
重金属の生物学的影響における化学的形態・量と効果の関係

The dose-response relationships in biological effects by metals in various chemical forms

代表研究者 同志社大学工学部教授 西岡 一
Prof., Doshisha Univ. Hajime NISHIOKA

協同研究者 滋賀医科大学助教授 嶋 昭 紘
Assoc. Prof., Shiga Medical College Akihiro SHIMA

近畿大学医学部助教授 安田佳子
Assoc. Prof., Kinki Univ., Medical School Yoshiko YASUDA

京都府立医科大学助教授 阿部達生
Assoc. Prof., Kyoto Prefectural Medical College Tatsuo ABE

For quantitative evaluation of metal toxicity such as mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity, it would be important to clarify an effect of the chemical forms and doses of those metal compounds on their biological effects and a mode of action on target material in the tissue. The major purpose of the present study is to investigate the dose-response relationships of metals in various chemical forms on DNA damage, mutation induction, chromosome aberration and influence on sperm.

The results obtained from the study for three years are as follows,

1. DNA damage *in vivo*.

The DNA damaging capacity of a number of metal compounds tested by a DNA repair test with solid and liquid methods using *E. coli* DNA repair derivatives were compared. These tests indicated that the compounds of Cr⁺⁶ and Se⁺⁴ have high capacity for DNA damage as grade 1, those of Hg⁺², Mo⁺⁶ and Te⁺⁶ as grade 2 and those of As⁺³, Cd⁺⁴ and V⁺⁵ as grade 3.

2. DNA damage *in vitro*.

In order to clarify a mode of action of metals, DNA degradation experiment was carried out with calf thymus DNA and *E. coli* DNA. From the sedimentation profiles obtained, it was estimated that Cr⁺⁶ and Mo⁺⁶ are involved in crosslink between DNA-protein and the other metals induce DNA breakage directly.

3. Bacterial mutagenesis.

Mutagenic activity of the metals screened by DNA repair tests were examined by using *E. coli* and *Salmonella typhimurium* strains. It was found that the compounds of As⁺³, Cd⁺², Hg⁺¹, Se⁺⁴, Te⁺⁴ and V⁺⁵ induce base pair substitution and those of Cr⁺⁶ and Mo⁺⁶ frameshift. Each metal compound has specific dose-response relationship on their mutagenesis. It was noticed that these relationships were influenced by Mg⁺⁺, PO₄⁻⁻⁻ and SO₄⁻⁻⁻.

4. Sister chromatid exchange (SCE) on human chromosome.

Frequency of SCE in lymphocyte of cultured human cells induced by 12 metal compounds were compared. The metals were classified into 3 groups according to the frequency, contrasting with positive controls such as 4NQO, ENNG and MMC.

5. Influence on sperm of mice.

By means of injection of metal compounds such as K₂Cr₂O₇ to the testicles of mice directly, induced sperm abnormality was observed microscopically at 1, 2, 3, 4 and 5 weeks after the treatment. The ability of conception in the female mice crossbred with the treated male and abnormality of fetus were examined. Each metals showed specific influences on sperm formation at a certain period after injection made sterile.

研究目的

地球の構成成分である重金属は、生物系に対して微量で必須の要素となることが多いが、一定量を超える濃度の重金属は、さまざまな毒性を示すこともよく知られている。近年、化学工業の発展に伴い重金属による環境汚染が世界各地で進み、その急性、慢性さらに特殊毒性（発がん性、変異原性、催奇形性）が注目される状況となっている。この内、急性、慢性などの生理的毒性に関しては古くから鉱毒として、あるいは職業病の原因としてよく知られ、動物実験などによる多くの報告に基づいて量一効果関係が知られており、各重金属に関して毒性の閾値が検討されたり、環境の許容濃度の基準などが設定されている。

一方、特殊毒性に関しては、ある種の重金属が職業がんを生ずるなど明瞭な疫学的報告があるにもかかわらず、その化学的形態および量一効果関係に関して殆ど知られていないのが現状である。

最近、環境変異原に対する認識が高まり、その人間の遺伝に対する影響が論じられ、変異原を検出する有効な手法も開発されつつある。又、変異原と発がん物質がほぼ共通していることが確認されるにおよび、これらの手法が発がん物質のスクリーニングとしても有力視されるようになった。代表研究者は、これまでにこれらの手法を重金属に適用して、砒素、クロム、カドミウム化合物などの変異原性金属を検出し、更にこれらの原子価依存性や発がん性との関連について報告してきた。本研究はこれらの研究を更に発展させてこれら重金属の生物学的影響における化学的形態および量一効果関係を明らかにして、重金属の特殊毒性の評価に関して有用な資料を得ることを目的とするもので、次のような研究項目に分かれる。

