総 説

細胞性がん遺伝子の活性化†

渋谷正史

東京大学医科学研究所

108 東京都港区白金台4-6-1

Key Words: oncogenes, carcinogenesis

1. はじめに

細胞はどのようなメカニズムでがん化するのだろうか。医学・生物学におけるこのきわめて重要な問題に対して、約10年前までは、われわれは直接にはほとんど答えることができなかった。むしろ、間接的な答、すなわち化学発がん物質や放射線などの「細胞外から作用する要因」については既に多くの知識が得られており、かつそれらの研究は今後ますます重要さを増していくことは明らかであるが、それらの要因が細胞内のどの遺伝子や物質に変化を与えるのかについて、これまでははっきりした手がかりが得られていなかったのである。しかし、近年腫瘍ウイルスの研究、特にRNA型腫瘍ウイルスの詳しい解析から、がん化に直接関与するいわゆるがん遺伝子 (oncogene, *onc*) が見出され、がん化のメカニズムについての理解は飛躍的に拡大した深まりつつある。特に重要な点は、RNA型腫瘍ウイルス中に見出されたウイルス性がん遺伝子 (viral oncogene, *v-onc*) が正常細胞中の遺伝子 (プロトオンコジゲン, proto-oncogene, *c-onc*) に由来すること、さらに、これらの *c-onc* 遺伝子は脊椎動物のほとんど全てにわたってよく保存され、一部の *c-onc* は無脊椎動物にまで存在することである。これらの発見により、ウイルスが直接関与しないヒトなどの腫瘍においても細胞内の *c-onc* が何らかの異常を起し、それががん化の過程に重要な役割を担うのではないかと考えられた。事実、その後の広範なスクリーニングにより、腫瘍細胞はさまざまな様式で量的・質的に変化した *c-onc* を持つことが見出されている。このような *c-onc* の変化は一般に“活性化”と呼ばれ、現在では細胞がん化の原因の少なくとも一部を占める重大な変

化であろうと考えられるに至っている。この小論ではがん遺伝子の種類と活性化の多様性について述べたあと、最近特に研究の進んでいる代表的ながん遺伝子について、その活性化の内容をさらに詳しく見ていくことにしたい。

2. がん遺伝子の種類とその活性化の多様性

2.1 がん遺伝子の種類^{1)~3)}

これまでに見出されたがん遺伝子を表1に示す。これらの大部分はRNA型腫瘍ウイルスに見出された *v-onc* で、細胞染色体に由来することが確認されたものである。それ以外に、DNAトランスフェクション法でNIH/3T3細胞のトランスフォーメーション (*in vitro* でのがん化) を指標に初めて見出された *N-ras* や、神経芽細胞腫における遺伝子増幅 (遺伝子数の増加) から見出された *N-myc* などもある。これらはおのおの遺伝子産物の性質から以下のように分類される。

(1) *src* 群 これらはアミノ酸の1次構造上、ラウス肉腫ウイルスの *v-src* 遺伝子産物 p60^{v-src} と高い類似性を示す。また少数の例外を除いてチロシン特異的なタンパク質リン酸化酵素活性、いわゆるチロシンキナーゼ活性をもつことが大きな特徴である。さらに、*src* ファミリーの中の *erbB*, *ros*, *fms* は遺伝子産物が細胞膜を貫いて細胞膜上に局在するのに必要なトランスメンブランダメインを持つ。このことは、これらの遺伝子が増殖因子などに対する細胞膜上の受容体とよく似た構造であることを示唆しているが、事実、*erbB* は上皮細胞増殖因子 EGF の受容体の遺伝子であること、また *fms* は骨髄のマクロファージ系の増殖刺激因子 M-CSF の受容体の遺伝子それ自身が密接に関係した遺伝子であることが最近明らかにされた^{4), 5)}。また、*ros* 遺伝子産物はインスリン受容体と部分的に高い類似性を示す^{6), 7)}。このような点から *src* ファミリーを“受容体型”と呼ぶこともある。

† Activation of Cellular Oncogenes. Masabumi SHIBUYA: Institute of Medical Science, University of Tokyo, 6-1, Shirogane-dai 4-chome, Minato-ku, Tokyo 108.

