

主 論 文 要 旨

報告番号	甲 ㊦ 第	号	氏 名	甲 能 武 幸
主 論 文 題 名				
Activation of DNA damage repair factors in HPV positive oropharyngeal cancers (HPV関連中咽頭癌におけるDNA損傷修復系因子の活性化)				
(内容の要旨)				
<p>近年ヒトパピローマウイルス (HPV) が原因の中咽頭癌が急増している。子宮頸部の HPV感染上皮では、宿主のDNA損傷修復系因子の活性化がウイルスゲノムの維持・複製・増殖に重要な役割を果たし、癌化の要因となることが示されているが、頭頸部領域で同様の現象が起こるかは十分検証されていない。一方、近年の報告ではシチジン脱アミノ化酵素で抗ウイルス作用のあるapolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like (APOBEC) がDNA損傷にも大きく関与しており、そのAPOBECに特徴的なdC to dU変異が頭頸部癌を含む様々な癌種で確認されている。</p> <p>そこで、まずHPV陽性および陰性中咽頭癌の手術検体を収集し、p16免疫組織染色とIn situ ハイブリダイゼーション法にてHPV感染の有無を判定した後に、DNA損傷修復系因子やAPOBEC3AとAPOBEC3Bの発現を検討した。DNA損傷修復系因子は、子宮頸癌を対象とした先行研究でHPVの生活環に強い影響をもつことが示されたATR経路・ATM経路・FA経路の構成因子であるpCHK1,pCHK2, FANCD2,γH2Ax, BRCA1,RAD51,pSMC1を評価した。免疫蛍光染色ではこれら因子はいずれも扁平上皮癌細胞の核内でフォーカスを形成しており、正常上皮細胞と比べ有意に発現が亢進していた。特にATRおよびFA経路の因子はHPV陽性中咽頭癌において有意にフォーカスの量やサイズが大きくなっていったが、ATM経路の因子 (pCHK2) は子宮頸部とは異なりHPVの有無で発現量に有意差は認めなかった。APOBECに関しては、3Aは細胞質と核内両方に局在していたが3Bは核内のみ認め、いずれも癌組織に多かった。そして3Bは陽性癌において有意に多く発現していたが、3Aに関しては両群に統計学的有意差を認めなかった。次にこれら知見を深めるため、頭頸部癌細胞株を用いた検討も行った。HPV陽性細胞株はUPCI:SCC090、UPCI:SCC154を、HPV陰性細胞株はSCC9,SCC25,SCC68を用いた。その結果、免疫蛍光染色では手術検体の検討と同様に、ATRおよびFA経路の因子は核内におけるフォーカス形成の割合がHPV陽性中咽頭癌において有意に高かったが、ATM経路の因子 (pCHK2) は有意差を認めず、ウエスタンブロット法でも同様の知見だった。一方、APOBEC3AはHPV陽性細胞株に多い傾向があったが、APOBEC3Bは免疫染色とウエスタンブロット法のいずれにおいても両群に明らかな差を確認できなかった。免疫蛍光二重染色では、APOBEC3Bが多く発現している細胞においてDNA損傷修復系因子も核内に多くフォーカスを形成していた。</p> <p>これらから、頭頸部上皮細胞においてAPOBEC3B存在下のATRおよびFA経路の活性化がHPVによる癌化に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。</p>				