

2.3.1.2 低線量率放射線の代謝への影響

Influence of Low Dose-Rate Radiation on Metabolism

杉原 崇, 藤川 勝義, 田中 聡, 田中 イグナシヤ, 小村 潤一郎
生物影響研究部

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

Abstract

To elucidate the influence of low dose-rate (LDR) radiation on metabolism, we have started quantitative analysis of the amount of low molecular-weight metabolites (metabolome analysis) in the liver of B6C3F1 male and female mice irradiated at a LDR of 20 mGy/day for 300 days (total dose: 6,000 mGy). Here we report preliminary results obtained this year. We observed changes in the amount of the compounds involved in the TCA cycle, gluconeogenesis and glycolysis (for example, fumaric acid, malic acid, glyceraldehyde triphosphate and phosphoenolpyruvate) in both male and female irradiated mice. These results suggest that metabolome analysis can be a useful tool for analyzing the biological effects of LDR radiation.

1. 目的

これまで環境研で行われた調査（寿命試験、経時的剖検実験、低線量放射線生体防御機能影響実験調査、低線量率放射線に対する生理応答影響実験調査）によって、低線量率放射線照射されたメスマウスにおける肥満や脂肪肝の増加が明らかになっていることから、低線量率放射線照射の代謝への影響を解析することが重要であると考えられる。さらに最近、上記の経時的剖検実験で得られたマウス肝臓の遺伝子発現を解析した結果、低線量率照射群で発生した脂肪肝では、非照射群の自然発生の脂肪肝とは異なる遺伝子発現変化が認められることが明らかになった。近年、各種低分子代謝物の量の変化を網羅的に測定する技術（メタボローム解析）が、生体内での代謝への影響を明らかにする強力な手段として用いられるようになってきている。そこで、本課題では、新たな技術であるメタボローム解析を導入し、低線量率放射線照射されたマウス肝臓における低分子代謝物量の変化を網羅的に解析した。

本調査の前年度の委員会でのメタボローム解析実

験計画案に対する助言に従い、実験条件を「雌雄 B6C3F1 マウスを 20 mGy/日×300 日（総線量 6,000 mGy）照射し、雌雄及び照射／対照の肝臓サンプルを全て同時に解析する」とした。平成 30 年度は、雌雄マウス各 4 匹に低線量率放射線照射を行い（非照射も雌雄各 4 匹）、採取した肝臓サンプルをヒューマン・メタボローム・テクノロジー社（HMT 社）に送付し、メタボローム解析を行った。さらに、令和元年度も、平成 30 年度と同様の条件で繰り返し実験を行い、サンプル数を増やして総合解析を実施する予定である。

2. 方法

6 週齢の Specific pathogen free (SPF) B6C3F1 オスマウス 8 匹、メスマウス 8 匹（日本クレア）を 4 匹ずつ 2 つの実験群（C 群、LD300 群）に分け、2 週間の検疫の後、C 群は 8 週齢から 300 日間 SPF 環境下で飼育した。一方、LD300 群は 8 週齢から 300 日間低線量率（20 mGy/日）¹³⁷Cs- γ 線連続照射（集積線量 6,000 mGy）を行った。全ての実験群のマウス

は解剖日の前日から 22 時間絶食させ、照射終了後速やかに解剖して肝臓サンプルを得た。その後、HMT 社指定の組織溶解液に 30mg の肝臓サンプルを溶解し-80 度冷凍保存した後、HMT 社に送付し、メタボローム解析を行った。

3. 成果の概要

2 年間にわたる調査のうちの 1 年分のサンプルを用いて得られた暫定的な結果を報告する。

今年度の解析では、オス/メス、照射/非照射、各 4 匹、計 16 匹のマウス肝臓の水溶性低分子代謝物約 900 種が、CE-TOFMS（キャピラリー電気泳動-飛行時間型質量分析）によって定量された。Fig. 1 に、主成分分析の結果を示す。各マウスについて、第 1 主成分（PC1、寄与率 23 %、X 軸）と第 2 主成分（PC2、寄与率 13.4 %、Y 軸）の得点をプロットしたものである。図より、マウスのオスとメスは PC1 により明確に分離されることがわかる。これは、代謝の性差あるいは代謝に対する性ホルモンの影響が非常に大きいことを示していると考えられる。また、PC2 により、メスでは照射群と非照射群が分離されるが、オスでは分離されないことが示唆された。これは、低線量率放射線長期照射メスマウスで観察される卵巣の内分泌機能の異常が代謝に与える影響が大きいものであることを反映していると考えられる。

