



Title	ラウス肉腫ウイルスの感染によるラット培養肝細胞の形質転換の解析
Author(s)	紀平, 安則
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35969
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

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	紀	平	安	則
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	8056	号	
学位授与の日付	昭和	63年	3月	25日
学位授与の要件	理学研究科生物化学専攻			
	学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	ラウス肉腫ウイルスの感染によるラット培養肝細胞の形質転換の解析			
論文審査委員	(主査) 教授	堀尾	武一	
	(副査) 教授	中川	八郎	教授
			松原	央

論文内容の要旨

ラウス肉腫ウイルス (RSV) はニワトリに肉腫を形成するレトロウイルスであり、宿主に感染したウイルスのゲノムは逆転写酵素により RNA から DNA に書き換えられた後、宿主の DNA に組み込まれてプロウイルスとなる。本研究では、RSV の Schmidt-Ruppin D 株 (SR-D) を用いてラット培養肝細胞 (BRL) の形質転換を行い、5 種の形質転換細胞株 (RSV-BRL 1~5) を得、それらの性質を調べた。これらの形質転換細胞はいずれも、ラットの皮下に注射されたとき腫瘍を形成し、また、軟寒天培地で浮遊しながら増殖することができた。また、RSV-BRL 細胞は培養液中にフィプロネクチン分解酵素 (FNase) を分泌し、その結果として、これらの細胞表面のフィプロネクチンが減少し、細胞間あるいは細胞と基質との間の結合が緩くなっていることが明らかとなった。さらに、RSV-BRL は BRL に比べて、ラットの血清中に存在する増殖阻害因子に対する感受性の低下と生体内での腫瘍形成能が関係しているのではないかと考えられた。一方、大腸菌を用いて RSV の全遺伝子配列のクローニングを行った。RSV 遺伝子のクローニングは、ウイルス粒子に含まれる RNA を鉄型として逆転写酵素により cDNA を合成し、さらに二本鎖 DNA にした後 pBR 322 に組み込むことによって行われた。その結果、全長約 9.3kb のほぼ全体を含む 3 種のプラスミド pB-51, pRS111, pRS88 が得られた。次にクローニングされた RSV 遺伝子の DNA 断片をプローブとして用いて、RSV-BRL 1~5 の染色体 DNA に組み込まれた RSV 遺伝子の構造と位置および発現レベルの解析を行った。その結果、各細胞の染色体 DNA 上に RSV 遺伝子が、ほぼそのままの状態で挿入されていることが分かった。また、染色体 DNA での RSV 遺伝子の挿入位置は RSV-BRL 1 と 2 では差が見られなかったが、この 2 種と RSV-BRL 3, 4, 5 の間では互いに異なっていること、また、RSV-BRL 1~

4 では src 遺伝子を含む領域の遺伝子増幅が起こっていることなどが示唆された。また、ウイルス mRNA A の発現量を調べた結果、src を含む mRNA の発現は BRL では検出されなかったが、RSV - BRL のすべてのクローンにおいて検出された。しかしながら、この mRNA の発現量と形質転換細胞の悪性度（造腫瘍性）との間には相関性が見られなかった。

論文の審査結果の要旨

現在までに、30種類以上の癌遺伝子の存在が明らかにされているけれども、癌遺伝子の機能と癌化の関連性については、未だに、不明な点が多い。本研究において、紀平安則君は、ラットの上皮性肝細胞の培養株 BRL を、ラウス肉腫ウイルス (RSV) で形質転換することによって、上皮性細胞の癌化の研究のための新しい実験モデルを樹立することができた。この形質転換細胞 RSV - BRL の性質を検討した結果、RSV - BRL は BRL に比べて血液中に存在する増殖阻害因子に対する抵抗性が高いこと、フィブロネクチン分解性のプロテアーゼを多量に分泌すること、およびこれらの性質が生体内での癌細胞の悪性増殖能に関係する可能性が高いこと、を明らかにした。

更に、造腫瘍性が異なる種々の RSV - BRL クローンの染色体 DNA に組み込まれた RSV 遺伝子の存在状態を解析した結果、RSV 遺伝子の挿入位置がこれらのクローンの間で異なること、また、各クローンの間で src 遺伝子の発現量と造腫瘍性が厳密には対応しないことを見出した。したがって、造腫瘍性の獲得のためには、src 遺伝子の発現によって誘導される宿主遺伝子の発現の変化が重要であると考えられる。

上記の成果は細胞癌化の機構を解析する上で重要な手がかりを与えるものであり、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。