

環境変異原研究

Environmental
Mutagen
Research
Communications

S. Arimoto

Vol.5 No.1 1983

環境変異原研究

第11回大会特集

Vol. 5 No. 1 1983

目 次

昭和57年度 学会奨励賞受賞者のことば

昭和57年度学会奨励賞を受賞して 松島 泰次郎 1

昭和57年度学会奨励賞を受賞して 早津 彦哉 2

第11回大会シンポジウム「各種短期変異原性テストの意味するもの」

1. Ames テストの結果の評価 松島 泰次郎 3

2. ヒト培養細胞での変異原性試験の特質 黒田 行昭 6

3. 昆虫を用いた環境化学物質の変異原性テストの特色 村上 昭雄 12

4. マウス *in vivo* 変異原性試験の意味するもの 土川 清 22

5. 動物発がん試験の立場からみた短期変異原性テストの意味するもの 林 裕造 23

第11回大会 特別講演

環境変異原研究10年 — 反省と今後の展望

賀田 恒夫 26

日本環境変異原学会会則 34

編集後記 38

究明研究奨励賞

講評会大同11葉

昭和 48 年 6 月 V

大 目

第 1 回 学会賞受賞者奨励金学 総合 T6 著

1. 一 勝利者 岩井 伸一 奨励金受取者会員手錠 講評

2. 二 勝利者 齋藤 伸一 奨励金受取者会員手錠 講評

3. 三 勝利者 佐々木 伸一 奖励金受取者会員手錠 講評

上記の著者と題意の「矢張地図表示装置」によりて本学会大同 11 葉

1. 一 勝利者 佐々木 伸一 奖励金受取者会員手錠 講評

2. 二 勝利者 佐々木 伸一 奨励金受取者会員手錠 講評

3. 三 勝利者 佐々木 伸一 奨励金受取者会員手錠 講評

4. 一 勝利者 佐々木 伸一 奖励金受取者会員手錠 講評

5. 二 勝利者 佐々木 伸一 奖励金受取者会員手錠 講評

6. 三 勝利者 佐々木 伸一 奖励金受取者会員手錠 講評

7. 一 勝利者 佐々木 伸一 奖励金受取者会員手錠 講評

8. 二 勝利者 佐々木 伸一 奖励金受取者会員手錠 講評

9. 三 勝利者 佐々木 伸一 奖励金受取者会員手錠 講評

第 2 回 学会大同 11 葉

第 3 回 学会大同 11 葉

1. 一 勝利者 佐々木 伸一 奖励金受取者会員手錠 講評

2. 二 勝利者 佐々木 伸一 奖励金受取者会員手錠 講評

3. 三 勝利者 佐々木 伸一 奖励金受取者会員手錠 講評

昭和 57 年度 学会奨励賞

受 賞 者 の こ と ば

昭和 57 年度 学会奨励賞を受賞して

東京大学医科学研究所

松 島 泰次郎

本学会が日本環境変異原研究会として発足した 1972 年は、環境変異原の研究にとって一つの重要な年であった。AF-2 が培養細胞に染色体異常を起すことを外村教授が田島先生が班長の研究班の会議で報告されて、その後の AF-2 の問題を通じて環境変異原の重要性を一般に認識させるきっかけを作った年でもあった。また日米医学協力研究会に環境変異原・癌原部会が発足し、その最初の研究会議で Ames 教授がサルモネラテストを日本に紹介した年でもあった。

それ以来 Ames 法にかかわりを持ち、Ames 法を利用するかたわら Ames 法の改善に努力を続けてきたが、おかげで発癌の問題を変異原研究の場から考え、また時には逆に変異原の問題を発癌研究の場から眺め、問題を解決していくことができたのは幸であった。

今後も両者の間を振子の如く動き、相互に干渉させながら、両者の研究の発展のために一層の努力を励んで、ヒトの健康の問題にとり組んで行きたく思います。受賞の機会を与えてくださった先輩、同輩、共同研究者に厚く御礼申しあげます。

昭和 57 年度学会奨励賞を受賞して

岡山大学薬学部

早 津 彦 哉

環境変異原の作用の化学的な側面を研究していくことに対して、この名誉ある賞をいただき、大変光栄に思うと同時に、さらに研究を進めてゆく責任を感じる。わたくしのできうこととしてどんなことがあるだろうかと考えてみて、思いつくままに列挙するとつぎのようになる。(1)環境中には、まだ見つかっていない変異原性物質ないしはその前駆体があって、それが実は人間にとて大きな脅威になっているかもしれない。このような物質一因子一を探しつづけることが大切であろう。(2)これにからんで、変異原を濃縮する技術の進歩が重要である。(3)変異原の修飾物質ないし修飾因子の研究は、いろいろな発展要素を含んでいる。(4)変異の分子レベルでのメカニズムは、わかっているようでわかっていない点が多い。たとえば、互変異性による塩基対形成ミスの機構は正しいだろうか。(4)に関しては、最近 N^4 -アミノシチジンが塩基アナログとしては異常に強い変異原性を持つことを見出したこと、これをとっかかりとして、つめてゆきたいと思っている (Negishi ら, 1983)。

文 献

Negishi, K., Harada, C., Ohara, Y., Oohara, K., Nitta, N., and Hayatsu, H.: N^4 -Aminocytidine, a nucleoside analog that has an exceptionally high mutagenic activity. Nucleic Acids Res., 11, in press (1983).

第11回 大会シンポジウム

「各種短期変異原性テストの意味するもの」

1. Ames テストの結果の評価

東京大学 医科学研究所

松 島 泰次郎

1. はじめに

Ames 教授の開発したサルモネラ菌を用いる変異原性試験法が導入されてから10年以上が経過したが、この方法が簡便・迅速で、鋭敏で検出感度が高く再現性も良いので、潜在的がん原性物質の短期検索法として優れているので広く世界中で用いられている。現在約2,000の研究室で利用されおり、5,000種類以上の化学物質についての変異原性試験の結果が報告されている。日本環境変異原学会の研究発表会でも約 $\frac{1}{2}$ の発表演題が Ames 法を用いた研究で占められている。

この方法は 1) 化学物質の安全性(変異原性、潜在的がん原性)確認のための第一次スクリーニング法 2) 天然物、食品、環境汚染物質などの複合物のなかから変異・がん原性物質の分離精製と同定 3) 環境中の変異・がん原性物質のモニター 4) 変異・がん原性物質に対するヒトの曝露のモニターなどに広く用いられている。

化学物質の安全性確認のための第一次スクリーニング法として用いられる場合には、操作方法が不適切であったために誤った情報が得られるとヒトの健康に対して問題となるので、結果の評価に影響をおよぼす2,3の問題点について考えてみたい。

2. 原理的な問題点

この方法は、ヒスチジン要求性のサルモネラ菌変異株を用いて、ヒスチジン非要求性になる復帰突然変異を調べる方法である。塩基対置換型変異原物質とフレームシフト型変異原物質を調べる2種類の菌株を用いて点突然変異を調べる方法である。したがって染色体の構造変化を起すような DNA の大きな欠損を起す変異原物質を検出するこ

とはできない。このような変異原物質の検索のためには培養細胞を用いる染色体異常を調べる方法を用いる必要がある。したがって Ames 法で陰性の結果が出ても安全性を意味しない。ヒトが曝露する機会が多い物質(食品添加物や医薬品、農薬など)については染色体異常試験で調べる必要がある。OECD の最少必要テスト項目のなかに微生物変異原性試験と染色体異常試験が入っている。

Ames テストで陽性に出た物質は、その物質それ自身か、それが代謝活性化された物質が DNA に損傷を与える能力を持っている物質であるのでそのような能力を持たない物質とは区別して慎重に取り扱う必要がある。他の短期試験法でさらに調べる必要がある。化学物質がヒトの身体のなかに入ったときには解毒代謝を受けて無効になる場合もあるので、Ames テストによる変異原物質のヒトの健康におよぼす影響を評価するためには、哺乳動物細胞または哺乳動物を用いた短期試験法で調べる必要がある。

Ames 法で検出された変異原物質の総てが長期動物試験でがん原性が証明されるとは限らない。ケルセチンのように Ames テストをはじめ数多くの *in vitro* 変異原性試験で陽性であった物質が、長期動物試験ではアメリカでの1例の報告を除き日本で実施された多くの発がんテストで陰性の結果を示している。マウスの小核試験でも1例の陽性報告以外は総て陰性の結果が報告されている。*in vitro* の試験法で変異原性を示した物質について、第二次スクリーニングを行う適切な *in vivo* 短期試験法の確立が重要である。

またAmes法で変異原物質として検出された化学物質が、そのあと長期動物試験でがん原性が証明された例も増えている。AF-2をはじめ衣類の防炎剤として利用されていたTRIS〔tris(2,3-dibromopropyl)phosphate〕や染毛剤の成分として用いられていた2,4-ジアミノアニソールやm-フェニレンジアミンの例が増えている。アミノ酸の加熱分解物のトリプトP-1、トリプトP-2、グル-P-1、グル-P-2などの場合もそうである。

例外が存在するが変異原活性の強い物質は、がん原性活性も強い確率が高いので、Amesテストで強い変異原性を示した物質は、要注意物質としてさらにくわしく調べる必要がある。変異原活性が弱い物質でもヒトへの曝露の量および機会の多い物質もさらにくわしく調べる必要がある。ヒトへの影響を評価するうえでも、また長期動物試験を実施する物質を決めるうえでも、哺乳動物を用いた潜在的がん原物質のin vivo短期検索法の確立が必要である。動物を用いたDNA傷害の修復を調べる方法—動物にテスト物質を投与しておいたのち臓器や肝細胞を取り出してin vitroでDNA損傷の修復を調べるin vitro/in vitro UDS試験法や小核試験法などが検討されている。

新しいテスト菌株として、変異原物質の反応部位としてDNAのCの繰り返しを持ったTA 97 (Levinら、1982a)や、A-T塩基対を持ったTA 102, TA 104 (Levinら、1982b)が開発され、従来のテスト菌株では陰性であった物質のいくつかが陽性の結果を示すようになった。プレオマイシンはその一例でTA 102に陽性である。TA 102は酸化的変異原物質の検出に、TA 104はアルデヒド類の検出に有効である。従来のテスト菌株で陰性であった物質についても新しいテスト菌株で調べなおす必要がある。マイトイシンCのようにDNA鎖間に架橋を作るbifunctionalな物質には、紫外線損傷修復能uvrBが欠損していないテスト菌株TA 92, TA 94が用いられていたが、uvrB⁺のTA 102はより鋭敏な感受性をマイトイシンCに示している。

3. 操作方法の問題点

Amesらによって1975年に報告された試験方法(Amesら、1975)の改訂(MaronとAmes、1983)が報告されているので参考にする必要がある。

テストの結果を再現性よく一定に保つためにはテスト菌株の感受性を常にモニターしておく必要がある。そのためには定期的なテスト菌株の特性のチェックも必要であるが、溶媒対照値と陽性対照値のそれぞれの研究室の歴史的な平均値とふれを調べておく必要がある。とくにプラスミドを持ったテスト菌株ではプラスミドが脱落していくと感受性が低下するので注意が必要である。溶媒対照値が低い値を示し、陽性対照値も低い値を示すので気がつくことが多い。また逆に溶媒対照値が高くなることもあるが、溶媒対照値が高いと結果の判定に影響してくるので問題である。テストを実施したときに溶媒対照値、陽性対照値とともに異常の場合には、再テストを実施してチェックする必要がある。そして良い菌株を新しく選びなおす必要がある。

テストの感受性は前培養液中のテスト菌株の状態と生菌数に左右されるので、前培養の条件を一定にして常に静止期初期のテスト菌株を用い、プレート当り1~2×10⁸の菌を用いるようにする必要がある。溶媒対照値はプレート当り10⁶~10⁸の菌をまいても常に一定の値を示す。フレートには一定量のヒスチジン(100 μmoles)が添加されているので、プレートにまいた菌数が異っていても、この一定量のヒスチジンを利用して分裂し、最終的にはプレート当りの菌数が同じになるので自然復帰変異菌数は一定になる。したがって溶媒対照値からは前培養液中の生菌数を推定することはできない。毎回前培養液中の生菌数をチェックすれば良いが、それではAmes法の簡便性が失われるので、つねに一定の条件を保って最高の状態のテスト菌株を用いるようにすることが重要である。テスト終了後溶媒対照のプレートのbackground lawnの状態を実体顕微鏡でチェックして実施したテストの適格性を判定することが重要である。ま

たテスト物質によって毒性が発現していないことも、実体顕微鏡を用いてbackground lawnの状態を調べてチェックすることが重要である。

で求めると毒性があればなんでも—蒸留水でも—変異原性があることになる。

4. おわりに

予備実験で試験する物質の毒性発現の濃度を調べ、本実験のテスト濃度段階を適切に選定する必要がある。毒性が低濃度で発現する物質では、突然変異は毒性が発現する濃度に近いところで発現することが多いので、毒性発現濃度に近いところでテスト物質の濃度間隙を細くとって試験を行い、復帰突然変異菌数の増加の傾向の有無を調べることが重要である。毒性が発現すると復帰突然変異の誘発が見掛け上打ち消されてしまう。Ames法は簡便性に特色があり、毒性が発現していないくてプレート上の菌数は一定であるという前提に立ってテストの結果を判定している。毒性が発現している場合にはその濃度ではテストを実施したことにはならない。したがって抗菌物質のように毒性が低濃度で発現する物質では、もしも毒性のために復帰突然変異が見掛け上打ち消されているのであれば、変異原性は非常に強いものになるので重大な問題である。Ames法は簡便にプレート上で突然変異を調べるところに特色があるが、この簡便性のために限界が存在する。殺菌力の強い物質については、テスト菌株とテスト物質を一定時間保温した後、遠沈によってテスト物質を除去して菌株を集め、再懸濁して、復帰変異菌数と生存菌数を別個に求めて突然変異誘発率を求める方法で安全性を確認する必要がある。先に述べたように自然復帰変異菌数はプレートにまいた菌数が毒性のために10⁸から10⁶程度まで減少していく一定であるので、GreenとMuriel(1976)が報告している式で突然変異誘発率を求めることが重要である。

$$\text{突然変異誘発率} = \frac{\text{処理群の復帰変異菌数} - \text{溶媒対照群の復帰変異菌数}}{\text{溶媒対照群の生存菌数}}$$

で突然変異誘発率(10⁸生存菌数当り)を求める。

間違った計算式

$$\frac{\text{処理群の復帰変異菌数}}{\text{処理群の生存菌数}} = \frac{\text{溶媒対照群の復帰変異菌数}}{\text{溶媒対照群の生存菌数}}$$

文献

- Ames, B.N. McCann, J., and Yamasaki, E.: Methods for detecting carcinogens and Mutagens with the *Salmonella*/mammalian-microsome mutagenicity test. Mutation. Res., 31: 347-364 (1975).
- Green, M.H.L., and Muriel, W.J.: Mutagen testing using Trp⁺ reversion in *Escherichia coli*. Mutation. Res., 38: 3-32 (1976).
- Levin, D.E., Yamasaki, E., and Ames, B.N.: A new *Salmonella* tester strain, TA 97, for the detection of frameshift mutagens. A run of cytosine as a mutational hot-spot. Mutation. Res., 94: 315-330 (1982a).
- Levin, D.E., Hollstein, M., Christman, M.F., Schwiers, E.A., and Ames, B.N.: A new *Salmonella* tester strain (TA102) with A-T base pairs at the site of mutation detects oxidative mutagens. Proc. Natl. Acad. Sci., 79: 7445-7449 (1982b).
- Maron, D.M. and Ames, B.N.: Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. Mutation. Res., 113: 173-215 (1983).

