

テーマ：肺腫瘍**特集：肺がん研究の動向****肺癌の分子生物学**

北海道大学大学院医学研究科腫瘍内科学分野

秋田 弘俊

要旨 近年の癌の分子生物学の進歩には目覚ましいものがあり、肺癌を含む悪性腫瘍は癌抑制遺伝子・癌遺伝子の異常の経時的・多段階的な蓄積によって生じる遺伝子病であることを明らかにした。本総説では、肺癌における主な癌抑制遺伝子・癌遺伝子の異常と分子メカニズムを概説した。多くの遺伝子異常がタバコ発癌の標的になっていることが明らかにされており、肺癌の予防を考える上で、重要である。一方、マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析による肺癌研究が進んでおり、分子生物学のより一層の進歩とともに、診断、治療への貢献が期待される。

キーワード：癌抑制遺伝子，癌遺伝子，ヘテロ接合性の消失（LOH），エピジェネティック遺伝子異常，マイクロアレイ
tumor suppressor gene, oncogene, LOH, epigenetic alterations, microarray

はじめに

近年の癌の分子生物学の進歩には目覚ましいものがあり、肺癌を含む悪性腫瘍は遺伝子異常の経時的・多段階的な蓄積によって生じる疾患であることが明らかにされた^{1)~3)} (図1)。すなわち、十数年から数十年の長い時間の経過で複数の癌抑制遺伝子や癌遺伝子の異常が多段階的に蓄積され、正常細胞が前癌細胞を経て癌細胞へと転化する^{1)~3)}。また、前癌細胞（病変）が明らかでない場合もある。癌化過程において細胞は、アポトーシス回避能、増殖抑制シグナルに対する非感受性、自律的増殖能、無限細胞分裂能、さらには血管新生能や浸潤能、転移能を獲得する。これらの癌の細胞生物学的特性の獲得には、多くの分子と分子経路、分子間ネットワークが関与する（図2）³⁾。

こうした分子生物学の成果は、臨床的には肺癌の高危険群の同定や化学予防、悪性度や予後の指標となる新しいバイオマーカーの探求や、新しい治療法とくに分子標的治療の開発に応用されることが期待される^{5)~7)}。

ここでは肺癌の主な癌遺伝子・癌抑制遺伝子の異常を中心に概説し、マイクロアレイを用いた肺癌の遺伝子発現の網羅的な解析についても触れたい。

1. 癌抑制遺伝子の異常（表1）

癌抑制遺伝子の欠損はしばしば染色体の特異的欠失あるいは制限酵素断片長多型性（restriction fragment length polymorphism, RFLP）マーカーによるヘテロ接合性の消失（loss of heterozygosity, LOH）として検出される。肺癌において癌抑制遺伝子の異常を示唆した最初の報告は、1982年のWhang-Pengらによる、肺小細胞癌における第3番染色体短腕（3p）の特異的欠失

の報告である。さらに、第13番染色体長腕（13q）および第17番染色体短腕（17p）にも高頻度にLOHが見られることが明らかにされた。その後の研究によって、13q14のLOHはRb遺伝子の、17p13のLOHはp53遺伝子の欠損を標的とする異常であることが明らかにされた。また、9p21のLOHはCDKN2/MTS1(p16INK4A)遺伝子およびp14ARF遺伝子を標的とすることが示されている。これらの癌抑制遺伝子は、分子機能的にはp14ARF-p53経路、p16INK4A-RB経路を形成して細胞周期や細胞増殖を抑制しており、これらの経路の不活性化は肺癌の発生にきわめて重要である。この他にも1p、2q、5q、8p、9q、11p、18q、22q等に高頻度にLOHをみとめており、癌抑制遺伝子の存在が示唆されている。

遺伝子の塩基配列異常や遺伝子欠損、染色体欠失を伴わないエピジェネティックな遺伝子異常（遺伝子プロモーターのDNAメチル化、ヒストン修飾によるクロマチン構造の変化）が癌抑制遺伝子の発現消失と不活性化を惹起し癌化に関わっていることが、肺癌を含む癌で示されている⁸⁾。

1) p53 遺伝子

p53タンパク質は転写因子として働き、GADD45、p21CIP1/WAF1、14-3-3σ、Bax、mdm2などの遺伝子の発現を誘導する。p53タンパク質は遺伝子DNAに損傷が生じた際に増加し、p21CIP1/WAF1や14-3-3σ誘導して細胞周期を停止させDNA修復を可能にするか、また、ある場合にはBaxをはじめとする遺伝子を誘導してアポトーシスを起こす⁹⁾。p53によるアポトーシスにはHIPK2によるp53タンパク質の部位特異的リン酸化が必要で、HIPK2はp53によるアポトーシスと細胞

