

ヒトリンパ球の突然変異を指標とする環境汚染の 人体影響の検出と複合効果の定量

Mutagenesis in human lymphocytes by the multiple
environmental contamination

代表研究者	京都大学医学部教授 Prof., Faculty of Medicine, Kyoto Univ. Hiraku TAKEBE	武 部 啓
協同研究者	京都大学医学部助教授 Assoc. Prof., Faculty of Medicine, Kyoto Univ. Kouichi TATSUMI	巽 紘 一
	京都大学医学部助手 Instructor, Faculty of Medicine, Kyoto Univ. Junji MIYAKOSHI	宮 越 順 二
	京都大学医学部助手 Instructor, Faculty of Medicine, Kyoto Univ. Akira TACHIBANA	立 花 章

Mutation in human lymphocytes serves as a good indicator of genetic effects of environmental contamination in human. Spontaneous mutation frequency in T-lymphocytes stimulated by interleukin-2 was lower in cordblood cells from newborn than in adults, presumably reflecting the increase of mutation by increasing age. Mutation was significantly high in frequency in the patients treated by radiation and chemotherapy. Lymphoblastoid cell lines transformed by EB-virus can be used in large quantity to assure the reliable estimate of mutation frequency in human cells. In xeroderma pigmentosum (XP) which has been known for its association with high incidence of skin cancer by solar UV light, UV induced mutation was extremely higher in complementation group A cells than in normal cells. UV induced mutation was also high in XP group C cells but the efficiency of induction per surviving cells was same as in normal cells. Hypermutability of XP A cells, even per survival, may be due to an additional factor in XP A cells in comparison with XP C cells which is reduced in repair capacity of DNA damage leading to lethal and mutational effects. In XP A cells, mutation may be enhanced because of the function which yields more mutation than killing. Fanconi's anemia cells were found to be hypermutable by a DNA cross-linking agent, diepoxybutane. This could represent the type of agents which cause high incidence of cancer in the patient with Fanconi's anemia. Use of lymphoblastoid cells can be applied to estimate the combined effects by multiple agents since enough cells for statistically accurate experiments are available. No synergistic effects were found by combined treatment of Trp-p2 and UV or gamma-rays.

研究目的

ヒトに対する環境汚染の影響を、ヒトのリンパ球の遺伝子突然変異を指標として直接検出することが本研究の主目的である。また外的要因として

の変異原（放射線、化学物質など）の量と効果の関係に關与する人体側の内的要因を明らかにすることもめざしている。

これまでヒト由来の培養細胞を用いて突然変異

を定量的に検出する試みは多くなされてきた。ヒト腫瘍に由来する細胞（たとえば HeLa 細胞）は取扱いは容易ではあるが、染色体数が近 3 倍化している上に長年の継代により、きわめて特殊な生育特性を示し、ヒトの特性の代表としては疑問点が多い。ヒトから採取培養した繊維芽細胞は、特性はもっともヒトの体に近いが培養困難で、定量的研究は容易ではない。ヒトリンパ球を PHA などで刺激して生育させることは可能であるが、生育期間は短かく、突然変異研究には適さない。このように多くの困難が研究の進展を遅らせてきた。

我々の本研究計画では、このような技術的障壁を、① ヒトリンパ球を EB ウイルスでトランスフォームし永久継代可能とした細胞系統を用いる、② T-細胞増殖因子であるインターロイキン-2 を加えて、リンパ球（T-細胞）を長期間培養可能とするの 2 方法により、いずれも従来の方法に比べはるかに多数のヒト細胞を長期間、突然変異実験に用いることで打破した。これらの準備研究は本計画発足の前に約 2 年間かけて終えていた。

一方突然変異の一次損傷である DNA 損傷は大部分修復されるが、修復されずに残った傷および、誤った修復を受けた傷が突然変異となって発現すると考えられている。そのような修復系あるいは関連した DNA 複製系などに欠損を有する細胞がヒト遺伝病由来で存在する。それらを用いることによって、どのような作用原がどのような過程を経て突然変異を生ずるか、特に異なる型の DNA 損傷を生じさせる 2 種以上の要因の複合効果をその過程で別々に解析することができないか、が本研究の重要な目的である。

