

## 色素性乾皮症の分子機構と異質性

武 部 啓

(京都大学放射線生物研究センター)

### Molecular Mechanisms of DNA Repair Defects and Heterogeneity in Xeroderma Pigmentosum

Hiraku TAKEBE

*Radiation Biology Center, Kyoto University*

*Summary* Xeroderma pigmentosum (XP) is an autosomal recessive hereditary disease, first described about 100 years ago. Ultraviolet light in solar spectrum has been believed to cause the skin lesions which often develop into skin cancers. Cleaver's discovery (1968) that the defect in repair of UV damage in DNA is responsible for the disease suggested that there is common DNA repair mechanisms between human being and microorganisms in which the molecular mechanisms of the repair defects have been extensively investigated. This prediction has turned out to be generally true by using the techniques similar to those applied in microorganisms.

Fifty XP patients in Japan were examined for their clinical characteristics and the DNA repair of their cells. Results are summarized as follows. (1) More than a half of the patients were children under 13 years of age. (2) Genetic complementation tests were performed on 23 cell strains from the patients; 21 belonging to group A, 1 to D and 1 to E. There was no group C patient which is the most frequent in Europe and U.S.A. (3) Host-cell reactivation of UV-irradiated herpes simplex virus has been shown to be the most reliable method for decisive diagnosis of the XP, reflecting the relative capacities of excision repair.

The high frequency of XP patients with low DNA repair capacities, including group A patients, may account for the apparent high frequency of XP patients in Japan. Age distribution of the cancer bearing patients and their DNA repair characteristics suggest that almost all XP patients except for those with nearly normal level of excision repair have developed or will develop skin cancers.

色素性乾皮症 (xeroderma pigmentosum, 以下 XP と略記する) は常染色体性劣性遺伝子による皮膚疾患で, 太陽光にさらされた皮膚が色素沈着と乾皮症状を呈し, 大多数の患者が皮膚がんを生ずるに至る. その原因は太陽光中の紫外線 (UV) によるものと考えられていたが, 1968年 Cleaver<sup>1)</sup> は XP 患者の細胞が DNA に生じた UV 損傷を修復できないことを発見してそれを実証した. DNA 修復の研究はそれまで主に大腸菌を用い

て微生物で研究が進められ、その成果はめざましく、分子生物学的研究により機構も詳細に解明されつつあった。XP の DNA 修復欠損はその機構が大腸菌の UV 高感受性突然変異体のものと本質的に同一であることが証明され、これまでの微生物における膨大な研究成果がヒトの医学的問題、特に発がん機構の研究に役立つ可能性が示されたといえる。

遺伝学的な研究も修復機構の研究と平行して進められ、現在までに XP には5群の相補性群と variant とよばれるものの計6型が存在するとされている。日本の XP 患者およびその細胞の DNA 修復については、筆者らが約50例について多角的な検討を行った。その詳細は最近報告したが<sup>11)</sup>、その主な問題点、特に人類遺伝学的な問題を中心に述べたい。

### 1. DNA 修復とその欠陥

1958年、大腸菌で極端に UV に高感受性の突然変異株が分離され、Bs (後に Bs<sub>-1</sub>) と名付けられた。なぜ普通の株より数十倍も高感受性(殺菌灯によって同じ割合に殺すのに普通の株の数十分の1の UV 線量しかいらぬ)を示すのか、従来の考え方では説明できなかった。1964年になって、アメリカの二つの研究グループが、この UV 高感受性は DNA に生じた UV 損傷(ピリミジンダイマー)を修復できないことによって生ずることを証明した。すなわち、普通の大腸菌(野生株)は DNA に生じた損傷の大部分を修復することができるのに対し、UV 高感受性株はその修復の酵素系に欠陥があるため、DNA に生じた UV 損傷がそのまま残り、致死効果となるのである。

このようにして始った DNA 修復の研究は、その後の数年間に驚異的發展をとげた。すなわち大腸菌の染色体上に修復遺伝子がいくつか決定され、その修復機構は大腸菌自身の DNA だけでなく、ファージの DNA の UV 損傷も修復できること、最初に発見された除去修復(excision repair)だけでなく、組換えに関係した修復(recombinational repair)もあること、これらの修復は以前から知られていた光回復(photoreactivation)とは独立であるが、作用する基質は同一であること、UV 以外の X線や化学物質によって生じた DNA 損傷もこれらの修復系の一部によって修復されることなど、放射線生物学の教科書が、2, 3年で全面的に書きかえられねばならないほどの急速な進歩であった。しかし、これらはあくまでも微生物特有の、科学的関心の対象に限られているようにみられた。