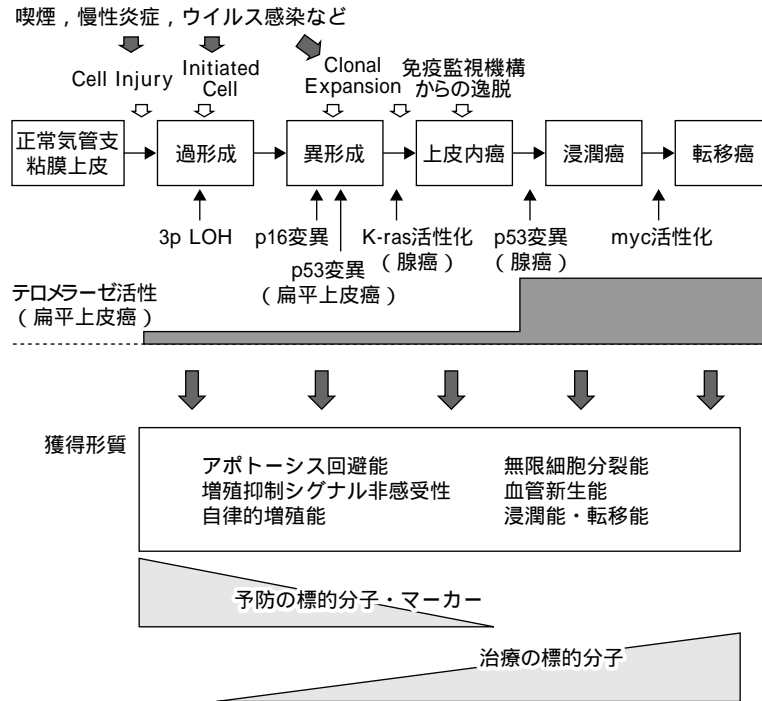


図1 肺癌の多段階発癌モデルと遺伝子異常および獲得形質

肺癌の発生，進展には複数の癌抑制遺伝子の不活性化と癌遺伝子の活性化が関与する．その結果，細胞は癌としての細胞生物学的特性を獲得する．図中の遺伝子異常以外にも種々の遺伝子・分子異常が存在する（本文参照）．LOH，loss of heterozygosity.

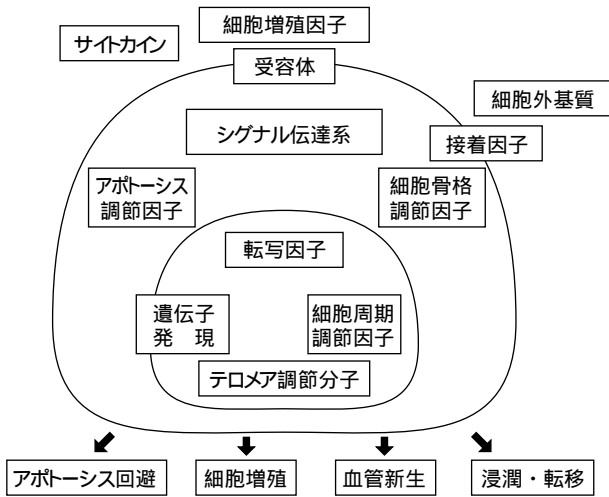


図2 肺癌細胞の分子異常と悪性形質発現

周期停止の選択に関っている^{10,11)}。

p53 遺伝子は最も多くの悪性腫瘍で異常のみられる癌抑制遺伝子で，肺癌においても小細胞癌の 75%～85%，非小細胞癌の 45%～50% に認められる．肺癌では p53 遺伝子異常と喫煙量の間に関連があることや，タバコ中の発癌物質，ベンツピレンが遺伝子 DNA の塩基を guanine (G) から thymine (T) に置換する作用があるこ

と，肺癌の p53 遺伝子異常では guanine (G) から thymine (T) への点突然変異が高頻度にみられることから，p53 遺伝子は肺癌におけるタバコ発癌の主たる標的遺伝子であると考えられている¹²⁾。

p53 遺伝子の異常は，肺扁平上皮癌においては腫瘍形成の比較的初期，すなわち前癌病変の高度扁平上皮化生の段階からすでに存在することが報告されている¹³⁾．術後予後との関係については，p53 遺伝子異常が肺非小細胞癌患者の有意で独立した術後予後因子であるとの報告がある一方，これを否定する報告もある．43 の文献を用いたメタ解析では p53 遺伝子およびタンパク質の異常は腺癌における有意な予後不良因子であったが，扁平上皮癌では有意な予後因子ではなかった¹⁴⁾．p53 異常が予後や悪性度に関わるひとつの因子であるとしても，臨床的に有用なマーカーとしては疑問視されている¹⁵⁾．p53 の異常が治療法の選択など特異的なマーカーとして可能性があるか否かは今後の検討が必要である．

肺非小細胞癌に対する p53 を標的とした遺伝子治療の臨床試験が初期にはレトロウイルス，また後にはアデノウイルスベクターを用いて腫瘍内局所注入法で行われ，約 10% の奏効率が得られている¹⁶⁾．更に，化学療法や放射線治療との併用で，p53 遺伝子治療がこれらの治療法に対する感受性を増して，相乗効果を発揮するか

表1 肺癌における主な癌抑制遺伝子と癌遺伝子の異常

	染色体部位	異常の種類	異常頻度 (%)	
			小細胞癌	非小細胞癌
癌抑制遺伝子				
Rb	13q14	変異	> 95	10 ~ 30
p53	17q13	変異	75 ~ 85	45 ~ 50
p16: CDKN2/MST1	9p21	ホモ欠失・メチル化	0	30
p15: MST2	9p21	ホモ欠失	< 10	20
p19: ARF	9p21	ホモ欠失・メチル化	70	25
FHIT	3p14	エクソン欠失・メチル化	40	80
RASSF1A	3p21.3	メチル化・変異	80 ~ 100	30 ~ 60
PTEN	10q23	ホモ欠失・変異	10	< 10
TSLC1	11q23	メチル化・変異		< 40
PPP2R1B	11q23	変異	15	
LRP-DIT	2q21	ホモ欠失・変異	40	< 5
癌遺伝子				
K-ras	12p12	点突然変異	0	腺癌の 15 ~ 30
c-/N-/L-myc	8q24/2p24/1p32	増幅	20 ~ 40	10
c-/N-/L-myc	8q24/2p24/1p32	過剰発現	60	30
bcl-2	18q21	過剰発現	90	20
c-kit	4q12	過剰発現	50	< 5
EGFR	7p21	過剰発現	< 5	40 ~ 80
c-erbB2	17q21	過剰発現	13	30
cyclin D1	11q13	過剰発現		12 ~ 39
cyclin E	19q12	過剰発現		50
telomerase		活性化	100	80

否かが検討されている。ただし、最近報告された進行肺非小細胞癌患者を対象とした p53 アデノウイルスベクターの腫瘍内局所注入法による臨床試験では化学療法単独群と遺伝子治療併用群との間で奏効率と生存率に差はみられていない¹⁷⁾。一方最近、変異型 p53 タンパク質の機能を回復（正常化）する低分子化合物が開発され、分子標的治療薬として期待されている¹⁸⁾。

