

学位論文題名

CYTOGENETICAL ANALYSIS OF RADIATION-AND
CHEMICAL-MUTAGEN-INDUCED MUTANTS
IN HUMAN LYMPHOCYTES

(放射線および化学突然変異原物質によって誘発された
突然変異ヒトリンパ球における細胞遺伝学的研究)

学位論文内容の要旨

染色体異常は自然発生突然変異としても生じるが、電離放射線や化学物質によっても誘発される。多くの突然変異原物質は遺伝子突然変異と染色体異常を誘発すると考えられており、突然変異体について細胞遺伝学的解析を行うことは、その発現のメカニズムを知る上で重要な情報を提供するものと思われる。しかし、染色体分析には多くの時間と労力を必要とし、突然変異体に対するこれまでの細胞遺伝学的研究は、特にヒト細胞を対象とした場合必ずしも十分ではない。また、マウスやチャイニーズハムスター細胞での報告を含めても、突然変異の発現と染色体異常との間には一定の関係は認められていない。

本研究では、突然変異と染色体異常の関連を調べるために、3個の異なる遺伝子、hypoxanthine phosphoribosyltransferase (HPRT)、thymidine kinase (TK)、組織適合抗原(HLA-A)を選び、それぞれの遺伝子突然変異体について、細胞遺伝学的解析と遺伝子解析より検討を行った。

1)HPRT突然変異体：原爆被爆者および非被爆者の末梢血中のHPRT欠損突然変異T-リンパ球を分離し、その染色体分析を行った。被爆者群および非被爆者の対照群ともに染色体異常の出現頻度は同様であり、また、原爆放射線との関連性は見られなかった。しかし、HPRT欠損変異体で、X染色体の異常がみられた細胞では、X染色体の異常部位はHPRT遺伝子が存在するXq26であった。また、この異常に関与したX染色体は活性化Xであった。これらのことから、HPRT突然変異はX染色体の特定部位の異常と密接な関連性があると考えられた。

2)TK突然変異体：ヒトリンパ球系細胞株より、TK欠損突然変異コロニーを分離した。突然変異体コロニーはそれが由来した親細胞と同様な染色体異常を示したが、突然変

異誘発薬剤の処理で得られたTK欠損コロニーでは、新たな染色体異常が見いだされ、その中の1個に第17染色体の異常が観察された。その異常箇所はTK遺伝子座の近傍であった。これらの結果からTK突然変異と特異的染色体異常との関連性が示唆された。

3)HLA-A突然変異体：ヒト末梢血中のT-リンパ球のHLA-A突然変異体（体内自然発生突然変異体）と採血後試験管内でX線照射して得られた突然変異体コロニーの染色体およびHLA-A遺伝子分析を行った。前者のコロニーでは特定染色体異常の頻度は低かったが、X線誘発コロニーでは第6染色体の部分欠失がみられ、その欠失部位はHLA-A遺伝子座を含む6p21-p23であった。また、これらHLA-A突然変異体ではHLA-遺伝子が欠失していた。したがって、染色体分析で見られた欠失はその特定領域の遺伝子座の欠失を示しており、細胞遺伝学的分析が分子レベルの解析で確認された。

ヒト細胞における突然変異に関する細胞遺伝学的研究は、これまで主としてHPRTとTK遺伝子突然変異体について行われてきた。本研究では、まず始めにこれらの遺伝子突然変異体を用いて、染色体異常と遺伝子突然変異の関連性の有無を詳細に調査したが、これまでの分析結果と同様、遺伝子レベルの異常は必ずしも染色体レベルの異常を伴っていなかった。その原因として、使用した変異原あるいは細胞の種類によって結果が異なる可能性や現状における染色体異常検出法の感度の低さが考えられる。

一方、HLA-A遺伝子に関しては、放射線誘発突然変異体において遺伝子の欠失が頻繁に生じ、その欠失は染色体レベルで検出可能な大きさの変化を伴っているという、初めての知見を得た。

以上の結果から、HLA-A突然変異体ではHLA-A遺伝子座を含む大きな欠失があってもその細胞は生存可能であるが、HPRTとTK突然変異体では染色体レベルで検出可能なほど大きな異常は致死に至ると考えられる。このような違いは、対象遺伝子とその周囲の他の遺伝子を含む大欠失をもつ突然変異体の生存能に差があるためと思われ、異なった遺伝子座を含む染色体欠失をもつ細胞の生存力に関して、ヒトのゲノムは極めて不均質である可能性を示している。ゲノムは同じ大きさの異常に対して必ずしも同じような生物学的反応を示すとは限らないと思われる。従って、ゲノムがどの程度の異常に耐えられるかは、他の遺伝子座に関する同様の実験を積み重ねないと予想出来ない。また、蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション法などの新しい技術を応用することにより染色体レベルと分子レベルの解像力のギャップを埋める試みがなされない限り、突然変異の発現と染色体異常の関連性について、より正確な情報は得られないことを本研究の結果は示している。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 吉 田 廸 弘
副 査 教 授 堀 浩
副 査 教 授 高 木 信 夫
副 査 助 教 授 阿 部 周 一