ところが全く同じ修復機構がヒトにもあるという発見の衝撃は大きかった。それまでヒトの細胞を含む培養細胞でも DNA 修復の存在は確認されていたが、大腸菌のような UV 高感受性株の分離は成功せず、したがって突然変異体を用いるのが常法である遺伝学的研究は全く着手されていなかった。それが遺伝病患者という形で実在したことは、人類遺伝学的見地からすれば当然のことではあっても、大腸菌での著しい UV 高感受性、すなわち生存力の弱さを知っていた DNA 修復研究者には大きな驚きであった。

### 2. 色素性乾皮症における DNA 修復欠陥

XP の研究にはいくつかの難関があった。まず研究材料としての細胞を、患者から直接採取培養せねばならない点が、これまで系統化した HeLa 細胞とか L細胞とかに親しんできた細胞生物学者にとって容易なことではなかった。次に DNA 修復の研究がほとんどすべて大腸菌などの微生物でなされてきたことも、細胞生物学者にとって着手しにくい点で

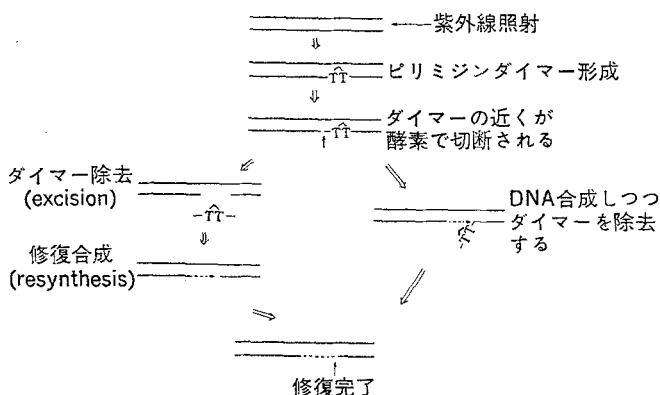


図 1. 除去修復のモデル  
cut and patch (左) と patch and cut (右) が考えられるが、  
後者を支持するデータが多い。

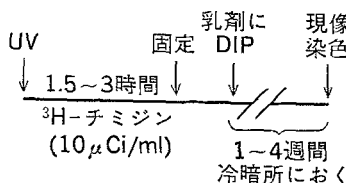


図 2. UV 照射後の不定期 DNA 合成を測定する方法

あった。おそらくこのような理由から、XP 研究の重要性は認識されつつも実際の研究のペースは決して速くはなかった。

XP の DNA 修復欠損は、大腸菌で除去修復 (excision repair) として発見されたものと同じ機構による。すなわち図 1 のように UV によって DNA 上に生じた損傷を切り取って、あとを穴埋めするようにして修復される。XP ではその過程の最初の段階、すなわち UV 特異的なエンドヌクレアーゼが欠損しているか、活性が低下しているものと考えられている。その証拠はいくつかあるが、たとえば田中亀代次らの研究<sup>12)</sup>によると、バクテリオファージ T4 で知られて精製されている UV 損傷特異的なエンドヌクレアーゼ V を UV 照射した XP 細胞に与えると、みかけ上 UV 損傷が回復する。エンドヌクレアーゼ V は除去修復の第 1 段階に働く酵素であり、この研究はヒトとファージの修復機構の共通性をも示している。

皮膚科に XP らしい患者が来診した時、DNA 修復を簡便かつ確実に測定することは容易ではない。一般に行なわれている方法は、小さい皮膚生検片をとり、培養して繊維芽細胞を育て、それに UV 照射した後、<sup>3</sup>H-チミジンを投与して不定期 DNA 合成を測定する (図 2)。この方法はラジオアイソトープ設備を必要とすること、皮膚生検を患者や家族の同意の下に行なうが、1 回で必ず結果が出るようにするためには培養および操作に細心の注意を要するとともに全過程が最低 1 か月かかることなど多くの困難がある。しかし、現

在では日本国内でこれをいつでも行なえる研究室が数か所あるし、生検片を郵便で送っても100%成功しているので、XP診断の決め手として日常的手法となっている。

XPは医者であれば誤診するおそれのない明白な症状を示すといわれているが、幼小児では他の光線過敏症との区別が容易ではない。また後に述べるように比較的軽症の型もある。皮膚がん発生を予防するには早期に診断を確定せねばならず、一見明白な場合でも、生検して修復テストを行うことが望ましい。

