

# 「発がんの分子機構—放射線発がんと遺伝的不安定性」

京都大学放射線生物研究センター 丹羽太貴

## 1. はじめに

私はもともと放射線発がんはそんなに面白い分野だとは思っておりませんでした。というのも、放射線があたってそれがDNAに損傷を作り、その結果として突然変異が生じてがんになる。当然ではないか、というわけです。ところが1984年から広島に13年間赴任することになり、被爆者の発がんデータに接するうちに、私が従来考えていたような単純な機構では放射線発がんが説明し得ないことに気がきました。そして放射線発がんには、非常に興味深い生物学的な機構が含まれている可能性に気づきました。今日は放射線発がん機構を考えている過程で行き当たった遺伝的不安定性について、私の仕事も紹介しながらお話をさせていただきます。

## 2. 従来の発がん仮説

我々日本人におけるがんの死亡率は30%に近く、死因のトップになっております。がんの治癒率が50%であるとしますと、一般に6割の方々ががんを発症するわけで、この部屋にいる方の実に3分の2近くは必ずがんになるわけです。というわけで、がんは昨今は珍しくもない病気になっております。何故がんが起るかについては、1970年代後半から研究が急速に発展して、一連のがん関連遺伝子の突然変異が関与していることが証明されております。

通常突然変異は、DNAの損傷が原因となって生じます。突然変異は、自然に起こる自然突然変異と、なんらかの突然変異原で誘発される誘発突然変異があります。このうち前者については、活性酸素種によるDNAへの損傷や、細胞分裂に付随したDNA複製過程での間違いなどがあります。このような自然突然変異は、年齢とともに直線的に増加すると考えられております。一方誘発突然変異についてみると、環境中にはいろいろな変異原があり、放射線もそのような変異原の一つです。例えば放射線であれば、その線量に依存して損傷が多くなるので、誘発突然変異の数も直線的に増加します。

がん化には、がん遺伝子とがん抑制遺伝子の両方に突然変異が生じることが必要です。この複数の突然変異が一度に起こることはまずなく、普通の生活では、がん化は長期間にわたる多段階で複数の突然変異が累積されることが必要です。この多段階で生じるがん化に必要な突然変異の数が $n$ 個である場合を想定しましょう。この $n$ 個の全てが自然突然変異でまかなわれる場合、突然変異は年齢の1次関数で増加すると考えられるので、 $n$ 個の突然変異を要求するがんの頻度は、年齢の $n$ 乗で増加することになります。通常の人集団においてはいわゆるがん年齢と言われる50才代から、がんを発症する人の数は急速にふえます。がんの発症と年齢の関係を両対数目盛上でみると直線になりますが、この傾きは日本人について実際の統計では5になっており、これはがんが年齢の5乗で増加していることを意味しています。すなわち、日本人の集団にみられる通常のがんの発症には5つの突然変異が必要で、これが自然突然変異によりもたらされる場合には、年齢の5乗でがんが増えるということです(図1の□)。これは、自然突然変異により多段階発がんが生じていることを示しています。誘発突然変異で多段階のがん化が誘発される場合はどうでしょうか。例えば放射線を例にとると、突然変異頻度は線量の1次関数で上昇しますので、突然変異が $n$ 個必要な発がんの頻度は線量の $n$ 乗で増加すると予測されます。

実際のがんでは、年齢とともに自然により生じた突然変異と原爆などにより誘発された突然変異の両方が加わって生じます。その場合、誘発突然変異の数( $i$ )が多ければ多いほど、それから後に必要な自然突然変異の数( $n - i$ )が

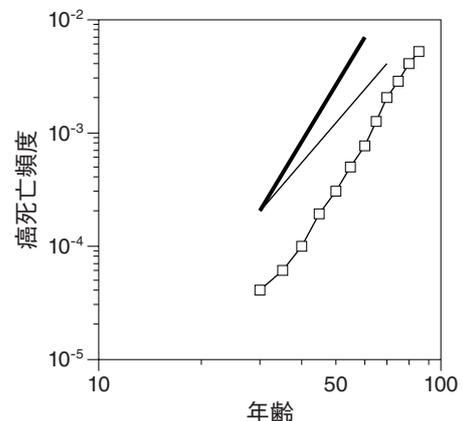


図1 日本人のがん死亡頻度と年齢の関係

少なくて済みますので、がんは若い年齢層で発症することになります。実際生まれながらにがん関連遺伝子に突然変異をもっているいわゆるがん家系の方々では、通常は滅多にがんなどを発症しない20代や30代で特定のがんを多発します。

