

藤田哲也（ふじたせつや）

ルイ・パストゥール医学研究センター 京都府立医科大学名誉教授（病理学）

ヒト癌の発生と放射線との接点に関する問題提起

私たちが約 30 年にわたり、病理医や臨床家と共にヒトの癌の発生を、できるだけ定量的に追いかける研究を続けてきた結果、明らかになったのは、成人に多い癌種（上皮性悪性腫瘍）では、初発してから 20 ないし 30 年の時間がたたないと誰にでもわかる「癌という病気」を発症することはない、ということであった（ただ、若年者に多い肉腫や白血病では、この期間はずっと短いものが多く、2 ないし 7 年のものも少なくない）。

最初の、癌へのイニシエーションの後、長い期間をかけて、癌へと向う癌性起始細胞（この段階では、未だ癌細胞とは言えない）は変異を重ね次第に本当の癌細胞に変化していく。末期の癌細胞の様相は確かに認識できるが、人体内で、癌へ向かう最初の癌性細胞（起始細胞）は、どんな特徴があるのか、どのようにして出現するのか、に関して、人体病理学者の長年をかけた追及と膨大な観察事実の積み上げにもかかわらず全く不明であった。

真の癌細胞になるまで、長い期間、癌の起始細胞は、おとなしい様相のまま、変異を重ねる。癌化への初期変化が長期間続く染色体の不安定性を結果し、それが最終的に癌細胞を生むのである。癌の初発像を知るために、多数の病理標本を集め、次々と小型の癌を精査し、それより更に小型のものへと順々に辿っていく戦略が、病理学者の間では、初期像に辿りつく唯一の方法論であった。この方法で辿れるのは大きさが 1 mm 程度、細胞数にして数万個のレベルまでであって、それ以下になるとぷつぷつと情報は途絶えるのである。

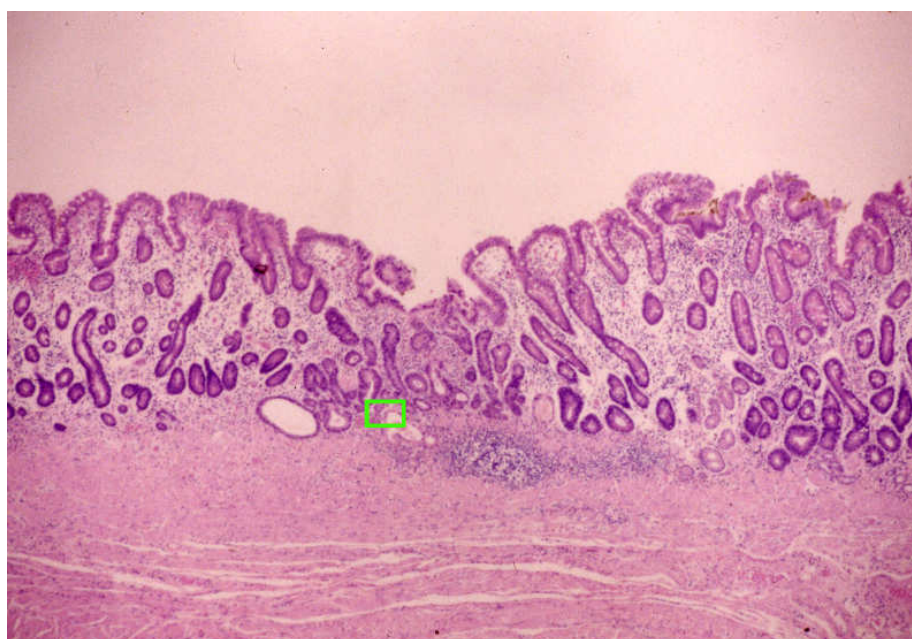


図 1 萎縮性胃炎の中に発見された異常細胞の小集団

図1の組織像は、私たちと協同研究者が発見しえた最小の、癌性を疑わせる病巣であるが、このくらいの小さいものになると、癌への関連は推量できるものの、初期癌とはとても診断できないレベルのものに留まっている。参考までに、その最も変化の強い部分を緑の枠でかこんであるが、その強拡大像は下の図2に示す通りである。このレベルを過ぎて、さらに小さい起始細胞病巣を探す試みは未だ誰も成功していないのである。これらの経験は、上記の戦略は成功しないと認めざるをえない結果であるといえよう。