1. DNA 損傷性のスクリーニング

(a) バクテリア DNA 修復変異株による DNA 修復テスト

(この実験によって本研究に使用される変異原性のある重金属化合物をスクリーニングする)

〔i〕 固体法 (寒天培地上のストリーク法)

〔ii〕 液体法 (試験管中の比濁法)

(b) 各種 DNA に対する鎖切断

この実験は重金属の変異原性の機構を解明するために行なわれるもので、物理化学的手法によって重金属による DNA の鎖切断を測定する。

2. 突然変異誘発の量一効果関係

バクテリアに各重金属化合物を一定条件で作用させ、50~80%の生存率における生存数中の突然変異誘発頻度を測定する。同時に塩基対置換型、フレイムソフト型の変異誘発についても検討する。

3. 染色体異常生成の量一効果関係

染色体異常の鋭敏なテスト系として開発した、ヒト培養リンパ球の染色体分体組換え (SCE) に対する各重金属化合物の量一効果関係を調べる。

4. マウス精子への作用における量一効果関係

マウスに各重金属化合物を投与して、各週における精子数、形態異常生成の量一効果関係を調べる。

研究経過

(1) DNA 損傷性のスクリーニング

(a) DNA 修復テスト

大腸菌 WP2, WP2 uvrA (uvrA⁻), CM571 (recA⁻), WP100 (uvrA⁻, recA⁻) の DNA 修復能の異なる4種に対する各金属化合物の増殖阻害感受性が検討された。方法は寒天プレート法による固体法と試験管中で行なう液体法を用いた。特に液体法は我々が変異原の DNA 損傷性を定量的に比較するために開発したもので、各濃度の金属溶液を含む試験管中で各変異株 (WP2 および WP100) を培養し 50% 増殖阻害濃度の差 (DIG₅₀) を比較するものである。この場合、

$$DIG_{50} = \log \frac{\text{WP2 の 50\% 増殖阻害濃度}}{\text{WP100 の 50\% 増殖阻害濃度}}$$

として表わす。

これらの結果の一部を表1に示す。

固体法の結果から3価の砒素、カドミウム、6価のクロム、2価の水銀、6価のモリブデン、4価のセレン、テルル、ヴァナジウムが陽性と判定された。液体法によって得られた DIG₅₀ の値から各重金属化合物の DNA 損傷性の強度は、6価のクロム化合物がもっとも強く、4価のセレンがこれに続き、テルル、モリブデン化合物、2価の

Table 1. Screening of mutagenic metal compounds by DNA repair tests

Compounds	Concentration (mg/ml)	DNA repair test —solid—				DNA repair test —liquid—	
		Inhibition zone (mm)				+	DIG ₅₀
		WP2	WP2uvrA	CM571	WP100		
NaAsO ₂	130	8	7	7	11	+	0.13
AsCl ₃	100 (EtOH sol.)	7	7	7	10	+	0.11
Na ₂ HAsO ₄ ·7H ₂ O	624	0	0	0	0	—	0
BeCl ₂	17.4	0	0	0	0	—	0
CdCl ₂	20	0	0	2	4	+	0.24
(CH ₃ COO) ₂ Cd·2H ₂ O	66.6	2	1	3	4	+	0.23
CrCl ₃ ·6H ₂ O	20 (Acetone sol.)	0	0	0	0	—	0
Cr ₂ O ₃	Powder 5.5 mg	0	0	0	0	—	0
Cr(OH) ₃	50 (dil. HCl sol.)	1	2	1	1	—	0
CrPO ₄	20	6	5	5	6	—	0
K ₂ Cr ₂ (SO ₄) ₄	28.3	0	0	0	0	—	0
K ₂ Cr ₂ O ₇	50	10	9	15	16	++	1.77
K ₂ CrO ₄	20	12	11	16	17	+	1.05
(NH ₄) ₂ Cr ₂ O ₇	12.6	7	6	11	11	+	1.02
CsCl	50	0	0	0	0	—	0
CuSO ₄ ·5H ₂ O	50	2	0	2	2	—	0
FeSO ₄ ·7H ₂ O	50	0	0	0	0	—	0
K ₄ Fe(CN) ₆ ·3H ₂ O	20	0	0	0	0	—	0
FeCl ₃ ·6H ₂ O	50	0	0	0	0	—	0
K ₃ Fe(CN) ₆	20	0	0	0	0	—	0
GeO ₂	Powder 5 mg	0	0	0	0	—	0
HgCl	0.28 (DMSO sol.)	0	0	0	0	—	0
	Powder 7.7 mg	0	0	0	0	—	0
CH ₃ HgCl	2.5 (DMSO sol.)	8	6	9	12	+	0.41
HgCl ₂	272 (DMSO sol.)	6	4	5	9	+	0.21
LiCl	20	0	0	0	0	—	0
KMnO ₄	50	0	0	0	0	—	0
MnCl ₂	50	0	0	0	0	—	0
MnSO ₄ ·4-6H ₂ O	50	0	0	0	0	—	0
K ₂ MoO ₄	50	0	0	0	0	—	0.31
	Powder 5.1 mg	0	0	0	0	—	0
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	30	0	0	0	0	—	0.30
	Powder 6.2 mg	13	13	14	13	—	0
NiCl ₂ ·6H ₂ O	50	0	0	0	0	—	0
Na ₂ SeO ₄	20	0	0	0	0	—	0
Na ₂ SeO ₃	20	0	0	4	7	++	1.15
SeO ₂	20	0	0	6	7	++	1.05
PbCl ₂	Powder 10.9 mg	0	0	0	0	—	0
TeO ₂	1.0 (dil. HCl sol.)	14	18	15	19	+	0.44
Na ₂ H ₄ TeO ₆	1.0 (dil. HNO ₃ sol.)	13	12	14	16	+	0.31
TiCl	2.5	0	0	0	0	—	0
	Powder 5.0 mg	23	25	20	20	—	0
VOCl ₂	55.2 (dil. HCl sol.)	2	3	4	6	+	0.20
V ₂ O ₅	1.0 (conc. HCl sol.)	15	13	13	15	—	0.11
	Powder 5.7 mg	6	5	5	5	—	0

