



Title	Estrogen induces genomic instability in high-risk HPV-infected cervix and promotes the carcinogenesis of cervical adenocarcinoma
Author(s)	小川, 美祈
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/93042">https://hdl.handle.net/11094/93042</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨  
Synopsis of Thesis

氏名 Name	小川（松本） 美祈
論文題名 Title	Estrogen induces genomic instability in high-risk HPV-infected cervix and promotes the carcinogenesis of cervical adenocarcinoma (ハイリスクHPVに感染した子宮頸部ではエストロゲンがGenomic Instabilityを引き起こし子宮頸部腺癌の発癌につながる)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>ハイリスクヒトパピローマウイルス (HPV) 感染は子宮頸癌の主な原因であるが、感染から発癌までの過程は十分に理解されていない。子宮頸癌は、臨床的にはエストロゲン非依存性腫瘍と考えられているが、子宮頸癌、特に子宮頸部腺癌におけるエストロゲンの役割については議論が分かれている。疫学データからホルモンと子宮頸部腺癌についての関連に着目し、エストロゲン/GPR30 シグナルが子宮頸部腺癌の発癌に関連するかどうかを検討した。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>① 正常子宮頸部エストロゲンレセプターの発現を免疫染色にて検討した。G 蛋白共役型受容 30 (GPR30) は子宮頸部腺上皮で 81.8% に発現しており、エストロゲン受容体 <math>\alpha</math> (ER<math>\alpha</math>) は扁平上皮で 63.6% に発現した。</p> <p>② 細胞株を選定し、エストロゲンレセプターの発現、ハイリスク HPV E6 発現を RT-PCR で確認した。子宮頸部腺上皮に HPV16 E6 を導入して不死化させた細胞株である NCC16-P11と子宮頸部腺癌細胞株である HCA-1、扁平上皮癌細胞株である ME180 等を選択した。GPR30 は今回使用したすべての細胞株に発現していた。High risk HPV-E6 は HCA-1 には発現していなかった。</p> <p>③ 選択した細胞株を用いて、エストラジオール (E2) による細胞増殖を MTS assay を用いて検討した。子宮頸部腺上皮細胞株と子宮頸部腺癌細胞株で E2 投与により細胞増殖が増加した。(NCC16-P11;102%, HCA-1;24.7%) 特異的な阻害剤 (GPR30 agonist, GPR30 antagonist, ER<math>\alpha</math> <math>\beta</math> blocker) を用いて検討した結果、細胞増殖は GPR30 を介した経路が関与していた。</p> <p>④ HPV 感染とE2 暴露によるDNA 二本鎖切断の変化を蛍光免疫染色で検討した。HPV オンコジーン E6 を遺伝子導入した細胞株を用いて、DNA 二本鎖切断マーカーである <math>\gamma</math>H2AX の免疫蛍光染色及び FACS で検討した。子宮頸部腺上皮細胞株と子宮頸部腺癌細胞株ではハイリスク HPV-E6 発現細胞においては DNA 二本鎖切断 (DSB) の蓄積を示す <math>\gamma</math>H2AX の増加を認めた。(NCC16-P11; NC-E2 1.1 vs E6-E2 12.8) (HCA-1; NC-E2 4.1 vs E6-E2 12.9) さらに③と同様特異的な阻害剤を用いて検討し、細胞損傷にも GPR30 を介した経路が関与した。</p> <p>⑤ 染色体切断の増加の機序について、HPV-E6 導入子宮頸部細胞株における DNA-Top2 複合体が増加するかどうかをドットプロット法にて検討した。E6 発現細胞では E2 暴露により DNA-Top2 複合体が増加した。(NCC16-P11; NC-E2:E6-E2=1.11:1.78) (HCA-1; NC-E2:E6-E2=1.21:1.87)</p> <p>⑥ E6 発現下における DSB が持続する機序について、相同組み換え修復蛋白 Rad51 に着目して検討した。<math>\gamma</math> H2AX と Rad51 の免疫蛍光染色を行い、相同組み換え蛋白の機能について評価した。E6 発現細胞では E2 暴露による不一致率が高く、Rad51 機能低下が示唆された。(NCC16-P11; NC-E2 31% vs E6-E2 63%) (HCA-1; NC-E2 29% vs E6-E2 73%)</p> <p>⑦ E2 添加による染色体切断をギムザ染色で検討した。染色体異常は染色分体交換、染色分体切断、染色体環で評価した。E6 発現細胞では E2 暴露により核あたりの染色体損傷数が増加した。(NCC16-P11; NC-E2 0.15 vs E6-E2 0.48%) (HCA-1; NC-E2 0.10 vs E6-E2 0.53)</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>HPV 感染子宮頸部腺細胞において、E2 暴露により エストロゲンレセプター GPR30 を介して 持続するDNA 2 本鎖切断が増加した。DNA 2 本鎖切断の修復不全が持続することで ゲノム不安定性 を引き起こし、発癌へとつながることを明らかにした。さらなる研究が必要であるが、今回の研究が子宮頸部腺癌の新たな治療戦略を考える際に役立つ可能性がある。</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 小川 (松本) 美祈			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	木村 正
	副 査	大阪大学教授	森井 圭一
	副 査	大阪大学教授	江口 英利
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>(記入要領)</p> <p>ハイリスクヒトパピローマウイルス (HPV) 感染は子宮頸癌の主な原因だが、感染から発癌の過程は、十分明らかになっていない。臨床的には子宮頸癌はエストロゲンに依存しないと考えられているが、子宮頸部腺癌においては一部エストロゲンの関与も指摘されている。そこで今回、エストロゲンが子宮頸部腺癌の発癌につながるかどうかを検討した。</p> <p>まず正常子宮頸部においてエストロゲンレセプターの発現を免疫染色で分析し、G タンパク質共役型受容体 30 (GPR30) が腺上皮に豊富に存在することを明らかにした。正常子宮頸部腺上皮、頸部腺癌 細胞株においてエストラジオール (E2) は GPR30 を介して細胞増殖を増加させた。そして E2 は HPV-E6 発現細胞において DNA 2 本鎖切断 (DSBs) も増加させた。以上よりHPV 感染子宮頸部細胞においては E2 が genomic instability を引き起こし、発癌につながると結論づけた。</p> <p>近年増加傾向にある子宮頸部腺癌の発癌機序を明らかにし、エストロゲンとの関連を指摘したことは学位に値すると思われる。</p>			