2. ヒト培養細胞での変異原性試験の特性

国立遺伝学研究所

黒田 行昭

1. はじめに

人間環境に存在する多くの自然産物や工業生産物の中に、すでにAmesの系で突然変異性の検出されたものが数千種にのぼっている。さらに毎年何万種もの新しい化学物質が生産され、われわれがそれらに接する機会も目に見えて増加している。今後つづきに検出される多くの変異原性物質に対して、われわれはどのように対処したらよいのであろうか。

Amesの系で得られた変異原性の試験結果は直ちにそのまま人間のがんや遺伝に対する影響の評価に使用できない場合がかなり多いことが最近しだいに明らかになってきた。ことにAmesの系では検出できない発がん物質や、逆にAmesの系で変異原性が検出されても発がん性が認められない物質が数多く見出され、さらに変異原性の強度に関しては多くの問題が浮上してきた。最近、WHOでもAmesの試験法を補完するための高等生物を用いた *in vitro* および *in vivo* の短期検索法の適用が検討されている。

ヒトを含む高等動物の培養細胞を使った短期変異原性検索法には、(1)染色体異常検出法、(2)突然変異検出法、(3)形質転換検出法、(4)DNA傷害修復および複製阻害検出法などがあり、これらはAmesの系とは異なった遺伝的変化を検出するという意味で、いずれもAmesの系を補完する重要な短期検索法である。ここでは主として(2)の中でもとくにヒトの培養細胞を使った突然変異検出系の特性について述べる。なお、これらの詳細については黒田(1983b; 1983c)を参照されたい。

2. ヒト培養細胞の特徴

ヒトを含む高等動物の培養細胞は、ある面では

微生物ときわめて類似した性質をもち、単細胞としての増殖、コロニー形成能を持ち、大量の細胞集団を使用して、定量性と再現性にすぐれた実験的取扱いが可能である上、他の面では、高等動物の細胞として核膜や細胞内諸器官の存在、染色体の多重構造など、原核生物の細胞とは異なった多くの特徴を持っている。

また、変異原物質の代謝、修飾、突然変異を生じたDNAの転写、翻訳の調節や、RNAのスプライシング、遺伝子の優劣関係、細胞相互作用なども高等動物特有の現象が存在する。したがって変異原物質が高等動物の体の中でどのように突然変異を起し、それが形質として発現するか、そのしくみをしらべるために多くの情報を提供する考えられる。

ヒト培養細胞の特徴としては

(1) 増殖様式と加令

ヒト胎児由来の正常細胞は、培養条件下で正常2倍体の核型を安定に保持し、その増殖様式は血液幹細胞や、皮膚上皮細胞、小腸上皮細胞などの細胞再生系の増殖様式と酷似する。すなわち、多くのがん細胞や株化した細胞が 2^n で指數函数的に増殖するのに対して、ヒト正常2倍体細胞では分裂の各段階で2個の娘細胞の中の2個ともに次の分裂を行なうものや、1個だけが分裂を行なうもの、2個ともに分裂を行なわないものがあり、長期間分裂しないで生存を続ける細胞も存在する(黒田・1982, 1983a)。

また、ヒト胎児由来の正常2倍体細胞は、培養条件下で約50回の細胞数倍加を重ねて死滅することが知られており(Hayflick and Moorhead, 1961)、個体老化の実験的モデルとして老化の機構やその制御の細胞・分子レベルでの研究に広く使用され

ている。

このようなヒトの培養細胞の特徴は、マウスやハムスターなどの哺乳動物の細胞と異なり、ヒトの正常細胞は培養条件下でも比較的生体内での増殖様式や加令の過程を忠実に行なっていることを示すものであろう。

(2) 変異原性試験に有利な特徴

ヒトの細胞のみでなく、一般に哺乳動物の培養細胞を用いた変異原性試験に共通していえることで、とくに *in vivo* での試験法などと比較してすぐれていると思われる点は、

a. 細胞が変異原物質に接触する際、変異原物質の濃度や時間を厳密に設定できる。すなわち、培養液に変異原物質を加えたり、除去することによって、容易に細胞と変異原物質との接触時間や濃度を自由に設定できる。しかしながら一方では、ガス状物質や水に溶けにくい物質などの試験は、困難な点である。

b. 細胞の分裂や増殖サイクル、その他細胞の動態と関連した突然変異生成のしくみなどの解析が可能である。DNA合成阻害剤の使用や、分裂中期の細胞採取法などによって、細胞サイクルの

同調した細胞集団を用いてこのような解析が可能になる。

c. DNA傷害の除去修復酵素を欠失した色素性乾皮症(Xeroderma pigmentosum)などの患者の細胞は、ある種の変異原物質、たとえば多環性炭化水素やN-アセトキシ-2-アセチルアミノフロレン、紫外線などに対して、正常細胞よりも2~3倍も突然変異の感受性が高く(Maherら、1976, 1977)、ある種の変異原物質を高感度に検出することができる。

d. ヒト由来の細胞の中には、変異原物質を活性化する酵素が含まれているものがある。ヒトの皮膚から分離した表皮の角化細胞は真皮細胞に比して、多環性炭化水素の代謝酵素が強く誘導され、同時に培養したチャイニーズ・ハムスターのV79細胞に高い頻度で突然変異を誘発させることができ(Kurokiら、1981)。

3. ヒト培養細胞での突然変異の特徴

(1) 変異原性の強度

ヒトの正常2倍体細胞を用いて、変異原物質の突然変異誘発作用をしらべる方法は図1に示した。



図1 ヒト培養細胞を用いた突然変異の検出法

表1 ヒト正常2倍体細胞における種々の変異原物質の8AG抵抗性突然変異誘発作用

| 変異原物質 | LD ₅₀ (μmole·hr./ml.) | 誘発突然変異率 | | 文献 |
|------------------|-------------------------------------|--------------------------------------------------------|-----------------------------------|----------------|
| | | LD ₅₀ での値 (×10 ⁻⁴ /μmole·hr.) | (×10 ⁻⁴ /μmole·hr/ml.) | |
| STC | 0.004 | 10.2 | 6375 | Kuroda (1979a) |
| AF-2 | 0.08 | 58.7 | 734 | Kuroda (1975a) |
| Phloxine | 0.07 | 24.3 | 347 | Kuroda (1975b) |
| Trp-P-1 | 0.06 | 10.0 | 167 | Kuroda (1979b) |
| Trp-P-2 | 0.02 | 2.8 | 140 | Kuroda (1981) |
| Glu-P-1 | 2 | 2.7 | 1.35 | Kuroda (1981) |
| EMS | 20 | 24.5 | 1.23 | Kuroda (1974) |
| Sodium bisulfite | 20 | 11.7 | 0.59 | Kuroda (1977) |
| Quercetin | 1.32 | 0.66 | 0.5 | Kuroda (未発表) |

STC: Sterigmatocystin, AF-2: Trans-2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide or furylfuramide, Phloxine: Disodium 9-(3',4',5',6'-tetrachloro-*o*-carboxyphenyl)-6-hydroxy-2,4,5,7-tetrabromo-3-isoxanthine, EMS: Ethyl methanesulfonate.

この方法の詳細な説明は黒田（1978、1979、1980）を参照されたい。著者がヒト胎児の肺由来の正常2倍体細胞を使用して、種々の変異原物質による8-Azaguanine（8AG）抵抗性突然変異の誘発作用をしらべた結果を表1に示した。

変異原物質による突然変異の誘発率は、その物質の濃度と処理時間によって変化する。表1には変異原物質を2~4時間処理して細胞の生存率を50%に低下させる物質の濃度（LD₅₀）における誘発突然変異率および、物質のμmole/ml当たり、1時間処理当りの誘発突然変異率を示している。物質によって、同じ生存率を与える濃度や、単位濃度・作用時間当りの誘発突然変異率にかなりの相違があることが、この表でもうかがわれる。

このようなヒト正常2倍体細胞における変異原物質による突然変異誘発作用は、他の哺乳動物の培養細胞と比較すると、たとえば、エチル・メタノサルフォネート（EMS）では μmole-hr/ml 当りでマウスのL5178Y細胞ではヒト細胞の約2倍（Cliveら、1979）、チャイニーズ・ハムスターV79細胞では、ヒト細胞の約1/2（Sugiuraら、1978）である。

サルモネラ菌に肝ミクロソームの代謝酵素を使ってAmes-派が300種の化学物質の変異原性をしらべ、その中の175種の発がん物質の中で18種（10%）は変異原性が検出されなかった（McCannら、1975；McCannとAmes, 1976）。また、Simon(1979)が同じくサルモネラ菌の代謝活性化系を用いて、101種の化学物質の変異原性をしらべ、その中の69種の発がん物質の中で25種（36%）は変異原性が検出されていない。RinkusとLegator(1979)も同様に271種の発がん物質または発がん性の疑わしい物質をしらべ、その中の61種（23%）には変異原性が検出されなかった。

このようにサルモネラの系では、発がん性のかなり明らかな物質や発がん性の疑わしい物質で変異原性の検出されないものがある。これはサルモネラの系自体が塩基置換や塩基移動を検出する系であるため、DNAの欠損や欠失を起す物質（たとえばDDTやプロカーバジンなど）や、肝ミクロソームによって活性化されない物質（四塩化炭素やジエルドリンなど）、プロモーター作用

のある物質（フェノバービタルなど）は、サルモネラの系では変異原性が検出されない。これらの物質の多くは、哺乳動物の培養細胞の系では変異原性が検出されている。

ヒト正常2倍体細胞および、チャイニーズ・ハムスターV79細胞の8AG抵抗性を指標に、アミノ酸加熱分解物であるトリプトP-1やトリプトP-2の突然変異誘発作用をAF-2やEMSと比較し、さらにサルモネラを用いたAmesの系での結果（長尾、1978）と対比したものを図2に示した。

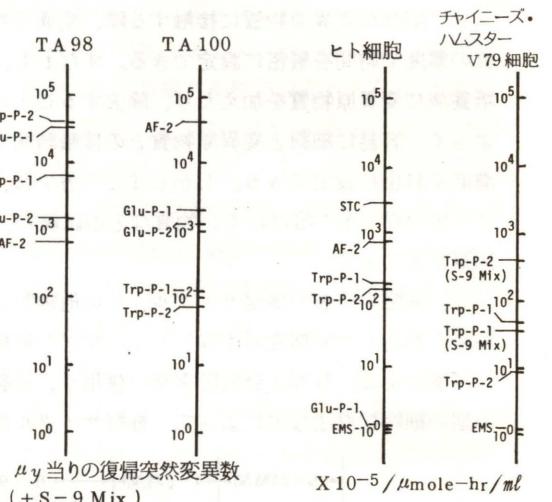


図2 哺乳動物培養細胞とサルモネラの系におけるトリプトファン加熱分解物の変異原性の比較

Cliveら(1979)は、マウスのL5178Y細胞のチミジン・キナーゼ（TK）を指標に、実験動物に発がん性のはっきり認められる25種の化学物質について、その発がん作用と突然変異誘発作用の強さを比較したところ、両作用には強い量的相関があり、1 μmole/ml の濃度で1時間処理した時の突然変異の頻度が、そのまま体重1kg当たり1 μmoleで動物に投与した時の発がん動物の出現頻度に対応することを示している。化学物質の種類によってその変異原性が微生物と哺乳動物の培養細胞とで著しく異なるものがある。その相違の生ずる原因やその物質の発がん性との関連の究明は重要な課題である。

(2) 変異原性の濃度効果

環境中に存在する変異原物質は、飲食物や化粧

品など相当長期間にわたって人間がそれに接するものがある一方、医薬品や農薬などごく限られた時間だけ接触するに過ぎないものがある。したがって、変異原物質の強度を問題にする際には、その物質の濃度と接触時間が重要である。

変異原物質について、このような濃度と作用時間の影響をしらべるのに、処理時間を厳密に設定できる培養細胞の系は、実験動物などのin vivoの系に比してはるかに有利である。ヒト正常2倍体細胞を用いて、トリプトP-1の濃度と処理時間を種々変えて、誘発された8AG抵抗性突然変異の頻度をしらべた結果を図3に示した。

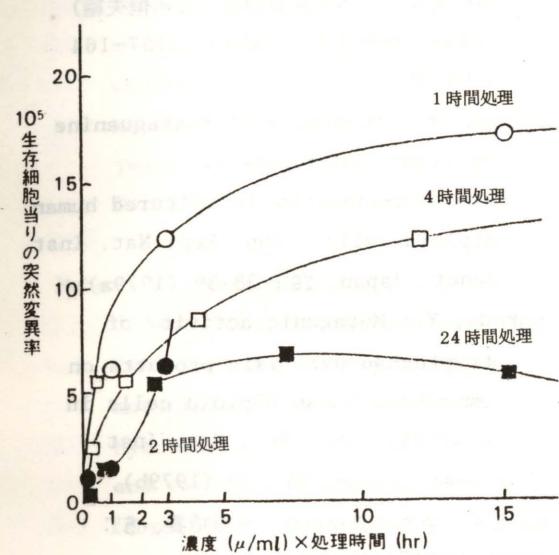


図3 ヒト正常2倍体細胞の8AG抵抗性突然変異誘発に対するトリプトP-1の濃度と処理時間の関係

この図から分るように、トリプトP-1の濃度と処理時間の積をトリプトP-1の作用量として、同じ作用量によって生じた突然変異誘発率を異なる処理時間の場合で比較すると、2時間処理の場合を除いて、高い濃度で短時間処理した方が、低い濃度で長時間処理するよりも突然変異誘発率は高い。このことは、ヒト培養細胞における変異原物質による突然変異の誘発には、放射線でみられるような線量率効果（dose-rate effect）に対応する濃度効果が明らかに存在することを示した。トリプトP-1は、38°Cのこの培養条件では比較的安定であると考えられるので、ここで示

