

放医研シンポジウム

「環境因子による生体の障害——その解明へのアプローチ」

論 文 集

昭和47年12月1～2日

Approaches to Estimation of the Risks
from Environmental Factors

放射線医学総合研究所

National Institute of Radiological Sciences
9-1, 4 chome, Anagawa Chiba-shi,
Japan

序

本研究所でいわゆる「放医研シンポジウム」を開催するようになりましてから、本年は第4回目に当たります。第1、第2回のシンポジウムは、本研究所で行なわれていたプロジェクト研究のテーマをその主題と致しました。昨年はやや方向をかえ、基礎的なテーマについてのシンポジウムを開催致しました。本年も昨年同様の趣旨によつて、表題のようなテーマが選ばれ、種々準備が進められました。

御承知のように国立研究所での研究は、国民の要請に応えるという意味で、ある程度の制約をうけており、目的研究を推進する必要があります。ある程度できあがつた材料を使つて、料理や洋服をつくるのにたとえられるかも知れません。

ところが料理にしても洋服にしても、よい素材を選ばねばなりません。目的研究についても同様で、基本となる研究が必要であることはいうまでもありません。研究の目的達成のためには、ひとつひとつの基礎的知見を明確にしておかなければなりません。その意味で本年のテーマもこれからの研究を進める上に、重要な役割を果すと期待しております。

関係各位の御協力を感謝するとともに、活発な御討論をお願い致します。

昭和47年12月1日

放射線医学総合研究所長 御園生圭輔

目次

環境因子による生体の障害——その解明へのアプローチ

- 序……………(松平寛通) [731]
- I. ヒトにおける先天性疾患……………(松平寛通) [732]
- 先天異常への臨床的アプローチ——2, 3 の新しい試み……………(福山幸夫・他) [733]
- 染色体異常と発生異常——最近の研究から……………(佐々木本道) [741]
- 遺伝子突然変異と先天性疾患……………(松永 英) [748]
- II. 放射線などによる生体障害の例……………(江上信雄) [753]
- 小児(胎児)被爆者の晩発障害……………(加藤寛夫) [754]
- 放射線によるマウス胎児の指趾異常発生および発育遅延……………(上田慶子, 吉沢康雄) [760]
- III. 動物細胞における突然変異……………(岡田重文) [771]
- 環境因子による遺伝的障害のアセスメント……………(中井 斌) [772]
- ミутаゲンの細胞代謝——特性とその活性の検出……………(賀田恒夫) [776]
- 培養哺乳動物細胞での突然変異……………(鈴木紀夫) [783]
- IV. 発癌と突然変異……………(堀川正克) [790]
- 化学発癌物質と生体高分子の相互作用……………(黒木登志夫) [791]
- 化学物質による培養細胞の癌化……………(角永武夫) [799]
- 紫外線による突然変異と発癌……………(武部 啓) [805]
- V. 発癌と染色体異常……………(熊取敏之) [811]
- クロマチッド組換えと発癌……………(杉山武敏) [812]
- 血液細胞における染色体変異と白血病……………(石原隆昭) [820]
- VI. 環境因子と人間の将来……………(水野伝一) [829]
- 環境因子と人間の将来——分子生物学の立場から……………(渡辺 格) [830]
- 環境因子と人間の将来——人類生態学の立場から……………(小泉 明) [834]

環境因子による生体の障害

—その解明へのアプローチ—

生物は自然の放射線にさらされることによつてひきおこされた突然変異と適者生存の原理に従つて進化をつづけてきたといわれる。ところが人工放射線の出現、その利用範囲の拡大とともにあまりのききなこばかりいつておれなくなつた。

というのは微量な放射線の被曝がくりかえされることによつて、遺伝的障害、癌、加齢などのいわゆる晩発性障害が起こるからである。一方自然、人工の放射線被曝を皆無にすることは到底できない。

一体どれくらいの量の放射線被曝によつてどれくらいの頻度で問題となる障害が、しかも人にあらわれるであろうかということが、世界中でしらべられた。その結果気づいたことのひとつが、放射線だけを対象としていたのでは問題の解決がむつかしいということである。生物自身に内在する問題と、最近とくに進んできた環境汚染

の問題とをどうしても考慮しなければならない。

そこで各方面でとりあげられた環境因子の中から、とりあえず放射線と近縁の作用をもつ2、3のものについて、放射線との対比において、主として遺伝的障害の危険度を定量的に把握するのに有効な方策をねる試みをした。

以下は昨年12月1、2日の両日放射線医学総合研究所で行なわれたシンポジウム“環境因子による生体の障害—その解明へのアプローチ—”の記録である。時間の関係もあつて当初考えた全部のテーマを議論することはできなかつた。

関係各位のご支援、ご協力を深謝するとともに、ご叱責をいただければ幸いである。

放射線医学総合研究所生物研究部 松平寛通

* * *

I. ヒトにおける先天性疾患

われわれがまず知りたかつたのは、ヒトにおける先天性疾患の種類とその頻度である。

福山氏は小児科医の立場から小児にみられる奇型のうち、小奇型についてのべられた。この型の奇型の頻度は報告によりまちまちであるが、かなり高く、その原因はむしろ不明であるという。生命の維持には必ずしも障害とならないが、これをもつ小児は大きな社会的ハンデキャップをうける点は問題となろう。その診断法もまったくは確立されていないという。

佐々木氏はヒトの染色体の分析法にはじまり、染色体の数および形の異常を伴う先天性疾患についてのべられた。すなわち常染色体あるいは性染色体の異数性による先天性異常、流産などの頻度、これに影響を与える因子としての母親の年齢や妊娠の季節など。さらにはキナクリンマスタードなどを用いた新しい染色体の同定法。これらのお話をうかがっていると染色体異常とひと口にいうが、その診断は素人のできるものでないこと、異常の発見法がますます微に入り細に入るのでたいへんな仕事であること、電算機などを用いた自動化の必要性があるだろうこと、ヒトの染色体上に遺伝子マップを書くこと

は前途ほど遠いことなどをつくづく感じた。

松永氏は顕微鏡で見つからない遺伝物質の異常——遺伝子突然変異——にもとづく疾患について話をされた。この類の疾患の種類は多いがそのいずれもが稀なものだけに、特定の疾患についての遺伝学的解析はかなりむづかしい。それでもヘモグロビンの異常の場合のようにタンパク分子としての異常までがはつきりして、各異常に対応する DNA の塩基の異常までが推定されているものもある。おもしろかつたのは、ある種の突然変異の発生頻度は子が生れた時の父の年齢に関係するものが多いということである。

全体として、多くの先天性異常は出生時に約半分、5歳までに残りの半分があらわれるということ、そのうち染色体異常や突然変異に帰因することがわかっているものはむしろ minority であること、子供はできるだけ若いうちに生んだ方がよさそうなこと、特定の環境因子によつて特定の先天性異常が起ることがわかるのはむしろ例外的であるようにさえ思えた。

(放射線医学総合研究所 松平寛通)

* * *

先天異常への臨床的アプローチ

—2, 3の新しい試み—

福山幸夫 横田和子 露崎正紀

はじめに

近年の抗生物質の発達、栄養や衛生条件の改善などによつて、一時代昔小児科の臨床において重大問題であつた急性感染症や栄養障害は、まだ患者数こそ多いが、小児科医の関心の的としては地位が低下し、その代わりに先天性疾患（遺伝性、体質性、胎内性、周生期性）の占める比重が著しく大きくなつてきた。とくに小児科医は、ヒトの発達とその障害に関する研究と診療を主たる使命の1つと自覚しているが故に、出生前小児科学、発達医学に大きな関心と努力を払つている。

筆者は、経験した各種の先天発達障害の症例を供覧し、ヒトの場において行なわれている自然の実験ともいふべきこれらの資料の重要性を強調したい。

1. 小奇形の重要性

従来先天異常の研究は、一見してそれとわかる奇形、たとえば無脳症、水頭症（脊髄膜瘤を伴うものを含む）、先天性心奇形、多合指症、兔唇口蓋裂などを対象に進められてきた傾向がある。これらは、臨床的に奇形を見逃すことはなく、またかなり多くの疾患では天命を全うできず、夭逝したから、臨床診断あるいは治療上の重要性はさほど大であつたとはいえない。

これに比較して、ともすれば見逃されそうな、美容上からも、通常の意味での医学上からも、とくに問題にならない小奇形 minor anomalies, minor malformations, あるいは変質徴候 degenerative stigmata とよばれるものが、臨床面でも、近年著しく注目を集めるようになった。というのは、これらの小奇形を認識することによつて、形態発生の異常全般、あるいはある特異な奇形症候群の存在を発見ないし確認する手がかりになることがわかつたからである。

(1) 肉眼的にみてわかる小奇形（皮膚紋理を除いて）の頻度は、Marden¹⁾の研究によれば、一般の新生児のうち14%が何らかの種類の小奇形を有しており、2種の小奇形を有する例はわずかに0.8%にすぎなかつた。しかも前者では大奇形の合併頻度が、小奇形をまったく有しない症候群における頻度とほぼ同じであつたのに対し、後者では大奇形の合併頻度が5倍多かつた。つまり同一個体にいくつかの小奇形がみられることはただならぬことであり、形態形成過程に何らかの重大なできごとが生じたことを意味することが多い。

(2) 更に重要なことは、いわゆる“特発性精神薄弱”に小奇形の頻度が高いことである。SmithとBostian²⁾(1964)によると、“特発性精神薄弱”小児の約42%は、2~3の奇形（このうち80%は小奇形）を有していたという。現在のところ、新生児期にどのような種類、あるいはどのような組合せの小奇形が認められると、将来成長して精神薄弱とよばれる状態になるかを予言することはできない。しかし小奇形の数が増し、重さが重くなるに平行して、精神薄弱になる危険率が增大するといつてよい。もちろん精神薄弱を伴うことの多い有名な複雑な奇形症候群（たとえばダウン症候群など）は、なれた人ならば、新生児期に発見診断することは容易である。

(3) 3種またはそれ以上の奇形（大小を問わず）が精薄者にみられる場合、精神薄弱と形態異常との間の発達論的関連だけでなく、奇形・精薄症候群全体に対する共通の原因の存在を強く示唆するものともいふのである。というのは、3種またはそれ以上の数の大小奇形を合併しているIQ70以下の精薄児(者)についてのPatauの調査によると、その約20%が染色体異常によるものであつたという。つまり奇形の数が多い例は、染色体異常に起因する可能性がかなり多いことを意味している。

(4) 最後に、常染色体異常にみられる異常の多くは、また性染色体の数的異常の際にみられる症状のほとんどすべてが、いわゆる小奇形に属するものであることである。

こういった外表小奇形は、顔面、眼、耳介、手足といった複雑で変異性に富む場所にみられることが多い。ただ留意すべきことは、同様の特異形質がほかの家族構成員にもみられないかどうかということで、家族内の多くの人に多発する場合の意義づけは、より慎重であらねばならないであろう。

このような外表小奇形が、より全身的な発達障害の存在を示唆する目印しになつたり、あるいは先天発達障害の特殊型を特徴づける指標となつたりすることの実例は、枚挙に暇ないくらいであるが、ここでは著者の経験した2疾患をあげるに止めることにする。

2. 片側耳介奇形と同側に腎無形成が見出された2例

症例1

内○晃○。7カ月男児，昭和44年7月4日生まれ。

主訴：けいれん，哺乳力微弱，固視追視不能，体重増加不良，首の固定が不完全。

家族歴：血族結婚なし。現在父35歳，母33歳で，本例はその第1子。

既往歴

胎生期：妊娠2カ月始め発熱し，市販のカゼ薬を4錠服用した。

出生：在胎39週，生下時体重2,530g，身長47cm，頭囲31.5cm，早期破水，回旋異常，骨盤位分娩，生下時仮死あり。

新生児期：分娩直後からチアノーゼ強く，呼吸不整あり，哺乳力微弱のため鼻腔栄養施行。

乳児期：生後3カ月，当大学心研にて心室中隔欠損症と診断さる。この頃あやせば笑い，目で物を追つてみるも，生後5カ月頃，とくに原因なく，點頭てんかん発作がシリーズをなして発現，次第に増強し来つたので，生後7カ月，上記主訴にて当科へ入院した。

入院時理学的所見

体格：小，身長67.0cm（標準68.5cm），体重5.61kg（8.10kg），頭囲42.0cm（44.3cm）。

栄養：不良，Kaup指数12.5。

頭部：大泉門開大（40×30mm），小泉門閉鎖，右後頭部扁平。

顔面：無表情，非対称，右眼裂大，右頬部膨隆。

外耳：非対称，右耳介大，右対耳輪欠損聳立（図1）。

眼：凝視せず，物を目で追わない。眼振なし，対光反射迅速，眼球突出（-）。

胸部：右側ハリソン溝あり。第5肋間胸骨左縁に最強点のある収縮期雑音（Levine第2度）聴取。

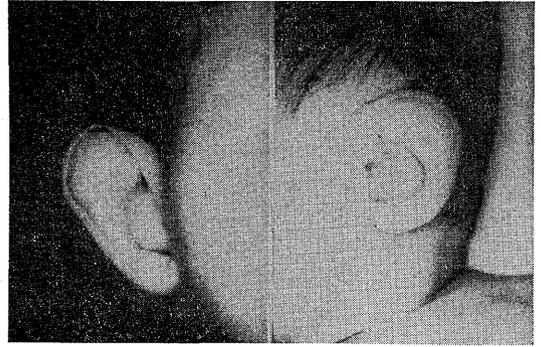


図1 症例1. 7カ月男子。右耳介形成異常と右腎無形成を示した例。右耳介は非対称的に大きく聳立し，対耳輪欠如

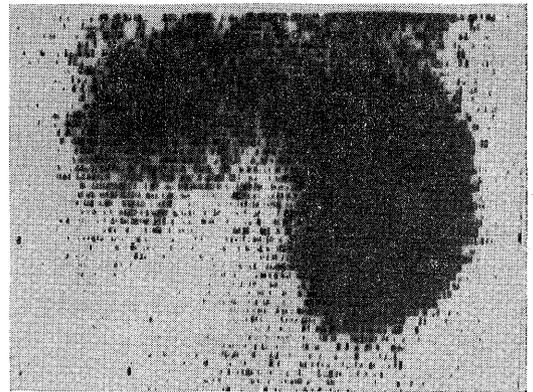


図2 症例1. 腎スキャン。右腎影が欠如している。 ^{203}Hg -Neohydrin $15\mu\text{Ci}$ 静注30分後

外陰部：左陰嚢水腫。

上下肢：両側手掌に猿線あり。両側肘頭下部，両側膝蓋骨下部，両側下腿外果前側面部に，左右対称性にリポジストロフィーの一部と思われるくぼみあり，同部には茶褐色の色素沈着あり。深部腱反射正常。足間代なし。バビンスキー反射なし。

検査所見：末梢血，検尿，血清化学正常。気脳写にて両側とくに左側脳室の軽度ないし中等度拡大，第3脳室拡大，脳皮質溝拡大。脳波にて焦点移動性不規則棘波・多棘波散発を認む。静脈性腎盂造影術にて，右腎盂は造影されず。腎シンチグラフィーにて，図2のごとく，右腎は造影されず。

症例2

相○信○。3歳6カ月男子。

主訴：言葉がおそい，運動発達遅延，乱暴，奇形。

この例においても，耳介の非対称あり，両側耳介下方附着，小耳性，とくに右耳介小さく聳立し，対耳輪欠損し，右外耳道小さく，右耳瘻孔を認めた（図3）。これ



図3 症例2. 3歳6ヵ月男子. 両側耳介下方付着, 小耳性. 右耳介はとくに小さく, 聳立し, 対耳輪欠如, 右外耳道小さい

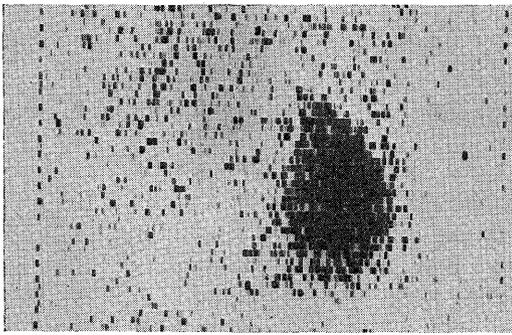


図4 症例2. 腎スキャン. 右腎陰影欠如

とともに右腎の造影欠損が静脈性腎盂造影法, ならびにシンチグラフィで認められた(図4).

以上の2例はまったく同じ奇形の組合せを示し, この組合せを偶然のものともみならずとすることがむしろ不自然なように思われる.

一側耳介の変形, ないしは耳介の非対称と腎奇形との合併に関する文献をさがしてみると, 少数ながら同様の記載がある.

まず両側性腎無形成のさいに特異的な顔貌を呈することが Potter³⁾ (1946) によつて記載され, Potter 症候群とよばれている. Potter の顔と称されるものは, 1)両眼隔離, 2)顕著な epicanthus, 3)扁平鼻根, 4)下顎後退, 5)耳介の下方付着, 扁平, などからなる. しかし本症候群は多くは致死的で, 早期に死亡する.

片側耳介奇形と同側の腎尿管奇形の合併を記載したのは, Hilson⁴⁾ (1957) が最初で, そのような組合せを示した12例を報告した. 次いで Longenecker ら (1961) が2例, Taylor⁵⁾ (1965) が5例中4例 (他の1例は反対側) を記載した.

さらに, これらの報告のうち腎無形成を示した例は,

Hilson の12例中3例, Longenecker らの2例中1例であつた.

このように, 耳介の非対称は, 同側の腎尿管奇形と共存することが稀でないことが, すでに一部の研究者は注目していたのである.

3. 幅広い母指趾症候群

—Rubinstein-Taybi 症候群

1963年 Rubinstein と Taybi⁶⁾ が初めて報告した症候群で, 母指, 母趾の幅広いこと, 特異な顔貌 (反モーコ症様眼裂, 上顎骨低形成), 精神薄弱がその中心症状をなす.

症例3

興○順, 17日男子.

主訴: 呼吸困難, 授乳困難, 体重減少.

家族歴: 特記すべきことなし.

現病歴: 在胎39週0日, 早期破水, 自然分娩, 生下時体重2,930g, 身長52cm, 頭頂31cm. 生下時から泣き声弱く, 初回授乳時から呼吸困難, チアノーゼ出現す.

皮膚隆線

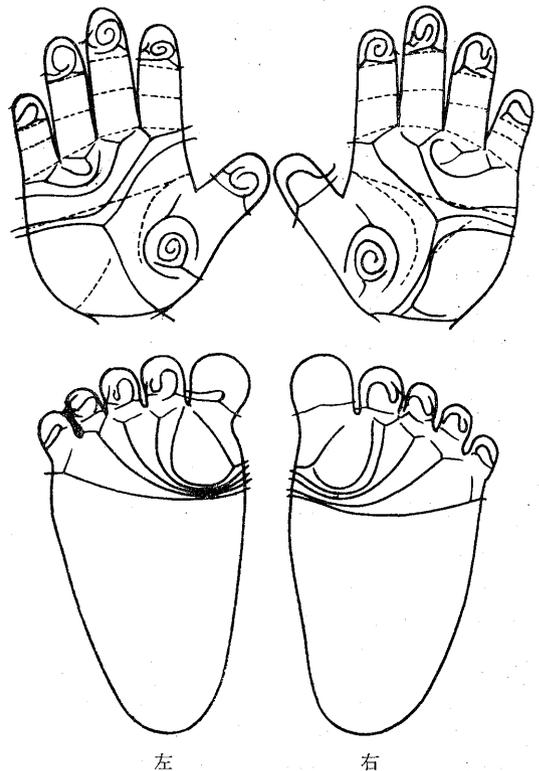


図5 Rubinstein-Taybi 症候群 興○順 6

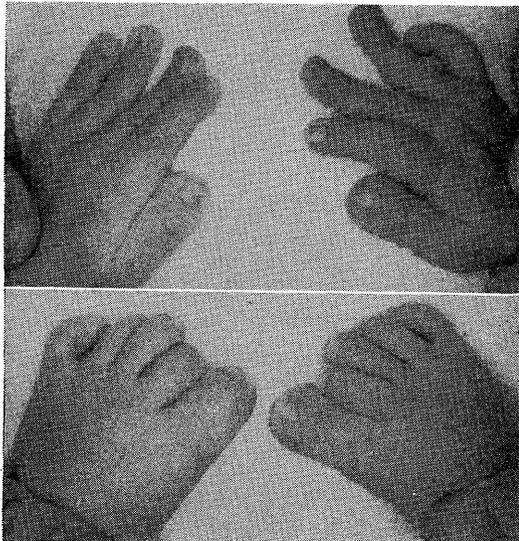


図6 症例3. Rubinstein-Taybi 症候群. 母指, 母趾の幅が広い

生後7日から上記主訴症状増強せしため、生後17日入院。

入院時主要所見：体格は小さく、栄養状態不良 (Kaup 指数 12)、全身の筋トーン低下、両側胸部後下部に水泡音聴取、呼吸音粗。肝脾ともに一横指触知。頭蓋は短頭形 (cephalic index=101.8%) で、後頭扁平、大泉門広く開大。頭髪は濃く密生し、前額および後頭の頭髪の生え際が低く下降している (low hair line)。幅広い鼻翼、突出した鼻中隔彎曲、高口蓋を認む。睾丸は両側ソケイ部に停留。両手および両足の母指 (幅測定値 11.0 mm)、母趾は幅広く太い。

主要検査成績：津守式精神発達検査では DQ=43、気脳写では脳室拡大、Evans' ratio=0.314、染色体核型正常 46/XY。皮膚紋理では high triradius (t') を示した (図5, 6)。

本例にみられる諸症状と、Neuhauser らの 80 例の文献蒐集例とを比較すると、表1のようである。

4. 小奇形評価の問題

小奇形は、一見してそれ (“普通” とちがう) とわかる、あるいは誰がみてもおかしいと考えるものばかりとは必ずしも限らない。診察医の観察力、経験などによって、小奇形の発見率はかなり異なる可能性がある。ごく標準、あるいは平均的という意味での “正常” と、明らかな “病的” 異常との間にある境界異常が小奇形であるとすれば、その種類と範囲を厳密に規定することは、きわめて困難なことである。したがって Opitz⁸⁾ は、個々

表1 Rubinstein-Taybi 症候群, 奥○順, ♂17日 Neuhäuser und Schulze の記載 (80例) と本例との異常所見の比較

症 状	陽性	陰性	不明	本症例
哺乳困難	48	20	12	(+)
反復する上気道感染	42	18	20	(+)
便秘	14	31	35	(+)
アレルギー (喘息, 湿疹等)	15	18	47	(+)
低身長	68	5	7	(+)
化骨異常	40	8	32	?
精神運動機能発育遅延	80	0	0	(+)
I Q 50以下	52	13	15	?
脳波の異常	23	12	45	(+)
腱反射亢進	20	22	38	(+)
小頭症	63	4	13	?
大泉門の開大	21	19	40	(+)
眉間突出	30	36	14	(-)
幅広い鼻根	55	16	9	(+)
鉤鼻	71	7	2	?
鼻尖突出	48	22	10	(+)
高口蓋	67	1	12	(+)
下顎の後退	45	21	14	(-)
耳介の異常 (位置, 大きさ, 形)	51	18	11	(+)
眼間距離開大	66	9	5	(+)
弓状の眉毛	39	32	9	(+)
epicanthus	40	32	8	(-)
antimongoloid slant	73	3	4	(-)
斜視	55	15	10	(+)
眼瞼下垂	9	60	11	(-)
火焰状母斑 (額, 項部)	28	23	29	(+)
多毛症	32	13	35	(+)
幅広い第 I 指趾	80	0	0	(+)
母指の異常屈曲	28	34	18	(-)
第 I 趾の異常屈曲形態	6	45	29	(-)
第 V 指の彎曲	26	21	33	(-)
重なった趾	33	25	22	(+)
幅広い指趾末端	39	18	23	(+)
筋緊張低下, 関節過伸展	29	17	34	(+)
椎骨異常	25	21	34	(-)
胸骨肋骨の異常	21	29	30	(-)
過剰乳頭	7	46	27	(-)
心疾患, 心雑音	19	43	18	(+)
潜伏睾丸	33	1	8	(+)
腎奇形, または腎疾患	12	19	48	(-)

の症例ごとに、診察時見出した小異常を記載する方が、あらかじめ用意された小奇形のリストに合わせてそれらの有無をチェックするやり方よりすぐれていると述べて

いるくらいである。

小奇形を評価するに当つて留意すべきことがらを考察してみよう。

(1) **単一小奇形の単発では無意味**：単独の小奇形は、その個体が異常であるとか、精神薄弱であろうかということをも必ずしも意味しない。たとえば猿線は、ダウン症候群など多くの奇形症候群に高頻度にみられるが、いわゆる正常人にもかなり多くみられるものである。したがつて猿線が異常徴候と聞かされ、当惑する人も多いのではないかと思われる。

(2) **年齢因子**：ある種の奇形は、年齢によつて変化する。たとえば小顎症や内眥贅皮 *epicanthus* は、新生児期には比較的目立つが、成長とともに消失する傾向を示す。逆に年長になつて初めてわかる奇形もある。たとえば歯の異常、骨の成長障害などがそれである。

(3) **性因子**：ある形質は、性によつて、頻度や程度に差がある。

(4) **疾患特異的でない**：ある症候群に特異的 *pathognomonic* な形質は、おそらく存在しない。10指とも *low arch* という稀な皮膚紋理は、関節拘縮症や短指症でもみられるが、18トリソミー症候群にもみられる。したがつて10指とも *low arch* の所見をみただけからといって18トリソミー症候群と診断することはできない。

(5) **必発でない**：ある症候群の全症例に必ずみられる *obligatory* な形質はおそらくない。たとえば10指とも *low arch* を呈さないからといって、その例が18トリソミー症候群ではありえないといった考え方はあやまつている。

(6) **重篤度 *severity***：ある奇形の程度は、量的に表現できる形質の場合、同一症候群に属する症例の間でも、症例ごとに異なるのが普通である。患者群におけるある形質の値の分布は、正常者群のそれと一部重複するかもしれない。

(7) **頻度 (浸透度)**：ある症候群においてすべての奇形が同じ頻度で現われるとは限らない。ある形質は多くの症例に、他の形質は一部の症例にしかみられないかも知れない。しかし症候群患者に存在する頻度が低くとも、もし、正常群における頻度に比べて有意に高頻度であれば、やはりそれは意味のあるものとみなさなければならぬ。

(8) もしある奇形が2種または2種以上の症候群に共通に存在する場合、この奇形が各症候群に同じ頻度、同じ強さで現われるとは限らない。

総括すれば、ある症候群に認定される奇形の種類の総数が多ければ多いほど、また個々の奇形の平均侵透率が

高ければ高いほど、症例1人あたりの奇形の平均数は大となり、また信頼ある診断を下すチャンスが大きくなるということができよう。

なお小奇形の研究において、今後緊急に行なわれるべき研究課題は、次のようなものである。

(1) 異常形質の計量化

(2) 臓器奇形の評価 (診断法、統計など)

これら2課題の内容の説明は省略する。

5. 先天異常と免疫グロブリン

先天異常の原因を究明するアプローチの1つとして、免疫学的方法が新しく注目されてきた。神経疾患と免疫異常との合併については、筋緊張性筋ジストロフィー症 (*Steinert* 病)、*Louis-Bar* 症候群、リンパ組織増殖性疾患が代表的なものとされている。そのほか、先天性風疹症候群も、神経障害と免疫異常を合併しているものとして有名である。同様の組合せ異常は、最近の *DiGeorge* 症候群、*Giedion-Scheidegger* 症候群、スイス型無ガンマグロブリン血症と無軟骨形成症の合併例、第18番染色体の部分欠失を伴う *Ig A* 欠損症、細胞免疫異常を伴った家族性運動失調性両麻痺、進行性脳疾患を有する先天性免疫障害などといった報告に散発的にみられるようになった。著者もそのような症例を経験した。

症例4

K.K. 3カ月男子。

主訴：肥らない、心雑音。

家族歴：特記すべきことなし。

既往歴ならびに現病歴：妊娠2カ月目、母は高熱が3日間続き、その後性器出血が1カ月続き、プロゲステロン投与を受けた (図7)。予定より19日早く出産、分娩経過順調、生下時体重2,995g。新生児期の吸吮力弱く、体重増加不良であった。生後28日目発熱あり、近医により黄疸、心雑音を指摘され、膀胱炎と診断された。その後上記主訴に対する精密検査を希望して、生後3カ月のとき当科に入院した。

入院時主要所見：

(1) 身長小。ファンコニー指数69%、*Kaup* 指数1.53。

(2) 頭蓋骨変形-長頭形、頭指数62%。大泉門、前頭縫合が異常に広く開大。

(3) 特異な顔貌

a. 反モーコ様眼裂

b. 両側性眼裂狭小

c. 鼻根扁平

d. 下顎後退

(4) 高位口蓋弓

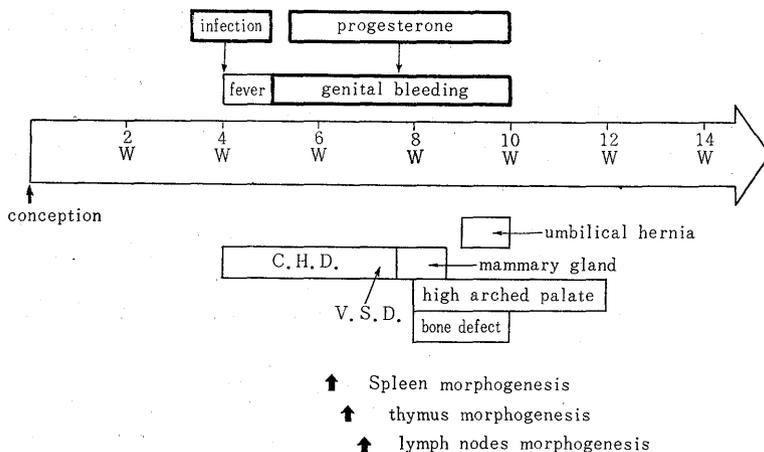


図 7 Schema of time sequence considering pathogenesis of congenital anomalies in the patient

表 2 Serum Immunoglobulin Measurements

(A) Patient					(B) Family Members			
Age (mos)	3	7	11	13	Subjects	Father	Mother	Elder sister (3 yrs old)
Ig A	<u>2</u>	<u>2</u>	<u>14</u>	<u>11</u>	Ig A	216	178	90
Ig G	<u>160</u>	<u>0</u>	500	<u>360</u>	Ig G	1040	1240	640
Ig M	45	60	84	56	Ig M	56	172	113

(5) 心雑音-左傍胸骨左縁第3~4肋門に最強点あり, Levine 3度.

(6) 過剰副乳頭 (左側)

(7) 臍ヘルニア

(8) 左潜伏睾丸, 陰茎小

検査成績: 血清 IgA および IgM が低値を示した (dysgammaglobulinemia type I). 他の家族員の血清免疫グロブリン値は正常範囲内にあつた (表2). ほかの免疫学的検査は, 表3のように, 骨髄に形質細胞がみられず, リンパ節生検で胚芽中心がみとめられ, 遅延型皮

表 3 Immunological Studies

1. Serum protein fractions } see other table	8. Antiviral antibodies (-)
2. Serum immunoglobulins }	CF-adeno Cocksackie, mumps, influenza
3. Peripheral lymphocytes normal in number	HI-rubella
4. Lymphocyte transformation by PHA stimulation61.2%	9. Serum complement
5. Bone marrow no plasma cells	CH ₅₀ =38.0μ/ml (26.90±5.57)
6. Delayed hypersensitivity (-)	IA =1600× (3200×-6400×)
tuberculin, Paspat, house dust,	10. Blood type A
cow's milk, candida, yolk	Isohemagglutinin { anti-A : 0
7. Serum Wasserman (-)	{ anti-B : ↓↓
toxoplasma IHA (-)	11. Lymph nodes biopsy
	Immature germinal centres,
	No plasma cells

表4 中枢神経障害児238例中、免疫グロブリン分画が平均値±2標準偏差を越える異常を示した例の異常型別分類

異常型	免疫グロブリン			例数	原因発生時期(神経障害)					合計(%)	
	IgG	IgA	IgM		出生前	周生期	出生後	出生前周生期	原因不明		
異常低値	単独型	↓↓			8	4(5.3)	3(15.0)			1(1.0)	21(8.8)
			↓↓		11	3(3.9)	1(5.0)	2(8.0)		5(5.0)	
				↓↓	2	2(2.6)					
混合型	↓↓	↓↓		4	3(3.9)			1		4(1.7)	
異常低値と異常高値混合型		↓↓		↑↑	1	1(1.3)					6(2.5)
		↓↓	↑↑	↑↑	2	2(2.6)					
		↑↑	↓↓		1	1(1.3)					
		↑↑		↓↓	2	1(1.3)		1(4.0)			
異常高値単独型と混合型										82(34.4)	

↓↓ 異常低値(<M-2SD), ↑↑ 異常高値(>M+2SD)

合計の括弧は総数238例に対する百分率

原因発生時期の括弧は発生時期別総数に対する百分率

表5 IgG および IgA 異常低値を示した中枢神経系障害児の Ig 量、臨床診断および原因発生時期

番号	氏名 生年月日・性	年齢	免疫グロブリン			臨床診断	原因発生時期	備考
			IgG	IgA	IgM			
1	小○清○ 昭和45.7.22 ♂	3ヵ月	160↓↓	2↓↓	45↑↑	先天性多発奇形(停留睾丸,陰茎發育不全,肺動脈狭窄の疑い,高口蓋,大泉門拡大,手根骨遅延,左副乳頭,交通性透明中隔嚢胞,逆モーコ様眼裂,両眼瞼下垂,鞍鼻) 原発生侏儒症	出生前	妊娠2ヵ月始め,母親が発熱40°C3日間つづき,その後性器出血のため3ヵ月まで間歇的に黄体ホルモン注射をうけた。 両親・姉はIg正常
		7ヵ月	220↓↓	15↓	37			
		1歳4ヵ月	365↓↓	20↓	48↑			
		1歳8ヵ月	600↓↓	16↓↓	46			
2	中○雅○ 昭和42.2.12 ♂	4歳5ヵ月	440↓↓	18↓↓	170↑	外胚葉形成不全症(広い額,両眼間隔離,両眼瞼下垂,鞍鼻,左下眼瞼縁単純性血管腫,薄い眉,耳介低位,耳介変形,大きく薄い唇,高口蓋,低い毛髪のはえ際,薄い巻髪,歯根のみ20本,橋胸,翼状頸,四肢過伸展,包茎)てんかん。 左完全重複尿管	出生前	生下時体重2550g(Pre-AFD) 鉗子,仮死2度, 15日目より四肢強直性痙攣 母 { IgG IgA IgM 47.1.28 480↓↓188 125 47.2.4. 480↓↓36↓↓90 47.3.28.1880↑265 92 父 { 47.2.9. 1500 190 92
		4歳10ヵ月	840↓	60↓	160			
		5歳	560↓↓	60↓	105			
		5歳1ヵ月	600↓↓	48↓↓	180			
3	及○美○ ♂	4歳10ヵ月	560↓↓	47↓↓	130	先天性多発奇形(眼窩陥凹,両側無眼症,耳介変形,高口蓋,脊柱側彎,膝関節拘縮,両側停留睾丸)原発生侏儒症,栄養失調症,白痴,脳性小児麻痺(痙性四肢)	出生前	血族結婚(両親いとこ同志) 生下時体重1800g(T-SFD) 易感染性(+)
4	加○美○子 ♀	8歳	600↓↓	61↓↓	99	先天性小奇形(薄い髪,薄い口唇,高口蓋,後頸症)脳性小児麻痺(痙性四肢)精神薄弱	出生前または周生期	悪阻強く妊娠中毒症(+) 仮死(+)

↓↓ 異常低値(M-2SDを越える値) Ig量 mg/dl
↓ 低値 (M-1SDとM-2SDの間の値)

膚反応は陰性であった。

本例においては、母が妊娠初期に感染症に罹患した疑いが濃い。これによつて胎児が子宮内において感染し、諸種の奇形の原因となるとともに、免疫臓器の発達にも影響を及ぼしたのではないかと推測される。さらに推測

をおし進めれば、血清免疫グロブリンの産生の障害の有無をみることによつて、ある個体の疾患ないし異常の原因が出生前胎内期(とくに妊娠初期)にあることの傍証にすることができないかどうか。

このような仮説に基づいてさらに研究を進め、中枢神

表6 中枢神経障害児と母の免疫グロブリンGの代謝

氏名・年齢・性別	血清IgG濃度 mg/ml	循環IgG量 mg/kg	血管内%	代謝プール mg/kg	半減期 t _{1/2} (日)	異化率 /日	生成率 mg/kg/日
小○清○ 1歳8ヵ月. ♂	4.8	107	47	228	24.9	0.0594	6.3
小○洋○ 35歳. ♀	14.8	480	48	993	19.3	0.0743	35.7
中○雅○ 5歳. ♂	6.0	121	55	222	19.4	0.0654	7.9
中○藤○ 31歳. ♀	18.8	451	48	933	9.3	0.1548	69.8
伊○美○子○ 2歳3ヵ月. ♀	6.4	174	49	357	27.8	0.0511	8.9
伊○由○ 24歳. ♀	20.0	438	39	1111	14.8	0.1187	52.0
対照(成人) Wochner, 1966	12.1 ± 2.6	494 ± 116	57 ± 4	1000 ± 263		0.0668 ± 0.0152	33.7 ± 11.2

経疾患 238 例の血清免疫グロブリン値を測定した。その結果は、表4にまとめた。これによると、平均値±2標準偏差を越える異常値を示したものは計113例に及んだが、感染その他の原因で反応性に増加しやすく、その意味で意義の少ない異常高値を示した82例を除くと、異常低値25例、異常低値と異常高値の混合型6例であった(表4)。

ここでとくに問題になるのは、2つの分画も異常低値を示した混合低値で、dysgammaglobulinemia type Iに相当する4例である。その詳細は表5に一括した。全例とも、臨床症状および既往歴などから、周生期および出生後の発病因子が否定され、出生別に傷害因子が作用したとみられる例であった。さらに表6中に症例1と2、およびそれぞれの母親において、放射性IgG静注後の代謝率をみたところ、異化率はいずれも対照値と有意差がなく、生成率が患児において対照および母親の1/5~1/10に低下していた(表6)。すなわちこれら患児においては、IgGの代謝速度は正常範囲内であるが、その生成が著しく低下していることが結論づけられた⁹⁾。

おわりに

ヒトの生長発達の過程に当つて、種々の内的・外的因子が作用し、正常の過程から偏移した異常が起こるが、傷害因子の作用時期が早ければ早いほど、結果としての偏移の程度は大きい。成熟生体には影響が軽くとも、未熟生体には重大な影響を及ぼしうるとするのが一般通則である。したがって未熟生体の発達過程は傷害因子から十分に保護されなければならない。

小児科医は、先天異常を人生の早期に発見する役割を担わされているが、さらに進んで胎児学、発生学、遺伝学などと協力すべきであると考え。

文献

- 1) Marden, P.M., Smith, D.W. & Mc Donald, M. J.: Congenital anomalies in the newborn infant, including minor variations. *J. Pediat.* 64: 357, 1964.
- 2) Smith, D.W. & Bostian, E.: The frequency of associated congenital anomalies with idiopathic mental retardation. *J. Pediat.* 65: 189, 1964.
- 3) Potter, E.L.: Bilateral renal agenesis. *J. Pediat.* 29: 68, 1946.
- 4) Hilson, D.: Malformation of ears as sign of malformation of genitourinary tract. *Brit. Med. J.* 2: 785-789, 1957.
- 5) Taylor, W.C.: Deformity of ears and kidneys. *Canad. Med. Assoc. J.* 93: 107, 1965.
- 6) Rubinstein, J. H. & Taybi, H.: Broad thumbs and toes and facial abnormalities. A possible mental retardation syndrome. *Amer. J. Dis. Child.* 105: 588, 1963.
- 7) Neuhäuser, G. & Schulze, H.: Das Rubinstein-Taybi-Syndrom. Klinische and pneumoencephalographische Befunde. *Z. Kinderheilk.* 103: 90, 1968.
- 8) Opitz, J.M.: Genetic malformation syndromes associated with mental retardation. In Farrell, G. (ed.): *Congenital Mental Retardation*, University of Texas Press, Austin & London, 1969, p. 209.
- 9) 横田和子・他：免疫グロブリン異常低値を伴った中枢神経系障害。第13回日本神経学会総会，昭和47年5月13日，仙台。

染色体異常と発生異常

—最近の研究から—

佐々木本道

はじめに

ヒトの染色体は男女ともに46個であり、それは22対の常染色体とXX(女)またはXY(男)の性染色体により構成されていることはすでによく知られている。これら46個の染色体には数万におよぶ多数の遺伝子が含まれているものと推定されているが、それらが染色体の長軸に沿って一様に分布しているものと仮定すると、一番小型の染色体でも数百という遺伝子を持つことになる。現在の研究技術では個々の遺伝子は不可視的単位であるが、少なくとも光学顕微鏡レベルで検出しうる染色体の欠失、重複などには百個以上の遺伝子が関与しているものと考えられる。したがって、一般に染色体異常個体として知られているダウン症などの先天異常には多発性の表現型異常が認められる。すなわち、染色体異常個体とは、多数の遺伝子の過剰または不足によつて生ずる遺伝物質の不均衡に起因する表現型の障害と解することができる。染色体に可視的な異常があつても表現型異常を伴わないもの、たとえば異常に長いY染色体、付随体の膨大化などはその異常部分に表現型異常に影響を与えるような遺伝物質が含まれていないためと考えられるので、個々の染色体に含まれる表現型に関与する因子、あるいは生命の維持に必須な因子の数(質および量的)は必ずしも染色体の長さ按比例しない。X染色体のように比較的命維持に重要な因子を持たず、さらに dosage compensation¹⁾によりある程度過剰遺伝子の量的調節をなしうる場合には、その数や形態が異常になつても、正常なXが1個存在すればその障害は比較的少ないが、一般に常染色体の異常は多くの場合に致死性であるか、はなはだしい発育障害を伴う。このように、個々の染色体はたとえ外見上その形や大きさが似ていても、それに含まれる遺伝子の質的および量的差違によりかなり異なつ

た機能をもっているものと考えられる。

染色体異常が先天異常、性の異常、奇型、精薄、流死産などを含む種々の発生異常といかに密接に関連しているかということは、すでに多くの研究により明らかにされているが、ここでは新生児、自然流産、人工流産(発生段階)その他2, 3の特殊集団(精薄施設などの)における染色体異常の種類と頻度とを概説し、現時点における2, 3の問題を論ずる。また、キナクリン蛍光法、ギムザ分染法などによる染色体の同定、識別に関する新しい技術の発展を紹介し、これらの方法による最近の研究の動向と将来の展望を述べる。

1. 出生時における主なる染色体異常

生産児にみられる染色体異常の主なるものは常染色体異常としてはダウン症(21-トリソミー)、18-トリソミー、13-トリソミーの3種類が挙げられる。このうちダウン症はもつとも頻度が高く、広く知られており、調査も行きとどいている。出現率は報告者により多少異なり500~900回(平均660回)の出産に1回の割合で生まれる²⁾。出現率は母親の年齢が高くなるほど増大することはよく知られた事実であり、45歳以上の母親では約50回に1回の割合でダウン症の出生が見られるという³⁾。18-トリソミーの出生率はダウン症ほど十分な調査がなされておらず報告者によつてかなりの差がみられるが、およそ3,500回に1回の割合と推定されている²⁾。13-トリソミーは前者に比べ表現型異常もさらにはなはだしく、死産もしくは生後間もなく死亡することが多く、調査例数も不十分であるが、およそ5,000~15,000回の出産に1回ぐらいの割合で出現すると考えられる²⁾。

性染色体異常の代表的なものとしては、クラインフェルター症(47, XXY)、ターナー症(45, X)およびXXX女性があり、従来性染色質による多くの調査報告があるが、最近ではとくに血液培養法により染色体の直接分析を行ない、XYY男性が意外に多いことがわかってきた。従来の性染色質(X-クロマチン)調査を総合す

表1 新生児における染色体異常の種類と頻度

報告者	検査例数	染色体異常 個体数 (%)	性染色体異常				常染色体異常				その他
			XYY	XXY	XXX	XO	D+E+G+転座				
Lubs & Ruddle ⁸⁾ '70	2,184 ♂ 2,181 ♀ (4,365)	22 (0.50)	3	4	3	1	1	1	3	6	0
Ratcliffe et al. ⁹⁾ '70	3,496 ♂ (3,496)	20 (0.57)	5	3	—	—	0	0	5	6	1 XX, ♂
Sergovich et al. ¹⁰⁾ '69	1,066 ♂ 1,015 ♀ (2,081)	10 (0.46)	4	1	0	0	0	0	2	1	2 (Bp— D/D, D+)
Walzer et al. ¹¹⁾ '69	1,332 ♂ 1,068 ♀ (2,400)	13 (0.54)	0	4	0	0	0	0	0	3	6 (逆位, Minute, 3)

ると、出生時における XXY 男性の頻度は 500~700 回の男子出産に 1 回の割合であり、XO ターナー症は 2,500~3,000 回の女子出産に 1 回、XXX 女性はおよそ 800~1,000 回の女子出産に対し 1 回ぐらいと考えられる。X-クロマチンによる新生児のスクリーニングの結果は報告者によりかなりの差異があり、調査方法、人種、地域、季節など種々の要因がこれに関与しているものと考えられる。とくに、初期の調査で XXX (X-クロマチン 2 個を有するもの) がみられていないのは、当時そのような個体が存在するということがまだ知られていなかったことによるとも考えられる。また、口腔粘膜細胞に通常の方法でみられる X-クロマチンの頻度は生下時には比較的 low、生後 3 日目ごろより高くなるということも誤差を招きやすいであろう。一方、羊膜(胎児由来)の細胞では一般に X-クロマチンの出現率がきわめて高く、口腔粘膜でしらべるよりも XO および XXX の検出率ははるかに高いという⁴⁾。性染色体異常の出現率が季節により多少異なり、とくに 7~11 月に生まれたものは異常が多い傾向にあるという興味ある報告がある⁵⁾。これは 10 月から 2 月の間に受胎した場合に相当するわけで、冬季においてはとくにウイルス性疾患などの伝染病が流行しやすいことなどに関係がないとはいえない。流行性肝炎とダウン症の好発との相関⁶⁾、風疹の流行と性染色体異常の増加⁷⁾ などについてさらに詳しい疫学的調査が必要であろう。染色体異常の出現率を左右する要因はこのほかにもいくつか考えられるが、ここではこれ以上述べないことにする。

新生児集団を染色体の直接分析により多数例調査することは、性染色体、常染色体のすべての異常をより正確に検出する最良の手段であるが、染色体分析にははなはだしい時間と労力を要するので、実際問題として困難である。しかしながら、最近になって、とくに従来の X-クロマチン・スクリーニングによつては検出不可能である

XYY 男性の出現率をしらべる目的で、出生児の染色体分析を多数例についてしらべるという試みがなされるようになった。これらの調査では 1 例についての分析細胞数が少ないのでモザイクの検出はできないが、表現型異常を伴わない均衡型の転座なども検出しうる。表 1 は 2,000 例以上についての調査をまとめたもので、このうち Walzer ら¹¹⁾ のものは外見上正常な新生児のみを対象としているので常染色体トリソミーが含まれていない。この表からも明らかのように、生産児に普通に見られる染色体異常の種類は余り多くはないが、0.5% という頻度はかなりの高率であり、日本全国で年間に約 1 万人の染色体異常児が生まれていることになる。

2. 特殊集団における染色体異常

染色体異常は多くの場合種々の發育障害、奇型、精薄、性格異常、生殖不能などの表現型異常を伴うので、たとえば精薄施設などの特殊集団を対象として染色体調査を行なうと一般集団に比べてはるかに高率にダウン症、クラインフェルター症、XXX 女性などが見出される。このような方向からの調査報告は多数あるが²⁾、そ

表2 特殊集団における染色体異常の濃縮

調査対象	染色体異常頻度	主なる異常
原発性無月経女子	1/3~5	XO
背丈がとくに低い女生徒	1/15	XO
不妊症男子	1/30	XXY
無精子症男子	1/5	XXY
精薄施設(または病院)	1/15~20 1/50~100 1/250	ダウン症(21+) XXY XXX
背丈が高く(180cm以上) 性格強暴な男子(囚人など)	1/8~20	XYY

表3 自然流産における染色体異常の種類と頻度

報告者	染色体異常率	XO	トリソミー							3n	4n	モザイク	転座	その他	
			A	B	C	D	E	F	G						
WHO ¹²⁾	'66	153/788 (19%)	32	7	2	4	9	21	1	19	26	8	12	3	9
Carr ¹³⁾	'67	50/227 (22%)	12	1	1	2	6	9	1	6	9	2	0	0	0
Stenchever et al. ¹⁴⁾	'67	8/101 (8%)	2	0	0	0	1	0	0	0	3	0	0	2	0
Boué et al. ¹⁵⁾	'67	50/132 (37%)	8	0	1	5	7	5	1	8	10	1	2	0	2
Kadotani ¹⁶⁾	'70	27/163 (17%)	1	0	0	0	1	4	0	5	1	1	10	0	4
Dhadiat et al. ¹⁷⁾	'70	97/423 (23%)	31	0	0	6	11	12	0	10	13	4	5	3	2

れらを列挙することは紙面の都合でできないので、その大要を表2によつて示すことにする。

3. 発生段階における染色体異常

染色体異常の多くのものは発生段階で淘汰され、生まれてくることができない。一般にヒトにおいては認知された妊娠の15%は流産に終わるといわれているが、流産した胎児またはその付属物(羊膜、臍帯など)の染色体をしらべると平均20%が染色体異常である。表3は100例以上の自然流産についての染色体調査の結果をまとめたもので8~37%の異常率を示している。出生時(0.5%)に比べると異常率も高いが、その種類も多様である。常染色体トリソミーはA~G群のすべての群にみられるが、一般に大型の染色体には少ない傾向がみられる。小型の染色体でもF群トリソミーはG、E群に比べてはるかに少ない。同じE群トリソミーでも流産にみられるものは16-トリソミーが多い(生産児では18-トリソミーである)。トリソミーに比べてモノソミーが見られないことは、これらが流産として認知される以前に、おそらく着床前に、ほとんど失われてしまう結果と考えられる。トリソミーに次いでXOと倍数体が多数みられることは注目すべきである。生まれてくることのできるXOは通常ターナー症として認められ、背丈が低く、性腺が退化していることほかに2、3の外形異常を伴うことがあるが、生存には何らの支障もなく、知能障害なども少なく、普通に生きることができる。しかるに、流産にみられるXO個体には種々の外形異常を示すものから比較的正常なものまで、多様な表現型がみられる。XO胎児の内外性器は女性型であり、性腺は少なくとも胎齢13週目までは正常の卵巢と同様に発育し、組織学的にも正常と変わらないという。生まれてくることのできるXOターナーと、自然流産により失われるXO胎児との間に

みられるこれらの差違が、どのような機構によつてもたらされるのかは、現在のところよくわからない。

自然流産にみられる染色体異常個体の表現型に関する研究はなかなか容易なことではないが、胎生学的にも興味のある問題であり、断片的ではあるがかなりの資料が蓄積されている²⁾。一般に染色体異常個体の多くのものは表現型異常を示しており、それらの中で胎児の認められるものは半数以下であり、残りのものでは胎膜のみで胎児はまつたくみとめられないか退化している(表4)。流産の70~80%は妊娠3カ月までに起こるが、妊娠初期のものほど染色体異常が高い。当然のことながら、表現型異常が認められる場合には染色体異常も多くみられる¹²⁾。Polani¹⁸⁾は染色体異常のすべての妊娠に対する荷重は3~3.5%で、これらの約90%は自然流産により失われ、XOについてはその97%、Gトリソミーでは、そのすべてがNo.21のトリソミーと考えた場合その70%、3倍体はほとんど100%が失われるものと推定している。これは出生時および自然流産における染色体異常率と流産率とを基にして推定したものであるが、今後さらに詳しい研究により発生段階別に荷重と淘汰の実態が明らかにされるものと考えられる。

発生段階における染色体異常の実態を知る基準的研究手段として、人工妊娠中絶により得られる胎児の染色体を調査することが行なわれている。現在までに報告された人工流産の染色体調査例は2,000例以上に及ぶが、その中のあるものは自然流産の対照としての調査であり、報告も断片的なものが多いが、染色体異常率はほとんどのものが3%以内である¹²⁾。われわれは札幌において無差別的に集めた人工流産胎児の染色体を1,000例以上について調査し、そのうち1.27%(14/1096)に異数性個体を見出した(表5)。この調査の平均胎齢は約10週で初期の胎児が多いが、異常率は出生時の2~3倍であり

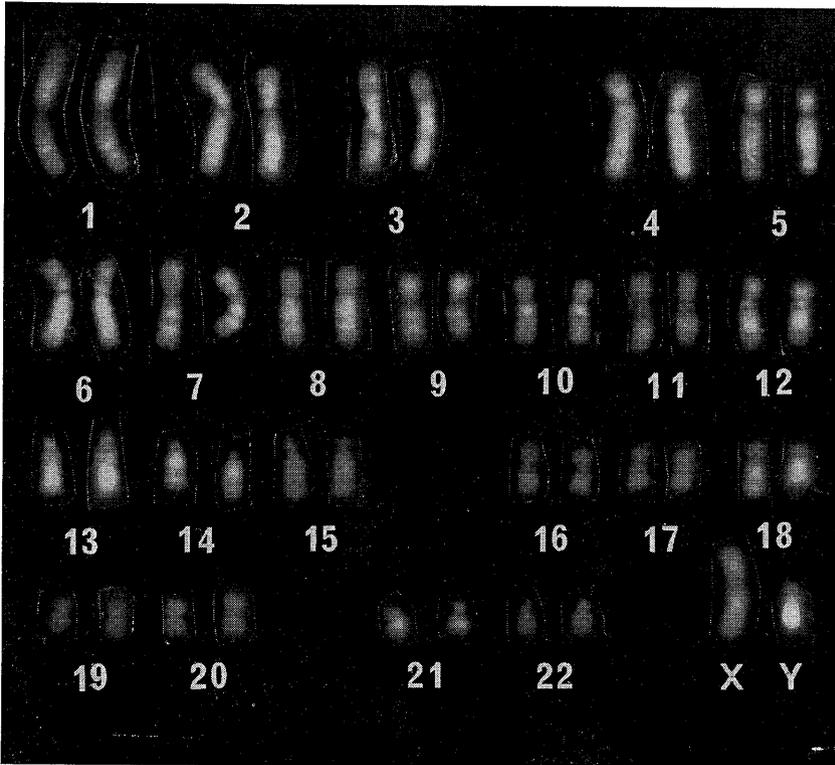


図1 キナクリン蛍光法による正常男子核型分析(原図)