表 1 がん遺伝子の種類

がん遺伝子	代表的な腫瘍ウイルス	ウイルスによるがんの種類	ヒト染色体上の位置	遺伝子産物の特徴
1. <i>src</i> 群				
<i>src</i>	トリのラウス肉腫ウイルス	肉腫	20	チロシンキナーゼ
<i>fps/fes</i>	トリの藤浪肉腫ウイルスと ネコの GA, ST 肉腫ウイルス	肉腫 肉腫	15	チロシンキナーゼ
<i>yes</i>	トリの Y73 肉腫ウイルス	肉腫	18	チロシンキナーゼ
<i>ros</i>	トリの UR2 肉腫ウイルス	肉腫	6	チロシンキナーゼ
<i>abl</i>	マウスのエーベルソン白血病ウイルス	白血病, 肉腫	9	チロシンキナーゼ
<i>fgr</i>	ネコの GR 肉腫ウイルス	肉腫	1	チロシンキナーゼ
<i>erbB</i>	トリの赤芽球症ウイルス	赤芽球症, 肉腫	7	EGF レセプター
<i>fms</i>	ネコの SM 肉腫ウイルス	肉腫	5	M-CSF レセプター
<i>rel</i>	トリの細網内皮腫症ウイルス	リンパ腫		
<i>mos</i>	マウスのモロニー肉腫ウイルス	肉腫	8	
<i>raf/mil</i>	マウスの 3611 肉腫ウイルスと トリの MH2 ウイルス	肉腫 がん腫, 白血病	3	セリン・スレオニンキナーゼ(?)
<i>neu/erbB-2</i>	—		17	EGF レセプターに類似
2. <i>ras</i> 群				
H- <i>ras</i>	ラットのハーベイ肉腫ウイルス	肉腫	11	GTP結合タンパク
K- <i>ras</i>	ラットのカーستن肉腫ウイルス	肉腫	12	GTP結合タンパク
N- <i>ras</i>	—		1	GTP結合タンパク
3. 核タンパク質群				
<i>myc</i>	トリの骨髓球症ウイルス	白血病, 肉腫	8	DNA結合活性
<i>myb</i>	トリの骨髓芽球症ウイルス	白血病	6	
<i>fos</i>	マウス骨肉腫ウイルス	骨肉腫	14	
<i>ski</i>	トリの SKB 770 ウイルス		1	
4. 増殖因子				
<i>sis</i>	サルの肉腫ウイルス	肉腫	22	PDGF の B サブユニット
5. その他				
<i>ets</i>	トリの E26 ウイルス	白血病	11	
N- <i>myc</i>	—		2	<i>myc</i> に類似
<i>int</i>	—		12	

N-*ras* と *neu* は DNA トランスフェクションにより見出された。*int* はマウス乳がんウイルス DNA が組み込まれる細胞遺伝子

(2) *ras* 群 このグループには3種類の *onc* が含まれ、それらの遺伝子からはたがい非常に類似した分子量 21000 のタンパク質 p21 が合成される。p21 は GTP, GDP などグアニン系ヌクレオチドの結合活性をもつことが大きな特徴で、動物細胞のサイクリック AMP (cAMP) — アデニル酸シクラーゼ系に働く G プロテインとの類似性などから、トランスデューサまたはモジュレーター型 *onc* ともいわれる。

(3) 核タンパク質群 遺伝子産物が核内に局在する *onc* で、*myc* や *myb*, *fos* などがある。トリの系では v-*myc* は骨髓球症を、v-*myb* は骨髓芽球症を引き起すなど腫瘍化する標的細胞に特徴が見られる。

(4) 増殖因子群 現在このグループに属するのはサル肉腫ウイルスから見出された *sis* のみである。*sis* は血小板由来細胞増殖因子 platelet-derived growth fac-

tor (PDGF) の B サブユニットの遺伝子それ自身である。

以上に示したがん遺伝子は大部分が RNA 型腫瘍ウイルスに見出され、しかも全て細胞遺伝子に由来している。このことは、一般にレトロウイルスと呼ばれる RNA 型腫瘍ウイルスがなぜ潜在的発がん性をもつ細胞遺伝子の単離にこれほど深くかかわっているのか、との疑問を生じさせる。この点については本著の主旨からはずれるので細かい点は省略するが、レトロウイルスの特異な生活環、すなわちウイルス RNA → ウイルス DNA → 宿主 DNA への組み込み → ウイルス RNA、というサイクルと密接な関係がある。そして、高頻度の組み換えの結果レトロウイルスが自然界における遺伝子発現ベクターとしての役割を果たした、という点のみを指摘しておく。詳細は Weiss らの総説等を参考にさ

れたい¹¹⁾。

2.2 細胞性がん遺伝子の活性化とその多様性

全ての *c-onc* は脊椎動物に広く保存され、*ras* の場合は最も単純な真核細胞である酵母にまで見出されている⁹⁾。これらの点から、*c-onc* は本来細胞の増殖・分化あるいは発生に重要な機能をもつ遺伝子と考えられる。ヒトの *c-onc* の大部分については染色体上の局在部位も既に決定されている (表1)。

c-onc の活性化については *v-onc* への転換も含めて以下のような機構が明らかにされている。

(1) *onc* を持たないレトロウイルスゲノムとの組み換えによる急性型 RNA 腫瘍ウイルスの形成——全ての *v-onc*

(2) *c-onc* 遺伝子上流へのレトロウイルス転写プロモーターの挿入と、それによる転写の増大 (いわゆる“転写プロモーター挿入モデル”⁹⁾)——*myc*, *erbB*, *myb* など。ただし、*erbB* の場合にはウイルスのタンパクとの融合による構造異常を伴う¹⁰⁾。レトロウイルスに類似した IAP (intracisternal A particle) の挿入によるマウスの *c-mos* 活性化の例もある。

(3) レトロウイルス LTR に存在するエンハンサーによる転写の増大——*myc*, *int*

(4) 染色体転座による構造変化や転写の増大——*myc*¹¹⁾, *abl*¹²⁾, *bcl-1*¹³⁾, *bcl-2*¹⁴⁾

(5) 点突然変異による構造変化——*ras* ファミリー¹⁵⁾,¹⁶⁾

(6) 遺伝子増幅による転写の増大 (構造異常を伴う場合もある)——*myc*¹⁷⁾,¹⁸⁾, *myb*¹⁹⁾, *erbB*²⁰⁾,²¹⁾, *neu/erbB-2*, *N-myc*²²⁾, *ras* ファミリー²³⁾

