総 説

癌細胞の染色体と遺伝情報制御

榊 鉄 也

大阪歯科大学 生化学教室*

はじめに

遺伝情報の伝達は、染色体を構成している DNA にその根源がある。すなわち、DNA は m-RNA や t-RNA にその情報を伝え、それに対応して各種のアミノ酸がピックアップされ、蛋白やポリペプチドが形成される。したがって、細胞の正常な機能は、完全なゲノムの構成によって支配されているといえる。染色体に欠失が起こったり、重複が起こったりすると、遺伝機構のバランスが乱れて変異の原因となり、また染色体の構造的な異常も細胞に遺伝的な変化をもたらす。すなわち、遺伝子突然変異 (gene mutation) や染色体突然変異 (chromosomal mutation) がみられるようになる。遺伝子突然変異は点突然変異 (point mutation) と微細な部分異常とからなり、点突然変異は DNA の特定位置における DNA 構成塩基の一つが変化することによって起こる。また、染色体突然変異は染色体異常 (chromosome aberration) とも呼ばれ、染色体の転座 (translocation)、逆位 (inversion)、欠失 (deletion) および重複 (duplication) などによって、遺伝子の組み合わせ、並び順、および遺伝子の数量などに遺伝的变化をきたしたものである。これらの染色体の遺伝的变化によって起こる結果のすべてが、生命現象にみられる変異性をもたらすと考えられている。そしてこれらのうちのあるものは、酵素蛋白に機能上の変化をもたらす、あるいはまた構造上の変

化をもたらす。そしてその変異酵素、あるいは蛋白質の生理化学的な機能の変化が、そのあとに起こる環境による淘汰をうけることによって、生物の進化がもたらせられたと考えることができる。

一方、癌は正常な機能を営むことのできない変異細胞が増殖した結果生じたものと考えられ、その変化は永続的であり、その性状は細胞子孫に伝えられる。この意味において、染色体は細胞の癌化に対して重要な役割を果たしていると考えられる。

染色体と癌の増殖との関係は、Hansemann (1890)¹⁾ がヒトの癌細胞にみられる分裂異常の観察から、異常分裂が悪性化の原因になるかも知れないと述べて以来、注目されるようになった。1940年代までのこの方面の研究は、おもにヒトやネズミの固型癌が研究材料として使用され、とくに注目されていたことは、癌細胞における分裂異常性の現象である。その後、ラットやマウスの腹水癌が研究材料として登場することによって、この方面の研究は著しく発展した。1949年、Yoshida²⁾ は吉田肉腫の染色体研究から、分裂細胞を異常型 (異常分裂細胞)、分裂型 (比較的正常に分裂している細胞)、および崩壊型 (崩壊像を示した細胞) の3型に区分し、それらのうち比較的正常に分裂増殖している、いわゆる分裂型細胞が癌の増殖に重要な役割を演じていることを明らかにした。この所見は、癌細胞の異常分裂が悪性化の原因と考えた従来の研究とは、全く異なった立場を

Chromosomal patterns and genetic repression mechanisms in tumor cells

Tetsuya SAKAKI (Department of Biochemistry, Osaka Dental University, Osaka)

* 大阪市東区京橋 1-47 (〒540)

Jap. J. oral Biol., 15: 1-13, 1973.

とったものである。ついで Makino (1952)³⁾ は、癌の分裂型細胞の染色体構成は、宿主の正常細胞の染色体構成とは異なり、その性状は移植の各世代を通じて子孫細胞に伝えられるという、いわゆる種族細胞説の概念を導いた。これと同じ概念は、Levan et al. (1952)⁴⁾ によっても提唱され、その後多くの研究者によっても確認され、癌の細胞遺伝学上の重要な基盤となった。しかし、癌の種族細胞の示す染色体構成は、癌の示す一つの表現型であって、これが第一義的に発癌の原因であると考えすることは、現在の染色体の知識からでは少なからず困難であろう。発癌機構の解明には、遺伝因子発現部位の時間的変異にもとづく細胞機能制御の問題がさらに重要であり、この観点から細胞個々の染色体を分離し、その単一染色体の機能を生物学的に追求し、さらに生化学的レベルでこれを検討することに癌染色体研究の一つの課題がある。

1. 移植癌の染色体

a. 染色体数と核型

多くの移植性動物癌における染色体の数と形は、正常な固有細胞のそれとは異なっている。それぞれの癌の染色体数分布には、つねに幅広い変異がみられ、かつその変異分布には必ず mode があって、それがそれぞれの癌における種族細胞の染色体数となっている。たとえば、1962年以来継代されている多和肉腫の mode 染色体数は40で、その核型は正常体細胞のそれと異なっている⁵⁾。すなわち、ラットの固有細胞は20個の telocentrics, 8個の submetacentrics および 14個の metacentrics から構成されているのに、多和肉腫の場合には、16個の telocentrics, 18個の submetacentrics および 6個の metacentrics から構成され、そのうえ、正常体細胞にはみられない大きな submetacentric と metacentric を各1個含んでいる (Fig. 1)。この大きな染色体は、marker 染色体と呼ばれ、染色体数とともにそれぞれの癌に特徴的なものである。また、吉田肉腫 (原型) の染色体数は、多和肉腫と同じ40であるが、その構成は16個の telocentrics と submetacentrics および 8個の metacentrics からなり、marker も2個の

Fig. 1 Modal chromosome pattern of the Tawa sarcoma ($\times 1300$)
Indicated chromosomes are markers.

metacentrics で⁶⁾、多和肉腫とは明瞭な相違を示している。このような移植性癌の核型異常は、ラットの腹水肝癌、マウスの Ehrlich 腹水癌をはじめ多数の動物癌で知られているので、その代表的なものを Table 1 に示した。

b. 移植の経過と染色体の変動

増殖の主体をなす癌細胞の染色体型は、移植の各世代を通じて常に一定不変なものではなく、しばしば原発癌と異なった性状の染色体型をもつ亜系の分岐をみることがあり、また人為的にもこの変化を起こさせることができる。たとえば、前述のように吉田肉腫には2個の大きな metacentrics が marker として存在していたが、累代移植の経過中にさらに1個の submetacentric が marker として現われ、3個の marker 染色体をもつ亜系が確立された⁷⁾。また、最近、吉田肉腫の染色体構成中に、大きな telocentric に satellite 構造をもつものと、小さな submetacentric に長い satellite 構造をもつものがそれぞれ1個ずつ出現しているのが認められた⁸⁾。ところが、このような変異細胞の出現は、それぞれ独立した研究所で維持されている吉田肉腫のほぼ同じ移植世代にみられ、その出現頻度は、佐々木研および遺伝研では非常に高く、東北大抗酸菌研の系統では非常に低かった。また、武田研で維持している系統では、大きな telocentric に satellite 構造の染色体がつき、その突起のうえにさらに小さな染色体が結合した形をとっていた。このような異常染色体は、