### 3. 色素性乾皮症の遺伝的相補性

XPの研究が世界で最も進んでいるのはオランダである。D. Bootsmaを中心とする研究グループは体細胞遺伝学分野で名高いが、その技術を応用してXPの遺伝的相補性を調べた<sup>3)</sup>。その後のアメリカのグループ<sup>7)</sup>および筆者ら<sup>11)</sup>のデータと合わせて今日では表1のように6群に分けられることがわかっている。このうちB群はアメリカで1例みつかっているだけで、Cockayne症候群を併発していて特殊な例と考えられる。E群は、オランダに1家族(2例)と日本に1例あるだけで珍しい。Variantは修復合成では正常と区別できないが、他の方法によってやはりDNA修復に欠損が認められるもので、除去修

表1. XP細胞の遺伝的相補性群

相補性群	不定期 DNA 合成 (正常 100%)	神経症状	患者分布
A	50%以下 (例外 1例 36%)	大多数あり	欧米, 日本
B	3~7%	あり	アメリカに1例のみ
C	5~31%	なし	欧米
D	25~55%	大多数あり	欧米, 日本
E	40~70%	なし	オランダ, 日本 (2家族のみ)
(Variant)	100%	なし	欧米, 日本, イスラエル

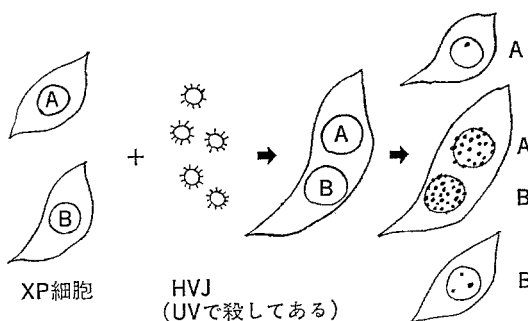


図3. 細胞融合法を用いた遺伝的相補性の判定

単独では修復能が低下している2系統の細胞がヘテロカリオンの状態で完全な修復能を示す。

表 2. 欧米<sup>2)</sup>と日本<sup>1)</sup>の XP 相補性群

地 域	相補性群					(Variant)	合 計
	A	B	C	D	E		
日 本	21	0	0	1	1	3	26
欧 米	9	1	12	3	2	4	31

復とは別に働いている複製後修復の欠損と考えられている。

遺伝的相補性を決める方法は、かつて岡田善雄によって発見された HVJ (Sendai virus) による細胞融合法で、図 3 に示したように、異なる相補性群に属した細胞を融合させると、両者が補い合って単独では修復できないものが完全な修復能を示すようになる現象である。日本の患者の細胞について調べた結果は、表 2 に示すように欧米のデータと著しく異なっていた。ここに含まれていない患者について表 1 の修復合成の割合から推定してみても、この傾向は変わらず、C 群の患者は日本には全くいないかいても少数で、A 群が大半を占める。日本と欧米のこのような差異は必ずしも驚くに当らないかもしれない。Bloom 症候群や cystic fibrosis のように日本ではほとんどみつからない遺伝病は多いし、逆の場合もある。また ABO 血液型でも民族差は大きい。

このような相補性が分子レベルではどのような機構によるものなのか、現在ほとんど解明されていない。タンパク質を構成しているサブユニットを示すと考えるにはいくつか無理な点がある (たとえば T4 エンドヌクレアーゼ V はモノマー) ので、未知の調整因子が関与しているか、シストロン内相補性があるかと考えるにとどめたい。

大腸菌では B-E のような中間型の突然変異株がないのはなぜかとよく尋ねられるが、おそらく突然変異体を分離する際に明確に高感受性のものだけを故意に研究者が選ぶからだろうと私は考えている。ヒトの場合には、そのような選抜がないので広いスペクトルを示すのであろう。

#### 4. 日本の色素性乾皮症のその他の特色

表 3 に、日本の患者 49 例のまとめを年齢別に示した。欧米にくらべ 10 歳以下の幼小児の割合が大きいのは、前述の A 型が多いことと関連しているものであろう。すなわち DNA 修復の水準の低い (A 型は一般にきわめて低い) 細胞を有する患者は症状が早くあらわれ、重症になり、皮膚がんも早く発生する。表 3 では皮膚がんは 49 例中 22 例に発生しているが、幼小児患者はほとんどすべて将来発生する可能性が高く、実質的には 90% 程度の患者に皮膚がんの発生が予期される。

