



Title	Isolation of Cellular Revertants from a Rat Cell Line Trans-formed by the E6 and E7 Genes of Human Papillomavirus Type16
Author(s)	Tjahjani, Mirawati Sudiro
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38004">https://hdl.handle.net/11094/38004</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	チヤヒヤニ ミラワティ スディロ Tjahjani Mirawati Sudiro
博士の専攻分野の名称	博 士 （ 医 学 ）
学位記番号	第 10168 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>Isolation of Cellular Revertants from a Rat Cell Line Transformed by the E6 and E7 Genes of Human Papillomavirus Type16</b> (ヒトパピローマウイルス (HPV) 16型で transform した正常復帰変異細胞について)
論文審査委員	(主査) 教 授 羽 倉 明 (副査) 教 授 豊島久真男 教 授 岡山 博人

## 論 文 内 容 の 要 旨

### (目 的)

HPV16型 (HPV-16) は子宮頸癌組織から高頻度に分離されるウイルスである。HPV-16の E6 E7 遺伝子は HPV-16DNA が存在するほぼすべての子宮頸癌細胞中で発現しており、また培養細胞を transform する能力があること、などから子宮頸癌の発生に重要な役割を果たしているものと考えられる。

本研究は HPV-16の E6 E7 遺伝子によって transform した細胞から正常復帰変異株を分離し、その性状解析を通して、E6 E7 遺伝子によるがん化に関与する細胞因子を明らかにすることを目的としている。

### (方 法)

#### 使用細胞

No. 7 細胞 : Fischer rat 由来の株細胞 F2408の HGPRT (hypoxanthine-guanine-phosphoribosyl-transferase) 欠損 細胞。

7-ZE67細胞 : HPV-16の E6 E7 遺伝子を挿入した mouse retrovirus ベクターを用いて transform させた No. 7 細胞で、この細胞を変異細胞分離の親株として用いた。

#### 正常復帰変異細胞の分離

7-ZE67細胞を紫外線 (mutagen) で照射後、5-fluorodeoxyuridine を加えた 1.3 % methylcellulose 中で変異株を選択した。

上記方法を用いて、現在までに 3 株の revertant の分離に成功した。これら revertant をそれぞれ PR 2, PR 7, PR 10と命名し、以後の実験に用いた。

## (結 果)

1. 分離した3株の revertant の軟寒天培地中でのコロニー形成能は親株に比べて著しく低下していた。しかし細胞の形態は親株と大差はなかった。
2. Revertant 中での E6 E7 遺伝子の mRNA 量や E7 産物の産生量は親株と同程度であった。また同 revertant 中の E6 E7 遺伝子は No. 7 細胞に対して transform 能を保持していた。
3. これら revertant は正常細胞との融合により再び transform 形質を示した。
4. 分離した revertant 中の変異因子が E6 E7 遺伝子以外のがん遺伝子による transformation にも重要な役割を果たしているかどうかを調べるために PR 10を用いて v-src, PyMT (polyomavirus middle T 遺伝子), Ki-ras, EJras, HPV 52a E7 による transformation 感受性の有無を検討した。その結果 PR 10は PyMT による transformation に感受性を示したが、他のがん遺伝子による transformation には抵抗性を示すことが分った。

## (考 察)

1. 以上の結果は今回分離に成功した3株の revertant は HPV-16の E6 E7 遺伝子には変異を持たず、E6 E7 遺伝子による transformation に重要な役割を果たす細胞側遺伝子に変異を持つ変異株であることを示唆している。
2. また、PR 10の変異遺伝子は v-src, Ki-ras, EJras, および HPV52a E7 遺伝子による transformation にも何らかの形で関与する遺伝子と考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

ヒトパピローマウイルス (HPV) 16型の E6 E7 遺伝子は子宮頸癌の発生に密接に関係していることが知られている。本研究は HPV 16型 E6 E7 遺伝子によるがん化に関与する細胞因子を明らかにすることを目的とし、同遺伝子によって transform した細胞から正常復帰変異株 (revertant) を分離し、その性状解析を行ったものである。その結果、3株の変異株の分離に成功し、分離した revertant の変異遺伝子が E6 E7 の細胞側標的因子であることを明らかにした。さらに3株中の1株の変異遺伝子が v-src や Ki-ras など他のがん遺伝子による transformation にも関与していることを明らかにした。HPV のがん遺伝子の標的因子に関する変異株の分離は最初であり、本変異株は HPV によるがん化機構を検討していくうえで重要な役割を果たすものと考えられ、学位に値するものと認める。