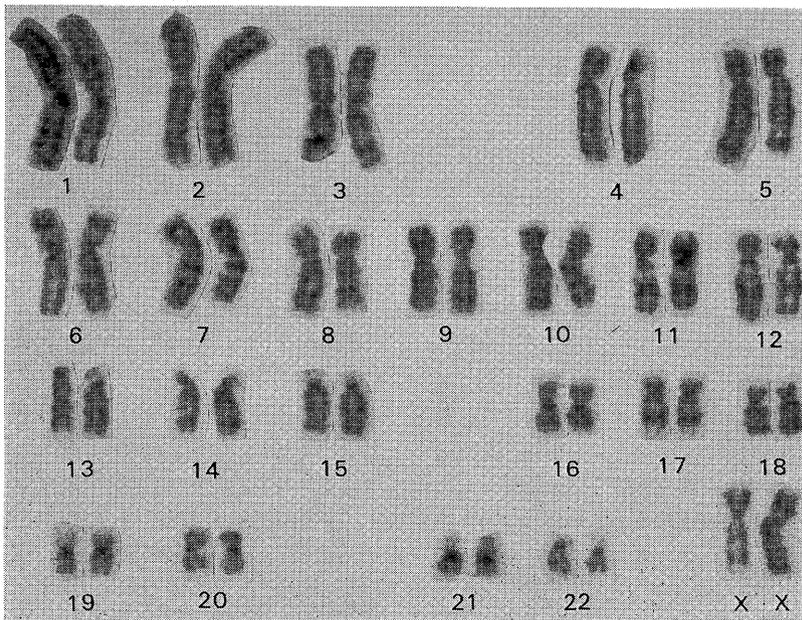


図2 トリプシン-ギムザ分染法による正常女子核型分析(原図)

表 4 染色体異常と自然流産産物 (Hamerton²⁰) より改写)

染色体異常	胎膜のみ	胎児あり	奇 胎	胎盤臍帯または残留物	不 明	計
トリソミー	32 (47.8%)	23 (34.3%)	—	12 (17.9%)	—	67
45, X	3 (9.1%)	23 (69.7%)	—	3 (9.1%)	4	33
倍数体	7 (20.6%)	15 (44.1%)	8 (23.5%)	4 (11.8%)	—	34
合 計	42 (31.3%)	61 (45.5%)	8 (5.9%)	19 (14.2%)	4	134

表 5 人工流産 1,096 例中に見られた異数体 (Sasaki et al.¹⁹ 1971, Sasaki²⁰) 1971, および Sasaki et al. unpublished data より)

核型	観察例数
45, X.....	5
47, XXX	1
45, X/46, XY.....	1
45, X/46, XX.....	1
46, XY/47, XXY	1
47, XX, D+	1
47, XX, E+	1
47, XY, C+	1
47, XY, 21+	1
45, XY, D-, D-, t (Dq Dq) +	1
合計	14

出生までに淘汰されるべきものが含まれていることになる。実際に XO が 5 例も含まれていることは興味あることで、常染色体トリソミーも出生時の 10~20 倍の高率である。21-トリソミーは最近になって蛍光分染法 (後述) により同定されたものである。

胎生初期の性比は従来男性が圧倒的に多いと考えられていたが、最近性染色質スクリーニングによりこの通念は疑問視されている²¹⁾。性染色体の直接分析により得られた性比は自然流産、人工流産ともに 1 よりもやや低く、とくに自然流産において染色体異常が認められたものについては女性が多い¹²⁾。われわれが調べた上述の 1,000 例の人工流産の性比は女 100 に対し男 90 ぐらいの割合であり、1:1 よりもかなり低い性比を示している^{19,20)}。まだ十分な資料とは言えないが、これを胎胎別に分けると胎胎が若いほど性比が低い傾向がある。性比を左右する要因は少なくとも 30 以上考えられるので、ただちに結論を下すことはできないが、遺伝的要因、環境因子などの初期発生に対する影響を考慮するに当つて、発生段階における性比の変動を正確に把握することは重要なことである。

4. 新しい研究法の発展とその動向

この 2 年ほどの間に染色体の研究技術が再び急速に発展し、蛍光染色法、種々のギムザ分染法などにより、個々の染色体の識別と同定が従来よりはるかに詳細かつ正確に行なえるようになった。従来の方法では個々の染色体をその長さや着糸点の位置を主な基準とし、それにオートラジオグラフィによる DNA 合成パターン、性染色質による検査、減数分裂における染色体の形態などを考慮して核型分析を行なっていたが、このような方法では約半数の染色体は同定不可能であり、逆位や小さな欠失なども見逃されることが多かつた。新しい方法によると、個々の染色体はその縦軸方向に分染される個々の縞模様により、22 対の常染色体と XY とのすべてを正確に識別同定することが可能であり、しかも転座、欠失、逆位などによる構造変化もそれらの起原を明らかにできる。さらに、従来の性染色質検査では後期複製 X による性染色質 (X-クロマチン) のみを検出することが可能であつたが、蛍光法によると間期核において Y 染色体の存在を Y-クロマチンとして認めることができる。間期核にみられる Y-クロマチンの数は Y 染色体の数と一致するので、X-クロマチン検査では検出できない XYY 個体の検出が容易に行なえる。Y-クロマチンは精子の頭部でも検出できるので、X 精子と Y 精子の染め分けが可能である。正常男子の精液中における Y-クロマチン陽性精子の数は 50% よりやや低く、YY 精子と考えられる Y-クロマチンを 2 個有する精子が 1.2% 程度みられるという。新生児の染色体調査により得られた XYY の出現率は、YY 精子の受精により期待される値よりはるかに低いことになる (表 1 参照)。

新しい研究法の発展とその応用についての詳しいことは別の総説^{22,23)}にゆずることとし、文献もすでに数百篇に及ぶのでいちいち挙げないことにするが、ここでは前述の諸問題に関連する 2, 3 の事柄についてのみ略述することにす。まず、ダウン症に関与する G 群染色体と、

慢性骨髄性白血病にみられる Ph^1 染色体とは同じG群染色体であつても起原を異にするという、驚くべきことが判明した。すなわち、ダウン症の場合を 21-トリソミーとすると Ph^1 は No. 22 の長腕の部分的欠失である。21と22とは蛍光およびギムザ分染法により明瞭に識別できるので、疑う余地がない(図1, 2参照)。これに続いて転座、逆位などの多くの構造異常例における異常染色体の起原が次々に報告され、C-トリソミー、22-トリソミーなど比較的稀な例についても、その同定と臨床像の比較が詳細な点について行ないうらうようになってきた。C-トリソミーについては8-トリソミーが指摘され、すでに確実な症候群として取扱われるようになった。D-トリソミーに関しては、従来オートラジオグラフィにより生まれてくるものはすべて No. 13 のトリソミーであることが明らかにされていたが、自然流産にみられるD-トリソミーについては同定がなされていなかった。分染法によりこれらは No. 14, No. 15 のトリソミーを含んでいることが明らかにされている。G-トリソミーについても流産では No. 21 と No. 22 の両方が見られるようであるが、これらがどのくらいの比率で見られるかは、今後の研究により明白にされることであろう。種々の分染法による分染バンドの中には、個体によりまたは相同対間で多少の変異を示す、いわゆる多型性バンドがある。これを指標として親から子への染色体の伝わり方ある程度まで追跡することが可能になった。たとえば流産によくみられる3倍体の成因に関して、余分なゲノムが両親のいずれに由来するものかを知ることができる。同様の手法によりダウン症にみられる余分の No. 21 染色体が、両親のいずれの生殖細胞における不分離に起因したものかを判定しうる。分染法はヒトの染色体のみならずマウス、ラットなどの実験動物をはじめとする多くの種についても利用できるが、マウスでは転座染色体をもつ系統を利用して、染色体とリンケージ群が結びつけられるようになった。ヒトの染色体の分染パターンに関しては、1971年の秋に国際会議が開かれ、個々の分染バンドの命名法などについての標準が作られている²⁴⁾。これを利用すれば、種々の構造変化を起こした異常染色体の切断部位の記載などが統一化される。分染パターンの認識により染色体分析の自動化も一段と正確にできるようになっている。今後数年間におけるこの分野の研究の進展は必ずやめざましいものと思われる。

この総説に用いた原図は昭和47年度文部省科学研究費補助金“がん特別研究”による。

文献

- 1) Lyon, M.F.: Sex chromatin and gene action in the mammalian X chromosome. *Am. J. Human Genet.* 14: 135-148, 1962.
- 2) Hamerton, J.L.: Human Cytogenetics. Vol. II, Academic Press Inc. New York & London, 1971.
- 3) Collman, R.D. & Stoller, A.: A survey of mongoloid births in Victoria, Australia, 1942-1957. *Am. J. Public Health.* 52: 813-829, 1962.
- 4) Mikamo, K. & de Wattedville, H.: Incidence of sex chromosomal anomalies in newborn infants. *Intern. J. Fertil.* 14: 95-100, 1969.
- 5) Mikamo, K.: Sex chromosomal anomalies in newborn infants. A 3-year survey of fetal membranes. *Obstet. Gynec.* 32: 688-699, 1968.
- 6) Stoller, A. & Collman, R. D.: Incidence of infective hepatitis followed by Down's syndrome nine months later. *Lancet.* 2: 1221, 1965.
- 7) Robinson, A. & Puck, T. T.: Sex chromatin in newborns: Presumptive evidence for external factors in human nondisjunction. *Science.* 148: 83-85, 1965.
- 8) Lubs, H.A. & Ruddle, F. H.: Chromosomal abnormalities in the human population: Estimation of rates based on New Haven newborn study. *Science.* 169: 495-497, 1970.
- 9) Ratcliffe, S.G., Melville, M.M., Stewart, A.L., Jacobs, P.A. & Keay, A.J.: Chromosome studies on 3,500 newborn male infants. *Lancet.* 1: 121-122, 1970.
- 10) Sergovich, F., Valentine, G.H., Chen, A.T.L., Kinch, R.A.H. & Smout, M.A.: Chromosome aberrations in 2,159 consecutive newborn babies. *New Engl. J. Med.* 280: 851-955, 1969.
- 11) Walzer, S., Breau, G. & Gerald, P.S.: A chromosome survey of 2,400 normal newborn infants. *J. Pediat.* 74: 438-448, 1969.
- 12) WHO: Standardization of procedures for chromosome studies in abortion. *Bull. WHO.* 34: 765-781, 1966.
- 13) Carr, D.H.: Chromosome anomalies as a cause of spontaneous abortion. *Am. J. Obst. Gynec.* 97: 283-293, 1967.
- 14) Stenchever, M.A., Hempel, J.M. & McIntyre, M.: Cytogenetics of spontaneously aborted human fetuses. *Obstet. Gynec.* 30: 683-691, 1967.
- 15) Boué, J.G., Boué, A. & Lazar, P.: Les aberrations chromosomiques dans les avortements. *Ann. Genet.* 10: 179-187, 1967.
- 16) 角谷哲司: 妊孕障害ならびに先天異常に関する染色体学的研究。第22回日本産婦人科学会総会宿題報告。1970。
- 17) Dhadi, R.K., Machin, M.A. & Tait, S.M.: Chromosome abnormalities in spontaneously aborted human fetuses. *Lancet.* 1: 20-21, 1970.

- 18) Polani, P.E.: Autosomal imbalance and its syndromes, excluding Down's. *Brit. Med. Bull.* 25: 81-93, 1969.
- 19) Sasaki, M., Ikeuchi, T., Obara, Y., Hayata, I., Mori, M. & Kohno, S.: Chromosome studies in early embryogenesis. *Am. J. Obst. Gynec.* 111: 8-12, 1971.
- 20) Sasaki, M.: Chromosome studies on induced abortus. *Proc. VII World Congr. Fertil. Steril.*: in press. 1971.
- 21) Mikamo, K.: Prenatal sex ratio in man: Observations contradictory to the prevailing concept. *Obstet. Gynec.* 34: 710-716, 1969.
- 22) 高木信夫: 人類染色体の縞模様. *遺伝*. 26: 3-6, 1972.
- 23) Pearson, P.: The use of new staining techniques for human chromosome identification. *J. Med. Genet.* 9: 264-275, 1972.
- 24) Paris Conference 1971. IVth International Conference on Standardization in Human Cytogenetics. The National Foundation-March of Dimes Original Article Series, in press.

* * *

遺伝子突然変異と先天性疾患

松 永 英

1. 定義

“突然変異”という術語は de Vries (1901) が初めて用いたもので、子孫に伝えられる形質の突発的な変化を意味するものであつた。このような表現型の変化は、とりも直さず遺伝物質に生じた変化の帰結にはかならないから、今日では一般に、遺伝物質に起こる複製可能な変化をすべて突然変異と呼んでいる。

突然変異は、染色体突然変異と遺伝子突然変異とに分けられる。前者は、顕微鏡下に識別できるような染色体の数と構造の変化であるのに対し、後者は、その変化があまりに微細なために、直接これを発見できぬものを総称している。それならばこれをどうやつて認定するかというと、突然変異した遺伝子が自己複製し、配偶子を通して子孫に伝えられるという遺伝学の原理に基づいて、その最終結果である表現型の遺伝パターンから、間接に遺伝子の変化を類推するのである。また最近では、蛋白分子の一次構造を分析して、そこにみられる変化(アミノ酸の置換、欠失など)から、遺伝の暗号表に照らして、DNA の変化を推定できるようになつた。これは、1 コの codon (相並んだ3 コの塩基) は、1 コのアミノ酸に対応し、1 コのシストロン(遺伝子の機能的な単位)は1 コのポリペプチドの構造を決定する遺伝情報を持つことが確立されたからである。ヒトの場合、このような分子レベルでの突然変異の分析は、ヘモグロビン蛋白に関してかなり詳細にわかっているが、一般の遺伝形質ではまだそこまで細かく分析されていない。したがって、古典的な方法で定義される遺伝子突然変異のなかには、シストロン内の局所的な変化のみならず、いくつかのシストロンにまたがった、より粗大な(しかし顕微鏡で発見できない)染色体の欠失や重複が含まれている可能性がある。

2. 遺伝子突然変異の効果とその種類

遺伝子は細胞分裂のたびに自己と同じコピーを複製してゆくが、その安定性が絶対的のものでないために、まれに突然変異しうる能力を具えている。これによつて生物に遺伝的変異が生じ、そのなかから自然はその場、その時の環境に適応したものを選択して子孫を残させる。自然淘汰は生物進化の原動力であるから、突然変異は自然淘汰の働きうる素材を提供する意味で、進化にとつて必要不可欠のものといえる。しかし、人類のように長い進化の結果でき上つた最高等の生物では、自然淘汰によつて有利な遺伝子のみが選択されてきたと考えられるから、新しい突然変異によつて、より以上に有利な遺伝子の産生されるチャンスはゼロに近い。言い換えると、突然変異遺伝子はその持主個体の生存力ないし繁殖力に与える効果は、最も良い場合でも前と変わらない程度であるが(これを“中立な”突然変異という)、一般には多かれ少なかれ何らかの有害な作用をもたらす、はなはだしい場合には致死的に働く。ただし中立な突然変異を個体レベルで把握することは実際上不可能であるし、致死突然変異の方も持主個体が子孫を残すことがないから、通常の方法によつてその遺伝性を証明することができない。

遺伝子突然変異による先天性異常には、1) 単一座位の遺伝子が、突然変異遺伝子で置換された場合に表現型に異常を生ずるもの(単純遺伝性の異常)と、2) 1 コの遺伝子の異常だけでは表現型に見分けられるほどの影響は表われないが、いくつかの座位の異常遺伝子が組み合わせたり、さらに環境要因も加つて初めて表現型に異常を表わしてくるもの(多因子遺伝性の異常)とがある。

単純遺伝性の疾患は、常染色体性優性のもの、常染色体性劣性のもの、およびX染色体性の3通りに分けられる。McKusick (1968) によると、これまでに報告されているヒトのメンデル遺伝性の形質(そのほとんどが遺伝病である)の種類は、常染色体性優性のものが793、

常染色体性劣性が629, X染色体性(大部分が劣性)が123になるという。この数は、診断学の進歩に伴って年を追うごとにふえている。単純遺伝性の異常は、1つ1つをとるとどれも珍しく、その出現率は一般に 10^{-5} ~ 10^{-6} のオーダーにあるが、総体としては、新生児の約1%に相当すると考えられる。

一方、多因子遺伝性の先天性疾患というのは、心奇形・兔唇・口蓋裂・股関節脱臼・脊椎破裂・無脳症・内反足・内臓逆位・斜視などの先天奇形で、これらも総体として新生児の約1%にみられる。多因子遺伝性の形質は、身長や知能指数のように連続的な変異を示してくるのが普通であるが、先天奇形は(正常からの)不連続な変異になつている。しかしこれは、発生のひずみをきたす罹病傾向(素因と外因の総合効果)は集団内に連続的に分布しているが、一定の“しきい”を越した個体だけに異常が表われると考えれば、よく説明される。この説は、古く Wright (1934) によつてモルモットの多指症の成因を説明するために提唱されたものであるが、最近多くの支持者があり、成人にみられる種々の内因性疾患(糖尿病・分裂病・てんかん・高血圧など)の成因にも適用されている (Carter, 1969)。

3. 表現型レベルの遺伝子突然変異率

古典的な突然変異率の推定法は、単純な遺伝をする特定の遺伝形質を指標として選び、座位当り、世代当りの突然変異率 μ を求める。これには直接法と間接法とがある。

直接法は、規則正しく遺伝する常染色体性の優性形質であれば、どのようなものにも適用できる。ある世代において突然変異によつて新生した個体を残らず集め、その発生頻度から次式によつて μ を算出する。

$$\mu = \frac{1}{2} \cdot x \dots\dots\dots (1)$$

ここで x は、その形質をもたぬ両親からうまれた異常個体(形質所有者)の出現数を、被験集団の総数で割つた値である。1個体には同じ座位が2コずつあるから、座位当りの突然変異は $1/2$ をかけて算出する。

間接法の方は、単純遺伝性のまれな病気で、しかも患者の生存力と繁殖力にかなり強いハンディキャップをつけるものでなければ用いられない。この場合、毎代淘汰によつて消滅する有害遺伝子の数と、突然変異によつて新生される遺伝子の数とが相等しく、低い水準で遺伝的平衡が保たれていると想定する。 μ は次式で与えられる。

$$\text{常染色体性優性の遺伝病} : \mu = \frac{1}{2}(1-f)x \dots\dots\dots (2)$$

$$\text{伴性劣性の遺伝病} : \mu = \frac{1}{3}(1-f)x' \dots\dots\dots (3)$$

$$\text{常染色体性劣性の遺伝病} : \mu = (1-f)x \dots\dots\dots (4)$$

ここで、 x は男女合計した集団内の患者の割合、 x' は男性集団の中の患者の割合で、 f は健康者の適応度(生存率×生殖率)を1としたときの、患者の示す平均の適応度である。

上にあげた4つの式はどれも簡単なものであるが、その適用には実際的にも理論的にもいくつかの問題点がある。その第1は、座位当りの突然変異率がきわめて低いため、被験集団の大いさは少なくとも数百万人は必要で、しかもその中から問題になつている患者を残らず探し出さねばならぬことである。第2は、その異常形質が常に同一の座位における遺伝子の突然変異によるとは限らぬし、またときには表型模写として生じうることである。これまで臨牀的に同じ疾患と思われていたものが、原因の異なるいくつかの疾患単位に分けられるようになった例は非常に多いし、これからもふえる一方である。第3は、常染色体性の劣性遺伝病の場合で、式(4)は、劣性ホモ個体の淘汰による有害遺伝子の消滅だけを考慮し、ヘテロ個体の適応度は優性ホモ個体のそれとまったく等しいと仮定している。しかし、もしこの仮定が多少でも間違つていと、式(4)はもはや成立しなくなる。また隔離の打開に伴つて血族結婚の頻度が減少するから、劣性遺伝子の頻度に関する以前の遺伝的平衡は、近世になつて破られてきているに違いない。こうした理由から、劣性突然変異率の推定値は、常染色体性優性または伴性劣性突然変異率のそれにくらべて、その信頼度がよほど低いとみななければならない。

表1には、これまでに計算されたヒトの常染色体性優性および伴性劣性突然変異率を、Vogel (1970) の表から採録した。これをみると、得られた推定値は 10^{-4} ~ 10^{-6} の間に分布している。常染色体性優性のもものでは、多発性神経線維腫と多発性腎嚢腫の2つが、例外的に高い値を示している。これは、この2つの座位が特に変化しやすいというよりも、むしろいくつかの座位の合計値と思われる。また、伴性劣性突然変異率の推定値は、血友病Bを除いて、常染色体性優性突然変異率のそれよりもかなり高いが、これも Penrose (1961) が述べているように、X染色体の上には、同じような効果をもつた複合座位が多くついているためかもしれない。こうした点を考慮すると、人類における有害遺伝子の座位当りの突然変異率は、平均して約 1×10^{-6} とみなしてよいであろう。ちなみにこの値は、マウスで得られている7つの座位の

表1 ヒトの遺伝子突然変異率の推定値
(Vogel, 1970より抜萃)

指標形質	調査集団	突然変異率(配偶子100万当たり)
イ) 優性突然変異		
1. 四肢短縮症	デンマーク	10
	北アイルランド	13
2. 無紅彩症	デンマーク	2.9
	ミンガン(米)	2.6
3. 筋強直性ジストロフィー	北アイルランド	8
	スイス	16
4. 両眼性網膜膠腫	イギリス	} 6~7
	ミンガン(米)	
	スイス, ドイツ	
	日本	8
5. 多発性神経線維腫	ミンガン(米)	100
6. 大腸ポリープ症	ミンガン(米)	13
7. 蜘蛛指症	北アイルランド	4.2~5.8
8. 多発性腎嚢腫	デンマーク	65~120
9. 尖頭合指症	イギリス	3
10. 骨形成不全症	スウェーデン	7~13
11. 多発性外骨腫	ドイツ	6.3~9.1
ロ) 伴性劣性突然変異		
12. 血友病A	ドイツ	57
	フィンランド	32
血友病B	ドイツ	3
	フィンランド	2
13. ドジャンヌ型筋ジストロフィー	ユタ(米)	95
	北アイルランド	60
	イギリス	43
	ドイツ	48
	ウィスコンシン(米)	92
	イギリス	51

平均値(オスで 7.5×10^{-6} , メスで 1.0×10^{-6} , Russell, 1962)とよく一致している。しかし sample された座位の数はほんのわずかに過ぎないし、突然変異率が極端に低い座位は sample されないから、この値がゲノム全体の(突然変異すれば表現型に有害な変化を与えるすべての)座位の突然変異率を、どこまで代表しているか不明である。かりにこの値を代表値にとり、ヒトの半数染色体上の座位の総数を3万(原子力放射能の影響に関する国連科学委員会報告書, 1972)とすると、配偶子当りの突然変異率は0.30となる。

4. 分子レベルの遺伝子突然変異

最近、異常ヘモグロビン血症に関する生化学的研究が

目ざましく進歩し、直接ヒトの材料を用いて分子レベルの突然変異を究明できるようになった。その詳細についてはすでにすぐれた総説(Lehmann & Carrell, 1969; 柳瀬, 1971)があるので、ここでは人類遺伝学の基礎的な理解に重要な知見を要約するに止めておく。

まず第1に、ヘモグロビンという酸素交換に必須な蛋白分子の合成に、数コノ遺伝子座が関係していることがわかった。すなわち、Hb A ($\alpha_2 \beta_2$) は2コの α 鎖と2コの β 鎖からなる四量体で、それぞれのポリペプチッドは α および β 座位の遺伝子によって構造が決定される。同じように Hb F ($\alpha_2 \gamma_2$) と Hb A₂ ($\alpha_2 \delta_2$) の合成には、 α 座位のほかにそれぞれ γ 座位と δ 座位とが関係する。このほかに、胎生初期に出現する Hb Gower 1 (ϵ_4) の合成には、 ϵ 座位が関係している。さらにヘムの合成には少なくとも4種類の酵素が関与しているとみなされる。

これによつて疾患の異質性が精細にわかつてきた。たとえば、先天性メトヘモグロビン血症には、常染色体性劣性型と常染色体性優性型とがある。前者はメトヘモグロビン還元酵素の欠損によるが、後者は Hb A の α 鎖または β 鎖のうち、ヘム群と付着している特定部位(α 鎖のN末端から数えて58番目と87番目、および β 鎖の63番目と92番目、いずれもヒスチジン残基よりなる)の近傍が、別のアミノ酸残基で置換されたもので、Hb M 症と言われるものに相当する。

ϵ 鎖は胎生の初期に出現するが、3カ月頃までに消失し、代わつて α 鎖と γ 鎖とが合成される。このような発生蛋白や酵素に欠陥があると、胎児は早期に死亡したり、あるいは先天性異常を表わしてくる可能性があるが、出生後にはその存在を把握しえない。単純遺伝性の先天異常で、分子レベルの変化が見つからないものの中には、こうしたものがあるに違いない。

これまでに発見されたヘモグロビン分子の変異体の数は約150にのぼり、その大多数は単一アミノ酸の置換である。この置換は、微生物遺伝学でわかつた遺伝の暗号表と照らすと、どれもただ1コの塩基の置換で説明される。その場合、シトシンからチミンに変わる塩基転位 transition が、偶然に期待されるよりも多くおこっている。

また、まれな構造変異として、1コまたは数コのアミノ酸を欠失した β 鎖(Hb Tochigi)や、 β 鎖と δ 鎖との融合ペプチッド(Hb Miyada)も見つかつている。なお、タラセミア症ではポリペプチッド鎖の構造には異常が証明されないが、その合成能が何か未知の機構によつて障害されていると考えられる。

表現型に対する効果からみると、単一アミノ酸置換に

よつてヘテロ個体に表われる症状は、溶血症からメトヘモグロビン血症、多血症、赤血球の鎌状化などさまざまであるが、臨床的にこれという症状の見られないものがかかり多数みられる。このことは、適応度に関して中立または中立に近い突然変異が、意外に多いことを示唆している。

これらの知見に基づいて考察すると、1コノ正常遺伝子が突然変異して生ずる対立遺伝子の種類は、莫大な数になりえることがわかる。たとえば、 α 鎖は141コのアミノ酸からなるから、そのシストロンは $3 \times 141 = 423$ コの塩基の配列からなっている。したがって塩基の置換だけに限つても、その仕方は全部で $3 \times 423 = 1269$ 通りある。このうちアミノ酸置換をきたすものは1120通りで、残りは、codonに縮退 degeneracyがあるためアミノ酸の置換をきたさないか、または non-sense codonに変わるか、そのいずれかである。もし non-sense codonに変われば、ポリペプチドは産生されなくなる。また立体構造の上で機能的に重要な部位（たとえばヘム・ポケット）とそうでない部位とがあるから、後者におこつたアミノ酸置換は臨床的に何ら症状を現わさぬ場合も出てくるであろう。

このように分子レベルの分析によつて、表現型レベルでは発見できなかった中立ないしそれに近い突然変異がとらえられるようになった。またいろいろな生物種にみられる相同蛋白の一次構造を比較することによつて、分子レベルの進化の研究が盛んになったが、そこにみられるアミノ酸置換は、もともと中立な突然変異が偶然の浮動によつて集団中に固定したと考える説（木村・太田、1972）が有力である。これから、codon当りの突然変異率を推定する試みもなされている。

5. 自然突然変異の発生に影響する要因

ショウジョウバエや微生物、マウスでは、放射線や紫外線、温度、種々の化学物質などによつて突然変異が誘発されることがわかっている。ヒトではまだ直接の証拠は得られていないが、遺伝物質の本体は他の生物と変わらないから、DNAに働く種々の要因は、ヒトでも同じ効果をもつと考えてよい。しかし同じ要因でも人体に適用された場合、代謝や生理的条件が違うことがあるから、他の生物で得られた結果をただちにヒトに当てはめるわけにはゆかない。

こうした人為的に誘発されるものと別に、突然変異は自然の状態でも絶えず生起している。人類が太古の昔から浴びてきた宇宙線や大地からの放射線の量は、30年間に平均4レム程度のものに過ぎない。放射線の突然変異

率は、座位当たり1レムで $10^{-7} \sim 10^{-8}$ のオーダーであるから、自然突然変異のうち放射線で説明される部分はごくわずかである。つまり自然突然変異の大部分は、その真の原因がまだまったく不明である。

優性の効果をもつた遺伝子突然変異で浸透率の完全なもの、新生したものを確実に同定できるから、突然変異の発生に影響する要因を疫学的に探索することができる。この場合、まず調べられるのは父母の年齢との相関である。その結果、四肢短縮症、尖頭合指症、蜘蛛指症、化骨性筋炎のグループでは、遺伝子突然変異の発生が父の年齢増加と強い相関をもっていること、しかし母の年齢とは関係のないことがわかっている（Penrose, 1961; Vogel, 1970）。相関のパターンをみると非線型で、相対危険率は20代の父で約0.5、30代でほぼ1であるが、40代で2倍以上に上昇している。しかし別のグループ、すなわち結節性硬化症、多発性神経線維腫、網膜膠腫、骨形成不全症をきたす突然変異の発生は、父年齢との相関が弱く、統計的に有意でない。なお血友病の場合には家系を広く調査することによつて、突然変異が発端者の母方の祖父で新生したことを推定できる場合がある。Herrmann (1966) は血友病Aの孤発した家系を集めて分析し、突然変異の発生と母方の祖父年齢との間に強い相関を見出しているが、Barralら(1968)の研究では否定的な結果が得られている。

PenroseとVogelは、突然変異の発生機構に関していくつかのモデルを想定し、男女の配偶子形成過程の違いに基づいて、父母年齢との相関がどのようになるかを理論的に考察している。特に興味のあるのは、次の3つである。

(1) 突然変異が（放射線の蓄積線量のように）物理的な時間のみ依存するとすれば、その発生率は父母の年齢と線型に比例するであろう。ただし患児を産んだ時の両親の平均年齢は、対照集団にくらべてせいぜい1年くらいしかふえないはずで、その上昇を統計的に証明するのは容易でない。Penroseは結節性硬化症、神経線維腫、網膜膠腫の3つは、このモデルに合致しているとしている。

(2) 突然変異が遺伝子の複製の際におこる誤写 (copy error) だとすると、細胞分裂の回数に依存するから、その発生率は父年齢の増加と相関し、母年齢とは無関係になる。ここで問題になるのは精原細胞の分裂回数で、これを射精の累積度数で測ると、後者は思春期から40歳頃まではほぼ直線的に上昇し、以後は緩やかな上昇をたどるとみなしてよい。しかし四肢短縮症、尖頭合指症、蜘蛛指症、化骨性筋炎のグループでは、父年齢別の相対危

険率は40代以後で急に上昇しているから、単に分裂回数だけでは説明しえない。Penrose は、何か突然変異をおこす化学物質が蓄積してきて、それが細胞分裂に際して複製の失敗をおこさせるのではないかと推測している。

(3) 突然変異が、分裂を停止した以後の細胞の加齢に伴って生起すれば母年齢と相関するが、父年齢とは関係がないだろう。このモデルは、母年齢と強い相関の知られている Down 症 (21 トリソミー) の発生に合致している。

このように、遺伝子突然変異の発生と父母の年齢との相関のパターンから、種々の仮説をテストすることができるが、まだ何といても基礎となるデータが不足している。父年齢と強い相関が認められたものも、むしろ座位としては例外的なものであるかもしれない。また、どうして座位によつてこうした違いが生ずるのか、そのところは皆目わからない。しかし、突然変異の発生を多少とも防止する見地から言うと、男性が遅くも30代で子供を産み終えることは、決して無意味なことではない。

文献

- 1) Barrai, J., Cann, H. M., Cavalli-Sforza, L. L., & de Nicola, P.: The effect of parental age on rates of mutation for hemophilia and evidence for differing mutation rates for hemophilia A and B. *Am. J. Human Genet.* 20: 175-196, 1968.
- 2) Carter, C.O.: Genetics of common disorders. *Brit. Med. Bull.* 25: 52-57, 1969.
- 3) Herrmann, J.: Der Einfluss des Zeugungsalters auf die Mutation zu Hämophilie A. *Humangenetik.*

- 3: 1-16, 1966.
- 4) 木村資生・太田朋子：分子レベルにおける突然変異と進化。蛋白質・核酸・酵素。17: 401-413, 1972.
- 5) Lehmann, H. & Carrell, R.W.: Variations in structure of human haemoglobin. *Brit. Med. Bull.* 25: 14-23, 1969.
- 6) McKusick, V.A.: Mendelian Inheritance in Man. Catalogs of Autosomal Dominant, Autosomal Recessive, and X-linked Phenotypes. Second ed. Johns Hopkins Press, Baltimore, 1968.
- 7) Penrose, L.S.: Mutation. Recent Advances in Human Genetics: 1-18. ed. L.S. Penrose, Churchill, London, 1961.
- 8) Russell, W.L.: In: Report of the United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation, 1962.
- 9) U.N.: Report of the United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. New York, 1972.
- 10) de Vries, H.: Die Mutationstheorie. Leipzig, 1901.
- 11) Vogel, F.: Spontaneous mutation in man. Chemical Mutagenesis in Mammals and Man: 16-68. ed.F. Vogel & G. Röhrborn, Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 1970.
- 12) Wright, S.: The result of crosses between inbred strains of guinea pigs differing in number of digits. *Genetics.* 19: 537-551, 1934.
- 13) 柳瀬敏幸：遺伝医学の基礎。総合臨床。20: 1271-1277; 1579-1586; 1826-1829; 1998-2004; 2322-2327; 2964-2976, 1971.

* * *

II. 放射線などによる生体障害の例

ここでは、放射線などによつておこる生体障害の例のうち、胚または胎児期にうけた比較的少ない線量の放射線などが、どのような生体障害をひきおこすかについて、ヒトの実例と動物実験の例とが論じられた。

まず広島 ABCC の加藤寛夫氏は、広島および長崎において、被爆時に妊娠中であつた婦人から生まれた方々についての追跡調査の結果を、死亡率、発癌率、頭部の大きさ、身長、抗体生産能など多くの項目について示された。さらにこれらの統計学的事実と、結果の解釈について、慎重にのべられた。被曝線量および被爆時の発生段階との関係は、多くの場合例数との関係で決定的結論を出しにくい、身長・頭囲などの成長発育の遅延、インフルエンザ抗体産生能力の一時的低下および乳児期の死亡率上昇などが認められたことは、影響の存在を示している。しかしもつともありそうな白血病の頻度は目下のところ増加していない。これらの結果は、医療被曝の場合と異なるが、医療の場合は本来の病気があつてから照射されている場合があり、単純には比較できない。

いずれにしても疫学的データはもつとも貴重なものである反面、原因結果の関係はたどりにくいことはこの場合も明らかである。

引きつづいて、この点を明らかにする動物実験の結果が、東大の上田慶子、吉沢康雄氏によつて発表された。

3,000 個体以上のマウス胎児に生じた放射線誘発の指趾の奇形を、ていねいに観察・解析された御仕事は、精力的でていねいなものとして評価される。ことに照射の時期を妊娠11日目前後に時間の単位で詳しくとり、前肢の指と後肢の指に生ずる奇形の相違まで明らかにされた結果は貴重なものである。また上田さんの提示は明快でわかりやすく、人類に対する影響評価のモデルとして、この問題を扱かれた趣旨もよくわかつた。

さらに實際上環境要因が必ずしも単一でないことから、カドミウムの胎児に対する影響と γ 線との組み合わせの実験に入つてゆかれたが、この問題は重要性の高いものだけに、さらに新しい条件の設定が必要であることが論議された。この方面の仕事を単なる発生学上の問題としてでなく取り上げられたことは、意味深く、今後の研究方法の検討とデータの集積が望まれる。

なお放医研の青木一子さんから、基礎的所見として、メダカ胚がカドミウム水中で発育したときに生ずる脳細胞のピクノシスが追加発表された。

討論時間を十分にとつてこれらの問題が今一度討論される機会がさらにほしかつたが、一連の発表は研究方法論の展開としても意義深いものであつた。

(東京大学理学部動物学教室 江上信雄)

* * *

小児（胎児）被爆者の晩発障害

加藤 寛 夫

ABCC では国立予防衛生研究所と共同で、原爆放射線の後影響を調べるために、被爆者の固定集団について長期間の追跡調査を行なっている。図1に示したように被爆者については約11万人を対象として1950年から死亡調査を行なっており、死亡者の剖検例（剖検率30～40%）について病理学的調査をしている。またこの調査対象のうち2万人の subsample について成人健康調査（2年に1回の精密検診）を1958年に始めており、現在第8回目の検診を実施中である。被爆者についての現在までの主要な知見を簡単に要約すると、

(1) 被爆者に白血病の発生率が高いことはよく知られており、白血病発生 risk は1950～1952年頃を頂点として、年とともに減少はしているが、200 rad 以上の高線量を受けた群では現在でもまだ対照に比べて risk は高い。

(2) 白血病以外の癌の発生 risk は1960～1965年頃から高くなりつつあり、現在までに甲状腺癌、肺癌、乳癌、唾液腺癌の発生 risk が高いことが認められている。

(3) 白血病および癌以外の疾患で白内障以外は特に原爆放射線と関連のある疾患は認められず、放射線による加齢現象の促進も一般的には明らかでない。

胎内被爆児については図1に示したように2,600人の固定集団について死亡の追跡を行なっている。またこれとは別に精密検診も行なわれていたが、詳細については

後述する。また被爆者の子供については約53,000人の固定集団について死亡調査の他、種々な遺伝学的調査を行なっているが、現在までのところ原爆放射線による遺伝的影響は認められない。このような原爆放射線の人体に及ぼす影響のうち今回はとくに胎内被爆児について詳細に述べる。

1. 調査対象

被爆後約10ヵ月間（1945年8月～1946年5月）に被爆者から生れた子供を胎内被爆児とした。調査対象を設定するために出生届を基にして、1945年8月～1946年5月に広島市または長崎市で生まれた子供の全数について、ABCC の調査員が野外調査によつて両親とくに母親の被爆状態をしらべた。爆心地から2 km 以内で被爆した至近距離胎内被爆児の全員と、対照として遠距離胎内被爆児と非被爆者（被爆当時広島市または長崎市にいなかったもの）からそれぞれ至近距離胎内被爆児と同数を random に選んで調査対象とした。また市外で生まれた胎内被爆児で ABCC の臨床調査にきたものなどを補助的に調査対象に加え、図1に示したように合計2,600名の調査対象について死亡調査を行なっている。これとは別に ABCC では種々な資料から胎内被爆児を選んで1952年頃から臨床検査を行なっており、特に10歳から19歳まで毎年1回精密検診を行なってきた。前述の死亡調査対象のうち、約1/2はこの臨床調査の対象にもなっている。

2. 死亡率

前述の胎内被爆児の死亡調査の対象2,600名のうち出生届けのあるものに限定し、しかもこれまでの予備的調査の結果、原爆放射線以外に死亡、とくに乳児死亡に強く影響する社会経済的要因などが、胎内被爆児と非被爆児との間には差があるが、胎内被爆児の間では被爆距離によつてそのような要因の分布に差がないことが解つていたので、解析は非被爆児を除いて胎内被爆児に限定して行なつた。解析に用いた対象数は広島1,073名、長崎219名である。死亡の確認には戸籍を調べているので死亡の洩れはほとんどないと考えられる。死亡している

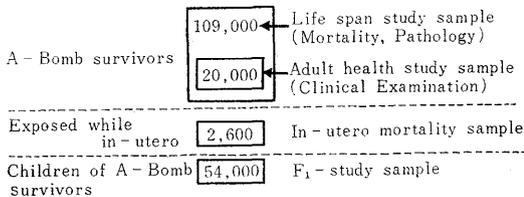


図1 Sample for the study

KATO, Hiroo 国立予防衛生研究所広島支所, ABCC (原爆傷害調査委員会) 統計部

表1 Mortality of In-Utero Exposed Children, 1945-1969 by Radiation Dose and Age at Death

Age at death	Statistics	Total	Dose (rad)				Unknown
			0-9	10-39	40-179	180+	
All age	Observed death	196	117	27	32	18	2
	O/E		.98	.79	1.15	1.71	.52
	Sample	1,292	795	223	180	68	26
Under 1	Observed	104	60	11	19	13	1
	O/E		.95	.61	1.26	2.14	.52
1-9	Observed	70	45	13	9	2	1
	O/E		1.03	1.05	.95	.70	.68
10+	Observed	22	12	3	4	3	0
	O/E		.89	.74	1.45	2.89	—

場合には人口動態死亡票から死因を転記した。

1969年12月までに196名の死亡者が確認されたが、これを表1に示すように母親の被爆線量によつて4群に分けて、被爆線量によつて死亡率に差がないと仮定した場合の性、年齢訂正期待死亡数を計算した。したがつて観察死亡数と期待死亡数の比は一種の relative risk を表わしている。表1に示したように、1945~1969年までの全調査期間の死亡率は被爆線量が増加するにつれて高くなつてゐる。この被爆線量の増加に伴う死亡率の上昇は1歳未満の乳児死亡率に顕著にみられるが、その後1~9歳時ではみられず、ついで10歳以上に達した後再びみられる。死亡原因別では周産期死亡を除いてはとくに増加のみられた死因はなく、白血病は1名のみ、また白血病以外の癌による死亡者は2名で、いずれも全国死亡率と同程度で母親の被爆線量との関連は認められない。

被爆時における母親の妊娠時期別にみると表2に示したように、被爆線量に伴う死亡率の増加は妊娠後期に被爆した群にのみ著明にみられる。

放射線生物学的には死亡に対して放射線の影響がある

ならば、妊娠前期に特に影響が強く表われてくるのが期待されるが、実際には表2に示したように、むしろ妊娠後期に影響が強く表われている。その主な理由としては次の2つが考えられる。その第1は妊娠初期に胎児が放射線を受けた場合は、自然流産、死産の率が高く、それによる selection のためかもしれない。その第2は、母体が放射線を遮蔽する役目をしているが、母体組織による放射線量の透過係数が妊娠時期によつて異なることが十分考えられるので、今後の線量の測定法の進歩をまたなければ、正確なことは解らないと考えられる。

また死亡率特に乳児死亡率は被爆以外の他の因子、たとえば出生順位、母親の年齢、社会経済的因子などに強く影響されることが考えられる。そこで出生票、および郵送調査などからこれらの因子に関する情報を入手し、各被爆線量群間のこれらの因子の分布に差があるかないかを検討したが、出生時体重以外の因子では差は認められなかつた。

したがつて前述の母親の被爆線量に伴う死亡率の増加は、これらの付随因子によるものではない。また10歳

表2 Mortality of In-Utero Exposed Children, 1945-1969 by Radiation Dose and Trimester

Trimester	Statistics	Total	Dose (rad)				Unknown
			0-9	10-39	40-179	180+	
I	Observed death	53	35	4	11	3	0
	O/E		1.05	.47	1.54	1.23	—
II	Observed	78	50	11	10	5	2
	O/E		1.09	.85	.79	1.09	1.15
III	Observed	65	32	12	11	10	0
	O/E		.79	.96	1.38	2.88	—

表3 Observed and Expected Deaths from Cancer in Ten Years for In-Utero Exposed Children

Maternal Radiation Dose (rad)	No. of Children	Maternal Person-rad	Cancer Deaths Under 10 Yr.		
			Observed	at Japanese National Rates	Extra at 572 Per Million Person-rad
<1	551		0	0.32	—
1-39	467	5,495	0	0.27	3.1
40-299	215	22,699	1	0.12	13.0
300-499	17	6,739	0	0.01	3.9
500+	16	29,557	0	0.01	16.9
unknown	26		0	0.02	—
total	1,292		1	0.75	36.9

以上の死亡率に再び線量との関係がみられたが、これについては例数も少ないので、今後さらに観察をつづけて死因との関係などについて研究する必要があると考えられる。

3. 白血病, 癌

1292名の胎内被爆児のうち、生後10年以内に小児癌で死亡したものは1名で、日本全国の小児癌による死亡率から計算した期待値0.75名と非常によく一致している(表3)²⁾。

Stewartらは母親が妊娠中にX線照射を受けた子供からの小児癌の発生が多く、Million person-radあたり572名の癌による過剰死亡数が期待されると述べている。その値を用いて計算してみると、このsampleでは36.9人の癌死亡者があることになるので実際のdataと一致しない。また白血病もこのsampleの中から出生後24年間に1名しかみられず、全国の平均値とほぼ同じ値を示している。このように現在までのところ胎内被爆児に癌または白血病が増加している傾向はみられない。

しかし一方、被爆者の中では原爆時年齢が20歳以下の若年であつたものに白血病および癌の発生のriskが特に高くなっている事実³⁾を考慮すると、胎内被爆児は現在26歳でこれからいわゆる癌年齢になつてくるので、今後注意深く観察をつづける必要がある。

4. 成長発育

胎内被爆児の臨床調査対象について10~19歳時まで毎年精密検診が行なわれていたが、小頭症など成長発育に関する以外は特に注目すべき疾患の頻度の増加はみられない。

1956~1965年すなわち、10歳から19歳の診察時における小頭症の頻度を母親の線量別に表4に示した⁴⁾。なお()内の数字は知能の遅滞を伴つたものの数である。

小頭症の定義としては、少なくとも1回の診察で頭囲が同一の性・年齢の非被爆者群についての平均値よりも標準偏差の2倍以上小さい場合、またはすべての診察で標準偏差以上小さい場合を小頭症と定義した。また知能遅滞は検診および病歴調査に基いて判定し、単純な行動

表4 Frequency of Small Head Circumference by Gestational Age and Exposure

Dose (rad)	Hiroshima				Nagasaki			
	Gestational Age (week)				Gestational Age (week)			
	0-17		18+		0-17		18+	
0-9	4(1)*/63	6%	4/65	6%	0/1	—%	0/9	—%
10-19	6(1)*/54	11	0/44	—	0/7	—	0/6	—
20-29	6/24	25	1/14	7	0/5	—	2/7	29
30-39	4/8	50	0/10	—	2/4	50	0/6	—
40-49	3/11	27	0/6	—	0/6	—	0/3	—
50-99	9(2)*/20	45	2/24	8	0/9	—	0/11	—
100-149	2/4	50	0/10	—	0/2	—	1/5	20
150+	5(5)*/13	38	1(1)*/8	13	8(3)*/9	89	2(1)*/9	22

* Also had mental retardation.

が果たされないなど重篤であつた場合にのみ知能遅滞とみなした。

例数は少ないが広島・長崎別に、また母親の被爆時の妊娠時期によつて18週未満と18週以上にかけてみると、広島・長崎とも18週未満の時期に被爆した群に特に顕著な影響がみられ、広島では母親の被爆線量が10~19 radの比較的少ない線量を受けた群でも小頭症の頻度の増加がみられる。これに反して長崎では150 rad以上の高線量を受けた群で始めて小頭症の頻度の増加がみられる。また広島・長崎とも150 rad以上の高線量を受けた群で知能遅滞を伴う例が多く、特に広島ではこの線量群の小頭症の全例が知能遅滞を伴っている。つまり放射線は発育中の胎児に対して、一般に脳の細胞の減少をもたらす二次的に小頭症をおこしており、その際細胞の減少が強い場合に知能遅滞がみられるが、細胞の減少が少ない場合には知能は正常範囲内に止まるものと考えられている。

広島と長崎とで線量効果に差があることには次の2つの理由が考えられる。その第1は広島と長崎における原爆放射線の線質に差があることである。すなわちγ線以外に広島では長崎よりも中性子が多く含まれており、しかも中性子の方がα線よりも生物学的効果が強い。すなわち RBE が1より大きいためにこのように両市で差が出てきたものと考えられる。その第2は子供の発育に影響を及ぼす因子としては放射線以外に栄養・重篤な疾病など他の多くの要因が考えられるが、原爆は広島の場合には市の中心部に落とされ、長崎では浦上の1つの谷間に落とされたために、被爆直後の社会経済状態の混乱に伴うこうした要因は、広島の方により大きく影響したであろうことは容易に想像できる。したがつて、この data の示す広島の胎内被爆児に認められた低線量の影響は、医療用放射線を母親が妊娠中に受けた場合には直接適用できない。それは原爆被爆の場合は、前述のように中性子の影響もあり得るし、また被爆直後の環境の破壊によ

る影響も考えられるからである。

なおこの例の場合には例数が少なく、この data から中性子の RBE の値を推定することは困難であるが、原爆被爆者における白血病、および白血病以外の悪性腫瘍の場合の中性子の RBE の推定値としてはおおよそ5に近い値であると考えられている³⁾。

次に、胎内被爆児における知能遅滞を示したものの頻度と被爆線量との関係について述べる³⁾。この場合の知能遅滞の定義は簡単な計算や会話ができないもの、身の回りのことが自分でできないもの、また施設に収容されたものに限定した。知能遅滞の頻度を線量別に表5に示した。非被爆者および遠距離胎内被爆児、広島830名、長崎246名中の知能遅滞の割合(0.6%)を基準として、各線量群中の知能遅滞の頻度をみると、広島では50 rad以上の群から risk の上昇がみられる。これに反して長崎では200 rad以上の高線量群で始めて risk の上昇がみられる。これをさらに妊娠時期別に15週以前と以後に分けてみると、例数は少ないが15週以前の方により影響が明らかにみられる。

次に身長、体重の発育状態について述べる。広島における胎内被爆児の17歳時の身長の累積百分率を正規確率紙の上に被爆距離別に示した(図2)が、至近距離胎内被爆児は対照に比べて身長が低い方に分布している。また10歳の時に測定した結果も同様に、至近距離胎内被爆児は対照に比べて低い値を示している。しかし同一人についての10歳と17歳の測定値の差、すなわち7年間の発育した絶対値そのもの、および年間最大成長率をみても、被爆距離との関係はみられない。すなわち至近距離被爆児は10歳の時にすでに対照に比べて小さいが、その後7年間の成長率は対照に比べてならなくなり発育は正常であり、したがつて17歳でのほとんど成長が終わった時点で、身長が対照に比べて低い値を示す結果になっている。しかしながら、10歳以前には Systematic な測定が行なわれていないので、何歳の時に被爆状態によつ

表5 Proportions of Cases of Mental Retardation by Gestational Age and Exposure

Dose (rad)	Hiroshima				Nagasaki			
	Gestational Age (week)				Gestational Age (week)			
	≤15		15+		≤15		15+	
0- 9	1/36	3%	2(1)/109	2%	0/1	—%	0/10	—%
10- 49	2(1)/64	3	0/125	—	0/16	—	0/29	—
50- 99	3(1)/16	19	0/31	—	0/3	—	0/17	—
100-199	3(1)/11	27	1/18	6	0/3	—	0/10	—
200-299	2/4	50	1/4	25	1(1)/2	50	0/3	—
300+	2/2	100	0/4	—	1/3	33	2/4	50

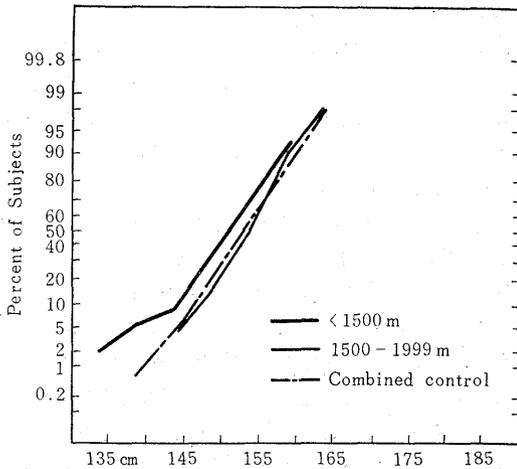


図2 Standing height at 17 years of age by exposure distance, female

て発育に差が出てきたかは解っていない。

5. 免疫抗体

動物実験では放射線照射によつて免疫抗体の産生能力が抑制されることが知られている。胎内被爆児について、こうした免疫抗体の産生能力が阻害されたかどうかを調べるために influenza について調査がなされた⁷⁾。

Influenza A 型の中でも strain の抗原構造が時とともに変わり、A 型 (PR 8 株, Weiss 株) が1946年以前、A 1 型 (FM₁ 株) が1946~1956年、次いで A 2 型 (Asia 型) が1957年以降、というように抗原構造が変わつてきている。Francis らの提唱している抗原原罪説、すなわち、人間は生まれて最初に感染した Virus に対する抗体をその後もずっともち続けるという説を利用して、胎内被爆児について A 2 型株に対する Vaccine すなわち、異種の抗原刺激を与えることによつて、初感染 Virus である A 1 型 (FM₁ 株) に対する抗体の上昇の程度を測定しようとした。図3に示したように、初感染 Virus である A 1 型 (FM₁ 株) に対する抗体は、至近距離被爆胎児の方が Control に比べて response が低い。しかし A 2 型に対する抗体の産生状態は被爆距離によつて差

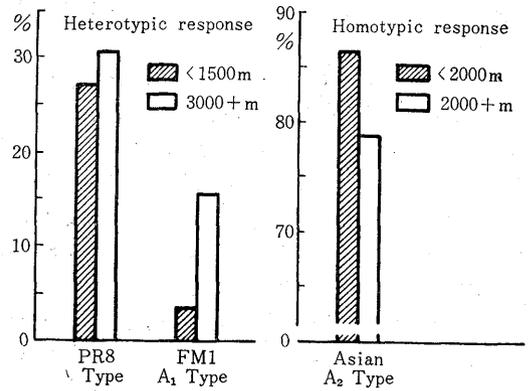


図3 Antibody response following Asian influenza vaccination

はない。すなわち、至近距離被爆児では influenza 抗体の産生能力が被爆後一時的に抑制されていたが、被爆後約10年を経てすっかり回復して対照と差異がなくなつたということがいえる。

6. 染色体異常

胎内被爆児について末梢リンパ球にみられた染色体異常の頻度を表6に示した⁸⁾。1人について100個のリンパ細胞について測定した。被爆線量によつて中等度の線量 (24~85 rad) を受けた群と、高線量 (104~477 rad) を受けた群に分け対照群 (非被爆群) と比較してみると、染色体異常 (dicentric, rings, fragments, translocation) を示すものの頻度は、対照群の4%に比較して線量が多くなるにつれて高くなつていく。また染色体異常を示す細胞の頻度についてみても同様に、対照群の0.04%に比べて高線量の群では頻度が高くなつていく。このように臨床的には異常はないが、体細胞の染色体 level では異常を示すものが胎内被爆児にある。しかし、この臨床的な意味は不明である。

7. 生殖能力およびその子供に現われる影響

動物実験では胎仔期に放射線に被曝した雄マウスに不妊がみられ、600 rad 以上の線量では完全不妊 (まつたく子供ができない) がみられている。広島、長崎の胎内

表6 Cytogenetic Findings among the In Utero Exposed of Hiroshima and Nagasaki

	Estimated Dose (rad)	Survivors	Total Cells Examined	Survivors with Aberrant Cells*	No. of Aberrant Cells*
control	-	48	4,678	2(4%)	2(0.04%)
exposed	24-85	20	2,000	3(15%)	3(0.15%)
	104-477	38	3,643	15(39%)	19(0.52%)

* Including dicentric, rings, fragments, and translocations.

