

6.3.2 低線量率ガンマ線連続照射マウスにおける悪性リンパ腫等病変発生の

早期化の確認 -血清中のタンパク質を指標とした解析-

Latency Period of Malignant Lesions in Mice Exposed to Continuous Low Dose-rate Gamma-rays -Analysis of Serum Marker-

杉原 崇, 田中 聡, 田中 イグナシヤ, 小村 潤一郎
生物影響研究部

Takashi SUGIHARA, Satoshi TANAKA, Ignacia TANAKA, Jun-ichiro KOMURA
Department of Radiobiology

Abstract

Our previous study has revealed that exposure of mice to continuous low dose-rate gamma-rays (LDR: 21 mGy/22 h/day) shortens the life span by approximately 120 days due to premature death from various neoplasms including malignant lymphomas. We have been searching for serologically detectable changes in LDR-irradiated mice and in mice that develop neoplasms after LDR-irradiation. In this study, we used standard clinical biochemistry tests to analyze the serum samples of the LDR-irradiated mice. Comparison of the mice that were LDR-irradiated and developed hepatocellular adenoma (HCA) and the non-irradiated mice without HCA revealed significant changes in many parameters of clinical biochemistry, including AST (aspartate transaminase) and LDH (lactate dehydrogenase). Comparison of the LDR-irradiated mice without HCA and the non-irradiated mice without HCA revealed a significance change in one parameter, TG (triacylglycerol). Thus, standard clinical biochemistry tests should be useful for detecting the effects of LDR irradiation.

1. 目的

ヒトの健康診断では採取の簡便さと得られる情報量が多いことから、血液検査が用いられており、腫瘍発見に役立つ腫瘍マーカー分子も知られている。そのため、我々は低線量率 γ 線照射されたマウスの血清を用いることで、腫瘍発生などの低線量率 γ 線影響を早期に検出することが可能ではないかと考えた。そこで、マウスの経時的剖検実験（低線量率放射線照射により腫瘍の早期化が起こるか否かを病理学的解析により確認するために行った実験）の結果から悪性リンパ腫や肝腫瘍等に分類されたマウス血清を用い、その腫瘍発生と血清中因子の量的変化の関係について明らかにするとともに、腫瘍発生を検出するためのマーカー分子の候補を見いだすことを目的とした。

本年度は、肝腫瘍マウスに関して生化学的な血液解析を行うことにより、病理学的解析により判定された低線量率照射群に多い肝腫瘍についての補完すべきデータとして利用できるかを確認した。また、経時的剖検実験で得られたマウス血清サンプルに対して血液検査を行い、各検査項目の数値と、肝腫瘍、悪性リンパ腫に加え、病理解析で照射の影響が大きいことが明らかになった卵巣腫瘍発症との関係について検討した。

2. 方法

B6C3F1 メスマウスに低線量率（20 mGy/22 時間/日） ^{137}Cs - γ 線を400日間連続照射した（集積線量は8 Gy）。照射開始後、100、200、300、400、500、600、700日の時点でマウスから心採血し、採取した

血液から血清を分離した。マウス肝・胆管疾患解析キット（オリエンタル酵母株式会社）を用い、以下の項目に関して血液検査を行った。血清鉄（Fe）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性（AST）、アラニントランスアミナーゼ活性（ALT）、アルカリホスファターゼ活性（ALP）、乳酸脱水素酵素活性（LDH）、ロイシンアミノペプチダーゼ活性（LAP）、コリンエステラーゼ活性（ChE）、総コレステロール量（T-CHO）、遊離コレステロール量（F-CHO）、エステルコレステロール量（E-CHO）、エステルコレステロール量/総コレステロール量比（E/T 比）、トリグリセロール量（TG）、LDL コレステロール量（LDL-C）、HDL コレステロール量（HDL-C）、総ビリルビン量（T-BiL）、直接ビリルビン量（D-BiL）、間接ビリルビン量（I-BiL）、総胆汁酸量（TBA）。

3. 成果の概要

肝腫瘍、悪性リンパ腫、卵巣腫瘍発症と血液検査結果との関連を検討した結果を以下に示す。悪性リンパ腫については、マウスを非照射/非担癌、非照射/担癌、照射/非担癌、照射/担癌の4群に分け、非照射/非担癌を対照として比較を行った。肝腫瘍、卵巣腫瘍については、非照射/担癌マウスの数が少ないことから、この群の解析は行っていない。