### 3. 被爆者発がんデータ

昭和20年8月の原爆により、広島と長崎で各々10万人以上の方がなくなりました。生き残った被爆者の方々には、その後もいろいろな腫瘍の発症がみられ、現在でもこれらの方々のがん発症頻度は、非被爆の方々に比べて高いことが明らかにされています。

広島・長崎でみられるがんは、その発症のパターンから2種類に大別できます。まず白血病は被爆後数年で発症が始まり、その後10年も経つとその頻度は減少し始めます。白血病発症頻度を被曝線量に対してとると、下に凸の曲線を描きます。これは白血病が線量の $n$ 乗で増加することを示しています。またこの被爆者の白血病は、被爆後5から10年というはっきりした潜伏期をもって発症し、そのピークを過ぎると頻度は急速に減少します。すなわち、白血病では原爆放射線が標的細胞に損傷を与え、これが直接の原因で誘発された複数の突然変異の結果として白血病細胞ができ、これが一定の潜伏期の後に発病した、という考えで説明できます。すなわち白血病では、放射線が直接的に関与したと考えられます。

これに対して固形腫瘍についてみると、状況はずいぶん異なります。固形腫瘍といっても胃がん、肺がん、直腸がん、肝がん、などさまざまなものがありますが、被爆者の方々では、これらのがんのほとんどで発症頻度が上昇します。すなわち、被爆者にみられる固形腫瘍は、非被爆集団でみられるものとはかわらず、ただそれがより高い頻度で発症する、と考えてもよいでしょう。固形腫瘍発症の線量関係をみると、線量に対して直線的に発症頻度が増加します。前項で述べたように、放射線が発がんに関与する場合には、線量の $n$ 乗でがんが増えなければなりません。しかし実際の被爆者データで直線的に増加していることは、固形腫瘍が放射線で直接誘発されたとの考えと全く合致しません。さらに潜伏期についても不思議なことがあります。被爆者における固形腫瘍は、定まった潜伏期がないように見え、これらの方々がいわゆるがん年齢になってからようやく発症します。しかしながら、もし原爆が落ちた瞬間に放射線がDNAに傷をつけ、それがいくつかの突然変異として固定された場合には、この突然変異の数に見合うだけ潜伏期は若年側にずれることが予想されます。実際はこのようではないので、放射線で固形腫瘍が発症するのは、放射線が突然変異を直接誘発したわけでは無いことを示しているわけです。

放射線が固形腫瘍の発症に必要な突然変異を1個与えた場合を想定し、そのような集団における年齢とがん発症頻度を両対数グラフ上で予測すると、以前見た日本人におけるこの関係が傾き5の直線であったので、傾きは4になることが期待されます(図1の細線)。しかし被爆者集団でも潜伏期のパターンは同じであることから、傾きは変わらないまま直線が上側に移動する形になります(図1の太線)。このデータは、被爆しても固形腫瘍の発症には非被爆者と同じ数の突然変異が新たに必要であることを明確に示しています。ただ被爆者集団では直線が上に移動していることから、年齢に対する突然変異のおこり易さが上昇している、すなわち被爆者では突然変異頻度が上昇していることが明かです。これは、放射線が自然発症の固形腫瘍の頻度を線量依存的に上昇させていることを示しています。

### 4. 組織増殖形式と発がんパターン

前項から被爆にみられる発がんは、次のようにまとめることができます。まず白血病では、比較的短い一定の潜伏期で発症し、その線量効果関係は下に凸の曲線です。そしてこれは放射線が直接的に発がん性の突然変異を与えたとする考えで説明できます。一方固形腫瘍では、一定の潜伏期はなくがん年齢で発症し、その線量効果関係は直線で、放射線が自然発がんを促進させるとの考えが当てはまります。これらの2種類のがんの発症のパターンは、これらの腫瘍の母地組織の細胞の増殖形式の違いによるものと思われます。その前に、まず我々の成体の組織がどのような増殖形式をとっているかを考えましょう(図2)。

