

9・3 環境内諸要因の染色体異常誘発作用に関する研究

京都大学放射線生物研究センター

佐々木 正 夫

ま え が き

染色体異常はその数的異常および構造的異常ともに重大な遺伝的変異であり、その生成にかかわる環境内諸要因とその作用機構は遺伝的障害と環境要因の関連を知る上で重要な課題である。また、特に構造的染色体異常の誘発は他の微視的突然変異の生成や細胞の癌化とも密接な関連があることが指摘されており、化学物質の持つ染色体に対する作用特性は遺伝的障害作用を総合的に評価する上でも重要な資料を提供する。さらに、対応する側の遺伝的素因も障害発現の重要な要素となっており、ヒトに対する影響を評価する場合の重要な要素となる。

研 究 目 的

本研究ではヒトの細胞に各種の化学物質を各種の濃度で作用させる方法で、化学物質の染色体異常形成能とその作用特性を解析し、化学物質がヒトの細胞に接した場合に予想される遺伝的障害度を総合的に評価するための資料を得る。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し、それらと環境諸要因との係り合いを追求する。

昨年度までの研究では、特に化学物質による構造的染色体異常の形成の面からの作用特性と遺伝的障害作用の検討を行ない、構造的染色体異常の中でも特に交換型染色体異常形成能の有無が他の遺伝的障害の重要な指標となることを示す結果を得た。不定期DNA合成を指標としたDNAに対する反応性の検定、姉妹染色分体交換(SCE)と染色体異常ならびにDNA損傷との関係を各化学物質で比較検討した結果、交換型染色体異常の形成が最も信頼性の高い指標として突然変異原・がん原性を予測させるということが示唆された。

本年度は、化学物質によって起ることが予想されるもう一方の遺伝的障害である染色体の数的異常、特に不分離誘発能を検定する方法を確立するとともに、不分離を定量的に解析し、構造的染色体異常の生成と併せて、遺伝的障害を総

合的に評価する体制の確立を目的とした。

研 究 方 法

不分離の指標として体細胞分裂における不分離を測定した。また、不分離を定量的に測定するために、BrdU-ギムザ法により姉妹染色分体を分染し、処理後の分裂回数と不分離頻度との関係を調べた。また、不分離の算出に当っては高2倍性の細胞のみを対象とした。

実験に当っては、まず健康な成人の末梢血を採取し、通常の方法で血液培養をする。培養開始後20時間目に化学物質を加え、あるいは C_0^{60} r線の照射を行ない、更に4.8~5.2時間培養をした後固定をする。化学物質処理の場合には培養開始時から、またr線照射の場合には照射直後からBrdUを最終濃度20 μ Mで添加し、暗所で培養を行なう。固定の4時間前にコルセミドを加え分裂を中期でとめた。

標本作製に当っては、姉妹染色分体の分染にあまりコントラストをつけないようにするため、クエン酸ソーダ(0.9%)で低調液処理を行い、あとは通常通り乾燥法による標本作製した。標本は33258 Hoechst(1 μ g/ml)で染色した後、水銀ランプ光で照射し、2 \times SSC(62°C)処理後、ギムザ染色を行なった。染色体標本は任意の核板に関し、姉妹染色分体の分染パターンによる分裂回数の同定、SCEの数、染色体(動原体の数に基づく)の数、染色体異常について調べ、また、不安定型の染色体異常を含まず、染色体数が高2倍性を示す細胞はすべて写真を取り、写真分析による過剰染色体の同定を行なった。

研 究 成 果

1) 化学物質による不分離

不分離の定量解析を行うシステムを確立するため、分裂障害を起し、不分離が予想されている化学物質を各種の濃度で作用させ、第2回目の分裂が認められる最高限度の濃度で不分離を調べた。使用した化学物質はコルセミド、塩化メチル水銀および合成ホルモンの一種であるジエチルスチルベスチロール(DES)である。限界濃度はそれぞれ0.014 μ g/ml, 2 μ g/ml および50 μ g/mlであったが、いずれも高2倍性の細胞の出現頻度をあげ、不分離が誘発されることを

