

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染色体異常頻度とクローン出現頻度

Frequencies of Chromosomal Aberrations and Clone Formation in Splenocytes from Mice Continuously Irradiated with Low Dose-rate Gamma-rays

香田 淳, 小村 潤一郎

生物影響研究部

Atsushi KOHDA, Jun-ichiro KOMURA

Department of Radiobiology

Abstract

Chromosomal aberrations and karyotypic clones in splenic lymphocytes of female specific pathogen free (SPF) C3H mice exposed to low dose-rates of ^{137}Cs -gamma-rays (LDRs: 1 mGy/22h/day and 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 and dicentric chromosomes were identified under a fluorescent microscope using the multiplex-fluorescence *in situ* hybridization (M-FISH) method. Significant increases in the frequencies of translocations and of dicentric chromosomes compared to age-matched non-irradiated controls were detected in mice exposed to 1 mGy/22h/day gamma-rays but not in mice exposed to 0.05 mGy/22h/day gamma-rays. Analysis of clones (at least three cells with the same aberrations) in irradiated and non-irradiated control mice showed that the clones with karyotypes described as $\text{der}(\alpha)\text{t}(15;\alpha)$ were dominant in non-irradiated controls and in the mice irradiated at 0.05 mGy/22h/day but not in the mice irradiated at 1 mGy/22h/day. From these results, we concluded that chromosome aberrations are detectably induced at 1 mGy/22h/day, but not at 0.05 mGy/22h/day. 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、ヒトを対象に使用するとその集団の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り、実験動物を用いた解析が重要となる。

生物学的線量評価実験調査第I期中の平成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、照射時間の増加(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(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4000倍も高いため、この調査では、

放射線作業員などの線量限度により近い低線量率放射線長期被ばく時に応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の低線量率であるそれぞれ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た転座型及び二動原体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査した。

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/日と0.05 mGy/日）の¹³⁷Cs- γ 線をSPF条件下で最大約700日間連続照射した〔1 mGy/日（0.045 mGy/h）の線量率では集積線量が125、200、300、400、500、600、700 mGy；0.05 mGy/日（ 2.27×10^{-3} mGy/h）の線量率では集積線量が6.25、10、15、20、25、30、35 mGy〕。

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、染色体標本を作製した。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マウス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7個体の解析を終了している。

本年度は、0.05 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3個体（計10個体）のマウスの染色体異常頻度の解析を行った。本調査の最終年度であることから、以下、これまでの成果をまとめて記載する。

〔転座型染色体異常頻度について〕

非照射対照群では、照射群の照射開始後約300日目にあたる360日齢までは、ほとんど増加は見られなかったが、それ以降、加齢に伴い有意に増加した。（Fig. 1）

1 mGy/日照射群では、照射日数の増加に伴って照射開始から約500日目（集積線量500 mGy）まで、ほぼ直線的に増加した。非照射対照群と比較して、照射開始から約125、300、400日目の異常頻度は、有意に高く、異常頻度が加齢によって増加する以前の時期において、転座型染色体異常は、1 mGy/日の低線量率放射線の影響を十分に検出できる指標であることが示唆された。（Fig. 1左）

0.05 mGy/日照射群では、照射開始から約500日目（集積線量25 mGy）までは、ほとんど増加は見られなかったが、それ以降、加齢に伴い有意に増加した。しかしながら、非照射対照群と比較してみると、照射開始から約200、500、700日目の異常頻度は、有意に低く、0.05 mGy/日の低線量率放射線によって誘発される転座型染色体異常は、加齢による変化や個体間のばらつきを超えて検出できるレベルではないことが示唆された。（Fig. 1右）

〔二動原体染色体異常頻度について〕

非照射対照群では、照射開始後400日目にあたる460日齢までは、ほとんど増加は見られなかったが、それ以降、加齢に伴い有意に増加した。（Fig. 2）

1 mGy/日照射群では、照射開始時の8週齢と比較して、照射後は有意に異常頻度が増加したが、集積線量に伴う増加は、見られなかった。また、非照射群と比較して、照射開始から125日目と400日目の異常頻度は、有意に高かった。二動原体染色体は、線量効果は示さないものの、異常頻度が加齢で増加する以前の時期において、1 mGy/日の低線量率放射線の被ばくの影響を検出できる指標であることが示唆された。（Fig. 2左）

0.05 mGy/日照射群は、照射開始時の8週齢と比較すると、照射開始から約700日目においてのみ、有意に異常頻度が高いという結果が得られた。また、照射開始から約600日目と700日目の頻度が非照射

群より有意に低く、二動原体染色体異常は、0.05 mGy/日の低線量率放射線の影響を加齢や個体間のばらつきを超えて検出できるレベルではないことが示唆された。(Fig. 2 右)

