

審査の結果の要旨

氏名 Yu Miao

イヌパピローマウイルス (CPV) には 19 の遺伝子型が存在し、口腔乳頭腫症 (CPV1 および 6)、皮膚乳頭腫 (CPV1、2、6、7、13、17、18 および 19) および色素性ウイルス性局面 (CPV3、4、5、8、9、10、11、12、14、15 および 16) を引き起こす。これらの CPV 関連前癌病変が悪性転化することが示唆されているが、その根拠や詳細なメカニズムは未だ解明されていない。これらの病変における CPV の検出は、免疫組織化学 (IHC)、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) あるいはウイルス分離により実施されるが、前癌病変の病理発生の詳細は理解できていない。発癌性ヒトパピローマウイルス (HPV) は pRb の発現を阻害し、p16 タンパク質の過剰発現を引き起こして、細胞増殖の異常を惹起し、腫瘍を発生することが知られているが、CPV がこのような分子異常をもたらすは不明である。申請者は、イヌの前癌病変および癌病変における CPV の関与をしらべ、CPV 関連前癌病変の癌化に関連する分子異常を解析することを目的として本研究を行った。

第 1 章では、犬の皮膚乳頭腫 (16 例)、皮膚乳頭状過形成 (1 例)、色素性ウイルス性局面 (6 例) について、IHC と PCR を行い CPV のウイルス抗原およびゲノムの検出を試みた。PCR 陽性例については PCR 産物をシーケンス解析し、CPV の遺伝子型を特定した。その結果、ウイルス抗原は乳頭腫 2 例 (2/16、12.5%) と色素性ウイルス性局面 5 例 (5 / 6、83.3%) に、CPV 遺伝子は乳頭腫 2 例 (2/16、12.5%) と色素性ウイルス性局面 6 例 (6 / 6、100%) に検出された。PCR 産物を解析したところ、乳頭腫 2 例は CPV2 に、色素性ウイルス性局面 5 例は CPV4 にそれぞれ感染していた。さらに、色素性ウイルス性局面の 1 例では病変より CPV18 も検出され、同例で併発していた基底細胞腫からも CPV18 が検出された。これはイヌの基底細胞腫における CPV18 の関与を示した初めての知見である。以上の知見は、イヌの前癌病変における CVP の関与と悪性転換の潜在的リスクを示すものである。

第 1 章において、ウイルス抗原を検出する IHC とゲノムを検出する PCR の結果は完全に一致しなかった。このため、第 2 章では PCR により CPV ゲノムが検出されたすべての症例の病変について *in situ* ハイブリダイゼーション (ISH) を行い、CPV ゲノムの病変内局在をしらべた。乳頭腫 (CPV2) および色素性ウイルス性局面 (CPV4 および CPV18) から得た PCR 産物 (canPVf / FAP64; L1 遺伝子) を標識し、CPV2、CPV4 および CPV18 検出のための ISH プローブとして用いた。その結果、乳頭腫 2 例で CPV2 に、色素性ウイルス性局面 5 例で CPV4 に、色素性ウイルス性局面 1 例で CPV18 に対する陽性所見がそ

れぞれ認められた。この結果は第1章における PCR の結果と完全に一致した。乳頭腫の2例では病変周囲の肥厚した表皮細胞の核にも CPV2 シグナルが観察された。色素性ウイルス性局面の5例では、有棘層および顆粒層の上皮細胞の核に CPV4 シグナルが観察された。さらに、色素性ウイルス性局面に隣接して発生した基底細胞腫病変では、腫瘍細胞の核に CPV18 のシグナルが確認できた。これらの結果は1章の結果を支持し、CPV2、CPV4 および CPV18 の感染がそれぞれ皮膚乳頭腫、色素性ウイルス性局面および基底細胞腫瘍を引き起こす可能性を示している。

第3章では、第1章で用いた全症例の病変における p16 および pRb の検出を IHC により行った。CPV2 陽性の乳頭腫の2例中1例、CPV4 陽性の色素性ウイルス性局面の全5例および CPV18 陽性の色素性ウイルス性局面1例で、pRb は陰性あるいは弱陽性であったが、p16 は細胞質がびまん性に陽性であった。他の CPV2 陽性乳頭腫1例の頭頸部の病変では、腫瘍細胞は p16 陰性であった。これに対し、CPV 陰性の乳頭過形成(1例)および乳頭腫(14例)は、全例に pRb の核内発現が認められたが、p16 は細胞質と核のいずれも陰性であった。以上の結果は、ヒトの HPV 関連腫瘍と同様、CPV 関連前癌病変においても pRb 発現の阻害や p16 の過剰発現が生じ、これらが前癌病変の癌化に関与することを示唆している。

本研究で得られた知見は、イヌにおいて基底細胞癌や扁平上皮癌の前癌病変と考えられる色素性ウイルス性局面や乳頭腫などの病変が CPV の感染によって形成されることを示している。また、検出された CVP の遺伝子解析により CPV2、CPV4 および CPV18 がそれぞれ異なった病原性を有することも示唆された。一方、上記 CVP 関連病変における p16 や pRb の分布については初期的検証にとどまり、さらなる追加的検証が必要であるものの、CVP 感染細胞における癌化機構の一端を示唆するものとして評価された。これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士(獣医学)の学位論文として価値あるものと認めた。