示した。同時に行った SCE 分析では、これらの物質が特に SCE を高めるといふ結果は得られなかった。

2) r 線による不分離

放射線照射の場合には染色体の構造異常が高率に形成され、不分離の算定はより間接的となる。構造異常の形成と染色体の真の不分離（構造異常が原因となって起る不分離でないもの）は現象的には独立のものであると仮定し、構造異常を伴わない細胞における高 2 倍性細胞の頻度から全体で起っている不分離率を推定した。100 rad, 200 rad, および 300 rad の照射で検討した結果、照射後第 1 回目の分裂で起る不分離は 100 rad および 200 rad では約 100 回の分裂に 1 回、300 rad 照射では、約 20 回の分裂に 1 回という値が得られた。

考 察

先天異常の中に染色体の不分離による疾患の占める割合は大きく、これにかかわる環境要因の評価は重要な問題であるが、従来より染色体の構造異常の定量は行われていたが、不分離の定量には多くの問題があり、資料がない。その定量化を目的として姉妹染色分体分染法による分裂回数 of 正確な同定を導入することによって一定濃度当りの不分離率を検定する試みを行ったが、今後はまだ多くの検討課題が残されている。例えば、不分離の誘発に閾値があるか、SCE を頻発する化学物質での検定にこの方法を用いる場合にはどのような改良を加える必要があるか、など重要な課題である。

化学物質の場合および放射線の場合共に第 1 回目の分裂より第 2 回目の分裂で不分離が高いという結果が得られた。これは、無処理の状態でも自然に起る不分離率が第 1 回目の分裂より第 2 回目の分裂時に高く、その意味に関しては今後さらに検討をする必要がある。

要 約

環境要因の染色体に対する作用とそれによる遺伝的障害を総合的に評価する目的で、従来より行って来た染色体の構造的異常生成の定量とその生物学的意義の検討に加えて、染色体の数的異常の原因となる不分離率の定量評価の方法

を試みた。コルセミド、塩化メチル水銀、DESおよびr線照射で行った結果、定量評価の可能性が示唆された。

文 献

- 1) Sasaki, M. S. (1978) : Radiation damage and its repair in the formation of chromosome aberrations in human lymphocytes. In "Mutagen-induced Chromosome Damage in Man" (Evans, H. J. and D. C. Lloyd, eds.), pp.62-76, Edinburgh University Press, Edinburgh.
- 2) Sasaki, M. S. (1978) : Fanconi's anemia: A condition possibly associated with a defective DNA repair. In "DNA Repair Mechanisms" (Hanawalt, P. C., E. C. Friedberg and C. F. Fox, eds.), pp.675-684, Academic Press, New York.
- 3) Sasaki, M. S. (1978) : Chemical-induced chromosome recombination by polyploidization-segregation parasexual cycle. *Mutation Res.*, 54:224-225.
- 4) 佐々木正夫(1978) : 不定期DNA合成による検定. 賀田恒夫編「遺伝毒性・突然変異実験法」pp.165-170, 日本衛生技術研究会, 東京.
- 5) 佐々木正夫(1978) : 環境変異原物質と染色体異常. 外村晶編「染色体異常」, pp.273-301, 朝倉書店, 東京.
- 6) 佐々木正夫(1978) : ヒトの遺伝的疾患. *組織培養*, 4:251-257.
- 7) 佐々木正夫(1978) : 遺伝性腫瘍関連疾患の細胞遺伝学. *日本医師会雑誌*, 80:1123-1135.
- 8) 佐々木正夫(1978) : ヒトの遺伝病由来細胞の特性 — 特に高発癌性遺伝疾患の細胞について — . *放射線生物研究*, 13:8-17.

↓
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

染色体異常はその数的異常および構造的異常ともに重大な遺伝的変異であり、その生成にかかわる環境内諸要因とその作用機構は遺伝的障害と環境要因の関連を知る上で重要な課題である。また、特に構造的染色体異常の誘発は他の微視的突然変異の生成や細胞の癌化とも密接な関連があることが指摘されており、化学物質の持つ染色体に対する作用特性は遺伝的障害作用を総合的に評価する上でも重要な資料を提供する。さらに、対応する側の遺伝的素因も障害発現の重要な要素となっており、ヒトに対する影響を評価する場合の重要な要素となる。