

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

呼吸 (1999.06) 18巻6号:630～636.

肺癌 肺癌の腫瘍マーカーシリーズ 肺癌のmolecular genetic tumor marker

大崎能伸

肺癌の molecular genetic tumor marker

大崎 能伸

要 旨 癌は遺伝子異常が細胞に蓄積されて、正常細胞から段階的に発生すると考えられている。癌の遺伝子異常や蛋白産生異常の研究成績が蓄積されてきて、発癌、癌の増殖、転移に対する理解が深まってきた。肺癌に特有な遺伝子の突然変異や増幅を臨床材料から検出し、生体に癌が存在することやその悪性度を診断することが molecular genetic tumor marker としての応用と考えられる。肺癌では *ras* 遺伝子ファミリー、*p53* 遺伝子、*RB* 遺伝子、オンコジンの過剰発現、3 番染色体の短腕の異常、蛋白異常産生などの研究成果が蓄積されてきた。同時に、これらの成績を用いて肺癌の存在、前癌状態、悪性度の診断が試みられてきた。日常臨床に用いられるような molecular genetic tumor marker を開発するためには、診断精度の向上や簡便な検査法の開発が不可欠であると思われる。

大崎 能伸：肺癌の molecular genetic tumor marker, 呼吸 18(6): 630-636, 1999

キーワード：肺癌 癌遺伝子 癌抑制遺伝子 発癌 腫瘍マーカー

I. はじめに

臨床での molecular genetic tumor marker の役割には、① 遺伝子異常を解析して血液、便、尿、喀痰などに含まれる癌細胞を見つけ出す、② 組織中での悪性変化や良性病変を診断する、③ 治療後の癌の再発を早期に診断する、④ 癌の進行や転移の早さなどの悪性度を診断する、⑤ 個人での癌の発生の危険性を判断することなどが考えられる。

ここでは肺癌でみられる遺伝子異常について概説し、次にその molecular genetic tumor marker としての応用について述べていく。

Molecular genetic tumor marker in lung cancer diagnosis
旭川医科大学第1内科
Yoshinobu Ohsaki
First Department of Medicine, Asahikawa Medical College,
Hokkaido 078-8510, Japan

II. 肺癌でみられる遺伝子異常

1. *ras* 遺伝子ファミリー

ras 遺伝子ファミリーには *N-ras*, *K-ras*, *H-ras* の3種類の *ras* 遺伝子が含まれる。これらの *ras* 遺伝子から産生される蛋白質は、189 アミノ酸からなる機能部位を持ち p21 蛋白とも呼ばれる。Ras 蛋白は GTPase 活性を持ち、細胞内の情報伝達の調節に重要な役割を持つ。*ras* 遺伝子の点突然変異の発生は多くの悪性腫瘍で確認されており、その殆どはコドン 12, 13, 61 にみられる¹⁾。変異した遺伝子から作られる Ras 蛋白は GTP と結合できなくなり、細胞内の情報伝達活性を制御できなくなる。*ras* 遺伝子に点突然変異が起こると、細胞が癌化することが知られている(図1)。

肺癌での *ras* 遺伝子ファミリーの変異は主に非小細胞

胞肺癌にみられ、K-ras のコドン 12 の点突然変異が多い。肺癌での K-ras のコドン 12 の変異の検討では、非小細胞肺癌の 17% に遺伝子変異がみられ、腺癌では 24% にみられたと報告されている。この遺伝子変異の発生頻度は、他の報告でもほぼ同様である²⁾。肺癌では K-ras 遺伝子のコドン 12 以外での変異や、N-ras 遺伝子の変異は頻度が低いと報告されている。したがって、ras 遺伝子ファミリーの遺伝子異常を肺癌の molecular genetic tumor marker として応用するときは、K-ras のコドン 12 が候補になり得る。