水銀、カドミウム、ヴァナジウム、砒素の化合物の順で続いている。4種の大腸菌 DNA 修復変異株の結果から各重金属による DNA 損傷は組換え修復によって修復されやすい傾向を示している。スクリーニングされたこれらの金属からピックアップして以下の各研究を行なった。

(b) 各種 DNA に対する鎖切断

各濃度の NaAsO_2 , HgCl_2 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ などを

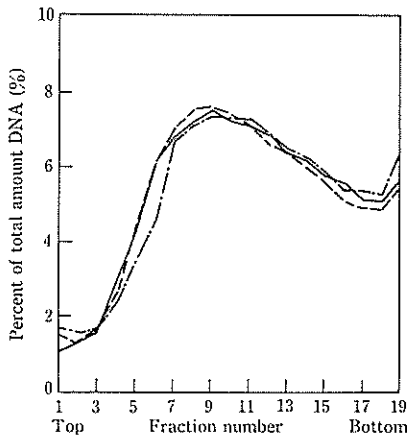


Fig. 1. Sedimentation profile of calf thymus DNA treated with NaAsO_2 in vitro.

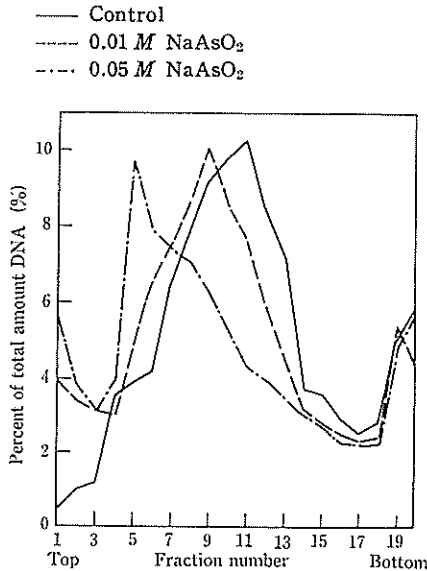


Fig. 2. Sedimentation profile of *E. coli* DNA treated with NaAsO_2 in vivo.

— Control
 ---- 0.01 M NaAsO_2
 - · - · 0.05 M NaAsO_2

仔牛胸腺 DNA に作用させアルカリ蔗糖勾配法で超遠心分離の後、DNA を蛍光分光で分析した。*in vitro* のこの方法では、いずれも分析スペクトルに有意なシフトが見出されなかった。その一例を図1に示す。一方、金属を大腸菌 WP2の細胞に作用させる *in vivo* の方法では、抽出したDNA の分析によってスペクトルにシフトが見られ、DNA の切断、低分子化が行なわれた可能性を示唆した。その一例を図2に示す。これらの結果は、変異原性金属が DNA に直接作用するより、核タンパクなど DNA 支持体と反応して、間接的に DNA 損傷を生ずると我々の仮説を支持する。

(2) 突然変異誘発における量—効果の関係

大腸菌 WP2uvrA, サルモネラ菌 TA98, TA100 を用いて、スクリーニングされた各金属化合物の突然変異誘発の量—効果の関係が検討された。それぞれの結果は図3~10に示される。方法は、各濃度の各金属化合物と細胞(約 $10^8/\text{ml}$)を 37°C で1時間処理し、その後洗浄して栄養制限培地にプレートし、48時間培養で生じる Trp^-

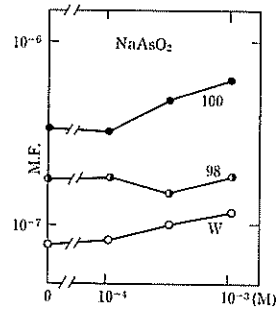


Fig. 3. Mutagenesis of NaAsO_2 .

