

番号	影響 003
大項目	遺伝性影響
中項目	染色体異常
小項目	生殖細胞
タイトル	生殖細胞における遺伝損傷と修復 Repair capacity of fertilized eggs for damage induced in sperm and mature oocytes
キーワード	卵子、精子、受精卵、細胞周期、変異原、修復、染色体異常
概要	
<p>初期胚を用いた染色体異常の解析は、生殖細胞に生じた遺伝損傷を定性的かつ定量的に評価しうる優れた方法の一つである。</p> <p>そこで、電離放射線の遺伝リスクを推定するため、マウス生殖細胞や初期受精卵に生じた遺伝損傷が受精卵中で様々な修復機構を経て染色体異常として固定される機構を研究した。</p> <p>その結果、卵子は精子に比べ、放射線感受性が高く、同じ線量の照射を行っても、受精後に観察される染色体異常の頻度が高いこと、成熟精子に比べ、前期-中期精細胞は放射線感受性が3-4倍高いこと、また受精後の前核形成期 (G_1 期) では、受精後の時間経過とともに、放射線感受性が顕著に増大することが分かった。</p> <p>また受精前に精細胞や精子に生じた損傷は受精卵中で修復されていた。受精後の前核形成期 (G_1 期) ではDNA合成期が近づくにつれて修復量が低下することが示唆された。</p> <p>さらに、精子に生じた損傷の中には、G_1 期においては修復されずに長時間保有されて、DNA合成期以降に修復されるタイプがあることが分かった。</p>	
詳細	
<p>本研究では、マウスの生殖細胞(精細胞、精子、卵子)や受精卵を放射線および化学物質で処理した後、体外受精法を用いて、一細胞期胚に生じた染色体異常を調べた(図 1)。一細胞胚の中期は、精子由来の染色体と卵子由来の染色体は別々に形成される(図 2)。そのため、精子供給雄にロバートソニアン型転座を有するマウスを用いることで、生じた染色体異常が精子由来か卵子由来かを容易に識別することができる。またC-バンド染色を行い、動原体の位置を確認することによって、染色体異常をより正確に評価することが出来る。</p> <p>1) 成熟精子および卵子の放射線感受性と受精卵の修復能に関する研究</p> <p>成熟精子と卵子それぞれに対しX線照射を行った後、受精させ、17.5 時間培養を行い、一細胞期胚中期に見られる染色体を分析した。その結果、精子、卵子ともに X</p>	

線によって誘発される染色体異常のほとんどは染色体型であり、切断型異常は一次関数、交換型異常は直線二次関数的な線量効果関係を示した。また卵子は、精子に比べ放射線感受性が極めて高いことが分かった(図3)。その理由として、精子DNAがプロタミンに取り巻かれた特殊な精子クロマチン構造をとっていること、ならびに精子に生じた遺伝損傷が、受精後、卵子(受精卵)中で効率よく修復されることが考えられる。

また、修復阻害剤(カフェインなど)を培養液に加えて受精卵を培養すると、染色体異常の頻度が増えることから、精子や卵子に生じたX線損傷は受精卵中で修復されていることが示唆された。

一方、前核形成期受精卵(受精後1-4時間後)においては、受精後の時間経過とともに放射線感受性は顕著に増加するとともに、交換型異常の出現頻度は減少し、前核完成時=DNA合成期直前(受精後4時間)では、観察される染色体異常のほとんどは染色体型切断であった(図4-5)。これらの結果から、DNA合成期に近づくにつれて、受精卵の修復効率が低下し、染色体異常頻度が増加することが示唆された。

2) 精細胞における放射線および化学物質に対する感受性の時期特異性に関する研究

減数分裂後の精細胞期は、放射線や化学物質に対する感受性が高いにもかかわらず、細胞死に対しては抵抗性であり、遺伝損傷を受けた精細胞はほとんど淘汰を受けず成熟精子に到達し、精子に保有される損傷は受精卵中に伝達される。

そこで、減数分裂後の精細胞の様々な時期に、X線、マイトマイシンC(MMC、DNA架橋を引き起こす)、メチルメタンスルホン酸(MMS、DNAのアルキル化を引き起こす)による処理を行い、一細胞期胚に生じる染色体異常を調べた(図6)。

その結果、放射線感受性は、前期-中期精細胞では、成熟精子期の約3-4倍高いことが分かった。しかしMMSに関しては、前期精細胞期の処理ではほとんど染色体異常が生じず、中期精細胞から前期成熟精子にかけて感受性が高くなった。MMCでは前期-中期精細胞での処理でのみ、低頻度の染色体異常が観察された。