培養細胞などでみられる細胞分裂は、均等分裂といわれるもので、分裂でできた細胞の両方が等しい分裂能力をもっており、均等分裂をとる細胞は、対数的に増殖します。しかしながら成長が止まった我々の

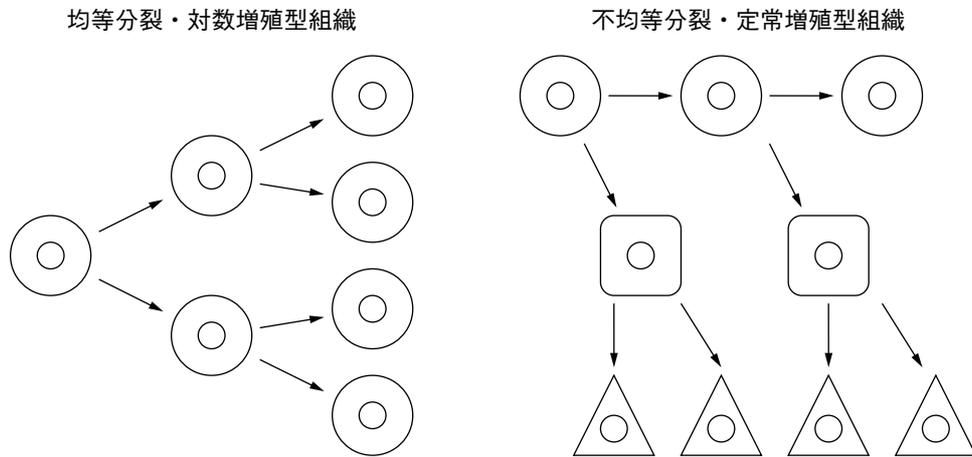


図2 2つの組織増殖の形成

組織では、不均等分裂による定常増殖が一般的です。すなわち、幹細胞が2つに分裂すると、その内の一つだけが幹細胞としてとどまり、あとの一つはより分化した芽細胞とよばれるものになります。この芽細胞の子孫は全て死に絶える運命にあり、分裂しつづけるのは幹細胞のみです。また成体の多くの組織では、細胞は全く分裂しておらず、非増殖組織として存在します。

白血病の標的細胞は骨髄にあります。この組織は放射線感受性がきわめて高く、幹細胞の多くが死に絶えます。放射線があたった場合多くの幹細胞が死に絶えるので、これを補うために幹細胞は一過性に不均等分裂から均等分裂の増殖形式に切り替えて、急速に増殖を始めます。このような状況では、放射線によるDNA損傷は速やかに突然変異として固定されます。一方の固形腫瘍は不均等分裂をしているかあるいは非増殖の組織が標的になります。これらの組織では概して放射線感受性がそれほど高くなく、また幹細胞の分裂時間はヒトの場合で数週間から数カ月と大変に長いため、充分時間をかけてDNA損傷の修復を行うことができます。このため放射線が直接的に関与した突然変異はなかなか生じません。このような組織では、照射により生じる慢性炎症がつくる活性酸素で突然変異頻度が長期にわたって上昇します。また放射線があたった細胞では、遺伝的不安定性が誘導され、これが長期にわたって遅延突然変異を生みだし続けることが知られています。

以上より、均等分裂組織においては、放射線は変異原として働き、これにより生じた突然変異ががん化に関与すると思われます。一方不均等分裂組織や非増殖組織では、放射線は変異原としてよりも炎症あるいは遺伝的不安定性を介して変異頻度を上昇させる作用として働き、これが2次的に作った突然変異によりがん化がもたらされると考えられます。

## 5. 放射線に対する細胞応答と遺伝的不安定性

放射線発がんに関する上記の仮説を証明するのが、私の現在の仕事ですが、そのためには放射線発がんが慢性炎症を介するかあるいは遺伝的不安定性を介するかが明かではありません。少なくとも照射部位において慢性炎症が遷延することは良く知られています。その一方で、放射線が遺伝的不安定性を誘導することについても研究が進んでいます。

