解熱鎮痛剤のヒト・リンパ球へ及ぼす

細胞遺伝学的影響

The Cytogenetic Effects of Aspirin and Acetaminophen on
in Vitro Human Lymphocytes

新潟大学医学部衛生学教室

渡 辺 正 友

Masatomo Watanabe

*Department of Hygiene and Preventive Medicine,
Niigata University School of Medicine, Niigata*

The cytogenetic effects of aspirin and acetaminophen were studied on in vitro human lymphocytes. Cells were exposed to either aspirin (0, 75, 150 and 300 $\mu\text{g/ml}$ groups) or acetaminophen (0, 200, 400 and 600 $\mu\text{g/ml}$ groups) for the entire 72-hour culture period. Corresponding groups served as the controls.

It was found that the mitotic indices decreased as the aspirin and acetaminophen dosages increased. However, the occurrence of anomalies such as polyploidy or aneuploidy was not related to treatment with either drug. In contrast, when compared with the control groups, significant increases in chromatid and isochromatid gaps and breakages were noted for cells treated with both of the drugs. In the case of aspirin, the frequency of chromatid gaps was greater than that of isochromatid gaps, while in the case of acetaminophen, the frequency of the latter accounted for the greater proportion of chromosomal anomalies.

Neither changes in preferential sites for gaps or breakage, nor changes in satellite association frequency were observed in cells exposed to either drug.

は じ め に

1968年、新潟県下ダウン症児の悉皆調査を行い、ダウン症の出生に母年齢依存性のあることをわれわれの教室で確認した¹⁾。

このような出生後の染色体異常疾患の調査は、胎内における淘汰の結果をみているに過ぎない。Boué ら²⁾は、自然流産児の細胞遺伝学調査で、全症例の61%に染色体異常を合併すると報じている。新生児の染色体異常が0.5~1.0%であることから³⁾、染色体異常のほとんどは自然流産に終り、出生に至るのはむしろ稀である。したがって、染色体異常の発生要因解明のためには、出生後における細胞遺伝学的分析のみでは、淘汰による選別が働くため、得られた統計的関係(statistical association)から因果関係(causal association)を推測することは困難である。

山本ら⁴⁾は、1973~77年の5年間にわたり、妊娠3カ月

以内の人工妊娠中絶症例を細胞遺伝学的に分析し、臨床的に自然流産を起す前の発生要因解明を試みた。すなわち、分析に成功した1,250例(75.3%)の染色体を、直接法により分析した⁵⁾。標本は、胎齢5週から12週までのものである。染色体異常頻度は6.4%(80/1,250例)であった。そして、トリソミー型異常は、母年齢増加とともに発生の危険が増加したけれども、他の異常はとくに母年齢と関係がなかった。この間、最終月経前後(前6週間および後3週間の計9週間)の既往歴調査を行った結果は、つぎの通りであった。

解熱鎮痛剤(いわゆる風邪薬)を服用した群での染色体異常発生率は、13.8%(8/58例)であったのに対し、非服用群では6.0%(72/1,192例)であった。しかし、染色体異常発生が薬剤服用による直接作用か、あるいは服用せざるをえなかった背景にある母の疾患に起因するのかは、それだけでは明らかにすることができない。また、服用した解熱鎮痛剤の化学構造も多様である。そこで著

者は、その間の事情につき、基礎的解明を行うため、ヒト・リンパ球を用いて、*in vitro* の実験を行った。

今回は、現在最も多く用いられているサリチル酸剤としてのアスピリン ($C_9H_8O_4$, mol. wt. 180.15), アニリン誘導体としてのアセトアミノフェン ($C_8H_9NO_2$, mol. wt. 151.16) の2薬剤を用いて、染色体異常誘発性を調べた。

方 法

年齢19~21歳の健康男子10人から末梢血液 10~25 ml をヘパリン採取し、各5人の血液を以下に記すようなアスピリンおよびアセトアミノフェン処理に供した。

採血後リンパ球を多くえるため、注射器を垂直に立て室温で4~5時間放置し、赤血球層、白血球層、血漿を分離した。これより、血漿とともに白血球層を採取し、培養を実施した。培養はリンパ球用培地 (Chromosome medium 1 A, GIBCO 社) を用いた。

アスピリンとアセトアミノフェンは、培地 5 ml に直接溶かし、それに白血球浮遊血漿 0.5 ml を加えて全量を 5.5 ml とした。アスピリンの最終濃度は、それぞれ 75, 150, 300 $\mu\text{g/ml}$ (0.4, 0.8, 1.7 mM) になるように調製した。アセトアミノフェンは最終濃度が、200, 400, 600 $\mu\text{g/ml}$ (1.3, 2.6, 4.0 mM) になるよう調製した。対照群として、生理食塩液を使用し、millipore filter ($\phi=0.45\ \mu\text{m}$) で濾過滅菌を行った。

培養開始後72時間で、以下に述べる要領により標本の作製を行った⁶⁾。

(1) 分裂細胞を回収するため、培養液をすみやかに試験管に移し遠心沈殿 (110 G, 5分間)。

(2) 上澄を除き、残り 0.5 ml にあらかじめ37°Cに加温した仔牛血清 0.5 ml と蒸留水 0.5 ml を静かに加え十分攪拌し、15分37°Cに放置 (低張液処理)。

(3) 110 G, 5分間の遠心沈殿後、沈渣を含む上澄 0.5 ml を残し、4°Cに冷却したカルノア固定液 (メチルアルコール: 酢酸 = 3:1) 5 ml を静かに加え、4°Cで45分固定。

(4) 再び遠沈を行い、固定液を交換後15分間4°Cに静置。

(5) (4)と同様の操作を4~5回くりかえし、最後に沈渣とともに0.5 mlの上澄を残す。

(6) ピペットで細胞を懸濁し、あらかじめ清拭して冷凍庫に保存したスライド・ガラス上に懸濁細胞液を2~3滴落し展開。その後、アルコール・ランプ火炎上で固定後、風乾。

(7) ギムザ染色液 (水: 90 ml, ギムザ原液: 10 ml, 0.15 N アンモニア水: 5 ml) で30分間染色を実施。

(8) 水洗後、アセトン、アセトン・キシレン等量混合液、キシレンを順次通して脱水・透徹した後、バルサム封入。

染色体分析は、スライド上に重複せずに広がった中期核板を選んで行った。アスピリンおよびアセトアミノフェン両薬剤について、各群200コの細胞を数えた。なお、各群のスライド観察は、検者が薬剤処理量を知ることなく、盲検により分析を実施した。

