

【目的】食道癌においては酸化了的 DNA 損傷から誘発されるタイプのトランスバージョン変異が p53 遺伝子変異型の頻度解析において最も多くみられる変異であり、他の癌腫に比較して多いことを発見し、食道癌が酸化ストレス発癌との関わりが強い癌腫であることを初めて報告し発表した。

細胞内では酸化了的 DNA 損傷を修復する機構があり、これが発癌を抑制する重要な役割を担っている。酸化了的 DNA 損傷を受けたヌクレオチドを塩基除去修復する機構を備えており、OGG1、MutYH、MTH1 の 3 つの修復に関わる酵素が重要な役割を果たすことで遺伝子変異を抑制していることが分かっている（下図）。OGG1 と MutYH の二重欠損マウスでは、より多くの腫瘍が発生すると予想されたが、予想に反して OGG1 単独欠損マウスで見られる肺癌の自然発生頻度が野生型マウスよりも低いことが報告された。OGG1 と MutYH の二重欠損マウスの臓器のゲノム中には野生型マウスの数倍以上の 8-oxoG が蓄積しており、過度の 8-oxoG のゲノム蓄積は細胞死を誘発し、結果として発癌頻度の低下をもたらし、MutYH は癌の存続に寄与していた可能性が報告された。そこで癌組織における MutYH の発現を調べることで、MutYH が癌のアポトーシスを抑制している可能性を検討し、MutYH を抑制することで癌を細胞死に導く新規薬剤のターゲット因子となり得るかを検討することを本研究の目的とした。

【方法】 1. ヒト食道癌組織の薄切プレパラートを作製し 8-oxoG、OGG1 と MutYH について、発現量やその強度を評価して臨床病理学的因子と比較検討することで OGG1 と MutYh の臨床的な表現型を探索する。2. 同様に OGG1 と MutYH について蛍光免疫染色を施行し、共発現しているかなどの局在を評価して臨床病理学的因子と比較検討することで、共発現している部位と共発現していない部位で、酸化了的 DNA 損傷因子である 8-oxoG の蓄積量やアポトーシス因子の発現を調べ、癌組織の細胞死に関して OGG1 と MutYH の役割を推察する。3. 食道癌細胞株で OGG1 や MutYH の発現を免疫組織化学染色法や Western Blotting 法、qRT-PCR 法を行う。4. OGG1 や MutYH を単独あるいは組み合わせで Knockdown や Knockout した細胞株で生存率やアポトーシスの割合を MTT Assay や TUNNEL 法で評価し MutYH が癌細胞のアポトーシスを抑制していることを検討する。

【結果】 MutYH の免疫染色では MutYH は癌部で高発現していた。MutYH と TUNEL の蛍光 2 重染色では MutYH 発現癌細胞で TUNEL 陰性であり MutYH が癌のアポトーシスを抑制しているという仮説に矛盾しない結果であった。MutYH 強発現群では予後不良であり、こちらも MutYH が癌細胞のアポトーシスを抑制しているという仮説に矛盾しない結果であった。

酸化了的 DNA 損傷とその修復因子