3.1 肝腫瘍

低線量率 γ 線照射開始から600-700日後の照射/肝腫瘍発症マウス群血清中のAST、ALT、LDHは非照射/肝腫瘍非発症対照群に比べ有意に上昇し、肝細胞障害が亢進していることがわかった。また、LAP上昇がみられるため、肝胆道閉塞状態であることが推測できる。さらに、LDL-C、TBA（総胆汁酸）量増加が見られたことから、肝の炎症が進んでいると考えられた。一方、照射/非肝腫瘍マウス群では1項目（TG）のみにおいて有意な変化が見られた。これらの結果から、B6C3F1照射メスマウスの肝腫瘍判定にはAST、ALT、LDH、LAP、LDL-C、TBAを血液検査用いた測定が使用できることがわかった（Table 1）。血液検査項目の多くは肝機能を反映するものであることから、予想された結果と言える。

3.2 悪性リンパ腫

一番発生頻度の高い腫瘍である悪性リンパ腫と血清成分との関連を解析した。照射開始から400-700日の照射/悪性リンパ腫発症マウス群を非照射/悪性リンパ腫非発症対照群と比較すると、血清中のAST、ALP、LDL-C、TBAの有意な増加、E/T比、TG、HDL-Cの有意な減少が見られた。照射/悪性リンパ腫発症群と非照射/悪性リンパ腫発症群（悪性リンパ腫を発症した2群）を比較すると、3項目（TG、HDL-C、TBA）について共通した（同方向で有意な）変化が見られた。照射/悪性リンパ腫発症群と照射/悪性リンパ腫非発症群（照射を行った2群）を比較すると、1項目（AST）のみについて共通した変化が見られた。これらのデータからは、照射/悪性リンパ腫発症群では、照射の影響よりも、悪性リンパ腫の影響が強く出ている印象を受ける。

3.3 卵巣腫瘍

低線量率 γ 線照射マウスが高い頻度で卵巣腫瘍を発症することが明らかになったことから、卵巣腫瘍と血清成分との関連について解析した。照射開始から400-700日後の照射/卵巣腫瘍発症マウス群において非照射/卵巣腫瘍非発症対照群に比べ数値が有意に変化した検査項目はひとつ（AST）だけであった。一方、照射/卵巣腫瘍非発症マウス群では4項目において有意な変化（血清Feの減少とALT、LAP、E/T比の増加）が見られた。この結果より、照射マウス群から卵巣腫瘍発症マウスを除くことで、照射自体の影響を検出できることが示唆される。照射/卵巣腫瘍発症群では、照射の影響と腫瘍の影響が互いに干渉し、あるいは打ち消し合って、影響がほとんど見られないという結果となっている可能性も考えられる。

これらの結果を総合すると、汎用される血液生化学検査により、低線量率照射マウスにおける腫瘍発生の少なくとも一部は推測できると考えられる。照射/非担癌マウスにおいて有意な変化が認められたことから、血液検査は、特に腫瘍発症前の照射マウスにおいて、低線量率放射線の組織・臓器・個体レベルの影響を検出あるいは解析するためにも有用であると考えられる。

Table 1 Clinical chemistry tests for B6C3F1 mice : C_HCA-: No-irradiation /No-hepatocellular adenoma, LDR_HCA-: LDR-irradiation/ No-hepatocellular adenoma, LDR_HCA+ : LDR-irradiation/ No-hepatocellular adenoma, Significance test : Steel test, ↑ : Increase, ↓ : Decrease

	C_HCA-	LDR_HCA-	LDR_HCA+	LDR_HCA-	LDR_HCA+
Fe (µg/dL)	203.3	195.8	264.4		
AST (IU/L)	98.3	125.2	189.8	*** (P<=0.001)	↑↑
ALT (IU/L)	34.8	37.4	124.3	*** (P<=0.001)	↑↑
ALP (IU/L)	480.7	561.4	551.4		
LDH (IU/L)	326.1	323.2	613.9	** (P<=0.01)	↑↑
LAP (IU/L)	54.6	59.1	110.7	*** (P<=0.001)	↑↑
ChE (IU/L)	37.1	40.3	44.2		
T-CHO (mg/dL)	134.8	139.4	187.9		
F-CHO (mg/dL)	23.5	24.8	37.0		
E-CHO (mg/dL)	111.3	114.6	150.9		
E/T (%)	82.6	81.2	78.9		
TG (mg/dL)	115.4	89.1	91.2 * (P<=0.05)	↓	
LDL-C (mg/dL)	14.3	15.8	25.1	* (P<=0.05)	↑
HDL-C (mg/dL)	66.8	64.5	70.4		
T-BIL (mg/dL)	0.097	0.135	0.331		
D-BIL (mg/dL)	0.072	0.103	0.241		
I-BIL (mg/dL)	0.026	0.032	0.090		
TBA (µmol/L)	6.2	16.1	38.0	** (P<=0.01)	↑