されたトリプトP-1の濃度効果は、放射線の場合のようなDNA損傷の修復の可能性を示唆している。

(3) 細胞の個人差と組織差

変異原による突然変異誘発頻度は、また、使用する細胞の個人差や組織差によって大きな相違がある。とくにベンツ(a)ピレンや、ベンツ(a)アントラセンのような代謝活性化を必要とする発がん物質の場合にこの差異は著しい。これは細胞に含まれる代謝酵素の強弱によるもので、たとえば1才から24才までの正常人の皮膚から分離した表皮の角化細胞および真皮細胞で、ベンツ(a)アントラセンにより誘導されるアリル炭化水素水酸化酵素の活性は、各個人によって30倍以上も差異がある（Kurokiら、1981）。

皮膚以外でも、末梢リンパ球や単球、肝臓、気管支などの細胞で、このような酵素活性に個人差があることが報告されている。発がん物質によるがんの発生の個人差や組織特異性があるのは、その要因の1つとして、このような代謝活性化酵素の差異が挙げられよう。

また、生体の各臓器や組織では、細胞の分裂や増殖の速度、様式にも大きな差異がある。ヒトの新生児の包皮由来の細胞を同調培養して細胞の分裂サイクルを揃え、この細胞のG₁期、S期、G₂期にメチルメタンサルフォネート（MMS）やN-アセトキシ-2-アセチルアミノフロレン（NA-AAF）、N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロングアニジン（MNNG）などの変異原物質を作用させて突然変異誘発率を比較すると、S期の細胞にのみ高率に突然変異が誘発され、G₁期やG₂期の細胞では、突然変異はほとんど誘発されなかった（Huangら、1981）。

4. おわりに

以上、ヒト培養細胞の特徴と、これを用いた変異原物質による突然変異の特徴について述べた。最初にも触れたように、ヒトの培養細胞は、微生物と比較してその構造や機能に大きな差異が存在すると同時に、変異原物質に対する反応性についてもかなりの相違が見出される。

変異原物質の人間に対する影響を知る上で、ま

これらの変異原物質のヒト細胞に対する影響をしらべ、とくにヒトの遺伝子に対する突然変異誘発作用やそのしくみをしらべることが重要なことと考えられる。また、発がんに関しては、イニシエーションのほかに、プロモーションなどいくつかの生物学的に異なる過程が存在することが知られているので、ヒトを含む培養細胞を用いた悪性形質転換の系や、DNA傷害修復検出系などを使用して、各変異原物質について、その作用のしくみを究明していくことが必要である。

文 献

- Clive, D., Johnson, K. O., Spector, J. F. S., Batson, A. G. and Brown, M. M. M.: Validation and characterization of the L5178Y /TK^{+/}- mouse lymphoma mutagen assay system. *Mutation Res.*, **59**: 61-108 (1979).
- Hayflick, L. and Moorhead, P. S.: The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res.*, **25**: 585-621 (1961).
- Huang, S. L., Huang, S. S., Casperson, C. and Waters, M. D.: Induction of 6-thioguanine resistance in synchronized human fibroblast cells treated with methyl methanesulfonate, N-acetoxy-2-acetyl-aminofluorene and N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Mutation Res.*, **83**: 251-260 (1981).
- Kuroda, Y.: Mutagenesis in cultured human diploid cells. II. Chemical induction of 8-azaguanine-resistant mutations. *Japan. J. Genet.*, **49**: 389-398 (1974).
- Kuroda, Y.: Mutagenesis in cultured human diploid cells. III. Induction of 8-azaguanine-resistant mutations by furylfuramide. *Mutation Res.*,
- 30**: 229-238 (1975a).
- Kuroda, Y.: Mutagenesis in cultured human diploid cells. IV. Induction of 8-azaguanine resistant mutations by phloxine, a mutagenic red dye. *Mutation Res.*, **30**: 239-248 (1975b).
- Kuroda, Y.: Induction of 8-azaguanine-resistant mutations by sulfite in cultured embryonic human diploid cells. *Ann. Rep. Nat. Inst. Genet. Japan*, **27**: 39-40 (1977).

- 黒田行昭：培養細胞による遺伝子突然変異実験。遺伝毒性・突然変異実験法（賀田恒夫編）。日本衛生技術研究会（東京），157-164 (1978).
- Kuroda, Y.: Induction of 8-azaguanine resistant mutations by sterigmatocystin in cultured human diploid cells. *Ann. Rep. Nat. Inst. Genet. Japan*, **29**: 38-39 (1979a).
- Kuroda, Y.: Mutagenic activity of tryptophan pyrolysis products on embryonic human diploid cells in culture. *Ann. Rep. Nat. Inst. Genet. Japan*, **29**: 39 (1979b).
- 黒田行昭：突然変異検出法。組織培養、**5**：137-147 (1979).
- 黒田行昭：遺伝子突然変異。環境変異原実験法（田島弥太郎他編）。講談社サイエンティフィク（東京），153-167 (1980).
- Kuroda, Y.: Mutagenic activity of Trp-P-2 and Glu-P-1 on embryonic human diploid cells in culture. *Ann. Rep. Nat. Inst. Genet. Japan*, **31**: 45-46 (1981).
- 黒田行昭：ヒト2倍体細胞のクローニングと増殖因子。基礎老化研究、**6**：70-71 (1982).
- 黒田行昭：ヒト正常2倍体細胞のクローニングにおける増殖因子の作用。組織培養研究、**2**：61-62 (1983a).
- 黒田行昭：環境変異原によるヒト細胞の突然変異。環境と人体Ⅱ、環境変異原（中馬一郎他編）

- 東京大学出版会（東京）、87-104 (1983b).
- 黒田行昭：環境変異原物質の強度の比較とその評価。環境情報科学、**12**：39-49 (1983c).
- Kuroki, T., Hosumi, J. and Nemoto, N.: Variation in metabolism of benzo(a)pyrene in epidermal keratinocytes and dermal fibroblasts of human and mice. *Gann Monograph on Cancer Res.*, **27**: 59-71 (1981).
- Maher, V., Curren, R. D., Quellette, L. M. and McCormick, J. J.: Role of DNA repair in the cytotoxic and mutagenic action of physical and chemical carcinogens. *In Vitro Metabolic Activity in Mutagen Testing* (de Serres et al., eds.), North-Holland, Amsterdam, 313-336 (1976).
- Maher, V., McCormick, J. J., Grover, P. L. and Sims, P.: Effect of DNA repair on the cytotoxicity and mutagenicity of polycyclic hydrocarbon derivatives in normal and xeroderma pigmentosum human fibroblasts. *Mutation Res.*, **43**: 117-138 (1977).
- McCann, J. and Ames, B. N.: Detection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella*/microsome test: Assay of 300 chemicals: Discussion. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **73**: 950-954 (1976).
- McCann, J., Choi, E., Yamasaki, E. and Ames, B. N.: Detection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella*/microsome test: Assay of 300 chemicals. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **72**: 5135-5139 (1975).
- 長尾美奈子：突然変異原物質と癌原物質。がん、その分子生物学、細胞生物学からその医科学、環境科学まで（山村雄一・杉村隆編）、共立出版（東京）、29-41 (1978).

- Rinkus, S. J. and Legator, M. S.: Chemical characterization of 465 known or suspected carcinogens and their correlation with mutagenic activity in *Salmonella typhimurium* system. *Cancer Res.*, **39**: 3289-3318 (1978).
- Simon, V. F.: *In Vitro* mutagenicity assays of chemical carcinogens and related compounds with *Salmonella typhimurium*. *J. Nat. Cancer Inst.*, **62**: 893-899 (1979).

- Sugiura, K., Goto, M. and Kuroda, Y.: Dose-rate effects of ethyl methanesulfonate on survival and mutation induction in cultured Chinese hamster cells. *Mutation Res.*, **51**: 99-108 (1978).

3. 昆虫を用いた環境化学物質の変異性テストの特色

国立遺伝学研究所

村上 昭雄

1. はじめに

昆虫は一世代に要する時間は微生物のそれには及ばないまでも、マウスなどの哺乳類に比較してかなり短かい。また飼育が簡単であること、実験生物として取り扱い易い大きさであること、さらに均一な材料を容易に収集できることなどの数々の利点をもっている。また昆虫はヒトと同じ真核（染色体）生物に属し、遺伝子DNAを梱包（packing）する塩基性タンパク質からなる担体—染色体を生命現象の基本単位とすることから、遺伝子（DNA）と染色体の両レベルに起因する幅広いスペクトラムの遺伝事象を観察できる。このような生物学的特性を踏まえてショウジョウバエ、カイコ、コマユバチなどの遺伝学的研究は長足の進歩を遂げ、一般遺伝学に大きく寄与してきた。

高等生物は繁殖は一般に両性生殖による。この配偶子形成は体細胞の分裂増殖にはみられない複雑な減数分裂過程を経る。この分裂増殖の過程における雌雄の生殖細胞は染色体（DNA）の構造だけでなく生理・生化学的状態も変動する。この両性の配偶子形成過程における突然変異誘発の質的並びに量的变化を適確に分析し、環境化学物質などによって誘発される世代から世代へと伝達される各種の遺伝的障害の危険性の事前評価は、環境変異原研究の重要な研究課題の1つである。この点、昆虫の配偶子形成過程はヒトのそれと本質的に差異がなく、各種の突然変異事象を *in vivo* で個体（生殖細胞あるいは体細胞）レベルにおいて正確にしかも高感度で定量的に検出可能な実験系が多数考案されている。そしてこの系が放射線、化学物質あるいは自然によって誘発される遺伝的障害の個体・集団両レベルに及ぼす影響、ことに安全性の評価の方法論の開発に必要な理論・実験の両分野のパイオニアとしての位置にあることはここに改めて記すまでもなく、哺乳類の研究に先

行して基礎的な情報を提供できる生物種である。上述したように、昆虫はその生物学上の位置、実験生物としての種々の特徴・利点などをもち、環境変異原物質の検出系として使用されている。また、同時に変異原性物質の遺伝的危険性などの事前評価に必要な諸種の要因—閾値の有無とその大小、細胞周期と感受性の程度、変異原性の強弱を左右する代謝活性化能、被曝経路、障害の修復能、量的形質への影響の程度の計測のモデル実験が可能である。以下、紙面の許される限りこれらの諸問題について記述してみる。

2. 昆虫の生殖細胞を用いた化学物質の突然変異性の研究

環境変異原研究の究極的な対象がヒトであることは自明のことである。なかでも生殖細胞に及ぼす化学物質の遺伝的影響を事前に評価することは重要な研究課題の1つである。両性生殖を行う昆虫の雌雄両配偶子形成過程（機構）はヒトにおけるそれと基本的に同一でモデル系として古くから利用されている。

ところで、生物には種独特の生物現象があり、実験に多少の制約、困難さが伴う。たとえばショウジョウバエにおける突然変異研究はブルード・パターン法という便利な交配法によって、雄性の配偶子形成段階—精原細胞から成熟精子—にわたる伴性劣性致死突然変異を指標とした突然変異感受性の詳細な分析が可能である。（たとえば Loveless, 1966; Vogel と Sobels, 1976）。しかし、雌性ではブルード・パターン法では適用できないと同時に雌・雄の遺伝的特性から実験が困難で、必ずしも充分なデータはみられない。雄性生殖細胞において減数分裂を終了した精細胞(spermatid)は多くの化学物質に対して最も高い感受性を示し、ついで分裂直前の精母細胞(spermatocytes)そして、精原細胞(spermatogonia)の感受性が最も

低いことが明らかにされている（図1: Vogel と Sobels, 1976）。この傾向は他の生物種においてもほぼ同様で、カイコもその例外ではない。

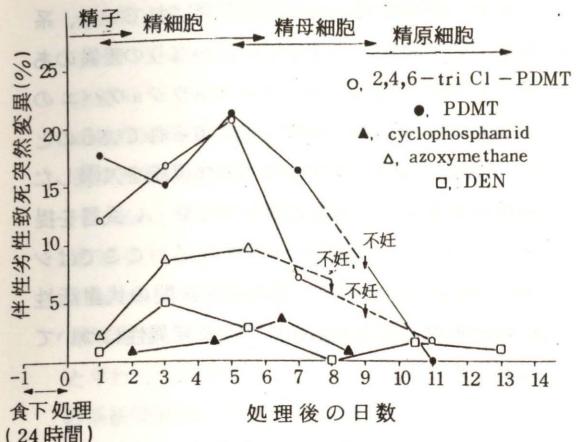


図1 ショウジョウバエ雄の生殖細胞の発育過程と間接変異原化合物誘発突然変異感受性
(Vogel と Sobels, 1976)
矢印(-----)は被処理雄が一時的に不妊になった時期をさす。

雌雄生殖細胞における化学変異原物質の作用の様相についての情報はショウジョウバエだけでなく、どの生物においても非常に限られている。その点、カイコは両性の配偶子についてほど同程度に分析が可能な生物種である。雌の生殖細胞の感受性は雄のそれと基本的に差異はないが、分裂前の卵母細胞もかなりの感受性を示し、一方卵原細胞の感受性は精原細胞と同じように化学変異原物質に対して一般に低い。これらの例からも明らかなようにそれぞれの実験昆虫の生物学的特徴を生かし、それら得られた情報を相互に補完することによって問題となる化学変異原物質の配偶子形成過程における作用特性を一応知ることができる。しかも、哺乳動物における雌性生殖細胞に関する遺伝子レベルの突然変異データが2,3の化学物質に止どまっていることなどを考慮すると、この情報の欠陥を補う上において昆虫の実験データ（たとえば表1）は環境化学物質の遺伝毒性の事前評価に関して重要な位置を占めるものと考えられる。

