

論文の内容の要旨

論文題目 上咽頭癌および原発不明癌頸部リンパ節転移例における In situ Hybridization 法を用いた Epstein-Barr Virus encoded small RNA-1 の意義に関する研究

氏名 中尾 一成

上咽頭癌の発癌過程における Epstein-Barr Virus (以下 EBV と略す) の関与についてはすでに言われて久しく、ウィルス発癌の典型的なモデルとして年余の研究がなされている。しかしながらすべての上咽頭癌がウィルス原性か否か、多段階発癌のなかで他の発癌因子と如何に関るのか、ウィルス原性の有無が予後に関与するか、など議論も多くいまだに解明されていない点である。また台湾や中国東南部など一部地域における上咽頭癌の爆発的発症の原因については依然解明されないまま残されている。

本研究においては、上咽頭癌組織、特に転移リンパ節における EBV の検出法として、In situ Hybridization 法を用いた Epstein-Barr Virus encoded small RNA-1 (以下 EBER と略す) の同定 (以下 EBER-ISH と略す) の有用性について検証するとともに、この方法の原発不明癌頸部リンパ節転移例の原発巣検索としての意義について検討した。また同時に EBER-ISH の信号が上咽頭癌の予後に与える影響についても検討を加えた。

対象・方法

1985年-2003年の19年間に東大病院耳鼻咽喉科を受診し上咽頭癌と診断された53例のうち粘膜上皮に由来しないと考えられる腺様嚢胞癌の2例を除外した51例(男42例 女9例; 21歳~80歳 平均53.1歳)を対象として、臨床的・分子生物学的見地から検討を加えた。

上咽頭からの生検によって得られた利用可能な 30 例のパラフィン包埋切片、頸部郭清術やリンパ節摘出により得られた 6 例の上咽頭癌転移リンパ節のパラフィン包埋切片、および原発不明癌頸部リンパ節転移症例に対する頸部郭清術により摘出された 12 例の転移リンパ節のパラフィン包埋切片を対象として EBER-ISH を施行した。対照として 13 例の頭頸部腫瘍の原発巣または転移リンパ節のパラフィン包埋切片を用いた。上咽頭原発巣については H-E 染色を行い、WHO の病理組織学的分類（1991）にしたがって以下の 3 つのカテゴリーに分類した。その内容について下記に示す。

上咽頭原発巣（30 例）

WHO type I 3 例

WHO type II 10 例

WHO type III 17 例

上咽頭癌転移リンパ節（6 例）

WHO type II 2 例

WHO type III 4 例

原発不明扁平上皮癌転移リンパ節（12 例）

対照（13 例）

上咽頭癌原発巣(腺様嚢胞癌)	1 例
中咽頭扁平上皮癌転移リンパ節	8 例
ホジキン病リンパ節	1 例
舌癌転移リンパ節（低分化型扁平上皮癌）	1 例
鼻腔癌転移リンパ節（Transitional cell Ca）	1 例
前頭蓋底腫瘍（嗅神経芽細胞腫）	1 例

結果・結論

1. まず EBNA-1 をプローベとした DNA-ISH を施行したが、WHO type III の 1 例に陽性信号を認めたのみで、これ以外はすべて陰性であり、この方法は検査の感度に問題のあることが示唆された。
2. 上咽頭癌原発巣に対する EBER-ISH においては、30 例の上咽頭癌原発巣のうち 21 例が EBER-1 陽性、9 例が EBER-1 陰性を示した。WHO type III においては他の組織型に比して有意に高い EBER-1 の発現率を認めた。
上咽頭癌転移リンパ節に対する EBER-ISH においては、上咽頭癌転移リンパ節標本 6 例のうち、3 例が EBER-1 陽性、3 例が EBER-1 陰性を示した。陽性例はすべて WHO type III であった。転移リンパ節における EBER-ISH の結果はすべて相当する原発巣からの結果と一致した。

上咽頭癌における EBV の証明において EBER-ISH は優れた sensitivity を有する検査法であり、原発巣・転移リンパ節のいずれに対しても EBV の検出が可能であった。組織別の検討では、WHO type III は EBV との関連がより密接であり、一方 WHO type I は関連が希薄であった。

3. 同時に p53 に対する免疫組織染色も施行したが、上咽頭癌 原発巣/転移リンパ節、原発不明扁平上皮癌転移リンパ節、対照症例とも高率に陽性例を認めた。上咽頭癌における p53 陽性例は EBER-ISH の結果と有意な相関を認めなかった。EBER-1 と p53 の発現については独立してそれぞれ多段階発癌の異なる step に関与しているものと考えられた。
4. 原発不明癌頸部リンパ節転移例の EBER-ISH を用いた原発巣の検索においては、原発不明癌頸部リンパ節転移症例 12 例中、1 例が EBER-1 陽性を示した。今後、EBER-ISH が原発不明癌頸部リンパ節転移症例における原発巣検索の一助となりうることが示唆された。
5. 臨床的な検討において EBER-ISH の信号は上咽頭癌の予後と有意に相関することが示された。WHO type I・II の組織型においても EBER-ISH 陽性例の予後が有意に良好であることから、予後を規定する因子として、組織型よりもむしろ EBV 関連であるか否かが重要と考えられた。
6. 本研究で示された EBER 陽性例の疾患特異的生存率は endemic area から報告される上咽頭癌全体の生存率に類したものであったのに対し、EBER 陰性例の生存率はむしろ本邦における中咽頭癌や下咽頭癌のそれに近い数字であった。本研究の結果と、国内外の上咽頭癌に関する論文の内容を勘案するに、Endemic area と non-endemic area における上咽頭癌については同一の視点で論ずるべきではなく、我々、non-endemic area に属する者にとっては、むしろ endemic area からの報告では無視されていると思われる EBER 陰性の上咽頭癌について治療戦略を構築してゆくことがより重要と考えられた。