

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 4 月 28 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460694

研究課題名(和文) 低線量被ばくにおける染色体解析を用いた生物学的線量評価方法の確立

研究課題名(英文) Establishment of biological dose assessment method using the chromosome analysis in low-dose radiation exposure.

研究代表者

坂井 晃 (Sakai, Akira)

福島県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：70284221

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：100 mSv以下の低線量被ばくによる染色体への影響をGiemsa染色法とCentromer-FISH法の2種類を用いて解析し比較検討したところ、前者では2,000個以上、後者では1,000個以上の分裂細胞の解析が必要であることが判明した。さらに1回のCT検査による二動原体染色体(DIC)と転座型染色体の形成数について解析を行い、1回のCT検査による被ばく線量(100 mSv以下)でもDICが有意に増加することを見出した。一方で転座型染色体では有意な増加は認めなかった。これは、転座型染色体では年齢や喫煙、疾患に対する過去の治療などの交絡因子が影響していることが推測された。

研究成果の概要(英文)：We performed dicentric chromosome assays (DCAs) and translocation analyses (chromosome painting) before and after a CT scan to assess effects of low-dose ionizing radiation on chromosomes. DCA was performed by analyzing either 1,000 or 2,000 metaphases using both Giemsa staining and centromere-fluorescence in situ hybridization (Centromere-FISH). Translocation analysis was performed by analyzing 2,000 cell equivalents. DIC formation increased significantly after a CT scanning. A good correlation was observed between the increment of DIC formation after a CT scan determined by analysis of 1,000 metaphases and those by 2,000 metaphases using Centromere-FISH, and between the increment of DIC formation determined by analysis of 2,000 metaphases using Giemsa staining and those by 2,000 metaphases using Centromere-FISH. In contrast to the results of DIC formation, the frequency of translocations detected before and after the CT scan did not differ significantly.

研究分野：放射線生物学

キーワード：低線量被ばく 二動原体染色体 転座型染色体 医療被ばく CT検査

1. 研究開始当初の背景

これまでは 100mSv 以下の低線量被ばくによる生物学的な変化を見出す方法がなかったが(ICRP Publication 111)、リンパ球における二動原体染色体を解析することで被ばく線量を推計可能となってきた(Iwasaki T, Radiation Res, 2011)。また海外の自然放射線量の高い地域における染色体解析もこの方法で行われている(Jiang T, J Radiat Res, 2000; Vivek PR, Radiation Res, 2012)。また従来の染色体分染法に比べ、FISH 法を用いたイメージングシステムにより 1 日当たりの解析数が大幅に向上している (Shi L, Radiation Res, 2012)。

2. 研究の目的

本研究は福島原発事故による被災住民の低線量被ばくの人体への影響を調査するため、二動原体染色体 (dicentric chromosome : DIC) 解析 (dicentric chromosome assay : DCA) と転座型染色体解析を用いた染色体解析による生物学的線量評価方法の確立を目的とする。

3. 研究の方法

- (1) CT 検査前後での Giemsa 法と FISH 法による二動原体染色体と転座型染色体の形成数の解析
- (2) CT 検査時にコンピュータ解析ソフトによる実効被ばく線量の推計

4. 研究成果

1. 医療被ばく(CT 検査)による生体影響に関する発見

研究成果のポイント

1. 1 回の CT 検査 (5.78 mSv ~ 60.27 mSv) によって染色体異常が誘発されている可能性が示唆された。
2. 100 mSv 未満の放射線被ばくにおいても二動原体染色体解析による線量評価が可能であることを示した。特に従来のギムザ染色による手法に比べ FISH 法で効率的な解析が可能であることが示めされた。

研究の背景

近年、大規模な疫学研究の結果、小児期の CT 検査によって生涯のがんリスクが上がる可能性が示唆されています(Lancet, 2012; BMJ, 2013)。しかし、これらの研究では対象者が CT 検査を受けた理由が明確でなく、また CT 検査前後での染色体解析は行われていません。

現在の生物学的線量評価は、二動原体染色

体法 (dicentric chromosome assay; DCA) が世界的に推奨されています(図 1)。この方法は放射線被ばく線量に応じて、形成量が増加する染色体異常の二動原体染色体 (dicentric chromosome: DIC) の数をカウントし被ばく線量を推定する方法で、適応範囲は吸収線量で 100 mGy ~ 5 Gy 程度とされています。100 mGy 未満の低線量被ばくについては、評価可能とする報告がいくつかありますが、更なる検討データの追加が必要とされています。

そこで我々は CT 検査による被ばく (数 mGy ~ 数十 mGy 程度) を受けた患者の同意を得て染色体解析を行い、CT 検査による生体への影響解明および低線量被ばくにおける DCA 法の条件検討を行いました。

