

## A・B 領域紫外線の直接照射により SCID マウス移植ヒト皮膚に 誘発される遺伝子変異とその予防

本 行 忠 志  
大阪大学 医学部

ヒト発がんの実験的研究は、限られた、あるいは不自然な条件下(ヒト培養細胞、動物実験など)でしか成され得なかった。現在米国で使われている T 細胞、B 細胞の欠損した SCID (Severe Combined Immunodeficiency) マウスは、若年で白血病を多発し(約 30%)、また、T、B 両細胞ともに一部正常に戻ってしまうため(約 30%)、マウス皮膚の allograft すら生着しにくいことがわかっている。野村らは、1986 年より IgG、IgM が検出限界以下の C.B17-scid マウスを 20 代以上 Selective Inbreeding (ホモ交配)した改良 SCID マウスに、最も観察の容易なヒト正常皮膚を移植し、長期間にわたり太陽紫外線類似の A、B 領域紫外線(UVA, UVB)を連日照射したところ、ケラトーシスが高率にヒト皮膚に発生し、1~2 年間の連日照射により、ヒト皮膚がんを世界で初めて実験的に誘発するのに成功した。

また、本行らは、放射性同位元素を使わず、従来の方法に比べ、迅速・簡便・高感度・安価に遺伝子変異を検出し得る独創的な Cold SSCP 法を開発しており、キャピラリーシーケンサーと共に普通の実験室で容易に遺伝子変異解析が可能となっている。

本研究では、ヒト皮膚組織移植 SCID マウスを用い、UVA, B によりヒト皮膚に誘発された全ての突然変異のシーケンスを行い、UV 照射量、時間的变化、病理組織学的経過との相関を解析することにより太陽紫外線によるヒト皮膚に実際に誘発される障害を確証した。また、これまで考えられなかった新しい観点からヒトの前癌病変から癌に至る特性とその悪性化機構を明らかにすることを目的とした。

### 【結果および考察】

1) ヒト正常皮膚の継代・維持と UVA, B 照射によるヒト皮膚ケラトーシス、皮膚がんの誘発  
改良 SCID マウスへのヒト正常皮膚移植組織の継代・維持は 2 年以上にわたり可能で、ヒト正常皮膚 110 例中 110 例(100%)が改良 SCID マウスに生着した。UVA, B 照射により、18 例中 14 例に光線角化症(actinic keratosis)が見られ、ケラトーシスを經由して皮膚がんへ進展が 4 例に見られた(扁平上皮がん 3 例、未分化がん 1 例)。また、ワイルドタイプ CB17+/+ マウスに UVA, B 照射しても皮膚がんは発生しなかったこと、および、ヒト遺伝子プライマーにより PCR 産物がえられたことより、がんはマウス皮膚ではなくヒト皮膚より発生したと考えられる。

2) *p53* がん抑制遺伝子の特異的変異

皮膚がんでは、*p53* 遺伝子に種々の突然変異が検出されているが、特に、codon242 に cTGC cCGC transition (Cys → Arg) が特異的に誘発されていた。ヒト Psoriasis 皮膚に PUVA 療法

(Psoralen + UVA)を行った際に発生した皮膚がんを高率に *p53* 遺伝子の codon242 に全く同じ突然変異が誘発されていることが報告されており、本実験とよく一致している。codon273 にも変異が多く見られたが UV 照射とは無関係に発生しており、非特異的と思われる。

3) UVA, B 照射によるヒト皮膚での *K-ras*, *c-kit* および *-catenin* 遺伝子の変異

UVA, B 照射ヒト皮膚の凍結サンプルを用い、*K-ras*, *c-kit* および *-catenin* の変異を調べたところ、*K-ras* codon12 に GGT → GCT transversion が 2 例に起こっており、いずれも UVA, B で誘発した扁平上皮癌であった。*c-kit* codon 561 に GAG → GAA transition が 2 例に誘発されており、これも UVA, B 誘発扁平上皮癌であった。更に、codon559 に GTT → ATT transition が 1 例に認められたが、これは UVA, B 誘発ケラトシス皮膚であった。*c-kit* 遺伝子の変異は間質系、生殖系や血液系の腫瘍で報告されているが、メラノーマを除いた皮膚がんでは見られていない。従って、UVA, B にて SCID マウスに移植したヒト正常皮膚に誘発したヒト皮膚がんには、*p53* 癌抑制遺伝子の突然変異 (codon242 に加え 2~3 重の変異) に加え、*K-ras*, *c-kit* の突然変異も重複して誘発されていることが新たにわかった。*-catenin* の変異も 7 例に見られたが非特異的であった。

4) 基底細胞癌におけるヘッジホッグシグナルの特異的異常

基底細胞母班症候群の原因遺伝子 *PTCH* はヘッジホッグ蛋白のレセプターであり、一般人に生じる基底細胞癌においても *PTCH* の変異が報告されている。*PTCH* 変異を代表とするヘッジホッグシグナルの異常が *PTCH* の発現亢進を伴うことを利用して、神戸大学皮膚科で得られた各種のヒト皮膚腫瘍における *PTCH*mRNA の発現を RT-PCR 法により解析し、その異常の特異性を検討した。その結果 12 例の基底細胞癌全てに高発現を認めたのに対し、他の 24 例の腫瘍 (有棘細胞癌、メラノーマ、ポーエン病、日光角化症など) では 1 例のポーエン病を除いて、発現は低く、ヘッジホッグシグナルの異常は基底細胞癌特異的に生じている可能性が強く示唆された。