本研究によって、① 直接人体内で生じた突然変異を検出し、それと生体外で検出する方法と対比させ、生体外の方法から人体内を予測できるか、② 人体側に突然変異を生じるのに関与するどのような要因があるかが明らかになるものと期待する。

研究経過

A. 材料と方法

細胞はいずれもヒト由来であり、① 健常人お

よび DNA に関係した代謝系（複製、修復など）に異常があると考えられる遺伝病患者由来のリンパ球をエプシュタイン-バーウイルス（EB ウイルス）で永久継代可能なトランスフォーム化した系統、② 健常人、放射線治療、化学療法適用などの患者由来のリンパ球、（一部上記遺伝病患者由来リンパ球も含む）のいずれかを用いた。前者は B 細胞由来であり、一般に染色体数は変化していない。後者は IL-2 で処理することにより、T-細胞のみが生育する。遺伝病患者は色素性乾皮症、ファンコニー貧血病、アタキシア・テランジェクタシア、ブルーム症候群のそれぞれについて、日本国内の患者から採取したリンパ球および外国の研究者から供与を受けたリンパ球、さらに細胞銀行（主にアメリカ）から入手したリンパ球などを用いた。

突然変異誘発は紫外線、ガンマ線、化学物質（アルキル化剤、架橋剤、DNA 付加体作成物質など）を単独または複合処理した。突然変異の指標は 6-チオグアニン耐性、ウアバイン耐性、メソトレキセート耐性、2,6 ジアミノプリン耐性などで、特に 2,6 ジアミノプリン耐性には APRT 欠損をヘテロに有する患者細胞を用いた。

定量的実験は 96 穴タイタープレートを用い、細胞の平板効率にもよるが原則として生存率の測定には 1 穴当たり 5 細胞以上、突然変異頻度の推定には 5×10^3 細胞以上を播種し、ポアソン分布に基いた検定によって計算した。インターロイキン-2 (IL-2) は各種比較した結果、組換え DNA 法による製品が好結果を得た。

B. 研究推進の基本方針

(1) T-リンパ球を用いた人体内における突然変異の定量

- ① まず T-リンパ球を用いる方法を高い再現性で確立する
- ② 正常人における定常期の自然突然変異頻度を明らかにし、年齢による変化を知る
- ③ 放射線-化学物質などによる突然変異頻度を、主に治療においてそのような要因を受けた患者について調べる。
- ④ 遺伝的に DNA 損傷の修復などに欠損が

表1. 末梢血 T リンパ球における遺伝子突然変異 (1985 年).

	TG ^r 突然変異頻度	平均
健常成人 (6例)	$0.79 \times 10^{-6} \sim 2.53 \times 10^{-6}$	1.0×10^{-5}
新生児臍帯血 (5例)	$0.32 \times 10^{-6} \sim 2.65 \times 10^{-6}$	1.43×10^{-6}

TG^r: 6-チオグアニン耐性.

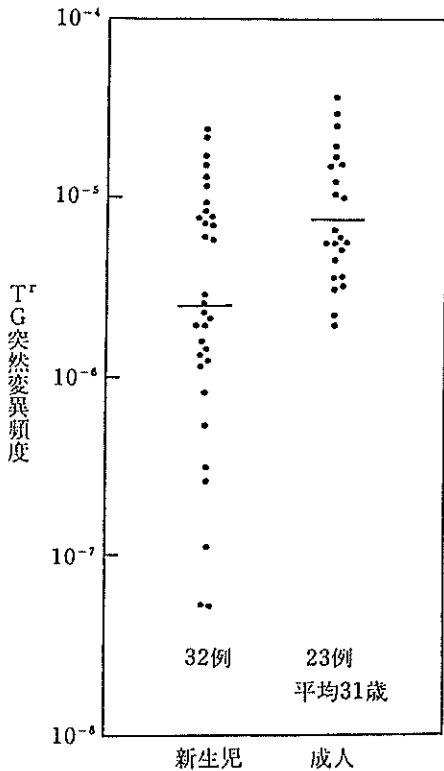


図1. 新生児臍帯血および健常人末梢血中の TG^r 変異体 T リンパ球の存在頻度.

