



講座 トリチウム生物影響研究の動向

2. トリチウムの生体影響評価

馬田敏幸¹⁾, 笹谷めぐみ²⁾, 立花 章³⁾

¹⁾産業医科大学アイソトープ研究センター, ²⁾広島大学原爆放射線医科学研究所, ³⁾茨城大学理学部

(原稿受付: 2012年1月6日)

放射線の個体への影響について, 人の疫学調査で得られた知見を一般的な観点から述べ, マウス個体を使ったトリチウム水による高線量・高線量率の研究により, 何がわかっているのか明確にする. そして低線量・低線量率の放射線被ばくによる生物影響を感知する実験系をトリチウム生体影響研究に応用した研究や, 必要とされている新しい高感度検出系の開発について概説する.

Keywords:

low dose, low dose rate, sensitive assay, gpt-delta mouse, p53, translesion DNA synthesis, rev1

2.1 放射線の個体への影響

放射線の生物個体への影響は, 遺伝物質である DNA に損傷が生じることが引き金になっている. 通常, 生物はこのような DNA 損傷を修復しているが, 被ばく線量が多くなると損傷量も多くなるため修復が充分に行えず, 細胞死や突然変異が生じる. どの程度の数の DNA 損傷が生じ, そのうちのどれだけが修復されているかが, 生物影響を考える際の重要な要因となる.

放射線の生物影響にはいくつかの異なる視点に立った分類が可能である (図1). 影響が発症する時期に着目した場合の放射線影響は, 被ばく直後から数ヶ月以内に現れる急性影響と, 数年から数十年後になって現れる晩発影響に大別される.

2.1.1 急性影響

急性影響は比較的高線量の放射線を被ばくしたときに現れる影響であり, 一定数以上の細胞が死ぬことにより生じるものである. 急性影響は, 被ばく線量に応じて現れる症状や時期が大きく異なる. 頭痛, 嘔吐, 発熱などが最初に現れる代表的な症状であるが, これら前駆症状はいずれも一過性のものであり, 原則的には回復する. 例えば, 嘔吐は被ばく後1~2時間後から1~2日間続くが, 1 Gy 以下では通常現れない. その後1週間ほどは自覚症状がほとん

どないが, それ以後数週間の中に, 出血, 感染, 貧血, 下痢, 下血, 皮膚障害などの放射線障害特有の症状が現れる. 致死線量を浴びたときの死亡は, 通常この時期に起こる. なお, ヒトの50%致死線量は約4 Gy と推定されている.

2.1.2 晩発影響

急性影響を克服した場合にはいったん全身症状は安定化するが, その後晩発影響が生じる. 晩発影響の代表例は発がんであるが, その他に白内障, 精神遅滞, 成長遅滞, および遺伝的影響などがある.

白内障は眼の水晶体に混濁が形成されるもので, 放射線誘発白内障は発生部位の違いにより老人性白内障と区別される. 白内障の重症度および潜伏期は線量に依存し, しきい線量 (threshold dose) を有する. 1回照射により, 水晶体に検知可能な白濁を生じる最低線量は約0.5~2 Sv, 臨床的に問題となる白内障が認められるのは5 Sv以上とされている. また, 原爆で胎内被曝した子どもには, 小頭症の発症や精神遅滞, IQ 低下が見られている. 重度精神遅滞にはしきい線量があり, 0.12~0.23 Gy の間にあるとされている [1].

個体の影響として最も大きな問題は発がんである. 放射線により生じた DNA 損傷を正確に修復できずに, 誤った修復をすることにより, 突然変異が生じることががん化の最初のステップであると考えられている. 発がんは多数の遺伝子変化が段階的に生じることによって起こると考えられているが, こうした変化はまれな事象であるため, 最終的に発がんの段階に至るまでに長時間を要すると考えられている. 発がんは, 後述する遺伝的影響とともに確率的影響に分類され, しきい線量がないとされている. これは次に述べる突然変異にしきい線量がないため, 突然変異の蓄積による発がんにもしきい線量がないと考えられるためである. 図2には原爆被爆者を対象とした疫学研究の結果を示すが, 低線量域でもほぼ直線的に発がん頻度が低下する

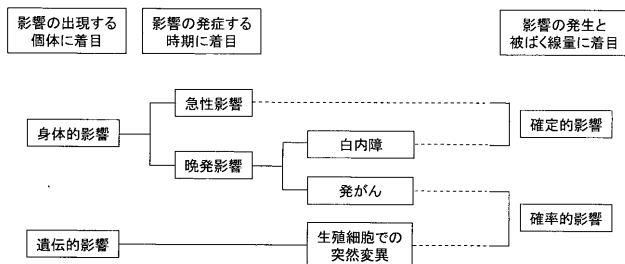


図1 放射線影響の分類.