[線量率効果について]

1 mGy/日照射群における転座型異常に関する線量効果関係と、前調査で行った今回より高い線量率(20 mGy/日、890 mGy/分)の照射群のそれを比較し、線量率効果について検討した。890 mGy/分と20 mGy/日の転座型染色体異常の線量効果関係は、大きく異なっており、この間での線量率効果は非常に大きく、一方で、20 mGy/日と1 mGy/日の転座型染色体異常の線量効果関係については、大きな違いはなく、この間での線量率効果は小さいということが明らかにされた。(Fig. 3)

[クローンについて]

クローン性の染色体異常(同じ核型異常を持つ細

胞が3個以上同一マウスサンプル中で見られた場合を指す)の解析から、以下のような結果が得られた。

非照射対照群では、照射群の照射開始後約400日目にあたる460日齢以降、0.05 mGy/日照射群では、照射開始から約300日目以降の観察ポイントで、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することが分かった。また、1 mGy/日照射群では、照射開始から307日目を除くすべての観察ポイントで、転座型染色体異常を含むクローンの出現が観察された。また、非照射対照群と0.05 mGy/日照射群では、総クローン数のうち半数程度が、Fig. 4に示す $\text{der}(\alpha)t(15;\alpha)$ と記載できるような核型を持っており、1 mGy/日照射群では、そのようなクローンは少数であった。このことから、 $\text{der}(\alpha)t(15;\alpha)$ のクローンは、自然発生でできるものであり、0.05 mGy/日照射群ではこの割合が多く、1 mGy/日照射群では、この割合が減少し、放射線によって誘発されたクローンが多くなっているものと推測される。

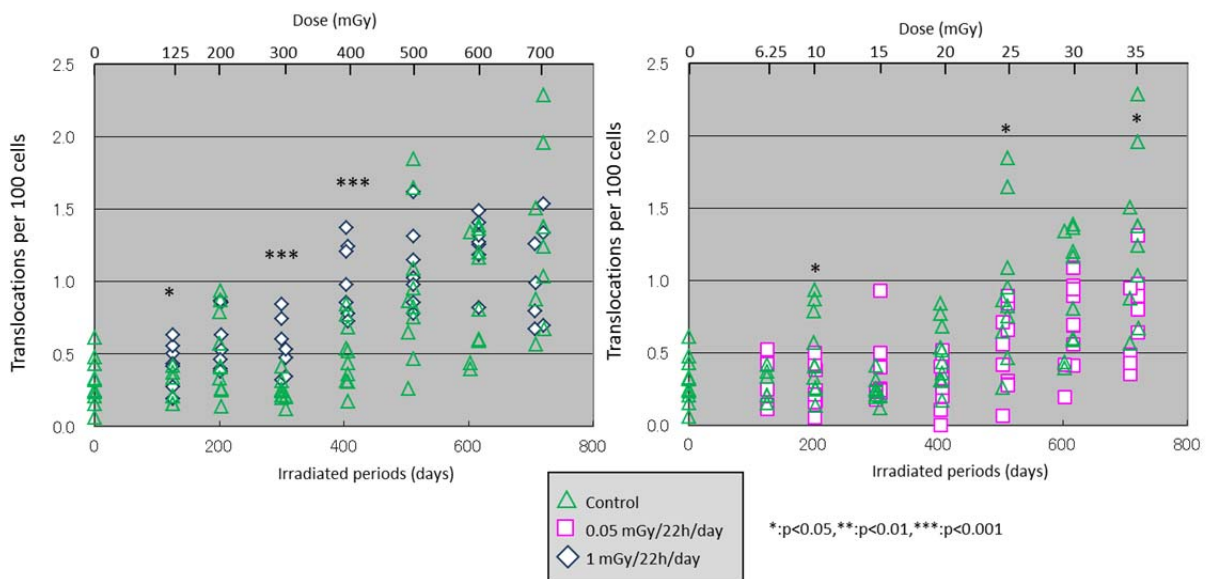


Fig. 1 Frequencies of chromosomal translocations in splenic lymphocytes from mice continuously irradiated with low dose-rate gamma-rays (1 mGy/22h/day and 0.05 mGy/22h/day). Each symbol indicates the value for an individual mouse.

