

1 発がんのメカニズム

木南 凌

新潟大学医歯学総合研究科
遺伝子制御講座分子生物学分野

Genetic Pathways in Carcinogenesis

Ryo KOMINAMI

*Division of Molecular Biology, Department of Molecular Genetics,
Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata University*

Key words: tumor suppressor gene, oncogene, cancer susceptibility, lymphoma

キーワード：がん抑制遺伝子，がん遺伝子，発がん感受性，リンパ腫

発がん研究の最近の進展状況を簡素に解説しながら，我々の行っている研究を時々挿入するというスタイルで講演したいと思っている。さて，ケンブリッジ大学の Ponder さんの総説¹⁾ではこれまでのがん研究の進展を3項目にまとめている。その項目に従って話を進める。

- (1) がん研究はがん細胞にみられる遺伝子変異の探求が現在までの本流であり，その成果としてがん遺伝子，がん抑制遺伝子の発見がある。がん遺伝子の変異による活性化は細胞の増殖異常を引き起こし，がん抑制遺伝子の失活は細胞周期や細胞死の調節異常をもたらす。
- (2) 変異がなくても遺伝子が働かなくなることがある。それは主に遺伝子の修飾によるもので，p16 がん抑制遺伝子のメチル化による失活は有名な例である。DNA チップを用いた体系的な遺伝子発現解析も epigenetic な変化の研究に含まれる。

- (3) がんの罹患には個体差がある。この個体差を担う因子は感受性遺伝子，修飾遺伝子とよばれ，近年ポストゲノム研究の一つの柱となっている。この感受性遺伝子はかならずしもがん細胞自身の遺伝的变化を必要としない。がん組織の周囲の細胞特性を規定する因子の可能性も多い。講演の最後にはヒトゲノム解析との関連について述べる。

時々挿入される我々の研究はリンパ腫抑制遺伝子，感受性遺伝子についてのもので，その概略を以下に示す²⁾。

1 がん抑制遺伝子のポジショナルクローニング

ヒトを対象としたがん関連遺伝子の探索は多くの貢献をもたらしてきたが，現在解析対象家系が限界に近づきつつある。そこで，今後は動物モデルの利用系が重要と考えられる。我々はモデル動

Reprint requests to: Ryo KOMINAMI
Division of Molecular Biology
Department of Molecular Genetics
Graduate School of Medical and Dental Sciences
Niigata University
1-757 Asahimachi-dori,
Niigata 951-8510 Japan

別刷請求先：〒951-8510 新潟市旭町通り1-757
新潟大学大学院医歯学総合研究科遺伝子制御講座
分子生物学分野 木南 凌

物を利用した、新しいがん抑制遺伝子の単離とその機能解析を行ってきている。具体的には、放射線誘発マウスリンパ腫を解析対象としている。

ゲノム解析の常道として、まずゲノムワイドに LOH マッピングを行い、がん抑制遺伝子座を特定し、次に遺伝的・物理的手法を用いてその領域をさらに限定するという戦略を用いるが、我々もその方法を踏襲した。マウスリンパ腫の大規模な LOH 解析の結果から、幸運にも 11 番染色体上にリンパ球の分化を調節する Ikaros という遺伝子のがん抑制遺伝子であることが分かった。一方、12 番染色体上では既存の候補遺伝子がなく、候補領域を含む 2 つの BAC のランダム塩基配列決定により、新規 Ri+1/Bcl 11b 遺伝子を単離することができた。cDNA 配列を決定したところ、884 アミノ酸からなる遺伝子で、11 例にホモ欠失を、2 例にマイクロ欠損を、4 例に塩基置換を検出することができた。これらの遺伝子発見の経過と解析結果を述べる。

2 がん感受性遺伝子座の発見とマッピング

マウスに放射線を照射すると、リンパ腫が高頻度に誘発される。しかし、その頻度はマウスの系統により異なることが古くから知られている。例えば、今日お話しする BALB/c マウス系統に照射すると、照射後 5 カ月程度でしかも約 60% にリンパ腫を発症する。一方、MSM マウス系統は放射線照射に抵抗性を示し、照射後 1 年を経過してもそのほとんどがリンパ腫を発症しない。これはがんの発生に系統差、すなわち遺伝的多型の存在することを示している。この感受性を支配する遺伝子のがん遺伝子、がん抑制遺伝子とは異なる機能を持つ遺伝子群であると想像される。すでに放射線感受性を与える遺伝子として DNA-PK や ATM が知られているが、両遺伝子ともがん抑制遺伝子に分類されるもので、ここでいう感受性タイプの遺伝子ではない。

