

# 遺伝情報によるショウジョウバエの悪性腫瘍

## I. ショウジョウバエの $l(2)gl$ 遺伝子による 脳腫瘍の形成と増殖性

潮 田 嘉 子  
五百歳 陽 子<sup>\*</sup>

ショウジョウバエには多くの発癌遺伝子の存在が知られている。これらの殆んどは劣性の癌遺伝子で、すでに26個余り発見されている。劣性遺伝子をもったハエは主として脳腫瘍（神経芽細胞脳腫瘍）で、幼虫期末期に癌で死に成虫にならない。ただ例外的に卵巣腫と生殖細胞腫をおこす劣性遺伝子は、成虫期に入ってから癌死させる。

劣性癌遺伝子の研究は、Gateff and Schneiderman(1969) および多くの研究者によって *lethal(2)giant larvae(l(2)gl)* が幼虫期から蛹化せずに死亡するのは癌によるものであることが示された。

$l(2)gl$  は蛹化せず、幼虫期が延びて巨大幼虫になる劣性致死突然変異種として Brides(1993) によって発見されていた遺伝子である。当初、Vogt(1947) によって  $l(2)gl$  は環状腺から分泌される蛹化ホルモン (ecdysone) の量的不足により蛹化せずに死ぬことがくわしく調べられていた。

その後、この遺伝子の対立遺伝子である  $l(2)gl^4$ , 558, 334 などや、第2染色体以外の遺伝子である  $l(1)2$ ,  $l(1)2269$ ,  $l(3)gl$  など脳神経球や造血器官に発現する侵入性の悪性腫が見出されている。

$l(2)gl$  遺伝子は脳腫瘍以外にも翅原基などの成虫原基に発現する非侵入性の良性腫瘍をおこすことも知られている。またこの遺伝子は、Mechler, *et al.* (1985) らによってクローニングに成功し、この遺伝子を用いた研究がさらに発展すると考えられる。

ショウジョウバエの癌遺伝子の性質がヒトの癌遺伝子と非常によく似ていると考えられているので、ヒトの癌研究の基礎となると思われる。ただヒトの場合、ショウジョウバエの劣性癌遺伝子ほどには研究が進んでいない。というのは、ヒトの癌遺伝子でよく調べられクローニングされているのは殆んど優性の突然変異遺伝子で、ショウジョウバエのような潜在的な劣性遺伝子の数は、ヒトでは数百個程度あると推定されているので

---

\* 甲南女子学園

今後の研究成果が待たれる。

この研究では、はじめに Cateff および Schneiderman (1969, 1974) らの研究の一部を追試し、*l(2)gl* の脳腫瘍の形成および増殖・浸潤性について調べ、これらの研究成果を基礎として、さらに、脳腫瘍細胞および翅成虫原基細胞の体外培養、体内培養の方法を用いて、細胞培養条件下での腫瘍細胞の増殖性を追求した。同時にまた、昆虫ホルモン (ecdysterone および juvenile hormone) の作用下での腫瘍細胞の増殖性の制御を経時的に詳細に調べた。

*l(2)gl* 遺伝子の最も著しい作用は、脳神経球に腫瘍を形成し、幼虫期末期に蛹化せず致死作用をおこすことである。本実験では、*l(2)gl* の腫瘍化した脳神経球の組織片を野生型のハエに移殖してその増殖・浸潤性を調べた。

## 材料および方法

1. 系統 *l(2)gl* は劣性の遺伝子であるので *SM5* の系統とヘテロにして系統を維持した。野生型の系統は *Oregon-R* を用いた。飼育条件はこれまで用いてきた yeast-molasses medium を用い 25°C で飼育した。
2. 移植の方法 タイロード液中で *l(2)gl* の 3 令末期の幼虫の腫瘍化した脳神経球をとり出し、片側の脳半球を 8 等分し、それぞれ 1 片をガラスキャピラリーを用いて、羽化直後の野生型の雌の腹腔内に移注した。移植後は経時的にサンプリングとして固定し、切片をつくって腫瘍の増殖の状態を調べた。
3. 組織標本の作成 腫瘍を移植された成虫の腹部および頭部は潮田 (1992) の方法で carnoy 固定し、ethyl, buthyl alcohol で脱水後、5~10 $\mu$  の厚さの paraffin section を行ない、Mayer の Haematoxyline および eosin の二重染色を行なった。