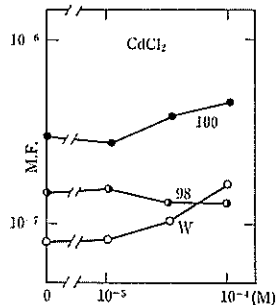


Fig. 4. Mutagenesis of CdCl_2 .

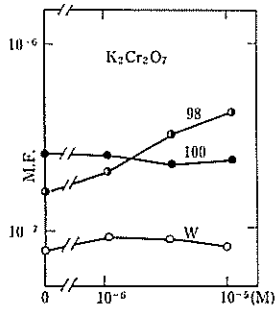


Fig. 5. Mutagenesis of $K_2Cr_2O_7$.

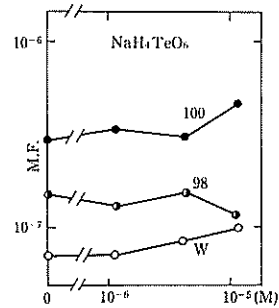


Fig. 9. Mutagenesis of $Na_2H_4TeO_6$.

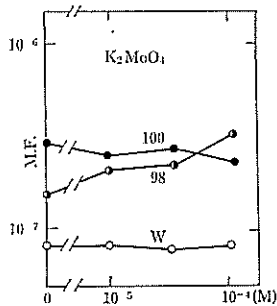


Fig. 6. Mutagenesis of K_2MoO_4 .

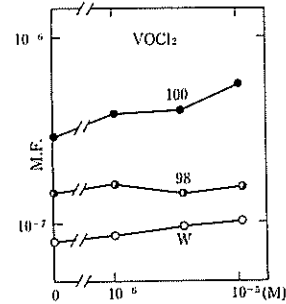


Fig. 10. Mutagenesis of $VOCl_2$.

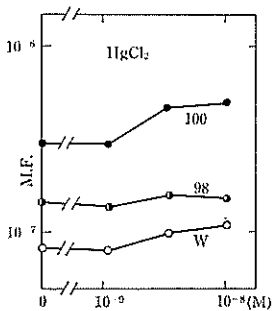


Fig. 7. Mutagenesis of $HgCl_2$.

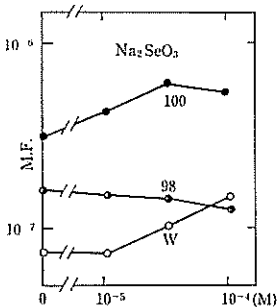


Fig. 8. Mutagenesis of Na_2SeO_3 .

から Trp^+ および His^- から His^+ への復帰突然変異コロニーを計数し、プレート上の自然突然変異を減じて、生存数で除し、誘導突然変異頻度 (MF) とした。生存率は 50~80% となるような各金属化合物の各濃度が使用された。 $NaAsO_2$ では $10^{-4} M$ から、 $CdCl_2$ では $10^{-6} M$ から、 TA 100 と WP2uvrA で上昇がみられた。 $K_2Cr_2O_7$ では $2.5 \times 10^{-6} M$ から、 K_2MoO_4 では $10^{-4} M$ から TA98 に明瞭な上昇がみられた。 $HgCl_2$ では $2.5 \times 10^{-6} M$ で、 TA100に、 Na_2SeO_3 では $2.5 \times 10^{-4} M$ で TA100 と WP2uvrA で増加した。 $Na_2H_4TeO_6$ および $VOCl_2$ では $10^{-3} M$ に至って TA100 にのみ、比較的明瞭な増加をみた。この結果、As, Cd, Hg, Te, V 化合物が WP2uvrA と TA100 に突然変異頻度を増加させ、塩基対置換型の変異を誘発させることを示唆した。又、Cr, Mo 化合物が TA98 で突然変異を増加させ、フレームシフト型の突然変異を誘発することが判明した。又、変異誘発頻度は培地中の Mg^{++} , PO_4^{--} , SO_4^{--} の各イオン濃度によく