2. p53 遺伝子

p53 遺伝子はヒト 17 番染色体上の 17p13.1 に存在する 16~20 kb の大きさの遺伝子である (x54156, HSP53G)^{3,4)}。この遺伝子から 393 アミノ酸から構成される核内蛋白が生成される (図 2)。P 53 蛋白は DNA 修復やアポトーシスの誘導に深く関連する⁵⁾。また、p53 遺伝子の異常はヒトの癌で最も多くみられる遺伝子変異である。これらのことから、p53 遺伝子の異常はヒトの発癌に大きな役割を持つと考えられている。最近では発癌のみではなく、癌の増殖や転移にも関連すると考えられている。

p53 遺伝子は 11 のエクソンを持ち、転写される P 53 蛋白はアミノ酸残基 13-19, 117-142, 171-181, 234-258, 270-286 において種間で 90% 以上の相同性を持つ⁶⁾。これらの部分は P 53 蛋白が機能するために不可欠であると考えられている⁷⁾。

P 53 蛋白は、他の遺伝子の発現の調節や細胞の悪性変化の抑制に深くかかわることが明らかにされてきた。p53 遺伝子の先天的異常は家族性発癌の原因になることが報告されている⁸⁾。p53 遺伝子の異常により産生された変異 P 53 蛋白は、野生型 P 53 蛋白に結合してその機能を失わせる。即ち、一方の p53 遺伝子に変異が起こると、他方の遺伝子から産生される野生型 P 53 蛋白の機能を抑制して細胞増殖能が亢進する。この状態で野生型 p53 遺伝子に第 2 の遺伝子変異が起こると、細胞の悪性度はますます高まる。

p53 遺伝子の異常は肺癌の 50% 以上に認められる。非小細胞肺癌でみられる p53 遺伝子変異は、その殆どがエクソン 4~9 でのミスセンス点突然変異である (図 3)。エクソン 4~9 のなかでも突然変異の多いコドン、いわゆるホットスポットの存在が知られている。しかし、ナンセンス突然変異、欠損やエクソン 4~9 以外での突然変異も報告されている⁹⁾。

p53 遺伝子変異は癌化してからのみではなく、前癌病変でもみられると報告されている¹⁰⁾。また、p53 遺伝

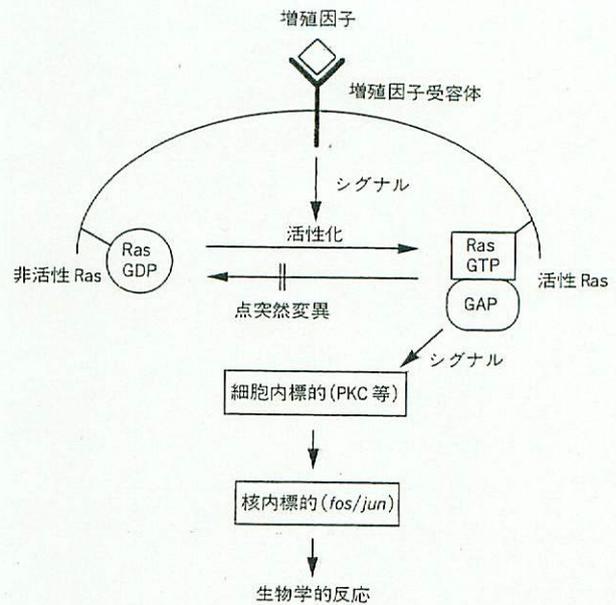


図 1 Ras 蛋白によるシグナル伝達のモデル

増殖因子が受容体に結合すると、Ras 蛋白に GDP/GTP 変換が起こる。Ras-GTP が GAP と結合して、細胞内の標的にシグナルを伝達する。Ras-GTP は Ras 蛋白の内因性 GTPase によって非活性化される。GAP: GTPase-activating protein

子に変異のある肺癌の患者で、肺癌と診断される以前に、喀痰からの DNA に p53 遺伝子変異が検出された症例も報告されている¹¹⁾。これらのことより、肺癌での p53 遺伝子変異の解析は早期癌の発見に臨床応用できる可能性がある。

1) p53 遺伝子の多形性 (polymorphism)

遺伝子多形性とは健常者の 1% 以上にみられる DNA 塩基配列の変化である。遺伝子多形性では、健常者に多くみられる DNA 塩基配列と異なる配列を持つが、翻訳されるアミノ酸は変化しないことが多い。したがって、遺伝子多形性で産生される蛋白質の機能には影響しないことが多いが、遺伝子の発現の調節に影響していることがある。

p53 遺伝子では幾つかの遺伝子多形性が報告されているが、そのうちの 2 種類の遺伝子多形性が発癌と関連すると考えられている。

2) コドン 72 とイントロン 3 の遺伝子多形性

p53 遺伝子の遺伝子多形性により、コドン 72 からアルギニン (Arg) かプロリン (Pro) のどちらかが翻訳された 2 種類の野生型 P 53 蛋白が作られる。いずれの P 53 蛋白も、その機能は等しい。しかし、喫煙患者に発生した肺癌を研究した結果では、p53 遺伝子のコドン 72 が Pro/Pro をコードする場合に発癌の危険性が