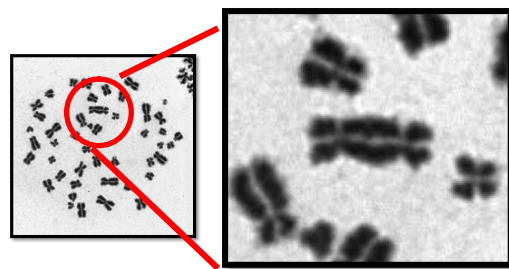
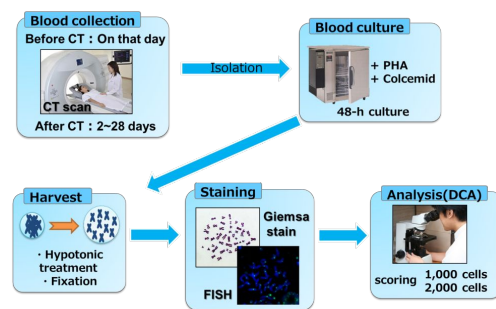


図 1: 核板中の二動原体染色体と染色体断片 (左)および二動原体染色体の拡大図(右)

研究内容と成果

図 2: 本研究の流れ(概要)



本研究では、インフォームド・コンセントを得た成人患者の CT 前後における末梢血リンパ球から染色体標本作製し、ギムザ染色および fluorescence *in situ* hybridization (FISH) 法による二動原体染色体解析を 2,000 細胞に至るまで解析を行いました。CT 検査による推定線量の産出には、放射線医学総合研究所の Web 上で公開されている CT 線量計算システム「WAZA-ARI」を用いました。

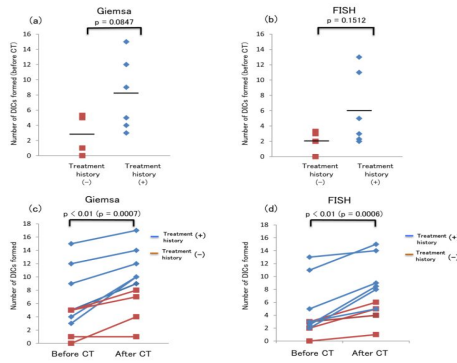


図3: 過去の治療歴の有無による比較[ギムザ染色(a); FISH法(b)]およびCT前後における染色体異常頻度の変化[ギムザ染色(c); FISH法(d)]

CT検査前のDICの形成数を、過去に化学療法または放射線治療を受けたことがあるグループと治療を受けたことがないグループで比較したところ、治療歴があるグループでDICの形成数の増加傾向はあるものの、有意差は認められませんでした(図3-a,b)。特筆すべきは、ギムザ染色およびFISH法ともにほぼ全ての患者において、1回のCT検査後にDIC形成数の有意な増加が認められました(図3-c,d)。これらの結果から、CT検査により染色体異常が誘発されることが示唆されました。また今回の解析対象者では過去の化学療法または放射線治療に起因すると考えられるCT検査前の二動原体染色体形成数の増加傾向はあったものの、CT検査時の二動原体染色体形成に及ぼす影響は確認できませんでした。

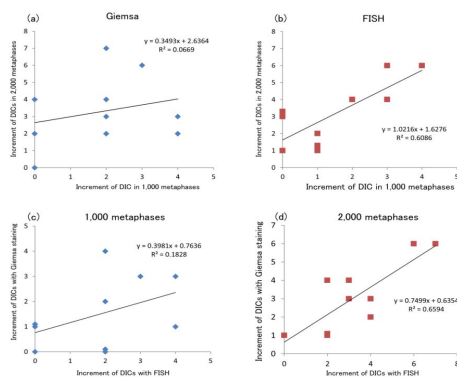


図4: 染色法の違いによる解析細胞数の影響[ギムザ染色(a); FISH法(b)]および解析細胞数の違いによるDCA結果の比較[1,000細胞解析時(c); 2,000細胞解析時(d)]

また、低線量被ばくにおけるDCA法の解析

条件の検討も行いました。通常の線量評価では1,000細胞の解析で被ばく線量の推定を行います。低線量被ばく時の解析では、解析細胞数を増やすことで検出限界を上げる必要があります。今回の検討条件ではFISH法で、1,000細胞および2,000細胞の解析結果が相関し、低線量域の被ばく線量評価においてFISH法が効率的な評価方法である可能性が示唆されました(図4-b)。またギムザ染色でも2,000細胞まで解析を行うとFISH法の解析結果と相関を示しましたが、1,000細胞の解析では解析結果にばらつきが見られました。その他、2,000細胞解析時のDCAの推定線量とWAZA-ARIによる推定線量の比較を行いました。相関は認められませんでした(図5)。

