

## 論文の内容の要旨

**論文題目** The oncogenic potential of human papillomavirus 18, 33, 52 and 58 E6 variants in Japanese women with cervical intraepithelial neoplasia/invasive cervical cancer.

**和訳** 日本人女性子宮頸癌、および子宮頸部異型上皮症における HPV 18, 33, 52 and 58 E6 variants の検索とその発癌性の検討

指導教官 武谷 雄二 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成十一年四月入学

医学博士課程

生殖・発達・加齢医学専攻

氏名 山田 真紀子

### [研究目的、背景]

子宮頸癌は全世界的に女性癌の罹患率、死亡率において乳癌について二位を占めている。現在では特定の Human papilloma virus (以下 HPV の 16,18,31,33,52,58 型など) 感染が子宮頸癌やその前駆病変である子宮頸部異型上皮症の発生に深く関与していると考えられる。HPV ゲノムは約 8,000 塩基対の環状二本鎖 DNA で、上流調節領域(upstream regulatory region, 以下 URR と略)、初期発現(E)領域、後期発現(L)領域の三領域から構成されている。URR は非コード領域 (noncoding region) で主な機能は初期領

域等の下流シーケンスの転写調節である。初期領域は細胞ゲノムとの相互作用によりウイルス複製をプログラミングしている。後期領域はウイルス粒子の被殻タンパク質をコードしている。E6 および E7 遺伝子は正常上皮細胞を癌細胞へ形質転換するタンパク質（癌タンパク質）の転写に関わる遺伝子である。

これまでの研究で、HPV16 E6, E7 遺伝子の継続的発現が癌細胞の増殖能の維持に重要な作用が持っており、癌化の過程でE6, E7遺伝子の高発現がおきることが明らかにされてきたが、発現が増大する機構は不明な点が多い。E6癌蛋白は癌抑制蛋白であるP53を、ユビキチンを介するメカニズムで分解し、E7癌蛋白は癌抑制蛋白であるpRbを結合し、それを不活性化することにより発癌に関与すると考えられている。HPVはDNAのhomologyによりどのタイプとも10%以上異なるものは新しいtypeに、2~10%の範囲内で最初に同定されたprototypeと異なるものはsubtypeに分類されるが、prototypeと2%未満の変異を持ったものはvariantと分類される。近年、HPV16型ではE6 variantと発癌リスクの関連が報告されている。日本で子宮頸癌から検出されるHPVのtype別の頻度をみると、日本ではハイリスク型といわれるHPV16に続いて、HPV18、HPV33、52、58型が子宮頸癌病変から高頻度で検出される。HPV16ではE6 variantと子宮頸部発癌のリスクとの関連が指摘されているが、HPV18, 33, 52, 58型などのほかのハイリスクHPVについてはそのvariantと発癌リスクの関連についてこれまで報告がない。HPV16とhomologyの高いHPV18, 33, 52, 58に注目し、

それらの型のE6 variantと発癌との関連を調べることを本研究の目的とした。

#### [方法と結果]

(1) 患者の選択：子宮頸部浸潤癌 (ICC) およびその前癌病変である異型上皮症 cervical intraepithelial neoplasias (CIN)

HPV18 DNA 陽性患者 16 例、HPV33 DNA 陽性患者 20 例、HPV52 DNA 陽性患者 46 例、HPV58 DNA 陽性患者 41 例から検出された各 HPV の E6 領域を PCR 法で増幅し、DNA シークエンスを行いその variation を解析した。各サンプルから得られた DNA シークエンスのデータは software DNASIS を用いて解析した。

(2) HPV18、33、52、58 型 DNA シークエンスの比較

HPV33 型では DNA シークエンスで 14 ヶ所に variation が見付き、アミノ酸シークエンスである 9 ヶ所の variation が見つかったが、その中で 35 番目のリシン (K) がアスパラギン (N) に置き換わった variant である K35N がもっとも高頻度に見つかった。

HPV18 型においては、2 ヶ所の DNA mutation が見つかったが、そのほとんどが silent mutation で、アミノ酸シークエンス上の variant は Q62Hvariant のみであった。

HPV52 型においては、4 ヶ所の DNA mutation が見つかったが、その多くが silent mutation で、アミノ酸シークエンス上の variant は K93R variant のみであった。46 例中 45 例が K93R variant であった。浸潤癌の 1 例のみ

で prototype が検出された。

HPV58 型においても 3 ヶ所の DNA variation が見つかったが、その多くが silent mutation で、アミノ酸シーケンス上の variant は D86E variant のみであった。40 例の中で 39 例は prototype で、CIN III の 1 例のみで D86Evariant が検出された。

#### [考察]

今までの研究によると、HPVは二つの癌遺伝子であるE6, E7の発現によるヒトの癌抑制蛋白であるP53,Rbの不活性化により発癌に関与すると考えられているが、異型上皮症から癌化に至るまでには他の癌と同様、宿主因子や環境因子それに確率的な偶然が関わっていると考えられる。

HPV33型陽性軽度異型上皮症 (CIN I)/中度異型上皮症 (CIN II)では7例中、variantsは5例で71%の比率であったのに対して、高度異型上皮症、上皮内癌 (CIN III)/浸潤癌 (ICCs)では13例中、variantsは2例のみで15%の比率であった。この分布の違いには統計的有意差が認められた。したがって、HPV33型のprototypeは初期前癌病変から高度の前癌病変及び浸潤癌への進展するリスクが有意に高いと考えられた。variantと比較した相対危険度は13.8倍でした。HPV18, 52, 58ではvariationそのものがほとんど存在なかった。結論としてHPV E6 variationが子宮頸部発癌のリスクに関連する可能性があり、E6 variationの解析はHPV33 DNA陽性CIN患者において、フォローアップの方針や、疾患の管理の決定に有用となる可能性が示唆された。