

第7章 生物学的線量評価に関する調査研究

7.1 低線量率 γ 線連続照射マウスの脾細胞における転座型染色体異常頻度とクローン出現頻度

Frequencies of Chromosomal Translocation and Clone Formation in Splenocytes from Mice Continuously Irradiated with Low-Dose-Rate Gamma-Rays

香田 淳, 田中 公夫
生物影響研究部

Atsushi KOHDA, Kimio TANAKA
Department of Radiobiology

Abstract

Chromosomal translocations and clones in splenic lymphocytes of female specific pathogen free (SPF) C3H mice exposed to low-dose-rates (LDRs: 1 mGy/22 h/day and 0.05 mGy/22 h/day) of ^{137}Cs - γ -rays continuously from 8 weeks of age to a maximum of 720 days were analyzed. Splenic lymphocytes from irradiated and non-irradiated mice were cultured for 46 h in the presence of LPS, Con A, and 2-ME to obtain metaphase spreads, and translocations were identified using the multiplex-fluorescence *in situ* hybridization (M-FISH) method. The frequencies of translocations were similar in both non-irradiated and irradiated mice continuously exposed to LDR (0.05 mGy/22 h/day) wherein it increased rapidly with aging from 512 days (565 days after birth). However, in mice continuously exposed to LDR (1 mGy/22 h/day), the frequency of translocations increased almost linearly in relation to the irradiated dose and aging from 8 weeks of age up to the 617 days of irradiation. Splenic lymphocyte clones were detected from 407 days and 617 days of irradiation in mice exposed to 1 mGy/22 h/day and 0.05 mGy/22 h/day, respectively. In non-irradiated mice, however, clones were detected from 407 days of age. Clones were detected earlier as dose rate was increased. These results will be helpful for risk assessment for low-dose radiation as well as for establishing a biodosimetry method for long-term exposures at low-dose-rates.

1. 目的

低線量率放射線長期連続被ばくで生じる染色体異常頻度の線量・線量率効果関係を調べる研究は、ヒト集団を調査対象とした時、被ばく線量が極端に低いことや交絡因子の影響が加わることから大変困難である。

生物学的線量評価実験調査第I期の平成17年度～19年度に、低線量率(20 mGy/22h/日) γ 線をマウスに長期連続照射する実験を行い、脾細胞中に生じた転座型と二動原体の染色体異常頻度がともに、照

射時間(集積線量)の増加に伴って、8000 mGyまでほぼ直線的に増加すること、さらに頻度は低いが4000 mGy以上の集積線量になるとクローン(核型分析において同じ染色体異常を持つ細胞が3個以上みられることで判定)が出現するという結果を得た。

20 mGy/22h/日の線量率は、低線量率とはいえ、自然放射線レベルの約8000倍も高いため、このII期の調査では、放射線作業員などの作業環境に近い低線量率放射線の長期被ばく時に使用できる生物学的線量評価法に関する情報を得ることを目的として、20

mGy/22h/日の線量率の1/20と1/400であるそれぞれ1 mGy/22h/日および0.05 mGy/22h/日の γ 線をマウスに長期間連続照射した時に、脾細胞に生じる転座型染色体異常頻度ならびにクローンの出現頻度と集積線量（照射期間）や線量率との関係について調べている。

2. 方法

低線量生物影響実験施設（LERF）で、C3H/HeN雌マウスに8週齢より2つの異なる低線量率（1 mGy/22 h/日と0.05 mGy/22 h/日）の ^{137}Cs - γ 線をSPF条件下で最大720日間連続照射した [1 mGy/22 h/日（45.5 μ Gy/h）の線量率では集積線量が125、200、300、400、500、600、700 mGy；0.05 mGy/22 h/日（2.27 μ Gy/h）の線量率では集積線量が6.25、10、15、20、25、30、35 mGyとなる]。

非照射対照群は、8週齢の非照射マウスおよび目的集積線量に達した照射マウスと同日齢の非照射マウスとした。

目的集積線量に達した時点でマウスをと殺し、脾細胞をLPS、ConA、2-ME存在下で46時間培養し、染色体標本作製した。転座型染色体異常の検出は、20対のマウス全染色体を異なる色で染め分けることのできるMultiplex-Fluorescence *in situ* hybridization（M-FISH）法により蛍光顕微鏡下で行った。各集積線量の照射群及び各同日齢非照射対照群の各観察ポイントあたり3匹のマウスを用い、1個体あたり少なくとも1000個以上の細胞について染色体異常の解析を行った。

