

Investigating the role of human papillomavirus in lung cancer

肺がんのヒト乳頭腫ウイルスの役割の調査

E. Argyri^a, E. Tsimplaki^a, C. Marketos^b, G. Politis^b, E. Panotopoulou^{a,*}

^a Virology Department, Saint Savvas General Anticancer Hospital, Athens, Greece

^b Pulmonary Department, Saint Savvas General Anticancer Hospital, Athens, Greece

ABSTRACT

肺がんは 160 万人に上る疾病率の男女の間で世界的に主要ながんである。ヒト乳頭腫ウイルスは調査の下で他でその組織を止めている間の子宮頸がんの原因因子である。我々のこの研究の目的は肺がん患者において高リスクの E6/E7 mRNA と同様の HPV DNA の提供試験をすることだ。肺組織は気管支鏡法の間に収集され、そして HPV DNA と E6/E7 mRNA の試験がされた。67 個の肺組織サンプルは分析された。年齢領域は 49-85 歳、平均 67.6 歳。9 人の患者は女性、58 人は男性だ。この研究は 12 個の小細胞肺がん (SCLC)、55 個の小型ではない細胞肺がん (NSCLC) を含む。HPV DNA は肺がんの場合の 3.0% に決定された、5 つの高リスクの HPV タイプの E6/E7 mRNA ではないものが組織サンプル試験で見つかった間に。2 人の陽性の患者は HPV に関する処置は前歴にはなかった。mRNA 試験を悪性変形の HPV の組織のためのゴールドスタンダード (指摘基準) として使用した時、提供する結果は肺がんの HPV 状態の組織がないものを示される。さらなる肺がん組織の調査は安全な終結に達することを要求される。

1. はじめに

肺がんは世界的に主要ながんで、どちらの性別でも 160 万人近く死亡したと勘定された 2012 年の場合で 180 万人の男女の間 [1]。タバコ喫煙が肺の発癌の疫学的の主な原因であると残っていて、アメリカとヨーロッパの男性のがんの場合の 90% 以上と女性の場合 75% 以上がその原因である [2, 3]。しかし、非喫煙者の間でもなっている肺がんの多くのケースが記録されている。幾つかの調査員が肺がんの原因を非喫煙者のラドン、アスベスト、環境中のタバコの煙、空気汚染、ヒト乳頭腫ウイルス、遺伝子の突然変異、染色体異常、そして DNA のメチル化について研究している [4]。

[1] World Health Organization. International agency for research on cancer. GLOBOCAN 2012. Cancer fact sheets. Available at: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx

[2] D.M. Parkin, F. Bray, J. Ferlay, P. Pisani, Global cancer statistics, 2002, *CACancer J. Clin.* 55 (2005) 74–108.

[3] J.E. Tyczynski, F. Bray, D.M. Parkin, Lung cancer in Europe in 2000: Epidemiology, prevention, and early detection, *Lancet Oncol.* 4 (2003) 45–55.

[4] J. Subramanian, R. Govindan, Lung cancer in never smokers: a review, *J. Clin. Oncol.* 25 (2007) 561–570.

ヒト乳頭腫ウイルスは子宮頸がんの反感因子として、そして外陰部、膣、肛門、陰茎そして中咽頭のがんの比率として確立されている。しかし、その役割は口腔、喉頭そして肺がんを考えている調査の元で止めている。この研究は元に HPV によって発生する肛門生殖器のがんに類似した肺腫瘍の事実によって支えられている。Sryjanen 氏は腫瘍性気管支上皮にコンジローマ様癌の変化のケースを初めて報告した [5]。さらに事実を算出して、幾つかの研究が頭部と頸部癌で高リスク HPV タイプと喫煙の相乗作用の関連が証明された [6, 7]、HPV とタバコの影響が肺がんへの展開に相互作用することができたことが可能である。HPV 16、E6 そして E7 でタバコ喫煙が肺上皮細胞で HPV16 p97 の後援者を活動的にすることができると観測した [8]。自然発生からタバコ喫煙まで個別に発生することができる扁平円柱上皮の接合に加えて、HPV の側に入る方を選ぶ (?) [9]。

[5] K.J. Syrjänen, Condylomatous changes in neoplastic bronchial epithelium. Report of a case, *Respiration* 38 (1979) 299–304.