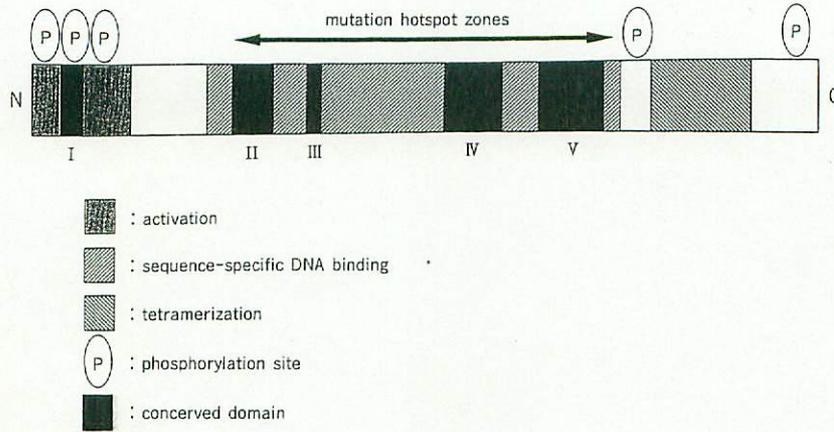
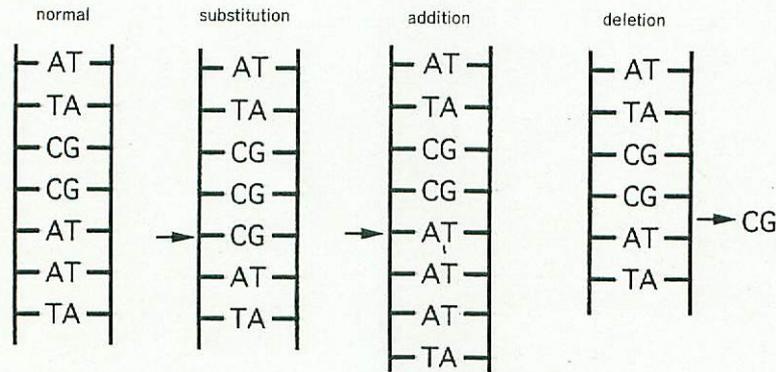
図2 *p53* 遺伝子の構成

図3 点突然変異の種類

substitution ではアミノ酸が変換される場合がある (mis-sense mutation)。transversion はプリンとピリミジンの入れ替わり, transition はプリンとプリンあるいはピリミジンとピリミジンの入れ替わりを指す。addition や deletion ではコドンの読み取りにずれが生じる (frame shift)。いずれもコドンがストップコドン (UAA, UGA, UAG) に置き換われば, 蛋白の合成が停止する (non-sense mutation)。

高いと報告された¹²⁾。スウェーデンでの検討ではコドン 72 が Pro/Pro をコードするだけでは発癌の危険性は高まらず, Pro/Pro をコードするとともにイントロン 3 の 16 bp の重複領域が欠損した場合に発癌の危険性が高まると報告された¹³⁾。同様な結果は大腸直腸癌を対象とした研究でも報告されている¹⁴⁾。しかし, 卵巣癌を対象とした研究では, イントロン 3 の 16 bp の重複領域の存在が癌の発生と関連すると報告された¹⁵⁾。*p53* 遺伝子のコドン 72 やイントロン 3 のような遺伝子多形性と発癌との関連性が明らかになれば, 血液検体中の DNA 配列を調べることによって, 発癌の危険性を評価できる可能性が考えられる。

