

日本臨牀 第42卷・第8号（昭和59年8月号）別冊

発癌因子の垂直伝達

野 村 大 成

発癌因子の垂直伝達

野村大成*

「発癌因子の垂直伝達」とは、一言で言えば、「親が放射線とか化学発癌（変異原）物質とかに曝露された場合、将来、その子孫に癌が発生すること」を言う。垂直伝達という言葉は、元来、細菌学者、ウイルス学者が人から人へと感染する水平感染に対し、親から子へと感染する場合を、垂直感染と呼んだことに由来していると思われる。科学的には、あいまいな言葉なので、私は、自分から垂直伝達という言葉を用いたことはない。

垂直感染の場合は、ほとんど妊娠中の母体から胎児へと感染した場合を言い、実際には、分娩の際、産道から直接感染した場合も含んでいる。癌では、妊娠中の母体に作用した場合は、子が胎児のときに直接作用を受けたのであるから、経胎盤発癌と呼び明確に発癌因子の垂直伝達と区別している。癌の垂直伝達という言葉は、厳密には、父親または母親が、妊娠前に、すなわち性細胞に放射線、あるいは化学発癌（変異原）物質が作用した場合に、子孫に癌が発生することを指している。

では、そういうことが起こりうるのであろうか。放射線や化学発癌物質が、ヒトや動物に直接作用すると癌を誘発することはよく知られているが、それが次の世代に伝わってゆくかどうかについては、ほとんど研究されていない。いや正確に言えば、50年ほど前から、この種の研究はあったことが、最近になってわかった。しかし、いずれも、性細胞への作用を目的としたものでなく、世代を通して持続的に DDT 等の弱い有害物質を投与したときに、発癌の頻度が少しずつ上

昇するかどうかとか、前述の経胎盤発癌に由来したもので、わずかな数の動物を扱ったものであったので、間違い扱いされたようである。

と言う私も、17年前、医学部の学生だった頃「本当に癌遺伝子というものがあるのなら、親に放射線をあてて、子供に癌が発生すれば、疑う余地はない」と単純に思いこみ実験を始めてしまったのである。では、何故、先人達は間違い扱いされ、笑いとばされたのか、その理由から先に述べることにする。

I. この種の研究の難しさ

性細胞に放射線あるいは、化学物質を作用させ生まれてきた子供に、癌という形質が発現したとしよう。これは、まさに突然変異と同一の現象である。突然変異は、数万～数百万に1度しかおこらぬ現象であるから、常識的に考えて、癌が垂直に伝達するかどうか確かめようと思えば、100万匹近い実験動物が必要ということになる。しかも普通の突然変異のごとく、短時間に形質が発現するのではなく、長期間、飼育した後にやっと発生するものであるから、実に気の遠くなるような話である。

従って、少しでも遺伝学や放射線生物学の知識のあるものなら、いくらマウスのような小動物を使ったとしても不可能に近いことは、予想できることである。しかし、研究とは、やってみなくては、わからぬものである。と言うより、無知の者が、ただ、こうなるはずだと信じ込むほど恐ろしいことはない。実際、仕事

* Taisei NOMURA : 大阪大学医学部・放射線基礎医学

表1 ウレタンを父または母マウスに注射したときの仔マウス (F₁) での腫瘍発生

親への処理		生 仔 数		腫瘍をもったマウス		肺 腫 瘍				他の腫瘍及び奇形*
投 与 量 (mg)	性	母当りの生仔数	計	発 生 率 (%)	χ^2 test (P)	発 生 率 (%)	χ^2 test (P)	1 匹当りの肺腫瘍の数	t test (P)	
ウレタン(1.5)	雄	10.7±0.3(68)	730	75/621 (12.1)	<0.002	64/609 (10.5)	<0.005	0.118±0.015	≒0.06	7 LY, 3 OV, 1 LI, 1 TH, 2 K
無 処 置	雌									
無 処 置	雄	9.2±0.3(65)	597	75/466 (16.1)	<0.001	63/463 (13.6)	<0.001	0.147±0.018	<0.005	3 LY, 12 OV, 1 HE, 6 K, 1 HY
ウレタン(1.5)	雌									
無 処 置	雄	10.3±0.2(94)	968	115/772 (14.9)	<0.001	94/727 (12.9)	<0.001	0.168±0.019	<0.001	9 LY, 13 OV, 1 R, 1 A, 7 K
ウレタン(1.0)	雌									
無 処 置	雄	11.1±0.1(76)	844	56/809 (6.9)		50/809 (6.2)		0.077±0.016		4 LY, 2 OV
無 処 置	雌									

* LY: リンパ性白血病, OV: 卵巣腫瘍, R: 腎腫瘍, HE: 肝腫瘍, LI: 脂肪腫, TH: 甲状腺腫瘍, K: 曲尾, A: 鎖陰, HY: 水頭症.

