

氏名	大谷清香
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第1227号
学位授与の日付	2020年3月8日
学位論文題名	Cytokine expression profiles in cervical mucus from patients with cervical cancer and its precursor lesions 「子宮頸がんおよびその前癌病変患者における子宮頸管粘液中のサイトカイン発現プロファイル解析」 Cytokine. 2019;120:210-219
指導教授	藤井多久磨
論文審査委員	主査 教授 吉川哲史 副査 教授 下野洋平 教授 杉浦一充

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

ヒトパピローマウイルス(HPV)感染は子宮頸部に前がん病変を引き起こし、やがてはがんを引き起こす発がん因子として知られている。子宮頸管粘液中のサイトカインはHPV感染に反応して、その発現量が変化し、発がん機構に関わる可能性がある。

### 【目的】

子宮頸管粘液中のサイトカインが子宮頸部の発がん機構に果たす役割について検討した。粘液中に発現しているサイトカインが子宮頸がん細胞で発現しているか否かを培養細胞で調べた。

### 【対象】

子宮頸管粘液を検体として用い、2014年10月から2017年9月の間に藤田医科大学の婦人科外来を受診した24-89歳の患者から採取した。健常者、異形成、浸潤がんを対象とし、予備実験として第1コホートの28名を選別し、第2コホートとして235人を選別した。11種類の子宮頸がん由来培養細胞を用い、粘液で検出されたサイトカインの発現解析を行った。

### 【方法】

正常、前がん病変およびがん患者における頸管粘液中のサイトカイン発現レベルを測定し、病変の進行およびHPV感染の有無による発現プロファイルの違いについて解析した。サイトカインの検出は市販の多重ビーズ・イムノアッセイ(MBI法)を用いて行った。第1コホートでは18種類のサイトカインを測定し、測定可能であった14種類のサイトカインについて第2コホートの検体を用いて解析した。粘液の分泌は個人差があり、分泌量により

サイトカイン発現量の違いがでてくることから、何等かの補正が必要である。補正には重量補正(WV)とタンパク発現量補正(TPC)の両者を採用し、補正の違いによるサイトカイン発現量の違いについて解析した。粘液で検出されたサイトカインが子宮頸がん由来細胞株から検出されるか否かをMBI法で解析した。

### 【結果】

第1コホートで解析した18種類のサイトカインの中で4種類のサイトカインが検体数の10%未満しか検出されなかったため、以降の解析では除外した。第2コホートで検討した14種類のサイトカインのうち、TPCおよびVW法にてIFN- $\gamma$ 、GM-CSF、RANTES、eotaxinの発現上昇がみられたものの、G-CSFは低下していた。HPV陽性の場合、補正方法にかかわらずG-CSFの発現低下がみられた。さらに「INF- $\gamma$ とIL-17A」、「GM-CSFとMCP-1」、「GM-CSFとRANTES」、「IL-17AとRANTES」、「MCP-1とeotaxin」の組合せがHPV陽性症例において発現上昇を認めた。培養細胞では12種類のサイトカインの発現が検出された。

### 【考察】

HPV感染に対する子宮頸管粘液中のサイトカインの役割は明らかでない。サイトカインの発現量は補正方法の違いにより、異なる結果が示されたものの、両者に共通してみられるサイトカインを見出した。一方、G-CSFは病変の進行度およびHPV感染とも逆相関しており、免疫逃避に関連している可能性がある。INF- $\gamma$ は培養細胞では発現していなかったことから、腫瘍組織以外の間質、血球系細胞から産生されていると考えられた。

### 【結語】

子宮頸管粘液中のGM-CSF、RANTES、eotaxinは子宮頸部上皮内腫瘍の進行度に応じて発現量が上昇しており、腫瘍細胞から発現していた。特にGM-CSFとRANTESはHPV感染で共発現しており、子宮頸部での免疫機構に重要な働きをしていることが示唆された。

## 論文審査結果の要旨

ヒトパピローマウイルス(HPV)による子宮頸がん発症機構を考えるうえで、子宮頸管粘液中サイトカインが重要な役割を果たしている可能性がある。この点を明らかにするため、*in vivo*研究として235名の患者子宮頸管粘液中のサイトカイン発現を解析するとともに、*in vivo*研究で高発現していたサイトカインが子宮頸がん細胞株で産生されるかどうか検討した。予備実験で測定サイトカインを18種類から14種類に絞り、分泌量が変化する頸管粘液中のサイトカイン濃度を正確に評価するため、重量補正と蛋白発現量補正の二つの補正方法を用いている。14種類のサイトカイン中、IFN- $\gamma$ 、GM-CSF、RANTES、eotaxinの値が病変の進行とともに上昇していた。さらに、ウイルスとの関連性について解析した結果、HPV陽性症例ではG-CSFの発現量が低下していた。また、IFN- $\gamma$ とIL-17AなどHPV陽性症例で発現に相関関係を認める5組のサイトカインの組合せを同定した。*in vivo*研究で重要性が示唆されたサイトカインの産生細胞を同定するために子宮頸がん細胞を用いて解析した結果、12種類のサイトカイン発現が確認された。本研究では、二つの補正方法を用いて頸管粘液中サイトカインの数値をより正確に測定することで先行研究の不正確性を排除した臨床的に極めて重要な研究である。審査委員会での質疑応答も的確になされたことから、博士論文として十分に値すると判断した。