[6] S.M. Schwartz, J.R. Daling, D.R. Doody, G.C. Wipf, J.J. Carter, M.M. Madeleine, E.J. Mao, E.D. Fitzgibbons, S. Huang, A.M. Beckmann, J.K. McDougall, D.A. Galloway, Oral cancer risk in relation to sexual history and evidence of human papillomavirus infection, *J. Natl. Cancer Inst.* 90 (1998) 1626–1636.

- [7] E.M. Smith, L.M. Rubenstein, T.H. Haugen, E. Hamsikova, L.P. Turek, Tobacco and alcohol use increases the risk of both HPV-associated and HPV-independent head and neck cancers, *Cancer Causes Control*. 21 (2010) 1369–1378.
- [8] N. Peña, D. Carrillo, J.P. Muñoz, J. Chnaiderman, U. Urzúa, O. León, M.L. Tornesello, A.H. Corvalán, R. Soto-Rifo, F. Aguayo, Tobacco smoke activates human papillomavirus 16 p97 promoter and cooperates with high-risk E6/E7 for oxidative DNA damage in lung cells, *PLoS One* 10 (2015) e0123029.
- [9] K.J. Syrjänen, HPV infections and lung cancer, *J. Clin. Pathol.* 55 (2002) 885–891.

HPV 変形の分子メカニズムはここ 10 年前を超えてから広く研究されてきた。HPV 遺伝子は遺伝子副体として維持され、そしてウイルスはその DNA 総体を完全にするために宿主の細胞複製酵素に依存する。高い品質（重症な）の傷害において、HPV は宿主の染色体に統合して見つける [10, 11]。網膜芽腫の仲間 (RB, p107, p130) の最も区別されている多くの細胞のタンパク質は宿主の細胞周期を規制することによって激増過程を制御している。E7 高リスク HPV タンパク質は E2F の中だちの複製が起こっている高い親和性を持った Rb タンパク質と結合する [12, 13]。結果として E6 HPV タンパク質は p53 タンパク質抑制の腫瘍の標的に能力を展開して、したがって感染した細胞のアポトーシス（細胞死）を予防する。これらの 2 つのタンパク質は高い変形ポテンシャルを持ち、感染された細胞の S 期を促進に協力的に作用し、アポトーシスを避ける。この環境は遺伝子不安定性と細胞周期への干渉を通して、悪性の可能せいを提供する [14]。

本研究の目的は肺がん患者の HPV DNA および高リスク E6 / E7 mRNA の存在を調べること。

- [10] C. Ziegert, N. Wentzensen, S. Vinokurova, F. Kisseljev, J. Einkenkel, M. Hoeckel, M. von Knebel Doeberitz, A comprehensive analysis of HPV integration loci in anogenital lesions combining transcript and genome-based amplification techniques, *Oncogene* 22 (2003) 3977–3984.
- [11] N. Wentzensen, S. Vinokurova, M. von Knebel Doeberitz, Systematic review of genomic integration sites of human papillomavirus genomes in epithelial dysplasia and invasive cancer of the female lower genital tract, *Cancer Res.* 64 (2004) 3878–3884.
- [12] S. Cheng, D.C. Schmidt-Grimminger, T. Murant, T.R. Broker, L.T. Chow, Differentiation-dependent up-regulation of the human papillomavirus E7 gene reactivates cellular DNA replication in suprabasal differentiated keratinocytes, *Genes Dev.* 9 (1995) 2335–2349.
- [13] N. Dyson, P.M. Howley, K. Munger, E. Harlow, The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product, *Science* 243 (1989) 934–937.
- [14] C.A. Moody, L.A. Laimins, Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation, *Nat. Rev. Cancer* 10 (2010) 550–560.

