

12・4 培養ヒト・リンパ球の染色体へ及ぼす鎮痛・解熱剤の影響

新潟大学医学部衛生学教室

山本正治
渡辺正友
渡辺厳一

ま え が き

1973年以来、新潟市内にある産科婦人科病院の協力をえて、人工妊娠中絶標本につき1,250例の染色体を、直接法により分析してきた。標本は、胎令5週から12週までのものである。この細胞遺伝学的疫学調査で、種々の知見をえたが、注目すべきものの一つに、つぎのような事実があった。すなわち、最終月経初日前後3週間以内に、鎮痛・解熱剤を服用した群での染色体異常発生率は、28.8%であった。それに対し、非服用群ではそれが5.2%で、 χ^2 検定の結果、その差は十分であった($\chi^2=54.422$ $P<0.001$)。ただし、服用した薬剤に染色体異常誘発性があったのか、あるいは、薬剤服用にいたる基礎疾患にその原因があったのかは明らかでない。(1-2)

この辺りの事情を解明するため、実験的に *in vitro* ならびに *in vivo* の両面から検討を行った。今回は、*in vitro* の実験結果について報告する。

鎮痛・解熱剤には、アニリン誘導体、サリチル酸誘導体、ピラゾロン誘導体などがある。しかし、ピラゾロン誘導体であるズルピリン、アミノピリンなどは、その毒性のため、現在は使用されていない。したがってここでは、サリチル酸誘導体としてアスピリン、アニリン誘導体としてアセトアミノフェンを用いて、染色体異常の誘発性を調べた。なお、アセトアミノフェンは、アセトアニリド、フェナセチンなどアニリン系薬剤の生体内代謝物でもある。

方 法

この実験では、健康青年男子4人から、血液20~25 ml をヘパリン採血し、白血球を含む血漿を分離して培養した。培地は、GIBCOのchromosome medium 1A (lyophilized) を用いた。

アスピリンは、溶解しにくく濃厚液ができないので、培地稀釈液 5 ml に直接溶かして培地をつくり、それに白血球浮遊血漿 0.5 ml を加えて全量を 5.5 ml とする。そして、アスピリンの最終濃度が、それぞれ 75, 150, 300 $\mu\text{g/ml}$ になるように調製した。アセトアミノフェンは、予めつくった濃厚液から生理食塩水 0.5 ml に薬剤を稀釈し、4.5 ml の培地稀釈液と合せて培地をつくり、白血球浮遊血漿 0.5 ml を加えて全量を 5.5 ml とする。そして、薬剤の最終濃度が、それぞれ 200, 400, 600 $\mu\text{g/ml}$ になるよう調製した。

両剤については、各々の調製方法にしたがって、薬剤のみ含有しない対照群を設定した。両剤の培地調製が多少異なるのは、各々の薬剤の溶解度が異なるためであった。なお、一薬剤について各 2 人の白血球を培養した。

培養は、37°C, 72 時間行い、回収 2 時間前コルヒチンを培地濃度 0.27 $\mu\text{g/ml}$ になるよう添加し、火焰固定法によって、染色体標本を作製した。全群につき 1 被検者から採取した metaphase 200 コを数え、一薬剤各濃度群につき合計 400 コの分析をした。

検査の項目は、染色体の数的ならびに構造の異常、分裂指数 (mitotic index) である。なお、付随体の連合頻度についても分析を行っているが、この論文をまとめるまでに、全部の結果がでていないので、今回は省略する。染色体の構造異常は、gap と break について観察した。gap の診断基準は、顕微鏡下で切れていると判断でき、かつ、切断先端部が基部の染色分体の延長線上からはずれていないものとした。break については、染色分体が明らかに切れていて、その片が、染色分体延長線上からはずれているものとした。分裂指数は、細胞 1,000 コ中の中期核板数として示した。

結 果

図 1 は、アスピリン、アセトアミノフェン投与による分裂指数の変化を示したものである。アスピリン投与群では、細胞 1,000 コ中の中期核板数が、対照群で 48, 75 $\mu\text{g/ml}$ 群で 43, 150 $\mu\text{g/ml}$ 群で 26, 300 $\mu\text{g/ml}$ 群で 10 であり、濃度増加にしたがって減少していた。また、アセトアミノフェン投与群では、対照群 47, 200 $\mu\text{g/ml}$ 群 33, 400 $\mu\text{g/ml}$ 群 30,