3. 成果の概要

本年度末までに、方法のところに記した照射群と

非照射群のすべての解析ポイントについて各3匹のマウスの染色体異常についての解析が終了した。

- 1 mGy/22 h/日の低線量率 γ 線連続照射群：8週齢の照射開始から125、203、307、407、512、617、720日間（集積線量は、それぞれ125、200、300、400、500、600、700）（mGy）
- 0.05 mGy/22 h/日の低線量率 γ 線連続照射群：8週齢の照射開始から125、203、307、407、512、617、720日間（集積線量は、それぞれ6.25、10、15、20、25、30、35 mGy）
- 非照射対照群：8週齢の照射開始から125、203、307、407、512、617、720日間

低線量率（1 mGy/22h/日） γ 線連続照射での転座型染色体異常頻度は、照射日数の増加に伴って、照射開始から617日目（集積線量600 mGy）までほぼ直線的に増加した。一方、非照射対照群では、照射開始日から407日目までほとんど転座型染色体異常頻度の増加は見られなかったが、512日目以降から617日目および720日目にかけて加齢に伴い転座型染色体異常頻度が増加し非直線的に増えることがわかった（Fig. 1）。低線量率（0.05 mGy/22h/日） γ 線連続照射では、非照射対照群の増加パターンとほぼ同様の傾向が観察された。

さらにクローンの出現頻度の解析については、1 mGy/22 h/日の低線量率照射群では、照射開始から307日目を除くすべての解析ポイントで、一方、0.05 mGy/22h/日の低線量率照射群では、617日目以降の解析ポイントで、非照射対照群では、460日目以降の解析ポイントで、転座型染色体異常を含むクローンの出現が観察され、その後それぞれ増加した。また線量率が高いほどクローンの増加する時期は早くなった。

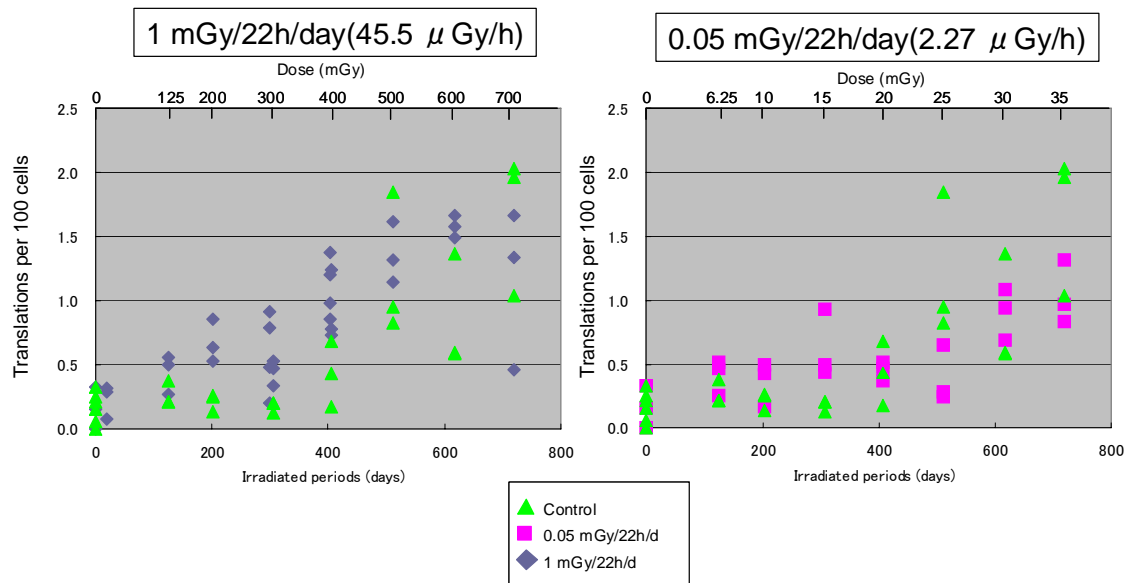


Fig.1 Frequencies of chromosomal translocations in splenic lymphocytes from mice continuously irradiated with low-dose-rate (1 mGy/22 h/day and 0.05 mGy/22 h/day) gamma-rays. Each symbol indicates a value for an individual mouse.