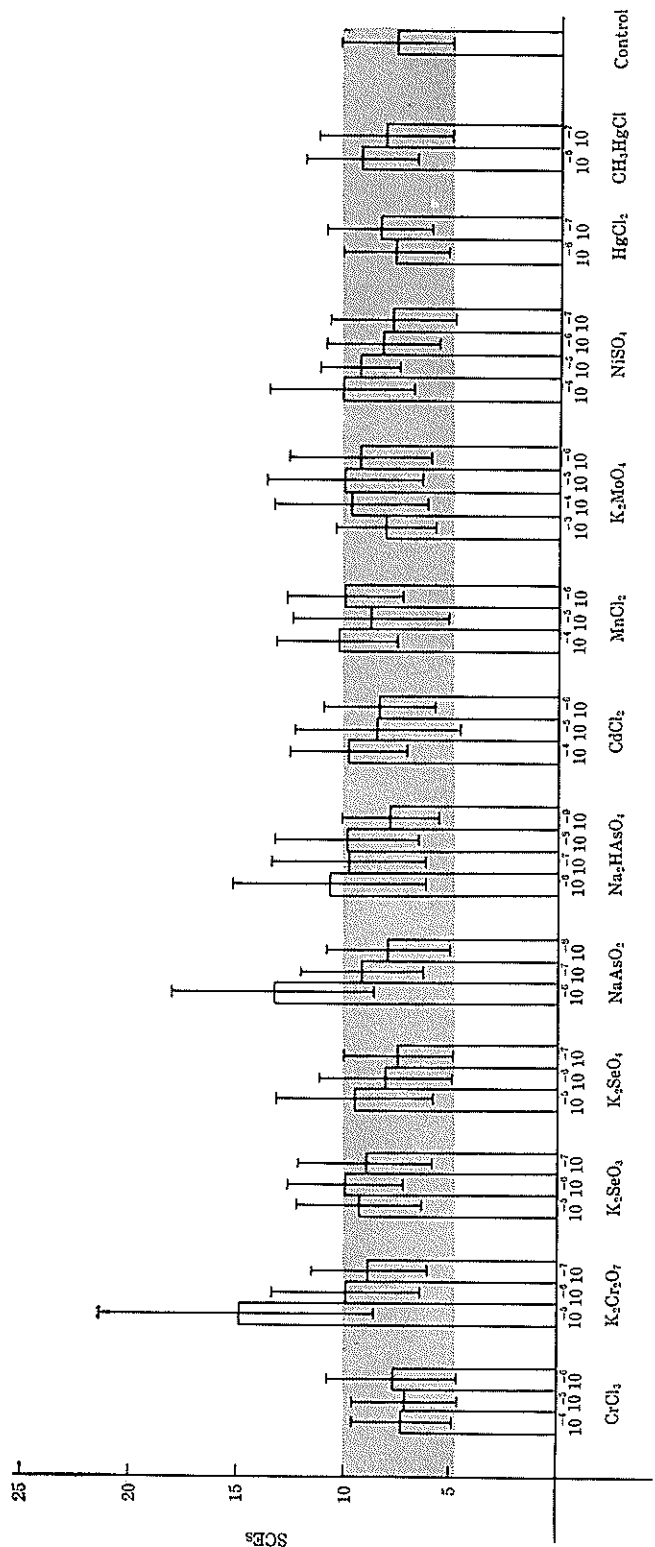


Fig. 11. Frequency of sister chromatid exchange (SCE) of human lymphocyte induced by various metal compounds.

影響されること、Cr の場合に代謝活性化が見られることが明らかとなった。更に上記の菌株を用いる新しく開発した「フラクチュエーションテスト」によって、各重金属の復帰突然変異およびストレプトマイシン耐性への前進突然変異が検討された。この方法でもプレート法による結果をほぼ支持する結果が得られた。