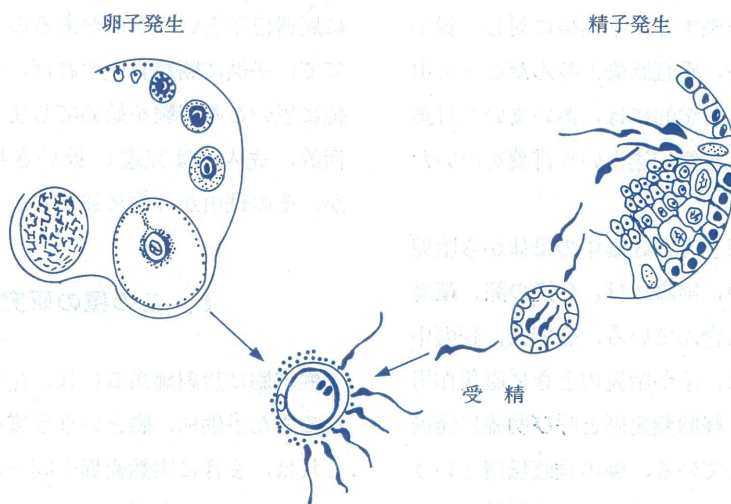


図1 卵子及び精子発生の模式図 (野村原図)

をはじめてみると、思ったより早く「これはいけるのではないか」と思わせるような結果がでた¹⁾。表1に示したごとく、雄または、雌マウスにウレタンを1回だけ注射しておき、その後、正常の雌または雄マウスと交配した。子供 (F₁) には、ウレタンを注射しなかった場合の2~3倍に腫瘍の頻度が上昇していた。従って、より細かい解析を行うため次のような方法で実験を行った。

II. 方法と原理^{1)~4)}

雄または、雌のマウスに、X線照射あるいはウレ

タン, 4NQO などの化学物質を投与した後に、一定の間隔をおいて、無処置のマウスと交配し、子供すなわち F₁ をつくる。この一定の間隔をおくことに、重要な意味がある。図1は、精子と卵子の発生を模式的に示したものである。精巣では、精原細胞より、一次精母細胞、二次精母細胞と減数分裂を行い精子細胞となる。精子細胞は変態をし、精子となる。精原細胞より、成熟した精子となり射精するまで約6週間の周期である。この間、ちょうどエスカレーターに乗っているごとく、精原細胞により、おし出されるがごとく発生が進んでゆくわけである。すなわち、X線あるいは

は、化学物質を作用させてから雌と交尾するまでの期間は、どの時期の精細胞に障害を与えたのか分かるしくみになっている。

例えば、X線を雄マウスに照射し、17日後雌と

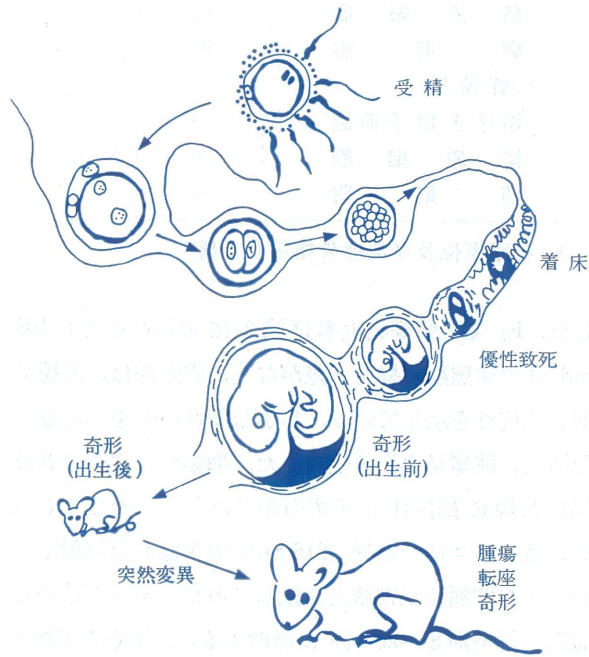


図2 実験方法の模式図 (野村原図)

交配した場合、ちょうど精子細胞のときにX線照射をうけた精子より子供ができたことになる。一方、卵細胞の方は、胎児期に減数分裂の前半を終了しており、休止状態になっている。しかし卵細胞は、その容積を徐々に増し、周囲をとりまく顆粒細胞の層が厚くなってゆく。最終的には、図1のごとき、大きな濾胞を形成し破裂して排卵がおこる。従って、卵細胞の場合も、X線照射時より排卵までの日数より、X線照射をうけたときの卵細胞の成熟段階が分かるしくみになっている。このような原理を利用して、精原細胞期、精子細胞期、成熟精子期、あるいは卵細胞の各成熟期にX線を照射した。これら照射を受けた性細胞より由来したF₁について、出生前には、優性致死及び奇形、出生後は、腫瘍、奇形及び染色体異常を観察した(図2)。では、その結果を癌を中心にまとめてみる。

