

## アデノウイルス誘発マウス腫瘍における myc 群癌遺伝子の増幅と発現

香川医科大学病理学講座第一病理学 (指導: 大森正樹教授)

沖 野 毅

(平成元年12月15日受稿)

**Key words:** アデノウイルス, 癌遺伝子, c-myc, N-myc

### 緒 言

腫瘍 DNA を直接細胞に取り込ませて、トランスフォーメーション活性を検出する DNA トランスフェクション法により、現在までに30種類以上の癌遺伝子が単離、解析されてきた<sup>1)</sup>。遺伝子産物が核内にあるものは核内癌遺伝子と呼ばれており、これらのうち c-myc<sup>2)</sup>, fos<sup>1)</sup>, myb<sup>3)</sup> の遺伝子産物は DNA 結合活性をもつことが示されている。N-myc, L-myc 遺伝子は c-myc と相同な塩基配列をもち<sup>2)</sup>, c-myc とともに myc ファミリーと称されるが、これらの遺伝子産物も同様の性質を有すると予想されている<sup>4)</sup>。c-myc, c-fos, c-myb は正常細胞あるいはトランスフォーム細胞で休止期 G<sub>0</sub>期から G<sub>1</sub>期への移行の段階で、一過性に発現が上昇することが、それぞれ BALB/c3T3 細胞と C57BL/6J マウスのリンパ球<sup>5)</sup>, BALB/c3T3 細胞<sup>6)</sup>, ニワトリ T 細胞と線維芽細胞<sup>7)</sup> に於いて知られている。また myc ファミリー遺伝子は腫瘍の種類にはあるが、種々の癌細胞で遺伝子の増幅や発現の上昇が示されている<sup>2,8-10)</sup>。以上のことより上記癌遺伝子は細胞の増殖に基本的に参与していると考えられ、その発現の脱制御が癌化に深く関連していると考えられている<sup>11)</sup>。

ヒト由来のアデノウイルスは、ラット、ハムスター、マウスなどげっ歯類の細胞を *in vivo* 及び *in vitro* でトランスフォームさせる<sup>12)</sup>。トランスフォーム細胞ではアデノウイルスゲノム DNA の左端部11.5%内の E1A 及び E1B 領域が細胞染色体 DNA に組み込まれ、発現する<sup>12)</sup>。E1A 遺

伝子産物は核内に局在し<sup>12)</sup>、また E1A タンパク質のアミノ酸配列と v-myc, v-myb 遺伝子の塩基配列から予想されるタンパク質のアミノ酸配列とが相同な部分をもつ<sup>13)</sup>ことより、これら遺伝子は全て細胞増殖に関して類似の機能を果たしていることが予想されている<sup>13)</sup>。本実験では、ヒトアデノウイルス12型により誘発されたマウス腫瘍及び自然発癌によって得られたマウス肝癌に於ける核内癌遺伝子の増幅と発現について検索を行なった。

### 材 料 と 方 法

#### 1. RNA, DNA の調製

材料として C3Hf/OK マウス<sup>14)</sup>新生仔の皮下及び脳内にヒトアデノウイルス12型を接種して得られた固形腫瘍 D 株<sup>15,16)</sup>(D), IC 株<sup>15,16)</sup>(IC) 及び同系マウスの自然発癌により得られた肝癌 P 株 (P)<sup>16)</sup>を同系マウスの皮下に継代移植維持しているものを用いた。対照としては同系マウス正常肝 (L) を用いた。マウス皮下に継代移植している D (継代416代), IC (143代), P (196代) をマウスと殺後摘出し、直ちに Guanidinium-CsCl 法により、total RNA を抽出、精製した<sup>17)</sup>。同系マウス正常肝からも同様に RNA を調製した。DNA も同じ材料から、成書の方法に従い抽出、精製した<sup>17)</sup>。

