

シンポジウム 染色体異常の発生機序

Symposium. Causal Mechanisms of Chromosome Anomalies.

司会：美甘和哉 (旭川医大・生物)

Chairman: Kazuya MIKAMO (Asahikawa Medical College, Asahikawa)

1. 序論. 美甘和哉. Introduction. Kazuya MIKAMO

核型分析による最初のヒトの染色体異常確認以来、20年近い年月を経たが、この間、染色体の分析技術は長足の進歩を遂げ、多くの先天性心身障害の病因が染色体の異常であることが明らかにされてきた。また、新生児集団、さらに発生期をさかのぼった自然流産児・人工流産児の集団における研究は、ヒトでは染色体異常がきわめて高い頻度で発生しているという重要な事実を明らかにしている。

この治療困難な遺伝病患児の出生防止対策としては、高齢婦人妊娠に対する警告や羊水細胞による出生前診断などに見るべき成果が得られたものの、より根源的な発生の防止という点からみると最も必要とされる生成原・生成機序の解明には、なお多くの問題が残されているといわざるをえない。

異常の生成原・生成機序の研究には、ヒトの集団を対象とした疫学的アプローチ、培養細胞や実験動物を用いるモデル研究、また、異常染色体の形態や染色性を利用してその起源を探る方法などが行われてきている。これら研究の成果が積みあげられるとともに得られる新知見は、問題の解決に迫る力となると同時に、当初から認められてきた研究方法や仮説、あるいは推定などのうちには、修正や補足を必要とするものが多いことを指摘している。

今回のシンポジウムでは、染色体異常を構造的異常、倍数性、異数性に分け、それぞれの生成原、生成機序に関して集積された情報を整理することによって、現在どの程度まで明らかにされているかが論じられた。幸いに、ご参加いただいた演者は、現在この方面の第一線で活発な研究を行っている方々で、ご自身の最新の成果もあわせて発表していただくことができた。

2. Factors Relating to the Induction of Chromosome Structural Changes: Masao

S. SASAKI (Radiat. Biol. Cent., Kyoto Univ., Kyoto)

A number of physical and chemical agents, even living organisms, have been demonstrated to cause chromosome structural changes in mammalian cells. Obviously, mode of action in the induction of chromosome structural changes widely varies among these agents, and can not be given in a simple notion. However, it should be noted that the chromosome structural change is one of the biological endpoints which arise as a consequence of the response of cells to the action of agents. Therefore, besides the types and mode of action of agents, the induction of chromosome structural changes is also largely influenced by the cell's intrinsic factors.

According to the mode of action, ionizing radiation is distinguished from other chromosome breaking agents since it induces chromosome structural changes independently from the semiconservative DNA replication. This is in marked contrast to most of the other radiomimetic chemicals (including ultra-violet light), which produce chromosome aberrations only when the chemicals or chemical-induced DNA damage (or modified DNA repli-

cation machineries) are present during the DNA synthesis stage. This evokes an importance of the differing mode of action of agents (X-ray type or UV type), cell cycle kinetics (cycling or dormant cells) and DNA repair capacity (capacity to excise DNA damage) of the target cells in the evaluation of genetic hazards.

There is also a good reason to assume that the single array of DNA duplex constitutes the basic unit of interphase chromosome (or single chromatid), and therefore, DNA metabolism such as replication, recombination and repair, plays an important role in the induction of chromosome aberrations spontaneously or in response to the external agents. This has been clearly demonstrated in cells from patients with xeroderma pigmentosum and Fanconi's anemia, recessively transmitted diseases which are defective in the repair of certain types of DNA damage. In these cells, the change in the sensitivity among the cell cycle stages to the induction of chromosome aberrations by chemicals showed a marked contrast to the normal cells indicating that the chromosome aberrations arose when DNA with damage yet to be repaired entered the semiconservative replication. In Bloom's syndrome, defective DNA replication has been suggested to be responsible for the high frequency of sister chromatid exchanges and hence chromosome structural changes. A series of dominantly inherited conditions of high cancer risk may call a special attention since they show high frequency of chromosome translocations in their skin fibroblasts. A significantly increased level of karyotypically abnormal clones of cells can be found in cultured skin fibroblasts from the patients and obligatory carriers in families with familial polyposis coli, familial colon cancer, familial leukemia and medullary thyroid cancer syndrome. Moreover, many of the translocations involve the same break point in a patient and also in a family. It is tempting to correlate this peculiar finding to the DNA surveillance system, if present in human cells, to recognize and excise the particular part (foreign DNA?) of DNA and hence giving a cluster of break points at a particular part of a specific chromosome.

