

図2 染色体解析, サザンブロッティング法の応用 A:粘液型脂肪肉腫における実際の染色体解析 図は粘液型脂肪肉腫腫瘍細胞における染色体の核型を示す。矢頭に示す部位に転座が観察される。B: nativeな *CHOP* 遺伝子の構造 *CHOP* 遺伝子の4つの exon, サザンブロッティングに用いたプローブ(IN2 probe)および *Sst*I による制限酵素サイトを示す。C: *Sst*I によって消化したゲノムDNAに対するサザンブロッティングの結果 レーン1: 腫瘍細胞, レーン2: コントロール正常ヒト白血球。正常細胞では IN2 probe によって 9.4kb の DNA 断片が検出されるが, 粘液型脂肪肉腫腫瘍細胞では *CHOP* 遺伝子の領域で転座が起こり, その結果 3.4kb の DNA 断片が検出されるようになる。

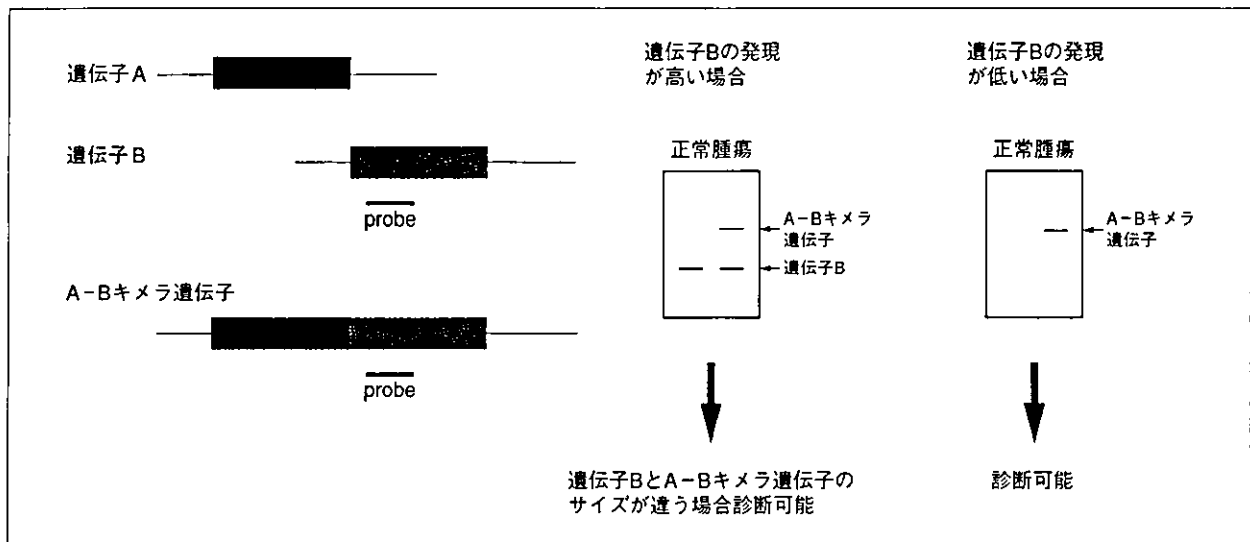
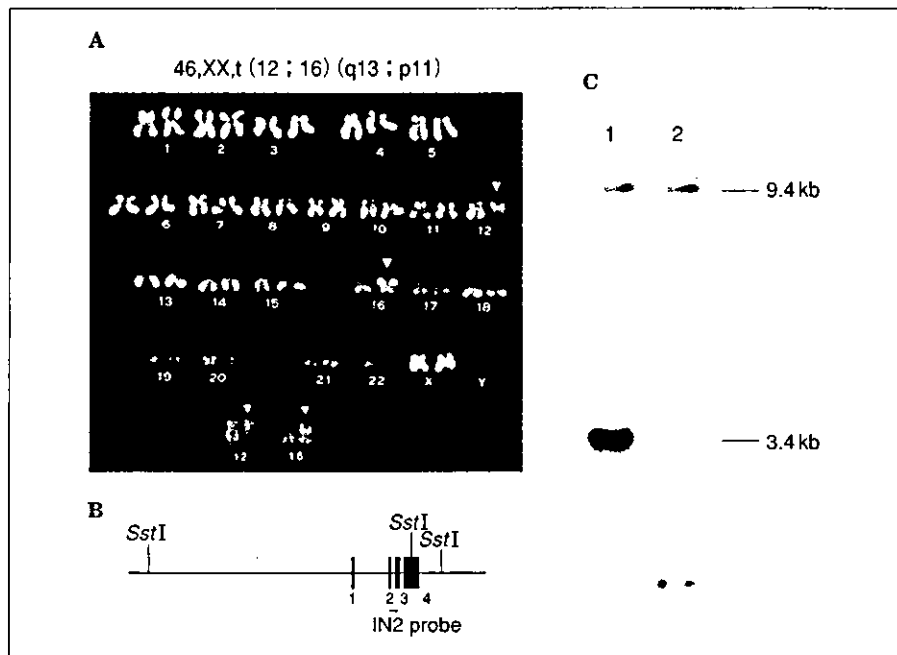


図3 ノーザンブロッティング法によるキメラ遺伝子の検出の原理 遺伝子Bに対する probe を用いた時, 図に示した場合においてキメラ遺伝子の発現を同定することが可能である。

って表2に示したすべてのキメラ遺伝子の検出が可能になっている。また, 病理診断に際し, ホルマリン固定材料しか用いることができなくとも, 表2に示すように一部のキメラ遺伝子は検出可能である。ホルマリン固定材料からのキメラ遺伝子検出の可否においては, 腫瘍におけるキメラ遺伝子の発現量, キメラ遺伝

子の subtype の多岐が問題になってくる。

また, 最近の試みとして, キメラ遺伝子の検出の際に, 一度に複数の primer set を用いることで, 1回のPCR反応でキメラ遺伝子を同定していくという multiplex PCR法という試みが行われている³⁾。この方法は, 病理検査室の中で日常的に軟部腫瘍の遺伝子診断

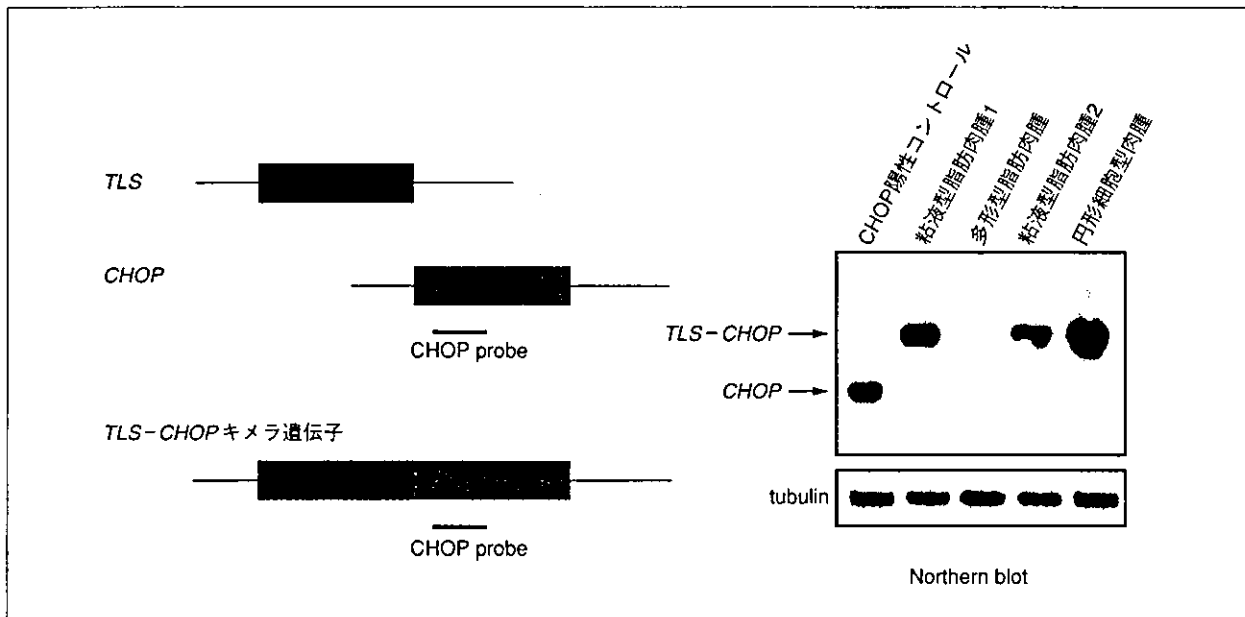


図4 粘液型脂肪肉腫の原因キメラ遺伝子である *TLS-CHOP* キメラ遺伝子を標的としたノーザンブロッティング法
CHOP 陽性コントロールは、Tunicamycin 処理によって *CHOP* を発現誘導した HeLa 細胞である。 *TLS-CHOP* キメラ
 遺伝子を発現していない多形型脂肪肉腫には、陽性バンドはみられない。