Table 1 Modal chromosome number of transplantable tumors

Tumor line	Animal	Chromosome number (marker)
Normal somatic cells	rat	42
Normal somatic cells	mouse	40
Yoshida sarcoma	rat	40 (2M)
Yoshida sarcoma (subline)	rat	40 (2M+1 SM)
Yoshida sarcoma (subline)	rat	40 (L S, S S)
Walker carcinosarcoma	rat	60 (1M)
Hirosaki sarcoma	rat	37-38 (4M)
Ascites hepatoma 7974	rat	48 (1M)
Hepatoma H-2C	rat	43 (2M)
Hepatoma H-2a	rat	34 (1M)
Tawa sarcoma	rat	40 (1M+1 SM)
Ehrlich hypotetraploid	mouse	75 (2M)
Ehrlich hyperdiploid	mouse	44 (1M)

M : metacentric chromosome

L S : LS-chromosome

SM : submetacentric chromosome

S S : SS-chromosome

少なくとも従来の吉田肉腫にはみられなかったもので、ごく最近日本国内で維持されている吉田肉腫に、ほぼ同時に起こった現象と思われる。このような異常が、何を意味しているのか、またどんな原因で起こったのかは明らかでないが、癌細胞の染色体変異を研究するうえに興味ある所見といえよう。

このような染色体の変異現象はマウスの癌でもしばしば観察される。発生初期から移植第90代までの MY 肉腫の染色体数は2倍性(約40個)で、SMA 系、DM 系およびその亜系には高率に移植されたが、C₃H, SWR, A, CBA および DAB 系などには全く移植が不可能であった。ところが、移植第94代目からすべての系統のマウスに移植が可能となり、移植性の変化とともに癌細胞の染色体型も二倍性から四倍性に転換していた^{7,9,10)}。マウスの癌細胞が二倍性から四倍性に变化して安定した腫瘍系になることは、多くの癌で報告されている。たとえば、アメリカ癌研で誘発されたマウスプラズマ細胞腫瘍は、1例を除いて、そのほかはすべて低または高四倍性であった⁷⁾。また、原発のマウスプラズマ細胞腫瘍でも大多数が低または高四倍性で、二倍性のものも移植の経過とともにすみやかに四倍性に变化した⁷⁾。興味あることは、二倍性が四倍性に变化しても、安定した系統とし

て確立される四倍性細胞は、かならず低四倍性に染色体の変動を起こした場合だけである。高四倍性に变化した細胞は、移植の経過とともに退化し、その細胞集団に含まれる二倍性の癌細胞が再び増殖して、二倍性の癌になる。この細胞がある期間増殖すると二倍性の細胞は四倍性の細胞に再び淘汰されて、四倍性の癌を生じ、低四倍性への染色体型の変動が起こらないかぎり、この変動を繰り返す。このような現象がどうして起こるかは明らかでないが、少なくともこのような核型の変動は、より旺盛な増殖能をもつ細胞の選択を可能にし、ひいてはそれが移植癌を長期間維持するうえに、重要な役割を演じているといえるであろう。

c. 染色体変動に伴う生化学的变化と遺伝子発現

Ehrlich 腹水癌の四倍性と二倍性細胞の核DNA量は、ほぼ2 : 1で、それらの transaminase 活性¹¹⁾や、aminopeptidase 活性¹²⁾は細胞のDNA量に対応して変動する。また、この癌の呼吸酵素は、二倍性、三倍性および四倍性細胞の染色体数の倍加に対応して変化したり¹³⁾、培養肝細胞の alkaline phosphatase 活性が、染色体数の増加に対応して上昇する¹⁴⁾ことも知られている。そのうえ、吉田肉腫や Ehrlich 腹水癌の二倍性と四倍性における全蛋白合成能も、染色体数およびDNA

量に応じて変動するという¹⁵⁾。しかし、マウスプラズマ細胞腫瘍 MSPC-1 の全蛋白合成能は染色体数の変動とほぼ平衡的な動きを示すが、 γ -globulin 量は染色体数に比例して上昇しない⁷⁾。すなわち、染色体数が倍加しても γ -globulin 合成能には変動がみられない。これは、染色体数が倍加して γ -globulin 合成に関与する遺伝子量がふえても、対立遺伝子の働きを抑制する作用が働いているためと考えられている。対立遺伝子の働きを抑制する現象は、Lyon (1961¹⁶⁾, 1962¹⁷⁾ がヒトやマウスの X 染色体の観察から、XX 染色体をもつ雌性の体細胞では、一方の染色体だけが活性を示し、他の X 染色体は不活性化されるという所見からも明白である。このように癌細胞では、染色体数が倍加すると、それに対応して酵素活性や蛋白合成能が変化する。しかし、癌細胞における遺伝子発現の様相は、正常体細胞のそれと比較して、染色体数の変動などに対応して量的な差異はあるが、本質的には同じであると考えられる。

2. 原発癌および発癌過程の染色体

原発ないしは発癌過程における染色体研究は、移植癌についての研究よりはるかに少ない。移植癌の染色体構成は移植の経過とともに変化をきたして、原発癌のそれと比べて著しく異なったものになったりする可能性がある。その意味において、発生初期あるいは発癌過程における染色体を研究する必要がある。そのうえ、潜伏期に続く前癌状態と思われる時期を、良性から悪性、あるいは正常から悪性への境界域と考えると、この時期における細胞の染色体研究は、発癌過程の解明に一つの重要な手がかりを与えることになる。

a. 発癌物質による初期肝癌の染色体

Stich (1960)¹⁸⁾ は、ラットの肝細胞を対象に異常分裂の出現頻度を検討したところ、正常幼若ラットの肝では、わずか 1.1% であるのに、DAB を与えて 4～6 カ月経過すると、それが 35～40% に上昇し、部分的切除を行なった再生肝では 2% であるのに、DAB を与えた 14 日目の再生肝では、それが 14% に上昇していた。また、これに関連して広範囲な実験を行なった Glass (1960)¹⁹⁾ は、肝における異常分裂の出現頻度は、投与した

