

氏名	劉 妹怜			
学 位 の 種 類	博士（医学）			
学 位 記 番 号	博甲第 8 7 9 6 号			
学位授与年月	平成 3 0 年 8 月 3 1 日			
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
審 査 研 究 科	人間総合科学研究科			
学位論文題目	Separate analysis of human papillomavirus E6/E7 transcript variants in liquid-based cytology samples from patients with cervical neoplastic diseases(子宮頸部腫瘍性疾患患者からの液状細胞診検体におけるヒトパピローマウイルス E 6 / E 7 転写変異体の個別解析)			
主 査	筑波大学教授	博士（医学）	佐藤 幸夫	
副 査	筑波大学准教授	医学博士	内田 和彦	
副 査	筑波大学講師	博士（医学）	小島 崇宏	
副 査	筑波大学助教	博士（医学）	渡邊 幸秀	

論文の内容の要旨

劉妹怜氏の博士学位論文は、子宮頸癌発生におけるヒトパピローマウイルス(HPV)の E6 および E7 mRNA の異なる役割を検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

【目的】 過去の報告では、HPV E6 mRNA は全 grade の Cervical intraepithelial neoplasia (CIN)でほぼ一様に検出されるのに対し、E7 mRNA は病変の進行に従って検出率が増加すると報告されている。著者は子宮頸癌発生における E6 および E7 mRNA の異なる役割を明らかにすることを目的とした。

【方法】 著者は HPV の E6 mRNA および E7 mRNA を個別に検出できるコンセンサス・プライマーに基づいた RT-PCR を使用して実験を行った。まずヒト頸癌細胞株 CaSki (HPV16 陽性) および HeLa (HPV18 陽性) において E6/E7 mRNA の発現パターンを RT-PCR により解析した。次に、組織学的に確認された CIN または子宮頸癌の患者 171 名から採取した LBC 検体から DNA および RNA を抽出し、E6 および E7 mRNA を解析した。HPV タイピングは L1-PCR および RFLP 解析を行った。CIN1 は 16 名、CIN2 は 33 名、CIN3 は 83 名、子宮頸癌は 39 名だった。年齢の中央値は CIN1 が 41.0 歳 (23-59) , CIN2 が 33.0 歳(22-65), CIN3 が 36.0 歳(22-70), 子宮頸癌が 49.0 歳(33-76)だった。経過観察期間の中央値は 194 日 (0-613)だった。

【結果】 HeLa および CaSki 細胞における E6/E7 mRNA の発現パターンは過去の報告と一致した。これらの細胞の E6/E7 RT-PCR 産物を DNA シークエンス解析により確認している。171 名の LBC 検

体において、E7 mRNA は CIN1 の 6%、CIN2 の 12%、CIN3 の 24%、子宮頸癌の 54%に検出された。E7 mRNA 陽性は low grade の CIN から浸潤癌への進行と有意に関連し、一方 E6 mRNA、ハイリスク HPV DNA は関連を認めなかった。E6 および E7 mRNA 両者の陽性は HPV16/18 DNA と有意に関連したがハイリスク HPV と有意には関連せず、一方 E6 mRNA 陽性はハイリスク HPV DNA と有意に関連したが、HPV16/18 DNA と有意には関連しなかった。E6 および E7 mRNA 両者の陽性は CIN2 以上の検出に関して高い特異度と低い感度を示し、一方ハイリスク HPV DNA は低い特異度と高い感度を示した。CIN2 以上の検出に関して E6 および E7 mRNA 両者の陽性はハイリスク HPV DNA よりも更に高い陽性的中率を示した。CIN1-2 の経過観察を行った 31 名において、E6 および E7 mRNA 両者の陽性は異常細胞診の grade 上昇と有意に関連し、一方 E6 mRNA、ハイリスク HPV DNA、HPV16/18 DNA は関連性を認めなかったことを明らかにしている。

[考察] 著者の報告は、病変進行と診断精度について、E7 mRNA 陽性と E6/E7 mRNA 両者の陽性とを区別して解析したことが過去の報告と異なる。また著者は初めて経過観察患者について E6/E7 mRNA の個別解析を行った。上述の結果から、E7 mRNA は E6 mRNA より強く発癌機序に関与していると推測され、また E6/E7 mRNA 両者の陽性は、HPV 16/18 に特有の発癌特性の可能性があると考えられた。E7 は病変の現状と最も関連し、一方 E6/E7 両者の陽性は今後の病変進行に最も重要と考えられる。また E6/E7 mRNA の個別解析は、ハイリスク HPV DNA 検査よりも CIN2 以上の検出率が高いことが示された。他の HPV RNA 検査は E6/E7 mRNA をまとめて検出するのに対し、著者の RT-PCR は個別に検出するので、病変の進行をより正確に予測できると考えられ、E6/E7 mRNA の個別解析は、CIN の進行を HPV DNA 検査よりも正確に予測できると期待される。

[結論] 著者の結果は E7 mRNA が E6 mRNA よりも子宮頸癌発生により強く関与し、E6 および E7 mRNA 両者が存在すると最も強い発癌作用を発揮するという過去の研究を更に支持している。一方、E6 および E7 mRNA の個別解析はハイリスク HPV DNA 検査よりも CIN2 以上の検出と病変進行の予測に関してより有用であることを示唆している。

審査の結果の要旨

(批評)

劉妹伶氏は、子宮頸癌発生における HPV の E6 および E7 mRNA の異なる役割を検討し、E7 mRNA が E6 mRNA よりも子宮頸癌発生により強く関与し、E6 および E7 mRNA 両者が存在すると最も強い発癌作用を発揮することを明らかにした。更に E6 および E7 mRNA の個別解析はハイリスク HPV DNA 検査と比較して病変進行の予測に関してより有用であることを示唆しており、子宮頸癌発症のメカニズムの解明および子宮頸癌の早期発見に寄与するものと評価できる。

平成 30 年 6 月 7 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。