表7 Marriages and Offspring of In-Utero Sample by Radiation Dose and Gestational Age at Exposure

Sex	Statistics	T 65 DOSE <10 rad			T 65 DOSE 10+rad		
		Gestational Age			Gestational Age		
		0-14	15-26	27+	0-14	15-26	27+
Male	Number of Subjects	183	183	126	99	103	63
	Married (%)	13.7	18.6	17.5	8.1	12.6	12.7
	with Children (%)	7.1	11.5	10.3	4.0	6.8	7.9
	Children Male	8	15	11	2	8	2
	Female	8	10	6	3	1	3
Female	Number of Subjects	205	207	169	86	100	90
	Married (%)	45.9	45.9	43.8	31.4	41.0	52.2
	with Children (%)	24.9	24.2	21.3	20.9	23.0	31.1
	Children Male	28	32	22	14	11	18
	Female	30	25	19	9	15	15

被爆児も現在26~27歳に達しているので、このような影響があるかどうかをみる必要がある。前述の死亡調査対象について、結婚状態およびその子供の sex ratio (性比) を表7に示した⁹⁾。男の約15%、女の約45%が結婚しており、10 rad 以上の被爆線量を受けた群でも男の4~8%、女の20~30%は子供がある。10 rad 以上の群のうちさらに100~199 rad, 200~599 rad, 600 rad 以上の高線量群においても子供が生まれており、完全不妊ということはない¹⁰⁾。しかし不妊の頻度が被爆線量によって差があるかないかを調べるにはまだ資料が不足なので、さらに観察を続ける必要がある。

また Meyer らは妊娠30週以内に母親の胎内で医療用 X線照射を受けた女の子供には男が生まれる割合が多いことを報告しているが¹¹⁾、女の胎内被爆児の場合には被爆線量が10 rad 以上の場合も、それ未満の場合と比べて、生まれてきた子供の sex ratio には差はないようである(表7)。つまり、胎内被爆児についてはその生殖能力および遺伝的影響としての子供の sex ratio の変化は現在のところないようであるが、まだ対象は reproductive age に入つて間もないので、今後も十分注意して観察を行なう必要があると考えられる。

以上、現在までに ABCC で行なわれた胎内被爆児についての調査結果について簡単に紹介した。

文献

- 1) Kato, H.: Mortality in children exposed to the A-bomb while in-utero, 1945-1969. *Amer. J. Epidem.* 93: 435-442, 1971.
- 2) Jablon, S. & Kato, H.: Childhood cancer in relation to prenatal exposure to atomic-bomb radiation. *Lancet.* 2: 1000-1003, 1970.
- 3) Jablon, S. & Kato, H.: Studies of the mortality of A-bomb survivors 5. Radiation dose and mortality, 1950-1970. *Rad. Research.* 50: 649-698, 1972.
- 4) Miller, R.W. & Blot, W.J.: Small head size after in-utero exposure to atomic radiation. *Lancet.* 1: 785-787, 1972.
- 5) Blot, W.J. & Miller, R.W.: Mental retardation following in-utero exposure to the atomic bombs of Hiroshima and Nagasaki. *ABCC TR.* 36-72, 1972.
- 6) Wood, J.W., Keehn, R.J., Kawamoto, S. & Johnson, K.G.: The growth and development of children exposed in-utero to the atomic bombs in Hiroshima and Nagasaki. *ABCC TR.* 11-66, 1966.
- 7) Kanamitsu, M., Morita, K., Finch, S.C., Kato, H. & Onishi, S.: Serologic response of atomic bomb survivors following Asian influenza vaccination. *Jap. J. Med. Science and Biol.* 19: 73-84, 1966.
- 8) Bloom, A.D., Neriishi, S. & Archer, P.G.: Cytogenetics of the in-utero exposed of Hiroshima and Nagasaki. *Lancet.* 2: 10-12, 1968.
- 9) Jablon, S. & Kato, H.: Sex ratio in offspring of survivors exposed prenatally to the atomic bomb in Hiroshima and Nagasaki. *Amer. J. Epidem.* 93: 253-258, 1970.
- 10) Blot, W.J., Moriyama, I.M. & Miller, R.W.: Reproductive potential of males exposed in-utero or prepubertally to atomic radiation. *ABCC TR.* 39-72, 1972.
- 11) Meyer, M.B., Merz, T. & Diamond, E.L.: Investigation of the effects of prenatal X-ray exposure of human oogonia and oocytes as measured by later reproductive performance. *Amer. J. Epidem.* 89: 619-635, 1969.

放射線によるマウス胎児の指趾異常発生および発育遅延

上田慶子 吉沢康雄

はじめに

胎児におよぼす放射線の影響、とくに催奇効果に関しては、Russel, Rugh, 村上らの報告をはじめとして数多くの業績がある¹⁻¹¹⁾。しかし、その多くは個体発生学の視点にたつたもので、放射線を催奇手段の1つとして注目し、それを利用したものである。著者らは、これらの過去の豊富な知見をもとに、放射線影響の生物学的指標 biological indicator という観点から、胎児への影響に注目してきた¹²⁻¹⁴⁾。本論文では、環境因子、とくに放射線によるマウス胎児の催奇効果と発育遅延に関する動物実験をもとに、環境因子による生体の障害について、著者らの研究における若干の知見を述べる。

環境因子による生物学的影響、すなわち、biological risk として今後注目しなければならないものは、次の3点であると思われる。第1は遺伝的影響、第2は発癌、そして第3は催奇効果である。いずれも有害環境因子と生体との接触の時点から、影響が表面に現われるまでに、長い時間的経過を要することが特徴である。催奇効果は受精から出産にいたる期間、すなわち、胎生期における biological risk の1つであり、また、代表的なものである。したがって、遺伝的影響および発癌と並べて言う場合には、“胎生期影響”と言うほうが適当であるかもしれない。

放射線影響の研究対象としてみた場合、胚細胞、ないし胎児の特徴としては、主に次の3点が挙げられる。

第1の特徴は、放射線に対する感受性が高いということである。大人より子供の感受性は高く、また子供に比べると胎児の感受性はさらに高いことは一般に知られていることである。一般公衆に対する安全問題、言い換えれば環境問題では、子供が critical な対象となつている。子供に対する影響の検討、大人と子供の違いの問題が、

今後とも重要な課題になると思われる。子供の生理学的特徴が拡大された存在、それが胎児であるとも見ることが可能である。母体内にある胚細胞ないし胎児に対する影響の研究は、単なる妊娠中の被曝による胎児への影響という限られた研究課題のみとしてではなく、環境問題に直結した課題としても、位置づけることができるであろう。

第2の特徴は、配偶子から始まつて、着床前期、器官形成期、胎児期という具合に、個体発生の全過程が対象となるため、細胞、組織、器官、そして個体、すなわち全身の各段階を密接に連絡のとれた方法で研究・観察の対象にできるということである。著者らは現在、biological risk を個体レベル、すなわち全身のレベルで把握することに目標を置いているので、この点からも研究の対象として比較的良好な材料であると考えている。

第3の特徴は胎生期の段階では、動物の種による差、すなわちヒトと実験動物との差が他の biological indicator に比べて比較的少ないということである。もちろん、動物の種、あるいは系統によつて個体発育に違いがあることは認められている。また、個体差の存在も指摘されている¹⁵⁾。しかし、実験動物とヒトとの胎齢についての相関はかなり詳しく検討されているので^{16,17)}、実験計画と結果の解釈に十分な配慮をすれば、実験結果をヒトにあてはめることはある程度可能であろう。これらの特徴は、放射線のみならず他の環境因子に関する研究の場合にもあてはめることができるとと思われる。

外的因子によつて個体発生にもたらされる影響は、加えられる外的因子の量のみならず、加えられる時期によつても異なる。一般に、配偶子の段階に加えられた外的因子の障害は不妊として表現され、未分化胚細胞の発生段階の場合は、胚細胞の死亡という結果をまねき、器官形成期、すなわち胎生3週から10週の影響は、死亡あるいは奇形を発生する可能性がある。それ以降は奇形発生に対する感受性は低下し、障害は機能異常として表現されることが多くなると言われている¹⁸⁾ (図1)。

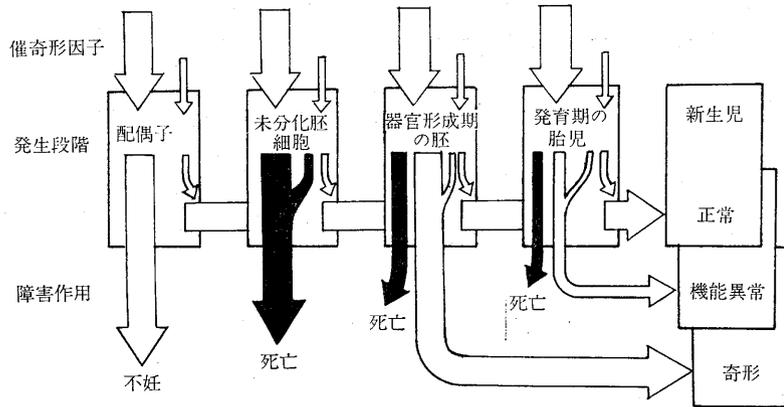


図1 催奇形因子の個体発生におよぼす影響と胎生期の発生段階 (Tuchmann-Duplessis, H. 1966) (催奇形因子のうち太い矢印は作用の強いもの、細い矢印は作用の弱いものを示す) (亀山：先天異常の成因について¹⁸⁾より)

催奇効果は、眼に触れやすいという点で注目される影響であるが、これは、胚細胞ないし胎児に対する biological risk の一部にすぎないはずである。発生初期段階の胚の死亡は、存在したとしても、われわれはそれを認識することができないし、また、妊娠中期以降の流産が環境因子によって生じたとしても、奇形児ほどは注目をひかないか、実際上無視されてしまうであろう。また、発育不全という現象がおき、その結果、生まれた子供が乳児期・幼児期、時には一生を通じて、ある種の身体的負担を背負う羽目になつても、その事実に関心の対象には余りならないと思われる。これらの氷山の水面下にある biological risk をどのように評価するか？ 環境因子による胎児への影響を論ずる場合、とかく軽視されがちなこの問題は、どうしても、考えておく必要がある。この点に関して、著者らは放射線のマウス胎児に対する催奇効果について観察中、しばしば現われる発育不全の胎児、すなわち“小さな胎児”をどのように扱うかということ、とくにその量的な表示については懸案であつた。その後、観察の比較的容易な尾椎骨の化骨現象に注目して、胎児の発育状態の指標とすることを考えた。

以上述べた催奇効果や発育不全のような影響を与える環境因子は多様多様であるが、現実には、1つの環境因子の影響のみを受けるといことは稀というよりむしろあり得ないことであろう。したがつて、複数の因子により同時に影響を受ける場合の問題は重要である。この課題に対する最初の試みとして、著者らは、放射線とカドミウムの組合せによるマウス胎児への影響について検討した。

以下、催奇効果、発育不全、そして複合因子による影響に関する3実験について報告、考察する。

1. 研究方法

生後10週齢(70±2日齢)の成熟未経産 ddY 系ハツカネズミ(日本生物材料センター産)を1週間予備飼育後、午後5時から翌朝9時まで交配させ、腔栓(Vaginal plug)の認められた日を妊娠0日として胎齢を起算した^{15,19,20)}。

妊娠マウスのγ線照射は塩化ビニール製照射ケージを用い、東京大学生物用照射装置(¹³⁷Cs線源4,000Ci)で全身照射を行なつた。

目的とする胎齢で母マウスを開腹し、胎児を取り出して体重測定後、Dawson法²¹⁾による骨染色^{15,22)}を行なつた。胎児の観察は、すべて実体顕微鏡下で行なつた。

1) 放射線によるマウス胎児の指趾異常

指趾異常成立の臨界期の検討のためには、胎齢7日から13日のいずれも午後2時から、加えて、胎齢11日のみ午前4時、午前9時、午後2時、午後7時および午前0時から、各時期に200R(3.3R/min)を照射した。

指趾異常発生率におよぼす線量率効果の検討のためには、胎齢11日目の午後2時より、線量率1.0, 3.3, 6.7, 20, 40 および100R/minで、いずれも総線量200Rを照射した。

指趾異常発生率と照射線量との関係を求めるために、胎齢11日目の午後2時から、線量率依存性のない範囲(1.25~5.00R/min)で、75, 100, 150, 200, 250 および300Rを、おのおの1時間照射した。

いずれの場合も、胎齢18日目に胎児を取り出して観察した。

注目した指趾異常は、欠指(趾)、短指(趾)、多指(趾)および癒合の4つで¹²⁾、いずれが認められても異常

胎児の分類に入れた。

2) 放射線によるマウス胎児の体重減少および尾椎骨の化骨遅延

体重および尾椎骨の化骨におよぼす放射線の影響の臨界期を検討するために、胎齢7日から胎齢17日の各時期に200R (3.3R/min) を照射し、胎齢18日目に胎児を取り出した。

臨界期における放射線照射後の尾椎骨の成長について検討するために、胎齢11日目に200R (3.3R/min) 照射後、胎齢13日から19日の各時期に胎児を取り出して観察した。

照射線量との関係を求める実験は、1)と同じである。

尾椎骨の化骨数の観察は、骨染色で化骨中心が少しでも認められたものを、原則として腸骨突起の末端を基点とし、末梢に向って計数した。化骨が不十分な場合のチェックとしては、腰椎から9番目を基点とした^{19,23)} (図2)。

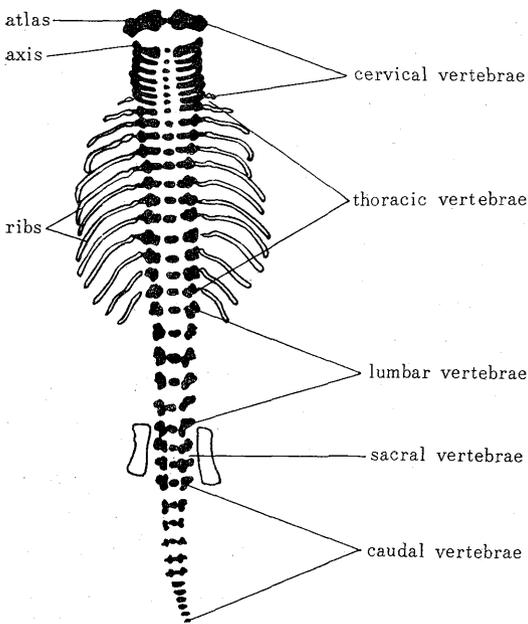


図2 正常なマウスの脊椎骨 (Stevens & Markensen 1958, Grüneberg 1963) (Rugh, R.: The mouse¹⁹⁾より)

3) 放射線とカドミウムの組合せによるマウス胎児への影響

$CdCl_2 \cdot 2\frac{1}{2}H_2O$ (以下、Cd と略) を生理食塩液に溶かし、1匹当たり0.2mlを投与した。Cdの投与方法、すなわち経口投与、皮下注射、腹腔内注射による母獣および胎児への影響について比較した。

放射線との組合せに関する実験では、胎齢11日、午後2時からの放射線の照射に先立ち、1時間前よりCdを腹腔内投与した。投与量は、1, 10, 50 および 100 μ g/mouse の4群、放射線を200R照射した場合には、1および10 μ g/mouse の2群のみ行なつた。対照群として、次の4群をもうけた。すなわち、i) 無処置、ii) 生理食塩液のみを投与した場合、iii) 放射線200Rのみを照射した場合、iv) 生理食塩液投与と放射線200Rをcombineした場合である。胎児の体重、尾椎骨の化骨数、指趾異常発生率を指標として観察した。

2. 実験成績

本実験で用いた妊娠マウスは640匹、観察総胎児数は6,020匹である。ddY系マウスのlitter sizeは正規分布(9.41 \pm 2.30)を示した(図3)。

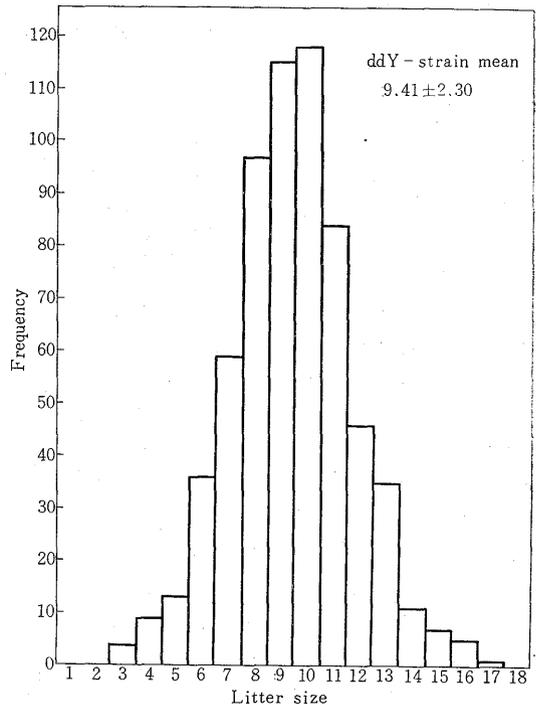


図3 ddY系ハツカネズミのlitter sizeの頻度分布

1) 放射線によるマウス胎児の指趾異常

指趾異常発生および胎児の体重減少の臨界期を図4に示す。指趾異常発生の臨界期は、胎齢11日午前9時に認められた。とくに胎齢11日目に注目してみると、その異常出現はまず前肢に、続いて後肢に現われる(図5)。縦軸の相対異常率 Relative abnormality とは、その時出現した異常全体を100%とした場合のそれぞれの出現の

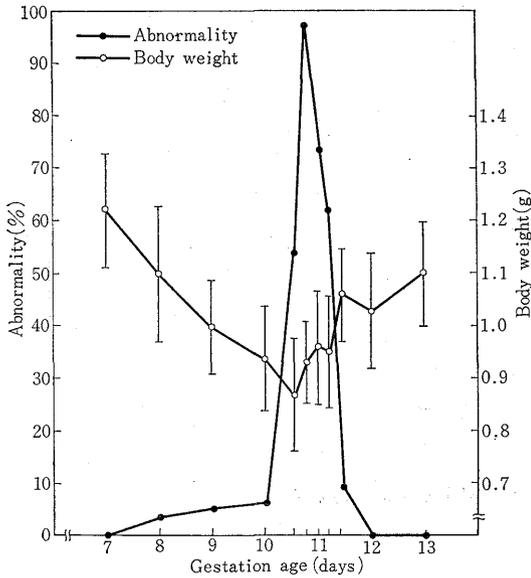


図4 7線 200R 照射による胎児の指趾異常発生および体重減少の臨界期

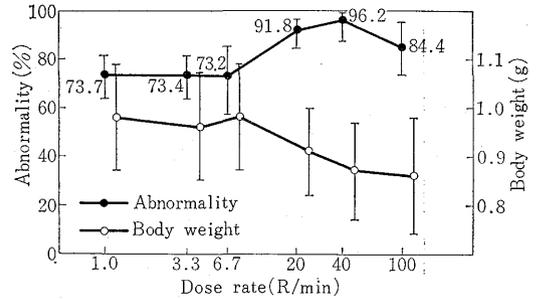


図7 胎齢11日目照射による指趾異常および体重の線量率効果

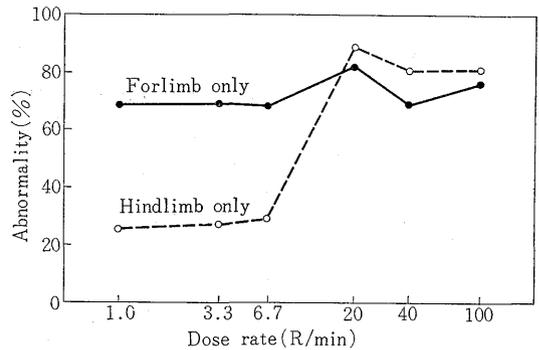


図8 指趾異常出現部位別にみた線量率効果

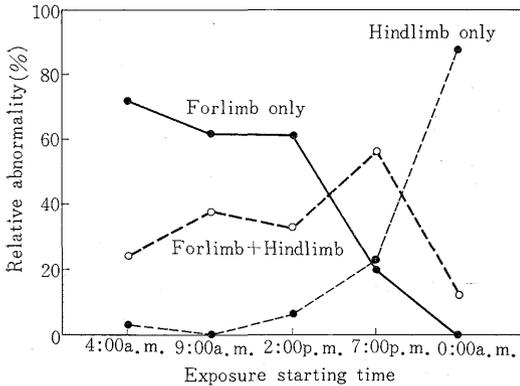


図5 胎齢11日目照射による指趾異常出現部位

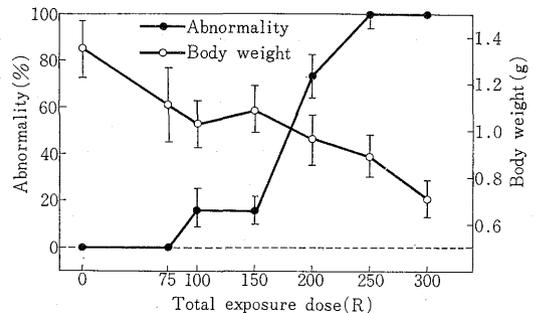


図9 胎齢11日目照射による指趾異常および体重に関する線量-効果関係

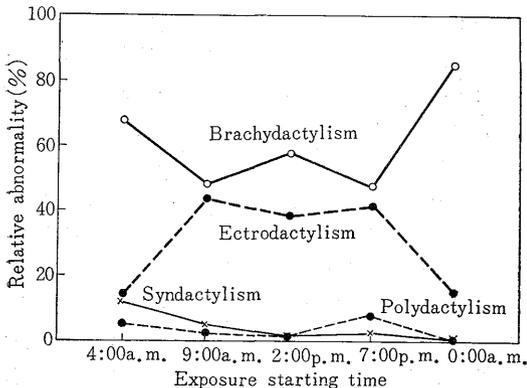


図6 胎齢11日目照射による指趾異常の形態

割合を示す。さらに、指趾異常の形態についてみると、胎齢11日目全体を通じて、短指(趾)症の割合は50%以上であるが、午前9時、午後2時および午後7時照射群では欠指(趾)症が約40%発生する。なお、4種の異常は重複して現われることがあるので、この場合は、異常の全数に対するおのおの割合を示している(図6)。

指趾異常発生率と体重には線量率依存性が認められた(図7)。とくに、後趾の線量率依存性は著しかった(図8)。図7の縦軸に示された幅は、百分率の信頼限界である。

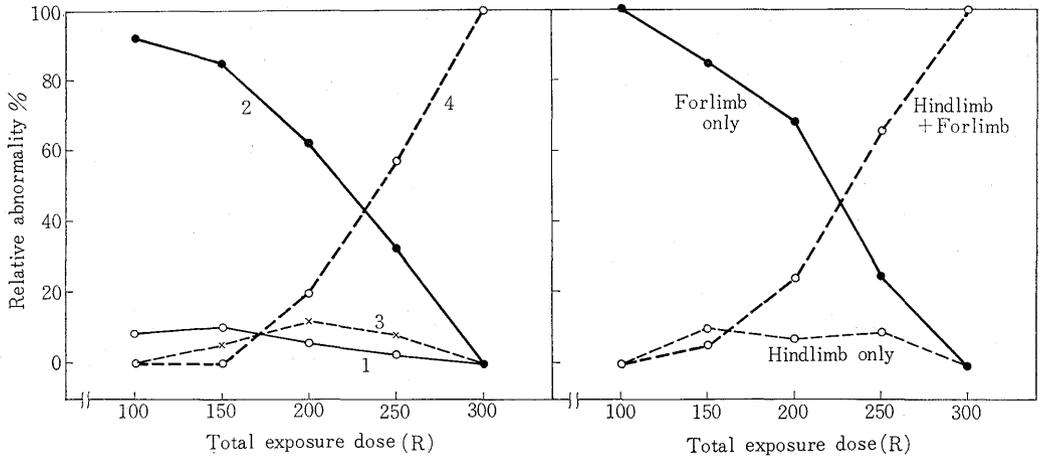


図 10 異常肢数および異常出現部位に関する線量—効果関係

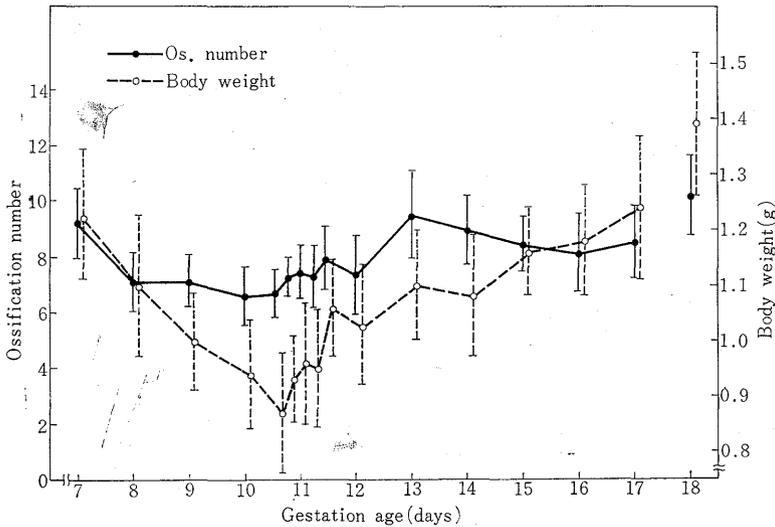


図 11 種々の胎齢における尾椎骨の成長および体重におよぼす線の効果

照射線量と指趾異常発生率、および体重との関係を図9に示した。指趾異常発生の限界線量は75Rから100Rの間にあり、250Rではほぼ100%異常が出現した。また、照射線量による胎児の体重は、先に述べた線量率依存性の場合と同様。指趾異常発生率と逆相関関係を示した。さらに、照射線量の増加につれて異常肢数は増大し、前肢のみの異常に後肢の異常が加わってくる(図10)。

2) 放射線によるマウス胎児の体重減少および尾椎骨の化骨遅延

放射線照射による化骨遅延が、とくに胎齢8日と16日照射群に認められた。また、体重の減少は胎齢11日、午前4時照射群で著しい(図11)。

胎齢13日から19日までの胎児の体重は急激に増加する。胎齢11日目の放射線照射群では、照射された直後より、明らかにその影響が体重の差として認められ、胎齢が増しても、すなわち出産時期が近づいても、その差はかえって著しい傾向が認められた(図12)。さらに、尾椎骨の化骨数からみると、非照射群のマウス胎児において、尾椎骨の化骨は胎齢16日頃より急速に進み、胎齢19日、出産予定日には平均12個の化骨が認められた。これに対し、胎齢11日目に照射したマウスでは、胎齢17日頃より尾椎骨の化骨が始まる。体重の変化と同様、尾椎骨の化骨数としても放射線による影響が認められた(図12)。尾椎骨の化骨数には線量依存性が認められた。かつ、

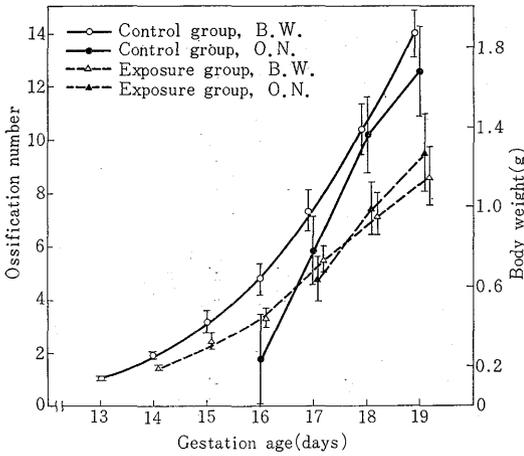


図 12 胎齢 11 日目 γ 線照射後の尾椎骨の成長と体重の変化

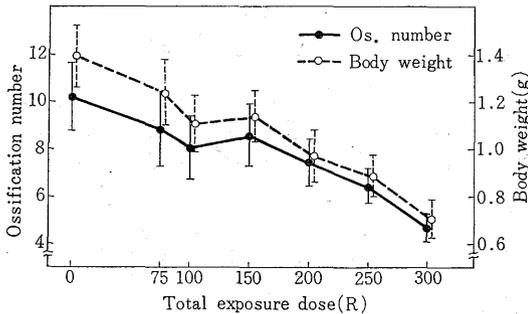


図 13 照射線量と尾椎骨の化骨数および胎児の体重との関係

胎齢11日目に照射した場合、化骨数と体重は高い相関を示した(図13)。

3) 放射線とカドミウムの組合せによるマウス胎児への影響

Cdの投与方法による比較検討を図14に示した。すなわち、経口投与、皮下注射、腹腔内注射の順に、母獣および胎児に対する影響が大きくなった。

放射線とCdの組合せによる実験の概要を表1に示した。腹腔内投与方法によるCd 50 μ g, 100 μ g投与群で、母獣の死および流早産が認められた。さらに、生き残った母獣の中での胎児の死産率も50 μ g投与群より急激に増加した。したがって、放射線との組合せの実験は、50 μ gおよび100 μ g投与群は行なわなかった(図15)。胎児の体重および尾椎骨の化骨におよぼす放射線とCdの効果は、いずれも相加的な影響として表われた(図16, 17)。

指趾異常の発生は、Cdのみの投与で、10 μ g投与群ま

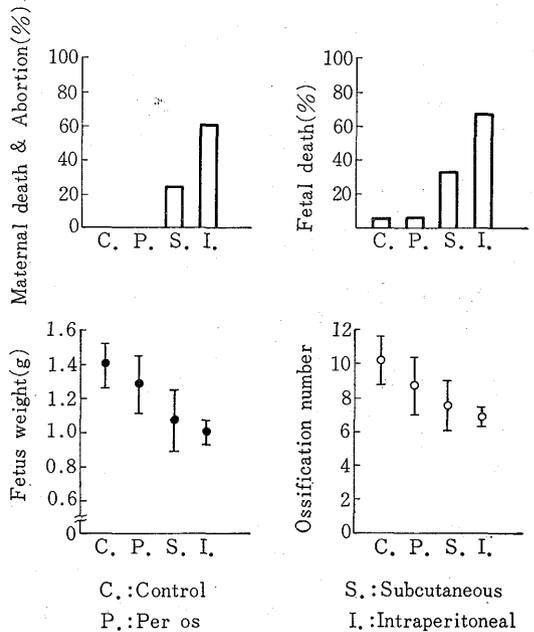


図 14 妊娠マウスへのカドミウム投与方法の比較

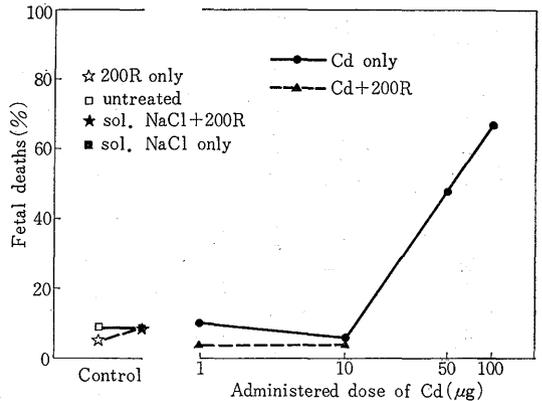


図 15 妊娠マウスへの γ 線照射とカドミウム投与による胎児の死産率

では認められなかった。200Rの照射に加えて生理食塩液を腹腔内投与した場合に、指趾異常発生が増加が認められた。Cdの投与により、さらに増加した。また、これを異常肢数の点から量的にみると、さらに影響が大きくなった(表1)。

3. 考察

指趾異常発生の際の臨界期の検討結果より、指趾発生におよぼす放射線感受性の高い時期が、発生学的にきわめて短時間にあることがわかった。本実験で用いた ddY 系

表1 放射線とカドミウムの組合せによる胎児の指趾異常

Administered dose of Cd (μ g)	Radiation exposure (R)	Female number				Fetuses number			Malformations of digits					
		Pregnant mice	Maternal death	Abortion or pre-mature birth	Examined female	Number of implantations	Fetal death (%)	Examined fetuses	Abnormal (%)					
									Total (%)	1	2	3	4	
1	—	29	0	0	29	269	11 (4.1)	258	0	0	0	0	0	0
10	—	12	0	0	12	115	5 (4.4)	110	0	0	0	0	0	0
50	—	14	0	1	13	130	63 (48.5)	67	7 (10.5)	6 (9.0)	1 (1.5)	0	0	0
100	—	13	2	6	5	52	35 (67.3)	17	1 (5.9)	1 (5.9)	0	0	0	0
Sol. NaCl	—	13	0	1	12	116	10 (8.6)	106	0	0	0	0	0	0
Untreated	—	30	0	0	30	275	14 (5.1)	261	0	0	0	0	0	0
1	200	17	0	0	17	171	17 (9.9)	154	153 (99.4)	1 (0.6)	34 (22.1)	24 (15.6)	94 (61.0)	
10	200	16	0	0	16	158	9 (5.7)	149	149 (100.0)	0	32 (21.5)	22 (14.8)	95 (63.8)	
Sol. NaCl	200	18	0	0	18	165	14 (8.5)	151	144 (95.4)	4 (2.6)	40 (26.5)	16 (10.6)	84 (55.6)	
Untreated	200	33	0	1	32	301	25 (8.3)	276	230 (83.3)	15 (5.4)	89 (32.3)	18 (6.5)	108 (39.1)	

* 異常肢数

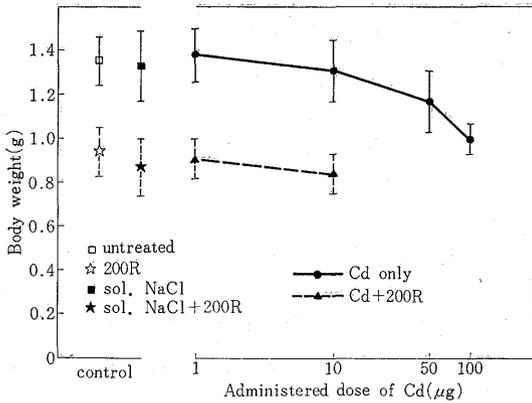


図 16 妊娠マウスへのγ線照射とカドミウム投与による胎児の体重におよぼす影響

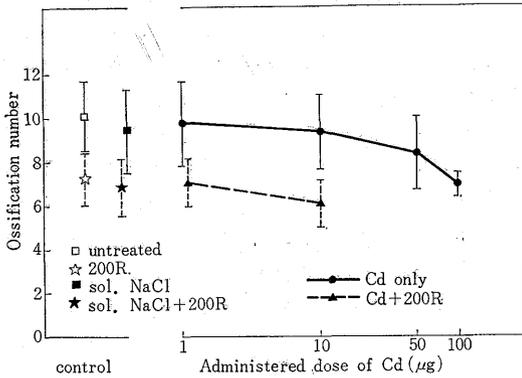


図 17 妊娠マウスへのγ線照射とカドミウム投与による胎児の尾椎骨の化骨におよぼす影響

以外で行なつた結果でも、胎齢11日目に異常発生の臨界期が認められている^{24,25)}。交尾の時刻が不明であり、かつ個体差があると予想されるので、時間単位で妊娠成立後の経過時間を示すことはできないが、交尾は午後10時から午前1時の間に²⁶⁾、また、午前0時から3時の間に²⁷⁾行なわれることが多いという報告もあるので、いま仮に0時を妊娠の起点とすると、この臨界期は妊娠後推定273時間ということになる。さらに指趾異常の形態からみて、一般に欠指(趾)症は短指(趾)症の異常の程度が高いものと考えられるから、この点を考慮すれば、この臨界期付近の影響はより大きい。また、前指の異常発生の臨界期は後趾より早く出現し、しかもその感受性の高い時期が長いと思われる。このことは、肢芽発生の時期において、前肢が後肢より1日早く胎齢9日に出現し、胎齢17日に前指、後趾が完全に形成されるまで常に、ほぼ前肢の発達が後肢に先行するという報告²⁸⁾と考

え合せ、きわめて興味ある結果である。指趾異常発生の線量率効果を検討する場合、より鋭敏なる指標として、後趾のみに注目した方が有効であるといえる。

照射線量と指趾異常発生率との関係を求める実験は、午後2時から照射を行なつたものである。これより5時間早く、午前9時からの照射にすれば、200R照射ではほぼ100%異常が出現している(図3)ことから推測して、限界線量も図8の推定値(75Rから100R)よりも若干低くなる可能性を示唆している。図9の結果は、照射線量の増加によつてまず前肢2肢の異常が出現し、これに後肢2肢の異常が加わつて4肢ともに異常となることを示している。換言すれば、異常は前後左右対象に現われ、1肢および3肢のように奇数本の出現は稀である。また、後肢のみの異常も少ないといえる。

尾椎骨の計数において、本来、腰椎から9番目の骨は解剖学的に sacral vertebrae に分類されるものであるが、化骨を問題とする場合には、脊椎骨は一連のものであるとみなしてさしつかえないと考えている。また、著者らは、観察を始めた当初、尾椎骨の化骨が at random におこるのではないかということ懸念したが、これまでの約3,000例の観察経験から、化骨は順に末梢へ向つて進むことを確認した。

化骨の遅延として認められた二相性の臨界期において、胎齢8日目は体節の發育阻止であり、胎齢16日目は軟骨の化骨化を阻害、または遅延させるためと推測される。尾椎骨の化骨は、胎齢16日頃より急速に始まるので、その点を考慮すれば後者の臨界期の影響はさらに著しいと思われる。これに対し、体重の場合には、その発生機序が明らかではないので、臨界期が認められる理由はおも明らかではない。化骨数および体重の変化は、ともに放射線による胎児の發育阻害として示されるものであるが、その発現様相は明らかに異なっている。

なお、これまでヒト、マウス、ラットなどについて、発生学的な検討を目的として、骨の發育、すなわち軟骨芽の發生、化骨化について、その始まる時期、順序、骨部位差、さらに動物の種属差、系統差、性差を検討した報告は多い²⁹⁻³⁵⁾。また、環境中の何らかの要因によつておこる發育不全を種々の骨格の影響、すなわち化骨時期、化骨程度、骨奇形などとしてとらえたものもある³⁶⁻⁴¹⁾。外的因子としては、温度⁴²⁾、酸素分圧³⁶⁾、抗生物質^{37,38)}、放射線^{35,36,39,40,41)}、ビタミンAの過剰投与⁴³⁾などが検討されている。

複合因子による影響に関する実験で、放射線以外の環境因子として Cd を取り上げたのは、Cd によつてマウス胎児に外表奇形を生じたという報告^{43,44)}があつたこと

や、近年、とみに環境汚染で問題となつてきていることによる⁴⁵⁻⁴⁸⁾。

とくに、腹腔内投与方法を用いたのは、母獣におよぼす影響も大きい、胎児に対するより明確な効果を期待したためである。なお、皮下注射による方法は、局所の Necrosis をおこすこともあるので除外した。放射線 200R 照射に加えて、生理食塩液の注射のみで指趾の異常が増えた結果については、次のように考える。すなわち、放射線を照射せず、生理食塩液のみの注射では影響がないことから、これは生理食塩液の効果ではなく、腹腔内投与方法による母体に対する機械的な刺激が、引き続いた放射線の影響を高めたものと考え、羊水穿刺という機械的刺激によつて、ラット胎児に四肢欠損奇形を生じたという報告もある⁴⁹⁾。なお、Cd の投与した日が指趾異常のきわめて発生しやすい時期であつたことも理由の1つであると思われる。

著者らは、複合因子影響の形式を、2つの因子という図18に示すようなごく簡単なモデルを仮定してみた。第1の形式は、第1の因子が閾値以下であり、第2の因子が加わつた結果、閾値を越えて影響が現われる場合で、ここでは“潜在相加”と呼ぶ。第2の形式は、第1の因子の影響が存在する上に、第2の因子の影響が加わる場合で“単純相加”とでも言うべきものである。第3の形式は、第1と第2の因子が別々の影響を生ずる場合で、“併立相加”と名付ける。これは、複数環境因子の total risk の評価を論ずる際に問題となるであろう。第4の形式は、第1と第2の因子が一緒になつた結果、 $1+1=2$ 以上の影響が現われる場合で、広義の“相乗”効果と言われるカテゴリーに入るものである。

著者らの実験結果において、放射線と Cd による効果を、体重や化骨数を指標とした場合、その個々の指標か

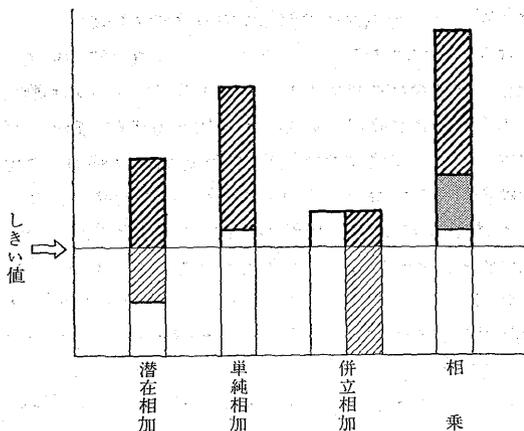


図 18 複合因子影響の諸相 (著者原図)

らみると“単純相加”として表われていると言える。しかしながら、一方では、Cd のみによる臨界期の検討で、胎齢 7 日目の投与で外脳症胎児を高率に観察している。放射線 200R のみの同様の実験では 6.3%、Cd 投与では 23% の胎児に肉眼的にハッキリ区別のつく外脳症を認めた⁵⁰⁾。また、先の結果で示した母体内での著しい胎児死亡などの障害も、体重減少や化骨の遅延と合せて考えると、“併立相加”であるともいえる。このように、複合因子による効果を単一の指標で表わした場合、“相加的”な効果として観察される影響も、個体全体の影響として評価した場合には“相乗的”な効果もあるのではないかと推測される。

おわりに

胎児に対する影響として、催奇効果としては指趾の異常、発育不全・発育遅延としては体重の減少と尾椎骨の化骨遅延に注目してきた。この両者は、ある意味で対照的な性格を有すると思われる。すなわち、催奇効果は、all or none の影響であり、発育不全・発育遅延は、量的表現の可能な影響である。前者を質的变化と表現すれば、後者は量的変化と言えよう。胎児に対する影響、胎生期における環境因子の影響は、この両者を加味した over-all な risk として把握すべきではないかと考える。また、今後、そのための方法論の確立が必要であろう。

文献

- 1) Hicks, S.P.: Regeneration and malformation in the nervous system, eye and mesenchyme of the mammalian embryo after radiation injury. *Amer. J. Path.* 33: 459-481, 1957.
- 2) Murakami, U.: Studies on mechanisms manifesting congenital anomalies. *The Japanese Journal of Human Genetics.* 8(3): 202-226, 1963.
- 3) Murakami, U.: Effects of X-irradiation with relation to abnormal morphogenesis. *Congenital Anomalies.* 8: 147-162, 1968.
- 4) Rugh, R.: Histological effects on the embryo following X-radiation. *J. Morph.* 85: 483-501, 1949.
- 5) Rugh, R.: Prenatal X-irradiation and postnatal motility. *Radiation Research.* 26: 493-506, 1965.
- 6) Rugh, R.: Radiobiology. Annual Report on Research Project Radiation Physics, Biophysics and Radiation Biology. January 1, 1969.
- 7) Russell, L.B.: The effects radiation mammalian prenatal development. *Radiation Biology*, Vol. 1 Part 2, McGraw-Hill, London, 1954.
- 8) Russell, L.B. & Russel, W.L.: An analysis of the changing radiation response of the developing mouse embryo. *J. Cell comp. Physiol.* 43: 103-

- 149, 1954.
- 9) Smithberg, M.: Teratogenesis in inbred strains of mice. *Advances in Teratology*, Vol 2, Academic press, London, 1967.
 - 10) Wilson, J.G. & Karr, J.W.: Effects of irradiation on embryonic development. *Am. J. Anat.* 88: 1-34, 1951.
 - 11) 玉置尚徳：マウスにおけるX線誘導奇形の発現機序に関する研究。日医放學誌。29: 261-283, 1969.
 - 12) 上田慶子, 吉沢康雄：妊娠マウスのガンマ線照射による胎児の指趾異常の発生——とくに, その線量率依存性について。日医放學誌。30(11): 7-15, 1971.
 - 13) 上田慶子, 吉沢康雄：妊娠マウスのガンマ線照射による胎児の指趾異常の発生——とくに, その指趾異常成立の臨界期について。日医放學誌。31(8): 964-970, 1971.
 - 14) Yoshizawa, Y. & Ueda, K.: Effect of radiation on growth of caudal vertebrae of mouse fetuses. *Journal of Radiation Research.* (in press)
 - 15) 村上氏広・他：出生前の医学——先天異常の基礎と臨床。医学書院, 1968.
 - 16) 亀山義郎：比較発生病理学よりみた中枢神経系の先天異常。脳と発達。3: 450-459, 1971.
 - 17) Otis, E.M. & Brent, R.: Equivalent ages in mouse and human embryos. *Anat. Rec.* 120: 33-63, 1954.
 - 18) 亀山義郎：先天異常の成因について。現代医学。16(2): 222-234, 1969.
 - 19) Rugh, R.: The mouse, its reproduction and development. Burgess Publishing Company, Minneapolis, 1967.
 - 20) Simmons, M.L. & Brick, J.O.: The laboratory mouse, selection and management. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, 1970.
 - 21) Dawson, A.B.: A note on the staining of the skeleton on cleared specimens with alizarin red S. *Stain Technol.* 1: 123-124, 1926.
 - 22) 亀山義郎：マウスを使つた実験5。胎児の正常発生と実験的奇形の観察。遺伝。22(3): 66-71, 1968.
 - 23) Dixon, B.: The effect of radiation of the growth of vertebrae in the tails of rats. I. Single doses of X-rays and the effect of oxygen. *Int. J. Radiat. Biol.* 13: 355-368, 1967.
 - 24) Murakami, U., Kameyama, Y. & Nogami, H.: Malformation of the extremity in the mouse fetus caused by X-radiation of the mother during pregnancy. *J. Embryol. exp. Morph.* 11: 549-569, 1963.
 - 25) Nogami, H.: Digital malformations in the mouse fetus caused by X-radiation during pregnancy. *J. Embryol. exp. Morph.* 11: 549-569, 1963.
 - 26) Rugh, R.: Vertebrate embryology, Harcourt Brace & World, New York, 1964.
 - 27) Snell, G.D., Hummel, K.P. & Abelman, W.H.: A technique for the artificial insemination of mice. *Anat. Rec.* 90: 243-253, 1940.
 - 28) Grüneberg, H.: The pathology of development; a study of inherited skeletal disorders in animals. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1963.
 - 29) Hoshino, K.: Comparative study on the skeletal development in the fetus of mouse and rat. *Congenital Anomalies.* 7: 32-38, 1967.
 - 30) Johnson, M.: The time and order of appearance of ossification centers in the albino mouse. *Amer. J. Anat.* 52: 241-271, 1933.
 - 31) Strong, R.M.: The order, time, and rate of ossification of the albino rat skeleton. *Amer. J. Anat.* 36: 313-344, 1925.
 - 32) Spark, C. & Dawson, A.B.: The order and time of appearance of centers of ossification in the fore and hind limbs of the albino rat, with special reference to the possible influence of the sex factor. *Amer. J. Anat.* 41: 411-445, 1928.
 - 33) Hoshino, K.: Strain-difference in the skeletal development in the fetus of mice and rats. *Annual Report of the Research Institute of Environmental Medicine, Nagoya University.* 16: 56-68, 1968.
 - 34) Chistie, A.: Prevalence and distribution of ossification centers in the newborn infant. *Amer. J. Dis. Child.* 77: 355-361, 1949.
 - 35) Rugh, R., Duhamel, L., Osborne, A.W. & Varma, A.: Persistent stunting following X-irradiation of the fetus. *Amer. J. Anat.* 115: 185-198, 1966.
 - 36) Dixon, B.: The effect of radiation of the growth of vertebrae in the tails of rats. I. Single doses of X-rays and the effect of oxygen. *Int. J. Radiat. Biol.* 13: 355-368, 1967.
 - 37) Cohlan, S.Q., Bevelander, G. & Tiamsic, T.: Growth inhibition of prematures receiving tetracycline. *Amer. J. Dis. Child.* 105: 453-461, 1963.
 - 38) Pelagalli, G.V. e d'Angelo, A.: Effetto della tetraciclina cloridrato sulla comparsa dei nuclei di ossificazione di embrioni di ratto. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* 40: 1321-1324, 1964.
 - 39) Murakami, U. & Kameyama, Y.: Vertebral malformation in the mouse foetus caused by X-radiation of the mother during pregnancy. *J. Embryol. exp. Morph.* 12: 841-850, 1964.
 - 40) Kriegel, H. & Reinhardt, S.: Effect of a fractionated X-irradiation on the development of the mammalian fetus. "Radiation Biology of the Fetal and Juvenile Mammal" Proceeding of Ninth Annual Hanford Biology Symposium, 251-262, 1969.
 - 41) Ohmori, K.: Changes in incidence of the manifestation of anatomical variations of the vertebrae in the mouse fetus caused by X-radiation or maternal hypervitaminosis-A. *Congenital Anomalies.* 7: 219-238, 1967.

- 42) Noel, J.F. & Wright, E.A.: The effect of environmental temperature on the growth of vertebrae in the tail of the mouse. *J. Embryol. exp. Morph.* 24: 405-410, 1970.
- 43) 山村英樹：カドミウム塩のマウス胚発生におよぼす影響Ⅱ. stage specificity および dose response について. 日本解剖学会第77回総会講演要旨集. 79, 1972.
- 44) 石津澄子：カドミウムの催奇性. 日医ニュース. No. 136, 1971.
- 45) 日本公衆衛生協会摂取蓄積研究班報告：要観察地域におけるカドミウムの摂取と蓄積に関する研究. 1970.
- 46) 鈴木継美, 鈴木庄亮：カドミウム中毒. 臨床薬理. 1(2): 86-101, 1970.
- 47) 野見山一生：カドミウム中毒における腎障害と蛋白尿. 本誌. 74(6): 249-254, 1970.
- 48) 土屋健三郎：カドミウム中毒とカドミウム汚染. 最新医学. 26(10): 1945-1953, 1971.
- 49) Yoshitake, K.: Reductive malformations of the limbs in the rat fetus following amniocentesis. *Cong. Anom.* 12: 35-44, 1972.
- 50) 上田慶子, 吉沢康雄：日本放射線影響学会第15回大会講演要旨集. 1972.