アゾ色素の量に比例し、DAB 投与量の増加とともに二倍性細胞の出現頻度は減少し、逆に異数性が著明に増加することを見だし、発癌初期の染色体異常に注目した。さらに Stich (1960)¹⁸⁾ は、これら肝細胞の DNA 量を測定し、正常再生肝では 2C, 8C および 16C など、正しい倍数性細胞が多いのに、アゾ色素を投与した前癌細胞では、DNA 量の値が広く分散していることを見だし、前癌状態における染色体の異数性と、それに伴う DNA 量の分散にはなんらかの調節機構のあることを示唆した。したがって、肝癌発生初期の細胞では、アゾ色素投与による異数性が著明にあらわれ、これらの細胞間で選択淘汰が働いて、最も強い増殖能をもつ細胞が生きのこり、悪性化の主体をなしていくと考えられる。

b. ヒトの前癌状態の染色体

Makino et al. (1959)²⁰⁾ によると、ヒトの前癌と考えられる Bowen 氏病では、染色体数が 54 から 74 の間で変異を示し、そのうち約 36% は 56～59 の染色体数を示したという。また、ヒトの妊娠絨毛上皮に由来するといわれている胞状奇胎、母体の組織に浸潤する破壊性胞状奇胎、さらに癌として認められている絨毛上皮腫の染色体構成を調べた結果、妊娠絨毛上皮では正常細胞と同じ構成であるのに、胞状奇胎になると四倍性細胞が出現し、さらに破壊性胞状奇胎になると異数性が著明になり、絨毛上皮腫ではほとんどの細胞が異数性を示すことを観察した²¹⁾。すなわち、一連の癌化の過程にあると考えられていたこれらの組織の関連性を、核学的に明瞭にするとともに、生体内でも二倍性→四倍性→異数性のみられることを指摘し、異数性を示す細胞の増加と組織の悪性化には密接な関係のあることを示唆した。また、正常絨毛細胞の核 DNA 量は二倍性 (2C) の範囲にあるけれども、絨毛上皮腫の前段階である胞状奇胎では、DNA 量は著しく増加し、幅の広い変動を伴ってピークをもつ傾向に乏しいことも指摘されている²²⁾。Leuchtenberger et al. (1960)²³⁾ も、ヒトの前癌と考えられる senile keratosis の観察から、前癌組織を形成する細胞では異数性にとむ染色体数分布と、DNA 量の増加および幅広い分布がみられるという。したがって、ヒトの前癌状

Fig. 2 Karyotype from bone marrow of a female patient with chronic myeloid leukemia
The Ph¹ chromosome is indicated by an arrow.

態における細胞の染色体変異は、実験動物における前癌状態の変異と同じ所見を呈しているといえる。

c. ヒトの慢性骨髄性白血病

ヒトの慢性骨髄性白血病細胞には、特有の染色体変化のあることが、Nowell & Hungerford (1960²⁴⁾, 1961²⁵⁾によって見いだされ、その後、多くの研究者によってその存在が確認されている²⁶⁻²⁸⁾。この慢性骨髄性白血病に認められる特有な染色体異常は、G 21染色体の長腕の部分的欠失によって生じたものといわれ^{25,26)}、発見された場所にちなんで、Philadelphia chromosomeあるいはPh¹染色体と呼ばれている (Fig. 2)。このPh¹染色体はいずれの報告例においてもまったく同一な形態的特徴を示し、慢性骨髄性白血病のほとんどすべての例の細胞にのみ認められ、その他の疾患には全く認められないことから^{28,29)}、Ph¹染色体がこの疾患の発生原因であるか、あるいは発生に密接に関連した変化であることには疑い余地はない。このPh¹染色体は末梢血液培養、骨髓細胞の観察のどちらでも認めることができるが、骨髓細胞の直接観察のほうが、より高頻度に認めることができる。また、末梢血では、PHAを添加しないで培養したほうが高い検出率を示す³⁰⁾。ところが、Ph¹染色体に関する生化学的な研究はほとんどない。慢性骨髄性白血病の場合に

は、好中球の alkaline phosphatase 活性が低下することが報告され、その原因は、活性をコントロールする遺伝子が G 21の長腕部分に存在し、その長腕が欠失することによって活性が低下すると説明されている^{31,32)}。しかし、Ph¹陽性例で活性の高いもの、Ph¹陰性例で活性の低いものなどもみられて、この説を支持する満足な証拠はまだ得られていない³³⁾。

d. ラットの DMBA 白血病

DMBA 処理によって発生したラット白血病の研究から、白血病の発生および病態と染色体異常との関係が明らかにされてきた^{34,35)}。すなわち、DMBA 処理によって生じたラット白血病40例のうち、16例は C 1に、5例は A 6にそれぞれトリソミーをもつ染色体異常が認められた。とくに興味ある点は、C 1トリソミーをもつ症例の大部分に白血病細胞の赤芽球成熟像がみられたことである。このような白血病細胞の染色体異常が、特定の染色体にみられることから、C 1と A 6染色体は核小体形成に関係しており、DMBA が核小体になんらかの影響を与え、それが不分離を誘発してトリソミックになったのではないかと考えられた^{34,35)}。このような染色体異常の観察は、癌発生機序の解明に重要な資料となる。

e. 埋入体による誘発肉腫の染色体

各種の合成樹脂や金属などをラットやマウスの

体内に埋入すると、埋入体に関連して肉腫が形成されることは、Turner (1941)³⁶⁾の報告以来、多くの研究者によって報告されている³⁷⁻⁴⁵⁾。われわれのところでも、アクリル樹脂^{46,47)}、シリコン⁴⁸⁾、金属⁴⁹⁾などをラットの皮下に埋入して肉腫の形成を確認し、その癌原性因子の本態についての検討を行なっている。これらの誘発肉腫は、化学的発癌物質投与によって得られたものよりも、発癌過程の観察が容易であり、部分的採取も簡単で、かつ化学的因子の影響を考慮する必要がないなどの利点がある。このような誘発肉腫の染色体については、教室の鶴飼 (1972)⁵⁰⁾、小山内 (1972)⁵¹⁾たちの業績が興味深い。すなわち、埋入体を埋入してから 244 日までの埋入体周囲の結合織被膜は、ラット固有細胞と同じ二倍性の染色体をもつ細胞から構成されていた。ところが、300~344 日経過した結合織被膜の多くは、組織所見では悪性の傾向が全く認められないのに、染色体の観察では染色体数は 32 から 80 の間で幅広い変異を示し (Fig. 3)、それに伴ってラット固有細胞の出現頻度が低下する。さらに、368 日以上経過して腫瘍として触知できるようになったものでは、組織学的にも、生物学的にも肉腫であることが確認されるようになり、それぞれの肉腫における増殖の主体をなす細胞群の染色体構成は、個体により特有の染色体数と核型を示すようになった (Figs. 4, 5)。また、被膜結合織や誘発肉腫を構成する細胞の核 DNA 量は、それぞれの細胞が示す染色体の倍数性あるいは染色体数とよく一致していた⁵⁰⁾ (Fig. 6)。このように、埋入体埋入後 300~344 日経過した結合織被膜にみられる染色体の異数性は、化学的物質の投与によって誘導される発癌までの過程の所見^{18,19)}や、ヒトの前癌状態と考えられる破壊性胎状奇胎^{21,22)}や、senile keratosis²³⁾などの染色体変異の所見と同じである。したがって、動物の種類や刺激の種類が異なっても、前癌状態における染色体レベルでの変異は、表現型では共通した形で進行するものと考えられる。