あり、がんを多発することが知られている患者（主に色素性乾皮症）について自然・誘発突然変異頻度を調べる

(2) B-リンパ球を用いた生体外における突然変異の定量

① 高発がん性遺伝病患者において、特定の外的要因に対して突然変異誘発されやすいかを調べる。

- a. 色素性乾皮症, b. アタキシア・テランジェクタシア, c. ブルーム症候群, d. ファンコニー貧血症 (いずれも常染色

体性劣性遺伝様式の高発がん性遺伝病)

- ② 色素性乾皮症患者のヘテロ保因者（患者の両親）において、紫外線誘発突然変異が高いかを調べる。
- ③ 2種以上の要因を複合して作用させ、複合効果がこの方法で検出できるかを調べる。
- ④ 細胞レベルでがん化させ、ヌードマウス可移植性で検定する。

研究成果

(1) T-リンパ球を用いた研究

① 方法の確立

これまで報告されている方法はいずれも T-細胞増殖因子 (インターロイキン-2, IL-2) によって血液中の T-リンパ球を選択的に増殖させ、その突然変異頻度を調べるものである。IL-2 製品は手術により摘出した脾臓から精製したもの、国内および国外の製薬会社の製品 (市販品および試供品) および組換え DNA 法で製造された製品などをテストした。その結果、大阪大学の谷口維紹博士が単離した IL-2 遺伝子から作られた製品 (味の素株式会社研究所) が均質で再現性高く実験できそれを用いて、T-リンパ球においても、永久継代できる B-リンパ球 (EB ウイルスでトランスフォームされた) と同様な研究ができることを確認した (論文 16)。

② 正常人における T-リンパ球の自然突然変異頻度

表1にみられるように、健常な成人 (6例, 20歳台-50歳台) と新生児臍帯血 (5例) で、前者は 1.0×10^{-5} 、後者は 1.43×10^{-6} の平均自然突然変異頻度を 6-チオグアニン耐性を指標に得た。個人差は表に示すようにならかなり大きい有意に頻度が異なることは、その後例数を増やして確認している*。引き続き、年齢による頻度上昇率の推定を進

表2. ヒトリンパ芽球様細胞における遺伝子突然変異.

細胞	由来	自然突然変異頻度 (TG ⁺)	備考 (細胞入手先)
HH4	健常人	3.8×10^{-6}	Dr. W. G. Thilly
XP7NI	色素性乾皮症 A 群	2.0×10^{-6}	橋本知子博士
XP3BE	色素性乾皮症 C 群	3.7×10^{-6}	Dr. B. S. Strauss
XPF7NI	XP7NI の父親	1.0×10^{-6}	橋本知子博士

めているが、まだ十分な例数に達していない。この結果から、この方法で人体内の突然変異頻度を推定するには、年齢を合わせた対照区の設定が不可欠であることが分かった。

(*成人 23 例, 年齢平均 31 歳で平均頻度 7.7×10^{-6} , 臍帯血 32 例で平均頻度 2.4×10^{-6} , 1987 年, 図 1)

③ 放射線治療, 化学療法を受けた患者の T-細胞における突然変異

放射線治療を受けた患者は一般に造血機能が著しく低下しており, 血液の採取自体が困難あるいは患者にとって好ましくないため, 放射線照射直後の患者の測定はまだ行っていない。寛解維持中の悪性リンパ腫患者 8 例 (平均年齢 63 歳) の平均値は 30.8×10^{-6} (範囲 9.8-62.8) であった。この数値は前項の成人の頻度に比べ約 4 倍と高くなっている。しかし放射線に加え, 化学療法も併用しており, また同年齢の対照区の調査がまだできていないので検討は保留したい。この方法が有用である可能性は示されたといえよう。(論文準備中)

