



## Reduction of ultraviolet-induced skin cancer in mice by topical application of DNA excision repair enzymes

尾藤, 利憲

---

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1997-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲1643

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1001643>

※ 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) 尾藤利憲 (兵庫県)  
 博士の専攻 分野の名称 博士(医学)  
 学位記番号 博い第1098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9年3月31日  
 学位論文題目 Reduction of ultraviolet-induced skin cancer in mice by topical application of DNA excision repair enzymes  
 (DNA除去修復酵素によるマウス紫外線発癌の抑制)

審査委員 主査 教授 市橋正光  
 教授 住野公昭 教授 藤原美定

### 論文内容の要旨

#### 〈緒言〉

近年、日光が皮膚癌の発癌主要因子として注目されている。中でも中波長紫外線(UVB)は、DNAにシクロプロパン型ピリミジンダイマー(CPD)や6-4光産物などのDNA損傷をひきおこす発癌波長として重要と考えられている。紫外線による発癌の分子機構も最近明らかになってきており、ras癌遺伝子の点突然変異は主にCPDと6-4光産物が生じるピリミジンニ量体の対側の位置で認められている。また、人の有棘細胞癌、基底細胞上皮腫ではおもにピリミジンニ量体の位置でp53癌抑制遺伝子の点突然変異が見つかっている。T4エンドヌクレアーゼV(T4N5)はCPD特異的DNA修復酵素であり、T4N5のリポソーム封入物を外用することによりCPDの修復が増強されることが人およびマウスで確認されている。今回我々は紫外線発癌の分子機構の解明の一助とするためT4N5リポソーム外用によるマウス紫外線発癌に対する抑制効果及びp53癌抑制遺伝子産物の変化を観察した。

#### 〈方法〉

リポソームに封入した $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ のT4N5の1%水性ゲル溶解液を紫外線照射直後にヘアレスマウスの背部に外用した。コントロールとして不活化したT4N5リポソーム溶解液を外用した。各群15匹のヘアレスマウスに1回 $3.43\text{kJ}/\text{m}^2$ 、週3回、合計65回照射した。皮膚を照射終了ごとに観察し、直径 $1\text{mm}$ 以上の腫瘍を腫瘍として数えた。65回目の照射終了後、生検を施行し、病理学的分析を行なうとともにp53蛋白の発現を免疫組織化学的に観察した。また、肉眼的に、正常に見える皮膚を経時に採取し、単位面積あたりの表皮細胞のp53蛋白発現を見た。

#### 〈結果〉

皮膚腫瘍発生率はコントロール群；100%，T4N5群；67%であり、マウス一匹あたりの腫瘍数はコントロール群； $6.3 \pm 2.8$ 個、T4N5群； $3.5 \pm 1.3$ 個とともにT4N5群で有意に( $p < 0.05$ , t-test)に紫外線発癌抑制効果が見られた。発生した腫瘍は病理学的に、良性腫瘍の乳頭腫、真皮への浸潤は認めないが表皮細胞の細胞異型性を認める前癌状態(carcinoma in situ:C.I.S)，有棘細胞癌に分類でき

た。両群において病理学的に確認された悪性腫瘍の比率に差異は見られなかった。P53蛋白発現頻度においても良性腫瘍、前癌症および悪性腫瘍において両群間で有意差は認めなかった。経時的に採取した正常皮膚におけるp53蛋白の発現はコントロール群でより早い時期より、より多くの細胞で蛋白発現が見られたが、統計学的な有意差は得られなかった。

#### 〈考察〉

T4N5の外用により発生腫瘍数が約1/2に抑制されたが、その原因の主たるものとして遺伝子異常の発生の抑制が考えられた。

総腫瘍39例中21例（54%）でp53蛋白の過剰発現が見られ、両群でp53蛋白の発現状況はほぼ同様であった。有棘細胞癌では乳頭腫、C.I.S.に比較し、p53蛋白過剰発現の頻度が低かった。理由は不明であるが、p53遺伝子の欠失、あるいはナンセンス変異のため免疫染色では見い出せないことも考えられる。マウス紫外線発癌においても人と同様p53癌抑制遺伝子が関連しているとの報告があるが、紫外線誘発癌における変異の割合は20%から100%とかなり大きな差異がある。p53蛋白過剰発現がかならずしも遺伝子異常を意味するとは限らないが、我々の研究でマウスの紫外線による人工的誘発腫瘍の約半数にp53蛋白過剰発現を認め、またその過程において肉眼的に正常に見える皮膚でもp53蛋白の過剰発現が増加していたことからp53遺伝子異常と紫外線発癌が相関していることが示唆された。経時的なp53蛋白発現の比較では両群間に有意差としては認められなかったが、T4N5外用群でp53蛋白発現遅延が観察された。人のp53遺伝子では、紫外線照射によるCPDが修復されにくい位置で最も頻繁に変異がおこり、CPDがp53癌抑制遺伝子の変異の主要な誘因であることが示唆されている。今回、p53遺伝子異常を調べていないが、T4N5外用群では発生腫瘍総数が対照群より少なかったことよりp53遺伝子の変異は対照群より起きにくかったことが推測される。