(7) DNA 型腫瘍ウイルスの遺伝子産物との結合による活性化——*p60^{c-src}* とポリオーマ middle T 抗原との結合によるチロシンキナーゼ活性の増大。

3. *src* ファミリーの活性化

本来発がん性をもたない *c-onc* が活性化する過程について DNA レベルの変化は次第に明らかにされてきているが、さらにそれを *c-onc* 遺伝子産物の酵素活性のレベルで明らかにすることはがん化のメカニズムを理解する上できわめて重要である。*src* ファミリーについては、最近の研究から、①本来抑制された状態のチロシンキナーゼ活性の顕在化、と②遺伝子産物の量的増大、の両者が活性化に重要であることが強く示唆されるに至っており、以下にそれを紹介する。

3.1 *v-src* と *c-src* の差異

ラウス肉腫ウイルスの *v-src* は最初に見出されたがん遺伝子として非常に詳しく研究されており、その解析は文字通りがん遺伝子研究の先導的役割を果たしてきた。*v-src* とその起源の遺伝子である *c-src* の *c-src* については核酸の1次構造が決定され、予想されるアミノ酸の配列も明らかにされている。それによると、どちらも分子量約6万のタンパク *p60^{src}* を合成するが、両者の間には散在的に7個のアミノ酸の置換があり、また *c-src* のカルボキシル末端19アミノ酸は *v-src* では全く異なった12アミノ酸に置き換えられている (図1)²⁴⁾,²⁵⁾。それでは、これらの変異は *v-src* の発がん性に必須の変化であろうか、それとも単なる2次的変異であって、*c-src* の産物それ自身でもウイルスに組み込まれれば発がん性を発揮するのであろうか。この点を明らかにするために Iba らはラウス肉腫ウイルスの *v-src* 領域を部分的にまたは完全に *c-src* に置き換えたウイルスを人工的に合成し、そのトランスフォーミング活性 (培養細胞系による *in vitro* の発がん性) とその遺伝子産物のチロシンキナーゼ活性を調べた (図2)²⁶⁾。その結果、次のような非常に興味深い結果が得られた。

(1) *c-src* 型のタンパク *p60^{c-src}* は大量に発現していてもトランスフォーミング活性がなく、またそのチロシンキナーゼ活性は非常に弱い。

(▲): 1アミノ酸の置換を示す。*src* 全体に7箇所認められる。

■: *v-src* 遺伝子産物のC末端12アミノ酸は *c-src* 遺伝子産物のC末端 (19アミノ酸) とは全く異なる。

図1 *v-src* と *c-src* の差異²⁴⁾,²⁵⁾

	<i>p60^{src}</i> の構造	チロシンキナーゼ活性	トランスフォーメーション活性
<i>v-src</i>	N末 C末	+	+
<i>v-c</i>		+	+
<i>v-v</i>		+	+
<i>c-v</i>		+	+-
<i>c-src</i>		+	+-

これらの *c-*, *v-c*, *c-v* 型 *src* 遺伝子についてはラウス肉腫ウイルスの *v-src* と置き換えたウイルスを合成してその活性を測定した。

図2 *v-src* と *c-src* によるキメラタンパク質の合成とそのトランスフォーミング活性²⁶⁾,²⁷⁾

(2) $p60^{src}$ のカルボキシル側約 $1/4$ あるいはアミノ末端側約 $3/4$ のどちらを $v-src$ 型に置き換えてキメラタンパクを作ってもチロシンキナーゼ活性が回復し、それとともにトランスフォーミング活性が現われる²⁷⁾。

(3) $c-src$ 型の非トランスフォーミングウイルスは継代中に突然変異によって高頻度にトランスフォーミングウイルスを生成する。

さらに、その後の研究により $p60^{src}$ の338番目のアミノ酸のみが $v-src$ 型となるか、カルボキシル末端の $c-src$ 型アミノ酸配列を $v-src$ 型アミノ酸配列に代えるだけでも $p60^{src}$ はチロシンキナーゼ活性とトランスフォーミング活性を発現することが示された(竹家, 伊庭, 私信)。このことはチロシンキナーゼの発現がトランスフォーミング活性の獲得に密接に関連していること、また $p60^{src}$ のいくつかの部位はチロシンキナーゼの抑制的調節に関与しており、わずかのアミノ酸変異によってもその調節が失われることを示している。

一方、 $p60^{src}$ がトランスフォーミング活性を発揮するためには、キナーゼ活性の発現と共に細胞膜への結合が必須であることが明らかにされている。すなわち、 $p60^{src}$ のアミノ末端にはミリスチン酸と呼ばれる脂肪酸が結合して膜結合性に関与しているが、アミノ末端近傍の少数のアミノ酸を変化させるとミリスチン酸結合能が失われるのと完全に平行して $p60^{src}$ の細胞膜結合能とトランスフォーミング活性が同時に失われる²⁸⁾。その際、チロシンキナーゼ活性の低下は特に認められない。さらに、 $p60^{src}$ のトランスフォーミング活性が発揮されるためには、細胞当たり数十コピー以上という強い src mRNA の発現が必要である。以上のことは、一定量以上の $p60^{src}$ が細胞膜の適切な部位に結合し、近傍に存在する標的物質をリン酸化することによりがん化の引き金が引かれることを強く示唆している。しかし、この標的物質が何であるかはまだ同定されていない。