#### 2. プローブ

プローブは、Japanese Cancer Research Resources Bank (JCRB) より入手した癌遺伝子を含む組み換えプラスミド、pLM1 (mouse N-myc)<sup>4,18)</sup>, pSPT-myc cDNA (human c-

myc)<sup>19,20)</sup>, pSPT-L-myc (human L-myc)<sup>10)</sup>, pc-fos- (human) -1 (human c-fos)<sup>21,22)</sup>, pCM1.3 (avian c-myb)<sup>23)</sup>を用いた。それぞれのプラスミドは、その宿主大腸菌を増殖させた後、アルカリ溶解法、CsCl 遠心分離にて抽出、精製した<sup>17)</sup>。プローブ断片は各プラスミドを制限酵素で消化後、分離、精製した。N-myc, c-myc, L-myc, c-fos, c-myb のプローブとしてはそれぞれ1.0kilo base pair (kb) PstI 断片, 2.2kb EcoRI 断片, 1.8kb SmaI-EcoRI 断片, 1.0kb Tth111I-NcoI 断片, 1.3kb Hind III断片を用いた。それぞれの断片は [ $\alpha$ -<sup>32</sup>P]dCTP (3,000Ci/mmol, Amersham) を用いてランダムプライマー法 (Random Primer DNA Labeling Kit, TAKARA) にて標識後、プローブとして使用した。放射活性は、 $7.8 \times 10^8 \sim 1.8 \times 10^9$  cpm/ $\mu$ g の範囲のものを用いた。なお、N-myc, c-myc, L-myc のプローブは以下のハイブリダイゼーションの条件で、互いに cross-hybridization を示さないことを確認した。

### 3. Northern 法

D, IC, P 及び L より得られた total RNA それぞれ20 $\mu$ g をホルムアルデヒド法にて1%アガロースゲルで泳動し、ナイロンメンブランにトランスファーした<sup>24)</sup>。ハイブリダイゼーションは、50%ホルムアミド, 10%デキストラン硫酸, 6 $\times$ SSC, 5 $\times$ Denhardt 液, 0.5% SDS, 10mM EDTA, 100 $\mu$ g/ml サケ精巢 DNA の存在下42 $^{\circ}$ Cで行った。ハイブリダイゼーション後、メンブランを2 $\times$ SSC 及び0.2 $\times$ SSC にて洗浄した。オートラジオグラムは増感板 (Hi-ScreenB-2, FUJI) を使用し、-80 $^{\circ}$ C で3.5~8時間 X線フィルム (RX, FUJI) に感光させて作成した。分子量は total RNA に含まれる18S, 28S リボソーム RNA の泳動距離と比較し決定した。

### 4. Southern 法

Northern 法において発現の上昇の見られた癌遺伝子については、Southern 法によりその癌遺伝子の増幅についても検討した。

D, IC, P 及び L より得られた高分子 DNA を適当な制限酵素で消化後、0.8%アガロースゲルで泳動し、ナイロンメンブランにトランスファーした<sup>25)</sup>。ハイブリダイゼーション、オートラジ

オグラムは Northern 法の場合と同様に行なった。分子量は試料とともに  $\lambda$  ファージ DNA を Hind III で消化したものを泳動し、その泳動距離より決定した。なお遺伝子の発現、増幅の程度は、オートラジオグラム上に得られたバンドの黒化度をデンシトメーター (Dual-Wavelength TLC Scanner, CS-910, Shimadzu) を使用し数値化し、比較した。

## 結 果

### 1. Northern 法

Northern 法による解析では、D においてのみ N-myc の発現の上昇が認められた (Fig. 1A)。N-myc の mRNA のサイズは3.0kb であった。IC, P, L においては N-myc の発現は検出できなかった。

D, IC, P において c-myc の発現の上昇が認められた (Fig. 1B)。発現量は D, IC, P の順に大きく、デンシトメーターによる計測では D は P の約5倍, IC は P の約2倍であった。全てにおいて c-myc mRNA のサイズは2.5kb であった。

L-myc, c-fos, c-myb の発現は、D, IC, P いずれにおいても対照 L と同程度かあるいは検出不能であった。結果のまとめを Table 1 に示す。

### 2. Southern 法

Northern 法で発現の上昇が認められた D に於ける N-myc 及び D, IC, P に於ける c-myc について Southern 法にて癌遺伝子の増幅を検索した。

#### (1) N-myc について

D に於いて N-myc 遺伝子は1.3kb の EcoRI 断片として検出された (Fig. 2)。図に示されているように対照 L のレーン 1 (15 $\mu$ g 泳動) のバンドの強度は D のレーン 3 (5 $\mu$ g), 4 (10 $\mu$ g) のバンドの強度の間であった。デンシトメーターを用いたオートラジオグラム上のバンドの黒化度の計測より D に於ける N-myc のコピー数は対照の1.9倍に増加していると考えられた (Table 2)。

