

6.1.2 低線量率ガンマ線連続照射オス親マウスの仔・孫への影響 -生殖細胞

突然変異の検索-

Transgenerational Effects in Mice Exposed to Continuous Low Dose-rate Gamma-rays - Analysis of Germ Cell Mutation -

小倉 啓司, 藤川 勝義, 田中 イグナシヤ, 一戸 一晃, 田中 聡, 小村 潤一郎
生物影響研究部

Keiji OGURA, Katuyoshi FUJIKAWA, Ignacia TANAKA, Kazuaki ICHINOHE,
Satoshi TANAKA, Jun-ichiro KOMURA
Department of Radiobiology

Abstract

Transgenerational effects of continuous low dose-rate (LDR) gamma-rays irradiation of male mice have not been well studied. The incidence of copy number aberrations (CNAs) in the progeny of male C57BL/6J mice continuously exposed to LDR (20 mGy/22 h/day, 0.05mGy/22 h/day) gamma-rays for 400 days (total dose: 8000 mGy) was analyzed. Using oligo-microarray CGH (Agilent Technologies), we analyzed a total of 391 genomes (111 progenies from 20 pairs of parents in the 20 mGy/22 h/day irradiated group, 46 progenies from 6 pairs of parents in the 0.05 mGy/22 h/day irradiated group and 140 progenies from 20 pairs of parents in the non-irradiated group). Progeny from the 20 mGy/22 h/day irradiated mice had significantly higher frequencies of genomic aberrations than progeny from the non-irradiated mice. Mice containing more than five mutations were found only in the irradiated groups, whereas no such mice were found in the non-irradiated group. The F₁ mice with CNAs had the tendency to have a short life span in both the irradiated and non-irradiated groups.

1. 目的

低線量率ガンマ線を長期連続照射したオスマウスと非照射メスマウスとを交配し、その仔・孫を得、それぞれ終生飼育して死亡したマウスより採取された尾組織試料を用いて、染色体の欠失・挿入等ゲノムの変化を網羅的に高い精度で解析してオス親マウスへの低線量率放射線長期連続照射が仔マウスに及ぼす影響を明らかにすることを目的とする。

2. 方法

8週齢のオスC57BL/6J Nrsマウス（オス親マウス）に20 mGy/22時間/日、0.05 mGy/22時間/日の低線量率でガンマ線を400日間連続照射した後、非照射メスマウスC57BL/6J Nrsマウス（メスマウス）と交配して仔（以後、仔マウス）を得、終生飼育を行った

（この各群を20 mGy/日照射群、0.05 mGy/日照射群と呼ぶ）。死亡後速やかにこれらのマウスから尾組織をサンプリングし、凍結保存した。この凍結尾組織から抽出したゲノムDNAに含まれる変異を調べるためにマウスゲノム全体をほぼ均等にカバーした1Mフォーマットアレイ（1枚のスライド上に約60ヌクレオチド長のオリゴプライマー約100万種類が搭載されている）を用いたオリゴマイクロアレイCGH法による変異解析を行い、仔マウスゲノムに新たに生じた変異をスクリーニングした。オス親マウスやメスマウスに見られる変異と仔マウスに見られる変異のゲノム上での位置を比較することにより、既存の変異と仔マウスだけに見られる新規突然変異（自然に誘発される自然突然変異と放射線照射によって新たに誘発される

放射線誘発突然変異が含まれる)を分別した。この新規突然変異のうち、PCR法で増幅可能なものについて塩基配列の決定を行って変異がどのようにして起きたかを推定した。

3. 成果の概要

遺伝子変異解析では低線量率ガンマ線連続照射実験で得られた死亡マウス(平成26年2月1日現在4860匹)のうち1277匹の凍結尾組織から遺伝子変異解析用ゲノムDNAを抽出・精製した。20 mGy/日照射群オス親とそれらに交配させたメス親各21匹及びその仔マウス111匹、0.05mGy/日照射群オス親とそれらに交配させたメス親各6匹及びその仔マウス46匹、非照射対照群オス親、メス親各20匹とその仔マウス140匹、合計391匹のゲノムDNAについてオリゴマイクロアレイCGH法によるスクリーニングが終了した。その結果、20 mGy/日照射群の仔111匹中24匹、0.05 mGy/日照射群の仔46匹中5匹、非照射対照