修復阻害剤を培養液に加え、受精卵を培養すると、精細胞の放射線照射および化学物質処理による染色体異常頻度が上昇することから、精細胞に生じたかなりの量の修復可能なX線、MMSおよびMMC損傷は、成熟精子まで残存するが、受精卵中で効率よく修復されることが示唆された。

3) 受精卵における染色体修復と細胞周期との関係に関する研究

X線照射された成熟精子を受精させ、受精卵のG₁期(前核形成期)、S期、G₂期に修復阻害剤であるアミノベンザマイド(AB)とカフェインを処理し、生じた染色体異

常を調べた。その結果、精子に誘発される損傷には、①G₁期においてABで特異的に修復が阻害される損傷と、②G₂期においてカフェインで特異的に修復が阻害される損傷の2種類があることが分かった。②は、G₁期においては修復されずに保有されて、DNA合成期以降に修復される。

図表

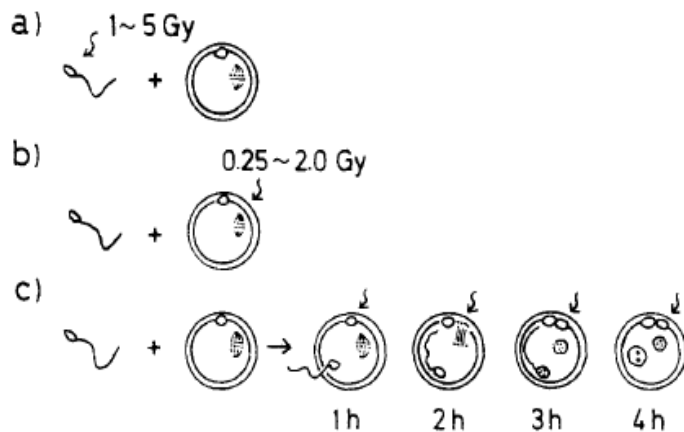


図1 精子、卵子および前核形成期受精卵の放射線感受性を調べる方法

(a) 精子照射、(b) 卵子照射、(c) 前核形成期受精卵（受精後1—4時間）照射

(松田他：放射線科学31(1988)より)

受精後の時間 (h)

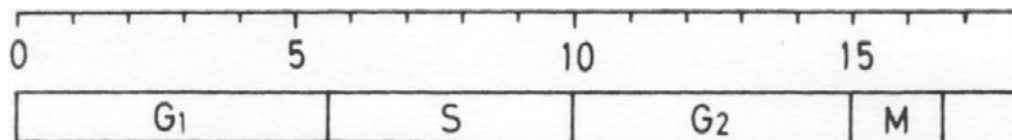


図2 一細胞期胚の細胞周期

受精後16—17時間後に中期に達し、精子由来と卵子由来の染色体が別々に形成される。

(松田他：放射線科学31(1988)より一部改編)

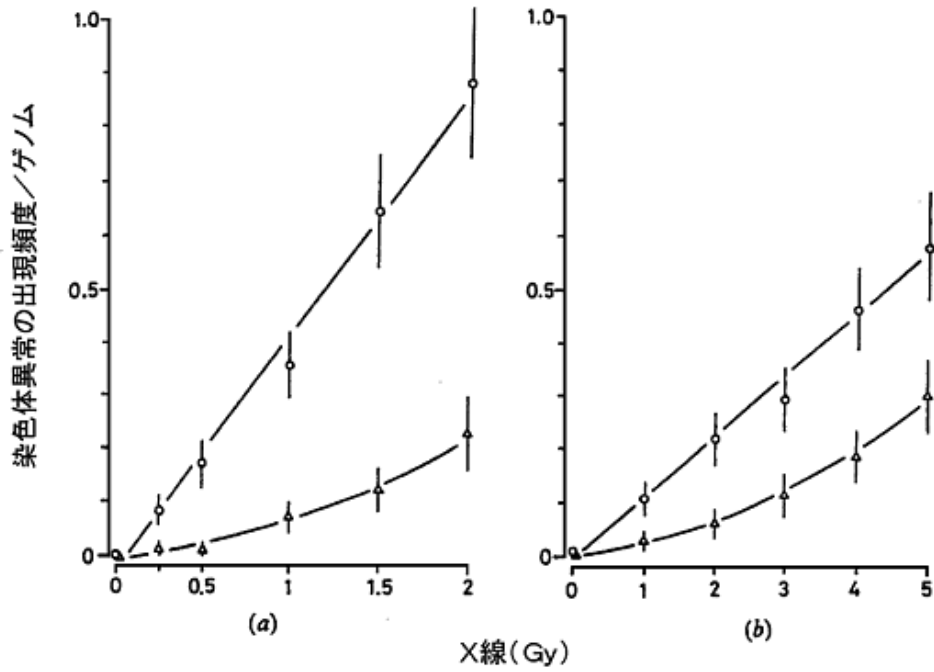


図3 卵子または精子に対するX線照射によって一細胞期胚に誘発される染色体異常の線量効果関係、(a)卵子、(b)精子、(○)染色体切断、(△)交換型異常
(松田他：放射線科学31(1988)より)