検査項目は、分裂指数 (mitotic index), 染色体の数と構造異常、付随体連合 (satellite association) の頻度、および構造異常の発生部位についてである。

分裂指数は、各濃度、細胞1,000コあたりの中期核板数として表わし、各濃度間の有意差検定を行った。

染色体の数的異常については、分析細胞1,000コ中、トリソミー型を有するものについてのみ検索した。モノソミー型については、人工産物の可能性が強いため、検索項目より除外した。

構造異常については、ギャップと切断について調べた。診断基準は、染色体の幅以上の距離ある分断を認め、かつ分断した染色体分体が長軸上に位置するものをギャップとし、長軸上にないものを切断とした (Fig. 1)。ギャップはまた、染色分体に独立した異常を認める染色分体型 (chromatid type) と両染色分体同位水準に異常をもつ染色体型異常 (chromosome type) の2つに区分できる。しかし、染色分体の同位水準に独立して起った2個の chromatid type 異常は、chromosome type のギャップと形態学上区別できないため、ここでは、isochromatid 型のギャップとして分類を行った。構造異常頻度の算出には、異常染色体を1つ以上有する細胞の個数 (異常細胞数) を数え、各濃度間の有意差検定を行った。また同様に、分裂細胞200コについて、異常染色体総数も調べた。

構造異常の発生部位については、異常が染色体の長さ に比例して発生すると仮定して、異常発生の期待値を算出し、観察値と比較した。期待値算出には、すでに Denver, および London 会議⁷⁾で取り決められた染色体の相対的長さ、すなわち半数染色体 (n) の長さの総和に対する各染色体の長さを百分率で表わしたものをを用いた。

付随体連合の頻度については、以下の基準にしたがって分析を行った⁸⁾。

(1) 2つの端部着糸点型染色体間の距離が、G群染色体の長腕の長さ以内にある場合。

Fig. 1 Chromosomal gaps and breakage in human lymphocytes exposed to 150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of aspirin for 72 hours

- A. a chromatid gap
B. an isochromatid gap
C. a breakage

(2) 染色体間が糸状物質で結ばれている場合は、G群染色体の長腕長以上離れていても付随体連合とした。

(3) 付随体をもつD群、あるいはG群の染色体の縦軸上に、他の同群染色体が存在した場合は、両者間の距離がD群染色体の長腕長以上でも、検査対象とした。

(4) (3)で規定したように、染色体の縦軸上に付随体が存在しなくとも、その存在がD群染色体の長腕長以内で、かつ短腕側に近接して存在する場合。

以上の診断基準により、両薬剤について各濃度群200コの細胞分析を行った。そして結果は、以下のようにまとめた。付随体連合の発生総数 (total no. of groups) については、関与した染色体の数別、すなわち 2, 3, 4 および 5 から 7 コの染色体関与の 4 群に分けてまとめた。

Fig. 2 The possible number of associations between four acrocentric chromosomes

Group A: a-b; a-c; a-d; b-c; b-d; c-d=six possibilities

Chains B and C: a-b; b-c; c-d=three possibilities

つぎに、付随体連合に関与した染色体の対の総数 (total no. of pairs) を調べた。対の算出は、2 染色体間の連合の場合 1 対とし、3 染色体以上については、Fig. 2 に示す基準によった。とくに、糸状の物質で連合するもの (いわゆる fixed association) については、別個に記載した。

結 果

Fig. 3 は、アスピリン、アセトアミノフェン処理による分裂指数の変化を示したものである。各実験群と対照群との間で t-検定したところ、アスピリンの場合、75 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ および 300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 群について $p < 0.001$ で有意の減少を認めた。アセトアミノフェンの場合は、200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 両群で $p < 0.01$, 600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 群では $p < 0.001$ で減少を認めた。すなわち、両薬剤とも量一反応関係の存在が明らかであった。

両薬剤について直線回帰を求めたところ、アスピリンでは、 $Y = 44.5 - 23.7 X$, 相関係数 $r = -0.947$ で、回帰係数の検定を行ったところ、 $p < 0.0001$ ($t = 12.447$, $d.f. = 18$) であった。一方アセトアミノフェンでは、 $Y = 43.4 - 9.83 X$, 相関係数 $r = -0.943$ で、検定の結果、アスピリン同様 $p < 0.0001$ ($t = 11.996$, $d.f. = 18$) であった。モル濃度別に分裂指数の変化をみると、薬剤量の増加にともない分裂指数は減少し、その傾向は両薬剤でほぼ同様であった。

Table 1 は、薬剤濃度と染色体数異常出現の関係を示したものである。この表から明らかなように、多倍体、異数体の発生はともに濃度との間に、量一反応関係を認めることができなかった。

Table 2 と Table 3 は、両薬剤濃度と染色体構造異常発生頻度との関係を示したものである。アスピリン処理

Fig. 3 The effects of aspirin and acetaminophen on the mitotic index of in vitro human lymphocytes

⊥ : 95 % confidence interval

Table 1 The occurrence of quantitative anomalies in chromosomes induced by aspirin or acetaminophen

	Aspirin			
	Concentration(μg/ml)			
	0	75	150	300
Polyploidy (tetraploidy)	0	2	4	1
Aneuploidy (trisomy)	0	3	0	3
	Acetaminophen			
	Concentration(μg/ml)			
	0	200	400	600
Polyploidy (tetraploidy)	2	0	0	0
Aneuploidy (trisomy)	4	1	4	5

Notes: Each group contained 1,000 cells in metaphase. Monosomy was not scored here, since its occurrence was believed to be an artifact.

の場合、対照群と比較して 75 μg/ml と 150 μg/ml 両群で $p < 0.01$, 300 μg/ml 群で $p < 0.001$ であり、各々有意の増加を認めた (Table 2)。アセトアミノフェン処理で

は、対照群と比較し 200 μg/ml 群で $p < 0.05$, 400 μg/ml と 600 μg/ml 両群で $p < 0.001$ であり、それぞれ有意の増加を認めた (Table 3)。

Fig. 4 は、薬剤濃度と構造異常頻度との関係につき図示したものである。両薬剤の直線回帰を求めたところ、アスピリンでは、 $Y = 1.57 + 3.59 X$, 相関係数 $r = 0.973$ であった ($p < 0.0001$, $t = 17.957$, $d.f. = 18$)。一方、アセトアミノフェンでは、 $Y = 1.65 + 2.84 X$, 相関係数 $r = 0.969$, 有意性の検定を行ったところ $p < 0.0001$ ($t = 16.535$, $d.f. = 18$) であった。この際、モル濃度でみると、薬剤量の増加にともなう構造異常頻度の増加程度は、両薬剤でほぼ等価であった。