2) Rb 遺伝子

Rb タンパク質は細胞核に局在し、細胞周期の G1 期 ~ S 期間の移行に重要な働きをする転写因子 E2F と複合体を形成し、E2F の機能を不活性化することによって、G1 期から S 期への移行を阻止する¹⁹⁾。Rb タンパク質が G1 期中期に CDK (cyclin-dependent kinase) 4/6-cyclin D1 複合体によって、また G1 期後期には CDK2-cyclin E 複合体によって連続的にリン酸化されると、E2F は Rb タンパク質から解離して転写因子として活性化される。この機能によって、Rb や E2F は細胞周期調節（細胞増殖）だけでなく発生、分化、アポトーシスを調節する。

Rb 遺伝子は網膜芽細胞腫で変異を起こしている癌抑制遺伝子として単離され、その後肺癌を含む種々の悪性細胞で変異が検出されている²⁰⁾。Rb 遺伝子の異常（不活性化）は肺小細胞癌の大部分（95% 以上）に認めれ

られるのに対して、肺非小細胞癌では 10% から 30% で比較的low頻度である。Rb 遺伝子が不活性化している腫瘍では、Rb 遺伝子の一方のアレルは染色体欠失し、もう一方のアレルは高頻度に欠損や突然変異しているため、タンパク質はつくられないか半減期が短縮して、結果として Rb タンパク質を検出できないことが多い。

3) CDKN2/MTS1 遺伝子, MTS2 遺伝子

9p21 に存在する癌抑制遺伝子 CDKN2 遺伝子は、肺癌をはじめ非常に多くの種類の悪性腫瘍で異常が検出されたため、Multiple tumor suppressor 1 (MTS1) という別名がつけられている²¹⁾。その遺伝子産物 p16 は CDK4 および CDK6 と結合し、CDK4/6 による Rb タンパク質のリン酸化を抑制し、G1 期 ~ S 期間の細胞周期を制御する CDK inhibitor である。細胞周期調節系および癌抑制系において p16 タンパク質と Rb タンパク質は同一経路の上流と下流の関係にある。肺癌のうち、Rb 遺伝子異常を高頻度に認める小細胞癌では CDKN2 遺伝子 (p16 タンパク質) の異常はまれであり、一方、Rb 遺伝子異常が比較的low頻度の非小細胞癌では CDKN 2 遺伝子 (p16 タンパク質) の発現異常を約 30% の腫瘍で認める²²⁾。また、前癌病変の気管支異形成においても発現異常が認められている²³⁾。CDKN2 遺伝子の不活性化は、2 本の染色体上の各アレルの欠失 (Homozygous

deletion),あるいはDNAメチル化によるエピジェネティックな遺伝子発現抑制によっていることが多い。また、第9番染色体短腕上のCDKN2/MTS1遺伝子の部位には重複してCDKインヒビター遺伝子であるMTS2(遺伝子産物,p14ARFタンパク質)が存在し,CDKN2/MTS1およびMTS2の両遺伝子を同時にHomozygous deletionで欠いている腫瘍や細胞株もみられる²¹⁾。

4) p14ARFタンパク質

ARFタンパク質は,p53タンパク質を介して細胞周期を調整している癌抑制遺伝子産物である。すなわち,ARFタンパク質は,Mdm2タンパク質によるp53タンパク質の分解を阻止することによってp53タンパク質を安定化している²⁴⁾。ARFタンパク質の発現は,小細胞癌の70%,非小細胞癌の25%で消失している。Mdm2タンパク質・mRNAの過剰発現は,肺非小細胞癌の25~50%に認められる。

5) p27KIP1タンパク質

p27KIP1タンパク質は,cip/kipファミリーのCDKインヒビターで,CDK4/6-cyclin D1およびCDK2-cyclin EによるRBのリン酸化を抑制することによって,細胞周期のG1-S期間の移行を負に制御している¹⁹⁾。また,このタンパク質の機能の制御は,ユビキチン・プロテアゾームによるタンパク質分解によっている²⁵⁾。p27タンパク質の機能から予想されるとおり,肺非小細胞癌において,p27陽性細胞率と細胞増殖能の間には負の相関が示されている²⁶⁾。また,これまでのいくつかの報告のうち,陽性細胞率5%未満の腫瘍をp27発現低下または喪失とした3つの報告では,p27発現低下または喪失を示す腫瘍は全体の5%から13%であり,このような腫瘍を持った患者の予後は,p27発現が保持されている腫瘍の患者に比して,術後生存期間は短縮しており,予後不良と報告されている²⁷⁾。一方,肺小細胞癌ではp27発現は良く保持されており低下または喪失は見られない²⁷⁾。

6) 第3番染色体短腕上の癌抑制遺伝子(3p遺伝子)

3p上には複数の癌抑制遺伝子の存在が示唆されている。小細胞癌ではほぼ100%に,非小細胞癌でも高頻度に欠失が認められている。詳細なヒト染色体地図作製の結果,共通欠失領域である3p12,3p14,3p21および3p25に癌抑制遺伝子の存在が示唆されている。1996年,3p14に存在する遺伝子として単離されたfragile histidine triad(FHIT)遺伝子は,小細胞癌腫瘍の80%および非小細胞癌腫瘍の40%に異常が検出されており²⁸⁾。また,FHIT遺伝子を肺癌細胞株に遺伝子導入すると,造腫瘍性の抑制やアポトーシスの誘導がみられることから,癌抑制遺伝子と考えられている。また,プロモーターのメチル化による発現喪失(不活性化)が正常肺組織の9%に対し,肺非小細胞癌では37%にみられ

