

Title	Polymavirusによるtransformationに関する細胞変異株
Author(s)	樋口, 富士人
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34658
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【2】

氏名・(本籍)	樋口富士人
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 6616 号
学位授与の日付	昭和 59 年 9 月 29 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	Polyoma virusによるtransformationに関する細胞変異株
論文審査委員	(主査) 教授 羽倉 明 (副査) 教授 加藤 四郎 教授 角永 武夫

論文内容の要旨

(目 的)

Polyoma virusによる細胞のがん化にはウイルスの初期遺伝子産物 (LargeT, middleT及びsmallt) が関与しており, LargeTは細胞のimmortalization, middleTはがん化状態の維持に不可欠であることが明らかにされている。しかし, これら蛋白が細胞内のいかなる因子に作用し, 細胞のがん化が引き起こされるかについては殆ど解析がなされていない。本研究はpolyoma virusによるtransformationに関する細胞変異株を分離し, その性状解析を通して, ウイルスの初期遺伝子産物の細胞側標的を明らかにすることを目的としている。

(方法ならびに結果)

1 変異細胞株の分離 Fischer rat由来の株細胞No.7 (F 2408のHGPRT⁻変異株)を親株として用い, No.7細胞に突然変異誘発源として紫外線を照射し, 生存細胞中からpolyoma virusによるtransformationの頻度が親株に比べ著しく低い細胞クローンの分離を試みた。約1,800のクローンを調べた結果, polyoma virusによるtransformationに低頻度を示す変異株を9株分離することに成功した。分離した変異株のこうした性質が単にpolyoma virusに対する細胞側レセプターや, ウイルス吸着後脱殻までの過程に関与する細胞側因子の変異によるかどうかを調べるため, 分離した変異株にpolyoma virusの感染性DNAをリン酸カルシウム法を用いてtransfectし, transform細胞の出現頻度を親株と比較した。その結果, 分離した9株中には感染性DNAによるtransformation頻度が親株と同程度の値を示す変異株も存在することが分かった。以後の実験は9変異株中, polyoma virus自体及び感染性DNAによるtransformationの頻度が変異株中で最も低い変異株, PM24, を選び同変異株の性状解析を行なっ

た。

2 PM24株の性状解析 i) 一般にpolyoma virusやSV40によるtransformationにはウイルス感染後少なくとも数回の細胞分裂が必須であることが知られている。そこで、PM24株のtransformation頻度の低い原因が同変異株の増殖速度の低下に起因しているかどうかを検討した結果、PM24株の増殖速度は親株(No.7)と変わらないことが分かった。

ii) PM24株の変異形質が他の正常細胞によって相補されるかどうかを調べるため、PM24株とF2408由来のthymidine kinase欠損変異株(No.20)との間で雑種細胞を作成した。作成した雑種細胞はPM24細胞と異なり、親株のNo.7細胞と同様polyoma virusによるtransformationに高い感受性を示した。次にpolyoma virusで前以てtransformさせたNo.20細胞とPM24株との雑種細胞を作成し、No.20細胞のtransform形質がPM24株により抑制されないことを確認した。これらの結果はPM24株がpolyoma virusによるtransformationに必要な細胞因子に変異を持つ変異株であることを強く示唆している。iii) 次にPM24株の変異遺伝子産物がpolyoma virus以外の腫瘍ウイルスによるtransformationにも関与しているかどうかを検討すべく、PM24株を種々なRNA腫瘍ウイルスでtransformさせた。その結果PM24株でのtransformationの頻度はNo.7と変わらず、同変異株の変異遺伝子産物は用いたRNA腫瘍ウイルスによるtransformationに関与していないことが明らかになった。iv) PM24株の変異遺伝子産物を確認する目的でオフィーレルの2次元電気泳動を試みたがNo.7とPM24との間で泳動パターンに差異を認めることができなかった。

3 PM24株内でのpolyoma virusの初期抗原について PM24株にpolyoma virusが感染時、ウイルスの初期遺伝子がNo.7と同様に発現するかどうかを免疫沈降実験などを用いて検討したが、両細胞共polyoma virusの初期遺伝子産物を検出することができなかった(一般にラット細胞でpolyoma virusの初期遺伝子産物を確認することは非常に困難である)。polyoma virusの初期遺伝子機能として、細胞DNA合成の誘導が知られている。PM24株でのpolyoma virus初期遺伝子機能の発現を調べるため、PM24株でのDNA合成の誘導をNo.7と比較した。その結果、PM24株ではウイルスによって誘導を受ける細胞の割合はNo.7と変わらないが、細胞当たりのDNA合成の効率が低下していることが明らかになった。以上の結果からPM24株の変異遺伝子はウイルスの初期遺伝子の発現、または機能に関与する遺伝子であると推定される。

(総括)

がん化に関与する細胞側因子を検索する目的で、polyoma virusによるtransformationの頻度が親株に比べて低い細胞変異株を9株分分離した。変異株中、PM24株を選び、性状解析を行なった結果、本変異株のpolyoma virusによるtransformation頻度の低下原因はウイルスの初期遺伝子の発現または機能の低下に起因していることを示唆する結果を得た。今後本変異株の性状解析を通して、polyoma virusの初期遺伝子の発現、または機能を支配する細胞側因子が明らかになるであろう。

論文の審査結果の要旨

本研究はラット由来の株細胞を用いて、ポリオーマウイルスによる癌化効率が非常に低い細胞変異株の分離に成功し同変異株の性状解析を通して同ウイルスの初期遺伝子の発現を制御すると考えられる細胞側因子の存在を初めて明らかにしたもので価値ある研究と考えられる。