Osaka University Knowledge Archive

Title	Alterations of the p53 gene in occupational bladder cancer in workers exposed to aromatic amines
Author(s)	安永, 豊
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40750
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【29】

氏　　名	安永　豊（やすながゆたか）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　13702　号
学位授与年月日	平成10年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科病理系専攻
学位論文名	Alterations of the *p53* gene in occupational bladder cancer in workers exposed to aromatic amines （職業性膀胱癌における p53 変異の検討）
論文審査委員	（主査） 教　授　青笹　克之 （副査） 教　授　北村　幸彦　　教　授　奥山　明彦

論文内容の要旨

【目的】

染料製造に従事する人には高率に膀胱癌が発生することが知られている。疫学的調査および動物を使った発癌実験により，染料の中間体である benzidine, β-naphtylamine などの芳香族アミノ化合物の発癌性が示されている。職業性膀胱癌の臨床所見はすでに知られているが，発癌メカニズム特に遺伝子変化については報告がない。癌抑制遺伝子のひとつである p53は多くの悪性腫瘍において異常がみられることがよく知られており，さらに特定の発癌物質あるいは環境要因によって特定の変異が生じることが明らかになっている。本研究では分子生物学的手法を用いて，職業性膀胱癌における特異的な p53 遺伝子異常を明らかにすることを目的とした。

【方法】

職業性曝露が明らかな膀胱腫瘍患者26例について，またコントロールとして，職業性患者と同一の施設において治療を受けた職業性曝露歴のない膀胱腫瘍患者33例を対象とした。職業性膀胱腫瘍患者から初発病変（n＝29）および再発病変（n＝24），非職業性膀胱腫瘍患者から初発病変（n＝38）が得られた。これらの病変より採取され，パラフィン包埋された材料から DNA を抽出した。p53 の exon5 から 8 の領域について，それぞれの exon をコードする primer 間で，PCR 反応をおこない，SSCP 法で変異 DNA を検出した。アクリルアミドゲルで異常なバンドとして認められた変異 DNA は，direct sequencing 法により塩基配列の解析をおこなった。

【結果】

職業性膀胱癌 8 例11病変（dysplasia 5 病変を含む）において変異が認められた。いずれの変異も point mutation により異なったアミノ酸に置換する missense type であった。2 例においては同一病変から 2 つの相異なる変異がみられる double mutation を示した。1 例は初発病変と全く同じ変異［codon280;Arg（AGA）-Thr（ACA）］が 2 年後の再発病変においても認められた。多発性病変は 9 例にみられ，そのうち 1 例では癌で認められた変異［codon280;Arg（AGA）-Thr（ACA）］とは異なった変異［codon138;Ala（AGA）-Thr（ACC）］が隣接する正常上皮においてみられ，また別の症例では癌でみられた変異［codon273;Arg（CGT）-His（CAT）］と異形成での変異［codon151;Pro（CCC）-Ser（TCC）］がやはり異なって認められた。計13変異のうち 9 変異は exon5 に起こっており，

とくにcodons151, 152の部位で好発していた。従来の非職業性膀胱癌でしばしば報告されているCpG siteにおける変異は1例に認めるのみであり，変異のパターンとしてはdipyrimidine siteにおけるC to T transitionが7変異と最も多く認められた。

一方非職業性の膀胱癌では12例から12病変（dysplasia 2病変を含む）に変異がみられた。いずれの変異もpoint mutationであるが，2病変はアミノ酸置換を認めないsilent type，また1病変についてはstop codonに変異するnonsense typeを示していた。2例にdouble mutationを認めた。計14変異のうち8変異はexon7に起こっており，exon5での変異は1例だけであった。CpG siteにおける変異を4例に認めたが，dipyrimidine siteにおける変異は全く認めない。変異のパターンとしてはG to A transitionが5病変にみられて最も多く，G to T／C transversionがこれに続く。C to T transitionのパターンは1例だけであった。統計学的検討の結果，職業性膀胱癌においてはexon5におけるC to T transitionの頻度は有意に高いことが判明した（chi-square test, $p<0.01$）。

【総括】

職業性膀胱癌発症の初期の段階からp53遺伝子の異常が起こっており，mutationの起こる部位および様式から，芳香族アミン曝露による特異的な変異の可能性が示された。また多発病変において異なった変異がみられたことは複数のcloneの存在を示しており，従来報告されてきた多発性膀胱腫瘍の単一クローン由来説と異なる結果であった。このことは職業性膀胱癌に多クローン性発症するものがあることを示唆している。

論文審査の結果の要旨

職業性膀胱癌は染料製造に従事する労働者に高率に発生する膀胱癌であり，職業病のひとつとして有名である。染料の中間体であるBenzidine, β-Naphtylamineなどの芳香族アミノ化合物が発癌物質として疫学的に証明されている。また職業性膀胱癌は特定の疫学要因によって発症する悪性腫瘍として捉えると，膀胱腫瘍の発生機序を考えるうえで重要な疾患として位置づけられる。職業性膀胱癌の臨床報告はすでに知られているが，発癌メカニズム特に遺伝子変化についての知見は過去に見当たらない。本研究では癌抑制遺伝子のひとつであるp53遺伝子の異常を分子生物学的手法を用いて検討した。方法は職業性膀胱癌の初発および再発病変から抽出したDNAについて，PCR-SSCP法により変異を検出し，direct sequencing法によりその変異部位の塩基配列の解析をおこなった。この際，コントロールとして職業性曝露歴を有しない非職業性膀胱癌患者を設定し，比較検討をおこっなった。その結果，職業性膀胱癌における特異的なp53遺伝子異常，すなわちdypirimidine siteにおいてC to T transition patternをとることが非職業性膀胱癌に比べて有意に多いことを明らかにした。また多発性を示す症例においては病変によってmutationの異なる例もみられた。膀胱癌は多発性病変として発症する腫瘍としてよく知られているが，従来の報告では多発性を示す腫瘍はすべて単クローン性発症であることを示すものであったが，多発性を示す職業性膀胱癌においては多クローン発症するものがあることが明らかになった。このことは多発性膀胱腫瘍の腫瘍起源を考えるうえでとりわけ重要である。したがって本研究は学位に値するものであると認める。