600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 群 8 であり、濃度との間、量 — 反応関係は明らかであった。両剤の濃度は異なるが、分裂指数からみる限り、選択した薬剤濃度の効果は、ほぼ等価といえることができる。

表 1 は、薬剤濃度と染色体数的異常出現の関係を示したものである。アスピリン、アセトアミノフェンとも、数的異常と濃度との間に格別の関係を認めることはできなかった。

表 2 は、薬剤濃度と染色体構造異常発生頻度との関係を示したものである。被検者 2 人の異常平均は、アスピリン群で対照群 4.8%，75 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 群 6.5%，150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 群 7.8%，300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 群 12.0% であり、アセトアミノフェン群では対照群 3.5%，200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 群 6.0%，400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 群 9.5%，600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 群 18.3% であった。図 2 は、薬剤濃度と構造異常頻度の関係のみにつき、図で再現したものである。図 3 は、表 2 に示した数値中、chromatid 異常を isochromatid 異常について、図示したものである。アスピリンにあっては、濃度が増すにしたがって chromatid 異常の発生頻度は上昇するが、isochromatid 異常にはそれがみられない。しかるにアセトアミノフェンの場合は逆で、chromatid 異常の発生頻度は上昇するが、isochromatid 異常にはそれがみられない。しかるにアセトアミノフェンの場合は逆で、chromatid 異常は、濃度による変化をみないが、isochromatid 異常は、濃度増加とともに異常頻度の上昇する有様が明瞭である。この際、さらに注目すべきは、アスピリンの場合、isochromatid 異常の頻度変化の水準に較べて chromatid 異常の頻度水準が高く、アセトアミノフェンの場合は isochromatid 異常の頻度変化の水準が chromatid 異常のそれに比し高かった事実である。

考 察

人工妊娠中絶標本の染色体検索では、最終月経初日の 3 週間前ならびに後の鎮痛・解熱剤服用と染色体数的異常との間に、なんらかの関連ある暗示をえた。ただし、染色体構造異常と薬剤服用との間には、とくに積極的な結果をみることがなかった。

1968 年、Jarvik と Kato (Lancet I, 250, 1968) は、ヒト

白血球 72 時間培養において、終りの 4 時間にアスピリンを $0.1 \sim 1.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で添加したところ、450 の中期核板中 32 コの chromatid breaks と 2 コの isochromatid breaks を観察した。

さて、アスピリン 0.6 g を服用すると、45 分後の血中濃度は $42 \mu\text{g}/\text{ml}$ になる。この実験での培地濃度は 75, 150, 300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であったから、 $42 \mu\text{g}/\text{ml}$ の 1.8 ~ 7.2 倍になる。また、アセトアミノフェンについては、 0.3 g 服用 40 分後に血中濃度が $3.6 \mu\text{g}/\text{ml}$ になる。この実験でのアセトアミノフェン培地濃度は 200, 400, 600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であったから $3.6 \mu\text{g}/\text{ml}$ の 55.5 ~ 166.6 倍相当量になる。

この研究で明らかになったことは、アスピリン、アセトアミノフェンとも、ヒト・リンパ球の分裂を抑制するとともに、試験管内で染色体構造異常を誘発する事実である。しかもその際、明らかに量-反応関係の存在することであった。

さらに重要かつ興味ある知見は、薬剤濃度変化に対する chromatid 異常と isochromatid 異常の出現頻度が逆であったことである。すなわち、アスピリンでは、培地濃度が増すにつれて、chromatid 異常出現の頻度は上昇するが、isochromatid 異常についてはそれがみられず、アセトアミノフェンでは、薬剤の培地濃度が増加するにしたがって、isochromatid 異常の頻度が上昇するのに、chromatid 異常については変化のなかった事実である。

chromosome 異常（細胞周期 G_1 期、DNA 主鎖に切断がおきたとき形成される）は、chromatid 異常（DNA 複製を終った S 期あるいは G_2 期に染色体部位に形成される）が複製し、第 2 回の分裂期を迎えたものと形態上区別できず（derived-type 染色体異常）、両染色分体とも同位に異常をおこす。ここでは、その双方を isochromatid 異常とした。さて、化学物質で誘発される染色体の構造異常は、電離放射線とことなり、一般に chromatid 異常とされている。もしそうであるならば、この研究で観察した isochromatid 異常とは、chromatid 異常が、第 2 回目の DNA 複製で derived-type の chromosome 異常になったものが主である、と解される。すなわち、アスピリンの場合、第 1 回分裂より第 2 回の分裂で染色体異常をより多く誘起し、アセトアミノフェンの場合は、第 1 回目の分裂で、すでに染色体異常を誘起した、