る²⁹⁾。また,FHIT遺伝子のLOHや発現喪失と喫煙歴の関係からタバコ発癌の標的遺伝子と指摘されている。

一方,3p21に存在するRASSF1A遺伝子は,プロモーターのメチル化が,肺癌の細胞株や手術摘出腫瘍,とくに肺小細胞癌で高頻度に認められている。またRASSF1A遺伝子を肺癌細胞株に導入したところ,造腫瘍性の低下が見られており,癌抑制遺伝子候補として報告されている^{30,31)}。

3p24に存在するレチノイン酸レセプター・β遺伝子は,小細胞癌細胞株では高頻度にLOHとプロモーターのメチル化をきたしており³²⁾,その機能とあわせて,この部位の癌抑制遺伝子候補として注目されている。

他の3p遺伝子としてはBRCA1結合タンパク質BAP1(3p21),DNA修復遺伝子のhOGG1(3p25)やhMLH1(3p21),semaphorin(SEMA)3Bおよび3F(ともに3p21),TGFβ type II受容体遺伝子(3p22)などが癌抑制遺伝子として機能している可能性がある³³⁾。

7) その他の癌抑制遺伝子・癌抑制遺伝子候補

Kuramochiらは11番染色体長腕(11q23.2)上に存在するTSLC1遺伝子を単離し,その発現が肺非小細胞癌の細胞株と原発巣で高頻度に低下していることを示した³⁴⁾。主な発現低下の機序はLOHとプロモーターのメチル化で,突然変異もまれに認められた。TSLC1遺伝子を肺腺癌細胞株に導入すると,造腫瘍能の低下がみられ,新しい癌抑制遺伝子と考えられる。11q23にはセリン/スレオニン脱リン酸化酵素PP2Aの調節サブユニットAのβアイソフォーム(PPP2R1B)遺伝子も存在し,原発性肺癌の15%に突然変異がみられ,癌抑制遺伝子の候補と考えられている³⁵⁾。

2q21.2に存在するLRP-DIT遺伝子のホモ欠失や変異が肺非小細胞癌細胞株の約40%にみられる。7q31に存在するPPP1R3遺伝子の変異や10q23に存在するPTEN/MMAC1遺伝子の変異が一部の肺癌で報告されている。

2. 癌遺伝子の異常(表1)

癌遺伝子の活性化は,種々の癌の多段階発癌並びに悪性形質獲得の上で重要な役割を果たしている。肺癌においても,K-rasやmyc等の活性化が見られる。

1) ras遺伝子

ras遺伝子族はc-K(Kirsten)ras,c-H(Harvey)ras,N(Neuroblastoma)rasの各遺伝子から成る。ras遺伝子産物p21は細胞膜の内側に存在し,Gタンパク質の性質を持つ。よって,細胞外の細胞成長因子から細胞膜のリセプターを介して細胞内に情報が伝えられる際に,rasp21タンパク質はシグナル伝達系のひとつのコンポーネントとして働き,主にRaf-MAPキナーゼ系を介して,情報を細胞核に伝え,cyclin D1やmycなど増殖

や癌化に関与する遺伝子の発現を誘導する。ras 遺伝子は点突然変異や過剰発現によって活性化されるが、点突然変異は肺癌のうち腺癌の 15% から 30% の症例で専ら K-ras 遺伝子の点突然変異(コドン 12, 13, 61)として認められる³⁶⁾。K-ras の点突然変異は、AAH においても報告されているが³⁷⁾、この報告の AAH の病理診断に問題があるとの指摘もある。腺癌以外の組織型の肺癌では ras 遺伝子の点突然変異は稀である。この点突然変異は喫煙者の腺癌に多く、guanine (G) から thymine (T) への塩基置換を高頻度に認めることから、タバコの発癌物質によって惹起されることが示唆されている。K-ras の点突然変異陽性の腺癌症例は陰性の腺癌症例に比べて術後の予後が不良と言われている³⁸⁾。また、ras p21 タンパク質発現陽性の肺癌症例は陰性肺癌症例に比し術後予後不良との報告もある³⁸⁾。

ras p21 タンパク質がその生物作用を発揮するためには、C 末端の CAAX という 4 つのアミノ酸がファルネシル化によって細胞膜に固定される必要がある。ras p21 タンパク質のファルネシル化を阻害する分子標的薬剤は in vitro で癌形質を阻害することが示され³⁹⁾、臨床試験が行われている⁴⁰⁾。

2) myc 遺伝子

myc 遺伝子族は、c-myc, N-myc, L-myc から成り、転写因子タンパク質をコードしており、Max タンパク質と複合体をつかって転写因子として機能して、細胞周期の進行や細胞癌化に関わる。一般的に遺伝子増幅、再配列(染色体転座)、転写亢進によって活性化されるが、肺癌においては主に遺伝子増幅および転写亢進によって活性化されている⁴⁶⁾。小細胞癌患者腫瘍においては、3% に c-myc, 7% に N-myc, 13% に L-myc の遺伝子増幅を認める。また 25% に c-myc, 3% に N-myc, 33% に L-myc の発現を認める。一方、非小細胞癌患者腫瘍においては数パーセントに、特に転移巣において myc 遺伝子の遺伝子増幅を認める。また 33% に発現を認める。myc 遺伝子の異常は癌の発癌進展の過程の遅い時期の変化と考えられ、c-myc 遺伝子増幅は肺小細胞癌の予後不良を示す因子といわれている⁴¹⁾。Myc タンパク質と Max タンパク質の複合体形成を阻害する低分子化合物が myc の癌化機能を阻止することが報告され、将来の分子標的治療薬として期待される⁴²⁾。

3) bcl-2 遺伝子

bcl-2 は、濾胞性リンパ腫で染色体転座によって高率に活性化されている癌遺伝子で、アポトーシスを抑制する働きがある。肺非小細胞癌においては約 20% の症例で bcl-2 タンパク質の発現がみられる。bcl-2 陽性の症例は術後予後良好と報告されたが⁴³⁾、その後、術後病期 I 期症例の大規模な研究の結果、bcl-2 タンパク質発現は