#### (2) c-myc について

c-myc 遺伝子の増幅は IC に於いてのみ認めら

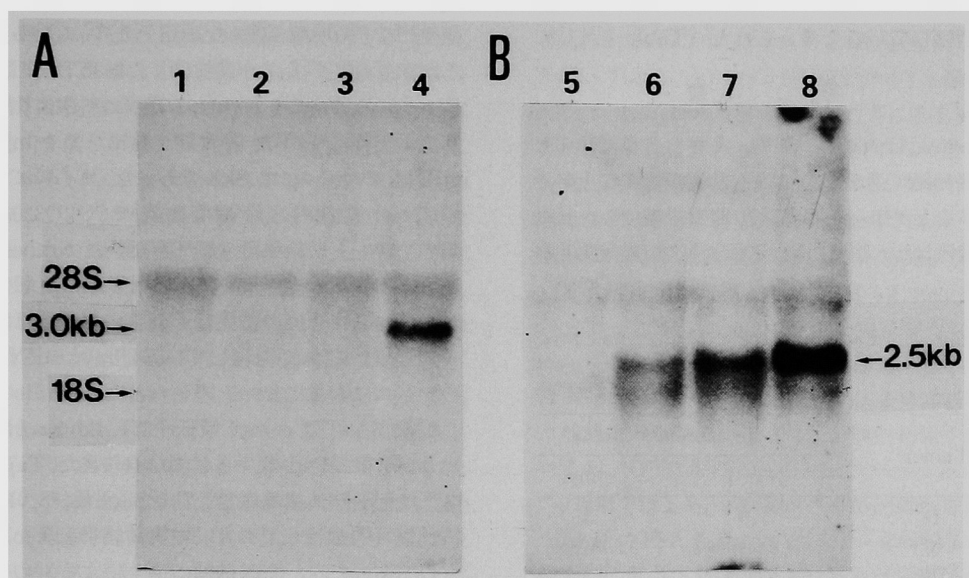


Fig. 1 Northern analysis of expressions of N-myc (A) and c-myc (B) in the D, IC and P tumors. Total RNAs (20  $\mu$ g in each) from liver tissue, and the P, IC and D tumors were loaded in lane 1 and 5, 2 and 6, 3 and 7, and 4 and 8, respectively, and hybridized with the N-myc (A) and c-myc (B) probes. The band at 3.0 kb position in lane 4 represents N-myc mRNA and the bands at 2.5 kb position in lane 6, 7 and 8 represent c-myc mRNA.

Table 1 Oncogene expressions in the D, IC and P tumors.

Tumor <sup>a</sup>	Expressions of oncogenes <sup>b</sup>				
	N-myc	c-myc	L-myc	fos	myb
D	+	+++	-	-	-
IC	-	++	-	-	-
P	-	+	-	-	-
L	-	-	-	-	-

a: D and IC are adenovirus-induced tumors, and P is a spontaneous hepatoma of C3Hf/OK mice. L is liver tissue.

b: The intensity of the gene expression is shown by numbers of +.

れた。c-myc はオートラジオグラム上で、1.4kb SacI 断片 (Fig. 3A) 及び6.0kb PstI 断片 (Fig. 3B) として検出された。レーン 1 及び 5 の対照 L のバンドの黒化度は、5 分の 1 量の IC の DNA を泳動したレーン 2 及び 6 よりもそれぞれ低く、IC に於ける c-myc のコピー数は L の 5 倍以上であることが示された。デンシトメーターによる計測からは、IC に於ける c-myc は対照の 8.9 倍

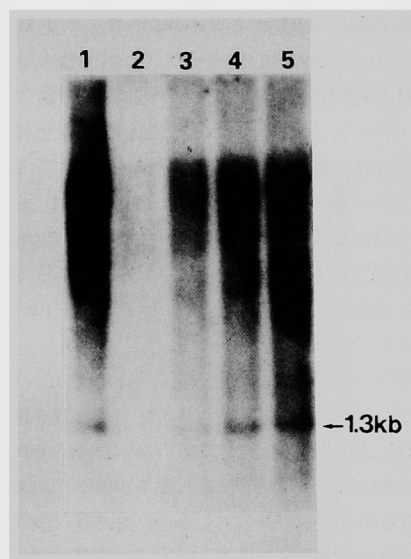


Fig. 2 Southern analysis of N-myc in the D tumor. Serial dilutions of EcoRI-digested high molecular genomic DNAs from D (1  $\mu$ g in lane 2, 5  $\mu$ g in lane 3, 10  $\mu$ g in lane 4, and 15  $\mu$ g in lane 5) and liver tissue (15  $\mu$ g in lane 1) were loaded and hybridized with the N-myc probe. The EcoRI fragments of genomic N-myc appear at 1.3 kb position.