を行おうとする際には、非常に効率的であると考えられる。現在は、まだ凍結材料にしか応用されていないが、近い将来パラフィン固定材料にも応用が期待される。

4. FISH 法

FISH (fluorescence *in situ* hybridization) 法は、蛍光標識した特異的 DNA プローブを用いて、組織切片や培養細胞の染色体 DNA とハイブリダイズさせ、染色体ゲノム DNA の異常を検出する方法である。手技の実際については、第3部に詳細な解説が載っているので、それを参照されたい。重要な点は、FISH 法によって、特異的な染色体転座を検出することができることである。また、核間期において FISH 法を行っても染色体転座の存在を推定することができる。特に、一部の軟部肉腫では、パラフィン切片における FISH 法の報告がある⁴⁻⁶⁾。

IV. おわりに—今後の展開

近年の分子生物学の進歩により、骨軟部腫瘍の診断は大きく変貌をとげてきた。そして現在、病理診断に

も遺伝子解析による診断がとりいれられつつある。このため、病理診断の分野では、軟部肉腫は血液疾患とならんで遺伝子情報が診断に最も有用な疾患であると考えられる。しかし、いまだに腫瘍におけるキメラ遺伝子の意義、腫瘍化における役割は不明な点が多い。しかしながら、*BCR-ABL* キメラ遺伝子が、CML (chronic myelogenous leukemia) の腫瘍化に重要な役割を果たしているのと同様に、軟部肉腫にみられるキメラ遺伝子も、当然何らかの役割を果たしているものと推察される。また、近年疾患の分子基盤が明らかになるにつれ、*BRC-ABL* 遺伝子産物のチロシンキナーゼ活性を標的にした治療薬や、乳癌において高発現している *HER/neu* 遺伝子産物に対する抗体医薬など分子標的治療薬が次々と登場している。その結果、個々の病理検体において、実際にこれらの治療の標的となる分子の発現を確認することも重要になってきた。この事実からも、それぞれのキメラ遺伝子の腫瘍化における役割が明らかになれば、さらに分子標的治療の対象となる分子が同定されることが期待される。その際には、ますます骨軟部腫瘍におけるキメラ遺伝子の検索など、分子病理診断の重要性が増してくると思われる。

表2 キメラ遺伝子の検出に用いられている代表的プライマー

キメラ遺伝子		sequence	パラフィン	文献
<i>EWS-FLI1</i>	sense(1st) antisense(1st) sense(2nd)* antisense(2nd)*	TCCTACAGCCAAGCTCCAAGTC ACTCCCCGTTGGTGCCTTCC CAACAGAGCAGCAGCTACG GTGATACAGCTGGCGTTGG	使用可能	11
<i>EWS-ERG</i>	sense antisense	CCCACTAGTTACCCACCCCA ACTCCCCGTTGGTGCCTTCC	未報告	12
<i>EWS-ETV1</i>	sense(1st) antisense(1st) sense(2nd) antisense(2nd)	TCCTACAGCCAAGCTCCAAGTC ACTCCCCGTTGGTGCCTTCC CCCCGACCCGTCCAGGCAATAAAAATG AAATGAGCATTGATGGGTCCATCCAG	使用可能	13
<i>EWS-ATF1</i>	type 1 sense type 1 antisense type 2 sense type 2 antisense type 3 sense type 3 antisense	ATCCTACAGCCAAGCTCCAA TGCCTGAATTTGTCATGGTT CATGAGTGGCCCTGATAACC GCTCCATTTGGGGCAATG AGAGCGAGGTGGCTTCAATA TGCCTGAATTTGTCATGGTT	使用可能	14
<i>EWS-WT1</i>	sense antisense	TCCTACAGCCAAGCTCCAAGT ACCTTCGGTTCACAGTCCTTG	使用可能	15
<i>EWS-CHN</i>	sense(1st)** antisense(1st)** sense(2nd)** antisense(2nd)**	CCAGCCCAGCCTAGGATATTGACA TGGTGGCTGTAGCCGTGATCTC ACAGTTATCCCCAGGTACCTGGG AGGTCCATGGTCAGCTTGGTGTAG	使用不可	16
<i>TAF II 68-CHN</i>	sense antisense	AGCAGTCAAATTATGATCAGCAGC GTGTATTCCGAGCTGTATGTCTGC	使用不可	17
<i>FKHR-PAX3</i>	sense antisense	CCGACAGCAGCTCTGCCTAC AACTGTGATCCAGGGCTGTC	未報告	9
<i>FKHR-PAX7</i>	sense antisense	CCGACAGCAGCTCTGCCTAC AACTGTGATCCAGGGCTGTC	未報告	9
<i>TLS/FUS-CHOP</i>	sense antisense	TTATAGCCAGTCCACGGACA TCATACCAGGCTTCCAGCTC	使用不可	10
<i>EWS-CHOP</i>	sense antisense	CCAGCCCAGCCTAGGATATGGACA CTGGACAGTGTCCCGAAGGAGAAA	未報告	18
<i>SYT-SSX</i>	sense antisense	CCAGCAGAGGCCTTATGGATA TTTGTTGGCCAGATGCTTC	使用可能	19
<i>COL1A1-PDGFB</i>	sense antisense	CCATCAACCTCTCTCATCGG CTTCAGCACGATGTCTCTCC	使用可能	19

*: パラフィン切片時には nested PCR が必要, **: 凍結材料にも nested PCR が必要.

文 献

- 1) Ladanyi, M. and Bridge, J. A. : Contribution of molecular genetic data to the classification of sarcomas. Hum Pathol 2000, 31 : 532-538
- 2) 黒田雅彦他: 軟部肉腫の遺伝子診断. 病理と臨床 2000, 18 : 653-657
- 3) Peter, M. et al. : A multiplex real-time PCR assay for the detection of gene fusions observed in solid tumors. Lab Invest 2001, 81 : 905-912
- 4) Nagao, K. et al. : Chromosomal rearrangement t(11;22) in extraskeletal Ewing's sarcoma and primitive neuroectodermal tumour analysed by fluorescence in situ

- hybridization using paraffin-embedded tissue. *J Pathol* 1997, **181** : 62-66
- 5) Nagao, K. et al. : Chromosomal translocation t(X;18) in human synovial sarcomas analyzed by fluorescence in situ hybridization using paraffin-embedded tissue. *Am J Pathol* 1996, **148** : 601-609
 - 6) Yoshida, H. et al. : Chromosomal translocations in human soft tissue sarcomas by interphase fluorescence in situ hybridization. *Pathol Int* 1997, **47** : 222-229
 - 7) Urano, F. et al. : Molecular analysis of Ewing's sarcoma : Another fusion gene, EWS-E1AF, available for diagnosis. *Jpn J Cancer Res* 1998, **89** : 703-711
 - 8) Zucman, J. et al. : EWS and ATF-1 gene fusion induced by t(12;22) translocation in malignant melanoma of soft parts. *Nature Genetics* 1993, **4** : 341-345
 - 9) Barr, F. G. et al. : Genetic heterogeneity in the alveolar rhabdomyosarcoma subset without typical gene fusions. *Cancer Res* 2002, **62** : 4704-4710
 - 10) Kuroda, M. et al. : Chimeric TLS/FUS-CHOP gene expression and the heterogeneity of its junction in human myxoid and round cell liposarcoma. *Am J Pathol* 1995, **147** : 1221-1227
 - 11) Adams, V. et al. : Detection of t(11;22)(q24;q12) translocation breakpoint in paraffin-embedded tissue of the Ewing's sarcoma family by nested reverse transcription-polymerase chain reaction. *Diagn Mol Pathol* 1996, **5** : 107-113
 - 12) Kaneko, Y. et al. : EWS-ERG fusion transcript produced by chromosomal insertion in a Ewing sarcoma. *Genes Chromosom Cancer* 1997, **18** : 228-231
 - 13) O'Sullivan, M. J. et al. : Visceral primitive peripheral neuroectodermal tumors : A clinicopathologic and molecular study. *Hum Pathol* 2001, **32** : 1109-1115
 - 14) 元井 亨 : 明細胞肉腫のキメラ遺伝子 EWS-ATF1 : 診断への応用. *病理と臨床* 2003, **21** : 584-592
 - 15) Lae, M. E. et al. : Desmoplastic small round cell tumor : A clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular study of 32 tumors. *Am J Surg Pathol* 2002, **26** : 823-835
 - 16) Panagopoulos, I. et al. : Fusion of the RBP56 and CHN genes in extraskeletal myxoid chondrosarcomas with translocation t(9;17)(q22;q11). *Oncogene* 1999, **18** : 7594-7598
 - 17) Panagopoulos, I. et al. : Molecular genetic characterization of the EWS/CHN and RBP56/CHN fusion genes in extraskeletal myxoid chondrosarcoma. *Genes Chromosom Cancer* 2002, **35** : 340-352
 - 18) Hosaka, T. et al. : A novel type of EWS-CHOP fusion gene in two cases of myxoid liposarcoma. *J Mol Diagn* 2002, **4** : 164-171
 - 19) Okamoto, S. et al. : Synovial sarcomas of three children in the first decade : Clinicopathological and molecular findings. *Pathol Int* 2000, **50** : 818-823

