

遺伝性発癌素因と染色体突然変異

佐々木 正 夫

(京都大学・放射線生物研究センター)

Cancer-predisposing Genes and Chromosome Mutation

Masao S. SASAKI

*Radiation Biology Center, Kyoto University,
Yohsida-konoecho, Sakyo-ku, Kyoto 606*

Summary Some of human monogenic syndromes associated with high cancer propensity are characterized by an inherent tendency toward chromosome instability and provide an important key to the understanding of genetic control mechanism of chromosome mutation and its relevance to the development of neoplasms. Among those of recessive traits, some are unequivocally demonstrated to be associated with defects in DNA metabolism, which might be an integral component of the chromosome instability and cancer proneness of these diseases. However, in these diseases, the relationship between inherent genes and the development of cancer is rather indirect, and the gene traits do not provide sufficient information on the nature of mutation toward cancer.

There is another class of genetic diseases, in which inherent gene for cancer proneness is expressed dominantly. They are not identified as an alteration in metabolism, but are more informative about the nature of the mutation toward cancer. In some of these diseases, the inherent genes promote chromosome structural rearrangements in their somatic cells. Such enhancement of chromosome mutation has been found in skin fibroblasts from patients with hereditary adenomatosis of colon, dominantly inherited childhood leukemia, familial colon cancer and prokeratosis of Mibelli. Chromosome mutation promoted such dominant genes resembles, in many respects, those associated with MR gene or P factor in *Drosophila* and gene-control elements in maize. In hereditary form of retinoblastoma, such chromosome mutation of *de novo* origin was also found to occur in their skin fibroblasts. However, such was not the case for patients with a deletion in chromosome 13 (13q-) nor the sporadic unilateral cases. Cultured skin fibroblasts from patients with hereditary retinoblastoma showed abnormally high susceptibility to transformation by murine sarcoma virus while those from patients with 13q- and sporadic

unilateral cases were as sensitive as normal controls. These findings suggest that the retinoblastoma gene which is responsible for the hereditary retinoblastoma is essentially different in its nature from 13q-. The modification of gene expression at 13q14 site by deletion, translocation and gene-control element has been implicated for the genesis of hereditary retinoblastoma.

発癌の突然変異説はくり返し論じられてきているが、発癌にいたる突然変異がどのようなものであるか、その実体となると不明の点が多い。ところが最近、腫瘍細胞そのものの研究から、発癌にいたる突然変異とその発現に、染色体の構造的変異、遺伝子の再配列、DNA の転移あるいは外来遺伝子の関与などスケールの大きい変異が深く関係していることが示唆されている。突然変異は DNA の 1 塩基の変化からゲノム単位の変化まで幅広いスペクトラムを有するが、なぜこのようなスケールの大きい DNA の構造的変異が多く認められるか、発癌の機構の面からも興味深い問題を含んでいる。

一方、ヒトの癌の中には、その発生が明らかに遺伝によるものがある。ヒトの場合、そのような高発癌性の遺伝疾患は、単純なメンデル式の遺伝様式をとるものだけでも確認された遺伝形質の約 8.6% にも相当すると推定されている (Mulvihill, 1977)。一つの突然変異遺伝子によって発癌率が変化しているという点で特異的であり、その遺伝性発癌素因の本体とその発癌作用の研究は発癌機構の解明はもとより、腫瘍発生の遺伝学の面からも多くの研究者の関心事となっている。とくに劣性遺伝様式をとる疾患に関しては、1968 年に Cleaver が色素性乾皮症は紫外線による DNA 損傷の修復欠損によるということを見いだして以来、多くの類縁疾患に関してその病因の追求が行われてきた。その結果、Fanconi 貧血症、Bloom 症候群、毛細血管拡張性運動失調症など、ある種の疾患では明らかに DNA の代謝(複製、修復、組み換えなど)が関係していることが示されている (Friedberg *et al.*, 1979; 佐々木, 1980)。それらは同時に染色体の不安定性を示し、染色体の自発あるいは誘発突然変異率が高い、染色体異常の高発が高発癌に関係しているという指摘もある (Cairns, 1975)。しかし、このような劣性遺伝疾患では、多くの場合、代謝異常が第一義的であり、遺伝素因の発癌へのかかわりはむしろ間接的であって、腫瘍性の突然変異が何かということに関しては多くの情報を提供しない。

