

氏名 (本籍)	酒々井 真 澄 (岐阜県)
学位の種類	博 士 (医学)
学位授与番号	甲第 319 号
学位授与日付	平成 8 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	1) No involvement of <i>Ki-ras</i> or <i>p53</i> gene mutations in colitis-associated rat colon tumors induced by 1-hydroxyanthraquinone and methylazoxymethanol acetate 2) Infrequent <i>Ha-ras</i> mutations and absence of <i>Ki-ras</i> , <i>N-ras</i> , and <i>p53</i> mutations in 4-nitroquinoline 1-oxide-induced rat oral lesions
審 査 委 員	(主査) 教授 森 秀 樹 (副査) 教授 野 澤 義 則 教授 岡 野 幸 雄

### 論 文 内 容 の 要 旨

自然界に存在する発癌剤である 1-hydroxyanthraquinone (1-HA) と化学発癌剤である methylazoxymethanol (MAM) acetate はラット大腸発癌に対して相乗作用を示し潰瘍性病変を伴う大腸癌を誘発する。化学発癌剤である 4-nitroquinoline 1-oxide (4-NQO) はラット口腔内に前癌病変及び口腔癌を誘発する。癌遺伝子や癌抑制遺伝子の変異がヒト発癌過程に深く関与していることが明らかになってきたが、動物発癌モデルに関して発癌過程におけるこれらの遺伝子の関与を検討した報告は非常に少なかった。申請者はラット大腸癌及び舌癌モデルを用いて分子生物学的手法により発癌過程における癌遺伝子及び癌抑制遺伝子の変異を検索し、前癌病変と腫瘍の組織学的所見と遺伝子変異の頻度を検討し、さらに発癌メカニズムについてヒトの場合と関連づけながらこれらのモデルの有用性について検討した。

#### 材料と方法

1) 1% 1-HA 混餌投与及び MAM acetate (25mg/kg body weight) 腹腔内投与により誘発したラット大腸腫瘍 (adenoma 18 サンプル, adenocarcinoma 38 サンプル) から DNA を抽出し癌遺伝子である *Ki-ras* exon 1, 2 及び癌抑制遺伝子である *p53* exon 5-7 の遺伝子変異を Polymerase chain reaction (PCR)-single strand conformation polymorphism (SSCP) 法を用いて検索した。同時に組織学的所見との関連を検討した。

2) 20ppm 4-NQO 含飲水投与により誘発したラット舌前癌病変 (dysplasia 9 サンプル) と舌腫瘍 (papilloma 3 サンプル, squamous cell carcinoma (SCC) 17 サンプル) から DNA を抽出し癌遺伝子である *Ki-ras*, *N-ras* exon 1, 2 及び癌抑制遺伝子である *p53* exon 5-7 の遺伝子変異を PCR-SSCP 法を用いて検索した。変異を認めたサンプルについてシーケンスを行い塩基配列の変化とアミノ酸置換を確認した。同時に組織学的所見との関連を検討した。

#### 結 果

1) *Ki-ras*, *p53* 共に変異を認めなかった。  
遺伝子変異の頻度と組織型は次の通りであった。Adenoma : 0 / 18, adenocarcinoma : 0 / 38

2) *Ha-ras* codon 61 に CAA (Gln) → CTA (Leu) (A → T transversion) の変異を認めた。  
*Ki-ras*, *N-ras*, *p53* に変異を認めなかった。遺伝子変異の頻度と組織型は次の通りであった。Dysplasia : 1 / 9, papilloma : 0 / 3, SCC : 4 / 17, 変異は 5 例全て *Ha-ras* codon 61 における A → T transversion であった。

#### 考 察

1) 1-HA 及び MAM acetate で誘発された大腸癌において *Ki-ras*, *p53* の関与は低いと考えられ、他の pathway の存在が示唆された。この動物モデルの大腸病変は組織学的にヒトの潰瘍性大腸炎 (UC) に伴う大腸癌に類似

していた。ヒト大腸癌に関して *Ki-ras* や *p53* 遺伝子の変異は高頻度で見つかったが、ヒト UC 関連大腸癌ではこれらの遺伝子変異の頻度が自然発生の大腸癌に比べてかなり低いことを考慮するとこのモデルはヒト UC 関連大腸癌のメカニズムを考察するうえで良いモデルになると考えられた。

2) 4-NQO 誘発口腔癌に *Ha-ras* の変異が関連し、*Ki-ras*, *N-ras* 及び *p53* の関与は低いことが示唆された。ヒト口腔癌は喫煙や噛みタバコの使用と関係することが明らかになっており、SCC において *Ha-ras* 変異の頻度が 4/17 (24%) である本研究結果は噛みタバコによるヒトの口腔癌の遺伝子変異の結果とよく一致していた。前癌病変から癌への組織学的変化の過程はヒト口腔癌過程とよく似ていることを考慮するとこのモデルは *Ha-ras* の変異に関連したヒト口腔癌の良いモデルになると考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

申請者 酒々井真澄は化学発癌剤によって誘発されたラット大腸腫瘍及び口腔腫瘍とその前癌病変を用いて癌遺伝子、癌抑制遺伝子の変異と発癌との関連について検討し、組織学的所見と遺伝子変異との関係を明らかにした。本研究はヒト大腸癌及び口腔癌研究の進歩に多大な貢献をするものと認める。

---

#### [主論文公表誌]

- 1) No involvement of *Ki-ras* or *p53* gene mutations in colitis-associated rat colon tumors induced by 1-hydroxyanthraquinone and methylazoxymethanol acetate  
平成7年4月発行 Molecular Carcinogenesis 12 (4) : 193-197
- 2) Infrequent *Ha-ras* mutations and absence of *Ki-ras*, *N-ras*, and *p53* mutations in 4-nitroquinoline 1-oxide-induced rat oral lesions  
平成7年12月発行 Molecular Carcinogenesis 14 (4) : 294-298