

## 学位論文題名

Analysis of tumor suppressor gene *p53*  
in chicken lymphoblastoid tumor cell lines and field tumors(ニワトリリンパ腫細胞株および野外腫瘍における  
癌抑制遺伝子 *p53* の解析)

## 学位論文内容の要旨

人や動物の腫瘍発生の分子メカニズムには不明な点が多い。分子メカニズムとして、細胞内に存在する様々な癌遺伝子の異常、あるいは DNA や RNA 腫瘍ウイルスのウイルス蛋白質と細胞内癌関連遺伝子との相互作用等が考えられている。ニワトリにおける腫瘍ウイルスには、マレック病 (MD) ウイルス、ニワトリ白血病ウイルス、細網内皮症ウイルスが知られているが、それらの腫瘍化機序についても解明されていない。癌抑制遺伝子 *p53* が発見されて以来、*p53* 遺伝子の様々な変異や欠損が人や動物の多くの腫瘍から検出され、*p53* 遺伝子の異常が腫瘍化に重要な役割を担っていることが示されてきた。本論文では、ニワトリの MD、白血病、細網内皮症由来のリンパ腫細胞株を用いてこれらの原因ウイルスによる腫瘍化機序において *p53* 遺伝子の役割を明らかにすることを目的とした。

ニワトリリンパ腫細胞株と野外から分離された腫瘍において、*p53* 遺伝子に幾つかの点突然変異を見いだしたが、これらの変異は、人を含む哺乳類で腫瘍化に重要とされている変異箇所である“ホットスポット”とは一致していなかった。しかし、これらの腫瘍細胞株では、様々に欠損した *p53* 転写物が存在しており、それら転写物の多くでオープンリーディングフレームにフレームシフトが起こっていることが予想された。これら欠損型の *p53* 転写物は、細胞周期に依存せずに発現し、薬剤処理によるアポトーシス誘導時にも発現し続けていた。欠損型 *p53* 転写物やその蛋白質は RNA の転写、あるいはプロセッシングでのウイルス蛋白質と細胞内蛋白質との相互作用によって引き起こされる選択的なスプライシングの結果であるかもしれない。

腫瘍細胞の腫瘍形成における *p53* の役割を調べる目的で、ニワトリへの可移植性が異なる MD 由来腫瘍細胞株 MSB1 のサブクローンの *p53* 遺伝子発現を解析した。その結果、*p53* 転写物やその蛋白質発現パターンは細胞間で違いが認められた。これは欠損型 *p53* が、これら細胞の移植性や体内転移などの生物性状に関与していることを示唆している。

欠損型 *p53* が、アポトーシスあるいは細胞の増殖を調節していることが報告されている。今回の研究で、薬剤処理によりニワトリ腫瘍細胞株にアポトーシスを誘導した際、欠損型 *p53* の発現が増加するが、アポトーシスを抑制すると変化しないことが示された。これは、野生型と欠損型 *p53* の発現において量的・質的なバランスが、ニワトリ腫瘍細胞株での *p53* の機能を制御していることを示唆している。

これらの成績から、欠損型 *p53* が野生型 *p53* の腫瘍化抑制活性を不活化し、それに

より腫瘍ウイルスの腫瘍化に関与していることが示唆された。ニワトリのウイルス腫瘍の機序解明には欠損型 p53 の機能をより明らかにすることが必要であると考えられた。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 小 沼 操  
副 査 教 授 安 居 院 高 志  
副 査 助 教 授 大 橋 和 彦  
副 査 助 教 授 前 田 秋 彦

学 位 論 文 題 名

## Analysis of tumor suppressor gene *p53* in chicken lymphoblastoid tumor cell lines and field tumors

(ニワトリリンパ腫細胞株および野外腫瘍における  
癌抑制遺伝子 *p53* の解析)

人や動物の腫瘍発生の分子メカニズムとして、細胞内に存在する様々な癌遺伝子の異常、あるいは DNA や RNA 腫瘍ウイルスのウイルス蛋白質と細胞内癌関連遺伝子との相互作用等が考えられている。ニワトリにおける腫瘍ウイルスには、マレック病 (MD) ウイルス、ニワトリ白血病ウイルス、細網内皮症ウイルスが知られているが、それらの腫瘍化機序についても解明されていない。癌抑制遺伝子 *p53* が発見されて以来、*p53* 遺伝子の様々な変異や欠損が人や動物の多くの腫瘍から検出され、*p53* 遺伝子の異常が腫瘍化に重要な役割を担っていることが示されてきた。本論文では、ニワトリの MD、白血病、細網内皮症由来のリンパ腫細胞株を用いてこれらの原因ウイルスによる腫瘍化機序において *p53* 遺伝子の役割を検討した。

ニワトリリンパ腫細胞株と野外の腫瘍において、*p53* 遺伝子に幾つかの点突然変異を見いだしたが、これらの変異は、人を含む哺乳類で腫瘍化に重要とされている変異箇所である“ホットスポット”とは一致していなかった。しかし、これらの腫瘍細胞株で、様々な欠損した *p53* 転写物が存在しており、それら転写物の多くはフレームシフトしていることが予想された。これら欠損型の *p53* 転写物は、細胞周期に依存せずに発現し、薬剤処理によるアポトーシス誘導時にも発現し続けていた。

次に腫瘍細胞の腫瘍形成における *p53* の役割を調べる目的で、ニワトリへの可移植性が異なる MD 由来腫瘍細胞株 MSB1 のサブクローンの *p53* 遺伝子発現を解析した。その結果、*p53* 転写物やその蛋白質発現パターンは細胞株間で違いが認められた。これは *p53* 欠損型が、これら細胞の移植性や体内転移などの生物性状に関与していることを示唆している。これまで *p53* 欠損型が、アポトーシスあるいは細胞の増殖を調節していることが知られている。今回の研究で、ニワトリ腫瘍細胞株を薬剤処理により人工的にアポトーシスを誘導した際、*p53* 欠損型の発現が増加するが、アポトーシスを抑制すると、変化は見られなかった。これは、*p53* 野生型と欠損型の発現において量的・質的なバランスが、ニワトリ腫瘍細胞株での *p53* 機能を制御していることを示唆している。

本研究により、ニワトリのウイルス性腫瘍における新規 p53 欠損型の存在を明らかにし、p53 欠損型が腫瘍ウイルスの腫瘍化に関与していることが明らかとなった。よって審査員一同は、上記学位論文提出者 高木道浩氏が博士（獣医学）の学位を授与されるに十分な資格を有するものと認めた。