3. Retinoblastoma (RB) 遺伝子

RB 遺伝子は 13q14 に位置して, その遺伝子から産

生された *RB* 蛋白は細胞回転進行の制御に深く関連する (図 4)。*RB* 遺伝子ははじめての腫瘍抑制遺伝子として, 網膜芽腫から分離された。*RB* 遺伝子の異常は, 小細胞肺癌の殆どにみられ, 非小細胞肺癌では約 25% に認められる。遺伝子変異の形態は欠損, 突然変異, 転座が多く, いずれの場合も *RB* 蛋白の産生は減少しているか検出できない¹⁶⁾。*RB* 遺伝子の変異がみられる部位は 27 エクソン 190 kb にわたり, しかも, 大きな遺伝子欠損がみられるなど遺伝子変異が多様なために検出が難しい。

4. オンコジンの過剰発現—*myc* ファミリーと *her2/neu* 遺伝子—

myc 遺伝子はプロトオンコジンの 1 種で, *myc* ファミリーには *c-myc*, *L-myc*, *N-myc* が含まれる。

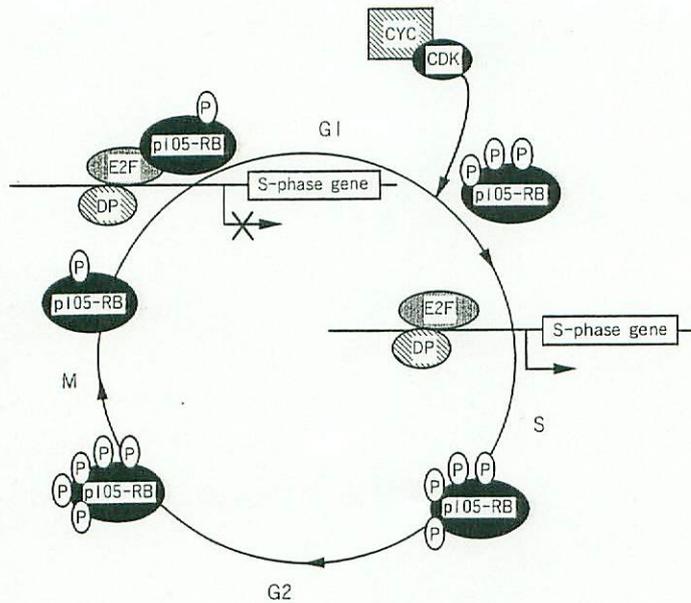


図4 RB蛋白の機能

RB蛋白(p105-RB)はG1期ではリン酸化は少ないが、細胞回転の進行に伴って特定部分のリン酸化が進む。cyclin(CYC)とcyclin-dependent kinase(CDK)複合体はRB蛋白のリン酸化にかかわる蛋白の1種である。RB蛋白がリン酸化されるとE2F転写因子と複合体を作り、さらにDP蛋白と結合する。この蛋白複合体はS-phase遺伝子の転写を活性化する。P53蛋白はCYC/CDKを抑制する。

(Abeloff MD, *et al*, eds⁵⁾. Clinical Oncology : 1995 より引用)

myc 遺伝子からは遺伝子発現を調節する核内蛋白が産生される。殆どの小細胞肺癌と一部の非小細胞肺癌で *myc* 遺伝子の異常がみられるが、多くの場合、遺伝子変異による蛋白質の異常ではなく、遺伝子の過剰発現や転写の制御異常により Myc 蛋白の過剰産生がみられる¹⁷⁾。

her2/neu 遺伝子はプロトオンコジーンで、産生される蛋白質はチロシンキナーゼ増殖因子受容体の性格を持つ。*her2/neu* 遺伝子は非小細胞肺癌の約30%に過剰発現がみられ、特に腺癌での過剰発現が多い。*myc* ファミリーと *her2/neu* 遺伝子の過剰発現は、産生される蛋白質の質的な異常は伴わず、産生される蛋白質の量が増加する。したがって、遺伝子レベルでは肺癌のスクリーニングや診断に応用するのは難しいと思われる¹⁸⁾。

5. 肺癌で異常の頻度が高いその他の遺伝子

非小細胞肺癌と小細胞肺癌ともに3番染色体の短腕、いわゆる3pの部分的な欠損を伴うことが多い。このことから3pに腫瘍抑制遺伝子が存在すると予想されている。3pには細胞増殖や細胞分化にかかわる種々の遺伝子が存在することが示されてきたが、腫瘍抑制遺