Fig. 2 は、因子負荷量の散布図であり、各物質の測定値と PC1 あるいは PC2 との相関を示す。PC1 と相関が大きい物質（Type 1）は、雌雄で量が異なるものである。PC2 と相関が大きい物質（Type 2）は、少なくともメスマウスにおいて照射群と非照射群で量が異なるものであると考えられる。Type 1 には、N-アセチルグリシン（N-Acetylglycine）等アミノ酸の誘導体が多く含まれていた。Type 2 には、クエン酸（Citric acid）等の糖代謝関連物質、ミリストレイン酸（Myristoleic acid）等の脂肪酸、プロリン（Pro）等のアミノ酸、S-メチルグルタチオン（S-Methylglutathion）等の酸化還元反応関連物質が含まれていた。

Fig. 3 にパスウェイ解析の結果の一部を示す。糖の代謝（TCA サイクル及び解糖系、糖新生）に関係する物質の一部、例えば、グリセルアルデヒド 3 リン酸（GAP、Glyceraldehyde 3-phosphate）、ホスホエノールピルビン酸（PEP、Phosphoenolpyruvic acid）、クエン酸（Citric acid）、リンゴ酸（Malic acid）が、照射群で雌雄ともに減少していることが示唆された。

次年度は、さらにデータを追加するとともに、上記で示唆されている低分子代謝物の量の変動を詳細に解析し、低線量率放射線照射による糖代謝への影響を明らかにしていく予定である。

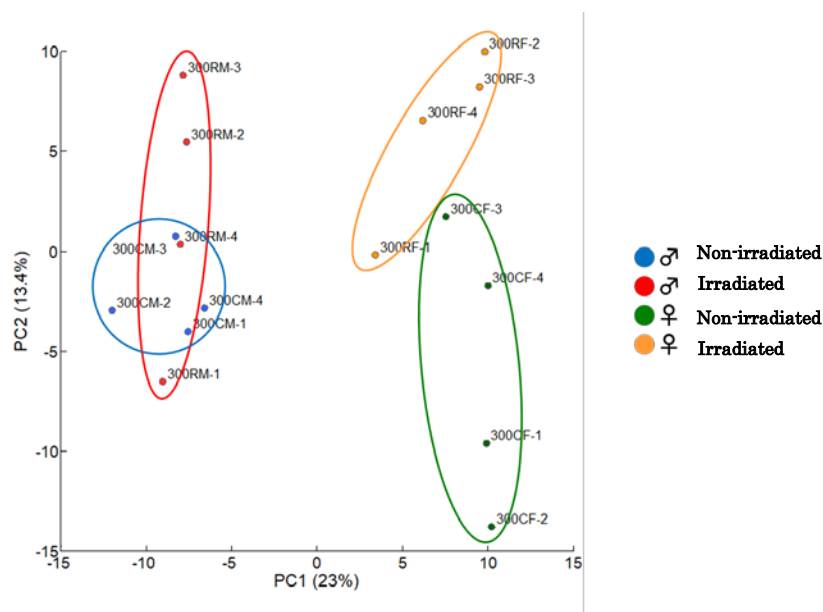


Fig.1. Score plot of principal component analysis of the metabolites in the liver of male and female mice irradiated or non-irradiated at 20 mGy/day for 300 days. n = 4.

