生体に対する放射線の作用

DNA に対する作用と遺伝的危険度の評価

(茨城大学理学部) 秋 田 康 一

放射線の生物作用の最も重要な標的分子は遺伝子の化学的本体の DNA であり、紫外線によるピリミジン二量体の生成、電離放射線によるポリヌクレオチド鎖の切断が生物作用の主因である。

細胞はこのような放射線損傷を修復する機構をもっている。それにはいくつかの酵素が関係しているが、酵素の一部を欠く突然変異株では修復がうまくゆかず、放射線に対して高い感受性を示す。放射線による突然変異の誘発も、DNA の損傷が修復される際に“誤り”が起こることによるのである。このような知見に関連して、放射線の遺伝的影響ならびに国連科学委員会が1972年度報告に示した緩照射による遺伝的危険度の評価について述べる。

I. はじめに

第2次大戦以後における生物学の進歩は誠にめざましく、生命の特質ともいべき自己増殖や遺伝のしくみが分子のレベルで解明され、分子生物学と呼ばれる新しい分野が開かれた。このような生物学の進歩を背景として、生物に対する放射線作用の研究も飛躍的に発展し、放射線が遺伝子の化学的本体である DNA にどのような損傷を与えるかが明らかになり、さらに細胞は DNA 損傷を修復する能力をもつことが発見された。

放射線の生物作用については、本誌に江藤の「放射線の生物学的影響と身体的影響の評価」⁽¹⁾についての解説があるから、本稿では DNA の放射線損傷とその修復、放射線の遺伝的影響に重点をおいて述べることにしたい。

II. 放射線作用の標的理論⁽²⁾⁽³⁾

周知のように、生体は放射線に高感受性であり、ヒトを初め多くの哺乳動物の半致死線量 LD_{50} (照射されたものの 50% が死ぬ確率のある線量) は 300~800 rad である。1 rad は吸収線量の単位であり、

$$1 \text{ rad} = 100 \text{ erg/g} = 6.24 \times 10^{13} \text{ eV/g}$$

である。したがって、 LD_{50} の放射線エネルギーが全部熱になったとしても、体温を 0.001°C ほど上昇させるにすぎない。

放射線がこのように僅かなエネルギー吸収で致死作用をもつのは、生体を構成する細胞のなかに放射線に特に敏感な構造すなわち標的 (target) があり、放

射線が標的のどこかに微小でしかも標的の機能を喪失させるような傷すなわちヒット (hit) を生じると、細胞の死ひいては個体の死がひきおこされるというのが、標的理論 (target theory) の基本的な考えである。

標的理論は放射線量と効果 (例えば細胞死) との関係から、細胞内にある標的の大きさや数を知り、それから細胞内に存在する各種の微細構造 (例えば核、染色体など) のどれが標的であるかを推定しようとするものである。

いま、細胞が1個のヒットで機能を失う標的を1個だけもっているとすると、線量 D により標的内に平均 λ 個のヒットが生じている場合、細胞が生き残る確率 (生残率) S は標的に1個もヒットを生じない確率 $e^{-\lambda}$ に等しい。 λ は線量に比例するから、

$$S = e^{-\lambda} = e^{-kD} \quad (k: \text{比例定数}) \quad (1)$$

である。したがって、生残率の対数は線量 D の直線関数となる。

標的に平均1個のヒットを生じているときの生残率は $e^{-1} = 0.3678 \dots$ であるから、生残率を37%にする線量は標的に平均1個のヒットを与える線量である。これを D_{37} (37% 生残率線量) または D_0 (平均致死線量 mean lethal dose) という。 D_{37} から標的の容積または質量を求めることができる。

ところで、標的が2個以上あるか、標的の不活性化に2個以上の致死ヒットが必要な場合には (1) 式は適用できず、標的の条件に応じて生残率と線量との関係

Actions of Radiations on Living Matter, with Special Reference to Effects on DNA and Evaluation of Genetic Risks, Yasukazu AKITA.

を求めねばならない。例えば、1個のヒットで不活性化される m 個の標的がある場合には、生残率と線量との関係は次式で与えられる。

$$S = 1 - (1 - e^{-kD})^m \quad (2)$$

この式は線量-生残曲線(dose-survival curve)がシグモイドになることを示すが、 $kD \gg 1$ のときには

$$S \approx me^{-kD} \quad \therefore \log S = \log m - kD \log e$$

である。したがって、高線量域では $\log S$ は D の直線関数となり、この直線を $D=0$ に外挿して m を求めることができる。

20世紀前半の放射線生物学は標的理論を中心に発展したといっても過言ではなく、線量-生残曲線から放射線的作用機構を解明しようとする多くの研究がなされた。それらの成果は Lea の著書²⁾にまとめられている。その後、分子生物学の発展により、放射線生物学の最も主要な標的は DNA 分子であることが明らかになり、線量-生残曲線から、標的の大きさや数を求めることは意味を失ったが、 D_0 値や m 値は生残曲線の特性を記述するパラメータとして使用されている。これらの値は細胞の放射線感受性やその変動を示すのに有効であり、また後に示すように、 D_0 値から各種放射線により DNA 分子に生じる障害の致死効率が求められる。

Ⅲ. DNA の化学的構造と生物学的機能

放射線作用の標的分子が DNA であることは、かなり前から推定されていたが、1960年以降、DNA の放射線損傷に関する研究が急速に進展した。それについて述べる前に、DNA の構造と働きについて簡単に説明しておこう。