一方、同じ src ファミリーに属する fps についても、類似した活性化の機構が最近報告された(図3)²⁹⁾。すなわち、 $c-fps$ 遺伝子産物 NCP 98はそれ自身ではチロシンキナーゼ活性が弱く、また発現量が増大してもトランスフォーミング活性を示さないが、ウイルスの gag タンパクと融合させることによりキナーゼ活性が顕在化し、同時にトランスフォーミング活性も陽性となる。 $v-fps$ は藤浪肉腫ウイルスゲノム上では $gag-v-fps$ の融合遺伝子を形成しているが、この構造自体が活性化にきわめて重要な意味をもっていたことにな

図3 gag 遺伝子の結合による $c-fps$ の活性化²⁹⁾

図4 フィラデルフィア染色体と $c-abl$ の活性化^{31), 32)}

る³⁰⁾。RNA型腫瘍ウイルスの $v-onc$ には gag と融合しているもののがかなり認められるが、その多くの例では上記のような活性化に関与するのかも知れない。

このように、 $c-src$, $c-fps$ ($c-fps/fes$ とともいう) の活性化についての分子レベルでの理解は進んでいるが、ウイルスの関与しない自然発生腫瘍にこれらの $c-src$ や $c-fps$ が活性化している例はまだ知られていない。一方、次項に述べるようにキナーゼグループの中の $c-abl$ の変化はヒトの白血病と密接な関係がある。

3.2 $c-abl$ の活性化と慢性骨髄性白血病

慢性骨髄性白血病 (CML) ではその約90%の症例にフィラデルフィア染色体 (Ph⁺ 染色体) と呼ばれる異常染色体が出現する。この変化は発病初期から認められ、診断上の価値のみならず CML 発症の原因に密接に関連する変化と考えられているが、その後この Ph⁺ は第9、第22染色体の相互転座であることが染色体分染法により明らかにされた。さらに重要なことは、第

9 染色体の切断部位には *c-onc* の 1 つ *c-abl* が局在し、また第22染色体の切断部位には *bcr* と呼ばれる遺伝子が存在することである¹²⁾。このことから *c-abl* と *bcr* が結合することによって *c-abl* が何らかの活性化を受けるのではないかと考えられたが、最近の研究は見事にその仮説を証明することとなった。そのモデルを図4に示す。

正常組織においては *c-abl* はリンパ球系などで弱く発現しており、6-7 kb の mRNA が合成される。その遺伝子産物 p150 のチロシンキナーゼ活性はエーベルソン白血病ウイルスの *v-abl* の場合と異なり強く抑制されている。一方、Ph¹ 染色体においては (9; 22) 転座により *bcr* の 5' 側領域と *c-abl* のほぼ全域が DNA 組み換えにより融合遺伝子を形成し、異常なスプライシングを経て約 8 kb の mRNA が形成される。重要なことは、その 8 kb mRNA から分子量約21万の融合タンパク p210^{*bcr-abl*} が合成され、さらに本来抑制されていた *c-abl* のチロシンキナーゼ活性が強く発現することになることである^{31), 32)}。この変化は *c-onc* の構造変化とそれに伴う酵素活性の顕在化という点で、先に述べた *c-src* や *c-fps* の活性化の場合と内容的にきわめてよい類似性を示している。

以上の発見によって、CML と *c-abl* との密接な関係が明らかとなってきたが、しかし CML の発がん機構を解明するための重要な手がかりを得た段階であって、その機構の全てが明らかになったわけではない。CML には、①染色体異常としては Ph¹ のみをもち、白血病細胞も成熟顆粒球へ分化の傾向を示す“慢性期”と、②分化能を失った白血病性の骨髓芽球が急速に増殖して患者を死に至らしめる“急性転化（増悪）期”が存在する。これらの2つの段階において p210^{*bcr-abl*} は同じように作用するのであろうか、それともいずれかにのみ重要な役割を演ずるのであろうか。さらに、急性転化とは *onc* からみてどのような変化なのであろうか。

これまでの報告では、慢性期においては *bcr-abl* 8 kb mRNA の発現は弱く、急性期にはそれが強まる傾向のあること、また急性期には Ph¹ のみならず第8染色体の過剰や第17染色体の異常あるいは Ph¹ 染色体の過剰などが加わることが知られている。したがって、急性転化とは *bcr-c-abl* の発現の量的な増大とともに他の *onc* の活性化もさらに加わった状態ではないかと想像される。しかし、2次的に活性化される *c-onc* の種類などはまだ不明であり、その解明は今後の研究に待たねばならない。また、CML の慢性期についても