表1 カイコとマウスを用いた特定座位法による化学変異原物質の検出結果の比較(村上, 1983)

| 化 合 物 | 後期精原細胞 | | 精 原 細 胞 | | 卵 母 細 胞 | |
|------------------------------|--------|-----|---------|-----|---------|-----|
| | カイコ | マウス | カイコ | マウス | カイコ | マウス |
| Busulfan | + | - | NT | - | + | NT |
| Caffeine | - | NT | NT | - | - | - |
| Cyclophosphamide | + | + | NT | NT | + | NT |
| Diethylnitrosamine | - | NT | NT | - | + | NT |
| Ethyl methane-sulphonate | + | + | NT | + | + | NT |
| Ethylnitrosourea | + | NT | ± | + | + | NT |
| Hycanthone | NT | - | NT | - | NT | NT |
| iso-propyl methanesulphonate | + | - | NT | - | + | NT |
| Mitomycin C | + | - | + | + | + | - |
| Methyl methane-sulphonate | + | + | NT | - | - | NT |
| Procarbazine | - | + | NT | + | - | NT |
| Triethlenemelamine | +** | + | NT | +** | + | NT |

NT 未検定

* Russell, L.B. ら, (1981) ** Machida, I. (1975)

上記の表中に見られるカフェイン以外の化合物はショウジョウバエの雄生殖細胞(精母細胞・精細胞・精子)において伴性劣性致死突然変異を誘発する。

3. 昆虫における代謝活性能と修復能

昆虫の生物学的特色は環境変異原研究の実験系として数々の利点となるがその反面、食性や生理代謝機構は哺乳類のそれと多少の相違がみられ、電離放射線にはみられない化学物質による変異原研究にのみ見られる問題に直面することになった。

種々の環境化学物質の中には細胞内の遺伝物質と直接作用し、遺伝的障害を誘発する化合物よりもむしろ生体内の解毒過程で活性化させてその変異原（生物活性）を始めて現わす化合物の方が多数存在することが知られるようになった。したがって検出生物系における間接変異原物質を活性化する酵素系の有無は、その検出系の良否を左右する重要な要因となる。また、変異原因子によって誘起された遺伝物質（染色体DNA）上の障害は細胞内の修復能の有無（あるいは強弱）によって大きく左右されることが微生物・培養細胞を用いた研究で明らかにされ、突然変異誘発機構解明の手がかりとなるのみならず検出系の感度の改良などに大いに利用されている。

上記のような化学変異原研究の新たな展開に対応する1つの試みとして *in vitro* で哺乳類の代謝系（肝S-9 Mix）を昆虫の生殖細胞系に導入する方法も考案され、従来変異原活性の検出が不可能であった炭化水素化合物などの突然変異性の

有・無をテストすることも可能になり明るい見通しが開けてきた (Sakamotoら, 1977; Murakamiら, 1979, 村上・1981)。ところがショウジョウバエやカイコには多種多様の野生型、あるいは生理形質の突然変異系統が保存開発されていて、系統間で化学物質に対する反応にかなりの差異があることが知られている。またショウジョウバエの突然変異系統の中には微生物で知られているのとほど同様のDNA障害に対する修復能を欠陥した系統が見出され、突然変異研究に新しい武器を提供していることは周知の事実である。ここではショウジョウバエにおける野生型系統間の代謝活性能の差異と修復欠陥系統の突然変異性についてふれてみたい。

(1) 代謝活性能と突然変異性

われわれはカイコを用いた放射線（たとえば、TajimaとMurakami, 1969）あるいは化学変異原物質ジエチルサルフェート（村上・未発表）による突然変異実験で、処理系統によって突然変異感受性が異なることを度々経験している。ショウジョウバエにおいても同じような現象が古くから観察されていて、通常実験に用いられる野生型のCanton-SまたはOregon-Rよりも放射線誘発突然変異感受性が高い (DemerecとKaufman, 1937)。

表2 ショウジョウバエにおける52種類の前がん原性物質の突然変異反応 (Vogel, 1976)

| 化学物質の種類 | 実験した化学物質の数 | 伴性劣性致死突然変異誘発能 |
|-----------------------------------------------|------------|---------------|
| Triazenes | 15 | + |
| Nitrosamines | 4 | + |
| Hydrazo-, azoxyalkanes | 3 | + |
| Oxazaphosphorines | 3 | + |
| DDT, DDA | 2 | + |
| HEMPA | 1 | + |
| Aflatoxin B ₁ | 1 | + |
| Pyrrolizidine alkaloids | 12 | + |
| Vinyl chloride | 1 | + |
| Aromatic amines, + polycyclic hydrocarbons | 10 | - |

表2に見られるようにショウジョウバエ（雄生殖細胞）は種々の前変異原物質の変異原性を検出することができるが、7, 12-ジメチルベンツアントラセン (DMBA) などの一連の炭化水素化合物の変異原性は検出できなかった (Auerbach, 1940; FahmyとFahmy, 1970)。ところが最近上述のショウジョウバエの1野生系統Canton-Sの雄生殖細胞において食下法によって伴性劣性致死突然変異が顕著に誘発されることが報告された (Forbes, 1980)。同時に用いた野生型のOregon-Rの感受性は対照をわずかに上まわる程度で、Canton-SはOregon-Rに比較し10倍程度高い突然変異感受性があり、X線による突然変異感受性と平行した現象であることが明らかになった。この系統間差異は代謝活性能の差異によるものと考えられるが、他の要因（修復能などの差異）についても考慮する必要がある。このDMBAの例でも明らかなように検出に用いる系統を選択することによって自然の生理条件下で間接変異原物質の検出が可能であることが示唆された。

なお、ここで興味のあることは従来陰性の結果であった実験は注射法によって処理されていたのに対し、陽性の結果は食下法によって処理されていて、投与法の違いがみられることがある。この投与法の相違は前変異原物質の変異原性の有無に重要な要因となることが考察されるので、同一系統を用いて両方法による変異原性の比較・検討を行うことは、投与経路と変異原性との関連を明らかにする上で重要な研究課題である。

なお、カイコのアセチルアミノフロレンに対する代謝活性能は系統間で顕著な差異がみられることが付記する (MurakamiとGoto, 1980)。

(2) 修復能と突然変異感受性

変異原因子によって遺伝物質（染色体DNA）に誘起された障害を修飾する細胞内の修復能の有無（あるいは強弱）も突然変異感受性を左右する重要な要因の1つである。この領域の微生物を用いた研究の進展に刺激され、昆虫とくにショウジョウバエにおいて複製後修復欠陥系統（post-replication repair deficient）あるいは除去修復欠陥（excision repair deficient）

系統が発見され、分子生物学的観点からの高等生物における突然変異誘発機構の解析が期待されるにいたった。

Grafら (1979) はショウジョウバエの各種の修復欠陥系統を用いて伴性劣性致死突然変異を指標に、電離放射線、化学物質 (EMS、ナイトロジェンマスターなど) に対する雄生殖細胞の感受性の強弱を精力的に研究している。それらの結果の一部を記してみると以下のようになる。これらの修復欠陥系統の中でX線に対して5系統 (*mus-101D₁*, *mei-41D₅*, *mus-104D₁*, *mei-9^b*, *mus-102D₁*) の感受性をしらべたところ、*mei-41D₅* と *mus-101D₁*, *mei-9^b* の3系統が対象の *w* (white) より統計的に有意に突然変異が増加した。EMSに対しては4欠陥系統 (*mus-101D₁*, *mei-41D₅*, *mus-104D₁*, *mei-9L₁*) についてしらべ *mus-101D₁* と *mei-41D₅* は対称より低下し、他方 *mei-9L₁* は顕著に増加した。ナイトロジェンマスターに対して *mus-101D₁* が顕著に低下したのみであった。これらの結果について説明はいろいろできるが、修復欠陥と突然変異生成との間に統一的見解を出すまでにはいたっていないのが現状で、今後の研究が待たれる（例えば、Sankaranarayanan, 1982）。

最近、上記の修復欠陥系統を用いて体細胞中のDNAに傷を生じた場合、その個体の死（性比のひずみ“修復テスト”）を指標にトリプ-P-1、トリプ-P-2、AF₂についての反応が調べられた (稻垣と藤川, 1983)。トリプ-P-1とAF₂は *mei-9^b* と *mei-41D₅* 系統において明瞭な性比のひずみを観察したが、トリプ-P-2は *mei-41D₅* にのみ性比のひずみがみられた。なお、対照区の *w* (white) と *y* (yellow) 系統では上記のいづれの変異原物質によても性比のひずみは認められず、これらの修復欠陥系統を用いた性比のひずみを指標とするこの方法によって、それぞれの化学物質の作用様式を簡単に分類することが可能であることが分った。さらに、この体細胞を用いた試験は、生殖細胞では陽性の突然変異反応が認められなかったトリプ-P-1、トリプ-P-2、AF₂の遺伝毒性を検索する系として有効であることが示された。

昆虫では放射線あるいは化学物質によって受けた精子の染色体障害などの程度が、雌系統（卵細胞質）によって差異がみられるが、これは卵細胞質の修復能の差異によるものと考えられている。しかもこの細胞質の働きはカフェインによって阻害されることが、ショウジョウバエ（Mendelson, 1974；Mendelson and Sobels, 1974）やカイコ（Murakami and Nishijima, 1977）で明らかにされている。この母性修復（maternal repair）能は系統によって顕著な差異がみられることから、突然変異実験の評価に際して、野生型だけでなく標識系統についても考慮する必要があることを示唆している。なお、マウスにおいても雄生殖細胞の感受性が雌の系統に左右されることが知られている（Generoso, 1979）。

4. 化学物質の被曝経路

われわれは、工業汚染、薬物、食品（添加物、残留農薬など）、化粧品、等々列挙すれば数限り

ない化学物質に取り囲まれている。これらの化学物質の大部分は経口的に、または呼吸（気）によって体内に取り込まれ、直接的に、あるいは消化器系などで代謝を受け、間接的に体細胞や生殖細胞の遺伝物質DNAと反応し、何らかの遺伝的障害を誘起する場合もあると考えられている。昆虫は哺乳動物と同様に種々の化合物を経口・呼吸あるいは皮膚などを通して体内に取り込み、それらを生体内で解毒（あるいは活性化）する能力をもち、ある変異原物質の被曝経路（投与条件）によって変異原性の強弱を比較することが可能（表3）で、このような物質の遺伝的危険性の評価に際して必要な係数の測定ができる。たとえばカイコを用いて間接変異原物質の一種であるマイトマイシンC（MC）の雄生殖（精母）細胞における注射法と経口投与法による突然変異性を比較してみると、両者の間には500～1000倍もの違いがみられ、投与法によって突然変異原性に顕著な差異が生じることが観察された（図2）。

表3 昆虫における化学変異原物質の投与（被曝の経路）法のいろいろ

| 投与法 | 昆虫の種類 | 変異原物質 | 文献 |
|---------------|-----------------------------------------|---------------------|-----------------------------------|
| i) ガス、アエロゾール法 | <i>Drosophila</i> <i>Habrobracon</i> | マスター・ガス | Carr (1947) von Borstel (1955) |
| ii) 注射法 | <i>Bombyx</i> <i>Drosophila</i> | 多数の化学物質 | 多数の報告者 |
| iii) 腔内注入法 | <i>Drosophila</i> | マスター・ガス ホルムアルデヒド | Herskowitz (1947) |
| iv) 経口投与（食下）法 | <i>Bombyx</i> <i>Drosophila</i> | MC・ENU | Murakami (1982) |
| v) 浸漬法 | <i>Bombyx</i> | ジエチルサルフェート | Murakami and Ozawa (1980) |

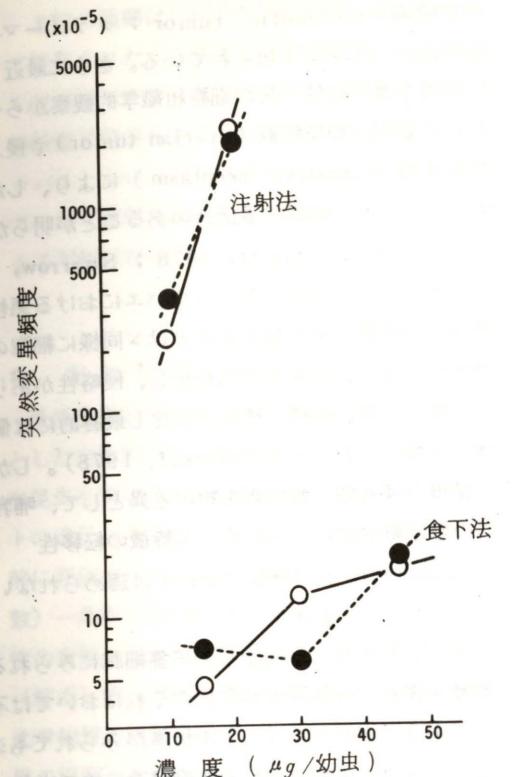


図2 カイコ4令幼虫期の精母細胞におけるMCの注射法と食下法による突然変異誘発能の比較。
食下法はMCを桑葉に塗布し食下させた。MCの食下量は桑の食下量から換算した。

ところで、最近、塩見とその協同研究者（塩見と久野、1980；大島と塩見、1982）はショウジョウバエ雄生殖細胞を対象に変異原性の非常に弱い二酸化窒素ガス（NO₂）とエチルウレア（EU）との相互作用の有無を遺伝子（伴性劣性致死）突然変異を指標に実験を行い、その結果かなり顕著な突然変異の現われることと同時に、生体内（in vivo）で強力な変異原性のあるエチルニトロソウレア（ENU）を検出し、両化合物の生体内での相互作用で、このような変異原性物質が生成されることを示した。この実験結果は複合汚染の効果を如実に示すだけでなく、ガス状物質と水溶性の化合物との相互作用による遺伝的危険性

を検索する上で昆虫の生殖細胞が実験モデル系として利用できることを示す。

ここで昆虫（カイコ）において独特な変異原の処理法—浸漬法について述べてみる。すでに記したように、雌性生殖細胞の変異原性化学物質による突然変異誘発感受性の実験結果は限られていて、ことに減数分裂期のそれは非常に少ない。減数分裂はどの生物においても一般に非常に短かく、実験材料としても取り扱いにくい。カイコでは雌の減数分裂期の細胞は同調した材料が収集しやすい特徴^{*}がある。この特徴を利用して減数分裂期の細胞を用いてジエチルサルフェート（DES）による突然変異誘発の浸漬法による分析例を紹介してみる。細胞分裂を一旦停止させ、また化学物質の変性を少くするために、産下後の時間を異にす