2. 素材と方法

2.1.1 サンプル収集とサンプル研究

生検(サンプルの細胞)は 2013 年 5 月と 2015 年 12 月の間に気管支鏡検査中に 67 人の患者から採取され、病理学的分析へ日常的に送られた。患者は無作為に選択され、幅広い年齢層をカバーし、そして全てがインフォームド・コンセント*を提供した。腫瘍組織の一部を 4°C で液体保存培養器(イギリス、西サセックスに位置する Hologic 株式会社の PresercCyt 溶液)に保存した。その後、全てのサンプルは組織学的に確認された肺がんを有し、そして HPV DNA と E6/E7 mRNA の存在について分析された。以前の治療を受けていない患者は適格であった。また、喫煙者と定義されたのは、一生のうち時々か、研究の時毎日、または数いつかん喫煙した者である。以前の喫煙者は研究に含める前に喫煙をやめた患者であった。最後に非喫煙者は一生に 100 本未満のタバコを喫煙し、研究の時に喫煙しなかった者である。

*インフォームド・コンセントとは「正しい情報を得た(伝えられた)上での合意」を意味する概念。特に、医療行為(投薬・手術・検査など)や治験などの対象者(患者や被験者)が、治療や臨床試験・治験の内容についてよく説明を受け十分理解した上で(英: informed)、対象者が自らの自由意志に基づいて医療従事者と方針において合意する(英: consent)ことである(単なる「同意」だけでなく、説明を受けた上で治療を拒否することもインフォームド・コンセントに含まれる)。説明の内容としては、対象となる行為の名称・内容・期待されている結果のみではなく、代替治療、副作用や成功率、費用、予後までも含んだ正確な情報が与えられることが望まれている。また、患者・被験者側も納得するまで質問し、説明を求めなければならない。

2.2. 核酸の抽出

全ての核酸は QIAamp® DNA ミニキット(Qiagen, Hilden, ドイツ)を使用して、製造者の指示にしたがっ

て抽出された。DNA 品質試験は Human Globin、Beta Primer セットキット (Maxim Biotech, Inc., サウスサンフランシスコ、CA、USA) を製造者の指示に従って使用して実施された。RNA の完全性を評価するために、試料あたり 5 μ g の RNA を 1%ホルムアルデヒド - アガロースゲルで分離した。

2.3. HPV 検出および遺伝子型判定

PapilloCheck®HPV ジェノタイピングアッセイ (Greiner Bio-One 株式会社、フリッケンハウゼン、ドイツ) を用いた。この技術は 24 種類の HPV の型特異的同定のための DNA チップに基づいている (時間: 16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,68,73, 82、おそらく高リスク(hr):53 および 66、および低リスク(lr): 6,11,40,42,43,44,55,70)、分析感度は 30-750 コピー/反応である。ThinPrep に保存された肺生検から核酸を抽出した。E1 ベースのポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) は、製造業者のガイドラインに従って実施した。各サンプルについて、19.8 μ L の PapilloCheck® MasterMix、0.2 μ L の HotStarTaq DNA ポリメラーゼ (5U/ μ L) および試料からの 5 μ L の DNA を混合した。ハイブリダイゼーションの後、30 μ L の PapilloCheck (登録商標) ハイブリダイゼーション緩衝液を新鮮な反応チューブに 5 μ L の PCR 産物を室温で添加し、25 μ L のハイブリダイゼーション混合物をチップの各区画に移す。このチップを湿潤雰囲気中で室温で 15 分間インキュベートし、次いで 3 つの洗浄溶液 (それぞれ 30 秒、1 分および 30 秒) で洗浄し、遠心分離し、CheckScanner® (Greiner Bio-One GmbH) でスキャンした。このキットには、DNA 抽出とテンプレートの品質を試験するサンプルコントロールシステムが含まれています。MasterMix 中のヒト ADAT1 遺伝子の断片のプライマーは PCR 産物の生成をもたらす、続いてサンプル対照スポット上にシグナルを与える。