伝子として発癌に関連する遺伝子はまだ同定されていない¹⁷⁾。9番染色体の短腕、9pに存在するインターフェロン遺伝子領域を含めた遺伝子の欠損も今後の研究課題である¹⁸⁾。このような遺伝子の異常が解明されれば、肺癌の早期診断に重要な molecular genetic tumor marker が開発されることが期待される。

6. 免疫組織学的マーカー

ある種の遺伝子異常は、産生される蛋白質の欠損や過剰発現の原因となる。したがって、喀痰細胞診や穿刺細胞診の際に検体を癌細胞に特異的な蛋白質に対する抗体で免疫染色することによって、肺癌を早期に診断できる可能性が考えられる。*p53* 遺伝子のミスセンス突然変異による変異P53蛋白は、野生型P53蛋白に比べ半減時間が長い。この変異型P53蛋白を免疫染色してミスセンス突然変異を持つ細胞をスクリーニングすることができるが、フレームシフトやナンセンス変異が検出されない欠点を持つ¹⁹⁾。

p53 遺伝子のミスセンス突然変異を含んだ癌が体内に存在するとP53蛋白に対する抗体が産生される可能性が考えられる。癌患者においてこのP53蛋白に対する抗体を測定した検討で、癌に *p53* 遺伝子のミ

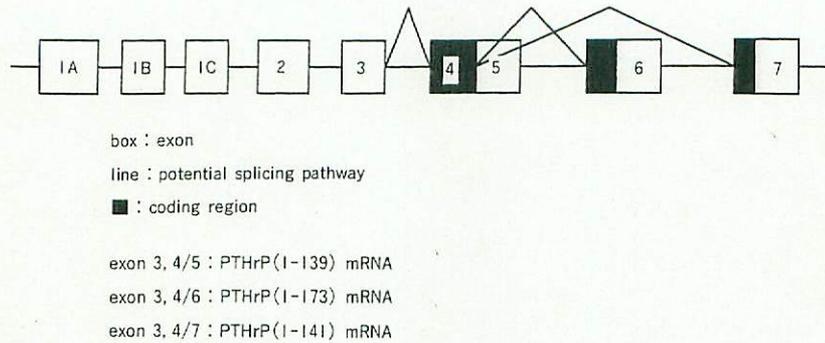


図 5 PTHrP の alternative splicing

PTHrP 遺伝子からは alternative splicing によって PTHrP(1-139), PTHrP(1-173), PTHrP(1-141) の C 端の異なる蛋白が産生される。

スセンス突然変異を持った患者では抗 P 53 蛋白抗体の血中濃度が有意に上昇していたとする報告もあるが、その頻度は肺癌の約 10% と低い²⁰⁾。

7. 癌細胞の蛋白産生異常

肺癌細胞は多種類の蛋白質を異常産生すると報告されている。これらの蛋白質には、細胞増殖因子、細胞増殖因子の受容体、細胞内の情報伝達にかかわる物質が含まれる。癌細胞が異常に産生する蛋白質は、癌の増殖や転移に関係すると考えられている。癌細胞による蛋白質の異常産生は、オンコジーンからの産生、遺伝子増幅、遺伝子レベルでの制御異常などによって起こると考えられる。癌細胞が産生する蛋白質には、遺伝子の構造に異常はないが、正常細胞から産生されるものと異なる場合がある。その機序の 1 つが、スプライシングの異常である。また、前駆蛋白が切断、修飾される段階で構造が変化することもある。

副甲状腺ホルモン関連蛋白(parathyroid hormone related protein; PTHrP)では、スプライシングにより C 端のアミノ酸配列が異なる 3 種類の蛋白質が作られる(図 5)。この PTHrP の C 端は血中や尿中から検出することができる。正常細胞ではそのうちの 1 種類の蛋白質だけが産生されていることが多い。非小細胞肺癌、特に扁平上皮癌では PTHrP を産生する頻度が高い。RT-PCR による検討では、肺癌はスプライシングによる 3 種類の mRNA を持つことが示された²¹⁾。このような mRNA の解析成績が蓄積されれば、その結果をもとにして新たなペプチドマーカーが開発されることが期待される。