1. DNA の構造とその複製

DNA は通常塩基と呼ばれるアデニン(A)、グアニン(G)、チミン(T)、シトシン(C)と五炭糖の誘導体であるデゾキシリボースおよびリン酸から構成されている。これらは第1図に示すように、塩基-デゾキシリボース-リン酸の順に結合してデゾキシヌクレオチドをつくる。塩基には4種があるから、ヌクレオチドも4種できるが、これらのヌクレオチドはリン酸を介して結合し、糖-リン酸-糖の順で1列に並んだポリヌクレオチドの鎖をつくる。この鎖が2本ラセン状に巻きながら組み合わさり、より糸のようになったのが DNA である。この構造の最も著しい特徴は、4種の塩基がそれぞれラセンの中心軸に向かって突出し、一方の鎖の A は他方の鎖の T と、G は C と向き合い、その間に水素結合ができて二重ラセンを安定に保っていることで

第1図 DNA の構造模型

ある。したがって、一方の鎖の塩基配列が C-A-T-A-A-G だとすれば、他方のそれは G-T-A-T-T-C である。

細胞核に含まれている DNA の含量は、それぞれの細胞ではほぼ一定であり、細胞が分裂する際には、それに先立ち DNA の合成が行われる。

DNA の合成は DNA polymerase と呼ぶ酵素の働きによるが、まず二重ラセンがほどけて1本ずつの鎖となり、それぞれの鎖で4種のデゾキシヌクレオチド3リン酸が、Aに対してはT、Gに対してはCが対応するように並ぶ。次にヌクレオチド3リン酸からリン酸2分子(ピロリン酸)がはずされ、残っているリン酸が隣りのヌクレオチドのデゾキシリボースと結合する。この過程が繰り返されて新しいポリヌクレオチド鎖が次第に延長し、それと古い鎖との間に水素結合ができ、前と全く同じ塩基配列をもつ DNA 分子が2分子つくられる。このようにして合成された DNA は、細胞が分裂する際、核に現れる染色体によって娘細胞に均等に分配される。したがって、すべての細胞は分裂を通じて母細胞の DNA と全く同じ塩基配列をもつ DNA を受けとることになる。

2. 蛋白質合成における DNA の役割

蛋白質の1次構造, すなわちそのポリペプチド鎖におけるアミノ酸の配列順序は蛋白質によって定まっており, 1次構造が違えば蛋白分子の形や性状, 機能なども相違する。

細胞内では多種多様の蛋白質が合成されるが, それらはみな特定の1次構造をもっており, しかもその細胞に固有なものである。これは遺伝子である DNA が細胞内で合成される蛋白質の1次構造を指令しているからである。すなわち, DNA の塩基配列は, いわば A, G, T, C の4文字で書かれた暗号書であり, そのうちの3文字の組合せ(例えば ATG, CCA など)が, それぞれ1つのアミノ酸を規定している。この3つ組をコドン(codon)という。蛋白質を構成する20種のアミノ酸に対するコドンは完全に解読されており, また DNA の塩基配列をアミノ酸配列に翻訳して, 特定の1次構造をもつ蛋白質が合成される仕組みも, その大筋が明らかにされている。

IV. 放射線による DNA の損傷⁽³⁾

DNA の構造や働きが明らかになるにつれて放射線が DNA 分子に生ずる損傷の研究も進み, 分子放射線生物学と呼ばれる新分野が誕生した。この方面の研究が発展する端緒を開いたのは紫外線の生物作用の研究であるから, まずこれについて述べる。

1. 紫外線による DNA 損傷⁽⁴⁾

紫外線に強力な殺菌作用のあることはかなり古くから知られていたが, 1960年代になって, 紫外線照射により DNA のポリヌクレオチド鎖上に隣接しているチミンが第2図に示すような二量体(dimer, 以下に $\hat{T}\hat{T}$ と略記)をつくることが発見され, Setlow とその共同研究者⁽⁵⁾は $\hat{T}\hat{T}$ の生成が紫外線の致死作用の主因であることを明らかにした。二量体は隣接するシトシンやシトシン-チミン間でもできる。すなわち, 紫外線

第2図 チミン量体

はピリミジン二量体($\hat{P}\hat{P}$)を生成するのであるが, $\hat{T}\hat{T}$ が最も出来やすい。大腸菌で $\hat{T}\hat{T}$, $\hat{T}\hat{C}$, $\hat{C}\hat{C}$ の生成する割合は5:2:1である。 $\hat{P}\hat{P}$ の生成は細菌ウィルスであるファージ(phage)や哺乳類培養細胞でも確かめられている。

大腸菌には紫外線に対し特に感受性の高い突然変異株がいろいろ知られているが, $\hat{P}\hat{P}$ の生成量は感受性によって相違せず, 単位線量(1 erg/mm²)当りの生成効率はその株でも菌の DNA 当り約6個である。感受性の低い野生型の D_0 値は300~500 erg/mm² であるから, 1個の致死ヒットにつき2,000~3,000個の $\hat{P}\hat{P}$ が生成することになる。野生株では二量体の致死効率がきわめて低いのは, 細胞が生成した二量体を能率よく修復するためである。後に述べるように, 修復機構が全然働かない場合には, 1個の $\hat{P}\hat{P}$ が致死ヒットとなる。(第1表参照)

DNAの紫外線損傷としては, 二量体の生成のほかにシトシンの水和(hydration)が知られている。しかし, この水和が紫外線の生物作用にどんな役割をしているかは, まだよくわかっていない。

2. 電離放射線による損傷⁽⁶⁾

X線, γ 線などの電離放射線が DNA 分子に与える損傷は, 照射時における酸素の有無, 直接作用か間接作用*かなどによって相違する。その主なものとして, ①ポリヌクレオチド鎖の切断, ②塩基の変化または破壊, ③デゾキシリボースの変化または破壊, ④ポリヌクレオチド鎖間の架橋(cross linking)が挙げられる。これらの変化のうち, 致死効果の最もよく研究されているのはポリヌクレオチド鎖の切断である。DNAは二重らせん構造をもっているから, 二重鎖のどちらか一方だけが切断される1本鎖切断と, 両鎖が同時に切断されてDNA分子が2分される2本鎖切断とで, 致死効果は著しく相違する。