と考えることができる。アスピリンがアセトアミノフェンに較べ、難溶であることを思い合せ、この辺りにも多少の関係があるかも知れない。

あるいは、み方を変え、アスピリンとアセトアミノフェンでは、細胞周期との関連において、DNAそのもの、染色体構造蛋白質、修復過程の阻害などへの作用点が異なるのかも知れないが、この点に関しては、目下議論を展開する材料がない。

結 語

ヒト白血球の72時間培養にあたり、培地内へアスピリンを濃度75, 150, 300 $\mu\text{g}/\text{ml}$, アセトアミノフェンを濃度200, 400, 600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ になるよう添加して、染色体異常を観察した。

両薬剤とも、mitotic indexに量-反応関係がみられた。また、gap と break の出現にも量-反応関係がみられた。ただし、アスピリンでは、chromatid異常に量-反応関係があり、isochromatid異常にそれをみなかった。また、アセトアミノフェンでは、chromatid異常に量-反応関係がみられず、isochromatid異常にそれが認められた。ここに述べた両薬剤の効果の差は注目に値する。

なお、染色体の数的異常は、両薬剤とも出現少なく、量-反応関係は認められなかった。

文 献

- 1) Watanabe, G. : Environmental determinants of birth defects prevalence, In Epidemiologic methods for detection of teratogens, edited by Klingberg, M. A. & Weatherall, J. A. C., S. Karger, Basel, pp. 91-100, 1979.
- 2) Yamamoto, M. & Watanabe, G. : Epidemiology of gross chromosomal anomalies at the early embryonic stage of pregnancy, In Epidemiologic methods for detection of teratogens, edited by Klingberg, M. A. & Weatherall, J. A. C., S. Karger, Basel, pp. 101-106, 1979.

☒ 1 Effects of antipyretic-analgesics on the mitotic index (MI)

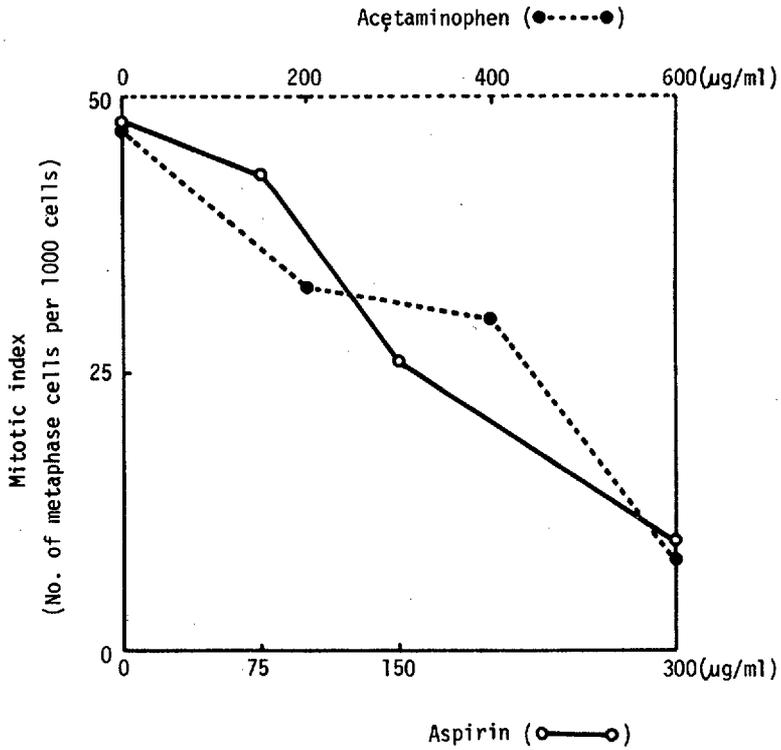


表1 Occurrence of numerical chromosome anomalies

<u>Aspirin</u>				
	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)			
	0	75	150	300
Polyploidy		1		
Aneuploidy				
Monosomy	-	-	-	-
Trisomy				1