(9;22)転座のみで発症に必要な十分であるか否かという重大な問題についてまだ解決されてはいない。

4. *ras* 遺伝子の活性化

上に述べたチロシンキナーゼグループとは別に、*ras* グループについても活性化機構に関する解析が進んでおり、以下にその概略を述べる。

4.1 *ras* の点突然変異と、それによる p21^{*ras*} の GTP 分解活性の消失

ヒトの *ras* 遺伝子は K-*ras*, H-*ras*, N-*ras* の3種類が知られており、いずれもアミノ酸188-189個からなる p21 をコードする。それらの p21 の構造をアミノ酸レベルでたがいに比較すると、アミノ末端側約95%程度の相同性があり、きわめてよく保存されている。一方、カルボキシル末端側約1/3ではたがいに著しく異なっているが末端から4番目のシステインは共通で、脂肪酸の結合と p21 の細胞膜への局在に関与している。最近、最も単純な真核生物である酵母にまで *ras* 遺伝子が見出されたが、アミノ末端側約1/3は哺乳動物のそれときわめて高い相同性を示した。この領域のちに述べるヌクレオチド結合・分解に関与する部分である。

1970年代後半に Van der Eb ら、および Weinberg らによって NIH/3T3 細胞を標的細胞とする DNA トランスフェクション法が開発され、腫瘍細胞から抽出した DNA の中に NIH/3T3 細胞をトランスフォームする遺伝子（トランスフォーミング遺伝子）の検出が可能となってきた。この方法は腫瘍ウイルスや *v-onc* の研究とはまったく独立した発想に基づくものであったが、最初に分析されたヒト膀胱がん由来の T24 細胞株のトランスフォーミング遺伝子は大変驚いたことにはヒトのプロトオンコジンの 1 つ *c-H-ras-1* 遺伝子それ自身であった。またその構造を正常な p21^{*ras*} と比較するとグアニンからチミンへの点突然変異により第12番目のアミノ酸がグリシンからバリンへと置換していた（図5）^{15), 16)}。

さらに、その後の広範な検索によりヒト腫瘍の約10-20%にトランスフォーミング遺伝子が見出されたが、これらの大部分は3種の *ras* のどれかに対応し、またほとんど全ての例では12番目か61番目のアミノ酸に変異が生じていた³³⁾。

このようなきわめて一定した部位の突然変異は *ras* 遺伝子産物のどのような酵素活性の変化と対応するのであろうか。p21^{*ras*} タンパクには GTP や GDP などの

図5 ヒト膀胱がん T24 株における H-ras-1 遺伝子の構造変化^{15), 16)}

図6 動物細胞系と出芽酵母系における ras タンパクの作用(モデル)

グアニンヌクレオチドの結合活性が知られていたが、この点に問題を理解する重要なかぎが潜んでいた。すなわち正常型の p21^{ras} と突然変異を生じた p21^{ras} はどちらも GTP・GDP を結合する能力をもつが、GTP の分解能に大きな違いが見出されたのである。正常型 p21^{ras} は検出可能な GTP 分解活性を示すのに対して変異 p21^{ras} ではその活性は著しく弱い³⁴⁾。

この違いはアデニル酸シクラーゼ系（サイクリック AMP 合成系）の調節因子で GTP 分解活性をもつ G タンパクとの類似性から、次のように解釈されている（図6）。G タンパクは細胞膜のホルモン受容体と内側のアデニル酸シクラーゼとの中間に存在して後者を調節する。このことから、p21^{ras} タンパクも細胞膜上の何らかの増殖因子に対する受容体に結合し、その情報の細胞内への伝達を調節するモデュレータあるいはトランスデューサであろう、という考えである。さらに、G タンパクはシグナルを伝達するごとに GTP を分解して不活性型にもどり、シグナルの過剰な伝達を防いでいる。そこで p21^{ras} の GTP 分解活性も同様の意味があり、GTP 分解活性が失われた“活性型”（変異型）p21 では細胞増殖のシグナルが常に“オン”の

状態に固定されている、と解釈できるのである。

このモデルがかなり事実に近いと思われるのは、その後の多くの研究においても p21^{ras} の GTP 分解活性の消失とトランスフォーミング活性の発現とが非常によく平行するからである。これまでの報告では p21^{ras} の第12、61番目のみならず第13、59、63番のアミノ酸の変異でも *in vitro* トランスフォーミング活性が出現し、また第12番目のアミノ酸変異を例にとると、グリシンとプロリン以外の他のどのようなアミノ酸に置換しても同活性が出現するが、これらの全てにおいて p21^{ras} の GTP 分解活性の著しい低下ないし消失が認められている。

実際に、自然界における腫瘍の中にも第12、61番目以外の位置にアミノ酸変異をもつ活性型 ras の例が最近見出された。特

に、N-ras の第13アミノ酸がヒトの急性骨髄性白血病において高頻度に変異していた、との報告は注目に値する³⁵⁾。第13アミノ酸の変化は第12、61番目の変化よりも *in vitro* のトランスフォーミング活性がやや弱いために従来のトランスフェクション法では見逃されていたもので、最近開発されたヌードマウスに対する造腫瘍性の測定法で見出されてきたものである³⁶⁾。この新しい測定法が開発されたため、今後の広範な検索により ras の変異を伴う腫瘍の割合は従来の予想よりさらに高くなる可能性も十分あり得る。もしそうならば ras の活性化と腫瘍の関係はより密接なものとして再評価されねばならないかもしれない。

4・2 酵母の ras 遺伝子とその代謝系

ras 遺伝子産物の生理的役割に関して、増殖シグナルの伝達系に関与するモデルを述べたが、出芽酵母の 1 つ *Saccharomyces cerevisiae* (S.c.) ではそれに非常によく合致する系が見出されたので簡単に紹介する。松本と宇野らによって S.c. 系においてはサイクリック AMP が細胞増殖に重要な役割を演じていることが明らかにされていたが、Wigler ら、Scolnick らによる酵

