

2.3.2 線量率の違いによるゲノムへの影響解析

Analysis of Persistence of Radiation-induced Chromosomal Aberrations

香田 淳, 小村 潤一郎

生物影響研究部

Atsushi KOHDA, Jun-ichiro KOMURA

Department of Radiobiology

Abstract

Among various chromosomal aberrations, translocations are considered to persist over time and through multiple cell divisions. However, the results of our previous study, in which we compared the frequencies of translocations in the splenocytes of the mice irradiated with gamma-rays at various dose-rates, suggest that translocations are not necessarily stable over time and that a substantial fraction of them might be lost during the long time of low dose-rate irradiation. In the present study, we have therefore investigated the persistence (or possible non-persistence) of translocations after irradiation with gamma-rays (accumulated dose: 0.5 or 1 Gy) at a low (20 mGy/day), high (726 mGy/min), or intermediate (1.5 mGy/min) dose-rate. We observed the decrease of translocations over time in most of the experiments. The results suggest that translocations, usually known as stable chromosome aberrations, are not completely stable. This may have a large influence on the estimation of the incidence of chromosome aberrations, and hence on the biological dosimetry by chromosome analysis and on the risk estimation of radiation, especially in the range of low dose-rates.

1. 目的

平成 17 年度から 29 年度までの 13 年間にわたる調査により、低線量率から高線量率までの 9 つの線量率での放射線照射によるマウス脾細胞における転座型染色体異常頻度に関する線量効果関係を得た。転座型染色体異常は、いったん生成すると長期間安定に維持されるとされている。しかし得られた線量効果関係の解析から、低～中線量率域では、無視し得ない割合の転座型染色体異常が長期にわたる照射期間中に失われており、この現象が放射線のリスク評価等に影響を与えている可能性が示唆された。そこで、平成 30 年度から 2 年間の計画で、この「安定型」とされる転座型染色体異常の頻度が、照射後どの程度安定に維持されるかを調査することとした。

Fig. 1 は、これまでの調査で得られた、さまざまな線量率での転座型染色体異常頻度に関する線量効果関係を模式化したものである。この図に示されているように、高線量率 (890 mGy/分) では低線量率 (20 mGy/日) に比べ多くの染色体異常が誘発される、す

なわち、明確な線量率効果が認められる。各線量率における線量効果関係は、Linear-Quadratic モデル ($Y = \beta D^2 + \alpha D + C$; Y : 染色体異常頻度、 D : 線量、 C : 8 週齢時の非照射対照の値) で近似できるが、高線量率では、 β の値は大きく (Linear-Quadratic、2 次曲線)、低線量率では、 β はゼロに近い (Linear、直線)。高線量率と低線量率の中間の線量率では、線量率の変化に従って、染色体異常頻度は徐々に変化するが、線量効果関係の形を検討してみると、高線量率 (890 mGy/分) から線量率が低下するに従い Linear-Quadratic から Linear に近いものに推移しており (すなわち、染色体異常誘発率の低下は β の値が徐々に小さくなっていることで説明される)、1.5 mGy/分あたりで、直線になっている (β はゼロに近い) と考えられる。この推移は、同一細胞内に同時に存在する DNA 二本鎖切断の数 (これが多いほど、DNA 修復活性による誤った結合、すなわち転座型染色体異常等が生成される機会が増加すると考えられる) が、線量率の低下とともに減少していることを

反映していると考えられる。1.5 mGy/分から低線量率 (20 mGy/日) にかけて、染色体異常誘発率はさらに低下しているが、この線量率域では、線量効果関係はすべて直線 (β はゼロに近い) と考えられる。したがって、この間の染色体異常誘発率の低下は、式の α の値 (直線の傾き) の低下で説明されるものと考えられる。これが何を反映しているかについては、以下のように推論できる。1000 mGy の総線量を照射するのに、1.5 mGy/分では 11.1 時間、20 mGy/日では 50 日と照射時間が大きく異なっている。転座型染色体異常は、少なくともその一部は放射線照射後長期間安定に存在することから、安定型染色体異常といわれているが、高線量率放射線照射後、生じた全ての転座型染色体異常が長期間安定に存在するわけではないという報告もあることから、この 1.5 mGy/分から 20 mGy/日にかけての染色体異常頻度の低下は、照射によって生じた染色体異常の一部が、低い線量率での長期の照射期間中に時間の経過に従って失われていることを反映しているのではないかと考えられる。