2. Assessment Study on Biological Effects of Tritium

UMATA Toshiyuki, SASATANI Megumi and TACHIBANA Akira

corresponding author's e-mail: umata@med.uoeh-u.ac.jp

ものとされている[2]。しかし、0.1 Sv 以下の低線量あるいは低線量率での放射線発がんの有無については研究者の間で見解が異なっており、明確な結論は得られていない。今後この点についてさらに詳細な研究が必要である。

2.1.3 突然変異

突然変異として、最も検出しやすいのは染色体異常である。染色体異常は放射線被ばく後早期に見つかる放射線影響の一つであるが、原爆被爆者では被爆後20年以上経過しても染色体異常が観察されている[3]。一般に、ヒトリンパ球の染色体異常頻度 Y と線量 D との間には次の経験式が成り立つ。

$$Y = a + bD + cD^2$$

この式からも明らかなように、染色体異常は線量に応じて上昇し、しきい線量はないとされている。ヒトにおける被ばく線量を推定する生物学的線量計として、染色体異常は最も信頼されているものである。

2.1.4 生殖細胞での突然変異：遺伝的影響

生物個体を構成している体細胞に突然変異が生じると発がんにつながるが、生殖細胞に生じた突然変異は次世代以降にその影響を及ぼす。Russellらは、約百万匹のマウスを用いて、放射線被ばくした親から生まれた仔にどのような突然変異の影響があるかを調べた[4]。図3はオスの精原細胞（精子を作る元になる幹細胞）が線量 D （以前のデータであるので単位は R （レントゲン）で表示）を被ばくしたときに、仔に生じた突然変異頻度 Y を示している。黒丸は線量率が高い場合（90 R/min）、白丸は線量率が低い場合（0.001~0.8 R/min、多くの場合は約0.008 R/min）である。この結果から、突然変異頻度 Y と線量 D （ R ）の間には次の関係が成り立つ。

$$Y_{\text{acute}} = 8.10 \times 10^{-6} + 2.19 \times 10^{-7}D$$

$$Y_{\text{chronic}} = 8.10 \times 10^{-6} + 7.32 \times 10^{-8}D$$

このように線量率を下げると突然変異誘発効率が低下した。また、突然変異頻度は線量に応じて上昇しているため、遺伝的影響にしきい線量は存在しないとされている。ヒトでは、原爆被爆者での膨大な調査の結果、遺伝的影響に関して有意な差は見出されていない。チェルノブイリ事故の被ばく者の子どもにゲノムDNAの配列の変異が増加しているという報告があるが、広島の子どもの子どもでは増加していない[5]。

2.1.5 確率的影響と確定的影響

放射線の生物影響は、しきい線量の有無によって分類されることが多い。しきい線量が存在しない影響を確率的影響といい、線量に依存して確率的に発生するもので、発がんや遺伝的影響が含まれる。他方、しきい線量を有するのが確定的影響で、影響の重篤度が線量に依存する。白内障や不妊、白血球減少、出血など、発がんや遺伝的影響以外の生物影響がこれに含まれる。しきい線量は出現する影響によって異なるが、いずれも100~150 mSv以上の値である。

