

### 9・3 環境内諸要因の染色体異常誘発作用に関する研究

東京医科歯科大学・難治疾患研究所

佐々木 正 夫

#### ま え が き

われわれが好むと好まざるとに関係なく、生活環境あるいは作業環境から受ける化学物質は質的にも量的にもますます増大しつつある。そのような状況の中において、それぞれの物質の持つ遺伝的有害性とその度合の評価は緊急かつ重要な課題である。また一方、多くの生活環境物質に体細胞突然変異も含めた遺伝的有害性が指摘されるようになり、化学物質の遺伝的有害度を総合的に評価するに当り、対応する側の遺伝的素因と、それら両者の作用関係もまた重大な問題となってきた。

#### 研 究 目 的

本研究ではヒトの細胞に各種の化学物質を作用させる方法で、化学物質の染色体異常形成の特性を比較解析し、化学物質の染色体作用とその遺伝的障害を検討すると共に、不定期DNA合成や姉妹染色分体交換を指標としてDNA傷害作用を調べ、化学物質の染色体異常形成の検定とは別に、染色体反応に基づき、化学物質の遺伝的障害作用の検定のシステムを確立する。また、ヒトの集団に存在する変異原物質高感受性遺伝子の実態を探索すると共に、それらと環境化学物質との係わり合いを追求し、環境要因のヒトに対する遺伝的障害を総合的に検討する資料とする。

#### 研 究 方 法

正常人および高発癌性で知られる遺伝疾患患者から得られた培養リンパ球あるいは培養線維芽細胞にいろいろな化学物質を作用させる方法で、染色体異常、姉妹染色分体交換(SCE)および不定期DNA合成(UDS)を調べ、各種化学物質の染色体作用の特性を比較する。

## 研 究 成 果

### (1) 化学物質の染色体異常誘起性

ヒトの培養リンパ球に化学物質を24時間作用させ、染色体異常およびSCEを観察し、それらの濃度効果関係および染色体異常の質的相異と、更に同一化学物質を培養線維芽細胞に作用させた場合にみられる不定期DNA合成(UDS)を比較すると、UDSで認められるDNA障害作用と染色体異常の種類の間に関係があることが示唆される。即ち、UDSを誘起する物質は効率よく交換型の染色体異常を形成するが、UDSを誘起せず、しかも染色体異常をよく形成する物質にみられる染色体異常は切断やギャップが主体であり、交換型異常形成能は極めて弱い。検定を行った化学物質のうち、突然変異原性、癌原性の強い物質は全て前者に属し、後者に属する物質には突然変異原性、癌原性が認められないか、指摘されていても微弱である。この結果は、化学物質の染色体異常形成能とは別に、染色体異常による他の遺伝的有害度を検討する場合に重要な手掛りを与える。そして、化学物質に交換型異常の形成能があるか否かが他の遺伝的障害の指標となることを示唆している。一方、SCEはUDSを誘起する物質全てに認められ、SCEがDNA傷害を反映した染色体変異の一つであることを示すが、UDSを誘起せず、また交換型異常も形成しない物質でも認められ、遺伝的障害の検定システムとしてのSCEは今後更に検討を要する。交換型異常形成とSCE形成の関係を表1に示した。特にSCEを形成するが交換型異常を形成しない物質の突然変異原性、癌原性は詳細に検討する必要がある。

また、染色体異常とSCEの濃度効果関係を比較すると、SCEは濃度に比例して直線的に増加するのに反し、一般に染色体異常は濃度との関係が加速度的(濃度指数 $>1$ )であった。このことは染色体異常の形成にはDNA傷害を起点として形成される過程に別の生物学的機構が関与していることを示唆すると同時に遺伝的障害度を定量評価する場合の重要な問題となることを示す。

### (2) 検定システムの確立

染色体異常による遺伝的障害に当って、そのシステムの限界を明確とすることと、鋭敏性への改良も重要な課題である。DNA塩基傷害のうち、グアニンのN7位のアルキル化とO6位のアルキル化で双方とも染色体レベルで検出で

きるかどうかを色素性乾皮症の細胞（N7アルキルグアニンは除去修復できるがO6アルキルグアニンは修復できない）と正常細胞を対比しながら染色体異常とSCE反応を調べた。N7とO6位のアルキル化の比率が異なる化学物質（ $SN^2$ 型物質としてmethyl methanesulfonate,  $SN^2/SN^1$ 型物質としてethyl methanesulfonate,  $SN^1$ 型物質としてN-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidineを使用）を作用させても特に両種の細胞間には染色体異常形成およびSCE形成に差異は認められなかった。アルキル化剤による発癌でO6位のアルキル化が重要な役割を果していると言われており、この結果は染色体レベルではそのような重要な傷害が検出されなくなっていることを示唆するものである。