III. 遺伝子異常の検出による肺癌早期診断の試み

細胞が癌化する過程で、細胞接着、細胞増殖、DNA

修復、アポトーシス、血管増生などにかかわる遺伝子の異常が蓄積される。癌が遺伝子の異常が集積されることにより発生するならば、将来癌化する細胞で細胞形態は正常であるが、遺伝子に異常を持つような細胞が存在するはずである。このような発癌に関連した遺伝子の異常は後天性に獲得されることが多い。環境に存在する発癌物質によって発生する癌には、その発癌物質に特異的な遺伝子の異常を持つことが考えられる。このような遺伝子異常を解析することによって、環境因子による発癌の危険性を評価できる可能性がある。

たばこの煙には約 3,800 種類の発癌物質を含むことが、実験動物を用いた研究によって明らかにされてきた²²⁾。そのなかでベンゾピレンと 4-アミノビフェニールの 2 つの化学物質が DNA に付加(adduct)することが示され、DNA に突然変異を起こすと考えられている。腫瘍細胞の DNA 付加物からたばこの煙に含まれる物質が分離されれば、たばこによる DNA 変異が発癌の原因として強く推察される。

ベンゾピレンのような polycyclic aromatic hydrocarbon や、他のたばこの煙に含まれる化学物質を実験動物に曝露させると、G:C から T:A への遺伝子変異が起こることが示されている。喫煙者に最も多くみられる p53 遺伝子変異は、非翻訳 DNA 鎖(nontranscribed strand)での G から T への変異(transversion)である²³⁾(図 3)。これは非喫煙者やラドン吸入歴のある肺癌患者にみられる p53 遺伝子変異の形式とは異なる。このような研究成果は、喫煙と肺癌発癌の因果関係を強く示唆する。CpG 部位(C link to G)の遺伝子変異は大腸癌で 2/3 以上にみられるといわれるが、この変異は内因性の発癌に関連するとされる。肺癌では、他の部位の癌に比べて CpG 部位の遺伝子変異の頻度は有意に低いと報告されている。これらの報告は、

肺癌では外因性の物質が発癌により大きな役割を持つことを示唆する。それに対し、非喫煙者の肺癌では G:C から T:A への遺伝子変異が少なく、G:C から A:T の変異が多い²⁴⁾。また、CpG 部位の遺伝子変異の頻度は有意に高い。p53 遺伝子の非翻訳 DNA 鎖での G:C から T:A への変異は喫煙により気道細胞が前癌状態にあることを示す遺伝子変異のマーカーとなる可能性がある。

p53 遺伝子の変異の頻度は喫煙の有無と関連するだけでなく、喫煙したたばこの量と相関するとされる。肺癌でみられる p53 遺伝子のグアニン部分での遺伝子変異はコドン 157, 248, 273 に多く、この部位は DNA との結合部位でもある²⁵⁾。このなかで、コドン 157 は肺癌に特有にみられるホットスポットと考えられている。気道上皮細胞をベンゾピレンの活性物質である diol epoxide に曝露すると、ベンゾピレンと p53 遺伝子の付加物は、コドン 157, 248, 273 に形成されることが示された²⁵⁾。この研究結果は、たばこの喫煙が p53 遺伝子に付加物形成して p53 遺伝子変異を起こすという仮説を強く支持する結果と考えられる。

家族性に癌を発症する危険性は、特に DNA 修復に関連する遺伝子に異常がある場合に高まるといわれている。いままでに家族発癌に関連する遺伝子は 20 種類以上報告されている。家族性発癌遺伝子に異常を持った患者は若年時に発癌する傾向が強い。家族内発癌は全癌の 5~10% を占めると考えられており、特に若年者の悪性腫瘍では遺伝性の家族内発癌の頻度が高いと考えられている。肺癌では、家族性発癌に関連する遺伝子は同定されていない。

IV. 臨床材料からの癌細胞の検出

臨床材料には多くの正常細胞が含まれるが、そのなかに存在する癌細胞の持つ遺伝子異常を高感度の検出法を用いて検出することが試みられている。膵臓癌患者の膵液や十二指腸液から K-ras 遺伝子変異に特異的なプライマーを用いて、DNA 中の K-ras 遺伝子変異を PCR によって解析すると、癌患者の検体から遺伝子変異が検出された²⁶⁾。同様の試みは肺癌患者の喀痰でも行われている²⁷⁾。膵臓癌では K-ras の遺伝子変異の頻度が高いが、大腸癌では 40~50%、肺癌では約 10% にみられる。したがって、K-ras の遺伝子変異を標的とした癌細胞の検出は肺癌では直ちには応用できない。