* * *

III. 動物細胞における突然変異

突然変異は生体傷害の1つである。ヒトの生殖細胞での突然変異は、遺伝的傷害として人類の生存をおびやかすかもしれない。ヒトの体細胞の突然変異は、発癌などヒトの寿命をきめる重要因子であるかもしれない。しかし、警告を発するだけではすまない時代に今やきている。今後、われわれのやらねばならない3つの命題は、(1) ヒトの突然変異率を測定または推定する。(2) 人類への突然変異による障害を定量的に測定またはそれによる危険度を推定する。(3) 人類の生存を妨げないレベル以下に変異率を保つ方策を考える。

現段階は、まだたいへん primitive な状態にあり、当面の目標として(1)に集中すべきである。

それへのアプローチとしては、次の6つが考えられる。

イ) 環境因子の何が mutagenic か簡単にスクリーニングする方法——賀田さんの Rec-assay がその1例である。

ロ) ヒトまたは動物細胞を培養し、そこでの突然変異率を測定する。——鈴木さんの仕事が1例。

ハ) 実験動物での突然変異率定量法。

(i) 体細胞については Host-mediated assay が1例である(賀田さん)。

(ii) 生殖細胞については、染色体異常の測定または Russell による支配によつて F₁ で突然変異率を調べる Specific locus 法がある(中井さん)。

ニ) 人体からの細胞で、染色体異常や突然変異を測定する。たとえば末梢血リンパ球培養して染色体異常を測る。

ホ) 実験動物のデータをいかにヒトの突然変異率推定に外捜するか? ——(サルはヒトにどの程度近いか?) (中井さんが問題点をのべた)。

ヘ) 疫学的にヒトの突然変異率を測定する。

これらのアプローチは、まだやつと始まつたばかりで、これから開発、開拓しなければならない多数の大小の問題を含んでいる。いずれも、われわれにとつてのチャレンジでありこの分野にとびこんで下さる若い人々の増える事を望んでやまない。

(東京大学医学部放射線基礎医学教室 岡田重文)

* * *

環境因子による遺伝的障害のアセスメントの課題

中 井 斌

自然への人間の手による変革が急激に進みつつある今日、放射線や化学物質など、人為的な各種の環境因子による人体の障害、とりわけその遺伝的な障害についてのアセスメントは、生きがためのわれわれの緊急課題の1つといえる。特に最近環境放射線の増大や Super mutagen と呼ばれる一群の物質——身体的障害はあまり顕著ではないが高度の遺伝的障害（突然変異）の誘発能力をもつ物質——が、われわれの身近に増大する可能性の高まることによつて、一層切実なものになつてきた。遺伝障害のアセスメントの研究には、単なる生物学の研究とは異なつた問題が存在する。すなわち単に環境因子による遺伝障害の誘発、ないしはその機構の解明といった原理的研究のみではまづ不十分であり、これら環境因子によつてもたらされる社会的なニーズと対応して、そのかね合いを探る総合判断に資するために必要な科学的情報が要求されているのである。換言すれば、定性的のみならず、本質的に定量的なデータが必要とされるのである。数多の環境因子のうち放射線の影響の研究は、この見地においてもつとも進んだ領域といえる。以下放射線による遺伝的危険度の推定の研究を例として、この方向の研究の現時点での問題点を略述しておきたい。

1. 低線量効果のアセスメント

表1は1972年に国連科学委員会によつて提出された、1レントゲン当りの危険度の推定値である。この表に対して次のことに注意が向けられるべきであると思う。まず必要とされるのは、人体でのデータであるが、推定値の基礎になつているのは、ほとんどすべてハツカネズミの実験データである。これは遺伝的危険度の推定には実験動物の結果に頼らざるを得ないことによるヒトへの外挿性の課題となる。次の実際必要とされるのは、低線量の推定値であるが、このためには対照となる正常の遺伝

的障害の頻度はきわめて低率であるため（遺伝子突然変異率は 10^{-5} のオーダー、染色体異常はおそらく 10^{-4} のオーダー）、低線量のデータを実験的に直接求めることはほとんど不可能となる（一実験区少なくとも100万匹のオーダーのネズミを必要とする）。したがつて、高線量での結果の低線量への外挿性が大きな課題となる。

2. 鋭敏な遺伝的障害の検知技術

いかにしてこれらの難問を解決できるか？ 正常人のレベルでの、きわめて低率の遺伝的障害の解析のためには、根本的には新しい技術の開発にまたねばなるまい。きわめて多数の実験母数がある前提になることから、たとえば培養細胞を用いて、*in vitro*で突然変異をチェックできるシステムなどが考えられよう。もしこのようなシステムが確立されるなら、低線量域における放射線と化学物質の相対的な危険度の推定、回復機構の寄与の程度などいくつかの基本的な問題にアプローチが可能であるかもしれない。

しかしここになお前提として解決すべき別種の大きな課題が存在する。すなわちそれぞれの実験システムで検出される遺伝子突然変異の本体は何かの問題である。何を見ているかである。基本的にこのことはハツカネズミのデータはヒトの障害の代表値たりうるかの課題とも関係する。Russell, L.B.の最近の遺伝学的研究の結果によると、表1の基礎となつたハツカネズミ遺伝子突然変異は、DNAのレベルではショウジョウバエとおおよそ同じ大きさの遺伝子に生ずる変異で（ $2\sim 3 \times 10^5$ base pair）これはバクテリアやファージの遺伝子の約100倍に当るものと推測される²⁾。図1は各種の実験動物の突然変異率をまとめたもので、変異率に大きな差異のあることを予想させる。この種の確実なデータとその本性の究明は、高等、下等生物の遺伝子構造に影響があるかどうかという、遺伝学のもつとも原理的な課題に挑戦するものでもある。他方、全体的な遺伝的危険度の推定に不可欠な細胞当りの全遺伝子数の推定、突然変異の障害度の推

表 1 低線量または緩照射によつて誘発される種々の遺伝的1ラド当りのヒトの危険度

結果	100万当りに誘発される期待頻度		精原細胞に照射後の妊娠 100万当りのF ₁ における発現
	精原細胞	卵 子	
1. 劣性点突然変異	1,500 ^a (36) ^b	きわめて低い —	30—75 (1—2)
2. 優性可視	2	—	2
3. 骨格突然変異	4	—	C
4. 相互転座	15	きわめて低い	{ 2 先天異常児 19 胎内で確認でき ない消失 9 胎内での流産
5. X染色体消失	きわめて低い	8	
6. 他の染色体異常	きわめて低い	—	きわめて低い
全遺伝障害	1,521 ^c (57) ^d		
全遺伝障害 ^e	300		6—15 ^f

a : ハツカネズミの特定遺伝子座より推定, b : ハツカネズミの精原細胞より誘発されたゲノム当りの劣性致死より推定, c : 縦行の 1,500 + 2 + 4 + 15 を加えたもの, d : 縦行の 36 + 2 + 4 + 15 を加えたもの, e : 倍加線量を 100 ラドに基礎をおく, f : 新生児中の遺伝病の出現数

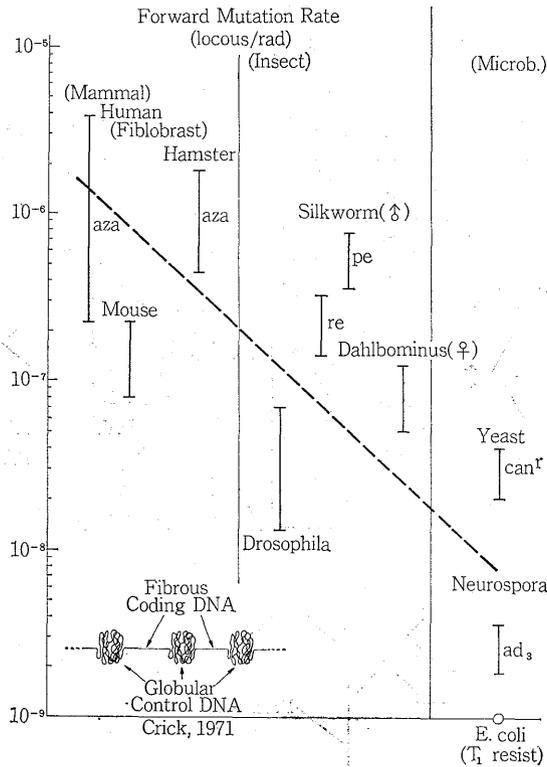


図 1

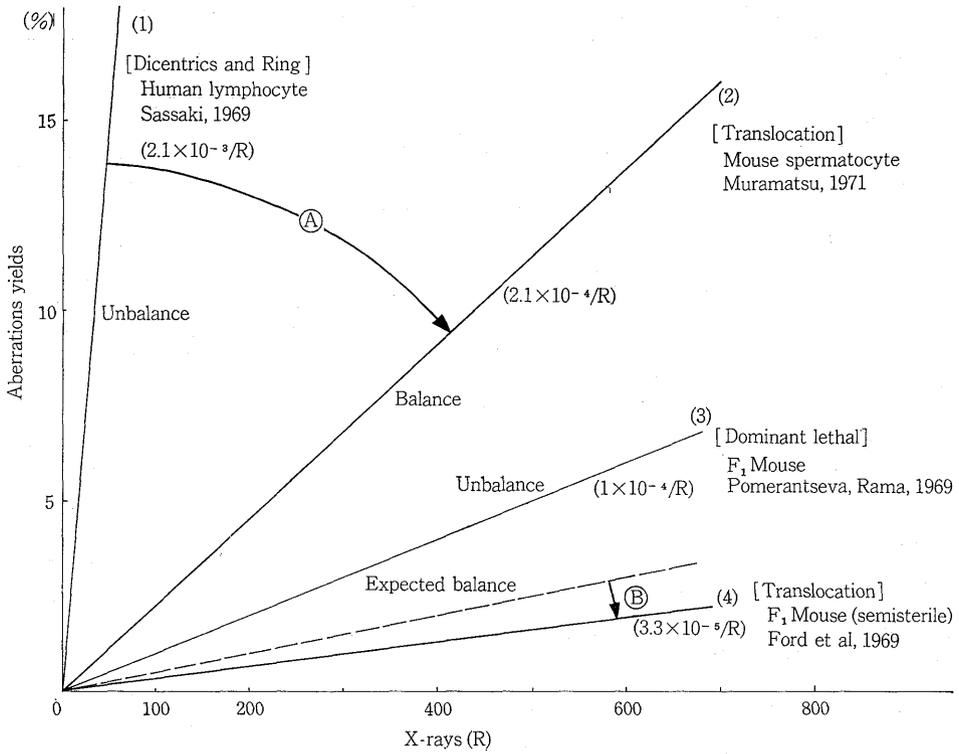


図 2

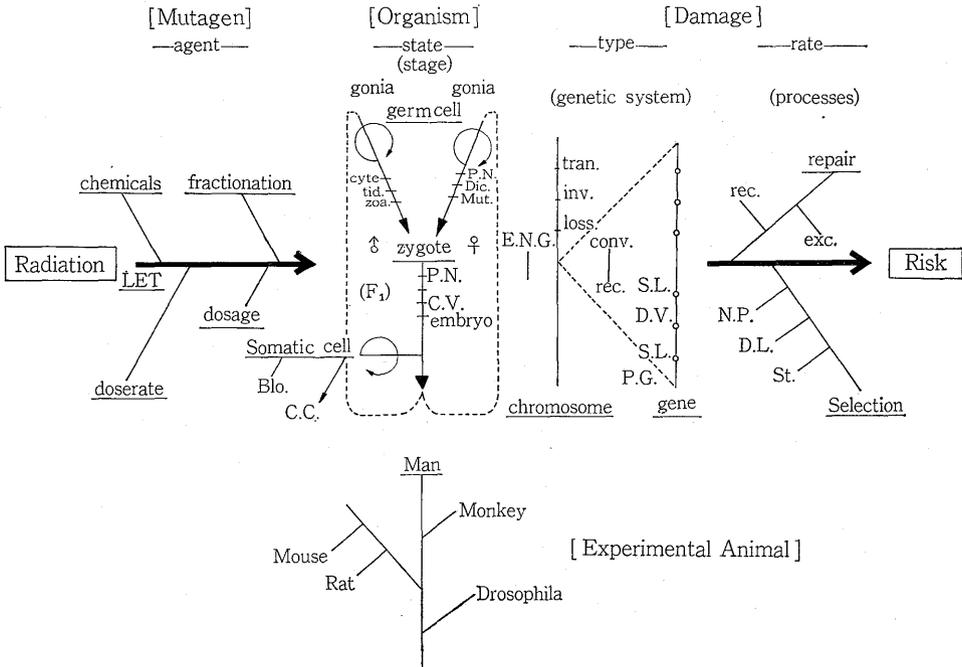


図 3

測の解明に直接密着した課題でもあるのである。

3. 生体内での変異細胞の淘汰率

染色体異常は通常きわめて著しい障害を人体に与え、多くの場合次代に障害が発現することが多い。この意味において放射線の領域における危険度の推定の研究に重要視され最近特にその進歩は著しい。第一義的には染色体異常は細胞単位で変異をチェックできるので、遺伝子突然変異の研究に比較して、実験個体数の制約はより少ないといえる。しかしながらヒトの末梢血の培養細胞や、植物細胞の結果などからその危険度を推定する際にぜひとも解決せねばならない課題がある。その1つは再び生物差と体細胞と生殖細胞の差異であり、その2は生体内における変異細胞の存続についての淘汰効果である。第1の問題はともかくおくとして、放射線や化学物質によつて精原細胞に染色体異常を生じたとしても（その頻度は *in vitro* の末梢血で代表するとして）、実際に次代に伝達される変異細胞の確率は最初の頻度と決して同一ではない。末梢血の体細胞分裂、精原細胞の減数分裂、優性致死、次代に伝達される転座の同一線量に対する誘発頻度のデータをまとめて図2で比較してみると、この順にしたがって劇的に減少する。この理由として、精母細胞に生じた染色体異常をもつ細胞が数次の細胞分裂の後、次代に伝達される過程において、細胞集団から淘汰されてゆくことを強く指摘しているものと思われる。したがって、各種の染色体異常のデータをもつ生物学的な意味の解釈の際にはもちろん、この種のデータより最終の遺伝障害の危険度を推定するときには、個々のパラメータの換算率、すなわち淘汰効率を個々の遺伝障害について定量的に解明することが現在もつとも必要とされる課題の1つであろう。

4. 実験動物の結果より人体障害への外挿

前述したように、ヒトの遺伝障害推定の基礎となつているのは、突然変異であれ、染色体異常であれ、ほとんどすべてハツカネズミのデータである（表1、図2）。遺伝障害のターゲットとなる遺伝構造自体、ヒトとハツカネズミとは異なるばかりでなく（DNAの分子雑種の親和度は約20%）、その発現に関与する数多の変更因

子（淘汰効率、回復効率など）にもまた動物種差が影響することは容易に想像できる。また実際、染色体異常においては、哺乳類間、またネズミの種間に差の存在することが示された⁹⁾（実際に雌の卵子に対する放射線の感受性は、ヒトとネズミで約100倍も異なる）。すなわちいかにして実験動物の結果より、ヒトの障害を定量的に推定するのに必要なパラメータを求める方法（parallelogram method）を確立するかが喫緊の要事といえよう。われわれはこの問題解決の一方法として、ヒトに遺伝的に近縁な動物である霊長類を Human analogue の実験動物として用い、これより、各種の補正に必要なパラメータを得てゆくことを強く提唱したい（サルとヒトの DNA 分子雑種の親和度は約91%であり、雌の卵子の放射線感受性もおおよそ等しい）。

5. 危険度推定のための実験系のシステム化

図3に示しているように、遺伝的障害の危険度推定のために必要とされるパラメータは複雑多様で、しかも相互の定量的関係をも明らかにせねばならぬことは明白であろう。しかし現在、まだその多く、特に定量的なデータはきわめて不十分であり、したがってこれらについての多くの仮定をおいて危険度推定を行なっているのが現状である。すなわち危険度推定のためには、これを1つのシステム的な体系として把握する必要がある。そして、個々のデータをうるための実験系をさらに総合的なシステムのメンバーとして考え、総合的な評価を行なつてゆくことが究局的には必要であるように思われる。そしてこれは学問的には、ヒト自らの遺伝機構を類縁の生物との関係において理解することにつながることであり、またここに中心的な課題が存在するものと思われる。

文献

- 1) Ionizing radiation: Levels and effects A report of the united nations. Scientific Committee on the effects of atomic radiation to the general assembly, Vol. 2, New York, 1972.
- 2) Russel, L.B.: *Mutation Res.* 11: 107-123, 1971.
- 3) Lyon, M. F. & Smith, B. D.: *Mutation Res.* 11: 45-58, 1971.

* * *

ミュータゲンの細胞代謝

—特性とその活性の検出—

賀田 恒 夫

はじめに

人類の工業的生産や生活と結びついて環境中に放出される物質に関しては、その量や多様性がますます増大しつつある。生体は元来異物代謝機構を有するが、代謝は必ずしも無毒化を意味しない。本稿では、生命の担い手である遺伝物質に対して異種物質およびその代謝が与える作用・傷害の例と、その検出に関して述べる。

1. 環境物質と生体

現代において人間があらたに造り出す化学物質（とくに有機化合物）の種類は膨大な数におよんでいる。それらは医薬品・化粧品・食品添加物・農薬など多岐の目的にわたっている。これらの“異物”と生体との干渉は単純ではないが、遺伝物質との関係を図1に模式化した。

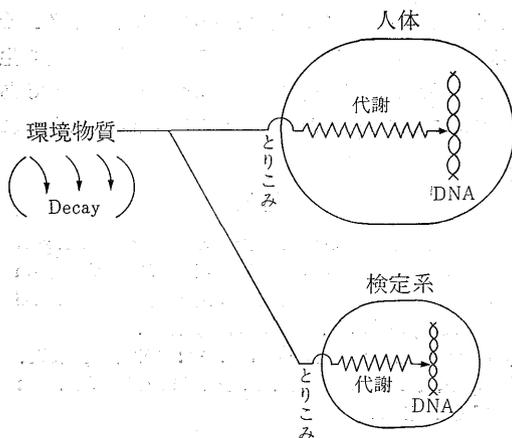


図 1

環境中に放出された化学物質は、第1の点として元来不安定で、自然分解したり、熱、光、微生物などの働きを受けて不活性化する場合が多い。しかし、いわゆる

“生物的に濃縮”されたり、他の物質と結合したりして、必ずしも崩壊のみをつづけるわけでもないことに注意すべきである。第2の点として、生体（とくに人体）中へのとりこみの問題がある。これには種々な経路があるろうが、ここでの“とりこみ”というのは、とくに次項の“細胞代謝領域”にはいりこむことを問題とする。この代謝の問題は、近年毒物学の分野で詳しく研究されてきたところである。臓器特異的な面もあるが、その主なものは、肝ミクロソーム系における酵素的な酸化、還元、加水分解などの反応であり、ついで抱合反応がしばしば行なわれる。これを図2に整理して示した。問題点は、このような代謝生成物中に、しばしば突然誘発活性が認められる点である。

2. 発癌物質の代謝と突然変異誘発活性

最近、著名な発癌性物質がその代謝の結果、DNAに対する作用活性を示し突然変異誘発因子となる例が見出され、化学発癌に関して有力な知見を提供している。

1) 2-アセチル・アミノ・フルオレン (AAF) 誘導体

AAF はかつて農薬として用いられたこともあるが、その発癌性に関しておもにアメリカで盛んに研究が行なわれてきた。肝ミクロソームその他による代謝の概要を図3に示した^{1,2)}。一方においてフルオレン核が水酸化を受け、他方においてN部位の酸化がおこる。一般にAAFそれ自体はDNAに対する作用活性がほとんどないが、N-acetoxy や Nitroso 誘導体に強い活性が生じてくる。枯草菌の形質転換 DNA に AAF 誘導体を *in vitro* で作用し、遺伝子活性の破壊と変異を観察する系において N-acetoxy や N-sulfate 誘導体は強力な活性を示した³⁻⁶⁾。類似した関係はハムスター Embryo 細胞の *in vitro* 癌化においても観察され、N-acetoxy AAF は AAF それ自体よりも30以上も強力であつた⁷⁾。ショウジョウバエの突然変異に関する試験においても、たとえば第2染色体上の劣性致死変異 (1+v) 誘発能は、AAF 自体の10倍程度大きい⁸⁾。これらの結果は、DNA に対

Phase I Reaction

酸化反応

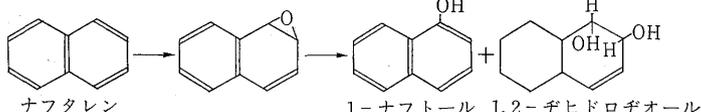
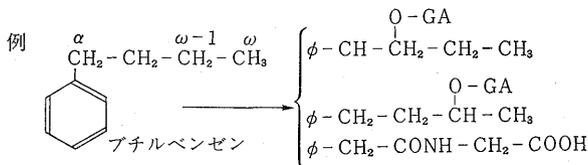
a) Microsomal: 肝ミクロゾームの電子伝達系による

(NADPHよりフラビン酵素を通じてヘムタンパク質P-450に電子を伝達)

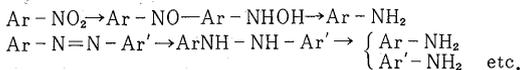
脂肪環や芳香環のアルキル基の酸化($\omega-1$)
 N-, O-, S-アルキル基の酸化(α)
 脂肪環, 芳香環の水酸化, 二重結合のエポキシ化, N-, S-原子の酸化 (N-, S-オキシド)
 N-, O-, S-脱アルキル, 脱硫反応

b) Non-microsomal

(脱アミノ; アルコール, アルデヒド, ケトンの酸化, etc.)



還元反応



加水分解

(アジド, エステルなどの加水分解)

Phase II Reaction

抱合反応

Conjugation

メチル化, アセチル化;
 グルクロン酸, 硫酸, リン酸, アミノ酸,
 グルタチオンなどの抱合;
 ロタン合成;

図2 異物代謝

する作用性の強化と発癌性との間に高い相関が存在することを示している。

2) 芳香族多環性炭水化物

ベンズアントラセン, 3-メチルコラントレンのような多環性炭水化物は古くから知られた発癌剤であるが, 代謝によって発癌に直接作用する物質 (Ultimate carcinogen) になることが示されつつある⁹⁻¹²⁾。肝ミクロソーム系による重要な一群の代謝物は, 古くから K-領域と呼ばれた反応活性の高い二重結合部位の酸化によるエポキシドの生成と, 引続いて生じるフェノールやジヒドロジオール類である(図4)。ベンズアントラセン代謝物によるハムスター Embryo 細胞の *in vitro* 癌化の系において, エポキシドやジオール誘導体に強い活性が見出された¹¹⁾。K-領域のエポキシド類はバクテリオファージ T2 のような比較的単純な系においても突然変異を誘起し, 3-メチルコラントレン 11, 12-オキシド, ジベン

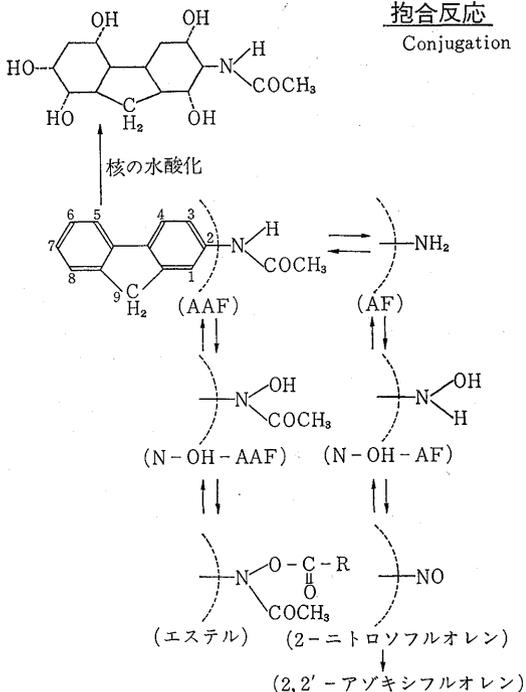


図3 2-アセチルアミノフルオレンの代謝

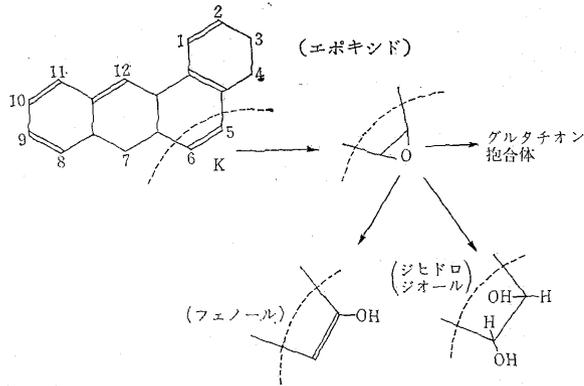


図4 ベンゾ[a]アントラセンの代謝

Frameshift Mutagens (By B. N. Ames)

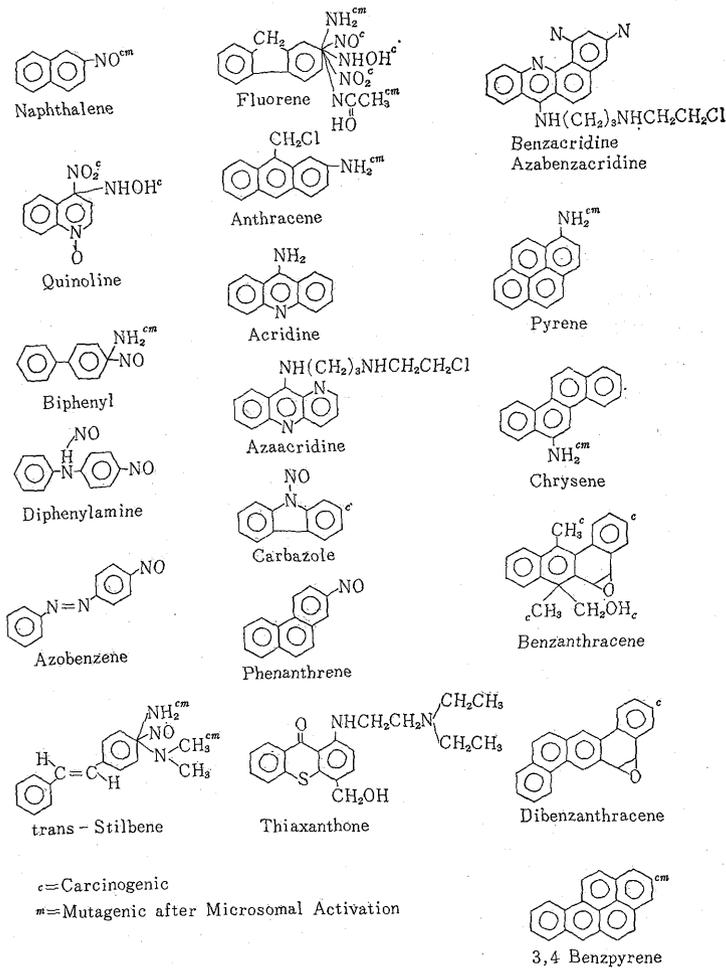


図5 Frame-shift Mutagens (B.N. Ames の好意による)

ズアントラセン 5, 6-オキシドなどがきわめて強力であった¹³⁾。これらによつて生じる突然変異における DNA の変化の内容については、塩基交換型ではなく、Frame-shift 型であることが、サルモネラにおけるヒスチジン復帰変異の系で最近示されている¹⁴⁾。ここで注目し値することは、Frame-shift 型の突然変異生成の最初の原因となる DNA への物質の挿入 (Intercalation) は、かなり特異的な塩基配列を有する場合に限られている点であろう。そのため、微生物による検出の目的は、感受性部位を有する遺伝子座を選択する必要がある。多環性炭水化物代謝物の突然変異誘発性は、培養細胞系で8-アザグアニン耐性に関する形質に関して示されている¹⁵⁾。Ames 博士の好意によつて得た Frame-shift 型変異原のリストを図5に示した。

3. 代謝によつて生じた突然変異誘発活性の検出

高等生物、とくに哺乳動物における代謝の結果生じる突然変異誘起活性の検出には、微生物を利用する方法である Host-mediated assay が Legator らによつて提出された^{16,17)}。その方法としては (図6) まず、サルモネラ菌 (ヒスチジン要求性、たとえば C207 は Frame-shift 変異、C340 はナンセンス変異を有す) をあらかじめトリプトンブロスに培養したもの 2 ml ($3 \sim 5 \times 10^8$ /ml) をマウス腹腔内に注入する。その直後、薬物を生理食塩水にとかし、その 0.1 ml をマウス脚筋に注入し、必要に応じ注射を1時間おきに繰り返す。2~3時間後動物を殺し、腹腔内のバクテリアを生理食塩水でと出して出す (1~1.5 ml)。これを種々に稀釈し、全体の生菌数と、His⁺ 復帰体菌数をプレートで測定し、復帰変異の頻度

を計出する。この方法によつて直接バクテリアと接触させても活性が見出せないが、宿主を経由してはじめて突然変異誘起活性が検出された例として、ストレプトゾトシン¹⁶⁾、サイカシン¹⁶⁾、ヂメチルニトロソアミン¹⁷⁾、N-ニトロソモルフォリン¹⁸⁾、N-ニトロソピペラジン¹⁹⁾などがある。

上記の宿主経由法に用いる微生物としては、サルモネラのみならず酵母、赤パンカビ、枯草菌なども利用できる。腹腔中に注射する代わりに、溶液が diffusible な chamber をつくり、これに微生物を入れて動物に挿入する方法も工夫されている²⁰⁾。また、微生物の代わりに動物培養細胞を用いて、宿主代謝物による染色体異常を観察することもできる。

すでに述べたように、異物代謝はおもに肝臓ミクロソームで行なわれるので、ラットなどの肝臓のホモジェネートをつくり、これに NADPH や Mg を加えたものを試料に作用させたり、ミクロソームを分離してこれを用い、生化学的に *in vitro* で代謝生成物をつくり、これに関し微生物試験を行なうことも可能である。多環性炭水化物発癌剤の研究は、元来このような方法で行なわれた。検出系としてはさまざまな可能性があるが、後記する "rec-assay" とサルモネラ系との併用が、現時点では一番能率が良いと思う。

4. 簡易検出法——Rec-assay

以上述べたように、動物そのものの形質に関する突然変異実験を行なうことはもちろん望ましいが、大きな手間を必要とするので、生体代謝と DNA への作用性との2つの単位過程に分けて考えることが、変異性検出を能率化するためにとりうる方法である。DNA への作用

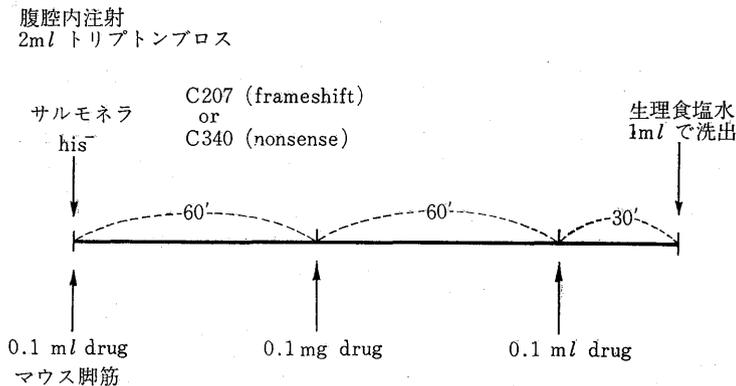


図6 Host-Mediated Assay Procedure (Cabridge & Legator による)

性の検定には、微生物を用いることができる。しかし、微生物の突然変異実験も変異剤の作用濃度を定めたり、種々な無菌操作を伴い、未知の変異性を探索することは、それなりに複雑な手間を必要としている。

1) Rec-assay

そこで、ともかく DNA への作用性を簡単に能率よく検出するために、“Rec-assay”法が筆者らによつて提唱された²¹⁻²³⁾。これは DNA 損傷の存在を突然変異誘発からみる代わりに、細胞致死をメルクマールにする方法である。突然変異誘発作用を示すためには、必然的にその因子は DNA に作用せねばならない。その結果生じた損傷は、たいていの場合細胞致死的にも働くであろう。一方、細胞は DNA 損傷を補修するさまざまな酵素の機能を有し、とくに組換え修復機構は損傷 DNA の修復の途次に低率ではあるが、変異 DNA を生成する可能性が考えられている²⁴⁻²⁶⁾。そこで組換え修復能を遺伝的に欠いた株 (Rec⁻) は、野生株 (Rec⁺) と比較して変異原の作用をうけて死にやすいことが予想される。そこで、Rec⁺ 株と Rec⁻ 株との間に、ある物質に対する感受性の差がみられた場合には、その物質は DNA に作用をおよぼしており、したがつて変異原であることが予想される。もちろん、上記の考えがすべての化学変異剤に関して正しいとは思わないが、経験的にかなり広いスペクトルの物質に適用される。

筆者らは、枯草菌より多数の Rec⁻ 変異株²⁷⁾ を分離

表 1 典型的化学変異原に対する枯草菌 Rec⁺ および Rec⁻ 株の感受性²³⁾

化学変異原	処理条件			生残率(%)	
	濃度 (μg/ml)	pH	時間 (分)	17A (Rec ⁺)	45T (Rec ⁻)
エチルメタンスルフォネート	6000	6	20	27.0±0.5	1.1±0.30
ハイドキシルアミン	23000	7	1	8.5±0.2	1.9±0.23
マイトマイシンC	0.1	7	20	8.9±0.4	0.25±0.01
N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン	50	6	20	40.9±1.3	3.2±0.20
4-ニトロキノリン-N-オキシド	1	6	20	29.1±0.6	2.9±0.00

TF 培地で対数期増殖中のバクテリア細胞を洗い、0.067M 磷酸緩衝液に浮遊し、その中で薬剤を37°Cで働かせた

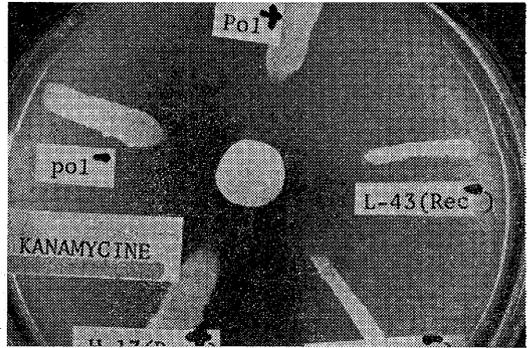


図 7A

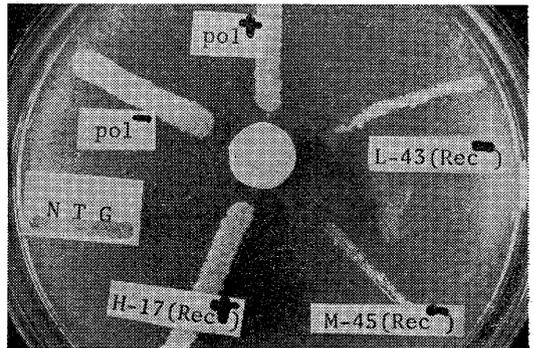


図 7B

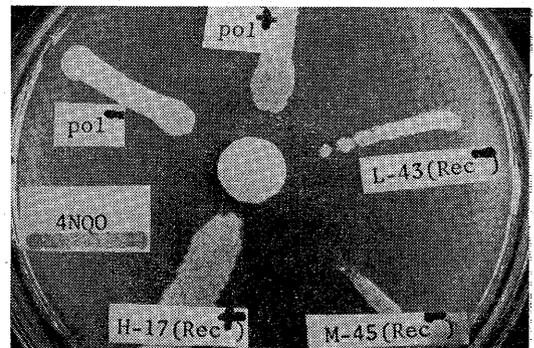


図 7C

し、遺伝的組換え機構の研究に用いているが、その中から変異原に対して感受性の高い M-45 株を用いて Rec-assay²³⁾を行なつた。この株と遺伝的組換えに関して野生である H-17 株とに関し、種々な変異原に対する感受性の差を比較した結果を表 1 に示したが、例外なく M-45 (Rec⁻) の方がこれらの化学因子によつて殺されやすい。このような試験は、プレートを用いて簡単に行なうことができる。一夜培養した菌を培地で10倍にうすめ、寒天プレート上に放射状に streak し、その分岐点は薬物をしみこませた濾紙をのせて、一夜培養する。DNA に作用しない抗菌性薬剤、たとえば、カナマイシンは(Rec⁺)

表 2 Rec-assay の諸結果 (賀田, 白須, 土川)

検定物質		生育障害		活性
原物質	代謝物	Rec ⁺ 株(H17)	Rec ⁻ 株(M45)	
カナマイシン		++	++	-
マイトマイシンC		+	+++	++
4-ニトロキノリンN-オキシド		+	++	+
フロキシシン		++	++ ⁺	±
アフラトキシシンB ₁		-	+	+
フザレノン		-	-	-
ルテオスキリン		-	++	±
ペニシリン酸		++	++	±
パツリン		++	+++	+
ステリグマトシスチン		-	- ⁺	±
アセチルアミノフローレン (AAF)		-	-	-
	N-OH-AAF	±	+	±
	N-AcO-AAF	+	++	+
	7-OH-AAF	-	-	-
ウレタン (U)		-	-	-
	N-OH-U	+	+++	++
	N-O-diAc-N-OH-U	+	+++	++

も M-45 (Rec⁻) も同じ程度の増殖阻止作用を示すが、マイトマイシンC や 4NQO のごとく変異剤によつては、M-45 (Rec⁻) の著しい増殖阻止が観察される (図 7 A, B, C)。この図では、他の補修欠損変異株をも併用してあるが、M-45 と比較して感受性が鈍いことが示されている (L-43 は Rec 座位の異なつたもの; pol⁻ は枯草菌ポリメラーゼ欠失株, pol⁺ はその野生株)。なお諸発癌因子、変異原の活性を補修欠損株と野生株との生育感受性の差で検出する方法は、大腸菌 pol⁻ 株やイーストのX線感受性株などを用いても、すぐれた相関性が得られつつある^{28, 29)}。

筆者らは、多数の色素に関して上記の Rec-assay を行ない、赤色色素フロキシシンが陽性を示すことを見出した^{22, 23)}。その後、フロキシシンは大腸菌 B/r WP2 try 株の復帰変異を誘発することが確かめられた。この色素の活性は比較的弱く、Rec-assay のような感度の高い方法によつて、はじめて検出されたものと考えられる。

一方、かびの生産する毒素 (マイコトキシシン) の中には発癌性を有するものが多く、天然に存在する環境発癌因子の一群に数えられている³⁰⁾。マイコトキシシンについて Rec-assay を行なつた結果を表 2 に示した。アフラトキシシン B₁ はそのままの態で陽性である。パツリンは強い陽性を示す。このものは DNA 鎖切断を誘起することが知られている。

代謝の後に DNA 作用活性の生じてくる例としては、アセチルアミノフローレンの誘導体に関して上で詳しく述べたところであるが、Rec-assay の結果はこれを支持している。すなわち、AAF は陰性であるのに反し、N-hydroxy, N-acetoxy 誘導体は陽性であり、とくに後者が強い。最近、土川ら (遺伝研) は、ウレタン誘導体に関して Rec-assay を行ない、ネズミにおける優性致死変異誘発能、宿主経路変異試験などの結果と比較した。その結果、代謝生成物である N-ヒドロキシウレタンや N-O-ジアセチル-N-ヒドロキシウレタンなどは Rec-assay において強い陽性を示した (表 2)。

農薬類においても、すでに変異誘発性の存在が指摘されているキャプタン類は³¹⁾、Rec-assay においても強い活性を示すことを見出された³²⁾。

2) Host-mediated Rec-assay

Legator らが考案した宿主経路法 (Host-mediated assay) では、筋注した薬剤の代謝物の作用を、腹腔内に入れたサルモネラ菌の復帰変異によつて測定している。筆者らは腹腔内に枯草菌 Rec⁺, Rec⁻ 両株の混合物を注入し、もし DNA 作用物質が存在している場合には Rec⁺ 細胞よりも Rec⁻ 細胞が強く殺されることを確かめ、これを代謝変異原検出に用いることを試みた^{23, 33)}。この方法によつて腹腔内での処理を無菌的に行なうことや、種々な薬剤濃度を試みる手間を省くことが可能であ

表3 フロキシソおよびマイトマイシンCの宿主経由 Rec-assay

薬物	投与量 (マウス kg 当 りの mg 数)	生残率(%)	
		17A(Rec ⁺)	45T(Rec ⁻)
フロキシソ	0	23.2±1.7	13.1±1.0
	167	20.4±0.4	10.1±0.2
マイトマイシンC	0	12.1±1.5	8.6±3.1
	3.0	7.5±0.1	1.8±0.6

枯草菌17Aおよび45T細胞(それぞれ約 1.5×10^6 /ml)の等量混合物をあらかじめ薬物投与をうけた3匹のCBAマウスの腹腔に注入する。1時間後に細胞を洗い出し、それぞれの生残菌数を測定する。詳細は原著²³⁾参照のこと

る。

実際に使用した枯草菌 Rec⁺ 株 H-17A は、トリプトファン要求性であり、Rec⁻ 株45T はアルギニン要求性を有する。いまこの両株の細胞が混合した浮遊液がある場合、稀釈の後に MM+Try (無機物を含む最少培地にトリプトファンのみを加えたもの) プレート上にまけば 17A 株は生えるが、45T は生えない。逆に MM+Arg には、45T は生えるが H-17A 株は生えない。したがって、ネズミの腹腔に注入した浮遊液および薬物の作用の後に取った浮遊液に関して、両型の細胞の生残度を同時に測定することが可能である。マイトマイシンおよびフロキシソを用いて行なつた検定の結果を表3に示した。薬物なしでも枯草菌は徐々に生活をうけるが、マイトマイシンC存在においては、Rec⁺ に比し Rec⁻ 細胞の失活は著しい。ここで使用した程度のフロキシソでは、宿主内での陽性の結果は得られなかつた。

おわりに

化学変異原の生体内代謝を考えに入れると、検出の対象とする物質の数は何倍もふえることになる。さらに哺乳類のうちでも、代謝特性にはかなりの量的・質的なばらつきがあると思われるので、さらに複雑になつてくる。これらの考慮のもとに、種々な変異原の作用性のパターンを明らかにするとともに、より確実、かつ鋭敏・能率的な検出を行なうべき努力が必要とされる。関連した問題に関して他に通覧した^{34,35)}。

国立遺伝学研究所の土川 清、定家義人および残留農薬研究所の白須泰彦の諸博士の協力や助言を得たので感謝する。また試料をいただいた榎木 眞、齋藤 守、広野 巖の諸博士に厚くお礼を申し上げる。第4項にのべた研究は、一部、文部省科学研究費(田島班)、厚生省がん研究助成金(石館班)の補助による。

- 1) Miller, J.A. & Miller, E.C.: *Prog. exp. Tumor Res.* 11: 273, 1969.
- 2) 榎木 眞: 日大歯学. 42: 1 & 223, 1968.
- 3) Lotlikar, P.D., et al.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 125: 341, 1967.
- 4) Maher, V.M., Miller, E.C., Miller, J.A. & Szybalski, W.: *Mol. Pharmacol.* 4: 411, 1968.
- 5) Maher, V.M., et al.: *Cancer Res.* 30: 1473, 1970.
- 6) Maher, V.M., Lesko, S.A., Straat, P.A. & TS' O, P.O.: *J. Bacteriol.* 108: 202, 1971.
- 7) Di Paola, J.A., et al.: *Nature.* 235: 278, 1972.
- 8) Fahmy, O.G. & Fahmy, M.J.: *Int. J. Cancer.* 9: 284, 1972.
- 9) Selkirk, J.K., Huberman, E. & Heidelberger, C.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 43: 1010, 1971.
- 10) Grover, P.L. & Sims, P.: *Biochem. Pharmacol.* 19: 2251, 1970.
- 11) Grover, P.L., et al.: *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 68: 1098, 1971.
- 12) 黒木登志夫: 蛋白質・核酸・酵素. 17: 927, 1972.
- 13) Cookson, M.J., Sims, P. & Grover, P.L.: *Nature. New Biology.* 234: 186, 1971.
- 14) Ames, B.N., Sims, P. & Grover, P.L.: *Science.* 176: 47, 1972.
- 15) Huberman, E., et al.: *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 68: 3195, 1971.
- 16) Gabridge, M.G. & Legator, M.S.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 130: 831, 1969.
- 17) Gabridge, M.G., Oswald, E.J. & Legator, M.S.: *Mutation Res.* 7: 117, 1969.
- 18) Zeiger, E. & Legator, M.S.: *Mutation Res.* 12: 469, 1971.
- 19) Zeiger, E., Legator, M.S. & Lijinsky, W.: *Cancer Res.* 32: 1598, 1972.
- 20) Ficsor, G. & Muthiani, E.: *Mutation Res.* 12: 337, 1971.
- 21) 賀田恒夫, 定家義人, 土川 清: 日本農芸化学会大会講演集. 4C-18: 46, 1971.
- 22) Kada, T., Sadaie, Y. & Tutikawa, K.: *Ann. Rep. Nat. Inst. Genetics.* 21: 72, 1971.
- 23) Kada, T., Sadaie, Y. & Tutikawa, K.: *Mutation Res.* 16: 165, 1972.
- 24) Bridges, B.A., Dennis, R.E. & Munson, R.J.: *Genetics.* 57: 897, 1967.
- 25) Witkin, E.M.: *Proc. 12th Intern. Congr. Genet.* 3: 225, 1968.
- 26) Kondo, S., Ichikawa, H., Iwo, K. & Kato, T.: *Genetics.* 66: 187, 1970.
- 27) Sadaie, Y. & Kada, Y.: *Mutation Res.* 17: 138, 1973.
- 28) Slater, E., Anderson, M.D. & Rosenkranz, H.S.: *Cancer Res.* 31: 970, 1971.
- 29) Nagao, M., Sugimura, T.: *Cancer Res.* 32: 2369, 1972.
- 30) 齋藤 守, 榎木 眞: 蛋白質・核酸・酵素. 15: 495, 1970.
- 31) Ficsor, G. & Nii, G.M.: *Ann. Meeting of Env. Mutagen Soc.* 1970.
- 32) 白須泰彦, 古橋彰子: 私信
- 33) Tutikawa, K. & Kada, T.: *Ann. Rep. Nat. Inst. Genetics.* 21: 73, 1971.
- 34) 賀田恒夫: 遺伝. 26: 46, 1972.
- 35) 賀田恒夫: 本誌. 印刷中, 1973.

培養哺乳動物細胞での突然変異

鈴木 紀 夫

はじめに

哺乳動物の培養細胞系で突然変異を定量測定することの重要性は、いまさら言うまでもない。しかし、技術上の困難さゆえか、世界的にその緒についたのは最近のことである。

哺乳動物細胞の培養で、先駆的な役割を果たした Puck のグループが、やはりこの分野においても、1967年から1968年にかけて^{1,2)}、ハムスター由来の細胞で、栄養要求性突然変異の誘導および分離が可能であることを示し、本格的な突然変異の研究が始まった。

ついで、1968年から1971年にわたる Chu らの 8-アザグアニン耐性をマーカーとした系の確立^{3,4,15)}で、誘導突然変異の投与量と効果の関係 (dose relationship) が定量測定できるようになった。

はじめに、われわれの開発したアラニン要求性の系について述べ^{5,6)}、そのあと、世界的にみて、哺乳動物細胞の培養系での突然変異の研究が、現在、どのような段階にあり、どんな問題点を含んでいるか、また環境因子による障害の定量測定系として、どのような特徴をもつか考えてみたい。

1. アラニン要求性株の誘導および分離

われわれの使用するマウス由来の白血病細胞 L5178Y は、リンパ球様の丸い細胞で、10%ウマ血清入りのフィッシャー培地中で、管壁に付着することなく増殖し、population doubling time は9時間である。

Puck と Kao の方法¹⁾でアラニン要求性株を分離した手順を図1に示した⁵⁾。Mutagen として、N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (以後 MNNG と略記する) で処理後、アラニン存在下で培養し、genetic damage が表現形となるのを十分待つ。このアラニン要求性株を含むと期待される細胞集団から、選択的にアラニン要求性

株を取り出すには、アラニンのない培地で starve させた状態で、BUdR を加えれば、タンパク合成が停止し、ついで DNA 合成も停止するから、野生株のみが BUdR をとりこみ、要求性株にはとりこまれない。ついで近紫外光線 (蛍光灯) で照射すれば、BUdR をとりこんだ野生株は、BUdR をとりこんでいない要求性

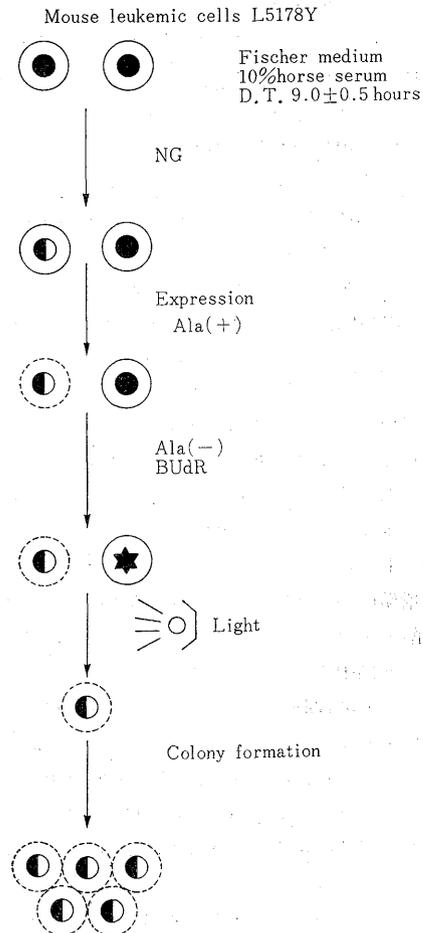
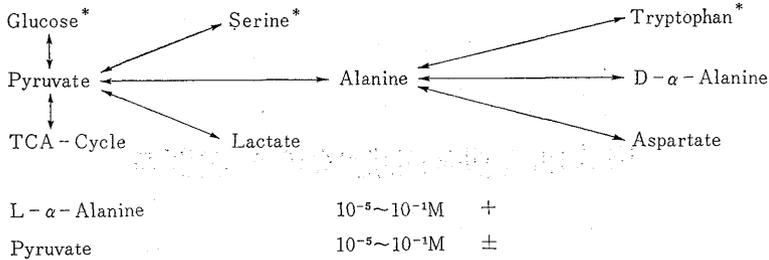


図1 栄養要求性変異株の誘導と分離



* Fischer's medium contains glucose($5 \times 10^{-3} \text{M}$), serine($1.5 \times 10^{-4} \text{M}$), and tryptophan($5 \times 10^{-5} \text{M}$).

図2 Ala32 細胞の性質

株にくらべ、選択的に、光増感作用で一段と効率よく殺されるというのが Puck らの方法の原理である。以上のような、starvation-BUDR-light の処理後、アラニンを含む培地で、コロニーをつくらせる。1週間から10日後、形成されたコロニーについて、アラニンの有無による増殖の有無を再確認し、アラニン要求性株とする。

いくつかのアラニン要求性株のうち、Ala 32と名づけた変異株で調べた性質を次に記す。

アラニン合成のどのステップがだめになっているかを知るために、10数種の関連のありそうなアミノ酸などいろいろな濃度で培地に入れて、増殖の有無を plating efficiency で調べた(図2)。現在まで調べた範囲では、 $L-\alpha$ -アラニンで増殖するのは当然として、ピルビン酸で(±)のほかはすべて増殖なしである。グルコースとピルビン酸の間、TCA サイクルとピルビン酸の間は関与していないことがわかった。 $D-\alpha$ -アラニンと β -アラニンは、アラニン存在下で各濃度を上げて、あるいは野生株の場合にも、増殖の抑制が見られないので、細胞内に入らない可能性もあるが、いずれにしても、増殖は(-)であつた。残るはピルビン酸とアラニンの間、アラニンとトリプトファンの間、アラニンとアスパラギン酸の間であるが、トリプトファンとアスパラギン酸はいずれも増殖(-)であり、もつとも可能性の高いのは、ピルビン酸とアラニンの間であると考えている。酵素活性の測定は準備中である。

次に、Ala 32 細胞を、アラニンを含む培地から含まない培地に移したとき、タンパク合成、RNA 合成、DNA 合成がどうなるか、precursor の酸不溶性分画へのとりこみでみた。 ^3H -valine のとりこみは、アラニンを添加していない培地に移すと、数分で低下して、ほとんどゼロになる。 ^3H -uridine と ^{14}C -TdR のダブルラベルの実験では、 ^3H -uridine のとりこみは、コントロール(アラニンを含む培地に移した場合)にくらべ、ほとんど変

りなく続くが、 ^{14}C -TdR は数分にしてコントロールにくらべ顕著に低下する。

Ala 32 細胞の $L-\alpha$ -アラニンに対する濃度依存性を図3に示した。実線が Ala 32 細胞、点線が野生株で、それぞれ横軸に示した濃度のアラニンが培地に添加されている。縦軸は plating efficiency である。野生株については、図が見やすいように点線のみで示し各測定点が省略してあるが、Ala 32 細胞と同一点でそれぞれ調べてある。Ala 32細胞は、アラニンを培地に加えない場合はもちろん、 10^{-4}M 以下では増殖がみられない。至適濃度は 10^{-3}M 付近で、さらに濃度を増すと、 10^{-2}M から 10^{-1}M で Ala32 細胞も野生株も同様に増殖の抑制がおこる。先ほど、ピルビン酸は(±)と述べたが、 10^{-2}M という高濃度で20%から40%程度の plating efficiency である。しかもこの場合、非常に小さくてコロニーといえないような大きさを無理にコロニーと数えての話である。すなわち、4日間の培養で、アラニン至適濃度では1細胞から500細胞ぐらいに増殖するが、ピルビン酸 10^{-2}M では、数細胞というような低い増殖能である。

以上から、当然のことながら、Ala 32 細胞をアラニン

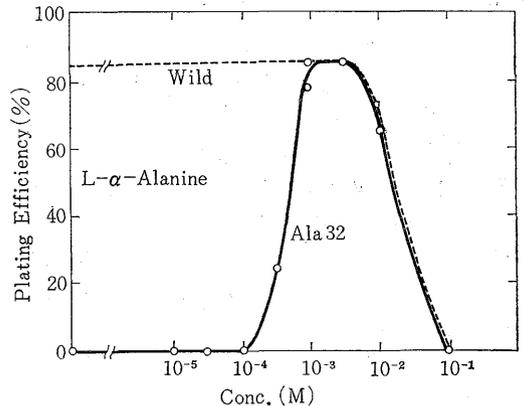
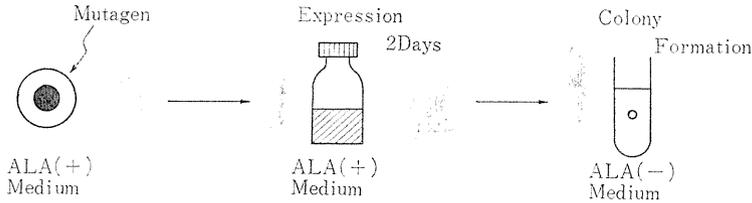


図3 濃度依存性



Cells: Alanine requiring mutants of L5178Y mouse leukemia
Medium: Fisher medium, horse serum

図4 復帰変異の測定

の加えてない培地にプレートしても、コロニーが形成されないで、Ala 32 細胞からの復帰変異 (reversion) で、アラニンを要求しないもとのプロトトロフ (prototroph) にもどつた細胞を検出することは、十分可能と考えられる。

2. アラニン要求性細胞からプロトトロフ (prototroph) への復帰変異 (reversion)

図4は Ala 32 細胞のプロトトロフへの復帰変異を定量する手順である⁶⁾。問題は、mutagen 処理後、遺伝子傷害 (genetic damage) が表現形として express するまで、何日間アラニン存在下で培養する必要があるかである。そこで、mutagen 処理後、アラニン存在下で培養する日数の経過に対して、生存細胞当りの revertant (アラニンを要求しなくなった細胞) の割合を調べた。UV では2日、MNNG では3日で、それぞれ最高値に達することがわかった。Ala 32 細胞の population doubling time は9時間であるから、2~3日は約5~6世代に相当する (mutagen 処理による傷害や世代時間の延長があり、それも個々の細胞により影響のうけかたが異なるだろうが、その問題を無視すると)。バクテリアで population doubling time を30分として、expression の時間が約3時間ぐらい、すなわち、6世代ぐらいに相当するという事実と似た関係にある。

Expression time を2日ときめて、UV の照射量 (約4 ergs/mm²/sec で照射した) と突然変異の生成量との関係を調べたところ、ほぼ直線関係にあるが、高線量になると直線関係をはずれて低下してくる⁶⁾。γ線 (¹³⁷Cs, 46rads/min) の dose relationship は、指数関数的であったが⁶⁾、今後さらに詳しい検討を要する。

3. 培養哺乳動物細胞の突然変異測定の現状

さて、現在までの哺乳動物細胞の培養系における誘導突然変異の例をまとめると、表1^{2,3,5,7,8)}のようになる。

ほかに、温度感受性や放射線感受性突然変異誘導の試みが2, 3あるが⁹⁻¹³⁾、定量測定には不向きであるので省略した。細胞の種類、染色体数、世代時間などを記載したが、いずれも near diploid の細胞で heteroploid は使われていない。世代時間も短く、マーカーも薬剤耐性や栄養要求性というように、とり扱いの容易さが考慮されていることがわかる。

これら5つの突然変異誘導の試みに続いて、dose relationship まで publish されているのは、8-アザグアニン耐性の系だけであるが^{4,15,16)}、それによると、UV では線量とともに直線的に増加する。X線では指数関数的に増加する。アラニン要求性の系でもほぼ同様な傾向がみられることは、先に述べた。一方、同じ哺乳動物細胞でも、Russel らがマウス生殖細胞の系で、X線誘導突然変異を F₁ 世代にあらわれる形質で調べたところ、線量効果関係は直線的であった。この違いが何によるか、今後検討を要する。

突然変異の定量系についてここでまとめてみる (図5表1, 2)。8-アザグアニン耐性は、Szybalski¹⁵⁾ や、Littlefield¹⁹⁾、Morrow²⁰⁾ らにより、培養細胞で hypoxanthine-phosphoribosyl transferase (HGPRT) の消失あるいは減少として確立されてきたものである。近年、ヒトの遺伝病として注目され、多くの研究がなされている Lesch-Nyhan syndrome に相当する。図5に示したように、forward mutation は mutagen 処理、expression 後、8-アザグアニン 7.5γ/ml を含む培地に増殖するコロニーを数える。Reverse mutation は、THAG 培地にはえるコロニーを数える。THAG 培地というのは、thymidylic acid, hypoxanthine aminopterin, glycine を含む。aminopterin は、folic acid の antagonist で、purine の生合成経路を阻害するが、同時に thymidylic acid, glycine の生合成も阻害する。aminopterin で purine, thymidylic acid, glycine の生合成が抑えられても、thymidine kinase (TK) や HGPRT をもつ細胞は、

