

平成21年2月

金井亨輔 学位論文審査要旨

主 査 林 一 彦
副主査 林 眞 一
同 西 連 寺 剛

主論文

Difference of Epstein-Barr virus isolates from Japanese patients and African Burkitt's lymphoma cell lines based on the sequence of latent membrane protein 1

(EBウイルスのlatent membrane protein 1遺伝子配列からみた日本人患者及びアフリカ人のバーキットリンパ腫細胞株から単離されたEBウイルスの相違)

(著者：金井亨輔、佐藤幸夫、齋木由利子、大谷明夫、西連寺剛)

平成19年 Virus Genes 34巻 55頁～61頁

学 位 論 文 要 旨

Difference of Epstein-Barr virus isolates from Japanese patients and African Burkitt's lymphoma cell lines based on the sequence of latent membrane protein 1 (EBウイルスのlatent membrane protein1遺伝子配列からみた日本人患者及びアフリカ人のバーキットリンパ腫細胞株から単離されたEBウイルスの相違)

Epstein-Barr virus (EBV)は、ヒトに普遍的に潜伏感染しており、伝染性単核球症以外にリンパ腫や咽頭癌、胃癌等の種々の腫瘍との関連が知られている。特にアフリカのバーキットリンパ腫や中国南部の咽頭癌のように疾患特異的に好発する地域がある。EBVの潜伏感染遺伝子のうちでlatent membrane protein 1 (LMP1)は、癌原性ウイルスタンパクであり、齧歯類の線維芽細胞の形質転換やBリンパ球の形質転換に必須とされている。さらにLMP1のC末端の30塩基欠損株はより悪性度が高いとの説がある一方で、地域的特性に過ぎないとの主張もある。

本研究では、日本の胃癌や末梢血液やバーキットリンパ腫株とアメリカやアフリカ由来のバーキットリンパ腫株等に由来するEBV LMP1のC末端の塩基配列ならびにアミノ酸配列を決定し、そのLMP1の系統樹を作成してEBVにおける変異と地域的特性の関連等を検討した。

方 法

日本人のEBウイルス (EBV) 関連胃癌組織、末梢血単核球及び各種EBV感染細胞株 (B95-8、Raji、Akata、Namalwa、Daudi、P3HR-1、EB1、OB、NPC-KT) からDNAを抽出し、PCRを用いてLMP1遺伝子のC末端領域(168122-168619 : 498bp)を増幅した。このPCR産物の塩基配列をダイレクトシーケンス法で解析した。得られた塩基配列をアミノ酸配列に変換し、B95-8 EBV DNAを基準としてEBV間での差異を検討し、そのデータをもとに近隣結合法を用いてLMP1系統樹を作成し、EBVにおける変異状態を検討した。

結 果

全てのサンプルでLMP1 C末端の塩基配列のデータが得られた。日本人のEBV関連胃癌6例と日本人末梢血単核球2例の全てに30塩基(nu:168256-168285 aa:HSHDSGHGGG ;346-355)の欠失が見られた。本欠失は、日本人由来細胞株であるAkata、OB及びNPC-KTでも同様に見られた。しかし、アメリカ由来B95-8、アフリカバーキットリンパ腫 (BL) 由来Raji、

Namalwa、Daudi、EB1 及び P3HR-1 の EBV では検出されなかった。

日本人の EBV のほとんどで aa:309 でセリンがアスパラギンに、322 でグルタミンがアスパラギンに、334 でグルタミンがアルギニンに、338 でロイシンがセリンに、366 でセリンがスレオニンへの特異的変異が見られた。系統樹解析から日本人由来の EBV はアメリカ由来の B95-8 やアフリカバーキットリンパ腫株の EBV とは大きく異なり、中国南部に偏在する EBV 亜型の 1 つである China1 に合致する事が判明した。

結 論

本研究より、日本人に感染している EBV は、アフリカ人由来のバーキットリンパ腫細胞株における EBV とは大きく異なり、中国南部に偏在する EBV 系統の 1 つである China1 である事が明らかになった。この事実は EBV が人種依存的に変異し進化した可能性が LMP1 遺伝子より推測された。