トピックス

キメラ遺伝子と軟部腫瘍の形態形成

Chimeric genes and morphogenesis of soft tissue tumors

松林 純* 黒田 雅彦**** 向井 清*

Jun Matsubayashi

Masahiko Kuroda

Kiyoshi Mukai

はじめに

近年の分子細胞生物学の進歩により、骨軟部腫瘍に関して画期的な研究がなされてきた。特に骨軟部腫瘍には特異的な染色体の相互転座が知られていたが、これらの腫瘍特異的な染色体転座の切断点から、次々と腫瘍特異的なキメラ遺伝子が単離同定された。この結果、いくつかの骨軟部腫瘍の分類がより明確に、また論理的に整理された。実例をあげると、*EWS-Fli-1* 遺伝子の発見は、従来問題となっていたEwing肉腫とPNETの関係を同一のtypeの腫瘍であることを明らかにした。また、*EWS-ATF1* 遺伝子の発見は、軟部の悪性黒色腫と考えられていた明細胞肉腫が皮膚の悪性黒色腫とは全く関係のないことを明白にした。また当然のことながら、これらの発見は病理診断にも大きな変化をもたらした。

Key words ▶

キメラ遺伝子 (chimeric gene)
軟部腫瘍 (soft tissue tumor)
形態形成 (morphogenesis)
分化 (differentiation)

*東京医科大学病理診断学講座
(〒160-0023 東京都新宿区西新宿6-7-1)

**東京医科大学病理学講座

***科学技術振興機構, CREST

****慶應義塾大学医学部リサーチパーク

た。一方、このような特異的なキメラ遺伝子がどのように腫瘍発生に関与しているかに関しては非常に難しい問題でいまだに不明な点が多い。しかし形態学的立場から考えると、これら腫瘍特異的なキメラ遺伝子が組織型にどのような影響を与えうるかに関しては非常に興味をもたれる。

本稿ではキメラ遺伝子と軟部腫瘍に焦点を絞り、これらの腫瘍特異的なキメラ遺伝子が組織型にどのような影響を与えうるか、いくつかの腫瘍に関して最近の知見を紹介する。

I. 粘液型脂肪肉腫：TLS-CHOPキメラ遺伝子と脂肪細胞の分化

*TLS-CHOP*キメラ遺伝子が発現する粘液型脂肪肉腫は、脂肪肉腫のなかでも最も高頻度にみられる亜型である。組織学的には、豊富な粘液と酸性多糖体を含む基質と、短紡錘形細胞および幼若な脂肪芽細胞の出現を特徴とする。これらの組織像は、一見幼若な脂肪細胞の分化を模倣しているとも考えられる。また、*TLS-CHOP*キメラ遺伝子を構成する*CHOP*遺伝子が脂肪細胞の分化のmaster regulatorである*C/EBP*ファミリーの転写因子であることなどから、*CHOP*遺伝子や*TLS-CHOP*キメラ遺伝子と脂肪分化の研究が行われてきた。その結果、*CHOP*遺伝子のみなら

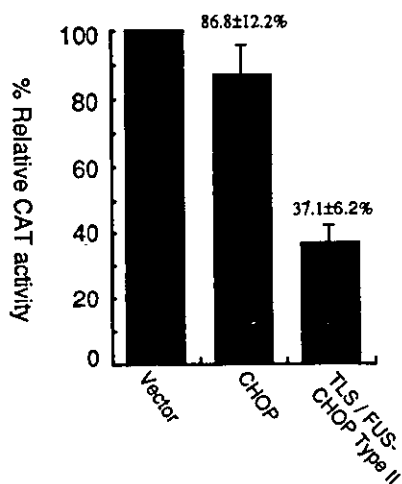


図1 TLS-CHOPキメラ遺伝子による *C/EBP α* 遺伝子のプロモーターの抑制
CHOPないし TLS-CHOPを高発現させた ST13細胞に *C/EBP α* 遺伝子のプロモーターを導入し、CATアッセイにて *C/EBP α* 遺伝子のプロモーター活性を検討した。TLS-CHOPを高発現させた細胞において、*C/EBP α* 遺伝子のプロモーターの活性が低下する(文献2より)。

ず TLS-CHOPキメラ遺伝子が、前脂肪細胞より成熟脂肪細胞への分化を阻害することが明らかになった^{1,2)}。また、TLS-CHOPキメラ遺伝子による脂肪分化の阻害には、TLS-CHOPキメラ遺伝子が直接 *C/EBP α* 遺伝子のプロモーターに作用し、*C/EBP α* 遺伝子の発現を抑制することも明らかになった(図1)²⁾。

また、われわれは、TLS-CHOPキメラ遺伝子と粘液型脂肪肉腫の腫瘍発生との関連を明らかにするために、TLS-CHOPキメラ遺

伝子の標的遺伝子の単離を試みた。その結果 DOL54 (Downstream of liposarcoma 54) 遺伝子の単離に成功した³⁾。さらに臨床検体を用いた検討においても、TLS-CHOPキメラ遺伝子の発現している粘液型脂肪肉腫に DOL54の発現が確認された。さらに DOL54 遺伝子産物を CHO細胞に強制発現させたところ、トランスフォーム活性が確認された。以上の結果から、DOL54は粘液型脂肪肉腫の癌遺伝子であり、粘液型脂肪肉腫の腫瘍発生に重要な役割をしていることが示された。

さてこの粘液型脂肪肉腫に特異的な癌遺伝子である DOL54は腫瘍の形態形成に関与しているのだろうか？

DOL54 遺伝子産物は、全長1404アミノ酸からなる巨大なタンパク質である。遺伝子産物の構造は、mucin-homology domain, vitronectin-related sequenceを持ち、また signal peptideを持つことから分泌型の細胞外マトリックス蛋白質と考えられる(図2)。また、マウス正常組織における DOL54の発現を検討すると、3週齢の幼若な白色脂肪細胞に発現がみられるが、成熟した白色脂肪細胞には発現が確認できなかった。この事実からさらに、脂肪細胞の分化に注目し、脂肪細胞の分化過程における DOL54の発現を検討すると、DOL54は脂肪細胞の分化過程において一過性に発現していることが明らかになった(図3)。さらに、DOL54特異的抗体を作製し、免疫組織化学的に腫瘍組織における DOL54

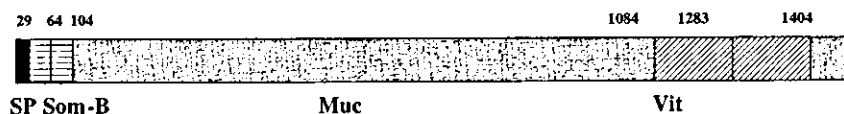


図2 DOL54 遺伝子産物の構造(文献3より)

SP: signal peptide, Som-B: somatomedine B like repeats, Muc: mucin-homology domain, Vit: vitronectin-related sequence

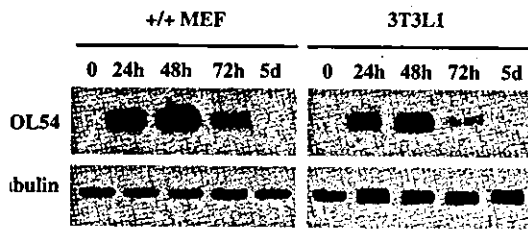


図3 脂肪細胞分化における*DOL54*mRNAの発現
脂肪細胞に分化誘導可能な培養細胞, MEF(マウス胎児線維芽細胞), 3T3L1を用いPPAR γ により脂肪分化誘導を行った。*DOL54*のmRNAは誘導後24, 72時間後に確認される(文献3より)。

産物の局在を検討した。その結果*DOL54*は、腫瘍細胞の胞体内や幼若な脂肪細胞であるlipoblastに強い発現がみられた。以上の結果から、*DOL54*は脂肪細胞の分化に密接に関わり、粘液型脂肪肉腫の間質の形成に関与していることが示唆された。