Freifelder (1965)⁽⁷⁾は, T7 ファージをリン酸溶液中で照射した場合, ファージの死(宿主細菌内における増殖能の喪失)と2本鎖切断とが1対1に対応することを見出した。一方, 1本鎖切断は2本鎖切断1に対し10~20の割合で生じるが, この場合には A:T, G:C間の水素結合により二重らせん構造が保持され, ファージが菌体内に侵入すると, 後に述べる修復機構

* 放射線エネルギーが DNA 分子に直接吸収されて化学変化を起こす場合を直接作用, 細胞内に最も多量にある水分子に吸収されて H, OH ラジカルを生じこれらのラジカルが DNA に作用する場合を間接作用という。

が働いて大部分の切断が再結合される。したがって、1本鎖の切断だけでは通常致死作用を示さない。しかし、 $\phi \times 174$ のような1本鎖のDNAをもつファージは、1個の1本鎖切断によっても不活性化される。

X線によるヌクレオチド鎖の切断は細菌や哺乳類の培養細胞でも観察されている。大腸菌を培養する際、プロモデオキシウリジン(BUDR)を加えておくと、チミジンの代わりにBUDRが取り込まれて放射線感受性が2~3倍増大するが、単位線量当りの2本鎖切断も同じ割合で増加する。したがって、細菌類でも2本鎖の切断が致死作用の主因と考えられる。

ヌクレオチド鎖の切断がどのような機構で起こるのかはまだよくわかっていないが、DNAの水溶液を照射した場合、各ヌクレオチドを連結するリン酸エステル結合や、デオキシリボースのC3'-C4'間の結合が切断されることが知られている。

V. 放射線によるDNA損傷の修復⁽⁸⁾⁽⁹⁾

DNAの紫外線損傷が $\hat{P}P$ の生成にあることが明らかになって間もなく、細胞は生成した二量体を除去してDNA分子を元通りに修復する能力をもつことが発見された。この発見を導火線として、DNA損傷の修復機構に関する研究が急速に発展し、修復にはいくつかの酵素が関係していること、これらの酵素のどれかを欠く突然変異株は放射線に対して高い感受性を示すことが見出された。DNAに生じる損傷は、紫外線と電離放射線とで著しく相違しているが、修復機構は少なくとも一部は両者に共通しており、紫外線に対して高感受性のものの多くはX線に対しても高感受性である。

なお、この修復機構は単に放射線によるDNA損傷に働くばかりでなく、環境中に存在する各種の化学要因、例えば4NQO(4-ニトロキノリン1-オキシド)、ニトロソグアニジンのような発癌物質によるDNA損傷の修復にも関係している。前に述べたように、DNAは高度の秩序性をもつ生命に特異的な物質であり、修復機構はこの秩序性の維持に重要な役割を果たしているのである。この意味で、修復機構の発見は生物学的にも意義深いものであるが、またその研究を通じて、放射線傷害の防止や治療に新しい途の開かれることが期待されている。

1. 紫外線損傷の修復

紫外線損傷の修復機構として、①光回復(photo-recovery)、②除去修復(excision repair)、③複製後修復(post-replication repair)の3つが知られて

いる。

(1) 光回復¹⁰⁾

紫外線を照射した細菌に波長320~460 nmの可視光線をあてると致死率が著しく低下すること、すなわち可視光線が紫外線傷害を回復させることを最初に報告したのはKelner(1949)⁽¹¹⁾である。その後、いろいろな生物について紫外線による細胞死、分裂遅延、突然変異の誘発などが光回復されることが確かめられた。光回復は光回復酵素と呼ぶ特殊な酵素の働きに基いている。この酵素は光エネルギーを吸収して活性化され、 $\hat{P}P$ を開裂して元のピリミジンに戻す作用をもっており、生物学的には興味深い、 $\hat{P}P$ にだけ特異的に作用して電離放射線による損傷には無関係である。

(2) 除去修復

紫外線による $\hat{P}P$ の生成が発見されて間もなくSetlow & Carrier⁽¹²⁾およびBoyce & Howard-Flanders⁽¹³⁾はそれぞれ独立に、大腸菌は二量体を除去してDNAを元通りに修復できることを見出した(1964)。第3図は除去修復の機構を模式的に示したものである。

$\hat{P}P$ の生成により二重らせん構造に変化を生じると、 $\hat{P}P$ の近くに切れ目を入れる紫外線特異性のエンドヌクレアーゼが働く。その結果、ポリヌクレオチド鎖に小さな間隙を生じるが、切断端の一方から修復合成が始まり、新しい鎖がつくられる。この修復合成はDNA複製の場合と同様であり、DNAポリメラーゼの働きによる。(dXTPは4種のデオキシヌクレオシド3リン酸を示す)。修復合成が間隙のもう一方の端に達すると、DNAポリメラーゼがヌクレアーゼとして働き、 $\hat{P}P$ を含むオリゴヌクレオチドを切り取る。その切断端からヌクレオチドがつぎつぎに切り取られる一方(この切り取りもDNAポリメラーゼの働きによる)、修復合成により新しい鎖が延びてゆく。最後に新しい鎖と元の鎖が連結酵素 ligase (NADはその補酵素)によって結ばれて修復は完了する。

第3図 除去修復の模型(Kellyら⁽¹⁴⁾による)

大腸菌では除去修復能のない突然変異株がいくつか得られており、これらはいずれも紫外線に高感受性である。除去修復能を支配している遺伝子を *uvr* と呼び、遺伝子座*の違う A, B, C, D の4種が知られている。

