



Title	Very High Incidence of Germ Cell Tumorigenesis (Seminomagenesis) in Human Papillomavirus Type 16 Trans-genic Mice
Author(s)	近藤, 玄
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38001">https://hdl.handle.net/11094/38001</a>
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、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>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

氏 名	近 藤 玄
博士の専攻分野の名称	博 士 ( 医 学 )
学位記番号	第 1 0 1 6 4 号
学位授与年月日	平成 4 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科 病理系専攻
学位論文名	<b>Very High Incidence of Germ Cell Tumorigenesis (Seminomagenesis) in Human Papillomavirus Type 16 Transgenic Mice (ヒトパピローマウイルス癌遺伝子導入トランスジェニックマウスに好発する睾丸腫瘍の解析)</b>
論文審査委員	(主査) 教 授 羽 倉 明 (副査) 教 授 豊島久真男    教 授 西宗 義武

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### (目 的)

ヒトパピローマウイルス (HPV) は、子宮頸癌やある種の皮膚癌などのヒトの上皮性腫瘍より高頻度に検出され、これらの組織の癌化過程に深く関わっていることが、示唆されている。更に、悪性腫瘍から検出されるウイルス DNA は、マウス、ラットなどの繊維芽細胞やヒトの表皮角化細胞などに導入すると、これらの細胞を効率よくトランスフォームすることが報告されている。また、この機能は、ウイルスゲノム上の E 6 及び E 7 遺伝子領域にマッピングされる。ところで、パピローマウイルスは、その感染や増殖において、宿主依存性が強い。すなわち、ヒトパピローマウイルスは、ヒトにしか感染できない。従って、このウイルスの発癌能を個体レベルで解析するには、従来の動物実験の系では、ほとんど不可能であった。そこで、ウイルスの感染や増殖に関わる問題を無視できるトランスジェニックマウスの系を用いて、このウイルスの個体発癌能、特に E 6 及び E 7 遺伝子の機能の解析を試みた。

#### (方法ならびに成績)

子宮頸癌組織中より高頻度に検出される HPV 16 型の P97 プロモーターを含む E 6 および E 7 遺伝子領域をマウス乳癌ウイルスのプロモーター・エンハンサー単位 (MMTV-LTR) の下流に連結したキメラ遺伝子を作成し、プラズミドベクター領域を除去した後、近交系マウス C57 BL/6 の受精卵にマイクロインジェクション法により導入した。その結果、5 匹のトランスジェニックマウス (雄 4, 雌 1) を得、それらのうちの 3 匹より独立した家系を確立した。これらの 3 系統を継代維持し、以下の知見を得た。

(1) 全ての家系の雄マウスで高頻度に睾丸腫瘍が発症した。全例が両側性であり、特に 1 家系 (181 系)

では、現在5代目までの全ての雄マウスに、この腫瘍が発症した。光顕・電顕及び免疫組織学的解析により、この腫瘍は、germ cell 由来であり、精細胞腫（セミノーマ）と診断された。

- (2) この腫瘍組織中で、導入したHPV 遺伝子の発現が見られた。これは、腫瘍発症過程に伴うもので、正常睪丸にはほとんど認められない。その際、導入した遺伝子の構造的変化は、認められなかった。
- (3) 更に、この腫瘍では、細胞性癌遺伝子の一つで、受容体型チロシンリン酸化酵素である c-kit 遺伝子の発現異常が認められた。又、同時に正常な精細胞では発現されていない c-kit に対するリガンド（Sl factor）の発現上昇も観察された。
- (4) この腫瘍細胞を初代培養し、c-kit に対する抗体を培地に加えたところ、腫瘍細胞の増殖抑制が観察された。
- (5) これらの系統で、雌マウスの germ cell には、全く異常を認めなかった。

#### （総括）

HPV16型の癌遺伝子である E6 および E7 遺伝子を導入したトランスジェニックマウスを作成し、セミノーマ好発マウス系を開発した。ヒトの場合、睪丸腫瘍から HPV が検出されたという報告はないが、同一種類の腫瘍が、独立したトランスジェニック家系から高頻度に発症し、しかも全例両側性に発症することから、この遺伝子が雄の germ cell に対して、何らかの親和性があると考えられる。HPV 16型の E6 および E7 遺伝子は、これら単独では初代培養細胞に不死化能（immortalization）を与えるものの、完全に癌化（progression）させることはできない。即ち、完全な癌化形質を獲得するには、細胞性癌遺伝子（c-onc）の活性化や癌抑制遺伝子（tumor suppressor gene）の不活性化などの宿主側の遺伝的変異を必要とする。この腫瘍では、HPV 遺伝子発現の活性化に加えて、germ cell の増殖や分化に重要な役割を果たすと考えられている c-kit 及びそのリガンドである Sl factor が、強力に発現していた。c-kit の活性化は、ヒトのセミノーマでも特異的に見られることから、セミノーマの発症に、一般的な現象である可能性がある。更に、c-kit に対する抗体で、腫瘍細胞の増殖が抑制されることから、このオートクライン経路が、腫瘍細胞の増殖に必要であること、また c-kit シグナル伝達系が、germ cell 系列の増殖や生存にとって重要であることが改めて確認された。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は子宮頸癌の発生に密接に関与しているヒトパピローマウイルス（HPV）の癌化能を個体レベルで解析することを目的とし、HPV16型の癌遺伝子 E6 E7 を導入したトランスジェニックマウスの作成を試みたものである。その結果3系統のトランスジェニック家系の作成に成功し、これらのマウスに外分泌腺腫瘍や睪丸腫瘍などが多発することを明かにした。そのなかで、睪丸腫瘍（Seminoma）が100%発生する系統を用いて Seminoma の発生機構について解析を行い、同癌の発生には E6 E7 遺伝子の転写活性の上昇に加えて c-kit 及びその ligand 遺伝子の活性化が重要な役割を果たしていることを明かにした。

本研究は HPV による癌化機構の研究に加えて生殖細胞の増殖や分化機構を解明していくうえで重要な研究であり，学位論文に値するものと考えられる。