母の *ras* に関する多くの変異株を用いた実験から、図 6 のようなサイクリック AMP と *ras* の密接な関係が明らかにされた³⁷⁾⁻³⁹⁾。すなわち、*S.c.* の *ras* タンパクは GTP 型の場合にのみ細胞膜に局在するアデニル酸シクラーゼに作用し、サイクリック AMP の合成を刺激する。合成されたサイクリック AMP はサイクリック AMP 依存性タンパク質リン酸化酵素を活性化して細胞増殖を誘導する。大変興味深いことには、哺乳類の *ras* で 12 番目のグリシンに対応する酵母 *ras* のアミノ酸 (第 19 番目のグリシン) をバリンに代えると酵母の *ras* も GTP 型に固定され、サイクリック AMP 合成系は常にスイッチオンの状態となる。その結果栄養源が豊富で細胞増殖が可能な場合は影響はないが、栄養源が低下して胞子形成へ移行しなければならない時に障害が起り、生存率が著しく低下するのである。この状態は、活性型 *ras* によってトランスフォームした哺乳動物の線維芽細胞が contact inhibition などの増殖抑制シグナルに反応せずにがん細胞として無制限に増殖しようとする姿とかなりの類似性を示していて大変興味深い。ただし、正常な状態では酵母や哺乳動物の *ras* タンパクが細胞外からどのようなシグナルを受けてスイッチオンの状態となるのか、また哺乳動物の *ras* も酵母の場合のようにアデニル酸シクラーゼ系に連動しているのか、などの重要な点はまだ明らかにされていない。

一方、最近別系統の酵母である分裂酵母においても *ras* 遺伝子が見出された⁴⁰⁾。しかし、出芽酵母の場合と異なり *ras* は細胞増殖に必須ではなく、むしろ 1 倍体から 2 倍体へ移行する接合の段階に関与する。このような生物種による *ras* 遺伝子の使われ方の違いが何を意味しているのかは今後の研究の課題である。

5. *c-myc* 遺伝子の活性化——量的異常

c-myc 遺伝子は *ras* と並んで腫瘍細胞において比較的高頻度に活性化が見られる *c-onc* である。しかしその活性化の様式は *ras* とは非常に異なっている。後者ではアミノ酸配列のわずかな変異という質的変化が重要なものに対して、*c-myc* はむしろ“遺伝子数の増大”や“遺伝子発現の調節異常”という量的な変化が活性化の重要な要素と考えられている。*myc* の活性化についてはすでに邦文でかなり解説されているので、ここでは手短かに述べることにしたい⁴¹⁾⁻⁴³⁾。

5・1 正常細胞中の *c-myc*

正常細胞における *c-myc* の生理的機能については、

細胞が増殖刺激により静止期 (G_0 期) から G_1 期へ移行していく段階 (competence と呼ばれる) に重要な役割を演ずることが多くの研究から明らかにされてきた^{44),45)}。詳しい紹介は他著を参照していただければ幸いであるが、①静止期線維芽細胞への PDGF (血小板由来細胞増殖因子) または FGF (線維芽細胞増殖因子) の添加、②リンパ球のマイトジェン刺激、③肝の部分切除による再生肝の誘導、などの細胞増殖系において、*c-myc* RNA 合成は 1 時間以内に急速に高まり、その後数時間で一定レベルまで速やかに低下する。さらに、*c-myc* DNA と MMTV-LTR DNA (ステロイドホルモンで誘導されるウイルスプロモーター DNA) とを結合してそれを線維芽細胞に導入すると、ホルモン添加で *c-myc* RNA レベルを上げることによって PDGF や FGF などの細胞増殖因子の作用をほぼ代行することができる⁴⁶⁾。このことは *c-myc* の発現が増殖シグナルの伝達に重要な役割を担っていることを強く示唆している。

c-myc の遺伝子産物は分子量約 65000 のタンパク p63-p65 で、これらは核に局在し、また DNA 結合活性をもつ⁴⁷⁾。このことから、*c-myc* 遺伝子産物は G_1 -S 期に働くいくつかの遺伝子の発現を直接に調節するのではないかとの仮説が出されている。しかしその実態はまだ明らかになっていない。

5・2 *c-myc* 遺伝子活性化の多様な機構

c-myc の活性化については、1981 年に Hayward らにより見出されたウイルスプロモーター塩基配列によるトリの *c-myc* 遺伝子の転写増大 (プロモーター挿入モデル) が有名である⁹⁾。この発見は *c-onc* がレトロウイルスゲノムに取り込まれなくとも、細胞染色体上で活性化され腫瘍化に結び付き得ることを示した点で、画期的な意義があった。

その後の多くの研究から、腫瘍細胞の中に以下のようなさまざまな *c-myc* の変化が見出された。①レトロウイルスの転写プロモーター挿入による活性化——上に述べた *v-onc* をもたないトリレトロウイルス感染による B リンパ腫、②染色体転座による免疫グロブリン遺伝子との結合¹¹⁾——ヒトのパーキッリン腫瘍マウスの形質細胞腫、③遺伝子増幅——ヒトの肺小細胞がん⁴⁸⁾、胃がん⁴⁹⁾⁻⁵¹⁾、大腸がん (COLO 320 株)¹⁸⁾、白血病細胞 (HL 60 株)¹⁷⁾ など。

