



化学発癌剤の染色体レベルでの作用

植田, 規史

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1977-06-22

(Date of Publication)

2008-04-02

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙0488

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2000488>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



化学発癌剤の染色体レベルでの作用

神戸大学医学部病理学教室（指導；杉山武敏教授）

植田規史

ACTIONS OF CHEMICAL CARCINOGENS AT THE CHROMOSOMAL LEVEL

Norifumi UEDA

Department of Pathology

Kobe University School of Medicine

(Director: Prof. Taketoshi SUGIYAMA)

ABSTRACT: Acute chromosome-damaging and chromatid-rearranging capacities of various chemical carcinogens such as 7,12-dimethylbenz(a)anthracene, 7,8,12-trimethylbenz(a)anthracene, N-nitrosobutylurea, urethan and 4-nitroquinoline-1-oxide and a carcinostatic material, Mitomycin C, were studied with rat bone marrow cells *in vivo* and *in vitro*. These structurally different chemicals commonly induced chromosome aberrations nonrandomly distributed among and within chromosomes. The No2 chromosome was vulnerable to these chemicals at three chromatid regions, and No1 chromosome, at one region. The above chemicals induced sister chromatid exchanges *in vitro* which were distributed nonrandomly at the same chromosomal regions as breaks and gaps were. This parallelism strongly suggests a causal relationship between the two phenomena, chromosome aberrations and sister chromatid exchanges and may be ascribed to the late replication of the DNA of the above regions. Some investigations were also performed on the relationship between the specific vulnerability of the above regions and the

chromatid structure of marker chromosomes in the hydrocarbon-induced rat leukemia cells.

緒 言

化学物質や放射線と核酸との相互作用については，すでに多くの研究者によって研究され，¹⁾⁻³⁾これらの因子が核酸塩基を修飾して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序を乱し，その結果細胞の癌化がもたらされるという考え方が強いが，今日なお具体的な細胞癌化機序は明らかでない。

細胞の癌化に関して，染色体の不均衡が細胞の分化に影響し，これが癌増殖につながるの考えは，Boveri⁴⁾によって1914年発表されたが，技術上の困難から腫瘍の染色体構成の研究は遅れ，具体的にこの分野の最初の成果が得られたのは1960年Nowell⁵⁾による慢性骨髄性白血病におけるPh¹染色体の発見によってである。更に，1969年Caspersson⁶⁾により画期的なキナクリンバンド法が開発され，固有のバンド構造による染色体構造の解析が可能となり，癌における多くの染色体異常が発見されるに至った。即ちBurkittリンパ腫のD14染色体の末端に一本の過剰バンドが証明され⁷⁾，Ph¹染色体はG22の長腕の一部のC9長腕への転座により生ずることが明らかになった。⁸⁾その他，髄膜腫のG22モノソミー⁹⁾，急性白血病におけるC8トリソミーやC8/G22の転座¹⁰⁾，リンパ腫におけるD14長腕の延長¹¹⁾があげられる。

実験腫瘍でも，1967年杉山らにより7,12-dimethylbenz(a)anthracene(DMBA)，7,8,12-trimethylbenz(a)anthracene(TMBA)誘発ラット白血病にNo.2トリソミーが高頻度にみられる事が報告され¹²⁾⁻¹⁵⁾，実験腫瘍における再現的染色体異常のはじめての報告となった。その後MittelmanによるDMBA誘発ラット線維肉腫¹⁶⁾や，上中らによるNBU白血病¹⁷⁾での同様の染色体異常の発見があり，No.2染色体のラットにおける発癌での役割が注目された。この様な定方向性の染色体突然変異が化学発癌剤で誘発されることは，発癌剤の対細胞或は対染色体作用の定方向性を示すものと考えられる。

また、Ataxia teleangiectasia,¹⁸⁾ Bloom,¹⁹⁾ Fanconi²⁰⁾ 症候群等では培養細胞に染色体切断が好発し、また染色体間の転座を来しやすいことが知られている。一方、これらの患者では腫瘍罹患率が高い。又、Down,²¹⁾ Klinefelter,²²⁾ D1 トリソミー²³⁾ 症候群では白血病の罹患率の高いことが知られている。この様な事実から染色体異常状態が腫瘍発生に重要な意味をもつことが推定され、また多くの研究者に認められるようになってきた。

一方、種々の発癌性化学物質が染色体を切断する作用を有することが知られている。²⁴⁾⁻²⁶⁾ この作用は近年、環境中の発癌物質のスクリーニングに用いられるが、同じ作用が発癌性を示すウィルスや放射線にもみられることは注目すべきである。²⁷⁾

以上の3つの事実は染色体の切断作用、あるいは染色体異常症との相関を示す重要な事実である。そこで、我々は発癌剤が染色体に対していかに作用し、腫瘍における染色体異常にどのようにつながり、又染色体異常が発癌にどのように関係しているかを研究することは発癌機序を解明するにとって重要な課題であると考えた。

本研究では、DMBA、TMBAで誘発される白血病に一定の染色体異常をみる事実をとりあげ、染色体切断作用が腫瘍にみられる染色体異常形成にどのような役割を果しているかを目標にこれらの発癌剤の正常骨髄細胞に対する急性傷害作用を検討した。更に、これらの作用の検討にはDMBA、TMBAのほか、全く化学構造の異なる発癌剤N-nitroso-N-butylurea(NBU)、4-nitroquinoline-1-oxide(4NQO)、urethan、抗癌剤Mitomycin C(MMC)の骨髄染色体に対する作用を比較の対象とした。