④ 色素性乾皮症患者における T-細胞の突然変異

現在症例を増やして研究進行中であるが, これまでのところ, 健常人との間に有意の差はみられない。患者の多くが小児であり, この場合も年齢を合わせた対照区の設定に困難があり, やや計画は遅れているが, 確実に例数を増やしつつあり, 1~2 年で結果がまとまるものと期待している。一方, これまで自然突然変異頻度が高いと報告されているブルーム症候群患者については, MN 型血液型を指標に対照区 (健常人) に比べ, 約 10 倍高いことが日本人患者について確認された。引き続き色素性乾皮症およびブルーム症候群とも本研

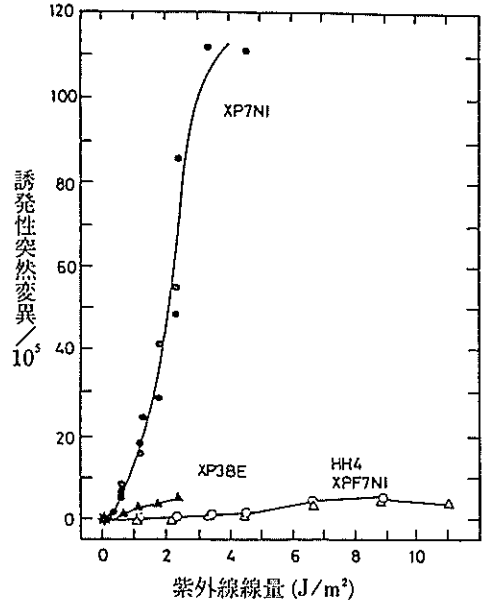


図2. 4 系統のリンパ芽球様細胞における紫外線誘発突然変異 (TG⁺).

究終了後も研究継続中である。

(2) B-リンパ球を用いた研究

① 高発がん性遺伝病患者由来の細胞における突然変異の誘発

a. 色素性乾皮症

これまで色素性乾皮症 (xeroderma pigmentosum, XP と略記することあり) 患者由来の細胞については繊維芽細胞を用いて多くの研究が主に V. M. Maher らによって紫外線誘発突然変異について報告されている。しかし, 繊維芽細胞は取扱いが容易でなく, 多数の細胞について, 再現性の良い結果は得にくく, 頻度の低い自然突然変異についても信頼度の高い結果はこれまで少なかった。本研究ではこれに先立つアタキシア・テラン

ジェクタシア細胞で確立した手法 (Tatsumi and Takebe, 1984 年発表) によりきわめて高い再現性の実験が可能であり, 同方法を色素性乾皮症にも適用した。

まず自然突然変異頻度について, 正常細胞 (HH 4) と 2 例の XP 患者 (相補性群 A と C) および A 群患者の父 (XP 遺伝子を 1 個保有するヘテロ保因者) で差のないことを確認した (表 2)。XP7NI と XPF7NI の差は有意ではなく, 細胞の生育状態 (平板効率に相当) でこの程度の差が生じる。

紫外線による突然変異誘発は図 2 のような結果を 6-チオグアニン耐性 (6TG^r) について得た。XPA 群である XP7NI 細胞は XPC 群である XP 3BE および正常細胞 (HH4), 保因者細胞 (XPF7NI) に比べ著しい高誘発性を示し, 最大で 1/1,000 以上にも達した。XPC 群細胞も正常細胞よりは高い誘発頻度を示した。XP 細胞は紫外線に高い致死感受性を示し, それを考慮に入れて, 生存率当たりの突然変異誘発で比較してみると, XP3BE, HH4, XPF7NI はいずれも同一効果となるのに対し, XP7NI だけは, 生存率当たりでもきわめて高い突然変異誘発頻度を示した。このような結果は, XPA 群の他の 2 系統でもみられ, XPA 群共通の特性である。XPA 群には, 紫外線によって生じた DNA 損傷を修復できないという欠損に加えて, 突然変異をより起こしやすいという特徴があることが分かったが, その機構はまだ解明できていない (論文 8)。XPA 群細胞は紫外線以外のある種の化学物質に対しても高感受性であり, 今後環境変異原のヒト細胞における突然変異誘発の研究に広く利用できる可能性を示したといえよう。

b. アタキシア・テランジェクタシア

本研究の開始以前にアタキシア・テランジェクタシア細胞がガンマ線によって突然変異は起きにくい (対正常細胞比) ことを発表した。

c. ブルーム症候群

繊維芽細胞については 2 篇の論文を発表 (論文 9, 19) したが, リンパ芽球様細胞の樹立には成功したものの, 生育が不十分で, 本研究には利用できなかった。しかし, 日本の患者 6 例から培養・