<u>Acetaminophen</u>				
	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)			
	0	200	400	600*
Polyploidy	2			
Aneuploidy				
Monosomy	-	-	-	-
Trisomy	2	1	1	3

Four hundred cells in metaphase were counted in each group, but 387 cells were counted in the * marked group.

表 2 Occurrence of structural chromosome anomalies

Aspirin

Dose ($\mu\text{g/ml}$)	0	75	150	300
No. of cells with gaps & breaks (%)	19 (4.8)	26 (6.5)	31 (7.8)	48 ^{**} (12.0)
No. of chromatid -gaps & -breaks	17	25	22	42
No. of isochromatid -gaps & -breaks	4	1	9	8
Total no. of gaps & breaks	21	26	31	50

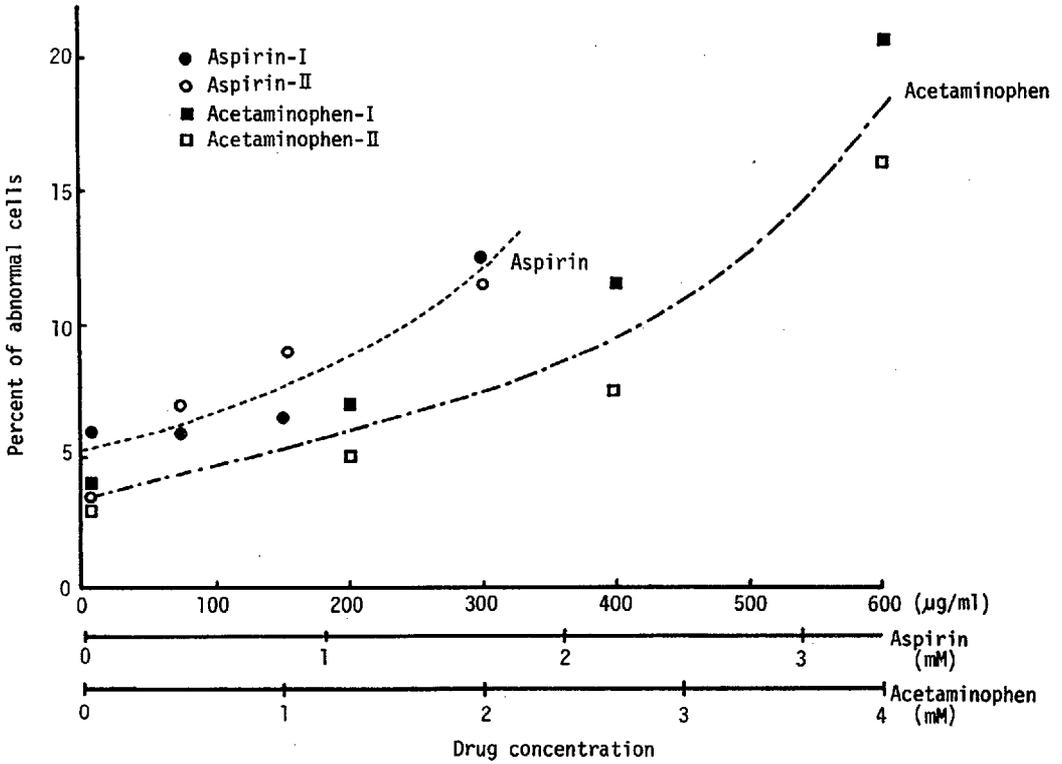
Acetaminophen

Dose ($\mu\text{g/ml}$)	0	200	400	600
No. of cells with gaps & breaks (%)	14 (3.5)	24 (6.0)	38 ^{**} (9.5)	71 ^{**} (18.3)
No. of chromatid -gaps & -breaks	10	17	10	14
No. of isochromatid -gaps & -breaks	5	21	42	64
Total no. of gaps & breaks	15	38	52	78