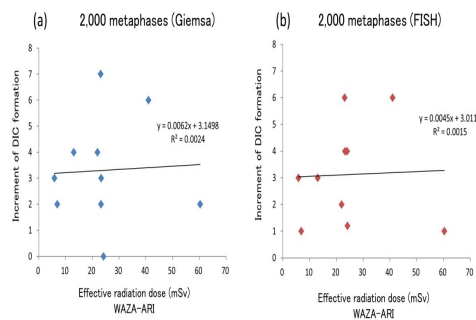


図5: DCAとWAZA-ARIによる推定実効線量の比較[ギムザ染色(a); FISH法(b)]

以上の結果から、DCAによる線量評価はCT検査の線量範囲(数mGy~数十mGy)において染色体異常の検出は可能ですが、DIC形成数の増加量と被ばく線量計算システムによる推定実効線量の間には相関が認められないことが判明しました。

社会的意義と今後の展開

本研究で1回のCT検査により染色体異常が誘発されている可能性が示唆されました。しかしながら、今回の観察対象である二動原体染色体形成数の増加は、がんや血液腫瘍などの発生に直接関係するものではありません。今回、本研究で解析対象とした二動原体染色体は不安定型の染色体異常であり、この染色体を持つ細胞は生体内では長期間生存できません。一方で安定型の染色体異常である染色体転座を持つ細胞は長期間生存します。二動原体染色体と転座型染色体は同頻度で起こると言われており、多くのがんや血液腫瘍で特有の転座型染色体が確認されていることから、転座型染色体の観察は二動原体染色体よりも放射線被ばくによる発がんを考える上で非常に重要と言えます。転座型染色体の解析は現在進行中であり、解析

結果をまとめているところです。

また、今回の解析結果から低線量被ばくにおいても DCA による検出は可能であることが示唆されました。しかしながら今回の解析条件では低線量被ばくにおける DCA の実用には問題点が多いことが分かっています。1 検体あたりの解析細胞数の増加や低線量域の定量評価に対応した新たな検量線の作製など、低線量被ばくにおける線量評価の適応条件や効率的な解析方法の検討などを進めていく必要があります。

2. 医療被ばく(CT 検査)による染色体転座形成に関する発見

研究成果のポイント

1. 二動原体染色体の解析の結果とは異なり、1 回の CT 検査 (5.78 mSv ~ 60.27 mSv) による染色体転座の有意な増加は認められなかった。
2. 染色体転座は交絡因子の影響を受けやすく、年齢や喫煙等によっても転座形成が増加する上、染色体転座が生体内に残存する期間は数十年以上と言われており、短期間かつ急性的な被ばく影響の解析には適していないことが示された。

研究の背景

我々は先行研究で医療被ばく(CT 検査)による生体影響の解析を行い、1 回の CT 検査 (5.78 mSv ~ 60.27 mSv) によって二動原体染色体 (dicentric chromosome: DIC) の形成数が増加することを報告しました。(Scientific Reports 2015 年 9 月 9 日号/HP のリンク名を参照)

放射線によるヒトの細胞へのダメージには DIC だけでなく 2 本の染色体の一部が相互に入れ替わる染色体転座も見られることが分かっており、その出現頻度は同程度であると言われています。ヒトの死因の大半を占めるがんの一部ではがん特有の染色体転座が見られ、確定診断にも用いられています。そのため、放射線によって誘発された染色体転座はがんや血液腫瘍等の発生に関与しているのではないかと考えられています。

そこで我々は先行研究で DIC 解析を行った患者の染色体転座解析を行い、CT 検査による生体への影響解明および低線量被ばくにおける染色体転座解析の条件検討を行いました。

研究内容と成果

DIC 解析時に作製した染色体標本を用いて染色体転座の解析を行った。(染色体標本作製までの流れについては HP のリンク

名を参照)転座解析では染色体 1 番(赤)、2 番(緑)、4 番(黄色)の 3 組に特異的な蛍光プローブを使用し、補正式を用いて解析細胞数あたりの転座頻度を算出した。



図 1：染色体転座解析の核板像
左：正常な核板 中央：one way 転座
右：two way 転座

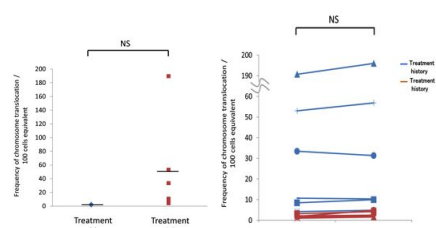


図 2: 過去の治療歴の有無による比較 (左) および 図 3: CT 前後における染色体転座頻度の変化 (右)

