

[別紙 1]

論文の内容の要旨

論文題目 Human herpesvirus 8 の遺伝子多型とカポジ肉腫の病態に関する研究

指導教官 岩本 愛吉教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 11 年 4 月入学

医学博士課程

内科学専攻

氏名 遠藤 宗臣

[序文]

1994 年に Chang らがカポジ肉腫 (Kaposi's sarcoma: KS) 組織中にヘルペス属ウイルスの特徴を持つ DNA 断片を発見し、1996 年に Russo らがこのヘルペス属ウイルス全長を同定し、このウイルスが gamma-2 herpesvirus に分類され、herpesvirus saimiri に近縁なウイルスであることがわかった。当初この DNA 断片が KS 組織で検出されることから Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV) と呼ばれたが、KS の他に body cavity-based lymphoma (BCBL) または primary effusion lymphoma (PEL)、Castleman's disease (CD) と密接な関係も認められており、8 番目に発見されたヘルペスウイルスということで Human herpesvirus 8 (HHV-8) と呼ばれている。

HHV-8 は、140.5 kb のゲノムから構成され、85 以上の open reading frames (ORFs)

が存在し、その中には herpesvirus saimiri の ORFs と類似性のあるものもみられる。これらの ORFs の中には、細胞増殖に影響を与える物質のホモログをコードする ORF が存在し、KS や PEL や CD など HHV-8 関連疾患を発症している可能性が示唆されている。

KS は 1872 年にハンガリーの皮膚科医 Moritz Kaposi によって初めて報告された、皮膚および内臓の肉腫性病変である。疫学的に、地中海周辺や東ヨーロッパの老人にみられる古典型、中央アフリカの小児にみられる地方病型、臓器移植後の免疫抑制剤を使用している患者にみられる後天型、HIV-1 感染症に合併する流行型に分類される。比較的まれな疾患であったが、HIV-1 感染症の蔓延により流行型が急増してきている。

HHV-8 DNA が KS 組織から検出されていることから、HHV-8 が KS の発生に深く関与していると考えられるが、全ての HHV-8 感染者に KS が発生するわけではなく、宿主の免疫能やサイトカイン産生も KS の発生に重要な役割を演じるものと考えられる。

これまでの研究から、HHV-8 ゲノムには高率に変異をもつ ORF-K1 が存在し、この遺伝子多型により HHV-8 はサブタイプ A、B、C、D の 4 つに分類できることが明らかになっている。また近年、HHV-8 ゲノムの ORF26 に、ORF-K1 の遺伝子多型に連鎖する single nucleotide polymorphisms (SNPs) が存在することが報告されている。

[目的]

日本人の HIV-1 感染者に由来する HHV-8 の分子生物学的特徴を解析した。

[方法]

日本人 HIV-1 感染者の末梢血単核球およびカポジ肉腫組織から nested-PCR 法を用いて HHV-8 の ORF-K1 と ORF26 遺伝子多型を解析した。

[結果]

27 名の PBMCs DNA を用いて ORF-K1 の nested PCR を行ったが、ORF-K1 DNA 断片は 27 名のうち 2 名からしか得ることができなかったが、KS 組織由来 DNA では 4 名

全例で得ることができた。これら 6 名の HHV-8 のサブタイプは、A1 (1 名)、A1' (1 名)、A4 (2 名)、A5 (1 名)、C3' (1 名) に分類することができた。

ORF-K1 を標的にした PCR の感度が低いため、ORF-K1 の遺伝子多型に連鎖する ORF26 SNPs を解析した。ORF26 DNA 断片は、PBMCs DNA からは 59 名全員、KS 組織 DNA からも 4 名全員得ることができた。各症例の ORF26 の SNP パターンから類推される HHV-8 のサブタイプは、A3 が 37 名、C2' が 2 名、C3 が 4 名、A または D (A/D) が 13 名と分類することができた。

59 症例の HHV-8 の ORF26 SNPs の変異パターンは、8 つのタイプに分類され、ORF26 SNPs タイプ 1 は日本人の HIV-1 感染患者において最も多く、次にタイプ 2 が多く認められた。タイプ 3 から 8 は少人数ではあったが、KS に罹患した患者はタイプ 1 やタイプ 2 よりも高率に認められた。ORF26 の遺伝子多型と HHV-8 感染症の臨床病態の関係を検討するために、ORF26 SNPs パターンの 8 タイプを系統樹解析を用いて分類した。ORF26 SNPs パターンは、グループ I (タイプ 1、2)、グループ II (タイプ 4、5、6)、グループ III (タイプ 3、7、8) の 3 グループに分類することができ、これらの 3 グループにおいて、各グループ間の患者の臨床パラメーターを比較したところ、KS を罹患した患者数において、グループ I と III の間で統計学的差異が認められた ($p=0.0435$)。

さらに、ORF26 多型性と KS 発症の関連を、ORF26 の 8 箇所の各 SNP で比較検討し、KS に罹患した患者と罹患していない患者を各 SNPs 間で比較すると、1032 番の C→A 変異と 1055 番の G→T 変異を有する HHV-8 感染者では他の SNPs よりも KS 罹患が多いことが統計学的に認められた ($p=0.0106$)。

[考察]

ORF-K1 を標的とした PCR は効率が悪く末梢血単核球由来の DNA からはシーケンスを得ることが困難であったが、ORF26 を標的とした場合は全例でシーケンスを得ることができた。59 例の HHV-8 ORF26 の塩基配列を解析した結果、多くの日本

人における HHV-8 が米国に多いサブタイプ A に分類され、日米間の HHV-8 の疫学的関係が明らかとなった。

ORF26 SNPs タイプ 3、7、8（グループⅢ）の HHV-8 感染患者は他の SNPs タイプよりも高頻度に KS を発症することが認められた。KS 発症に注目して各々の SNPs を単独で比較検討してみたところ、互いに連鎖する 1032 番の C→A 変異と 1055 番の G→T 変異が存在する SNPs タイプ 3 とタイプ 8 に高率に KS の発症が認められた。

現在のところ、ORF26 SNPs 1032 番と 1055 番が KS 発症に影響するメカニズムは不明であるが、HHV-8 についての分子生物学的知見から以下のような仮説を考えることができる。

〈仮説〉 ORF26 の遺伝子多型と連鎖する他の機能遺伝子多型の存在

- (1) HHV-8 の病原性の変化
- (2) 背景にある HIV-1 感染症への影響

ORF26 SNPs と KS 発症のメカニズムを明らかにするためには、HHV-8 ゲノムの多型性を広範に解析し、さらに多くの症例において我々の ORF の遺伝子多型と KS の関係について比較検討する必要があると考える。

HHV-8 の遺伝子多型と生物学的特性や臨床的表現型については、過去にいくつかの報告がなされているが、KS の発症頻度に言及した報告はなく、本研究は HHV-8 の遺伝子多型と KS 発症の関連を示す最初の報告と考えられる。本研究で明らかにしたように ORF-K1 を標的とした PCR が低効率のために、従来の ORF-K1 遺伝子多型を解析するには KS などの腫瘍組織由来の DNA を用いて PCR を行う必要がある。これに対し、ORF26 SNPs による HHV-8 の遺伝子多型の解析は、末梢血を用いて行うことができるため、KS の有無にかかわらず全 HHV-8 感染者において可能である。このことより、ORF26 SNPs を用いた研究は、異なる地域における多数の HHV-8 感染者を解析するための有益な方法になると考えられる。