患者の血液から分離した DNA に、癌細胞由来の

DNA が含まれることが報告されている。この癌由来の DNA を解析することによって、癌が存在することを診断できる可能性が考えられる。しかし、癌由来の DNA が血液中に検出されるような症例は進行した症例が多いとされ、癌の早期診断に応用されるにはさらに研究が必要である²⁸⁾。

V. 結 論

癌の遺伝子異常や蛋白産生異常の研究成績が蓄積されてきて、発癌や癌の増殖、転移に対する理解が深まってきた。肺癌に特有な遺伝子の突然変異や増幅を組織や細胞あるいは血液の DNA から検出し、これらの異常を molecular genetic tumor marker として肺癌診断に役立てる試みには大きな期待が持たれる。この実現のためには、遺伝子診断の精度の向上や簡便な検査法の開発が必要である。最近の PCR や PCR を応用した解析方法の進歩は、その実現に近づきつつあることを感じさせる。また、*in situ* hybridization の進歩は、喀痰に含まれる細胞から遺伝子増幅や遺伝子変異を持つ細胞を同定する可能性を示唆する。鋭敏な molecular genetic tumor marker の開発には、こうした技術の進歩が不可欠であると思われる。

文 献

- 1) Bos JL. *ras* oncogenes in hematopoietic malignancies. *Hematol Pathol* 2: 55-63, 1988
- 2) Mitsudomi T, Viallet J, Mulshine JL, *et al.* Mutations of *ras* genes distinguish a subset of non-small-cell lung cancer cell lines from small-cell lung cancer cell lines. *Oncogene* 6: 1353-1362, 1991
- 3) McBride OW, Merry D, Givol D. The gene for human p 53 cellular tumor antigen is located on chromosome 17 short arm (17p13). *Proc Natl Acad Sci USA* 83: 130-134, 1986
- 4) Miller C, Mohandas T, Wolf D, *et al.* Human p53 localized to short arm of chromosome 17. *Nature* 319: 783-784, 1986
- 5) Chang F, Syrjanen S, Syrjanen K. Implications of the p53 tumor-suppressor gene in clinical oncology. *J Clin Oncol* 13: 1009-1022, 1995
- 6) Soussi T, Caron de Fromental C, May P. Structural aspects of the p 53 protein in relation to gene evolution. *Oncogene* 5: 945-952, 1990
- 7) Pavletich NP, Chambers KA, Pabo CO. The DNA-binding domain of p53 contains the four conserved regions and the major mutation hot spots. *Genes Dev* 7: 2556-2564, 1993
- 8) Malkin D, Li FP, Strong LC, *et al.* Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer,