群の仔140匹中15匹で、それぞれ新規変異の可能性が高い領域を検出した(Table 1)。つまり、新規突然変異の頻度は20 mGy/日照射群では22.5%、0.05 mGy/日照射群では10.8%、非照射対照群では10.7%と推定され、20 mGy/日照射群で有意に高かった($P=0.018$)。20 mGy/日照射群、0.05 mGy/日照射群では1匹中に5カ所以上の変異がある「高頻度変異マウス」が見つかったが、非照射対照群ではそのような変異を示すマウスは見つからなかった。さらに、「高頻度変異マウス」の1匹を詳細に調べると少なくとも半数の変異は体細胞分裂中に起きたことが判明した。また、仔マウスの「異常値領域」の有無と生存日数及び死因との関連を調べた結果(Table 2)、20 mGy/日照射群及び非照射群の両方で「異常値領域」がゲノム内に存在するマウスでは生存日数の平均が49日~118日短く、寿命が短縮する傾向が見られた。しかし、死因との関連は認められなかった。

Table 1 Number of mice and loci with aberrations

		No. of F ₁ mice analyzed	No. of mice with aberrations	No. of loci with aberrations
20 mGy/ 22h/day irradiated group	♀	48	10 (22.9 %)	25 (Ave. 0.34 /generation)
	♂	63	14 (22.2 %)	150 (Ave. 2.38 /generation)
	♀+♂	111	24 (22.5 %)	175 (Ave. 1.58 /generation)
0.05 mGy/ 22h/day irradiated group	♀	21	2 (9.5 %)	2 (Ave. 0.10 /generation)
	♂	25	3 (12.0 %)	41 (Ave. 1.64 /generation)
	♀+♂	46	5 (10.8 %)	43 (Ave. 0.93 /generation)
Non irradiated group	♀	73	9 (12.3 %)	10 (Ave. 0.12 /generation)
	♂	67	6 (9.0 %)	12 (Ave. 0.18 /generation)
	♀+♂	140	15 (10.7 %)	22 (Ave. 0.16 /generation)

Table 2 Relationship between the presence of aberrations and life span in F₁ mice

	Aberrations	Life span (day)	Cause of death			
			Category		Major	
20 mGy/ 22h/day irradiated group (111 mice)	♂	Yes 13(20.6%)	794.8 ±170.7	Neoplasms 8 (66.6%) Inflammation 1 (8.3%) Others 3 (25.0%)	Lymphoma, Malignant	38%
		No 50(79.3%)	843.7 ±231.2	Neoplasms 23 (48.9%) Inflammation 13 (27.7%) Others 11 (23.4%)	Lymphoma, Malignant	14%
	♀	Yes 11(22.9%)	706.1 ±182.7	Neoplasms 9 (81.8%) Inflammation 1 (9.1%) Others 1 (9.1%)	Lymphoma, Malignant	45%
		No 37(77.1%)	799.8 ±154.3	Neoplasms 29 (78.4%) Inflammation 4 (10.8%) Others 4 (10.8%)	Lymphoma, Malignant	43%
non irradiated group (140 mice)	♂	Yes 7(10.4%)	787.9 ±340.5	Neoplasms 3 (42.9%) Inflammation 2 (28.6%) Others 2 (28.6%)	Lymphoma, Malignant	14%
		No 60(89.6%)	905.5 ±172.2	Neoplasms 34 (58.6%) Inflammation 14 (24.1%) Others 10 (17.2%)	Lymphoma, Malignant	22%
	♀	Yes 9(12.3%)	699.0 ±167.0	Neoplasms 7 (77.8%) Inflammation 0 (0.0%) Others 2 (22.2%)	Lymphoma, Malignant	67%
		No 64(87.7%)	804.5 ±158.5	Neoplasms 43 (69.4%) Inflammation 12 (19.4%) Others 7 (11.2%)	Lymphoma, Malignant	41%