肺非小細胞癌の術後予後因子ではないとされている⁴⁴⁾。一方肺小細胞癌においては、bcl-2 タンパク質は約 90% の腫瘍で発現がみられ、神経内分泌マーカーのひとつと考えられている⁴⁵⁾。

bcl-2 族遺伝子のひとつ bax 遺伝子は bcl-2 遺伝子とは逆に、アポトーシスを誘導する作用で知られている。カルチノイドから小細胞癌に至る肺神経内分泌腫瘍においては、bcl-2 および bax 遺伝子の発現は腫瘍のアポトーシスの頻度とそれぞれ、逆相関および相関関係にあり、組織学的分類や患者予後との関係が示されている⁴⁶⁾。

Bcl-2 の抗アポトーシス作用を抑制することを目的として、癌の分子標的治療薬(アンチセンス DNA 治療薬)が開発され、臨床試験が行われている⁴⁷⁾。

4) 細胞増殖因子、細胞増殖因子リセプター

肺癌細胞では、多くの細胞増殖因子やそのリセプターが発現していることが明らかにされている^{1,2)}。小細胞癌では GRP (Gastrin-releasing peptide) や IGFs (Insulin-like growth factors) などの細胞増殖因子とそれらに対応するリセプターが同一癌細胞で発現しており、いわゆるオートクライン細胞増殖機構が働いている。また、SCF (Stem cell factor) とそのリセプターである c-kit 遺伝子産物によるオートクライン細胞増殖機構の存在も小細胞癌では示されている。c-kit 遺伝子産物の発現は免疫組織化学染色上、肺小細胞癌の 37~53% に認め⁴⁸⁾、チロシンキナーゼ阻害剤のイマチニブ(グリーベック[®])の治療対象になりうるかの臨床試験が求められる。

肺非小細胞癌では 40~80% において EGFR (EGF receptor) の過剰発現を認め、臨床上の予後や進展度と相関するとの報告がある⁴⁹⁾。肺非小細胞癌では EGFR のリガンドである EGF と TGF- α の過剰発現も多くみられ、オートクライン・パラクライン細胞増殖機構が働いていると考えられる。EGFR 特異的チロシンキナーゼ阻害剤のゲフィチニブ(イレッサ[®])は肺非小細胞癌に対して分子標的治療剤として初めて有効性が確認された薬剤であり⁵⁰⁾、注目を集めている(Fukuoka et al. JCO, 2003)。また、肺癌予防の標的分子としても期待されている⁵¹⁾。また、EGFR ファミリーに含まれる HER2/neu/c-erbB2 も肺非小細胞癌の約 30% で発現がみられ(遺伝子増幅はまれ)、抗癌剤に対する抵抗性や予後との関係が示されている⁵²⁾。ヒト型化抗 HER2/neu 抗体トラスツズマブ(ハーセプチン[®])は乳癌に対する有効性が証明され、肺癌でも臨床試験が進行中である。

また、HGF (Hepatocyte growth factor) と Met (HGF receptor) 遺伝子の発現が多くの肺非小細胞癌でみられ、オートクライン・パラクライン増殖機構によって癌細胞の浸潤・転移に関与しており、癌治療標的のひとつになりうると思われている⁵³⁾。

5) G1 cyclins (cyclin D1, cyclin E)

cyclin D1 は G1 期中期に CDK4/6 と複合体を形成して RB をリン酸化する結果、細胞周期の G1~S 期間の移行を促進する。肺非小細胞癌において cyclin D1 遺伝子の増幅や染色体転座による活性化は極めて稀で、免疫組織学法での検討では 12%~39% の頻度で細胞核に発現を認めている⁵⁴⁾。また、cyclin D1 発現陽性例は陰性例に比べて術後予後が良好と報告されており⁵⁴⁾、cyclin D1 が遺伝子レベルで活性化することがある他臓器癌で予後不良因子となっていることは対照的である。一方、気管支前癌病変においては、cyclin D1 の過剰発現が認められており、発癌過程における重要性が指摘されている^{55,56)}。

一方、cyclin E は、G1 期後期に CDK2 と複合体を形成して RB をリン酸化する結果、細胞周期の G1~S 期間の移行を促進する¹⁷⁾。cyclin D1 と同様に、気管支前癌病変において過剰発現が認められており、発癌過程における重要性が指摘されている⁵⁵⁾。肺非小細胞癌における免疫組織化学法の検討では、cyclin E の高発現は 53% の頻度で認め、術後予後不良因子であることが示されている⁵⁷⁾。また、cyclin E 陽性細胞率は Ki-67 陽性率をマーカーとする細胞増殖能と正の相関を示すのに対して、cyclin D1 発現は相関を示さず、両 G1 cyclin が異なった生物学的・臨床的位置付けにあることが明らかにされている⁵⁸⁾。

6) テロメラーゼ

テロメラーゼは染色体末端(テロメア)長を維持することによって細胞の不死化に関与していると考えられている。肺小細胞癌では 100% の頻度で、かつ高レベルに、テロメラーゼ活性が検出される。一方、非小細胞癌においては 80% の腫瘍でテロメラーゼ活性が検出される⁵⁹⁾。正常細胞ではテロメラーゼが活性化しているものは殆どないことから癌の診断のマーカー、あるいは治療の標的として期待されている。

3. 喫煙による気管支上皮細胞の異常

喫煙中のみならず禁煙後数年以上を経過しても、気管支上皮の遺伝子異常や染色体異常は長期間蓄積しつづけることが、示されている⁶⁰⁾。すなわち、気管支生検で採取された気管支上皮細胞の 3p, 9p, 17q 等の染色体異常を LOH 解析やマイクロサテライト解析で検討すると、禁煙後数年以上経過した者において、異形成や過形成、さらには正常気管支上皮においても染色体欠失が検出される。一方、生涯非喫煙者においてはこのような気管支上皮の染色体異常は認められない。以上の知見は、コホート研究(集団を対象とした大規模試験)において、禁煙後肺癌発症頻度が非喫煙者のレベル近くまで低下するのに 15 年から 20 年以上要するという研究結果とよく

