



Expression of p53 Protein Is an Early Event in Ultraviolet Light-Induced Cutaneous Squamous Cell Carcinogenesis

長野, 徹

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1996-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲1476

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1001476>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



| | |
|------------|---|
| 氏名・（本籍） | ながの 徹 （大阪府） |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士（医学） |
| 学位記番号 | 博い第1002号 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当 |
| 学位授与の日付 | 平成8年3月31日 |
| 学位論文題目 | Expression of p53 Protein Is an Early Event in Ultraviolet Light-Induced Cutaneous Squamous Cell Carcinogenesis (p53蛋白の発現は紫外線による皮膚発癌過程の早期に生じている) |

| | |
|------|-----------------|
| 審査委員 | 主査 教授 市橋 正光 |
| | 教授 千葉 勉 教授 前田 盛 |

論文内容の要旨

【緒言】

癌化は発癌遺伝子の活性化と癌抑制遺伝子の不活性化の連続に伴って起こる多段階のプロセスであり、特に癌抑制遺伝子p53は大腸癌、肺小細胞癌のみならず多くのヒト悪性腫瘍の多段階発癌の過程において重要な役割を果たしていることが近年明らかにされている。今回、我々は太陽紫外線誘発ヒト皮膚癌におけるp53遺伝子の変異を紫外線との関連で評価するため、色素性乾皮症（xeroderma pigmentosum, XP）と一般ヒトの皮膚有棘細胞癌（squamous cell carcinoma, SCC）とその前癌症である日光角化症（solar keratosis, SK）および太陽紫外線以外が誘因と考えられるSCC組織を用い免疫組織学的手法でp53蛋白の発現異常を比較解析した。

【方法】

手術的に切除した日光曝露部SCC52例と前癌症SK23例のホルマリン固定パラフィン包埋切片を用い、野性型及び変異型p53蛋白に対するポリクローナル抗体CM-1（Novocastra, UK）で免疫染色した。紫外線高発癌性のXP 5例、非XP69例より各々SCC 5個と47個、SK 1個と22個の腫瘍を得た。

【結果】

日光曝露部のSCC26例（XP 5例）において14例（54%）がp53免疫染色陽性であった。一方、熱傷瘢痕やX線被照射部位のSCC26例では5例のみ（19%）が免疫染色陽性であった。両群の陽性率の差は統計学的に有意であった。なお、全ての症例で染色陽性所見は核に局限し、細胞質には認められなかった。

SCCの分化度とp53染色性の関連では、高分化型の角化傾向の強いSCCでは染色陽性細胞は主に腫瘍辺縁の基底層に局在し角化するに従って陰性所見を示した。逆に低分化型、ないし未分化型のSCCではmitotic phaseの細胞を除いてすべての細胞が陽性所見を示した。染色陽性所見とtumorの大きさ、臨床病期、患者の性別、発症年齢との間に有意差は認められなかった。

一方、前癌症であるSKでは23例中11例（48%）に染色陽性所見が認められた。SKの組織型（hypertrophic type, atrophic type, bowenoid type）の間では陽性率に有意差は認められなかった。SKより生じたSCC11例中7例陰性、4例陽性であった。陰性例7例中1例でSK部に陽性所見を認め、逆に陽性例4例中1例にSK部の陰性所見を認めた。4例の転移性皮膚腫瘍（SCC）のうち3例は日光裸露部に生じたSCC由来であり2例はp53染色陽性、残りの1例は染色陰性であった。外陰部に生じたSCCのリンパ節転移病変の原発巣は陽性、転移巣は陰性であった。

【考案】

常染色体劣性遺伝で紫外線高発癌を特色とするXPの臨床研究と分子光生物学的研究、及び一般健康人の疫学的研究から紫外線曝露と皮膚発癌の間に強いつながりのあることが示されてきた。紫外線によりDNAにPyrimidine dimerや6-4 photoproductが生成され、XP患者ではこれらのphotoproductsに対する除去修復能が遺伝的に欠損しているために損傷部位に関連した突然変異が高率に生じ、発癌に至ると考えられている。皮膚SCCにおけるp53遺伝子の変異は主にdipyrimidine siteに局限しており、このことはphotoproductsがmutagenとして作用していることを意味している。我々の研究においても日光裸露部に生じた皮膚SCCが他の原因によって生じたSCCに比べて有意にp53蛋白の過剰発現を認めたことはUVがp53遺伝子に対し、mutagenとして働いたことを意味している。紫外線と関連しないSCCの中で癬痕由来のSCCは7例中1例に陽性所見を認めたが、この低い陽性率は劣性栄養障害性表皮水疱症の患者における水疱並びに癬痕由来のSCCにおいてp53蛋白の免疫染色の陽性率が26%であったという報告とも一致していた。

本研究には4例のverrucous carcinoma（VC）の症例が含まれている。VCの発症にHPV 6型と11型が密接に関与しており、時にHPV16型と18型の関与もあるとされている。High-risk HPVであるHPV16型と18型のE6 proteinはp53蛋白と結合してその機能を不活化することが既に報告されている。子宮頸部癌のcell lineを用いた研究ではhigh-risk HPVのゲノムを含むcell lineではp53遺伝子の変異は認められず、逆にhigh-risk HPVのゲノムを含まないcell lineではp53遺伝子の変異が高頻度に認められることが明らかにされている。自験例4例中免疫染色陽性所見を示したのは1例だけであり、これらの腫瘍におけるHPV感染の有無、HPVの型の同定は行っていないが、p53蛋白の過剰発現を示した例ではHPVの感染がないか、あるいはlow-riskのHPVに感染している可能性があり、逆に染色陰性例ではhigh-riskのHPVに感染している可能性が考えられた。