図4はこれらの結果に基づいて、*TLS-CHOP*キメラ遺伝子による粘液型脂肪肉腫の腫瘍化のメカニズムを模式的に示したものである。

また、最近われわれは、*DOL54*遺伝子が粘液型脂肪肉腫のみならず、悪性線維性組織

球腫においても高発現していることを明らかにした⁴⁾。悪性線維性組織球腫は、分化の低い腫瘍であり脂肪分化の組織形態はとらないが、一部で脂肪肉腫に類似する粘液型悪性線維性組織球腫も存在する。詳細な検討が待たれるが、この粘液型悪性線維性組織球腫の形態形成にも*DOL54*遺伝子が関与している可能性は十分に考えられる。

II. 二相型滑膜肉腫：上皮性成分がどのようにして形づくられているか？

滑膜肉腫は比較的若年の四肢の関節近傍に好発する悪性軟部腫瘍である。腫瘍細胞の起源に関しては、以前は関節の滑膜被覆細胞から生ずると考えられていた。現在では、その起源について、上皮細胞あるいは非上皮細胞のいずれへの分化能をもつ多能性幹細胞、脱分化を示す上皮細胞などの可能性が考えられている⁵⁾。

組織学的には管腔構造を呈する上皮細胞様成分と線維肉腫に類似した紡錘形細胞成分の有無により、①二相型、②单相線維型、③単

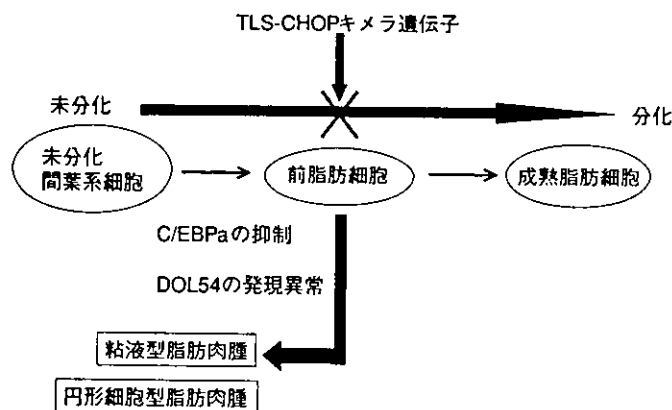


図4 *TLS-CHOP*キメラ遺伝子による発癌機構のモデル
*TLS-CHOP*キメラ遺伝子は、前脂肪細胞の段階で、脂肪分化抑制に働き、その形態形成に関与していると考えられる。

相上皮型, ④低分化型に分類される。興味深いことにSYT-SSXキメラ遺伝子は, 上皮細胞, 紡錘形細胞の有無にかかわらず, いずれの組織型でも同定される。また, 最近のDNAマイクロアレイの研究から, 滑膜肉腫には, 上皮への分化に関与する多くの遺伝子の発現が確認されている。

この滑膜肉腫の上皮への分化にSYT-SSXキメラ遺伝子がどのように関与するかについていまだ不明な点が多い。滑膜肉腫に上皮様形態形成の分子メカニズムとして, c-met-HGFシステムが報告されており^{6,7)}, このメカニズムにSYT-SSXキメラ遺伝子がどのように関与しているか, 興味をもたれるところではある。

Ⅲ. Ewing肉腫/PNET: Ewing肉腫とPNETとの関係

Ewing肉腫と末梢性未分化神経上皮腫 peripheral nerve sheath tumor (PNET) は, 異なる腫瘍として認識されていた。

病理組織学的にEwing肉腫では, 小型類円形細胞が, 胞巣状あるいは特定の配列を示さずにびまん性に増殖する。核のクロマチンは増量し, グリコーゲンを豊富に含む淡明な胞体を有し, 細胞境界は不明瞭である。PNETはEwing肉腫と類似した小型類円形細胞がびまん性に増殖する。しばしばHomer-Wright型ロゼットがみられる。胞体にはPAS陽性の顆粒を伴わないことが多い。

免疫組織化学的には neuron specific enolase, neurofilament, Leu7が陽性となり, 神経への分化を示唆する所見がみられる。抗MIC2 (CD99) 抗体を用いた免疫染色は, 両者の多くの症例において陽性を示す。

また, 両者はいずれも共通した染色体転座

t(11;22)(q12;q24)がみられることがわかり, EWS-Fli-1をはじめとしてEWS遺伝子とERG, ETV1, EIAFなどのets認識領域を有する蛋白質をコードする遺伝子とのキメラ遺伝子が同定された。

このように病理組織学的に, 免疫組織化学的に類似した所見がみられ, 共通するキメラ遺伝子が認められることから, 現在ではEwing肉腫とPNETは, 生物学的に同一の腫瘍群とみなされて, Ewing肉腫/PNET腫瘍群 (the Ewing family of tumors) としてとらえられるようになった。

EWS-etsキメラ遺伝子は, Ewing肉腫/PNET腫瘍群の組織構築にどのような影響を与えているか。表1に示すように現在までに多くのEWS-etsキメラ遺伝子産物の標的遺伝子が単離されているが, 最近EWS-etsキメラ遺伝子が分化抑制遺伝子であるId2を直接標的としていることが明らかになった^{8,9)}。以前よりEwing肉腫由来の培養細胞が分化誘導により神経形質を発現するという事実が知られており, Ewing肉腫/PNET腫瘍群は神経分化能を有する間葉系細胞由来の腫瘍であることが想定されていた。一方でId2は筋系ないし血球系への分化を抑制するが, 神経系へ分化の過程では, Id蛋白は必ずしも抑制に作用しているわけではない。以上のことを考慮すると, Ewing肉腫は未分化な形態を有し, Id2により, 神経系以外の分化が抑制される。PNETに相当する病変は, 分化誘導により神経系に分化したものであり, 全体としてEwing肉腫/PNET腫瘍群を形づくっているのではないかと考えられてきている。

まとめ

今回紹介した腫瘍をはじめいくつかの軟部

表1 キメラ遺伝子の標的遺伝子

組織型	キメラ遺伝子	標的遺伝子	文献
Ewing/PNET腫瘍	<i>EWS-ets*</i>	<i>MFNG</i>	12
		<i>PIM3</i>	13
		<i>P21^{WAF1/CIP1}</i>	14
		<i>Tenascin-C</i>	15
		<i>Id2</i>	8, 9
		<i>COL11A2</i>	16
		<i>BARD1</i>	17
		<i>TGF β-RII</i>	18
明細胞肉腫	<i>EWS-ATF1</i>	<i>POSH</i>	19
		<i>CBP/p300</i>	20
線維形成性小細胞腫瘍	<i>EWS-WT1</i>	<i>BAIAP3</i>	21
		<i>PDGF A</i>	22
		<i>IL-2/15Rb</i>	23
		<i>IGF-1</i>	24
粘液型/円形細胞型脂肪肉腫	<i>TLS-CHOP</i>	<i>DOL54</i>	3
		<i>glia-derived nexin</i>	25
		<i>neuronatin</i>	25
		<i>RET</i>	25
胞巣型横紋筋肉腫	<i>PAX3-FKHR</i>	<i>Itm2A</i>	26
		<i>Fath</i>	26
		<i>FLT1</i>	26
		<i>TGFα</i>	26
		<i>BVES</i>	26
		<i>EN2</i>	26
		<i>IGF-1 receptor</i>	27
		<i>BCL-XL</i>	28
		<i>PDGFαreceptor</i>	29
滑膜肉腫	<i>SYT-SSX</i>	<i>cyclin D1</i>	10
		<i>DCC</i>	11
		<i>hBRM/hSNF2 a</i>	11

**Fli-1*, *ERG*などのETS family 遺伝子を*ets*で代用して*EWS-ets*とした。

腫瘍では、病理組織像とキメラ遺伝子が密接にかかわっていることが分子レベルで解釈できるようになってきた。

特に軟部腫瘍の腫瘍組織発生および形態形成には細胞の分化が関与しているが、その細胞分化の異常にはキメラ遺伝子が関与していることは非常に興味深い。

個々のキメラ遺伝子がそれぞれの軟部腫瘍に特異的に発現する事実から、キメラ遺伝子

を検出することが、診断の補助、また確定診断の重要な根拠として実際に臨床の現場で用いられてきている。このようにキメラ遺伝子の解明は、軟部肉腫の病理組織診断精度が向上に寄与している。また組織発生母地、腫瘍の進展機序、発癌機構の解明、予後因子の同定、さらに分化誘導療法や分子標的治療においても、大いに役立つものと考えられる。