樹立に成功しており, 今後, 研究の進展が期待できる。(論文準備中)

d. ファンコニー貧血症

ファンコニー貧血症 (Fanconi's anemia, FA) 患者由来の細胞は, DNA 鎖間に架橋する物質 (DNA cross-linking agents) に対し, 著しい高感受性を有することが知られている。その代表例はマイトマイシン C で, マイトマイシン C は突然変異をリンパ芽球細胞 (正常人由来) で起きさせる (図 3, 中央)。図 3 ではマイトマイシン C (MMC) 誘発突然変異がマーカー (6 チオグアニン耐性 = 6TG^r, トリフルオロチミジン耐性 = TFT^r, ウアバイン耐性 = OUA^r) で異なることを示す。FA 細胞でも著しい突然変異誘発がみられたが, 致死効果が強い上にデータのばらつきが多く (原因不明), 信頼できる結果はまだ出ていない。別の架橋剤であるジェポキシブタン (DEB) では, 正常細胞では三つのマーカーではほぼ同一の突然変異誘発がみられた (図 3, 左)。ファンコニー貧血症細胞については, 6 チオグアニン耐性についてのみしか結果を得ていないが, 図 3 右に示すように, 正常細胞 (図 3, 左) の約 1/100 の濃度でほぼ同程度の突然変異頻度を示した。この結果は FA 細胞において突然変異誘発がある物質で高いことを初めて示したものである (論文 18 および準備中)。

② ヘテロ保因者細胞

図 2 で示したように XP7NI の父, XPF7NI は正常細胞と同一の紫外線による突然変異誘発を示した。これは図のこの部分を拡大しても差がみられなかった。M. Swift によってヘテロ保因者も正常人より皮膚がん発生率が高いことが示されているが, 少なくとも 6TG^r 突然変異では XP7NI が極度に高誘発頻度を示すにもかかわらず, ヘテロ保因者と正常人の差はなかった。(論文 8)

③ 複合効果

環境変異原の代表例である Trp-p2 と紫外線および γ 線の複合効果を検討した (図 4)。結果は単純ではなく, 効果は必ずしも複合的に働かず, むしろ見掛け上突然変異頻度が減少する場合もあった。しかし, 生存率当り (S/S₀ で生存率を示した) でみれば減少傾向は少なく, 加算的な効果と

