

P-205 ラット線維芽細胞のトランスフォーメーションにおけるHPV E7の役割

九大・生医研

西田純一, 儀間朝直, 鹿沼達哉, 和氣徳夫

〔目的〕子宮頸癌発生に関与するHPV E7はアデノウイルスE1aと相同性を有する領域をもち, また両者ともRb蛋白の不活化を招来する. E1aは細胞増殖をもたらすと同時にp53を介するアポトーシスを誘導する. 本研究では, E1aに類似するE7蛋白がE1aと同様な機構でin vitroトランスフォーメーションに関与するのかを検討した. [方法] ラット胎芽線維芽細胞(REF), HPV16型E7(E7)導入により, 不死化したTF-1, E7及びEJras導入により造腫瘍性を獲得したTF-3細胞を用いた. それぞれの細胞に低血清処理或いはDOXY, 0.2 μ M処理を行った後, p53蛋白蓄積の有無, DNAフラグメンテーションの有無を検討した. [成績] 1) DOXY添加により, 高血清下のREF, 低血清下のTF-1にのみ明らかなp53蛋白の蓄積が観察された. 低血清下REF及び高血清下TF-1ではp53蛋白の蓄積は観察されなかった. 2) 低・高血清下TF-3でもp53蛋白の蓄積は認められなかった. 3) 低血清処理, DOXY添加の場合のみREFではDNAフラグメンテーションが観察された. TF-1ではいずれの場合もDNAフラグメンテーションは観察されなかった. 4) 低血清処理或いはDOXY添加いずれの場合もTF-3ではDNAフラグメンテーションが観察された. [結論] 1) 本実験では, E7は低血清下においてP53蛋白の蓄積をもたらしたが, アポトーシスは誘導されなかった. E7の示すトランスフォーム活性はE1aとは別の機構によることが示唆された. 2) E7及びEJras導入細胞は, p53蛋白蓄積とは無関係にアポトーシスが誘導された. 従って, REFにおいてp53を介さないアポトーシス経路の存在が示唆された.

P-206 子宮頸部病変における形態学的にみたHPV DNAの多様性について

埼玉医大

梶原 健, 杉浦 立, 吉松春彦, 田島秀郎, 富岡康広, 飯田幸雄, 平野正子, 近藤俊吾, 畑 俊夫

〔目的〕HPV感染が子宮頸癌とCIN 病変の発生にどのように関与しているかを解明する一助とするため, 今回, 我々はPCR法にて, 16, 33, 58型のHPV感染が証明された患者の病変組織において, HPV DNAの局在と存在様式について形態学的に観察した. [方法] 軽度異型上皮5例, 高度異型上皮4例, 上皮内癌1例, 初期浸潤癌5例の病変部位を採取し, 検索材料とした. ウラン・鉛二重染色とアルカリ・ピスマス染色を施し電顕観察した. In situ hybridization法(ISH)には当科で作成したプローブを用い, 間接法にて光顕的にはアルカリフォスファターゼ活性と, 電顕的には金コロイドの局在をそれぞれの標識物として観察した. [成績] ISHによる異型性の光顕的観察では, 基底層近くから表層にわたりHPV DNAの存在を観察する事ができた. 電顕的にはkoilocytosisを起こしている細胞の核内に金コロイドが著明に認められ, 一部核膜からHPV DNAが細胞質に流出している細胞も観察された. Koilocyteには電顕的に, 細胞質に細胞小器官が均等に分布しその核にはクロマチンが均一に分布し生物活性が旺盛なものと, 細胞質に変形・変性した細胞小器官を持ち, 核内のクロマチンが凝集し生物活性が失われているものと2種類があることが観察された. またその空胞内にはグリコーゲンがごく一部に存在していた. HPV粒子としては表層細胞に多く認められ, 特に表層近くで剥離した細胞に典型的な直径50nmの粒子として認められた. [結論] HPV感染によりHPV DNAを有しつつ強く細胞障害が起こる場合と, 比較的細胞障害は少なく表層まで達し表層から多数のHPVを放出する過程をたどる2種類のHPV感染細胞が存在することが明らかにされた.