

論文内容要旨

口腔扁平上皮癌の臨床病態における human papilloma virus (HPV) 16 の関与

主指導教員：岡本 哲治 教授

(医歯薬保健学研究科 分子口腔医学・顎顔面外科学)

副指導教員：兼松 隆 教授

(医歯薬保健学研究科 細胞分子薬理学)

副指導教員：柴 秀樹 教授

(医歯薬保健学研究科 歯髓生物学)

林 靖也

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

【緒言】

口腔癌は、その組織型の 80%以上が扁平上皮癌で、中高年の男性に好発し若年者では少ない。頭頸部癌の発症には、タバコやアルコールが関連していることがよく知られている。欧米では、タバコ消費量の減少により、口腔癌、喉頭癌などの頭頸部癌の発生率は減少している。HPV による子宮頸癌や中咽頭癌の発症への関与は確定している。口腔癌においては、HPV-DNA が数%の頻度で検出されているものの発癌への関与はまだ明らかにされていない。タバコやアルコールへの暴露が少ない若年者の中咽頭癌や口腔癌の増加が注目を集めており、Human papilloma virus (HPV)の関与が疑われている。

p16 は、細胞周期に大きな役割を果たす一方、遺伝子変異が様々なガンにおいて検出され、がん抑制遺伝子として認知されている。HPV に関連した子宮頸癌や中咽頭癌では p16 の過剰発現が認められることから、p16 免疫染色性が HPV 関連腫瘍の代理マーカーとして用いられている。それと並行して直接的に HPV-DNA の検出することで HPV 関連腫瘍と診断することもある。しかし口腔扁平上皮癌において、p16 染色性が必ずしも HPV-DNA の有無と一致しないことが報告され、口腔癌では、p16 は HPV 関連腫瘍の代理マーカーとして評価されていない。High-risk HPV16 は幼少期から口腔内に存在し、しかもウイルス数は子宮の 2 倍以上とされ、口腔は汚染状態にある。また HPV が感染を生じても多くの場合、細胞内でエピゾームの状態で存在している。これらのことから腫瘍由来の HPV-DNA の存在が必ずしも発癌に関与するとは限らない。一方、発癌には、上皮基底細胞の DNA に HPV-DNA が integrate する必要があるが、そのコピー数は非常に少なく、PCR でも検出できないことがある。

HPV の持つがん遺伝子である E6 と E7 の高発現は、p53 や Rb を抑制し上皮細胞を癌化させる。従って、E6 や E7 の mRNA あるいは蛋白の発現を検出することにより HPV の感染のみならず発癌への関与が評価できると考えられる。一部では、E6/E7 の mRNA 高発現は、HPV 関連腫瘍の診断における gold standard と呼ばれる。

本研究では、p16 の免疫組織染色が口腔癌における HPV 関連腫瘍の代理マーカーになるかどうかを HPV-E6 mRNA の解析により明らかにする。

【対象と方法】

対象は、1998 年から 2018 年の間に、広島大学病院 顎・口腔外科を初診した口腔扁平上皮癌とした。生検材料や化学療法・放射線療法を受けていない手術材料の凍結組織から抽出した RNA を用いて HPV の遺伝子解析を行った。すなわち High-risk HPV16 の E6/E7 領域の mRNA の発現を RT-PCR を用いて検討した。またホルマリン固定パラフィン包埋組織を用いて p16 蛋白の免疫染色を行った。判定は、瀰漫性に細胞質が濃染された癌細胞が 50%以上の症例を陽性とした。さらに、p16 染色性と E6/E7 mRNA の発現から、口腔癌における HPV の関連を統計学的に検討した。また、p16 の

発現と臨床病態との関連について統計学的に検討した。舌癌患者における免疫細胞サブセット検査およびNK活性測定を行い、p16発現との関連を検討した。

【結果】

1. 舌癌 156 例中、p16 免疫染色陽性は 29 例（18.6%）、陰性は 127 例であった。
2. 舌癌において、p16 発現陽性群と陰性群の間の生存率には有意な差を認めなかった。
3. 口腔癌 37 例の凍結組織由来 RNA における HPV16 の E6 領域の mRNA の発現を RT-PCR で解析した結果、陽性 17 例（45.9%）、及び陰性 20 例（54.1%）であった。
4. p16 発現と HPV16 の E6 領域の mRNA の発現との間に関連性が認められた。
5. 舌癌の年齢別の p16 陽性率は、39 歳以下では 25 例中 11 例（44.0%）、40 歳以上 65 歳未満では 71 例中 8 例（11.3%）、65 歳以上では 70 例中 11 例（15.7%）であり、39 歳以下群の陽性率は他の群と比較して有意に高いことが明らかとなった。
6. 免疫細胞サブセット検査の結果、p16 陽性群において Helper inducer T 細胞および activated T 細胞の比率は p16 陰性群と比較し有意に低い値であった。

【考察】

口腔癌において、HPV16-E6 領域の mRNA の発現は p16 染色性と一致することが判明し、p16 の染色性は HPV 16 関連腫瘍の代理マーカーとなることが考えられた。さらに、口腔癌において、特に若年者の舌癌における HPV16 の関与の可能性が示唆された。p16 陽性患者における免疫能の低下が示唆された。