3. 倍数体の生成機序：高木信夫（北大・染色体研）. *Mechanisms Leading to Triploidy in Mammals: Nobuo TAKAGI* (Chromosome Res. Unit, Hokkaido Univ., Sapporo)

倍数体の生成機序についてはすでに Beatty (1957) による優れた総説がある。話を三倍体に限ると、過剰な半数セットの両親からの由来により diandry (二雄核受精) と digyny (二雌核受精) に大別される。前者はさらに dispermy (二精子受精) と二倍性精子が関与する diplospermy に分けられる。四倍性精原細胞、第一成熟分裂阻害、第二成熟分裂阻害はいずれも二倍性精子の原因となりうる。同様に四倍性卵原細胞、第一極体阻害、第二極体阻害等が digyny を誘起する可能性がある。

ヒトにおける三倍体はその大半が自然流産中に出現し、頻度は確認された妊娠の 1 ~ 2% と見られている。三倍体の性染色体構成として可能なのは XXX, XXY, XYY の 3 種で、おのおの 118, 181, 10 となっている。XYY が極端に少ないので dispermy は少ないとの見方もあったが、XXX と XXY の比に着目した Schindler and Mikamo (1970) は XYY の生存力が低いと仮定して dispermy を主要機序と主張した。バンド法出現とともに明らかにされた豊富な染色体異型の存在は、個々のヒト

三倍体の形成機序を解明する強力な武器となった。現在までに明らかにされた48例では約半数が dispermy, 1/4 が第一分裂阻害による二倍性精子, ほぼ同数の第一極体阻害と判定されており, 第二極体阻害の報告はまだない。したがって XYY の生存力低下はきわめて確からしい。X 染色体が1本であることに生存力低下の原因を求めるならば, 不活性化された X が2本の XXX, 1本の XXY も同様な傾向を持つことが予想される。三倍体における不活性化のコントロールには不明な点が多いが, 今後この方面からの検討も必要かと思われる。

ヒト以外の動物では自然発生三倍体の頻度は 0.5~10% 程度であり, 異数体とは違い, ヒトで特に多いという証拠はない。同一種内においても系統間の差が著しい。マウスでは dispermy はほぼ一定の頻度で生じ, digyny には極端な変異が認められる。ラットでも系統差は大きいがいずれも dispermy 起原とされている。

動物実験では遅延受精・遅延排卵の内在性要因, 排卵誘発, 高温, 化学物質等の外因が三倍体生成を促進することが知られている。性行動の特殊性からヒトでは遅延受精が多いと推定され, 排卵の遅れと三倍体の関連も指摘されている。ラットにおいて遅延受精, 遅延排卵が dispermy を誘起する事実と, ヒト三倍体は dispermy 起原が多いことから上記内在性要因の重要性はおのずから明らかである。しかしながら, 動物実験での成績の評価には注意が肝要であり, 結論はヒトにおける地道な検証にまたねばならない。受精の場に至る精子の数は多くはないが, 少なくとも卵の数倍はあり, 偶然に dispermy の起こる可能性もある。dispermy 起原三倍体が種間, 系統間に普遍的な原因をここに求めることもあながち否定することはできない。

4. 数的染色体異常の生成機序——卵子形成・初期卵割レベルの研究: 上口勇次郎 (旭川医大・生物). Causal Mechanism of Numerical Chromosome Aberrations——Studies in Stages of Oogenesis and Early Cleavage: Yujiroh KAMIGUCHI (Dept. Biol. Sci., Asahikawa Med. Coll., Asahikawa).

数的染色体異常の生成原・生成機序の解明には, 異常が生じる配偶子形成・初期卵割レベルでの研究が重要であるが, 実験動物を用いた従来の研究は以下のような点で方法論的再検討の時期にきている。

1) きわめて限定された数の核板しかもたない卵の染色体研究では, 特に安定した標本作製技術が要求されるが, 従来の Tarkowski 法を用いた研究結果では標本作製の成功率が低く (約50%), 低数性異常出現頻度のみが極端に高いばかりでなく, 対照群の異数性出現頻度が研究者間で大きく異なるなど技術的欠陥は明らかである。2) 従来, 実験動物としてマウスが用いられた場合が多いが, この動物では一般に性周期が不安定なため遅延排卵や遅延受精等の染色体異常誘発要因が実験系に混入しやすい。3) 一度に多数の検体を得る目的でしばしば行われている排卵誘発そのものが, 染色体異常誘発の原因になっている可能性がある。

