する周囲細胞との相互関係が原因と考えられているが、その発症機序などについてはいまだに不明である。

本研究の目的は CAEBV の病変組織における浸潤免疫細胞の特徴と臨床的特徴の関連性を検討することで CAEBV の病態解明を進めていくのが目的である。CAEBV に特徴的な免疫周囲細胞の特徴を

抽出するために、病理組織学的な類縁疾患である EBV 関連 T/NK 細胞リンパ腫との比較を行うこととした。

B. 研究方法

1. 対象症例

久留米大学医学部病理学講座にて厚生労働省の診療ガイドラインと The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms に基づいて、慢性活動性 EB ウイルス感染症 (CAEBV)、節外性 NK/T 細胞リンパ腫 (extranodal NK/T cell lymphoma; ENKTL)、EBV 陽性節性 T/NK 細胞リンパ腫 (EBV-positive nodal T- and NK-cell lymphoma; EBV-N-TNKL) と診断された症例を対象とした。本研究では

CAEBV35 症例、ENKTL31 例、EBV-N-TNKL19 症例が対象となり、臨床情報とホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 検体の収集を行い、病理組織学的な再評価も併せて行った。

2. 遺伝子発現解析

CAEBV、ENKTL および EBV-N-TNKL の FFPE 検体より mRNA 抽出を行い、Nanostring Technology 社の nCounter Analysis System®を用いて EBV 関連 17 遺伝子と周囲免疫細胞関連の PanCancer Immune Profiling Panel 770 遺伝子の計 787 遺伝子の発現解析を行った。

3. EBV 陽性細胞のプロファイリング解析と予後解析

FFPE 検体から連続切片標本を作製し、EBV-mRNA の In situ hybridization と免疫組織化学を用いて EBV 陽性 T 細胞数、EBV 陽性 B 細胞数の計測を行い、予後の層別化を試みた。

4. CAEBV と類縁疾患における遺伝子発現の比較解析

CAEBV と ENKTL、CAEBV と EBV-N-TNKL の遺伝子発現の比較解析を行い、CAEBV に特徴的な発現遺伝子群を抽出した

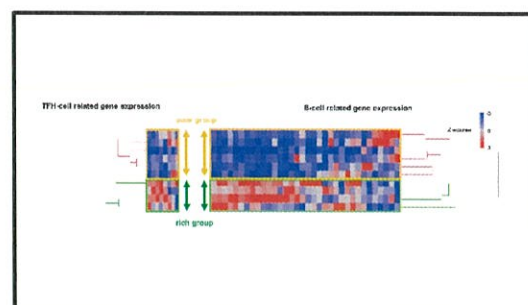
C. 研究結果

1. CAEBV における遺伝子発現解析結果

CAEBV における遺伝子発現解析では、immune-cell type (non-T/NK-cell) と T/NK cell type においてクラスタリング解析を行った。その結果、濾胞性ヘルパー T 細胞 (TFH) 関連遺伝子発現と B 細胞

関連遺伝子発現の発現量で 2 群に分類されることが分かった (図 1)。これは ENKTL や EBV-N-TNKL 群では認められなかった。

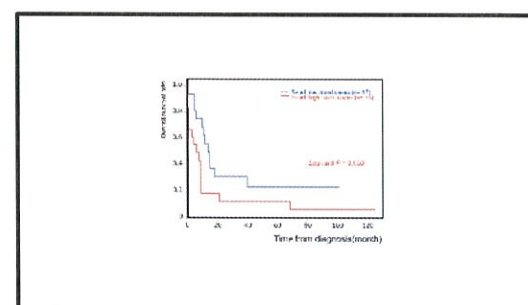
図 1



2. CAEBV における TFH/B 細胞関連遺伝子発現の臨床的な意義

CAEBV において TFH/B 細胞関連遺伝子発現に差があることが分かり、TFH/B-cell 関連遺伝子が高い群で有意に浸潤する B 細胞数と LMP-1 遺伝子発現が高いことが分かった。このことから EBV 陽性細胞のプロファイルを調査することとした。B 細胞数の多い症例には、浸潤する EBV 陽性 T/NK 細胞のみならず EBV 陽性 B 細胞の数が多いことが分かった。そこで B 細胞数臨床的な予後比較を行ったところ、TFH/B 細胞関連遺伝子発現が高い群で予後不良であった (図 2)。

図 2



3. CAEBV とその類縁疾患との遺伝子発現の比較解析

CAEBV と ENKTL、CAEBV と EBV-N-TNKL の遺伝子発現の比較解析を行い、CAEBV に特徴的な発現遺伝子群した結果、CAEBV の臨床症状を説明しうる特徴的な遺伝子群が分かってきた。