一致する。また、今後の肺癌発症高危険群の同定や禁煙キャンペーンの展開において極めて重要な知見である。

タバコに含まれるニコチンと発癌物質 NNK は、気管支上皮細胞のニコチン性アセチルコリン受容体(nAChR)を介して細胞増殖を惹起すると同時に、Akt を活性化してアポトーシスを回避し、気道上皮細胞の発癌プロモーターとして作用することが示されている⁶¹⁾。これらの nAChR を介する作用によって、ニコチンは嗜癮作用とともに、NNK は DNA 損傷作用とともに、それぞれ 2 重にタバコ発癌に関与している。

4. 体系的、網羅的な遺伝子発現解析研究

肺癌、特に肺非小細胞癌は、生物学的・臨床的に多様性に富んでおり、分子生物学的にも多臓器の悪性腫瘍に比べて個々の遺伝子異常の頻度が低く、また特異性に乏しいと考えられる。そこで複数の癌遺伝子・癌抑制遺伝子の異常や浸潤転移に関係する遺伝子異常を組み合わせることによって肺非小細胞癌を術後予後の異なる群に層別化することが試みられている。こうした中で、個々に予後因子である生物学的マーカーを組み合わせることによって、極めて予後良好で長期の無再発生存が期待できる群から術後早期に再発し予後不良の群までを層別化できることが示されている⁵⁸⁾。今後はマイクロアレイ技術の駆使も含めて、腫瘍(あるいは患者)の層別化・個別化を推進し、肺癌患者の予後を明確に予知し、術後治療の必要な群を抽出することが肺癌の克服上、必須と考えられる。Garber ら⁶²⁾が 67 の肺癌組織の遺伝子発現プロファイルを用いて解析し、遺伝子発現パターンに基づいて、腫瘍が扁平上皮癌、大細胞癌、小細胞癌と腺癌に再分類されること、更に、41 例の腺癌が術後予後の異なる 3 つのサブグループに分類されることを示した。一方、Bhattacharjee ら⁶³⁾は 186 の肺癌組織における 12,600 の遺伝子の発現プロファイルをオリゴヌクレオチドマイクロアレイを用いて解析し、やはり遺伝子発現パターンに基づき腫瘍がカルチノイド、小細胞癌、扁平上皮癌と腺癌に再分類されること、139 例の腺癌が神経内分泌遺伝子や II 型肺胞上皮遺伝子が高発現しているサブグループを含めた 4 つのサブグループに分類され、神経内分泌遺伝子が高発現しているサブグループの術後予後が悪いこと、更に大腸癌からの肺転移と原発性肺腺癌が明瞭に区別されることを示した。この他にも、生存期間の異なるグループへの層別化を示した研究、喫煙と腺癌の関係を解析したもの、リンパ節転移や化学療法感受性との関係を解析したもの、細胞株と摘出腫瘍を比較したもの、小細胞癌について解析したものなどがある。また、プロテオーム解析によって、肺非小細胞癌で過剰発現し診断マーカーや治療

標的候補となるタンパク質を解析した研究もある⁶⁴⁾。

今後、肺癌の各組織型における遺伝子発現プロファイルによる新分類、より正確な予後の推定に加え、治療薬・治療法の選択に役立つ遺伝子マーカーのプロファイル化などが期待される。

おわりに

癌の治療の最終目標は、正常細胞に影響することなく腫瘍細胞を選択的に殺すことである。近年の癌の分子生物学の進歩は、多段階発癌とこれに関わる遺伝子異常を明らかにしたばかりでなく、多段階発癌過程で生ずる遺伝子異常を修復することによって脱癌化できることを示した。したがって、癌化・浸潤・転移に関わった個々の遺伝子・分子異常は、分子標的治療の標的になりうる。また、癌遺伝子・癌抑制遺伝子の点突然変異による遺伝子産物のアミノ酸置換は、癌特異的抗原となって肺癌の免疫治療の標的となる可能性がある。

遺伝子・分子異常を標的とする治療は、個々の症例毎に腫瘍の遺伝子異常を分子診断した上で、標的遺伝子異常を定めて治療を行う必要がある。よって、臨床の場で提供される病理組織や擦過/穿刺細胞、喀痰、気管支洗浄液、胸水などの検査材料を用いて、効率よく遺伝子異常を検出する方法の開発も求められる。

以上、肺癌の遺伝子・分子異常について、癌抑制遺伝子、癌遺伝子を中心に概説した。スペースの関係で、血管新生や浸潤・転移に関わる遺伝子・分子とそれらの異常については述べなかつたので、別の総説を参照していただきたい。

