

第7章 生物学的線量評価に関する調査研究

7.1 低線量率ガンマ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

生物影響研究部

Atsushi KOHDA

Department of Radiobiology

Abstract

Chromosomal translocations and clones in splenic lymphocytes of female specific pathogen free (SPF) C3H mice exposed to low dose-rate ^{137}Cs -gamma-rays (LDR: 0.05 mGy/22h/day) continuously from 8 weeks of age to a maximum of about 700 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 multiplex-fluorescence *in situ* hybridization (M-FISH) method. The frequency of translocations in non-irradiated control mice increased slightly with aging from 460 days (407 days from the start of irradiation). In mice continuously exposed to LDR (0.05 mGy/22h/day), the frequency of translocations did not increase until 565 days (512 days from the start of irradiation), but increased slightly with aging from 670 days (617 days from the start of irradiation). The frequency of translocations in irradiated mice (0.05 mGy/22h/day) was not higher than that in non-irradiated mice until 460 days (407 days from the start of irradiation). Splenic lymphocyte clones (at least three cells with the same aberrations) in mice exposed to 0.05 mGy/22h/day were detected from 360 days (307 days from the start of irradiation), and increased from 670 days (617 days from the start of irradiation). In non-irradiated mice, however, clones were detected from 460 days (407 days from the start of irradiation), and increased from 772 days (720 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/22 h/day)ガンマ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までは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

上見られることで判定) が出現するという結果を得た。

20 mGy/22 h/day 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/22 h/day の線量率の 1/20 と 1/400 であるそれぞれ 1 mGy/22 h/day および 0.05 mGy/22 h/day のガンマ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ソ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/day と 0.05 mGy/22 h/day) の $^{137}\text{Cs-}\gamma$ 線を SPF 条件下で最大 720 日間連続照射した [1 mGy/22 h/day (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/22 h/day (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

これまでに、方法のところに記した全ての解析ポイントあたり、各 7 個体 (1 mGy/22 h/day 照射群、

非照射対象群)、各 3 個体 (0.05 mGy/22 h/day 照射群) 解析を終了している。

本年度は、0.05 mGy/22 h/day の低線量率照射群について、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。

0.05 mGy/22 h/day の低線量率照射群の転座型染色体異常頻度は、照射開始から約 500 日目 (集積線量 25 mGy) まで、ほとんど増加は見られなかったが、約 600 日目以降わずかに増加することがわかった

(Fig.1 左)。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なかったが、約 500 日目以降加齢に伴い転座型染色体異常頻度が増加した。(Fig.1 左)。照射開始から約 400 日目までは、非照射対照群と 0.05 mGy/22 h/day の低線量率照射群の異常頻度に有意な差は見られなかったが、約 500 日目と約 700 日目では、0.05 mGy/22 h/day の低線量率照射群の異常頻度の方が低かった (Fig.1 左)。

二動原体染色体異常頻度については、照射開始から約 400 日目と約 600 日目に非照射対照群より 0.05 mGy/22 h/day の低線量率照射群の方が低く、それ以外には有意差は見られなかった (Fig.1 右)。

転座型染色体異常を含むクロソンについては、0.05 mGy/22h/day の低線量率照射群では、照射開始から約 300 日目に観察され、約 600 日目以降増加した。一方、非照射対照群では、照射開始から約 400 日目に、転座型染色体異常を含むクロソンの出現が観察され、約 700 日目以降増加した。

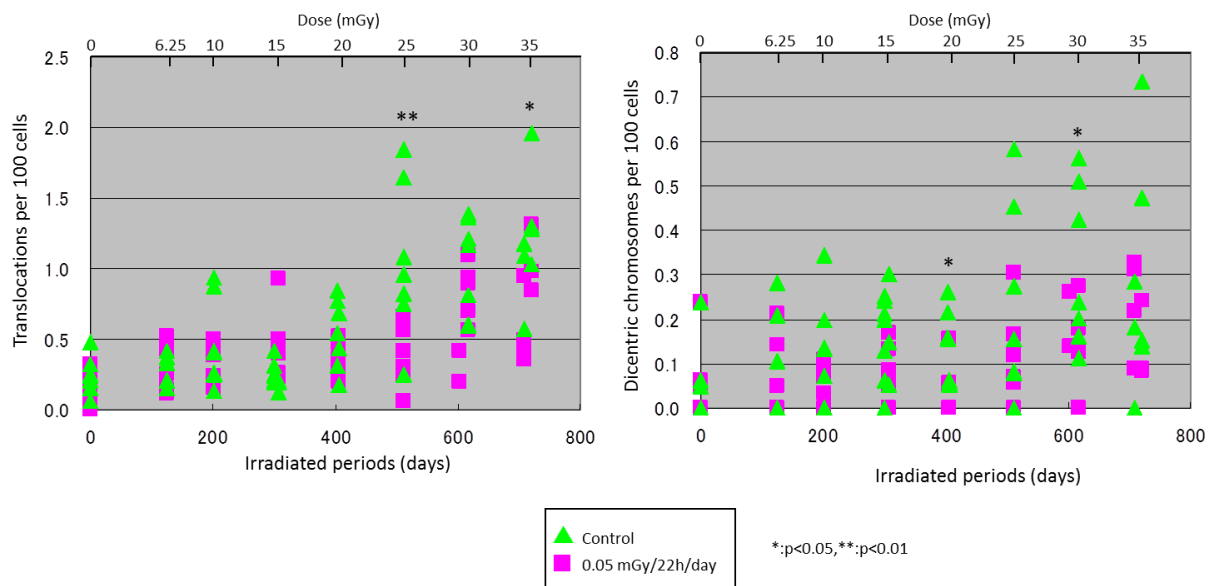


Fig. 1 Frequencies of chromosomal translocations and dicentric chromosomes in splenic lymphocytes from mice continuously irradiated with low dose-rate gamma-rays (0.05 mGy/22h/day). Each symbol indicates the value for an individual mouse.