



|              |  |
|--------------|--|
| Title        | Strand specificity and absence of hot spots for p53 mutations in ultraviolet B-induced skin tumors XPA-deficient mice  |
| Author(s)    | 竹内, 聖二   |
| Citation     | 大阪大学, 1998, 博士論文   |
| Version Type |  |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/40757">https://hdl.handle.net/11094/40757</a>  |
| 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、<a href=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

|            |   |
|------------|---|
| 氏名         | 竹内聖二  |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士(医学)  |
| 学位記番号      | 第13759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<br>医学研究科外科系専攻  |
| 学位論文名      | Strand specificity and absence of hot spots for p53 mutations in ultraviolet B-induced skin tumors XPA-deficient mice<br>(XPA欠損マウスの紫外線誘発皮膚腫瘍におけるp53遺伝子の突然変異の解析) |
| 論文審査委員     | (主査)<br>教授 奥山 明彦  |
|            | (副査)<br>教授 田中亀代次 教授 花岡 文雄   |

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

色素性乾皮症(xeroderma pigmentosum:XP)の患者は正常人の数千倍の頻度で皮膚癌が発症することが知られている。これはヌクレオチド除去修復(NER)能が欠損しているため紫外線によるDNA損傷を除去できず、突然変異が高度に蓄積されることが原因と考えられている。我々はXPの病態の分子機構を個体レベルで詳細に解析するためにA群XP遺伝子欠損マウス(以下XPA欠損マウス)をジーンターゲティング法により作成した。紫外線発癌実験によりXPA欠損マウスはXP患者と同様に紫外線に対し高感受性を示し、低線量の紫外線照射によって高頻度に皮膚癌を生じることが明らかになった。そこでこの皮膚発癌における分子病態を明らかにするため、XPA欠損マウスの皮膚腫瘍組織を用いて、ヒトのnonmelanoma skin cancerの約50%に認められるp53遺伝子の突然変異について詳細に解析した。

#### 【方法ならびに成績】

紫外線照射後、XPA欠損マウスの皮膚に発生した皮膚腫瘍40検体を対象にした。それらの腫瘍の内訳は高分化型扁平上皮癌19例、中分化型扁平上皮癌18例、低分化型扁平上皮癌1例、乳頭腫1例、線維肉腫1例であった。変異型p53蛋白の多くは核内に蓄積することが知られており、p53遺伝子の突然変異の有無を探るため抗p53ポリクローナル抗体(CM5)を用いて免疫組織学的解析を行った。腫瘍40例中26例(65%)に癌細胞の核内にp53蛋白が蓄積しているのが観察された。癌細胞塊の周囲に存在する前癌状態の領域では明らかなp53の蓄積像は認められなかった。これらの観察によりXPA欠損マウスの皮膚発癌では高頻度にp53遺伝子の突然変異が起こり、その変異は主に発癌過程の後期に生じていることが示唆された。次に腫瘍を含んだパラフィン切片を用いてMicrodissection法により腫瘍部分を摘出してのちDNAを抽出した。PCR法によりp53遺伝子を增幅後、Direct sequence法によって塩基配列を決定した。p53のDNA結合ドメインの大部分を含むエクソン5からエクソン8の領域を調べ、腫瘍40例中19例(48%)に突然変異が認められた。その内訳はtandem mutatition 8例を含んだG・C→A・T transitionが28例、G・C→T・A transversionが1例、T・A→G・C transversionが1例ですべて点突然変異であった。さらに検出された点突然変異30例中29例がdipyrimidine siteでの変異であったことから、それらの突然変異は紫外線による主要なDNA損傷であるシクロブタンピリミジンダイマー、6-4光産物によるものと推定された。これまで報告されている野

生型マウスの紫外線誘発皮膚癌におけるp53遺伝子の突然変異の大部分（92%）が非転写鎖のDNA損傷に由来したものであるのに対し、XPA欠損マウスでは29例中21例（72%）が転写鎖に生じたDNA損傷に由来する突然変異であった。さらに、XPA欠損マウスで検出された突然変異のDNA結合ドメイン上での分布をこれまで報告された野生型マウスのものと比較すると、種間で保存された4番目と5番目の領域に集中する傾向が見られたものの、明らかなホットスポットは認められなかった。ヒトの紫外線誘発皮膚癌におけるp53遺伝子の突然変異のホットスポットはDNA鎖上の修復速度の遅い部位とほとんど一致するという報告がある。XPA欠損マウスではNER能が欠損していることにより、野生型マウスではほとんど起こり得ない部位にも突然変異が紫外線により誘発されると考えられた。

### 【総括】

XPA欠損マウスの紫外線誘発皮膚腫瘍におけるp53遺伝子の突然変異を詳細に解析した。XPA欠損マウスにおいて検出された点突然変異は野生型マウスのものとは対照的に転写鎖に生じたDNA損傷によるものが優位に見出され、分布上明らかなホットスポットが認められなかった。これらの結果はp53遺伝子の突然変異に関してXPA欠損マウスと野生型のマウスでは頻度ばかりでなく質的な違いがあることを示し、XP患者の皮膚癌の発症機序を解明する上でも重要な知見であると考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

本研究はXPA欠損マウスの紫外線誘発皮膚癌におけるp53遺伝子の突然変異のスペクトラムを詳細に解析して、この皮膚発癌の分子病態を明らかにすることを目的としたものである。XP患者の皮膚癌におけるp53遺伝子の突然変異についてはこれまで報告はあったものの、患者の相補性群に関してはほとんど不明であった。その意味で、XPA欠損マウスを用いて単一の相補性群で解析したことにより明瞭で意義のある知見が得られたと考える。XP患者の高皮膚発癌性は紫外線によるDNA損傷を除去できず、突然変異が高度に蓄積されることが原因と考えられている。しかし、野生型マウスとは対照的に、XPA欠損マウスでは転写鎖のDNA損傷により誘発された突然変異が非転写鎖由來のものに較べて優位であったこと、および明らかなホットスポットが認められなかっことより、両者には頻度ばかりでなく質的な違いがあることを示している。この結果はXPの高頻度皮膚発癌の病態を解明する上で重要な新しい知見であると考えられ、さらには発癌過程でおこる誘発突然変異に対するヌクレオチド除去修復の新たな重要性を明らかにしたという点で学位の授与に値する研究と考えられる。