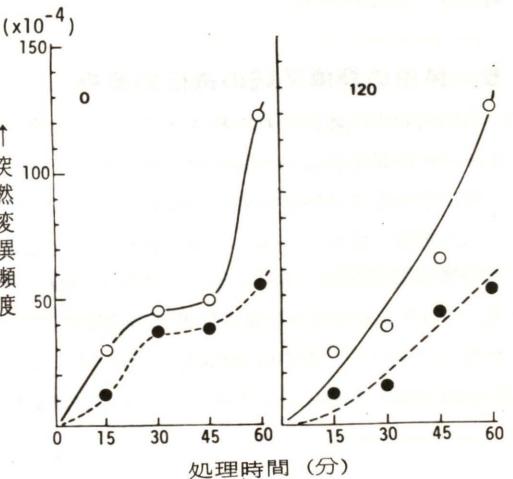


図3 カイコ卵母細胞の第1減数分裂終期（産下0分卵）と第2減数分裂終期（産下120分卵：多分卵前核期をも含む）における浸漬法によるDES誘発突然変異感受性の比較（村上、原図）

浸漬処理は野生型（C108♀×Aojukuru）雌と2重劣性の標識（pe:re）系統の雄を交配しその結果産下される個体（卵母細胞）を用いた。もし突然変異が誘起されれば産下後70時間前後の胚をつむし、膜細胞固有の着色が完了する時期に部分（モザイック）タイプの突然変異（卵）として検出される。

* カイコの雌生殖細胞の減数分裂は成虫の卵管の途中で第一分裂の中期に入り、産下直後に分裂を完了し、直ちに終期に入る。第二分裂は産下10～20分後に開始されるが、この分裂は非常に短かく約60～80分で完了し、産下110～120分には卵前核となり、それから約20～30分を経過して、精卵前核の合体にいたる。カイコの産下卵は低温5～10°Cの水溶液に浸漬してもどのような生物学的障害も誘起されない。

る卵を5°CのDESの飽和溶液中に所定の時間(15~60分)浸漬処理を行い第1分裂終期から第2分裂完了にいたる卵母細胞の突然変異反応を分析した。実験は進行中であるが第2減数分裂期の細胞の感受性は第1分裂期のそれと比較してほど同一かあるいは多少高いことが観察され(図3)雄の分裂期の生殖細胞にみられる感受性(絶対値には差異がある)の変動傾向とはほど一致する(村上、未発表)。

なお、同時に測定した精卵前核の感受性は大差なかった。これらの観察結果は、雌雄の生殖細胞のDES感受性は細胞学的に対応する雄の生殖細胞のそれと大略平行するであろうことを想像させる。もちろん、ここに得られた結論が一般的なものであるかどうかについては別の化合物を用いて確認する必要がある。

5. 昆虫の腫瘍系統の遺伝的解析

高等生物の組織はそれを構成する個々の細胞がそれぞれの組織個有の増殖過程を経て形成される。このような正常な増殖過程を逸脱した細胞(集団)ががん細胞(組織)である。哺乳類にみられる細胞の異常増殖現象は当然昆虫にも観察される。事実、ショウジョウバエなどの昆虫には“腫瘍細胞”が知られている。古くは Bridges(1916)によって記載されたキイロショウジョウバエにおける黒

色症腫瘍(melanotic tumor; メラノーマ、melaoma)がよく知られている。さらに最近では致死や雌不妊性系統の細胞組織学的観察からそれらの要因が卵巣腫瘍(ovarian tumor)や侵入性新生物(invasive neoplasm)により、しかもメラノーマと同様に遺伝性のあることが明らかになってきた(Gateff, 1978; Sparrow, 1978)。しかもショウジョウバエにおける悪性新生物の特徴は哺乳類のそれとはほど同様に細胞の増殖性が速く、自律的な成長をし、侵略性があり、新生物の形態、組織、機能が変化し最終的には個体を致死にいたらせる(Gateff, 1978)。しかし昆虫と哺乳類の悪性新生物の差異として、哺乳類の悪性新生物にみられる一大特徴の転移性(metastasis)は昆虫においては認められないとある。(表4)

なお、哺乳類の腫瘍由来の培養細胞にみられる増殖や運動の接触阻害が昆虫のそれにおいては不明である。上記した1, 2の相違がみられてもショウジョウバエにみられる腫瘍は遺伝的であり、それらが遺伝子突然変異か染色体の欠失によるかを第1から第3染色体にわたって詳細に分析されており、またこのハエの実験生物学上の数々の特徴からみて、腫瘍の発生機構を解明する上で有益なモデル生物であると思われる(Sparrow, 1978)。

表4 ショウジョウバエと脊椎動物における悪性新生物の比較(Gateff, 1978)

| 悪性新生物の性質 | 脊椎動物の悪性新生物 | ショウジョウバエの悪性新生物 |
|--------------------------------------|------------|----------------|
| 急速な自律的成長 (多数の有糸分裂像) | + | + |
| 宿主生物の致死 | + | + |
| 移植後の致死成長 | + | + |
| 侵入性 | + | + |
| 転移性 | + | - |
| 構造の消失 | + | + |
| 機能の消失 | + | + |
| <i>in vitro</i> 培養細胞における 接触性阻害の消失 | + | ? |
| + あり | | - なし |

上記の腫瘍はいづれも化学物質(EMS)によつて誘発されたか、あるいは自然発生した劣性致死・欠失突然変異(体)の中に検出されたもので剖検技術の簡便法が考案されるならば、ショウジョウバエにおける遺伝毒性物質の検出系としてだけではなく腫瘍誘発性物質の検出系としても利用できる可能性がある。

6. おわりに

環境変異原研究は変異原物質の検出などを主体とした定性的研究の時期から、ここに述べたような昆虫を用いた研究にもみられる変異原物質のヒトの遺伝(あるいは発がん)に及ぼす危険性を事前に評価するのに必要な数々の生物学的要因(変数)一危険な生殖細胞の時期や化学物質の変異原性の有無(強弱)に影響を与える生体の代謝活性(解毒)能、遺伝的障害の程度を左右する修復能、化学物質の被曝の経路、化学物質の相互の作用効果の程度一を解析する時期に入っている。さらに紙面の都合でここには述べることができなかつた薬量-効果関係、ことに低薬量域における定量的解析も事前評価に重要な研究課題である。

昆虫はその生物学上の位置や特徴、また放射線遺伝学において積み重ねられてきた実績をふまえて、環境化学物質の遺伝的危険性の事前評価の基礎的領域に寄与できる実験生物系と考えられる。

文 献

[下記の著書並びに文献は本論執筆全般にわたつて参考にした。]

Abrahamson, S., and Lewis, E.B.: The detection of mutations in *Drosophila melanogaster*. In: Chemical Mutagens, Principles and Methods for Their Detection. Vol. 1 (A. Hollaender, ed.), Plenum Press, New York, 461-488 (1971).

Auerbach, C.: Mutation. Oliver & Boyd, London (1962).

Auerbach, C.: Mutation Research, Problems, Results and Prospectives. Chapman and

Hall, London (1976)

Lee, W. R.: Chemical mutagenesis. In: The Genetics and Biology of *Drosophila* (Ashburner, M., and Novitski, E., eds.), Academic Press, London, Vol. 1c 1299-1341 (1976).

村上昭雄: 環境変異原の検出方法の進歩とその利用—昆虫について—公害と対策, 12:393-396 (1976).

村上昭雄: カイコ, 環境変異原実験法(田島弥太郎ほか編), 講談社サイエンティフィク, 122-134 (1980).

村上昭雄: 昆虫を用いた変異遺伝学(1)—放射線遺伝学および環境変異原研究のモデル生体系として—生態化学, 5:62-68 (1982).

Sankaranarayanan, K., and Vogel, E.: Mutation research with ionizing radiations and chemicals using *Drosophila*: Problems, results and perspective. In, Progress in Environmental Mutagenesis (Alacevic, M., ed.), Elsevier, Amsterdam, 59-90 (1980).

塩見敏男: ショウジョウバエ, 環境変異原実験法(田島弥太郎ほか編), 講談社サイエンティフィク, 112-122 (1980).

Sobels, F. H.: The advantages of *Drosophila* for mutation studies. Mutation Res., 26: 277-284 (1974).

Tazima, Y.: Mutagenicity testing of environmental chemicals. In: The Silkworm: an important laboratory tool (Tazima, Y., ed.), Kodansha, Tokyo, 247-268 (1978).

Tazima, Y.: Chemical mutagenesis in the silkworm. In: Chemical Mutagens, Principles and Methods for Their Detection. Vol. 6 (de Serres, F. J., and Hollander, A., eds.), Plenum Press, New York, 203-238 (1980).

Vogel, E., and Sobels, F. H.: The function of *Drosophila* in genetic toxicology testing. In: Chemical Mutagens,

- Principles and Methods for Their Detection, Vol. 4. (Hollander, A., ed.), Plenum Press, New York 93-142 (1976).
- Wurgler, E. H., Sobels, F. H., and Vogel, E.: *Drosophila* as an assay system for detecting genetic changes. In, Handbook of Mutagenicity Test Procedures (Kilbey, B. J., Legator, M., Nichols, W., and Ramei, C., eds.), Elsevier, Amsterdam, 335-373 (1977).
- (下記の著書の一部並びに文献は個々に引用した)
- Auerbach, C.: Tests of carcinogenic substance in relation to the production of mutations in *Drosophila melanogaster*. Proc. Royal Soc. (Edinburgh), Sect. B., **60**: 164-173 (1940).
- Bridges, C. B.: Nondisjunction and the chromosome theory. Genetics, **1**: 1-52 (1916).
- Carr, J. G.: Apparatus for mustard gas treatment. Science, **105**: 369 (1947).
- Demerec, M., and Kaufman, B. P.: The gene. Carnegie Inst. Washington Yearb., **36**: 44-51 (1937).
- Fahmy, O. G., and Fahmy, M. J.: Genetic detections at specific loci by polycyclic hydrocarbons in relation to carcinogenesis. Int. J. Cancer, **6**: 250-260 (1970).
- Forbes, C.: Sex-linked lethal mutations induced in *Drosophila melanogaster* by 7,12-Dimethylbenz(a)anthracene. Mutation Res., **79**: 231-237 (1980).
- Geteff, E.: Malignant and benign neoplasms of *Drosophila melanogaster*. In, The Genetics and Biology of the *Drosophila* (Ashburner, M., and Wright, T. R. F., eds.), Academic Press, London, Vol. 2b : 181-275 (1978).
- Generoso, W. M. et al.: Evidence in the mouse that genetic lesions induced by chemicals in spermatozoa and spermatids are repaired in the egg. Proc. Nat. Acad. Sci., **76**: 435-437 (1979).
- Graf, U., et al.: Mutagen sensitive mutants in *Drosophila melanogaster*. Mutation Res., **63**: 101-112 (1979).
- Herskowitz, I.: A new method of treating *Drosophila* gametes with chemicals. Evolution, **1**: 111-112.
- 稻垣栄一, 藤川和男: ショウジョウバエを用いる環境変異原の遺伝毒性検出, 「環境と人体」(中島一郎ほか編), 東京大学出版会, 123-136 (1983).
- Loveless, A.: Genetic and Allied Effects of Alkylating Agent. Butter Worths, London (1966).
- 町田 勇: カイコ卵母細胞の発育にともなう2・3のアルキル化剤の突然変異誘発効果の比較、日蚕雑, **44**: 301-306 (1975).
- Mendelson, D.: The effect of caffeine on repair systems in oocytes of *Drosophila melanogaster*. I. Mutation Res., **22**: 145-156 (1974).
- Mendelson, D., and Sobels, F. H.: The inhibiting effect of caffeine on the maternal repair of radiation-induced chromosome breaks in *Drosophila*. Mutation Res., **26**: 123-128 (1974).
- 村上昭雄: カイコを用いた環境変異原研究の現況—特に前変異原物質に関する研究—変異原と毒性, **4**: 58-72 (1981).
- 村上昭雄: カイコ生殖細胞を用いた環境変異原物質による遺伝的障害の解析, 「環境科学」研究報告集 B 124, R 20-5: 64-77 (1982).
- 村上昭雄: カイコによる環境変異原の検出, 「環境と人体」(中馬一郎ほか編), 東京大学出版会, 105-122 (1983).
- Murakami, A.: Difference in mutability by the different administration routes of chemical mutagens in the silkworm. Ann. Rep. Nat. Inst. Genet. Japan, **32**: 84-85 (1982).
- Murakami, A. and Nishijima, H.: Enhancing effect of caffeine on X-ray-induced dominant lethal mutations in silkworm sperm. Ann. Rep. Nat. Inst. Genet. Japan, **27**: 59-60 (1977).
- Murakami, A., et al.: Mutagenicity of Dimethylbenzanthracene in the silkworm germ-cells. Ann. Rep. Nat. Inst. Genet. Japan, **29**: 59-60 (1979).
- 大島加代子, 塩見敏男: ショウジョウバエにおける窒素酸化物の遺伝的影響V. 二酸化窒素とエチルウレアによる変異原形成の問題, 日本環境変異原学会第11回大会講演要旨集, 131 (1982).
- Sakamoto, K., Murota, T., and Murakami, A.: Drug metabolic activation in the silkworm. Ann. Rep. Nat. Inst. Genet. Japan, **27**: 57-58 (1977).
- Sankaranarayanan, K.: Genetic Effect of Ionizing Radiation in Multicellular Eukaryotes and the Assessment of Genetic Radiation Hazards in Man. Elsevier, Amsterdam (1982).
- 塩見敏雄, 久野加代子: ショウジョウバエにおける窒素酸化物の突然変異誘発効果, 日本環境変異原学会第9回研究発表会講演要旨, 81 (1980).
- Sparrow, J. C.: melanotic "Tumour" In. The Genetics and Biology of the *Drosophila* (Ashburner, M., and Wright, T. R. F., eds.), Academic Press, London, Vol. 2b: 277-313 (1978).
- Tazima, Y., and Murakami, A.: Analysis of strain differences in radiosensitivity of the silkworm. Gamma-Field Symp., No. 8 "Genetical Control of Radiosensitivity" 53-66 (1969).
- Vogel, E.: The relation between mutational pattern and concentration by chemical mutagens in *Drosophila*. In, Screening Tests in Chemical Carcinogenesis Lyon, IARC Sci. Publ. No. 12: 117-137 (1976).
- Von Borstel, R. C.: Feulgen-negative nuclear division in *Habrobracon* eggs after lethal exposure to X-rays or nitrogen mustard. Nature, **175**: 342-343 (1955).

