

## 論文の内容の要旨

論文題目 ASSOCIATION OF EPSTEIN-BARR VIRUS AND HOST SUSCEPTIBILITY GENES WITH NASOPHARYNGEAL CARCINOMA IN THAILAND

(タイ国の上咽頭癌におけるEBウイルス及び宿主遺伝子の研究)

氏名 ティワウェッチ ダナイ

上咽頭癌は世界的に見れば稀な腫瘍であるが、中国南部、及び、東南アジアに多発し、アラスカ、北アフリカにも認められる。地理あるいは民族に依存した発症パターンを示す点は、医人類学・民族疫学的興味を引く疾患である。放射線治療後の患者生存率は3年で71%、5年で59%とその効果は認めらるものの、早期発見が望まれている。疫学的研究から、上咽頭癌発症には、Epstein-Barr (EB) ウイルス感染、環境要因、及び、宿主の遺伝的感受性といった多因子が関与していると考えられている。生活様式に関しては、薬用植物、ジメチルニトロソアミンを含む魚の発酵食品の使用、飲酒・喫煙、そして、ホルムアルデヒド、クロロフェノールへの職業被ばくも環境上の危険要因として認識されている。東北タイの上咽頭癌に関する研究では、発酵海産魚食品・農業従事・木材の伐採が危険因子として挙げられた。遺伝的要因として、癌感受性遺伝子、HLA、及び、インターフェロン $\gamma$ 、p53等が上咽頭癌発症に関係すると言われ、上咽頭癌の発症に関しては多面的の研究が必要である。本研究では、タイにおける上咽頭癌がEBウイルスと癌感受性遺伝子とどのように関係しているかについて、検索をおこなった。

EBウイルスは上咽頭癌発症の重要な要因の1つである。上咽頭癌ではEBウイルスの早期抗原(EA)・ウイルスキャプシド抗原(VCA)に対する高い血中抗体価が知られ、IgA/EA、IgA/VCA、及び、IgG/EAは、上咽頭癌における有用な血清マーカーである。タイにおける79人の上咽頭癌患者と127人の対照群を対象に、これらの抗体の有無と抗体価を間接蛍光抗体法により検索した。上咽頭癌患者では、IgA/EA、IgA/VCA、及び、IgG/EAの幾何平均抗体価は、癌の進行と共に増加し、IgG/VCAの幾何平均抗体価は組織型に関連し増加する傾向が見られた。この結果は、これらの血清マーカーがタイの上咽頭癌の分析に有用であることを示唆している。

EBウイルスゲノムには多様性が知られ、それらのうちEBV1型、及び、30-塩基対欠失(de1-LMP1)を持つLMP1遺伝子の変異型は、アジアの上咽頭癌に関連していると言われている。上咽頭癌発症にウイルスの多様性が関与しているかを明らかにするため、タイ人のEBV遺伝子型を検索した。上咽頭癌患者、及び、対照群におけるのEBV1型、及び、LMP1変異型の頻度は、PCR法により分析した。患者と対照群の間のEBV1型の頻度に有意な違いはみいだされなかった。EBV1型は、患者(94.1%)と対照群(96.9%)共に高頻度でみいだされ、EBV2型は稀であった。患者でのde1-LMP1の頻度(58.7%)は、対照群(36.4%)のものより著しく高いことがわかった( $p<0.05$ )。さらに、de1-LMP1保有者は上咽頭癌発症に関し2.5倍高いリスクを伴っていることが注目された。上咽頭癌患者の間で、男女、組織型、及び、進行度について、EBV亜型(1/2型)の頻度に差は観察

されなかった。患者のLMP1のアミノ酸配列の多様性は、先行研究で知られているEBウイルス亜型に概ね分類されたが、新たな亜型 (Thai1) の存在も確認された。以上の結果から、del-LMP1が上咽頭癌発症に関わっていることを示唆し、タイにおける上咽頭癌の早期発見、分析、及び、予後のための分子のマーカーとして期待される。

p53は細胞の分裂・増殖・アポトーシスにかかわる重要なタンパク質で、上咽頭癌を含む様々な癌に関係している。p53コドン72多型(Pro/Arg)がタイの上咽頭癌発症に関する遺伝的リスク要因となるかを検討するため、タイ人の102人の上咽頭癌患者、及び、148人の対照群について、この多型の遺伝子型頻度をPCR-RFLP法を用い検索した。患者と対照群の中で遺伝子型頻度あるいは対立遺伝子頻度に差は観察されなかった ( $p>0.05$ )。上咽頭癌患者の間で、男女、組織型、及び、病期でp53遺伝子型頻度に差は観察されなかった。患者と対照群を、 $>40$ 、 $>45$ 、及び、 $>50$ 歳の3つの年齢群へ分類すると、p53遺伝子型頻度に差が見られた ( $p<0.05$ )。Pro型対立遺伝子をホモ接合で持つ人は上咽頭癌の発症が、 $>40$ 歳で2-3倍高いリスクを示し、そのリスクは年齢と共に増加していた。タイ人集団では、高年齢における上咽頭癌とp53遺伝子多型が関連することが示唆された。