## 実験結果

### 1. 野生型と *l(2)gl* の脳神経の構造

野生型 *Oregon-R* と *l(2)gl* の幼虫末期の脳神経球をとり出し外部形態を比較した (Plate I, Fig. 1)。

Fig. 1 の左側は *Oregon-R*、右側は *l(2)gl* であるが *l(2)gl* の脳神経球 (BL) は著しく肥大している。もっとも、*Oregon-R* の幼虫期 (孵化後 120 時間で成熟幼虫に達し蛹皮形成をはじめ) に比べて、*l(2)gl* では同じ 3 令末期でも蛹皮形成がおきないので正常の幼虫に比べて、2 倍以上 (240 時間~360 時間) 生存して死亡する。それにし

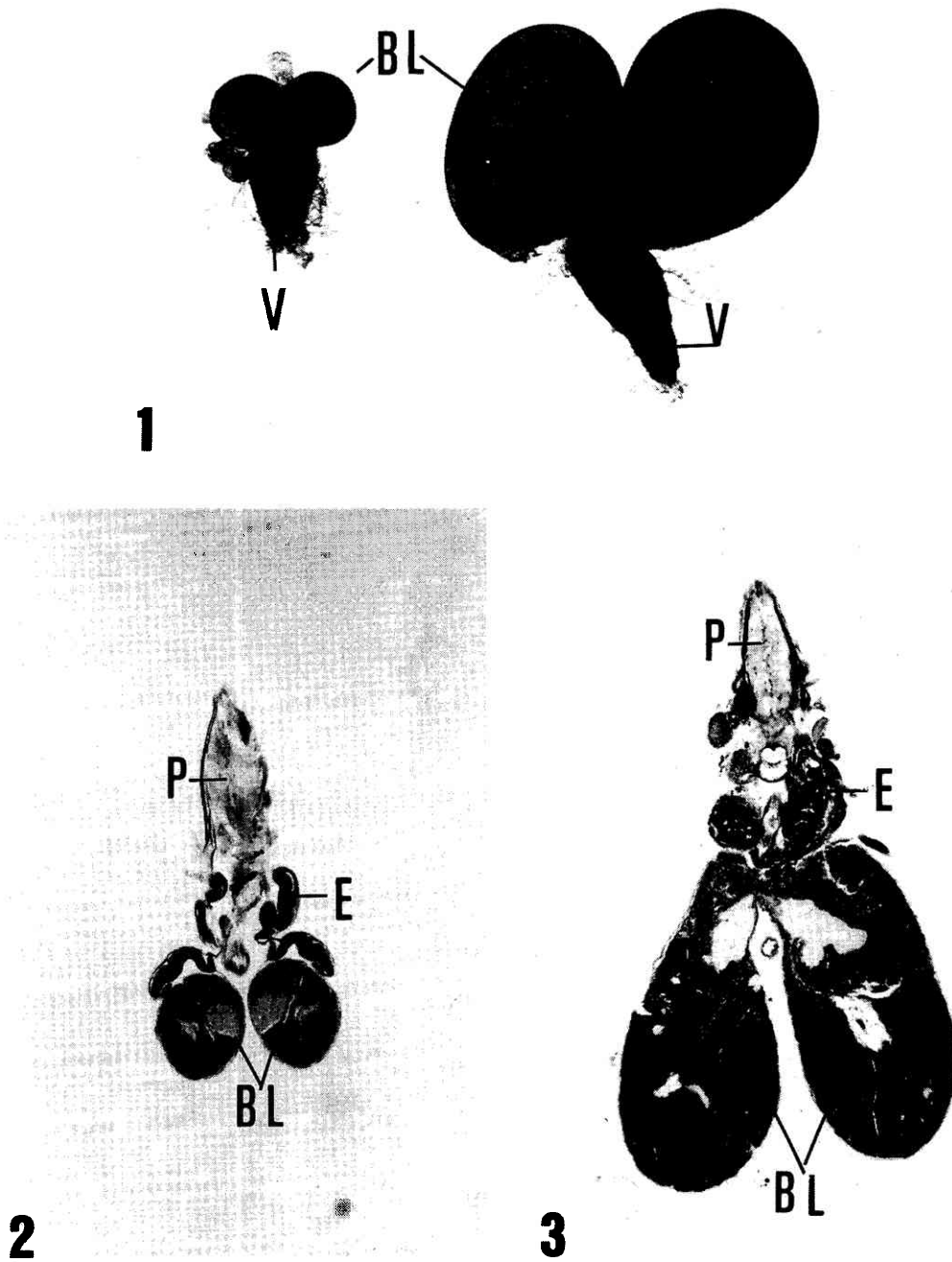


Plate I.

