

| | |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏名 | まつい みほ |
| 学位(専攻分野) | 博士 (医学) |
| 学位記番号 | 医博第2160号 |
| 学位授与の日付 | 平成11年9月24日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当 |
| 研究科・専攻 | 医学研究科内科系専攻 |
| 学位論文題目 | The role of oxidative DNA damage in human arsenic carcinogenesis: detection of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in arsenic related Bowen's disease (ヒトの砒素発症における活性酸素によるDNA傷害の役割: 砒素が発症に関与したボーエン病における8-ヒドロキシ2'-デオキシグアノシンの検出) |

論文調査委員 (主査) 教授 佐々木正夫 教授 福井有公 教授 宮地良樹

論文内容の要旨

砒素は広く自然界に存在するとともに、現在でも農薬、除草剤、化学兵器等に使用されている。砒素は皮膚科領域では、黒皮症、角化症、多発ボーエン病、ボーエン癌をひき起こすことが知られており、又皮膚癌を始めヒトの肝臓癌、腎臓癌、膀胱癌、肺癌の発症に関与していることは古くから知られた事実であるがその発症のメカニズムについては不明であった。1989年、山中らは、砒素の代謝産物をマウスに経口投与したところ肺で特異的に1本鎖DNA切断が生じること、その鎖切断がSODとcatalaseを加えると減少することから砒素によるDNA切断はReactive Oxygen Species(以下活性酸素と略す)によるものであることを示唆した。またWanibuchiらは、砒素の代謝産物をラットに与え、肝臓癌が発生すること、その過程で活性酸素によるDNA傷害を示す8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine(以下8-OHdGと略す)が生じていることを報告した。

今回我々は砒素に皮膚癌の発症における活性酸素の関与について抗8-OHdG抗体を用いて検討した。8-OHdGはグアニンの修飾塩基でありグアニンの8位にOHがついたもので活性酸素によるDNA傷害の鋭敏なマーカーとして用いられておりシトシンとだけでなく50%の確率でアデニンとも塩基対を形成することからG:CからT:Aの塩基置換を引き起こすことが知られている。

材料として地域性に慢性砒素中毒の集団発生が観察された、台湾、タイ、愛媛県波方町等からの砒素角化症、多発ボーエン病、ボーエン癌のサンプルを28例用いた。活性酸素は、長波長および中波長紫外線によっても生成されるので非露光部の腫瘍で検討した。対照として砒素が発症に関与していないボーエン病、ボーエン癌のサンプルを11例用いた。脱パラフィン、マイクロウェーブ処理後、免疫組織化学的手法で8-OHdGに特異的なモノクローナル抗体で染色した。8-OHdGに特異的に染色されたことを証明するために吸収試験を行ったところ核に一致した染色は観察されなかった。砒素が発症に関与した砒素角化症、ボーエン病、ボーエン癌の組織では28例中22例で8-OHdGが表皮の核に一致して検出されたのに対し、砒素が発症に関与していない検体では11例中1例で検出されたのみであった。8-OHdGは表皮の核に染まっており何らかの過程で生じた活性酸素によって表皮細胞の核のDNAにおいてmutation proneである8-OHdGが生じたと考えられた。染色の程度をNIHイメージを用いて処理し、定量化したところ組織学的悪性度と8-OHdGの検出量において相関はなく、砒素角化症、ボーエン病においても明らかな検出を認めた。なお発症から数十年経ったサンプルの表皮において、8-OHdGが検出される原因として、皮膚内に砒素が残存し、活性酸素を生じ8-OHdGを生成している、との仮定のもと、脱パラフィンしたサンプルにて、熱中性子を照射し放射化分析を施行したところ、砒素が発症に関与したボーエン病にて、5例中4例で砒素に特有のピークが認められた。砒素の代謝は明らかではないが、砒素がケラチン中のシスチンに結合することが知られており、そのために皮膚に残存することが推察される。

皮膚に残存する砒素が活性酸素を介し DNA 傷害を生じていることが、砒素角化症、ポーエン病、ポーエン癌の発症に関与することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

著者らは砒素による皮膚癌の発症における Reactive Oxygen Species (以下活性酸素と略す) の関与を明らかにする目的で、活性酸素における DNA 傷害のマーカーとなる抗 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (以下 8-OHdG と略す) 抗体を用いて検討した。材料として地域性に慢性砒素中毒の発生が観察された、タイ、台湾、日本の砒素角化症、多発ポーエン病の検体を 28 例、対照として砒素が発症に関与していないポーエン病の検体を 11 例用い、免疫組織化学的手法で 8-OHdG に特異的なモノクローナル抗体で染色した。砒素が発症に関与した検体では、砒素が発症に関与していない検体に比して有意に 8-OHdG が検出された。なお発症から数十年経ったサンプルの表皮において、8-OHdG が検出される原因として、皮膚内に残存した砒素が活性酸素を生じ 8-OHdG を生成している、との仮定のもと、熱中性子放射化分析を施行したところ、砒素が発症に関与したポーエン病の検体 5 例中 4 例で砒素に特有のピークが認められた。皮膚に残存する砒素が活性酸素を介し DNA 損傷を生じることが、砒素角化症、ポーエン病の発症に関与することが示唆された。

以上の研究は砒素の関与した皮膚発癌において活性酸素が関与していることを初めて報告するものであり、その予防や治療に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値のあるものと認める。

なお、本学位授与申請者は平成 11 年 8 月 10 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。