

## 2.3.2 線量率の違いによるゲノムへの影響解析

### Analysis of the Dose-rate Effect of Radiation on Chromosome Aberrations at Intermediate Dose-rates

香田 淳, 小村 潤一郎

生物影響研究部

Atsushi KOHDA, Jun-ichiro KOMURA

*Department of Radiobiology*

#### Abstract

In our previous study, we analyzed the frequencies of chromosome aberrations (translocations and dicentric chromosomes) in splenocytes of mice exposed to high dose-rate (HDR, 890 mGy/min) or to low dose-rate (LDR, 20 and 1 mGy/day) gamma-rays. Our results showed a large disparity between the effect of HDR radiation and that of LDR. In the present study, we have examined the dose and dose-rate dependency of the frequency of chromosome aberrations in the intermediate dose-rate range (135 – 0.3 mGy/min) between HDR and LDR to determine the boundary region where the dose-rate effect appears. We estimated the frequency of the chromosome aberrations in mice exposed to total accumulated doses from 0 to 1000 mGy at two dose-rates (33.3 and 1.5 mGy/min) in the previous year, and at other four dose-rates [135, 8 and 0.3 mGy/min (436 mGy/24 h/day and 400 mGy/22 h/day)] this year. The dose-response relationships at the dose rates of 135, 33.3 and 8 mGy/min seem to be described by linear-quadratic functions, while the relationships at the dose-rates of 1.5 and 0.3 mGy/min seem to be almost linear. The results are consistent with a gradual change between an HDR-type response and an LDR-type response throughout the entire range of dose-rates we examined.

#### 1. 目的

生物学的線量評価実験調査（Ⅰ期、平成 15～19 年度；Ⅱ期、平成 20～26 年度）において、マウス脾細胞を用いて高線量率（890 mGy/分）および低線量率（20 mGy/日（0.015 mGy/分）と 1 mGy/日（0.0008 mGy/分））放射線による染色体異常誘発の線量効果関係を調べた結果、高線量率放射線に対する細胞の応答と低線量率の場合のそれとの違いが明らかになった。線量効果関係は、高線量率では Linear-Quadratic（線形二次）、低線量率では Linear（線形）であった。また線量率効果については、高線量率と低線量率の間では大きく、二つの低線量率間（20 mGy/日と 1 mGy/日の間）では、小さい（二動原体染色体異常の場合）か、あるいはほとんど見られなかった（転座型染色体異常の場合）。

これらの結果を受けて本調査では、放射線による染色体異常誘発の線量率依存性についての詳細を明らかにすること、特に細胞が高線量率型の応答を示す線量率域と低線量率型の応答を示す線量率域の境界、またその間の線量効果関係の推移を明らかにすることを目的として、マウスに高線量率（890 mGy/分）および低線量率（20 mGy/日）の間の様々な線量率で照射実験を行い、脾細胞における染色体異常誘発の線量効果関係を調べた。平成 27 年度（調査初年度）には、予備的検討により、135 mGy/分、33.3 mGy/分、8 mGy/分、1.5 mGy/分、0.3 mGy/分（436 mGy/日）、0.3 mGy/分（400 mGy/日、1 日あたり 22 時間の照射）の 6 線量率の実験群を設定した。平成 28 年度には、全 6 線量率のうち 2 線量率（33.3 mGy/分、1.5 mGy/分）について染色体異常解析を完了し、

転座型染色体異常、二動原体染色体異常の線量効果関係を明らかにした。本年度は、残る4線量率(135 mGy/分、8 mGy/分、0.3 mGy/分(436 mGy/日)、0.3mGy/日(400 mGy/日))について染色体異常解析を完了し、転座型染色体異常、二動原体染色体異常の線量効果関係を明らかにしたうえで、総合解析を行った。

## 2. 方法

Specific pathogen free (SPF) C3H/HeN Jcl メスマウスを6週齢で日本クレア(株)から購入し、2週間の検疫後、1ケージあたり4匹を収容し、8週齢(53-56日齢)より照射実験に使用した。照射は、先端分子細胞生物科学研究センター内のガンマセル照射装置、線量可変照射室で行った。6線量率のマウス照射実験(最長3日)は、先端分子細胞生物科学研究センター内のガンマセル照射装置(135 mGy/分)もしくは線量可変照射室(33.3 mGy/分、8 mGy/分、1.5 mGy/分、0.3 mGy/分(436 mGy/日)、0.3 mGy/分(400 mGy/日、1日あたり22時間の照射))において、全てをConventional条件下で行った。それぞれの実験群で、1群あたり4匹のマウスを使用し、最大2 Gyまでの照射を行った。