近親婚は劣性遺伝病の頻度を知る手がかりとなるが、同胞例を除き、45 組の両親の内訳はいとこ婚 14、いとこ婚以外の近親婚 (2 代前まで) 8 (うち 1 例は叔父-めい)、近親婚なし 22、不明 1 組となっている。この割合はかつて川上理一によって報告された約 40%<sup>9)</sup> よりやや低い。例数が少ないのでこのデータから遺伝子頻度を求めることは留保したい。ただ言えることは、欧米にくらべ日本には XP 患者が多いという印象を受ける。これは幼

表 3. 日本の色素性乾皮症 (1976 年末)

年 齢	患者数 (皮膚がん)	神経障害 (歩行難)			修復合成 (対正常%)		
		あり	なし	不明	≤10	25~50	70≤
0~9	22(3)	5(4)	0	17	22(3)	0	0
10~19	10(7)	7(5)	3	0	8(6)	1(1)	1
20~29	7(5)	2(1)	5	0	1(1)	2(2)	4(2)
30~39	4(3)	1	3	0	0	2(2)	2(1)
40≤	6(4)	0	6	0	0	2(2)	4(2)
( ) 内は皮膚がんあり							
合 計	49(22)	15(10)	17	17	31(10)	7(7)	11(5)

小児期に発見される例が多いためかもしれない。

知能低下, 難聴, 歩行困難などの神経症状は一般に A, D 群に多く併発するとされているが, 日本の A 群は全員 (5 歳以下の判定困難な例は「不明」としてある) 併発している。D 群の 1 例は正常であった。遺伝学的になぜ神経症状を伴うかは不明である。

#### 5. その他の遺伝学的問題点

上述のように XP の遺伝的特性の諸機構は DNA 修復については分子レベルまで解明が進んでいるものの, 相補性など今後解決に努力が必要な点が多い。エジプトの患者で 46 例中 37 例が血液型が O 型であったこと<sup>4)</sup> から XP と ABO の連関が指摘され, XP 遺伝子は仮に第 9 染色体に位置づけられている<sup>13)</sup>。しかし, 日本の患者では今のところそれを支持も否定もできないデータしかない。同胞例 3 組 7 例がすべて B 型と AB 型であるため, B 型との連関も考えられるが, データ不足である。

#### 6. なぜ色素性乾皮症は高発がん性か

この点が XP 研究において学問的に最も興味深い。仮説は出せるが, 実証は容易ではない。それが実証できる時は, がんがなぜ発生するか解明される時かもしれない。ここでは筆者らが研究遂行上の一つの作業仮説としている考え方を示すにとどめたい。この考え方は近藤宗平 (大阪大学医学部) の理論的考察および大腸菌での実験研究<sup>5,6)</sup> に負うところが大きい。

XP は, 除去修復に欠損を有する。ところが DNA 修復は除去修復以外にもあり, 除去修復が不足しているため, 正常な人よりもそれらの修復 (総称して複製後修復とよぶ) がより高率に働く。ところが複製後修復はしばしば修復誤り (エラー) を伴うらしい。すなわち, 修復すればするほど DNA は正しくない配列 (=突然変異) を有するようになる。「がん」もそのような DNA の変化によって起るならば, XP が高発がん性であることが理解できよう。このような考え方は大腸菌で確立され, 誤りの多い (error-prone) 修復が突然変異の原因であるという理論は多くの実験事実によって支持されている。

ヒトにもこの理論を適用するには, 細胞レベルでの XP の UV 誘発突然変異や発がん

が正常人の細胞より高いことを証明せねばならない。すでに突然変異誘発についてはほぼ正しいことが証明されているが<sup>8)</sup>、試験管内発がんについては技術的困難から研究の進展が遅れている。

この考え方はいくつかの難点もある。たとえば複製後修復の低い variant にも発がんがみられるのはなぜか、筆者らは variant も除去修復が低下していることを示すデータをもっているが、複製後修復とのバランスはよくわかっていない。

XP 以外にも Fanconi 症候群, Ataxia telangiectasia, Bloom 症候群など高発がん性遺伝病で、かつ DNA 修復欠損を伴う病気がいくつか知られており、XP に似た方法での研究が進みつつある<sup>10)</sup>。発がん機構解明の手がかりを求める一つの道としてこのような DNA 修復欠損症の研究を、筆者は多くの仲間とともに続けて行きたい。