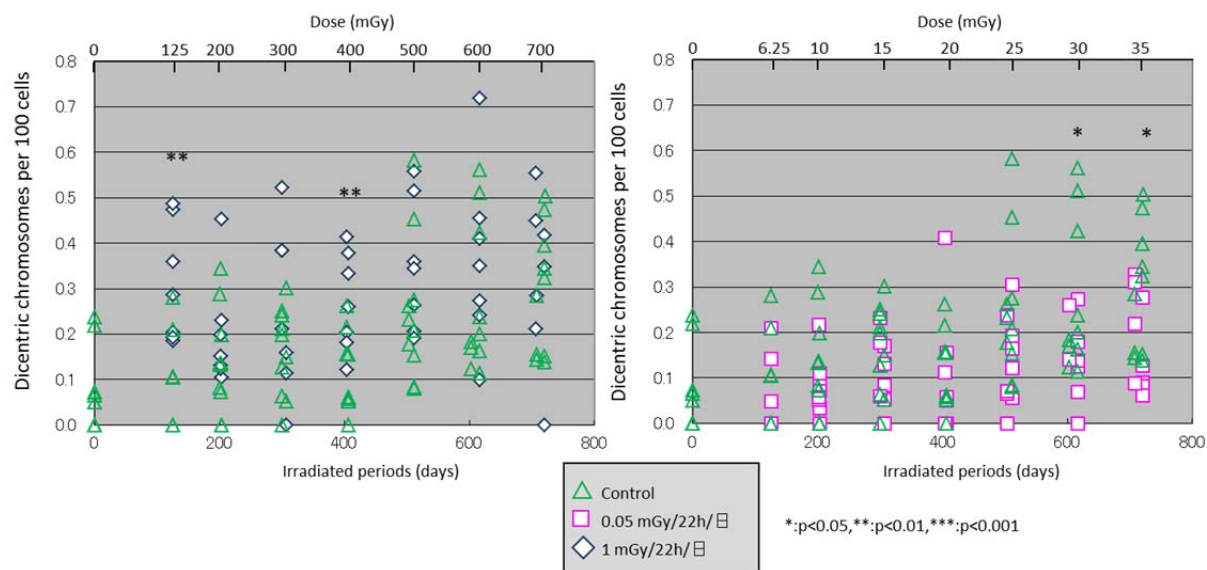


Fig. 2 Frequencies of dicentric chromosomes in splenic lymphocytes from mice continuously irradiated with low dose-rate gamma-rays (1 mGy/22h/day and 0.05 mGy/22h/day). Each symbol indicates the value for an individual mouse.

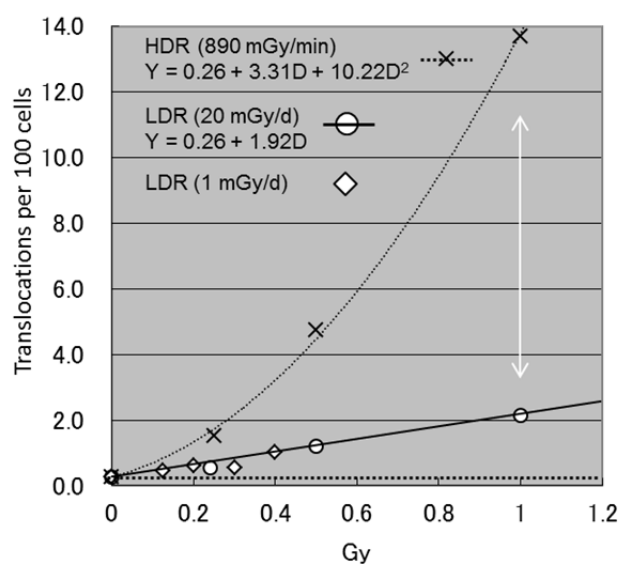


Fig. 3 Frequency of translocations in relation to total dose.

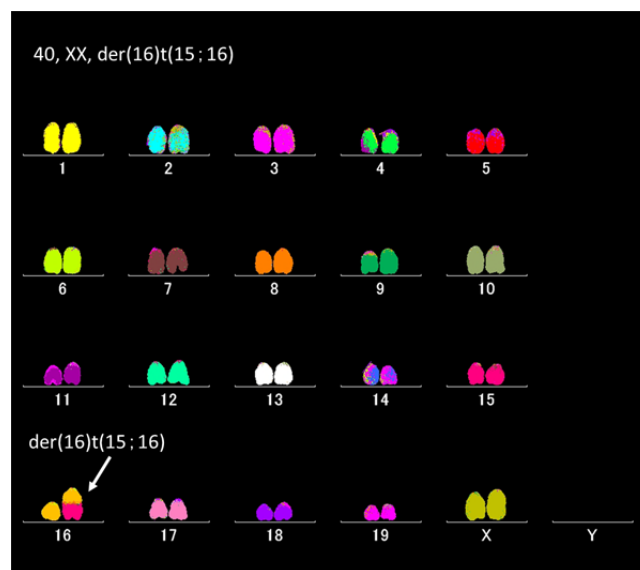


Fig. 4 An example of characteristic karyotypic clones [der(α)t(15; α)]. In this clone, α is chromosome 16.