に増幅していると考えられた (Table 2).

### 考 察

c-myc は大腸癌, 肺癌, 乳癌など多種類のヒト癌細胞で遺伝子の増幅や発現の異常な上昇を示すことが知られている<sup>2,8)</sup>. 非癌組織でも c-myc の発現はヒト胎盤組織<sup>11)</sup>やラットの切除後再生肝

Table 2 Copy numbers of N-myc and c-myc in the D, IC and P tumors.

Tumor <sup>a</sup>	Copy numbers <sup>b</sup> (fold)	
	N-myc	c-myc
D	1.9	1
IC	not examined	8.9
P	not examined	1
L	1	1

a: D and IC are adenovirus-induced tumors, and P is a spontaneous hepatoma of C3Hf/OK mice. L is liver tissue.

b: Copy numbers of genes were determined by using liver tissue as a standard.

組織<sup>26)</sup>などの増殖の盛んな細胞で上昇していることが示されている. 今回検索した腫瘍 D, IC, P いずれに於いても c-myc の発現は対照に比べ高度に上昇していた. 本実験で検出した c-myc mRNA のサイズは 2.5kb であった. サイズについてヒト悪性内分泌腫瘍細胞株 COLO320細胞<sup>27)</sup>, ラット切除後再生肝<sup>26)</sup>を用いた Northern 法による解析からそれぞれ 2.7kb, 2.5kb と報告されており, 今回の結果はそれらの報告とほぼ一致し, D, IC 株で発現している c-myc mRNA のサイズに異常はないと考えられた.

IC に於いては c-myc 遺伝子は 1.4kb SacI 断片及び 6.0kb PstI 断片として認められた. Taya ら<sup>28)</sup>はヒト肺大細胞癌で 2.7kb SacI 及び 8.0kb PstI 断片を検出しており, 本実験結果と異なるものであったが, これは種の違いによるものと考えられる. またヒトバークリットリンパ腫<sup>20)</sup>や COLO320細胞<sup>27)</sup>では SacI 断片の制限酵素断片多型性 (RFLP) が示されているが, IC では RFLP は認められなかった. c-myc は多種類の癌細胞で遺伝子の増幅が示されている<sup>2,8)</sup>が, ヒトの肺

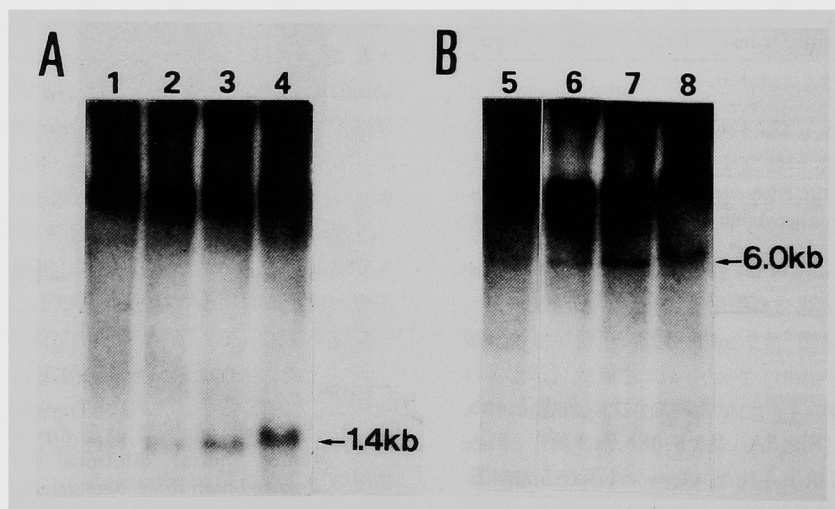


Fig. 3 Southern analysis of c-myc in the IC tumor. Serial dilutions of DNAs digested with SacI (A) and PstI (B) from the IC tumor (3  $\mu$ g in lane 2 and 6, 7.5  $\mu$ g in lane 3 and 7, and 15  $\mu$ g in lane 4 and 8) and liver tissue (15  $\mu$ g in lane 1 and 5) were loaded and hybridized with the c-myc probe. The 1.4 kb position in (A) and 6.0 kb position in (B) represent SacI- and PstI-digested c-myc fragments, respectively.

