

論文の内容の要旨

氏名：鎌田 早紀

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：iPS細胞を使用したHPV18型子宮頸部腺癌の発生機序の解明

子宮頸癌は日本国内において年間約10000人が罹患、約3000人が死亡し、2000年以降増加の一途をたどっている。子宮頸癌はHPVの感染が原因の90%以上を占め、高リスクで癌へと移行するHPV16型、HPV18型は子宮頸癌の治療や予防において極めて重要である。HPV16型よりもHPV18型が高く、腺癌も多く発生するという報告が散見されるが、なぜHPV18型でこのような特徴があるかという事に関しては極めて限定的な知見しか得られていない。子宮頸部のSCJにリザーブ細胞と呼ばれる幹細胞の性質を持った細胞が存在し、扁平上皮細胞もしくは円柱上皮細胞に分化する。このリザーブ細胞にHPV感染が起きることで子宮頸癌が引き起こされるため、子宮頸部腺癌の発生機序を解明するためにリザーブ細胞が重要と考えた。未分化能や幹細胞能を持つiPS細胞から「子宮頸部リザーブ細胞様に分化させた細胞(iRC細胞)」を樹立する事に同研究グループは成功している。

子宮頸癌の自然発生の機序となる組織幹細胞をiPS細胞由来の子宮頸部リザーブ細胞様(iRC)細胞で*in vitro*、*in vivo*実験系で再現することで、HPV18型による発癌過程における幹細胞特性(Stemness)の維持のメカニズムを解明し、その原因遺伝子発現を探索することで、HPV18型もしくは子宮頸部腺癌の個別化医療の基礎的研究を行うことを目的とした。

細胞株はiRC+ベクター(iRC control)、iRC+HPV16 E6/E7(iRC16)、iRC+HPV18 E6/E7(iRC18)の3種類の細胞を使用し、RNAseqを行った。細胞RNAseqでは腺の単層構造を形作る低分子ケラチンがiRC18で上昇しており、HPV18がリザーブ細胞の円柱上皮、腺への分化を誘導したと考えられた。次に、*in vivo*による検討に進み、 5.0×10^6 個/1頭のiRC16、iRC18、iRC controlをNOD-scidマウスの皮下に注入し、腫瘍形成するかの実験を行った。また、腫瘍の構造と形成スピード、MD解析、scRNA解析を行った。iRC16は10頭中8頭に、iRC18は10頭中10頭に、iRC controlは5頭中3頭に腫瘍形成させることに成功した。また、iRC18はiRC16と比べて明らかに腫瘍形成スピードが早かった($p=0.005$)。細胞や既報であるオルガノイドよりも生体に近い状態での遺伝子発現を実験可能という点で新規性があった。また既報では健常女性の子宮頸部のリザーブ細胞にE6,E7遺伝子を導入しマウスに注入して腫瘍化するかの試みがなされているが、E6,E7遺伝子のみでは腫瘍化は認めなかった。iPS細胞の性質を生かすことで、より正確に幹細胞性を模倣できることは、腺系腫瘍の形成を研究することにおいて大変重要な点と考えられた。腫瘍内の組織像では、2種類の腺系腫瘍(A、B)、未分化組織が混合していた。CDH1、低分子ケラチン陽性の腺系腫瘍Aと陰性の腺系腫瘍Bは、MD解析でも分離良好で異なる遺伝子発現をしていた。iRC controlと比較してiRC18は9倍多く腺系腫瘍A、Bを誘導した($p=0.04$)。TCGAと比較すると腺系腫瘍AにHPV18型腺癌の特徴遺伝子が発現していた。scRNAseqでは、皮下腫瘍は22個のクラスターに分離され、クラスターで高発現している上位遺伝子は、細胞のRNAseqやMD解析とは異なっており、新たな遺伝子群の動きを捉えられたと考えられた。*In vivo*の実験系の確立により、腫瘍の組織や遺伝子発現を解析することで、HPV型子宮頸部腺癌の発生機序や治療標的についての新たな知見を得ることができた。