除去修復の際には DNA polymerase による修復合成が行われるが、最近 Lucia & Cairns⁽¹⁵⁾ は、この酵素を欠き紫外線に高い感受性を示す突然変異株 (*pol*⁻株**)を発見して大きな波紋を引きおこした。従来 DNA polymerase は DNA 複製酵素として知られていたのであるが、*pol*⁻株でも DNA 複製や菌の増殖は正常に進むから、DNA 複製と修復合成とは作用は似ているが、別の酵素が受け持っていることが明らかにされたのである。なお、紫外線照射後における修復合成は正常の DNA 複製の行われる合成期(S期)とは無関係に行われるから、これを不定期 DNA 合成(unscheduled DNA synthesis)という。

紫外線損傷の除去修復は、哺乳類の培養細胞でも認められている。興味深いのは色素性乾皮症(Xeroderma pigmentosum)と呼ぶ病気の患者の細胞では、除去修復能がないか、極めて弱いことである。色素性乾皮症は紫外線に過敏なため、太陽光線にさらされた皮膚の角質層や表皮層が肥厚して腫瘍を発生し、多くの場合癌化して若くして死ぬ遺伝病である。この患者の細胞は大腸菌の除去修復不能株と同じように、紫外線照射により生成したPP[†]を除去できず、また紫外線照射後に見られる“不定期 DNA 合成”を示さない。したがって、DNAにPP[†]が保持されていることが乾皮症患者のいろいろな症状の原因となり、ひいては癌化に導くものと考えられる。

(3) 複製後修復

除去修復がDNAの合成と無関係に行われるのに対し、DNAの複製後に進行する修復が複製後修復である。大腸菌で組換え機構**をもたない突然変異株が発見され、その株は除去修復能をもっているのに紫外線に高感受性であることから、除去修復とは別個の修復機構のあることが知られるようになった。

組換え機構を支配している遺伝子は *rec* と名付けられ、*rec A*, *rec B* など10近くが知られている。それらの突然変異株 *rec A*⁻, *rec B*⁻ などでは、いずれも紫外線に対し極めて高い感受性をもっている。したがって、組換え機構を利用した修復があると考えられる。これを組換え修復(recombination repair)と呼んでいる。組換え修復はDNA複製後に行われるから複製後修復の一種である。

組換え修復は除去修復とは別個のものであるから、組換え能をもたない *rec A*⁻ と除去修復能欠損の *uvr A*⁻ との組み合わせた二重突然変異株(*rec A*⁻, *uvr A*⁻)は、どちらかの遺伝子を単独にもつものよりも紫外線に対し高感受性である。第1表に示すように、平均致死線量が菌のDNAに生ずる二量体の数は *rec A*⁻, *uvr A*⁻ では1,2個であるのに対し、*rec A*⁻, *uvr A*⁻ ではそれぞれ16, 40である。*rec A*⁻, *uvr A*⁺ では除去修復が、*rec A*⁺, *uvr A*⁻ では組換え修復が働くから、これだけの二量体により1個の致死ヒットを生じるのである。野生型の *rec A*⁺, *uvr A*⁺ では両方の修復機構が働くから、致死ヒットに必要な二量体の数は3,000にも達する。これらの数値からも、細胞の放射線感受性の決定に修復機構がどんなに重要であるか

第1表 大腸菌の変異株の紫外線に対する致死感受性の比較 (Howard-Flanders⁽⁹⁾による)

株番号	DNA 修復		37%生存率における	
	遺伝子型			
	<i>recA</i>	<i>uvrA</i>	UV線量 (erg/mm ²)	10 ⁷ スクレオチド†当りの 二量体数
AB1157	+	+	500	3,200
AB1886	+	-	8	50
AB2463	-	+	3 50††	20 300††
AB2480	-	-	0.2 0.2††	1.3 1.3††

† 大腸菌1個当りのDNA含量をスクレオチド数で示すと8×10⁶になる。

†† 照射後にリン酸緩衝液に6hr保持したあと、完全培地で培養したときの37%生存率に対応する値。この処理により除去修復を起こさせることができるから、*rec*⁻, *uvr*⁺ではD₃₇が増大する。

* 遺伝子は染色体(DNAがそのまま染色体になっている場合にはDNA)上の一定の位置にあって、1列に並んでいる。染色体(またはDNA)において遺伝子が占める位置を遺伝子座という。同じ機能をもつ遺伝子がいくつかの遺伝子座にある場合には同じ遺伝子記号を用い、A, B, C...により区別する。

** *pol*⁻はDNA polymeraseをつくる遺伝子の記号。なお遺伝子記号の-は突然変異型を、+は野生型を示す。したがって *pol*⁻株はDNA polymeraseを欠く突然変異株である。

** 細菌類は通常、分裂によって増殖しているが、きたま有性生殖に相当する接合を行う。その際、2個の菌が接合して両者の間に連絡管ができ、ここを通して一方のDNAが相手の菌に移動する。移動してきたDNAと受入れ側のDNAとの間で部分的な交換が行われ、その結果遺伝子の組換え(recombination)が起こる。このような組換え機構も遺伝子の支配を受けている。

第 4 図 複製後修復の模型

を知ることができる。

組換え修復の機構はまだよくわかっていないが、Howard-Flanders ら⁽¹⁶⁾は第 4 図に示すような修復模型を提唱している。 $\widehat{PP}$ をもつポリヌクレオチド鎖を鋳型として DNA の複製が行われると、新しい鎖の $\widehat{PP}$ と向き合う位置にかなり大きなギャップ(約 10^3 個のヌクレオチドに相当)が出来るが、このギャップが組換え機構により埋められるのである。

なお、最近 Lehmann⁽¹⁷⁾はこのギャップが“新しい合成”(de novo synthesis)により埋められる可能性を示している。これも複製後修復の一種である。