Fig. 5 は、Table 2, 3 に示した数値中、chromatid type 異常と isochromatid type 異常について、図示したものである。アスピリンにあつては、濃度が増すにしたがつて、isochromatid type 異常に比べ chromatid type の発現頻度が急上昇する傾向をみた。この直線回帰は、chromatid type 異常の場合、 $Y = 1.12 + 3.15 X$, 相関係数 $r = 0.950$ であった ($p < 0.0001$)。また、isochromatid type 異常では $Y = 0.368 + 0.693 X$, $r = 0.640$ であった ($p < 0.01$)。一方、アセトアミノフェンの場合、アスピリンとは関係が逆であった。すなわち、chromatid type 異常に比べ、isochromatid type 異常は、濃度増加とともに異常頻度の上昇をみた。これを回帰直線で見ると、chromatid type 異常では、 $Y = 1.57 + 0.401 X$, $r = 0.614$ であった ($p < 0.01$)。isochromatid type 異常では、 $Y = 0.0109 + 2.62 X$, $r = 0.969$ であった ($P < 0.0001$)。また、アスピリンの場合、isochromatid type 異常に比べ chromatid 異常の割合が各群で常に多く、アセトアミノフェンの場合、isochromatid type 異常の割合が chromatid type 異常に比し多かった。chromatid type 異常について、アスピリン処理とアセトアミノフェン処理両群の相関係数の検定を行ったところ、 $p < 0.01$ ($z = 3.154$) で、アスピリン処理群の相関係数が有意に高かった。一方、isochromatid type 異常について同様の分析を行った結果、 $p < 0.01$ ($z = 3.255$) で、chromatid type 異常とは逆に、アセトアミノフェン処理群の相関係数が有意に高かった。

つぎに、染色体構造異常発生頻度の様式に規則性があるか否かにつき検討を行った。分析方法として、アスピリン 300 μg/ml 群、アセトアミノフェン 600 μg/ml 群の細胞 (アスピリン群では 1,000 コ、アセトアミノフェン群では 987 コ) と対照群の細胞 (2,000 コ) について、構造異常が 1 細胞あたり 0, 1, 2, 3 個発生する頻度を

Table 2 The occurrence of structural anomalies in chromosomes induced by aspirin

Dosage($\mu\text{g/ml}$)	0	75	150	300
Proportion of cells with gaps or breakages ^{a)}	1.50% (0.9—2.1)	3.20% ⁺⁺⁺ (2.6—3.8)	4.30% ⁺⁺⁺ (3.6—5.0)	7.70% ⁺⁺⁺⁺ (6.8—8.6)
Average no. of chromosomes with gaps or breakages per 100 cells ^{a)}	1.50 (0.9—2.1)	3.20 ⁺⁺⁺ (2.6—3.8)	4.40 ⁺⁺⁺ (3.6—5.2)	8.10 ⁺⁺⁺⁺ (7.3—8.9)
1) chromatid type	1.20 (0.5—1.9)	2.50 ⁺ (1.5—3.5)	3.30 ⁺⁺ (2.4—4.2)	6.60 ⁺⁺⁺⁺ (5.8—7.4)
2) isochromatid type	0.30 (0.0—0.6)	0.70 (0.0—1.5)	1.10 ⁺⁺⁺ (0.6—1.6)	1.50 (0.5—2.5)

Notes: a) Lymphocytes from 5 individuals were examined and two hundred metaphases were observed for each.

() : 95% confidence interval

Statistical analysis: The value for each experimental group was compared to the corresponding control.

⁺p<0.05; ⁺⁺p<0.02; ⁺⁺⁺p<0.01; ⁺⁺⁺⁺p<0.001 (Student's t test)

Table 3 The occurrence of structural anomalies in chromosomes induced by acetaminophen

Dosage($\mu\text{g/ml}$)	0	200	400	600
Proportion of cells with gaps or breakages ^{a)}	2.00% (1.0—3.0)	4.80% ⁺ (3.3—6.3)	9.10% ⁺⁺⁺⁺ (7.8—10.4)	13.16% ⁺⁺⁺⁺ (11.3—15.0)
Average no. of chromosomes with gaps or breakages per 100 cells ^{a)}	2.00 (1.0—3.0)	5.00 ⁺ (3.5—6.5)	9.20 ⁺⁺⁺⁺ (7.8—10.6)	13.98 ⁺⁺⁺⁺ (11.4—16.6)
1) chromatid type	1.70 (0.9—2.5)	2.00 (1.6—2.4)	2.40 ⁺ (1.7—3.1)	3.34 (1.6—5.1)
2) isochromatid type	0.30 (0.0—0.9)	3.00 ⁺ (1.4—4.7)	6.80 ⁺⁺⁺⁺ (5.8—7.8)	10.64 ⁺⁺⁺⁺ (8.9—12.3)

Notes: a) Lymphocytes from 5 individuals were examined and two hundred metaphases were observed for each.

() : 95% confidence interval

Statistical analysis: The value for each experimental group was compared to the corresponding control.

⁺p<0.05; ⁺⁺p<0.02; ⁺⁺⁺p<0.01; ⁺⁺⁺⁺p<0.001 (Student's t test)

調べ、それがいかなる分布に適合するかについて統計的検討を行った。対照群で、構造異常染色体の全く存在しないものが1,965細胞、1コ有するもの35細胞、2コおよび3コ有するものはともに、0細胞であった。アスピリン300 $\mu\text{g/ml}$ 処理群では、それぞれ923, 73, 4, 0細胞、アセトアミノフェン600 $\mu\text{g/ml}$ 処理群では、それぞれ856, 125, 5, 1細胞であった。異常発生が Poisson 分布にしたがうと仮定し、期待値を算出し、その適合性について χ^2 -検定を行った。その結果、すべての群において、構造異常染色体を有する細胞の発生は、対照群($\chi^2=0.312$, d.f.=1), アスピリン300 $\mu\text{g/ml}$ 処理群($\chi^2=0.435$, d.f.=2), アセトアミノフェン600 $\mu\text{g/ml}$ 処理群($\chi^2=2.546$, d.f.=3)とも、Poisson 分布にしたがうこと