(3) 染色体異常生成の量-効果関係

ヒト培養リンパ球の染色分体組換え (SCE) がバクテリアによるスクリーニングによって陽性を示した7種の金属化合物 (NaAsO_2 , CdCl_2 , CH_3HgCl , HgCl_2 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, K_2MoO_4 , K_2SeO_3) および陰性となった5種の金属化合物 (CrCl_3 , K_2SeO_4 , Na_2HAsO_4 , MnCl_2 , NiSO_4) について検討された。陽性対照として4-ニトロキノリン-1-オキソイド (4NQO), *N*-I 4*n*-*N'*-ニトロ-ニトログアニジン (ENNG), マイトマイシンC (MMC) を用い陽性度の比較を行なった。方法は全血培養法に従って、全血 0.5 ml を胎児牛血清, PHA を含む TC-199 培地 5 ml に入れ培養した。コルセミドを添加し, KCl で処理後, 遠心し, カルノア液で同定, 洗浄後スライドグラスに滴下, 染色体標本を作成した。分染は FPG の方法を用いた。分裂中期細胞をミニコピーフィルムで, 30~40 個顕微鏡で写真撮影し, 投影によって細胞あたりの SCE を算出した。各重金属化合物の SCE の結果はまとめて図 11 に示される。ここで明瞭な量-効果関係を示すものは, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, K_2SeO_3 , NaAsO_2 の3種である。 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ では $10^{-7} M$ で 8.2, $10^{-6} M$ で 9.9, $10^{-5} M$ で 15.0 と急激な上昇を示した。 K_2SeO_3 では $10^{-5} M$ で初めて 9.5 程度を示した。 NaAsO_2 では $10^{-8} M$ で 7.5, $10^{-7} M$ で 8.5, $10^{-6} M$ で 13.0 と上昇した。4 価の Se ではなく, 6 価の Se が量-効果関係を示すことは, バクテリアの場合と一致しないが, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, NaAsO_2 の場合とよく一致している。この結果から各金属を下記のように分類した。陽性度 1 グループ (陽性対照 MMC 30, 4NQO 23, ENNG 19 に匹敵するもの): テストされた重金属にはこのグループに入るものはなかった。陽性度 2 グループ (対照の平均値 9.91 を超えるもの):

$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (14.94), NaAsO_2 (13.30), Na_2HAsO_4 (10.71) がこのグループに入る。陽性度 3 グループ (統計的には有意に高いが対照の平均値を越えないもの): K_2SeO_3 (9.93), K_2SeO_4 (9.52), MnCl_2 (9.89), NiSO_4 (9.80), K_2MoO_4 (9.65), CdCl_2 (9.43), CH_3HgCl (8.92) が入る。陽性度 4 グループ (有意の上昇を認めないもの): CrCl_3 (7.75), HgCl_2 (8.11) が入る。

陽性度の結果はバクテリアによる変異原性テストとセレン, 無機水銀の場合を除いて概ね一致した。同一金属で原子価の違いで作用が大きく異なることは, 金属の変異原性の作用機構を解明するのに重要であろう。

(4) マウス精子への作用における量-効果関係

各濃度の $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ を雄マウスに投与し, その精子形成に及ぼす作用の量-効果関係を検討した。使用動物 ICR 系 13 週令雄マウスで, 投与方法は $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ を CMF 緩衝液に溶解させ, 開腹した雄マウスの精巣に直接注射針で注入した。各濃度は $10^{-6} \sim 3 \times 10^{-5} M$ 匹である。投与後, 1, 2, 3, 4, 5 週の各時期に精巣上体尾部を摘出し, 精子懸濁液を作成し, mm^3 あたりの精子数を測定した。又, エオシン Y で染色後, 塗布標本を作成して, 精子の形態を観察し, 各濃度と異常精子の生成の関係を調べた結果を図 14 に示す。 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ では, $10^{-6} M$ 以下で各週毎に精子数の減少がみられ, 5 週目には約半数に達する。又, 5 週目に至ると各種の異常精子が急激に増加し, 異常精子 (尖体鉤欠失, 無構造, バナナなどの各タイプ) が形成された精子数の約半数を占めるに至る。今回の実験での最高濃度 $3 \times 10^{-5} M$ では, 精子数は 1 週目から極度に低下し, 3 週目で約 3 分の 1 程度となり, 形成された精子の内, 尖体鉤欠失が 41%, 無構造が 50% に達する。

なお, $10^{-6} M$ の $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ で処理された雄マウスと成熟雌マウスの交配で, 1 週, 2 週での妊娠能力は正常であったが, 3 週目で急激に妊娠能力が失われた。 $3 \times 10^{-5} M$ で, この傾向は更に強まった。なおこの実験条件で雄の体重に変化は見られなかった。

精子の数, および形態異常が, $10^{-6} M$ という

比較的濃度で強く観察されたことは、重金属（クロム化合物）の作用が、他の有機性有毒物質に比べて同様に鋭敏に作用することが推定される。又、投与3週目で急激に妊娠能力が低下することは、精子形成の各期によって重金属の作用度が大きく異なることを示唆するようである。 $10^{-6} M$ 以下と、 $3 \times 10^{-5} M$ では明瞭に強い量-効果関係が見られ、 $K_2Cr_2O_7$ の場合、この濃度範囲で、生物学的作用がよくレスポンスするものと思われる。

