

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 17 日現在

機関番号：85401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24710067

研究課題名(和文)胎児期被ばくマウスに生じる染色体異常の組織による違いの解明

研究課題名(英文)Elucidation of tissue-dependent chromosome aberration frequencies induced by ionizing radiation exposure to the fetus

研究代表者

濱崎 幹也 (HAMASAKI, Kanya)

公益財団法人放射線影響研究所・遺伝学部・研究員

研究者番号：80443597

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：胎児の放射線被ばくに起因する発がんリスクを考察する際の基礎データとして電離放射線に対する胎児の生物応答に関する知見は重要である。本研究では胎児期にX線を照射し、その後成体となったマウス甲状腺や脾臓リンパ球に生じる染色体異常の頻度を調査した。その結果、これまで我々が報告してきたデータと合わせると胎児期被ばくによりマウスに生じる染色体異常の頻度が組織や被ばくする時期によって異なることがわかり、胎児の放射線感受性が複雑であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The data of fetal biological responses to ionizing radiation are essential for discussing the cancer risks following fetal exposure to radiation. In this study, we examined the chromosome aberration frequency in both thyroid and spleen T lymphocytes of adult mice that X ray-irradiated as fetuses. Our previous and current results indicate that the frequencies of chromosome aberration induced by fetal irradiation vary with the differences of tissues and irradiation period. Thus, it is suggested that the fetal radio-sensitivity is complicated.

研究分野：細胞遺伝学

キーワード：放射線 胎児期被ばく 染色体異常 甲状腺上皮細胞 脾臓Tリンパ球 造血幹細胞 遺伝子発現

1. 研究開始当初の背景

(1) ベルゴニエ・トリボンドーの法則や 1950 年代に英国で行われたオックスフォード小児がん疫学調査の結果から、胎児の放射線被ばくによる発がん感受性はかなり高いと認識されてきたが、胎内原爆被爆者疫学調査や動物(胎児)を使用した放射線発がん実験では胎児の発がん感受性はそれほど高くないという結果になっている。それ故に胎児の放射線発がんに対する感受性についての議論はまだ続いている。

(2) 胎児の放射線被ばくに起因する発がんリスクを考察する際の基礎データとして電離放射線に対する胎児の生物応答に関する知見は重要である。我々の研究室ではこれまでに胎内原爆被爆者の母親の末梢血リンパ球では被ばく線量に応じて染色体異常頻度が増加するのに対し、胎内原爆被爆者の末梢血リンパ球では染色体異常がほとんど観察されない、線量反応効果が欠如していることを報告してきた。この現象はマウス造血細胞を使った同様の胎児期被ばく実験でも再現された。一方で、造血組織以外であるラット乳腺細胞を用いた同様の実験では胎児期に被ばくしたラット乳腺細胞に生じた染色体異常の頻度は母親と同程度であったことから、胎児期被ばくにより生じる放射線の影響が組織によって異なる可能性が示唆された。

2. 研究の目的

胎児期被ばくにより生じる染色体異常頻度の組織による違いをより明瞭にするために新たにマウス甲状腺上皮細胞を用い、胎児期被ばくにより生じる染色体異常頻度から被ばくの影響を調べることと、造血細胞において胎児期に被ばくした影響が観察されないその理由を造血幹(前駆)細胞レベルで追究することを本研究の目的とした。

3. 研究の方法

(1) マウス甲状腺上皮細胞の初代培養

B6C3F1 系統マウス雌雄を交配後、妊娠 6.5 日、15.5 日目の雌マウスに X 線を 2Gy 全身照射し、その後生まれたマウスが成体になった時期に炭酸ガス吸入により安楽死させ、甲状腺を摘出した。甲状腺はコラゲナーゼ、ディスペラーゼによる消化、分散後に初代培養を行った。また甲状腺と同時に摘出した脾臓についても T リンパ球分裂促進試薬である PHA を添加して T リンパ球細胞の培養を行った。胎児期に被ばくしたマウスの他、母親マウスや非照射のコントロールマウスについても同様に培養を行った。

(2) 染色体標本の作成、染色体異常の検出と分析

マウス甲状腺、脾臓 T リンパ球細胞とも、染色体解析に必要な分裂中期細胞を多く集めるためにコルセミド処理をした。その後集めた細胞を、低張処理、メタノール:酢酸 = 3 : 1 液による固定後、エアードライ法にてスライドを作成した。その後マウス染色体 1 番を FITC、3 番を Rhodamine に染める FISH 染色を行い、両染色体が関係する染色体異常(転座等の安定型異常)を蛍光顕微鏡下で検出し、集計した。

(3) 胎児、成体マウス由来造血幹(前駆)細胞集団における遺伝子発現の比較

造血組織において胎児、成体マウス由来造血幹(前駆)細胞集団の mRNA における遺伝子発現レベルをリアルタイム PCR で測定、比較した。

4. 研究成果

(1) マウス甲状腺、脾臓 T リンパ球に生じる染色体異常の分析

妊娠 15.5 日目のマウスに 2Gy の X 線を全身照射した実験において、甲状腺上皮細胞に生じる染色体異常の頻度は、胎児期に 2Gy 照射されたマウス(F)群では解析した 1155 細胞中 30 個、以下同様に、2Gy 照射された母親