III. 性細胞の発生段階での感受性の違い^{2)~4)}

雄 ICR マウスの成熟精子期 (交配の1~7日前)、精子細胞期 (15~21 日前) 及び精原細胞期 (交配前

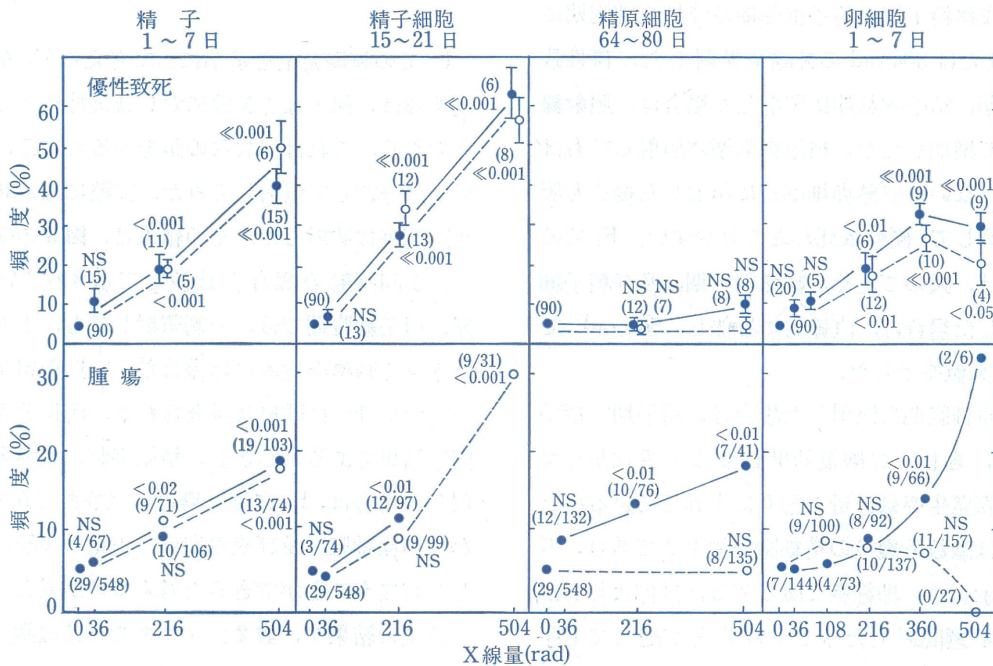


図3 精子、精子細胞、精原細胞、成熟卵でのX線照射によるF₁での優性致死と腫瘍⁴⁾
 実線は1回照射 (72 rad/min). 点線は分割照射 (36 rad 2時間間隔). NS: 有意差なし

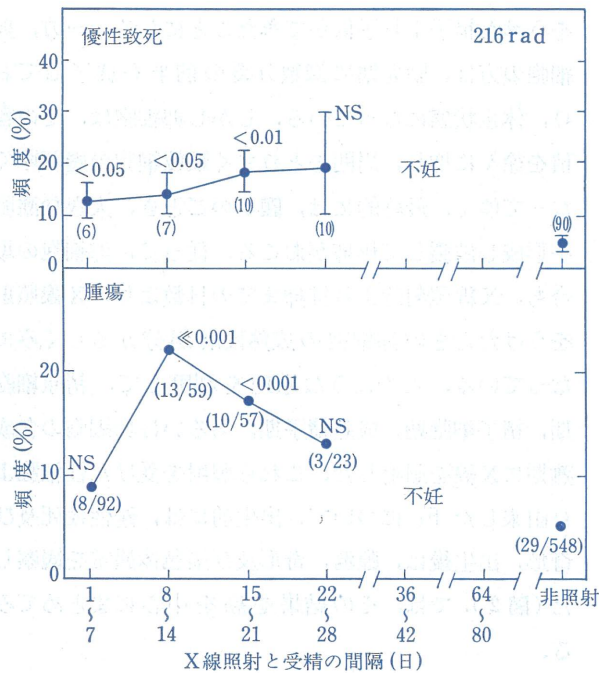


図4 X線照射時の卵細胞成熟度とF₁での腫瘍発生²⁾

64 日以上)にX線を照射し、非照射の雌マウスと交配した。F₁を生後8カ月で屠殺し、腫瘍を検出した。その結果を優性致死と合わせて、図3に示した。誘発された腫瘍の約90%は肺腫瘍であり、他に卵巣腫瘍、リンパ性白血病などが発生している。照射線量としては、成熟精子期、精子細胞期及び精原細胞期に36, 216, または504 radのX線を照射した。優性致死は、精子期、精子細胞期に照射した場合は、照射線量に比例して増加したが、精原細胞期に照射してもほとんど増加しない。成熟卵細胞期に照射した場合も照射線量に比例して、優性致死がおこりやすい。F₁での腫瘍発生率は、図のごとく、成熟精子期、及び精子細胞期に照射した場合は、直線的に増加し、504 radでは約30%の高値を示した。