Fig. 1. Brain lobe and ventral ganglion.

(left) : mature third instar *Oregon-R* wild-type larva.

(right) : *l(2)gl* larva.

BL : brain lobe, V : ventral ganglion.

Fig. 2. and 3. Cephalic complex and brain lobe.

Fig. 2. *Oregon-R* wild-type.

Fig. 3. *l(2)gl* larva.

P : proboscis, E : eye-antennal disc.

でも、肥大化は脳神経球細胞に著しい腫瘍化がおきたことを示唆する。脳神経球の肥大化に反し、下部の腹神経球 (V) は野生型、*l(2)gl* とも殆んど形態的な相違は見られない。

次に触角・複眼原基 (cephalic complex) と脳神経球の複合体の切片像を同倍率で比較した。

Fig. 2 は *Oregon-R*, Fig. 3 は *l(2)gl* の切片を示したものである。脳神経球 (BL) については、野生型では中心部の近くに白い円形の繊維状髄質 (neuropile) と各視神経球 (lobula, medula, lamina) の予定形成域が識別できる。これに反して、*l(2)gl* の脳神経球では、繊維状髄質は飛び散った状態で存在し、各視神経球の形成は見られない。皮層部 (cortex) は肥大し、腫瘍細胞の増殖が示唆される。脳半球の上部には、触角・複眼原基 (E) が存在する。野生型の両原基とも層状のおり省くたみ構造が見られるが、*l(2)gl* では不定形の塊になっている。吻 (P) については両系統ともあまり差異はみとめられない。

## 2. *l(2)gl* 遺伝子による腫瘍の増殖・浸潤性

幼虫末期の *l(2)gl* の片側の脳神経球の $\frac{1}{8}$ の組織片を、野生型の羽化直後の雌の成虫の腹腔内に移植し、野生型体内での腫瘍細胞の増殖・浸潤性を調べた。

腹腔内に移植された野生型は、移植後6~8日で腹部が膨張してくるのがみとめられた (Plate II, Fig. 1-A)。腹部膨張はさらに進み、移植後、10~15日後には殆んど Fig. 1-B の状態になり死亡した (正常個体の成虫の生存期間は約30日)。腹部が膨張した個体の表皮は突っ張り、腹部内部が透明になることが観察された。Fig. 2-A は透明度が高くなった個体である。Fig. 2-B は移植していない対照のハエである。

次に腫瘍組織に移植された野生型の成虫の体内での細胞の増殖・浸潤性について、組織標本によって移植後経時的に調べた。Fig. 3 は腫瘍組織を移植した野生型の1日目の腹部の組織像である。→印の濃く染まった集団は、移植された腫瘍組織を示す。移植後6~8日で濃染された腫瘍細胞は腹腔内に広く充満し、この細胞の急速な増殖が裏付けられる。Fig. 4 は移植後15日目の腹部を示している。腫瘍細胞は腹部の全域にわたって諸器官のすき間に浸潤し増殖を続け、腹部全体を膨張させている。同時に腹部内器官では消化管、卵巣組織が崩壊しているのがみとめられる。

腹部に移植された腫瘍組織は、腹腔内全域に浸潤するにとどまらず、さらに胸部を通過して頭部組織へも侵入し増殖している。Plate III, Fig. 1 は野生型の頭部構造を示している。上部には1対の触角 (A)、左右に複眼 (E)、頭部の大部分を占める5つの神経節から構成されている脳神経球 (B) があり、複眼と脳神経球の間は視神経で接続している。Plate III, Fig. 4 は腹部に腫瘍組織を移植した野生型の10日後の頭部