### (3) 環境要因の遺伝的障害作用に関する遺伝的素因

この問題を追求するため、ヒトの高発癌性で知られる遺伝病患者の細胞で各種の化学物質に対する染色体の感受性を調べた。その結果、現在までに色素性乾皮症は紫外線や4-nitroquinoline 1-oxideに高感受性であり、FANCONI貧血症はmitomycin CなどDNA crosslink 剤に対して特異的に高感受性であり、またAtaxia telangiectasiaは電離放射線に高感受性であることが明らかとなった。これらはいずれも常染色体性劣性遺伝疾患であり、ホモ接合体での結果であるが、これらの遺伝子に関するヘテロ接合体の集団内での頻度は非常に高い。細胞がヘテロ接合体である場合は反応の面で正常細胞と区別できないが、ヘテロ個体内でホモ接合体の細胞が形成される可能性が高く、また化学物質の中にはそのような作用をするものが多く存在する可能性も高い。これを検討するために、ヒト由来の細胞でNo.9染色体の相同対が9/inv 9(p+q-)のものに化学物質を作用させ、それから9/9およびinv 9(p+q-)/inv 9(p+q-)のホモ接合体の出現頻度を調べた。ホモ接合体の出現には濃度依存性があり、またそれは4n細胞形成率に関係しており、 $2n \rightarrow 4n \rightarrow 2n$ の疑似有性サイクルが誘導された結果と解釈される。実験動物と異なり、ヒトの集団内には環境要因の作用に高感受性である多くの遺伝子がヘテロの状態で存在していることが次第に明らかになり、化学物質の持つ疑似有性サイクル誘導能は化学物質のヒトに対する有害作用（特に誘癌効果として）を検討する場合の重大な1要素と思える。また、この疑似有性サイクルは突然変異の固定、癌性変異の固定にも

関係しているかもしれない。

## 考 察

現在までに染色体異常形成能が認められた物質は多種であり、また形成される染色体異常のパターンも多様である。染色体異常による検定に当り、染色体異常自身の問題とは別に染色体異常と他の遺伝的障害の関係を明確にすることは重要な課題である。染色体異常のスペクトラムから更にこの問題を追求する必要がある。また SCE は染色体の構造変化と直接に関係がなく、従って SCE のもつ遺伝的変異の意味、検定システムとしての確立と問題点の明確化は緊急を要する問題である。化学物質の有害作用をヒトで評価する場合には遺伝的背景を充分考慮し、総合的な評価が必要である。このための基礎的研究は未だ不十分であり、今後更に研究を続けなければならない。

## 要 約

環境内諸要因の遺伝的有害作用を細胞遺伝学的に検出し、ヒトに対する影響評価を総合的に検討するため、染色体異常形成の多様性とその遺伝的有害性の比較解析、および対応する側の内的要因としての遺伝的素因の係り合に関する実験的検討を試みた。

## 研 究 発 表

- 1) Sasaki, M. S., Toda, K., and Ozawa, A. (1977). Role of DNA repair in the susceptibility to chromosome breakage and cell killing in cultured human fibroblasts. In "Biochemistry of Cutaneous Epidermal Differentiation" (Seiji, M., and Bernstein, I. A., eds.), pp. 167-180, University of Tokyo Press, Tokyo.
- 2) Takebe, H., Miki, Y., Kozuka, T., Furuyama, J., Tanaka, K., Sasaki, M. S., Fujiwara, Y., and Akiba, H. (1977). DNA repair characteristics and skin cancers of xeroderma pigmentosum patients in Japan. *Cancer Res.*, 37:490-495.

- 3) Fujiwara, Y., Tatsumi, M., and Sasaki, M. S. (1977). Cross-link repair in human cells and its possible defect in Fanconi's anemia cells. *J. Mol. Biol.*, 113:635-649.
- 4) Sasaki, M. S. (1977). Sister chromatid exchange and chromatid interchange as possible manifestation of different DNA repair processes. *Nature*, 269:623-625.
- 5) Sasaki, M. S., and Matsubara, S. (1977). Free radical scavenging in protection of human lymphocytes against chromosome aberration formation by gamma-ray irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.*, 32:439-445.
- 6) Sasaki, M. S., Matsubara, S., and Miyata, H. (1977). 'Biological dosimetry' and physical parameters relating to the exposed Japanese. *Proc. Int. Cong. Hematol.*, pp. 797-799.
- 7) 佐々木正夫, (1977), トロトラスト注入患者の染色体異常, 放射線科学 20:111-112.
- 8) Sasaki, M. S. (In press). Radiation damage and its repair in the formation of chromosome aberrations in human lymphocytes. In "Action of physical and Chemical Mutagens on the Somatic Chromosomes of Man" (Evans, H. J., ed.), University of Edinburgh Press.

表 1

CHARACTERIZATION OF THE CYTOGENETIC ACTION OF SOME CLASTOGENS

		Chromatid exchange aberrations	
		+	±
SCE	+	Methyl methanesulfonate Ethyl methanesulfonate Tetramethylene dimethanesulfonate N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine Nitrogen mustard 4-Nitroquinoline 1-oxide Decarbamoyl mitomycin C Mitomycin C 8-Methoxypsoralen + light Nitrofurylacrilamide Furamizole Furpyrinol Furfuramide (AF-2) K-856 Methylnitrosoourea Ethylnitrosoourea	Hydroxyurea Actinomycin D Caffeine 8-Chlorocaffeine 1-Methylxanthine Theophylline Theobromine
	-	Cytosine arabinoside Etidium bromide  Methyl mercuric chloride Cadmium chloride	Cyclohexylamine Chloramphenicol Cycloheximide Emetine Ethanol Methanol

↓  
**検索用テキスト** OCR(光学的文字認識)ソフト使用  
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります  
↓

まえがき

われわれが好むと好まざるとに関係なく、生活環境あるいは作業環境から受ける化学物質は質的にも量的にもますます増大しつつある。そのような状況の中において、それぞれの物質の持つ遺伝的有害性とその度合の評価は緊急かつ重要な課題である。また一方、多くの生活環境物質に体細胞突然変異も含めた遺伝的有害性が指摘されるようになり、化学物質の遺伝的有害度を総合的に評価するに当り、対応する側の遺伝的素因と、それら両者の作用関係もまた重大な問題となってきた。