

別紙 1 - 1

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 李 光 华

論 文 題 目


Fenton reaction-induced renal carcinogenesis in *Mutyh*-deficient mice exhibits less chromosomal aberrations than the rat model

(*Mutyh*欠損マウスにおけるフェントン反応誘発腎がんは同ラットモデルほど多数の染色体異常を呈さない)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員

高橋 雅 英 

名古屋大学教授

委員

藤 本 豊 士 

名古屋大学教授

委員

明 松 健 治 

名古屋大学教授

指導教授

豊 成 伸 哉 

## 論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

哺乳類のゲノム DNA は、修復酵素 OGG1, MUTYH, MTH1 により酸化修飾から守られている。その中の MUTYH 遺伝子の欠損は、常染色体劣性遺伝性の大腸腺腫症の原因となることが報告されている。本研究では、発がんしにくい系統である C57BL/6 の野生型および *Mutyh* 欠損型の雄性マウスを用いて鉄ニトリロ三酢酸 (Fe-NTA) 誘発腎発がん試験を行った結果、野生型マウス(7.1%)に比べ *Mutyh* 欠損マウス(26.7%)では高頻度な腎細胞癌の発生が観察された。また、Fe-NTA 投与によって、腎臓で悪性リンパ腫を発生する例も見られた。今回の実験で得た腎細胞癌を用いてアレイ CGH 解析を行った結果、広範囲にわたる染色体ヘミ欠失が見られたが、Fe-NTA 誘発ラット腎がんモデルと比べて、そのような変化が起こる頻度は少なくなっていた。プロモーター領域のメチル化解析を行った結果、腎細胞癌では 12 番染色体上にある *Dlk1* においてメチル化が見られた。

本研究に対して、以下の点を議論した。

1. 発がんしにくい系統である C57BL/6 の野生型および *Mutyh* 欠損型の雄性マウスを用いて Fe-NTA 誘発腎がん試験を行った。マウス腹腔内への Fe-NTA 反復投与によって発がんを誘導した結果、*Mutyh* 遺伝子欠損型の群においてより高率な腎細胞癌の発生を認めた。鉄による酸化ストレス発がんの機構の多種動物個体レベルでの比較解析をするために、重要な参照データを提供した。
2. 今回、野生型および *Mutyh* 欠損型の雄性マウスを用いて、Fe-NTA の 1 週間投与による亜急性応答期の解析を行った。8-oxoG と Ki67 抗体を使用して免疫染色した結果から、野生型マウスに比べ *Mutyh* 欠損マウスでは尿細管細胞の傷害および再生が、より顕著であった。DNA 酸化修飾に対する *Mutyh* 遺伝子による防御機能が、腎細胞癌の発生において重要な役割を持つことが組織学的に示唆された。
3. マウス腎細胞癌を用いたアレイ CGH 解析の結果では、4 番染色体 (*p16/p15* 腫瘍抑制遺伝子含む) と 12 番染色体で、4 つの検体すべてにおいて広範囲のヘミ欠失が見られた。ラット腎細胞癌のゲノムにおいても、それらの染色体に対応する部位では同様の染色体変化が高頻度に見られていた。しかし、*p16/p15* 座位のメチル化はマウスでは見られなかった。Fe-NTA によるラットの腎腫瘍においては、染色体レベルのコピー数変化がゲノム全体にわたって多数生じるが、今回マウスを用いた実験では限られた染色体でしか見られなかった。現在、遺伝子組み換え動物実験では主にマウスが使われている。ヒトの発がんにおけるゲノム変化の様相は、ラットで作成される腫瘍とより近いと、遺伝子組み換えラットを用いた実験の有用性が示唆された。

本研究は鉄による酸化ストレス発がんの機構を解明するための重要な知見を提供した。

以上の理由により、本研究は博士(医学)の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

## 試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※甲第	号	氏名	李光华
試験担当者	主査	高橋雅策	藤本豊	門弘建
	指導教授	豊岡伸哉		
<p>試験の結果の要旨)</p> <p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <i>Mutyh</i> 遺伝子欠損マウスにおける Fe-NTA 投与による腎癌及び悪性リンパ腫について</li> <li>2. 亜急性動物実験で、<i>Mutyh</i> 遺伝子がノックアウトされた場合、腎臓組織に強く傷害を与える機序について</li> <li>3. Fe-NTA 投与による腎癌および悪性リンパ腫のゲノムにおける遺伝子変異、染色体変化、メチル化の解析について</li> </ol> <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、生体反応病理学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				