

「放射線の生体影響解明への分野横断による挑戦」研究会 報告

LNT 仮説の克服を目指して（生物実験 2）

奈良先端科学技術大学院大学

真木寿治

前のセッションに引き続いて、放射線リスクに関する生物実験の研究について4グループから報告があった。このセッションでは、放射線による発がんや組織・細胞レベルなどでの生物影響の原因となる突然変異やDNA二重鎖切断(DSB)の発生に焦点をあて、最初の2つの報告ではマウス、植物の個体レベルでの突然変異の研究、後半の2つの報告ではヒト培養細胞を用いた細胞レベルでの研究が紹介された。

東海大学医学部の権藤洋一は、マウスの自然突然変異頻度の正確で迅速な測定法の開発について最新の成果を報告した。放射線の生物影響を検討する上で、突然変異頻度が放射線照射によってどのように上昇するかが重要であるが、放射線を全く照射していない生物群の突然変異頻度（自然突然変異頻度）を正確に決定しない限りは低レベルの放射線の影響を議論することは不可能である。しかし、ヒトを含めて多くの生物種での自然突然変異頻度は極めて低頻度であるため、過去のショウジョウバエやマウスの自然突然変異頻度の測定実験では100万匹程度の生物集団を用いた場合でも正確な変異頻度の測定は困難であった。また、実験のための飼育設備や資金が膨大であったことに加えて、交配を多数回繰り返すことによる実験期間の長さも問題であった。これに対して、権藤氏のグループは、全ゲノムDNA配列決定実験を用いることにより、これまで行われてきた可視変異の検出ではなく、全ての突然変異をDNA配列変化として検出するアプローチを取っている。29匹のマウスからスタートして4世代の交配の後に生まれた149匹の個体の全ゲノム配列決定を行って、455の変異を同定した。この実験から得られた自然突然変異率は 5.46×10^{-9} /bp/世代である。ゲノムの大きさ（塩基数）が膨大であることが極低頻度の突然変異発生のゆらぎを統計的に補完して、正確な変異頻度の決定を可能にしたと考えることができる。実験に要した期間はおよそ1年間であるが、今回の研究により、交配の規模

や回数を少なくすることが可能であることも分かったので、さらに短期間での測定でも十分に正確な変異頻度や変異率を得ることができる。これにより、低レベルの放射線や各種の変異原の遺伝的影響を正確に解析することが可能になったと言える。LNTモデルの妥当性、問題点を確度高く検討する上で極めて有力な方法を確立できたものと考えられる。実験用マウスは、発がん実験などの利便性から、変異原による誘発変異が起きやすいものが選抜されて使われてきた。科学実験に耐えうる遺伝的均一性を持たせた野生マウス集団を材料にしての研究も期待される。全ゲノム配列の解析では、これまでは塩基置換変異に絞って研究を行ってきたが、今後は、ゲノム配列データの分析により、染色体異常の発生頻度についても測定する予定とのことである。遺伝的变化に及ぼす低レベル放射線の影響を考える上では、染色体異常の発生頻度の解析も極めて重要であるので、今後の研究の進展が期待される。

前のセッションで報告された九州大学の太田みづきらの研究では、マウスのDNA修復欠損系統、特に変異原性が強い酸化DNA損傷である8-oxoGの修復欠損系統が用いられており、放射線非照射下での高い自然突然変異頻度の解析がなされている。変異頻度の測定や変異解析の手法は異なるが、権藤らのアプローチと組み合わせることにより、DNA損傷の発生頻度とDNA修復が働いた後の変異頻度の比較が可能となり、低レベル放射線を照射した際のDNA損傷の発生とその後の修復プロセス、さらに変異の誘発の全体像を把握することが期待される。これらの詳細で正確なデータは、理論的なアプローチを行なっている研究グループの研究にも大きく役立つものと思われる。マウスを用いた実験系のグループに理論系の研究グループが密接に連携して研究を進めていくことが望まれる。