文 献

- 1) Batchvarova N, Wang XZ, Ron D : Inhibition of adipogenesis by the stress-induced protein CHOP (Gadd153). *EMBO J* 14 : 4654-4661, 1995
- 2) Kuroda M, Ishida T, Takanashi M et al : Oncogenic transformation and inhibition of adipocytic conversion of preadipocytes by TLS/FUS-CHOP type II chimeric protein. *Am J Pathol* 51 : 735-744, 1997
- 3) Kuroda M, Wang X, Sok J et al : Induction of a secreted protein by the myxoid liposarcoma oncogene. *Proc Natl Acad Sci USA* 96 : 5025-5030, 1999
- 4) Domoto H, Hosaka T, Oikawa K et al : TLS-CHOP target gene DOL 54 expression in liposarcomas and malignant fibrous histiocytomas. *Pathol Int* 52 : 497-500, 2002
- 5) Allander SV, Illei PB, Chen Y et al : Expression profiling of synovial sarcoma by cDNA microarrays: association of ERBB2, IGFB2, and ELF3 with epithelial differentiation. *Am J Pathol* 161 : 1587-1595, 2002
- 6) Motoi T, Ishida T, Kuroda M et al : Coexpression of hepatocyte growth factor and c-Met proto-oncogene product in synovial sarcoma. *Pathol Int* 48 : 769-775, 1998
- 7) Oda Y, Sakamoto A, Saito T et al : Expression of hepatocyte growth factor (HGF)/scatter factor and its receptor c-MET correlates with poor prognosis in synovial sarcoma. *Hum Pathol* 31 : 185-192, 2000
- 8) Fukuma M, Okita H, Hata J et al : Upregulation of Id2, an oncogenic helix-loop-helix protein, is mediated by the chimeric EWS/ets protein in Ewing sarcoma. *Oncogene* 22 : 1-9, 2003
- 9) Nishimori H, Sasaki Y, Yoshida K et al : The Id2 gene is a novel target of transcriptional activation by EWS-ETS fusion proteins in Ewing family tumors. *Oncogene* 21 : 8302-8309, 2002
- 10) Xie Y, Skytting B, Nilsson G et al : SYT-SSX is critical for cyclin D1 expression in synovial sarcoma cells: a gain of function of the t (X;18) (p11.2;q11.2) translocation. *Cancer Res* 62 : 3861-3867, 2002
- 11) Nagai M, Tanaka S, Tsuda M et al : Analysis of transforming activity of human synovial sarcoma-associated chimeric protein SYT-SSX1 bound to chromatin remodeling factor hBRM/hSNF2 alpha. *Proc Natl Acad Sci USA* 98 : 3843-3848, 2001
- 12) May WA, Arvand A, Thompson AD et al : EWS/Fli1-induced manic fringe renders NIH 3T3 cells tumorigenic. *Nat Genet* 17 : 495-497, 1997
- 13) Deneen B, Welford SM, Ho T et al : PIM3 proto-oncogene kinase is a common transcriptional target of divergent EWS-ETS oncoproteins. *Mol Cell Biol* 23 : 3897-3908, 2003
- 14) Nakatani F, Tanaka K, Sakimura R et al : Identification of p21WAF1/CIP1 as a direct target of EWS-Fli1 oncogenic fusion protein. *J Biol Chem* 278 : 15105-15115, 2003
- 15) Watanabe G, Nishimori H, Irifune H et al : Induction of tenascin-C by tumor-specific EWS-ETS fusion genes. *Genes Chromosomes Cancer* 36 : 224-232, 2003
- 16) Matsui Y, Chansky HA, Barahmand-Pour F et al : COL11A2 collagen gene transcription is differentially regulated by EWS/ERG sarcoma fusion protein and wild-type ERG. *J Biol Chem* 278 : 11369-11375, 2003
- 17) Spahn L, Petermann R, Siligan C et al : Interaction of the EWS NH2 terminus with BARD1 links the Ewing's sarcoma gene to a common tumor suppressor pathway. *Cancer Res* 62 : 4583-4587, 2002
- 18) Im YH et al : EWS-FLI1, EWS-ERG, and EWS-ETV1 oncoproteins of Ewing tumor family all suppress transcription of transforming growth factor beta type II receptor gene. *Cancer Res* 60 : 1536-1540, 2000
- 19) Jishage M, Fujino T, Yamazaki Y et al : Identification of target genes for EWS/ATF-1 chimeric transcription factor. *Oncogene* 22 : 41-49, 2003
- 20) Fujimura Y, Siddique H, Lee L et al : EWS-ATF-1 chimeric protein in soft tissue clear cell sarcoma associates with CREB-binding protein and interferes with p53-mediated trans-activation function. *Oncogene* 20 : 6653-6659, 2001
- 21) Palmer RE, Lee SB, Wong JC et al : Induction of BAIAP3 by the EWS-WT1 chimeric fusion implicates regulated exocytosis in tumorigenesis. *Cancer Cell* 2 : 497-505, 2002
- 22) Lee SB, Kolquist KA, Nichols K et al : The EWS-WT1 translocation product induces PDGFA in desmoplastic small round-cell tumour. *Nat Genet* 17 : 309-313, 1997
- 23) Wong JC et al : Induction of the interleukin-2/15

- receptor beta-chain by the EWS-WT1 translocation product. *Oncogene* 21 : 2009–2019, 2002
- 24) Finkelton I, Kuhn S, Glaser T et al : Transcriptional regulation of IGF-I receptor gene expression by novel isoforms of the EWS-WT1 fusion protein. *Oncogene* 21 : 1890–1898, 2002
- 25) Thelin-Jarnum S, Lassen C, Panagopoulos I et al : Identification of genes differentially expressed in TLS-CHOP carrying myxoid liposarcomas. *Int J Cancer* 83 : 30–33, 1999
- 26) Barber TD, Barber MC, Tomescu O et al : Identification of target genes regulated by PAX3 and PAX3-FKHR in embryogenesis and alveolar rhabdomyosarcoma. *Genomics* 79 : 278–284, 2002
- 27) Ayalon D, Glaser T, Werner H : Transcriptional regulation of IGF-I receptor gene expression by the PAX3-FKHR oncoprotein. *Growth Horm IGF Res* 11 : 289–297, 2001
- 28) Margue CM, Bernasconi M, Barr FG et al : Transcriptional modulation of the anti-apoptotic protein BCL-XL by the paired box transcription factors PAX3 and PAX3/FKHR. *Oncogene* 19 : 2921–2929, 2000
- 29) Epstein JA, Song B, Lakkis M et al : Tumor not PAX3, activates the platelet-derived growth factor alpha receptor. *Mol Cell Biol* 18 : 4118–4130, 1998

* * *

キメラ遺伝子と形態形成 —染色体テリトリーの関与—

黒田雅彦*1,2 吉田恵一*1 及川恒輔*1,2 石田 剛*3 向井 清*1

はじめに

染色体転座によって形成されるキメラ遺伝子は、軟部肉腫、白血病細胞の特異的な遺伝子異常として知られている。最近の10年間で多くのキメラ遺伝子の同定が行われたが、このような特異的なキメラ遺伝子がどのように腫瘍発生に関与しているかについては非常に難しい問題で未だに不明な点が多い。しかし、形態学的立場から考えると、これら腫瘍特異的なキメラ遺伝子が組織型にどのような影響を与えうるか非常に興味もたれる。また、どのような理由で軟部肉腫や血液系の腫瘍でのみ、このような遺伝子異常が起こるかという点も興味深い。このような背景から、本稿では特に、キメラ遺伝子がどのようなメカニズムで腫瘍の形態形成に関与するのか、最近の知見を紹介する。

I. キメラ遺伝子の下流遺伝子

多くの上皮性腫瘍においては、がん遺伝子とがん抑制遺伝子の複数の遺伝子の変異の存在が明らかになっているが、軟部腫瘍ではこれらの遺伝子群の変異はきわめて少ない。その一方で上皮性腫瘍にはみられない染色体の相互あるいは均衡型の転座が多くの軟部腫瘍に認められる。近年の分子レベルでの解析により、これら転座型の染色体変異によるキメラ遺伝子の存在が明らかにされてきた(表1)。キメラ遺伝子の機能に関して未解決な問題は依然として残るが、多くのキメラ遺伝子産物がトランスフォーメーション活性をもつこと、またキメラ遺伝子自体が腫瘍特異的な遺伝子であることから、キメラ遺伝子が腫瘍発生に重要な役割を果たしていることは、まず間違いのない事実であろう。