この問題は、低線量率放射線のリスク評価の観点からも非常に重要であることから、染色体異常の経時的安定性 (もしくは不安定性) について明らかにするための実験を、平成 30 年度から 2 年間の計画で行うこととした。本年度は、マウスに対する 3 線量率 (高線量率: 726 mGy/分 [線量効果関係は Linear-Quadratic]、低線量率: 20 mGy/日 [Linear]、および中間の線量率: 1.5 mGy/分 [Linear]) での放射線照射後、非照射条件下で 7~224 日飼育したサンプルについて染色体異常を解析し、昨年度の結果と合わせて取りまとめを行った。

2. 方法

Specific pathogen free (SPF) C3H/HeN Jcl メスマウスを、8 週齢 (53-56 日齢) より γ 線照射した。線量率としては、高線量率: 726 mGy/分 [線量効果関係は Linear-Quadratic]、低線量率: 20 mGy/日 [Linear]、および中間の線量率: 1.5 mGy/分 [Linear] を用いた。総線量としては、500 mGy および 1000 mGy を用いた。照射終了後、マウスを非照射条件下で 0、7、28、

56、112、224 日間飼育した。照射および照射後飼育は、SPF 条件下 (20 mGy/日)、または Conventional 条件下 (726 mGy/分、1.5 mGy/分) で行った。マウスから得た脾細胞を Lipopolysaccharide、Concanavalin A、2-Mercaptoethanol 存在下で 46 時間培養 (最後の 2 時間は Colcemid も添加) 後カルノア固定し、染色体標本作製した。Multiplex-fluorescence in situ hybridization (M-FISH) 法を用いて染色体異常の解析を行った。

3. 成果の概要

本年度は、昨年度サンプリングした 3 線量率の照射終了後 7~224 日後のサンプルについて染色体異常の解析を行った。以下の結果については、昨年度の照射終了直後の結果と合わせて報告する。

まず、照射終了後の染色体異常が経時的に減少するかについて確認するため、不安定型染色体異常である二動原体染色体異常について調べところ、二動原体染色体異常は、全ての線量率で、照射終了後、経時的に減少していくことが観察された。

次に安定型染色体といわれる転座型染色体異常について調べたところ、照射終了後、形成された全ての転座型染色体異常については、20 mGy/日、1000 mGy 照射群以外、経時的な異常頻度の減少が観察された (Fig. 2)。その減少速度は、それぞれの線量率、線量で二動原体染色体異常と比較して、転座型染色体異常のほうが緩やかであった。

今回の解析から、安定型染色体といわれる転座型染色体異常のなかにも経時的に減少する不安定なものがあることが明らかになった。先に述べた比較的低い線量率域における線量率効果、すなわち 1.5 mGy/分の線量率と低線量率 (20 mGy/日) の線量効果関係 (いずれも linear) の傾き α の違いは、このような転座型染色体異常のうちに含まれる不安定なものを経時的な減少が少なくとも原因の一つになっていると考えられる。しかしながら、1000 mGy の照射には、1.5 mGy/分で 11.1 時間と 20 mGy/日で 50 日と照射終了までに約 50 日の違いがあるが、1.5 mGy/分、1000 mGy の照射終了の 112 日後の転座型染色体異常頻度でも、20 mGy/日、1000 mGy

の照射終了直後の異常頻度より高いことから、経時的な減少だけで説明ができるものではなく、さらに他の原因も存在することが示唆される。また、20 mGy/日、1000 mGy 照射群において異常頻度が経時

的に増加しているように思われること、またいくつかの照射群の照射終了後 7 日目の異常頻度が照射直後と比べて増加しているように思われることについては、さらなる検討が必要と考えられる。