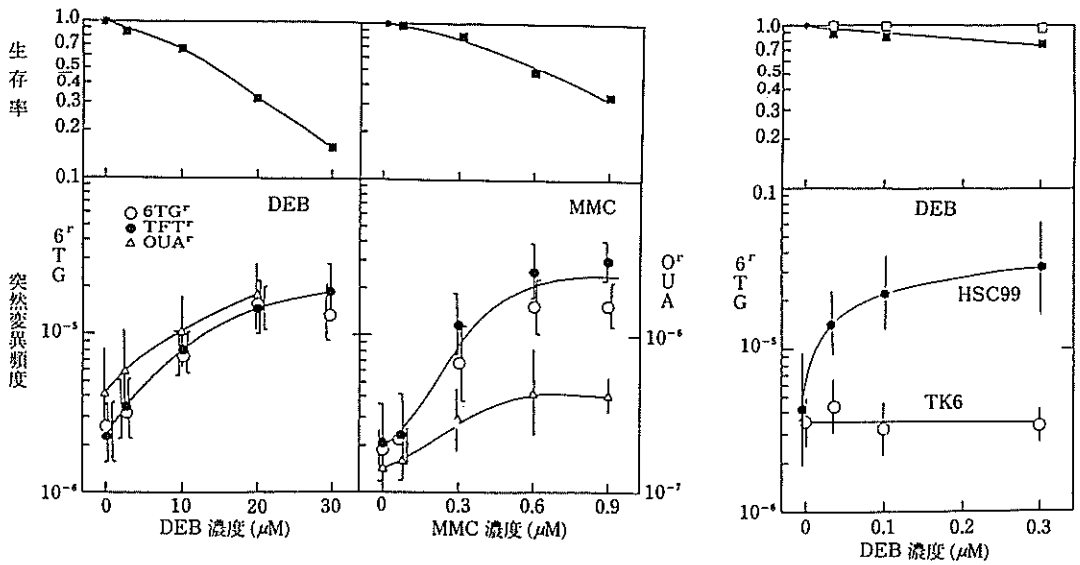


図3. マイトマイシンC (中央) とジエポキシブタン (左: 正常細胞, 右: ファンコニー貧血症細胞による突然変異誘発, HSC99: ファンコニー貧血症細胞, TK6 正常細胞, 左, 中央はともにTK6のみ)

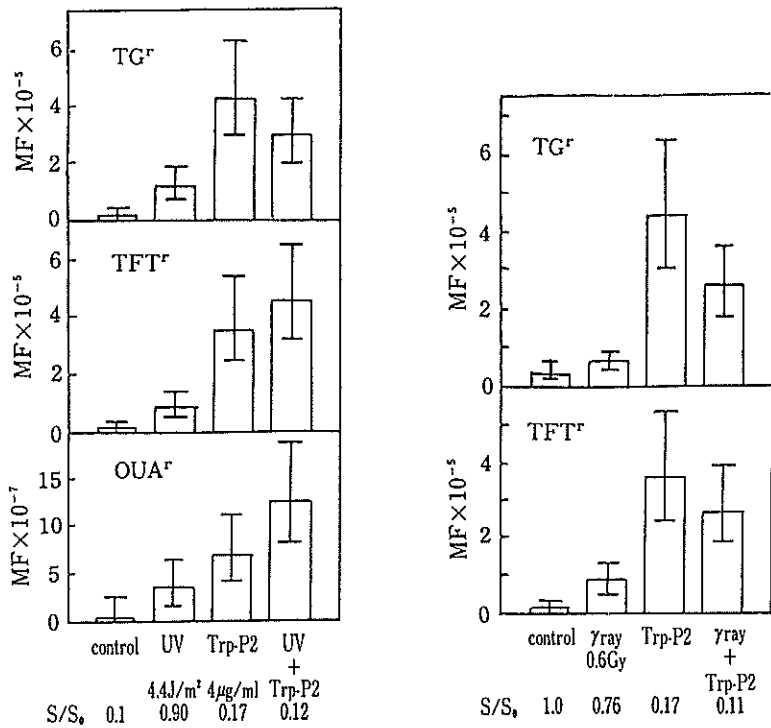


図4. Trp-p2と紫外線 (左) およびガンマ線 (右) の複合効果, S/S₀は生存率を示す。縦軸は突然変異頻度

みてよい。ただし相乗効果はみられなかった。(論文準備中)

④ 細胞レベルのがん化

色素性乾皮症患者由来の細胞はウイルスでトランスフォームしても、繊維芽細胞 (SV40 トランスフォーメーション), リンパ球 (EB ウイルスでトランスフォーメーション) いずれも完全には悪性化せず、永久継代できるがヌードマウスに可移植になっていない。XP7NI 細胞 (XPA 群) に UV を 3.3 J/m^2 (10%生存) を 4 回照射し、プロモーターである TPA を 10 ng/kg 処理した群から 1 系統、ヌードマウス可移植細胞が生じた。この系統は可移植性が安定しており、XP 細胞で初めて試験管内がん化に成功したものである (論文準備中)。