(2) 電離放射線による DNA 損傷の修復

前述のように、電離放射線はポリヌクレオチド鎖を切断するが、McGrath & Williams(1966)⁽¹⁸⁾は、X線を照射した大腸菌を培養すると 1 本鎖切断が再結合されることを見出した。このような再結合は紫外線にも X 線にも高感受性の B_{-1} 株では見られない。また、V-1 節に述べた紫外線に対して高い感受性をもつ rec^- 株や pol^- 株は X 線に対しても高感受性であり、1 本鎖切断の修復に DNA polymerase や組換え機構が関係していることを示している。

最近 Town(1973)ら⁽¹⁹⁾は大腸菌における 1 本鎖切断の修復には 3 つの型があることを報告している。Type I の修復は極めて迅速に進み、 0°C でも 1 min 以内に完了する。この型の修復は pol^- 株でも見られるが、lygase の活性を抑制するような条件下では阻止される。したがって、放射線による切断が lygase の働きで直ちに再結合されるのが Type I の修復である。

Type II の修復もかなり早く進行し、Type I の修復により再結合されなかった切断の約 90% はこの系により修復される。この修復には DNA polymerase が必要であり、 pol^- 株では Type II 型の修復は見られない。また lygase も関与していることが知られている。DNA polymerase には exonuclease としての作

用があるから、この酵素の働きにより切断端からヌクレオチドが除去され、生じた小さな隙間は修復合成により埋められるのであろう。

Type III の修復は Type I, II に比較してゆっくり進行し、また 37°C で培養することが必要である。McGrath らの報告した再結合は、この Type の修復を見たのである。 rec^- 株では Type III の修復は見られないが、ごく僅かであるから、この修復には組換え機構が関与しているものと考えられる。

哺乳類の培養細胞でも 1 本鎖切断の修復が見られ、また、X 線照射後に“不定期 DNA 合成”の起こることも報告されている。この場合にも大腸菌と同様な仕組みが関係しているものと考えられるが、その解明は今後の課題である。

前述のように、電離放射線の致死効果は、主として 2 本鎖切断によっているが、その修復についてはこれまで多くの論議がなされており、なお不明な点が少なくない。しかし、放射線に対し高い抵抗性をもつ *Micrococcus radiodurans* では、2 本鎖切断の再結合が確かめられており、また哺乳類の培養細胞でも 2 本鎖切断の修復を示す証拠が得られている。

VI. 放射線の遺伝的影響⁽²⁰⁾

放射線は遺伝子である DNA にいろいろな損傷を与えるから、当然生物の遺伝にも影響する。放射線が突然変異を誘発することは、いまから半世紀近くも前の 1927 年に、アメリカの遺伝学者 Muller⁽²¹⁾ により発見された。当時は遺伝子の化学的本体が DNA であることは勿論、DNA の化学構造や働きも知られていなかったのであるが、そのような知見とは無関係に Muller はショウジョウバエに X 線を照射して、突然変異の頻度が線量とともに増大することを見出した。この発見は突然変異を人為的に誘発する道を開いたものであり遺伝学の発展に大きく貢献したばかりでなく、放射線

の遺伝的影響を研究する放射線遺伝学を発足させた。

突然変異には遺伝子突然変異(gene mutation)と染色体異常(chromosome aberration)の2種類がある。前者は個々の遺伝子の機能が変化したものであり、後者は遺伝子の容器ともいべき染色体の構造や数が変化したために起こる。放射線はこの両種の突然変異を誘発することができる。

1. 遺伝子突然変異

遺伝子突然変異はDNAの塩基配列の変化によって生じる。これには1個(ときには数個)の塩基が変化する微小変化と、かなりの数のヌクレオチドが1群となって脱落したり転位したりする大きな変化とがある。微小変化は点突然変異(point mutation)*ともいい、塩基の1つ、例えばアデニンが他の塩基へ変化したたり、A:T, G:Cのように相補的關係にある塩基対が脱落または追加することによって起きる。前の場合には1つのコドン(3つ組)が変化するだけで、蛋白質の1次構造にアミノ酸1個の変化を生じるにすぎないが、後の場合には、塩基対の脱落や追加のあった点から先のコドンが全部狂ってしまい、蛋白質の1次構造は大きく変化することになる。

塩基配列の大きな変化としては欠失、重複、逆位、転座**などが知られている。その多くはポリヌクレオチド鎖の切断、切断端の再結合により生じる。

前述のようにDNAが合成される際には、前と全く同じ塩基配列をもつDNAが複製されるのであるが、ときには複製に“誤り”が起きることがある。突然変異が低い頻度で自然にも生じるのはこのような“誤り”によるのである。一方、放射線が突然変異の頻度を上昇させるのは、放射線によりDNA分子に生じた損傷が修復される際に“誤り”が起きるためと考えられている。これに関連して興味深いのは、大腸菌の組換え不能株 *rec⁻* では放射線により突然変異が誘発されないという近藤らの報告⁽²²⁾である。この株は放射線に高感受性であり照射により高い致死率を示すが、生き残った菌には突然変異は見られない。一方、除去修復能のない *uvr⁻* 株に紫外線を照射すると、野生株よりも高い頻度で突然変異が誘発される。これらの事実は $\hat{P}P$ の生成により修復機構が働き出すが、除去修復が“誤り”のない(あるいはごく少ない)修復であるのに対し、組換え修復は“誤り”を起こしやすい修復であることを示唆している。*rec⁻* 株では除去修復により $\hat{P}P$ が除かれるから“誤り”は起こらず、一方 *uvr⁻* 株では組換え修復のみが働くから“誤り”を起こやすく、塩基配列の変化すなわち遺伝子突然変異を生じることにな

る。高等生物の場合にも、同じような仕組みで突然変異が誘発されるのかどうかは、今後研究されるべき興味ある課題である。

2. 染色体異常⁽²⁰⁾⁽²³⁾

細胞分裂の際、核に現れる染色体は普通糸状または粒状であり、その数は生物の種によって定まっている。また、各染色体はそれに特有な構造と大きさをもっている。ところで、多数の細胞について染色体を観察すると、ときに数の増減や形態、構造の変化が認められる。このような変化を染色体異常という。