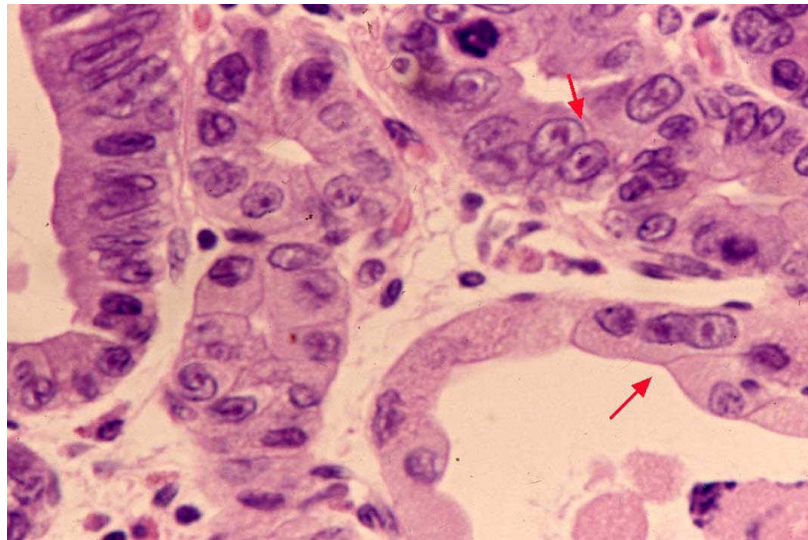


図2 初期癌を思わせる胃粘膜の小病巣（枠内の強拡大）

そこで、発想を変え、初期の癌性細胞について、できるだけ可能性の高い仮説を「たたき台」として提出し、どこまで観察事実に基づいて、その初期生長像が説明できるか、試みてみることにした。

そのときヒントになったのが、私たちが遭遇した初期癌へ向かうらしい小病変では、多くの場合、増殖細胞集団（幹細胞）の中に細胞核 DNA が正常の2倍、4倍などになっている多倍体細胞の出現が見られる事実（図2の赤矢印は4倍体間の接吻核を示す）であった。正常な粘膜では、これら増殖細胞集団に多倍体細胞が出現することは滅多にないという経験も役立った。これらの所見から、思いついたのが、「初発癌性細胞の DNA-crosslinkage 説」である。増殖細胞に（図3下左端のように）DNA-crosslinkage が出現し、これら DNA-crosslinkage が修復されずに残存すれば、細胞分裂に際して（図3中央→右端）、接合双生児を無理やり引き剥がすような物理的な力が加わり染色体切断（この場合、直ちに断片同志の結合や転座、挿入、逆位などを起こすことが多いが、欠失で失われることもある）が起こるか、娘染色体のペアが2つとも片方の娘細胞に取り込まれるか（Aneuploidy）、などのゲノム異常が生じるチャンスが高まる。これらのものの多くは、人体内では生存不適