f. 培養細胞の癌化と染色体

Levan & Bieseke (1958)⁵²⁾は、マウス胎児皮膚組織の累代培養実験から、盛んに増殖する細胞の

Fig. 3 Distribution of chromosome number in tissue capsules surrounding the implant

染色体が、二倍性から四倍性に、さらにこれが低四倍性に变化して出現する場合には、マウスへの移植でも癌の形成が著明であることを見だし、細胞の異数性と癌化には密接な関係のあることを示唆した。この研究結果は、Hsu et al. (1961)⁵³⁾によっても確認され、癌化の過程でいろいろな染色体異常が生じ、その中で最も増殖能の旺盛な細胞が生き残るという上述の生体内における推論は、培養細胞の癌化の研究から一層これを裏づけることができる。

3. 癌細胞の遺伝情報制御

癌の本質は自律的増殖にあると考えられ、その現象は接触抑制 (contact inhibition) の喪失という形であらわれる。その原因には、細胞膜の変化、細胞膜から核への、あるいは核内での遺伝情報伝達の障害、あるいは DNA 複製調節機構での異常などが考えられよう。しかし、この面での研究は動物細胞の体制および構造の複雑さから、バ

Fig. 4 Karyotype of the modal metaphase plate showing 37 chromosomes in 372-day-old induced tumor

Fig. 5 Karyotype of the modal metaphase plate showing 39 chromosomes in 368-day-old induced tumor

クテリアの知識や方法論をそのまま適用することが困難で、動物細胞の増殖そのものの分子的機構はまだ初歩的な事実しかわかっていない。わずかにウイルス発癌の機構をめぐって、DNA ウイルスゲノムの癌細胞内への組み込みと、そのゲノムの活発な転写が証明され^{54,55)}、RNA ウイルスゲノムの DNA への reverse transcriptase が見いだされて、宿主細胞内への組み込みの基礎が得られたことなどが、分子レベルでの研究に指針を与えているにすぎない。

a. 動物細胞の遺伝情報伝達機構

ここで取り扱う情報とは、蛋白質の一次構造、

つまり蛋白質を構成するアミノ酸の数と配列を決める因子のことである。まず、動物細胞の遺伝情報はその大部分が核の中に貯えられている。最近、固有の遺伝情報をもつ DNA がミトコンドリアの中にも含まれていることが明らかになったが、これは酸化的リン酸化という重要な役割を果しつつ、細胞に共生 (synboisis) しているものとみなすことができる。

動物細胞がそれぞれ独特の形質を発現し、機能を発揮するのは、遺伝情報が選択的に発現するなんらかの機構が働いているためである。すなわち、複雑なアミノ酸の配列順序をまちがいに再

Fig. 6 Distribution of DNA content in induced tumors
2C : diploid, 3C : triploid, 4C : tetraploid values.
Mean amount of DNA of lymphocytes in the rat is shown by 2C and distribution range of the lymphocytic DNA per nucleus is indicated dotted lines.

現するための鋳型である DNA のうえに、RNA-polymerase の働きによって code が裏返しに写しとられた RNA が合成され (m-RNA)、これが細胞質に運ばれてリボゾームと結合して蛋白質合成の場であるポリボゾームを形成し、ここで蛋白質が合成される。この DNA→RNA→蛋白質という情報の移行は、高等動物細胞でもバクテリアのそれと変るところはない。この DNA の上に RNA が合成される過程が転写 (transcription) と呼ばれるもので、RNA 鋳型の上に蛋白質が合成される過程は翻訳 (translation) と呼ばれている。これらの遺伝情報伝達過程の解析は、ほとんど大腸菌や枯草菌などのバクテリアの系を用いて行なわれているが、動物細胞の場合にも、同様な過程が存在することはほぼ確実である。これは情報高分子が同じであること、リボゾーム、転移 RNA などの構造もよく類似していること、また無細胞蛋白合成系でも、動物細胞の遺伝 code はバクテリアやファージのそれと同じであることなどによっても容易に肯定されるであろう。

これらの過程がどのように制御されているかを検討する場合、遺伝情報の発現に関しては、複

Fig. 7 Synthesis of enzyme E_1 , genetically determined by the structural gene SG_1 , is regulated by the regulator gene RG_1 . Synthesis of enzyme E_2 , genetically determined by the structural gene SG_2 is regulated by the regulator gene RG_2 . The product P_1 of the reaction catalyzed by enzyme E_1 acts as corepressor in the regulation system of enzyme E_2 . The product P_2 of the reaction catalyzed by enzyme E_2 acts as corepressor in the regulation system of enzyme E_1 . (by MONOD, J. et al. 1961)

製、転写および翻訳の三段階における制御機構を考慮する必要がある。まず複製 (replication) は、DNA 複製段階におけるもので、これは染色体に沿ったいくつかの点で同時に開始されると考えられ、ゲノムのある部分の増幅または消失が行なわれる可能性を意味する。これは、イモリやカエルなどの両棲類の卵細胞の中で、r-RNA を code する DNA のコピーが、数百倍にも増加することを見いだした Brown & Dawid (1968)⁵⁷⁾の研究で、実験的に証明されている。また、ショウジョウバエの唾液腺染色体においても、一部の DNA が選択的に合成されることが、いわゆる DNA-puff として認められている⁵⁸⁾。しかし、この型の制御は、ほかの一般動物の体細胞ではまだ見いだされていない。

