

[課程—2]

審査の結果の要旨

氏名 吉松 有紀

本研究では、子宮頸がん発生母地である正常子宮頸部上皮細胞に、子宮頸がんの原因ウイルスであるヒトパピローマウイルス(HPV)の遺伝子 E6、E7 及び子宮頸がんへの関与が報告されている複数のがん遺伝子を導入し、子宮頸がん多段階発がんのモデルを確立することを目的とし、下記の結果を得た。

1. 正常子宮頸部上皮細胞にHPV E6及びE7遺伝子を導入した(HCKT-E6E7)。E6E7の発現のみでは、がん化に不十分であったため、子宮頸がんにおいて異常が報告されているがん遺伝子 (Akt、ErbB2、Hras<sup>V12</sup>、Myc、Hras及びMyc) をHCKT-E6E7細胞に導入した。ヌードマウス皮下移植において造腫瘍能を検討した結果、E6、E7に加え、Hras<sup>V12</sup>の遺伝子導入により、腫瘍原性が付与されることが判明した。
2. HCKT-E6E7-Hras<sup>V12</sup>細胞にc-mycを導入することで高頻度にtumor-initiating cells を含む高い造腫瘍能を示す細胞株( HCK1T-E6E7-Hras<sup>V12</sup>-Myc )を得ることに成功した。独立に樹立した初代正常上皮細胞 ( HCK4, HCK7, HCK8, HCK9 ) に、E6、E7、Hras、c-mycの計 4つの遺伝子導入によりtumor-initiating cellsの樹立が可能であった。
3. HCK細胞にE6E7遺伝子の導入なしにHras<sup>V12</sup>あるいは c-myc遺伝子の導入を行うと、ほとんどの細胞において増殖が停止し、細胞株樹立が困難であった。また、HCK1T-E6E7-Hras<sup>V12</sup>-Myc細胞へのE6及びE7に対するshRNA導入は、増殖能を顕著に低下させた。
4. HCKT-E7-Hras<sup>V12</sup>細胞に野生型E6並びにE6の機能の一部を欠損した各種変異体を導入した。ヌードマウス皮下移植において造腫瘍能を検討した結果E6のC末1アミノ酸を欠いた変異体 (E6のC末を介したPDZドメイン含有蛋白質との結合能を欠く) 発現細胞では、野生型E6発現細胞と比較し、著しい造腫瘍能の低下が認められた。E6の標的候補のPDZドメイン含有蛋白質の発現をRNA干渉法により抑制した結果、PAR3、SCRIB、MAGIが腫瘍原性に大きく寄与していることが示唆された。

以上、本論文は、ヒト正常子宮頸部上皮細胞を用いて子宮頸がんのin vitro多段階発癌モデルを確立した。また、E6のC末が標的とするPDZドメイン含有蛋白質のうち、がん抑制的に機能している可能性のある分子を同定した。本研究は、発がん分子機構解析から治療法の開発まで広い分野での応用が期待され、学位の授与に値するものと考えられる。