⑤ その他

アルキル化剤に対する細胞の修復能であるメルトランスフェラーゼを欠いている株 (Mex⁻) がヒト細胞にあるが、その性質がきわめて不安定であることをリンパ芽球細胞を用いて明らかにした (論文 21)。新しい遺伝子マーカーとして APRT 遺伝子の利用の開発に成功した。これは 2,8 ジハイドロキシアデニン結石症保因者由来細胞を用いて 2,6 ジアミノプリン耐性 (DAP^r) で検出する。ガンマ線により、6TG^r に比べ約 10 倍の効率で誘発されるのでその原因などを解明中である。また HPRT 遺伝子の突然変異の DNA レベルの解析もほぼ完了した (論文準備中)。

今後の課題と発展

本研究は多岐にわたっているが、大別して次のような結果と今後の課題を挙げる事ができよう。

① T-細胞を用いて突然変異を定量することにより、人体内で生じた突然変異を定量的に検出することが可能になった。既にチェルノブイル事故の被ばく者について、アメリカの研究者が実施しており、日本でも広島・長崎の被ばく者で試みられている。我々はこれらの研究者とも本研究を通じて密接な協力関係を保っており、今後、上記のような実用目的に十分対応できる。

② B-細胞を用いて突然変異を定量する方法

は、我々が本研究開始以前にほぼ完全に確立しており、本研究によってその有用性はさらに実証された。色素性乾皮症の A 群と C 群で紫外線誘発突然変異頻度が著しく異なることと、ファンコニー貧血症でジエポキシブタン誘発突然変異頻度が著しく高いことは本研究で発見された重要な事実である。特に後者はこれまで不明であったファンコニー貧血症の高発がん性の原因に示唆を与えるものである。

③ 複合効果の研究にヒト細胞が十分利用可能であることが本研究で実証された。残念ながら本研究ではそれを多くの物質に適用するには至らなかったが、実験方法としては確立された。

④ 以上を総合して、ヒト細胞を用いて突然変異研究を定量的に行なうことに成功し、今後も環境要因の遺伝的影響の研究に有力な手法となるものと期待したい。

発表論文 (英文のみ)

- 1) Takebe, H., Tatsumi, K. and Satoh, Y.: DNA repair and its possible involvement in the origin of multiple cancer. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 15 (Suppl. 1), 299-305 (1985).
- 2) Niwa, O., Suyama, T., Takebe, H., and Sugahara, T.: High sensitivity of murine teratocarcinoma cells to UV radiation and the effect of post-irradiation treatment with caffeine. *Mutation Res.*, 145, 195-200 (1985).
- 3) Ishizaki, K. and Takebe, H.: Comparative studies on photoreactivation of ultraviolet light-induced T4 ecdonuclease susceptible sites and sister-chromatid exchanges in Potorous cells. *Mutation Res.*, 150, 91-97, (1985).
- 4) Miyakoshi, J., Oda, W., Ujeno, Y. and Inagaki, C.: Protection and sensitizing effects of D₂O treatment on thermal responses of Chinese hamster cells. *J. Radiat. Res.*, 26, 238-247 (1985).
- 5) Takebe, H. and Tatsumi, K.: Genetically high risk population for mutation and cancer by environmental mutagens. Genetic Toxicology of Environmental Chemicals (Proc. 4th Intern. Conf. Environmental Mutagens) Pt. B, 213-220 (1986).
- 6) Mimaki, T., Itoh, N., Abe, J., Tagawa, T., Sato, K., Yabuuchi, H., and Takebe, H.: Neurological manifestations in xeroderma pigmentosum. *Ann. Neurol.*, 20, 70-75 (1986).
- 7) Ishizaki, K., Noda, A., Ohtsubo, E., and Takebe,