転写の段階における調節は、大腸菌の β -galactosidase の誘導現象の解析から導かれた Jacob-Monod の Operon 説⁵⁹⁾によって代表される。これによれば、動物細胞における酵素誘導や抑制を整然と説明できるし、そのうえ細胞の分化現象も説明できる。たとえば、細胞が、ある時期には酵素 E_1 を合成しているが、次の時期にはその合成

を中止して新たな酵素 E_2 を合成するようになる場合、すなわち代謝パターンの変換は Fig. 7 のように説明しうる⁶⁰⁾。まず、酵素 E_1 によって作られる生産物 P_1 が別の酵素 E_2 を作る Operon の co-repressor で、同時に酵素 E_2 によって作られる生産物 P_2 が酵素 E_1 を作る Operon の co-repressor であると仮定する。すると、互いに他を排除する型の制御回路ができあがる。いま細胞がある時期に酵素 E_1 を作っているとすると、このとき、構造遺伝子 SG_1 上では活発に E_1 の m-RNA が作られ、そして触媒として作用する酵素 E_1 によって P_1 が産生される。するとこれは、調節遺伝子 RG_2 で作られている aporepressor と結合して有効な repressor を形成し、作動遺伝子 O_2 に働いて E_2 の構造遺伝子 SG_2 の転写を停止させてしまう。そのためこの系では、 E_1 の生産が続いている間は E_2 の生産はみられない。また、基質 S_1 がなくなって、酵素 E_1 の生産が一時的にでも停止したりすると、 P_1 は減少し、 RG_2 で作られている aporepressor がいないために、作動遺伝子 O_2 の抑制が十分に行なわれず、 SG_2 の転写が始まるとともに酵素 E_2 の生産も始まる。そしてこれは基質 S_2 が存在する間、 P_2 を作っている。すると、再び最初の仮定にしたがって、この P_2 が調節遺伝子 RG_1 の aporepressor に働きかけ、これを活性化して作動遺伝子 O_1 に働き、今度は E_1 の m-RNA の生産が停止してしまう。 E_1 が欠乏すると、 P_1 の産生は停止するので、 O_2 を抑制する因子がなくなり、 E_2 の生産が継続される。すなわち、この細胞は、酵素 E_1 を生産する状態から、酵素 E_2 を生産する状態へ分化したことになる。このような代謝パターンの変化は、酵素や基質が十分に保存されていれば、細胞分裂などによって消失することはないので、発癌をこのような過程における細胞レベルの変化として説明することも可能である。事実、上述のような系において、発癌物質が repressor と結合してそれを不活性化し、それが新しい代謝回路を活性化して細胞を癌化するのであろうという仮説が、Pitol & Heidelberger (1963)⁶¹⁾によって提唱され、これは遺伝子突然変異によらない発癌仮説として重要視されている。

次の翻訳レベルにおける調節は、いろいろな段階のものが考えられるが、これといって確立されたものは見当たらない。最近、RNA フェージを用いての蛋白合成系の研究が盛んであるが、これは天然のメッセンジャーであり、それによる蛋白合成は転写を含まない翻訳を直接解析できるという利点がある。

このような三段階における調節は、バクテリアでも高等動物でも考えられる形式であるが、高等動物の場合には、さらに輸送のレベルにおける制御機構を考えなければならない。動物細胞はバクテリアと異なって、その遺伝物質が、蛋白合成の場である細胞質とは明確に隔てられた特殊な核構造の中にあるため、m-RNA は転写の場からなんらかの形で翻訳の場まで運ばなければならない。ところが、RNA のかなりの部分はこの輸送のレベルで核内分解をうけ、ごく少部分しか細胞質のほうへ出てこないことが知られている⁶²⁾。これに関連して Samarina et al. (1968)⁶³⁾は、核内で転写された RNA は Informofer という蛋白粒子に結びついて運ばれ、核膜のところで適当な大きさに切断されて、一部は分解され、残ったものだけが m-RNA として細胞質へ出て行くという興味ある仮説を提唱した。これによれば、RNA の核内での分解という事実も、核の rapidly-labeled RNA が40~80 S という大きな分子であるのに、ポリゾームに結合した m-RNA はほぼ30 S 前後であるという事実も、十分に説明される。

しかし、輸送のレベルで消滅してしまうような RNA が、どうして転写のレベルで不必要に解読されるのかという理由は、いまのところ未解決である。いずれにしても、輸送レベルにおける制御は、有核細胞に特有の制御形式の一つとして今後の研究が期待される。

b. 癌細胞における遺伝情報制御

正常細胞における細胞分裂の制御機構が明確に解明されていないので、癌の本態が自律性増殖にあるからといって、それがどのような調節異常によって誘発されたかを追求することはなかなか困難である。しかし、分子生物学の進歩によって、最近いくつかの情報高分子の癌特異性が注目されるようになってきた。

癌組織と正常組織の間における DNA レベルの本質的な差異は、いまのところ見いだされていない。ところが RNA は、情報発現のメッセージとして変化にとみ、種類も多く、それらの役割も明確なものもあるので、癌特異性として注目されているものもある。まずその一つとして、情報解読の主役である t-RNA が正常細胞と癌細胞では異なっているという報告がある。すなわち、Holland et al. (1967)⁶⁴⁾は、 ^3H と ^{14}C でラベルしたアミノ酸と t-RNA を結合させ、メチル化アルブミンカラムで分画して得た溶出曲線から、差を見いだす方法を考案し、各種組織の t-RNA を比較した。その結果、癌細胞から得た phenylalanine, serine および tyrosine の t-RNA 溶出曲線は、正常細胞のそれとは異なったパターンを示した。とくに tyrosine t-RNA は、ニワトリの組織と他のいろいろな動物の組織では全く異なったピークを示し、両者の線維芽細胞はそれらの中間に位置するピークをもつが、Ehrlich 腹水癌、あるいはアデノウイルスで transform したハムスターの細胞、および HeLa 細胞などの癌細胞における t-RNA は、いずれも正常動物細胞と線維芽細胞の両画分にまたがって、二つのピークを示した。このような変化が、はたして癌化に関係した一次的な結果であるのか、あるいは移植などによる二次的な影響によるものであるかは今後の問題である。また、Tsutsui et al. (1966)⁶⁵⁾によると、ヒトを含むいろいろな癌細胞の t-RNA methylase 活性は、正常細胞のその 2~10 倍高く、そのうえ、メチル化された塩基の比も異なっているという。この場合、一つの t-RNA のメチル化の状態が変化するのか、あるいは t-RNA の population が変わって、本来メチル基の多いものが増加するのかわからないが、t-RNA のメチル化塩基がアミノ酸受容能や code 解読能などに、それ自身の二次、三次構造の変化を介して関係することは当然考えられよう。