2.4. HPV E6 / E7 mRNA 発現

リアルタイム核酸配列ベースの増幅 (NASBA) および検出アッセイ NucliSENS (登録商標) EasyQ (登録商標) HPV (BioMerieux Hellas, Athens, Greece) を、E6 / E7 mRNA の定性的検出のために実施した。5 つの hrHPV タイプ (16,18,31,33 および 45)、分析感度は 2.3×10^2 - 3×10^4 コピー/ml であった。NucliSENS EasyQ HPV アッセイは、製造者の指示 (BioMerieux) に従って行った。最初に、試薬球 (スクレオチド、ジチオスレイトールおよび MgCl₂) に試薬球希釈剤 (Tris-HCl、45%ジメチルスルホキシド (DMSO)) を添加することによって、3 つのプレミックスを作製した。各プレミックス U1A / HPV16、HPV33 / 45、または HPV18 / 31 プライマーおよび分子ビーコンミックスに、KCl ストック溶液および核酸配列ベース増幅 (NASBA) 水を添加した。第 2 に、このプレミックスの 10 μ l を各ウェルを反応プレートに入れ、5 μ l の RNA を添加した。プレートを 65°C で 4 分間インキュベートして RNA の二次構造を不安定化させ、続いて 41°C に冷却した。酵素 (AMV-RT、RNアーゼ H、T7 RNA ポリメラーゼ、およびウシ血清アルブミン) の添加により反応を開始させ、ラムダ FL600 蛍光リーダー (Bio-Tek, Winooski, VT、USA) を用いてリアルタイムで 41°C で 2 時間 30 分。RNA の分解による偽陰性結果を回避するために、ヒト U1 小核リボ核タンパク質 (snRNP) 特異的 A タンパク質 (U1A mRNA) に対するプライマーセットおよびプローブを性能対照として使用した。

2.5. 統計分析

SPSS20 (IBM, Armonk, New York) を用いてデータを分析した。絶対および相対頻度を用いて HPV 陽性を提示した。P 値を推定するために、2×2 のコンティンジェンシーテーブルとフィッシャーの厳密検定を実施した。一元配置 ANOVA を行って、ペアワイズ比較のためのボンフェローニ事後検定を用いて 3 つ以上の群間の差異を調べた。0.05 未満の P 値は統計的に有意であると考えられた。

3. 結果

67 の肺組織試料を分析した。患者の年齢範囲は 49~85 歳で、平均年齢は 67.6 歳であった。9 例は女性で 58 例は男性であった。研究には、小細胞肺癌 (SCLC) 12 例と非小細胞肺癌 (NSCLC) 55 例が含まれていた (31 例は AdenoCa、SCC 20 例、非小細胞癌 4 例)。58 人の患者が喫煙者であり、8 人は元の喫煙者であり、非喫煙者であった (表 1 および 2)。全てのサンプルはベータグロビン陽性であった。さらに、使用した両方のアッセイの内部サンプルコントロールが適切に機能しました (ADAT1 と U1A の肯定的結果)。HPV DNA は 3.0% (2/67) の肺癌症例で検出されたが、検査した組織試料では高リスク E6 / E7 mRNA は検出されなかった。より具体的には、2 人の患者がそれぞれ高リスク 16 型および 53 型 HPV DNA 検査

で陽性であり、続いて陰性結果を示す E6 / E7 mRNA 検査に供された。2 人の HPV DNA 陽性患者は、HPV 関連疾患の既往歴のない男性、SCLC 喫煙者および女性喫煙者 AdenoCa とみなした。さらに、HPV DNA の存在と患者のまたは癌の特徴（性別、年齢、タバコおよび癌の種類）との間に関連性は見出されなかった。

Table 1
Association of patients' characteristics with human papilloma virus (HPV) status.

Characteristics	N	HPV DNA (+) (%; 95% CI)	HPV DNA (-) (%)	p-Value
Gender				0.252
Male	58	1 (1.7, 0–5.1)	57 (98.3)	
Female	9	1 (11.1, 0–36.7)	8 (88.9)	
Age				1.000
≤67 years	32	1 (3.1, 0–9.5)	17 (100)	
> 67 years	35	1 (2.9, 0–8.7)	48 (96.0)	
Tobacco				1.000
No	1	0 (0.0)	1 (100)	
Yes	66	2 (3.0, 0–7.3)	64 (97.0)	
Histology				0.603
AdenoCa ^a	31	1 (3.2, 0–9.8)	30 (96.8)	
SCC ^b	20	0 (0.0)	20 (100)	
NSCLC ^c [not defined]	4	0 (0.0)	4 (100)	
SCLC ^d	12	1 (8.3, 0–26.7)	11 (91.7)	

^a Adenocarcinoma,

^b Squamous Cell Carcinoma,

^c Non Small Cell Lung Carcinoma,

^d Small Cell Lung Carcinoma.

Table 2
Patients' characteristics and E6/E7 mRNA status of HPV- positive lung cancers.