一方、多くのキメラ遺伝子は腫瘍特異的な遺伝子で

あることから、その腫瘍化の分子メカニズムを検討する目的で、現在までにキメラ遺伝子産物の下流に存在する標的分子の単離が精力的に行われている。その結果を表2にまとめた。特にEwing/PNET腫瘍のキメラ遺伝子である*EWS-ets*の研究が多く行われているが、実際にキメラ遺伝子産物の下流に存在する分子をみると、(1)細胞の増殖に作用する因子、(2)遺伝子の発現に関与する分子、また(3)細胞の分化に関与する因子というように3つに大きく分けられる。このことから、腫瘍特異的なキメラ遺伝子が、腫瘍発生のみならず腫瘍の特異的な形態形成に関与する可能性も考えられる。われわれは特に粘液型脂肪肉腫の原因とされる*TLS-CHOP*キメラ遺伝子と脂肪分化の研究を行い、*TLS-CHOP*キメラ遺伝子と粘液型脂肪肉腫の形態形成に関し興味深い結果を得ている。以下は特に、われわれの最近の研究結果である粘液型脂肪肉腫の研究から推定されるキメラ遺伝子による腫瘍発生の問題、Ewing/PNET腫瘍のキメラ遺伝子である*EWS-ets*の下流遺伝子の話題、それから最近注目されている染色体テリトリーと染色体転座の関与についてまとめてみたい。

II. キメラ遺伝子と形態形成

1. 粘液型脂肪肉腫：*TLS-CHOP*キメラ遺伝子と脂肪細胞の分化

*TLS-CHOP*キメラ遺伝子が発現する粘液型脂肪肉腫は、脂肪肉腫のなかでも最も高頻度に見られる亜型である。組織学的には、豊富な粘液と酸性多糖体を含む基質と、短紡錘形細胞および幼若な脂肪芽細胞の出現が特徴である。このような組織像は、一見幼若な脂肪細胞の分化を模倣しているとも考えられる。また、*TLS-CHOP*キメラ遺伝子を構成する*CHOP*遺伝子が脂肪細胞の分化のmaster regulatorである*C/EBP*ファミリーの転写因子であることなどから、*CHOP*遺伝子や*TLS-CHOP*キメラ遺伝子と脂肪分化の研究が行われてきた。その結果、*CHOP*遺伝子

*1東京医科大学病理学第一講座

*2科学技術振興機構CREST

*3NTT東日本関東病院病理診断部

表1 軟部腫瘍におけるキメラ遺伝子

組織型	特異的染色体転座	キメラ遺伝子	想定される機能
PNET/Ewing's sarcoma	t(11;22)(q24;q12)	<i>EWS-FLI1</i>	Ets-like DNA binding Gln-Ser-Try/Gly-rich/RNA binding
	t(21;22)(q22;q12)	<i>EWS-ERG</i>	Ets-like DNA binding Gln-Ser-Try/Gly-rich/RNA binding
	t(7;22)(p22;q12)	<i>EWS-ETV1</i>	Ets-like DNA binding Gln-Ser-Try/Gly-rich/RNA binding
	t(9;22)(q12;q12)	<i>EWS-E1A-F</i>	DNA binding (adenovirus E1A enhancer-binding) Gln-Ser-Try/Gly-rich/RNA binding
Clear cell sarcoma	t(12;22)(q13;q12)	<i>EWS-ATF1</i>	bZIP DNA binding Gln-Ser-Try/Gly-rich/RNA binding
Desmoplastic small round cell tumor	t(11;22)(p13;q12)	<i>EWS-WT1</i>	DNA binding Gln-Ser-Try/Gly-rich/RNA binding
Extraskeletal myxoid chondrosarcoma	t(9;22)(q22;q12)	<i>EWS-CHN</i>	DNA binding Gln-Ser-Try/Gly-rich/RNA binding
	t(9;17)(q22;q11)	<i>TAFII68/RBP56-CHN</i>	DNA binding Gln-Ser-Try/Gly-rich/RNA binding
Alveolar rhabdomyosarcoma	t(2;13)(q35;q14)	<i>FKHR-PAX3</i>	Paired box/homeodomain Forkhead DNA binding
	t(1;13)(p36;q14)	<i>FKHR-PAX7</i>	Paired box/homeodomain Forkhead DNA binding
Myxoid liposarcoma	t(12;16)(q13;p11)	<i>TLS/FUS-CHOP</i>	DNA binding/ZIP Gln-Ser-Try/Gly-rich/RNA binding
	t(12;22)(q12;q13)	<i>EWS-CHOP</i>	DNA binding/ZIP Gln-Ser-Try/Gly-rich/RNA binding
Synovial sarcoma	t(X;18)(p11;q11)	<i>SYT-SSX</i>	Kruppel-associated box/None identified None identified None identified
Dermatofibrosarcoma protuberans	t(17;12)(q22;q13)	<i>COL1A1-PDGFB</i>	Extracellular matrix Growth factor
Congenital/infantile fibrosarcoma	t(12;15)(p13;q25)	<i>ETV6-NTRK3</i>	helix-loop-helix (HLH) protein tyrosine kinase receptors

のみならず、*TLS-CHOP* キメラ遺伝子が前脂肪細胞から成熟脂肪細胞への分化を阻害することが明らかになった^{1,2)}。また、*TLS-CHOP* キメラ遺伝子による脂肪分化阻害において、*TLS-CHOP* キメラ遺伝子が直接的に *C/EBP α* 遺伝子のプロモーターに働きかけることも明らかとなった²⁾。

また、われわれは、*TLS-CHOP* キメラ遺伝子と粘液型脂肪肉腫との腫瘍発生の関連を明らかにする目的で、*TLS-CHOP* キメラ遺伝子の標的遺伝子の単離を試みた。その結果 *DOL54* (downstream of liposarcoma 54) 遺伝子の単離に成功した³⁾。実際の臨床検体を用いた検討でも、*TLS-CHOP* キメラ遺伝子の発現している粘液型脂肪肉腫に *DOL54* の発現が確認された。さらに *DOL54* 遺伝子産物を CHO 細胞に強制発現させたところ、トランスフォーム活性が確認された。この結果から、*DOL54* は粘液型脂肪肉腫のがん

遺伝子であることが示された。それでは、この粘液型脂肪肉腫特異的がん遺伝子である *DOL54* は、腫瘍の形態形成にも関与しているのだろうか？

DOL54 遺伝子産物は、全長 1,404 アミノ酸から成る巨大な蛋白質である。構造的には、内部に mucin-homology domain, vitronectin-related sequence をもち、また signal peptide をもつことから分泌型の細胞外マトリックス蛋白質と考えられる。また、マウス正常組織における *DOL54* の発現を検討すると、3 週齢の幼若な白色脂肪細胞に発現がみられるが、成熟した白色脂肪細胞には発現が確認できなかった。この事実からさらに、脂肪細胞の分化に注目し、脂肪細胞の分化過程における *DOL54* の発現を検討すると、*DOL54* は脂肪細胞の分化過程において一過性に発現していることが明らかになった。この結果から、*DOL54* は脂肪細胞の分化に密接な関連をしているこ

表2 キメラ遺伝子の下流遺伝子

組織型	キメラ遺伝子	標的遺伝子	文献
Ewing/PNET 腫瘍	EWS-ets*	MFNG	17
		PIM3	18
		P21 ^{WAF1/CIP1}	19
		Tenascin-C	20
		Id2	5,6
		COL11A2	21
		BARD1	22
		TGFβ-RII	23
明細胞肉腫	EWS-ATF1	POSH	24
		CBP/p300	25
線維形成性小細胞腫瘍	EWS-WT1	BAIAP3	26
		PDGF A	27
		IL-2/15Rβ	28
		IGF-1	29
粘液型/円形細胞型脂肪肉腫	TLS-CHOP	DOL54	3
		glia-derived nexin	30
		neuronatin	30
		RET	30
胞巣型横紋筋肉腫	PAX3-FKHR	Itih2A	31
		Fath	31
		FLT1	31
		TGFα	31
		BVES	31
		EN2	31
		IGF-1 receptor	32
		BCL-XL	33
		PDGFα receptor	34
滑膜肉腫	SYT-SSX	cyclin D1	6
		DCC	7
		hBRM/hSNF2α	7

*: *Fli-1*, *ERG* などの ETS family 遺伝子を *ets* で代用して EWS-ets とした。

とが示唆された。さらに、*DOL54* 特異的抗体を作製し、免疫組織化学的に、腫瘍組織における *DOL54* 遺伝子産物の局在を検討した。その結果 *DOL54* は、腫瘍細胞の胞体内や幼若な脂肪細胞である lipoblast に強い発現がみられた。以上の結果から、*TLS-CHOP* キメラ遺伝子産物は、*C/EBPα* や *DOL54* 遺伝子の発現を制御することにより、粘液型脂肪肉腫の幼若な脂肪細胞、粘液性間質の形成に関与している可能性が示唆された。