本研究は、次の三部から成り、それぞれにわけて研究成績を記載するが一部、すでに海外誌²⁸⁾発表済みのものも含めている。

第I部：DMBA、TMBA、NBU、urethan、MMCの染色体に対する急性傷

害作用の検討

第Ⅱ部：DMBA, TMBA, NBU, 4NQO, MMCの姉妹クロマチッド交換能の検討

第Ⅲ部：DMBA, TMBA, NBU誘発ラット白血病のマーカーの検討

実験方法と材料

動物：使用動物は、生後27～30日の雌雄のLong-Evans系ラットで、本系統はChicago大学Ben May癌研究所において、closed colonyとして自由交配で維持されていたものを、和歌山医大病理での1代を経て輸入したものである。動物はすべて自家繁殖で得て、オリエンタル固型飼料CMF, NMFを投与した。

培養細胞：上記同系ラットをエーテル麻酔下に屠殺し、大腿骨より骨髓細胞を採取して使用した。

化学発癌剤：6種類の化学構造の異なる化学発癌剤を使用した。DMBAはEastman Organic Chemicals社の製品をシリカゲルカラムで精製したのち、アセトン／アルコールで再結晶して得た。TMBAはBen May癌研究所で、Huggins及びPatakiにより合成されたもので、DMBA及びTMBAの白血病誘発及び骨髓染色体に対する急性傷害作用の研究の目的には、Upjohn社のSchurr氏によって製造された15%脂肪乳剤を用いた。本乳剤にはそれぞれの物質を1mlについて5mgを含有する。NBUは泉化学で合成されたものを、エタノール／水で再結晶して使用した。4NQOは半井化学の製品をそのまま用い、urethanはSigma Chemical Co.の製品を、MMCは協和発酵の市販のものを用いた。NBUは綿実油又は水に、他は水又は生理食塩水に溶かして経口又は静脈内に投与した。

染色体標本作製法：動物の骨髓から作製する場合は、あらかじめ1時間前に

コルヒチン (0.3 mg/ラット) を腹腔内に投与したラットをエーテル麻酔下に屠殺し、大腿骨骨髓の細胞を生理食塩水に浮遊し、0.075M KCl で 37℃ 15 分間低張処理し、ついで氷冷カルノア液 (メタノール: 酢酸 = 1 : 1) で固定し、スライドガラス上に滴下して空気乾燥を行なった後、15 分間 2% ギムザ液で染色した。白血病ラットの染色体分析には、コルヒチンを使用せず大腿骨骨髓及び肝臓の小片中の白血病細胞を生理食塩水に浮遊し、以下の操作は同様にして染色体標本を作成した。又、マーカー分析には G バンド法 (Seabright²⁹⁾ 法) を使い、0.05% トリプシン液で 10~20 秒処理した後水洗し、2% ギムザ液で 15 分間染色した。染色後、顕微鏡下で観察し検索した。培養細胞から染色体標本を作る場合は、培地に最終濃度 2 µg/ml になる様に加え、コルヒチンを標本作成 2 時間前に加え、細胞を集め低張処理を行ない、以下同じ操作により染色体標本を作製した。

各種化学発癌剤による正常骨髓細胞の急性傷害作用: 生後 30 日目の雄ラットに、DMBA, TMBA 乳剤 (50 mg/kg 体重), urethan (800 mg/kg 体重), MMC (2 mg/kg 体重) を尾静脈より投与し、一定時間後ラットを屠殺し両側大腿骨より骨髓細胞の染色体標本を作製し、鏡検した。NBU は水溶性が低く静脈内投与が不可能なので、綿実油に溶解し、200 mg/kg 体重を胃ゾンデにて経口投与し、同様に一定時間後屠殺して検索した。各種発癌剤投与後 1 時間から 72 時間まで経時的に染色体切断 (クロマチッド不染部分を有するギャップ及びクロマチッドの不連続性、即ち位置のずれを伴う切断を含む) を有する細胞の割合、No 1, 2, 3 及びその他の染色体上への分布をみ、また No 1, 2 染色体内での切断の分布は、動原体から切断個所の近位端及び遠位端までの距離を染色体軸上で実測し、相対距離 (%) として染色体上にプロットした。

各種発癌剤による姉妹クロマチッド交換: ラット大腿骨からの骨髓細胞を集め、チミジンを含まず、代わりに 2 µg/ml の bromodeoxyuridine (BrdU) を加

え、15%牛胎児血清を加えたF12培地で、CO₂培養器に37℃で、ラット骨髓細胞の2分裂周期に当る26時間培養した。dimethylsulfoxide (DMSO)に溶解させた種々の濃度のDMBA, TMBA, 4NQO, NBU及びMMCを、ハーベスト6時間前に加え、培養26時間目に染色体標本を前述の方法に従い作製した。この染色体標本を、当教室の後藤らの方法³⁰⁾及びその改良法³¹⁾により、10⁻⁴Mの33258 Hoechstで染色、水洗、pH 8.25のMacIlvaineの緩衝液での封入、約50℃の加温伸展器上での0.5～1時間紫外線殺菌燈又はブラックライト照射の後、2%ギムザ液で15分間染色した。その後鏡検し、40個中の中期細胞での姉妹クロマチッド交換数、染色体内分布を動原体からの相対距離で表わし長腕全長を20等分したスケールにプロットして頻度を染色体上でのヒストグラムとして表わし、発癌剤の染色体切断部位と比較した。

