

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-rate (LDR: 1 mGy/22h/day) ^{137}Cs - γ -rays continuously from 8 weeks of age to a maximum of about 720 days were analyzed. Splenic lymphocytes from irradiated and non-irradiated control mice were cultured for 46 h in the presence of LPS, Con A, and 2-ME to obtain metaphase spreads, and translocations were identified under a fluorescent microscope using the multiplex-fluorescence *in situ* hybridization (M-FISH) method. The frequency of translocations in non-irradiated control mice increased gradually with aging from 460 days (407 days from the start of irradiation). However, in mice continuously exposed to LDR (1 mGy/22h/day), the frequency of translocations increased almost linearly in relation to the irradiated dose and aging from 8 weeks of age up to 670 days (617 days from the start of irradiation). The frequency of translocations in irradiated mice (1 mGy/22h/day) was clearly higher than that in non-irradiated mice until 460 days (407 days from the start of irradiation). Splenic lymphocyte clones were detected except for 360 days (307 days from the start of irradiation) in mice exposed to 1 mGy/22h/day. In non-irradiated mice, however, clones were detected from 460 days (407 days from the start of irradiation). These results will be helpful in the risk assessments for low-dose radiation exposures, 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/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/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、放射線作業従事者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/日の線量率の1/20と1/400であるそれぞれ1 mGy/日および0.05 mGy/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棟(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/日と0.05 mGy/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/日(45.5 $\mu\text{Gy/h}$)の線量率では集積線量が125、200、300、400、500、600、700 mGy; 0.05 mGy/日(2.27 $\mu\text{Gy/h}$)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ができる 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7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

前年度までに、方法のところに記した全ての解析ポイントあたり各3個体までの解析を終了している。本年度は、1 mGy/日の低線量率照射群と非照射対照群について、各観察ポイントあたり新たに4個体(計7個体)のマウスの染色体異常頻度の解析を行った。

1 mGy/日の低線量率照射群の転座型染色体異常頻度は、照射日数の増加に伴って、照射開始から約600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、照射開始日から約

400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ず、それ以降、加齢に伴い増加した(Fig. 1a)。非照射対照群の転座型染色体異常頻度は、非直線的に増加することがわかった。照射開始から約400日目までは、非照射対照群より1 mGy/日の低線量率照射群の方の転座型染色体異常頻度が有意に高かった(Fig. 1a)。

二動原体染色体異常頻度については、約125日目のみ非照射対照群より1 mGy/日の低線量率照射群の方が有意に高い結果となったが、全体としては、照射群、非照射群間に大きな差は見られなかった(Fig. 1b)。

クローンについては、1 mGy/日の低線量率照射群では、照射開始から約300日目を除くすべての解析ポイントで、非照射対照群では、照射開始から約400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、クローンの出現以降それぞれ増加した。また20 mGy/日での結果とあわせて比較すると、線量率が上がるとクローンの増加する時期は早くなる傾向があった。

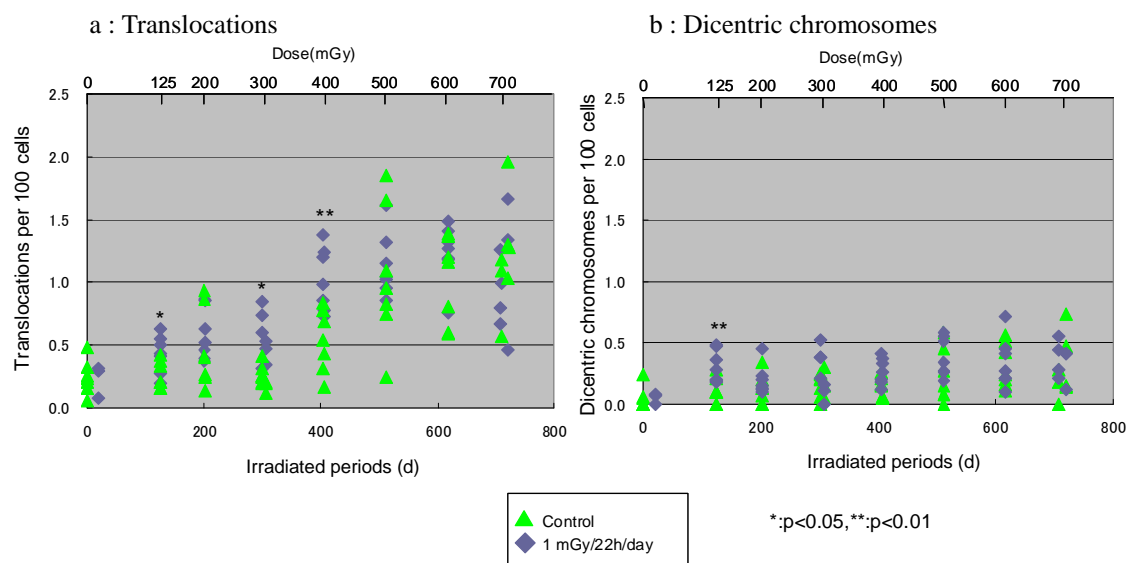


Fig. 1 Frequencies of translocations and dicentric chromosomes in splenic lymphocytes from mice continuously irradiated with low-dose-rate (1 mGy/22h/day) gamma-rays. Each symbol indicates the value for an individual mouse.