目的の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。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い、各照射群あたり3個体のマウス、1個体あたり最低150個以上の良好な染色体分裂像を選択し、染色体異常の解析を行った。

## 3. 成果の概要

本年度は、135 mGy/分、8 mGy/分、0.3 mGy/分(436 mGy/日)、0.3mGy/日(400 mGy/日)の4線量率について染色体異常解析を完了し、転座型染色体異常、二動原体染色体異常の線量効果関係を明らかにした。これら2種の染色体異常は、同じイベント(染色体切断→再結合)で起こるタイプの異常であるので、

両者を足した(転座型染色体異常+二動原体染色体異常)値の線量効果関係についても記載した。

135 mGy/分の線量率の場合(Fig. 1)、染色体異常頻度は、転座型染色体異常、二動原体染色体異常ともに線量に従い増加した。その関係について、最小2乗法を用いてLinear-Quadraticモデル( $Y=C+\alpha D+\beta D^2$ 、Y:染色体異常頻度、D:線量、C:8週齢時の非照射対照の値)で近似式を求めたところ、非常に良く一致した。転座型染色体異常+二動原体染色体異常に関しても同様に、近似式と非常に良く一致した。

8 mGy/分の線量率の場合(Fig. 2)も、染色体異常頻度は、転座型染色体異常、二動原体染色体異常ともに線量に従い増加した。近似式を求めたところ多少外れる点もあるが、その関係は、Linear-Quadraticであった。両者を足した値について近似式を求めたところ、非常に良く一致した。

0.3 mGy/分(436 mGy/日)の線量率の場合(Fig. 3)、転座型染色体異常は線量に従い増加した。その関係は限りなくLinearに近いLinear-Quadraticであり、近似式を求めたところ良く一致した。しかしながら二動原体染色体異常は、線量に従い増加するものの1 Gyで減少した。また、近似式を求めたところ二次の係数がマイナスとなり、一致性は低かった。両者を足した値について近似式を求めたところ、良く一致したが、やはり2次の係数はマイナスであった。

0.3 mGy/分(400 mGy/日)の線量率の場合(Fig. 4)、転座型染色体異常は線量に従い増加した。その関係は限りなくLinearに近いLinear-Quadraticであり、近似式を求めたところ良く一致した。二動原体染色体異常は、線量に従い増加するものの、近似式を求めると0.3 mGy/分(436 mGy/日)と同様に2次の係数がマイナスとなり、一致性は低かった。両者を足した値について近似式を求めたところ、こちらは非常に良く一致した。

今回解析した135 mGy/分、8 mGy/分、0.3 mGy/分(436 mGy/日)、0.3mGy/日(400 mGy/日)の4線量率の染色体異常頻度の線量効果関係について、前年度の結果(33.3 mGy/分、1.5 mGy/分)及び前調査の結果(890 mGy/分、20 mGy/日、1 mGy/日)と比較

したところ、135 mGy/分と 33.3 mGy/分の線量率で、転座型染色体異常の近似式が重なっており、また二動原体染色体異常の近似式の順序が逆転していたが、おおよそ高線量率（890 mGy/分）と低線量率（20 mGy/日と 1 mGy/日）の間に線量率の順で入った (Fig. 5)。また、各線量率の異常頻度を同じ総線量で比較すると、転座型染色体異常、二動原体染色体異常ともに線量率の低下に伴い異常頻度が低下する、すなわち明確な線量率効果があり、線量率効果は広い線量率領域でみられる現象であることが明らかになった。また、線量率効果の大きさは、総線量によって異なり、総線量の低下に伴い減少した。

転座型染色体異常の線量効果関係は、1.5 mGy/分、0.3 mGy/分 (436 mGy/日)、0.3mGy/分 (400 mGy/日) の線量率では限りなく Linear に近い ( $\beta$  : 2 次の係