- H.: Ultraviolet light-induced DNA sequence changes in a chloramphenicol resistance gene in *E. coli* cells. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **32**, 425-432 (1986).
- 8) Tatsumi, K., Toyoda, M., Hashimoto, T., Furuyama, J., Kurihara, T., Inoue, M., and Takebe, H.: Differential hypersensitivity of xeroderma pigmentosum lymphoblastoid cell lines to ultraviolet light mutagenesis. *Carcinogenesis*, **8**, 53-57 (1987).
 - 9) Kurihara, T., Tatsumi, K., Takahashi, H., and Inoue, M.: Sister-chromatid exchanges induced by ultraviolet light in Bloom's syndrome fibroblasts. *Mutation Res.*, **183**, 197-202 (1987).
 - 10) Miyakoshi, J., Oda, W., Hirata, M., Fukuhori, N., and Inagaki, C.: Effects of amiloride on thermosensitivity of Chinese hamster cells under neutral and acidic pH. *Cancer Res.*, **46**, 1840-1843 (1986).
 - 11) Hiraoka, M., Miyakoshi, J., Jo, S., Takahashi, M., and Abe, M.: Effects of step-up and step-down heating on a transplantable murine tumor. *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, **77**, 1102-1106 (1986).
 - 12) Hiraoka, M., Miyakoshi, J., Jo, S., Takahashi, M., and Abe, M.: Effects of step-up and step-down heating combined with radiation on murine tumor and normal tissues. *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, **78**, 63-67 (1987).
 - 13) Takebe, H., Nishigori, C., and Satoh, Y.: Genetics and skin cancer of xeroderma pigmentosum in Japan. *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, **78**, 1135-1143 (1987).
 - 14) Miyachi, Y., Nishigori, C., Imamura, S., and Takebe, H.: Differential diagnosis of dyschromatosis symmetrica hereditaria and clinically mild xeroderma pigmentosum. Proc. IVth Intern. Cong. Pediat. Dermatol., (Eds. H. Urabe *et al.*) Univ. Tokyo Press, 597-600 (1987).
 - 15) Mitani, H., Ito, K., Fujino, M., and Takebe, H.: Difference in O⁶-methylguanine methyltransferase activity among transformed NIH 3T3 cell clones. *Mutation Res.*, **191**, 201-205 (1987).
 - 16) Miyakoshi, J., Tatsumi, K., and Takebe, H.: Radiation sensitivity of T-lymphocytes grown with recombinant human interleukin-2. *Mutation Res.*, **192**, 163-167 (1987).
 - 17) Nishigori, C., and Takebe, H.: Sodium butyrate stimulates cellular recovery from UV damage in xeroderma pigmentosum cells belonging to complementation group F. *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, **78**, 932-936 (1987).
 - 18) Takebe, H., Tatsumi, K., Tachibana, A., and Nishigori, C.: High sensitivity to radiation and chemicals in relation to cancer and mutation. In *Radiation Research* (Eds. E. M. Fielden *et al.*), Taylor and Francis, 443-448 (1987).
 - 19) Kurihara, T., Inoue, M., and Tatsumi, K.: Hypersensitivity of Bloom's syndrome fibroblasts to *N*-ethyl-*N*-nitrosourea. *Mutation Res.*, **184**, 147-151 (1987).
 - 20) Miyakoshi, J., Hirata, M., Oda, W., Fukuhori, N., and Inagaki, C.: Sensitization to heat by amiloride analogues in Chinese hamster cells. *Jpn. J. Pharmacol.*, **45**, 281-283 (1987).
 - 21) Arita, I., Tatsumi, K., Tachibana, A., Toyoda, M., and Takebe, H.: Instability of Mex phenotype in polyclonal human lymphoblastoid cells lines. *Mutation Res.*, **208**, 167-172 (1988).
 - 22) Takebe, H., Nishigori, C., and Tatsumi, K.: Melanoma and other skin cancers in xeroderma pigmentosum patients and mutation in their cells. *J. Invest. Dermatol.*, in press.
 - 23) Yamashita, T., Yasuno, Y., Takebe, H., and Kondo, S.: Estimates of excess doses of radiation by thermoluminescence dosimeters in Budapest and Stockholm after Chernobyl accident. *Jpn. J. Health Physics*, in press.
 - 24) Takebe, H., Nishigori, C., and Satoh, H.: Xeroderma pigmentosum: Genetic epidemiology of a cancer-prone disease. In *Genetic Epidemiology of Cancer* (Eds. H. T. Lynch and T. Hirayama), CRC Press, in press.