2. Ewing/PNET 腫瘍

歴史的には、異なる腫瘍として認識されていた Ewing 腫瘍と末梢性未分化神経上皮腫 peripheral primitive neuroectodermal tumor (PNET) は、共通したキメラ遺伝子の同定によって現在、Ewing/PNET 腫瘍 (Ewing family tumor) として同一の腫瘍群として取り扱われている。病理形態学的に典型的な

Ewing 肉腫では、小型の類円形の腫瘍細胞の細胞境界は不明瞭で、一定の配列を示さずに増殖する。またグリコーゲンを豊富に含む胞体を有する。一方 PNET では、Ewing 肉腫同様の腫瘍細胞がびまん性に増殖するが、Homer Wright 型のロゼットがしばしば認められるのが特徴であり、免疫組織化学的にも神経形質が認められる。現在では、この両者の腫瘍は Ewing/PNET 腫瘍群として生物学的にきわめて類似した腫瘍であることが示されたため、未熟な形質を示す群が Ewing 肉腫であり、神経形質を明瞭に示す群が PNET であると考えられるようになってきた⁴⁾。

それでは、Ewing/PNET 腫瘍にみられる EWS-ets キメラ遺伝子は、Ewing/PNET 腫瘍の組織構築にどのような影響を与えているのだろうか？ 表2に示すように現在までに多くの EWS-ets キメラ遺伝子産物の下流の遺伝子が単離されているが、最近 EWS

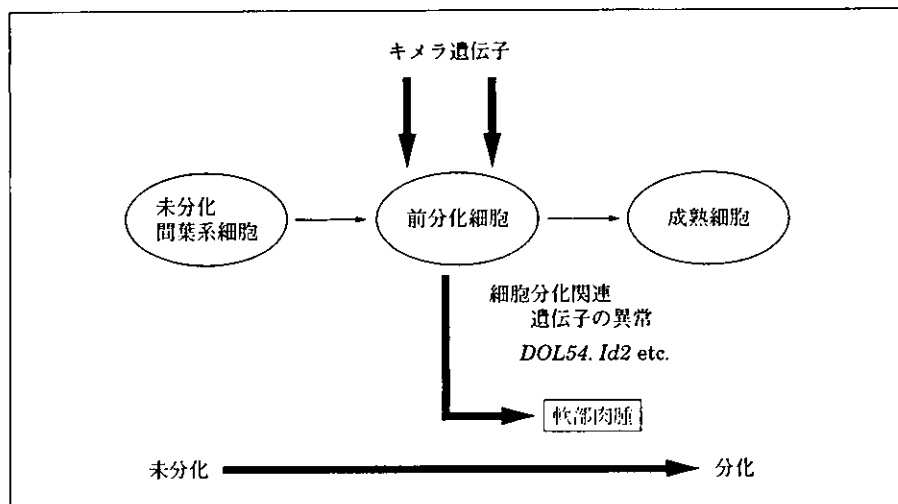


図1 キメラ遺伝子による発がん機構のモデル図 キメラ遺伝子は、成熟前の細胞の段階で細胞分化に異常を与え、その形態形成に関与していると考えられる。

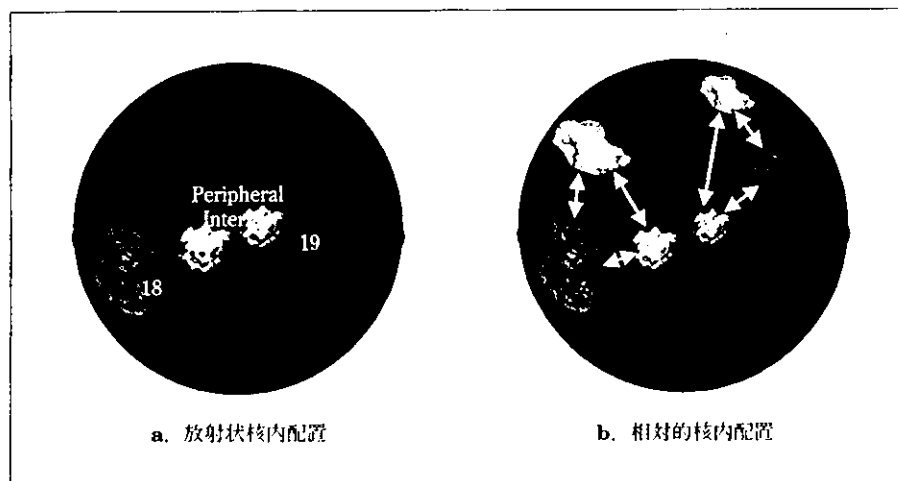


図2 染色体テリトリー概念 染色体の核内配置には、(a)放射状の核内配置という概念と、(b)相対的核内配置という概念が存在する。本文にも記載したが、遺伝子密度の高い染色体は核の“interior”に、遺伝子密度の低い染色体は“peripheral”に存在するという事実はaの概念によって規定され、一方、隣接する染色体同士によっても染色体の核内配置が規定されうるとする考え方がbの考え方である(文献11より改変)。

-ets キメラ遺伝子が、分化抑制遺伝子である *Id2* を直接の target としていることが明らかになった^{5,6)}。以前より Ewing 肉腫由来の培養細胞が分化誘導により神経形質を発現する事実が知られているが、この事実から Ewing/PNET 腫瘍は神経分化能をもった間葉系細胞由来の腫瘍であることが想定された。一方 *Id2* は筋系ないし血球系への分化を抑制することが知られている。以上のことを考慮すると、*EWS-ets* キメラ遺伝子が標的遺伝子の *Id2* を高発現させることにより、Ewing/PNET 腫瘍の分化を抑制した未分化な形態形成に深く関与する可能性が考えられる。

以上の2つのキメラ遺伝子の下流遺伝子に共通していることは、細胞の分化に密接に関与している遺伝子であるという事実である。この事実に基づいて、キメ

ラ遺伝子による軟部腫瘍の腫瘍化のメカニズムを図1のように模式的に示した。キメラ遺伝子は、細胞の分化に必須の遺伝子の発現調節に異常を与えることにより、腫瘍化と形態形成に影響を及ぼしていると考えられる。

III. 染色体テリトリーとキメラ遺伝子

1. 染色体テリトリーの概念

近年の染色体の解析技術の進歩から、全染色体ペインティングプローブを用いて、間期における三次元レベルでの FISH 解析が可能になった(3D-FISH)。その結果、培養細胞を用いた研究から、染色体の核内配置はランダムでなく、一定の領域、すなわち染色体テリトリーをもつことが報告されている。すなわち、核の中心付近 interior から核膜周辺部 periphery につ

ての放射状の核内配置 radial positioning を考えた時、個々の染色体のサイズや遺伝子密度と、その放射状の分布領域とが密接に相関していることが示唆されている⁷⁻¹³⁾。興味深いことに、ヒトリンパ球細胞において、ほぼ同サイズだが遺伝子密度が極端に異なるヒト18番染色体と19番染色体を比べると、遺伝子密度の低い18番染色体は核膜周辺部に、遺伝子密度の高い19番染色体は核の中心付近に局在することが知られている(図2)⁷⁻⁹⁾。このように、染色体の遺伝子密度に相関した核内配置は、18番染色体、19番染色体に限らず、全ての染色体にみられる傾向である¹⁰⁾。またこれらの遺伝子密度に相関した放射状核内配置はさまざまな種の霊長類で保存されていることから、生物学上機能的な意味をもつことが示唆されている¹³⁾。また、この放射状の核内配置に対し、染色体の相互の位置関係、すなわち相対的な核内配置 relative positioning という観点から染色体のテリトリーを考えることもできる¹⁴⁾。ただし、幾つかのグループは、この相対的な核内配置に対し異論を唱えており、さらなる検討が必要と考える。これらの問題に関しては田辺の総説を参考にされたい¹⁴⁾。

2. 染色体テリトリーと染色体転座

さて、染色体の相互転座の分子メカニズムは未だに不明だが、現時点ではDNAの二重鎖切断(DSB)が異なる染色体上で生じ、それらが組み換えを起こすことで形成されると考えられている。よって、転座を起こす染色体の切断点が物理的に接触しなければ転座は起こりえない。すなわち、空間的に近接した染色体は、互いに遠方に配置されているものに比べ、転座を起こす確率が高いと考えられる。この点でBickmoreらは、Chromosome Abnormality Database(DAB; <http://www.hgmp.mrc.ac.uk/located/Cad.Premble.html>)を検索し、頻度の高い染色体転座を調べ、放射状核内配置が同じ領域にある染色体間での転座の頻度には、染色体のサイズと遺伝子密度の影響があると考えられると報告している¹⁵⁾。またParadaらは、ATM^{-/-}由来のマウス悪性リンパ腫細胞株における2本の転座染色体T12(12;14)、T14(14;15)の相対核内配置を調べた結果、T12とT14は互いにassociationしており、マウスの正常脾臓の細胞でも、転座を起こす前の3本の染色体(12;14;15)がトリプレットクラスターを高頻度に形成していると報告している¹⁶⁾。これらの結果は、染色体の核内配置が染色体転座と直接的に関与している事実を示すものである。