これら以外にも DNA レベルでの大きな再構成なしに *c-myc* mRNA 量の増大を示す例もあるが非常に稀である。さらに、*c-myc* 遺伝子内に点突然変異による

図 7 染色体転座による *c-myc* 遺伝子の構造変化

質的異常を伴うリンパ腫の 1 例も報告されているがこれは例外的であり、調べられた限り *c-myc* 活性化の大部分では *myc* タンパクのアミノ酸の 1 次構造は変化していないことが明らかにされている。

c-myc の活性化と特定の腫瘍が密接に結びついている例としてヒトのバーキットリンパ腫と染色体転座による *c-myc* の活性化について触れたい。1980 年頃 Klein らの研究からバーキットリンパ腫の 90% 位に (8;14) 転座のあること、また残りの 10% は (2;8) あるいは (8;22) 転座のあることが明らかにされた (図 7)⁵²⁾。大変興味あるのは必ず第 8 染色体長腕の同一部位 (q24) に切断点があり、また転座の相手となる第 14, 2, 22 染色体の部位には免疫グロブリン遺伝子が存在することである。この点から 8q24 部位に発がんに関与する遺伝子の局在が予想されたが、事実第 8 染色体切断部位には *c-myc* 遺伝子が存在し、転座により免疫グロブリン遺伝子内の未知のエンハンサーによって転写レベルの活性化を受けることが明らかにされた (図 7)。重要なことは転座の様式は異なっても *c-myc* タンパクをコードする第 2, 第 3 エクソンの構造が保存されている点で、これからも量的な活性化が主要な機能であることが理解される。

c-myc の関与する染色体転座はバーキットリンパ腫の発症初期から認められ、またこの疾患でよく見られる EB ウイルスの感染とは関係なくほぼ全例で観察される。これらの状況証拠から *c-myc* の活性化がバーキットリンパ腫のきわめて重要な発症要因であることはほぼ間違いないであろう。ただし *c-myc* の転座だけで発症に十分であるのか、また *c-myc* mRNA の上昇がわずかししか認められないバーキットリンパ腫の場合に

そのような微小な変化が腫瘍化を引き起せるのか、など未解決の問題は多い。

6. おわりに

細胞性がん遺伝子の活性化が見出され、発がん機構を理解する上での重要な手がかりが得られた。しかし、われわれの得た情報はまだわずかであり、今後さらに多くの研究が必要であることは明らかである。染色体転座や遺伝子増幅についてもそれらがどのような分子機構で生じるのかについてはほとんど解析されていない。しかし、ごく最近の報告によると B リンパ腫の一部に見られる (11;14), (14;18) 転座では免疫グロブリン遺伝子の再構成系の関与が疑われるという^{53), 54)}。バーキットリンパ腫などの他の転座を理解する上で何らかの手がかりが得られることを期待したい。

ヒトの悪性腫瘍全体を振り返ってみると、胃がん、大腸がん、肺がんなどの上皮性がんについては各々のがんと密接に結びつく活性化がん遺伝子はまだほとんど知られていない。未知のがん遺伝子の関与する可能性や、既に知られているがん遺伝子の微小な変化が重要である可能性もある。また Weinberg らが提起したように複数の活性化がん遺伝子の共同作用が必須であるかも知れない。今後は腫瘍自身のより詳細な検索とともに、*in vivo* に近い発がん実験系の開発が望まれる。

文 献

- 1) Weiss, R., Teich, N., Varmus, H. and Coffin, J.: "RNA Tumor Virus", Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y. (1982)
- 2) Bishop, J.M.: *Ann. Rev. Biochem.*, **52**, 301 - 354 (1983)
- 3) 豊島久真男, 西村 暹(編): 現代化学増刊「がん遺伝子研究の展望」, 東京化学同人 (1985)
- 4) Downward, J., Yarden, Y., Mayes, E. et al.: *Nature*, **307**, 521 - 527 (1984)
- 5) Sherr, C. et al.: *Cell*, **42**, in press (1985)
- 6) Ebina, Y., Ellis, L., Jarnagin, K. et al.: *ibid.*, **40**, 747 - 758 (1985)
- 7) Ullrich, A., Bell, J.R., Chen, E.Y. et al.: *Nature*, **313**, 756 - 761 (1985)
- 8) Defes-Jones, D., Scolnick, E.M., Koller, R. and Dhar, R.: *ibid.*, **306**, 707 - 709 (1983)
- 9) Hayward, W.S., Neel, B.G. and Astrin, S.M.: *ibid.*, **290**, 475 - 480 (1981)
- 10) Nilsen, T.W., Maroney, P.A., Goodwin, R.G.,