成 果

(1) DNA 損傷性のスクリーニング

本研究で取扱われた生物学的作用は、DNAにかかわる毒性としたので、まず多数の金属化合物から、DNA 損傷性が陽性となるものがバクテリアの簡便な系でスクリーニングされた。大腸菌による DNA 修復テスト、固体法および液体法で As^{+3} , Cd^{+2} , Cr^{+6} , Hg^{+2} , Mo^{+6} , Se^{+4} , Te^{+4} , V^{+5} が得られ、それぞれの化合物が、以下の研究に供されることとなった。ここで、これらの作用機構に興味があったので、DNA に対する鎖切断を庶糖勾配法で測定した。この結果、各化合物を仔牛胸腺 DNA に直接作用させるより、大腸菌細胞に作用させてから DNA を抽出する方法によって、より明瞭に鎖切断が起こる結果を得た。このことは、これらの金属化合物が、DNA に直接作用するよりは、何らかの過程でタンパク質を介して DNA に働くという可能性を示唆した。又、その後の研究で、 Cr^{+6} と Mo^{+6} は DNA タンパク質にクロスリンクを生ずることを示唆する結果を得た。

(2) 突然変異誘発における量-効果の関係

各金属化合物の突然変異誘発は、最も強い $K_2Cr_2O_7$ でも自然突然変異の6倍を超えず、陽性コントロールとして用いるような変異原物質に比べてはるかに低い誘発性でしかない。そのため各化合物の変異誘発の有意性をみるためには、慎重な実験上の配慮が必要となった。 Cr^{+6} と Mo^{+6} はフレイムソフト型だが、他は塩基対置換型の突然変異を誘発する。又、各化合物によって、変異誘発の濃度に大きな差があり、 $10^{-8} M$ から 10^{-6}

M の間に分布している。

各化合物の突然変異誘発の量-効果関係から、濃度と変異率をまとめると次の表のようになる。

化 合 物	濃 度 範 圍 (50~80% 生存率)	変 異 誘 発 (自然突然変異)
NaAsO ₂	$10^{-4} \sim 10^{-3}$	2.25 (TA100)
CdCl ₂	$10^{-5} \sim 10^{-4}$	1.75 (TA100)
K ₂ Cr ₂ O ₇	$10^{-6} \sim 10^{-5}$	5.45 (TA98)
K ₂ MoO ₄	$10^{-5} \sim 10^{-4}$	1.85 (TA98)
HgCl ₂	$10^{-9} \sim 10^{-8}$	1.35 (TA100)
Na ₂ SeO ₃	$10^{-5} \sim 10^{-4}$	1.40 (TA100)
Na ₂ H ₄ TeO ₆	$10^{-6} \sim 10^{-5}$	1.30 (TA100)
VOCl ₂	$10^{-6} \sim 10^{-5}$	1.45 (TA100)

(3) 染色体異常生成の量-効果関係

量-効果関係が得られたのは、 $K_2Cr_2O_7$, K_2SeO_4 , $NaAsO_2$, Na_2HAsO_4 , $CdCl_2$ である。これらの濃度と SCE の頻度を表にまとめると次のようである。

化 合 物	濃 度	SCE (/control)
K ₂ Cr ₂ O ₇	$10^{-7} \sim 10^{-5}$	2.1
K ₂ SeO ₄	$10^{-7} \sim 10^{-5}$	1.3
NaAsO ₂	$10^{-8} \sim 10^{-6}$	1.6
Na ₂ HAsO ₄	$10^{-8} \sim 10^{-5}$	1.3
CdCl ₂	$10^{-6} \sim 10^{-4}$	1.1

(4) マウス精子への作用における量-効果関係

$K_2Cr_2O_7$ の結果で、 $10^{-6} M$ と $3 \times 10^{-6} M$ の範囲で精子数の減少、および異常精子生成に比較的良好な量-効果関係がみられた。更に低い濃度の $10^{-7} M$ では、精子数も異常精子も見られないことから、 $10^{-7} M \sim 10^{-6} M$ の間に、この実験条件の閾値が存在するものと思われる。又、 $3 \times 10^{-6} M$ 以上では、強い毒性のため量-効果関係は見られない。 $10^{-6} M \sim 3 \times 10^{-6} M$ では、バクテリアの場合、SCE の場合の濃度とほぼ匹敵して興味深い。まだ他の金属の結果が揃っていないが(現在 $CdCl_2$, $HgCl_2$ などの結果を集計中)、それぞれの濃度を、異なる生物学的効果で比較するのは興味がある。

(5) 成果の総括

以上の結果から、特殊毒性を生ずる可能性を持つ重金属がスクリーニングされたこと、各生物学

的作用の量—効果関係から、特殊毒性を評価する際の濃度に関して基礎的資料が作られたと思う。

今後の問題点

重金属の生物学的作用、特に遺伝的影響の量—効果関係を明らかにするのが目的であったが、実験が進むにつれて、次々に新たな事実がわかって来て、その方に興味を奪われることが、しばしばあった。例えば、突然変異誘発の量—効果関係の実験で、 Mg^{++} 、 PO_4^{--} 、 SO_4^{--} の効果を見いだした時は、この方の興味への誘惑が強かった。今後は更に多くの金属化合物についても検討して、金属の特性と DNA との反応性の関係を明らかにする必要がある。又、生物実験材料についても酵母や昆虫など、バクテリアと動物細胞の中間を埋めるようなものを用いて検討することは興味があるだろう。