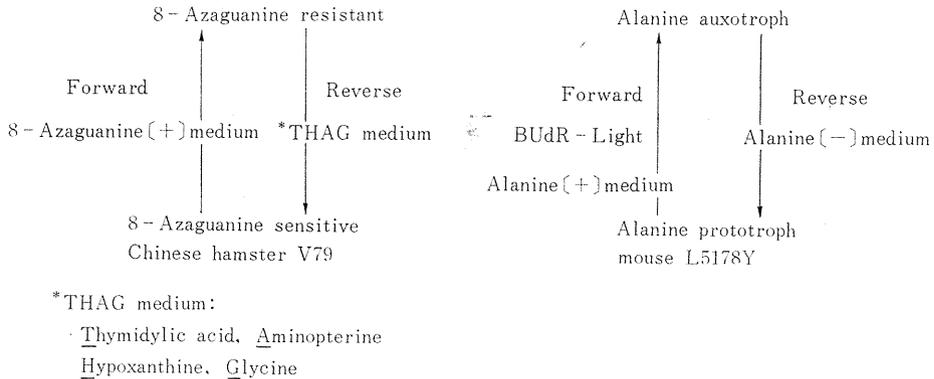


図5 誘導突然変異の定量系

培地から thymidylic acid や hypoxanthine を利用できる。

6-MP (6-mercaptopurine) 耐性をマーカーとする系⁶⁾は、8-アザグアニン耐性の系とまったく同じ原理、方法によるものであるが、ソ連でもこういつた研究が始まったという意味で加えた。マウスの白血病細胞L5178Yを使った BUdR 耐性の系⁷⁾は HGPRT の代わりに、TK (thymidine kinase) が関与する。Forward mutation では、TK をもつ細胞が BUdR をとりこんで死に、reverse mutation では、TK がいないと培地中の thymidylic acid を利用できず死ぬという原理である。Clive ら⁷⁾によれば、この細胞では、8-アザグアニン耐性をマーカーとした系がうまくいかなかつたという。いずれも核酸代謝のサルベージ経路に関与する酵素で、プリン系とピリミジン系の違いはあるが、選択法の原理は同じである。

このように、哺乳動物の培養細胞系でも何とか誘導変

異を定量できるようになった。ところで、どのくらいの変異率を示すのであろうか(表2)。同じ dose なり survival で比較すると良いのだが、dose response curve がとれていない系もあるので、適当な点を拾つてある。7線(X線)が一応、すべての系で調べられているから、() 内に変異率を計算した。8-アザグアニン耐性の系だけが高率であるが、これを除くと、違った細胞、違ったマーカーを使い、別々の実験室から出されたデータが、およそ $10^{-7}/\text{locus}/\text{rad}$ のオーダーで一致している。なお、参考のため最下段に Russel ら¹⁷⁾のマウスの生殖細胞での突然変異率をあげた。 $10^{-7}/\text{locus}/\text{rad}$ のオーダーである。

4. 培養哺乳動物細胞系による突然変異測定の特徴

哺乳動物培養細胞を使う *in vitro* の系は、環境因子による障害を測定する系の1つとして十分使える段階に達

表1 哺乳動物培養細胞系での誘導突然変異

Cell	Chromosome#	D.T.	Marker	Reference
Chinese hamster CHO	21, 20	12 h	Glycine ⁻ , Inositol ⁻ Hypoxanthine ⁻	Puck and Kao 1967 (2)
Chinese hamster V 79	23	12 h	8-Azaguanine ^r Glutamine ⁻	Chu et al. 1968 (3)
Mouse L 5178 Y	40	...	BUdR ^r	Clive et al. 1971 (7)
Mouse L 5178 Y	40	9 h	Alanine ⁻ , Purine ⁻	Suzuki and Okada 1971 (5)
Chinese hamster Bld-ii-FAF	28, 18, 22, 23	...	6-Mercaptopurine ^r Low glucose	Shapiro et al. 1972 (8)

表 2 哺乳動物培養細胞系での誘導突然変異率

Marker	Mutagen	Dose	%P.E.	Mutation per survivor	Reference
Gly ⁻ [CHO]	X-ray	600rads	12	2.2×10^{-5} [3.7 × 10 ⁻⁸ /rad]	[14]
	UV	180 ergs/mm ²	21	4.0×10^{-5}	
	EMS	200γ/ml, 16 h	78	2.4×10^{-4}	
	MNNG	0.5γ/ml, 16 h	26	4.1×10^{-5}	
Ala ⁺ [L 5178 Y]	γ-ray	280 rads	30	6×10^{-5} [2.1 × 10 ⁻⁷ /rad]	[6]
	UV	60 ergs/mm ²	50	4×10^{-5}	
	MNNG	1.5γ/ml, 10 min	33	1.5×10^{-4}	
8-Azgr ⁻⁷⁻⁵⁷ [CHV 79]	X-ray	600 rads	37	8×10^{-3} [1.3 × 10 ⁻⁵ /rad]	[15]
	UV	150 ergs/mm ²	20	2×10^{-3}	
BUdR ^{r-507} [L 5178 Y]	X-ray	600 rads	12	3×10^{-4} [5 × 10 ⁻⁷ /rad]	[7]
	EMS	10 ⁻³ M, 2 h	50	9×10^{-5}	
	Hycanthone	5 × 10 ⁻⁵ M, 2 h	20	3.5×10^{-4}	
6-MPr ⁻¹⁵⁷ [CHB11d-ii-FAF28]	X-ray	?	22	7×10^{-5} [2 × 10 ⁻⁷ /R]	[8]
	UV	?	20	8×10^{-6}	
	NMU	?	71	8×10^{-4}	
	BUdR	?	30	7×10^{-4}	
Mouse	X-ray or γ-ray			2.2×10^{-7} /locus/rad	[17]

したと考える。同じ哺乳動物と言つても、従来から使われている動物個体を使う *in vivo* の系と *in vitro* 培養系とを比較すると両者ともに特徴があり、相補う面がある。

a) 動物個体を使う場合、生殖細胞に生じた突然変異が子供の世代において表現された形質として検出される。*In vitro* の系は体細胞に相当し、発癌や aging における mutation の役割を研究するのにも適している。

b) 動物の生殖細胞は、体全体の有機的な統御の下にある。次に問題にするように、突然変異は、遺伝子のレベルでの傷害を表現形のレベルで検出している。遺伝子の傷害が表現されるまでの過程で、体内にある生殖細胞はホルモンや神経、あるいは排除機構などをはじめとして、複雑な影響を受けていると考えられる。

c) Chemical mutagen は、生殖細胞に達する前に、消化管の内部で変化したり、血流に入つても肝などで代謝されたりして、変化する可能性がある。

In vitro 系では、以上のような factor b), c) を単純化できる代わりに生体に障害を与える環境因子を検出しようとするとき、生体レベルとはかなりはなれた状況にあることになる。

5. 問題点

現時点における哺乳動物細胞の培養系による突然変異検出法の問題点を考える。

a) Cross feeding

培地中の細胞濃度を高くすると、feeder layer 類似の効果のためと思われるが、検出される突然変異頻度に影響する。細胞やマーカーにより多少の程度差はあるが、薬剤耐性でも、栄養要求性でもおこる。このために、多くの器具、培地、人手がかかり能率的な仕事が妨げられる。8-アザグアニン耐性の系で定量化が早く進んだのは、変異率が10倍～100倍高くするという点で、この困難さが軽減されていることも理由の1つであろう。

b) 現在のところ、特殊なマーカーおよび細胞でしか検出系が確立していない(表1, 2, 図5)。

したがって、得られた結果を一般化するには注意が必要である。また、哺乳動物細胞の培養系での誘導突然変異は、一般的に自由に誘導し検出できる現象なのか、現在えられている例は、たまたま幸運にも得られた系なのか、今後の研究を待たねばならない。

c) 遺伝子の変化そのものを直接検出できず、表現形のレベルで検出するために生ずる諸問題。バクテリアの系でも共通する問題と、哺乳動物細胞の特殊性からくる

問題とがある。

(イ) 遺伝子の傷害のうち、分裂能力を保持しえた細胞に存在するものを検出している。

(ロ) 表現形として差が現われる遺伝子傷害のみ検出できる。たとえば、酵素活性に差が生じないようなアミノ酸の置換は検出できない。

(ハ) 遺伝子レベルと表現形のレベルで、量的に1対1の関係がいつも成立するとはいえない。

(ニ) Expression time の間に、population の構成 (wild と mutant で、あるいは、その過程にあるもので、doubling time が違ったり、死ぬ fraction が異なったりして) が、変化している可能性がある。突然変異の程度は、ある時点での生存細胞当りの突然変異細胞の数で表現される。したがって、mutagen の強弱の比較などに際しては、その意味するものを注意して評価する必要がある。

(ホ) 哺乳動物細胞の場合、大部分の遺伝子がマスクされていると言われており、遺伝子発現の機構が未知であることと加えて、どういふ影響を与えているのかまったく不明である。

6. 将来の課題

最後に、哺乳動物細胞の突然変異の立場から、これからやるべき問題をあげてみる。

A. 方法の開発として

a) Host mediated assay

Ala 32 細胞をマウスに移殖し、放射線照射あるいは mutagen を投与して、一定時間体内で expression させたあと、*in vitro* に移して突然変異を定量する。突然変異の過程で、生体の影響がどのように関与しているか、あるいは種々の mutagen が生体の影響下でどのような変異率を示すか調べる。自然発生突然変異率が *in vivo* と *in vitro* で異なるかどうか調べられる。

b) *In vivo* assay system

動物体細胞で直接、突然変異を定量する系を開発する。

c) ヒトの体細胞で突然変異を定量する。Primary culture および b) で開発する方法を使う。

B. これからの問題点として

a) 発癌において突然変異がどのような役割を果しているか。

b) Aging において突然変異がどのような役割を果しているか。

c) 分化も突然変異も表現形の変化で検出するが、分子レベルで遺伝子にさかのぼって解明したら、どんな関

連あるいは違いがあるか。

d) 障害を与える環境因子の検索をするにあたり、chronic effect と acute effect を区別して実験を行なうこと、および染色体異常と突然変異の関係を求めれば、現在ヒトの体細胞染色体異常は検出可能であり、データもあるから、大いに貢献できるであろう。

おわりに

哺乳動物細胞の培養系での突然変異の研究は、薬剤耐性、栄養要求性をマーカーとした 2, 3 の確立された系により、まさに開始されたところである。環境因子による生体障害を解明する手段としても大いに役立つと思われる。その発展は急務である。また現代の医学、生物学が当面する多くの大問題も、いずれは哺乳動物細胞遺伝学の発展と歩みをともにして、解決される可能性が強いと思われる。

本稿の執筆および引用した筆者の研究は、岡田重文教授の常日頃からの熱意あふれたひとかたならぬご指導、ご助言によるものであり、ここに心から感謝致します。

文献

- 1) Puck, T.T. & Kao, F.-T.: Genetics of somatic mammalian cells V. Treatment with 5-bromodeoxyuridine and visible light for isolation of nutritionally deficient mutants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 58: 1227-1234, 1967.
- 2) Kao, F.-T. & Puck, T.T.: Genetics of somatic mammalian cells VII. Induction and Isolation of nutritional mutants in Chinese hamster cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 60: 1273-1278, 1968.
- 3) Chu, E.H.Y. & Malling, H.V.: Mammalian cell genetics II. Chemical induction of specific locus mutations in Chinese hamster cells *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 61: 1306-1312, 1968.
- 4) Chu, E.H.Y.: Mammalian cell genetics III. Characterization of x-ray-induced forward mutations in Chinese hamster cell cultures. *Mutation Res.* 11: 23-34, 1971.
- 5) Suzuki, N. & Okada, S.: Induced mutations in cultured mammalian cells, Abstracts of the 14th annual meeting of the Japan Radiation Research Society. Nov. 6-7, 1971. (*J. Rad. Res.* 13: 37, 1972).
- 6) Suzuki, N. & Okada, S.: Mutations in cultured mammalian cells, Abstracts of the 15th annual meeting of the Japan Radiation Research Society. Oct. 4-5, 1972.
- 7) Clive, D., Flamm, W.G., Machesko, M.R. & Bernheim, N.J.: A mutational assay system using the thymidine kinase locus in mouse lymphoma cells. *Mutation Res.* 16: 77-87, 1972.

- 8) Shapiro, N.I., Khakizev, A.E., Luss, E.V., Manuilova, E.S., Petrova, O.N. & Varshaver, N.B.: Mutagenesis in cultured mammalian cells II. Induction of gene mutations in Chinese hamster cells. *Mutation Res.* 16: 89-101, 1972.
- 9) Naha, P.M.: Temperature sensitive conditional mutants of monkey kidney cells. *Nature.* 223: 1969.
- 10) Thompson, L.H., Mankovitz, R., Baker, R.M., Till, J.E., Siminovitch, L. & Whitmore, G.F.: Isolation of temperature-sensitive mutants of L-cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* 66: 377-384, 1970.
- 11) Meiss, H.K. & Basílico, C.: Temperature sensitive mutants of BHK 21 cells. *Nature New Biol.* 239: 66-68, 1972.
- 12) Nikaido, O., Isomura, K. & Horikawa, M.: Repair activity of ultraviolet light-induced damage in UV-sensitive cells isolated from HeLa S3 cells, Abstracts of the 14th annual meeting of the Japan Radiation Research Society. Nov. 6-7, 1971 (*J. Rad. Res.* 13: 25, 1972).
- 13) Randtke, A.S., Williams, J.R. & Little, J.B.: Selection of mutant human cells whose progression into DNA synthesis is sensitive to UV irradiation. *Exptl. Cell Res.* 70: 360-364, 1972.
- 14) Kao, F.-T. & Puck, T.T.: Genetics of somatic mammalian cells IX. Quantitation of mutagenesis by physical and chemical agents. *J. Cell. Physiol.* 74: 245-248, 1969.
- 15) Bridges, B.A. & Huckle, J.: Mutagenesis of cultured mammalian cells by x-radiation and ultraviolet light. *Mutation Res.* 10: 141-151, 1970.
- 16) Arlet, C.F. & Potter, J.: Mutation to 8-azaguanine resistance induced by γ -radiation in a Chinese hamster cell line. *Mutation Res.* 13: 59-65, 1971.
- 17) Russel, W.L.: X-ray-induced mutation in mice, Cold Spring Harbor Symp. *Quant. Biol.* 16: 327-336, 1951.
- 18) Szybalski, W. & Szybalska, E.H.: Drug sensitivity as a genetic marker for human cell lines. *Univ. Mich. Med. Bull.* 28: 277-293, 1962.
- 19) Littfield, J.W.: Three degrees of guanylic acid-inosinic acid pyrophosphorylase deficiency in mouse fibroblasts. *Nature.* 203: 1142-1144, 1964.
- 20) Morrow, J.: Genetic analysis of azaguanine resistance in an established mouse cell line. *Genetics.* 65: 279-287, 1970.

* * *

IV. 発癌と突然変異

“発癌と突然変異”というもつとも重要な問題がこのセッションで取りあげられた。細胞の癌化は突然変異の一環として生じる生物現象であるとするならば、両者は車の両輪のごとき存在であつて、ともに切り離して研究し、討議することは無意味なことであろう。こういった意味において本シンポジウムにこのセッションが設けられたものと推察する。

さて、演者のうち前二者、黒木、角永両氏は周知のごとく日本にあつて世界に誇る、化学発癌剤 4-NQO とその誘導体による試験管内発癌実験系の確立者であり、一方最終演者、武部氏は微生物にはじまつて最近ではヒトを含む動物細胞を用いて UV による DNA 損傷とその修復機構を研究している人である。まず黒木氏は長年にわたる自己の試験管内発癌実験から得た豊富なデータと知見をもとに、発癌剤の細胞内への取りこみと活性化の問題、発癌剤の核酸、蛋白との結合の問題、発癌剤の細胞に対する傷害作用とその回復の問題、突然変異と発癌の関係といった問題を1つ1つ明確に浮き彫りにして話を進めた。しかし黒木氏自身が言うように、こうして個々の問題は少しずつ明らかにされてきてはいるものの、こうした結果でもつてしても、いまだ発癌を論じうる段階には到っていない。とくに私にとつて興味をひく発癌剤と特異的に結合する蛋白、h-protein はウイルスによる発癌にあつてはいつたいどのような役目(機能)をもつものであろうかを知りたい。

また角永氏は従来使用してきたハムスター胎児細胞から一歩進んで、細胞の癌化を定量的に測りうる系として

Balb/C マウス胎児細胞由来の Balb/3T3 細胞を用いた実験から、化学発癌剤の毒性および発癌作用は細胞の遺伝子、つまり DNA 上に生じる損傷の修復と何らかの関連性をもつことを示した。これは従来放射線生物学者が提唱してきた遺伝子損傷修復時のエラーが突然変異とか発癌に大きく関与するであろうという仮説を、試験管内発癌実験系でまさに実証せんとするものである。一方武部氏はヒト遺伝病、色素性乾皮症 (XP) の患者には癌が高率に発生すること、またこうした患者由来の細胞は UV 障害修復能を欠くため、UV 高感受性であることに注目して、この間の関連性を解析するための仕事を進め、微生物から XP 細胞に到る多くの実験結果をもとにして、細胞の突然変異と発癌機構の類似性、さらに突然変異誘発と同様に細胞の癌化にも組換え修復が大きく関与するであろうことを示した。以上これらの研究はいずれも“発癌と突然変異”の関係、およびそれらの機構解明のために多くの新しい知見を提供し、将来に貴重な問題点を指摘したものと思う。

試験管内発癌実験系が確立されて以来すでに5年余、この間発癌機構の全貌を把握するまでには到らなかつたが、動物実験では分析しえなかつた多くの事実が明らかにされてきた。加えて変異の分子機構は今や微生物、培養哺乳類細胞を用いた実験によつて急速に解かれようとしている。こうした両者の研究が相まつて進むかぎり、近い将来“発癌と突然変異”の問題はさらに明るみに出されるであろう。

(金沢大学薬学部放射薬品化学教室 堀川正克)

* * *

化学発癌物質と生体高分子の相互作用

黒木 登志夫

はじめに

ヒトの癌の原因が何であるかは、永年にわたる研究者たちの努力にもかかわらず、まだわかっていない。ウイルスによるものもあるであろうが、明らかに化学物質によつて生じたと思われるものもある。表1は、Millerの総説からとつたものである¹⁾。肺、膀胱が、化学物質による発癌の標的になりやすいことがわかる。重要なことは、このような発癌物質、あるいは突然変異誘起物質が、われわれの身の回りに存在し、それらが近年増えつつあることである。癌研究者の社会的義務の1つとして、これらの環境中の有害因子を発見し、社会に警告を発することがあるであろう。これらの物質を速かに、確実に検出できるように実験系の開発は、この意味でも非常に重要である。それと同時に、これらの物質の作用機序を解明することは、癌の予防の意味からも、また、治療手段の開発という意味からも、非常に重要な研究テーマであると言えよう。ここでは、代表的な化学発癌剤のいくつかについて、それらの代謝、核酸蛋白質への結合、および、最近明らかにされてきた発癌性と突然変異

表1 ヒトの発癌因子としての化学物質¹⁾

発癌性物質、因子	臓器
すす、タール、オイル	皮膚、肺
喫煙	肺
2-ナフチルアミン	膀胱
4-アミノビフェニル	膀胱
ベンチジン	膀胱
N,N-ビス(2-クロロエチル) 2-ナフチルアミン	膀胱
ビス(2-クロロエチル)サルフィド	肺
ニッケル	肺、副鼻腔
クロミウム	肺
アスベスト	肺、胸膜

KUROKI, Toshio 東京大学医科学研究所癌細胞学研究部

性の相関について述べてみたい。

1. 化学発癌剤の代謝

多くの化学発癌剤は、そのままの形では、化学的にも、生物学的にも活性をもたず、細胞内で代謝され、活性型に変換されて、はじめて効果を現わす。したがつて、発癌剤の代謝と活性は、発癌の長い過程のなかで、最初に遭遇するもつとも重要なステップであると言える。活性化反応は、全体の代謝のなかではごく一部で、大部分の代謝は発癌剤を分解・解毒化する方向に働いていると思われる。これは、生体の防御機構から考えて当然であろう。たとえば、ラットに肝癌を作るアゾ色素を例にとつてみると、図1にみるように、この物質の代謝は大きく次の4つに分類される。

- 1) アゾ結合還元酵素によるアゾ結合の切断
- 2) 脱メチル化反応
- 3) 芳香族リングの水酸化
- 4) N-水酸化

これらのうち、1)~3)の反応は、すべて発癌剤の分解、解毒化であり、4) N-水酸化が発癌と結びつく代謝と考えられる。N-水酸化体はエステル化され、さらに活性をもつたいわゆる“ultimate carcinogen”となる。これと似た活性化の代謝パターンは、アセチルアミノフルオレン(AAF, 最初農薬として開発された)、4ニトロキノリン1-オキシド(4NQO)でも認められている。すなわち、AAFでは、N-水酸化から硫酸とエステルが生成され、4NQOでは、N-水酸化体(4-ヒドロキシアミノキノリン1-オキシド, 4HAQO)

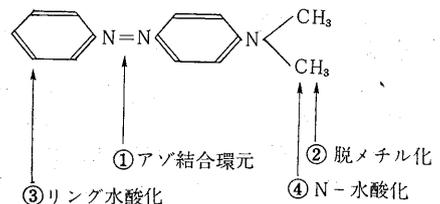


図1 アゾ色素の主な代謝部位

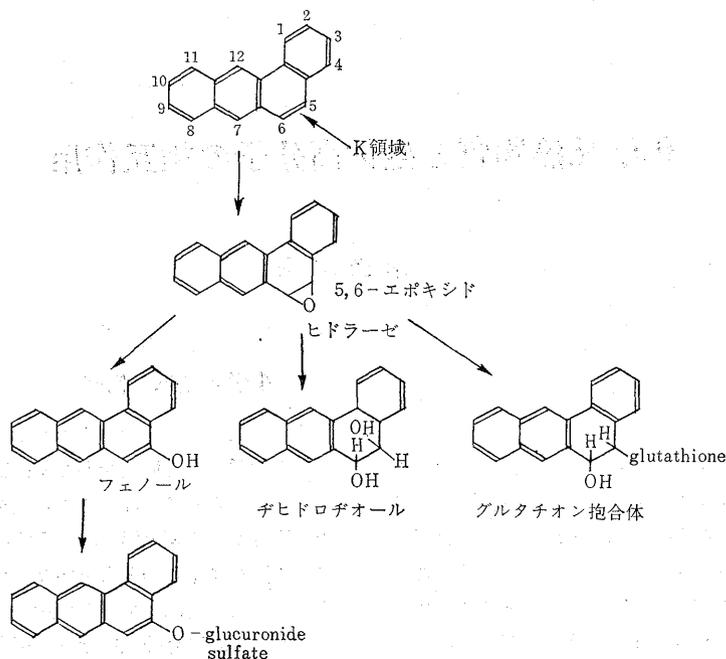


図2 BAの代謝経路の推測⁴⁾

フェノール (5-ヒドロキシ BA), ジオール (5,6-ジヒドロジオール BA), グルタチオン抱合体への中間体としてエポキシドが生成される。

が、さらに ATP の存在下でアシル化されることが、最近多田らによつて明らかにされた²⁾。興味あることはこのような活性化された発癌剤は、臓器特異性、種特異性を失い、たとえば、もともとはラット肝癌しか作らなかつたアゾ色素が、モルモットにも肝癌を作り、皮下に注射すればそこに肉腫を形成するようになることである。すなわち、従来、種特異性、臓器特異性などと考えられていたのは、実は代謝の特異性によるものであることが理解できよう。

もつとも歴史の古い発癌剤である炭化水素系発癌剤の代謝は、この2、3年の間に明らかにされた^{3,4)}。この系の発癌剤の活性体は、2、3の例外はあるかも知れないが、K領域のエポキシドであると思われる(図2)。エポキシドは、さらに代謝されて、水酸化体、ジオール、グルタチオン抱合体などになるが、これらの代謝産物には発癌性がない。この代謝に関与する酵素は、ベンツピレンヒドロキシラーゼ、アリル炭化水素ヒドロキシラーゼなどと呼ばれ、少なくとも2つの酵素、すなわち、エポキシド生成酵素と分解酵素の集合体であると思われる。この酵素活性が肝臓で非常に高いにもかかわらず、肝癌ができないのは、エポキシド分解酵素の活性も強く、生じたエポキシドがすぐに分解されるためと思

われる。皮膚では、この酵素活性があまり高くないので、エポキシドの作用時間が比較的長く、癌を作りやすいのであろう。ここでも、発癌剤の臓器特異性を代謝の面から理解することができる。

2. 発癌剤と核酸の結合

核酸との結合には、2つの形がある。1つは、物理的なゆるやかな結合であり、他は共有結合による結合である。

化学発癌剤と核酸、特に DNA との間に物理的結合が起こることを最初に示したのは Boyland である⁵⁾。その根拠は、ベンツピレンの溶解度が DNA 溶液中で増加し、吸光度、蛍光励起 DNA の Tm 値が変動することであつた。同様の現象は、何人かの研究者によつても観察された。しかし、Heidelberger らは、核酸との結合を否定する立場に立ち、いくつかの実験根拠から、Boyland らの知見に反論を加えた⁶⁾。両者の間の激しい論争は、流動二色法を用いた永田らの実験によつて終止符を打たれた⁷⁾。それによると、DNA と発癌剤の物理的結合は、図3にみるように、DNA の塩基間に平行に入るもの(A)と、塩基と垂直に外側に結合する形(B)の2つに分けられる。前者にはベンツピレン、後者の例と

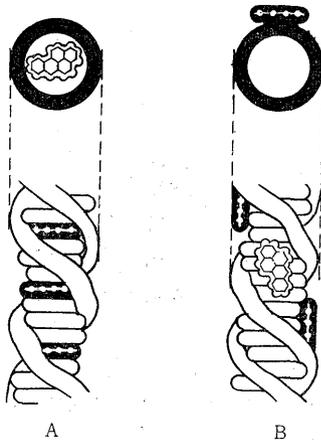


図3 発癌剤とDNAの物理的結合⁹⁾
 A：塩基間へ平行に入る。
 B：塩基と垂直に入る。

しては4NQO, メチルコラントレンなどが挙げられる。このような結合の大部分は、有機溶媒、たとえばエーテルでくり返し洗うことにより容易に除かれる。すなわち、結合はゆるく、化学的というよりは、むしろ物理的である。このような物理的結合でも、発癌の原因となりえないわけではない。たとえば、アクリジンオレンジは、発癌剤ではないが、DNA塩基間に挿入することにより変異をひき起こす。しかし、Amesらのネズミチフス菌を用いた変異の研究によると^{57,61)}、共有結合を含む塩基間挿入の方が、はるかに変異をひき起こしやすい。したがって発癌のメカニズムとしては、次に述べる共有結合の方がより重要であろう。

発癌剤とDNAとの間に共有結合が起こることが明らかになったのは、この10年以内のことである。それは、1つにはDNAの抽出と純化の技術の進歩、および比活性の高い放射性発癌剤の開発によるところが大きい。マウス皮膚、あるいは組織培養したハムスター胎児細胞に、トリチウムラベルのメチルコラントレン(500 mCi/mmole)を加え、DNAをフェノール法で抽出すると、約30~50 pmoleの発癌剤が1 mg DNAに結合している。これは、約 $10^4 \sim 10^5$ ヌクレオチドに1分子の発癌剤が結合しているのに相当する。この結合した発癌剤は、アルコール、エーテルで洗つてもはずれない。RNase, プロナーゼには抵抗性をもつが、DNaseによつて分解される。加熱冷却、アルカリ処理によつて1本鎖にしても、比活性は低下しない。これらの所見から、DNAと共有結合によつて結合していると推測される。永田によると、物理的結合から共有結合への移行は、ベンツピレンでは約40%である¹⁰⁾。

結合部位の詳細は、一部の発癌剤ですでに明らかにされている。たとえば、AAFはグアニンの8Cともつとも結合しやすい¹¹⁾。炭化水素系発癌剤のなかでは、7-ブromoメチルベンツアントラセン(7 BrMBA)の結合が、比較的詳しく研究されている¹²⁾。この場合、AAF、あるいは他のアルキル化剤と異なつて、8Cよりもむしろ、グアニン、アデニン、シトシンのアミノ基と結合しやすい。

このような共有結合には、発癌剤の代謝を必要とする。それを証明する実験としては、(1) DNAと発癌剤の試験管内の結合には、マイクロゾームとNADPHを必要とする^{12,13)}。(2) 活性型と思われる代謝産物、たとえばK領域エポキシドは、試験管内結合の系では、酵素の関与を必要としない¹⁴⁾。(3) 活性型発癌剤を細胞に添加すると、高い結合量が得られる(図4)^{15,16)}などである。癌細胞は、正常細胞と比較して、核酸、蛋白質への結合量が少なく、悪性からの復帰細胞は結合量が多くなる⁹⁾。これも、細胞の代謝能の差によるものとして理

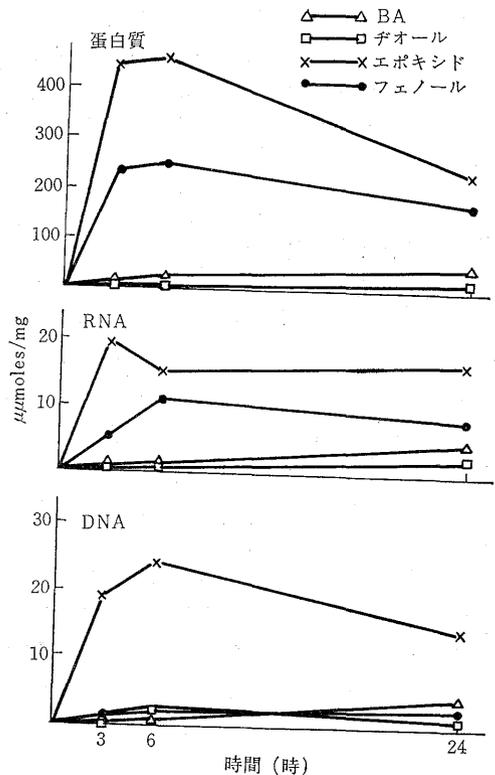


図4 ベンツアントラセン(BA)およびそのK-領域エポキシド、デオール、フェノールのハムスター胎児細胞DNA, RNA, 蛋白質への結合¹⁶⁾

解される。

次に、結合に要する DNA の生理的条件も検討されねばならない。合成の進行している DNA とより結合しやすいか、あるいは、増殖している細胞と増殖のとまった細胞のどちらが結合しやすいか、細胞周期と結合の関係などである。この方面の研究は、それ程データが多くない。合成の進行している DNA により多く結合することを示唆する成績もあるが^{17,18)}、その逆に、合成の進行していない DNA により多く結合するという Yuspa らの成績が¹⁹⁾、実験方法からみてもより信頼できるように思われる。われわれは、増殖期の細胞と増殖のとまった細胞の間に、核酸、蛋白質への結合量の差がないという成績を得ている⁹⁾。

結合の研究で、古くから議論されつづけられた問題は、DNA あるいは蛋白質との結合のどちらが、発癌と関係しているかである。この疑問への1つの解答法として、何種類かの発癌性の異なる発癌剤の結合を比較するという方法がある。Brookes らは、DNA との結合が、特に結合量を代謝能で除した値が、発癌性によりよく一致すると報告しているが^{20,21)}、Heidelberg らは、むしろ蛋白質への結合が発癌性を反映していると主張している⁹⁾。両者のちがいが、データの差というよりはむしろ解釈の差であるように思える。いずれにしても、相関関係はメカニズムを示唆しても、メカニズムそのものとはなりえない。

3. 発癌剤と蛋白質の結合

核酸との結合が明らかになる前、1950年代は蛋白質と発癌剤の結合が、中心的な研究テーマであつた。1947年 Miller が、アゾ色素と肝蛋白の共有結合を報告した²²⁾ のにつぎ、AAF²³⁾、炭化水素系発癌剤²⁴⁾ でも、同様の結合が見出された。これらの所見を基にして、“蛋白欠損説”が脚光をあびた (Miller)²⁵⁾。すなわち成長調節をつかさどる蛋白に発癌剤が結合することにより、細胞が癌化するという考えである。Pitot と Heidelberg は、この説を補強し、結合する蛋白質がリプレッサーであれば、結合によつて生じた変化は、細胞の子孫に受けつがれることを理論づけた²⁶⁾。蛋白質との結合によつて、癌ができることも、理論的には可能であるといえる。

発癌剤と蛋白質の結合に関する現在の中心研究テーマは、結合蛋白質の分離精製である。発癌剤と特異的に結合する蛋白質は、Sorof の命名に従い“h-蛋白”と呼ばれることが多い。その1つの例として、われわれが培養細胞から分離した h-蛋白²⁷⁾ について簡単に述べてみ

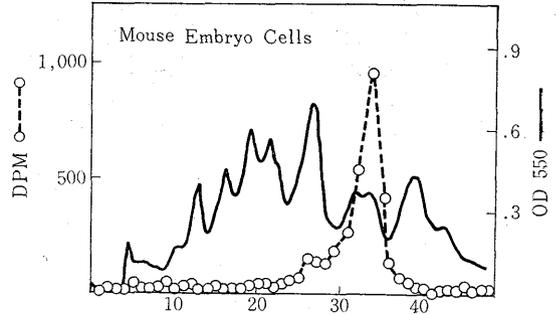


図5 マウス胎児細胞の h-蛋白²⁷⁾

³H-メチルコラントレン 1 μg/ml 添加, 24 時間後に、本文に記した方法で、h-蛋白を SDS-ポリアクリルアミドゲル上に分離した。ゲルは、20%スルホサリチル酸一晩固定。0.25%クマンブルー4時間染色。7.5%酢酸で脱染色後、ギルホードスキャンナーで走波 (550nm)。放射活性は、2mm 幅にゲルをスライスし、30% H₂O₂ 60°C で1晩とかし、シンチゾールを10 ml 加えて測定した。

表2 嚙歯類細胞の h-蛋白²⁷⁾

細胞	モノマーの分子量	比活性
マウス皮膚	22,000	6.8
マウス胎児細胞	21,000	4.4 ± 0.4
マウス前立腺細胞	22,000	1.7
ハムスター胎児細胞	20,000	0.65 ± 0.10
チャイニーズハムスター肺	22,000	1.9
ラットエンブリオ	20,000	1.4

1 μg/ml ³H-メチルコラントレン添加 (皮膚は100 μg/マウス塗布) 24時間後に、本文および図5に示した方法で、h-蛋白を SDS-ポリアクリルアミドゲル上に分離した。比活性は pmole/ウシ血清20 μg 相当バンドで示した。

よう。対数増殖期の細胞に、トリチウムラベル発癌剤を添加し、24時間後に細胞を EDTA 液であつめる。約2~4億コの細胞をダウンス型ホモジナイザーで、核と細胞質に分離し、細胞質画分から105,000 × g 上清を得る。セファデックス G-25 で結合していない遊離の発癌剤を除き、DEAE-セルロースカラムで、0.1M NaCl 存在下で素通りする分画を得る。濃縮後、SDS ポリアクリルアミドゲルにかけると、10~12のバンドに分かれるが、発癌剤の放射活性は分子量22,000前後のバンドに局在している (図5)。セファデックス G-100 による分画では、分子量約45,000が得られるところから、ダイマーであると思われる。等電点は8.05。この蛋白は、調べた

表3 発癌剤との結合蛋白および他の結合蛋白の特性

物質	組織	分子量 (モノマー)	等電点	著者
アゾ色素 (DAB)	ラット肝	70,000 (43,000)	—	Sorof (28)
アゾ色素 (DAB)	ラット肝	160,000	I : 5.2 IV : 8.0 VII : 8.6	Sugimoto (29, 30)
アゾ色素 (DAB)	ラット肝	45,000 (23,000)	8.4	Ketterer (31)
炭化水素	マウス皮膚	40,000 (20,000)	8.05	Tasseron (32)
炭化水素	嚙歯類培養細胞	44,000 (22,000)	basic	Kuroki (27)
炭化水素	ラット肝	45,000 (23,000)	8.65	Litwack (33, 34)
コーチゾン	ラット肝	50,000	8.9	Litwack (34, 35)
ビリルビンなど	ラット肝	36,000	basic	Arias (36, 37)
サイクリック AMP	大腸菌	45,000 (22,000)	9.12	Anderson (38)

範囲の嚙歯動物 (ラット, マウス, ハムスター, チャイニーズハムスター) に存在するが (表2), ヒトの細胞からは検出されなかつた。悪性化した細胞では, 電気泳動上 h-蛋白に相当するバンドが同じ程度の量存在しているが, 発癌剤の放射活性はみられない。その理由として, h-蛋白の構造または機能の変化, 代謝の低下の2つが考えられる。K-領域エポキシドを用いた実験でも明解な結論は得られなかつた。h-蛋白との結合は, 発癌剤の代謝を介して行なわれる。デベンツアントラセン (DBA) のK領域エポキシドは DBA よりも, 8倍多く結合する。しかし, フェノール, デオールはほとんど結合しなかつた。

表3は, 現在までに分離された h-蛋白の特性 (分子量, 等電点) を比較したものである。Sorof²⁸⁾ および杉本^{29,30)} らの成績は, アゾ色素で飼育したラット肝より分離した値で, 分子量が他の報告と異なる。興味があるのは, 飼育期間を経るにしたがい, 結合蛋白がより塩基性のものに変化するという杉本らの成績である。他の4つの値は^{27,31-34)} 腹腔内注射, 皮膚塗布, 培養細胞への添加など, より直接的な投与で得た成績である。動物, 臓器, 細胞, 発癌剤が異なるにもかかわらず, 4つの値はいずれも非常によく似ている。分子量 20,000~23,000のモノマーからなるダイマーで, 弱塩基性の等電点をもつ。さらに興味をひくのは, これらの値は, 他の結合蛋白, ラット肝のコーチゾン^{34,35)}, あるいは色素と結合する蛋白^{36,37)}, また, 大腸菌から精製されたサイクリック AMP 結合蛋白³⁸⁾ と近似している。サイクリック AMP 結合蛋白を除く他の蛋白は, 最近 “ligandin” の名で総称されつつある。ligandin と発癌剤の結合が, どのようにして細胞を癌化に導くかは, 今後に残されたテーマである。この数年の間に, サイクリック AMP が

細胞の増殖の調節制御に何らかの形で関与していることが次第に明らかになりつつある。その意味で, h-蛋白が大腸菌のサイクリック AMP 結合蛋白と分子量, 等電点が一致しているという成績は非常に興味深い。動物細胞のサイクリック AMP 結合蛋白は, まだ分離精製されていない。しかし, DEAE-セファデックスカラムで, 0.2 MKCl 附近に流出する点から考えて³⁹⁾, 少なくとも等電点は ligandin と異なるように思われる。

以上のように, 結合蛋白の詳細は次第に明らかにされつつあるが, その機能, 発癌における意味は, 依然として不明のままである。言えることは, 特異的な結合は, 特異的な機能を何らかの形で反映しているであろうという推測のみである。

4. 発癌剤の結合の持続性と修復機構

発癌剤と核酸, 蛋白質の結合は, 長期間にわたり細胞内にとどまるであろうか。あるいはそれを取り除くような “修復” 機構が存在するであろうか。そのような修復が, すでに知られている機構, たとえば紫外線による傷害修復機構と一致しているか, 修復の際の “あやまり” が, 癌化に結びつく可能性などの非常に重要な問題が残されている。

結合した発癌剤が長期間にわたり残ること (persistent binding) は, アゾ色素, AAF, 炭化水素系発癌剤で確認されている (図6)^{9,40-45)}。図7は, 培養細胞をトリチウムラベル発癌剤と ¹⁴C-チミジンでラベルしたものの増殖と放射活性の関係である⁹⁾。細胞が対数的に増殖しているときには, 発癌剤は細胞分裂によつて稀釈されるが, ³H/¹⁴C の比も低下する。その減少の半減期は148時間, 細胞の倍加時間は37時間であるので, 1回の細胞分裂当り約15%の結合発癌剤が除かれることになる。こ

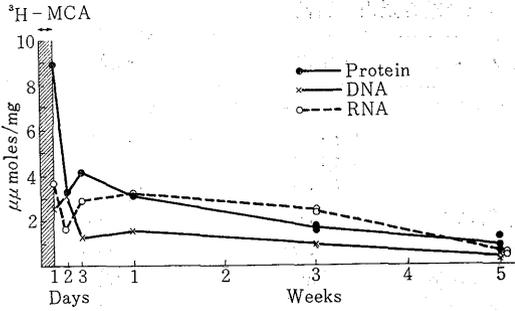


図6 発癌剤の持続結合⁹⁾

対数増殖期のマウス前立腺細胞に³H-メチルコラントレンを24時間添加後、5週間にわたって核酸、蛋白質への結合をみた。細胞増殖がとまった後(1週間以後)は、結合は安定である。

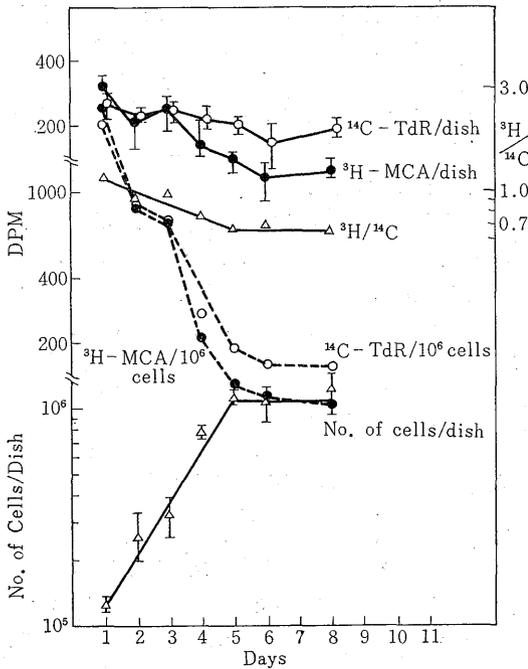


図7 結合した発癌剤の安定性と細胞増殖の関係⁹⁾

の発癌剤がどのような形の結合のものか分からないが、おそらく蛋白への結合であろう。しかし、細胞の増殖がとまると、³H/¹⁴C比も一定の値を保つところから、分裂のない条件では、結合した発癌剤は比較的に安定であると思われる。

Kriek は、AAF と DNA 塩基の結合に、安定な形と、比較的にやく除かれる結合のあることを見出した⁴⁵⁾。すなわち、グアノシンの8Cと結合したAAFは、約7日の半減期で減少するのに対し、グアノシンの他の結合

形(構造未決定)は、56日にわたって安定に保たれた。

紫外線(UV)によるDNA傷害と、発癌剤によるその間に、ある程度の相関が認められている。たとえば、UVに感受性の菌は4NQOに感受性が強く⁴⁶⁾、UV傷害修復を欠損している色素性乾皮症患者より得た細胞は、4NQO、AAFによる傷害を修復できない⁴⁷⁻⁵⁰⁾。しかし、ニトロソグアニジン(MNNG)による傷害とは異なるらしい⁴⁹⁾。Liebermanらは、ヒトリンパ球が、AAF、アルキル化剤による傷害を修復することを見出した⁵¹⁾。この修復の際に結合した発癌剤(7BrMBA)のうち、アデニンとの結合がグアニンとの結合よりも、より多く除外される⁵²⁾。最近、UV感受性、非感受性の大腸菌を用いて、7BrMBAとDNAの結合の修復の仕事が報告された⁵³⁾。それによると、DNAと7BrMBAの結合は、UV照射の際のチミジンダイマーと同様に、切り出し修復を受ける。修復はグアノシンN₂との結合が、シチデンN₄、アデノシンN₆結合よりも受けやすい。

このように、発癌剤による傷害と修復の研究は、まだはじまつたばかりであり、今後の発展が大いに期待される。特に紫外線による致死効果との類似性は、行き詰っていた感のある化学発癌研究の1つの突破口となるように思われる。

5. 発癌性と突然変異性

発癌性と突然変異性の関係は、古くから議論されてきた問題である。この1、2年に、ほとんどすべての発癌剤に突然変異作用があることが明らかになり、発癌の突然変異説が、さらに説得力をもつようになった。表4に、現在までに報告された発癌剤の変異作用のうち、細菌またはフェージを用い、そのメカニズムまで明らかにされたものをまとめた。大部分の発癌剤は、塩基置換またはframeshift型の変異をひき起こす。これらの成績が得られるようになったのは、1つには、発癌剤の代謝の詳細が明らかになり、活性型発癌剤の合成ができるようになったことと、さらに、検出に鋭敏な系の開発である。細菌は、哺乳類細胞と異なり発癌剤を活性型に代謝できない。このため、代表的な発癌剤である炭化水素系物質には突然変異作用が見つからなかつた⁵⁴⁾。しかし、1の項で述べたように、K領域エポキシドの発見により、この発癌剤にも突然変異作用(frameshift)が見出された⁶¹⁾。代謝の詳細の分かつていない発癌剤では、host-mediated assay—すなわち、動物体内で代謝させたのち、細菌に添加する方法—によつて、突然変異性を検出することもある程度可能である。敏感な検出系としては、Amesらによるネズミチフス菌のヒスチ

表 4 化学発癌剤の細菌，ファージに対する突然変異作用

物質	使用菌またはファージ	変異型	文献
β -プロピオラクトン	T 4	GC→AT Frameshift	54)
プロパンサルトン	T 4	GC→AT AT→GC Frameshift	54)
グリシドアルデヒド	T 4	AT→GC Frameshift	54)
ナイトロジェンマスタード	T 4	Large deletions GC→AT	54)
ニトロングアニジン		AT→GC GC→AT deletion	55)
ニトロソピペラジン	S. typhimur. (host mediated)	mutagenic	56)
N-アセトキ AAF	T 4	AT→GC Frameshift	54, 57)
	B. Subtilis	mutagenic	58)
N-ベンゾイロキシ MAB	B. Subtilis	mutagenic	58)
4NQO	T 4	GC→AT	59)
	S. typhim.	Frameshift	60)
K-領域ニボキシド BA, DBA	S. typhimur.	Frameshift	61)
アラトキシ B 1	B. Subtilis	mutagenic	62)

ジン要求株を用いた実験系がある^{57,61)}。この菌は、UV照射による傷害修復を欠損しており、このため特に共有結合するような物質に対して感受性が高い。

多くの発癌剤は突然変異作用をもつが、すべての突然変異物質が発癌性をもつとは限らない。たとえば、よく知られている変異誘起剤である亜硝酸、ヒドロキシアミン、アクリジンオレンジは発癌性がない。このことは、発癌が単純な突然変異ではなく、いくつかの変異の集積、あるいは変異後にさらに何らかの変化が起こることを必須とするためかもしれない。

* * *

以上、与えられたテーマである化学発癌剤と生体高分子との相互作用についての総説を試みた。長い歴史をもつ化学発癌の研究は、いくつかの屈折点をへて、ふたたび発展期をむかえた感がある。発癌の基礎的な研究が、やがて癌の予防、治療につながることを期待したい。

文 献

- 1) Miller, J.A.: *Cancer Res.* 30: 559, 1970.
- 2) Tada, M. & Tada, M.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 46: 1025, 1972.
- 3) Grover, P.L., Sims, P., Huberman, E., Marquardt, H., Kuroki, T. & Heidelberger, C.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 68: 1098, 1971.
- 4) 黒木登志夫, 渡辺民朗: 蛋白質・核酸・酵素, 17:

- 927, 1972.
- 5) Boyland, E. & Green, B.: *Brit. J. Cancer.* 16: 507, 1962.
- 6) Heidelberger, C.: *J. Cell. Comp. Physiol.* 64 (Suppl. 1): 129, 1964.
- 7) Nagata, C., Kodama, M., Tagashira, Y. & Imamura, A.: *Biopolymers.* 4: 409, 1966.
- 8) Arcos, J.C. & Argus, M.F.: *Adv. Cancer Res.* 11: 305, 1968.
- 9) Kuroki, T. & Heidelberger, C.: *Cancer Res.* 31: 2168, 1971.
- 10) 永田親義: 蛋白質・核酸・酵素, 15: 16, 1970.
- 11) Dipple, A., Brookes, P., MacKintosh, D.S. & Rayman, M.P.: *Biochemistry.* 10: 4323, 1971.
- 12) Grover, P.L. & Sims, P.: *Biochem. J.* 110: 159, 1968.
- 13) Gelboin, H.V.: *Cancer Res.* 29: 1272, 1969.
- 14) Grover, P.L. & Sims, P.: *Biochem. Pharmacol.* 19: 2251, 1970.
- 15) Grover, P.L., Forrester, J.A. & Sims, P.: *Biochem. Pharmacol.* 20: 1297, 1971.
- 16) Kuroki, T., Huberman, E., Marquardt, H., Selkirk, J.K., Heidelberger, C., Grover, P.L. & Sims, P.: *Chem.-Biol. Interactions.* 4: 389, 1971/72.
- 17) Süß, R. & Mauer, H.R.: *Nature.* 217: 752, 1968.
- 18) Marquardt, H., Bendich, A., Phillips, S. & Hoffman, D.: *Chem.-Biol. Interact.* 3: 1, 1971.
- 19) Yuspa, S.H., Eaton, S., Morgan, D.L. & Bates,

- R.R.: *Chem.-Biol. Interact.* 1: 223, 1969/70.
- 20) Brookes, P. & Lawley, P.D.: *Nature.* 202: 781, 1964.
 - 21) Duncan, M. & Brookes, P.: *Int. J. Cancer.* 4: 813, 1969.
 - 22) Miller, E.C. & Miller, J.A.: *Cancer Res.* 7: 468, 1947.
 - 23) Miller, E.C. & Miller, J.A.: *J. Natl. Cancer Inst.* 15: 1571, 1955.
 - 24) Heidelberger, C. & Moldenhauer: *Cancer Res.* 16: 442, 1956.
 - 25) Miller, E.C. & Miller, J.A.: *Cancer Res.* 12: 547, 1952.
 - 26) Pitot, H.C. & Heidelberger, C.: *Cancer Res.* 23: 1694, 1963.
 - 27) Kuroki, T. & Heidelberger, C.: *Biochemistry.* 11: 2116, 1972.
 - 28) Sorof, S., Kish, V.M. & Sani, B.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 48: 860, 1972.
 - 29) Sugimoto, T. & Terayama, H.: *Biochim. Biophys. Acta.* 214: 533, 1970.
 - 30) Sugimoto, T. & Terayama, H.: *Chem.-Biol. Interact.* 2: 391, 1970.
 - 31) Ketterer, B., Ross Mansell, P. & Whitehead, J.K.: *Biochem. J.* 103: 316, 1967.
 - 32) Tasseron, J.G., Diringer, H., Frohwirth, N., Mirvish, S.S. & Heidelberger, C.: *Biochemistry.* 9: 1636, 1970.
 - 33) Singer, S. & Litwack, G.: *Cancer Res.* 31: 1364, 1971.
 - 34) Litwack, G. & Morey, K.S.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 38: 1141, 1970.
 - 35) Morey, K.S. & Litwack, G.: *Biochemistry.* 8: 4813, 1969.
 - 36) Levi, A.J., Gatmaitan, Z. & Arias, I.M.: *J. Clinical Invest.* 48: 2156, 1969.
 - 37) Arias, I.M.: *Chem.-Biol. Interact.* 3: 237, 1971.
 - 38) Anderson, W.B., Schneider, A.B., Emmer, M., Perlman, R. & Pastan, I.: *J. Biol. Chem.* 246: 5929, 1972.
 - 39) 未発表成績
 - 40) Warwick, G.P. & Roberts, J.J.: *Nature.* 213: 1206, 1967.
 - 41) Szafarz, D. & Weisburger, J.H.: *Cancer Res.* 29: 962, 1969.
 - 42) Irving, C.C. & Veazey, R.A.: *Cancer Res.* 29: 1799, 1969.
 - 43) Irving, C.C., Peeler, T.C., Veazey, R.A. & Wiseman, R., Jr.: *Cancer Res.* 31: 1468, 1971.
 - 44) Hughes, P.E. & Pilezyk, R.: *Chem.-Biol. Interact.* 1: 307, 1969.
 - 45) Krick, E.: *Cancer Res.* 32: 2042, 1972.
 - 46) Kondo, S., Ichikawa, H., Iwo, K. & Kato, T.: *Genetics.* 66: 187, 1970.
 - 47) Stich, H.F. & San, R.H.C.: *Mutation Res.* 13: 279, 1971.
 - 48) Setlow, R.B. & Regan, J.D.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 46: 1019, 1972.
 - 49) Stich, H.F., San, R.H.C., Miller, J.A. & Miller, E.C.: *Nature New Biol.* 238: 9, 1972.
 - 50) Stich, H.F., San, R.H.C. & Kawazoe, Y.: *Nature.* 229: 416, 1971.
 - 51) Lieberman, M.W., Baney, R.N., Lec, R.E., Sell, S. & Farber, E.: *Cancer Res.* 31: 1297, 1971.
 - 52) Lieberman, M.W. & Dipple, A.: *Cancer Res.* 32: 1855, 1972.
 - 53) Venitt, S. & Tarmy, E.M.: *Biochim. Biophys. Acta.* 287: 38, 1972.
 - 54) Corbett, T.H., Heidelberger, C. & Dove, W.F.: *Mol. Pharmacol.* 6: 667, 1970.
 - 55) 尾辻 望：蛋白質・核酸・酵素. 17: 414, 1972.
 - 56) Zeiger, E., Legator, M.S. & Lijinsky, W.: *Cancer Res.* 32: 1598, 1972.
 - 57) Ames, B.N., Gurney, E.G., Miller, J.A. & Bartsch, H.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 69: 3128, 1972.
 - 58) Maher, V.M., Miller, E.C., Miller, J.A. & Szybalski, W.: *Mol. Pharmacol.* 4: 411, 1968.
 - 59) Ishizawa, M. & Endo, H.: *Mutation Res.* 12: 1, 1971.
 - 60) Hartman, P.E., Hartman, Z. & Berger, H.: *Science.* 172: 1058, 1971.
 - 61) Ames, B.N., Sims, P. & Grover, P.L.: *Science.* 176: 47, 1972.
 - 62) Maher, V.M. & Summers, W.C.: *Nature.* 225: 68, 1970.

