



Title	Induction of uterine cervical neoplasias in mice by human papillomavirus type B16 E6/E7 genes.
Author(s)	笛川, 寿之
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37957
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	笹川寿之
博 士 の 専 攻	博 士 (医 学)
分 野 の 名 称	
学 位 記 番 号	第 10204 号
学 位 授 与 の 日 付	平成 4 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 则 第 4 条 第 1 項 該 当 医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Induction of uterine cervical neoplasias in mice by human papillomavirus type B16 E6/E7 genes. (ヒトパピローマウイルス (HPV) 16型 E6/E7 遺伝子による、マウス子宮、腔上皮新生物の誘発)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 谷澤 修 (副査) 教 授 羽倉 明 教 授 上田 重晴

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

ヒト子宮頸癌の発生にヒトパピローマウイルス (HPV) の感染が重要であることが近年明かになりつつある。HPV のうち16型遺伝子はひろく子宮頸癌組織中に検出されることが知られ、HPV 16型初期遺伝子である E6/E7 領域はマウス株化培養細胞をトランスフォームし、ヒト上皮初代培養細胞を不死化させることができた。しかしながら HPV を用いた動物実験が困難であることより、現在に至るまで HPV 16型遺伝子の *in vivo* に於ける機能の解析は進んでいない。本研究では、マウス子宮、腔部に HPV 16型の E6/E7 遺伝子を組み込んだキメラレトロウイルスを感染させることにより、子宮、腔上皮組織に HP 16型 E6/E7 遺伝子を導入し、その遺伝子の *in vivo* における発現と上皮性変化の解析を目的とした。またウイルス感染後に MNNG や TP を同組織に処置し、その相乗効果による発癌誘発を試みた。

(方 法)

マウスレトロウイルスベクター pZinpNeoSV (X)1 に HPV 16型 E6/E7 遺伝子を組み込んだ pZipNeo SV(X)1 ベクターそれぞれをマウス Ψ 2 細胞にトランスフェクトした。それらの細胞培養上清よえいキメラレトロウイルス ZE 67 と HPV を含まないコントロールウイルス ZNeo を回収し、超濾過、超遠心法により濃縮した。

実験 1) 53匹の CD-1 nu/nu マウスと16匹の C67 BL/6 J マウスを 2 つのグループにわけ、それぞれのウイルス (ZE 67 TOZNeo) を各マウス腔内に週 2 回 Moloney ヘルパーウイルスと共に 1×10^4 G 41 8^{recu} 単位注入した。

実験2) 19匹のCD-1 nu/nu マウスと、25匹C57BL/6 Jマウスに各ウイルスを感染させた後それぞのマウスにMNNG 50 μg を2回、TPA 10ng 週2回計6回腔内に処置した。

3箇月毎に各マウスより腔スメラーを採取し、細胞診を行い、CD-1 nu/nu マウスは9箇月、C57BL/6 Jマウスは15箇月後に屠殺し組織学的検討を加えた。なお子宮、腔細胞中のHPV-DNAの存在はE6 primerによるPCR-Southern blotting法、組織中のE6/E7 mRNAの発現はE6/E7-riboprobeを用いた組織in situ hybridization法により検討を行った。

(成績)

細胞診では、実験1) 感染後3箇月以内にZE67処置群の25例中7例、ZNeo処置群の25例中2例に軽度異型細胞、一部にkoilocyte様細胞がみられ、9箇月後にはZE67処置群の9例に高度異型細胞を認めだが、コントロール(ZNeo)群では高度異型細胞は認めなかった。

実験2) ZE67+MNNG処置群では約12箇月後2例、15か月後6例に癌細胞の出現を認め、ZE67+TPA処置群では6箇月後1例、9箇月後2例に癌細胞の出現を認め、一方、ZNeo+MNNG群やZNeo+TPA群では癌細胞は細胞診上認められなかった。

組織学的検討では、実験1) ZE67処置群39例中22例に高度異形成、11例に軽度異形成がみられ、ZNeo処置群では、30例中1例に高度異形成、8例に軽度異形成を認めたが、ZE67ウイルス処置群ではコントロールウイルス処置群に比べ異形成の発生は有意に増加した($p < 0.001$)。実験2) ZE67ウイルス+MNNG群では、15例中6例に扁平上皮癌が発生し、ZE67ウイルス+TPA群では13例中に2例に同種の癌が発生した。一方、ZNeo+MNNG群では10例中2例に同様の癌が発生したが、ZNeo+TPA群では癌発生を認めなかった。

HPV16型DNAは、実験1) ZE67ウイルス群の異形成22例中17例、正常5例中2例に認められZNeoウイルス群では認めなかった。実験2) ZE67+MNNG、ZE67+TPA両群の癌細胞全例にこのHPV-DNAを認めた。

HPV16 E6/E7 mRNAの発現は、ZE67ウイルスを処置したマウスの正常上皮や軽度異形成上皮の傍基底部に発現し、基底部の発現はみられず、高度異形成や癌組織では上皮のほぼ全層にわたり発現していたが、基底部や癌巣外側部では発現が低下していた。全体的に癌組織ではE6/E7 mRNAの発現増加を認めた。

(総括)

- 1) マウスキメラレトロイルスを用い、HPV16 E6/E7型遺伝子をマウス子宮、腔上皮へのin vivo導入に成功した。その結果、子宮、腔上皮はE6/E7遺伝子発現により異形成が誘発されるが、癌化には至らないことが判明した。
- 2) 子宮、腔上皮は、HPVとMNNGとTPAなどの発癌誘導物質との共同作用により、癌化する可能性が示唆された。
- 3) HPV16型E6/E7 mRNAの発現が悪性化に伴って変化したこと、またHPV遺伝子の導入や発癌誘導物質の処置後、高度異形成や癌細胞の出現までに長い期間が必要であったことより、癌化に至るまで多くの細胞側遺伝子の変異や修飾が必要と考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究は、HPV 16型 E6／E7 遺伝子を導入したムスレトロウイルスを作成し、同ウイルスをマウス腔内に感染させることにより、HPV 16型 E6／E7 遺伝子の *in vivo* 導入に成功している。その毛か、E6／E7 遺伝子の作用により子宮、腔上皮に前癌状態である高度異形成が誘発されることを証明し、また TPV や MNNG 等の追加処置により扁平上皮癌の発生がみられることを明らかにしている。この論文は、ヒト子宮頸癌に高率に検出される HPV 16型遺伝子が癌発生にきわめて重要なファクターであることを動物実験で初めて明らかにしたものであり、博士号授与に値するものと考えられる。