一方、精原細胞期に照射した場合は、精子期、精子細胞期ほど、きれいな線量効果曲線は示さなかったが、F₁の肺癌発生率は線量とともに上昇している。しかし発生率は減数分裂後の精細胞の約1/2であり、低い感受性を示した。卵細胞に関しては、排卵よりさかのぼること4週間以上たって正常雄と交配しても子供は出来ない(図4)⁴⁾。そこで、排卵前1~7日の卵細胞にX線を36, 108, 216, 360, 及び504 rad照射

表2 マウスでの放射線誘発突然変異と腫瘍との比較^{2)~7)}

	腫瘍	突然変異*
感受性		
精子と精子細胞	+++	+++
精原細胞	++	++
卵細胞	+++	+++
分割効果		
精子と精子細胞	—	—
精原細胞	+	+
卵細胞	+	+

* 特定座位及び優性骨格突然変異

した。F₁での腫瘍発生率は図3に示したごとく108 radまで非照射の場合と差がなく、成熟卵は、X線に対し抵抗性を示している。しかし200 radをこえると急激に、腫瘍発生率は上昇した。卵細胞はすべて低線量のX線に抵抗性を示すのかということ、そうでもない。雌マウスに一定量(216 rad)のX線を急照射し、いろんな間隔で正常雄と交配してみた。もっと若い卵細胞(排卵前8~28日)に照射すると、極めて高頻度に、F₁に腫瘍を誘発することがわかった(図4)⁴⁾。

IV. 性細胞の傷の修復能⁴⁾⁶⁾⁷⁾

F₁での腫瘍発生を基準にして考えると、精原細胞と成熟卵は、何となくX線に対し抵抗性を示しているようである。これは何故なのかを知るために、X線を少量ずつ分割して照射してみた。実際には、36 radずつ2時間毎に照射した。その結果は、図3の破線によって、1回照射の場合と比較して示されている。精子期、精子細胞期では、分割照射しても、1回照射の場合と全く腫瘍発生率には差はなく、照射線量に比例して高率にF₁に腫瘍は誘発された。優性致死の場合も同じ結果である。しかし、精原細胞、成熟卵に分割照射した場合は、F₁には腫瘍は誘発されなかった。すなわち精原細胞、及び成熟卵は、少量のX線の傷なら治してしまえることができると考えるのが妥当である。

以上の結果を、表2にマウスでのX線誘発突然変異と比較して示した。放射線誘発突然変異に関しては、米国オークリッジ国立研究所のW.L. Russell博士ら

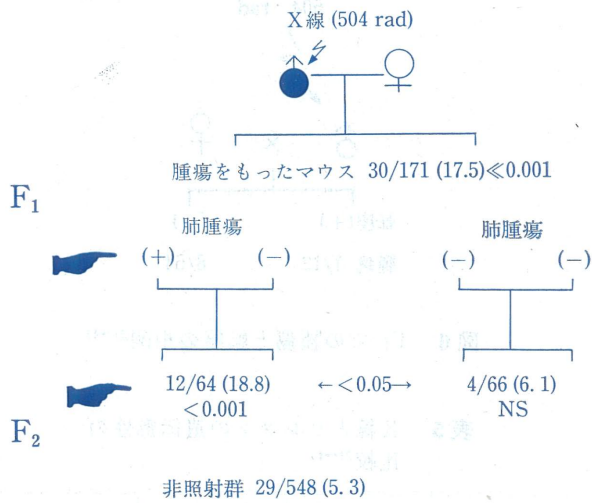


図5 性細胞へのX線照射によりF₁に誘発された肺腫瘍の遺伝性^{2)~4)}

による膨大な資料がある⁵⁾⁶⁾。広島、長崎の原子爆弾投下後、いち早くその生物効果を研究するため、巨額の費用を注ぎ込み、百万匹ものマウスを用いてなされたものである。表2より性細胞の照射時期と感受性の差、及び分割効果の有無をみても、F₁における放射線誘発腫瘍と突然変異は、極めて似ていることがわかる。以上の結果は、F₁に腫瘍を誘発した性細胞の変化は、突然変異様のものであることを強く示唆している。では、どのようにそれを証明したらよいのだろうか。

