

|         |  |
|---------|--|
| 氏名(本籍)  | さがらまさし<br>相良雅史(兵庫県)  |
| 学位の種類   | 博士(学術)   |
| 学位記番号   | 博甲第1,488号  |
| 学位授与年月日 | 平成8年3月25日  |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当   |
| 審査研究科   | 農学研究科  |
| 学位論文題目  | TUMORIGENESIS AND GENE REGULATION OF NUCLEAR ONCOGENES AND CELLULAR GENES IN TRANSGENIC MICE CARRYING THE E1A/E1B GENE OF HUMAN ADENOVIRUS TYPE 12<br>(ヒトアデノウイルス12型E1A/E1B遺伝子を導入したトランスジェニックマウスにおける発癌機構と核内癌遺伝子と細胞性遺伝子の発現制御に関する研究) |
| 主査      | 筑波大学教授 農学博士 村上和雄   |
| 副査      | 筑波大学教授 農学博士 田仲可昌   |
| 副査      | 筑波大学教授 理学博士 宗像英輔   |
| 副査      | 筑波大学助教授 農学博士 宮崎均   |

## 論文の要旨

発癌や遺伝子発現など細胞内で起こる様々な現象は、非常に複雑であるためにその解析が困難であるが、培養細胞にウイルスを導入する系を用いることによって解析が促進されることがしばしばある。それらの系の一つとして活性されているものに、アデノウイルスの初期遺伝子の一つであるE1領域遺伝子の産物がある。E1領域にはE1A、E1Bの2つの遺伝子がある。E1A遺伝子産物の機能としては培養細胞の不死化やアポトーシスの誘導、細胞周期の調節、また細胞性遺伝子の転写の調節などが、また、E1B遺伝子産物の機能としてはE1Aと協同して培養細胞をトランスフォーメーションさせることや、アポトーシスの抑制、p53の不安定化などに働くことが、これまでの*in vitro*の研究によって明らかとなっている。しかし、*in vivo*、即ち個体レベルでのE1A及びE1Bの機能についてはほとんど解明されていない。そこで本研究では、E1A、E1B両遺伝子を導入したトランスジェニックマウスを作製し、その解析を行うことによって*in vivo*におけるE1A、E1Bの機能について検討した。

ヒトアデノウイルス12型のE1A及びE1B遺伝子を含むE1領域と、組織特異的に発現するヒトレンニン遺伝子のプロモーター領域とのキメラ遺伝子を構築し、これをマウス受精卵に導入してトランスジェニックマウスを作製した。得られたマウスを解析したところ次のような知見を得られた。

まず、腎臓において内在性のレンニン遺伝子の発現が数十倍に上昇していることが分かった。このことから、E1Aが*in vivo*においても内在性遺伝子の転写の活性化に働いていることが明らかとなった。また、腸部に発生したcartinoidにおいて核内癌遺伝子である*c-jun*や*N-myc*遺伝子の発現が増大していることが分かった。このことから、E1Aが*in vivo*における腫瘍発生に際して核内癌遺伝子の転写の活性化を伴うことが明らかとなった。

次に、導入遺伝子のプロモーターとしてヒトアンギオテンシノーゲン遺伝子を用いたところ、遺伝的に神経芽腫を発生するトランスジェニックマウスが独立して3系統得られた。このことによってE1Aが*in vivo*においてE1Bと協同して造腫瘍活性を持つことが示された。また、発生した腫瘍から新しい細胞株(TNT-1)を樹立することができた。さらに、発生した腫瘍及び樹立した細胞株の解析を行ったところ、細胞周期や個体の発生に

において重要な役割を果たしていると考えられている c-, N-, L- の 3 つの *myc* 遺伝子の発現が増大していることが示された。このような現象は、個体の限られた発生段階において脳や腎臓などの特定の臓器においてのみ認められるため、腫瘍はこの時期に原発した可能性が示唆された。

## 審 査 の 要 旨

当論文において特に独創的な点としては、アデノウイルスの E1A 遺伝子産物の *in vivo* における機能の解明を行った点である。これまでに行われてきた E1A の研究はそのほとんどが *in vitro* において行われてきたため、はたして *in vivo* においても造腫瘍機能や遺伝子の転写制御機能を持つかどうか不明であった。このような状況の中、E1A 及び E1B 遺伝子と、レニンまたはアンギオテンシノーゲン遺伝子のプロモーターのキメラ遺伝子を導入して作製した、トランスジェニックマウスの解析を行うことによって、E1A が *in vivo* においても内在性遺伝子の転写を活性化することや E1B と協同して造腫瘍活性を示すことを明らかにしたことは大変意義のあることと思われる。

また、腫瘍発生に際して核内癌遺伝子の活性化を伴うことを明らかにした点は、E1A による発癌機構の解明に役立つものと考えられ、高く評価すべきであると思われる。

よって、著者は博士（学術）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。