化学物質による培養細胞の癌化

角 永 武 夫

はじめに

細胞レベルでの癌化の機構について、これまで幾多の仮説が提唱されてきた。それらは考え方として大きく2つに分けられる。1つは細胞遺伝子の構造上の変化、すなわち体細胞変異 (somatic mutation) で、他の1つは遺伝子機能の発現のしかたにおける変化である。この2つのうちのいずれか一方のみによつてすべての癌化が起こっているというより、いずれの機構によつても癌化は起こり得て、そのいずれであるかは場合によつて異なると考えた方がよいように思われる。後者は分化などの細胞形質の発現における制御機構として考えている研究者は多く、細胞癌化の場合にもあてはまるのではないかと考える人は少なくない。しかし、実際に細胞の癌化に関連してこれまでに得られている知見は、前者を推定させるものが圧倒的に多い。その主な例を次に示す。

1) 発癌物質は変異誘発能を有する。発癌物質が、フェージ、細菌などにおいて強力な変異誘起剤であることはかなり以前から知られており、最近では哺乳動物培養細胞においても表現形質上の変異——厳密な意味の変異であるか否かは不明——を誘発することが報告されている^{1,2)}。また、従来、変異誘発能がないとされていた発癌物質も、その代謝中間物質である活性物質はどの生物でも変異誘発能を示すことが最近明らかになりつつある³⁻⁸⁾。

2) DNA 損傷の除去修復能を遺伝的に欠く色素性乾皮症患者において、驚くべき高率の癌発生がみられる⁹⁻¹¹⁾。

3) 発癌物質によつて染色体異常が誘発され、一方、癌細胞は染色体に異常があるのが通例である。

4) 発癌物質は一般に DNA との親和性が強く、その親和性と発癌性とがよく平行するとの報告もある^{12,13)}。

5) 発癌物質の処理によつて DNA 鎖切断が生じ、細胞内に unscheduled DNA 合成が誘起される^{14,15)}。

6) 後述のごとく、発癌物質あるいは X 線処理後の細胞分裂が、細胞癌化に必要であるとの報告がある¹⁶⁻¹⁹⁾。

筆者は原則として、前述の2つの癌化機構のいずれにも可能性を認めるものであるが、現実には変異を推定させる知見が上記のごとく数多く得られていること、および遺伝子機能発現制御機構に関する実験的アプローチが哺乳動物では現在きわめて難しいことから、ここでは細胞の癌化と変異との関連について筆者らの化学物質による培養細胞の癌化の系で得られた知見を中心に述べる。

1. 化学物質による培養細胞癌化の定量的システム

大量の培養細胞にある化学物質を接触させてから継代培養すると、癌化した細胞が出現する、しない、といった類の定性的な培養細胞の癌化は、今やほとんどのグループの発癌性化学物質によつても起こりうる事が明らかにされている。しかし、癌化機構の解析に絶対必要な系、すなわち癌化の頻度を量的に測定しうる系はまだ数少ない。

Sachs らの研究グループ^{16-18,20)}と Di Paolo らのグループ²¹⁾は、それぞれハムスター胎児の初代および2代培養細胞のクローン培養に化学物質や X 線を処理し、1~7日後に形成されたコロニーのうち、形態的な変化を示しているコロニーの数を測定することによつて細胞変換 (cell transformation) の率を求めている。この系は形態変化を客観的に判定することがきわめて難しいこと、指標としている形態変化が癌化そのものを意味していないらしいこと、および培養3代目以降の細胞ではまづたく細胞変換が誘起されないことなどの欠点がある。

一方、株化細胞では、Heidelberger ら¹⁹⁾の、マウス前立腺由来の株化クローン細胞が炭水素系発癌物質によつて癌化する系と、筆者ら^{22,23)}の A31 (Balb/3T3 由来のクローン) からさらに筆者が選択的に分離したクロー

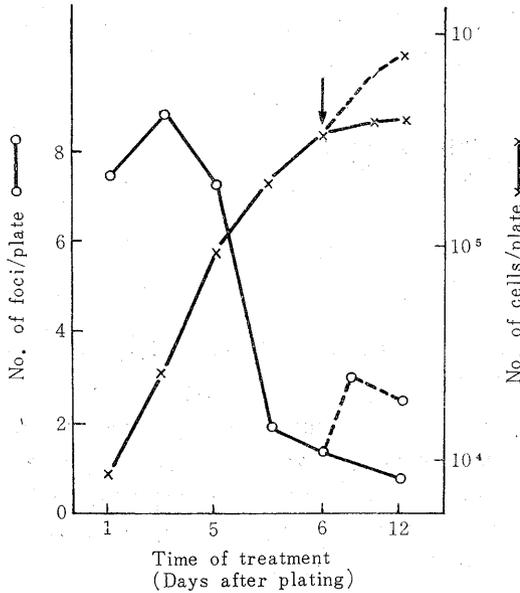


図1 MCA 処理時の細胞密度と変換細胞集数との関係。A31-714 細胞に MCA 処理 (1 μ g/ml, 24 時間) 後、4 週目に染色して変換細胞集数を測定。実線：全期間通常の血清濃度 (10%) で培養。点線：植え込み後 9 日目から 12 日目まで血清濃度を 30% に上昇させた

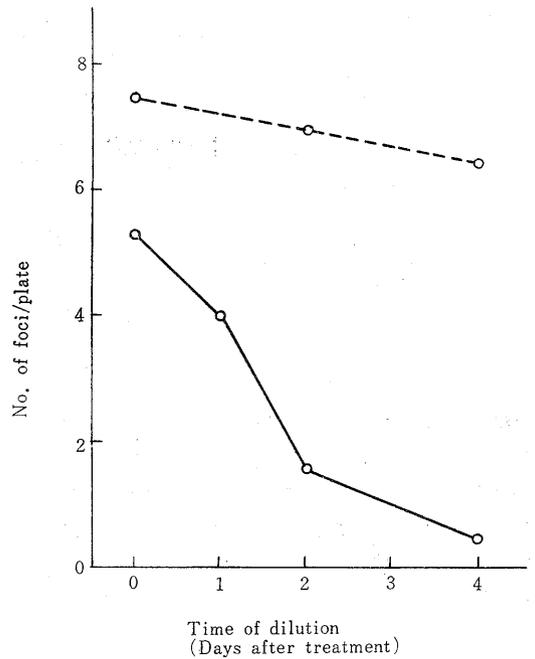


図2 飽和密度状態の細胞に MCA 処理した場合の処理後稀釈継代までの培養期間と変換細胞集数との関係。A31-714 細胞の植え込み後 12 日目の飽和密度状態時に MCA 処理 (図 1 に同じ) し、経日的に 4 倍稀釈継代して、さらに 4 週間後に変換細胞集数を測定。実線および点線は図 1 にそれぞれ対応

ン細胞 (A31-714) が炭化水素系のみならず 4NQO, N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine によっても癌化する系とがある。いずれも細胞に化学物質を 0.5 時間 ~ 6 日間作用させ、そのまま継代することなしに 2 ~ 4 週間培養し、出現した focus (単層の細胞層の中に focus 様に出現した高密度の重なり合った細胞集団集) の数を測定し、癌化 (ここでは以下細胞変換と記す) の頻度を求めている。発癌物質処理から判定までに要する期間がやや長い、指標とした増殖形態の変化が腫瘍性の変化と一致することや株クローン細胞を用いていることなど、細胞癌化の解析に大きな利点を有している。

2. 細胞分裂の必要性

Sachs ら^{17,18)}は、X線照射による細胞の形態変化が安定に細胞に固定 (fix) されるには、照射後 3 日以内に 2 回以上の細胞分裂が起こることが必要であると報告している。Chen と Heidelberger¹⁹⁾は、細胞の密度が高くなった状態では、3-methylcholanthrene (MCA) による細胞変換の頻度が結果として低下すると報告している。なお、Sachs らの X 線照射による形態変化はその後追試成功が報告されておらず、そのほか観察されている形態変化の性質について疑問の点が多いが、概念的には微生物の変異の過程に関する知見に類似する点があつて興味深い。

筆者らは、まず発癌物質処理の細胞密度と癌化との関係をしらべてみた。図 1 に示すごとく、細胞が増殖して、飽和密度に近くなつた時点以降での MCA 処理 (1 μ g/ml, 1 日間) では、細胞変換の率は低下した。飽和密度に達した状態 (confluent) の時に (植え込み後 9 日目)、培養血清濃度を 30% に上げると、1 ~ 2 回の細胞分裂が起こつて飽和密度は約 2 倍になるが、この時点での MCA 処理でも変換率は高くなかなかつた。また、この飽和状態あるいは血清濃度上昇時に MCA 処理をした細胞を MCA を洗い去つた後培養し、経日的にトリプシン処理をして 4 倍に稀釈継代して変換率をしらべてみると、図 2 に示すごとく、前者では MCA 処理後 2 日までに稀釈継代すれば変換率が高くなるが、3 ~ 4 日経てからの稀釈継代では変換細胞の出現は非常に低率であつた。一方、後者 (血清濃度上昇時に MCA 処理した場合) では、MCA 処理後そのまま 4 日間維持した後でも、稀釈継代によつて同程度に変換細胞が出現した。

以上の実験結果から、MCA による細胞変換の条件と

して種々の要因が考えられるが、1つには Sachs らが推定したように、処理直後1~2回の細胞分裂が細胞変換の固定に必要であることが考えられる。そこでこれを確かめるべく、一定数の細胞に4NQO処理(0.1 μ g/ml, 30分)をした後の0~18または0~36または36~72時間の間、それぞれDNA合成の可逆的阻害剤である、hydroxyurea (HU)を加えて細胞のscheduled DNA合成を阻害した場合の変換率をしらべた。その結果、4NQO処理直後から36時間HUを加えた時4NQOによる細胞変換率が減少した。4NQO処理後36時間以後でのHU添加は変換率には大きな影響がなかった。

したがって、4NQO処理後約36時間以内の細胞のscheduled DNA合成または、それに付随する過程が、4NQOによる細胞変換が細胞に固定されるのに必要と考えられる。

3. Unscheduled DNA 合成の誘起と時間的経過

発癌物質処理後、DNA合成または分裂がない状態では発癌剤の作用が消失するという上記の現象の原因として、主に2つの可能性が考えられる。1つは、発癌物質は細胞内に活性状態で一定期間しか存在せず、細胞のDNA合成または分裂の過程がそのtargetであるという可能性であり、もう1つは発癌物質によつて誘起された“ある変化”が細胞内に安定に固定されるにはDNA合成または分裂過程が必要であるが、それ以前に細胞の何らかの機構によつて“ある変化”が修復または修飾されてしまうという可能性である。前者についての実験的根拠は現在ないが、後者の可能性を支持するものとして

発癌物質によつて unscheduled DNA 合成が一定期間誘起される知見がある^{14,15}。unscheduled DNA 合成は、DNA 損傷の主として切除修復を反映していると考えられているので、これは発癌物質によつて DNA 損傷が生じ、それに伴つて損傷を修復するべく unscheduled DNA 合成が誘起されたと考えられる。

contact-inhibition のよくかかつた状態の A31-714 細胞に 4NQO を 30 分作用させオートラジオグラフィで H^3 -チミジンの酸不溶性部分へのとりこみをしらべると、4NQO の濃度に依存して核内に unscheduled DNA 合成が誘起され、その時間的経過は図3に示すように、4NQO 処理直後から約36時間におわたつて続いた。この36時間という期間は、ちょうど4NQO処理後、細胞変換が固定されるに必要な細胞DNA合成が存在しなければならない時間に相当する。HU や caffeine は unscheduled DNA 合成にほとんど影響を与えなかつた。したがって、4NQO 処理後 HU で scheduled DNA 合成を阻害しておく、4NQO による DNA 上の損傷が、unscheduled DNA 合成によつて反映されるような機構によつて修復または修飾を受けてしまうという可能性が成立する。

4. Caffeine の影響

動物細胞には DNA 損傷の種々の修復機構が存在すると考えられており、切除修復と Post replication repair とが現在主に研究されている。一方、caffeine が DNA 損傷の修復および組換を阻害し、細胞致死や変異および組換の頻度に大きな影響を与えることが、主として細菌

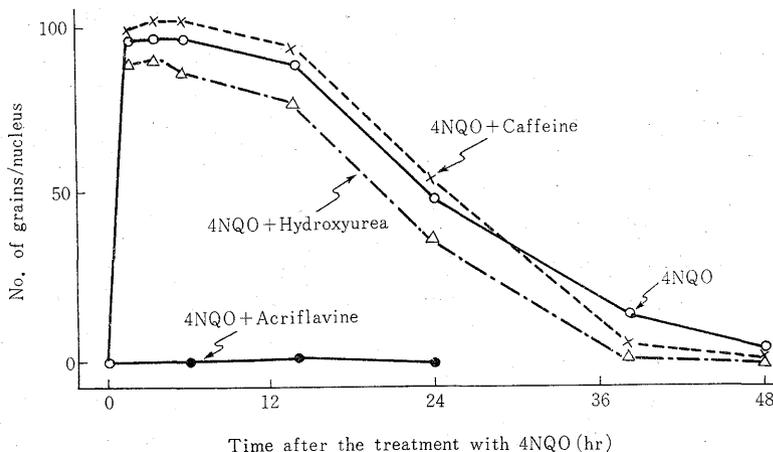


図3 4NQO処理による Unscheduled DNA合成誘起の時間的経過とそれに及ぼす Hydroxyurea, Caffeine および Acridine の影響。A31-714細胞に4NQO処理(0.4 μ g/ml, 30分)後、経時的に H^3 -チミジン(8 μ c/ml, 1時間ラベル)の酸不溶性画分へのとりこみをオートラジオグラフィでしらべた

を用いた実験で明らかとなっている²⁴⁻²⁹。

先に、caffeine は 4NQO 処理後の unscheduled DNA 合成には影響を与えない結果を示したが、次に 4NQO による細胞致死と細胞変換に及ぼす影響をしらべた。

4NQO 濃度-生存コロニー形成率曲線を caffeine 2mM 存在下と非存在下でしらべると、caffeine によつて、4NQO による細胞致死が大きく増強されることがわかった。

caffeine の作用時期をしらべるために増殖期の細胞に 4NQO 処理をした後、次いで ① caffeine 非存在下にある時間培養した後に caffeine を培養液に添加、あるいは、②逆に caffeine 存在下にある時間培養した後 caffeine を含まない培養液で培養した場合の生存コロニー形成率を、前者は caffeine 非存在下培養の時間、後者は caffeine 存在下培養の時間に対してそれぞれプロットした。その結果、前者①では caffeine 非存在下培養の時間が短いほど、後②では caffeine 存在下での培養の時間が長いほど caffeine による生存コロニー形成率の減少が大きく、4NQO 処理後 48 時間以内に caffeine 感受性の過程が存在することが判明した。

さらに、細胞致死効果について、4NQO および caffeine が細胞周期のどの過程でもつとも大きな効果を与えるのかをしらべた。contact-inhibition がよくかかった状態の細胞を希釈継代すると周期が同調されることを利用して、contact-inhibition がよくかかった状態（ここでは一応 G₁ 期としておく）、あるいは S 期に入る時点の細胞に 4NQO を処理し、ある期間培養してから、caffeine を添加しそのまま caffeine 存在下にコロニー形成率をみると図 4 のごとく、4NQO のみによる細胞致死効果は、いずれの周期に処理した場合でも同じであつた。一方、4NQO 処理後、1 回 S 期を過ぎてからの caffeine 添加では caffeine による 4NQO-細胞致死効果の増強は、ほとんど認められなかつた。したがつて 4NQO-細胞致死効果の増強に関する caffeine の作用点は、4NQO 処理後の最初の S 期にあると考えられる。

L 細胞において、UV による細胞致死が caffeine によつて増強され³⁰⁻³³、その作用点はやはり最初の S 期にあること^{31,32}、また UV によつて誘起された DNA 複製後の不連続娘鎖の連結を caffeine が抑制することが報告されている³⁴。おそらく caffeine は post replication repair を阻害することによつて 4NQO-細胞致死効果を増強するものと考えられる。

次に、4NQO による細胞変換に対する caffeine の影響をしらべた。4NQO 処理 (0.05~0.1 μg/ml, 30分) 後、ただちに caffeine を含む培養液で培養し、48 時間

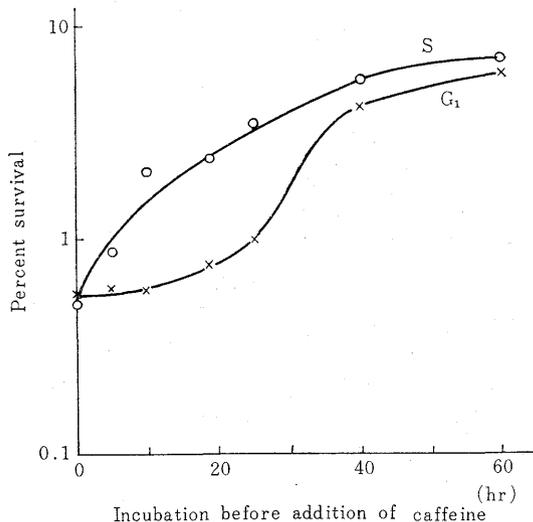


図 4 同調培養細胞における 4NQO の細胞致死効果とそれによぼす Caffeine の影響。G₁ 期および S 期の初期に同調培養された A31-714 細胞に 4NQO (0.1 μg/ml, 30分) 処理し、経時的に Caffeine を加えた時のコロニー生存率を、4NQO 処理後 1 週間目に測定。Caffeine の添加期間はすべて 48 時間とした。○印：S 期の初期に 4NQO 処理。×：G₁ 期 (contact-inhibition のよくかかった状態) に 4NQO 処理

後、caffeine を洗い去り、さらに 30 日間培養して変換細胞の foci を測定した結果、caffeine 処理をしなかつた対照群の約 1/4~1/10 であつた。なお、この場合、4NQO 処理は一定濃度の細胞浮遊液で行ない、植え込みはシャーレ当りの生存細胞数が一定となるように計算量の細胞数を植え込んだ。詳細な実験は現在進行中であるが、上記の結果は hcr⁻ の E. Coli において、UV による変異および組換の頻度が caffeine によつて抑制されるという知見に類似している。

おわりに

主として細菌を用いての研究から、UV や化学物質などの変異誘起剤による変異誘起の過程に、DNA 上の損傷とその修復ならびに修復の誤りが重要な位置を占めていることが明らかとなっている^{28,29,35}。変異誘起剤の種類によつてその過程は異なるが、UV や 4NQO などについては次のように考えられている。すなわち、誘起された DNA 上の損傷は種々の修復機構によつて修復されるが、そのうち post replication repair、とりわけ組換修復の際の誤りによつて元とは異なつた DNA 構造が生じ変異の原因となる。除去修復の増減は組換修復の機

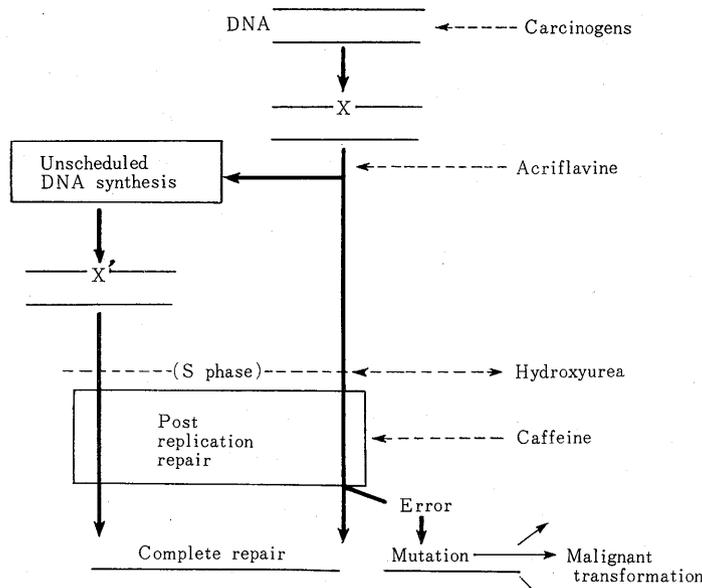


図5 発癌物質による培養細胞の癌化過程のドグマ

会の増減に影響することによつて変異の頻度に影響を与える。この考え方、ならびに caffeine の効果に関するいくつかの知見を参考に、筆者らが得た実験結果から、発癌物質による細胞癌化の過程について図5のごときドグマを立ててみた。ただし、このドグマを立てるには当然いくつかの仮定が必要で、ことに発癌物質処理後 scheduled DNA 合成を阻害しておくで発癌効果が細胞に固定されない原因は、DNA 損傷が unscheduled DNA 合成として認められるような過程によつて修飾されてしまうために、post replication repair の誤りが誘発されがたくなることによるという推測が前提となつて

いる。
マウス細胞では、一般に除去修復は認められていないが、UV や化学物質による unscheduled DNA 合成の誘起が報告されており、A31-714 細胞においても 4NQO 処理によつて誘起されることが確かめられた。unscheduled DNA 合成が何を意味しているかは不明であるが、DNA 上の損傷を何らか修飾するものであることにほぼ間違いのないであろう。このドグマ自体は不完全で多分に空想的要素の多いものであるが、今後の研究に有用であらう。

筆者が培養細胞の癌化について得た実験結果は、これまでのところ、化学物質による細胞癌化が変異の機構による可能性を支持するものと考えられる。

最後に、この研究を進めるにあたり貴重なご助言をいただいた当研究室の釜洞、豊島西教授および大阪大学医

学部近藤教授をはじめ多数の方々、ならびに実験に協力していただいた当教室の宮下君に感謝いたします。

文献

- 1) Huberman, E., et al.: Mutagenicity to mammalian cells of epoxides and other derivatives of polycyclic hydrocarbons. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* 68: 3195-3199, 1971.
- 2) Huberman, E., et al.: Mutation and transformation of cultured mammalian cells by N-acetoxy-N-2-fluorenyla cetamide. *J. Natl. Cancer Inst.* 48: 837-840, 1972.
- 3) Maher, V.M., et al.: Mutations and decreases in density of transforming DNA produced by derivatives of the carcinogens 2-acetylaminofluorene and N-methyl-4-aminoazo-benzene. *Mol. Pharmacol.* 4: 411-426, 1968.
- 4) Anderson, M.D. & DiPaolo, J.A.: Lambda (λ) bacteriophage inducing capability of some chemical carcinogens. *Fed. Proc.* 27: 607, 1968.
- 5) Corbett, T.H., et al.: Determination of the mutagenic activity to bacteriophage T4 of carcinogenic and noncarcinogenic compounds. *Mol. Pharmacol.* 6: 667-679, 1970.
- 6) Fahmy, O.G. & Fahmy, M.J.: Mutagenic properties of N-acetyl-2-amino-fluorene and its mechanisms of carcinogenesis. *Int. J. Cancer.* 9: 284-298, 1972.
- 7) Fahrig, R.: Metabolic activation of arylidialkyl-triazenes in the mouse: induction of mitotic gene conversion in *Saccharomyces cerevisiae* in the host-mediated assay. *Mutation Res.* 13: 436-

- 439, 1971.
- 8) Malling, H.V.: Dimethylnitrosamine: formation of mutagenic compounds by interaction with mouse liver microsomes. *Mutation Res.* 13: 425-429, 1971.
 - 9) Cleaver, J.E.: Defective repair replication of DNA in xeroderma pigmentosum. *Mutation Res.* 13: 279-282, 1971.
 - 10) Cleaver, J.E.: Xeroderma pigmentosum: a human disease in which an initial stage of DNA repair is defective. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* 63: 428-435, 1969.
 - 11) Bootsma, D., et al.: Different inherited levels of DNA repair replication in xeroderma pigmentosum cell strains after exposure to ultraviolet light. *Mutation Res.* 9: 507-516, 1971.
 - 12) Grover, P.L., et al.: Reactivity of the K-region epoxides of some polycyclic hydrocarbons towards the nucleic acids and proteins of BHK21 cells. *Biochem. Pharmacol.* 20: 1297-1302, 1971.
 - 13) Grover, P.L. & Sims, P.: Interaction of the K-region epoxides of phenanthrene and dibenz(a,h)anthracene with nucleic acids and histone. *Biochem. Pharmacol.* 19: 2251-2259, 1970.
 - 14) Horikawa, M., et al.: Carcinogenesis in tissue culture X. Rejoining of single-strand breaks in DNA of mammalian cells induced by chemical carcinogens (4-nitro-quinoline-1-oxide and its derivative) *in vitro*. *Exp. Cell Res.* 59: 147-152, 1970.
 - 15) Stich, H.F. & San, R.H.C.: DNA repair and chromatid anomalies in mammalian cells exposed to 4-nitroquinoline-1-oxide. *Mutation Res.* 10: 389-404, 1970.
 - 16) Berwald, Y. & Sachs, L.: *In vitro* transformation of normal cells to tumor cells by carcinogenic hydrocarbons. *J. Natl. Cancer Inst.* 35: 641-661, 1965.
 - 17) Borek, C. & Sachs, L.: Cell susceptibility to transformation by X-irradiation and fixation of the transformed state. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* 57: 1522-1527, 1967.
 - 18) Borek, C. & Sachs, L.: The number of cell generations required to fix the transformed state in X-ray-induced transformation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* 59: 83- , 1968.
 - 19) Chen, T.T. & Heidelberger, C.: Quantitative studies on the malignant transformation of mouse prostate cells by carcinogenic hydrocarbons *in vitro*. *Int. J. Cancer.* 4: 166-178, 1969.
 - 20) Huberman, E. & Sachs, L.: Cell susceptibility to transformation and cytotoxicity by the carcinogenic hydrocarbon benzo(a)pyrene. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* 56: 1123-1129, 1966.
 - 21) DiPaolo, J.A., et al.: Quantitative studies of *in vitro* transformation by chemical carcinogens. *J. Natl. Cancer Inst.* 42: 867-874, 1969.
 - 22) 角永武夫, 釜洞醇太郎: 培養細胞のがん化過程. 第29回日本癌学会総会シンポジウム記録. 1970, pp. 42-48.
 - 23) 角永武夫, 宮下紀一: 化学発がん剤による細胞障害とがん化. 細胞生物学シンポジウム. 24: 95-102, 1972.
 - 24) Lieb, L.: Enhancement of ultraviolet-induced mutation in bacteria by caffeine. *Z. Vererbungslehre.* 92: 416-429, 1961.
 - 25) Lumb, J.R., et al.: Inhibition of dark repair of ultraviolet damage in DNA by caffeine and 8-chlorocaffeine; kinetics of inhibition. *Mol. Gen. Genet.* 102: 108-111, 1968.
 - 26) Sideropoulos, A.S. & Shakel, D.M.: Mechanism of caffeine enhancement of mutations induced by sublethal ultraviolet dosages. *J. Bacteriol.* 96: 198-204, 1968.
 - 27) Horneck-Witt, G. & Kaplan, R.W.: Einfluss von Caffein auf die Reparatur von UV-Prämutationen bei der phr⁻-Mutante von E. coli. *Mol. Gen. Genet.* 101: 123-130, 1968.
 - 28) Witkin, E.M.: The role of DNA repair and recombination in mutagenesis. In Oshima, C. (Ed.), Proc. 12th Intern. Congr. Genet. Vol. 3. Science Council of Japan, Tokyo, 1969, pp. 225-245.
 - 29) Witkin, E.M. & Farquharson, E.L.: Enhancement and diminution of ultraviolet light initiated mutagenesis by post-treatment with caffeine in Escherichia coli. In Wolstenholme, E.W. & O'Connor, M. (Ed), Ciba Foundation Symposium on Mutation as Cellular Process. Churchill, London, 1969, pp. 36-49.
 - 30) Domon, M. & Rauth, M.A.: Effects of caffeine on ultraviolet irradiated mouse L cells. *Radiation Res.* 39: 207-221, 1969.
 - 31) Domon, M. & Rauth, M.A.: Ultraviolet-light irradiation of mouse L cells: Effects on cells in the DNA synthesis phase. *Radiation Res.* 40: 414-429, 1969.
 - 32) Rauth, A.M.: Evidence for dark-reactivation of ultraviolet light damage in mouse L cells. *Radiation Res.* 31: 121-138, 1967.
 - 33) Rauth, A.M.: Effects of ultraviolet light on mammalian cells in culture. In Ebert, M. & Howard, A. (Eds), Current Topics in Radiation Research, Vol. 6. North-Holland, Amsterdam, 1970, pp. 195-248.
 - 34) 藤原美定, 近藤光雄: 哺乳動物細胞 DNA の紫外線損傷と組換え修復. 細胞生物学シンポジウム. 24: 印刷中, 1972.
 - 35) Kondo, S., Ichikawa, H., Iwo, K. & Kato, T.: Base-change mutagenesis and prophage induction in strains of Escherichia coli with different DNA repair capacities. *Genetics.* 66: 187-217, 1970.

紫外線による突然変異と発癌

武 部 啓

はじめに

紫外線 (UV) は突然変異を起こすとともに発癌源でもある。突然変異を起こすことは最初ショウジョウバエの精巣などで証明され、その後微生物遺伝学の基礎的な方法の一つとなっている^{1,2)}。一方発癌については、太陽光の強さの緯度による変化と皮膚癌の地理的分布に比例関係があることが外国³⁾ およびわが国¹⁶⁾でも知られており、それが UV の影響を反映しているものと推定されている。実験的にはマウスの耳や、無毛マウスを用いた UV による発癌などで証明されている^{4,5)}。太陽光は大気中のオゾンや酸素の吸収によつて、地表に達するまでに短波長光の大部分を失つており、実験室で用いる殺菌灯から放出されるような UV (254 nm) は含んでいないが、それでも 300~320nm の UV によつてピリミジンダイマーが形成されると考えられ、そしてそれが太陽光の殺菌作用の主因であることは実験的に証明されている⁹⁾。

色素性乾皮症 (xeroderma pigmentosum) という遺伝病がある。太陽光にさらされた皮膚が、色素の沈着と乾化を示してきわめて高率に皮膚癌を生ずる不幸な病気であるが、その原因が、DNA 上の UV 障害であるピリミジンダイマーを除去修復する酵素系の欠陥であることが発見されたのは 1968 年であつた⁸⁾。このような欠陥は大腸菌で 1964 年に発見されており^{7,18)}、UV 障害に関してはヒトが大腸菌と同じ遺伝病にかかることを意味する。すなわち、大腸菌での UV 障害とその回復に関する研究がヒトの医学的研究に適用できる可能性があり、しかもきわめて発癌性の高い病気に関連していることから、発癌機構解明の手がかりとなることが期待されたのである。

本報告では次の 3 点を論じたい。

1) 色素性乾皮症細胞と正常細胞について、UV およ

び発癌剤である 4-ニトロキノリン-1-オキシド (4NQO) の効果を比較し、色素性乾皮症が大腸菌の除去修復欠除株と本質的に同じものであるかを検討する。

2) 微生物で知られている UV 障害修復機構およびその研究方法は、ヒト細胞あるいは他の動物細胞にどこまで適用できるか。

3) 色素性乾皮症の患者に高率に皮膚癌を生じるのは何故か。微生物での突然変異とどのような関連があるのか。

1. 色素性乾皮症細胞の修復欠損

図 1 は正常者 (12 歳, ♀) の皮膚から培養した細胞

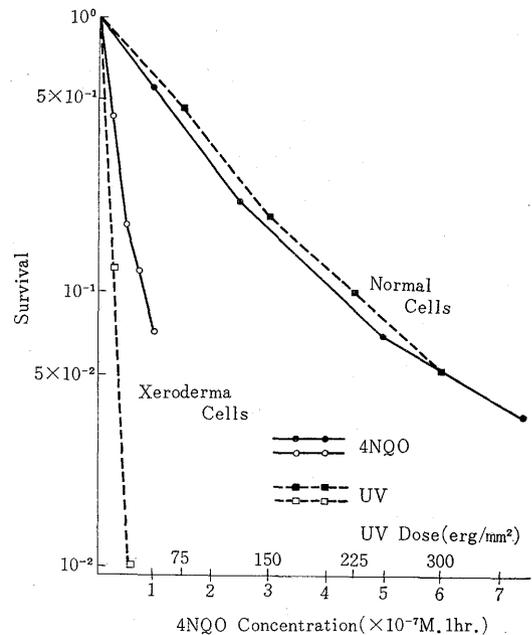


図 1 ヒトの正常細胞と色素性乾皮症細胞の UV および 4NQO に対する感受性。横軸は正常細胞の生存曲線が UV と 4NQO でほぼ重なるように合わせてある

(fibroblast) と色素性乾皮症患者 (12 歳, ♀) の皮膚から培養した細胞の, UV 感受性と 4NQO 感受性を比較したものである²⁰⁾. このような系統化していない細胞の培養, とくにコロニー形成は容易ではなく, コロニー形成率も低い(本実験で1~3%). しかし図1に示されたような大きなUV感受性の差ではそのような困難さは問題ではなく, データの再現性も高かった. 色素性乾皮症細胞は正常細胞にくらべUVで約13倍, 4NQOで約6倍高感受性であった. このような高感受性は単にコロニー形成率だけでなく, 処理後の細胞の遊離化(シャーレの底面からはがれてくること)でも示された.

大腸菌ではすべてのUV高感受性株は4NQO高感受性であり, UV高感受性突然変異が除去修復欠損(*exc⁻*), 組換え欠損(*rec⁻*), 修復合成欠損(*pol⁻*)のいずれであっても, UV, 4NQOの両者に対してほぼ同程度高感受性になり, 正常な野生株との感受性の差は10~30倍である¹²⁾. 色素性乾皮症と正常細胞の関係も定性的にはこれと同じであり, 量的な違いはヒト細胞の修復が大腸菌より複雑なためかもしれない. 色素性乾皮症はUV損傷の修復欠損で*exc⁻*にあたるのが知られているので, この結果は予期通りである.

一見, あたりまえにみえるこの結果も, これまでの4NQOに関する多くの研究からは, 必ずしも予期されたものではなかつた¹⁰⁾. 4NQOは細胞内で代謝されて作用するが, その代謝物の結合は大部分タンパク質にみられ, 核酸, とくにDNAに結合する割合は小さいことからタンパク質への影響が重視されていたし, DNAへの影響でもDNAの切断をもたらすという報告が出ている. しかし色素性乾皮症細胞と正常細胞の比較により前者が4NQOに高感受性であることは, 次のように理解されねばならないであろう.

1) 4NQOの細胞障害, 少なくとも細胞増殖(コロニー形成)に対する障害はDNA上の障害が主因である.

2) そのようなDNA障害はUV障害(=ピリミジンダイマー)を除去修復する酵素系によつて除去修復されるものである.

4NQOのDNA障害, とくに除去修復される障害の実体については多田らの分析によりDNA中のプリンと4NQOとの結合体がラット腹水細胞で確認され¹⁹⁾, 池永らはそれと同一とみなされる結合体が, 大腸菌の野生株で除去修復されるのに対し*exc⁻*株では修復されないことを見出している¹¹⁾. 枯草菌でも同様の報告がある¹³⁾.

これらの結果から, 色素性乾皮症細胞は除去修復を欠く(*exc⁻*)ためにUVにも4NQOにも高感受性となつていること, すなわち大腸菌の*exc⁻*株と本質的に同一の

変異体であると結論できよう.

2. ウイルスを用いた宿主細胞回復による微生物系と培養細胞系の修復の比較

最近, UV照射したウイルスを細胞に感染させ, 宿主細胞の修復酵素系によつてウイルスDNAのUV障害が修復される宿主細胞回復に関する報告が, 相次いで発表されている^{14, 17)}. それらの中には, 同一ウイルスのUV生存曲線を異なる細胞間で比較して(この方法は培養細胞系の大きな利点である. バクテリオファージは一般に宿主の菌種が決まつており, 異なる種相互の比較には用いられない), 一方が他方にくらべ宿主細胞回復が高いというようなことから, 両細胞系統の修復能の比較を論じたものがある. 図2はその1例を追試したものでヘルペスウイルスではBSC₁(アフリカミドリザル由来の細胞)はFL(ヒト羊膜由来の細胞)あるいはRK₁₃(ウサギ腎臓由来の細胞)にくらべUV照射したウイルスをより高率に生存させる²¹⁾. 大腸菌ではたとえばT1ファージをUV照射して*exc⁻*株で生存率を測定すると野生株にくらべ約3分の1となることから(同一生存率を与える線量で比較して), 野生株はUV照射されたウイルスDNAの障害を修復したと考え, 宿主細胞回復とよぶ. BSC₁とFLの関係はみかけ上それと同じであ

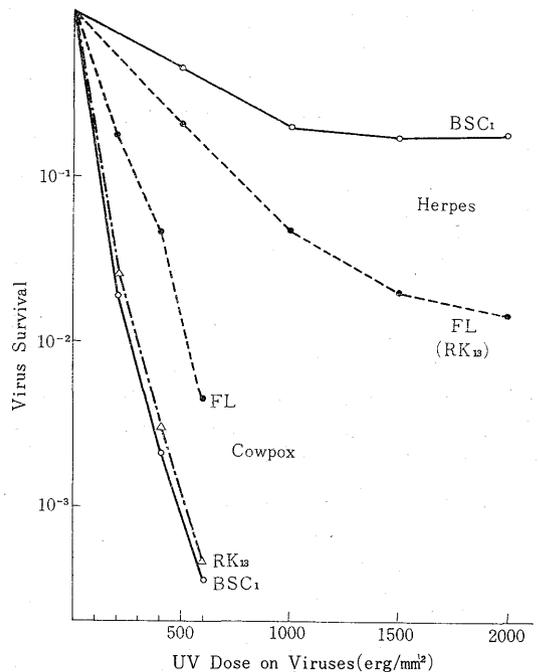


図2 UV照射ウイルスの生存曲線の異なる細胞での比較. 生存率はブラック数で測定した

り、両細胞の修復能の違いを示すものと考えられた。

ところが大腸菌の場合には、野生株と *exc*⁻ 株では細胞(菌)自体の UV 感受性が前述のように約 20 倍も違い、フージの生存曲線の差は細胞自体の修復能の差の反映であるのに対し、BSC₁ と FL の細胞の UV 感受性の違いは図 3 に示されるようにむしろ BSC₁ の方が高感受性であり、大腸菌の場合とはまったく異なることが明らかとなった²³⁾。すなわち UV 照射ウイルスの宿主細胞回復のみかけ上の違いは、細胞の修復能の本質的な違いの反映ではないかもしれない。それではいつたい何故このようなみかけ上の宿主細胞回復の違いが生じたのかについては、まだ研究が進んでいない。一つには除去修復能の相対的な違いを示すと考えられるが、おそらくウイルス複製の過程、それに要する時間、DNA の状態の変化(2本鎖の立体構造の変化など)、細胞の修復酵素系の分子数や分布の違いなど多くの要因が大腸菌の場合よりはるかに複雑に関連しあつて、このような差となつてあらわれたものであろう。このことは、微生物での研究方法を単純に適用することの危険性を示しており、慎重な検討が必要なることを意味している。この場合、微生物では同じ種の細菌の変異株間で比較したものを、異種細胞間の比較にまで拡大適用しようとした点にも問題がある。事実、色素性乾皮症細胞と正常細胞についてヘルペスウイルスの UV 不活性化を比較すると、図 4 に示すように宿主細胞回復の違いがみられ²¹⁾、図 1 の細胞の UV 感受性の違いを反映している。また、細胞の感受性の差よりもウイルスの不活性化曲線の差の方が、小さいことも大腸菌などと一致しており、この点からも色素性乾皮症細胞のみが、大腸菌などの *exc*⁻ 株と本質的に、同じものであるということが出来る²²⁾。みかけ上の感受性の差が修復能の本質的な違いを反映しているとは限らないことは、堀川らの、UV 抵抗性株が 4NQO 抵抗性とはなっていないとする報告からも支持されるといえよう¹⁰⁾。

図 2 の左下方の cowpox ウイルスのデータは予備実験の段階を出ないが、細胞質で増殖する DNA 2 重鎖ウイルスの例で(ヘルペスは核内で増殖する 2 重鎖 DNA ウィルス)、ヘルペスでみられたような不活性化曲線の感受性の違いがみえない。この実験はヘルペスでみられた差が除去修復能の違いによるものと仮定し、しかも除去修復機構が核に局在すると考えて行なつたものであるが、前述のように細胞系統による修復能の比較には未解決な問題も多いので、これだけのデータからは結論は出せない。しかし最近、ワクチニア(cowpox もその一種)ウイルスの UV 不活性化曲線が、正常細胞と色素性乾

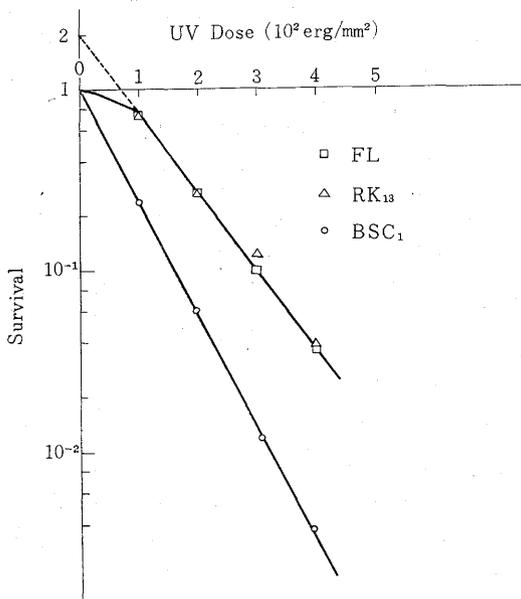


図 3 3種の細胞のUV生存曲線

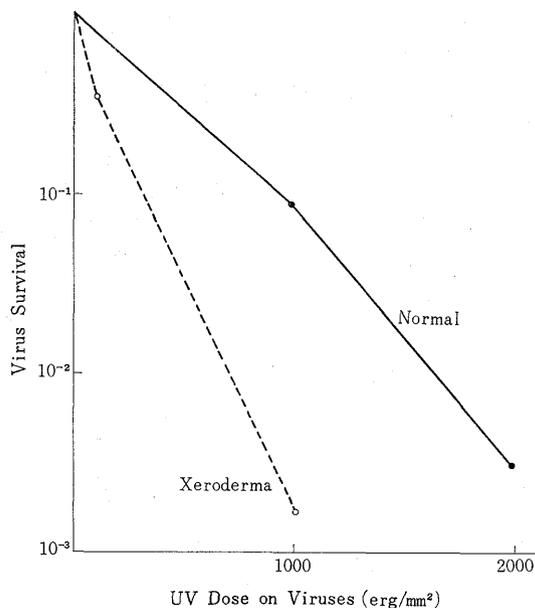


図 4 UV 照射したヘルペスウイルスの生存曲線の正常細胞および色素性乾皮症細胞での比較。生存の判定は核内封入体形成による(新居志郎博士の助力に感謝する)

皮症細胞で差のみられないことが報告され¹⁵⁾、除去修復機構が細胞質にはない可能性(それ以外の原因も考えられるが)が示唆された(私たちの研究室でもまったく同じ実験がなかば成功していたが、技術的に未完成的うちに先を越されてしまったのは残念であつた)。なお細菌

では除去修復酵素系が DNA の周辺に局在している証拠がいくつか示されている (文献2の p. 102, 148, 文献22)などを参照).

3. 色素性乾皮症が高発癌性であることの原因の推定—突然変異との関連性

発癌と突然変異が、本質的に同じ現象であるかという論争の歴史は長い。たとえば、1948年ストックホルムで開かれた第8回国際遺伝学会で、Demerecが、癌が1種の突然変異によるものなら発癌物質はまた変異誘起物質であつてよいはずだとして、その実験結果が期待通りであつたことを報告している⁹⁾。現在、多くの発癌物質は突然変異誘起物質であることが証明されているが、突然変異誘起物質のなかには、発癌性の証明されないものもある。しかし一般に突然変異誘発性は微生物で検定され、発癌性はマウスなど高等動物で検定されるので細胞内での代謝、透過性などが同一でないものを比較しているおそれがある。私たちは DNA の変化という点で、発癌と突然変異は同一の原因によると仮定して、その仮定のもとに現在まで蓄積している諸データが無理なく説明できると考える。

色素性乾皮症の UV による発癌を例にとつて考えてみよう。

表1は近藤らの大腸菌の突然変異に関する研究の一部である。とくに注目したいのは UV, 4NQO による誘発

表1 各種変異源の点突然変異誘発性と修復機構の欠損との関連性。データは文献12)による

変異源	点突然変異誘発感受性			
	野生型	<i>exc</i> ⁻	<i>pol</i> ⁻	<i>rec</i> ⁻
自然	+	+	++	±
UV・4NQO	+	+++	+	-
X線	+	+	+	-
MMC	+	-	+	-
NTG	+	+	+	±

MMC：マイトマイシン C

NTG：ニトロソグアニジン

+++：野生型より著しく高い。

++：野生型より高い

＋：野生型と同じ

±：野生型より低い

-：ほとんど起こらない

突然変異は、除去修復を欠く変異株 (*exc*⁻) ではきわめて高率であり、組換え欠損株 (*rec*⁻) ではきわめて低率なことである。*rec*⁻ は自然の点突然変異についても低率であり、*rec* 遺伝子の欠損によつて突然変異 (この場合は塩基の変化によるもの) がほとんど起こらなくなつていくことがわかる。つまり突然変異が起こるためには *rec* 遺伝子の働きが必要である。

rec 遺伝子が何を支配しているかは 完全には解明され

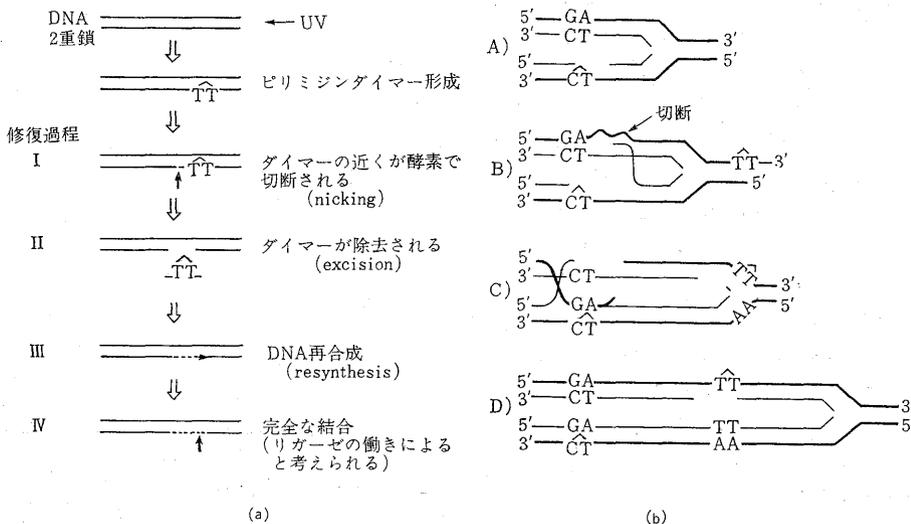


図5 除去修復 (a) と組換え修復 (b) のモデル。両者は独立に働くと考えられる。(a) は cut and patch モデルであるが、Ⅲが進行しつつⅡが行なわれるとする patch and cut モデルもある。(b) は文献2)による。太線はもとからある DNA、細線は新しく合成された DNA であり、A) ではダイマー (CT) の向い側が合成されず、それが B)→C)→D) を経て修復される

ていないが、組換え修復とよばれる修復機構(図5)に関与していることは間違いないとされている。rec 遺伝子の働きによりこのような修復が進行する間に塩基の置換が起こり、突然変異となると考えねばならない。それは、組換え修復における修復のしぞこない(誤り、エラー)によるものであろう。

それでは exc⁻株できわめて高率に突然変異が誘発されるのは何故か。野生株では DNA の損傷が主に除去修復によって修復されるが、この修復では修復エラーが起こらないものと考えられる。ところが除去修復を欠いている exc⁻では組換え修復が主な修復となり、この修復では修復エラーを伴うと考える。これが近藤らの UV, 4NQO 誘発突然変異の分子機構モデルである^{2,12)}。これを色素性乾皮症の発癌に適用してみよう。色素性乾皮症は exc⁻であるから、大腸菌と同様に考えれば UV 照射後組換え修復が活発に進行し、それだけ組換え修復エラーの頻度も高まる。ヒトの細胞に組換え修復(あるいは一般的に post-replication repair)のあることは本シンポジウムの角永の論文はじめ、最近多くのデータが報告されつつある。表1で+++と示された exc⁻の UV, 4NQO による大腸菌の高率の突然変異が、色素性乾皮症では発癌にあたるかと考えるのが私たちの仮説の結論である。すくなくとも現在までの知識では、色素性乾皮症患者は正常人と exc⁻であるという点のみで異なっている(遺伝子レベルで)。そして、その結果として UV による皮膚発癌が高いという現象がみられる。本研究は、そのモデルとして分子レベルで同一の突然変異であることが証明されている大腸菌の exc⁻株を用いた研究を、ヒトに適用したものである。

おわりに

大腸菌とヒトを直結させて考えることは、分子生物学的には当然のことかもしれない。生物の遺伝情報はすべて普遍的であること、すなわち DNA の A, G, C, T の4文字の組み合わせで、DNA-RNA-タンパク質という情報発現の機構は大腸菌もヒトも同一であること(暗号の普遍性=universality)から、生物としての基本的特徴が共通であることは十分予期され、実験的にも多くの酵素の共通性などによって証明されている。それにもかかわらず医学的立場、たとえば“癌”というようなものを扱う立場からは“大腸菌の癌”などを考えることはナンセンスに近いとされるかもしれない。事実、微生物レベルでの基礎的な成果が“癌”の研究に適用された例は少ないし、その適用範囲にも多くの制約、仮定が含まれていたことは認めねばならない。

色素性乾皮症は、その壁が破られる可能性を示した最初の例であると私たちは考えている。もちろん、すべての癌の原因や機構がわかるという大それたことは言えず、あくまでも一つの糸口、あるいは一つの手がかりにすぎないが、高発癌性の病気の原因が、大腸菌の高突然変異性と同一遺伝的欠陥によることの研究方法上の重要性に注目したい。

これまで、微生物を用いた放射線障害回復の分子機構の研究が急速な発展を示してきたのにくらべ、高等生物でのこの分野の研究の歩みは遅々たるものであつた。その最大の原因は放射線障害回復機構の突然変異体が、高等生物では分離されなかつたことであろう。突然変異体が重要な役割を果すことは遺伝学的研究のすべての分野について言えることであるが、とくに回復機構に関しては大きな断絶となつてきた。それが培養細胞レベルでの変異体分離ではなく、遺伝病のヒトとしてみつかつたこと。しかもそれが高発癌性を伴つていたことは、これからの研究方法の一つの方向を示したものであるという評価もできよう。次には rec⁻のヒトがみつかる可能性も期待されるが、そのようなヒトは生存不能かもしれない。また、医学的立場からは不治とされている遺伝病である色素性乾皮症の治療、あるいは症状の進みを抑える方法の開発にも、微生物レベルの研究からの発展を目指した努力がなされねばならない。

本研究は筆者1人の名前で報告したが、微生物から培養細胞、さらに患者の診断までを私1人でカバーできないことは言うまでもない。患者の診断、治療にあられた三木吉治博士ほかの皮膚科の方々、培養細胞と動物ウイルスについて多くのご教示とご協力をいただいた加藤四郎教授、新居志郎助教授、石井(飯田)道子さん(以上阪大微研)、古山順一博士(阪大・医・遺伝)、内海博司君(京大・理、現在医)それに大腸菌の研究のデータを提供していただくとともに討論、助言をいただいた近藤宗平教授(阪大・医・放基)とそのグループ全員など多くの研究者の協力によつてはじめて可能となつたものであり、深く感謝したい。また、突然変異と発癌の関連性についての考え方は、近藤教授の理論に負うところが大きい。

文献

- 1) Jagger, J.: Introduction to research in ultraviolet photobiology. Prentice-Hall, 1967. (武部啓訳: 紫外線光生物学, 共立出版)(UVの生物作用について広く知るのに適している。とくに作用スペクトル, 実験方法などが詳しい。)
- 2) 近藤宗平: 分子放射線生物学, 東京大学出版会, 1972. (UVの生物作用の分子機構について, 著者の研究をも含む最新の知見と論議がなされている。)

- 3) Blum, H.F.: Carcinogenesis by ultraviolet light. Princeton Univ. Press, 1959. (UV による発癌の古典的名著。)
- 4) Urbach, F. (ed.): The biologic effects of ultraviolet radiation. Pergamon Press, 1969. 皮膚への UV 作用を中心とした国際会議の記録で、皮膚の UV 発癌の論文数篇を含む。)
- 5) Epstein, J.H.: Ultraviolet carcinogenesis. *Photophysiology*. 5: 235-273, 1970.
- 6) 木原均：科学者の見た戦後の欧米。毎日新聞社, p. 27, p. 48, 1949.
- 7) Boyce, R. P. & Howard-Flanders, P.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* 51: 293-300, 1964.
- 8) Cleaver, J. E.: *Nature*. 218: 652-656, 1968.
- 9) Harm, W.: *Radiation Res.* suppl. 6: 215-216, 1966.
- 10) Horikawa, M., Nikaido, O. & Sugahara, T.: *Exptl. Cell Res.* 55: 65-67, 1969.
- 11) Ikenaga, M., Ichikawa, H. & Kondo, S.: *J. Radiation Res.* 13: 44, 1972.
- 12) Kondo, S., Ichikawa, H., Iwo, K. & Kato, T.: *Genetics*. 66: 187-217, 1970.
- 13) Laumbach, A. D. & Felkner, I. C.: *Mutation Res.* 15: 233-245, 1972.
- 14) Lytle, C. D.: *Int. J. Radiation Biol.* 19: 329-335, 1971.
- 15) Lytle, C. D., Aaronson, S. A. & Harvey, E.: *Int. J. Radiation Biol.* 22: 159-165, 1972.
- 16) Miyaji, T.: *Natl. Cancer Inst. Monograph*. 10: 55-70, 1962.
- 17) Niwa, O. & Nii S.: *Biken J.* 15: 39-41, 1972.
- 18) Setlow, R. B. & Carrier, W. L.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.* 51: 226-231, 1964.
- 19) Tada, M. & Tada, M.: *Chem-Biol. Interactions*. 3: 225-229, 1970.
- 20) Takebe, H., Furuyama, J., Miki, Y. & Kondo, S.: *Mutation Res.* 15: 98-100, 1972.
- 21) Takebe, H. & Iida, M.: *J. Radiation Res.* 14: 印刷中, 1973.
- 22) Takebe, H., Furuyama, J., Miki, Y. & Kondo, S.: *Proc. Int. Conf. Photosensitization and Photoprotection*. 東京大学出版会, 印刷中.
- 23) Utsumi, H. & Takebe, H.: *J. Radiation Res.* 14: 印刷中, 1973.
(文献 11, 21, 23 は日本放射線影響学会大会報告で、要旨が機関誌に英文で発表された)

* * *

V. 発癌と染色体異常

発癌と染色体異常との関係は、実験的にかなり多数の人々の研究がある。また、白血病を含めて人間の悪性腫瘍についての染色体研究も活発に行なわれてきた。このシンポジウムにおいても、“環境因子による生体の障害解明へのアプローチ”として、発癌と染色体異常というテーマが取り上げられたのは当然であろう。

杉山氏は、以前から 7, 12-dimethylbenzanthracene (DMBA) によつて誘発されたラット白血病について研究を進めてきた。ラットの DMBA 誘発白血病は赤芽球増殖が特徴的である。また、その骨髄の染色体に特殊の変化が起こることを示している。さらに、DMBA 投与前後における貧血、エリトロポエチン、多血症が染色体変化におよぼす影響についての報告もしている。今度のシンポジウムではこれら従来の成績とともに、オートラジオグラフなどを用いて、発癌剤はヘテロクロマチン部において姉妹クロマチッドを交換する作用のあることを示した。この結果、2 娘細胞間での DNA 不均等分配が起こり、これがおそらく核小体遺伝子の量の疾患としての癌をもたらすのであろうと推論した。今後の研究の発展を期待したい。