となり死滅除去される可能性が高いだろう。しかし、なんとか生存するものも存在するはずだ。それらは、何回かの異常分裂を経た後、癌細胞を生む候補者になると考えられる。

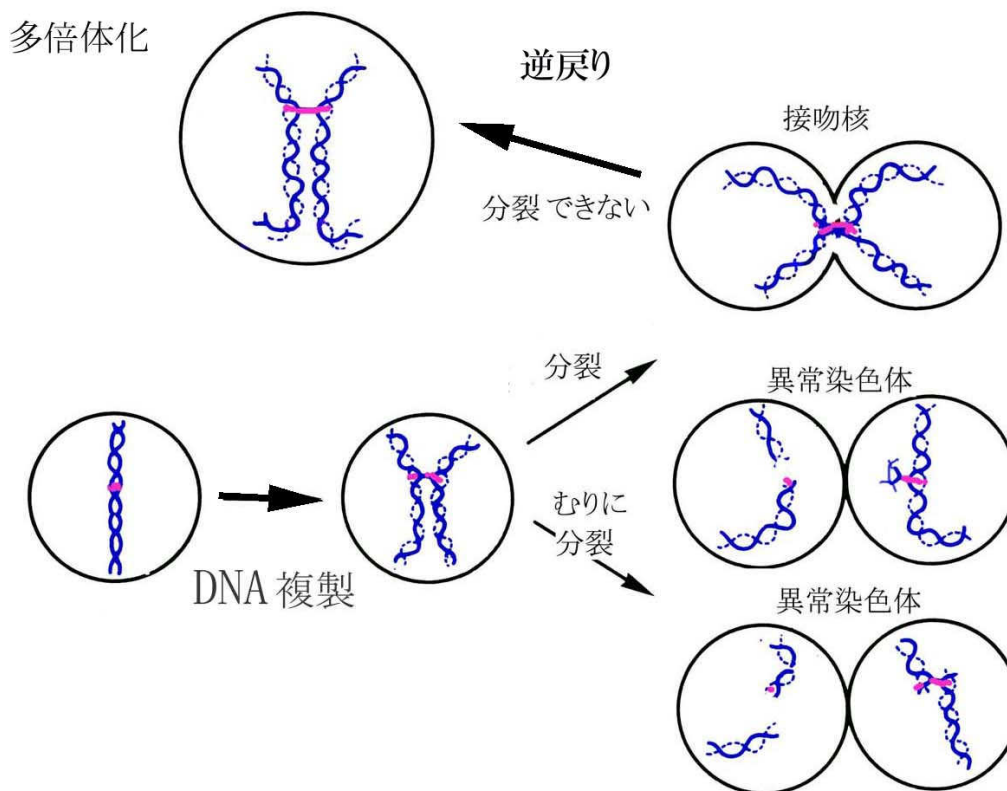


図3 クロスリンケージの出現によるクロマチド不分離説と癌細胞への第一歩

ところで、本当に、DNA-crosslinkage などの染色体変化が、ヒトの体内で、日常、生じうるものなのだろうか。疑う人が多かった。このようなクロスリンケージがヒトの増殖性細胞の中に出現することは、実際、稀ではないことが最近、明らかになってきたのである。化学的な構造からみれば、様々なDNA-crosslinkage が考えられるが、最近明らかになったのは、自然な増殖細胞にもこれが出現することと、それにも増して、高頻度で見られるものとして、化学発癌物質や放射線障害によるDSBの修復に際しても現れる相同組換えによる回復過程で、必発的に出現するDNA-crosslinkage として Holliday junction (図4、DNA鎖AとBの間にcrosslinkage が出来ている)があることに注目が集まってきた。普通これらは完全に修復されるが、万一、DNA複製後の分裂時まで、このような変異が残存すると、その細胞では分裂に際して染色体がすんなりとは別れてくれないので必発的に chromosomal instability の状態が作り出され、これが細胞世代を越えて繰り返される。かなり致命的な傷害である。こんな危険な現象が簡単におこるものなのだろうか、という疑問は、DNA-crosslinkage 説を思いついた時点から存在した。あったとしても速やかに修復されるようなものではないのか。

ところが、実際の人体で前癌といわれるものや初期癌・早期癌を調べて見ると、この仮説から導きだされるような細胞性変化が、実際に、見出されるのである。どうも、これは本当に起こりうるものらしい。