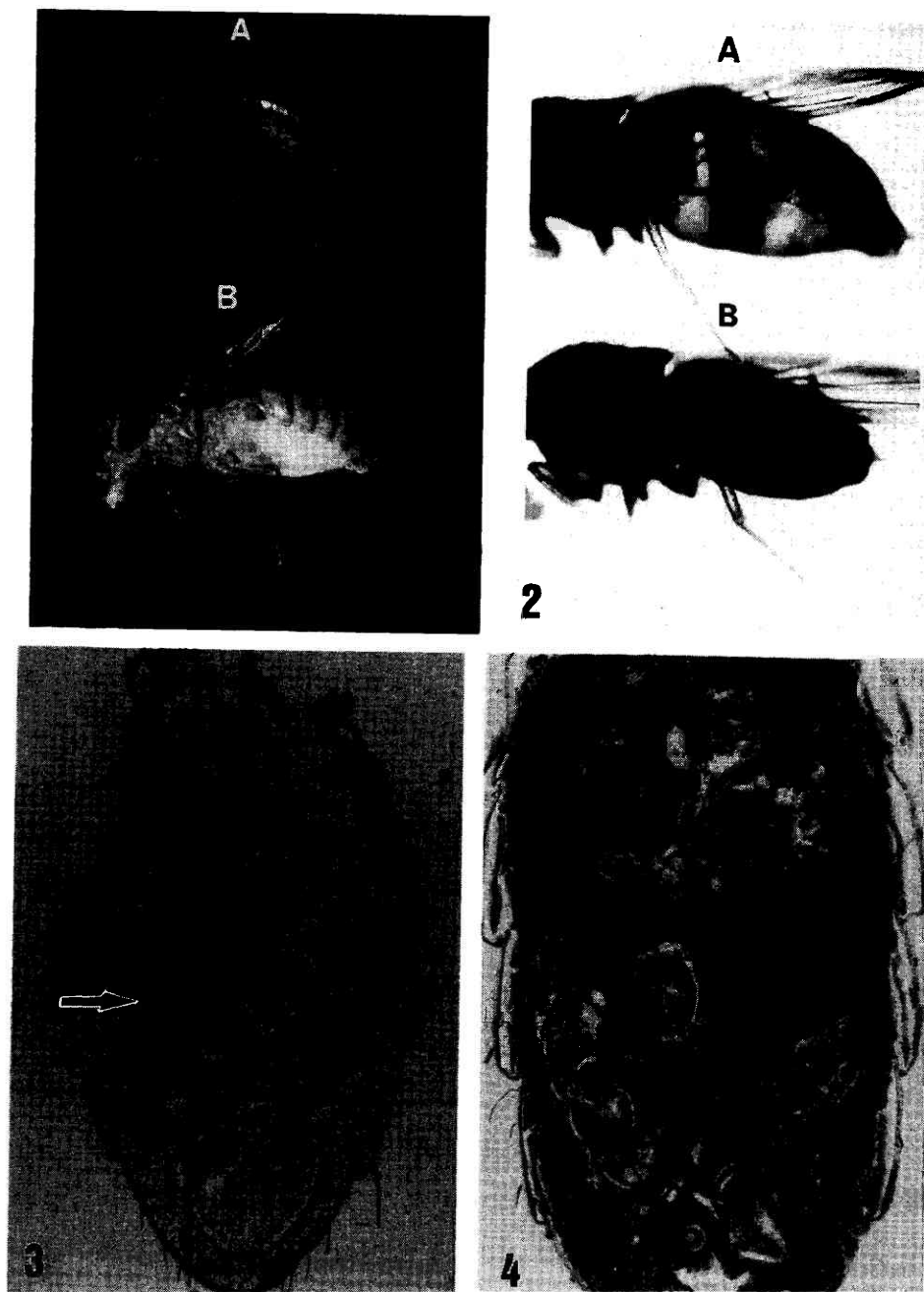


Plate II.

Fig. 1. Wild type female host which implanted neoplasm tissues of *l(2)gl*.

A: 6-8 days after implantation.

B: 10-15 days after implantation.

Fig. 2. A: 10-15 days after implantation. The abdomen shows the "bloating syndrome."

B: An unimplanted control, wild-type.

Fig. 3. and 4. Frontal section through abdomen of wild type host bearing transplantable neoplasm tissues of *l(2)gl* brain.

Fig. 3. 1 day after implantation. Arrow is indicated neoplasm tissues.

Fig. 4. 15 days after implantation.