V. 誘発肺腫瘍の遺伝性³⁾⁴⁾

とにかく、全くわけのわからぬことを、一から証明しようとするのだから、どうしたらよいか見当がつかない。セックスもすればクソもするマウスである。性細胞のX線による変化の遺伝性を明確にするために、図5に示した古典的な遺伝学的方法で実験を行った。まず、精子細胞期にX線504radを1回照射し、正常雌と交配し、F₁を作成する。F₁には当然ながら高率に腫瘍が発生する。F₁を屠殺する前に、無作為に雄、雌を交配し、前もってF₂を作っておく。F₂作成後、その親であるF₁を解剖し肺腫瘍をもつかどうか調べた。F₂をも解剖してみると、親(F₁)のいずれかが肺腫瘍をもっている場合は、F₂に高率に肺腫瘍が発生

表3 X線、ウレタン、4NQOの性細胞への作用によりF₁に誘発された腫瘍の遺伝性の解析⁴⁾

親(F ₁)の形質	精子細胞への作用		
	X線	4NQO	ウレタン
+×-	15/76(19.7)*	7/28(25.0)+	4/19(21.2)
-×-	4/69(5.8)	5/103(4.9)	9/113(8.2)

* p < 0.05 + p < 0.01

しているが、親(F₁)のいずれかが肺腫瘍をもっていない場合は、F₂の肺腫瘍の頻度は低く、非照射の場合と有意の差がない。

すなわち、次世代に腫瘍を誘発する性細胞の変化は優性に遺伝していることがわかる。これは別にX線に限られたことではない。化学物質であるウレタンや4NQO(4-nitroquinoline 1-oxide)を性細胞に作用させた場合でも、同じような結果となった。すなわち、ウレタンまたは4NQOを雄に作用させF₁を、F₁より更にF₂を作成したところ、F₂には、親(F₁)のいずれかが肺腫瘍をもっていた場合のみ、20~25%の頻度で腫瘍が発生した。更に、F₂雄を正常の雌と交配しF₃を作ったところ、そのF₂が腫瘍をもっている場合のみ、約25%の頻度でF₃に腫瘍が発生している。

以上の結果から、約40%の浸透率で優性に遺伝していることがわかった(表3)。本実験では肺腫瘍を主に遺伝性を検定したが、それには、2つの理由がある。先ず第1に、F₁に誘発された腫瘍の90%が肺腫瘍であり、他のまれな腫瘍では、数的にとても遺伝解析ができなかったこと。次に、マウス肺腫瘍は、ウイルス由来性及びホルモン依存性でないことされ、遺伝的な解析が容易であることである。しかし、非常に困ったことは、マウスを殺さなければ、腫瘍が検出できないことである。

VI. 他の突然変異との比較^{5)~8)}

では、今までわかっているマウスの突然変異と比較して、全く疑問は残らないのだろうか。まず、doubling doseを比較してみる。腫瘍突然変異の場合は、約50radである。もっともこれは浸透率を補正した

表 4 他のマウス突然変異との比較¹⁾

突 然 変 異	倍加線量 (R)
腫 瘍	50
半 不 妊	31
特 定 座 位	32
優 性 骨 格	26
劣性常染色体致死	51

値であるが、表 4 に示した他の 4 つの突然変異と大差はないことがわかる。しかし、最も大きな違いは、腫瘍発生率である。これがべらぼうに高い。

1 rad 当たりの誘発頻度で比較してみる。マウスでの突然変異の代表として優性骨格突然変異をえらんでみた。その 1 rad 当たりの頻度は、 $2\sim 4 \times 10^{-5}$ であり、腫瘍突然変異 ($3\sim 5 \times 10^{-4}$) は約 10 倍の高率である。優性骨格突然変異の代わりに、特定座位劣性突然変異を例にとると、実に 100 倍も高いことになる。私の実験では、腫瘍の他に、奇形も観察しているのであるが、奇形の方の 1 rad 当たりの頻度は、優性骨格突然変異と大差ないから、腫瘍突然変異が特異的に頻度が高いことは、まちがいないようである。何故なのか。この問題は、今、触れるのをやめる。それよりも次世代に腫瘍をつくる性細胞の変化“腫瘍突然変異”とは、どんな性質なのかさぐってみよう。