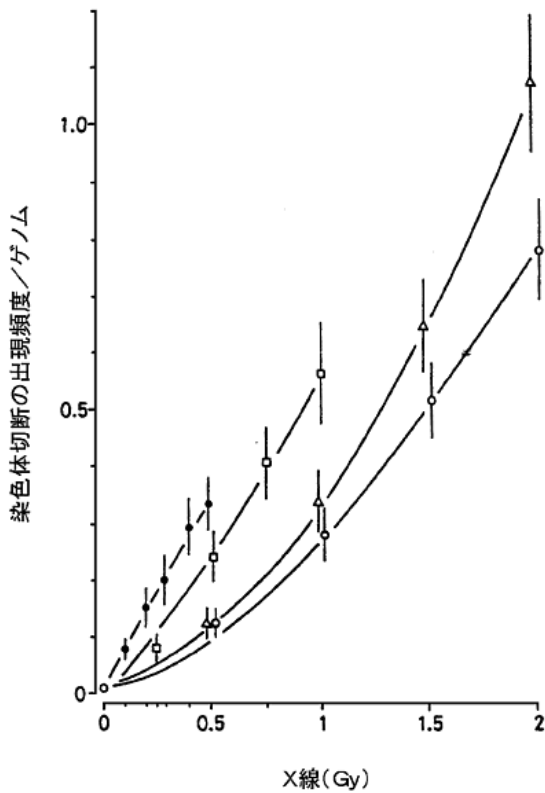


図4 受精後1(○)、2(△)、3(□)、4時間(●)後にX線照射し、一細胞期胚に誘発される染色体切断の出現頻度と線量の関係
(松田他：放射線科学31(1988)より)

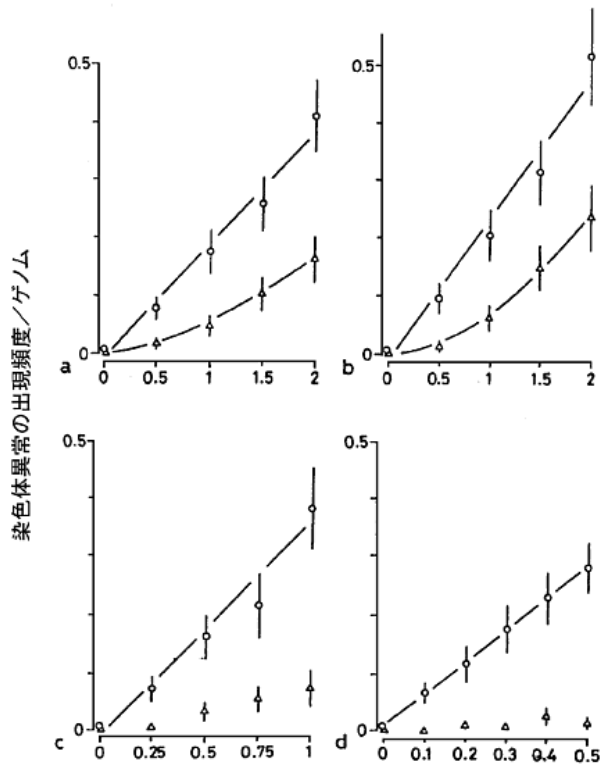


図5 受精後1(a)、2(b)、3(c)、4時間(d)後にX線照射し、一細胞期胚に誘発される染色体切断型異常の出現頻度(○)と交換型異常(△)と線量効果関係 (松田他:放射線科学31(1988)より)