実験白血病の誘発法：DMBA, TMBA白血病はHuggins and Sugiyama,³²⁾ Huggins, Grand and Oka³³⁾の方法に従って、乳剤の頻回静脈内投与により誘発した。DMBA又はTMBAを含むSchurr乳剤を第1回目30～25mg/kg体重を計4～6回にわたり投与した。投与間隔は多くは14日とし、一部は7日、10日のものもある。この場合には1回の投与量を適時に減量した。NBU白血病は0.04%NBU水溶液を125日間自由に飲ませた後、通常の水道水を与える小田嶋の方法³⁴⁾に従って誘発した。DMBA, TMBA白血病は第1回目の発癌剤投与後120日、NBU白血病はNBU投与開始後200日間観察し、血液検査又は開腹による肝生検により発症を確認した。各白血病は末期まで観察の後、屠殺して染色体分析を行なった。マーカーの分析には、明らかな、単なるNo.2トリソミーやLong No.2でないマーカーを有する例をひろって使用検討した。

結 果

I. 各種発癌剤の骨髓細胞に対する急性染色体切断作用

(1) 発癌剤投与後の染色体切断・ギャップの時間的変動

DMBA 投与時は、投与後 3 時間より切断頻度が増加しはじめ、18 時間で 60% と最高に達し、その後切断頻度は下降し、72 時間で対照群まで下降した。TMBA 投与群では、ほぼ類似の変化を示したが、12 時間で 30% と最高に達した。NBU 投与後は、投与時 1 時間ですでに 22% の頻度で染色体切断がみられ、6 時間後には 71% と最高に達し、時間の経過と共にゆるやかに下降し、72 時間後にはほぼ対照レベルに低下した。urethan 投与のさいは、12 時間で 27% と最高に達し、48 時間で対照レベルへ下降した。MMC 投与のさいは、NBU に似て 6 時間で 32% と最高に達し、その後ゆるやかに下降して 48 時間後になると対照レベルに落ちついた。

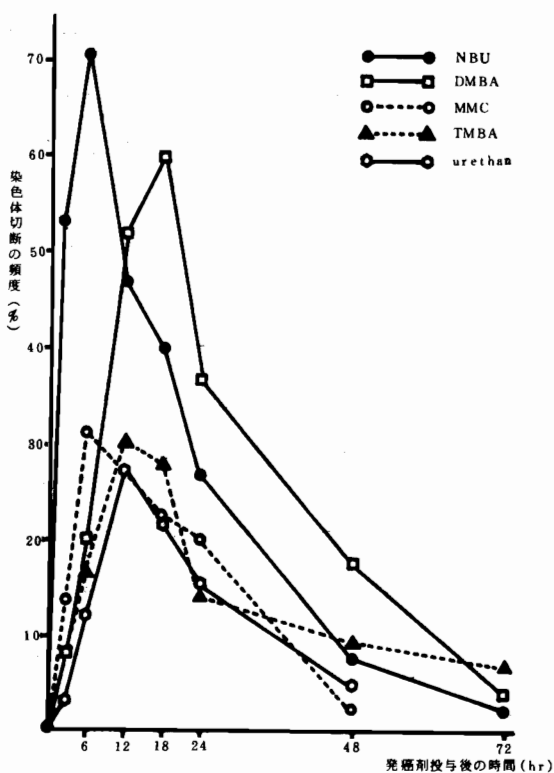


図 1 染色体切断の時間的変動

(図 1)

(2) 切断・ギャップの染色体間分布の時間的変動

染色体間の分布においては、DMBA 投与時は、6 時間後には No. 2 染色体の切断頻度は 35% と高かったが、その後 12 時間、24 時間では 24%、20

%とその頻度は下降した。逆にNo.1染色体では6時間後の切断頻度15%と低かったが、12時間、24時間では21%、24%と上昇した。No.3染色体では各時間共ほぼ同様の染色体切断頻度であった。又、その他の染色体では6、12、24時間とその切断頻度は増加していった。TMBA投与時は、6時間後にはNo.2染色体の切断頻度は37%と高く、12時間、24時間後には30%、21%と下降し、DMBA時と類似の変化をとった。No.1染色体では、6時間、12時間、24時間後では10%、11%、15%と時間と共にわずかの上昇が認められた。その他の染色体では、やはり時間の経過と共に増加した。

NBU投与時は、DMBAにみられる様な変化は認められず、各時間でほぼ一定の染色体切断頻度を示した。urethan投与時は、No.1染色体で、6時間で15%、12時間、24時間で17%、18%とわずかに上昇がみとめられ、No.2染色体では逆に6時間で40%、12時間、24時間では、32%、24%とその頻度は下降した。No.3染色体では、時間の経過に差はみとめなかった。

MMC投与時は、No.2染色体で6時間で27%、12時間、24時間で22%、12%とその頻度は下降し、逆にNo.3染色体で6時間で2%、12時間、24時間で6%、10%と上昇がみられた。No.1染色体では、時間と共にわずかの上昇がみとめられた。以上を総

括すると化学構造の如何を問わず、切断の染色体間の分布は一定の法則によって支配されていることが明らかになった。即ちNo.2染色体上の頻度は、注射からmetaphase間の時間が長くなると共に減少し、No.1や他の染色体上の頻度は逆に増加の傾

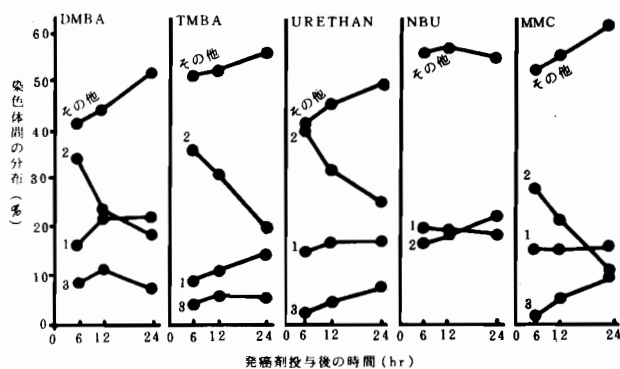


図2 染色体切断の染色体間分布

向を示した。(図2)