一方で、キメラ遺伝子が原因となる軟部腫瘍を考え

ると、なぜ特異的染色体転座が特異的な細胞のlineageで出現するかという疑問に突き当たる。上皮性腫瘍ではみられない染色体変化が、なぜ血液系の腫瘍と軟部腫瘍に起こるのかは、大きな問題である。このような背景から、現在われわれは染色体の核内配置の異常が軟部腫瘍の発生の重要な鍵であると考えている。特にわれわれは、粘液型脂肪肉腫の原因遺伝子であるTLS-CHOPキメラ遺伝子に注目し、そのキメラ形成がt(12;16)に起因することから、12番染色体と16番染色体の核内配置を同定し、非常に興味深い結果を得ている(Yoshida et al. 投稿準備中)。

ま と め

Ewing/PNET腫瘍において、初めてキメラ遺伝子が同定されてから12年が経過し、それ以後多くの軟部腫瘍でキメラ遺伝子が単離同定された。その後の分子生物学的な解析により、これらの腫瘍特異的なキメラ遺伝子が、それぞれの腫瘍の発生において重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。一方、幾つかの腫瘍では、今回述べてきたように病理形態学像とキメラ遺伝子の関与が分子レベルで説明できるようになってきた。その結果、細胞の分化異常と軟部腫瘍の形態像に、キメラ遺伝子が関与することが示された。治療を考えるうえでも細胞の分化療法は効果的なことが示されている。また、染色体テリトリーと染色体転座の問題も重要である。今後はこのような視点からさらにキメラ遺伝子形成の分子メカニズムに関する研究は重要になってくると考えられる。

謝辞：本稿の執筆にあたり、総合研究大学院大学先端科学研究科生命体科学専攻 田辺秀之博士の多大なる協力に感謝します。

文 献

- 1) Batchvarova, N. et al. : Inhibition of adipogenesis by the stress-induced protein CHOP (Gadd153). *EMBO J* 1995, **14** : 4654-4661
- 2) Kuroda, M. et al. : Oncogenic transformation and inhibition of adipocytic conversion of preadipocytes by TLS/FUS-CHOP type II chimeric protein. *Am J Pathol* 1997, **151** : 735-744
- 3) Kuroda, M. et al. : Induction of a secreted protein by the myxoid liposarcoma oncogene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999, **96** : 5025-5030
- 4) Kovar, H. : Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumors after their genetic union. *Curr Opin Oncol* 1998, **10** : 334-342
- 5) Fukuma, M. et al. : Upregulation of Id2, an on-

- cogenic helix-loop-helix protein, is mediated by the chimeric EWS/ets protein in Ewing sarcoma. *Oncogene* 2003, **22** : 1-9
- 6) Nishimori, H. et al. : The Id2 gene is a novel target of transcriptional activation by EWS-ETS fusion proteins in Ewing family tumors. *Oncogene* 2002, **21** : 8302-8309
 - 7) Croft, J. A. et al. : Differences in the localization and morphology of chromosomes in the human nucleus. *J Cell Biol* 1999, **145** : 1119-1131
 - 8) Bridger, J. M. et al. : Remodeling of nuclear architecture in quiescent and senescent human fibroblasts. *Curr Biol* 2000, **10** : 149-152
 - 9) Cremer, M. et al. : Non-random radial higher-order chromatin arrangements in nuclei of diploid human cells. *Chromosome Res* 2001, **9** : 541-567
 - 10) Boyle, S. et al. : The spatial organization of human chromosomes within the nuclei of normal and emerin-mutant cells. *Hum Mol Genet* 2001, **10** : 211-219
 - 11) Parada, L. and Misteli, T. : Chromosome positioning in the interphase nucleus. *Trends Cell Biol* 2002, **12** : 425-432
 - 12) Tanabe, H. et al. : Non-random radial arrangements of interphase chromosome territories : evolutionary considerations and functional implications. *Mutat Res* 2002, **504** : 37-45
 - 13) Tanabe, H. et al. : Evolutionary conservation of chromosome territory arrangements in cell nuclei from higher primates. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002, **99** : 4424-4429
 - 14) 田辺秀之 : 染色体テリトリー : 間期核における染色体の核内配置と核高次構造に関する最近の研究. *Environ Mutagen Res* 2003, **25** : 11-22
 - 15) Bickmore, W. A. and Teague, P. : Influences of chromosome size, gene density and nuclear position on the frequency of constitutional translocations in the human population. *Chromosome Res* 2002, **10** : 707-715
 - 16) Parada, L. et al. : Conservation of relative chromosome positioning in normal and cancer cells. *Curr Biol* 2002, **12** : 1692-1697
 - 17) May, W. A. et al. : EWS/FLI1-induced manic fringe renders NIH 3T3 cells tumorigenic. *Nat Genet* 1997, **17** : 495-497
 - 18) Deneen, B. et al. : PIM3 proto-oncogene kinase is a common transcriptional target of divergent EWS/ETS oncoproteins. *Mol Cell Biol* 2003, **23** : 3897-3908
 - 19) Nakatani, F. et al. : Identification of p21WAF1/CIP1 as a direct target of EWS-Flil oncogenic fusion protein. *J Biol Chem* 2003, **278** : 15105-15115
 - 20) Watanabe, G. et al. : Induction of tenascin-C by tumor-specific EWS-ETS fusion genes. *Genes Chromosomes Cancer* 2003, **36** : 224-232
 - 21) Matsui, Y. et al. : COL11A2 collagen gene transcription is differentially regulated by EWS/ERG sarcoma fusion protein and wild-type ERG. *J Biol Chem* 2003, **78** : 11369-11375
 - 22) Spahn, L. et al. : Interaction of the EWS NH₂ terminus with BARD1 links the Ewing's sarcoma gene to a common tumor suppressor pathway. *Cancer Res* 2002, **62** : 4583-4587
 - 23) Im, Y. H. et al. : EWS-FLI1, EWS-ERG, and EWS-ETV1 oncoproteins of Ewing tumor family all suppress transcription of transforming growth factor beta type II receptor gene. *Cancer Res* 2000, **60** : 1536-1540
 - 24) Jishage, M. et al. : Identification of target genes for EWS/ATF-1 chimeric transcription factor. *Oncogene* 2003, **22** : 41-49
 - 25) Fujimura, Y. et al. : EWS-ATF-1 chimeric protein in soft tissue clear cell sarcoma associates with CREB-binding protein and interferes with p53-mediated trans-activation function. *Oncogene* 2001, **20** : 6653-6659
 - 26) Palmer, R. E. et al. : Induction of BAIAP3 by the EWS-WT1 chimeric fusion implicates regulated exocytosis in tumorigenesis. *Cancer Cell* 2002, **2** : 497-505
 - 27) Lee, S. B. et al. : The EWS-WT1 translocation product induces PDGFA in desmoplastic small round-cell tumour. *Nat Genet* 1997, **17** : 309-313
 - 28) Wong, J. C. et al. : Induction of the interleukin-2/15 receptor beta-chain by the EWS-WT1 translocation product. *Oncogene* 2002, **21** : 2009-2019
 - 29) Finkelton, I. et al. : Transcriptional regulation of IGF-I receptor gene expression by novel isoforms of the EWS-WT1 fusion protein. *Oncogene* 2002, **21** : 1890-1898
 - 30) Thelin-Jarnum, S. et al. : Identification of genes differentially expressed in TLS-CHOP carrying myxoid liposarcomas. *Int J Cancer* 1999, **83** : 30-33
 - 31) Barber, T. D. et al. : Identification of target genes regulated by PAX3 and PAX3-FKHR in embryogenesis and alveolar rhabdomyosarcoma. *Genomics* 2002, **79** : 278-284
 - 32) Ayalon, D. et al. : Transcriptional regulation of IGF-I receptor gene expression by the PAX3-FKHR oncoprotein. *Growth Horm IGF Res* 2001, **11** : 289-297
 - 33) Margue, C. M. et al. : Transcriptional modulation of the anti-apoptotic protein BCL-XL by the paired box transcription factors PAX3 and PAX3/FKHR. *Oncogene* 2000, **19** : 2921-2929
 - 34) Epstein, J. A. et al. : Tumor-specific PAX3-FKHR transcription factor, but not PAX3, activates the platelet-derived growth factor alpha receptor. *Mol Cell Biol* 1998, **18** : 4118-4130