

Title	High incidence of ultraviolet-B- or chemical-carcinogen-induced skin tumours in mice lacking the xeroderma pigmentosum group A gene
Author(s)	中根, 裕信
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40781">https://hdl.handle.net/11094/40781</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="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	中根裕信
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第13694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 医学研究科生理系専攻
学位論文名	High incidence of ultraviolet-B- or chemical- carcinogen-induced skin tumours in mice lacking the xeroderma pigmentosum group A gene. (A群色素性乾皮症遺伝子欠損マウスにおける紫外線あるいは化学発癌剤による高頻度皮膚癌発生)
論文審査委員	(主査) 教授 田中亀代次  (副査) 教授 花岡 文雄      教授 西宗 義武

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

色素性乾皮症 (xeroderma pigmentosum: XP) は、日光過敏症、皮膚癌の高頻度発生、精神神経症状の合併を臨床的特徴とし、ヌクレオチド除去修復 (nucleotide excision repair: NER) 機構に異常をもつ常染色体性劣性遺伝病で、AからGの7つの遺伝的相補性群からなる。A群XP遺伝子産物(XPA蛋白質)は、損傷DNAに選択的に結合すると共に、他の修復蛋白質と結合する能力を有することから、DNA損傷の認識過程あるいは損傷部位で修復蛋白質複合体を形成するためのコアとして働く可能性が示唆されている。また、XP患者の分子病態を解明するために、遺伝子ターゲティング法によりXPA遺伝子を欠損したマウス(XPAマウス)が作成されている。

本研究は、XPAマウスが紫外線照射により高頻度に皮膚癌を発生するか否かを調べると共に、紫外線発癌実験で得られた皮膚癌から癌細胞株を樹立、解析し、XPAマウスにおける紫外線誘発皮膚発癌機構を解明することを目的とする。

#### 【方法ならびに成績】

##### 1. XPAマウスにおける紫外線および化学発癌剤による皮膚発癌実験

遺伝子ターゲティング法によりマウスXPA遺伝子の第4エクソンにneo<sup>r</sup>を挿入しXPAマウスを作成した。XPAマウスは発生、生存に異常がなく、18カ月令での外見、行動、病理学的解析でも異常はなかったが、XPAマウス由来の線維芽細胞は紫外線に高感受性を示しNER能も欠損していた。次に、低線量の紫外線による皮膚発癌実験を、野性型15匹、ヘテロ型22匹、XPAマウス15匹を用いて行った。マウス背部の毛を剃り2000J/m<sup>2</sup>の紫外線(UVB)を週3回照射した。照射開始後20~34週でXPAマウスの全例に皮膚腫瘍が発生した。しかし、野性型およびヘテロ型マウスには全く腫瘍は形成されなかった。皮膚腫瘍は全例扁平上皮癌と診断され、12例中10例にヌードマウスにおける腫瘍原性が認められた。さらに各遺伝子型マウス背部に7,12-Dimethylbenz(a)anthracene(DMBA)10μgを週1回塗布したところ、XPAマウスは高頻度にパピローマを発生した。

以上より、XPAマウスは紫外線や化学発癌剤による皮膚発癌に高感受性を示すことが明らかになり、XPA蛋白質が紫外線や化学発癌剤による発癌抑制に重要な役割をしていること、XPAマウスがXP患者における高頻度皮膚発癌機構を解析する上でよいモデルになることが明らかになった。

## 2. XPA マウスの紫外線誘発皮膚癌からの癌細胞株樹立とその解析

XPA マウスの紫外線皮膚癌実験で得られた皮膚癌から5株の癌細胞株を樹立した。我々はXPA マウスによる紫外線皮膚癌実験の過程で、紫外線照射後1週間でXPA マウス背部に潰瘍が形成され、照射を続けるうちに潰瘍が消失しそこに皮膚癌が生じることを観察していた。この観察から、XPA マウスの紫外線による発癌過程で何らかの理由で細胞が紫外線抵抗性になっていることを予想していた。そこで癌細胞株の紫外線に対する感受性を調べたところ、癌細胞株はXPA マウス由来線維芽細胞に比べ紫外線抵抗性を示し、中でも特に174N, 161N, 26Nの3株は高度の紫外線抵抗性を示していた。遺伝子診断から癌細胞株は、XPA 遺伝子を欠損しており、NER 能を欠損したままであった。