次に、m-RNA については、何種類かの肝癌と肝細胞における rapidly-labeled 核 RNA を、DNA-RNA hybridization、およびそれらの競合実験から比較した Drews et al. (1968)⁶⁶⁾の報告がある。それによれば、肝癌細胞核で作られる

RNA は、肝細胞核で作られる RNA より種類が少なく、細胞質 RNA は肝細胞より肝癌細胞のほうが多くの種類の RNA を含んでいる。そのうえ、肝癌細胞では核 RNA のほとんどすべてが、細胞質中に見いだされているのに、肝細胞では核 RNA の種類の約 20~30% しか細胞質中に出現しないという。これは、核膜やクロマチンの構造、あるいは Informofer の変化などによる輸送レベルでの障害が、肝癌細胞においてひき起こされていることを示唆しているが、その詳細な解析は今後の研究に待たねばならない。

また、r-RNA については、Muramatsu & Busch (1964)⁶⁷⁾によって見いだされた r-RNA の合成に関与する核小体の癌に特異的な変化が興味深い。すなわち、 ^{32}P で核小体 RNA (45S RNA) をラベルし、そのアルカリ水解物の放射能から塩基組成を調べたところ、正常肝組織に比べて癌細胞では adenine 含量が低く、cytosine 含量が高いという新知見が示された⁶⁷⁾。その後、肝癌でも、乳癌でも、またウイルスによって transform した細胞でも、これと同じ塩基組成が証明されたり⁶⁸⁾、再生肝では正常肝と同じパターンを示すが⁶⁹⁾、発育の遅い Morris 肝癌では癌型のパターンを示すことが明らかになって⁷⁰⁾、このような特徴は起源としての組織の性状を表わしているものではなく、また、急速な増殖に起因しているものでもないことが立証され、癌に特異的であると同時に癌に共通した一つの形質として注目されるようになった。このような変化を示す分子は、核小体中の r-RNA の第一前駆体である 45S RNA であることはすでに知られているので、その構造についての詳細な研究が現在進展している⁷¹⁻⁷³⁾。リボゾームが蛋白合成の過程に重要な役割を演じていることや、前駆体 RNA の約 50% が r-RNA とはならず、核内で分解してしまう事実から、リボゾーム遺伝子の調節異常と細胞増殖機構の関連性が当然考えられ、この面での今後の解析が期待される。

むすび

染色体異常と癌の発生や増殖との関係は、その直接的な立証の困難さからまだはっきりと解明さ

れていない。自律的増殖という癌の本質に結びつく変化はなんであるかという問題に向かった歩みには、大きな困難があるであろう。しかし、それは、いつかはわれわれが、われわれの手で解決しなければならない問題である。

有益なご助言と、ご校閲を賜った多和敏一教授に感謝いたします。

文 献

- 1) HANSEMAN, D.: Ueber asymmetrische Zelltheilung in Epithelkrebsen und deren biologische Bedeutung. *Virchows Arch. path. Anat.*, **119**: 299, 1890.
- 2) 吉田俊秀: 吉田肉腫における異常核分裂の出現頻度について(腫瘍の核学的研究 予報の2). 遺伝学雑誌 (Suppl.), **II**: 137, 1949.
- 3) MAKINO, S.: A Cytological Study of the Yoshida Sarcoma, an Ascites Tumor of White Rats. *Chromosoma*, **4**: 649, 1952.
- 4) LEVAN, A. and HAUSCHKA, T. S.: Chromosome Numbers of Three Mouse Ascites Tumours. *Hereditas*, **38**: 251, 1952.
- 5) 榊 鉄也: 多和肉腫に関する研究 (3) 多和肉腫細胞の染色体構成にみられる核学的固有性について. 歯科医学, **28**: 107, 1965.
- 6) ISAKA, H., SATOH, H., OOISHI, Y. and IZUMITANI, M.: Chromosomal Features in Yoshida Sarcoma and Its Two Different Deviations, Polyploid and Nitrogen Mustard-Resistant Sublines. *Gann*, **55**: 163, 1964.
- 7) YOSIDA, T. H.: Relationship between Chromosomal Alteration and Development of Tumors *in vivo* and *in vitro*. *Cancer Cells in Culture* (edited by Katsuta, H.), Univ. Tokyo Press, Tokyo, 1968.
- 8) 松島敏春, 吉田俊秀: 吉田肉腫の新しいマーカー染色体の出現とその性格. 日癌会記事, **28**: 141, 1969.
- 9) YOSIDA, T. H., ISHIHARA, T. and ODASHIRO, T.: Chromosomal Alteration and Development of Tumors. IV. Comparative Idiogram Analysis in Cells of Normal Rat Liver and Rat Ascites Hepatoma No. 7974. *Jap. J. Genet.*, **35**: 35, 1960.
- 10) YOSIDA, T. H.: Chromosomal Alteration and the Development of Tumors, IX. Increase in the Frequency of Polyploid Cells in Metastatic Tumors of the Ehrlich Hyperdiploid Tumor of Mice. *ibid.*, **38**: 342, 1963.
- 11) KIT, S. and GROSS, A. L.: Quantitative Relationships between DNA Content and Glycolysis or Histones of Diploid and Tetraploid Cells. *Biochim. Biophys. Acta*, **36**: 185, 1959.
- 12) PATTERSON, E. K. and PODBER, E.: Amino-peptidase Content as Correlated with Chromosome Constitution in Sublines of the Ehrlich Ascites Tumor. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **63**: 988, 1956.
- 13) TSUKADA, H. and FU, S. C. J.: Correlation between Malignancy and Respiratory Metabolism of the Three Sublines of Ehrlich Ascites Tumor Cells. *Proc. Amer. Ass. Cancer Res.*, **3**: 70, 1959.
- 14) KONIGSBERG, U. R. and NITOWSKY, H. M.: Studies of the Karyotype of Clonal Strains of Chang Liver Differing in Alkaline-Phosphatase Activity. *J. nat. Cancer Inst.*, **29**: 699, 1962.
- 15) MORIWAKI, K.: Inhibitory Effect of Homologous RNA on Protein Synthesis in Cell-Free System. *Ann. Rep. nat. Inst. Genet.*, **18**: 47, 1967.
- 16) LYON, M. F.: Gene Action in the X-Chromosome of the Mouse (*Mus musculus* L.). *Nature*, **190**: 372, 1961.
- 17) LYON, M. F.: Sex Chromatin and Gene Action in the Mammalian X-Chromosome. *Amer. J. Human Genet.*, **14**: 135, 1962.
- 18) STICH, H. F.: The DNA Content of Tumor Cells. II. Alterations during the Formation of Hepatomas in Rats. *J. nat. Cancer Res.*, **24**: 1283, 1960.
- 19) GLÄSS, E.: Die chromosomalen Veränderungen in der Rattenleber während der krebsigen Entartung nach Verfütterung von Buttergelb. *Z. Krebsforsch.*, **63**: 293, 1960.
- 20) MAKINO, S., ISHIHARA, T. and TONOMURA, A.: Cytological Studies of Tumors, XXVII. The Chromosomes of Thirty Human Tumors. *ibid.*, **63**: 184, 1959.
- 21) MOKINO, S., SASAKI, M. S. and FUKUSCHIMA, T.: Preliminary Notes on the Chromosomes of Human Chorionic Lesions. *Proc. Jap. Acad.*, **39**: 54, 1963.
- 22) 野嶽幸雄, 田村昭蔵, 山口光哉, 中川欽司, 内山信行, 後 克和: 絨毛性腫瘍の細胞学的認識. 第20回日本組織培養学会研究会録, **22**, 1965.
- 23) LEUCHTENBERGER, C. and LEUCHTENBERGER, R.: *Cell Physiology of Neoplasma*, p. 295, Univ. Texas Press, Texas, 1960.
- 24) NOWELL, P. C. and HUNGERFORD, D. A.: A Minute Chromosome in Human Chronic Granulocytic Leukemia. *Science*, **132**: 1497, 1960.
- 25) NOWELL, P. C. and HUNGERFORD, D. A.: Chromosome in Human Leukemia. II. Chronic Granulocytic Leukemia. *J. nat. Cancer Inst.*, **27**: 1013, 1961.
- 26) BAIKIE, A. G., COURT-BROWN, W. M.,

