

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年4月29日現在

機関番号：33910

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22590558

研究課題名（和文） 紫外線により誘発される皮膚癌の発症機構の解析

研究課題名（英文） Analysis of the skin cancer induced by ultraviolet

研究代表者

山ノ下 理 (YAMANOSHITA OSAMU)

中部大学・生命健康科学部・講師

研究者番号：50424924

研究成果の概要（和文）：悪性黒色腫の発生過程で発現が抑制される遺伝子の解析を行った。良性腫瘍における紫外線照射により本遺伝子産物は発現が低下し、ヒト組織についてもその悪性度が上がるにつれ発現が低下した。また悪性黒色腫に強制発現させると増殖能・浸潤能が低下したことから本遺伝子産物は紫外線によるガン化または悪性化に関与する遺伝子である可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）： We analyzed the down-regulation gene with tumor progression in melanoma. UV radiation down-regulates expression of the gene in murine benign tumor. Down-regulation of the gene was observed with tumor progression in human melanoma. Expression of the gene in melanoma decreased cell growth and invasive ability. These results suggested that the gene may prevent progression of melanoma.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・衛生学

キーワード：皮膚ガン・紫外線・悪性黒色腫

## 1. 研究開始当初の背景

近年オゾンホール拡大などに伴いヒトは多くの紫外線浴びている。紫外線などにより皮膚に発生するがんの中でメラノーマは悪性度が高い、しかしながらメラノーマは診断において良性腫瘍と判断が付きにくい場合があり、まれにメラノーマと良性腫瘍を取り違えることがある。メラノーマの病理診断法としては、S-100・HMB45などの抗体を利用した染色法があるが、生化学的診断

法はほとんどなく、また発症前および悪性化の指標となる因子は皆無に近い状態である。バイオプシーなどを行って組織検査をした場合、メラノーマであると転移する可能性が極めて高く、ゆえにメラノーマのバイオマーカーを用いた生化学的診断法の確立が望まれている。また、メラノーマを発症してしまった場合、予後不良であり速やかな外科的治療を必要とする。現在、予防・治療という観点では紫外線を避けるなどとい

った消極的な方法しかなく、メラノーマの予防・治療法の確立が望まれている。

研究代表者らは遺伝的に均一の同一固体に発症したメラノーマ、良性腫瘍における遺伝子発現量をマイクロアレイで比較、メラノーマで特異的に抑制される遺伝子を検索しメラノーマの診断・予防及び治療に向けた基礎研究を行っている。いくつかの候補の中でガン細胞において発現がほとんど認められず、良性腫瘍に対し紫外線を曝露すると発現量が低下するカルシウム関連遺伝子である CSEN 遺伝子を見出した。またメラノーマのみならず、CSEN が悪性腫瘍と関係している報告は一報もない。

## 2. 研究の目的

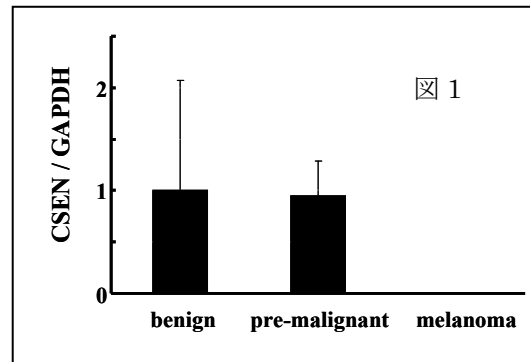
紫外線曝露量の増加等に伴い悪性黒色腫(メラノーマ)の発症が増加しているが、その予防法、治療法については限られており、メラノーマの発症機構の解明、診断・予防・治療法の確立が望まれている。研究代表者らは紫外線曝露に対し発現が低下し、またメラノーマを含めガン細胞特異的抑制を受ける新規遺伝子(CSEN)を検索した。その分子が紫外線によるメラノーマ発症に対する役割を解明し、メラノーマの診断・予防・治療法開発の基礎知見を得る。また、マウス等の血清を経時的にモニタリングすることにより、in vivo における発症・悪性化の過程においての本遺伝子産物の増減量を解析すること及び本遺伝子の発現調節に関与する食品成分・薬剤を検索することで診断法、予防・治療法開発の基礎知見を得る。