BALB/c 系統と MSM 系統の F1 マウスを MSM マウス系統に戻し交配し、得られた N2 マウスを照射実験に用いた。約半数のマウスは照射

後 300 日以内にリンパ腫を発症した。そこで、リンパ腫発症に影響を与える遺伝子座を決めるため、連鎖非平衡解析を行った。すなわち、発症群と非発症群との間で、特定の遺伝子座にアレル分布の偏りがみられるかどうかを比較検討した。ゲノムワイドの詳細な解析から、偏りは D2 Mit 15 座、D4 Mit 12 座の 2 カ所（感受性アレルが存在する）と、D5 Mit 5 座（抵抗性アレルが存在する）、合計 3 カ所にみられた。これらの感受性、抵抗性遺伝子座の存在確認のため、コンジェニックマウスを作製し、同様の発がん実験を行い、上記の結果を確認した。解析の戦略、経過と結果を説明する。

発がん感受性遺伝子は新しい概念である。本講演ではこの概念を説明する。発がん感受性遺伝子の本体は多様であり得る。これまでよく研究されてきた遺伝子として、発がん物質の代謝活性化酵素（p450 など）の遺伝子があげられる。この酵素はがん細胞の中で働き（p450 の場合では肝臓で働く）、その代謝産物が発がん性をもつため発がん感受性を増すことになる。このように特定の細胞内の代謝に影響を与える遺伝子や、特定のがんの発生母体細胞の数を決めている遺伝子（系統差がみられる）、その細胞の増殖能に違いを与えている遺伝子などが発がん感受性遺伝子の本体であると考えられる。すなわち、第 1 には発生母体の細胞の性質に關与する遺伝子群である。これらの遺伝子の作用点のがん細胞内にある（細胞内性）。第 2 の候補遺伝子にはがんの周辺の正常細胞の機能に違いを与える遺伝子、がん発生の周りの環境を支配している遺伝子があげられる（細胞外性）。近年発見された大腸がん発症に関する感受性遺伝子、Mom1 遺伝子はこのグループに属する。この Mom1 遺伝子はリパーゼの一種であり、がん抑制遺伝子・APC の修飾遺伝子（感受性遺伝子）である。このケースは薬物による治療、予防の対象となるものと考えられ、注目されている。

文 献

- 1) Ponder BAJ: Cancer genetics. Nature 411: 336-

341 2001.

- 2) Kominami R, Saito Y, Shinbo T, Matsuki A, Kosugi-Okano H, Ochiai Y, Kodama Y, Wakabayashi Y, Takahashi Y, Mishima and Niwa O: Genetic analysis of radiation-induced thymic lymphoma. International Congress Series 715: 224-231 2001.

司会 どうもありがとうございました。先生は非常に

難しいご研究なさってらっしゃるわけですが、今日は大変分かりやすいお話を下さりまして、私にも良くわかりました。ご質問もたくさんあると思いますが、さっき申し上げたとおり一通りお話をお伺いしてから意見交換をしたいと思います。ご質問がある方は、お忘れにならないようにメモなどをお取りいただければと思います。では続きまして「遺伝子のメチル化：発がんを新たな視点で考える」という講演を稲野助手にお願いします。

2 遺伝子のメチル化

— 発がんを新たな視点で考える —

稲野 浩一

新潟大学医学部附属病院検査部

The Methylation of Genes

— Its Relationship to Carcinogenesis —

Koichi INANO

Clinical Laboratory Division

Niigata University Medical Hospital

Abstract

In vertebrates, the 5th position of the cytosine residues in CpG sequences in genomic DNA are often methylated. The DNA methylation is catalyzed by the DNA methyltransferases, Dnmt1, Dnmt3a, and Dnmt3b, and it functioned in numerous physiological phenomena including carcinogenesis. In numerous cancer, CpG islands are often hypermethylated abnormally, and so that the expression of genes located in their down-stream are suppressed. These suppressed genes are mostly related to the cell proliferation, cell differentiation, tumor suppression and cell adhesion, etc. On the other hand, 5-methylcytosine residue is thought to be an endogenous mutagen. Because 5-methylcytosine can be easily converted to thymidine by deamination reaction under the physiological condition. This C:T transition conversion is one of origins of the point mutagenesis of genes. Recently, there are several reports that the methylation states of the interest genes in cancer patients were analyzed by the MSP (methylation specific PCR) method

Reprint requests to: Koichi INANO
Clinical Laboratory Division
Niigata University Medical Hospital
1-754 Asahimachi-dori,
Niigata 951-8520 Japan

別刷請求先：〒951-8520 新潟市旭町通り1-754
新潟大学医学部附属病院検査部 稲野 浩一