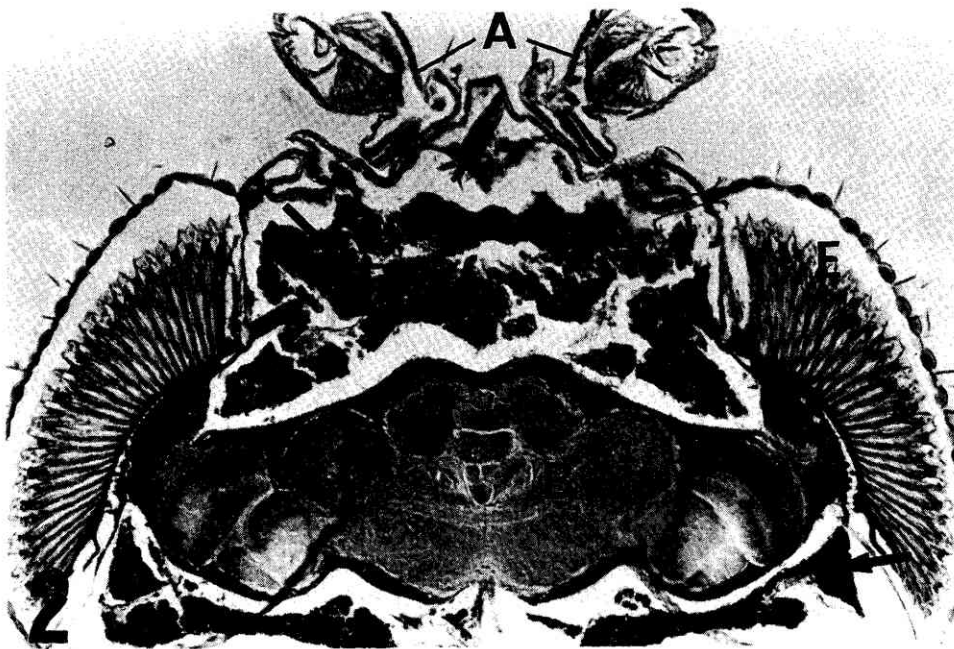
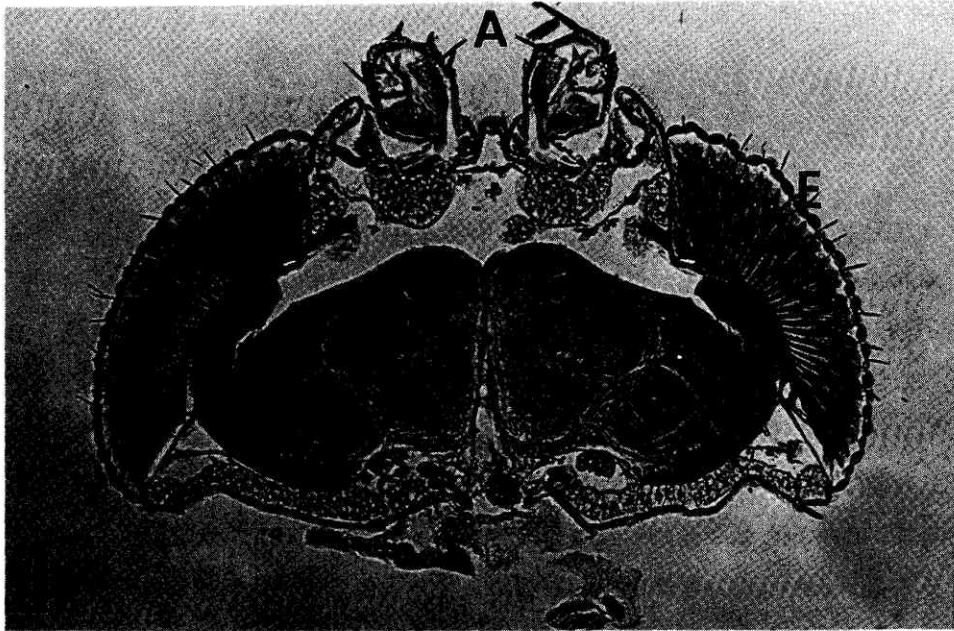


Plate III.

Head structure of *Oregon-R* wild-type.

Fig. 1. Control fly.

Fig. 2. 10 days after implantation.

A: antennae, E: compound eye, B: brain.