以上の観点からわれわれの研究グループでは, 1) 安定した性周期をもち, 染色体分析も容易なチャイニーズハムスターを用い, 2) 他の染色体異常誘発要因を排除した厳密な実験条件を設定し, 3) 従来より成功率・信頼度の高い染色体標本作製法 (漸進固定・空気乾燥法) を開発したうえで, 異数性生成機序に関する二, 三の説の再検討を行った。

A. 染色体早期分離説: この説には, a) 老齢個体の卵子の第一成熟分裂中期における一価染色体形成 (相同染色体の早期分離), あるいは, b) 卵管内過熟卵の第二成熟分裂中期にみられる染色体分の早期分離が染色体不分離の原因になるとする二説があるが, われわれの結果では, a) 一価になる

染色体と不分離を起こす染色体の間に直接的関連はない, b) 排卵後30時間を経た卵管内過熟卵でも染色体早期分離はみられないなど, 前述の説を否定する結論が得られている. また, a) に関連して, 1) 母体の加齢は第一, 第二成熟分裂および卵割期のいずれでも不分離を誘発し, 2) その頻度は第一成熟分裂期で最も高く, 3) 不分離はどの染色体でも起こりうるもので特定の染色体に多発する傾向はない, などの知見も得られている.

B. 紡錘体形成異常説: この説は濾胞内および卵管内過熟卵で観察される紡錘体形成不全・退化とそれに伴う染色体の異常行動が不分離の成因であるとする説である. 最近, われわれは類似の作用をもつコルヒチンの処理により卵子の第一成熟分裂期に高頻度の不分離が誘発されることをみたが, 紡錘糸の異常が染色体不分離の直接的原因である可能性は強い.

染色体異常生成原の決定・評価には前述した方法論を十分考慮し, 成熟分裂・初期卵割の各期における異常の種類, 出現頻度について多角的に検討する必要がある.

5. 染色体異常生成原の検討——疫学および実験疫学的接近——: 山本正治 (新潟大・衛生).
Epidemiological and Experimental Epidemiological Studies on Origins of Chromosome Anomalies: Masaharu YAMAMOTO (Dept. Hygiene & Prev. Med., Niigata Univ., Niigata)

妊娠初期の人工妊娠中絶症例の染色体異常について, コーホート・タイプの疫学研究を行った. 本研究では, 父親側の情報を得ることの難しさを除けば, 母体側の異常発生に深い係わりをもつ受精前後の生殖生理学的変化, その他を詳細に聴取できる. また, 妊娠初期では染色体異常有病率が高いため, 新生児集団に比較して少数例で要因の解析が可能である.

最終月経初日から起算して12週までに社会経済的理由によって中絶を行った婦人1,661例について調査を実施した. 手術直前に産科的既往歴, 疾病既往歴, X線照射や薬剤服用の有無を調べた. その後, 手術によって得た材料とくに絨毛を用いて, 直接法による染色体分析を行った.

染色体分析は1,250例について成功した. 最終月経時の母年齢平均は28.0歳で, 最年少17歳から最高46歳まで分布していた. 平均胎齢は 8.4 ± 1.39 週であった. 染色体異常を認めたものは80例で, 異常頻度は6.4%であった. 新生児集団および自然流産集団の染色体異常頻度から推定した妊娠初期の染色体異常有病率の算出を行い, 本研究で得た異常頻度と比較してみたところ, ほぼ近似した. このことは, 中絶手術で得た症例が一般集団における妊娠初期の染色体異常発生状況を, 正確に表しているものと考えられる.

最終月経初日から6週間前および終経後3週間の計9週間にうけた, 胸部X線の直接または間接照射の有無による染色体異常発生状況を調査した. しかし, 照射の有無によって染色体異常頻度に差を認めなかった. 同期間における解熱鎮痛剤の服用とすべての染色体異常発生状況を検討したところ, 服用群に有意の染色体異常発生をみた. しかし, 異常の型別にみたとき, トリソミー型異常発生に有意の差は存在せず, 三倍体発生にのみ差を認めた. 5歳ごとの母年齢階級別に服用群と非服用群の染色体異常発生状況をみたとき, 非服用群の異常発生は加齢にともなって, ほぼ指数関数的に増加する傾向を認めた. 服用群の異常発生頻度は40歳以上の群を除き, 常に非服用群より高かったが, その効果は, 年齢効果に対して相乗的というより, むしろ相加的であった. また, 漢方薬 (民間薬を含む) と総染色体異常についても, 服用群に有意の異常発生増加を認めた. しかし, 解熱鎮痛剤および漢方薬などの場合, 種々化学構造, したがって作用の異なるものが混在することや, 服用せざるをえなかった母体条件に関して, 理由がそれぞれ異なることのため, 因果関係が直接的か間接的かは, 本