小細胞癌では c-myc の増幅はそのサブタイプに関連しているという報告がある<sup>29)</sup>。それによると肺小細胞癌では、化学療法や放射線療法に抵抗性の中間型細胞で c-myc の増幅がより強いとしている。IC でも c-myc はコピー数が8.9倍に増加していたが、腫瘍の移植継代中に c-myc の増幅された細胞が現われ、このような細胞が選択されていったものと推測される。

N-myc の発現は D に於いてのみ認められ、検出された mRNA のサイズは3.0kb であった。DePinho ら<sup>4)</sup>はマウス B 細胞の解析からその N-myc mRNA のサイズについて3.0kb と報告しており、本実験の結果と一致するものであった。また Southern 法による解析で N-myc は1.3kb EcoRI 断片として認められた。Taya ら<sup>18)</sup>はヌードマウスでは7.7kb EcoRI 断片として検出しており本実験の結果と異なっていた。これは、マウス系統間の差異によるものと考えられるが、系統差が、癌遺伝子の RFLP として現れるのは面白い点である。D に於いて N-myc は1.9倍のコピー数の増加を示していた。アデノウイルス誘発腫瘍で N-myc 遺伝子の増幅あるいは発現の上昇を報告した例は無いが、Jessberger ら<sup>30)</sup>はアデノウイルスを感染させてトランスフォームしたハムスターの HA12-7細胞で c-myc 遺伝子の増幅がみられたと報告している。このことからアデノウイルス癌遺伝子が c-myc, N-myc 遺伝子の増幅や発現の上昇に関与している可能性が示唆される。

D に於いては c-myc, N-myc の発現がともに上昇していたが、分化した細胞では myc ファミリーのうち1種だけ発現しているのが一般的である<sup>2,31)</sup>。前述したように c-myc が多種類の癌細胞やヒト胎盤組織<sup>11)</sup>、ラット再生肝<sup>26)</sup>で発現が上昇していること、N-myc がヒト神経芽細胞腫<sup>9)</sup>、網膜芽細胞腫<sup>32)</sup>、ウィルムス腫瘍や胎児脳などの発生初期の未分化細胞<sup>33)</sup>で発現が上昇していることを考えると、myc ファミリー癌遺伝子はそれぞれが本来定められた組織や細胞の分化時期に従って発現するが、N-myc 及び L-myc は c-myc に比べより限られた条件のもとで発現すると考えられる<sup>4)</sup>。Cleveland ら<sup>34)</sup>は N-myc 及び myc ファミリー遺伝子と類似の機能、構造をもつと

考えられる<sup>13)</sup>アデノウイルス E1A 発現ベクターを導入することにより、NIH3T3 マウス線維芽細胞で、c-myc の発現が抑制されることを示し、これは c-myc, N-myc, E1A それぞれの遺伝子産物が共通の標的遺伝子に競合的に作用するためではないかと予想した。Kubota ら<sup>35)</sup>は N-myc を多量に発現しているが c-myc を発現していないヒト神経芽細胞種 IMR32細胞に c-myc 発現ベクターを導入し、c-myc の発現に伴ない N-myc の発現が抑制されることを示し、通常時では N-myc は c-myc 遺伝子産物により抑制された状態にあると考えた。E1A が強く発現されている D, IC<sup>36)</sup>に於いて前者では N-myc, c-myc の、後者では c-myc の発現の上昇が認められたが、上述の E1A と myc ファミリー遺伝子との細胞増殖に関する調節機能に何らかの破綻が生じている為と考えられる。

## 結 論

1. アデノウイルス誘発腫瘍 IC 株は c-myc の発現の上昇を示し、c-myc 遺伝子は8.9倍にコピー数が増加していた。長期の継代中に c-myc の増幅が起こり、その細胞が選択された可能性が推測された。
2. アデノウイルス誘発腫瘍 D 株においては、N-myc, c-myc の発現が上昇していた。N-myc 遺伝子は1.9倍にコピー数が増加していた。
3. D, IC 株に於いては、細胞増殖に関与する myc 遺伝子とその調節機構から逸脱していることが示唆された。

稿を終えるにあたり、本実験の御指導を賜りました大森正樹教授に深遠なる感謝の意を表します。また実験及び論文執筆に際し御助言を頂いた第一病理学教室の諸先生、さらに技術的御指導を頂いた本学微生物学講座の松下治、片山誠一両先生に心から感謝の意を表します。