発表論文

- 1) 西岡 一：環境変異原の検出の実例と対策—金属化合物について—、公害と対策, 12, No. 4, 413-417 (1976).
- 2) K. Tatsumi and H. Nishioka: Effect of DNA repair system on antibacterial and mutagenic activity of an antitumor protein, neocarcinostatin, Mutation Res., 48, 195-204 (1977).
- 3) T. Yagi and H. Nishioka: DNA damage and its degradation by metal compounds, The Science and Engineering Review of Doshisha University, 18, 2 (1977).
- 4) K. Tatsumi and H. Nishioka: Mutagenicity of an antitumor protein, neocarcinostatin, in *Escherichia coli*, Mutation Research, 56, 91 (1977).
- 5) H. Nishioka: Super sensitive DNA repair test-liquid method-for mutagen detection, Mutation Research, 54, 223 (1978).
- 6) 西岡 一：身の回りの発がん物質をみつける, 労働衛生, 19, 2 (1978).
- 7) T. Komai and H. Nishioka: Comparison of photodynamic action by flash light and continuous illumination in bacteria, The Science and Engineering Review of Doshisha University, 19, 2 (1979).
- 8) H. Nishioka and T. Komai: Analysis of lethal and Mutagenic DNA lesions in bacterial cells induced by photodynamic action of flashed light, 6th International Congress of Radiation Research (1979).
- 9) 西岡 一：DNA を傷つける化学物質, 現代化学,

95, 2 (1979).

- 10) 西岡 一：物質の発がん性はこうして判定する, モル, 17, 6 (1979).
- 11) A. Shima and T. Sugahara: Age-dependent ploidy class changes in mouse hepatocyte nuclei as revealed by feulgen DNA cytofluorometry, Exp. Geront., 11, 193-203 (1976).
- 12) A. Shima: Effect of age on radiosensitivity of nuclear and mitochondria DNA synthesis in mouse liver, Exp. Geront., 10, 171 (1976).
- 13) A. Shima: Cytofluorometric quantitation of DNA repair in Ehrlich ascites cancer cells after UV-irradiation, Exp. Cell Res., 110, 47 (1977).
- 14) A. Shima: Absence of systematic polyploidization of hepatocyte nuclei during the ageing process of the male Medaka, *Oryzias latipes*, Exp. Geront., 13, 51 (1978).
- 15) A. Shima: Cytofluorometric study of cell kinetics during colony formation; A preliminary note, 放射線生物学, 京滋グループ年報, 2, (1978).
- 16) Y. Yasuda: Embryotoxic effects of feeding Bracken Fern to pregnant mice, Toxicology and Applied Pharmacology, 28, 2 (1975).
- 17) Y. Yasuda, T. Kihara and H. Nishimura: Effect of prenatal treatment with ethynyl estradiol on the mouse uterus and ovary, American J. of Obstetrics and Gynecology, 127, 8 (1977).
- 18) Y. Yasuda, T. Kihara and H. Nishimura: Transplacental effect of ethynyl estradiol on mouse vaginal epithelium Develop., Growth and Differ., 19, 3 (1977).
- 19) Y. Yasuda, T. Takeda and T. Kihara: Ethynyl estradiol may lead to malignancy, American J. of Obstetrics and Gynecology, 180, 4 (1978).
- 20) S. Misawa, T. Takino, M. Morita and T. Abe: Sister chromatid exchanges induced by busulfan in vivo and in vitro, J. Kyoto Pref. Univ. Med., 86, No. 2, 113-120 (1977).
- 21) S. Misawa, T. Takino, M. Morita and T. Abe: Sister chromatid exchanges induced by busulfan in vivo and in vitro J. of Kyoto Pref. Univ. Med., 86, 1 (1977).
- 22) 小川博正, 三沢信一, 森田益次, 阿部達生, 川井啓市, 西岡 一：各種金属化合物によるヒト培養リンパ球, 姉妹染色分体組み換え頻度と遺伝毒性に関する考察, 医学のあゆみ, 107, 9 (1978).
- 23) 小川博正, 阿部達生：各種金属化合物によるヒト培養リンパ球の染色分体組み換えに関する研究並びに金属化合物の変異, 癌原性についての考察, 京都府立医科大学雑誌, 88, 4 (1979).