Gender	Age (years)	Tobacco	DNA test	mRNA test	Histology
Male	81	Yes	HPV 16	Negative	SCLC
Female	65	Yes	HPV 53	Negative	AdenoCa

4. 議論

HPV の役割は、子宮頸癌および口腔咽頭癌のサブセットにおいて確かに確認されているが、このような関連はまだ肺癌のために同定されていない。これは、世界中の研究者、特に地理的に異なる地域の HPV 有病率の大きな変動によるものです。本研究の目的は、肺癌を有するギリシャ患者において、HPV DNA ならびに hrHPV E6 / E7 mRNA を検出することであった。

本研究の結果は、HPV DNA 検査 (2/67、3%) による HPV 有病率の頻度が非常に低いことを示しています。DNA 汚染を避けるために、肺サンプルは他の組織サンプルとは別に分析され、高度な分子技術のみが使用されたことに注意することが重要です。ギリシャで実施された他の研究では、HPV DNA 有病率は 0–61% であった [15–18]、肺癌における HPV 感染に関する矛盾した結果が示された。

最近の肺癌に関する 27 の研究のメタアナリシスでは、台湾および中国では 37.7% と非常に高かったが、HPV 有病率はヨーロッパで 16.9%、北米で 12.5%、オーストラリアで 18.5% であった [19]。特に、実施された統計的分析は、同じ地理的地域に関するものと地理的地域間のものとの間の有意な異質性を示した。

我々の研究では、検出されたタイプは HPV16 と HPV53 であった。最近の国際的なメタアナリシスによると、HPV 陽性肺癌では HPV 16 が最も頻度が高く、次いで HPV 18 (3.8% および 2.8%)、他の高リスク HPV 型も検出された [20]。発がん性の可能性のあるタイプ (クラス 2B) [21] である HPV 53 については、ヨーロッパや北米の研究でも検出されている [22–24]。

E6 / E7 発癌遺伝子の mRNA または E6 / E7 の発現を検出することにより、HPV の能動的転写を実証した研究はほとんどない [25–28]。子宮頸癌および口腔咽頭癌で観察されるように、腫瘍中の HPV DNA の存在は腫瘍形成との因果関係を推測しない。HPV の形質転換能力は、E6 / E7 HPV 癌タンパク質の発現に依存しており、これは、子宮頸部および中咽頭に関する多くの研究において確立されている。

我々の研究では、hrHPV 16,18,31,33 および 45 の E6/E7 mRNA は検出されず、おそらく不活性化感染を示していた。さらに、HPV 53 の場合、E6/E7 mRNA は見出されなかったことに留意することが重要である。これは、HPV 53 からの E6/E7 mRNA を検出しない、または HPV 53 が転写的に不活性であるという事実のために、使用された方法に起因する。

伝染経路に関しては、ウイルスが血流を介して肺に到達すると推測されているが[29]、HPV は一般化ウイルス血症を引き起こさないことが一般的に知られている。さらに、我々の患者は以前の HPV 関連疾患を報告しなかった。感染した粒子や細胞複合体は、気流を介して肺に運ばれることも示唆されている[30]。口腔内の性行為は、HPV 感染のリスクを 4.6 倍に増加させることが観察されており[31]、おそらく肺へのウイルスの拡散に寄与するであろう。

[15] A. Noutsou, M. Koffa, M. Ergazaki, N. Sifakakos, D. Spandidos, Detection of human papilloma virus (HPV) and K-ras mutations in human lung carcinomas, *Int. J. Oncol.* 8 (1996) 1089–1093.

[16] K. Papadopoulou, V. Labropoulou, P. Davaris, P. Mavromara, H. Tsimara-Papastamatiou, Detection of human papillomaviruses in squamous cell carcinomas of the lung, *Virchows Arch.* 433 (1998) 49–54.

[17] V.G. Gorgoulis, P. Zacharatos, A. Kotsinas, A. Kyroudi, A.N. Rassidakis, J.A. Ikononopoulos, C. Barbatis, C.S. Herrington, C. Kittas, Human papilloma virus (HPV) is possibly involved in laryngeal but not in lung carcinogenesis, *Hum. Pathol.* 30 (1999) 274–283.