VII. “腫瘍突然変異” とは何か³⁾⁴⁾

性細胞におこった変化を調べるといっても生きた動物を使った研究である。そう簡単にはゆかない。まずは X 線誘発遺伝障害と腫瘍の関係を調べてみた。X 線は、図 3 に示した優性致死及び腫瘍の他に F₁ に奇形や染色体の転座を高率に誘発する。性細胞に X 線を照射しておこった変化であるから、全身同じ変化をもっている。従って、直接の相関がわかる。そこで、性細胞の遺伝子変化の大きさを知るために、転座と腫瘍の関係をまとめたのが図 6 である。X 線 504 rad を精子細胞期に 1 回照射し、F₁ での腫瘍と F₁ の性細胞での転座をしらべた。一般の予想に反し、転座をもった F₁ でも、転座をもたない F₁ でも、腫瘍発生率は全く差がなかった。性細胞での転座は、骨髓細胞ほど細か

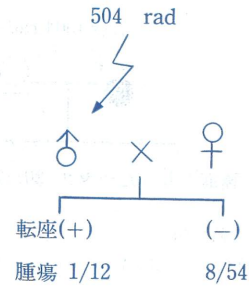


図 6 F₁ での腫瘍と転座の相関^{2)~4)}

表 5 X 線とウレタンの遺伝毒性の比較^{2)~4)}

	X 線	ウレタン
優 性 致 死		—
転 座		—
奇 形	+	+
腫 瘍	+	+
突 然 変 異	+	+

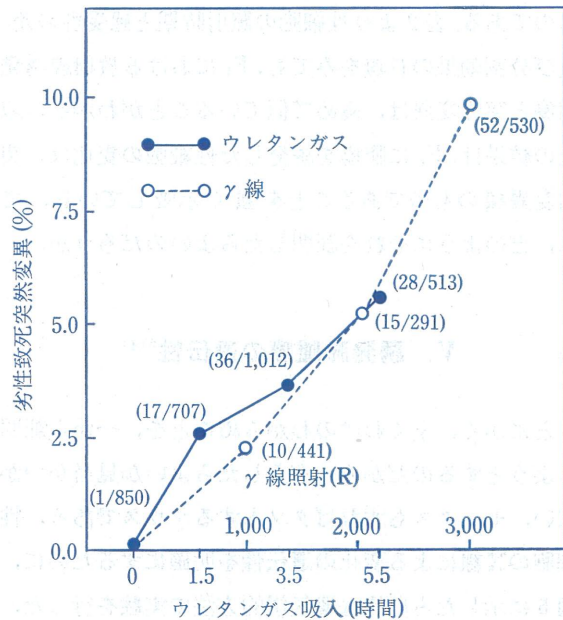


図 7 ウレタンガス及び γ 線をショウジョウバエ精子に作用させたときの劣性致死突然変異⁹⁾

い解析は出来ないが、素人でも見まちがうことがない。どうも腫瘍突然変異の原因となる性細胞の変化は、染色体レベルの眼で見えるような大きな変化ではないようである。更に、この事実を支持するような結

表6 ウレタンガス及びγ線をショウジョウバエ精子に作用させた時の転座の誘発⁹⁾

雄への作用原	転座の数						P
	調査数	T(2;3)	T(Y;2)	T(Y;3)	計	頻度10 ²	
ウレタンガス							
3.5 hr	590	1	0	0	1	0.17	NS
5.5 hr	494	1	0	0	1	0.20	NS
5.5 hr (stored)	464	0	0	0	0	0.0	NS
γ線 (¹³⁷ Cs)							
1,000 R	442	2	1	2	5	1.13	NS
2,000 R	452	19	4	5	28	6.19	≪0.001
対照	367	0	0	0	0	0.0	

果が得られた。

表5に示したごとくX線のみでなく、ウレタンも、性細胞に作用させるとF₁に腫瘍や奇形が同じように誘発されるのである。ところが、ウレタンではF₁に優性致死(大きな染色体損傷による)や転座は、全く誘発されないのである。以前、ウレタンにより優性致死が、ほんの少し誘発されると発表したことがあるが³⁾、最近、5千匹以上の胎芽を観察したところ、ウレタンによつては優性致死は、有意には誘発されることがわかった⁷⁾。染色体異常に関しては、私は全くの素人なので、とんだまちがいをするかも知れないので、このX線とウレタンの性細胞障害の差を、遺伝学的方法により、もっと客観的に調べてみた。その結果を図7と表6に示した。

ウレタンは、Amesテストなど*in vitro*の系では、どんなに細工をしても突然変異を誘発することができない。しかし、ウレタンは、ショウジョウバエでは、強力な変異原であることがわかった⁹⁾。図7は、ウレタンをガス状にして、ショウジョウバエの雄に吸入させ、雌と交配し、Muller-5法で劣性致死突然変異を検出した結果である⁹⁾。ウレタンガスの吸入時間を長くすると、それに比例して、突然変異の頻度も上昇する。その最大頻度は、実にγ線の2,000Rに相当する。ウレタン水溶液を飲んだ場合でも同じ結果である。なお、ウレタンにより誘発された突然変異は、相補性試験により、すべて1つのシストロンに局限したものであることがわかった。すなわち、遺伝子突然変異と考えてさしつかえないと思う。マウスでも調べる