文 献

- 1) Sekido Y, Fong KM, Minna JD: Molecular genetics of lung cancer. *Annual Review of Medicine* 2003; 54: 73-87.
- 2) Osada H, Takahashi T: Genetic alterations of multiple tumor suppressors and oncogenes in the carcinogenesis and progression of lung cancer. *Oncogene* 2002; 21: 7421-7434.
- 3) O'Shaughnessy JA, Kelloff GJ, Gordon GB, et al: Treatment and prevention of intraepithelial neoplasia: an important target for accelerated new agent development. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 314-346.
- 4) Hanahan D, Weinberg RA: The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57-70.
- 5) Dy G, Adjei AA: Novel targets for lung cancer therapy: part I. *J Clin Oncol* 2003; 20: 2881-2894.
- 6) Dy G, Adjei AA: Novel targets for lung cancer therapy: part II. *J Clin Oncol* 2003; 20: 3016-3028.
- 7) Rothenberg ML, Carbone DP, Johnson DH: Improving the evaluation of new cancer treatments: challenges and opportunities. *Nature Reviews Cancer* 2003; 3: 303-309.
- 8) Verma M, Srivastava S: Epigenetics in cancer: implications for early detection and prevention. *Lancet Oncol* 2002; 3: 755-763.
- 9) Levine AJ: p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 1997; 88: 323-331.
- 10) D'Orazi G, Cecchinelli B, Bruno T, et al: Homeodomain-interacting protein kinase-2 phosphorylates p53 at Ser 46 and mediates apoptosis. *Nat Cell Biol* 2002; 4: 11-19.
- 11) Hofmann TG, Moller A, Sirma H, et al: Regulation of p53 activity by its interaction with homeodomain-interacting protein kinase-2. *Nat Cell Biol* 2002; 4: 1-10.
- 12) Pfeifer GP, Denissenko MF, Olivier M, et al: Tobacco smoke carcinogens, DNA damage and p53 mutations in smoking-associated cancers. *Oncogene* 2002; 21: 7435-7451.
- 13) Bennett WP, Colby TV, Travis WD, et al: p53 protein accumulates frequently in early bronchial neoplasia. *Cancer Res* 1993; 53: 4817-4822.
- 14) Mitsudomi T, Hamajima N, Ogawa M, et al: Prognostic significance of p53 alterations in patients with non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 4055-4063.
- 15) Schiller JH, Adak S, Feins RH, et al: Lack of prognostic significance of p53 and K-ras mutations in primary resected non-small-cell lung cancer on E4592: a Laboratory Ancillary Study on an Eastern Cooperative Oncology Group Prospective Randomized Trial of Postoperative Adjuvant Therapy. *J Clin Oncol* 2001; 19: 448-457.
- 16) Swisher SG, Roth JA, Nemunaitis J, et al: Adenovirus-mediated p53 gene transfer in advanced non-small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 763-771.
- 17) Schuler M, Herrmann R, De Greve JL, et al: Adenovirus-mediated wild-type p53 gene transfer in patients receiving chemotherapy for advanced non-small-cell lung cancer: results of a multicenter phase II study. *J Clin Oncol* 2001; 19: 1750-1758.
- 18) Bykov VJ, Issaeva N, Shilov A, et al: Restoration of the tumor suppressor function to mutant p53 by a low-molecular-weight compound. *Nat Med* 2002; 8: 282-288.
- 19) Sherr CJ: Cancer cell cycles. *Science* 1996; 274: 1672-1677.
- 20) Claudio PP, Giordano A: RB1 and RB2. *Lung Cancer: Principles and Practice*. Pass HI, Mitchell JB, Johnson DH, Turisi AT, Minna JD, eds. Lippincott-Williams & Wilkins, Philadelphia, 2000; 133-155.
- 21) Chin L, Pomerantz J, DePinho RA: The INK4a/ARF tumor suppressor: one gene two products two pathways. *Trends Biochem Sci* 1998; 23: 291-296.
- 22) Kinoshita I, Dosaka-Akita H, Mishina T, et al: Altered p16INK4 and retinoblastoma protein status in non-small cell lung cancer: potential synergistic effect with altered p53 protein on proliferative activity. *Cancer Res* 1996; 56: 5557-5562.
- 23) Brambilla E, Gazzeri S, Moro D, et al: Alterations of Rb pathway (Rb-p16INK4-cyclin D1) in preinvasive bronchial lesions. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 243-250.
- 24) Pomerantz J, Schreiber-Agus N, Liegeois NJ, et al: The Ink4a tumor suppressor gene product, p19Arf, interacts with MDM2 and neutralizes MDM2's inhibition of p53. *Cell* 1998; 92: 713-723.