他方、優性遺伝によるものは、1 個の突然変異遺伝子が単独で特定の組織の特定の発生・分化の段階に限って発現される点で特異的であり、腫瘍性の突然変異そのものと、その発現の機構に関し、きわめて示唆に富んでいる。網膜芽細胞腫は幼児の眼の悪性腫瘍で、胎芽期の網膜芽細胞に起こった体細胞突然変異によるか、あるいはそのような突然変異を配偶子を通して受け継いだために発生する。前者は散发性であり、一般に片眼罹患であるのに反し、後者は両眼罹患例が多く、遺伝性である。散发性のうち両眼罹患例は配偶子性突然変異、すなわち遺伝性によるものと考えられている (Vogel, 1957)。1 個の突然変異が優性に発現され、ヒトにおける発癌のモデルとして格好の材料となる (Knudson, 1971; Matsunaga, 1978)。Knudson (1971) は、片眼性および両眼性患者における診断時の年齢分布の違いから、発癌の二段階突然変異仮説を提唱している。非遺伝性の場合には 1 個の細胞に連続して 2 回の突然変異が起こって発癌するが、遺伝性の場合にはそのうち 1 個の突然変異をすでに配偶子由来として持っており、1 回の突然変異で十分であるとする。それぞれの突然変異の実体に関しては不明の点が多い。松永 (1978) は第一段の変化は明らかに突然変異であるが、第二段階は分化の誤りであり、その発現には宿主要因が重要な働きをするという。このような観点から、網膜芽細胞腫にいたる突然変異とその発現に関し細胞遺伝学的な検討を加えてみる。

13q- と網膜芽細胞腫

網膜芽細胞腫患者の中には先天性の染色体異常を持つものが存在する。86 例の患者で調べた結果、

6例に先天性染色体異常が認められ、そのいずれもが No. 13 染色体が関与した異常であり、del(13)(q12q22), del(13)(q14q22), t(13;X)(q12;p22) がそれぞれ 1 例ずつ、del(13)(q14) が 3 例であった。欠失例はいずれも q14 部位を含み、この部位の欠失が網膜芽細胞腫発生の原因となっていることを示す。13/X 転座例は No. 13 染色体の切断点が q12 であり q14 は欠失していないが、転座 X 染色体が不活化 X 染色体であり、不活化が X 染色体上の 13q14 に波及したと考えられる例である (Ejima *et al.*, 1982b)。このことは、網膜芽細胞の発生・分化の過程で 13q14 に存在する遺伝情報が読まれないことがその細胞の腫瘍化につながっていることを意味している。

網膜芽細胞腫の主遺伝子と染色体突然変異

他の遺伝性の患者には先天性の 13q- は認められない。それでは、その遺伝性のいわゆる主遺伝子は何か。Knudson ら (1976) は微視的サイズの欠失の可能性を指摘しているが、松永 (1980) は表現度に差があることから別の突然変異である可能性を指摘している。網膜芽細胞腫患者の皮膚組織を培養して得られる培養線維芽細胞でその染色体構成を詳細に調べた結果、遺伝性患者由来の細胞では、患者本来の正常核型に混在して染色体の転座や逆位による異常核型を持つ細胞が高頻度で認められることがわかった。それらの核型変異は多様で一定性がないことから先天性のものでなく、二次的変異によるものと考えられる。低頻度ではあるが生体内で起こり、蓄積されているものと思われる。同様な現象は、家族性大腸ポリポージスなどの優性遺伝性の大腸腺腫症、家族性結腸癌、母斑性基底細胞癌症候群、Mibelli 汗孔角化症、家族性小児白血病、甲状腺髄様癌などの患者および保因者でも認められている。しかもその二次的に起きている染色体異常の切断点には、しばしば高い部位指向性が認められている (Sasaki *et al.*, 1980)。