## 文 献

- 1) 仙波憲太郎, 豊島久真男: がん遺伝子の系統と機能による分類. 日臨 (1989) **47**, (589), 増刊号, 579—586.
- 2) Alitalo K, Koskinen P, Mäkelä TP, Saksela K, Sistonen L and Winqvist R: myc oncogenes: activation and amplification. *Biochim Biophys Acta* (1987) **907**, 1—32.
- 3) Biedenkapp H, Borgmeyer U, Sippel AE and Klempnauer KH: Viral myb oncogene encodes a sequence-specific DNA-binding activity. *Nature* (1988) **335**, 835—837.
- 4) DePinho RA, Legouy E, Feldman LB, Kohl NE, Yancopoulos GD and Alt FW: Structure and expression of the murine N-myc gene. *Proc Natl Acad Sci USA* (1986) **83**, 1827—1831.
- 5) Kelly K, Cochran BH, Stiles CD and Leder P: Cell-specific regulation of the c-myc gene by lymphocyte mitogens and platelet-derived growth factor. *Cell* (1983) **35**, 603—610.
- 6) Greenberg ME and Ziff EB: Stimulation of 3T3 cells induces transcription of the c-fos proto-oncogene. *Nature* (1984) **311**, 433—437.
- 7) Thompson CB, Challoner PB, Neiman PE and Groudine M: Expression of the c-myb proto-oncogene during cellular proliferation. *Nature* (1986) **319**, 374—380.
- 8) Eva A, Robbins KC, Anderson PR, Srinivasan A, Tronick SR, Reddy EP, Ellmore NW, Galen AT, Lautenberger JA, Papas TS, Westin EH, Wong-Staal F, Gallo RC and Aaronson SA: Cellular genes analogous to retroviral onc genes are transcribed in human tumor cells. *Nature* (1982) **295**, 116—119.
- 9) Schwab M, Alitalo K, Klempnauer KH, Varmus HE, Bishop JM, Gilbert F, Brodeur G, Goldstein M and Trent J: Amplified DNA with limited homology to myc cellular oncogene is shared by human neuroblastoma cell lines and a neuroblastoma tumour. *Nature* (1983) **305**, 245—248.
- 10) Nau MM, Brooks BJ, Battey J, Sausville E, Gazder AF, Kirsch IR, McBride OW, Bertness V, Hollis GF and Minna JD: L-myc, a new myc-related gene amplified and expressed in human small cell lung cancer. *Nature* (1985) **318**, 69—73.
- 11) 林 健志: myc 遺伝子の構造と機能. 医のあゆみ (1985) **133**, 1094—1097.
- 12) 小田鈞一郎: アデノウイルスの癌遺伝子. 医のあゆみ (1985) **133**, 1109—1113.
- 13) Ralston R and Bishop JM: The protein products of the myc and myb oncogenes and adenovirus E1A are structurally related. *Nature* (1983) **306**, 803—806.
- 14) Ohmori M: Present status and history of the mouse colony of Okayama University Medical School. *Acta Med Okayama* (1981) **35**, 293—306.
- 15) Ohmori M, Ohtsuki Y and Kobayashi S: Activation of an endogenous oncogenic virus by human adenovirus in mice. *J Cancer Res Clin Oncol* (1979) **93**, 45—56.
- 16) 佐藤 博: 日本で維持されている可移植性腫瘍株一覧表. 癌と化療 (1984) **11**, (3), PART II, 1—92.
- 17) Maniatis T, Fritsch EF and Sambrook J: *Molecular Cloning. A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor (1982) pp86—281.
- 18) Taya Y, Mizusawa S and Nishimura S: Nucleotide sequence of the coding region of the mouse N-myc gene. *EMBO J* (1986) **5**, 1215—1219.
- 19) Watt R, Stanton LW, Marcu KB, Gallo RC, Croce CM and Rovera G: Nucleotide sequence of cloned cDNA of human c-myc oncogene. *Nature* (1983) **303**, 725—728.
- 20) Battey J, Moulding C, Taub R, Murphy W, Stewart T, Potter H, Lenoir G and Leder P: The