- sarcomas, and other neoplasms. *Science* 250 : 1233—1238, 1990
- 9) Greenblatt MS, Bennett WP, Hollstein M. Mutations in the *p53* tumor suppressor gene: Clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. *Cancer Res* 54 : 4855—4878, 1994
 - 10) Walker C, Robertson LJ, Myskow MW, *et al.* *p53* expression in normal and dysplastic bronchial epithelium and in lung carcinomas. *Br J Cancer* 70 : 297—303, 1994
 - 11) Mao L, Hruban RH, Boyle JO, *et al.* Detection of oncogene mutation in sputum precedes diagnosis of lung cancer. *Cancer Res* 54 : 1634—1637, 1994
 - 12) Kawajiri K, Nakachi K, Imai K, Watanabe J, Hayashi S. Germ line polymorphism of *p53* and *CYP1A1* genes involved in human lung cancer. *Carcinogenesis* 14 : 1085—1089, 1993
 - 13) Birgander R, Sjalander A, Rannug A, Alexandrie AK, Sundberg MI, Seidegard J, Tornling G, Beckman G, Beckman L. *p53* polymorphisms and haplotypes in lung cancer. *Carcinogenesis* 16 : 2233—2236, 1995
 - 14) Sjalander, A, Brigander R, Athlin L, Stenling R, Rutegard J, Beckman L, Beckman G. *p53* germ line haplotypes associated with increased risk for colorectal cancer. *Carcinogenesis* 16 : 1461—1464, 1995
 - 15) Runnebaum IB, Tong XW, Konig R, Hong Z, Korner K, Atkinson EN, Kreienberg R, Kieback DG. *p53*-based blood test for *p53/PIN3* and risk for sporadic ovarian cancer. *Lancet* 345 : 994, 1995
 - 16) Harbour JW, Sali SL, Whang-Peng J, *et al.* Abnormalities in structure and expression of the human *retinoblastoma* gene in SCLC. *Science* 241 : 353—357, 1988
 - 17) Johnson BE. Biology of lung cancer. In : Johnson BE, Johnson DH, eds, Lung cancer, Wiley-Liss. New York : pp 15—40, 1995
 - 18) Gazdar AF. The molecular and cellular basis of human lung cancer. *Anticancer Res* 13 : 261—268, 1994
 - 19) Bodner SM, Minna JD, Jensen SM, D'Amico D, Carbone D, Mitsudomi T, Fedorko J, Buchhagen DL, Nau MM, Gazdar AF, Linoila RI. Expression of mutant *p53* proteins in lung cancer correlates with the class of *p53* gene mutation. *Oncogene* 7 : 743—749, 1992
 - 20) Winter SF, Minna JD, Johnson BE, Takahashi T, Gazdar AF, Carbone DP. Development of antibodies against *p53* in lung cancer patients appears to be dependent on the type of *p53* mutation. *Cancer Res* 52 : 4168—4174, 1992
 - 21) Nishigaki Y, Ohsaki Y, Toyoshima E, Kikuchi K. Increased serum and urinary levels of a parathyroid hormone-related protein carboxy-terminal in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* : 1999 (in press)
 - 22) Vineis P, Caporaso N. Tobacco and cancer : epidemiology and the laboratory. *Environ Health Perspect* 2 : 156—160, 1995
 - 23) Suzuki H, Takahashi T, Kuroishi T, Suyama M, Ariyoshi Y, Ueda R. *p53* mutations in non-small cell lung cancer in Japan : association between mutations and smoking. *Cancer Res* 52 : 734—736, 1992
 - 24) Takashima Y, Seyama T, Bennett WP, Akiyama M, Tokuoka S, Inai K, Mabuchi K, Land CE, Harris CC. *p53* mutations in lung cancer from non-smoking atomic-bomb survivors. *Lancet* 342 : 8886—8887, 1993
 - 25) Denissenko MF, Pao A, Tang M, Pfeifer GP. Preferential formation of benzo [α] pyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in *p53*. *Science* 274 : 430—432, 1996
 - 26) Watanabe H, Sawabu N, Ohta H, *et al.* Identification of *K-ras* oncogene mutations in the pure pancreatic juice of patients with ductal pancreatic cancers. *Jpn J Cancer Res* 84 : 961—965, 1993
 - 27) Takeda S, Ichiji S, Nakamura Y. Detection of *K-ras* mutation in sputum by mutant-allele-specific amplification (MASA). *Hum Mutation* 2 : 112—117, 1993
 - 28) Chen XG, Stroun M, Magnenat JL, *et al.* Microsatellite alterations in plasma DNA of small cell lung cancer patients. *Nature Medicine* 2 : 1033—1034, 1996

参考文献

- 1) Semenza JC, Weasel LH. Molecular epidemiology in environmental health : The potential of tumor suppressor gene *p53* as a biomarker. *Environ Health Perspect* 105 : 155—163, 1997
- 2) Nakamura Y, Inazawa J. Genetic diagnosis of cancer. *Int J Clin Oncol* 3 : 265—270, 1998
- 3) Mulshine JL, Zhou J, Treston AM, Szabo E, Tockman MS, Cuttitta F. New approaches to the integrated management of early lung cancer. *Hematol Oncol Clin N* 11 : 235—252, 1997
- 4) Minna JD. The molecular biology of lung cancer pathogenesis. *Chest* 103 : 445 S—456 S, 1993
- 5) Abeloff MD, Armitage JO, Lichter AS, Niederhuber JE, eds. Clinical Oncology, Churchill Livingstone. New York : 1995