The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ヒトパピローマウイルスの各種タイプ間における癌遺伝子機能の比較
Author(s)	高見, 恭成
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37173
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

【26】

氏名・(本籍)	高見恭成（たかみ やすなり）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 9677 号
学位授与の日付	平成3年3月26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	**ヒトパピローマウイルスの各種タイプ間における癌遺伝子機能の比較**
論文審査委員	(主査) 教授 羽倉 明 (副査) 教授 豊島久真男 教授 上田 重晴

論文内容の要旨

（目　的）

現在ヒトパピローマウイルス（ＨＰＶ）は約66種類のタイプが同定され，これらのうち特定のタイプがある種の癌の発生に関与すると考えられている。ＨＰＶはその toropism から皮膚型，粘膜型に大別され，また腫瘍原性の違いから良性型と悪性型に分類可能である。現在最も多く研究がなされているのは，子宮頚癌との関与が疑われている16型及び18型である。両タイプ共にウイルス初期遺伝子のＥ６Ｅ７遺伝子（Ｅ６Ｅ７）に培養細胞に対する transform 活性が認められ，またこれら産物が子宮頚癌組織中で発現していることから，Ｅ６Ｅ７は頚癌の発生や維持に重要な役割を果たしているものと考えられる。一方，他のタイプについての研究はほとんどなされていない。本研究ではＨＰＶタイプで認められる腫瘍原性の差異をウイルス遺伝子レベルで明らかにする目的で，Ｅ６Ｅ７の機能を中心に各タイプ間の transfoerm 活性を比較検討した。

（方　法）

本実験に用いたＨＰＶは１，５，６，16，17及び52型の６種類である。１，５，17型は皮膚型で１型は足底疣贅など良性腫瘍を誘発するのに対し，５，17型は疣贅状表皮発育異常症患者に生じた皮膚癌から分離されることから悪性化に関与するものと考えられる。６，16，52型は粘膜型であり，６型は尖圭コンジローマなどから分離されるので良性型，一方16，52型は子宮頚癌から分離されるので悪性型と分類されている。これらのＨＰＶＥ６Ｅ７領域を含むＤＮＡ断片を動物細胞発現ベクター pZipneo ＳＶ（x）１に挿入し，各Ｅ６Ｅ７の発現を Mo－MuLV のＬＴＲの支配下に置いた。これらプラスミドを pHyg（hygromicin 耐性遺伝子を含む）と10：１の比でリン酸カルシウム法で培養細胞に transfect後，

プラスミド保持細胞をhygromicinで選択し。その性状を調べた。用いた細胞は，株化した細胞としてＮＩＨ３Ｔ３，３Ｙ１，Ｃ127を，初代培養細胞としてFisher ratから調製したprimary rat embryo fibroblast（ＲＥＦ）を使用した。

（結　　果）

1．ＮＩＨ３Ｔ３，３Ｙ１に各Ｅ６Ｅ７を導入した場合，飽和密度の上昇や顕著な形態変化が認められたのは16，52型のみであった。一方，Ｃ127に各タイプのＥ６Ｅ７を導入すると程度の差はあるが，すべてのタイプで変化が認められた。形態的変化の強さは16，52＞５，17＞１＞６の順であった。軟寒天培地中でのコロニー形成は16，52型を導入したすべての細胞種で認められたが，他のタイプではコロニー形成能は確認できなかった。

2．初代培養細胞，ＲＥＦに各タイプＥ６Ｅ７をtransfectして生じた個々のhygromicin耐性コロニーの不死化能を調べた。各Ｅ６Ｅ７をtransfectして生じたコロニー数はいずれの場合もpZipneoで生じたコロニー数よりも多かった。このことはすべてのタイプのＥ６Ｅ７に細胞増殖を促進する活性があることを示す。しかしながら，不死化能を獲得したコロニーは１，16，52，型を導入した細胞のみであった。各Ｅ６Ｅ７と活性型c-Ha-rasをＲＥＦにco-transfectしてfocus形成の有無を調べたところ，１，16，52，型でのみfocusの形成が認められた。

3．粘膜型間での腫瘍原性の差異を明らかにする目的で，６型と16型のＥ７について更に詳細に解析した。両型のＥ７を効率良く同程度発現させる目的でＥ７領域のみpZipneoに挿入して上記transform能を検討したところ，６型にはその活性が認められなかった。そこで16型および６型のＥ７間でのキメラを作成し，transform能を支配しているdomainの同定を試みた。すなわち両型間のＥ７の，Ｎ末端から約⅓の領域を互換した２種類のキメラ，６／16Ｅ７（Ｎ末端が６型），16／６Ｅ７（Ｎ末端が16型）を作成し，これらのtransform能を調べた。その結果６／16Ｅ７に軟寒天培地での増殖能，活性型rasと共同してＲＥＦをtransformする活性及び，不死化能が認められた。しかし不死化させる効率は16Ｅ７に比べやや低下していた。一方，６／16Ｅ７にはこれらの活性は認められなかった。

（総　　括）

1．ＨＰＶ各タイプ間によってＥ６Ｅ７遺伝子の培養細胞に対する各種transform活性に強弱があることを明らかにした。

2．同じ悪性型に分類されるＨＰＶ間でも粘膜型である16，52型と皮膚型である５，17型のＥ６Ｅ７遺伝子とは異なるtransform活性を示すことを明らかにした。このことから，ＨＰＶによる子宮頚癌と皮膚癌の発生には異なる機構で起こる可能性が示唆された。

3．粘膜タイプ間で認められる腫瘍原性の差異の一因として，Ｅ７のＮ末端から⅓領域のdomainが重要な役割を果たしていることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

ヒトパピローマウイルス（ＨＰＶ）には多くのタイプが存在し，このうちの一部が皮膚癌や子宮頚癌の発生に密接に関与しているものと考えられている。本研究は粘膜および皮膚由来の悪性型と良性型ＨＰＶのトランスフォーム能を比較検討することにより，癌化に関与するウイルス遺伝子の同定とその機能を明らかにすることを目的として行われたものである。本研究によって，粘膜悪性型と皮膚悪性型ＨＰＶの癌遺伝子機能に差異があり，両者による癌化が一部異なった機構によって引き起こされる可能性が示された。また，粘膜悪性型と良性型Ｅ７ＯＲＦ（open reading frame）間でのキメラＥ７ＯＲＦの解析から，両者間で認められるトランスフォーム活性の強弱が主としてＥ７蛋白のＮ末端から30アミノ酸残基によって規定されていること，また30アミノ酸以降のＣ末端側もトランスフォーム活性の一部を調節していることが明らかにされた。以上の研究はＨＰＶによる癌化機構の解明に重要な知見を提供するものであり，学位に値するものと考えられる。