- et al.: *Cell*, **41**, 719-726 (1985)
- 11) Taub, R., Kirsch, I., Morton, C. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 7837-7841 (1982)
 - 12) Groffen, J., Stephenson, J.R., Heisterkamp, N. et al.: *Cell*, **36**, 93-99 (1984)
 - 13) Erikson, J., Finan, J., Tsujimoto, Y. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81**, 4144-4148 (1984)
 - 14) Pegoraro, L., Palumbo, A., Erikson, J. et al.: *ibid.*, **81**, 7166-7170 (1984)
 - 15) Reddy, E.P., Reynolds, R.K., Santos, E. and Barbacid, M.: *Nature*, **300**, 149-152 (1982)
 - 16) Tabin, C.J., Bradley, S.M., Bargmann, C.I. et al.: *ibid.*, **300**, 143-149 (1982)
 - 17) Collins, S. and Groudine, M.: *ibid.*, **298**, 679-681 (1982)
 - 18) Alitalo, K., Schwab, M., Lin, C.C. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**, 1707-1711 (1983)
 - 19) Pelicci, P.-G., Lanfranccone, L., Brathwaite, M.D. et al.: *Science*, **224**, 1117-1121 (1984)
 - 20) Merlino, G.T., Xu, Y.-H., Ishii, S. et al.: *ibid.*, **224**, 417-419 (1984)
 - 21) Libermann, T.A., Nusbaum, H.R., Razon, N. et al.: *Nature*, **313**, 144-147 (1985)
 - 22) Kohl, N.E., Kanda, N., Schreck, R.R. et al.: *Cell*, **35**, 359-367 (1983)
 - 23) Schwab, M., Alitalo, K., Varmus, H.E. et al.: *Nature*, **303**, 497-501 (1983)
 - 24) Schwartz, D.E., Tizard, R., and Gilbert, W.: *Cell*, **32**, 853-869 (1983)
 - 25) Takeya, T. and Hanafusa, H.: *ibid.*, **32**, 881-890 (1983)
 - 26) Iba, H., Takeya, T., Cross, F.R. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81**, 4424-4428 (1984)
 - 27) Iba, H., Cross, F.R., Garber, E.A. and Hanafusa, H.: *Molec. Cell. Biol.*, **5**, 1058-1066 (1985)
 - 28) Cross, F.R., Garber, E.A., Pellman, D. and Hanafusa, H.: *ibid.*, **4**, 1834-1842 (1984)
 - 29) Foster, D.A., Shibuya, M. and Hanafusa, H.: *Cell*, **42**, 105-115 (1985)
 - 30) Shibuya, M. and Hanafusa, H.: *ibid.*, **30**, 787-795 (1982)
 - 31) Konopka, J.B., Watanabe, S.M., Singer, J.W. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**, 1810-1814 (1985)
 - 32) Konopka, J.B., Watanabe, S.M. and Witte, O.N.: *Cell*, **37**, 1035-1042 (1984)
 - 33) Yuasa, Y., Srivastava, S.K., Dunn, C.Y. et al.: *Nature*, **303**, 775-779 (1983)
 - 34) McGrath, J.P., Capon, D.J., Goeddel, D.V. and Levinson, A.D.: *ibid.*, **310**, 644-649 (1984)
 - 35) Bos, J.L., Toksoz, D., Marshall, C.J. et al.: *ibid.*, **315**, 726-731 (1985)
 - 36) Blair, D.G., Cooper, C.S., Oskarsson, M.K. et al.: *Science*, **218**, 1122-1124 (1982)
 - 37) Tatchell, K., Chaleff, D.T., DeFeo-Jones, D. and Scolnick, E.M.: *Nature*, **309**, 523-527 (1984)
 - 38) Kataoka, T., Powers, S., McGill, C. et al.: *Cell*, **37**, 437-445 (1984)
 - 39) Toda, T., Uno, I., Ishikawa, T. et al.: *ibid.*, **40**, 27-36 (1985)
 - 40) Fukui, Y. and Kaziro, Y.: *EMBO J.*, **4**, 687-691 (1985)
 - 41) 大野真介: 医学のあゆみ, **133**, 1130-1138 (1985)
 - 42) 渋谷正史: 代謝, **22**, 421-430 (1985)
 - 43) 林 健志: 医学のあゆみ, **133**, 1094-1097 (1985)
 - 44) Kelly, K., Cochran, B.H., Stiles, C.D. and Leder, P.: *Cell*, **35**, 603-610 (1983)
 - 45) Campisi, J., Gray, H.E., Pardee, A.B. et al.: *ibid.*, **36**, 241-247 (1984)
 - 46) Armelin, H.A., Armelin, M.C.S., Kelly, K. et al.: *Nature*, **310**, 655-660 (1984)
 - 47) Persson, H., Hennighausen, L., Taub, R., et al.: *Science*, **225**, 687-693 (1984)
 - 48) Little, C.D., Nau, M.M., Carney, D.N. et al.: *Nature*, **306**, 194-196 (1983)
 - 49) Nakasato, F., Sakamoto, H., Mori, M. et al.: *Gann*, **75**, 737-742 (1984)
 - 50) Shibuya, M., Yokota, J. and Ueyama, Y.: *Mol. Cell. Biol.*, **5**, 414-418 (1985)
 - 51) Koda, T., Matsushima, S., Sasaki, A. et al.: *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, **76**, 551-554 (1985)
 - 52) Klein, G.: *Nature*, **294**, 313-318 (1981)
 - 53) Tsujimoto, Y., Jaffe, E., Crossman, J. et al.: *ibid.*, **315**, 340-343 (1985)
 - 54) Tsujimoto, Y., Gorham, J., Crossman, J. et al.: *Science*, **229**, 1390-1393 (1985)