放射線にあたった細胞は線量に応じていろいろな応答をすることが最近の研究から明らかになりつつあります。まず低線量を受けた細胞では、適応応答反応がみられてより効率のよい修復を行うようになります。次に中線量域では細胞周期の阻害により充分な時間をかけて修復を行います。中線量域におけるもう一つの細胞応答はアポトーシスで、修復不能と判断した場合に細胞は自らを殺します。しかし細胞があまり死に過ぎると個体の機能が保てなくなるため、体内ではサイトカインなどが分泌されてアポトーシスを阻害して細胞の生存と再増殖を促します。本来ならアポトーシスで死ぬべき細胞がDNA損傷をもったまま分裂増殖するためには、損傷を乗り越えるような複製が必要です。すなわち、遺伝的不安定性が誘導されます。

## 6. 放射線による遺伝的不安定性誘導の証明

放射線発がんにおける遺伝的不安定性の役割を証明するためには、1)放射線により遺伝的不安定性が誘導されること、2)それが発がんをもたらすこと、を示さなければなりません。以下に、放射線が遺伝的不安定性を介して個体レベルで突然変異を引き起こすことを示します。

遺伝的不安定性で突然変異が生じることをみる場合、突然変異の指標が必要です。通常突然変異の研究は培養細胞や大腸菌を用いて行われていますが、がんではやはり個体の組織細胞が問題なので、個体レベルでの突然変異を調べる指標が必要です。我々は、このような指標としてミニサテライト配列を用いました。ミニサテライト配列は、短い配列が繰り返された全長が数1000塩基対のもので、組換えにより繰り返し数が変わるための長さの変化による突然変異を高頻度に生じます。ミニサテライト配列などもともと突然変異頻度の高いものを指標にすると、少ないサンプル数でも変異個体や変異細胞が検出可能になります。

放射線を照射した雄マウスと正常雌マウスとの交配で生まれたF1マウスの雄親由来ミニサテライト配列を解析したところ、以下の結果が得られました。非照射の雄より生まれたF1では、このミニサテライト配列の突然変異頻度は9%でたいへんに高いものです。ところが雄に2 Gyの放射線を照射して生まれたものでは、この頻度が22%にまで跳ね上がります。この線量の放射線が作るDNAの損傷は大体3000kbに一個程度で、しかもミニサテライト配列の長さが3 kbなので、これから期待される突然変異頻度は最大でも0.1%です。9%が22%になるということは、約10%が放射線で誘発された突然変異であり、これは損傷から期待されるものの100倍にもなります。このため、ここで見ているミニサテライトの突然変異は放射線によるDNA損傷が直接引き起こしたのではなく、放射線が遺伝的不安定性を誘導しそれが変異しやすいミニサテライトのような配列に作用して2次的に誘発されたものであることが明らかです。

この遺伝的不安定性を介した2次的な突然変異を証明するには、損傷をうけたDNA部位と変異が生じた部位が異なる系であれば一番良いわけです。このような系として発生の最初である受精卵はたいへん都合が良く、精子と卵子に由来する2つの核を持っています。それゆえ、精子に照射して受精させた場合に卵子由来の遺伝子に突然変異が生じることを証明すれば、2次的に生じたことが明らかになります。このような考えに基づいて、実際にC57BLという系統の雄マウスに6 GyのX線を照射し、これをC3Hという系統の雌マウスと交配して、生まれたF1マウスのDNAについてミニサテライト配列の突然変異を調べました。この系ではDNA損傷は精子側にあり、突然変異をみるのは母親側の配列ですから、これが変異すれば放射線によるDNA損傷が遺伝的不安定性を介して間接的に突然変異を誘発したことが証明できます。結果は期待の通りで、放射線をあびていない母親の標的配列で突然変異の頻度の上昇がみられました。これらの実験結果を論文にして国際雑誌に投稿しましたが、世間の常識とあまりにも違うのか、論文がいまだに通りません。ともあれ、放射線が遺伝的不安定性を誘発することのみは、証明できました。問題は、このような機構でできた突然変異が実際に発がんに関与しているか否かですが、これについては現在鋭意研究をすすめているところです。

## 7. 最後に

私の仕事は、広島・長崎の原爆被爆者の発がんパターンについての疑問から発したのですが、それが生命がDNA損傷というストレスにどのように対処するか、という根本的な問題にまで話が発展してしまいました。生命科学の研究では、どのようなところから登りはじめても、結局は生命の根本的な部分に至ります。放射線という一見古くさい研究テーマにも、深い大きな問題が含まれており、やはり生命科学は実に興味つきなものです。