(3) 切断・ギャップの染色体内分布

染色体内分布ではNo.1染色体における切断部位は, DMBA, TMBA投与時は染色体上の動原体から約40%の部位に, 投与6時間後で切断・ギャップ(以下, 切断と略す)が集中した。又, No.2染色体上では30%及び55%部位に

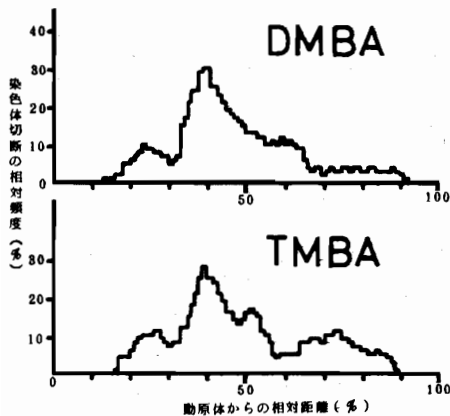


図3 No.1染色体上の切断部位分布

切断の集中がみられた。NBU投与時は, 切断部位の集中は少なかったがNo.1染色体で6時間後には40%の部位に集中が見られ, No.2染色体でも30%, 55%, 80%の部位に集中がみられた。No.2染色体上では, urethan, MMC時にも, 切断部位に集中がみられ30%, 55%に切

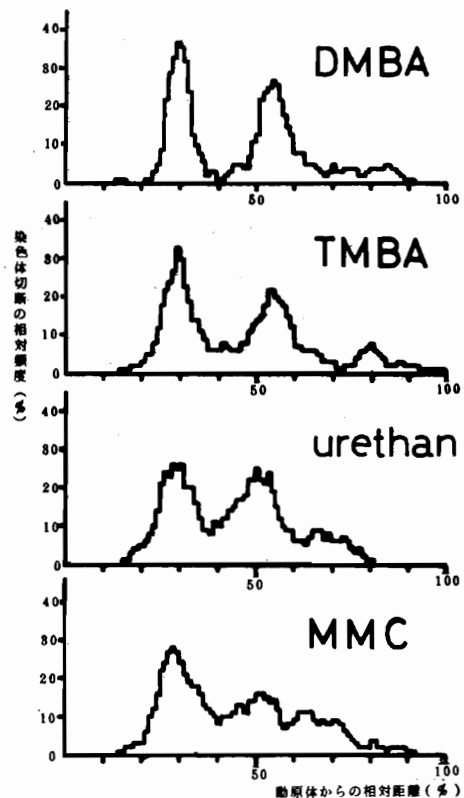


図4 No.2染色体上の切断部位分布

断が多かった。以上のように発癌剤の如何にかかわらず同一部位に切断は分布し, 染色体レベルでの作用については一定の共通性を示した。(図3, 4, 写真1)

II. 各種発癌剤による姉妹染色体交換

非処置細胞では1つの中期細胞に平均5個のクロマチッド交換が認められた。異なる濃度のDMBA, TMBA, NBU及び4NQOを加えた場合の処置後6時間の

図5 姉妹クロマチッド交換頻度

化学発癌剤	濃度 (mM)	No 1 染色体 (%)	No 2 染色体 (%)	No 3 染色体 (%)	その他の染色体 (36染色体) (%)	1細胞当たり 平均値
DMBA	10^{-2}	11.2	10.2	4.4	74.2	12.6 ± 2.6
	10^{-3}	10.4	13.7	4.9	71.0	10.7 ± 1.8
	10^{-4}	10.0	13.6	4.6	71.8	7.8 ± 2.9
TMBA	10^{-2}	10.8	8.8	4.2	76.2	12.3 ± 3.4
	10^{-3}	10.2	9.0	4.3	76.5	9.6 ± 1.3
	10^{-4}	9.4	9.1	4.5	77.0	7.5 ± 2.6
4NQO	$1/2 \times 10^{-5}$	7.1	11.0	3.9	71.2	8.8 ± 1.6
	$1/4 \times 10^{-5}$	6.0	9.3	4.3	80.4	8.0 ± 1.8
	$1/8 \times 10^{-5}$	7.5	11.4	4.3	76.9	7.3 ± 2.2
NBU	10^{-3}	7.5	11.9	3.2	77.4	16.4 ± 5.3
	10^{-4}	7.3	9.7	3.8	78.8	10.6 ± 2.2
	10^{-5}	7.8	10.7	2.9	78.6	8.8 ± 2.4

姉妹クロマチッド交換の頻度を検討したところ結果は図5の如くであった。いずれの物質についても、Dose-response 関係がみとめられた。即ち、DMBAでは、 10^{-4} mMで7.8個、 10^{-3} mMでは10.7個、 10^{-2} mMで12.6個、TMBAでは、 10^{-4} mMで7.5個、 10^{-3} mMで9.6個、 10^{-2} mMで12.3個、NBUでは 10^{-5} mM 8.8個、 10^{-4} mM 10.6個、 10^{-3} mM 16.4個、4NQOでは 1.25×10^{-6} mMで7.3個、 2.5×10^{-6} mMで8.0個、 5×10^{-6} mMで8.8個と濃度按比例し、交換頻度は上昇した。姉妹クロマチッド交換の染色体間分布ではNo 1, 2染色体にいずれも高頻度で、No 1染色体でDMBA, TMBA, NBU及び4NQOの平均交換率は、全交換の10.6%, 10.1%, 7.7%, 6.9%, No 2染色体で12.5%, 9.0%, 10.6%, 10.8%であった。DMBA投与6時間、12時間、18時間、24時間後のクロマチッド交換の時間的変動は18時間までは