CT 検査前の染色体転座形成数を、過去に化学療法または放射線治療を受けたことがあるグループと治療を受けたことがないグループで比較したところ、治療歴があるグループで染色体の形成数の増加傾向はあるものの、有意差は認められませんでした(図 2)。過去に放射線治療・化学療法の両治療を行ったことのある患者は、他の患者に比べて染色体転座が非常に多く観察されました。また、CT 前後での染色体転座形成数の変化は DIC 解析に比べて、形成数の増加傾向が見られたものの CT 前後での有意差は認められませんでした。

社会的意義と今後の展開

今回、本研究で解析対象とした安定型の染色体異常である染色体転座を持つ細胞は長期間生存します。多くのがんや血液腫瘍で特有の転座型染色体が確認されていることから、転座型染色体の観察は放射線被ばくによる発がんを考える上で非常に重要であると言えます。放射線によって誘発された染色体異常のがんや血液腫瘍等の発生との関係についてはまだ解明されていませんが、今回の研究結果では CT 検査前後での染色体転座頻度の有意な増加は認められず、発がんに寄与する割合は小さいものではな

いかと考えられます。

染色体転座は DIC に比べて放射線特異性が低く、特に成人の場合は喫煙や加齢、さらには医療被ばくなど多くの交絡因子によっても増加することが知られています。今回の解析結果も CT 検査によって誘発された転座の増加よりも交絡因子による影響の方が強かったのではないかと考えられます。また、この点は染色体転座を用いた放射線被ばく評価の難しさを示唆しています。しかし DIC を対象とした解析では1ヶ月を超えると DIC 数が減少し始め正確な線量評価が難しくなることから、長期に亘る線量評価には転座解析を用いる必要があり、交絡因子の影響評価の手法について検討が求められています。

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)

1. Abe Y, Miura T, Yoshida MA, Ujiiie R, Kurosu Y, Kato N, Katafuchi A, Tsuyama N, Ohba T, Inamasu T, Shishido F, Noji H, Ogawa K, Yokouchi H, Kanazawa K, Ishida T, Muto S, Ohsugi J, Suzuki H, Ishikawa T, Kamiya K, Sakai A. Increase in dicentric chromosome formation after a single CT scan in adults. Scientific Reports. 5:13882 DOI:10.1038/srep 13882, 2015 Sep 9.
2. Abe Y, Miura T, Yoshida MA, Ujiiie R, Kurosu Y, Kato N, Katafuchi A, Tsuyama N, Kawamura F, Ohba T, Inamasu T, Shishido F, Noji H, Ogawa K, Yokouchi H, Kanazawa K, Ishida T, Muto S, Ohsugi J, Suzuki H, Ishikawa T, Kamiya K, Sakai A. Analysis of chromosome translocation frequency after a single CT scan in adult. Journal of Radiation Research. pp.1-7 doi:10.1093/jrr/rrv090, 2016.

〔学会発表〕(計 2 件)

1. Abe Y, Ujiiie R, Kurosu Y, Katafuchi A, Tsuyama N, Ohba T, Shishido F, Noji H, Ogawa K, Kanazawa K, Yokouchi H, Ishida T, Ohsugi J, Suzuki H, Yoshida M, Kamiya K, Sakai A: Analysis of dicentric chromosomes induced by CT examination. The 57th Annual Meeting of the Japan Radiation Research Society, Kagoshima, 2014.10.1.
2. Abe Y, Miura T, Yoshida M, Ujiiie R, Kurosu Y, Kato N, Katafuchi A, Tsuyama N, Ohba T, Inamasu T, Shishido F, Noji H, Ogawa K, Yokouchi H, Kanazawa K,

Ishida T, Ohsugi J, Suzuki H, Ishikawa T, Kamiya K, Sakai A. Analyses of dicentric chromosome formation and chromosomal translocation after a single CT scan in adults. 15th International Congress of Radiation Research, Kyoto, Japan. May 28, 2015.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

1. 低線量域における被ばく線量モニター開発
<http://www.fmu.ac.jp/cms/rls/post-5.html>
2. 医療被ばくによる染色体への影響解析
<http://www.fmu.ac.jp/cms/rls/iryohibaku.html>

6. 研究組織

- (1)研究代表者 坂井 晃 (SAKAI, Akira)
福島県立医科大学・放射線生命科学講座・教授
研究者番号：70284221
 - (2)研究分担者
片淵 淳 (KATAFUCHI, Atsushi)
福島県立医科大学・放射線生命科学講座・助教
研究者番号：40634910
- 小川一英 (OGAWA, Kazuei)
福島県立医科大学・循環器血液内科・教授
研究者番号：40423800

吉田光明 (YOSHIDA, Mitsuaki)
弘前大学・被ばく医療総合研究所・教授
研究者番号：60182789

(3)連携研究者：該当なし