が判明した。

Table 4 は、染色体構造異常発生の染色体群別特異性について、対照群、アスピリン300 $\mu\text{g/ml}$ 処理群、アセトアミノフェン600 $\mu\text{g/ml}$ 処理群との間で比較した結果を示すものである。A群、B群、C+X群、D~F+Y群の各染色体に分類し、それぞれ期待値と観察値の関係を調べた。対照群の場合、分布に有意性をみとめなかった($\chi^2=6.238$, d.f.=3, $0.100 < p < 0.25$)。アスピリン処理の場合、A群は、期待値と観察値の分布差が有意であった($\chi^2=10.590$, d.f.=3, $p < 0.025$)。アセトアミノフェン処理の場合もまた、分布は有意であった($\chi^2=45.589$, d.f.=3, $p < 0.0001$)。すなわち、アスピリン300 $\mu\text{g/ml}$ 群、ならびにアセトアミノフェン600 $\mu\text{g/ml}$ 群では、染

Fig. 4 Cells (%) with structural chromosome anomalies by drug dosage

染色体構造異常発生が、全染色体長にわたって無作為に生ずるとはいえないと結論できる。

また両薬剤について、対照群と最高濃度群との間で、染色体構造異常発生部位に差があるか否かを χ^2 -検定した。アスピリン処理では $\chi^2=0.640$ (d.f.=3), アセトアミノフェン処理では $\chi^2=4.410$ (d.f.=3) で、いずれも異常発生部位に関し、有意の差を認めなかった (Table 4)。なお、アスピリンとアセトアミノフェンの最高濃度間の分布についても、とくに、有意差を認めなかった ($\chi^2=4.670$, d.f.=3)。したがって、対照群、アスピリン、およびアセトアミノフェン処理群では、異常の集積性に関して相違がないと結論できる。

つぎに、各染色体のうちでも分析にたえる異常頻度をもつC群長腕のみについて、どの部位にギャップと切断が多く発生するかを検討した。結果は Table 5 に示した。アスピリン、アセトアミノフェンとも、とくにC群

長腕の中央部に損傷の起きやすいことが分った (アスピリンでは、 $\chi^2=10.64$, d.f.=2, $p<0.005$, アセトアミノフェンでは、 $\chi^2=9.79$, d.f.=2, $p<0.01$)。しかし、この分布状態を対照群と比較すると、とくに偏した分布を呈しているとはいえなかった (アスピリンでは、 $\chi^2=4.426$, d.f.=2, $0.2<p<0.3$, アセトアミノフェンでは、 $\chi^2=1.894$, d.f.=2, $0.4<p<0.5$)。

Table 6 から Table 11 までは、両薬剤濃度と付随体連合の発生頻度を示したものである。アスピリン処理における付随体連合の発生総数 (total no. of groups) は、各濃度群で、観察数 1,000 細胞あたり表に示すとおりである。また、これらを各連合グループ別に分けると 2 連合グループ (groups of two chromosomes) の場合、連合グループの中では最も高い頻度を示した。3 連合グループ (groups of three chromosomes) では、低い値を示した。4 連合グループにあつては、発生した細胞数が

Fig. 5 Structural anomalies per 100 metaphase plates

Table 4 Structural anomalies in chromosomes treated with 300 $\mu\text{g/ml}$ aspirin or 600 $\mu\text{g/ml}$ acetaminophen and in control groups

Group	Controls ^{a)}			Aspirin (300 $\mu\text{g/ml}$)			Acetaminophen (600 $\mu\text{g/ml}$)		
	obs.	exp.	χ^2	obs.	exp.	χ^2	obs.	exp.	χ^2
A	12	8.0	2.000	26	18.5	3.040	50	31.5	10.865
B	3	4.1	0.295	11	9.6	0.204	31	16.3	13.257
C+X	16	13.2	0.594	34	30.5	0.402	47	51.9	0.463
D	4	9.7	3.349	10	22.5	6.944	10	38.4	21.004
E									
F									
G									
Y									
Total	35	35.0	6.238	81	81.1	10.590*	138	138.1	45.589**

Notes: a) Observed frequencies in the control group were obtained from the control data for experiments with aspirin and acetaminophen.

obs. = observed values

exp. = expected values

Statistical analysis within one group:

* $p < 0.0025$ ** $p < 0.0001$

Statistical analysis between two groups:

between control and aspirin groups: $\chi^2 = 0.640$, d. f. = 3, n. s.

between control and acetaminophen groups: $\chi^2 = 4.410$, d. f. = 3, n. s.

between aspirin and acetaminophen groups: $\chi^2 = 4.670$, d. f. = 3, n. s.

Table 5 Chromatid and isochromatid gaps in the long arm of C-group chromosomes

portion ¹⁾	Controls			Aspirin (300 μ g/ml)			Acetaminophen (600 μ g/ml)		
	obs.	exp.	χ^2	obs.	exp.	χ^2	obs.	exp.	χ^2
a	2	5.0	1.8	5	8.3	1.3	6	12.3	3.3
b	6	5.0	0.2	16	8.3	7.1	21	12.3	6.1
c	7	5.0	0.8	4	8.3	2.3	10	12.3	0.4
Total	15	15.0	2.8	25	24.9	10.7	37	36.9	9.8

Notes: 1) The long arm was divided into three equal portions: a=the proximal portion
b=the middle portion
c=the distal portion

Table 6 Chromosomal association frequencies in relation to treatment with aspirin

Type of association	Controls				75 μ g/ml				150 μ g/ml				300 μ g/ml			
	Total	Mean	SD	95%CI	Total	Mean	SD	95%CI	Total	Mean	SD	95%CI	Total	Mean	SD	95%CI
Groups of two chromosomes	499 (92.9%)	99.8	9.76	87.7~ 111.9 (93.2%)	492	98.4	15.49	79.2~ 117.6 (93.4%)	511	102.2	11.58	87.8~ 116.6 (92.5%)	528	105.6	17.01	84.5~ 126.7
Groups of three chromosomes	33 (6.1%)	6.6	4.51	1.0~ 12.2 (5.9%)	31	6.2	4.97	0.0~ 12.4 (5.5%)	30	6.0	3.24	2.0~ 10.0 (6.8%)	39	7.8	5.31	1.2~ 14.4
Groups of four chromosomes	4 (0.8%)	0.8	1.10	-0.6~ 2.2 (0.9%)	5	1.0	1.22	-0.5~ 2.5 (0.9%)	5	1.0	1.00	-0.2~ 2.2 (0.5%)	3	0.6	0.55	-8.0~ 1.3
Groups of five to seven chromosomes	1 (0.2%)	0.2	0.45	— (0.0%)	0	0.0	0.00	— (0.2%)	1	0.2	0.45	— (0.2%)	1	0.2	0.45	—
Total no. of groups	537 (100.0%)	107.4	10.38	94.5~ 120.3 (100.0%)	528	105.6	15.81	86.0~ 125.2 (100.0%)	547	109.4	12.95	94.3~ 125.5 (100.0%)	571	114.2	16.83	93.7~ 135.5
Total no. of pairs	593	118.6	20.17	93.6~ 143.6	578	115.6	18.74	92.3~ 138.9	602	120.4	14.22	102.7~ 138.1	650	130.0	16.81	109.1~ 150.9
Total no. of fixed pairs	81	16.2	4.97	10.0~ 22.4	93	18.6	9.15	7.2~ 30.0	76	15.2	8.87	4.2~ 26.2	85	17.0	8.03	7.0~ 27.0

