

# 論 文 要 旨

Comparison of oxidative stress on DNA, protein, and lipid in patients with actinic keratosis, Bowen's disease, and squamous cell carcinoma.

日光角化症、ボーエン病、有棘細胞癌における DNA、蛋白、脂質に対する酸化ストレスの比較検討

吉福 明日香

## 【序論及び目的】

有棘細胞癌は紫外線が誘因の一つであり、露光部に多発する。その発症メカニズムとして紫外線による酸化ストレスが関与している。また、他の発症要因である、ヒトパピローマウイルス (HPV) やヒ素などによる発癌にも酸化ストレスが関与していると考えられている。また、日光角化症やボーエン病は前癌病変とされており、進行すると前者は有棘細胞癌、後者はボーエン癌 (広義の有棘細胞癌) になる。しかし日光角化症、ボーエン病から有棘細胞癌へ進展する各々の段階において酸化ストレスがどのようなメカニズムで関与しているか、詳細に関しては不明な点が多く残されている。

そこで、今回有棘細胞癌の病態形成に、酸化ストレスがどのように関わっているかを明らかにするために、当科で保存している日光角化症、ボーエン病、有棘細胞癌の検体を用いて、酸化ストレスの観点から癌の進展とともにどのような分子に変化が認められるのかを免疫組織化学的に検討した。

## 【材料及び方法】

2009 年 1 月から 2014 年 12 月に当科で皮膚生検または手術を施行され、病理組織学的に日光角化症、ボーエン病、有棘細胞癌と診断された 230 症例の切除標本を用いて、免疫染色を行った。230 例のうち日光角化症の患者が 79 例、ボーエン病の患者が 61 例、有棘細胞癌の患者が 90 例であった。コントロールとして正常な皮膚 28 例を用いた。平均年齢はコントロールが 70.7 歳、日光角化症が 80.5 歳、ボーエン病が、76.6 歳、有棘細胞癌が 80.8 歳であった。部位は、日光角化症は頭頸部 64 例、上肢 13 例、下肢 2 例、ボーエン病は頭頸部 13 例、躯幹 21 例、上肢 9 例、下肢 18 例、有棘細胞癌は、頭頸部 55 例、躯幹 7 例、上肢 17 例、下肢 11 例であった。日光角化症と有棘細胞癌は露光部に多く、両者に較べてボーエン病は非露光部に多い傾向がみられた。有棘細胞癌は熱傷瘢痕が発症母地になることがあり、8 例が熱傷瘢痕上に発症していた。また、有棘細胞癌の中には、転移を伴った症例が 8 例あり、今回検討の対象になったのは、原発巣が 6 例、転移巣が 2 例であった。

細胞内分子の酸化損傷について解析するために、以下の抗体を用いた。

- ・ DNA の酸化損傷に関して：8-hydroxy-deoxyguanosine (8-OHdG) 抗体
- ・ タンパク質の酸化損傷に関して：dityrosine (DT) 抗体
- ・ 脂質の酸化損傷に関して：malondialdehyde (MDA) 抗体

免疫染色の評価は染色強度ならびに陽性細胞比率からなる半定量的判定方法：IRS (immunoreactive score) を用いて行った。統計的分析はまず、Kruskal-Wallis 検定で 4 群間に有意差

があるかどうかを判断し、Steel-Dwass 法でそれぞれの疾患群間に有意差があるか否かの比較を行った。

### 【結果】

- ① 8OHdG (DNA の酸化損傷) : 日光角化症とボーエン病では、正常コントロール、有棘細胞癌と比べて、8OHdG は有意に上昇していた。
- ② DT (蛋白質の酸化損傷) : 正常コントロールと比べて、日光角化症、ボーエン病、有棘細胞癌ともに上昇していたが、3 群間で有意差はなかった。
- ③ MDA (脂質の酸化損傷) : 有棘細胞癌では、正常コントロール、日光角化症、ボーエン病と比べ、有意に上昇していた。

有棘細胞癌に関しては、臨床像によるサブグループ解析を行った。露光部と非露光部、転移群と非転移群、基礎疾患として熱傷瘢痕がある群とない群に分けて比較したが、8OHdG、DT、MDA 共に有意差は認めなかった。

### 【結論及び考察】

8OHdG は代表的な DNA の酸化損傷のマーカーであり、遺伝子 DNA 中の核酸塩基であるデオキシグアノシンが、紫外線、放射線、環境汚染物質、喫煙などにより酸化損傷を受け、8-OHdG が生成される。染色体 DNA に発生した 8-OHdG は複製時に G⇒T 変異 (トランスポージョン) を惹起し、発癌のリスクを高め、食道癌や非小細胞肺癌、膀胱癌で増加することが報告されている。また皮膚においては、紫外線照射やヒ素が原因のボーエン病で 8-OHdG の発現が増加すると報告されている。今回の検討では、有棘細胞癌は正常コントロールと有意差はなく、日光角化症とボーエン病で有意に上昇していた。この結果から、発癌の初期に DNA の酸化損傷が関与していると考えられる。

DT は、蛋白質の酸化損傷マーカーの一つであり、蛋白質中や遊離のチロシンが酸化されて形成されるチロシン二量体である。紫外線、放射線、過酸化水素、ペルオキシダーゼによりチロシンラジカルを中間体として形成される。ウサギの動脈硬化巣や、老化した人間の脳、低蛋白性栄養障害のマウスの皮膚、シスプラチンで障害を受けたラットの腎臓で DT の増加が報告されているが、発癌との関与は不明である。今回の検討では DT は正常コントロールと比べ、日光角化症・ボーエン病・有棘細胞癌ともに有意に上昇していたが、3 群間では有意差は認めなかった。蛋白質の損傷は、有棘細胞癌の発癌過程のすべての段階において発症に関与していると考えられる。

MDA は脂質過酸化の主要なマーカーであり、脂質過酸化反応 LPO (lipid peroxidation) の最終生成物である。DNA 中のデオキシアデノシンやデオキシグアノシンと反応し、DNA 付加物を生成し、突然変異や発癌を引き起こすという報告や、蛋白の変性を引き起こすという報告がある。また、発癌物質の一つであり、マウスの皮膚に MDA を外用し、ケラトアkantoma、肝臓癌、直腸癌といった癌を誘発した報告もある。さらに紫外線照射により誘導される有棘細胞癌、悪性黒色腫の細胞中で MDA が著明に増加しているとの報告もある。今回の検討では、MDA は、正常コントロールと比較して、日光角化症、ボーエン病、有棘細胞癌すべてで、有意に上昇しており、有棘細胞癌で最も著明に増加していた。脂質の酸化損傷は癌の進展、特に後期に強く関与していると考えられた。

今回の実験では、DNA、蛋白、脂質の酸化ストレスが皮膚の有棘細胞癌の形成と関与しており、またそれぞれ異なる段階で関与している事が示唆された。