

われ方に共通点があり、いずれも受精後 12 時間で致死となり、*N* 座位の欠失を含む系統では、*w* 座位の欠失とは別の異常を現わし、受精後 6 時間で致死となる。

3. 体外培養を用いた遺伝子発現の解析

遺伝子の作用発現が、発生のどの時期に、どのような組織、細胞にどのような形で発現するかということは、実験条件を厳密に制御することのできる体外培養系を用いて、より進んだ解析が可能である。

キイロショウジョウバエの *dor* (*deep orange*; 1-0.3) という伴性劣性致死突然変異を用いて、この遺伝子をホモに持つ胚の細胞を体外培養すると、第 1 表に示したよ

うに、外胚葉系および内胚葉系の細胞に特異的に致死作用が発現し、小型上皮性細胞、神経細胞、筋肉細胞などの機能発現に異常がみられる。

しかし、他の細胞は、正常系統の細胞と同様に、*dor* 胚の予定致死時期を越えて長時間 (5 週間以上)、培養条件下で生存と機能を続けた。この致死胚の細胞の培養液に、正常系統の未受精卵細胞質の抽出液を加えると、致死遺伝子によって欠損した細胞機能の大部分が回復する。また、この系を用いて、受精後精子によって持ち込まれた *dor* の正常対立遺伝子の作用が、囊胚期以後に発現することが明らかになった。

3. 発生における細胞分化とその障害

——細胞分化への放射線効果の研究——*

内海博司・菅原 努**

発生における細胞分化の機構を解明しようと多くの努力が払われているけれど、あれほど現代生物学の進歩に貢献した分子生物学も、バクテリアの系が使えず難行しているし、細胞の増殖と修復機構の解明に役だった放射線生物学も、分化の機構にはてこづっている。しかし、少なくとも細胞分化とは遺伝子の調節機構の問題であろうと考えられ、そうわれわれも信じている。

そこでわれわれは、最近開発された分化を伴うコロニー形成の実験系に X 線や塩基類似物質プロモデオキシウリジン (BUdR) などを用いて、分化能と増殖能とを定量的に比較し、その結果からこの問題を考えてみることにした。

分化と X 線

鶏胚 (15 日～18 日目) から、Coon の方法で胸骨をとりだし、種々細胞解離液で単細胞までばらし、ハム F-12 培養液を用いて炭酸ガス培養器 (37°C) で約 2 週間培養する。種々の線量の X 線を培養開始後 24 時間目に照射した。培養後 (約 50% コロニー形成率) 固定・染色すると、コンドロイチン硫酸を産生し小さい細胞が密に集まり盛り上がった分化型コロニー (CMC) とコンドロ

イチン硫酸を産生せず線維芽細胞の大きい細胞が広がった脱分化型コロニー (non CMC) がみられる。全コロニー線 (増殖能) は、この両者の和として表わされる。代表的な線量効果関係を図 1 に示す。低線量域 (50～100 R) で全コロニー線に変化なく、CMC の減少と non CMC の増大があり、明らかに放射線で脱分化 (CMC → non CMC) が起きたことが示されている ($P_0 = 288 \text{ rod}$, $n = 1.5$)。この分化能の低線量域における高感受性は、その系の分化刺激の程度によって変動する。例えば、分化促進する条件づけられた培養液では分化能と増殖能は同じ感受性となる。つまり分化刺激の低いほど感受性は高い。また分割照射によって増殖能は回復するが逆に分化能はより抑制される。このことは non CMC の絶対線量が分割照射で増加することから、「障害を受けた CMC が回復する時一部 non CMC になる可能性」と「細胞周期のある時期が高感受である可能性」のふたつが考えられるがまだどちらであるか決まっていない。Borek (1974) が X 線による分割照射でトランスフォメーションへの転換率が単一照射に比べ昇ることを報告しているが、この現象も分化と関係しているかも知れない。ま

* Cellular differentiation and disturbance on the development
—Effects of X-irradiation on the differentiation—*

** H. UTSUMI and T. SUGAHARA

Department of Experimental Radiology, Faculty of medicine, Kyoto university. Kyoto

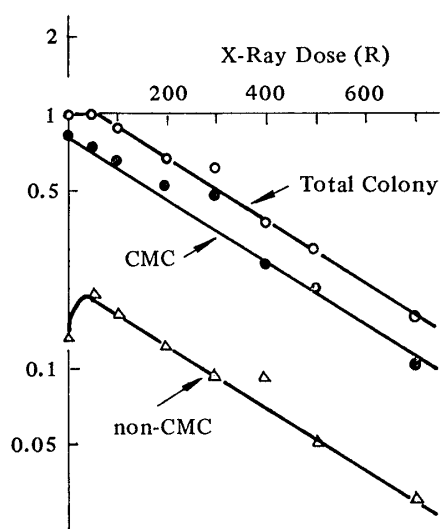


Fig. 1. Typical dose-response curves of total colony, cartilage-making colony (CMC), and non-CMC obtained from 15-day chick sternum. Cartilage-making colony (CMC) was recognized by the presence of a metachromatic matrix and a characteristic cellular and colonial morphology. Non-CMC was distinguished by its fibroblastlike growth pattern and lack of metachromasia. Total colony count (○) means CMC (●) and non-CMC (▲)