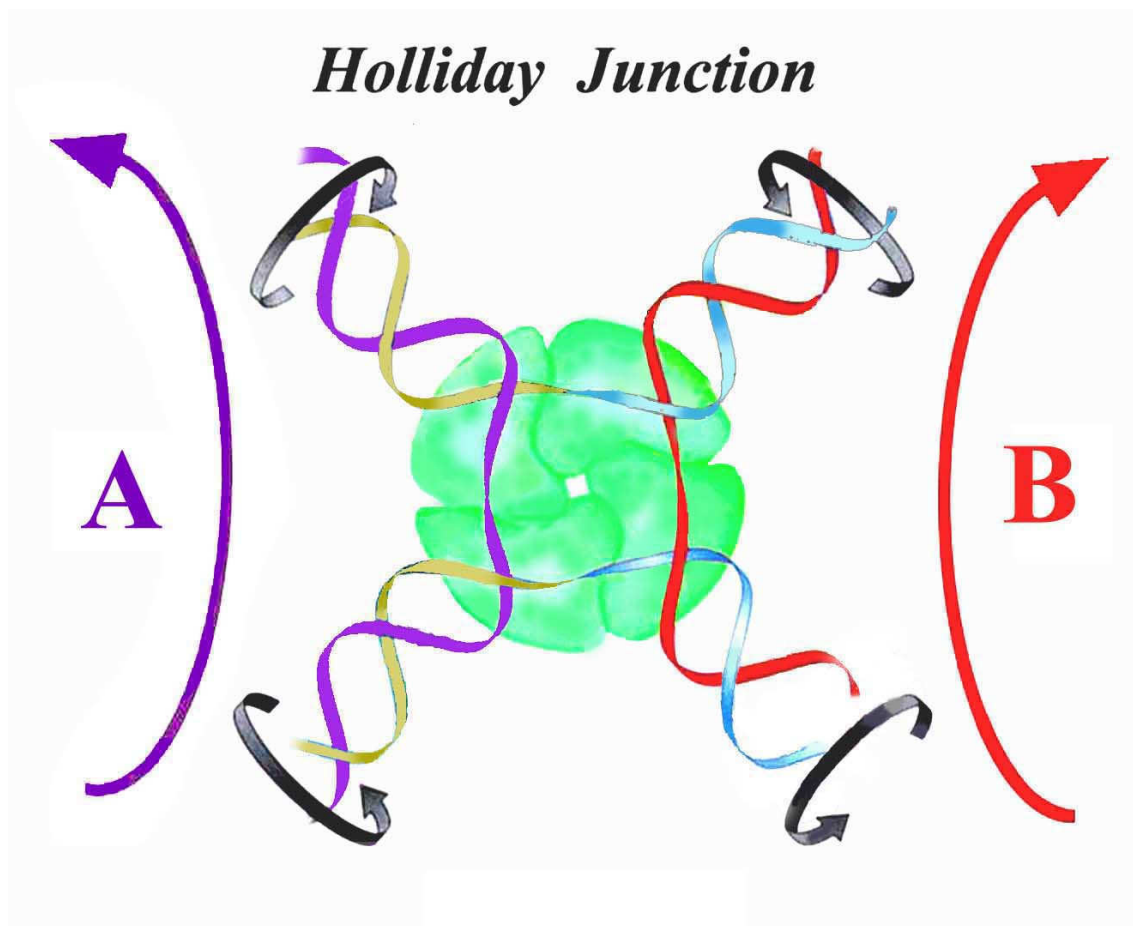
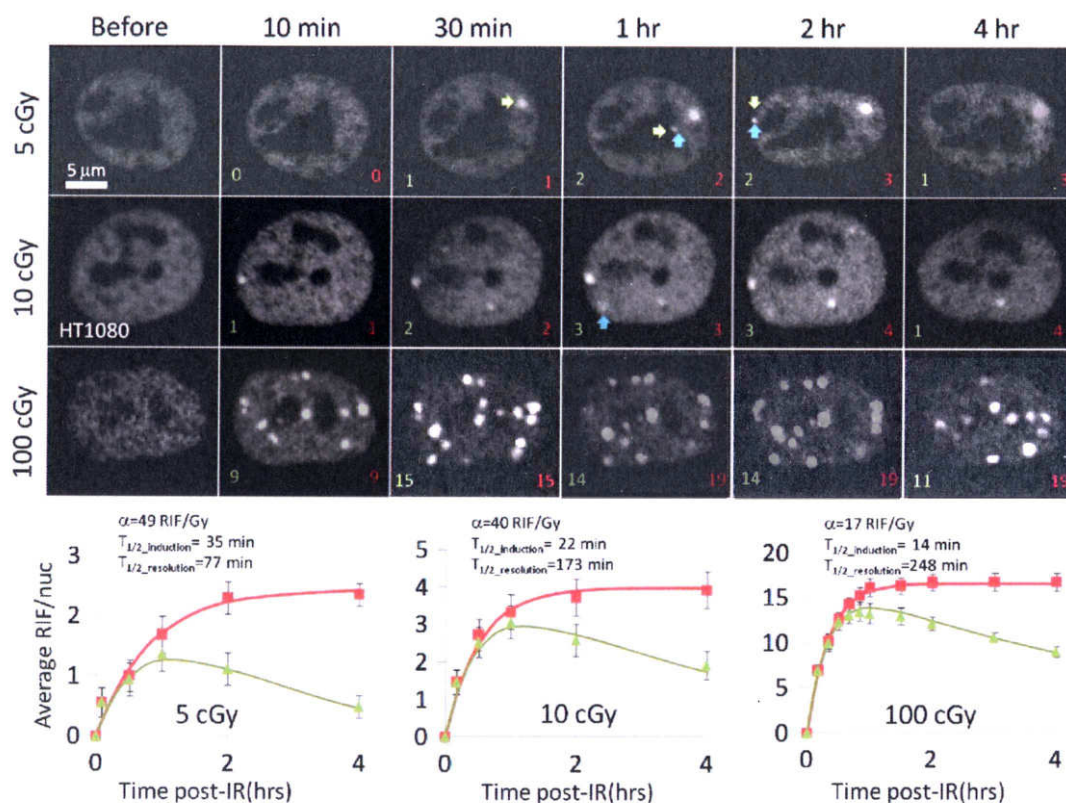