## 7. 謝 辞

XP の研究は基礎・臨床にまたがり、しかも技術的に多くの分野の研究者が総合的に取り組んで初めて可能なものであった。そのような体制づくりにバックアップして下さった近藤宗平教授を初めとする大阪大学医学部放射線基礎医学教室の皆様に感謝したい。直接の指導、協力をいただいた岡田善雄、三木吉治、秋葉 弘、藤原美定、佐々木正夫、古山順一、小塚雄民、田中亀代次(順不同)の各氏に感謝するとともに、多くの医師、患者、患者の家族の協力なしには XP 研究に着手することすらできなかったことを述べ深謝したい。

## 文 献

- 1) Cleaver, J.E. 1968. Defective repair replication of DNA in xeroderma pigmentosum. *Nature* **218**: 652-656.
- 2) Cleaver, J.E. and Bootsma, D. 1975. Xeroderma pigmentosum. Biochemical and genetic characteristics. *Ann. Rev. Genet.*, **9**: 18-38.
- 3) de Weerd-Kastelein, E.A., Keijzer, W., and Bootsma, D. 1972. Genetic heterogeneity of xeroderma pigmentosum demonstrated by somatic cell hybridization. *Nature New Biol.*, **238**: 80-83.
- 4) El-Hefnawi, H. and Smith, S.M. 1965. Xeroderma pigmentosum. A brief report on its genetic linkage with ABO blood groups in the United Arab Republic. *Brit. J. Dermatol.*, **77**: 35-41.
- 5) Kondo, S., Ichikawa, H., Iwo, K., and Kato, T. 1970. Base change mutagenesis and prophage induction in strains of *Escherichia coli* with different DNA repair capacities. *Genetics*, **66**: 187-217.
- 6) Kondo, S. 1976. Misrepair model for mutagenesis and carcinogenesis. Proc. 6th Intern. Symp. Princess Takamatsu Cancer Res. Fund, "Fundamentals in Cancer Prevention" (P.N. Magee, *et al.*, eds.) Univ. Tokyo Press, 417-429.
- 7) Kraemer, K.H., de Weerd-Kastelein, E.A., Robbins, J.H., Keijzer, W., Barrett, S.F., Petinga, R.A., and Bootsma, D. 1975. Five complementation groups in xeroderma pigmentosum. *Mutation Res.*, **33**: 327-340.
- 8) Maher, V.M., Curren, R.D., Ouellette, L.M., and McCormick, J.J. 1976. Effect of DNA repair on the frequency of mutation induced in human cells by ultraviolet irradiation and by chemical carcinogens. Proc. 6th Intern. Symp. Princess Takamatsu Cancer Research Fund, "Fundamentals in Cancer Prevention," (P.N. Magee *et al.*, eds.) Univ. Tokyo Press, 363-382.
- 9) Neel, J.V., Kodani, M., Brewer, R., and Anderson, R.C. 1949. The incidence of consanguineous matings in Japan with remarks on the estimation of comparative gene

- frequencies and the expected rate of appearance of induced recessive mutations. *Am. J. Human Genet.* 1: 156-178.
- 10) 佐々木正夫, 武部 啓. 1976. 哺乳動物細胞における修復機構の workshop. 蛋白質 核酸 酵素 20: 838-839.
  - 11) Takebe, H., Miki, Y., Kozuka, T., Furuyama, J., Tanaka, K., Sasaki, M.S., Fujiwara, Y., and Akiba, H. 1977. DNA repair characteristics and skin cancers of xeroderma pigmentosum patients in Japan. *Cancer Res.* 37: 490-495.
  - 12) Tanaka, K., Sekiguchi, M., and Okada, Y. 1975. Restoration of ultraviolet-induced unscheduled DNA synthesis of xeroderma pigmentosum cells by the concomitant treatment with bacteriophage T<sub>4</sub> endonuclease V and HVJ (Sendai Virus). *Proc. Natl. Acad. Sci. US.* 72: 4071-4075.
  - 13) Westerveld, A., Jongsma, A.P.M., Khan, P.M., van Someren, H., and Bootsma, D. 1976. Assignment of the AK<sub>1</sub>: NP: ABO linkage group to human chromosome 9. *Proc. Natl. Acad. Sci. US.* 73: 895-899.