


(別紙様式第3号)

## 論 文 要 旨

論 文 題 目

HPV E6 is an H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> responsive molecule associated with IL-8 production

( HPV E6 は IL-8 産生に関与する過酸化水素応答性分子である )

氏 名 菅元裕之 




(	背	景	・	目	的	)	イ	ン	タ	ー	ロ	イ	キ	ン	-	8	(	I	L
-	8	)	は	、	血	管	新	生	機	能	を	有	す	る	子	宮	頸	癌	の
予	後	因	子	で	あ	る	。	子	宮	頸	癌	の	最	大	の	危	険	因	子
は	ヒ	ト	パ	ピ	ロ	ー	マ	ウ	イ	ル	ス	(	H	P	V	)	感	染	で
あ	る	。	H	P	V	に	は	、	E	6	と	E	7	の	2	種	類	の	癌
遺	伝	子	が	存	在	し	、	こ	れ	ら	が	癌	抑	制	遺	伝	子	産	物
p	5	3	、	R	b	と	結	合	し	不	活	化	す	る	こ	と	に	よ	り
癌	化	に	関	与	す	る	こ	と	が	報	告	さ	れ	て	い	る	。	一	方
H	P	V	は	癌	組	織	の	進	展	に	も	直	接	的	な	役	割	を	有
し	て	い	る	こ	と	が	知	ら	れ	て	い	る	。	H	P	V	1	6	型
E	6	の	過	剰	発	現	系	で	は	I	L	-	8	の	産	生	量	が	増
大	す	る	。	子	宮	頸	癌	へ	の	マ	ク	ロ	フ	ア	ー	ジ	の	浸	潤
が	予	後	を	左	右	し	て	い	る	と	す	る	報	告	が	な	さ	れ	て
い	る	。	一	般	に	炎	症	部	位	に	お	い	て	は	、	好	中	球	や
マ	ク	ロ	フ	ア	ー	ジ	が	殺	菌	作	用	を	有	す	る	過	酸	化	水
素	を	放	出	し	て	い	る	。	過	酸	化	水	素	は	殺	菌	作	用	の
み	な	ら	ず	、	細	胞	に	作	用	し	て	サ	イ	ト	カ	イ	ン	な	ど
の	産	生	を	促	し	、	シ	グ	ナ	ル	伝	達	分	子	と	し	て	働	く
こ	と	も	知	ら	れ	て	い	る	。	我	々	は	、	マ	ク	ロ	フ	ア	ー
ジ	の	浸	潤	が	子	宮	頸	癌	の	予	後	を	左	右	す	る	メ	カ	ニ

ズ	ム	と	し	て	、	そ	れ	ら	か	ら	放	出	さ	れ	る	過	酸	化	水
素	に	着	目	し	た	。	我	々	は	過	酸	化	水	素	は	、	H	e	L
a	細	胞	(	H	P	V	感	染	子	宮	頸	部	癌	由	来	)	に	I	L
-	8	の	産	生	を	誘	導	す	る	こ	と	を	報	告	し	た	。	A	l
e	x	a	n	d	e	r	ら	は	、	上	皮	細	胞	で	は	過	酸	化	水
素	刺	激	に	よ	り	プ	ロ	テ	ア	ソ	ー	ム	が	阻	害	さ	れ	そ	の
結	果	I	L	-	8	が	産	生	さ	れ	る	こ	と	、	及	び	そ	の	詳
細	な	シ	グ	ナ	ル	伝	達	系	を	明	ら	か	に	し	た	。	具	体	的
に	は	、	プ	ロ	テ	ア	ソ	ー	ム	阻	害	に	よ	り	M	A	P	K	p
3	8	が	活	性	化	さ	れ	E	G	F	R	を	介	し	て	、	I	L	-
8	産	生	が	促	進	さ	れ	る	と	い	う	内	容	で	あ	っ	た	。	本
研	究	の	目	的	は	、	2	0	0	9	年	に	我	々	が	報	告	し	た
過	酸	化	水	素	依	存	的	な	H	e	L	a	細	胞	か	ら	の	I	L
-	8	産	生	の	分	子	メ	カ	ニ	ズ	ム	を	、	A	l	e	x	a	n
d	e	r	ら	の	報	告	を	も	と	に	精	査	し	、	そ	の	過	程	で
H	P	V	の	関	与	を	検	討	す	る	こ	と	で	あ	る	。			
(	方	法	)	H	e	L	a	細	胞	培	養	系	に	2	5	0	μ	モ	ル
の	過	酸	化	水	素	を	加	え	、	I	L	-	8	産	生	の	様	子	を
R	e	a	l	-	T	i	m	e		P	C	R	お	よ	び	E	L	I	S
A	で	検	討	し	た	。	さ	ら	に	、	こ	の	シ	グ	ナ	ル	伝	達	に

