

| | |
|--------------|---|
| Title | Decreased UV sensitivity, mismatch repair activity and abnormal cell cycle checkpoints in skin cancer cell lines derived from UVB-irradiated XPA-deficient mice |
| Author(s) | 市川, 稔 |
| Citation | 大阪大学, 2000, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/41751 |
| 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">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

| | |
|------------|---|
| 氏名 | いちかわみのる 市川 稔 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士(医学) |
| 学位記番号 | 第 15236 号 |
| 学位授与年月日 | 平成12年3月24日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生理系専攻 |
| 学位論文名 | Decreased UV sensitivity, mismatch repair activity and abnormal cell cycle checkpoints in skin cancer cell lines derived from UVB-irradiated XPA-deficient mice (A群色素性乾皮症マウスに由来する紫外線誘発皮膚癌細胞株の紫外線抵抗性の獲得、ミスマッチ修復活性の低下、細胞周期のチェックポイント異常) |
| 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 米田 悦啓 |

論文内容の要旨

【目的】

A群色素性乾皮症(xeroderma pigmentosum group A:XPA)は、日光過敏症、高頻度皮膚発癌、精神神経症状を臨床的特徴とし、ヌクレオチド除去修復機構に異常をもつ常染色体劣性遺伝病である。遺伝子ターゲティング法によりA群色素性乾皮症モデルマウス(XPAマウス)が作成され、患者と同じく紫外線により高頻度に皮膚癌が発生することが報告されている。しかし、その発癌機構の詳細は未だ不明である。そこで、XPAマウスでの紫外線皮膚発癌実験で得られた皮膚癌組織より癌細胞株を樹立し、その異常を解析することにより、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して以下の実験を行った。

(方法ならびに成績)

XPAマウスの紫外線皮膚発癌実験により得られた皮膚癌組織より5株の癌細胞株を樹立し、まず紫外線に対する感受性を調べた。癌細胞株は、ヌクレオチド除去修復能が欠損しているにもかかわらず、XPAマウス由来線維芽細胞に比べ紫外線抵抗性を示した。そこで、これらの癌細胞株のPCRによるXPA genotyping, Southern blottingさらにStrand specific repair assayを施行したところ、すべてXPA遺伝子は欠損し、ヌクレオチド除去修復能も欠損したままであることが確認された。

次に、代謝拮抗剤である6-thioguanineの感受性を調べたところ、すべての癌細胞株は、XPAマウス由来線維芽細胞に比べ6-thioguanine抵抗性を示した。ミスマッチ修復に欠損を持つ細胞では6-thioguanineに抵抗性を示すことが報告されている。Western blottingによって皮膚癌細胞株のミスマッチ修復タンパク質量を確認したところ、5株中3株においてその減少が見られた。

さらに、皮膚癌細胞株でミスマッチ修復能が低下しているか否かを調べるため、G/T mismatch oligonucleotideをプローブに用いたGel shift assay、G/T mismatch、2 base loopをsubstrateにしたIn vitro mismatch repair assayを行った。その結果、ミスマッチ修復タンパク質の減少の見られた皮膚癌細胞株においてミスマッチ修復活性の低下が認められた。一方、癌抑制遺伝子p53の突然変異を調べたところ、5株中3株において変異が検出された。

ミスマッチ修復遺伝子やp53が細胞周期のチェックポイント機構に重要な役割を果たしていることが知られているので、皮膚癌細胞株の紫外線抵抗性の獲得が、チェックポイント異常に起因する可能性を調べた。その結果、すべての皮膚癌細胞株において紫外線照射後のG1/Sチェックポイント、6-thioguanine処理後のG2/Mチェック

ポイント機構に異常が認められた。

【総括】

高頻度紫外線誘発皮膚発癌を示す XPA マウス由来の紫外線誘発皮膚癌組織より皮膚癌細胞株を樹立した。皮膚癌細胞株では、ヌクレオチド除去修復能が欠損しているにもかかわらず、すべて紫外線抵抗性を示した。さらに、ある皮膚癌細胞株ではミスマッチ修復能が低下し、細胞周期のチェックポイントに異常を持つことを明らかにした。これらの結果は、p53と同様、ミスマッチ修復能の異常が、紫外線照射後の G₁/S チェックポイントの異常、細胞死の回避を引き起こし、ひいては、紫外線抵抗性の獲得、さらには紫外線誘発発癌過程に関与していることを示唆する。今後、XPA とミスマッチ修復遺伝子ダブルノックアウトマウスおよびその細胞を用いて、これらの可能性を検証していきたい。

論文審査の結果の要旨

A群色素性乾皮症 (XPA) はヌクレオチド除去修復能を欠損し、紫外線高感受性や高頻度皮膚発癌を臨床的特徴とするヒト遺伝性疾患である。

本研究では、遺伝子ターゲティング法によって作成された XPA 遺伝子欠損マウス由来の紫外線誘発皮膚癌細胞株を用いて、紫外線誘発皮膚癌の発生機構について解析を行った。これらの皮膚癌細胞株では、ヌクレオチド除去修復能が欠損しているにもかかわらず、紫外線に対して抵抗性を示し、それらが細胞周期のチェックポイント異常をもつこと、さらに、その要因として、癌抑制遺伝子 p53 の変異だけでなく、ミスマッチ修復異常の関与が示唆された。

以上の知見は XPA における紫外線誘発皮膚発癌機構を解明するうえで極めて重要な知見であり、学位の授与に値すると思われる。