## 3. 研究の方法

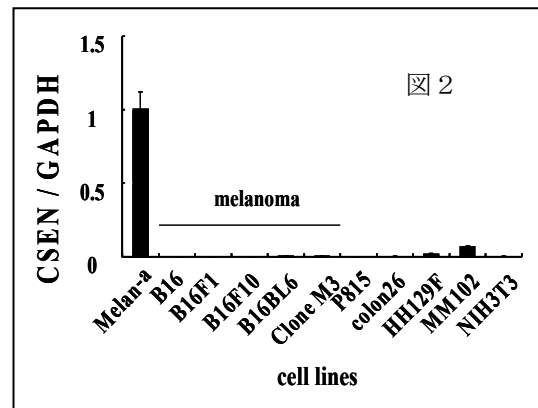
培養細胞・動物に対する研究：マイクロアレイにより選択したメラノーマに特異的な発現抑制遺伝子候補がガン細胞特異的、悪性化またはアポトーシスなどの表現型を示すか否か培養細胞を用いて確認後、マウスを用いてその遺伝子の機能を形態学的、生化学的に解析し細胞による解析結果の確認を行う。さらに紫外線曝露に対する本遺伝子産物の役割を解析する。

## 4. 研究成果

メラノーマ発症前バイオマーカー候補遺伝子 CSEN は良性腫瘍 (benign)、前がん状態 (pre-malignant) ではきわめて強い発現を認めるが、メラノーマでは発現がなくなる。(図 1)

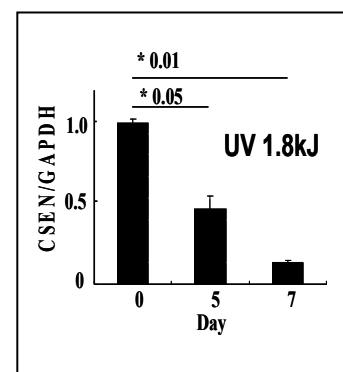


様々なメラノーマ培養細胞または、がん由来の培養細胞株においても、発現はほとんど認められなかった。唯一悪性ではないが継代培養可能なメラノサイト系細胞 (melanoblast : Melan A) で強い発現が認められた。これらのことから本遺伝子は良性腫瘍よりがん化(特にメラノーマ)への進行における特異的な指標になる可能性が示唆された。(図 2)



皮膚メラノサイトにおいて腫瘍形成をするものの悪性化しない系統のマウスの腫瘍に紫外線を照射すると、メラノーマを発症する。本マウスの良性腫瘍に対しメラノーマ発症させるに十分な紫外線量を照射すると、腫瘍の CSEN 発現量が日数を経るに伴い減少した。このことより良性腫瘍の悪性化に伴い発現量が減少する遺伝子であることが示唆された。(図 3)