時間の経過と共に，対照例においても交換の頻度はわずかに上昇し，発癌剤投与例では時間と共に著明に

上昇した。

(図6)また

DMBAの濃

度が上昇する

図6 姉妹クロマチッド交換頻度の時間的変動

		6時間	12時間	18時間	24時間
DMSOのみ		4.9 ± 1.5	5.5 ± 1.2	6.0 ± 2.0	6.6 ± 2.1
DMBA	10 ⁻⁴ mM	7.8 ± 2.9	8.2 ± 1.0	9.0 ± 4.0	12.5 ± 2.4
	10 ⁻³ mM	10.7 ± 1.8	10.8 ± 2.3	11.8 ± 2.2	12.1 ± 2.3
	10 ⁻² mM	12.6 ± 2.6	12.2 ± 2.5	13.3 ± 4.0	12.8 ± 2.2

のに従い交換頻度が増加する等，Dose-response 関係がみとめられたが，

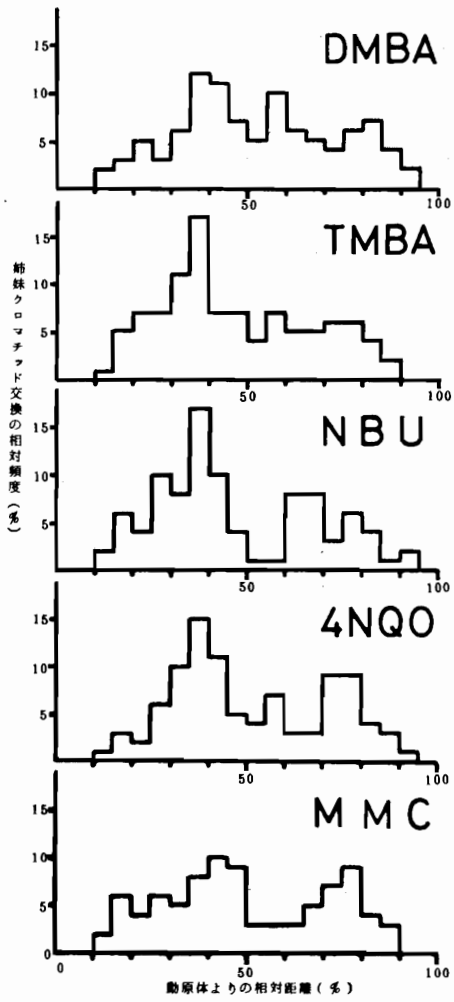


図7 No.1染色体上の姉妹クロマチッド交換分布

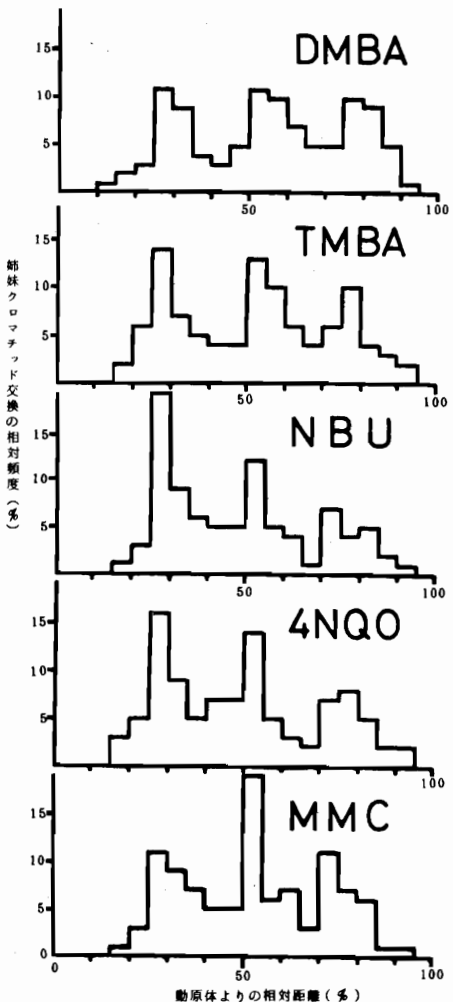


図8 No.2染色体上の姉妹クロマチッド交換分布

24時間の時点では、 10^{-2} , 10^{-3} mMの高濃度の処置のあと、むしろ頻度は減少し、この時間帯では、 10^{-4} mM DMBAによる交換の頻度と大差はみとめられなかった。クロマチッド交換部位の染色体内分布は、DMBA, TMBA, NBU, 4NQO及びMMCともに類似し、No. 1染色体では動原体からの相対距離で40%の部位にNo. 2染色体では30%, 55%, 80%の部位に交換が頻発した。(図7, 8, 写真1)

Ⅲ. 化学発癌剤により誘発された白血病の特異的染色体異常

すでに、杉山¹²⁾⁻¹⁵⁾及び上中¹⁷⁾らにより報告されたDMBA白血病, TMBA白血病, NBU白血病例のうち、No. 2トリソミー, Long No. 2などの染色体異常をのぞくマーカー染色体の存在に本論文は注目した。そのうちモザイクで出現したmarkerをのぞき、100%の出現率であらわれたmarker1, marker2をトリプシン-ギムザ法により分析したところ、marker1はNo. 3, No. 12染色体のサテライト部の融合したものであり(写真2)、marker2はNo. 2の動原体から30%の部位からの長腕とNo. 12のサテライト部の融合によるものであった(写真3)。