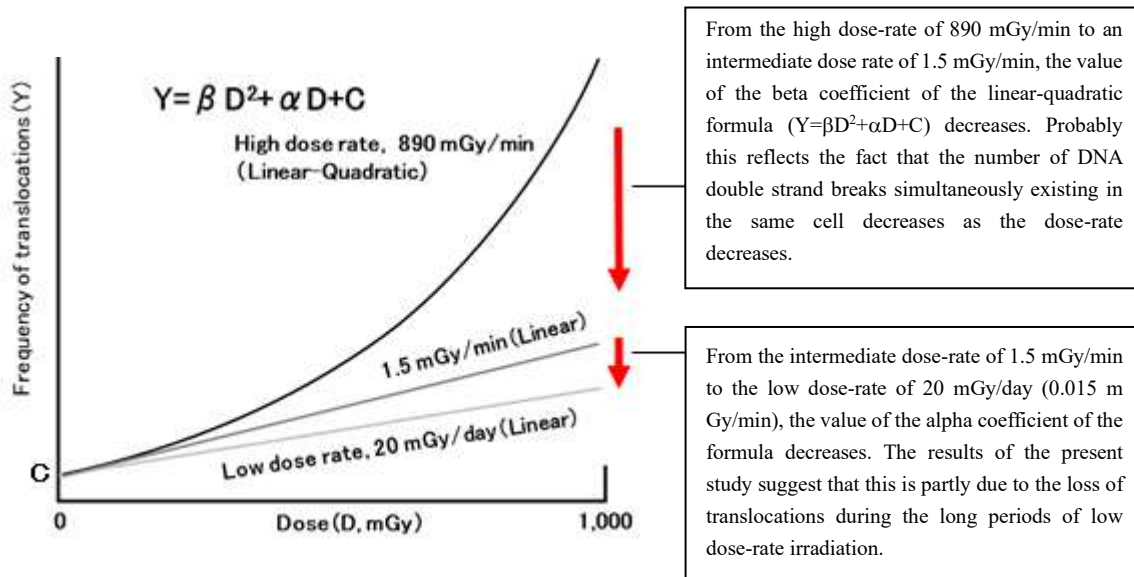


Fig. 1. Transition of the shape of the dose response relationship from “linear-quadratic” to “linear” with the decrease of the dose-rate observed in our previous study

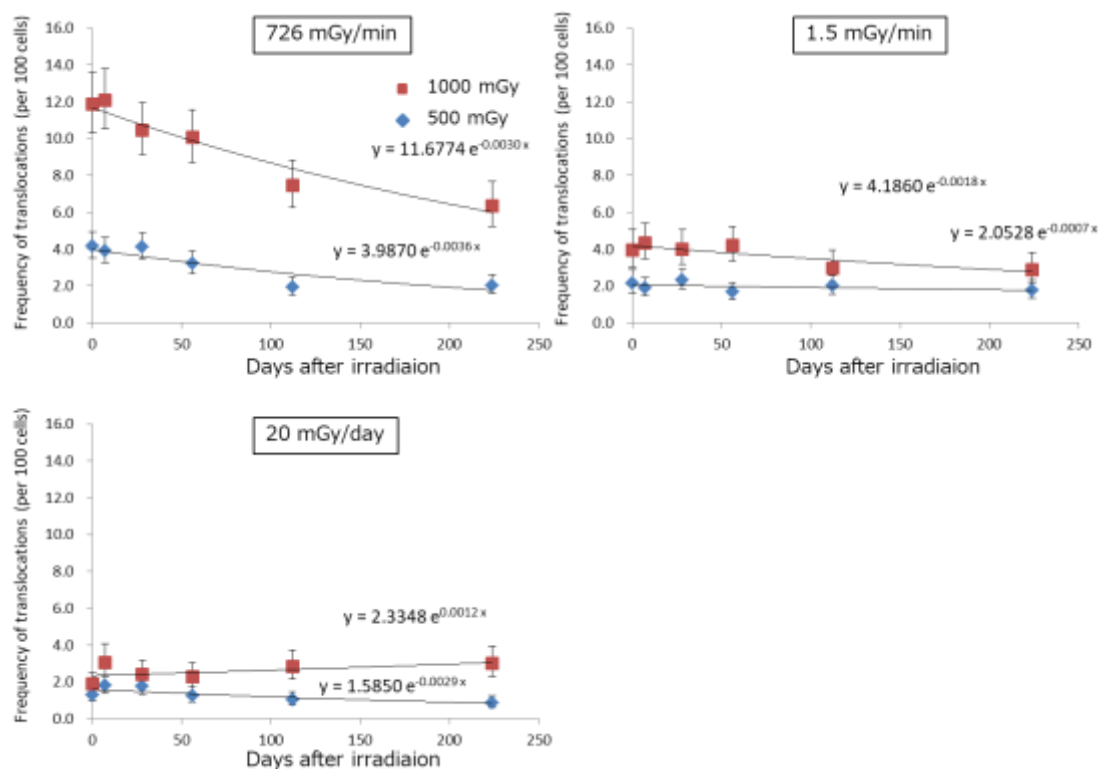


Fig. 2. Decrease in the frequency of translocations over time after irradiation.