数が非常に小さい) が、その傾き ( $\alpha$  : 1 次の係数、2.91~4.21) は、低線量率 (20 mGy/日、1 mGy/日) の場合の線量効果関係の傾きより明らかに高かった (20 mGy/日、1 mGy/日の線量効果関係に Linear モデル ( $Y=C+\alpha D$ ) を当てはめたときの  $\alpha$  の値は、それぞれ 1.86 と 1.64)。この理由の一つとして、転座型染色体異常は安定なものであるといわれているが、低線量率照射によって生じた転座型染色体異常は、長期の照射期間中に一部失われていることが考えられる。

これらの結果を踏まえて、次年度以降は、放射線によって生じた染色体異常の頻度の経時的変化を調査し、染色体異常の安定性 (もしくは不安定性) を明らかにしていく予定である。

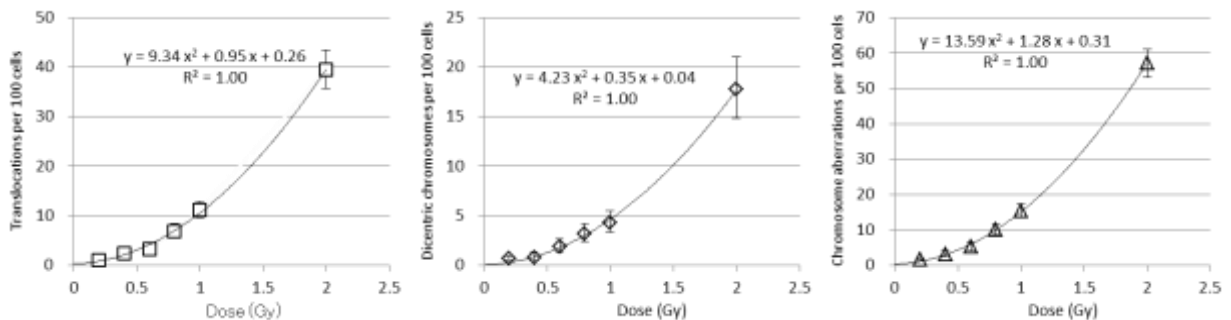


Fig. 1 Frequency of chromosome aberrations (translocations and dicentric chromosomes) in mice irradiated at the dose-rates of 135 mGy/min. Each point is the average of 3 mice.

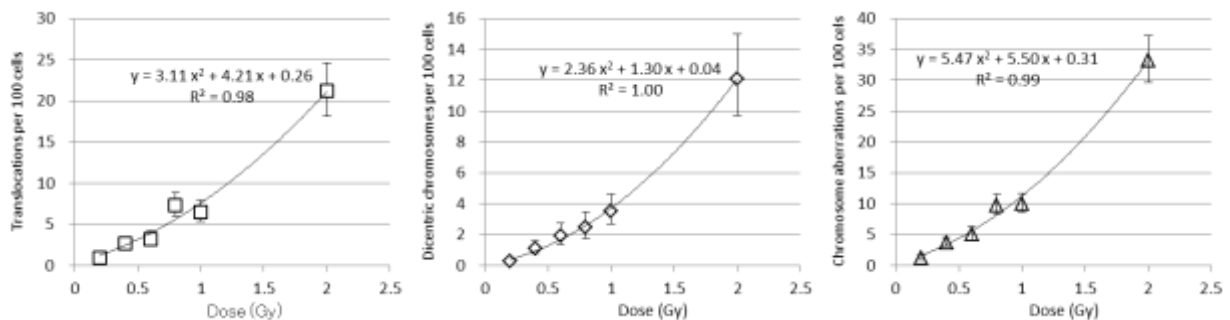


Fig. 2 Frequency of chromosome aberrations (translocations and dicentric chromosomes) in mice irradiated at the dose-rates of 8 mGy/min. Each point is the average of 3 mice.