図4 ホリデイジャンクションという名の DNA クロスリンケージ

普通の細胞なら、Holliday junction のような DNA-crosslinkage は、5 種類ある RecQ-helicase の働きで、たちまち修復され、分裂時まで DNA-crosslinkage が残るようなことはない。この酵素の第 1 号は、九大の中山教授が 1984 年に発見されたもので、RecQ-helicase 1 と呼ばれている。日本で発見された、科学の歴史に残る大きな業績である。その後、世界中で -2、-3、-4、-5 の合計 5 種類が報告されている。それらの欠失する遺伝病が知られているが、予想されるように、癌を多発するのである。

この酵素を中心とする DSB (DNA 二重鎖切断) の修復は非常に重要である。実験的に最も簡単に DSB を起こしてくるのは放射線の照射である。パルス電気泳動法で測ると、放射線を照射したヒト線維芽細胞では核内に、線量に応じた数の DSB が出現する。ドイツの Neumaier らは、これら修復酵素を蛍光で光るようにレポーターをつけた上で、このような照射実験を行って蛍光顕微鏡で観察していくと、DSB の周りに、速やかに修復タンパクの

大集団（RIF と呼ばれる、顕微鏡下で直径が最大 $0.6 \mu\text{m}$ にも及ぶ塊になる修復センター）が出現し、修復を行うことを見た（下図）。興味のあることに、照射線量を、低い 5cGy から 10cGy 、さらに 100cGy と上げたものを比べると、低線量では、単位線量あたりの RIF の出現頻度は線量の割には多いが平均サイズは小さく消失速度も速い。つまり、低線量では DNA 損傷の修復が格段に有効に行われ、より完全な回復が速やかに起こるという事実を定量的に明らかにした。これは LNT モデルへの決定的な反証であると見てよいだろう。

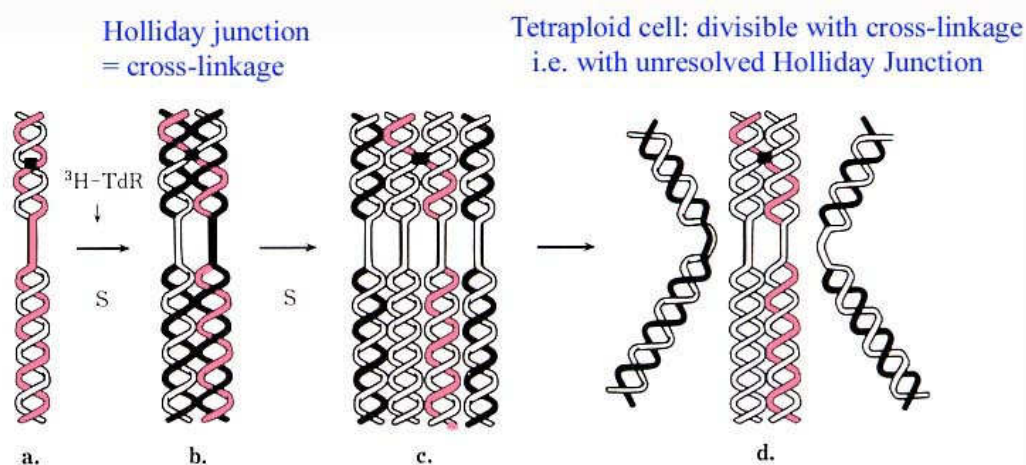


Neumaier T et al.: Evidence for formation of DNA repair centers and dose-response nonlinearity in human cells. PNAS 109, 443-8 (2012)