調査では不明である。

一方、実験動物を用いたモデル研究を併せ行った。加齢雌マウスの F_1 胎仔にトリソミー型異常の発生を認めたが、三倍体発生増加はなかった。このことは、中絶症例と一致した所見といえるので、これら異常発生の要因解析に動物モデルを用い、いわゆる実験疫学的研究をヒト研究と相補的に進めるのが有効と考えられる。

6. ヒト染色体異常生成起原の検討——変異染色体解析法によるアプローチ：梶井 正 (山口大・小児). *The Origin of Numerical Chromosome Abnormalities in Man—The Use of Chromosome Heteromorphisms: Tadashi KAJII (Dept. Pediat., Yamaguchi Univ., Sch. Med., Ube)*

染色体分染法により識別しうるヒト変異染色体をマーカーとして染色体異常生成起原を研究した報告が、最近多数現れた。さらに血液型や各種酵素の多型も同様の目的に使用しうると考えられる。分染法としては Q-, C-, R- バンドまたはその組合せが多用されているが、最近開発された lateral asymmetry の現象を利用する 1 番染色体の多型は複雑な多型の組合せを示すから、その起原の追求には有力な手段になると思われる。わが国で開発された N-バンド, LBA 法も優れた方法である。

マーカーとして用いる変異染色体の条件としては、a) 分染の操作が簡単で再現性があること、b) 個々の細胞、あるいは組織の間で異型性が変化しないこと、c) 遺伝性があること、d) 第一成熟分裂で変異部とセントロメアとの間に交叉を生じないこと、などが挙げられる。分染法によるマーカーはいずれもセントロメアの近くにあるから交叉の影響を受けることはほとんどないと推定される。

変異染色体を用いる方法の欠点としては、a) 異型を有しない染色体があること、b) 調査例のすべてについて起原を同定しえないこと、がある。後者については分染法の進歩により急速に同定率が向上しつつあり、また同定不能の例について推計学的手法を用いて起原を推定する方法が発表されている。

従来成果としては、a) 21トリソミーの大部分は母（とくにその第一成熟分裂）由来だが、父由来の例もあること、b) 三倍体の大部分が二精子症によること、c) Ph' 染色体が単一クローンに由来すること、d) 良性卵巣嚢腫が卵細胞の第二成熟分裂の不分離による単為生殖 (parthenogenesis) に由来すること、e) 胞状奇胎が雄性生殖 (androgenesis) に起因すること、などがある。将来の研究の方向としては、a) 同定率を 100% に近づける手法の開発、b) 同一染色体上に分染法による異型と血液型あるいはアイソザイムの多型の存在するような組合せを利用する、c) モザイク・トリソミー、モザイク三倍体の起原の同定、d) 妊娠早期に失われるトリソミー、モノソミーの起原の同定、などが考えられる。常染色体のモノソミーの大部分は接合子の発生の早期に死亡すると推定されるから、初期のヒト接合子から染色体標本を作る手段を開発する必要がある。X染色体のモノソミーである Turner 症候群は生存率 1/300 のきわめて片寄った集団であるから、Xモノソミーの大部分を占める自然流産中のそれを調査する方が片寄らない結果が期待できる。黒人の自然流産で G6PD の多型を使用して X染色体の起原を追求する仕事がニューヨークで進行中であるから、近くその結果が発表されるものと期待される。

〔討論〕 阿波章夫 (放影研, 広島): チャイニーズハムスターを用いた実験研究によれば、第一成熟分裂の二価染色体の早期分離 (一価染色体形成) が小型染色体において著しいにもかかわらず、実際

に不分離を起こす染色体では小型染色体の頻度は必ずしも高くはないとのことだが、ヒトの自然流産胎児におけるトリソミー個体には小型染色体の異常が多いという点で、二価染色体の早期分離の傾向と一致すると考えられるがどうであろうか。