すでに、T4N5を用いたマウス紫外線発癌実験において対照群に比し有棘細胞癌の占める割合が減少することが報告されていたが、今回、紫外線で発生した良性（乳頭腫）、前癌症（C.I.S.）、癌（有棘細胞癌）の各々の発生率に関しては両群間に差異は見られず異なる結果となった。その理由としてマウスの系の違いか、あるいは人工光源、照射方法の違いのためか詳細は不明である。

紫外線発癌にはいまだ確かめられていない種々の遺伝子異常が関わっていると考えられ、T4N5はそのような遺伝子の変異を阻止することにより腫瘍誘発を阻止した可能性も考えられる。さらにT4N5は紫外線による免疫抑制を軽減し、腫瘍誘発を抑制している可能性もある。

本研究により紫外線発癌予防のためには、単なる遮光によるDNA損傷防止だけでなくDNA修復活性を亢進させる外用剤を用いて発癌に関連する遺伝子の変異を起こりにくくすることも発癌予防に有用なことが示唆された。今後、損傷DNAを特異的に修復する酵素だけでなく、内因性修復酵素活性を亢進させる薬剤等の開発が待たれる。

#### 論文審査の結果の要旨

近年、日光が皮膚癌の発癌主要因子として注目されている。中でも中波長紫外線（UVB）は、DNAにシクロプロパン型ピリミジンダイマー（CPD）や6-4光産物などのDNA損傷をひきおこす発癌波長として重要と考えられている。CPDと6-4光産物が生じるピリミジンニ量体の位置に関してras癌遺伝子、p53癌抑制遺伝子などの突然変異が見い出されている。T4エンドヌクレアーゼV（T4N5）はCPD特異的DNA修復酵素であり、T4N5のリポソーム封入物を外用することによりCPDの修復が増強

されることが人およびマウスで確認されている。今回我々は紫外線発癌の分子機構の解明の一助とするためT4N5リポソーム外用によるマウス紫外線発癌に対する抑制効果、及びp53癌抑制遺伝子産物の変化を観察した。

各群15匹のヘアレスマウスに1回3.43kJ/m<sup>2</sup>、週3回、合計65回照射した。皮膚を照射終了ごとに観察し、直径1mm以上の腫瘍を腫瘍として数えた。65回目の照射終了後、生検を施行し、病理学的分析を行なうとともにp53蛋白の発現を免疫組織化学的に観察した。また、肉眼的に、正常に見える皮膚を経時的に採取し、単位面積あたりの表皮細胞のp53蛋白発現を見た。

T4N5の外用により発生腫瘍数が約1/2に抑制されたが、その原因の主たるものとして遺伝子異常の発生の抑制が考えられた。

総腫瘍39例中21例(54%)でp53蛋白の過剰発現が見られ、両群でp53の発現状況はほぼ同様であった。マウス紫外線発癌においても人と同様p53癌抑制遺伝子が関連しているとの報告があるが、紫外線誘発癌における変異の割合は20%から100%とかなり大きな差異がある。p53蛋白過剰発現がかなりも遺伝子異常を意味するとは限らないが、我々の研究でマウスの紫外線による人工的誘発腫瘍の約半数にp53蛋白過剰発現を認めた。経時的なp53蛋白発現の比較では両群間に有意差は認められなかつたが、T4N5外用群でp53蛋白発現遅延が観察された。紫外線発癌過程及び紫外線誘発腫瘍においてp53遺伝子異常が強く関わっていることが示唆された。

紫外線発癌にはいまだ明らかではないが種々の遺伝子異常が関わっていると考えられる。T4N5はそのような遺伝子の変異を阻止することにより腫瘍誘発を抑制した可能性も考えられる。さらにT4N5は紫外線による免疫抑制を軽減し、腫瘍誘発を抑制している可能性もある。

本研究は、従来ほとんど行われていなかったDNA修復活性を亢進させる外用剤の発癌防止効果について重要な知見を得たものとして価値ある業績であると認める。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。