一方、13q- による網膜芽細胞腫患者由来の細胞では、そのような二次的な染色体異常の有意な上昇が認められない。このことは、遺伝性の主遺伝子と 13q- とは本質的に異なったものであるということを示唆する。13q14 部位には esterase D の遺伝子座位があるが、最近、網膜芽細胞腫の主遺伝子と esterase D 座位の連関から主遺伝子も 13q14 に位置づけられるにいたった (Sparkes *et al.*, 1982)。13q- による網膜芽細胞腫も、主遺伝子による網膜芽細胞腫も、その腫瘍の病理学的特性においては何ら変わるところがない。これらのことを総合すると、主遺伝子は自らの染色体を不安定化させる一種の突然変異作用を有する突然変異遺伝子であり、しかもそれが発現されると 13q14 に存在する網膜芽細胞の増殖、分化に関する遺伝情報を読まれなくし、実質的な欠失効果をもたらすと推論できる。バクテリアやイーストをはじめ、高等生物ではショウジョウバエやトウモロコシなどで知られている宿主側の遺伝子の発現を修飾する挿入型の突然変異にその特性がきわめて近似している点が興味深い。最近では、マウスでも挿入による欠失型突然変異の存在が知られるにいたった。欠失型突然変異が優性に発現している点、調節型突然変異であることを示唆する。網膜芽細胞の増殖・分化の制御に関しては同様の効果を持ちながら、本質的な違いが表現度に反映されるだろう。13q- 患者と他の遺伝性患者とでは診断時の年齢分布にも差があり、13q- 患者では、遺伝性患者と非遺伝性患者の中間の値をとる。

網膜芽細胞腫の腫瘍組織の染色体変異

次に第二段階目の変異は何であるか。この問題へのアプローチとして網膜芽細胞腫の腫瘍組織の染色体を調べた。これまで 10 例の患者で調べた結果では、1 例を除き、すべてに染色体異常が認められたが、とくに No. 13 染色体が特異的に関与しているという現象はなかった。むしろ No. 1 染色体の長腕の増量、No. 18 染色体の同腕染色体など、他の種の腫瘍にも共通して認められる異常が多く、発癌に直接関係した変異としては認められず、むしろこれらの変化は癌の増殖に関係した変化と考えられるものであった。そして、少なくとも遺伝性の場合、発癌には、基本的には 1 個の突然変

異で十分であることを示唆している。しかし、これらの結果は散発例でもその初発変異が必ずしも No. 13 染色体上に起こることを意味するものではなく、散発例での腫瘍の染色体変異を詳しく調べる必要がある。

他の細胞生物学的特性

遺伝性網膜芽細胞腫患者および 13q- による患者の中には、その培養線維芽細胞が X 線に高感受性を示すものがあることが報告されている (Weichselbaum *et al.*, 1978; Nove *et al.*, 1981)。本症患者の X 線治療後に高発する二次発癌との関係で興味深い結果であったが、われわれは 13q- を含む各種の No. 13 染色体異常、遺伝性、非遺伝性の網膜芽細胞腫患者由来の線維芽細胞で X 線感受性を調べた結果、なんら異常を認めることができなかった (Ejima *et al.*, 1982a)。しかし、MSV ウィルスによる *in vitro* transformation を調べた結果 (Miyaki *et al.*, 1983)、遺伝性両眼罹患患者由来の線維芽細胞は高い transformation の値を示すことがわかった。しかし、13q- による患者および散発性の片眼罹患例は正常人と差がない。遺伝性片眼罹患例は両眼罹患例と正常人との中間の値を示すが、同一家系内で同じ遺伝子を保有していても両眼発症者は片眼発症者より高い値を示し、主遺伝子の表現度は細胞レベルにおける発現も反映していることを示唆している。

網膜芽細胞腫の主遺伝子に染色体突然変異を誘導する作用があることはその主遺伝子が何であるかを知る上で重要な手掛りとなる。その突然変異誘導作用が第二段階目の変異にどのように作用しているか明らかではないが、13q- における単純な欠失突然変異とは異なった効果を持つことは容易に想像できる。診断時の年齢分布から、未発病者の割合 (S) と診断時の年齢 (月) (t) の関係は $S = \exp[-\{a \cdot (k \cdot t) + b \cdot (k \cdot t)^2\}]$ でよく近似できる。 $a = 3.85 \times 10^{-2}$, $b = 5.73 \times 10^{-4}$ で、体細胞突然変異による散発性片眼罹患例の場合、 $k=1$ とすると、13q- 患者で $k \approx 2$ 、遺伝性患者で $k \approx 3$ という値が得られる。すなわち、診断時の年齢分布の差は発癌に必要なヒット数の差を反映するのではなく、発癌には網膜芽細胞が分化の段階に入るまでに 1 個の突然変異が与えられていれば十分であり、分化異常として出発した細胞が癌として発育する kinetics は同じであるが、どのような種類の突然変異から出発するかによって、その速度が異なることを示唆している。