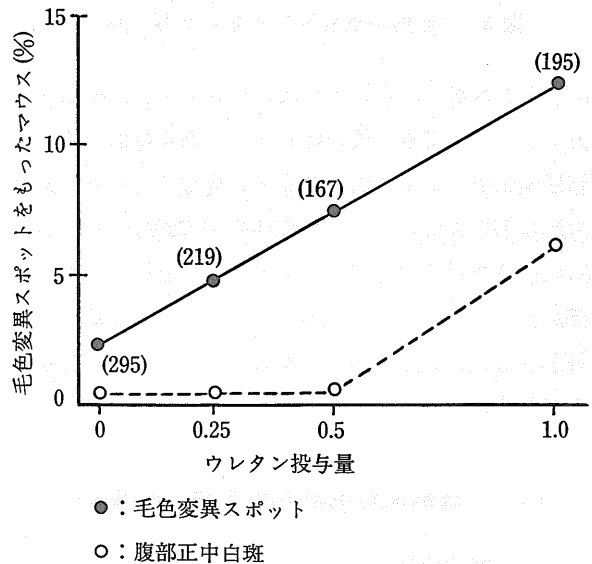
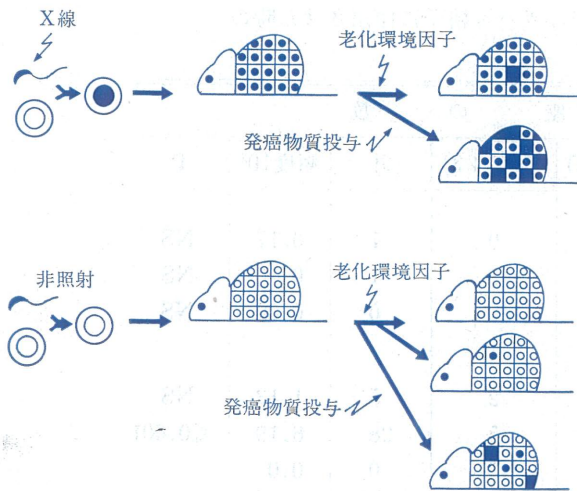


図8 ウレタンによるマウス体細胞突然変異の検出

ことができるよいのだが、何しろ、数十万匹のマウスを必要とするので、不可能である。一応、マウス体細胞突然変異検出法で調べたのでは、強力な変異原性を示したので、その結果を図8に示しておいた¹⁰⁾。

バクテリアの系では、逆立ちしても検出できないでいるウレタンの変異原性が、高等動物では、確実に検出されるわけで、*in vivo*の検出系の重要さを示している。ところがである。表6を見てもらおう。これは、ショウジョウバエにX線、または、ウレタンを作用させた後に、転座を遺伝学的方法で検出したものである¹⁰⁾。ウレタンガス吸入5.5時間とγ線2,000Rは大体同じ頻度(5%)で突然変異を誘発するのであるが、表6のごとくウレタンは、X線の1/30しか転



□ 正常細胞, ● 腫瘍突然変異細胞, ■ 腫瘍細胞

図9 “腫瘍突然変異”モデルの模式図¹¹⁾

座をおこさない。このように、ウレタンは、遺伝学的方法でしらべても、染色体レベルの異常はおこさず、相補性試験の結果にあわせると、少なくともウレタンの作る傷の大きさは、X染色体の0.05%以下である。顕微鏡下で見えなくても当然である。といっても、点突然変異だといっているのではない。つまり遺伝子内の小さな欠失を否定しているのではないことをつけ加えておく。

VIII. 腫瘍突然変異だけで癌になるか¹¹⁾

もし、腫瘍突然変異だけで癌になるとすれば、性細胞に起こった変化であるから、マウスのすべての細胞が同じ変化をもっているはずであり、全身、癌だらけになるはずである。しかし、肺でみると、 10^7 個も幹細胞があるのに、せいぜい1~2個の腫瘍ができるだけである。しかも、浸透率も40%位しかない。浸透率は、マウスが年をとるとともに上昇することから考えて、腫瘍突然変異だけでは、癌にはならず、生後、種々の環境因子や老化等が加わって初めて腫瘍化すると思われる。この仮説を図9に模式化して示した。もしこの考えが正しければ、腫瘍突然変異のおこったマウスに、生後、発癌物質または、プロモーターといわれている物質を作用させれば、肺は、腫瘍だらけになるはずである。事実、ウレタンを0.45 mg/g・体重を生後21日目に皮下注射してみると、正常