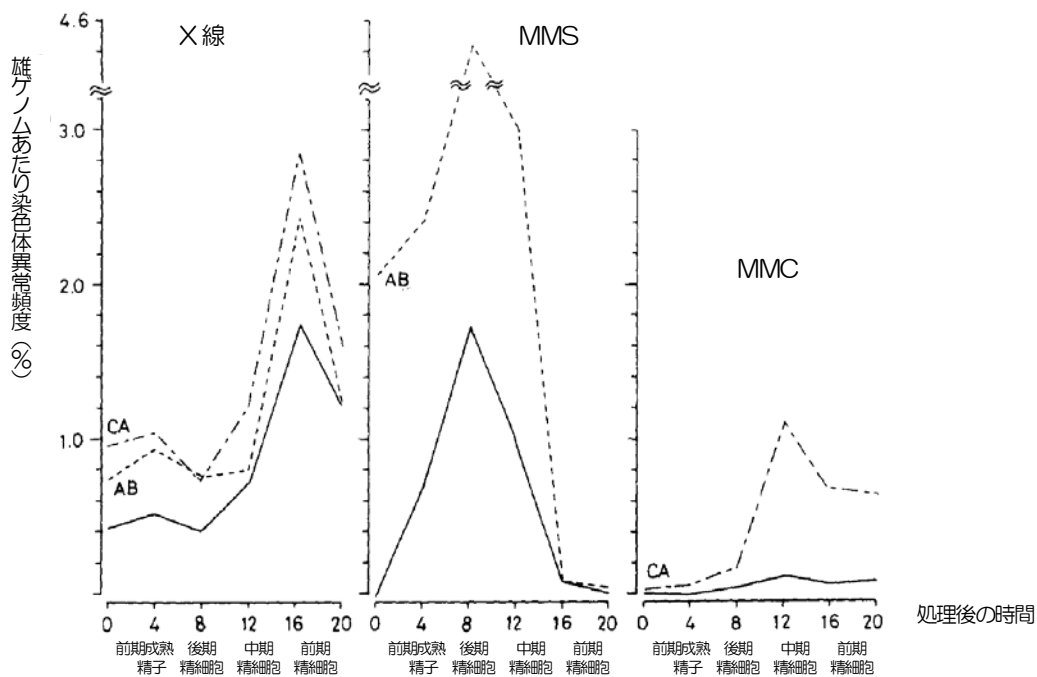


図6 マウス精細胞に対するX線、MMSおよびMMC処理によって一細胞期胚に誘発される染色体異常の時期特異性。横軸は処理後精子が受精に供されるまでの日数、縦軸は雄ゲノムあたりの染色体異常の頻度を表わす。—は無処理群、---は修復阻害剤処理群の染色体異常頻度の変化を表わす。(CA: カフェイン、AB: アミノベンザマイド) (松田他:放射線科学31(1988)より)

文献

1. Matsuda, Y. and Tobari, I., Chromosomal analysis in mouse eggs fertilized in vitro with sperm exposed to ultraviolet light (UV) and methyl and ethyl methane sulfonate (MMS and EMS), *Mutat. Res.*, 198, (1988), 131-144.
2. 松田洋一・戸張徹夫・武内豊子・前盛まみ子・関直彦, マウス受精卵における染色体修復, *放射線科学*, 31, (1989), 363-370.
3. Matsuda, Y. and Tobari, I., Repair capacity of fertilized mouse eggs for X-ray damage induced in sperm and mature oocytes, *Mutat. Res.*, 210, (1989), 35-47.
4. Matsuda, Y., Utsugi, T. and Tobari, I., Changes in X-ray sensitivity mouse eggs from fertilization to the early pronuclear stage, and their repair capacity, *Int. J. Radiat. Biol.*, 55, (1989), 233-256.
5. Matsuda, Y., Seki, N., Utsugi, T. and Tobari, I., X-ray and mitomycin C (MMC) induced chromosomal aberrations in spermiogenic germ cells and the repair capacity of mouse eggs for the X-ray and MMC damage, *Mutat. Res.*, 211, (1989), 65-75.
6. Matsuda, Y., Tobari, I., Maemori, M. and Seki, N., Mechanism of chromosome aberration in the mouse eggs fertilized with sperm recovered from postmeiotic germ cells treated with methyl methanesulfonate, *Mutat. Res.*, 214, (1989), 165-180.
7. Matsuda, Y., Maemori, M. and Tobari, I., Relationship between cell cycle in the fertilized eggs of mice and repair capacity for X-ray-induced damage in sperm, *Int. J. Radiat. Biol.*, 56, (1989), 301-314.
8. 松田洋一・武内豊子・前盛まみ子・関直彦・戸張徹夫, マウス生殖細胞の放射線感受性 (生島編)「放射線を利用した生命現象解明への展望—脳障害と遺伝性障害」, 京都大学原子炉研究所 Technical Report [KURRI TR], (1991), 43-56.
9. 松田洋一・武内豊子・前盛まみ子・関直彦・戸張徹夫, マウス精細胞および受精卵の放射線感受性と受精卵の修復能, *放射線生物研究*, 26, (1991), 53-67.