Notes: Total=Total number of associations

Mean=Number of associations per 200 mitoses

SD=Standard deviation

95%CI=95%confidence interval

極めて少数であった。これらについて、対照群と各濃度群間で χ^2 -検定を行ったが、有意の差を認めなかった ($\chi^2=0.534$, d.f.=4) (Table 6)。

一方、アセトアミノフェン処理では、各群で観察数 1,000細胞あたりの発生総数は Table 7 に示すとおりである。そして、2 連合グループは最も高い発生頻度であった。3 連合グループは低い値を示した。4 連合、5~7 連合グループについてもアスピリンの場合同様の結果をえた。これらについて、対照群と各濃度群間で χ^2 -検定を行ったが、有意性は認められなかった ($\chi^2=0.765$, d.f.=4)。

つぎに、付随体連合に関与した染色体対の総数 (total no. of pairs), ならびに染色体に糸をひいた様相を示す (fixed pairs と略す) 数をみた。アスピリンの場合両者

とも濃度間における発生個数の差は僅かであった。アセトアミノフェンの場合も、濃度間における発生個数の差は極めて少なかった (Table 7)。

Table 8 は、細胞中の一核板あたりに何個の付随体連合が関与したか、すなわち、付随体連合の起り易さを百分率で示したものである。この表の示すように、両薬剤とも付随体連合に関与した核板数は数えた核板の約半分であった。すなわち、両薬剤とも、付随体連合の発生に関しては、量一反応関係を認めなかった。

さて、Y 染色体は付随体連合に関与しないので⁹⁾、D-D、D-G および G-G 連合、さらに fixed D-D、D-G および G-G 連合について分類した結果を、Table 9, 10 に示した。アスピリン処理 (Table 9) においても、アセトアミノフェン処理 (Table 10) においても、両薬剤にお

Table 7 Chromosomal association frequencies in relation to treatment with acetaminophen

Type of association	Controls				200 $\mu\text{g/ml}$				400 $\mu\text{g/ml}$				600 $\mu\text{g/ml}$			
	Total	Mean	SD	95%CI	Total	Mean	SD	95%CI	Total	Mean	SD	95%CI	Total	Mean	SD	95%CI
Groups of two chromosomes	508 (93.2%)	101.6	24.51	71.2~ 132.0	607 (91.9%)	121.4	20.35	96.1~ 146.7	606 (92.5%)	121.2	25.37	89.7~ 152.7	524 (93.6%)	104.8	18.02	82.4~ 127.2
Groups of three chromosomes	29 (5.3%)	5.8	7.46	-3.5~ 15.1	48 (7.2%)	9.6	5.77	2.4~ 16.8	40 (6.1%)	8.0	2.74	4.6~ 11.4	31 (5.5%)	6.2	5.63	-0.8~ 13.2
Groups of four chromosomes	6 (1.1%)	1.2	1.79	-1.0~ 3.4	5 (0.9%)	1.0	1.73	-1.2~ 3.2	7 (1.1%)	1.4	2.07	-1.2~ 4.0	4 (0.7%)	0.8	0.84	-0.2~ 1.8
Groups of five to seven chromosomes	2 (0.4%)	0.4	0.89	—	0 (0.0%)	0.0	0.00	—	2 (0.3%)	0.4	0.55	—	1 (0.2%)	0.2	0.45	—
Total no. of groups	545 (100.0%)	109.0	32.30	68.9~ 149.1	660 (100.0%)	132.0	26.54	99.0~ 165.0	655 (100.0%)	131.0	25.21	99.7~ 162.3	560 (100.0%)	112.0	16.52	91.5~ 132.5
Total no. of pairs	600	120.0	44.64	64.6~ 175.4	712	142.4	38.46	94.6~ 190.2	733	146.6	28.92	110.7~ 182.5	614	122.8	14.69	104.6~ 141.0
Total no. of fixed pairs	43	8.6	1.14	7.2~ 10.0	49	9.8	4.21	4.6~ 15.0	45	9.0	4.18	3.8~ 14.2	34	6.8	5.26	0.3~ 13.3

Notes: Total=Total number of associations

Mean=Number of associations per 200 mitoses

SD=Standard deviation

95%CI=95% confidence interval

Table 8 Acrocentric chromosomes participating in satellite associations (in percentages)

Drug	$\mu\text{g/ml}$	Participating chromosomes per mitosis								Total ^{a)}
		0	2	3	4	5	6	7	8	
Aspirin	0	54.8	34.3	2.3	7.1	0.7	0.7	0.1	0.0	9.2
	75	55.1	34.4	2.4	6.8	0.7	0.6	0.0	0.0	11.0
	150	51.8	38.0	2.8	5.8	0.6	0.4	0.1	0.0	11.4
	300	51.1	37.8	2.9	6.9	0.5	0.7	0.2	0.0	12.0
Acetaminophen	0	53.8	36.1	1.7	6.3	1.2	0.6	0.3	0.0	11.4
	200	46.1	39.1	3.1	9.1	1.2	1.1	0.2	0.1	13.9
	400	44.2	43.6	3.1	7.3	0.9	0.7	0.1	0.1	13.6
	600	52.1	36.6	2.1	7.2	0.5	1.3	0.2	0.0	12.6

Notes: a) Total (mean) percentage of acrocentric chromosomes participating in associations.