考 按

本研究では、化学発癌剤として知られるDMBA, TMBA, NBU及びurethanの正常ラット骨髓細胞に対する染色体切断作用を、No. 2染色体を中心にいくつかの染色体についてその規則性を検討した。その結果クロマチッド上の切断や姉妹クロマチッド交換の分布や、細胞周期の中でのこれらの分布にも一定の規則性のあることが明らかになった。この規則性は構造の異なる各種発癌剤についても共通であることが示された。従来、クロマチッド切断好発部位に一致してキアスマを時々みることから、その部位に姉妹クロマチッド交換が起っているのではないかと考えられた³⁵⁾が、最近開発された姉妹クロマチッド分染法

はこの問題についての本格的な検討を可能にした。当教室の後藤らの改良による 33258-Hoechst 姉妹クロマチッド分染法³⁰⁾³¹⁾により，化学発癌剤の姉妹クロマチッド交換能を調べてみると，切断の好発部位に一致して姉妹クロマチッド交換が好発することが明らかになった。このような切断と姉妹クロマチッド交換の部位的一致や頻度の併行性がみられたこと，その分布が構造の異なる発癌剤に関して共通であったことは，すでに杉山¹²⁻¹⁵⁾や上中¹⁷⁾らによって報告されている DMBA，TMBA，NBU 白血病あるいは肉腫における定方向性染色体異常の誘発と共に発癌剤の染色体レベルでの作用の共通性と定方向性を示すものである。

そこで，次に今回の研究で得られた 2 つ重要な所見，即ち①切断と姉妹クロマチッドの相関，②発癌剤の染色体レベルでの作用の共通性について論じてみたい。

まず我々の示した切断と姉妹クロマチッドの相関については，すでに杉山³⁵⁾によってオートラジオグラフィーを利用したデータがえられている。これは一側のクロマチッドを H^3 -チミジンでラベルしたあと，次の中期でオートラジオグラフィーで姉妹クロマチッドを分染する方法によるもので，この方法によると銀粒子の不連続性と散開性のために正確に交換の部位をプロットすることが困難であった。これに対して今回の BrdU-33258 Hoechst 法によるとこの点は完全に克服され，きわめて正確な切断と姉妹クロマチッド交換の間の因果的なつながりを示すことが出来た。一般に姉妹クロマチッド交換は，切断の頻度の 200 倍のオーダーで起るとされることから，切断は姉妹クロマチッド交換の一部をなすものと考えることが出来る。そこで想起されるのは，Revell によって提唱された切断やギャップの成因に関する交換仮説³⁶⁾である。Revell によると切断やギャップは姉妹クロマチッド（分子レベルでは主鎖 DNA）の不完全交換であるという。この考えをとれば，2 つの現象の密接な相関は説明

しうる。また DNA 障害の修復のさいに主鎖間の組換えが誘発される機構が知られている。このような観点から、今回のデータはギャップや切断とクロマチッド交換の相関を初めて示したものとして重要な所見と考えてよい。これに対して安部³⁷⁾らは、姉妹クロマチッド交換と切断とは、頻度からみて物質によって必ずしも平行しない現象であるというデータを示しているが、今回の染色体上の分布に関する限り物質による差はむしろ否定的である。

第2に、構造の異なる発癌剤がクロマチッド切断や交換を来した際の共通性について論じたい。発癌剤は分子的には核酸塩基に作用することが知られ、DNA 切断や組換えの機序は変化した塩基の修復過程で生ずるものと考えられるが、このさいの各種発癌剤の染色体上の作用部位に関する研究は殆んどない。杉山による他の実験³⁵⁾では、Taylor のオートラジオグラフィー技法³⁸⁾で、又白石らは 33258-Hoechst-Giemsa 法によって切断、クロマチッド交換の好発部位は晩期複製部位に一致することを明らかに示している（未発表）。即ち発癌剤は DNA の複製と関連して DNA を障害するために化学構造の差をこえて共通の染色体レベルでの作用を示したものと考えられる。しかし、このことは必ずしも染色体の特定部位が、化学発癌剤の標的となることを示すものとは限らない。すべての DNA 上の base は S 期の何れかの時期に複製の対象となり、又今回の実験では、分裂期直前 6 時間に発癌剤を投与した時にえられたきわめてシャープな局在性をプロットしえたに過ぎないからである。更に時間を長くとした場合の局在性の低下がすでに示されている。³⁵⁾従って、今回の研究成果は染色体レベルでの発癌剤の作用の規則性を示した点で意味があるが、その発癌における意味についてはなお問題が残っている。

発癌性ウィルス、放射線、化学物質の何れもが染色体切断を有し、種々の benz(a)anthracene 誘導体の発癌性と染色体切断能、姉妹クロマチッド交換能が平行する事実、²⁵⁾あるいはエリトロポイエチンによって DMBA によるラ