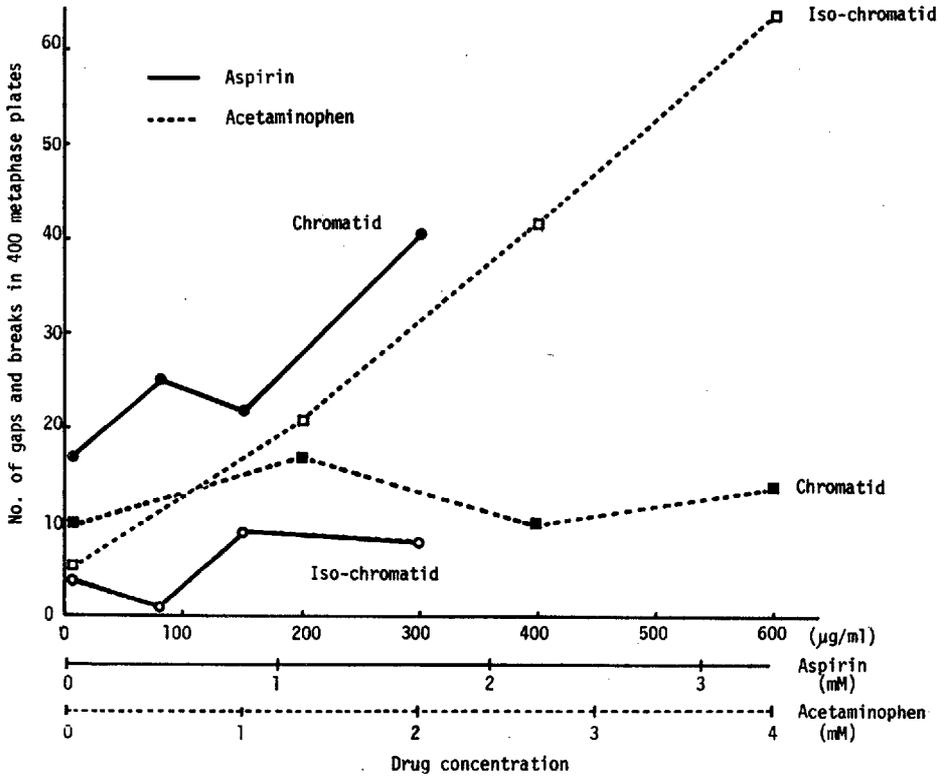
Four hundred cells in metaphase were counted in each group, but 387 cells were counted in the * marked group.

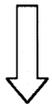
** $p < 0.01$

2 Relationships between drug concentrations and percents of cells with structural anomalies



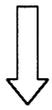
3 Relationships between drug concentrations and chromatid- as well as isochromatid-anomalies





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

1973 年以来,新潟市内にある産科婦人科病院の協力をえて,人工妊娠中絶標本につき 1,250 例の染色体を,直接法により分析してきた。標本は,胎令 5 週から 12 週までのものである。この細胞遺伝学的疫学調査で,種々の知見をえたが,注目すべきものの一つに,つぎのような事実があった。すなわち,最終月経初日前後 3 週間以内に,鎮痛・解熱剤を服用した群での染色体異常発生率は,28.8%であった。それに対し,非服用群ではそれが 5.2%で, X^2 検定の結果,その差は十分であった($X^2=54.422$ $P<0.001$)。ただし,服用した薬剤に染色体異常誘発性があったのか,あるいは,薬剤服用にいたる基礎疾患にその原因があったのかは明らかでない。(1-2)

この辺りの事情を解明するため,実験的に *in vitro* ならびに *in vivo* の両面から検討を行った。今回は,*in vitro* の実験結果について報告する。

鎮痛・解熱剤には,アニリン誘導体,サリチル酸誘導体,ピラゾロン誘導体などがある。しかし,ピラゾロン誘導体であるズルピリン,アミノピリンなどは,その毒性のため,現在は使用されていない。したがってここでは,サリチル酸誘導体としてアスピリン,アニリン誘導体としてアセトアミノフェンを用いて,染色体異常の誘発性を調べた。なお,アセトアミノフェンは,アセトアニリド,フェナセチンなどアニリン系薬剤の生体内代謝物でもある。