4. マウス *in vivo* 変異原性試験の意味するもの

国立遺伝学研究所

土川 清

マウスの *in vivo* 変異原性試験による遺伝毒性の評価にあたって、最も重視されなければならないのは、言うまでもなく生殖細胞を対象にした試験の結果である。そのような試験法のうち、遺伝子突然変異の検出を目的とした特定座位法には、毛色や眼色などの7標識座位を用いる方法を嚆矢として、ヘモグロビンとかアイソザイムなどの生化学的指標や、組織移植性に関与している座位を標識に用いる方法が試みられてきている。分子レベルでの解析や、ヒトへの外挿には、生化学的指標を用いる方法が、7座位法よりも有利であろうと期待されている。ところでいずれの方法によつても、変異原とそれらが作用した精子の分化段階による差異こそあれ、検出された突然変異のうちには、ホモ致死とかnull変異体が、かなり高い頻度で現われている。すなわち変異原によって、マウスの生殖細胞に誘起される突然変異には、いわゆる point mutation のほかに、標識座位を含む部位の、染色体の欠失を伴うものも多いということである。胎児期の色素細胞を対象にして、7座位法で用いるテスターの、毛色に関する座位の体細胞突然変異を検出しようとする短期検索法のスポットテストは、遺伝子突然変異や染色体の欠失など、種々な変異を効率よく捕捉できると考えられている。しかし生殖細胞における結果との関係を示すには、未だデータが不充分である。

次に白内障や、骨格異常を指標にした優性突然変異の検出法では、変異原が次世代におよぼす遺伝的影響を、得られた結果からそのまま推定できる。しかし後者の方法によって検出された突然変異の骨格異常は、用いた系統間で著しく異なる。

5. 物動発がん試験の立場からみた

短期変異原性テストの意味するもの

国立衛生試験所安全生物

試験研究センター病理部

林 裕造

そのためこの種の異常発現が背景遺伝子によって影響されるのか、ヒトへの外挿を試みる前に、解明しておかなければならない問題であろう。

他方染色体異常誘起性の検索を目的とした、優性致死試験における優性致死は、それ自体が遺伝する変化ではないけれども、検体またはその代謝活性物質が生殖細胞に作用して、染色体異常を誘起することを示すとともに、精子形成の各段階別の優性致死率の推移が、遺伝性相互転座の誘発率と同調している点で、その推測にとっても有用な試験法である。ところで将来、優性致死試験は感度が悪いと言われてきた。その要因として変異原の生体内代謝や、ターゲットへの到達などのほかに、最近突然変異の生成に対する、抵抗機構の関与が大きいことがわかってきた。すなわちアルキル化剤によって、精子に誘起された優性致死損傷が、受精から第1卵割の間に卵内で修復され、その修復能は系統間で異なるが、またその誘導も可能であることが明らかになってきた。短期検索法である骨髄細胞を対象にした染色体異常の調査法や、小核試験による結果が、生殖細胞でのそれとのように対比し得るか、抵抗機構を考慮して検討する必要がある。

感度のよいスクリーニング法によって摘発された変異原が、環境中に多数存在する状況においてそれらの遺伝毒性は、哺乳動物の生体内における代謝や、生殖細胞の分化および受精の過程に現われる修復や除去など、突然変異に対する種々な抵抗機構の関与を介して示される試験結果に基づいて評価されるべきであり、マウスを用いる *in vivo* 試験の意義はそこにあると考える。

1. はじめに

変異原性テストが発がん物質の検索に利用され始めて10余年、その間に得られた大きな成果の1つとして、発がん物質の大半が変異原性を有するであろうという古くからの推測が科学的に裏づけられた。一方、多くの物質について経験を重ねる中に、変異原性テストの結果と実際の発がん性との間の相関が期待されていた程高くなかった事が気づかれ、テストの意義とあり方を再検討する必要性も生じてきた。その意味で筆者は短期変異原性テストの仕事を今後どのように進めていったならば「環境化学物質の発がん性評価」の課題に効果的な貢献がなしうるかについて、動物発がん試験の立場からの意見を述べてみたい。

2. 問題点の整理

動物発がん性試験を中心に考えると短期変異原性テストが化学物質の発がん性評価に貢献する道は3つに大別される。第1の道は動物発がん性試験（ACTと略）の対象となる物質を選択するための第一次スクリーニングである。これはACTの前におこなわれるものなので、pre-(ACT)-contributionと呼ぶことにする。第2の道はACTの成績の確認もしくは意味づけのためのものである。この場合、変異原テストの成績はACTの終了後に用いられるのでpost-(ACT)-contributionと呼ぶことにする。この他にACTとは直接関係を持たずに変異原性テストが独自に仕事を進め、結果的に化学物質の発がん性評価に貢献するような道もあるはずで、これをpara-(ACT)-contributionと名付けることにする。

つぎにこれら3つの仕事を進めていく上の問題について考えてみたい。なお、現在おこなわれている短期変異原性テストには本来の変異原性試験の他に染色体異常試験等の関連試験も含まれているので、誤解を避けるために短期テストと呼ぶことにする。

3. Pre-(ACT)-contribution

第一次スクリーニングが適切におこなわれるためには、テストの結果に false positive あるいは false negative のいずれかが極めて少ないと必要である。先ず false negative についてみると、現在の短期テストがDNA障害を対象としている限り、後述の1次発がん物質以外のものは理論的にすべて false negative になるはずである。false positive についても現時点ではかなりの頻度でおこっている事を認めざるを得ない。では何故 false positive がみられるかを考えてみよう。

第1は、突然変異とがん化との相違によるものである。すなわち、突然変異という現象はすべての方向におこり、その中のある方向のものががん化に結びつくとすると、他の方向の変異は発がん性の面からみてすべて false positive になるという考え方である。この推測が正しければ、がん化の方向に近いと予想される短期テストに重点をおけば発がんとの相関を高めることになると思われる。その意味で細胞のトランスフォーメーションや基質依存性等のテストは有用かもしれない。

第2は *in vitro* と *in vivo* の相違によるものである。両者の相違の代表例として代謝が挙げられるが、こゝでは吸収と分布の問題を取り上げ

たい。なぜなら、*in vitro* の実験とことなり、*in vivo* の実験では投与した物質が吸収され、その十分量が標的細胞に達するか否かが試験結果を左右する重要な要因になるからである。すなわち、*in vitro* のテストでいかに活性が高くても、*in vivo* の系で投与された物質が標的細胞に到達しなければ何らの作用もみられないからである。*false positive* の原因の多くはこのあたりにあるように思われる。逆に考えると、標的細胞への到達性を調べるための適当な試験法があれば短期テストの価値が高まることになる。

標的組織への到達性を調べる方法として投与した物質の体内分布を調べる分析化学的な方法の他に、*in vivo* の実験で UDS (不定期DNA合成) や DNA-adducts を見る方法もある。ただ、これらの実験をおこなうためにはあらかじめ調べるべき臓器・組織を知っておく必要がある。以上の点を考慮すると、つぎのような手順の試験が発がん性の予知に効果的であるように思われる。

第1段：微生物あるいは培養細胞を用いた短期テスト（遺伝子もしくは遺伝子の座である染色体の影響はわかるが、そのような作用が *in vivo* でおこりうるか、どこの臓器におこるかの情報は得られない）

第2段：検体を3日～3週間程度の期間、動物に投与し、全臓器について病理組織学的検査をおこなう（検体の標的臓器はわかるが、みとめられた変化が変異原性あるいは発がん性に由来するか否かの情報は得られない）。

第3段：第2段でみられた標的臓器について *in vivo* の系で UDS もしくは DNA-adducts の検索をおこなう。

1種の tear-system ではあるが、この場合各短期テストの持ち味を生かし、短所を補い合うような組合せを考慮した点に特徴があるといえよう。

4. Post-(ACT)-contribution

現在の動物発がん試験で発がん性ありとみとめられた物質のすべてが、遺伝子障害による古典的な意味での発がん物質（1次発がん物質）ではない。発がんプロモーターも自然発生腫瘍の誘発の促進という形で陽性の結果になることもあるし、

ホルモン作用を有する物質もしくはホルモンの産生・分泌に影響を与える物質は生体の内分泌環境を乱すことによって、体のどこかの部位に発がんしやすい場をつくり、発がん性陽性の結果を招くこともある（2次発がん物質）。発がん性についてのWHOの定義によると、上記3種の物質はすべて発がん物質とみなされるが、安全性評価の立場からするとこれらを区別して扱うことが必要であり、識別にあたって短期テストの成績が極めて有効である。しかし現在の短期テストは遺伝子障害の検出に限られているので応用範囲は狭い。今後プロモーター作用についての短期テスト法の確立が重要であろう。また、このテスト法が確立されれば先に述べた第一次スクリーニングでの *false-negative* を減少させることになる。

5. Para-(ACT)-contribution

最後に動物発がん試験とは直接にかかわりのない短期テスト独自の仕事について触れたい。もちろん、この仕事の中には第一次スクリーニングの精度を高めるための基礎研究やプロモーター作用のテスト法の確立等も含まれるが、この他に、短期テストが独自の立場で多くの物質について試験をおこない、その成績を発がん性評価に結びつけていくような道もあるはずである。この点についてひとつの考え方をお目にかけたい。

現在発がん性の評価を必要とする物質は無数にあるが、実際に発がん性試験が実施された物質の数は限られ、物理的あるいは技術的に考えてもその数を急速に増やすことは望めない。かといって、従来通りの短期テストを単に繰返すだけでは本来の目的からはずれたものになるおそれがある。

そこで動物発がん試験の立場からつぎのような仕事の進め方を短期テストの研究者に提案したい。すなわち、現在までに動物発がん試験での評価がおこなわれたいいくつかの物質をとりあげ、それらと化学構造もしくは生物学的作用の点で関連のある一連の物質を選んで短期テストを系統的に実施し、その成績を比較検討するやり方である。類縁物質同志の比較であり、その中には動物またはヒトでの発がん性が既知のものも含まれているので、

より確かなものからの演繹という点で、評価の意義は高いものと信じられる。言葉を換えると、3年間の年月、8,000枚に及ぶ病理組織学的検査、それに伴う労力と費用を背景として得られた動物発がん性試験の成績を短期テストの立場から有効に活用してほしいという提案である。

たとえば酸化剤と呼ばれる一群の物質を考えてみよう。衆知の通り、これらの物質は食品添加物に用いられているし、飲料水やプール等の水にも消毒用に添加され、環境中にも色々な形で存在している。生化学的にみると、これらの物質は oxygen radical の生成あるいは脂質の過酸化等を通じて細胞の高分子や膜成分に影響を及ぼすことが知られ、安全性評価を必要とする物質群のひとつに数えられる。今までに一部の酸化剤についての動物発がん性試験はすでに実施されており、臭素酸カリウムでは発がん性(+)、次亜塩酸ナトリウムでは発がん性(-)、過酸化水素では消化管粘膜の腫瘍に対するプロモーター作用(+)、過酸化ベンゾイールでは皮膚がんのプロモーター作用(+)等の成績が得られている。これらの事実をふまえて関連物質についての短期テストをおこなえば酸化剤のグループについて有効な評価が可能になると思われる。

6. おわりに

環境化学物質の発がん性評価という課題に短期テストがどのように貢献すべきかについて、動物発がんテスト側の考え方を述べた。つぎの3点がその結論である。

1) 短期テストによる *in vitro* での作用が *in vivo* においてあらわれるか否かを確認するための方法の開発とその実施がテスト結果の予知性を高めるために必要である。

2) プロモーター作用を検出するための短期テストの開発は短期テストによる評価の幅を拡大する意味で重要である。

3) 発がん性の有無が確認されている物質を中心に、その関連化合物について短期テストを系統的に実施し、成績を比較評価する。この仕事は被験対象の有効な拡大につながる。

微生物や培養細胞等の系を用いた短期テストは

化学物質の生物作用のスクリーニングにとって効果的な手段であるが、これらの系で得られた知見を直ちにヒトに適用することはできない。*in vitro* で結核菌に対し作用があっても、それがヒトの結核症に必ずしも有効ではないし、同じように *in vitro* の系でみられた大喰細胞への作用がそのままヒトでの抗炎症効果につながるわけでもない。有効性の場合においてもスクリーニングとヒトにおける使用との間に埋めるためにいくつかの実験がおこなわれる。発がん性に関する同様のことがいえる。とくに発がん性については、医薬品の有効性の場合とことなり最終的にヒトで確かめることは許されないので、実験段階における検討がきわめて重要である。発がん性を離れ、現在の短期変異原性テストをヒトにおける遺伝毒性または多世代影響の評価に応用する際にも今回と同様の問題を考慮する必要があろう。

第11回大会 特別講演

環境変異原研究 10 年 — 反省と今後の展望 —

国立遺伝学研究所

賀田恒夫

本稿に当って、前会長杉村隆先生および前々会長長田島弥太郎先生の御忠言を種々いただきいたので厚く感謝申し上げる。

環境変異原の研究が始まってから、約10年を経た現時点において、これまで得られた多くの研究成果とその解釈について種々な角度から反省を行うとともに、今後の研究のすすめ方について検討をしてみたい。ただ私一人の経験はごく限られており、その考えは決して一般化しうるとは思われないが、一つの問題提起としてあえて試みることとした。

発足の背景

1972年頃、環境変異原の研究が発足した背景の特質として、つぎの諸点をあげることができよう。

第1に、諸工業生産の過密化にともなった公害の概念の形成。とくに合成化学物質による地球の汚染によって、人の健康が損なわれるのではないかとの危惧があった。第2に、分子生物学の進歩によって、化学物質の遺伝的影響を検索する方法的基盤ができつたこと。とくに、すべての生物は共通した“DNA family”であるとの概念の形成によって、微生物を用いる変異原性試験が、より生物の全般に共通した意味を有することが支持された。第3の背景としての化学発がん研究の進歩。とくに化学発がん剤の代謝の研究が進むにつれて、アセチルアミノフローレンなどの代謝物がショウジョウバエ、ファージ、バクテリア、培養哺乳動物細胞などに突然変異を誘発する例が、当時次々に見出されている（表1.2）。