理化学研究所の阿部知子は、モデル植物のシロイヌナズナ種子に重イオンビームを照射した際に誘発される突然変異についての成果を報告した。まず、Linear energy transfer (LET：線エネルギー付与)の大きさが変異誘発に及ぼす影響を調べ、生存率に影響せず変異誘発が最大になるLETが30 keV/ μ mであることを明らかにし、このレベルで誘発される変異は点突然変異や小さな欠失が大部分を占めることを示した。それに対し、約10倍大きいLETでは生存率の大幅な減少と共に、点突然変異や小さな欠失の割合が減少して大きな欠失と染色体再編が大部分を占めるようになる。LETの違いにより、DNAに対する影響、

特に DNA 損傷の種類や正確が大きく異なることが判明したわけである。以上の結果は、重イオンビーム照射後の可視変異の検出とそれらの原因遺伝子の塩基配列決定により行われたが、可視変異によらず、照射後に種子から発芽した個体の全ゲノム DNA 配列解析でも同様の結論が得られている。重イオンビーム照射は変異誘発効果が大きいため、生物育種の方法としても有効であり、阿部氏のグループでは有用な変異生物体の育種に成功を収めている。放射線の生体影響を考える上では、電離放射線だけでなく重粒子線の作用機序、DNA に与える影響も重要な課題である。また、育種実験は生殖細胞で生じた遺伝的变化を解析するものであることから、権藤らのマウスの交配実験を基盤とした変異解析と組み合わせることにより、低レベル LET および中程度のレベルの LET での DNA に与える影響を更に詳細に検討することが可能となると思われる。

京都大学の小林純也は、ヒト培養細胞に対する低線量率放射線の影響を活性酸素種 (ROS) の産生とミトコンドリアの関与の観点から解析した研究を報告した。まず、ヒト正常繊維芽細胞 48BR に低線量率ガンマ線照射 (1 mGy/min, 総線量 3Gy) を行うと、ミトコンドリア性 ROS が増加し、照射終了後も 1 日間は継続することを見いだした。高線量率照射 (0.9 Gy/min) ではミトコンドリア性 ROS の増加は見られなかった。また、低線量率照射条件では酸化ストレス応答因子の活性化も確認できるので、細胞内で誘発された ROS が核内 DNA にも影響していることが予想される。さらに、ATM キナーゼ阻害剤存在下で低線量率放射線を照射すると、微小核形成の著しい増加が見られたので、低線量率放射線により誘発された ROS が核内で二重鎖切断を引き起こすことが示唆される。これらのことから、低線量率放射線の生物影響は高線量率放射線の影響とは異なるメカニズムによることが考えられ、低レベル放射線の生物影響を考える上でたいへん興味深い。

細胞レベルの研究としては、京都大学の秋山秋梅らのポスター発表の内容も小林らの研究結果と関連が強い。実験材料や方法は大きく異なるが、両者のアプローチを重ねることにより (各種の修復欠損細胞を用いて低レベル放射線の DNA レベルでの影響を調べるなど)、放射線照射と ROS の発生および酸化 DNA 損傷の発生の関係性を明確に議論できる可能性が考えられる。また、九州大学の鷹野典子のポスター発表で報告されたように、8-oxoG 修復欠損マウスを用いた酸化剤

投与での発がん実験とがん組織の変異解析のアプローチも考慮すると、8-osoG 修復欠損マウスに低レベル放射線を連続照射した際の発がん解析なども興味深い研究の方向と思われる。別々の問題意識や問題解決の方向を持つ研究グループ同士が大きな枠組みでの共同作業を行うことで、これまでにない新たな発展が得られることを期待して止まない。

このセッションの最後の報告者である東北大学の鈴木正敏は、福島原発事故によって拡散した不溶性セシウム粒子によるヒト細胞への影響についての研究成果を報告した。ヒト上皮細胞を不溶性セシウム粒子と一緒に培養を始めると、24時間以内に粒子近傍の細胞が細胞分裂を停止する一方、離れた場所では細胞増殖の影響が見られなかった。また、粒子から1 cm 以内の細胞ではDNA 二重鎖切断が誘導され、時間と共にその量が増加・蓄積していくことが分かった。今回の実験を粒子・重イオン輸送モンテカルロ計算コードのPHITS 上で再現し、放射性粒子周辺細胞の吸収線量を評価したところ、粒子から1 cm 離れた場所で予想されたDNA 損傷よりも実際に検出された二重鎖切断の数は多かった。いわゆるバイスタンダー効果の可能性を今後検証する必要がある。