さて、高度に分化したSCCではp53陽性細胞は腫瘍辺縁の基底層に局限する傾向があり、角化するに従って陰性所見を示したが、Gustersonらも同様の所見を粘膜に生じたSCCについて見出ししている。正常表皮角化細胞における野性型p53蛋白の発現はその半減期が短いため、免疫染色においては紫外線B照射などで一過性に過剰発現を誘導しないかぎり認めることが困難である。分化型のSCCにおいて野性型の過剰発現あるいは変異型p53蛋白の発現がみられなかったことから分化のシグナルがp53遺伝子の発現を抑制したか、あるいは分化の過程でp53蛋白が変性し、抗体の反応するエピトープが失われた可能性が考えられる。

我々の研究ではSCCの分化の程度とp53の変異の頻度との間に有意な関連は認めなかった。これはSlater等による劣性栄養障害性表皮水疱症のデータと異なるが、我々も彼等と同じ抗体を用いており技術的な相違でなく、前者では野性型が過剰に発現されているか、SCC部では変異p53が発現しているか、あるいは標本のサンプリングに起因するものと考えた。

皮膚SCCは多段階のプロセスを経て進行する。無治療の場合、12～13%のSKがSCCに進行すると

されており、我々の研究では免疫染色を試みたSKのうち約半数が陽性所見を示した。これは日光裸露部に生じたSCCの陽性率とほぼ同じであり、また日光裸露部に生じ周囲にその前段階であるSKを伴っているSCC11例のうちSK, SCCとも陽性3例, SK, SCCとも陰性6例, SK, SCCの一方のみ陽性1例であったことと合わせてp53の変異あるいは過剰発現は正常角化細胞が前癌細胞に移行する段階で生じている可能性が示唆された。この結果は大腸癌では中高度異形腺腫以降の段階でp53の変異がみられるとする結果とは異なるが、このp53変異のタイミングの違いは大腸癌と紫外線誘発皮膚癌の質的な相違を示すものと考えている。

論文審査の結果の要旨

癌抑制遺伝子p53は大腸癌、肺小細胞癌のみならず多くのヒト悪性腫瘍の多段階発癌の過程において重要な役割を果たしていることが近年明らかにされている。本研究ではヒト皮膚癌におけるp53遺伝子の変異を紫外線との関連で評価するため、紫外線曝露がその発癌に関与する色素性乾皮症(xeroderma pigmentosum, XP)および一般ヒトの皮膚有棘細胞癌(SCC)、前癌症である日光角化症(SK)、さらに太陽紫外線以外の因子が誘因と考えられるSCC組織を用い免疫組織学的手法でp53蛋白の発現異常を比較解析した。

日光曝露部のSCC26例(XP 5例)において14例(54%)がp53免疫染色陽性であった。一方、熱傷瘢痕やX線被曝部位のSCC26例では5例のみ(19%)が陽性であった。両群の陽性率の差は統計学的に有意であった。なお、すべての症例で染色陽性所見は核に局限し、細胞質には認められなかった。

SCCの分化度とp53染色性の関連では、角化傾向の強い高分化型のSCCでは陽性細胞は主に腫瘍辺縁の基底層に局在し角化するに従って陰性所見を示した。逆に低分化型、ないし未分化型のSCCではmitotic phaseの細胞を除いてすべての細胞が陽性所見を示した。一方、前癌症SKでは23例中11例(48%)で陽性であった。SKの組織型(hypertrophic type, atrophic type, bowenoid type)の間では陽性率に有意差は認められなかった。

本研究において日光曝露部に生じた皮膚SCCが他の原因によって生じたSCCに比べて有意にp53蛋白の過剰発現を認めたことはUVがp53遺伝子に対し変異原として作用したことを支持する。

さて高度に分化したSCCではp53陽性細胞は腫瘍辺縁の基底層に局限する傾向があり角化するに従って陰性所見を示した。一方、正常表皮角化細胞における野性型p53蛋白の発現はその半減期が短いため、免疫染色においては紫外線B照射などで一過性に過剰発現を誘導しないかぎり陽性細胞を認めることが困難である。分化型のSCCにおいて野性型の過剰発現あるいは変異型p53蛋白の発現がみられなかったことから分化のシグナルがp53遺伝子の発現を抑制したか、あるいは分化の過程でp53蛋白が変性し、抗体の反応するエピトープが失われた可能性が考えられた。

皮膚SCCは多段階のプロセスを経て進行する。無治療の場合、12~13%のSKがSCCに進行すると考えられている。本研究ではp53蛋白に対する免疫染色を試みたSKのうち約半数が陽性所見を示した。これは日光裸露部に生じたSCCのp53蛋白の陽性率とほぼ同じである。この結果よりp53の変異は正常角化細胞が前癌細胞に移行する段階で生じている可能性が示唆された。この結果は大腸癌では中高度異形腺腫以降の段階でp53の変異がみられるとする結果とは異なるが、このp53変異のタイミングの違いは大腸癌と紫外線誘発皮膚癌の質的な相違を示すものと考えられる。

本研究は免疫組織学的手法を用いて①紫外線誘発皮膚癌の多段階発癌におけるp53癌抑制遺伝子の変異の時期、②分化とp53変異との関連の可能性について明らかにしたもので価値ある研究と認めら

れる。よって本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。