お	け	る	H	P	V	1	8	E	6	タ	ン	パ	ク	の	関	与	を	s	i
R	N	A	ノ	ツ	ク	ダ	ウ	ン	の	手	法	を	用	い	て	検	討	し	た
(	結	果	)	H	e	L	a	細	胞	を	プ	ロ	テ	ア	ソ	ー	ム	阻	害
剤	を	加	え	て	培	養	す	る	こ	と	に	よ	り	I	L	-	8	m	R
N	A	の	発	現	上	昇	、	お	よ	び	M	A	P	K	p	3	8	の	活
性	化	を	認	め	た	。	ま	た	、	過	酸	化	水	素	刺	激	に	よ	り
M	A	P	K	p	3	8	の	活	性	化	を	認	め	、	イ	ン	ヒ	ビ	タ
一	実	験	に	よ	り	M	A	P	K	p	3	8	の	活	性	化	は	I	L
-	8	m	R	N	A	の	発	現	上	昇	に	関	与	し	て	い	る	こ	と
が	判	明	し	た	。	s	i	R	N	A	-	H	P	V	1	8	型	E	6
に	よ	り	、	H	e	L	a	細	胞	中	の	内	在	性	E	6	タ	ン	パ
ク	の	ノ	ツ	ク	ダ	ウ	ン	を	p	5	3	の	発	現	上	昇	に	よ	り
確	認	し	た	。	E	6	の	s	i	R	N	A	に	よ	る	ダ	ウ	ン	モ
ジ	ュ	レ	ー	シ	ョ	ン	は	、	過	酸	化	水	素	依	存	的	な	I	L
-	8	産	生	を	有	意	に	減	弱	し	た	。	以	上	の	結	果	よ	り
子	宮	頸	癌	に	お	い	て	炎	症	反	応	が	、	酸	化	因	子	を	介
し	て	癌	の	進	展	を	促	す	分	子	メ	カ	ニ	ズ	ム	の	一	端	が
示	唆	さ	れ	た	。														

(別紙様式第 7 号)

## 論文審査結果の要旨

報告番号	課程博 * 第 号 論文博	氏名	嵩元裕之
論文審査委員	審査日	平成 22 年 12 月 6 日	
	主査教授	田中勇悦	田中勇悦 
	副査教授	苅谷研一	苅谷研一 
	副査教授	石内勝吾	石内勝吾 
(論文題目)			
<p><b>HPV E6 is an H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> responsive molecule associated with IL-8 production</b>  (ヒトパピローマウイルスの E6 は IL-8 産生に關与する過酸化水素応答性分子である)</p>			
(論文審査結果の要旨)			
<p>上記論文の背景、目的、研究内容、研究成果を審査し、結果を以下に要約する。</p>			
<p>1. 研究の背景と目的</p> <p>ヒトパピローマウイルス(HPV)感染は、子宮頸癌の発ガン要因である。本論文で筆者らは、HPV 関連腫瘍の形成を促す細胞外因子として過酸化水素に着目し研究した。腫瘍の進展には腫瘍細胞が放出する血管新生因子が關与する。HPV のガン遺伝子産物でがん抑制蛋白 p53 と結合する E6 は、血管を新生する活性をもつケモカインである IL-8 の発現を誘導することが知られている。しかし、IL-8 の発現誘導がどのような細胞外因子によってなされるかは不明であった。そこで、本研究では、がん組織内の炎症反応に着目し、炎症性細胞群から放出される過酸化水素が IL-8 の産生刺激因子であると仮説を立て、その検証を行ったものである。本論文は、HPV 感染子宮頸癌由来上皮細胞株である HeLa 細胞を用いて、過酸化水素が IL-8 産生を誘導すること、およびそのメカニズムには HPV ガン遺伝子産物 E6 が關与する可能性を示した。</p>			
<p>2. 研究内容</p> <p>HeLa 細胞の培養系に 250 μ mol の過酸化水素を添加すると、IL-8 の産生誘導が起きる。siRNA の手法を用いて HPV-E6 タンパクをノックダウンした HeLa 細胞では、IL-8 の産生量をリアルタイム PCR や ELISA で定量した結果、産生量が減少することを観察した。また、HeLa 細胞をプロテアソーム阻害剤で処理しても IL-8 産生が誘導されるが、この系でも siRNA による E6 ノックダウンによって産生が抑制された。これら HeLa 細胞を用いた実験結果より、HPV 感染上皮癌においてマクロファージや白血球が産生する過酸化水素がガン細胞からの血管新生因子 IL-8 の放出を促すこと、およびそのメカニズムには HPV E6 が關与することが示唆された。</p>			
<p>3. 研究成果の意義と学術的水準</p> <p>本研究は、細胞株 HeLa 細胞を用いて過酸化水素刺激と IL-8 産生の関連性、およびそのメカニズムを明らかにした。この成果は将来、実際のガン細胞を用いて検証することが必要であるが、著者らは、口腔癌にも着目し、患者の唾液の過酸化水素スクリーニング等を計画している。本研究成果が臨床に反映される意義は大きいと考えられる。</p> <p>以上により、本論文は学位授与基準を満たすものであると判断した。</p>			

- 備考 1 用紙の規格は、A 4 とし縦にして左横書きとすること。  
2 要旨は 800 字～1200 字以内にまとめること。  
3 \*印は記入しないこと。