[18] E.D. Papadakis, N. Soultziz, D.A. Spandidos, Association of p53 codon 72 polymorphism with advanced lung cancer: the Arg allele is preferentially retained in tumours arising in Arg/Pro germline heterozygotes, *Br. J. Cancer* 87 (2002) 1013–1018.

[19] K. Syrjänen, Detection of human papillomavirus in lung cancer: systematic review and meta-analysis, *Anticancer Res.* 32 (2012) 3235–3250.

[20] M. Srinivasan, E. Taioli, C.C. Ragin, Human papillomavirus type 16 and 18 in primary lung cancers—a meta-analysis, *Carcinogenesis* 30 (2009) 1722–1728.

[21] V. Bouvard, R. Baan, K. Straif, Y. Grosse, B. Secretan, F. El, Ghissassi, L. Benbrahim-Tallaa, N. Guha, C. Freeman, L. Galichet, V. Coglianò, WHO international agency for research on cancer monograph working group, a review of human carcinogens—Part B: biological agents, *Lancet Oncol.* 10 (2009) 321–322.

[22] L. Giuliani, T. Jaxmar, C. Casadio, M. Gariglio, A. Manna, D. D'Antonio, K. Syrjanen, C. Favalli, M. Ciotti, Detection of oncogenic viruses SV40, BKV, JCV, HCMV, HPV and p53 codon 72 polymorphism in lung carcinoma, *Lung Cancer* 57 (2007) 273–281.

[23] R.N. Pillai, C. Ragin, G. Sica, M. Behera, Z. Chen, S. Kim, W. Mayfield, R. Hermann, N. F. Saba, A.A. Gal, F.R. Khuri, S.S. Ramalingam, T.K. Owonikoko, Human Papillomavirus (HPV)- Associated Early Stage Non- Small Cell Lung Cancer (NSCLC), *ASCO Meeting Abstracts*, Chicago IL, 31, Abstract no. 7560

[24] R. Mehra, B. Egleston, D. Yang, W. Scott, H. Borghaei, C. Ragin, A pilot study of the association and prevalence of the human papillomavirus (HPV) in non- small cell lung cancer (NSCLC), *AACR Meeting Abstracts*, Washington, DC., Abstract no. 4785

[25] M. Ciotti, L. Giuliani, V. Ambrogi, C. Ronci, A. Benedetto, T.C. Mineo, K. Syrjänen, C. Favalli, Detection and expression of human papillomavirus oncogenes in nonsmall cell lung cancer, *Oncol. Rep.* 16 (2006) 183–189.

[26] I. Kinoshita, H. Dosaka-Akita, M. Shindoh, M. Fujino, K. Akie, M. Kato, K. Fujinaga, Y. Kawakami, Human papillomavirus type 18 DNA and E6-E7 mRNA are detected in squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the lung, *Br. J. Cancer* 71 (1995) 344–349.

[27] D. Krikelis, G. Tzimogiorgis, E. Georgiou, C. Destouni, T. Agorastos, C. Haitoglou, S. Kouidou, Frequent presence of incomplete HPV16 E7 ORFs in lung carcinomas: memories of viral infection, *J. Clin. Virol.* 49 (2010) 169–174.

[28] L. Giuliani, C. Favalli, K. Syrjanen, M. Ciotti, Human papillomavirus infections in lung cancer. detection of E6 and E7 transcripts and review of the literature, *Anticancer Res.* 27 (2007) 2697–2704.

[29] H.L. Chiou, M.F. Wu, Y.C. Liaw, Y.W. Cheng, R.H. Wong, C.Y. Chen, H. Lee, The presence of human papillomavirus type 16/18 DNA in blood circulation may act as a risk marker of lung cancer in Taiwan, *Cancer* 97 (2003) 1558–1563.

[30] F. Klein, W.F. Amin Kotb, I. Petersen, Incidence of human papilloma virus in lung cancer, *Lung Cancer* 65 (2009) 13–18.

[31] A.C. de Freitas, A.P. Gurgel, E.G. de Lima, B. de França São Marcos, C.M. do Amaral, Human papillomavirus and lung carcinogenesis: an overview, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 142 (2016) 2415–2427.

5. 結論

我々の結果を考慮すると、HPV と肺がんとの間の病因的な関連がないことを示しており、これは多くの西洋人集団に見られるものと一致している。しかし、より多くの患者を安全な結論に達するために募集する必要があります。