- BUCKTON, K. E., HARNDEN, D. G., JACOBS, P. A. and TOUGH, I. M.: A Possible Specific Chromosome Abnormality in Human Chronic Myeloid Leukaemia. *Nature*, **188**: 1165, 1960.
- 27) ADAMS, A., FITZGERALD, P. H. and GUNZ, F. W.: A New Chromosome Abnormality in Chronic Granulocytic Leukaemia. *Brit. med. J.*, **ii**: 1474, 1961.
- 28) SANDBERG, A. A., ISHIHARA, T., CROSSWHITE, L. H. and HAUSCHKA, T. S.: Comparison of Chromosome Constitution in Chronic Myelocytic Leukemia and Other Myeloproliferative Disorders. *Blood*, **20**: 393, 1962.
- 29) NOWELL, P. C. and HUNGERFORD, D. A.: Chromosome Studies in Human Leukemia. IV. Myeloproliferative Syndrome and Other Atypical Myeloid Disorders. *J. nat. Cancer Inst.*, **29**: 911, 1962.
- 30) SANDBERG, A. A., KIKUCHI, Y. and CROSSWHITE, L. H.: Mitotic Ability of Leukemic Leukocytes in Chronic Myelocytic Leukemia. *Cancer Res.*, **24**: 1468, 1964.
- 31) ALTER, A. A., LEE, S. L., POURFAR, M. and DOBKIN, G.: Leukocyte Alkaline Phosphatase in Mongolism; a Possible Chromosome Marker. *J. clin. Invest.*, **41**: 1341, 1962.
- 32) TRUBOWITZ, S., KIRMAN, D. and MASEK, B.: The Leucocyte Alkaline Phosphatase in Mongolism. *Lancet*, **ii**: 486, 1962.
- 33) ROSEN, R. B. and TEPLITZ, R. L.: Chronic Granulocytic Leukemia Complicated by Ulcerative Colitis: Elevated Leukocyte Alkaline Phosphatase and Possible Modifier Gene Deletion. *Blood*, **26**: 148, 1965.
- 34) SUGIYAMA, T., KURITA, Y. and NISHIZUKA, Y.: Chromosome Abnormality in Rat Leukemia Induced by 7,12-Dimethylbenz [a] anthracene. *Science*, **158**: 1058, 1967.
- 35) KURITA, Y., SUGIYAMA, T. and NISHIZUKA, Y.: Cytogenetic Studies on Rat Leukemia Induced by Pulse Doses of 7, 12-Dimethylbenz (α)anthracene. *Cancer Res.*, **28**: 1738, 1968.
- 36) TURNER, F. C.: Sarcomas at Sites of Subcutaneously Implanted Bakelite Disks in Rats. *J. nat. Cancer Inst.*, **2**: 81, 1941.
- 37) OPPENHEIMER, B. S., OPPENHEIMER, E. T. and STOUT, A. P.: Sarcomas Induced in Rodents by Imbedding Various Plastic Films. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **79**: 366, 1952.
- 38) OPPENHEIMER, B. S., OPPENHEIMER, E. T., STOUT, A. P. and DANISHEFSKY, I.: Malignant Tumors Resulting from Embedding Plastics in Rodents. *Science*, **118**: 305, 1953.
- 39) DRUCKREY, H. und SCHMÄHL, D.: Cancergene Wirkung von Polyäthylen-Folin an Ratten. *Z. Naturforsch.*, **9**: 529, 1954.
- 40) OPPENHEIMER, B. S., OPPENHEIMER, E. T., DANISHEFSKY, I., STOUT, A. P. and EIRICH, F. R.: Further Studies of Polymers as Carcinogenic Agents in Animals. *Cancer Res.*, **15**: 333, 1955.
- 41) NOTHDURFT, H.: Experimentelle Sarkome durch reizlos einheilende Fremdkörper. Strahlentherapie, Suppl., **34**: 14, 1956.
- 42) HUEPER, W. C.: Experimental Carcinogenic Studies in Macromolecular Chemicals. 1. Neoplastic Reactions in Rats and Mice after Parenteral Introduction of Polyvinyl Pyrrolidones. *Cancer (Philad.)*, **10**: 8, 1957.
- 43) RUSSELL, F. E., SIMMERS, M. H., HIRST, A. E. and PUDENZ, R. H.: Tumors Associated with Embedded Polymers. *J. nat. Cancer Inst.*, **23**: 305, 1959.
- 44) BEN-HUR, N. and NEUMAN, Z.: Malignant Tumor Formation Following Subcutaneous Injection of Silicone Fluid in White Mice. *Israel med. J.*, **22**: 15, 1963.
- 45) BRYSON, G. and BISCHOFF, F.: Silicate-Induced Neoplasma. *Prog. exp. Tumor Res.*, **9**: 77, 1967.
- 46) 多和敏一, 横田 豊, 山田正三, 榊 鉄也, 岡田惣太郎: Methylmethacrylate 皮下埋入ラットの腫瘍形成に関する病理組織学的知見. 日癌会記事, **24**: 174, 1965.
- 47) 岡田惣太郎: 歯科用 Acrylic Resin (Methylmethacrylate) の発癌性に関する研究. 歯科医学, **29**: 1, 1966.
- 48) 前田純典: Silicone の発癌性に関する実験的研究. 同誌, **34**: 390, 1971.
- 49) 藤田曾登夫: 機械的刺激の発癌性に関する実験的研究. 第2報 金属の発癌性と金属誘発腫瘍の酸性ムコ多糖. 同誌, **34**: 918, 1971.
- 50) 鶴飼大策: 発ガン過程における細胞の染色体構成と核 DNA 量について. 同誌, **35**: 81, 1972.
- 51) 小山内 清: 染色体構成と核 DNA 量からみた腫瘍移植性の消失について. 同誌, **35**: 236, 1972.
- 52) LEVAN, A. and BIESELE, J. J.: Role of Chromosomes in Cancerogenesis, as Studies in Serial Tissue Culture of Mammalian Cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **71**: 1022, 1958.
- 53) HSU, T. C., BILLEN, D. and LEVAN, A.: Mammalian Chromosomes *in vitro*. XV. Patterns of Transformation. *J. nat. Cancer Inst.*, **27**: 515, 1961.
- 54) FUJINAGA, K. and GREEN, M.: The Mechanism of Viral Carcinogenesis by DNA Mammalian Viruses: Viral-Specific RNA in Poly-