- 25) Pagano M, Tam SW, Theodoras AM, et al: Role of the ubiquitin-proteasome pathway in regulating abundance of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27. *Science* 1995; 269: 682-685.
- 26) Kawana H, Tamaru J, Tanaka T, et al: Role of p27Kip1 and cyclin-dependent kinase 2 in the proliferation of non-small cell lung cancer. *Am J Pathol* 1998; 153: 505-513.
- 27) Yatabe Y, Masuda A, Koshikawa T, et al: p27KIP1 in lung cancers: differential changes in small cell and non-small cell carcinomas. *Cancer Res* 1998; 58: 1042-1047.
- 28) Sozzi G, Veronese ML, Negrini M, et al: The FHIT gene 3p14.2 is abnormal in lung cancer. *Cell* 1996; 85: 17-26.
- 29) Zochbauer-Muller S, Fong KM, Maitra A, et al: 5' CpG island methylation of the FHIT gene is correlated with loss of gene expression in lung and breast cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 3581-3585.
- 30) Dammann R, Li C, Yoon JH, et al: Epigenetic inactivation of a RAS association domain family protein from the lung tumour suppressor locus 3p21.3. *Nat Genet* 2000; 25: 315-319.
- 31) Burbee DG, Forgacs E, Zochbauer-Muller S, et al: Epigenetic inactivation of RASSF1A in lung and breast cancers and malignant phenotype suppression. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 691-699.
- 32) Virmani AK, Rath A, Zochbauer-Muller S, et al: Promoter methylation and silencing of the retinoic acid receptor-beta gene in lung carcinomas. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1303-1307.
- 33) Zochbauer-Muller S, Gazdar AF, Minna JD: Molecular pathogenesis of lung cancer. *Annu Rev Physiol* 2002; 64: 681-708.
- 34) Kuramochi M, Fukuhara H, Nobukuni T, et al: TSLC1 is a tumor-suppressor gene in human non-small-cell lung cancer. *Nat Genet* 2001; 27: 427-430.
- 35) Wang SS, Esplin ED, Li JL, et al: Alterations of the PPP2R1B gene in human lung and colon cancer. *Science* 1998; 282: 284-287.
- 36) Rodenhuis S, Slebos RJ: Clinical significance of ras oncogene activation in human lung cancer. *Cancer Res* 1992; 52: 2665s-2669s.
- 37) Westra WH, Baas IO, Hruban RH, et al: K-ras oncogene activation in atypical alveolar hyperplasias of the human lung. *Cancer Res* 1996; 56: 2224-2228.
- 38) Harada M, Dosaka-Akita H, Miyamoto H, et al: Prognostic significance of the expression of ras oncogene product in non-small cell lung cancer. *Cancer* 1992; 69: 72-77.
- 39) Kohl NE, Mosser SD, deSolms SJ, et al: Selective inhibition of ras-dependent transformation by a farnesyltransferase inhibitor. *Science* 1993; 260: 1934-1937.
- 40) Adjei AA, Mauer A, Bruzek L, et al: Phase II study of the farnesyl transferase inhibitor R115777 in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21: 1760-1766.
- 41) Janne PA, Johnson BE: The role of myc, jun, and fos oncogenes. *Lung Cancer: Principles and practice* (ed. Pass HI, Mitchell JB, Johnson DH, Turisi, AT, Minna JD) 98-119 (Lippincott-Williams & Wilkins, Philadelphia, 2000).
- 42) Berg T, Cohen SB, Desharnais J, et al: Small-molecule antagonists of Myc/Max dimerization inhibit Myc-induced transformation of chicken embryo fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 3830-3835.
- 43) Pezzella F, Turley H, Kuzu I, et al: bcl-2 protein in non-small-cell lung carcinoma. *N Engl J Med* 1993; 329: 690-694.
- 44) Anton RC, Brown RW, Younes M, et al: Absence of prognostic significance of bcl-2 immunopositivity in non-small cell lung cancer: analysis of 427 cases. *Hum Pathol* 1997; 28: 1079-1082.
- 45) Jiang SX, Kameya T, Sato Y, et al: Bcl-2 protein expression in lung cancer and close correlation with neuroendocrine differentiation. *Am J Pathol* 1996; 148: 837-846.
- 46) Brambilla E, Negoescu A, Gazzeri S, et al: Apoptosis-related factors p53, Bcl2, and Bax in neuroendocrine lung tumors. *Am J Pathol* 1996; 149: 1941-1952.
- 47) Jansen B, Zangemeister-Wittke U: Antisense therapy for cancer: the time of truth. *Lancet Oncol* 2002; 3: 672-683.
- 48) Micke P, Basrai M, Faldum A, et al: Characterization of c-kit Expression in Small Cell Lung Cancer: Prognostic and Therapeutic Implications. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 188-194.
- 49) Rusch V, Baselga J, Cordon-Cardo C, et al: Differential expression of the epidermal growth factor receptor and its ligands in primary non-small cell lung cancers and adjacent benign lung. *Cancer Res* 1993; 53: 2379-2385.
- 50) Fukuoka M, Yano S, Giaccone G, et al: Multi-institutional randomized phase II trial of gefitinib for previously treated patients with advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21: 2237-2246.
- 51) Lonardo F, Dragnev KH, Freemantle SJ, et al: Evidence for the epidermal growth factor receptor as a target for lung cancer prevention. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 54-60.
- 52) Tsai CM, Chang KT, Perng RP, et al: Correlation of intrinsic chemoresistance of non-small-cell lung cancer cell lines with HER-2/neu gene expression but not with ras gene mutations. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 897-901.
- 53) Matsumoto K, Nakamura T: NK-4 (HGF-antagonist/angiogenesis inhibitor) in cancer biology and therapeutics. *Cancer Sci* 2003; 94: 321-327.
- 54) Nishio M, Koshikawa T, Yatabe Y, et al: Prognostic significance of cyclin D1 and retinoblastoma expression in combination with p53 abnormalities in primary, resected non-small cell lung cancers. *Clin Cancer Res* 1997; 3: 1051-1058.
- 55) Lonardo F, Rusch V, Langenfeld J, et al: Overexpression of cyclins D1 and E is frequent in bronchial preneoplasia and precedes squamous cell carcinoma development. *Cancer Res* 1999; 59: 2470-2476.
- 56) Ratschiller D, Heighway J, Gugger M, et al: Cyclin D1 overexpression in bronchial epithelia of patients with lung cancer is associated with smoking and predicts survival. *J Clin Oncol* 2003; 21: 2085-2093.
- 57) Mishina T, Dosaka-Akita H, Hommura F, et al: Cyclin E expression, a potential prognostic marker for non-small cell lung cancers. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 11-16.
- 58) Dosaka-Akita H, Hommura F, Mishina T, et al: A risk-stratification model of non-small cell lung cancers using cyclin E, Ki-67, and ras p21: different roles of G1 cyclins in cell proliferation and prognosis. *Cancer Res* 2001; 61:

- 2500 2504.
- 59) Hiyama K, Hiyama E, Ishioka S, et al: Telomerase activity in small-cell and non-small-cell lung cancers. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 895-902.
- 60) Wistuba II, Mao L, Gazdar AF: Smoking molecular damage in bronchial epithelium. *Oncogene* 2002; 21: 7298-7306.
- 61) West KA, Brognard J, Clark AS, et al: Rapid Akt activation by nicotine and a tobacco carcinogen modulates the phenotype of normal human airway epithelial cells. *J Clin Invest* 2003; 111: 81-90.
- 62) Garber ME, Troyanskaya OG, Schluens K, et al: Diversity of gene expression in adenocarcinoma of the lung. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 13784-13789.
- 63) Bhattacharjee A, Richards WG, Staunton J, et al: Classification of human lung carcinomas by mRNA expression profiling reveals distinct adenocarcinoma subclasses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 13790-13795.
- 64) Campa MJ, Wang MZ, Howard B, et al: Protein expression profiling identifies macrophage migration inhibitory factor and cyclophilin a as potential molecular targets in non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 2003; 63: 1652-1656.
- (文献掲載数に制限があり, 必要な論文をすべては引用できないことをお詫びします)
-