石原氏は20年近くも癌と染色体、特に白血病の細胞遺伝学、さらには放射線被曝と血球染色体変化について研究を進めてきた研究者である。放射線被曝者の骨髄細胞に見られる染色体異常では、クローンを形成することがある。これはラットに対する放射線照射実験でも認められる。これらクローンを形成するには細胞自身と細胞を取りまく増殖環境との関連が重要であろうが、放射線被曝者には、骨髄細胞全体が単一クローンから成っている場合もある。一方、慢性骨髄性白血病では特有な Ph¹ 染色体が見られるが、多数の慢性骨髄性白血病の細胞遺伝学的追求を行なつた結果、Ph¹ 染色体の誘発は1コ of 細胞におこりそれらによつて骨髄全体が置き換えられてしまうものと推定された。以上のように骨髄におけるクローン形成の過程には、放射線被曝の場合と、慢性骨髄性白血病の場合を比較してみると、きわめて類似したパターンを示しているようにみえる。今後、実験的研究と白血病患者の追跡検査との結果を併せ総合的な研究により、この方面の学問の進歩に大きく寄与できるものと思われる。

(放射線医学総合研究所障害臨床研究部 熊取敏之)

* * *

クロマチッド組換えと発癌

杉山 武敏

1. 腫瘍のいくつかの側面

腫瘍は自律性をもつ組織細胞の過剰増殖と定義され、その増殖性格は遺伝的正確さで娘細胞に伝えられていくが、そのほかにも癌を考えると、いくつかの重要な側面のあることを忘れてはならない。(1) 化学、物理、あるいはウイルスなどの生物因子によつて誘発される腫瘍の存在は明白であるが、その反面、Recklinghausen 氏神経線維腫症や Bourneville-Pringle 氏病(結節性硬化症)のように遺伝素因に依存度の大きい、あるいは血管腫、黒色腫、線維腫のように組織奇形に起因すると考えられる一群の腫瘍がある。このような組織奇形を基礎とする腫瘍の発生を、外因によるそれと対比してどのように解釈するかはきわめて重要な問題である。(2) 腫瘍は生体に対する態度から、良性、悪性にわけられるが、悪性のものにも増殖能や細胞分化の程度に種々の段階があり、また腫瘍は時期がたつにつれて一般に悪性化の傾向を強めることが、臨床的にも実験腫瘍においてもしばしば経験される。生化学的にも、Greenstein や Weber が示したように、腫瘍の糖、蛋白、核酸などの代謝や酵素のパターンは、母組織の如何にかかわらず増殖細胞のパターンに接近し、この正常からの偏倚にも増殖速度に応じた段階がみられる¹⁾。(3) 腫瘍特異抗原はなお明らかでないが、最近の癌胎児抗原(CEA)や α -fetoprotein に関するデータからは、癌細胞と胎児細胞、増殖細胞との近似性が指摘され、今日なお癌と正常細胞の本質的な差を具体的な姿として把握することはできない。(4) 諸因子による試験管内発癌において、細胞分裂の必要性が示されているが、これは心筋や神経細胞のように発生後分裂のみられない臓器細胞に腫瘍発生が稀なこと、傷害再生をくり返す組織に好発するという現象を裏づける。

以上は単に思いつままにあげた腫瘍のいくつかの側面であるが、発癌機序を講ずる場合十分に考慮しなければ

ならない。

化学物質や放射線と生体高分子(とくに核酸)との相互作用はかなり明らかになつてきたが、多くの学者はこれらが核酸の塩基を修飾し、遺伝子に突然変異をもたらせ、あるいは細胞の蛋白成分と結合して細胞制御機構を乱し、これらが細胞の癌化につながるという“想像”するが、今日なお、具体的な細胞癌化機序は明らかになつていない。一方、腫瘍ウイルス学の急速な進歩から、細胞癌化におけるウイルスの役割が重視され、ウイルス遺伝情報の発現が細胞の腫瘍化に重要な役割を果たすとされ、従来の考えのほか Huebner, Todaro の oncogene 説、Temin の provirus, provirus 説など種々の立場をとりつつ展開している²⁾が、ウイルスの腫瘍化維持における役割については、Rous 肉腫ウイルスや polyoma ウイルスの温度感受株を用いての研究に1つの焦点が合わされている。このウイルス説の特徴は、ウイルスの遺伝情報が細胞の悪性化と悪性化維持に必要なものであり、化学発癌剤や放射線はこの情報発現の補助因子に過ぎないと主張し、この意味から上述の突然変異説と真向から対立する。このウイルス説は、今日行詰まつている化学発癌剤や放射線の“標的遺伝子解明”の困難を通らずに、ウイルス核酸の情報解明というより容易なアプローチにしばらく身をゆだねる流れとみることもできる。いずれにしても、ここ数年内に、(1) ウイルスゲノムの中に細胞の腫瘍化およびその維持に必要な遺伝情報が存在すること、(2) この情報の発現に化学発癌剤や放射線が補助因子として作用すること、(3) これらの“補助因子”が単独で癌を誘発することがないこと、が万人の納得のいく形で証明されるか否かが1つの山場となるだろう。しかし、oncogene 説の証明と月世界征服とは質的に大きく異なる project である。月という目標は実在の対象であつたが、oncogene はあくまで仮説であり、接近するにつれて消滅する対象かも知れない。筆者は以下、発癌因子と細胞ゲノムの定方向性の相互作用という、ウイルス説を支える人々にはあまり重視されない現象に注意を

ひきたい。

2. 化学発癌剤誘発ラット白血病の染色体異常

癌組織に不等核分裂がみられ、癌細胞の染色体構成が正常から偏倚していることはすでに前世紀から知られていた。この事実注目し、自らの発生学上の観察から、Boveri は 1914 年、染色体の配分異常が癌化の原因であ

るとする“癌の染色体説”を提唱した³⁾。1950年代になつて染色体分析手技が確立され、多くの動物や人体腫瘍の染色体構成が研究され、(1)腫瘍では染色体構成の異常をみることが多い。(2)しかし、一定の異常をみることが例外的である。(3)腫瘍の進展に関連して核型の二次的変化をきたす例も多い、などが示され、可視的な染色体異常は細胞の悪性化(癌化)には必須前提で

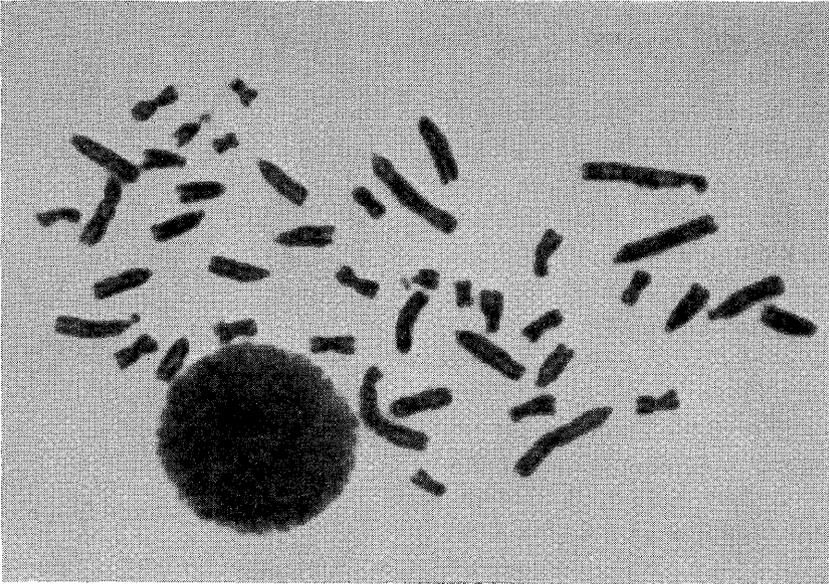


図 1 C-1 trisomy 細胞

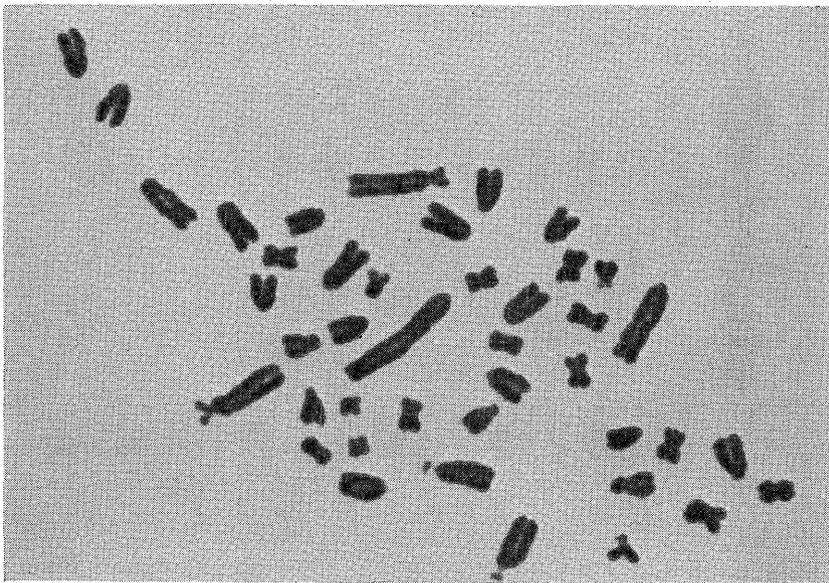


図 2 Long C-1 細胞

はないというおおよその結論に達した⁴⁻⁶。そして、定方向性の染色体変化としてG₂₂染色体の長腕の部分欠損(Ph¹)がヒト慢性骨髄性白血病にみつけられたが、その意義と本質は不明のままである。

1967年、筆者らは、化学発癌剤で誘発した腫瘍として、はじめて高度に再現的な染色体異常の存在を報告した⁷⁻¹¹。この腫瘍は、7,12-dimethylbenz (a) anthracene (7,12-DMBA)⁸⁻¹⁰、7,8,12-および6,8,12-trimethylbenz (a) anthracene (7,8,12-& 6,8,12-TMBA)¹¹で誘発したラット赤白血病で、全体の約半数近くの例に最大の端動原体染色体の trisomy (C-1 trisomy, 図1)あるいは1本の延長(Long C-1, 図2)などの異常を有する stemline を認める¹²。この白血病は移植可能で移植後もその核型が保持される⁹。この異常はラットの系統を問わず誘発され、筆者の主として使用した Long-Evans 系や Sprague-Dawley¹²系のほか、Wistar 系¹³においても報告されている。最近7,12-DMBA を皮下に注射して作ったラットの線維肉腫にも高率に C-1 trisomy の存在が報告されている^{14,15}。このように化学発癌剤で誘発した腫瘍に一定のゲノムの変化をみることは、化学発癌剤のゲノムへの作用の定方向性を示している。

筆者らは5型の転座型 C-1 trisomy および C-1 以外の異数の分析から、C-1異常と関連してそれ以外の染色体にもいくつかのものが再現性をもつて染色体異常(異数、マーカー形成)にまき込まれることを知った(図3)⁸⁻¹⁰。興味のあることにこれらはいずれも DNA の晩期複製部を有する染色体であり(図4)¹⁶、このことから、C-1異常の形成には晩期複製 DNA が重要な役割を果たしていることを知った。一方、筆者は7,12-DMBA

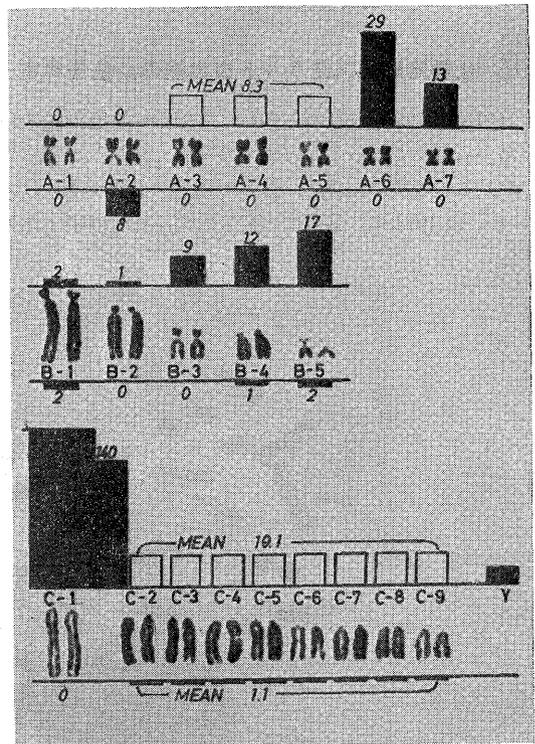


図3 白血病細胞における各染色体の異数(上方に増加, 下方に減少)にまきこまれる頻度

の正常骨髄細胞に対する染色体切断効果に着目し、切断がC-1を中心とどのように起きるかを検討した^{16,17}。そして、C-1染色体はクロマチッド上に分裂間期末期に7,12-DMBAで切断されやすい2領域(動原体から29および54%の部)のあること、この部がDNAの晩期複

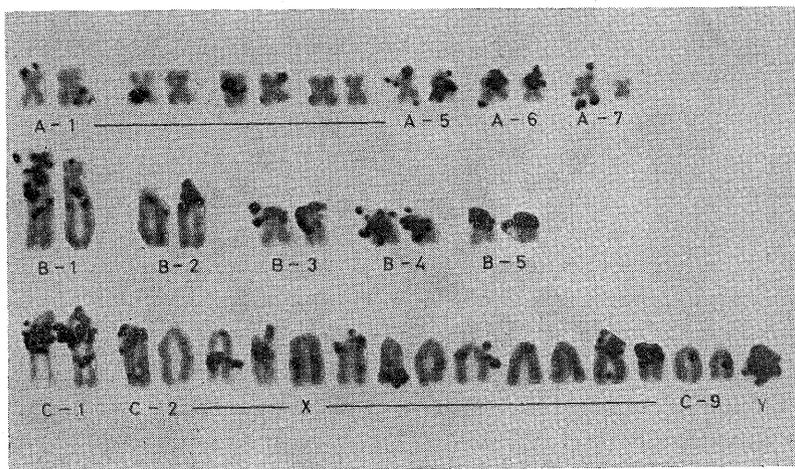


図4 ³H thymidine 投与後1時間15分後に作った骨髄細胞の metaphase plate. 晩期複製部位を示す

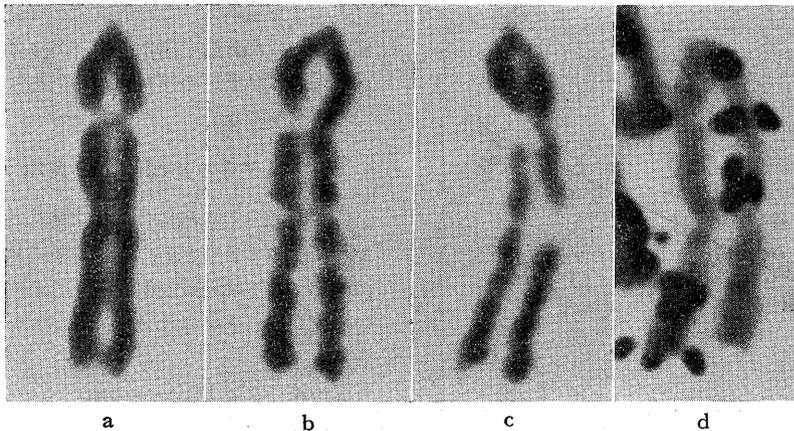


図5 7,12-DMBA 50mg/kg を正常ラットに投与, 6時間後に骨髓細胞にみられた a: 29%部におけるクロマチッド交叉, b: 29%部におけるクロマチッド切断, 54%部での交叉 c: 29および54%部の切断, d: あらかじめ ^3H thymidine でラベルしたのち 7,12-DMBA を作用させると, このようなクロマチッド交換が誘発される (本文および文献¹⁶⁾参照)

製部であること, この部の切断と関連して, しばしばキアスマ (姉妹クロマチッド間の交叉の像) がみられることを知った (図5 a, b, c)¹⁶⁾. Taylor の方法によつて検討すると, 発癌剤は, これら部位におけるクロマチッド交換を著しく増加させることを知った (図5 d, 表1)¹⁶⁾. Taylor は以前から, オートラジオグラフィの技法によつてクロマチッド交換が“自然にも”起きることを説いていたが, 筆者らのデータではこれは ^3H の放射能によるものと考えられる. そのわけは, 非放射性チミジンでは染色体切断が起こらないのに, ^3H -チミジンでは切断が高率に誘発されるからである¹⁹⁾ (未発表). このように, 7,12-DMBA は晩期複製部で DNA の交換 (組換え) を誘発する作用があり, これがその部における染

色体切断や C-1 異常形成につながるものと推定される.

このような染色体組換えが, 化学発癌剤の細胞ゲノムに対する特異的効果であるとするれば, 1つの実験仮説として, 特定染色体部におけるクロマチッド (分子レベルでは DNA 主鎖) の組換えが細胞の癌化に重要な役割を果たしている可能性がある. これは決して空想ではなく, 上述の発癌剤による組換えの事実を基礎にしているのである. この考えを支えるものとしては, (1) 種々の benzanthrancene 誘導体の発癌性と染色体切断 (= 組換え) 能との平行関係 (未発表), (2) 7,12-DMBA 投与時の造血刺激の存在による染色体切断亢進が, そのまま白血病発生率に反映されること (図6, 表2)¹⁹⁾, (3) 組換えの証拠である マーカーや異数が, 発癌剤作

表1 50mg/kg の 7,12-DMBA 投与後のラット骨髓細胞における染色体交換の頻度. あらかじめクロマチッドを ^3H -thymidine でラベルし, 発癌剤投与ののち, ラベル後第2回目 (15時間) の分裂期の細胞についてオートラジオグラフィで交換の頻度を調べたもの

	対 照	7,12-DMBA 処置	
検索細胞総数	139	127	
クロマチッド交換を有する細胞	33 (23.7%)	59 (46.5%)	0.001 < P < 0.01
クロマチッド交換数	37	83	
C-1 染色体上	14 (5.0%)	43 (16.9%)	P < 0.001
{ 29%域	1 (0.4%)	18 (7.1%)	P < 0.001
{ 53%域	5 (1.8%)	16 (6.3%)	0.01 < P < 0.02
{ その他	8 (2.9%)	9 (3.5%)	—
B-1 染色体上	16 (5.8%)	19 (7.5%)	—
B-2 染色体上	3 (1.1%)	4 (1.6%)	—
その他の染色体上	4 (0.08%)	15 (0.33%)	0.01 < P < 0.02

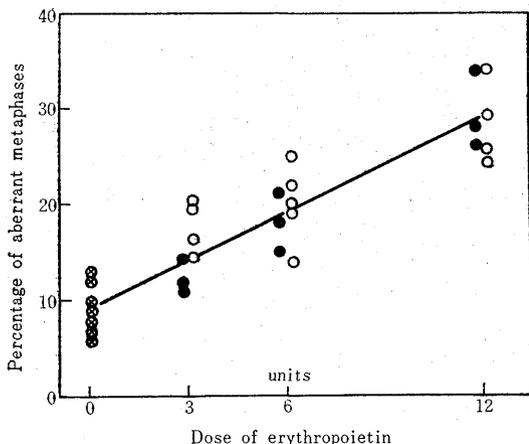


図 6 多血症ラット（造血のおさえられた）で 7, 12-DMBA 50mg/kg 投与 6 時間後の染色体切断の発生が、7, 12-DMBA 投与 1 時間前に注射したエリトロポイエチンの投与量に依存することを示す。○は grade I, ●は grade III のエリトロポイエチン（文献¹⁹⁾ 参照）

用直後（24～48時間）にすでにあらわれ、これは時期的に transformation の時期と一致する²⁰⁾。また、癌細胞にもこれらの染色体異常がよくみられる（正常核型のまま癌化している場合も姉妹クロマチッド間の交換があったことは否定できない——これも組換えである）。（4）発癌性のあるウイルス、放射線、化学物質のいずれも染色体切断（組換え）能を有する。（5）細胞癌化には細胞分裂期を少なくとも 1 回経ることが必要であるとされる^{22, 23)}が、染色体組換えは細胞分裂によつてはじめてもたらされる。（6）まったく構造の異なる化学発癌剤、ウレタン、ニトロソブチルウレアも本質的には 7, 12-DMBA, 7, 8, 12-TMBA と同一部位に切断を誘発する（制癌剤 Mitomycin C も同様である。未発表データ）、などがあげられる。

以上から、7, 12-DMBA およびその誘導体は、DNA 晩期複製部位を標的として作用し、その部におけるクロ

マチッドを組換え、この組換え（可視的、あるいは目に見えない）が細胞の癌化につながる可能性が高い。この部位以外に発癌剤の特異的標的があるか否かは現在のところ明らかでない。

3. クロマチッド組換えと発癌（仮説）

さて、組換えは細胞ゲノムに実質上いかなる変化を引き起こすのであろうか。この問題に関しては、組換えの標的部である晩期複製部 DNA に関する知見が十分でないので想像の域を出ないが、筆者は次のように考えている。

この晩期複製 DNA の主体は一般的見地からヘテロクロマチン (Hc) と考えられる（核小体 DNA の晩期複製が知られてきており、上記 DNA のすべてを Hc と考えることはできないが、もつとも常識的には上のよう考えてよいと思う）。Hc は Heitz によつて初めて記載され、細胞分裂全周期を通じて凝縮した状態を保つ染色体で、特定の染色体部位に局在することが知られている。総説²⁴⁻²⁶⁾に詳しいので細部にはふれないが、染色体では動原体、末端部、核小体域などに存在し、晩期に DNA を複製し、特殊な塩基組成をもつ DNA の反復よりなり、遠心で Satellite DNA の成分を成す。その塩基組成から遺伝情報をもつとは考えられず、高度の反復性から denaturation-reassociation を用いた C-Band²⁷⁾あるいは Satellite DNA の分子雑種法²⁸⁾によつて染色体上の局在が明確な形で示されるようになってきた。その機能としては、（1）上記のごとき染色体の重要部分を細胞分裂の機械力から守る。（2）減数分裂のさいキアスマの相同部分の接近を助ける。（3）fertility barrier として種の分化、進化上重要な役割を果たす。（4）核小体域においては、核小体遺伝子を他の遺伝子群から隔離するとともに核小体遺伝子 r DNA の spacer DNA として核小体遺伝子を突然変異や組換えから守るなどの役割が想像されている。

Hc と核小体の関係については、間期核での所見や、二次狭窄との関係から以前から想像されていたことであ

表 2 造血刺激の存否下の 7, 12-DMBA による骨髓細胞染色体切断と白血病誘発の併行関係。1) 50mg/kg の 7, 12-DMBA 投与 6 時間後の染色体切断細胞の%, 貧血・多血刺激は DMBA の数時間前に与えた。2) 7, 12-DMBA 頻回投与の系で、各投与数時間前に貧血、あるいは多血刺激を加え 120 日間の白血病の発症を比較したもの¹⁹⁾

Treatment	% Aberrant Cells ¹⁾	Leukemia Incidence ²⁾
DMBA SOLO	20.4%	28/44=63.6%
ANEMIA+DMBA	24.8%	33/44=84.0%
POLYCYTHEMIA+DMBA	9.5%	1/14=7.1%

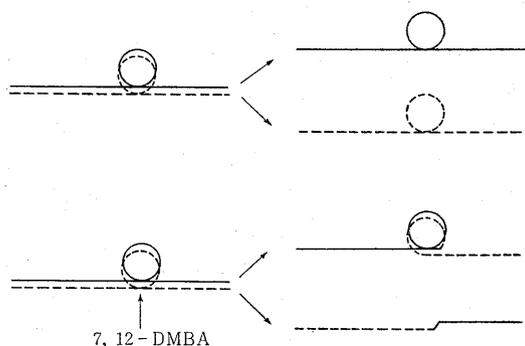


図7 DNAは細胞分裂のさい正確にcopyされて2娘細胞に分配される。発癌剤は特定部位において主鎖間の交換をおこし、そのためその部のDNAの娘細胞への不均等分配をきたす

るが、近年 molecular hybridization や核小体遺伝子の構造の研究から次第に密接な相関が示されてきている。

したがって、Hc領域におけるDNAの組換えは、直接間接に核小体遺伝子の組換えを結果する可能性がある。多シストロンより成る2つの核小体域間の交換は遺伝子突然変異を結果するより、むしろシストロンの移動を通じて、遺伝子数の異なる娘細胞をつくると考えられる。この関係は Revell²⁹⁾ の染色体切断のクロマチッド交換説を参照すれば一目瞭然である。図7のように多シストロン部をループで示し、この部において発癌剤によってDNAの完全交換が姉妹クロマチッド(主鎖)間で誘発されたとすると、正常では娘細胞間に均等配分されるべきループ部DNAが発癌剤の存在下では一方の娘細胞に過剰に分配される。ループ部が目に見えない大きさであれば染色体に形態的变化がなくてもよい。

このさい、姉妹クロマチッドの相互作用は、往々にし

て不分離現象をひき起こす可能性がある。この種のクロマチッド組換えは姉妹クロマチッド間に限らず、いくつかの染色体に分散している核小体域(間期核ではきわめて接近して存在する)の間で起こつてもよく、この場合にはマーカー、微小染色体などが誘発される。重要なのは形態的变化でなく、組換え部に起きる遺伝子群の移動とその結果もたらされる娘細胞への不等分配である。形数異常は組換えの証拠に過ぎない。癌においては染色体減数より、増数が一般的であることから遺伝子の増量が本質的意味をもつものと想像される。

筆者の以上のような、癌を遺伝子量の疾患とする考えには、そのほかにもいくつかの根拠がある。(1)腫瘍には良性、悪性など悪性度に段階のあることが知られ、同じ悪性腫瘍にも悪性度に差がみられ、臨床的に次第に悪性度を強める道をたどる。このような腫瘍の悪性度の問題は遺伝子突然変異では説明がしにくい。すでに吉田氏によつても染色体の量的バランスによつて悪性度が進行する概念が示されている³⁰⁾。(2)癌を遺伝子量の不均衡としてとらえる考えは Boveri がすでに提出している³⁾ようにきわめて自然な考え方である。(3)癌における共通の突然変異、たとえば酵素の欠損、異常、細胞生成物の異常などを見つけようとする試みは今日のところ成功していない。代わりに見つかったものは共通の代謝の流れや胎児細胞との近似性である。(4)ホルモン依存癌、たとえば前立腺癌は核小体遺伝子を derepress する³¹⁾テストステロンによつて増殖が賦活される。核小体遺伝子と repressor 遺伝子の量的相関によつて種々の程度のホルモン依存癌が成立すると考えられる。(5)最近 Harris らによつて変異細胞が細胞融合(異種染色体の導入)によつて正常細胞にあともどり(revert)する現象³²⁾が報告された。これを、マウス・ヒト細胞融合に

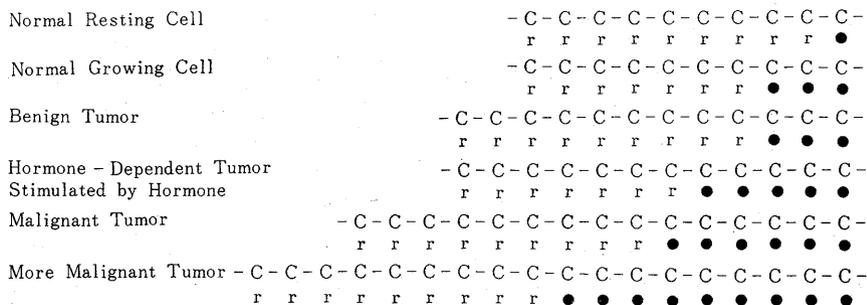


図8 癌を遺伝子量の疾患とみる仮説。正常細胞では少数のシストロン以外は repressor (r) によつて repress され一部が転写(●)されているにすぎない。腫瘍においては、DNAの不等分配によつてシストロン数が増加しているため repressor の相対量が不足し、遺伝子は持続的に転写されつづける

よつてヒトのリボゾームRNA形成がまったく停止する現象³³⁾と対比すると興味がある。マウス染色体にはヒトのrDNAをrepressする能力があるようである。逆にrDNAを過剰に導入すれば核小体機能の持続的発現をもたらせる可能性がある(図10)。

筆者らの仮説とする遺伝子増量はbalanced polyploidyや、発生初期にみられる正常過程として周到に制御された核小体遺伝子増幅³⁴⁾ではなく、あくまでも体細胞分裂中に不用意に導入された不均衡な遺伝子増量である。

さて、染色体組換えの機序であるが、細菌における紫外線によるDNA傷害³⁵⁾やMitomycin Cによる染色体傷害の発生機序に関する知識³⁶⁾が参考になる。このさい、核小体あるいはヘテロクロマチン部に多量に存在する相補性DNAを介しての主鎖切断端の結合がDNA組換えに、重要な役割を果たすものと考えられる^{35,36)}。なお、7, 12-DMBA, 7, 8, 12-TMBA, urethan, nitrobutylureaなどの白血病誘発物質とMitomycin Cなど抗癌物質のDNA交叉作用はそれほど違わないと思われるが、後者ではDNAのcross-linkその他不明の理由でcytotoxicな効果が表に出るものと考えられる。標的は前述のように差がない点は興味深い。ウイルスによる切断のHcまたは核小体域への局在も知られ、標的の点では大差がないと考えられる。組換えはおそらくウイルス核酸の宿主DNAへの組込みに関連して起こり、ウイルスの各種核酸切断、合成酵素がこのさい組込み、断端の接続に使われると考えられる。化学発癌剤や放射線がウイルス腫瘍の発生を助長する、いわゆるco-carcinogenesisは2ヒットを要する交換が、他因子の共存によつて促進される現象と解されるが、実際、ウイルスによる染色体切断が化学物質の共存によつて相乗的に促進される³⁷⁾ことが出されている。

以上のごとく、組換えによる核小体シストロンの増量が細胞の腫瘍化に、重要な役割を果たしていると考えられ、これを有効にひき起こす化学、物理、生物因子を発癌因子と考えることができるのではないかと考える。この種のゲノムの変化は核小体遺伝子の持続的な転写を招き、細胞は絶えず増殖に傾き、分化がまつとうされないものと考えられる。

4. 癌, 奇形, 突然変異, 進化

発癌因子の多くは生物に突然変異や奇形を誘発する。奇形は先天的な染色体異常によるもののほか、胎生期に薬剤、ウイルス、放射線が作用して発生するものがある。後者の場合、時期的に組織分化のための細胞分裂に関連して発生するといわれる。染色体異常が奇形を誘発

することから、遺伝子量の異常が遺伝子発現のペースを乱し、発生異常をひき起こすことを示しており、催奇因子による発生途上の分裂体細胞における染色体、あるいは遺伝子の不等分配の役割が暗示される。奇形と腫瘍との密接な相関は当然と考えられる。化学物質や放射線による奇形発生のさいにvirogeneあるいは“teratogene”の発現を想定するのはむづかしい。

このように、体細胞の分裂異常が癌や奇形を形成するのに対して、生殖細胞におけるゲノムの組換え、とくに不等交叉による遺伝子増量は、生物の変異や変種の形成、したがって、生物の進化に重要であると考えられている^{38,39)}。癌と進化は均一集団の中からこれを圧倒する“変種”の出現する過程でありよく似ている。

おわりに

以上、化学発癌剤の染色体組換え作用をもとに、癌を遺伝子量の疾患とする仮説について述べた。この仮説は、今日のウイルス発癌と化学発癌の立場を両立させるばかりでなく、いくつかの癌の側面をよく説明する。この仮説にはなお不十分な点も多くあるが、これはHcを中心とする今後の研究によつて埋めていきたいと考えている。

人癌で最もウイルス説の可能性の強いBurkittリンパ腫でも染色体に特定の変化の存在が示された(Manolov: *Nature*. 237: 33, 1972)。これなども染色体の組換えが起こっていることを示しており癌化過程で如何に染色体レベルでの出来事が重要であるかを示す例である。

本研究は文部省癌特別研究II(90200), I(90375, 90388)の援助を受けた。

文献

- 1) Weber, G.: In Exploitable Molecular Mechanisms and Neoplasia. University of Texas M.D. Anderson Hospital and Tumor Institute at Houston, 1969, p. 521.
- 2) Culliton, B.J.: *Science*. 177: 44, 1972.
- 3) Boveri, T.: The Origin of Malignant Tumors. First published, Jena, 1914. Williams & Wilkins, Baltimore, 1929.
- 4) Nowell, P.C.: *Progr. Expt. Tumor. Res.* 7: 83, 1965.
- 5) Porter, I.H., Benedict, W.F., Brown, C.D. & Paul, B.: *Exp. Mole. Path.* 11: 340, 1969.
- 6) Sandberg, A.A. & Hossfeld, D.K.: *Ann. Med.* 21: 379, 1970.
- 7) Sugiyama, T., Kurita, Y. & Nishizuka, Y.: *Science*. 159: 1058, 1967.
- 8) Kurita, Y., Sugiyama, T. & Nishizuka, Y.: *Cancer Res.* 28(19): 1738, 1968.

- 9) Sugiyama, T., Kurita, Y. & Nishizuka, Y.: *Cancer Res.* 29: 1117, 1969.
- 10) Kurita, Y., Sugiyama, T. & Nishizuka, Y.: *Gann.*: 529, 1969.
- 11) Sugiyama, T. & Brillantes, F.P.: *J. Exp. Med.* 131: 331, 1970.
- 12) 杉山武敏, 栗田義則: 日本癌学会シンポジウム記録. 1970.
- 13) Fichidzhyan, V.S. & Pogoyants, E.E.: *Fed. Proc.* 23: T1018, 1964.
- 14) Mitelman, F. Mark, J., Levan, G. & Levan, A.: *Science.* 176: 1340, 1972.
- 15) Mitelman, F.: *Hereditas*, 70: 1, 1972.
- 16) Sugiyama, T.: *J. Nat. Cancer Inst.* 47: 1267, 1971.
- 17) Kurita, Y., Sugiyama, T. & Nishizuka, Y.: *J. Nat. Cancer Inst.* 43: 635, 1969.
- 18) 杉山武敏: 第31回日本癌学会. 1972年10月.
- 19) Sugiyama, T.: *Proc. Nat. Acad. Sci.* 68: 2761, 1971.
- 20) Benedict, W.F.: *J. Nat. Cancer Inst.* 49: 585, 1972.
- 21) Nichols, W.W.: In *Handbook of Molecular Cytology*, edited by Lima-de-Faria, Elsevier, Amsterdam and London, 1969, p. 732.
- 22) Borek, C. & Sachs, L.: *Nature.* 210: 276, 1966.
- 23) Todaro, G.J. & Green, H.: *Proc. Nat. Acad. Sci.* 55: 302, 1966.
- 24) Brown, S.W.: *Science.* 151: 417, 1966.
- 25) Yunis, J.J. & Yasmineh, W.G.: *Science.* 174: 1200, 1971.
- 26) Walker, P.M.B.: *Nature.* 229: 306, 1971.
- 27) Arrighi, F.E. & Hsu, T.C.: *Cytogenetics.* 10: 81, 1971.
- 28) Pardue, M.L. & Gall, J.G.: *Science.* 168: 1356, 1970.
- 29) Revell, S.H.: In *Radiobiology Symposium*, Liège, 1954, Butterworth, London, 1955.
- 30) Yosida, T.H.: In *Cancer Cells, in Culture*, edited by Katsuta, H., University of Tokyo Press, Tokyo, and University Park Press, Baltimore, and State College, Pennsylvania, 1968, p. 171.
- 31) Liao, S. & Lin, A.H.: *Proc. Nat. Acad. Sci.* 57: 379, 1966.
- 32) Harris, H., Miller, O.J., Klein, G., Worst, P., & Tachibana, O.: *Nature.* 223: 363, 1969.
- 33) Eliceiri, G.L. & Green, H.: *J. Mol. Biol.* 41: 253, 1969.
- 34) Brown, D.D.: *Science.* 160: 272, 1968.
- 35) 安藤俊夫: 癌と核酸. 村松正実編, 南江堂, 1972, p. 201.
- 36) Brøgger, A., Johansen, J.: *Chromosoma.* 38: 95, 1972.
- 37) O'Neill, F.J., Rapp, F.: *J. Virol.* 7: 692, 1971.
- 38) Watts, R.L.: In *Evolution and the origin of Life*, North-Hollands, Amsterdam and London, 1971, p. 14.
- 39) Ohno, S.: *Gene Duplication in Evolution*, Springer-Verlag, 1971.

* * *

血液細胞における染色体変異と白血病

石原 隆 昭

はじめに

染色体変異と発癌との関係については、それらを一次的なできごと、すなわち発癌の原因とみるか、または悪性増殖に伴う二次的なできごと、すなわち発癌の結果とみるかの2つの立場で多くの論議がなされてきた。このうち染色体変異を結果とみる立場が、正常染色体型を示す腫瘍が稀でないこと、いろいろな腫瘍にいろいろな染色体異常が見出されるが、同一タイプの腫瘍でも共通した変異が認められないこと、また、悪性増殖の過程においてしばしば、染色体変異が生ずることなどを論拠として、有力である。

しかし、Nowell と Hungerford^{1,2)} は、1960年にヒトの慢性骨髄性白血病 (chronic myelocytic leukemia) の症例においては、共通してG染色体の一本の長腕に部分的欠失が認められることを見出し、慢性骨髄性白血病の発生に対してこの染色体変化が第一次的な役割をもっていることを明らかにした。

他方、染色体異常をもつ個体 (Down 症候群、Klinefelter 症候群など) において悪性腫瘍の発生率が一般集団と比して非常に高いこと、また、トリソミーのような染色体異常をもつ細胞が放射線、ウイルス、化学薬剤などの発癌因子に対して高い感受性をもつこともよく知られている。このような場合の染色体変異は悪性化の直接の原因ではないであろうが、それらの存在が細胞の悪性化傾向を高めるのではないかと考えられている。このように、染色体異常と発癌との係わり合いにはなお重要な問題が残されている。

ここではわれわれの対象としたヒトの慢性骨髄性白血病症例の研究を中心に、両者の関係について2、3の問題を述べることにする。

1. Ph¹ 染色体の特徴

Nowell と Hungerford によつて慢性骨髄性白血病 (以下 CML と略す) に見出された特有な異常染色体は、フィラデルフィア染色体 (Ph¹ 染色体) と呼ばれるが、現在までに多くの研究者によつて検討がなされた非常に多数の症例の90~100%において、その存在が確認されている^{3,4)}。

Ph¹ 染色体は図1に示されるような微小染色体で、前述のようにG22染色体の一本の長腕の部分的欠失による部分的なモノソミーである。G染色体は普通の形態的観察では区別し難い2対 (G21 および 22) の染色体群で、最近まで Ph¹ 染色体は Down 症候群のトリソミー染色体と同一のG染色体に属するものであろうと想定されていた。しかし、キナクリン蛍光法、ギムザ分染法などによつて、2対の染色体群の識別が可能になるとともに、Down 症候群のトリソミー染色体とは異なる染色体に属することが確かめられている^{5,6)}。われわれの観察においても、図2のようにG21染色体に比して蛍光の暗いことで明らかに区別できるG22染色体であることは間違いない。

Ph¹ 染色体の形態的特徴としては、次に、欠失部位および欠失部分の大きさが問題になる。Rudkin ら⁷⁾ による生化学的な測定によると長腕の約40%、DNA量にして 2×10^7 ニュークレオチド対程度であろうといわれている。しかし、欠失部分の大きさは、図3に示すようにわれわれの観察例においてもかなり変異に富み、同一でない。このことは、切断する欠失部位 (site) は一定ではなく、ある染色体部位 (active site) を含んだ欠失であればよいことになる。この場合、G22染色体の長腕全部、あるいは長腕と短腕のすべて、すなわち一本全部が欠失したとしても当然 active site を含むことになるが、現在のところ発生当初からそのような異常を持った CML は認められておらず、おそらくG22染色体の長腕全部以上の染色体の欠失は細胞の致死をまねくことになるもの

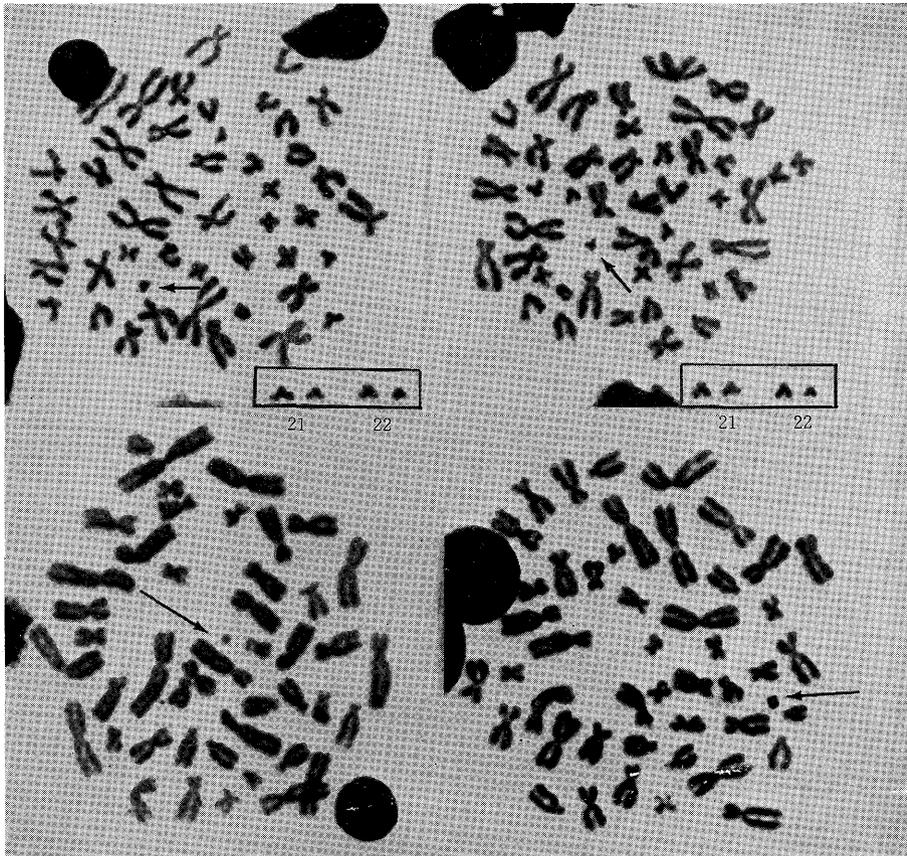


図1 CML 症例の骨髄細胞に認められる Ph¹ 染色体 (矢印)

と想像され、Ph¹ 染色体としての効果をもつような欠失範囲 (Ph¹-region) の存在が想定される。

このような形態的特徴をもつ Ph¹ 染色体の存在は造血細胞(骨髄系細胞)に限定され、皮膚などはもちろんのことリンパ球にも認められない。このようなことから Ph¹ 染色体はそれぞれの症例にとって先天的な存在物ではなく、骨髄細胞に誘起されたものであることは間違いない。いうまでもなく CML は顆粒系細胞の異常な増殖があるが、しかし、Ph¹ 染色体の存在は顆粒系細胞に限定されることなく、赤芽球系、血小板系の細胞にも認められている^{8,9)}。このことは Ph¹ 染色体が、これらの3系列の細胞に共通した幹細胞に誘発されたことを物語る(図4)。ここで重要なことは、Ph¹ 染色体が共通して3系列の細胞に存在しながらどうして主として顆粒球系細胞のみに増殖異常をもたらすかである。この機構は明らかではないが、おそらく造血細胞の分化増殖に G22 染色体は普遍的な効果をもつものではないことを示し、顆粒球系細胞の増殖分化の調節に關与する因子が G22 染色体に存在し、その存在部位は Ph¹ 染色体の欠失した染色体部

分にあることを示唆しているものといえよう。

次に、重要なことは、CML は1つの細胞を起源 (monoclonal origin) として発生するか、それともそれぞれ独立に生じた複数数の細胞を出発点 (multiclonal origin) とするかである。この点についてはわれわれの観察対象とした2症例において monoclonal origin (single cell origin) を強く示唆する結果が得られている。図5に示すようにこの症例の白血病細胞には Ph¹ 染色体に加えて患者の生来の変化でない相互転座染色体: t(2q-; 16q+) が存在し、さらにこれらから2つの Ph¹ 染色体をもつクローンの分岐が観察されているが、この場合にも特有な転座染色体の存在が認められている(図6)。このように転座染色体と Ph¹ 染色体が多くの細胞にそれぞれ独立して誘起される可能性はきわめて少ないものと考えられる。また、このことは図7および図8に示す症例においても認められている。この場合は Ph¹ 染色体に加えて患者の生来もつていない G 染色体に2つの変化 (G21 染色体: enlarged short arm, G22 染色体: meta-centric 染色体) が存在し、これらからさらに5タイプ

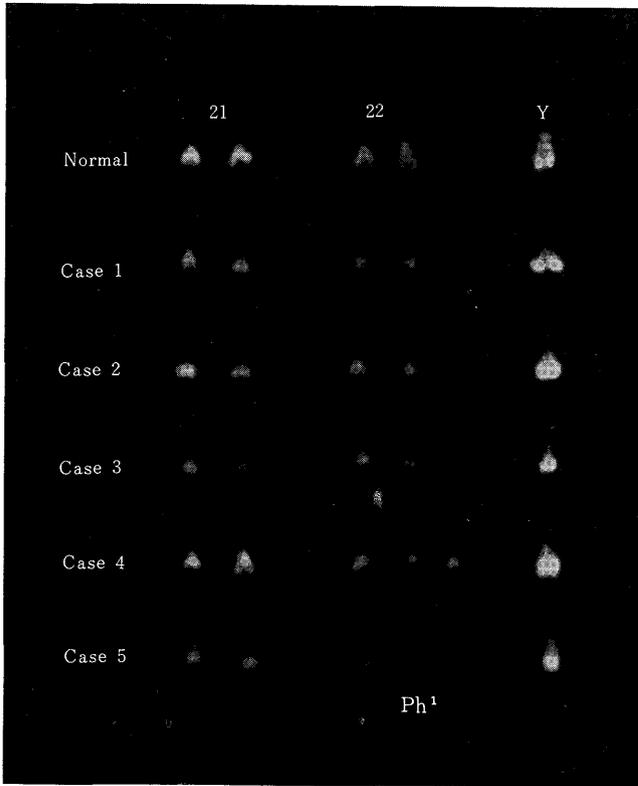


図2 キナクリン螢光法によつて分析した Ph¹染色体. Case 4: 2つの Ph¹ 染色体をもつ症例, Case 5: Ph¹ 染色体が欠失した症例

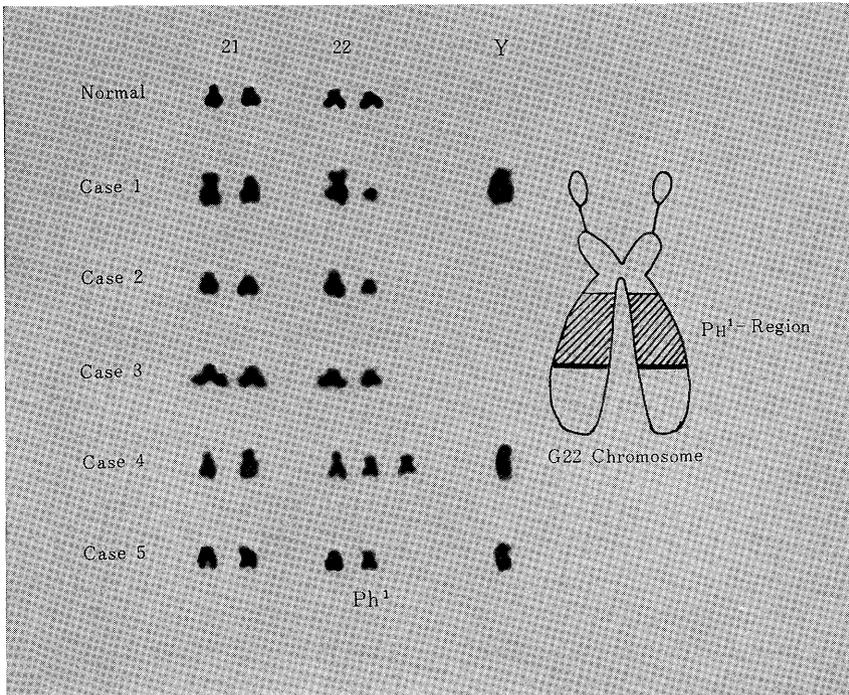


図3 Ph¹ 染色体の大きさの変異と Ph¹-region の模式図

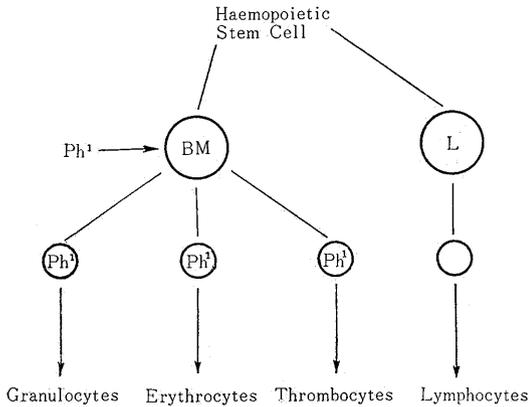


図4 細胞の分化過程と Ph¹染色体

の細胞クローンが出現しているが、これらのクローンには共通してG染色体における特有な変化が認められるのであつて、1つの細胞を起源としている可能性が強く示唆される。Fialkowら¹⁰⁾によるCML症例の赤血球、顆粒球、および皮膚細胞におけるG-6-PDのタイプの解析からもCMLがsingle cell originであろうことが指摘されている。

2. Ph¹染色体の存在と疾病発生との関係

前述のようにPh¹染色体は大多数のCML症例に認められるが、他方、Ph¹染色体の存在しない症例も見出されている。表1に示されている10%前後のPh¹-症例は一般にPh¹+の症例に比し、非常に治療に対する反応

が悪く予後が不良な臨床経過をたどるといわれている。また、小児のCML症例においてもPh¹+例とPh¹-例の両者が認められるが、それらの多くを占めるPh¹-例は“juvenile型”と呼ばれ重急性型を示し一般に治療効

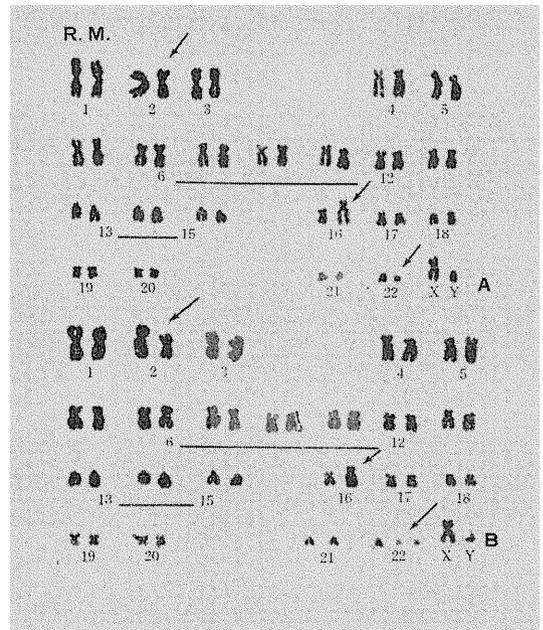


図6 R.M.例の白血病細胞の染色体型. A, Bともに同一相互転座: t(2q-;16q+)が認められる. A: 46, Ph¹+細胞 B: 47, 2Ph¹+細胞

R.M.