学位論文題名

CYTOGENETICAL ANALYSIS OF RADIATION-AND CHEMICAL-MUTAGEN-INDUCED MUTANTS IN HUMAN LYMPHOCYTES

(放射線および化学突然変異原物質によって誘発された
突然変異ヒトリンパ球における細胞遺伝学的研究)

児玉喜明提出の学位論文は主論文(英文)と参考論文(36編)よりなる。主論文はヒトリンパ球における特定遺伝子の突然変異に関する研究である。

染色体異常は自然発生突然変異としても生じるが、電離放射線や化学物質によっても誘発される。多くの突然変異原物質は遺伝子突然変異と染色体異常を誘発すると考えられており、突然変異体について細胞遺伝学的解析を行うことは、その発現のメカニズムを知る上で重要な情報を提供するものと思われる。

本研究では、突然変異と染色体異常の関連を調べるために、ヒトリンパ球系細胞を用い3種の遺伝子、hypoxanthine phosphoribosyltransferase (HPRT)、thymidine kinase (TK)、組織適合抗原(HLA-A)のそれぞれの遺伝子突然変異体について、細胞遺伝学的解析と遺伝子解析により検討を行った。

1)HPRT突然変異体: 原爆被爆者および非被爆者の末梢血中のHPRT欠損突然変異T-リンパ球を分離し、その染色体分析を行った。被爆者群および非被爆者群ともに染色体異常の出現頻度は同様であり、原爆放射線被爆との関連性は見られなかったが、HPRT欠損変異体細胞の一部にHPRT遺伝子座の特定部位(Xq26)の異常がみられたことから、HPRT突然変異はX染色体の特定部位の異常と密接な関連性があると考えられた。

2)TK突然変異体: リンパ球系細胞株より、TK欠損突然変異コロニーを分離し、染色

体分析を行った。TK欠損コロニーの一つにTK遺伝子座の特定部位(17q)での染色体異常が見いだされ、この特異的異常がTK突然変異に関与していることが示唆された。

3)HLA-A突然変異体：ヒト末梢血中のT-リンパ球についてX線照射により突然変異体細胞を得た。これらの細胞では第6染色体の部分欠失がみられ、その欠失部位はHLA-A遺伝子座を含む部位(6p21-p23)であり、さらにこれらの細胞ではHLA-遺伝子の欠失をともなっていた。したがって、染色体分析で見られた欠失はその特定領域の遺伝子座の欠失を示しており、細胞遺伝学的分析が分子レベルの解析で確認された。

以上のようにヒト細胞の突然変異体において、染色体異常と遺伝子突然変異の関連性の有無を詳細に調査したが、遺伝子レベルの異常は必ずしも染色体レベルの異常を伴っていなかった。しかしながら、HLA-A遺伝子に関しては、放射線誘発突然変異体において遺伝子の欠失が頻繁に生じ、その欠失は染色体レベルで検出可能な大きさの変化を伴っているという新たな知見を得た。これは、HLA-A突然変異体ではHLA-A遺伝子座を含む大きな欠失があってもその細胞は生存可能であるが、HPRTとTK突然変異体では染色体レベルで検出可能なほど大きな異常は致死に至ると考えられる。このような違いは、対象遺伝子とその周囲の他の遺伝子を含む大欠失をもつ突然変異体の生存能に差があるためと思われる。これらについては、さらに他の遺伝子座について行う必要があるが、本研究はこのような細胞生存に関する染色体や遺伝子の機能、役割等を分析する上で新たな手法を開発したものとして注目されている。

参考論文は主論文の内容に直接関連した3編の論文の他に、原爆被爆者の染色体異常、実験腫瘍の核型、ラットやマウスの各系統の核型的特徴、仁形成部位分染法の開発などに関する論文等計36編よりなり、国内外の国際学術専門誌に発表し、それらの内容はいずれも新知見を含むものとして関連分野において高く評価されている。

審査員一同は主論文と参考論文の内容を慎重に検討した上で、申請者が博士(理学)の学位をうけるに十分な資格を有することを認めた。