マウス(M)群では1244細胞中43個、非照射コントロールマウス(C)群では1007細胞中0個の転座を検出した。統計解析の結果、転座頻度はそれぞれF群0.0253、M群0.0336、C群0.001となり、胎児期照射マウスは母親と同程度の影響があることが明らかになった。この結果は我々がこれまで報告したラット乳腺上皮細胞の結果と類似していた。胎内原爆被爆者の末梢血リンパ球や胎児期に照射したマウス造血細胞に生じる染色体異常がほとんど観察されなかった結果とあわせると、胎児期被ばくにより生じる放射線の影響が造血組織と甲状腺や乳腺といった非造血組織との間で異なる可能性が示唆された。また、胎児への照射時期を変えた実験(妊娠6.5日目、器官形成期前)の結果、胎児期照射したマウス甲状腺F群に生じた染色体異常頻度は0.0058(502細胞中3個)となり、15.5日照射(器官形成期後)の結果と比較して有意に低かったことから、マウス甲状腺では器官形成期前後で胎児の放射線感受性が大きく変わることも示唆された。

(2) 胎児、成体マウス由来の造血幹細胞、前駆細胞集団における遺伝子発現の比較
胎児、成体マウス間で造血幹(前駆)細胞集団の放射線感受性を遺伝子発現レベルで調査するために両者の造血細胞において分化抗原陰性(lineage-)細胞集団を磁性ビーズを用いて分取し、抽出したmRNAの遺伝子発現レベルを測定、比較した。DNA修復、細胞周期、アポトーシスに関連した13遺伝子を選び遺伝子発現レベルを両者で比較したところ、ほとんどの遺伝子において成体由来造血幹(前駆)細胞の方が胎児由来の細胞集団よりも遺伝子発現量が約2倍高い結果になった。その中でも抗アポトーシス性タンパク質であるBcl2の発現レベルは10倍以上高かったことから成体マウスに比べ胎児マウスではアポトーシスが起こりやすい傾向に

あることが示唆された。このことが胎児と成体マウス間の造血幹(前駆)細胞における放射線感受性の違いに関連しているかもしれない。ただしこの結果はまだ予備的なデータであるので、今後より詳細な実験を進めていく必要がある。

(3) まとめ

胎児期に照射したマウス甲状腺や脾臓Tリンパ球に生じる染色体異常の頻度を調べた結果、その頻度は組織や被ばくする時期によって変化することがわかり、胎児の放射線感受性が複雑であることが示唆された。今後は複雑な胎児の放射線感受性のメカニズムを組織幹細胞レベルで解明していきたいと考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

Nakano M, Nishimura M, Hamasaki K, Mishima S, Yoshida M, Nakata A, Shimada Y, Noda A, Nakamura N, Kodama Y. Fetal irradiation of rats induces persistent translocations in mammary epithelial cells similar to the level after adult irradiation, but not in hematology cells. Radiation Research、査読有、181(2):172-176, 2014
DOI:10.1667/RR13446.1

中村典、中野美満子、濱崎幹也、大瀧一夫、坂田律、杉山裕美、野田朝男、児玉喜明：胎児は小児よりもリスクが大きいのか？放射線生物研究、査読有、47(3) 272-286、2012

[学会発表](計6件)

Hamasaki K, Landes RD, Noda A, Nakamura N, Kodama Y: Translocation frequencies in mouse thyroid cells vary with fetal stage at the time of irradiation, the 15th International Congress of

Radiation Research, 2015/5/25-29, Kyoto
International Conference Center, Kyoto,
Japan

濱崎幹也、野田朝男、中村典、児玉喜明：
マウス胎仔被ばくにより脾臓リンパ球や甲
状腺に生じる染色体異常頻度と被ばく時期
との関係、日本放射線影響学会第57回大会、
2014年10月1-3日、かごしま県民交流セン
ター、鹿児島

濱崎幹也、野田朝男、中村典、児玉喜明：
胎仔期にX線照射したマウス甲状腺細胞に生
じる染色体異常の調査、染色体学会第64回
大会、2013年11月8-10日、富山大学五福
キャンパス黒田講堂、富山

Hamasaki K, Noda A, Nakamura N,
Kodama Y: Chromosome aberration
frequency induced by fetal irradiation does
not show the same pattern among the
tissues, the 59th Annual Meeting of the
Radiation Research Society, 2013/9/15-19,
New Orleans, Louisiana, USA

濱崎幹也、野田朝男、中村典、児玉喜明：
胎児期に被ばくしたマウスに生じる染色体
異常は組織によって異なる、日本放射線影響
学会第55回大会、2012年9月6-8日、東北
大学川内北キャンパス、仙台

濱崎幹也、野田朝男、中村典、児玉喜明：
胎児期に被ばくしたマウス甲状腺に生じる
染色体異常の観察、中国地区放射線影響研究
会第37回大会、2012年7月27日、放射線
影響研究所、広島

〔その他〕
ホームページ等
公益財団法人 放射線影響研究所 細胞遺
伝学調査 研究計画書 6-11
<http://www.rerf.or.jp/programs/rparchiv>

/rp06-11.htm

6. 研究組織

(1) 研究代表者

濱崎 幹也 (HAMASAKI, Kanya)
公益財団法人放射線影響研究所・遺伝学
部・研究員
研究者番号：80443597