構造である。腫瘍組織は頭部諸器官の間げきに侵入し増殖しているのがみとめられる(矢印)。さらに触角および複眼組織にも侵入し破壊をおこしている部分もみとめられる。

## 考 察

ショウジョウバエの劣性遺伝子  $l(2)gl$  のホモ (homo) 接合体は非常に強い発癌力と発生の異常を引き起こす。

$l(2)gl / l(2)gl$  の巨大化した幼虫より摘出した脳腫瘍(神経芽細胞腫瘍)を正常の野生型の腹部に移植すると、移植後、急速に増殖して宿主を殺す事が明らかにされた。これは Gateff and Schneiderman(1974) らの研究結果と一致する。本研究ではさらに移植された腫瘍細胞の浸潤・増殖性を経時的に詳細に調べた。その結果、外部形態には腹部の膨張、透明化が起こり移植後8日で著るしくなり、15日で最大に達し、宿主を致死させることがわかった。組織標本の観察により、腹部の膨張は移植された腫瘍細胞が腹部の諸器官全域にわたって浸潤し、消化管・卵巣組織を破壊していることが明らかにされた。さらに、移植された腫瘍細胞は、胸部から頭部へと浸潤し、頭部諸器官の間げきのみならず、触角・複眼組織にも侵入し、破壊させる強烈な発癌力をもつ悪性腫瘍であることが再確認された。

Gateff(1978) はさらに  $l(2)gl$  の対立遺伝子の  $l(2)gl^4$ ,  $D150$ ,  $110$  および  $Df^{net}$  の発癌性について調べている。これらの系統のうち、とくに、 $l(2)gl^4$  について詳しく調べたところ、 $l(2)gl$  同様に肥大した脳腫瘍組織を、野生型の腹腔に移植すると、1~2週間で宿主を殺すと報告している。このように体内に侵入して増殖する様式はヒトを含めて哺乳動物の悪性腫瘍と全く同じ特性を示している。

培養された悪性腫瘍細胞の挙動および昆虫ホルモンの影響についてはその研究の一部はすでに発表している(中島・東條・加地, 1984)が詳細については、実験IIで報告する予定である。このような発生遺伝学的手段による研究成果を基礎として、ハエの癌遺伝子の分子レベルの研究が進められている。

例えば、Srdic and Borner(1980) による *Drosophila hydei* から見出された癌遺伝子をもった *lethal l(3)gl* の体液中のタンパク質の解析からはじまり、Mechler, Mc Ginnis and Gehring(1985) による  $l(2)gl$  遺伝子の存在する染色体から  $gl^+$  遺伝子がクローニングされ、その転写RNAの生産は、胚期に6Kbと4.5KbのRNAの生産がおき、その後、低下するが、幼虫期末期になって再び、6Kb RNAが大量に作られることなどが明らかにされるなど、その後の研究成果が期待される。

参考文献

- Gateff, E. (1978) . The genetics and epigenetics of neoplasms in *Drosophila*. Biol. Rev., 53, 123-168.
- Gateff, E. and Schneiderman, H. A. (1969) . Neoplasms in mutant and cultured wild-type tissues of *Drosophila*. Net. Cancer Inst. Monogr. 31, 356-397.
- Gateff, E. and Schneiderman, H. A. (1974) . Developmental capacities of benign and malignant neoplasms of *Drosophila*. Wilhelm Roux' Archiv. 176, 23-65.
- Mechler, B. M., McGinnis, W. and Gehring W. J. (1985). Molecular cloning of *lethal (2) giant Larvae*, a recessive oncogene of *Drosophila melanogaster*. The EMBO Jour. 4, 1551-1557.
- 中島裕夫・東條陽子・加地早苗 (1984). 体外培養でのキイロショウジョウバエ *l(2)gl* の腫瘍細胞の増殖性と昆虫ホルモンの影響. 遺伝学雑誌59.
- Srdic, Z. and Borner, P. (1980) . Hemolymph proteins in an ascitic condition, induced by *lethal l(3)gl* tumorous tissue in *Drosophila hydei*. Experimentia, 36, 921-923.
- 潮田嘉子 (1992). ショウジョウバエの頭部異常形質の触角・複眼原基. 大手前女子大学論集 26, 14~22
- Vogt, M. (1947) . Verhalten transplattierter Ringdrüsen "letal" *Drosophila larven*. z. Naturforsch. 2, 292-294.