4. CAEBV と類縁疾患における EBV 関連遺伝子発現の比較

CAEBV と類縁疾患における EBV 関連遺伝子発現の比較を行ったが、各疾患群間において遺伝子発現の差は認められなかった。

D. 考察

CAEBV の臨床的な活動期にある症例は TFH と B-cell 関連遺伝子の発現が高値であり、EBV 陽性 T/NK 細胞のみならず EBV 陽性 B 細胞数が高いことから、CAEBV の活動期の臨床的特徴である伝染性単核球症様症状を説明するものである可能性がある。

CAEBV は類縁疾患である EBV 陽性 T/NK 細胞リンパ腫と比較して、多様な遺伝子発現が認められる疾患であり、それらが多様な臨床症状を説明するものと考えられる。

E. 結論

本研究の結果から、CAEBV の活動期における臨床病理学的な特徴が分かってきた。CAEBV の活動期において TFH 細胞/B 細胞の増加、EBV 陽性 B 細胞の増加を引き起こす原因について今後明らかにしていく必要がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yoshimura T, Miyoshi H, Shimono J, Nakashima K, Takeuchi M, Yanagida E, Yamada K, Shimasaki Y, Moritsubo M, Furuta T, Khono K, Ohshima K. CD37 expression in follicular lymphoma. *Ann Hematol*, 2022, 101(5): 1067-1075. PMID: 35171311. doi: 10.1007/s00277-022-04785-z.
- 2) Nagamine M, Miyoshi H, Kawamoto K, Takauchi M, Yamada K, Yanagida E, Kohno K, Ohshima K. Clinicopathological analysis of myeloid sarcoma with megakaryocytic differentiation. *Pathology*. 2022, 54(4): 442-448. PMID: 34852914. doi: 10.1016/j.pathol.2021.08.015.
- 3) Miyawaki K, Kato K, Sugio T, Sasaki K, Miyoshi H, Semba Y, Kikushige Y, Mori Y, Kunisaki Y, Iwasaki H, Miyamoto T, Kuo FC, Aster JC, Ohshima K, Maeda T, Akashi K. A germinal center-associated microenvironmental signature reflects malignant phenotype and outcome of DLBCL. *Blood Adv*, 2022, 6(7): 2388-2402. PMID: 34638128. doi: 10.1182/bloodadvances.2021004618.
- 4) Matsuda K, Sugita Y, Furuta T,

- Moritsubo M, Ohshima K, Morioka M, Takahashi K, Higaki K, Kakita A. Elevated expression of transforming acidic coiled - coil - containing protein 3 (TACC3) reflects aggressiveness of primary central nervous system lymphomas. *Pathol Int*, 2022, 72(9):437-443. PMID: 35959857. doi: 10.1111/pin.13264.
- 5) Imaizumi Y, Iwanaga M, Ishitsuka K, Ishizawa K, Ito S, Amano M, Ishida T, Uike N, Utsunomiya A, Ohshima K, Tanaka J, Tokura Y, Tobinai K, Watanabe T, Uchimaru K, Tsukasaki K. Validation of the iATL - PI prognostic index in therapeutic decision-making for patients with smoldering and chronic ATL: a multicenter study. *Int J Hematol*, 2023, 117(2): 206-215. PMID: 36308678. doi: 10.1007/s12185-022-03473-y.
- 6) Kuhara A, Sumi A, Chikasue T, Kawaguchi A, Tanoue A, Nagata S, Koganemagu M, Abe T, Kashihara M, Mitsuoka M, Ishii H, Ohshima K, NC Leung A, Fujimoto K. Utility of non - contrast - enhanced magnetic resonance imaging in predicting preoperative clinical stage and prognosis in patients with thymic epithelial tumor. *Jpn J Radiol*, 2023, 41(3): 302-311. PMID: 36374474. doi: 10.1007/s11604-022-01358-y.
- 7) Takagi Y, Hashimoto N, Masuda H, Miyoshi H, Ohshima K, Hontani H, Takeuchi I. Transformer-based personalized attention mechanism for medical images with clinical records. *J Pathol Inform*, 2023, 14: 100185. PMID: 36691660. doi: 10.1016/j.jpi.2022.100185.
2. 学会発表
日本血液学会学術集会の発表に申請中
3. 一般向け講演会
特記事項なし
- H. 知的財産権の出現・登録状況
1. 特許取得
特記事項なし
2. 実用新案登録
特記事項なし
3. その他
特記事項なし