よく観察される異常は、染色体が切断されてその一部を失った欠失や、切断端の再結合によって生じる転座、逆位などである。

染色体異常は自然にもごく低い頻度で起こるが、放射線はこの頻度を増加させる。染色体異常の研究には染色体が大きく観察の容易な植物細胞がよく用いられていたのであるが、最近、ヒトや哺乳類の白血球を培養する技術が開発され、照射を受けた動物やヒトの白血球を培養して染色体異常を調べたり、白血球を培養前または後に照射して、誘発される異常の頻度と線量との関係を調べる研究が急速に進んでいる。このような研究により、僅か数rad照射されたヒトでも、染色体異常が有意に増加していることや、原爆被災者の白血球では20年以上経過した後にも染色体異常が認められ、しかも被曝した位置が爆心に近い者ほど異常の頻度が高いことなどが明らかにされた。また異常の頻度から線量を測定する方法が開発され、1970年千葉で¹³²Irの被曝事故が起きた際、被曝者の白血球の染色体異常から推定した線量は、腕につけていた時計のルビーの熱ルミネッセンスから測定した値とかなりよく一致することが確かめられた。このような染色体異常が、それを保持しているヒトの健康にどのような影響を与えるのかはよくわかっていない点が多いが、体細胞の染色体異常が発癌や老化の原因になることを示す実験的根拠も得られている。

染色体は遺伝子の容器であるから、その大きな変化(例えば大きな欠失)は細胞の死をもたらし、生殖細胞に生じた染色体異常が細胞分裂を通じて細胞から細胞に伝えられ、遺伝的疾患を起こす例も知られている。例えばDown症と呼ばれる精神薄弱患者では、大きい方から数えて21番目の染色体が1本余分にあり、

* 点突然変異という言葉は遺伝子突然変異の意味に使われることもある。

** これらの変化が多数の遺伝子座にまたがるほど大きな場合には染色体異常として取り扱われている。

Turner 疾患者では性の決定に与かる X 染色体が 1 本しかなく、正常では 46 の染色体数が 45 になっている。

放射線により生殖細胞に誘発される染色体異常としても最もよく研究されているのは転座である。転座は 2 本の染色体が同時に切断され、一方の断片が他方の染色体と結合することにより生じる。2 本の染色体の間で相互交換が起こった場合を均衡型、一方の染色体は断片と結合するが他方は結合せず、断片の 1 つが失われた場合を不均衡型という。

不均衡型転座をもつ精子(または卵)が受精すると受精卵の発生が異常となり、早期に死亡して流産を起こしたり、無事に産まれても奇形を生じたりする。放射線により誘発される優性致死突然変異*の多くは不均衡型転座によることが知られている。一方、均衡型転座の場合には、それをもつ個体に特に有害な影響を現わさないが、生殖細胞形成の際に行われる減数分裂の結果、生殖細胞の半数は不均衡型転座をもつことになる。したがって、その子の半数は不均衡型転座をもつようになる可能性がある。(第 2 表の註†††を参照)

3. 遺伝的危険度の評価⁽²⁰⁾(24)

放射線の遺伝的危険度を評価するためには、線量と効果(突然変異誘発率)との量的関係を知ることが必要である。突然変異の人為的誘発に初めて成功した Muller は、誘発率が線量とともに増加することを示したが、その後ショウジョウバエについて劣性致死突然変異の誘発に関する詳細な研究が行われ、次のような点が明らかにされた。

(1) 突然変異の頻度は照射線量の直線関数である。

この直線を線量ゼロに外挿した値は自然突然変異の頻度と一致する。したがって、放射線による突然変異の誘発には閾値(これ以下の線量では突然変異を生じないという限界値)はないといえる。

(2) 一定線量の効果は線量率に依存せず、急照射(高い線量率での短時間照射)でも、緩照射(低い線量率で長時間にわたり徐々に照射)でも、また分割照射でも、総線量が同じなら効果は変らない。

この関係は放射線による突然変異誘発の一般原則と考えられ、国際放射線防護委員会(ICRP)もこの原則を基礎として許容線量を勧告している。

ところが、1958 年になってアメリカの Russel ら⁽²⁵⁾は、ハツカネズミの雄を X 線または γ 線で照射した場合、精原細胞**に生じる突然変異の頻度は線量率によって変化することを報告した。Russel らは特定の遺伝子座における劣性可視突然変異の誘発を調べたのであるが、緩照射 (0.009 R/min) の誘発率は急照射 (80

~90 R/min) に比して $\frac{1}{2}$ 以下であった。なお成熟精子を照射した場合には、ショウジョウバエと同様線量率効果は認められなかった。この結果はその後、雌の照射も加えたさらに大規模な実験で確かめられた。雌を照射した場合、卵母細胞**における線量率効果はさらに顕著であり、特に照射後 7 週間以上経過してから受精した場合には、258~400 R の γ 線を緩照射しても、誘発率は無照射の対象に比較して僅かに上昇するにすぎなかった。

Russel は線量率効果を次のように説明している。放射線は遺伝子に作用して前突然変異損傷 (premutational damage) ともいふべき変化を生じるが、この変化の一部は回復可能である。放射線がごく徐々に作用する緩照射の場合、精原細胞や卵母細胞では回復機構が働き突然変異の頻度を低下させる。成熟精子では、核のある頭部には細胞質がほとんどなく回復機構が働かないので、線量率効果も見られない。

Russel のいう前突然変異損傷や回復機構の実体はまだよくわかっていないが、既に述べた DNA の X 線損傷とその修復機構の研究がさらに進めば、低線量率効果の仕組みも分子のレベルで解明されるようになる。現在、原子力施設の安全性が社会の関心を呼んでいるが、極めて低い線量率での微量照射の影響を確実な科学的根拠の上に立て論ずるには、この分野の研究が格段と進展することがなにより肝要である。