ける対照群と最高濃度群との間には、その値に差がなく、したがって量一反応関係がみられなかった。この際アセトアミノフェン処理 400 $\mu\text{g/ml}$ 群についてのみ、G-G 連合で対照群と比較し有意の増加 ($p < 0.02$) を認めた。

Table 11 は、D-D、D-G および G-G 連合における理論頻度を計算し、それぞれの連合における適合度を検定したものである。この際理論頻度は以下の計算によった。D 群染色体は全染色体 (Y を除く) 45 個中 6 個、G 群染色体は 4 個を占めていることから、D-D、D-G および G-G 連合は、 ${}_6C_2$ 、 ${}_6C_1 \times {}_4C_1$ 、 ${}_4C_2$ で計算できる。すなわち、15 : 24 : 16 の割合で発生することになる。この理論頻度から期待値を求め、結果について χ^2 -検定を行った。アスピリン処理の場合、各付随体連合間の分布に偏りは存在

しなかった。アセトアミノフェン処理においては、200、400 $\mu\text{g/ml}$ の両群で D-D 連合頻度が少なく、逆に G-G 連合頻度が多い傾向を認めた (200 $\mu\text{g/ml}$ 群、 $\chi^2 = 48.088$, d.f.=2, $p < 0.001$, 400 $\mu\text{g/ml}$ 群 $\chi^2 = 17.377$, d.f.=2, $p < 0.001$)。その他の投与群においては、格別の有意差を認めなかった。ここで、薬剤投与群と対照群間での付随体連合分布の特性について比較を行った。アスピリン処理では、対照群と各処理群の間でいずれも有意差は認めなかった。アセトアミノフェン処理群では、対照群と 200 $\mu\text{g/ml}$ 群の間で有意の増加をみたが ($p < 0.05$, $\chi^2 = 6.658$, d.f.=2), 対照群と 400 $\mu\text{g/ml}$ 群間で $\chi^2 = 1.093$, 対照群と 600 $\mu\text{g/ml}$ 群間で $\chi^2 = 0.058$ と、それぞれ有意差を認めなかったことから、量一反応関係はないものと判

Table 9 Absolute numbers of D-D, D-G and G-G associations in relation to treatment with aspirin

Type and numbers of association	Controls				75 $\mu\text{g/ml}$				150 $\mu\text{g/ml}$				300 $\mu\text{g/ml}$			
	Total	Mean	SD	95%CI	Total	Mean	SD	95%CI	Total	Mean	SD	95%CI	Total	Mean	SD	95%CI
Total D-D associations	215	43.0	15.83	23.3~62.7	193	38.6	13.22	22.2~55.0	215	43.0	8.89	32.0~54.0	235	47.0	12.33	31.7~62.3
Total D-G associations	316	63.2	8.29	52.9~73.5	325	65.0	9.43	53.3~76.7	325	65.0	7.78	55.3~74.7	353	70.6	14.01	53.2~88.0
Total G-G associations	62	12.4	2.19	9.7~15.1	60	12.0	5.10	5.7~18.3	62	12.4	8.59	1.7~23.1	62	12.4	1.82	10.1~14.7
Fixed D-D associations	24	4.8	1.92	2.4~7.2	27	5.4	2.88	1.8~9.0	22	4.4	3.13	0.5~8.3	35	7.0	4.18	1.8~12.2
Fixed D-G associations	50	10.0	3.87	5.2~14.8	57	11.4	5.59	4.5~18.3	46	9.2	3.83	4.4~14.0	45	9.0	3.74	4.4~13.6
Fixed G-G associations	7	1.4	1.67	-0.7~3.5	9	1.8	2.17	-0.9~4.5	8	1.6	2.51	-1.5~4.7	5	1.0	1.41	-0.8~2.8

Table 10 Absolute numbers of D-D, D-G and G-G associations in relation to treatment with acetaminophen

Type and numbers of association	Controls				200 $\mu\text{g/ml}$				400 $\mu\text{g/ml}$				600 $\mu\text{g/ml}$			
	Total	Mean	SD	95%CI	Total	Mean	SD	95%CI	Total	Mean	SD	95%CI	Total	Mean	SD	95%CI
Total D-D associations	163	32.6	25.08	1.5~ 63.7	156	31.2	17.77	9.1~ 53.3	197	39.4	18.82	16.0~ 62.8	169	33.8	9.68	21.8~ 45.8
Total D-G associations	348	69.6	27.37	35.6~ 103.6	423	84.6	20.08	59.7~ 109.5	412	82.4	18.15	59.9~ 104.9	352	70.4	8.17	60.3~ 80.5
Total G-G associations	89	17.8	10.16	5.2~ 30.4	133	26.6	20.31	1.4~ 51.8	124	24.8	11.14	11.0~ 38.6	93	18.6	5.13	12.2~ 25.0
Fixed D-D associations	12	2.4	1.52	0.5~ 4.3	8	1.6	1.14	0.2~ 3.0	10	2.0	1.73	-0.2~ 4.2	8	1.6	1.14	0.2~ 3.0
Fixed D-G associations	29	5.8	1.30	4.2~ 7.4	33	6.6	1.95	4.2~ 9.0	32	6.4	3.78	1.7~ 11.1	21	4.2	3.35	0.0~ 8.4
Fixed G-G associations	2	0.4	0.55	-0.3~ 1.1	8	1.6	2.07	-1.0~ 4.2	3	0.6	0.55	-0.1~ 1.3	5	1.0	1.22	-0.5~ 2.5

断できる。以上の結果から、両薬剤において、D-D、D-G および G-G 連合においての量一反応関係は存在しないものと結論される。

考 察

Carlo ら¹⁰⁾は、解熱鎮痛剤アスピリン、アセトアミノフェンを服用したときの血中濃度を示した。アスピリン 1 回常用量 0.6 g を服用後 45 分の血中濃度は、42 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であると報じた。これからみれば、本研究に供したアスピリン濃度は、血中濃度の約 1.8~7.2 倍になる。また、アセトアミノフェン 1 回の常用量 0.3 g を服用すると、40 分後の血中濃度は 3.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ になる。本研究に用いたアセトアミノフェン濃度は、その 55.5~166.6 倍相

当で、かなり高い値となる。

さて、われわれの教室でさきにみた人工妊娠中絶標本で、染色体数異常の特筆すべき所見をえたが、それに関連して、本研究にあつては、薬剤濃度と数的異常出現頻度との間に格別の量一反応関係を認めなかった。このことは、アスピリン、アセトアミノフェン両薬剤がヒト・リンパ球でみれば、染色体不分離を惹起する可能性の少ないことを示唆している。

一方、染色体構造異常については、アスピリン (75~300 $\mu\text{g}/\text{ml}$) で、3,000 コの中期核板中 172 コの異常 (5.7%)、アセトアミノフェン (200~600 $\mu\text{g}/\text{ml}$) では、2,987 コの中期核板中 280 コの構造異常 (9.4%) を認め、いずれもその対照群に較べて有意の増加を示した。Jarvik と

Table 11 The relationship between D-D, D-G and G-G associations, and aspirin or acetaminophen