放射線が DNA crosslinkage をつくることで、癌の起始細胞を生じさせるという点に関係して、さらに想像をたくましくすれば、放射線では、DNA が傷害され DSB ができたりするほかに、多数のこの種のタンパクたちが放射線によるラジカルで傷害され、DNA 修復機能を失ってくる可能性が考えられる。このターゲットのサイズは DNA より遥かに大きい。これら DSB 修復タンパクは RIF に集まったときに放射線のターゲットとなるほかに、常に細胞核内に瀰漫性に（上図の核内蛍光！）存在しているから、それらが直接、放射線のつくる酸素ラジカル、水酸化ラジカル、タンパクなどの有機ラジカルと反応して、自分自身の構造や自らが遂行する修復反応の進行に決定的なダメージを蒙る可能性も高いと考えられる。これは、渡邊正巳教授が主張しておられるような、放射線障害のターゲットは DNA だけではなく、むしろタンパクが重要であるという考えとも一致するものだろう。

癌化の防止にクロスリンケージ解消がもつ意義

上にもすでに述べたように、増殖細胞の染色体 DNA 中に DNA-crosslinkage が出現することは、正常の増殖サイクルを回る細胞でも、放射線照射後の細胞でも DSB 修復の過程として、決して珍しいことではない。正常な細胞では、それらが常に 100% に限りなく近い効率で修復されるのが普通である。さもなければ、かなりの頻度で、癌の起始細胞が生まれてしまい、RecQ-helicase の変異疾患である Bloom syndrome (2 型欠損) や Werner syndrome (3 型欠損) や Rothmund-Thomson syndrome (4 型欠損) のように高頻度で癌を発生するような結果になってしまうであろう。これは、DNA のクロスリンケージが修復されずに残存すれば、図 3 で説明したように、細胞分裂に際して、接合双生児を無理やり引き剥がすような物理的な断裂を引き起こすような力が加わり染色体に物理的ともいえる障害が生じる結果である。また、染色体が千切れなかった場合にも、娘染色体のペアが 2 つとも片方の娘細胞に取り込まれるために、染色体の数が正常の 46 本から外れた異常な数になる Aneuploidy や染色体の一部が過不足になる Loss of Heterozygosity が生じるチャンスが高まる。たしかに、腫瘍化してしまったものでは、Aneuploidy の細胞が高頻度で発見される。しかし、癌化の第一歩を踏み出したばかりの準正常細胞では、Aneuploidy の細胞の生存率は決して高いとはいえない。生存という意味で最も安全性の高いのは核分裂・細胞分裂を中止し逆戻りし、分裂しかけている染色体全部を、もう一度一纏めにして多倍体化することであろう (図 3 の上段)。図 1 や 2 に見られるように、初期癌が疑われる病巣では、正常粘膜では絶対と言っていいほど滅多に見られない多倍体や、多倍体化の進行形である接吻核がよく見られるのは、この過程の反映であろう。



染色体 DNA に crosslinkage を宿している細胞が (上の図、a)、染色体を複製した後 (b)、図 3 に示されたような経過で、分裂できず、そのまま 1 個の細胞に逆戻りしてしまった結果は (b) に示すように 4 倍体細胞となる。その染色体が、4 倍体細胞として次の DNA 複製 (b → c) を完了したあとでは、図中の c のようになり、その細胞が次の分裂に差し掛

かると、図の **d** に見られるように、**crosslinkage** を持ったまま複製された 4 倍体の染色体の 1 組 (**d** の中央のペア) と、全く **crosslinkage** を持たない完全な 4 倍体の組 (**d** の両端 2 本のペア) に分離することができる。後者は、なんの障害も無い 2 倍体染色体を 2 組もつだけの細胞である。細胞機能も細胞分裂にも何の異常も無い細胞になると考えられる。一方、前者 (中央のペア) は **crosslinkage** を温存したまま (しかし、その時点では機能的に何の障害も無く) 生み出された細胞である。全体の結果 (**a**→**d**) をまとめて見ると、致命的ともいえる **crosslinkage** をもった細胞 (**a**) も、多倍体化することで、安全に次の世代を生み出す力を与えられたわけで、多倍体化が染色体機能を完全に保存したまま細胞の生存と増殖を保障し、一方では、染色体不安定性も維持するという癌起始細胞産生の温床となる機能を備えていることがわかる。これが、長期にわたって異常細胞を生み出し続ける仕組みとなっているのであろう。ヒト細胞の癌化において、幹細胞における DNA- **crosslinkage** と多倍体化が、重要なカギとなる、と私たちが考えている理由は、ここにあるのである。

- 参考文献としては、ルイ・パストゥール医学研究センターのホームページの参考資料をご覧ください。
- <http://www.louis-pasteur.or.jp/bunken.html>