癌細胞株は、NER 能を欠くにも関わらず紫外線抵抗性を示すことから、アポトーシスや細胞周期の異常を持つことが予想された。そこで、これらの機構に関与する p53 の紫外線による動態を癌細胞株で調べた。XPA マウス線維芽細胞に比べ軽度の紫外線抵抗性を示す2株では、紫外線照射時に p53 の蓄積がみられ、非照射時には蓄積が見られなかった。一方、高度の紫外線抵抗性を示す3株は紫外線の照射、非照射で常に p53 の蓄積が見られ、p53 遺伝子に突然変異をもつことが予想された。そこで癌細胞株の p53 遺伝子を調べると、高度の紫外線抵抗性をもつ3株には p53 遺伝子の突然変異を検出したが、軽度紫外線抵抗性を示す2株には突然変異を検出しなかった。

次に発癌実験の紫外線照射下で増殖してきた癌細胞が細胞周期に異常を持つか否かを調べるために、紫外線照射後の各癌細胞株の増殖曲線を調べた。高度の紫外線抵抗性を示す2株(161N, 26N)では、紫外線照射後も細胞は増殖を続けるが、軽度の紫外線抵抗性を示す2株と174Nは、照射後に細胞の増殖を停止していた。このことは高度の紫外線抵抗性株が、p53 の突然変異または別の原因でチェックポイントに異常を持つことで、紫外線による DNA 損傷時にも増殖する可能性を示唆する。

### 【総括】

1) 遺伝子ターゲティング法により作成した XPA マウスは、XP 患者と同様に NER 能を欠き、紫外線や化学発癌剤による皮膚癌に高感受性を示し、XPA 蛋白質が紫外線や化学発癌剤による発癌抑制に重要な役割をしていること、XPA マウスが XP 患者における高頻度皮膚癌機構を解析する上でよいモデルになることが明らかになった。

2) XPA マウスの紫外線誘発皮膚癌から樹立した癌細胞株は、NER 能の欠損にも関わらず XPA マウス由来線維芽細胞より紫外線抵抗性を示した。

3) 癌細胞株の紫外線抵抗性獲得の一因として、p53 遺伝子の突然変異やチェックポイント異常が示唆された。

4) XPA マウスの紫外線皮膚癌実験過程において、紫外線照射された XPA マウス皮膚が紫外線抵抗性を獲得してのち皮膚癌が発生していることを観察しており、癌細胞株の紫外線抵抗性獲得の分子機構は、皮膚発癌の分子機構に直接関与していることが示唆される。

## 論文審査の結果の要旨

色素性乾皮症 (xeroderma pigmentosum: XP) は、日光過敏症、皮膚癌の高頻度発生、精神神経症状の合併を臨床的特徴とし、ヌクレオチド除去修復 (nucleotide excision repair: NER) 機構に異常をもつ常染色体性劣性遺伝病で、A から G の7つの遺伝的相補性群からなる。XP 患者の分子病態を解明するために、遺伝子ターゲティング法により A 群 XP 遺伝子 (XPA 遺伝子) を欠損したマウス (XPA マウス) が作成されている。

本研究では、XPA マウスが、XP 患者と同様に NER 能を欠き、紫外線や化学発癌剤による皮膚癌に高感受性を示すことを明らかにした。この結果は、XPA 蛋白質が紫外線や化学発癌剤による発癌抑制に重要な役割をしていること、XPA マウスが XP 患者における高頻度皮膚癌機構を解析する上でよいモデルになることを示唆する。また、XPA マウスの紫外線誘発皮膚癌から癌細胞株を樹立し、それらの癌細胞株は、NER 能を欠損しているにも関わらず XPA マウス由来線維芽細胞より紫外線抵抗性を示した。癌細胞株の紫外線抵抗性獲得の一因として、p53 遺伝子の突然変異やチェックポイント異常の可能性が示唆された。XPA マウスの紫外線皮膚癌実験過程において、紫

外線照射された XPA マウス皮膚が紫外線抵抗性を獲得してのち皮膚癌が発生していることを観察しており、癌細胞株の紫外線抵抗性獲得の分子機構は、皮膚発癌の分子機構に直接関与していることが示唆される。

以上の結果は、XP 患者における高頻度皮膚発癌機構の解明に貢献するものであり、学位に値すると考える。