表1 アセチルアミノフローレン誘導体による突然変異誘発

| 薬物 | 枯草菌DNA処理による螢光コロニー色の変異誘発 | | | ショウジョウバエ第II染色体上の劣性変異 | ハムスター培養細胞のin vivo癌化 | | |
|-----------------------|---------------------------------|-------------|----------------|----------------------|---------------------|---------------------------------------|-------------|
| | 薬物量 (DNAヌクレオチド モル当たりのモル数) | 作用時間 (分) | 10^4 当りの変異体数 | | 薬物量 (mM) | 10 ³ 当りの (1+ν)変異 体頻度 | 薬物量 変化率% |
| アセチルアミノフルオレン (AAF) | — | — | — | 10 | 3.5 ± 0.8 | 5 | 0.5 |
| N-OH AAF | 13 | 40 | 0.9 | 10 | 2.4 ± 1.2 | 5 | 2.1 |
| N-Acetoxy AAF | 8-10 | 5 | 28 | 1 | 28.2 ± 3.9 | 5 | 15.4 |
| AAF-N-sulfate | 4-5 | 2 | 40 | 1 | 2.9 ± 1.4 | — | — |

(Fahmy ら, 1972; Marher ら, 1970; Dipaolo ら, 1972)

表2 多環性炭水化物による微生物突然変異の誘発

| 化 合 物 | T ₂ h ⁺ ファージの宿主変異誘発 | | サルモネラ His ⁻ → His ⁺ 復帰変異 | | | | |
|-----------------------------|-------------------------------------------|--------------------------|------------------------------------------------|----------------------|--------------------|--------------------------|------------------|
| | 2時間作用 中の薬物濃度 (μM) | 変異体プラク 数(コントロール300相当) | プレート中 に入れた薬量物(μg) | TA 1530 | TA 1531 | TA 1532 | TA 1534 |
| 3-メチルコラントレン 11, 12-オキシド | 23.4 | 1,932 | 134 | 67 | 3 | 12 | 25 |
| デベンズ(a, h)アントラセン 5, 6-オキシド | 4.1 | 1,257 | 134 | 69 | 1 | 23, 25 | 11 |
| 7-メチルベンズ(a)アントラセン 5, 6-オキシド | 17.9 | 849 | 134 196 | 54 83 | 3 | 22 | 50 |
| フェナントレン 9, 10-オキシド | 493 | 196 | 134 | 65, 79 | 4 | 16 | 20 |
| クリセン 5, 6-オキシド | 126.3 | 441 | 134 | 48 | 6 | 6 | 20 |
| ベンズ(a)アントラセン 5, 6-オキシド | 44.8 | 576 | 134 | 49, 62 | 2 | 275 | 31 |
| 薬物なし | — | 300 | — | 23, 45, 45 58, 68 | 2, 4, 4 4, 5, 8 | 10, 10, 15 15, 17, 23 | 19, 23 29, 29 |

(Cooksmら, 1971; Amesら, 1972)

わが国においては、とくに4NQOの研究の中心として医学者、生化学者、遺伝学者の間により情報の交換、協力研究がすでに行われていた。このことは、他の国と比して特筆すべき点である。

このような背景のもとに、A. Hollender博士の呼びかけに端を発し、わが国でも環境変異原の研究が盛んにすすめられるに至った。その後の研究の発展の様子は皆様のよく御存知のとおりである。

環境変異原の研究の性格として、まず、基礎と応用とが渾然一体となっている点がある。また、非常に多数の異った専門分野にまたがる学際的な領域である。しかし、重要な特徴とする点は、この領域は一種の予測学であることであろう。すなわち、実験生物系で得られた結果から理論をつくり、これに基いてヒトにおける変異原の危険度の評価を行う。この点において環境変異原の研究は、実学であると云える。そこで間違った理論に基づいた推論をできるだけ、さけなくてはならない。過去における多大の研究成果によってもたらされたものの中で、何が確か(sure)で、何が不確か(not sure)であるかを考えつつ以下論ずる。

1. 変異原性と発がん性との関係について

「多くの発がん物質は、変異原性を有する」。

このことは、代謝物をも充分に検索することで明らかとなった。しかし、「すべての発がん物質が必ずしも変異原性を示さない」ことも充分に経験した。問題はその逆にある。変異原性を有する因子をまず見出して、その後、その発がん性を見出した例も多いが、すべての変異原物質は発がん剤ではない。

発がん物質の変異原性のチェックにおいて、われわれは「発がん物質と変異原とは全く同じ範疇にはいるのではないか」という仮説を抱いて、その検証をはじめた。このようなワーキング仮説は本来単純なものであって、これが否定されれば、別の仮説を持って実験を行って実証を試みることになる。このようにして仮説を修正しつつ、ジグザグに進みつつローマ(眞実)に近づいてゆくのが研究の道である。われわれは、その研究において用いた仮説が一般の人々にそのまま受けとられ充分な説明がなされなかったことを反省すべきである。現在、発がん性と変異原性との関係について知っていることは、もっと複雑である。その背景をよく理解するために、図1で示した概念を説明したいと思う。

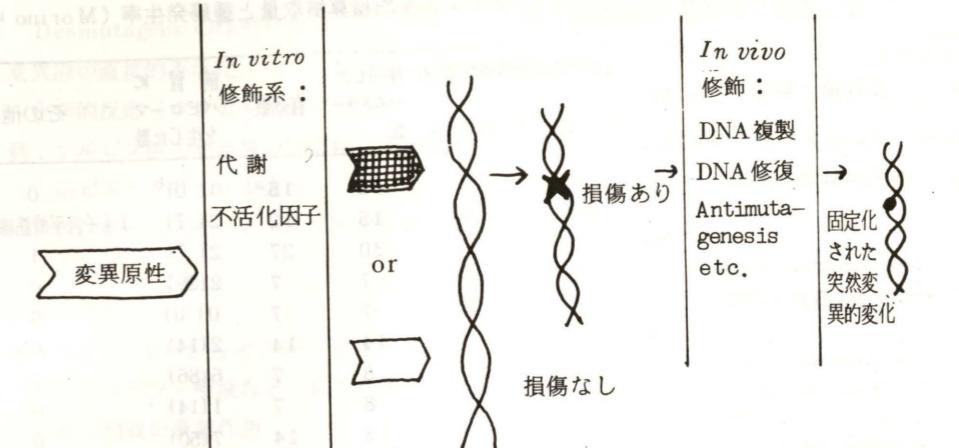


図1 修飾因子による変異原活性およびそれに作用されたDNA損傷の消失

図2 フラボン誘導体の構造と突然変異原性
(Sugimuraら, 1977)

| 化合物 | 構 造 | His ⁺ 復帰変異体/nmole* | |
|-------------------------|-----|-------------------------------|--------|
| | | TA 98 | TA 100 |
| Flavone Kaempferol | | 3.9 | 0.68 |
| Quercetin | | 5.3 | 0.35 |
| Galangin | | 3.8 | 1.6 |
| Fisetin | | 0.12 | 0.35 |
| Chrysin | | 0 | 0 |
| 3-Hydroxyflavone | | 0 | 0 |
| Flavone | | 0 | 0 |
| Isoflavone Daizein | | 0 | 0 |
| Genistein | | 0 | 0 |
| Orobol | | 0 | 0 |
| Flavanone Naringenin | | 0 | 0 |

* S-9 Mix. 使用

発がんの第1段階として、何らかのDNA傷害が存在することは広く認められている。種々なルートによって体の中に取り込まれた化学物質は、ターゲットであるDNAに到達する以前に代謝不活化されたり、ターゲット以外の細胞成分と反応し合って消失する場合が多いと思われる。逆に代謝活性化される場合もある。一方、DNAに傷害が生じても強すぎて細胞が死ねば、発がんはあり得ない。さらに、毒性が強すぎて個体が死んでしまえば、何もありえないことになる。このように、バクテリアの系でそのDNA傷害性がはっきりしている化学物質に関しても、動物個体での作用パターンは複雑になる。

さらに、プロモーターとの関係がある。環境発がんの決定的要因となっているのか、DNA傷害のイニシエーター(変異原)なのか、プロモーターであるかが問題となる。この問題はこれからわれわれの重要な課題である。

微生物に変異原性が見出されても、発がん性が見出されてない例として、フラボノイド類がある(図2、表3)。これは、わが国でこの点を深く追求されたユニークなものである。フラボノイド類は多くの食品の中に広く含まれており、その変異原活性も中程度である。変異原が発がん性を示さない代表的な例として、その機構が深く追求されるべきであろう。

表3 ハムスターにおけるケルセチンとクロトンオイルの平均積算摂取量と腫瘍発生率 (Morino ら, 1982)

| 実験区 | 投与量と期間 | 性 | 1匹当たりの積算摂取量(g) | | 使用した ハムスター 数 | 有効数 | 前回に パピローマ を生じた数 | その他 |
|-----|----------------------------------------------------|-----------|----------------|---------|--------------------|-----------------|-----------------------|-------------|
| | | | ケルセチン | クロトンオイル | | | | |
| 1 | 4% Quercetin (709日) | ♂ | 246 | 0 | 15 | 15 ^a | 0(0) ^b | 0 |
| | | ♀ | 244 | 0 | 15 | 12 | 2(7) | 1(子宮平滑筋繊維腫) |
| | | 合計 | | | 30 | 27 | 2(7) | 1 |
| 2 | 1% Quercetin (351日) ついで基本餌料 (350日) | ♂ | 35 | 0 | 7 | 7 | 2(29) | 0 |
| | | ♀ | 37 | 0 | 7 | 7 | 0(0) | 0 |
| | | 合計 | | | 14 | 14 | 2(14) | 0 |
| 3 | 1% Quercetin (351日) ついで 1% croton oil (350日) | ♂ | 35 | 31 | 8 | 7 | 6(86) | 0 |
| | | ♀ | 34 | 25 | 8 | 7 | 1(14) | 0 |
| | | 合計 | | | 16 | 14 | 7(50) | 0 |
| 4 | Basal diet (351日) ついで 1% croton oil (350日) | ♂ < 0.007 | 29 | 7 | 7 | 3(43) | 0 | |
| | | ♀ < 0.007 | 27 | 7 | 7 | 1(14) | 1(副腎皮質腺腫) | |
| | | 合計 | | | 14 | 14 | 4(29) | 1 |
| 5 | 基本餌料 (701日) | ♂ < 0.013 | 0 | 8 | 8 | 1(13) | 1(副腎皮質腺腫) | |
| | | ♀ < 0.013 | 0 | 8 | 7 | 0(0) | 0 | |
| | | 合計 | | | 16 | 15 | 1(7) | 1 |

a. 480日以上生存した数

b. カッコ内は腫瘍をもつ動物の百分率

変異原の100%が発がん因子ではないが、その確率は高いので、環境中から発がん因子の検出を行なうためには、依然として微生物検出法から始めるのは、大きな意義がある。事実、微生物における変異原として検出されたものの中から、種々な新発がん因子の検出がなされている。顕著な多くの例がある。これはまさに変異原性とがん原性との相関の指摘の成果によるものである。

2. 変異原性を指標とする環境毒性のバイオ・モニター

環境中に存在して、そのもの自体の毒性（発がん性など）が充分知られている毒物（アフラトキシン、ベンズピレン、ニトロアレン類、トリプーP類など）が、微生物などに顕著な変異原性を示す場合が多くある。この場合には、変異原性を指標としつつ、環境中におけるこれらの毒物の消長を追跡することが、可能である。これは環境毒性のバイオ・モニターとも云うべきもので、変異原研究の成果として特筆すべき方法論である。食品中に含まれる変異原に関しては、加熱など調理条件によって生成する変異原や、亜硝酸との反応によって生じる複合生成物の変異原の検出が過去に活発に行なわれた。また最近では、大気汚染物質の多環芳香族炭化水素類のニトロ化合物などの毒性の評価や大気中の分布の解明に関して、変異原試験がきわめて有効に活用されている。

われわれは、この方法論をいわゆる Desmutagens の研究に適用した。蛋白質やアミノ酸などの加熱燃焼生成物の変異原性の抑制、不活性化に働く野菜・果実因子に関しては、種々な機会に発表したので、ここでは詳しくは述べない。少なくとも数種の異なる抑制・不活性化のメカニズムがあること（表4）、最近では、野菜繊維類の変異原吸着効果に、とくに注目して研究を行っている（表5）。

表4 Desmutagens の作用パターン

1. 変異原の直接的不活性化
 - a) 化学的反応（ラジカル反応を含む）

例：ソルビン酸と亜硝酸の反応物（Y物質）のビタミンCによる還元
亜硝酸や塩素によるトリプーP-2などの不活性化
 - b) 酵素的反応

例：トリプーP-2などのペーオキシダーゼ（キャベツ・唾液など）による酸化
 - c) 高分子物質の吸着作用

例：ヘミンによる活性化トリプーP-1、トリプーP-2などの不活性化
2. 代謝活性化の抑制

例：種々な野菜因子によるS9活性の抑制
セレンによるジメチルアントラセンの代謝活性化抑制
3. 代謝活性化された変異原の直接的不活性化

例：ヘミンによる活性化トリプーP-1、トリプーP-2などの不活性化
4. 変異原生成反応の抑制

例：ビタミンCによるDMN生成抑制
アルブミンの熱分解生成のポリフェノールによる抑制

表5 野菜繊維によるトリプーP-1、トリプーP-2、グルーP-1などの吸着（+、著効；++、有効；+、効果あり；-、無効）

| | トリプーP-1 | トリプーP-2 | グルーP-1 |
|--------|---------|---------|--------|
| キャベツ | + | + | + |
| ゴボウ | ++ | ++ | + |
| ダイコン | + | + | + |
| タケノコ | ++ | + | + |
| タマネギ | ++ | + | + |
| ニンジン | + | + | + |
| ピーマン | ++ | + | + |
| ホーレンソウ | + | + | + |
| モヤシ | ++ | ++ | + |
| セルローズ | - | - | - |

3. 生殖細胞への作用と突然変異

ヒトにおいて、化学物質によって突然変異が誘発されることを検証することはできない。発がんに関しては、疫学的考察と動物実験とを組合せば、ある程度の予測も可能であろうが、遺伝的影響に関してはその可能性はない。しかしながら、過去10年にわたる変異原研究の成果として、哺乳動物に対する化学物質の遺伝的影響研究への、いくつかの手掛けが得られつつあるものと思う。第1に、生殖細胞にいかなる傷害を与えていたかは別として、経口的その他の経路を経て、動物体内にとりこまれた化学物質が、生殖巣に活性態として到着しうるか否かは、優性致死試験あるいは経胎盤試験をもって検知することが可能である。これらの試験での陽性の度合と投与量（体内にとりこまれた量）との関係の解析によって、個々の化合物における遺伝的閾値の有無の推測が可能であろう。このような背景をもって、Russellらの報告をみると興味深い（表6）。