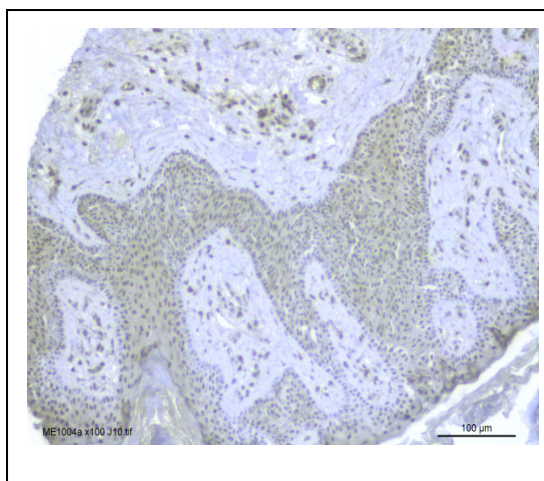
図 3



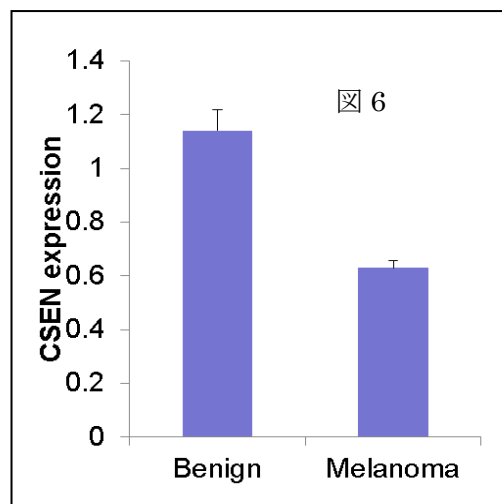
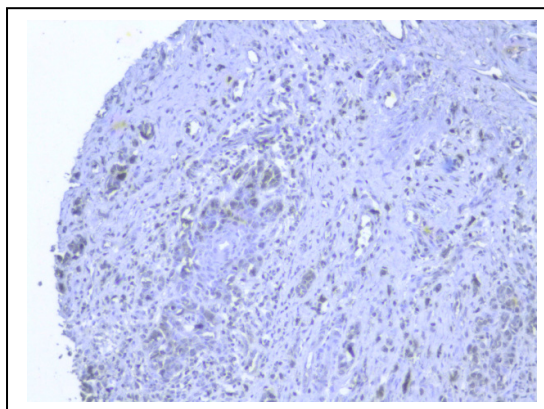
本遺伝子産物の発現がほとんどない悪性黒色腫培養細胞（細胞増殖能、浸潤能、移動能、形質転換能が非常に高い B16F10 を使用）に発現させ stable clone を選択し、がん細胞特有な高い増殖能、浸潤能、移動能、形質転換能に関してどう変化するか解析したところ、本遺伝子産物の発現量に比例して細胞の増殖能が低下し、浸潤能、形質転換能も低下することが判った。(data not shown)

紫外線による細胞のがん化は紫外線曝露に伴う活性酸素種の生成により起因すると考えられている。正常細胞に紫外線を曝露したところ本遺伝子は五日目より発現が低下していった。また紫外線量により発現の低下する時間が異なり、量が多いと速やかに低下した。人組織（悪性黒色腫(図 4)、良性腫瘍(ほくろ(図 5))、正常皮膚)の組織を免疫染色したところ、悪性化に伴って発現量が低下していった。(図 6) これまでは培養細胞での比較であったがこの結果により人組織においても同様なことが認められた。

(図 4) 良性腫瘍



(図 5) 悪性黒色腫



#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

- ① Yamanoshita O (2/11), Kato M (11/11), Enhanced carcinogenicity by coexposure to arsenic and iron and a novel remediation system for the elements in well drinking water, Arch Toxicol. 2013 ;87:439-47 DOI: 10.1007/s00204-012-0964-6. 査読有
- ② Yamanoshita O (6/11), Kato M (11/11), RAS/RAF/MEK/ERK and PI3K/PTEN/AKT Signaling in Malignant Melanoma Progression and Therapy. Dermatol Res Pract. 2012;2012:354191. DOI: 10.1155/2012/354191. 査読有
- ③ Yamanoshita O (9/12), Kato M (12/12), Molecular Network Associated with MITF in Skin Melanoma Development and Progression. J Skin Cancer. 2011;2011:730170. DOI: 10.1155/2011/730170. 査読有

[学会発表] (計 1 件)

- ① 山ノ下 理、悪性黒色腫におけるNKX3.1 遺伝子変異の解析、第 83 回日本衛生学会 学術総会、2013 年 3 月 25 日、金沢市

[その他]

ホームページ等

なし

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

山ノ下 理 (YAMANOSHITA OSAMU)  
中部大学・生命健康科学部・講師  
研究者番号：50424924

(2) 研究分担者

加藤 昌志 (KATO MASASHI)  
名古屋大学・医学部・教授  
研究者番号：10281073

(3) 連携研究者

なし