た、われわれとはまったく逆の結果だが、Prasad (1971) は、X線照射によって神経芽肉腫細胞の分化が誘導されること、分割照射でさらに促進させることを報告している。上記二者もわれわれの結果も、X線による分化抑制の誘導、トランスフォーメーションはたかだか20~30%であるが、突然変異に比べかなり高く、これらの現象の標的はDNAより、むしろ膜の様なより大きい標的を考える必要があるように思われる。

分化と奇形と BUdR

X線による分化抑制・誘導がたかだか20~30%であるのに対し、BUdRは、増殖阻害がみられない濃度で、われわれの系(分化抑制)もPrasadの系(分化誘導)も100%変化させてしまう。このことは、細胞の増殖と分化とを切り離すことができることを示していると同時に、このBUdRの研究はX線の分化抑制・誘導の機構の解明はもとより、細胞分化の機構の解明に役立つものと思われる。

このBUdRの標的は、DNAばかりでなく膜であることが知られているばかりでなく、高等動物の遺伝子調節に役立っていると考えられている“中程度の反復性塩基配列”に特異的にとりこまれることが知られており、BUdRが遺伝子調節機構を乱すことによって、分化・誘導などを起こすことが考えられる(表1, 2)。分化

Table 1. Suppressive Effects of Bromodeoxyuridine

system	parameter measured
Spleen cells (primed rabbit)	antibodies
popliteal lymph nodes (primed rabbit)	antibodies
pancreatic acinar cells (mouse)	zymogen granules
pancreatic acinar cells	exocrine enzymes
pancreatic B cells	insulin
myoblasts (chick)	myotube formation myosin
chondrocyte (chick)	chondroitin sulfate
erythroblast precursors (chick)	hemoglobin
murine virus-induced leukemia cells	hemoglobin
liver cells (rooster)	estrogen induction of phosphatase
amniotic cell (chick)	hyaluronic acid
mouse lung/mammary carcinoma hybrid cell	hyaluronic acid
mammary gland (mouse)	casein, lactalbumin
pigmented retina cell (chick)	melanin
melanoma (mouse)	tumorigenicity, pigment
SV-40 transformed cell	tumorigenicity
hepatoma cell (HTC)	glucocorticoid induction of tyrosine amino transferase
cerebellum cell (rat)	myelination
choroid plexus cell (chick)	structure
sea urchin	echinochrome

Table 2. Inductive effects of Bromodeoxyuridine

system	Parameter measured
mouse lung	alkaline phosphatase
mammary carcinoma hybrid cells	
mouse mammary carcinoma cells	alkaline phosphatase
pancreatic exocrine cells	alkaline phosphatase
neuroblastoma	neurite formation glucoprotein
lymphoid cell (Burkitt lymphoma clones and NC 37 line)	Epstein-Barr virus
lymphoid cells (BALB/C spleen cells)	C type virus
normal and neoplastic guinea pig cells	virus like particle
Fibroblast	agglutinability

Table 3. Teratogenic Effect of Bromodeoxyuridine

system	parameter measured
slime mould	abnormal sporophore formation abnormal stalk formation
acetabularia	abnormal cap formation
drisophia (larvae)	mouthpart anomaly, wing anomaly, twin dark spot, abnormal head
sand dollar (embryo)	abnormal blastula, abortive gastrulation
sea urchin (egg, embryo)	abnormal blastula, abortive gastrulation
turnip (egg, embryo)	arrested gastrula, abnormal larva
amphibian (egg, embryo)	abnormal tadpole, disorganized muscle fibrils and lens fiber
chick (embryo)	abnormal development
pregnant rat	fetal death, encephalocle, rib defect, microphthalmia, tail deformity
pregnant hamster	fetal death, encephalocle, rib defect, microphthalmia
pregnant mouse	exencephaly, polydactyly, cleft palate

におよぼす BUdR 効果は、ほとんどが可逆的であるが発生途中の分化誘導期には不可逆的（鶏のヘモグロビン合成等）に働くことが知られている。また表3に示したように、形体形成阻害とか催奇形性などの作用が知られており、その使われた濃度から不可逆的分化抑制・誘導などによることが十分考えられる。

終りに：

発生における細胞分化の阻害は直接的あるいは間接的

に種々の作用系（X線、BUdR、環境変異原など）が、DNAあるいは膜に作用することが第一原因となり、DNAの構造遺伝子の変化とか遺伝子発現機構の変化を引き起こし、大きな変化は細胞死ひいては胎児死、より小さな変化は分化異常とか細胞死による奇形、さらには生後のガン発生などの障害となって発現させるであろうと結論できよう。