以上、網膜芽細胞腫を中心として、その造腫瘍性突然変異とその発現に関し、細胞遺伝学的な解析をもとに考察を加えた。優性に発現される造腫瘍性の突然変異遺伝子は発癌の機構研究に重要な資料を提供するが、その本体に関してはなお推論の域を出ない。今後のより具体的な検討に期待したい。

文 献

- Cairns, J. 1975. Mutation selection and the natural history of cancer. *Nature* **255**: 197-200.
- Cleaver, J.E. 1968. Defective repair replication in xeroderma pigmentosum. *Nature* **218**: 652-656.
- Ejima, Y., Sasaki, M.S., Utsumi, H., Kaneko, A., and Tanooka, H. 1982a. Radiosensitivity of fibroblasts from patients with retinoblastoma and chromosome-13 anomalies. *Mutation Res.* **103**: 177-184.
- Ejima, Y., Sasaki, M.S., Kaneko, A., Tanooka, H., Hara, Y., Hida, T., and Kinoshita, Y. 1982b. Possible inactivation of part of chromosome 13 due to 13qXp translocation associated with retinoblastoma. *Clin. Genet.* **21**: 357-361.
- Friedberg, E.C., Ehmann, U.K., and Williams, J.I. 1979. Human diseases associated with defective DNA repair. *Adv. Radiat. Biol.* **8**: 85-174.
- Knudson, A.G., Jr. 1971. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **68**: 820-823.
- Knudson, A.G., Jr., Meadow, A.T., Nichols, W.W., and Hill, R. 1976. Chromosomal deletion and retinoblastoma. *New Engl. J. Med.* **295**: 1120-1123.

- Matsunaga, E. 1978. Hereditary retinoblastoma: delayed mutation or host resistance? *Am. J. Hum. Genet.* **30**: 406-424.
- Matsunaga, E. 1980. Retinoblastoma: Host resistance and 13q- chromosomal deletion. *Hum. Genet.* **56**: 53-58.
- Miyaki, M., Akamatsu, N., Ono, T., and Sasaki, M.S. 1983. Susceptibility of skin fibroblasts from patients with retinoblastoma to transformation by murine sarcoma virus. *Cancer Lett.* **18**: 137-142.
- Mulvihill, J.J. 1977. Genetic repertory of human neoplasia. In *Genetics of Human Cancer*, Mulvihill, J.J., Miller, R.W., and Fraumeni, J.F., Jr., eds., Raven Press, New York, pp. 137-143.
- Nove, J., Nichols, W.W., Weichselbaum, R.R., and Little, J.B. 1981. Abnormalities of human chromosome 13 and *in vitro* radiosensitivity. A study of 19 fibroblast strains. *Mutation Res.* **84**: 157-167.
- 佐々木正夫 1980. ヒトの細胞遺伝学的損傷と修復の遺伝的制御, 癌と化学療法, **7** (Suppl.): 163-170.
- Sasaki, M.S., Tsunematsu, Y., Utsunomiya, J., and Utsumi, J. 1980. Site-directed chromosome rearrangements in skin fibroblasts from persons carrying genes for hereditary neoplasms. *Cancer Res.* **40**: 4796-4803.
- Sparkes, R.S., Murphree, A.L., Lingua, R.W., Sparkes, M.C., Funderturk, S., and Benedict, W.F. 1982. Assignment of the gene for dominant retinoblastoma to chromosome 13q14 by linkage to esterase D. The 2nd International Symp. of Retinoblastoma, Oct. 29-30, 1982, Monterey, Calif., U.S.A.
- Vogel, F. 1957. Neue Untersuchungen zur Genetik des Retinoblastomas (Glioma retinae). *Z. menschl. Vererb. Konstitutionslehre* **34**: 205-236.
- Weichselbaum, R.R., Nove, J., and Little, J.B. 1978. X-ray sensitivity of diploid fibroblasts from patients with hereditary or sporadic retinoblastoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **75**: 3962-3964.