梶井 正(山口大・小児)：自然流産は人工流産に比べて遅い胎生期に起こるから、大きい染色体のトリソミー個体はすでに失われてしまっているのだと思う。

美甘和哉(旭川医大・生物)：一般に大型の染色体では遺伝的荷重も大きい。したがって、このような染色体の異常をもつ個体がきわめて早い時期に発生を停止して流産してしまうとみるのが妥当であろう。

山本正治(新潟大・衛生)：人工中絶症例での染色体異常発現については、染色体各群における異常頻度と同じ群における期待値との間に有意の差を認めていない。すなわち異常発生がとくに小型の染色体に多いとはいえない。

大浜絃三(広島大・産婦)：実験動物では、卵子の過熟、すなわち *delayed ovulation*, *delayed fertilization* などが染色体異常の発生に大きく関与していることは明らかと思うが、人間の場合には実際の染色体異常の発生にどの程度関与していると考えられるか。

梶井 正(山口大・小児)：私も同様のことを考えているが、はっきりした答は得られていないように思う。

大浜絃三(広島大・産婦)：同一夫婦よりの反復自然流産児の染色体検索により、トリソミーなどを反復して受胎しやすい者が存在するのではないかと言われているが、そのような状態が生ずる機序の解明のアプローチはどのようになされるべきか、またいかなる機序が考えられるか。

梶井 正(山口大・小児)：繰り返しトリソミーを産み、あるいは流産する母親については、トリソミーの起原を調べて、同じ親(父または母)の配偶子形成過程の同じ段階で起こっていることが証明できればよいと思う。

松永 英(遺伝研・人類遺伝)：ショウジョウバエでは不分離を起こす劣性遺伝子が知られている。ヒトの場合には、ダウン症児の母方の祖父母における近親婚は増えておらず、不分離を起こす劣性遺伝子が存在するという証拠はない。

美甘和哉(旭川医大・生物)：重要な問題であるから、動物実験でも同腹効果があるかどうかについて注意深く検討していく必要があると思う。

松永 英(遺伝研・人類遺伝)：山本正治氏の発表で、解熱剤や漢方薬の服用群に胎芽の染色体異常が増加していたという所見は、もっとも注目すべきで、さらに慎重な疫学的解析が望まれる。ただ、生成機構の全く異なる三倍体とトリソミーとが同じ程度に増加しているようにみえるのは *puzzling* である。

美甘和哉(旭川医大・生物)：三倍体とトリソミーではたしかに生成機序は異なるが、*delayed ovulation* のように多倍体と異数体の両方を増加させるような原因もあるので、ある要因でこの二つが同時に増加することがあっても、そのこと自体は必ずしも *puzzling* ではないと思う。

松永 英(遺伝研・人類遺伝)：動物実験で遅延排卵・遅延受精を誘発させたとき、なるほど三倍体とともに異数体も増加するが、その反応の仕方は違っていると思う。

荻田善一(富山医大・和漢薬研)：薬物による染色体異常発生率に及ぼす影響についての山本先生の発表の中で、少し気になる点がある。漢方薬を常用する婦人の人工中絶胎芽に染色体異常の発生率が高いということで、もう少し詳しく話をしていただきたい。

山本正治(新潟大・衛生)：和漢薬の染色体異常については、まだ例数が少ないため、得た数値が

十分信頼に足るか否かわからない。今後例数を増やして再検討する必要があると考えている。

刈茅 茂 (久留米大・小児)：習慣性流産・卵巣機能不全等における染色体検索を行う中で、患者の子宮内壁の組織標本に類似性がみられると教えられたことがある。これらの患者は高齢出産の対象となる人々であるが、D群、G群での Satellite formation が比較的多くみられると思う。異常の誘因となる理由の一つにホルモナルなものがあると思うが、核領域のホメオスタシスを動かすことがこのような異常の根本的な理由となるのではないかという研究データはないであろうか。ホルモン・タンパク質・gene・読み取りという関連で教えてもらいたい。また、デバケンが異常を惹起したというデータがあるかどうか。

美甘和哉 (旭川医大・生物)：最初のご質問には、残念ながら染色体異常の成因との関連でお答えできる資料をお持ちの方は、演者にも会場の方たちの中にもおられないようです。

山本正治 (新潟大・衛生)：第二のご質問ですが、解熱鎮痛剤を除いて、他の薬剤については例数が少ないため十分分析ができていない。ご質問の抗ケイレン剤についても不明である。