ここで、ごく実際的な問題について一言したい。遺伝的影響の有無は別として、発がん性を有する化学物質は当然われわれの生活環境から除去すべきである。そこで問題となるのは、発がん性はないが実験動物系で変異原性が強く陽性を示す化合物である。これらに関して、Russellらの行ったような特定座位試験など、動物個体を用いた詳細な突然変異誘発試験の実施が可能な場合でも、優性致死あるいは経胎盤の試験において、投与物質が生殖巣に到着するか否かの解析を行うべきである。その際、閾値の有無が問題となる（図4）。i、ii型を示す変異原はiii型のものより優先してチェックを行うべきである。

4. Risk assessmentについて

危険度・安全性の評価を正しく行なうことは実学としてきわめて重要であるが、これ程難しい問題はない。そのため、米国では“Society for Risk Analysis”と称する学会もでき、“Risk Analysis”と題した雑誌もできている。最近、

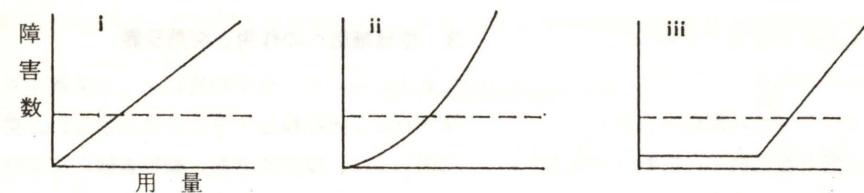


図4 変異原物質の用量と障害度との関係における3型

(注) いずれの場合も自然発生数を差引いたもの
(田島弥太郎, 原図)

表6 マウス特定座位法による化学物質の変異原試験結果

(Russellら [1981] より改写)

| 試 料 | 投与量 | 生殖細胞における結果 | | |
|--------------------------------------------|----------------|------------|------|-------------|
| | | 精原細胞より後の時期 | 精原細胞 | 雄、各種の精子形成時期 |
| ベンゾ[a]ピレン | 500 mg/kg | 未完 | 陰性 | 陰性 |
| ブチルヒドロキシトルエン | 飼料中 0.75% | | | |
| カフェイン | 12 g/kg | | 陰性 | 未完 |
| 5-クロロウラシル | 1 または 100 mg/l | | | |
| 石炭液A | 1.2~8 g/kg | (陽性) | | |
| シクロホスファミド | 350 mg/kg | 陽性 | | |
| DEM (ジエチルニトロソアミン) | 150 mg/kg | 未完 | 陰性 | |
| ジエチル硫酸 | 20 mg/kg, 5回 | | | 未完 |
| 7,12-ジメチルベンズ[a]アントラセン | 10 mg/kg | | 未完 | |
| EMS (エチルメタンスルホネート) | 約 300 mg/kg | 陽性 | 陰性 | |
| ENU (エチルニトロ尿素) | 250 mg/kg | | 陽性 | |
| 5-フロロウラシル | 100~200 mg/kg | 未完 | 未完 | |
| ハイカソソン | 150 mg/kg | 未完 | 陰性 | |
| ICR-170 | 4 mg/kg | 未完 | 未完 | |
| IPMS (イソプロピルメタンスルホネート) | 50 mg/kg | 未完 | 未完 | |
| MMS (メチルメタンスルホネート) | 20 mg/kg | 陽性 | | |
| | 50~150 mg/kg | | 未完 | |
| MNNG (<i>N</i> -ニトロソ-N'-メチル-N'-ニトロソグアニジン) | 50 mg/kg | 未完 | 未完 | |
| マイトイシンC | 5.25 mg/kg | 未完 | 陽性 | 未完 |
| モノクロタリン | 150 mg/kg | 未完 | 陰性 | |
| ミレラン | 20 mg/kg | 未完 | 陽性 | |
| プロカルバジン | 400 mg/kg | 未完 | 陽性 | |
| | 600 mg/kg | 陽性 | 陽性 | |
| PMS (プロピルメタンスルホネート) | 800 mg/kg | 未完 | 陽性 | |
| 亜硫酸水素ナトリウム | 20 mg/kg, 40回 | | 陰性 | |
| トリエチレンメラミン | 0.2 mg/kg | 陽性 | | |
| | 2 mg/kg, 2回 | | 陽性 | |
| 200 kR 照射コムギ | | | 陰性 | |

表7 動物の発がん性をランクづけるために提唱される系 (Squire, R. A., 1982)

| 要 因 | スコア |
|-----------------------------------------|-----|
| A. 影響を受けた動物種の数 | |
| 2以上 | 15 |
| 1 | 5 |
| B.. 1種以上の動物種に生じた組織学的に異なる型の腫瘍の数 | |
| 3以上 | 15 |
| 2 | 10 |
| 1 | 5 |
| C. 処理群に誘発された腫瘍の対照群における自然腫瘍発生率 | |
| 1%以下 | 15 |
| 1~10% | 10 |
| 10~20% | 5 |
| 20%以上 | 1 |
| D. 投与量-反応関係 (2年間1日当たり体重1kg当たりの積算経口投与量)* | |
| 1 μg以下 | 15 |
| 1 μg~1 mg | 10 |
| 1 mg~1 g | 5 |
| 1 g以上 | 1 |
| E. 誘発された腫瘍の悪性度 | |
| 50%以上 | 15 |
| 25%~50% | 10 |
| 25%以下 | 5 |
| 0% | 1 |
| F. 適当なテスト系で検索された遺伝毒性 | |
| 陽性 | 25 |
| 不完全な陽性 | 10 |
| 陰性 | 0 |

* 体重1kg当たり100gの餌を消費するとして計算した。

表8 提唱された系にもとづく10種の動物発がん物質のおよそのランクづけ (Squire, 1981)

| 発がん物質 | スコア | ランク |
|------------------------------------------|-----|-----|
| Aflatoxin | 100 | I |
| Dimethylnitrosamine | 95 | I |
| Vinyl chloride | 90 | I |
| Tris(2,3-dibromopropyl)-phosphate (Tris) | 90 | I |
| 2-Naphthriamine | 81 | II |
| Chloroform | 65 | III |
| NTA | 51 | IV |
| Chlordane | 40 | V |
| Saddharin | 36 | V |
| DDT | 31 | V |

5. おわりに

研究は真理の追求にあって、それのみに価値ありとする論はそれ自体正しい。ただ自然科学はあまりにも人類の生活の糧として重要になっている。生体の機構を究明して、それを医療に利用しないことは考えられない。逆に、医学はすべて目的をもった応用科学である。このような意味で、環境変異原の研究はその毒性から人の健康を護るためのものである。

しかし、その中にあって基礎的研究を強く進めるべきである。その理由は、むしろ環境変異原研究そのものの性格によると思われる。変異原の作用点はDNAであり、その解析のために進歩した分子遺伝学が既にある。すでに述べたように毒性の評価には推論の基礎となる理論が必要である。そのためには、DNAの傷害の生成、修復等々の機構の解明が必須である。

最後に国際協力に関して一言述べたい。環境変異原の実学としての面からみた場合、Risk評価が各国の経済・産業の状況によって著しく異なることに注意したい。たとえば、自動車の排気ガスを例にとってみても、発展途上国の中にはほとんど無規制の状態の大都市もある。発がん性の指摘されている農薬を特殊な事情のため依然使用している例も多い。したがって、ある国での規制そのまま他の国に強制できない場合がある。

しかしながら研究としては異なるものはない。変異原の作用の機構の解明によってできるだけ定量的な評価を行い、安全性の見地からみて可能なものから実践に移すということにつきる。もう一

つ評価そのものの正しさを損うことなく、それをいかに単純化しコストを下げるかという点も、発展途上国にとっては重要な課題であろう。

日本環境変異原学会会則

第1条 本会は日本環境変異原学会 (The Environmental Mutagen Society of Japan) と称する。

第2条 本会は人間環境における突然変異原、とくに公衆の健康に重大な関係を有する突然変異原の研究を推進することを目的とする。

第3条 本会の会員は、正会員および賛助会員とする。正会員は本会の趣旨に賛同し、環境変異原の研究に必要な知識と経験を有し、定められた会費を納入した者、賛助会員はこの学会の事業を後援し、定められた会費を納入した個人または法人とする。

第4条 本会に入会を希望するものは、1名以上の評議員の推せん書とともに所定の申込書に記入の上、本会事務所に申込むものとする。

第5条 会員は毎年会費を納入しなければならない。次年度の年会費の額は評議員会において審議し総会において定める。

第6条 本会はその目的を達成するために次の事業を行う。

1. 年1回大会を開催し、学術上の研究成果の発表および知識の交換を行う。

2. 奨励賞を設け、環境変異原の分野で行われた研究を行い、将来の成果が期待される研究者（原則として会員）に授与する。

3. *Mutation Research* 誌の特別巻を特価で購入配布する。

4. 国際環境変異原学会連合に加入し、国際協力に必要な活動を行う。

5. その他本会の目的を達成するために必要な活動を行う。

第7条 本会に次のとおり役員および評議員を置く。

会長 1名 庶務幹事 1名

会計幹事 1名 國際交流幹事 1名

会計監査 2名、および評議員若干名。

評議員は全会員の投票により選ぶ。

会長は評議員の互選によって定める。

庶務幹事、会計幹事および会計監査は会長が委嘱する。

この他会長は必要な場合には会員の中より若干名を指名し総会の承諾を得て、評議員に加えることができる。

役員および評議員の任期は2年とする。

役員が同じ任務に引続いて就任する場合には2期をもって限度とする。

第8条 評議員会は会員を代表し、事業計画、経費の収支、予算決算およびその他の重要事項について審議する。

第9条 本会は年1回総会を開く。総会において会則の改廃制定、予算・決算の承認、その他評議員会において審議した重要事項の承認を行う。

第10条 本会の事務執行機関は会長および3名の幹事をもって構成する。会長は執行機関の長となり、また本会を代表する。

第11条 本会の事務は暦年による。

第12条 本会に名誉会員をおく。

附 記

1. 本会則は昭和57年10月3日より施行する。
2. 本会は事務所を静岡県三島市谷田1,111番地に置く。
3. 正会員および賛助会員の会費はそれぞれ年額3,000円および1口20,000円とする。ただし、*Mutation Research* 誌の特別巻の配布を希望するものは、会費の他に別途定める購読料を本会へ前納するものとする。

日本環境変異原学会入会申込書

昭和 年 月 日

日本環境変異原学会昭和59~60年度評議員名簿

(五十音順)

| 氏 名 | 所 属 |
|-----------|-----------------|
| 石 館 基 | 国立衛生試験所 |
| 乾 直 道 | 日本専売公社生物実験センター |
| 岩 原 繁 雄 | 食品薬品安全センター |
| 大 西 克 成 | 徳島大学医学部 |
| 賀 田 恒 夫 | 国立遺伝学研究所 |
| 菊 地 康 基 | 武田薬品工業㈱中央研究所 |
| 黒 木 登 志 夫 | 東京大学医科学研究所 |
| 黒 田 行 昭 | 国立遺伝学研究所 |
| 近 藤 宗 平 | 大阪大学医学部 |
| 杉 村 隆 | 国立がんセンター研究所 |
| 佐 々 木 正 夫 | 京都大学放射線生物研究センター |
| 佐 藤 茂 秋 | 国立がんセンター研究所 |
| 白 須 泰 彦 | 残留農薬研究所 |
| 祖 父 尼 俊 雄 | 国立衛生試験所 |
| 田 島 弥 太 郎 | (財) 大日本蚕糸会 |
| 武 部 啓 | 京都大学放射線生物研究センター |
| 田 ノ 岡 宏 | 国立がんセンター研究所 |
| 土 川 清 | 国立遺伝学研究所 |
| 長 尾 美 奈 子 | 国立がんセンター研究所 |
| 西 岡 一 | 同志社大学工学部 |
| 早 津 彦 哉 | 岡山大学薬学部 |
| 松 島 泰 次 郎 | 東京大学医科学研究所 |
| 村 上 昭 雄 | 国立遺伝学研究所 |
| 吉 川 邦 衛 | 国立衛生試験所 |

日本環境変異原学会長 殿

| | |
|---------|-------|
| フリガナ | |
| 氏 名 | (印) |
| ローマ字つづり | |
| 生年月日 | 年 月 日 |

貴学会に入会いたしたく必要事項を書き添え、評議員の推薦
を添えて申し込みます。

勤務先および職名 (和)

(英)

〒

勤務先所在地 (和)

TEL

ex.

(英)

最終学校と卒業年次

研 究 歴 (現在行なつてある研究の動向や興味の点について数行記入のこと)

加入学会名 (本学会以外の)

編集後記

研究領域（下記のあてはまる項の2、3を○で囲んでください）

1. 変異原 2. 検出系 3. 毒性 4. 発生異常 5. 汚染
6. 疫学 7. 遺伝 8. がん 9. 微生物 10. 高等動物
11. 高等植物 12. 食品 13. 気体・粉じん 14. 医薬品 15. 農薬
16. 代謝 17. 分子機構
18. その他()

ここに記入して下さい

推 薦 者（日本環境変異原学会評議員）

勤務先および職名

氏名(署名)

入会申込者との関係（数行ご記入ください）

「環境変異原研究」は、日本環境変異原学会が昭和53年、それまでの研究会から学会に改称されたのにともなって創刊され、本年ここに第5巻第1号を会員の皆様におとどけします。

本号は、昭和 57 年 10 月 29 日と 30 日、中伊豆の修善寺町総合会館で開催されました日本環境変異原学会第 11 回大会の特集号として、奨励賞受賞のことば、シンポジウム「各種短期変異原性テストの意味するもの」、特別講演「環境変異原研究—10 年の反省と今後の展望」を収録させていただきました。

大会で発表されました一般演題の中から多くの演題につきまして、その内容を掲載させていただくよう原稿をお願いしましたが、紙数の関係で第5巻第2号に収録させていただきました。

ご執筆いただいた方々は、いずれもご多忙中のところを、本号のために力作をお寄せいただきましたことを厚くお礼申しあげます。 (黒田行昭)

(黒田行昭)

環境変異原研究 第5巻 第1号

昭和 58 年 11 月 20 日 印刷

昭和 58 年 12 月 20 日 発行

編集者　黒田行昭

国立遺伝学研究所形質遺伝部
〒411 静岡県三島市谷田 1,111
TEL 0559-75-0771

印刷所 石川印刷

〒411 静岡県三島市栄町4-27
TEL 0559-75-1960