Association type	Aspirin											
	Controls			75			150			300		
	obs.	exp.	X ²	obs.	exp.	X ²	obs.	exp.	X ²	obs.	exp.	X ²
D-D(15/45)	215	197.7	1.514	193	192.7	0.000	215	200.7	1.019	235	216.7	1.545
D-G(24/45)	316	316.3	0.000	325	308.3	0.905	325	321.1	0.047	353	346.7	0.114
G-G(6/45)	62	79.1	3.658	60	77.1	3.793	62	80.3	4.170	62	86.7	7.037
Total	593	593.1	5.172 ¹⁾	578	578.1	4.698 ¹⁾	602	602.1	5.236 ¹⁾	650	650.1	8.695 ²⁾
Association type	Acetaminophen											
	Controls			200			400			600		
	obs.	exp.	X ²	obs.	exp.	X ²	obs.	exp.	X ²	obs.	exp.	X ²
D-D(15/45)	163	200.0	6.845	156	237.3	27.854	197	244.3	9.158	169	204.7	6.226
D-G(24/45)	348	320.0	2.450	423	379.7	4.938	412	390.9	1.139	352	327.5	1.833
G-G(6/45)	89	80.0	1.013	133	94.9	15.296	124	97.7	7.080	93	81.9	1.504
Total	600	600.0	10.308 ³⁾	712	711.9	48.088 ⁴⁾	733	732.9	17.377 ⁴⁾	614	614.1	9.563 ³⁾

Notes: Statistical analysis:

1) $0.05 < p < 0.1$ (not significant)2) $p < 0.025$ 3) $p < 0.01$ 4) $p < 0.001$

Kato は¹¹⁾、ヒト白血球の72時間培養において、終りの24時間にアスピリンを0.1~1.0 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で添加したところ、450コの中期核板中32コの chromatid breaks と、2コの isochromatid breaks、さらに11コの acentric fragments を観察し、合計45コの breaks 異常 (10.0%) を認めた。この頻度は、対照群での、720コの中期核板中34コの breaks 異常 (4.7%) 発生と較べ有意に増加していた。今回の実験は、Jarvik らの実験とはアスピリン処理量および投与時期に差があるものの、その結果は、Jarvik らの報告を再確認したものとえよう。しかし、アセトアミノフェンについては、著者の知るかぎり、過去に報告をみていないので比較検討はできなかった。

ところで、染色体構造異常を有する細胞は、アスピリンで2~8%、アセトアミノフェンで2~13.3.%存在した。このうち構造異常染色体を1コもつ細胞が、アスピリン、アセトアミノフェン両薬剤とも多く、2コおよび3コ有するものは少なかった。このことから、異常の起り方は Poisson 分布を呈するものと考えられる。この結果は、松田¹²⁾の報告と一致する。そこで、このような事実は染色体異常の発生が稀であり、くわえて、独立した事象と考えねばならぬことを示唆している。また、異常の起り方が各細胞に対してランダムであったこと、また、異常を起した細胞がとくに高い感受性を持つとは考えにくいことなどから、これら異常発生は細胞単位からでなく、むしろ染色体を単位として起ったものと考えるのが

適当であろう。したがって、染色体異常の統計的解析には従来の細胞単位の分析だけでなく、染色体を単位とした解析も必要であると思われる。

この度の研究では、分裂指数と染色体構造異常との間に、明らかな量一反応関係がみられた。このことは、アスピリン、アセトアミノフェンとも、ヒト・リンパ球の分裂を抑制し、さらに試験管内での染色体構造異常を誘発するものといわなければならない。

染色体構造異常は、その殆んどが、ギャップと切断であった。これらの異常が発生する染色体の部位に、特異性が存在するか否かを検索したところ、アセトアミノフェン処理群では染色体の長さに関係せず、期待値よりA群及びB群に多発し、D~F+X群には少ない傾向を認めた。また、アスピリン処理群においては、D~F+X群のみに少ない傾向のあることを認めた。しかし、対照と比較して有意の差は認められなかったため、集積性の点では、アスピリン、アセトアミノフェン処理による特異的变化は考えられない。

頻度の高いアセトアミノフェンのB群の場合、0 $\mu\text{g/ml}$ 群に比べ600 $\mu\text{g/ml}$ 群では10倍の集積性がある。さらに、それらの殆んどに染色体の中央部に集中する傾向が認められた。他の化学物質においては(BUDR、マイシンC等)、対照に比べ6倍の集積性を認めている^{13,14)}。そして、それらの報告では、二次狭窄に異常を起しやすいと報じているが、今回の実験では二次狭窄を認

める染色体1, 9, 16番の同定が不可能なため、この点については確認できなかったため、今後分染法導入による検討が必要である。

付随体連合の発生に関する文献は多く、なかでもダウン症と付随体連合に関するものが主である。Kiossoglouら¹⁵⁾は、母親の末梢血リンパ球を培養し、正常者に比べ、染色体付随体連合に違いはみられなかったとしているが、Zellwegerら¹⁶⁾の研究では、ダウン症の染色体で付随体が多く、しかもダウン症を有する児を生んだ母親にも、その発生頻度が高いとしている。Davisonら¹⁷⁾は、ダウン症児の両親の染色体不随体連合頻度はとくに高くないと報告している。ところで、付随体連合について、アスピリンやアセトアミノフェンなどの解熱鎮痛剤を直接処理し、実験的にその効果をみた報告は著者の知る限り存在しない。

本研究では、染色体不分離解明を目的として、これら解熱鎮痛剤と付随体連合の関係を調べた。両薬剤の各濃度群について検討した結果、付随体連合総数、付随体連合を形成する対の総数、糸状物質で結ばれている付随体連合を形成する対の総数 (fixed pairs) のいずれも統計的に差を認めなかった。したがって、解熱鎮痛剤アスピリン、アセトアミノフェンは、付随体連合を惹起する可能性が少なくと推測される。

さて、この研究では、ギャップ、切断の出現状況に興味ある知見を得ることができた。すなわち、アスピリンとアセトアミノフェンにおいて、それぞれの薬剤濃度の変化に対する chromatid 異常と isochromatid 異常の出現割合が常に逆であったことである。すなわち、アスピリンでは、その処理量が増すにつれて、chromatid 異常出現の頻度は上昇するが、isochromatid 異常についてはそれがみられなかった。逆にアセトアミノフェンでは、薬剤の処理量が増加するにしたがって、isochromatid 異常の頻度が上昇するのに対して、chromatid 異常の変化のなかった事実がそれである。