グルタチオンS転移酵素M1遺伝子(GSTM1)は多くの発癌物質の解毒に関わる酵素をコードしている。GSTM1には遺伝的多型が知られ、その欠損遺伝子型は、上咽頭癌を含むいくつかの癌感受性に関係していると言われている。GSTM1と上咽頭癌の関係を知るため、78人の上咽頭癌患者と145人の対照群のGSTM1遺伝子型を決定した。患者と対照群の間で遺伝子型頻度に差は観察されなかった ( $p>0.05$ )。また、患者の中では、男女、組織型、及び、病期でGSTM1遺伝子型の頻度に差は観察されなかった。年齢について見ると、GSTM1欠損遺伝子型の頻度は $>45$ 、及び、 $>50$ 歳群で著しく異なっていた ( $p<0.05$ )。これらの結果から、上咽頭癌感受性とGSTM1多型が関連することが示唆された。

チトクロムP450 2A6遺伝子(CYP2A6)は、発癌性のニトロソアミンの活性化に関与する酵素をコードしている。前発癌物質を発癌物質へ活性化する過程にかかわる酵素活性に欠けるCYP2A6\*4Cをホモあるいはヘテロ接合で持つと、様々な癌発症リスクが変化すると報告されている。そこで、PCR-RFLP法を用い、74人の上咽頭癌患者、及び、137人の対照群のCYP2A6の遺伝子型を調べた。CYP2A6多型では、患者と対照群で差が見いだされた ( $p<0.05$ )。少なくとも1つのCYP2A6\*4Cを持つと、全体では上咽頭癌のリスクが3倍高く、男性では女性より11倍近く高いリスクを負うという結果が得られた。上咽頭癌患者の中では、少なくとも1つのCYP2A6\*4Cを持つと、WHO分類のI型でOR値は16.7とWHOII型、及び、WHOI型に比べ、それぞれ5、9倍高いリスクを示した。一方、病期I&IIの患者ではOR値は16.7であり、病期III&IVの患者より9倍高いリスクを示した。この結果は、CYP2A6多型が上咽頭癌発症に重要な役割を果たし、タイ人集団において上咽頭癌発症と癌の進行に関するマーカーとして用いられることを示唆している。

p53 コドン 72 多型の Pro/Pro 遺伝子型、GSTM1 欠損 遺伝子型、及び、CYP2A6 の \*1A/\*4C+\*1B/\*4C+\*4C/\*4C遺伝子型は、上咽頭癌発症に関わる潜在的高リスク遺伝子型と考えられた。そこで、これらの遺伝子型の組合せを考えてみたところ、非リスク遺伝子型を持つ人と比較すると、感受性遺伝子の2つ、及び、3つの高リスク遺伝子型を持つ個体は、2.6倍高いリスクを示し、上咽頭癌を発症する際、宿主の感受性遺伝子の組合せが重要であることが示唆された。

上述したように、EBウイルス側からはLMP1のdel-LMP1亜型が上咽頭癌の危険因子である一方、宿主の感受性遺伝子の組合せも上咽頭癌発症の危険を増加させている。そこで、EBウイルスと感受性遺伝子の関連性を検索するために、del-LMP1亜型、及び、感受性遺伝子の組合せについて検討した。その結果、感受性遺伝子の危険遺伝子型とdel-LMP1亜型の間に関連は見いだされず、EBウイルスと宿主の感受性遺伝子は上咽頭癌発症に関し独立した役割を担っていることが

考えられた。

上記の結果に基づき、(1)EBウイルスと宿主の感受性遺伝子は上咽頭癌発症に中心的な役割を果たすこと、(2)宿主の感受性遺伝子の組合せは、上咽頭癌発症リスクに関し相乗効果を持つ可能性があること、(3)ただし、EBウイルスと宿主の感受性遺伝子の間には、上咽頭癌発症に関しそれらの影響は独立していると考えられることから、EBウイルスに関する血清・ゲノム指標と、宿主の感受性遺伝子多型情報を併用することで、タイの上咽頭癌の早期診断に貢献できると結論づけた。