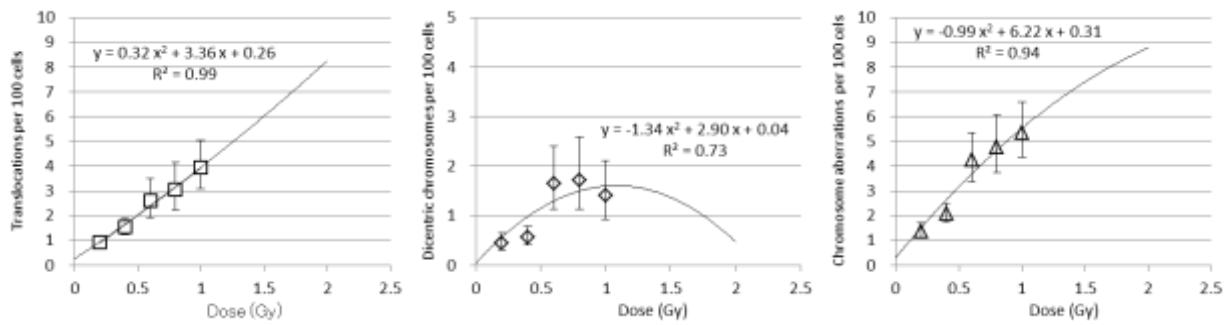


Fig. 3 Frequency of chromosome aberrations (translocations and dicentric chromosomes) in mice irradiated at the dose-rates of 0.3mGy/min (436 mGy/day). Each point is the average of 3 mice.

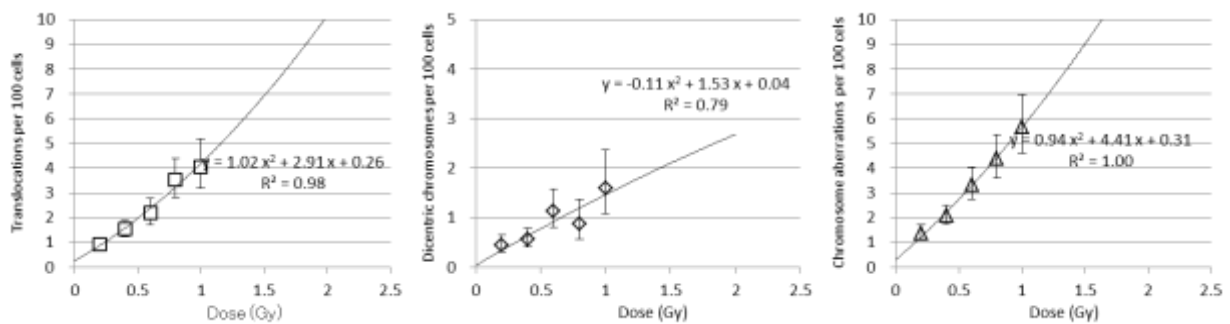


Fig. 4 Frequency of chromosome aberrations (translocations and dicentric chromosomes) in mice irradiated at the dose-rates of 0.3mGy/min (400 mGy/day). Each point is the average of 3 mice.

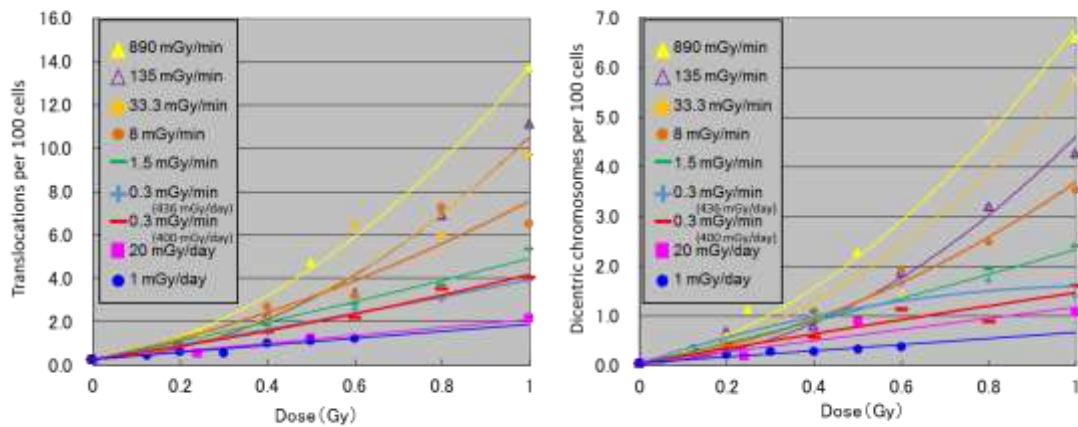


Fig. 5 Comparison of the dose-response relationships for chromosome aberrations (translocations and dicentric chromosomes) in mice irradiated at various dose-rates between HDR and LDR.