これに関連して国連科学委員会が 1972 年度報告⁽²⁰⁾に示した低線量率または小線量の照射による遺伝的危険度について紹介しておこう。第 2 表は同報告からとったもので、低線量率または小線量 (50 R) の照射により、ヒトの精原細胞または卵母細胞に生じる突然変異の頻度を 1 rad につき 100 万人当りの数値で示している。これらの数値はハツカネズミでの実験結果を基にして、それをヒトに適用するのに必要な補正を加えた

* 受精卵を発生のごく初期に死亡させる優性致死突然変異。雄または雌の一方だけを照射して交尾させた場合、受精卵が着床前または着床後まもなく死亡するのは優性致死突然変異が誘発されるためである。

** 精子をつくる元になる細胞。成熟した雄では精原細胞はどんどん増殖して精母細胞になり、その減数分裂によって精子ができる。雄を照射した場合遺伝的危険度の評価にとって最も重要なのは精原細胞である。

** 雌では一生の間に産み出される卵が胎児の間に卵母細胞になっている。したがって、雌を照射した場合には、卵母細胞における突然変異の誘発が問題になる。

第2表 低線量率または小線量照射により
誘発される各種突然変異の危険度
(1 radにつき100万人当りの誘発率)

誘発される突然変異の種類	100万当りの誘発率		F ₁ の子に突然変異の現れる頻度(照射精原細胞による100万の受胎当りの頻度)
	精原細胞	卵母細胞	
劣性点突然変異	1,500 (36)	僅少	30~75 (1~2)
優性可視突然変異	2	—	3
骨格の突然変異	4	—	劣性点突然変異に含まれる
相互転座†	15††	—	先天的奇形 ごく初期の 胎児の死亡 流産
X染色体欠失	僅少	8	ごく初期の 胎児の死亡 または流産
その他の染色体異常	僅少	僅少	僅少
合計(全遺伝的傷害)	1,521 (57)		
全遺伝的傷害	300		6~15

† 小線量照射による誘発率, 低線量率照射の場合の誘発率は約1/2となる。

†† 均衡型転座の頻度

††† 精原細胞に均衡型転座を生じると, その減数分裂により均衡型, 不均衡型転座をもつもの, 転座をもたない正常のものが1:2:1の割合に生じる。したがって, 精子には均衡型転座の2倍の頻度で, 不均衡型転座を生じ, その受精により表に示すような割合で奇形や胎児の死亡が現れる。

ものである。

表から明らかなように, 精原細胞で最も高い誘発率を示すのは劣性点突然変異である。この場合1,500および36という2つの値が示されているが, 前者は特定の遺伝子座における劣性可視突然変異の誘発率から, 後者は劣性致死突然変異の誘発率から求めたもので, 誘発率の上限値および下限値とみなしてよい。このほか表には染色体異常を含めた6種の突然変異の誘発率が掲げられているが, それらの合計は1,521~57である。なお, 全遺伝的傷害として300という数値が示されているが, これは新生児に見られる遺伝的疾患の頻度と, 緩照射下における倍加線量とから計算した値である。参考までに計算のあらましを記しておく。

ヒトの新生児の2~4%はさまざまな種類の遺伝的に支配される疾病にかかっていると推定されており, その大部分は突然変異によって新しく生じたものと考えられている。かりに自然突然変異によって維持されている遺伝性疾患の頻度を3%とすると, 新生児100万人当りでは3万となる。一方 Lüning & Searle (1971)⁽²⁸⁾は, ハツカネズミの精原細胞でこれまでに調べられた6種の突然変異について, 急照射による誘発

頻度と自然突然変異の頻度とから倍加線量を計算し, その値が6種のうち5種までが15~51 radの範囲にあり, その平均は約30 radであることを示した。この値がそのままヒトに適用できるとし, また緩照射の誘発率は急照射の1/2~1/4であるとする, 緩照射によるヒトの倍加線量は約100 radということになる。すなわち, 100 radの緩照射が自然突然変異と同じ頻度(100万人当り3万)で突然変異を誘発するのであるから, 1 rad当りの誘発率は100万人当り300である。これらの突然変異の大部分は点突然変異と推定されているが, ショウジョウバエでは点突然変異の2~5%が優性である。ヒトでも同様だとすると, 父親が緩照射された場合, 1 radにつき100万人当り6~15の遺伝性疾患をもつ子が生まれ, 残りの新しく誘発された突然変異は, それ以後の世代の子孫に広く分散して現れることになる。

現在わが国では, 原子力施設周辺の住民が年間500 mremを越えて被曝することのないよう規制されている。いまかりに原子力施設がその周辺に自然放射線(約100 mrem/yr)とほぼ同じ線量を付け加えたとしても, その線量により100万人当り約30の突然変異が誘発される可能性があることになる。この値はごく小さいともいい得るが決してゼロではない。ただ, ヒトの場合, 自然突然変異率がかなり高く, 人工放射線が全然ない場合にも新生児100万人当り約3万の遺伝性疾患が突然変異によって生じているのであるから, 100 mremの放射線により誘発される約30の突然変異は, 自然突然変異の頻度の統計的誤差の範囲に入り, その意味では無視できるほど低いといえよう。しかし, 放射線障害防止法による規制が完全に守られ, また各施設が大きな事故を起こさなかったとしても, それから放出される放射能または放射線は, たとえ僅かとはいえ突然変異を誘発する可能性のあることを忘れてはならない。

Ⅶ. あとがき

石油危機以来, 原子力を見直そうとする機運が高まっている一方, 原子力の安全性に対する国民の危機は根強いものがあり, 原子力発電所の建設が周辺住民の反対によって難航していることは周知のとおりである。原子力開発を円滑に進めるためには, それに対する国民の理解と信頼が前提であり, 原子力施設の安全性に万全を期する一方, 原子力開発に潜在する危険性を踏まえた上で, 原子力開発が国民にもたらす利益について公衆の理解を得ることが必要である。