- human c-myc oncogene : structural consequences of translocation into the IgH locus in Burkitt lymphoma. *Cell* (1983) **34**, 779—787.
- 21) Curran T, MacConnell WP, Straaten F and Verma IM : Structure of the FBJ murine osteosarcoma virus genome : molecular cloning of its associated helper virus and the cellular homolog of the v-fos gene from mouse and human cells. *Mol Cell Biol* (1983) **3**, 914—921.
  - 22) Straaten F, Müller R, Curran T, Beveren C and Verma IM : Complete nucleotide sequence of a human c-onc gene : deduced amino acid sequence of the human c-fos protein. *Proc Natl Acad Sci USA* (1983) **80**, 3183—3187.
  - 23) Gonda TJ and Bishop JM : Structure and transcription of the cellular homolog (c-myb) of the avian myeloblastosis virus transforming gene (v-myb). *J Virol* (1983) **46**, 212—220.
  - 24) Thomas PS : Hybridization of denatured RNA and small DNA fragments transferred to nitrocellulose. *Proc Natl Acad Sci USA* (1980) **77**, 5201—5205.
  - 25) Southern E : Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J Mol Biol* (1975) **98**, 503—517.
  - 26) Makino R, Hayashi K and Sugimura T : c-myc transcript is induced in rat liver at a very early stage of regeneration or by cycloheximide treatment. *Nature* (1984) **310**, 697—698.
  - 27) Alitalo K, Schwab M, Lin CC, Varmus HE and Bishop JM : Homogeneously staining chromosomal regions contain amplified copies of an abundantly expressed cellular oncogene (c-myc) in malignant neuroendocrine cells from a human colon carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* (1983) **80**, 1707—1711.
  - 28) Taya Y, Hosogai K, Hirohashi S, Shimosato Y, Tsuchiya R, Tsuchida N, Fushimi M, Sekiya T and Nishimura S : A novel combination of K-ras and myc amplification accompanied by point mutational activation of K-ras in a human lung cancer. *EMBO J* (1984) **3**, 2943—2946.
  - 29) Burck KB, Liu ET and Larrick JW : Gene amplification and overexpression ; *Oncogenes*. An introduction to the concept of cancer genes, Springer-Verlag, New York (1988) pp115—118.
  - 30) Jessberger R, Weisshaar B, Stabel S and Doerfler W : Arrangement and Expression of integrated adenovirus type 12 DNA in the transformed hamster cell line HA 12/7. Amplification of Ad12 and c-myc DNAs and evidence for hybrid viral-cellular transcripts. *Virus Res* (1989) **13**, 113—128.
  - 31) Bishop, JM : Viral oncogenes. *Cell* (1985) **42**, 23—38.
  - 32) Lee WH, Murphree AL and Benedict WF : Expression and amplification of the N-myc gene in primary retinoblastoma. *Nature* (1984) **309**, 458—460.
  - 33) 金子安比古 : 神経芽細胞腫, 日臨 (1989) **47**, (589), 増刊号, 579—586.
  - 34) Cleveland JL, Huleihel M, Bressler P, Siebenlist U, Akiyama L, Eisenman RN and Rapp UR : Negative regulation of c-myc transcription involves myc family proteins. *Oncogene Res* (1988) **3**, 357—375.
  - 35) Kubota Y, Kim SH, Iguchi-Arigo SMM and Ariga H : Transrepression of the N-myc expression by c-myc protein. *Biochem Biophys Res Commun* (1989) **162**, 991—997.
  - 36) 森川智子 : ヒトアデノウイルス12型誘発腫瘍における E1 領域遺伝子の組み込みと発現. 岡山医誌, (1990) **102**, 143—152.

**Amplification and expression of myc-related oncogenes  
in adenovirus-induced tumors**

**Takeshi OKINO**

**Department of Pathology,**

**Kagawa Medical School**

**Kagawa 761-07, Japan**

**(Director : Prof. M. Ohmori)**

**Amplification and expression of myc-related oncogenes were studied on adenovirus-induced tumors (D and IC) and spontaneous hepatoma (P), all of which had been successively transplanted in C3Hf/OK mice. c-myc expression was elevated in the D, IC and P tumors, and a 8.9-fold amplification of c-myc was observed in the IC tumor. In the D tumor N-myc expression was elevated and a 1.9-fold amplification of N-myc was also observed. Amplification of c-myc in the IC tumor was suspected to be a result of selection for c-myc amplified cells during successive transplantation. Although expression of genes, c-myc, N-myc and E1A of adenovirus, suppress each other, the results of this experiment, especially elevated expression of N-myc and c-myc in the D tumor, implicated deregulation of myc family genes in malignancies induced by adenovirus.**