OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	疣贅状表皮発育異常症の皮疹より分離した新しいヒトパピローマウイルス及びウイルスDNAのクローニング
Author(s)	津森, 孝生
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33308
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【24】

氏名・(本籍)	津森孝生
学位の種類	医学博士
学位記番号	第5997号
学位授与の日付	昭和58年3月25日
学位授与の要件	医学研究科 病理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**疣贅状表皮発育異常症の皮疹より分離した新しいヒトパピローマウイルス及びウイルスDNAのクローニング**
論文審査委員	(主査) 教授 北村 旦 (副査) 教授 佐野 栄春 教授 加藤 四郎

論文内容の要旨

〔目　的〕

疣贅状表皮発育異常症（Epidermodysplasia verruciformis, EV）は，幼小児の頃から，全身の皮膚に広範囲にイボ状皮疹が多発し，その患者の約30%近くが皮膚癌を合併する疾患である。その発病，発癌に関してはヒトパピローマウイルス（HPV）の関与が強く示唆されているが，HPVは培養細胞を用いての増殖や癌化が不可能なため，HPVによる悪性化の研究は大幅に遅れている。最近ウイルスDNAの制限酵素による分析などが行われる様になり，EVには3，5，8，9など数種類のtypeのHPVが存在する事が報告されている。我々は，わが国における多くのEV患者からウイルスを分離し，分離したウイルスＤＮＡのクローニングを試み，クローン化によって得られた多量のＤＮＡを用いて，ウイルスDNAのphysical mapの作成，ウイルスのtyping，患者から得られる癌組織中のウイルスＤＮＡの存在様式，癌組織中で発現しているウイルス遺伝子情報などを解析し，これらの結果を通してＨＰＶによる発癌機構を明らかにすることを目的として研究を行っている。

本研究は上記研究の一環として行われ，EV患者から分離したHPV中からまったく新しいHPVを発見し，このウイルスのクローニングや詳しいphysical mapの作成などを行ったものである。

〔方法ならびに成績〕

ＥＶ患者（ＮＦ氏，男性，25才）の胸部，背部の紅色斑より表皮剥離片を採取し，ウイルス分離を行った。精製したウイルスは電顕上，径45nm，正二十面体の粒子で表面にはcapsomereが見られ，パポバウイルスの特徴を示した。ウイルス粒子をSDS-プロテアーゼで処理した後，ウイルスDNAをフェノール抽出し，CsCl-EtdBr密度勾配遠心で FormⅠ DNAを精製し検討した結果，このウイ

ルスDNAの分子量は5×10^6ダルトンであり，制限酵素EcoRIで1ケ所，Hind Ⅲで2ケ所，Bam HIで3ケ所の切断点を持つことがわかった。

クローニングには，ベクターとしてpBR325プラスミドを用いた。EcoRIで切断した線状のHPV DNAとプラスミドDNAをT4 DNAリガーゼでつなぎ，塩化カルシウムで処理した大腸菌X1776株にトランスフェクトした。

目的のクローンは，まず薬剤に対する感受性でスクリーニングし更にＤＮＡを抽出し，アガロースゲル電気泳動でHPV DNAが組込まれているかどうかをチェックした。得たクローンのひとつを$pHPV_{NF}$と名付けた。HPV_{NF} DNAの分子量は5×10^6ダルトンであり，制限酵素Hind ⅢやBam HI等による切断断片の数や大きさがもとのウイルスＤＮＡと同じであることから，欠失などのない組み換え体を得た事が結論できた。次に制限酵素の二重消化法による詳しいphysical mapの作成を試みた。その結果，切断点が1ケ所のEco RI, Bgl I, 2ケ所のHind Ⅲ, Ava Ⅰ, 3ケ所のBam HI, Xba I, Kpn I, 5ケ所のHpa Ⅱ，及び6ケ所のHha I, Hind Ⅱについての詳細なphysical mapが完成した。

このphysical mapと今までに報告されている種々なtypeのHPVと比較したが類似性は認められず，我々が分離したウイルスはまったく新しいウイルスであることがわかった。又，我々は別の患者からもEVを引きおこすHPV-3及びHPV-5と考えられるウイルスを分離しているが，上記新ウイルスDNAはこれらのウイルスDNAとの間で相同性を持たない事も確認した。

〔総　括〕

1．ＥＶ患者の紅斑より新しいＨＰＶを分離した。

2．上記ウイルスDNAをpBR325を用いてクローニングする事が出来た。

3．クローン化ＤＮＡは，分子量及び各種制限酵素による切断パターンから判断して，欠失のないもとのウイルスDNAと同じものが得られた事がわかった。

4．制限酵素を用いて，クローン化DNAの詳しいphysical mapを作成した。

5．このクローン化DNAは，癌とウイルスDNAの関連を研究していく上で重要な役割を果すものと思われる。

論文の審査結果の要旨

疣贅状表皮発育異常症（Epidermodysplasia verruciformis, EV）は，幼小児の頃から全身の皮膚に広範囲にイボ状皮疹が多発し，その患者の約30%近くが皮膚癌を合併する疾患である。その発病，発癌に関してはヒトパピローマウイルス（HPV）の関与が強く示唆されているが，HPV は培養細胞を用いての増殖や癌化が不可能なため，ＨＰＶによる悪性化の研究は大幅に遅れている。本研究は，EV患者の皮疹より分離したHPV中からまったく新しいHPVを発見しこのウイルスDNAのクローニングや詳しいphysical mapの作成を行ったものである。

このクローン化DNAは，今後ウイルスのtyping，患者から得られる癌組織中のウイルスDNAの存在様式，癌組織中で発現しているウイルス遺伝子情報などを解析していく研究にとって重要な役割を果たすものと思われる。