(腫瘍突然変異を誘発していない)マウスでは、平均、約3個であるのに、性細胞にX線照射した場合は、F₁に、平均、約18個も腫瘍をもったマウスがあらわれる¹¹⁾。しかも、その頻度が高く、X線照射のみで、ウレタン後処理をしなかった場合の2.4倍となっていた。

すなわち、ウレタン後処理により、浸透率が上昇し、腫瘍の“cluster”をもったマウスが出現したわけである。これは、正に、癌化のイニシエーションとプロモーションそのものをみているようである。もっとも、この実験系の場合、性細胞に起こった変化であるから、腫瘍突然変異そのものは、純粋のイニシエーションと考えられ、これまた純粋のプロモーター検出にも役立つだろう。といっても、腫瘍突然変異が逆にプロモーション過程の変異であって、ウレタン後処理の方がイニシエーション過程の体細胞変異をおこしたのだとしても、必ずしも馬鹿げたこととは言い切れない。少なくとも、同一個体に、2種の化学物質を作用させて、「これはイニシエーション、あれはプロモーションだ」などと騒いでいる御人よりは、賢明だろう。

IX. 問題点

まず第一に、この発見が本当かどうかである。この発見の真偽に関しては、米、英、独で追試が大々的になされているから、いずれ判明する。我々も、他の系統のマウス及び他の腫瘍で、確認を急いでいるが、何としても日本でやるには、あまりにも研究費が掛かりすぎる。しかも、こんな泥臭い研究には、研究費もつきにくいし、若い研究者は、50年前と同じように、馬鹿にして近よらない。次に頻度が非常に高いことである。この現象を突然変異として説明するのに多少の問題点を残しているが、放射線及び環境有害物質のヒトへの危険度推定には極めて重要な問題であると同時に、高感度遺伝障害検出法としての意味をもつことになる。何故、頻度が高いかについては、多くの人が論評しているので、私見を述べるのをひかえる。現時点では、根拠をもたぬ推測にしかすぎないので、事実の記述のみにした。

なお、この仕事は、大阪大学医学部第1外科及び癌研究施設腫瘍生化学部門においてなされたもので、故釜洞醇太郎、坂本幸哉、及び近藤宗平先生ほか、多数の先生方の励ましと援助を受けた。ここに厚く御礼を申し上げます。

文部省科学研究費、日産学術助成金の補助を受けた。本論文執筆に際し、多田英子、田中佐和子嬢の協力を感謝する。

文 献

- 1) Nomura, T. : Transmission of tumors and malformations to the next generation of mice subsequent to urethan treatment. *Cancer Res.* **35** : 264-266, 1975.
- 2) Nomura, T. : Changed urethan and radiation response of the mouse germ cell to tumor induction. In L. Severi(Ed.), *Tumours of Early Life in Man and Animals*, Perugia Univ. Press, Perugia, p. 873-891, 1978.
- 3) Nomura, T. : Role of DNA damage and repair in carcinogenesis. In T. Sugimura, S. Kondo and H. Takebe (Eds.), *Environmental Mutagens and Carcinogens*, Alan R. Liss, New York, p. 223-230, 1982.
- 4) Nomura, T. : Parental exposure to X rays and chemicals induces heritable tumours and anomalies in mice. *Nature (London)* **296** : 575-577, 1982.
- 5) Russell, W.L. et al. : Radiation dose rate and mutation frequency. *Science* **128** : 1546-1550, 1958.
- 6) Russell, W.L. et al. : Dependence of mutation rate on radiation intensity. *Int. J. Rad. Biol. (Suppl.)* : 311-322, 1960.
- 7) Ehling, U.H. : Dominant mutations affecting the skeleton in offspring of X-irradiated male mice. *Genetics* **54** : 1381-1389, 1966.
- 8) Lüning, K.G. and A.G. Searle : Estimates of the genetic risks from ionizing irradiation. *Mutation Res.* **12** : 291-304, 1971.
- 9) Nomura, T. : Potent mutagenicity of urethan (ethyl carbamate) gas in *Drosophila melanogaster*. *Cancer Res.* **39** : 4224-4227, 1979.
- 10) Nomura, T. : Comparative inhibiting effects of methylxanthines on urethan-induced tumors, malformations, and presumed somatic mutations in mice. *Cancer Res.* **43** : 1342-1346, 1983.
- 11) Nomura, T. : X-ray-induced germ-line mutation leading to tumors its manifestation in mice given urethane post-natally. *Mutation Res.* **121** : 59-65, 1983.