この相違について、その発生機序を考えると、chromosome-type 異常 (細胞周期 G₁ 期、DNA 主鎖に切断がおきたとき形成される) は、chromatid-type 異常 (DNA 複製を終った S 期、あるいは G₂ 期に染色体部位に形成される) が複製し、第2回の分裂期を迎えたものと形態上区別できず (derived-type 染色体型異常)、両染色体分体とも、同位に異常を起す。ここでは、その双方を isochromatid 異常とした。さて、化学物質で誘発される染色体の構造異常は、電離放射線と異なり、一般に chromatid 異常とされている^{16,17)}。もし、そうであるな

らば、この研究で観察した isochromatid 異常とは、chromatid 異常が第2回目の DNA 複製で derived type の染色体異常になったものが主である、と考えねばならない。そこでアスピリンの場合、第2回の細胞分裂を抑制する作用の存在を考えるならば、isochromatid 異常発生割合が少ないことを説明できる。または、細胞周期との関連において、アスピリンとアセトアミノフェンでは DNA そのものや、染色体構造蛋白質への作用機序が異なる可能性も考えられる。

この実験では、両薬剤の染色体構造異常の質的差異を明らかにできなかったが、この点は今後解明を要する課題である。姉妹染色分体交換 (sister chromatid exchange) 分析法を導入することにより、分裂周期の観察を行うか、あるいは、細胞分裂のある特定の周期に薬剤を添加し、染色体構造異常の質的差異存在の有無をみるなどの実験を行うべきと考える。

結 論

アスピリン、アセトアミノフェンの両解熱鎮痛剤がヒト・リンパ球に対する細胞遺伝学的効果について検索した。対照群 (0 $\mu\text{g/ml}$)、アスピリン処理群 (75, 150, 300 $\mu\text{g/ml}$)、アセトアミノフェン処理群 (200, 400, 600 $\mu\text{g/ml}$) をそれぞれ設け、両薬剤個々の濃度について、細胞の分裂指数、染色体の数的異常と構造異常 (ギャップと切断)、染色体構造異常発生部位 (染色体の群別と C 群長腕内の部位別)、付随体連合の発生頻度などについて観察した。

分裂指数では、アスピリン、アセトアミノフェンの両薬剤とも段階的に有意の減少を示した。染色体構造異常を有する細胞の頻度は、アスピリン、アセトアミノフェン両薬剤とも濃度増加とともに、有意の増加を示した。ギャップ、切断の異常のうち、chromatid type 異常と isochromatid type 異常では、両薬剤の濃度間で、それぞれの出現割合が逆であった。すなわち、アスピリンでは、処理量が増すにつれて、chromatid type 異常出現の頻度が上昇するのに、isochromatid type 異常についてはそれがみられなかった。一方アセトアミノフェンでは、薬剤の処理量が増加するにしたがって、isochromatid type 異常の頻度が上昇するのに、chromatid type 異常には変化がみられなかった。その他の異常については、とくに有意な差を認めることができなかった。

謝 辞

稿を終るにあたり、終始懇切なる御指導、御校閲を下さいました渡辺蔵一教授に深く感謝の意を表します。

また実験に臨み、多くの貴重な御助言を賜りました山本正治助教授に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 遠藤 晃, 島田隆道, 山本正治, 渡辺徹一: ダウン症候群児出産の母年令依存性, 日衛誌, **27**, 194 (1972).
- 2) Boué, J., Boué, A. and Lazar, P.: Retrospective and Prospective Epidemiological Studies of 1,500 Karyotyped Spontaneous Human Abortions. *Teratology*, **12**, 11-26 (1975).
- 3) 外村 晶: 染色体異常—ヒトの細胞遺伝学—, p. 184, 朝倉書店, 東京 (1978).
- 4) Yamamoto, M. and Watanabe, G.: Epidemiology of Gross Chromosomal Anomalies at the Early Embryonic Stage of Pregnancy, In: *Epidemiologic methods for detection of teratogens*, edited by Klingberg, M. A. and Weatherall, J. A. C., S. Karger, Base, 101-106 (1979).
- 5) 渡辺正友, 山本正治: 胎児絨毛の染色体分析, 中外医薬, **32**, 14-15 (1979).
- 6) Pfeiffer, R. A.: Cell Cultures from Blood and Bone Marrow, In: *Methods in human cytogenetics*, edited by Schwarzscher, H. G. and Wolf, U., Springer-verlag, Berlin. Heidelberg. New York, 1-37 (1974).
- 7) London Report 1963: The London Conference on the Normal Human Karyotype, *Cytogenetics*, **2**, 264-268 (1963).
- 8) Zang, K. D. and Back, E.: Quantitative Studies on the Arrangement of Human Metaphase Chromosomes, *Cytogenetics*, **7**, 455-470 (1968).
- 9) Brink, J. M. van, Los, P. L. and Nienhaus, A. J.: Satellite Associations and the Identification of the Y Chromosome in Man, *Genetica*, **33**, 45-51 (1962).
- 10) Carlo, P. EM., Cambosos, N. M., Feeney, G. C. and Smith, P. K.: Plasma Levels After the Oral Administration of Acetylsalicylic Acid and N-Acetyl-p-Aminophenol in Different Forms to Human Subjects, *J. Am. Pharmaceut. Assoc.*, **7**, 396-399 (1955).
- 11) Jarvik, L. F. and Kato, T.: Is Lysergide a teratogen? *Lancet*, **1**, 250 (1968).
- 12) 松田暁子: 染色体 (ヒト・リンパ球) に及ぼすフッ素の影響, 口腔衛生学会雑誌, **30**, 312-328 (1980).
- 13) Brown, J. A., Palmer, C. G. and Yu, P. L.: The Distribution and Localization of Drug-induced Secondary Constrictions in Human Chromosomes, *Can. J. Genet. Cytol.*, **14**, 81-93 (1972).
- 14) Cohen, M. M. and Shaw, M. W.: Effects of Mitomycin C on Human Chromosomes, *J. Cell Biol.*, **23**, 386-395 (1964).
- 15) Kissoglou, K. A. and Rosenbaum, E. H.: Multiple Chromosomal Aberrations in a Patient with Acute Granulocytic Leukemia Associated with Down's Syndrome and Twinning, *Blood*, **24**, 134-158 (1964).
- 16) Zellweger, H. and Abbo, G.: Satellite Association and Translocation Mongolism, *J. Med. Genet.*, **3**, 186-189 (1966).
- 17) Davison, E. V., Roberts, D. F. and Callow M. H.: Satellite Association in Down's Syndrome, *Hum Genet*, **56**, 309-313 (1981).

(受付 1982年1月5日)