本稿に述べたように、自然放射線に相当する年間100 mrem の緩照射は、100万人当たり約30の突然変異を誘発する可能性をもち、そのうちの0.6~1.5がなんらかの遺伝的疾患として次代の子に現れる危険性がある。このような危険性がある以上、原子力開発は即刻中止すべきだという議論も議論としては可能であろう。しかし、ヒトでは自然突然変異率がかなり高く、新生児100万人につき約3万の遺伝性疾患が突然変異によって生じており、100 mrem の緩照射により誘発される突然変異は、自然に生じる突然変異の統計的誤差の範囲であることを指摘しておきたい。

現在、わが国では総需要抑制の要が強く訴えられ、この方向への政府、国民の努力が期待されている。しかし、国民の生活に必要なエネルギー需要の増加を完全に抑制することは不可能であろう。また、サンシャイン計画、核融合炉の実現にはなお相当の年月が必要である。その間におけるエネルギー需要の増加に対しどのように対処するのが本当に国民の健康と福祉を守ることになるのか、科学的根拠の上に立って計算し冷静に判断したいものである。勿論、現在われわれのもっている知識は、このような計算を行うにはなお極めて不十分であり、エネルギー資源ごとに利害得失のバランスシートをつくることは不可能かもしれない。しかし、少なくとも放射線影響に関しては、かなりの精度で危険度を推定し得ようになっていることは上述のとおりである。もっとも、この推定も現在なお多くの仮定の上に立っており、今後の研究によって確かめるべき点が少なくない。

いまから約20年前、わが国において放射線影響の研究が本格的に開始された当時、われわれの合言葉は「原子力開発に伴う放射線障害を防止するためには、生体に対する放射線の作用機構を解明することがなにより重要である。しかし、これに対するわれわれの知識は現在なお極めて不十分で、なにもわかっていないといっても過言ではない」ということであった。それから10年余りの間に放射線生物学は飛躍的に発展し、放射線傷害にとって最も重要な遺伝子—DNA—に生じる損傷の実体が明らかにされ、細胞にはこの損傷を修復する機構の存在することが発見された。このような放射線生物学の発展は、放射線が人類に及ぼす危険度の評価に直接、間接に貢献したばかりでなく、近い将来に放射線傷害の治療法が開発される可能性を

もたらしたのである。

原子力開発に従事する人達は、放射線障害の研究にもっと大きな関心をもち、原子力施設の工学的安全ささえ確保されればこと足りるという態度に陥ることのないように願っている。そうでなければ原子力の安全性に対する国民の信頼を回復することも不可能であろう。

—参考文献—

- (1) 江藤秀雄: 本誌, 13[7], 380 (1971).
- (2) LEA, D.E.: "Actions of Radiations on Living Cells", (1946), Cambridge Univ. Press, Cambridge. (西脇 安(訳): "放射線生物物理学", (1957), 岩波書店)
- (3) 近藤宗平: "分子放射線生物学", (1972), 東大出版会.
- (4) 野津敬一: "紫外線の生物作用", (1975), 共立出版.
- (5) SETLOW, R.B., SETLOW, J.K.: *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, **48**, 1250, (1962).
- (6) BLOCK, J., LOMAN, H.: The effect of γ -radiation in DNA, *Curr. Topics Rad. Res.*, **9**, 165 (1973).
- (7) FREIFELDER, D.: *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, **54**, 128 (1965).
- (8) 江上信雄編: "放射線障害の回復", (1970), 朝倉書店.
- (9) HOWARD-FLANDERS, P.: DNA repair, *Ann. Rev. Biochem.*, **37**, 175 (1968).
- (10) RUPERT, C.S., HARM, W.: Reactivation of photobiological damage, *Advan. Rad. Biol.*, **2**, 1 (1966).
- (11) KELNER, A.: *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, **35**, 73 (1949); *J. Bacteriol.*, **58**, 511 (1949).
- (12) SETLOW, R.B., CARRIER, W.L.: *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, **51**, 226 (1964).
- (13) BOYCE, R.P., HOWARD-FLANDERS, P.: *ibid.*, **51**, 293 (1964).
- (14) KELLY, R.B., et al.: *Nature*, **224**, 495 (1969).
- (15) DE LUCIA, P., CAIRNS, J.: *ibid.*, **224**, 1164 (1969).
- (16) RUPP, W.D., HOWARD-FLANDERS, P.: *J. Mol. Biol.*, **31**, 291 (1968).
- (17) LEHMANN, A.R.: *ibid.*, **66**, 319 (1972).
- (18) MCGRATH, R.A., WILLIAMS, R.W.: *Nature*, **212**, 534 (1966).
- (19) TOWN, C.D., SMITH, K.C., KAPLAN, H.S.: Repair of X-ray damage to bacterial DNA, *Curr. Topics Rad. Res.*, **8**, 351 (1973).
- (20) UNSCEAR Rep., 1972 Annex E, Genetic effects of ionizing radiation.
- (21) MULLER, H.J.: *Science*, **66**, 84 (1927).
- (22) ISHII, Y., KONDO, S.: *Mutat. Res.*, **16**, 13 (1972).
- (23) UNSCEAR Rep., 1969 Annex C, Radiation-induced chromosome aberration in human cells.
- (24) UNSCEAR Rep., 1966 Annex C, The genetic risks of ionizing radiation.
- (25) RUSSEL, W.L., RUSSEL, L.B., KELLY, E.M.: *Science*, **128**, 1546 (1958).
- (26) LÜNING, K.G., SEARLE, A.G.: *Mutat. Res.*, **12**, 291 (1971).