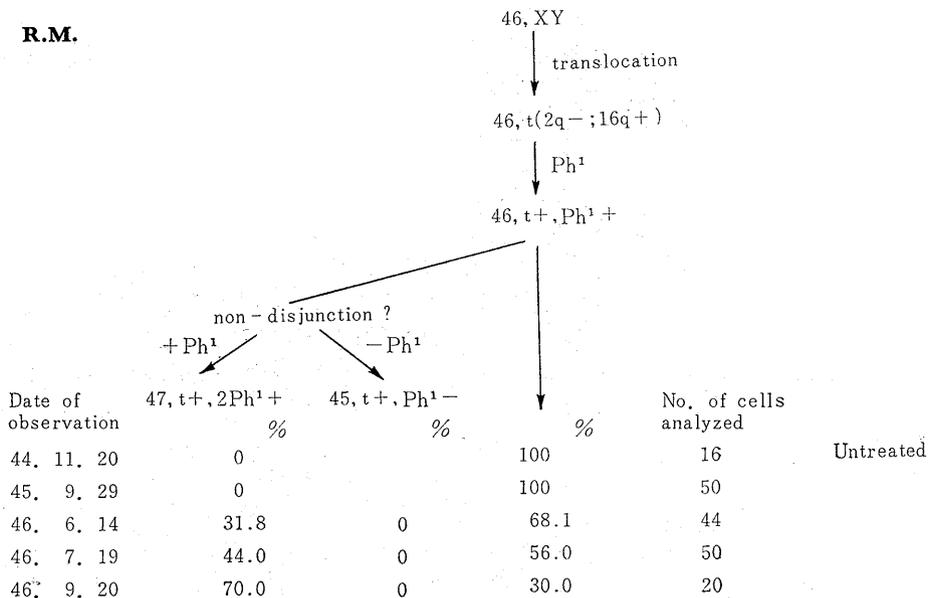


図5 Ph¹染色体に加えて2つの染色体間に相互転座をもつCML症例(R.M.) t: translocation

れていない。

一方、Ph¹-例とは逆に Ph¹+例で CML を表現しない症例が急性骨髄性白血病，急性リンパ性白血病，赤白血病，多血症，骨髄繊維症などにおいていくつか報告されている¹²⁾。この事実は Ph¹染色体の表現効果が CML に限定するものでないということになる。しかし，このような特異症例はごく稀なものであり，しかもそれらの症例の多くを占めるのは急性骨髄性白血病であつて，この場合には CML の急性転化例が含まれる可能性もある。また，これらの特異症例に認められる Ph¹染色体が G22 染色体の部分的欠失に確かによつたものか，あるいは G21 染色体の部分的欠失の可能性はまったくないものかなど十分な検討が必要である。

3. 慢性骨髄性白血病的発症機構

上述したように，CML の大部分の症例における疾病発生の“initial event”は，G22 染色体の active site を含んだ部分的欠失にあることは想像にかたくない。われわれは放射線被曝者の培養末梢リンパ球にも Ph¹に類似した染色体を見出している¹³⁾，これらの部分的欠失を末端部の欠失と考えると，放射線と限らずウイルスや化学薬剤あるいはいろいろな環境因子によつても誘発されるタイプの染色体異常で，しかも自然 (spontaneous) にもある頻度で常に出現することが期待される。われわれの観察による培養末梢リンパ球における末端部欠失 (acentric fragments として識別される) の自然発生率はおよそ $2 \sim 3 \times 10^{-3}/\text{cell}/\text{cell cycle}$ 程度である¹⁴⁾。骨髄細胞においても，一応，末端部欠失が末梢リンパ球と同一の頻度で起きると仮定する (われわれは正常個体の骨髄細胞 335 コ中に末端部欠失 1 コを観察している)。また，末端部欠失が各染色体に均等に，すなわち染色体の長さ按比例して起こるとすると，G22 染色体の長腕の全染色体に対する相対的な長さ (relative length) は約 $14/1000$ ¹⁵⁾ で，このうち前述の Ph¹-region (図 3) を $6/1000$ 程度とすると，この部分に期待される末端欠失は 1 回の cell cycle 当り $12 \sim 18 \times 10^{-6}/\text{cell}$ となる。Ph¹ 染色体がこのように末端部欠失によつて形成されるとすると正常個体の骨髄幹細胞 (input: $10^{10}/\text{日}$)¹⁶⁾ においては非常に多数の G22 染色体の末端欠失の出現が繰り返されることになる。骨髄細胞にこのようにして誘発された Ph¹ 細胞は，常識的に考えると正常細胞を凌駕する増殖における selective advantage を有するだろうことは，CML においては Ph¹ 細胞によつて窮極的には骨髄全体がおきかえられてしまうことから当然予想される。CML は前述のようにその多くの例が 1 コの Ph¹ 細

胞を起源として発現しており，繰り返して生産される Ph¹ 細胞の蓄積によるものではない。そうすると上記の割合で生ずると期待される Ph¹ 細胞は，そのほとんどが骨髄細胞集団から除外されてしまうことになる。

他方，Ph¹ 染色体の形成そのものが G22 染色体の末端欠失によるものではないという可能性と，もう 1 つは骨髄細胞における末端部欠失の自然発生率が培養末梢リンパ球における値よりも非常に低頻度である可能性もある。末端部欠失でない Ph¹ 染色体の形成過程の 1 つとしては中間部欠失 (interstitial deletion) が考えられる。中間部欠失は 2 つの染色体切断によつて起こされるもので，Ph¹-region を含んで 2 つの染色体切断が生じ，その切断の中間部分が失われ，末端部と動原体の近接部との間の再融合によつて生じる。もしも Ph¹ 染色体が中間部欠失によつて起こるとすると，1 つの染色体切断によつて形成される末端欠失に比して，その発生率は $1/100$ ないしは $1/1000$ というように非常に少なくなることが考えられる。しかし現在のところでは Ph¹ 染色体が末端部の欠失によるか，中間部の欠失によるか，あるいは両者のどちらでもよいのかなど，まったく明らかにすることはできない。

しかしながら，G22 染色体の部分的欠失がどのような欠失過程をとつて形成されようと，自然状態で骨髄細胞に potential Ph¹ 染色体がある頻度で生ずることは間違いなく，さらに骨髄細胞以外のいろいろな組織細胞においても同様に G22 染色体の部分的欠失の出現が期待されてよいはずである。そうすると Ph¹ 染色体の形成と Ph¹ 細胞が骨髄細胞集団へ増大して発症に至る過程とは別なものと考えられ，CML の発症にとつては，発症を表現するまで Ph¹ 細胞を骨髄細胞集団に拡大する過程が非常に重要な問題となる。

このような CML の発症の機構に関しては，われわれの観察した原爆被曝者に認められた CML 1 例および，Finney ら¹⁷⁾の報告した CML 1 例からもある程度支持される。われわれの症例は，1955 年に CML の疑いをもたれたがウレタンおよびブスルファンの治療によつて正常に復し，その後約 10 年間血液像などは正常に経過しながら，1966 年に至つて急性白血病化を起こしている。この例の染色体観察は急性転化時に 1 度だけ実施されているが，Ph¹+細胞の存在頻度は 16% と低い。この症例においては，おそらく骨髄での Ph¹ 細胞の存在の度合いが発症を表現するまでに至らない程度に長年月にわたつて維持されていたであろうことを示している。このような傾向は，Finney らの観察でより明瞭に示されている。1958 年に CML と診断されたこの症例は，1959 年 7 月

表 2 骨髄における Ph¹+細胞の出現頻度
(骨髄直接観察法による)

Date	Scorable cells	Ph ¹ +ve	Ph ¹ -ve
15. 12. 62	41	2	39
17. 9. 62	50	10	40
9. 7. 63	30	8	22
28. 10. 64	8	2	6
9. 8. 66	16	0	16
25. 4. 67	60	5	55
9. 5. 69	50	4	46

(Finney, R. et al.: *Brit. J. Haematol.* 23: 283, 1972.)

までブスルファンによる治療を受け、1961年から1971年10月に至るまでの10年にわたる長い寛解が持続されている。この期間における染色体観察(骨髄直接観察法による)は表2に示されるように約7年間に7回行なわれているが、いずれの観察も骨髄細胞の大多数は Ph¹-細胞によつて占められ、Ph¹+細胞の存在が低くおきえられている。この例からも明らかなように、CMLの発症表現は Ph¹細胞が骨髄細胞集団に対してある程度以上の負荷をあたえるまで拡大することが必要であるようにみえる。

以上の CMLの発症機構は、また放射線誘発染色体異常細胞のクローンの成立および拡大過程ともきわめて類似するパターンを示す。われわれは、種々な放射線被曝者(ビキニ被災者、トロラスト被投与者、放射線治療患者など)の骨髄の染色体異常クローンを観察しているが¹⁸⁾、ある場合には100%近い骨髄細胞が単一クローンによつておきかえられている例もある。この傾向は実験的にも認められ、ラットに700RのX線照射を行なつた骨髄細胞においては時間的経過とともに、多数存在した染色体異常細胞が、単一ないし少数のクローンに収斂し、それらの拡大によつて骨髄全体がおきかえられている。また、この拡大の過程において新しい染色体変異が加わることも観察されている¹⁹⁾。

以上述べてきたように、染色体異常細胞変遷のパターンからみると図9のように CMLの発症の過程もまた、放射線による晩発効果の発現機構も非常に類似した過程

CML

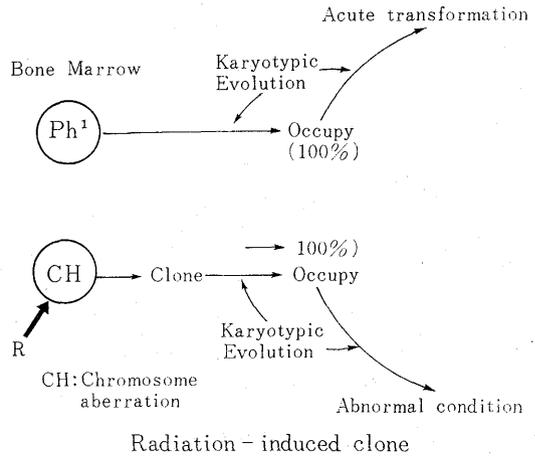


図 9 染色体変異細胞の拡大モデル

をとるのではないかと考えられる。この場合、生物効果のポテンシャルをもつ染色体変異細胞の生成と、それらの変異細胞を生物学的表現にまで結びつけるまで拡大する過程とは、それぞれ異なつた eventによるものであらうと想像される。

4. 慢性骨髄性白血病の急性白血病化

CMLにおいては、非常に多くの症例が急性白血病化(急性転化)することが知られ、この場合には、Ph¹染色体以外にいろいろな染色体変異が認められることも報告されている¹¹⁾。表3はわれわれの対象とした急性転化例6例で、このうち4例(66.6%)には新しい染色体異常が観察されているが、これに反して慢性型39例では2例(5.1%)に認められるのみである。また、これらの付加的な染色体異常をもつ細胞クローンの出現は、しばしば急性転化によく対応してみられている。図10および図11は急性転化とともに染色体数46, 1コの Ph¹をもつ細胞から染色体数48, 2コの Ph¹染色体とC群染色体のトリソミーを有する細胞クローンによつて置き換わつた例である。その他の2例においても同様に付加的な染色体異常の出現と急性転化とがほぼ対応する傾向が観察されている。また、付加的に生ずる染色体異常は Ph¹染色

表 3 付加的 (additional) な染色体変異をもつ CML 症例の出現頻度

Case	No. of patients	Additional chromosome abnormalities	
		with	without
Acute phase	6	4 (66.6%)	2 (33.3%)
Chronic phase	39	2 (5.1%)	37 (94.8%)

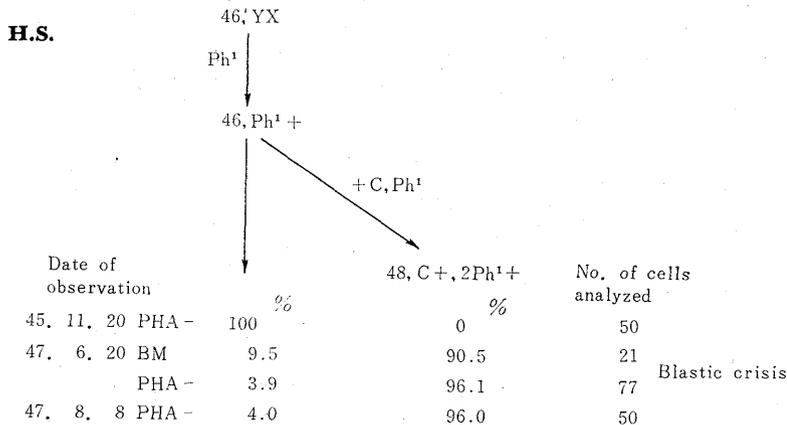


図 10 急性白血病化を起こした CML 症例(H.S.). 急性転化とともに46, Ph¹ +の細胞クローンから48, C+, 2Ph¹ +の細胞クローンへの転換が観察される

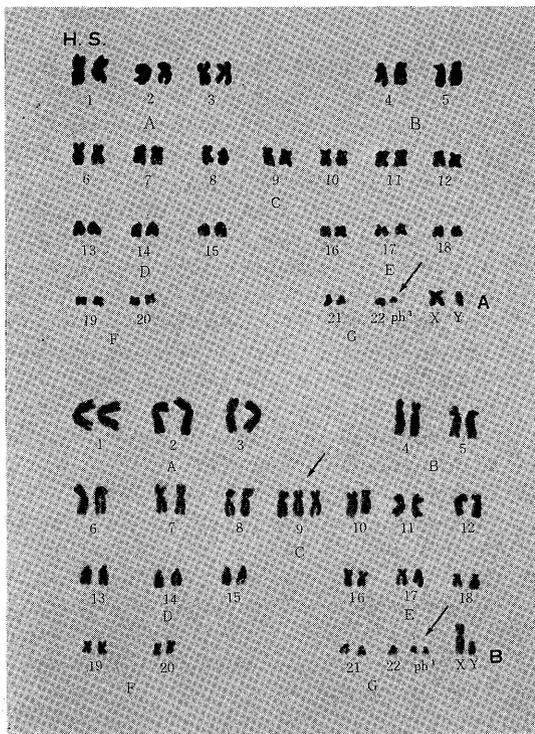


図 11 H. S. 例の白血病患者の染色体型. A: 46, Ph¹ +細胞 B: Aより由来した48, C+, 2Ph¹ +細胞

体のように一定してはいないが、図11に示すような Ph¹ 染色体の倍加 (double Ph¹) を示すもの、あるいはC群染色体のトリソミーを示すものが多くの症例において観察されている。

しかしながら、急性転化とこのような新しく出現する染色体異常との関連については、(1) 前述のように付

加的な染色体異常の型が一定していないこと、(2) 付加的な染色体異常をもちながら急性転化を示さない症例が存在すること、(3) それとは逆に急性転化を起こしても付加的な染色体異常が出現しない症例が存在すること、などの理由から直接的な関連はないとされている¹¹⁾。一方、急性白血病患者においても染色体異常は一定したのではなく、約半数は正常染色体型を示している。このような点から現在では急性白血病患者(急性転化例を含めて)における染色体変異はおそらく原因と直接的には関連のないものであろうと考えられている^{20, 21)}。

CML における急性転化の機構はまったく明らかではないが、Ph¹ 染色体の存在による遺伝的不安定性が新しい遺伝的变化をもたらすと考えることができるし、他方、Ph¹ 染色体の存在が白血病患者の発生因子に対する細胞の感受性を増すことになると考えることもできる。細胞のもつ染色体異常といろいろな発生因子(放射線、ウイルスなど)との間の関係については、すでに Down 症候群^{22, 23)}、Klinefelter 症候群²⁴⁾ などにおいて明らかにされている。

ここで急性転化における非常に重要な問題は、CML の急性転化の機構を明らかにすることが、とりもなおさず急性白血病患者の発現機構を解明することになることである。この意味でも Ph¹ 染色体をマーカーとする慢性骨髄性白血病患者は、現在でも白血病患者発生機構を探る1つのキーポイントといえるように考えられる。

おわりに

血液細胞の染色体変異と白血病患者発現の関係について、主に CML の Ph¹ 染色体を中心に述べてきたが、両者の関連について次の3点が指摘される。

1) Ph¹染色体は CML の発現への“initial event”として重要な役割をもっていることは間違いなく、染色体変異が白血病発現に第一次的役割をもつ場合もあることは確かである (cause)。しかし、Ph¹染色体そのものは正常細胞にもある頻度で出現する可能性があり、Ph¹染色体の形成過程とそれらの potential Ph¹細胞を発症まで導く過程とはおそらく別なものであろうと考えられる。

2) CML の急性転化を含めた急性白血病における染色体変異の多くは、Ph¹染色体とは異なつて白血病発現とは直接的には関連のないものであろうと、一応、現在のところ考えられる (consequence)。

3) 染色体変異と白血病発現とのもう1つの関連は、ここでは詳しく述べることはできなかつたが、染色体変異の存在が発生因子に対する感受性を増し、白血病発生傾向を高めるといふ点において考えられる (leukemia-prone)。

文献

- 1) Nowell, P. C. & Hungerford, D. A.: A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. *Science*. 132: 1497, 1960.
- 2) Nowell, P. C. & Hungerford, D. A.: Chromosome studies on normal and leukemic human leukocytes. *J. Nat. Cancer Inst.* 25: 85-109, 1960.
- 3) Sandberg, A. A., et al.: Comparison of chromosome constitution in chronic myelocytic leukemia and myeloproliferative disorders. *Blood*. 20: 393-423, 1962.
- 3) Whang-Peng, J., et al.: Clinical implications of cytogenetic variants in chronic myelocytic leukemia (CML). *Blood*. 32: 755-766, 1968.
- 4) Caspersson, T., et al.: Identification of the Philadelphia chromosome as a number 22 by quinacrine mustard fluorescence analysis. *Exptl. Cell Res.* 63: 238-240, 1970.
- 6) O'Riordan, M. L., et al.: Distinguishing between the chromosomes involved in Down's syndrome (trisomy 21) and chronic myeloid leukemia (Ph¹) by fluorescence. *Nature*. 230: 167-168, 1971.
- 7) Rudkin, G. T., et al.: DNA contents of chromosome Ph¹ and chromosome 21 in human chronic leukemia. *Science*. 144: 1229-1232, 1964.
- 8) Whang, J., et al.: The distribution of the Philadelphia chromosome in patients with chronic myelogenous leukemia. *Blood*. 22: 664-673, 1963.
- 9) Rastrick, J. M.: A method for the positive identification of erythropoietic cell in chromosome preparations of bone marrow. *Brit. J. Haemat.* 16: 185-191, 1969.
- 10) Fialkow, P. J., et al.: Clonal origin of chronic myelocytic leukemia in man. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 58: 1468-1471, 1967.
- 11) Hossfeld, D. K. & Sandberg, A. A.: Das Philadelphia Chromosom. *Klin. Woch.* 48: 1431-1441, 1970.
- 12) 石原隆昭：小児白血病と染色体異常。小児外科，内科。3: 1037-1045, 1971.
- 13) Ishihara, T. & Kumatori, T.: Chromosome studies on Japanese exposed to radiation resulting from nuclear bomb explosion. In Human radiation cytogenetics, North Holland Publishing Company, Amsterdam, 1967, pp. 144-167.
- 14) 石原隆昭，熊取敏之：白血球染色体におよぼす電離放射線の影響。日本血液学会雑誌。28: 291-307, 1965.
- 15) Chicago Conference: Standardization in Human Cytogenetics. Birth Defects: Original Article Series, II: 2, 1966. The National Foundation, New York.
- 16) 平嶋邦猛：造血機構に対する放射線の影響。放射線科学。11: 105-110, 1968.
- 17) Finney, R., et al.: Chronic granulocytic leukemia with Ph¹ negative cells in bone marrow. *Brit. J. Haemat.* 23: 283-288, 1972.
- 18) Ishihara, T., et al.: Karyotypes of cells to the establishment and the maintenance of clones with structural chromosome aberrations in bone marrow of irradiated humans. *Natl. Inst. Radiol. Ann. Rept. (NIRS-9)*: 60-61, 1970.
- 19) Kohno, S., et al.: Clones of cells with chromosome aberrations in hematopoietic tissues after irradiation. II. Serial observations in bone marrow of X-irradiated rats. *Natl. Inst. Radiol. Sci. Ann. Rept. (NIRS-11)*: 39-40, 1970.
- 20) Sandberg, A. A., et al.: Chromosomal differences among the acute leukemias. *N. Y. Acad. Sci.* 113: 663-716, 1964.
- 21) Nowell, P. C.: Chromosome abnormalities in human leukemia and lymphoma. In Proceeding of the International Conference on Leukemia-Lymphoma, Lea and Febigers, Philadelphia, 1968, pp. 47-53.
- 22) Sasaki, M. S., et al.: Chromosome constitution and its bearing the chromosomal radiosensitivity in man. *Mutation Res.* 10: 617-633, 1970.
- 23) Todaro, G. J. & Martin, G. M.: Increased susceptibility of Down's syndrome fibroblasts to transformation by SV⁴⁰. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 124: 1232-1236, 1967.
- 24) Mukerjee, D., et al.: Simian papovavirus 40 transformation of cells from cancer patient with XY/XXY mosaic Klinefelter syndrome. *Cancer Res.* 30: 1769-1772, 1970.

VI. 環境因子と人間の将来

渡辺、小泉両先生の講演要旨を再録しないで、ここには座長の質問に答えて両先生が述べられた注目すべき発言を記録しておきたい。

人口増加の面から見た人間の将来は、環境因子を越えて、はなはだ憂うべきではないかという座長の質問に対して、小泉先生はこう答えられた。“99%は悲観的である。あとの1%について、努力したい。”人間の歴史から言つて、現在われわれはきわめて決定的な段階に立っているというべきではあるまいか。人間は生きている限り食糧を必要とし、莫大なエネルギーを費す。環境因子の区々たる害毒を論ずるよりも、この恐るべき人口増加という事実を正視しなくてはならないのではなからうか。

渡辺先生はこれを受けて、その処理は、“かかつて産

児制限”にあると説かれる。ただし、そこには現在生きている人間が自ら生を断つこととの振り合いを十分に考えてからにせよと言われる。“産児制限か自殺か”という反省に立つて、産児制限をすすめよというわけである。

環境因子の問題が、突如として人間の将来そのものの論議になつてしまつたけれど、この討論は避けて通るべきものではないものであろう。機会を改めて、広い視野から生物としての人間の将来を徹底的に検討し、いまにして打つべき手はすべて尽すべきではなからうか。これは座長のみの印象ではなく、聴衆全部が等しくもつた、まことに深刻な印象ではなかつたかと思う。とくに記して識者の注目をお願いしたい。

(東京大学薬学部微生物薬品化学教室 水野伝一)

* * *

環境因子と人間の将来

—分子生物学の立場から—

渡 辺 格

分子生物学は、生命現象と物理的・化学的現象との連続性を証明することによつて、生物が物質系でもあり、エネルギー系でもあると同時に、機能的には、情報系、調節制御系でもあることを明らかにしてきた。分子生物学は、種々の環境因子と生体とのかかわり合いという点に注目した場合、次の3つの重要な概念を提出し、その内容を明らかにすることに成功した。第1は環境因子が直接遺伝子自体の変化に関係する場合、第2は遺伝子は変化しないが、環境因子によつて遺伝情報の発現が変化するという場合、第3は遺伝子および遺伝情報の発現（タンパク質の合成）には関係なく、遺伝情報の生産物であるタンパク質のレベル、またはタンパク質以上のレベルで、環境因子によつて生体の構造と働きに変化が生じるという場合である。第1の現象の内容は、DelbrückとLuriaによつて1943年に最初に明らかにされたものであり、細菌のバクテリオファージあるいは薬剤に対する抵抗性獲得とかの問題はその例である。これらの場合、バクテリオファージとか薬剤に相当するところの外部環境因子が、遺伝子に直接作用して抵抗性を示す遺伝情報をもつようになつて、細菌が外部環境因子に対し抵抗性を獲得したものではない。外部環境因子と接する以前から、細菌の集団中に抵抗性を示す突然変異体のごく小数存在しており、これらの突然変異体が、外部環境因子によつて選択されて、多数になつたに過ぎないものであつた。もちろん、外部環境因子の中には、たとえば放射線とか、種々さまざまな化学物質、あるいはある種のウイルスなどの生物的要因など、突然変異を誘発させるものがあることはよく知られているが、これらの影響は無方向的である。DelbrückとLuriaによつて示された問題の1つの重要な点は、集団中に無方向的に生じた少数派の突然変異体が、外部環境因子によつて有利に選択され、多数派にとつて代ることとなり、その結果、集団

の遺伝子構造が変化してしまうことを明らかにした点であつた。第2の遺伝情報の発現に対する外部環境因子の影響は、JacobとMonod(1961)によつて提起された適応酵素の生成の問題、すなわちオペロン説で代表されるものである。DNAの遺伝情報が読み取られて種々のタンパク質が合成されるが、この場合タンパク質の合成量を調節制御する遺伝子があり、それが環境の変化に応じて働くことによつて、タンパク質の合成が制御される。この場合、外部環境因子は、タンパク質合成の制御機構、すなわち遺伝子情報の発現機構に対し重要な役割を演じており、遺伝子自体は何ら変化することはない。第3はMonod(1963)によつて示された、アロステリック効果に代表されるものである。この場合、外部環境因子は遺伝子自体の変化にも、タンパク質合成の制御機構にも直接働きかけるわけではなく、合成されたタンパク質あるいはタンパク質以上のレベルに作用することによつて、代謝調節あるいは構造の変化を制御するものである。もちろん、外部環境因子によつて変化を受けたタンパク質が、次に遺伝物質たるDNAに作用することも考えられるが、アロステリック効果で代表される概念は、原則的には遺伝物質とは直接関係のないものである。

分子生物学によつて明らかにされた、このような基本的立場に立てば、遺伝物質に直接影響を与えない外部環境因子の生物に及ぼす作用効果、ことに障害の問題は、直接DNAに作用する外部環境の問題とともに、きわめて重要であるはずである。たとえば発生、分化の問題を取り上げた場合、遺伝子そのものの構造が発生、分化の過程において変化することも完全には否定できないが、一応遺伝子構造に変化がなくとも遺伝情報の発現方法に変化が生じるとみるのが現今の正統的立場であり、したがつてそのレベルでの放射線とか、薬物をも含めた化学物質、あるいは種々の生物などの外部環境因子によつて誘発される異常性の問題がある。それにもかかわらずこのシンポジウムでは、環境因子によるこういったレ

ベルでの生体障害を取り上げていない。もちろん、こういう問題は現状では学問的にも明らかでないが、それだからこその程度までデータが蓄積されているか、それが果して意味があるかを知るためにも、積極的にそれを問題として取り上げるべきであつたと思う。ともあれ、Jacob と Monod によつて提起されたのは、DNA レベル以外のものを含めた生体内における、主として細胞以下のレベルにおける調節と制御の問題であつた。現在は、これ以上は分つていないので、上記の3つの方向から問題を解決しようとするのが一般にとられている方向である。しかしこのような立場に止まる限り、さらに新しい概念、解決の方策は生まれてこないだろう。ましてや細胞レベル、さらには組織、器官レベルと高次になるにつれ、それらのレベルでの物理的（放射線など）、化学的、生物学的な外部環境因子の影響は複雑化するとともにますます重要になつてくる。さらに個体、集団レベルになると、これらの外部環境因子のほかに、“非遺伝的情報”と呼ぶことのできる環境因子の問題が生じてくる。そこでこの討論においては、おのおのの生体レベルにおいて、外部環境因子の影響があると仮定した上で、さらにもう1つの重要な環境因子たる非遺伝的情報の影響を、脳の問題と関連させて述べてみたい。

現在、分子生物学は1つの転換期に達しており（あるいはすでに転換期を過ぎたかもしれぬが）、分子遺伝学を踏まえて、癌とか免疫、発生、分化、老化というようなヒトに関する重要な問題にとりかかっているが、さらにそれを乗り越えて、より一層複雑な方向、すなわち脳など高次神経系の問題を目指している。この場合、脳の問題は癌、免疫、発生、分化の問題とは独立なものではなく、これらの問題を基礎として（あるいは包含した形で）脳の問題に対処しようとしているのが現在の分子生物学の戦略である。この場合、脳の構造とか認識作用とかいうものも遺伝的に決定されているのではないかと考えられている。もちろん、遺伝情報だけではなく、生まれてからの個人個人の受けてきた外部的条件、経験によつて、主観的認識作用が成立しているのであるが、それが遺伝的に決定されているとする見方は、たとえば一卵性双生児の場合からも認められる。この場合、生れてからお互の生活環境を変えて生育させたとしても、環境から受ける変化よりも、遺伝的な決定の方が強く一卵性双生児の運命を支配しているといわれている。

脳の構造と機能に関しては明確には判つていないが、それが遺伝的に決定されているとすればどういふことになるのだろうか。我々人間は、人間という種として遺伝的に1つの共通なパターンを持つているけれども、個人

個人を比較してみると、そこには遺伝的にもずいぶん差異が存在する。にもかかわらず今まではこの差異を顧慮することなしに、ある外部的な文化などが発達することにより、外部社会の情報（非遺伝的情報）を一方向的に個人に押しつけてきていた。生物的にそれに適応できないものは結局淘汰されることになる。このことが、現在重要な問題になつてきている。すなわち今まで顧慮されていなかった外部社会のあるいは文化という情報（これを遺伝的情報と対比させて非遺伝的情報と言つてきたが）と、遺伝的情報で決定されているわれわれの脳の構造、認識との相克が、重大な問題となつてきたのである。

人間の脳の働きがどの程度遺伝的に決定されているかを示す直接的証拠は、いまのところはまだ見いだされていない。分子生物学は、細菌やウイルスを用いて、遺伝情報の複製と発現、それらの調節・制御機構を分子レベルで明らかにしたが、この際、タンパク合成の調節・制御機構そのものも遺伝的に決定されていることを見出した。次いで多細胞生物の発生、分化あるいは体制化の機構を解明する段階に入つたが（その極限として脳の問題がある）、これらの現象も基本的には遺伝的決定と選択という立場で研究されるようになった。このような考え方から、たとえばパーネットの抗体産生の場合のクローン選択説が提出されたのである。自己制御している代謝系も、遺伝的に決定されているということになるが、これらが拡大解釈されてくると、脳の問題も遺伝的に決定されているはずだという見方が可能になつてくる。その方向を示すものとして、Hubel と Wiesel のネコの視覚による図形認識の実験がある。この場合、網膜がある図形の刺激を受けて、それを認識するのは、網膜上の図形刺激に対応し、それを処理できる神経細胞の配線・連絡が前もつて先天的につくられているからであるが、この配線・連絡は、生後2～3週間のうちに図形刺激をうけることによつて完成する（この時期に刺激をうけないと、図形認識を行なうことが困難になる）。一度、図形認識の配線・連絡が完成すると、刺激が網膜に与えられなくても、人工操作である神経細胞を刺激することにより、特定の図形を知覚させることができるはずである。こういう配線・連絡がどのように形成されるかということは、まだわかつてはいないが、おそらく遺伝的に決定されているのだろうという見方が分子生物学者には強い。Hubel と Wiesel らの仕事は単にラインエレメントの識別と解析に過ぎないが、こういうことが他の場合にも起こり得るのではないかという可能性が考えられる。事実、ある種の偏頭痛患者にみられる砲塔状図形の幻覚は、ラインエレメントを認識する多くの神経細胞の配線

連絡があり、それらを刺激することによつて、砲塔状のジグザグ図形の幻覚が現われたとみることができる。これらのことは、遺伝的決定論の立場からも、脳および神経生理の問題が研究できることを示したものであり、結局認識の問題も、遺伝的決定と発生・分化過程における選択と発現の問題として把握できる可能性を示すものである。それゆえ、原則的には動物の行動に関する突然変異体を解析し、その上に立つて外部環境因子と行動との関連を研究してゆくことが可能であるといえる。

現在まで、分子生物学は物質とエネルギーの問題の他に、遺伝情報の問題を解明することに成功したのであるが、多細胞生物の体制化の問題はまだ明らかにされていない。Jacob と Monod がオペロン説、アロステリック効果説を提出した時、発生と分化の機構の解明も近いと思われたが、これらの問題は今なお不明である。したがつて、脳の問題を考える時、やはり多細胞生物の体制化の問題を突き抜けて考えねばならない。なぜならば、脳の問題といえども本質的には物質、エネルギーに支配されたものであり、遺伝的に決定されたものであり、さらに発生・分化的にも決定されているものだからである。とくに人間の場合、それらのほかに重要な脳の働きとして、言語語動が存在する。言語によつて個人的主観的経験をも他人に伝えることができる。たとえ個人が死んでも、その個人の主観的経験が他人に伝えられ保存できるようになった。このことは遺伝情報の伝達とは異なつた情報の伝達形式が存在することを意味するものである。ところがこのような非遺伝的の情報を受け入れる脳は、遺伝的に決定されたものであるから、非遺伝的の情報が一般的、社会的なものになり、個人の主体性、主観性をこえて非常に客観性をもつたものに発展するにつれて、それが逆に遺伝的・個人的に決定された個々の脳にのしかかる影響は、きわめて複雑かつ難かしい問題をももたし出すことになる。こういつた問題は、物質的、エネルギー的、遺伝的に決定されている脳の働きが明らかになるにつれ、自然科学的にも次第に明らかにされるだろうが、現在においては、環境因子としての非遺伝的の情報をどう処理するかという問題は、非自然科学的な形でしか解決されない。しかしこれは将来は、自然科学的に解決されるべきだと思われる。

一般に、遺伝情報の場合、これらの遺伝情報は、環境に適するように取捨選択されてきた。はたして非遺伝的の情報の場合も同様であろうか。もちろん、この場合においても遺伝情報と同様、環境によつて取捨選択されることもあるだろう。しかし、非遺伝的の情報が環境に適した形でのみ選択されるという証拠は何一つとして存在しな

いのである。換言すれば、非遺伝的の情報という知識（科学や技術の知識も含めて）によつて、われわれは自然環境そのものを変えることができるようになってきたのである。たとえば、科学や技術を含めて、人類の文化は、われわれの遺伝情報に適した環境を作つてきたのかもしれないが、問題はそう簡単ではなく、いつの間にか、これらの非遺伝的の情報によつて環境を人工的に変化し、環境と遺伝的の情報との異和をひきおこしてしまふ結果にもなりつつある。その結果、人間は自然環境からも、非遺伝的の情報からも遊離した存在になる危険をもつている。したがつて、環境と生体——とくに人間との関係を論ずる場合——は、単に遺伝的の面にのみとらわれることなく、それらに直接関係のないと思われる非遺伝的の情報の影響をも考えねばならないのである。それゆえ、われわれは遺伝情報に直接関係する外部環境因子はもちろんのこと、関係しない因子に関するデータがどれ程蓄積されているかをも真剣に考慮する必要に迫られているのである。

DNA を第1次遺伝情報、タンパク質を第2次遺伝情報とした時、タンパク質レベルにおいては、DNA と直接関係のない第2次遺伝情報も存在することをわれわれは知つた。それがさらに高次の細胞レベルになるともつと問題は複雑となり、個体レベルになるとなおさらのこと、特に人間の場合、脳と外部環境とのかかわり合いが非常に重要なことになってくることは先に述べた通りである。この場合、外部環境としての非遺伝的の情報がわれわれの DNA まで影響を与えるかどうかは、まったく不明であるが、われわれ人間は、非遺伝的の情報を生産し、またその作用をも直接受けるものであることは確かである。ではいつたい、生物としての人間にとつて、生命を保持するために何が頼りになるかといえ、それはやはりわれわれ個人個人の所有する遺伝情報にほかならないということになる。DNA という遺伝情報は個体維持にも種族維持にも必要なものであるから、とにかく DNA を“正常”に保たねばならないということが、人類の未来に対するわれわれが現在もち得る結論であろう。そうすると放射線とか、化学物質とかあるいはウイルスなどの生物による汚染、さらにはわれわれに害を与えるような非遺伝的の情報を、とにかく取り除くように努めなくてはならない。もし、こういつた外部的汚染を全部無くすることができたとしたらどうなるだろうか。好ましい結果が得られるかもしれないが、これに対する保証は現在のところ必ずしもないのである。それと反対に汚染を無くすることによつて新しい困難が生じる可能性もある。たとえば今までは、染色体異常を有する胎児

はたいてい出産前に死亡したり、あるいはたとえ出産しても早期に死ぬことが多かつた。ところが、外部汚染を無くすことにより、このような淘汰作用の力が弱くなつて、異常な遺伝情報をもつたものが生育することが可能になつてくるようになる。つまり、環境を整備することによつて通常“異常”とされていたものが、出産までこぎつけ、さらに生育する事も可能になつてくることが予想される。このような状況下で、われわれは何を行なうのが一番良いのであろうか。たとえば、遺伝的に良いと思われる人間（どういう基準で“良い”というかが問題でもあるが）のみをふやしてゆくことが重要なのか、あるいは、汚染をなくすことによつて今まで生育できなかつた人間を生存できるようにし、“異常”なもの“正常”なものとの区別なくすべて“共存”できるようにするのが重要なのかということである。後者の場合、その結果として、遺伝的に見た人類の将来が少しぐらい悪くなつてもよいというぐらゐの決心をせねばならない。われわれは通念として、皆自分は“正常”である

と思つているので、結局こういつたことにも限度があるであろう。しかし、そうだといつて環境を整備することはよした方がよいという考えは誤つており、徹底的に環境を整備し、ヘテロな遺伝情報をもつた人々が“共存”できるようにしていくことを考えねばならない。しかしこの場合、どのように環境を整備したとしても、突然変異は常に起こつていることを承知しておかなければならない。木村資生氏の計算によると、ヒトの場合でも1年間に平均2.5ヌクレオチドくらいの変化が非可逆的にも確実に起こつているのである。つまりわれわれ人間の遺伝情報は必然的に変化しヘテロ化しているのであるから（あるいは悪くなつているとも言ひ得る）、異常が生じる可能性が常にあることになる。環境をどのように整備することによつてもこのような異常は当然増えてくることを承知した上で、事をおし進める必要があらう。そのへんの問題に対する決心をつけないうざり、いくら環境因子による生体の障害の問題を理屈の上で論じても、決して根本的な解決策は得られないであらう。

* * *

環境因子と人間の将来

—人類生態学の立場から—

小 泉 明

1. 人類生態学について

生態学(ecology)は、前世紀に Haeckel によつて創始された生物学の分野であり、その語源すなわち ecology の eco がギリシャ語で“家”あるいは“生活の場”をあらわす oikos に由来しているように、生活の場における生物の研究、したがつて生物をその環境との関連において研究する科学と解釈されている。

しかし、生態学が生物学のなかで独自の分野を確立するに至つたのは、今世紀に入つてからのことである。また、生物学の潮流として、生理学や生化学、あるいは最近の分子生物学という方向で、いわばミクロの科学としてのアプローチが主流を占めてきたなかで、マクロの科学としての生態学が注目されることは少なかつた。

人間に関する生態学として、社会学の分野でいわゆるシカゴ学派によつて展開された研究には注目する必要がある。これは1925年ごろから、Park, Burgess をはじめとする多くの研究者の手により、都市を対象としてその社会組織などを扱つたものであり、動植物についての生態学とは別個の体系であるが、その着想あるいは展開において、生物学としての生態学から多くの影響を受けていることは明らかである。

今世紀のなかばころから、英米を主とした公衆衛生において、人々の健康を保持増進するための理論と実践の体系のなかで、その基礎科学として human ecology が注目されるようになった。それは大学院教育のカリキュラムのなかで、あるいは研究のユニットとしてとりあげられている。わが国でも、公衆衛生学および保健学教育のなかで人類生態学がとりあげられ、教育研究のユニットとして講座(東京大学医学部)ないし研究室(琉球大学保健学部)が設置されている。

生態学の伝統的な方法論にしたがつて、現代の人類にみられる特性を検討していくとき、その加速度的に増加

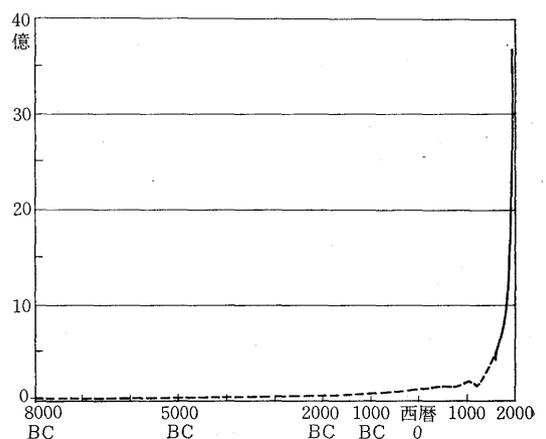
している人口、とくにその主因とみられる生存の拡大は、もつとも顕著な現象である。

生物集団をその環境との関連において把握するとき、環境が主体に及ぼす影響(環境作用)とともに、主体が環境に及ぼす影響(環境形成作用)が重視される。人類の場合、その環境形成作用はユニークであり、それによつて上述の人口激増がもたらされ、地球上の最優占生物種としての人類の地位がめぐつてきたとみられる。

しかし、人類はいま人類自身がこしらえた環境(man-made environment)によつて生じた環境汚染の課題と直面している。これは人口爆発とさえ呼ばれている地球上の人口激増現象とともに、人類の存亡にかかわることがらとして注目されている。このman-made environment による人類自身の健康と生存に対する影響は、人類生態学の大きな課題である。

2. 世界人口の激増

加速度的な増加を続けている世界の人口は、現在約37



注: ----- 推定によるもの
 ————— 信頼性の高いもの

図1 世界の人口の推移

億であるが、今後30年以内に訪れる西暦2000年までに60億ないし70億に達しようという勢である。

いまから約1万年前にはおそらく数百万程度であったと思われる世界人口が、西暦紀元前後には2～3億に達したと考えられている。また、西暦1650年に約5億にまで増加したのち、その増加率を50年ごとに年平均としてみると、0.3%、0.7%、0.9%というように上昇の一途をたどっている。そして現在では約2%である(図1)。

この加速度的な人口激増をひきおこしたものは、人類における個体の生存能力の拡大²⁾である。この生存能力の拡大は、生存数曲線にみられる変化(図2)として把握される³⁾。すなわち、出生した個体数のうちの一小部分が成体となるに過ぎない一般生物種と比較したとき、現代の人類の場合には出生児の大部分が成人の年齢に達し、さらに長寿を享受している。

乳幼児期の高い死亡率は、その次の世代の出生力に対して抑制的にはたらくものであり、したがって乳幼児死亡率の改善は出生力の増加につながるといえよう。それは、一般死亡率減少による効果と合わせて、人口増加を著しいものとする。

乳幼児期から青年期に至る年齢層の死亡率減少をひきおこしたものは、食糧生産の増加と医療・公衆衛生の進歩である。

食糧生産の歴史をさかのぼれば、約1万年前といわれる人類の農耕の開始に至るであろう。それは、それ以前の長かつた採集狩猟時代とは比較にならないほどの安定した食糧資源確保の方途であり、それを契機として地球上の人口は徐々に増加したとみられる。

農耕には次第に畜力や機械力が投入され、作物の品種改良もおこなわれて、農業の生産性が次第に高まってきた。ことに比較的最近のこととして、化学肥料や殺虫剤(農薬)の使用によって、農業の生産性はいちぢるしく向上した。

化学肥料や殺虫剤は、食糧の増産に貢献したのみでなく、公衆衛生の向上にも役立つ。腸内寄生虫の蔓延に対して、化学肥料の使用は抑止的にはたらいたと考えられ、マラリアなど昆虫類によって媒介される伝染病の対策のなかで殺虫剤の果たした役割は絶大である。

同様に、結核などの細菌性感染症の治療において、抗生物質や化学療法が示した力には測り知れないものがある。その他各種の新薬をはじめ医療技術におけるさまざまな進歩は、人類の生存能力にみられる今日の偉大な進歩をもたらしたのである。

人類の特色は、本来それ自身に具わっている生物学的適応力を、人為環境によって補っているところにある。

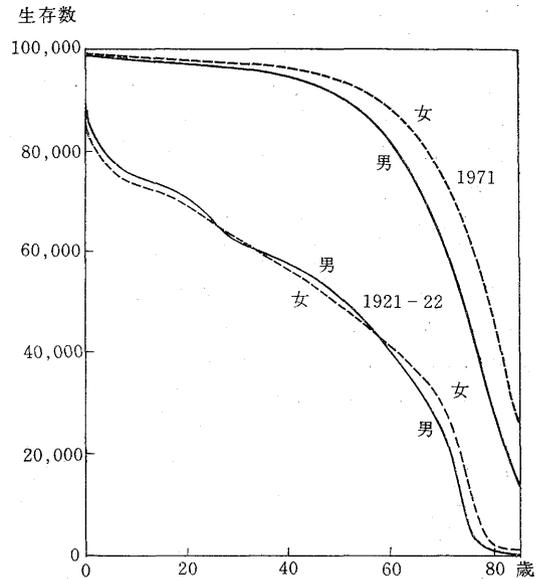


図2 日本の生存数曲線にみられる変化(1921～1922年生命表および1971年簡易生命表にもとづいて作図)

衣・食・住をはじめ健康管理や医療はそれを明瞭に示しているといえよう。ひとつの道具を使いはじめ、ある新しい技術をもつたびに、人類には生存の可能性が拡大した。自然のシステムのなかでは、個々の生物に具わっている生物学的適応力によってそれぞれの生存が条件づけられているのに対して、人類の場合には、使用する道具や技術によって生存が大きく左右される。

しかし、道具と技術に導びかれた人為環境のなかでの現代人の生活には、環境の汚染、交通災害、医原性疾患などの問題が生じた。自然環境のもとでのさまざまな悪条件を克服しながら、人口の激増という一種の適応現象を示すに至った人類には、人為環境に基因する健康障害や不適応状況、資源の欠乏、環境の汚染、さらに生存の危険さえ加わったのである。

3. 工業生産と物質循環

人類が出現する以前から、地球は気圏、岩圏、水圏、および生物圏から成り立っていた。また、その生物圏には、生産者である緑色植物、消費者である動物、そして分解者である土壌微生物の間に、物質循環に関する閉鎖系ができていた。

緑色植物を起点として、消費者である動物が、草食動物(第1次消費者)、肉食動物(第2次消費者)などに段階づけられ、食物連鎖あるいは食物連鎖網という関係が成り立っている。これは個体の水準でみたときの被食

者と補食者の関係であるが、前述の物質循環はこの食物連鎖を通じておこなわれる。

生産者、消費者、および分解者として役割分担をおこなっている生物圏の構成員は、気圏、岩圏、水圏を含めて生物学的機能に関する大複合体、すなわち生態系をつくりあげている。この自然のシステムは、われわれが嘆賞する自然の美を形づくっているが、それは自然のシステムにおいて、物質循環に関する完成された閉鎖系が存在しているからである。いわゆる環境汚染といわれる状況は、この閉鎖循環系においてはみられないのであり、そこに自然美の根元があるといえよう。

しかし、自然のシステムにおいては、被食者と捕食者をめぐつてのきびしい生存競争が存在していることを指摘しないわけにはいかない。そのきびしさは、先に述べた生存数曲線によつて知ることができる。

人為環境のうちでも、農業の生産には自然のシステムの応用とみられる側面がある。これに対して工業生産では、生産過程において生じた廃棄物の分解と還元のおこなわれることが稀であり、閉じた物質循環系が形づくられていない。これは、工業製品を消費する過程についても同様である²⁾(図3)。

工業生産における廃棄物には固型廃棄物として堆積するものもあれば、大気中に、あるいは水系に放出されるものもある。また土壌中に滲透したり、植物や動物の体内に移行するものもある。それぞれが、大気、河川、海洋、土壌の汚染を招くものであり、また食物連鎖を通じての特定物質の特定生物体内への濃縮現象をひきおこすこともある。そして、いずれの場合にも人体との接触

(被曝)によつて問題が生ずる。

人体との接触は、消費物資に含有された混在物や添加物によつてもひきおこされる。また、工業生産がなされる場所において、その作業に携わっている人々に労働災害としての外傷や中毒をひきおこすことがあり、それらは作業上の有害条件と呼ばれている。

工業生産の発展は、まず労働者に対する作業上の有害条件による傷病をもたらし、次いで一般地域社会に住む人々に環境汚染による健康障害をひきおこした。図3では、工業生産にともなつて生じた各種廃棄物に対する人体の曝露を示したが、化学物質のみでなく、物理的なエネルギーも同様の過程で人体に影響を与える。電離および非電離の放射線、騒音、振動、機械的エネルギーによる各種の衝撃がそれである。

人工のシステムのもとにおける生産と消費の増大は、各種各様の有害条件に対する人体の曝露を増加させ、廃棄物に基因する環境汚染をもたらした。自然のシステムと比較して、物質循環が閉じた系でなく開いた系となっていることがその主な原因である。

しかし、いま人工のシステムを放棄して、自然のシステムのみにしたがうとすれば、人類の手中にある個体の生存能力の拡大をも放棄することになるであろう。残された道は、人工のシステムにおける物質循環を閉じた系として廃棄物を処理することであり、同時にその物質循環系を通じて、有害条件に対する人体の曝露を防止することである。すなわち、人工のシステムに関する環境の制御である。

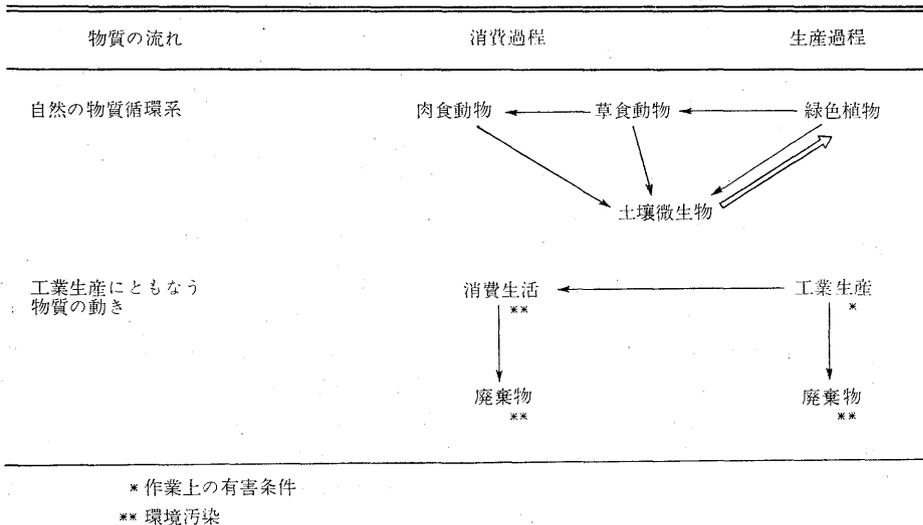


図3 自然の物質循環系と工業生産にともなう物質の動き

4. 世界人口の予測

激増する世界人口は、今後どのように推移するかという設問に答えることは決して容易ではない。Miles³⁾は、世界の将来人口におこりうる推移として、次の3型を示している。

第1型は、生物学的な増加を想定したもので、世界人口が100年間に約3回の割合で倍増していくとすれば、21世紀の初頭に、低く見つもつて60億、そして22世紀初頭には480億ということになり、それまでに、極端な飢饉、高度の環境汚染、社会的混乱、伝染病や慢性病による死亡率の増加がおこるとする推定である。

第2型は、静止人口への道である。低く見つもつて、1985年までに、出生力が低下して置換水準すなわち出生数と死亡数が常に等しい状態に達するとするものであるが、これは楽観的に過ぎるといえよう。1985年から約1回の倍増ののちに世界人口が安定するとみれば、100倍以上の静止人口となるであろう。しかし、世界人口のすべてが1970年の米国の生活水準にあるとしたとき、現在判明している地球上の資源の総量と、未来の技術予測によつても、地球上には50億以上の人口を支える力はないとする Ogburn の分析によれば、この後者の見つもりには難点がある。

第3型はアイルランド型曲線である。1840年代にアイルランドを襲った馬鈴薯飢饉のあとの人口の推移をモデルとするものであつて、飢饉前650万のアイルランド人口が、飢饉で約100万、米国などへの移住で約200万減少したのち、独身、晩婚、小家族という生活方法への変化の結果、1970年には約300万であつたという。

人口の増加あるいは減少の見通しをつけるためには、純再生産率の推移が参考になる。日本の人口については、昭和30年代以降、純再生産率の低率が目立つており、昭和44年の人口問題審議会の厚生大臣への中間答申は、“わが国の人口が低い出生力によつて縮小再生産のポテンシャルを内蔵していることは注意を要する。近い将来においてわが国の純再生産率が1に回復することが望ましい”と指摘している。

出生力の減少に関連して、昭和41年の“ひのえうま”現象は多くの問題を投げかけた。昭和41年人口動態統計の解説⁴⁾によれば、当該年の出生数は136万で、前年より46万すなわち25.4%減であつたが、その出生減を、1)出生届出の操作、2)妊娠中絶の増加、3)受胎調節の強化の各要因ごとに検討した結果、1)届出によるものは46万減のうちの約2%、2)妊娠中絶の増加はみとめられない、3)受胎調節の強化がほとんどすべてといつてよいほ

どの大きな要因であつたことを指摘している。“ひのえうま”現象は、人為的な出生抑制が受胎調節として特定年に限つて強化され、一時的とはいえ縮小人口モデルが出現した点において注目される。

このような低出生率人口を具現した日本人口も、明治初頭から約100年間に3倍に増加している。この人口急増は、かつてヨーロッパ諸国が、あるいはアメリカ合衆国がそうであつたように、産業の発展による経済成長に大きく貢献したとみられる。しかし、現在人口増加の激しい開発途上国の場合には、産業の発展ことに工業化がきわめて緩慢であつて、多産多死型から少産少死型への人口転換がおこらなければ経済離陸はおこらないとみられており、問題は深刻といわなければならない。

工業化が人口転換へと導びくとしても、あるいはその逆であつても、将来地球上の広汎な地帯にわたつて工業化がみられるようになった場合、環境問題はさらに重大な局面を迎える可能性のあることを指摘しないわけにはいかない。

5. 環境要因による遺伝への影響

人為環境による有害条件のうち、もし遺伝情報を変化させるものがあれば、それは人類の将来に影響を及ぼす可能性があると考えなければならない。

遺伝に対する変化として、Freese⁵⁾は細胞質遺伝のほか細胞核内の変化として、染色体レベルの変化と遺伝子レベルの変化について述べている。染色体の変化は、染色体数の異常と染色体の構造上の異常とに分けられるが、それらは光学顕微鏡によつて観察される形態情報であり、人体についても培養白血球などによつて観察されるという特徴をもっている。

著者らは、電離放射線による染色体異常に関する研究⁶⁾を端緒として、主として化学物質による染色体異常を検討している。すでに英、伊において報告された benzene による人体の染色体変化を、小動物の骨髓細胞や培養ヒト白血球についてみとめた。次に人工甘味料として知られる cyclamates およびその体内代謝産物である cyclohexylamine による *in vitro* 染色体障害と DNA 合成障害を観察した⁷⁾。

化学物質による染色体障害としては、覚醒剤 LSD、Caffein、経口避妊薬、リチウム化合物など数多くの報告がみられる。このような研究をすすめていくとき、実験方法などの技術面の進歩は不可欠であり、共同研究者の橋は小動物についての末梢白血球よりの染色体培養法を報告した⁸⁾。また、染色体像に関する自動分析の研究をすすめており、現状では人手を煩わすことの大い染色

体所見の解析を、電子計算機の画像処理に委ねるころみをおこなっている。

物理的あるいは化学的環境要因による染色体異常が人類の将来に及ぼす影響を推定する根拠として、自然流産における染色体異常の出現率がとりあげられる。自然流産では、Carr⁹⁾は12%、WHO主催の国際会議では19%が染色体異常といわれており(佐々木¹⁰⁾、Shaw¹¹⁾は約3分の1という報告を引用している。出生児では、0.7%¹¹⁾あるいは0.5~1.0%¹²⁾といわれており、自然流産では明らかに高率である。

これによつて、胎早期ことにその初期には、出生児よりも高い率で染色体異常が存在し、その大部分が胎児死亡となることが示されたといえよう。すなわち、染色体異常は生存能力の重大な障害となつていることがわかる。染色体異常を伴う出生児が各種の障害をもち、生存能力が正常の者より劣つていることはいうまでもない。

現在、疫学的に観察され、また実験的に確認されている環境基因の染色体異常については、上述の流産胎児の染色体異常の出現状況との関連性などを、慎重に検討していかなければならないと思われる。

文献

- 1) 小泉 明：人間生存の生態学。杏林書院，1971，pp. 5-23.
- 2) 小泉 明：第5回保健学集談会(1972年6月3日)発表。東京医学第80巻第6号掲載予定。
- 3) Miles, R. E.: Man's Population Predicament. *Population Bulletin*. 27(2): 1971.
- 4) 昭和41年人口動態統計上巻。厚生大臣官房統計調査部，pp. 68-77.
- 5) Freese, E.: Molecular Mechanisms of Mutations. A. Hollaender ed., *Chemical Mutagens*, vol. 1, Plenum Press, 1971, p. 9.
- 6) Wald, N., Koizumi, A. & Pan, S.: A Pilot Study of the Relationship between Chromosome Aberrations and Occupational External and Internal Radiation Exposure, *Human Radiation Cytogenetics*, North-Holland, Amsterdam, 1967, pp. 183-193.
- 7) Koizumi, A. et al.: Cytokinetic study on toxic Action of Sodium Cyclamate and Cyclohexylamine. *Industrial Health*. 9: 188-193, 1971.
- 8) 橋 定功：小動物の末梢血を用いた染色体標本作成法に関する知見補遺。本誌：82(11): 705-707, 1972.
- 9) Carr, D.H.: Lethal Chromosome Errors. Benirschke ed., *Comparative Mammalian Cytogenetics*, Springer-Verlag, 1969, pp. 68-90.
- 10) 佐々木本道：流産における染色体研究法の標準化。人類遺伝学雑誌，11(4): 273-277, 1967.
- 11) Shaw, M.W.: Human Chromosome Damage by Chemical Agents. *Ann. Review of Medicine*. 21: 409-432, 1970.
- 12) 日暮 眞：染色体異常と先天異常。小児保健研究，31(1): 1-8, 1972.

* * *