ット骨髓細胞の染色体切断と造腫瘍性が平行して増強する事実³⁹⁾等は、これらの現象と発癌との相関をつよく示唆する。杉山は、Revellの仮説からDNAの組換えが遺伝子の2つの娘細胞への不等配分を通じて細胞の癌化につながる可能性を示唆した。⁴⁰⁾そして晩期複製部DNAと関連のある、また細胞増殖に重要な核小体遺伝子の関与を推定している。しかし、なお直接の証明は今後の問題である。今回の研究ではマーカーの分析から核小体域の関与がうかがわれる。即ち教室の加納によって示され⁴¹⁾た通り、ラット細胞の核小体域の主体はNo 3, No 1 2 染色体のサテライト附近, No 1 1 動原体附近に何れも DNA 晩期複製と密接に関連して存在していることが示されている。今回の2つの白血病マーカーはNo 3 と No 1 2 のサテライト部の融合によるものとNo 2 の動原体から30%のDNA 晩期複製部とNo 1 2 のサテライト部の融合によるものであり、核小体とNo 2 のDNA 晩期複製部がその形成に関与していることを示している。この種のマーカーが発癌剤の作用で直接効果として生じたか、以後の分裂の途上で腫瘍化ののちに生じたか、両方の可能性とも否定できないが、ともかく腫瘍細胞内にみられる染色体異常がDNA の晩期複製部と関連して生じたものであることは興味がある。これらの成績は、これまで杉山らによって主張されているマーカーや異数には晩期複製DNAを有する染色体No 1, No 2, No 1 3, No 1 9, 晩期複製DNA及び核小体域を有する染色体No 3, No 1 1, No 1 2をまき込むという規則³⁵⁾⁴⁰⁾を改めて確認したものである。今後更に、急性効果と腫瘍細胞における染色体異常の相関に詳細な解析が加えられなければならない。

結 論

1. 化学発癌により染色体切断がひきおこされ、濃度がふえるに従い増加する。染色体上の発癌剤による切断の分布には規則性があり、この規則は構造の全く異なる発癌剤においても共通である。

2. 姉妹クロマチッド交換は，各種発癌剤で高頻度にひきおこされ，濃度の増加により頻度は上昇する。染色体上の交換の分布は構造の異なる発癌剤にかかわらず共通である。

3. 染色体切断現象と姉妹クロマチッド交換の染色体上での分布の一致から両者は関連する現象であると考えられる。これらの変化は，染色体のDNAの晩期複製部位に一致しておこる。

4. ラット実験白血病においてNo. 2染色体異常に伴う転座型No. 2トリソミーや，No. 2染色体以外の異数の分析から，これらの異常は，DNAの晩期複製部を有する染色体と関連して起っていることに新しい所見を加えた。即ち晩期複製DNAがその発生に重要な役割を果たしていると考えられた。

参 考 文 献

- 1) Arcos, J.C., Argus, M.F.; Adv. Cancer Res. 11: 305, 1968
- 2) 永田親義; 蛋白質; 核酸・酸素 15: 752, 826, 1970
- 3) Ts'o, P.O., DiPaolo, J.A.; Chemical Carcinogen Part A, Marcel Dekken Inc., New York, 1974
- 4) Boveri, T.; Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren, Jena Gustav Fischer, 1914
- 5) Nowell, P.C., Hungerford, D.A.; Science 132: 1497, 1960
- 6) Caspersson, T., Zech, L., Johanson, C.; Exptl. Cell Res. 60:315, 1970
- 7) Manolov, G., Manolova, Y.; Nature 237: 33, 1972
- 8) Rowley, J.D.; Nature 243: 290, 1973
- 9) Mark, J., Mitelman, F., Levan G.; Microbiol. Scand. 80: 812, 1972
- 10) Rowley, J.D.; Proc. Nat. Acad. Sci. 72: 152, 1975
- 11) Fukuhara, S., Shirakawa, S., Uchino, H.; Nature 259: 210, 1976
- 12) Sugiyama, T., Kurita, Y., Nishizuka, Y.; Science 158: 1058, 1967
- 13) Kurita, Y., Sugiyama, T., Nishizuka, Y.; Cancer Res. 28: 1738, 1968
- 14) Kurita, Y., Sugiyama, T., Nishizuka, Y.; J. Nat.

- Cancer Inst. 43: 635, 1969
- 15) Sugiyama, T., Brillantes, F. P.; J. of Exptl. Med. 131: 331, 1970
 - 16) Mitelman F., Levan, G.; Hereditas 71: 325, 1972
 - 17) 上中 宏; 神戸大学紀要 36: 69, 1977
 - 18) McCaw, B.K., Hecht, F., Hardden, D.G., Teplitz, R.L.; Pro. Nat. Acad. Sci. 72: 2071, 1975
 - 19) German, J., Archibald, D., Bloom, D.; Science 148: 506, 1965
 - 20) Schroeder, T.M., Anschutz, F., Knopp, A.; Humangenetik 1: 194, 1964
 - 21) Stewert, A., Webb, J., Hewitt, D.; Brit. Med. J. 2: 1495, 1958
 - 22) Manunes, P. et al; Lancet 2: 26, 1961
 - 23) Schade, H., Schoeller, L. Schultze, K.W.; Med. Welt., 50: 2690, 1962
 - 24) Kato, R.; Hereditas 59, 120, 1967
 - 25) Sugiyama, T.; Gann 64: 637, 1973
 - 26) Sugiyama, T., Gotoh, K., Uenaka, H.; Mutation Res. 31: 241, 1975
 - 27) Nichols, W.W.; Handbook of Molecular Cytology: Elsevier Publishing Co., Amsterdam and London
 - 28) Ueda, N., Uenaka, H., Akematsu, T., Sugiyama, T.; Nature 262: 581, 1976
 - 29) Seabright, M.; Chromosoma 40: 333, 1973