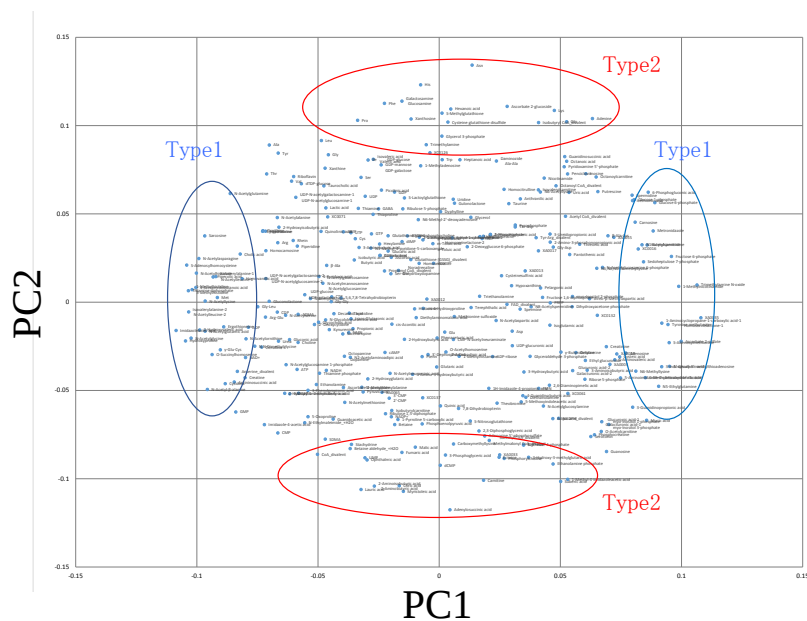


Fig.2. Loading plot of principal component analysis.

We define substances with strong association only with principal component 1 as Type 1 and substances with strong association only with principal component 2 as Type 2.

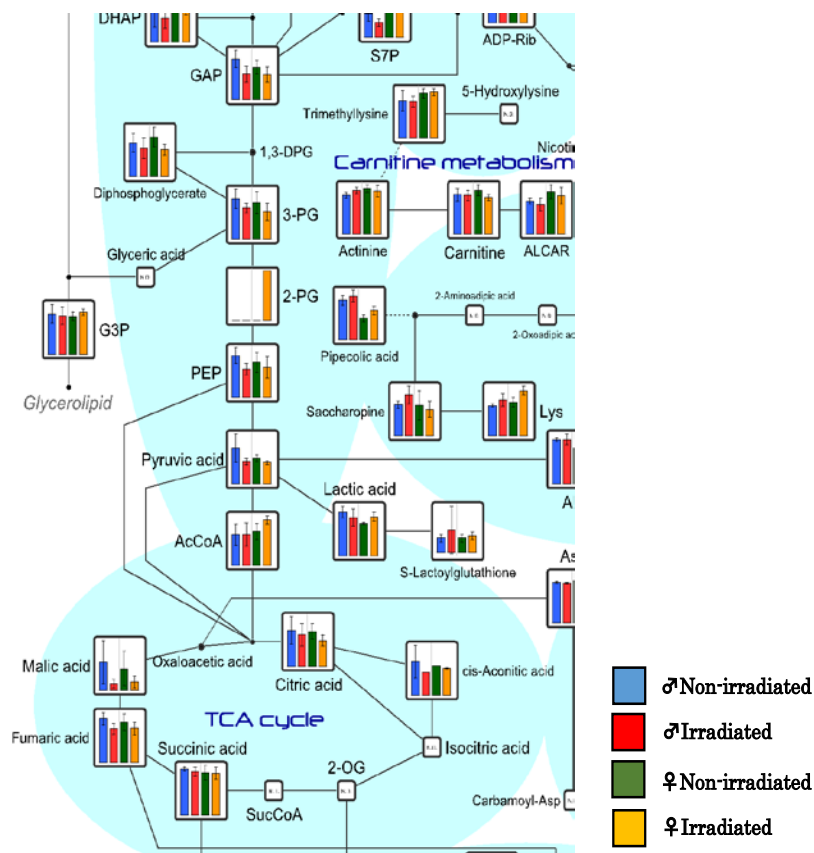


Fig.3. Relative amounts of metabolites illustrated on metabolic pathways (partial)