- ribosomes of Adenovirus Tumor and Transformed Cells. *Proc. nat. Acad. Sci. USA*, **55** : 1567, 1966.
- 55) ODA, K. and DULBECCO, R. : Regulation of Transcription of the SV40 DNA in Productively Infected and in Transformed Cells. *ibid.*, **60** : 525, 1968.
- 56) NASS, M. M. K. : Mitochondrial DNA : Advances, Problems, and Goals Studies of Size and Structure of Mitochondrial DNA Relate to Biogenesis and Function of This Organelle. *Science*, **165** : 25, 1969.
- 57) BROWN, D. D. and DAWID, I. B. : Specific Gene Amplification in Oocytes Oocyte Nuclei Contain Extrachromosomal Replicas of the Genes for Ribosomal RNA. *ibid.*, **160** : 272, 1968.
- 58) BECKER, H. J. : Die Puffs der Speicheldrüsenchromosomen von *Drosophila Melanogaster* II. Die Auslösung der Puffbildung, ihre Spezifität und ihre Beziehung zur Funktion der Ringdrüse. *Chromosoma*, **13** : 341, 1962.
- 59) JACOB, F. and MONOD, J. : Genetic Regulatory Mechanisms in the Synthesis of Proteins. *J. mol. Biol.*, **3** : 318, 1961.
- 60) MONOD, J. and JACOB, F. : General Conclusions : Teleonomic Mechanisms in Cellular Metabolism, Growth, and Differentiation. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **26** : 389, 1961.
- 61) PITOT, H. C. and HEIDELBERGER, C. : Metabolic Regulatory Circuits and Carcinogenesis. *Cancer Res.*, **23** : 1694, 1963.
- 62) SHEARER, R. W. and MCCARTHY, B. J. : Evidence for Ribonucleic Acid Molecules Restricted to the Cell Nucleus. *Biochem.*, **6** : 283, 1967.
- 63) SAMARINA, O. P., LUKANIDIN, E. M., MOLNAR, J. and GEORGIEV, G. P. : Structural Organization of Nuclear Complexes Containing DNA-Like RNA. *J. mol. Biol.*, **33** : 251, 1968.
- 64) HOLLAND, J. J., TAYLOR, M. W. and BUCK, C. A. : Chromatographic Differences between Tyrosyl Transfer RNA from Different Mammalian Cells. *Proc. nat. Acad. Sci. USA*, **58** : 2437, 1967.
- 65) TSUTSUI, E., SRINIVASAN, P. R. and BOREK, E. : tRNA Methylases in Tumors of Animal and Human Origin. *ibid.*, **56** : 1003, 1966.
- 66) DREWS, J., BRAWERMAN, G. and MORRIS, H. P. : Nucleotide Sequence Homologies in Nuclear and Cytoplasmic Ribonucleic Acid from Rat Liver and Hepatomas. *Europ. J. Biochem.*, **3** : 284, 1968.
- 67) MURAMATSU, M. and BUSCH, H. : Studies on Nucleolar RNA of the Walker 256 Carcinosarcoma and the Liver of the Rat. *Cancer Res.*, **24** : 1028, 1964.
- 68) NAKAMURA, T., RAPP, F. and BUSCH, H. : Common Features of the Base Composition of Rapidly Labeled RNA of Nucleoli in a Number of Experimental Tumors. *ibid.*, **27** : 1084, 1967.
- 69) MURAMATSU, M. and BUSCH, H. : Studies on the Nuclear and Nucleolar Ribonucleic Acid of Regenerating Rat Liver. *J. biol. Chem.*, **240** : 3960, 1965.
- 70) MURAMATSU, M., HIGASHINAKAGAWA, T., ONO, T. and SUGANO, H. : The Nucleolar RNA of Minimal Deviation Hepatomas. *Cancer Res.*, **28** : 1126, 1968.
- 71) HIGASHI, K., MATSUHISA, T., GOTOH, S., NISHINAGA, K. and SAKAMOTO, Y. : Different Gene Expression for Ribosomal RNA of AH-130 Tumor and Embryonic and Adult Rat Liver. *Biochim. Biophys. Acta*, **232** : 352, 1971.
- 72) WIKMAN, J., QUAGLIAROTTI, G., HOWARD, E., CHOI, Y. C. and BUSCH, H. : A Comparison of ³²P Distribution in Oligonucleotides of Ribosomal 28 S RNA from Normal Liver and Novikoff Hepatoma Ascites Cells. *Cancer Res.*, **30** : 2749, 1970.
- 73) WIKMAN, J., HOWARD, E. and BUSCH, H. : ³²P Distribution in Oligonucleotides of 28S Ribosomal RNA of the Novikoff Hepatoma and Normal Rat Liver. *ibid.*, **30** : 773, 1970.