- 30) Gotoh, K., Akematsu, T., Shimazu, H., Sugiyama, T.;
Chromosoma 53: 223, 1975
- 31) Gotoh, K., Ueda, N., Sugiyama, T.; Submitted in Exptl.
Cell Res.
- 32) Huggins, C.B., Sugiyama, T., Proc. Nat. Acad. Sci. 55:
74, 1966
- 33) Huggins, C.B., Grand, L., Oka, H., J. of Exp. Med.
131: 321, 1970
- 34) Odashima, S., Gann 61: 245, 1970
- 35) Sugiyama, T.; J. Nat. Cancer Inst. 47: 1267, 1971
- 36) Revell, S.H.; In Radiobiology Symposium, Liege, 1954,
Butterworth, London, 1955
- 37) Abe, S., Sasaki, M.; Proc. Japan Acad. 53: 46, 1977
- 38) Taylor, J.H., Woods, P.S., Hughes, W.L.; Proc. Nat.
Acad. Sci. 43: 122, 1957
- 39) Sugiyama, T.; Proc. Nat. Acad. Sci. 68: 2761, 1971
- 40) Sugiyama, T.; Gann Monogr. on Cancer Res. 17: 393,
1975
- 41) Kano, Y., Maeda, S., Sugiyama, T.; Chromosoma 55: 37,
1976

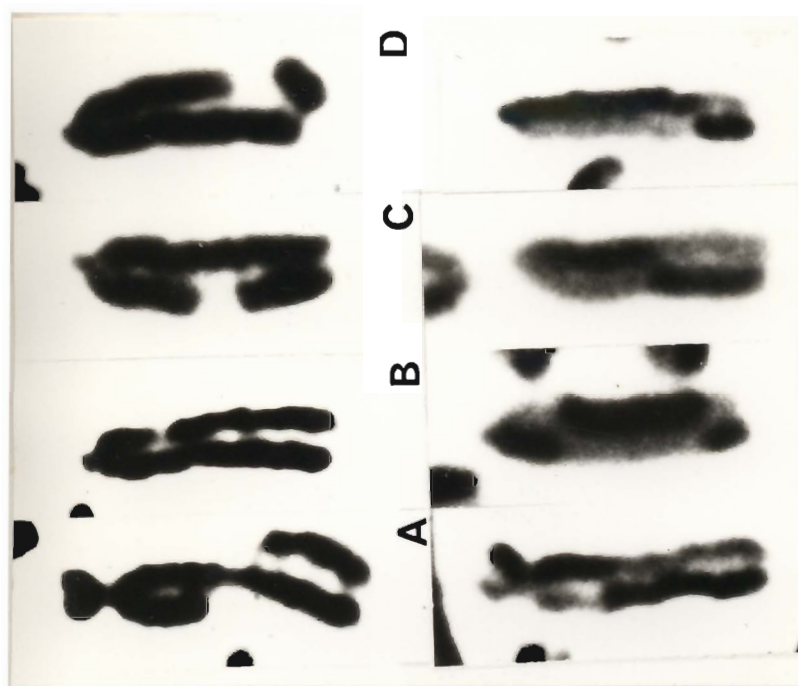


写真1) 上段は、No.1染色体(A)及びNo.2染色体(B, C, D)上の好発部位における切断を、下段は同好発部位での姉妹クロマチッド交換を示す。好発部位は類似部位であることがわかる。



写真2) マーカー1の核型分析を示す。No.3染色体とNo.12染色体のサテライト部での融合がみられ、No.12はmonosomyである。なお、 $1 \times 2 \rightarrow translocation$ が認められる。

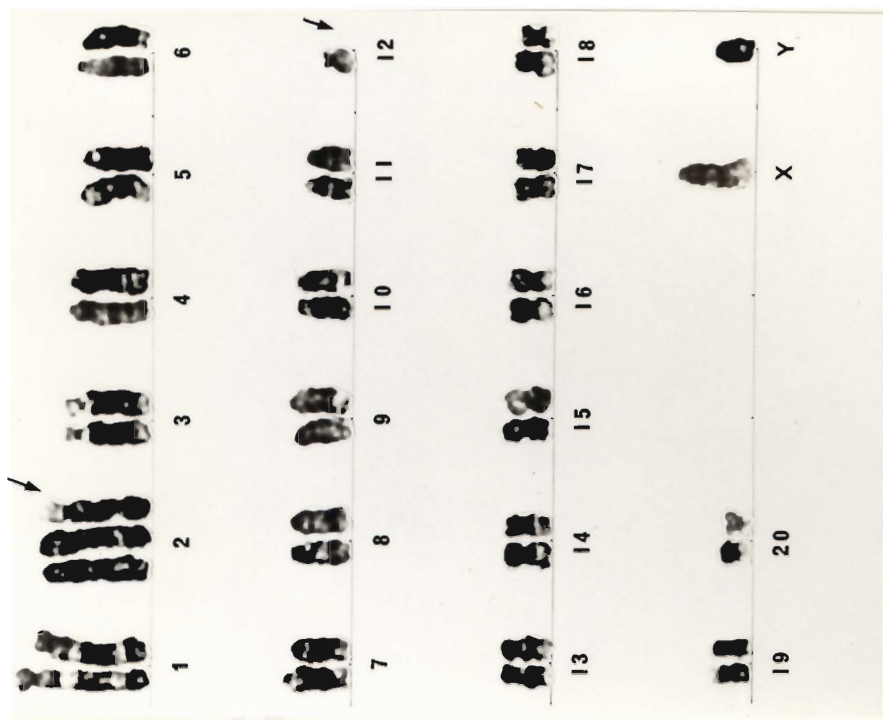


写真3) マーカー2の染色体核型分析を示す。No.2染色体の切断好発部位にNo.12染色体のサテライト部の融合がみられる。No.12はやはりmonosomyである。