放射線防護の点から言えば、確定的影響を防ぐにはしき

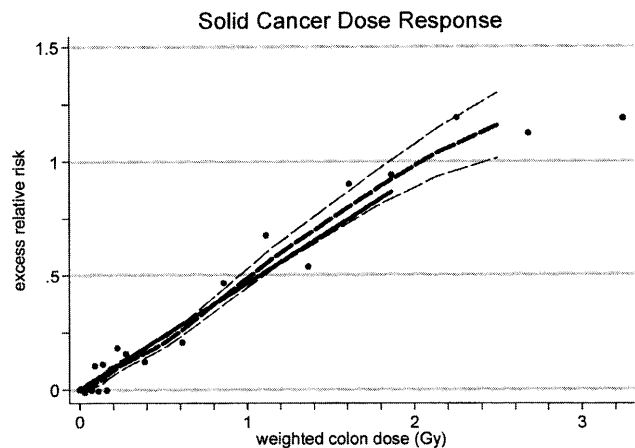


図2 原爆被ばく者集団における固形がん発生の過剰相対リスク（文献[2]）。

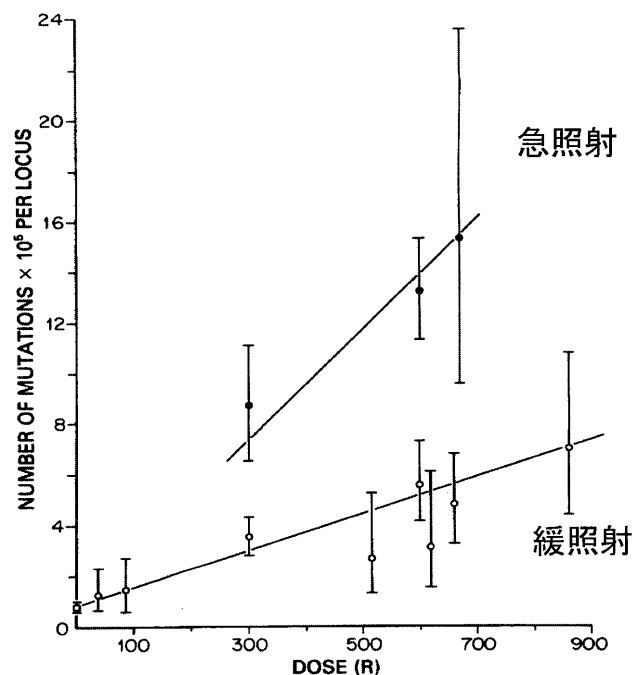


図3 マウス精原細胞での放射線誘発突然変異出現頻度（文献[4]）。

い線量よりも低い被ばく線量にすればよい。したがって、防護に関してはしきい線量のない確率的影響、ことに発がんが問題となる。

2.1.6 線量率

図3に示したように、一般的に線量率が高い方がより大きな生物効果を生じ、同じ線量であっても線量率が低い方が生物影響は小さくなる。これは線量率が低い方が、DNAに損傷を受ける時間間隔が長くなるため、その間に損傷修復がおこなわれるためと考えられている。低線量・低線量率の被ばくの方が高線量・高線量率の被ばくに比べて生物学的効果が低いことを考慮する数値が線量・線量率効果計数（DDREF）であり、国際放射線防護委員会（ICRF）は1990年勧告で、放射線防護の一般的目的にDDREF = 2を適用するよう決めている。

2.1.7 外部被ばくと内部被ばく

福島第一原子力発電所の事故後、放射線被ばくは社会的関心事となり、特に内部被ばくについては大きな注目を浴びている。外部被ばくは個体の外にある線源からの放射線

を生物体を受けることによる被ばくであるが、内部被ばくは放射性物質が体内に入って放射線を放出することによるものであり、外部被ばくとは異なる特徴を持ち、またその線量評価法が複雑であるため、理解が困難なところがある。

生体影響に関しては、内部被ばくの影響は線量が同じであれば、外部被ばくと比較して同程度であることが示されている。したがって、現在のところ、内部被ばくの方が外部被ばくよりも危険であるとする根拠はない。ここではこれ以上詳しく述べる余裕がないので、詳しくは引用文献を参照されたい[6]。

2.2 トリチウムの個体への影響研究

初期のトリチウム生体影響研究ではトリチウム水が実験動物に投与され、高線量・高線量率でのトリチウム β 線の影響が調べられ、多くのことが明らかにされた。ここではおもにマウスを使った実験から得られた知見を述べる。

2.2.1 トリチウムの代謝

トリチウムはトリチウムガス(HT)、トリチウム水(HTO)およびトリチウム有機化合物(OBT)の状態が存在する。しかしHTは容易に酸化されてHTOになるので、HTOが環境放射能として重要である。したがって、トリチウムの生体への影響を考えると水の代謝が大変重要となる。

トリチウム β 線の最大エネルギーは18.6 keVと小さく、生体組織中での平均飛程は0.56 μm であり最大飛程は約6 μm である。生体を構成する細胞は直径が約30 μm であるから、トリチウムが生体外にある場合には、 β 線は1個の細胞を通過することがない。したがって、トリチウムによる生体への被ばくに関しては内部被ばくのみを考慮すればよい。また前述のように、その生物影響は同一線量の外部被ばくと同等と考えられる。

妊娠125日の母親マウスの腹腔内にHTOを1回投与し、新生仔をHTOの投与されていない母親マウスのミルクで育てたときの体内残留トリチウムの実効半減期は、脾臓、肝臓、小腸、胃、胸腺、肺、腎臓、心臓および脳では2.5-2.9日であった[7]。また8週齢のマウスにHTOの腹腔内1回投与を行い、その後約80日にわたり尿中のトリチウム濃度を測定した結果、2.8日と14.1日の2つの半減期が出現した[8]。HTOとOBTの半減期である。この時、利尿剤を使用すると半減期はそれぞれ1.36日と14.4日になったことから、利尿剤でHTOの半減期は半分になった。人体においてはいったん事故等でHTOを体内に取り込んでしまった時、被ばく線量を軽減するためには如何に速やかに体内から排出するかにかかっているが、利尿剤はたいへん有効であることがわかった。

2.2.2 トリチウムの線量評価

動物実験を行うにあたり、吸収線量の正確な推定を行うことは重要である。Tsuchiyaらはマウスの腹腔内にHTOを1回投与して、臓器をサンプルオキシダイザーで燃焼し得られたトリチウム濃度を用いて、各臓器の吸収線量を算出している[9]。表1に示すように脾臓と腎臓は血液とほとんど同じ値を示し、肝臓、胸腺、卵巣、筋肉は血液に比べて94-69%と低い値を示した。それに対して、骨髄は大

骨で約170%、頸骨で約130%と血液より高い値を示した。一方、Dobsonらは、血液のトリチウム濃度から線量を推定しているが、HTOによる組織の吸収線量を求める場合には、各組織についての沈着量を測定した上で算出することが極めて重要であることを示唆している[10]。また、HTOを飲料水として与えた場合と腹腔内投与した場合とで赤色骨髄の集積線量を比較した結果、飲料水のHTOによる赤色骨髄の集積線量は尿や血中濃度から見積もった線量よりも低かったが、肝臓や精巣のそれよりも多くなった[11]。このように被ばく量を評価するためには細心の注意が必要である。

2.2.3 脳・神経への影響

Gaoらはマウスでは最も放射線の影響を受けやすい妊娠125日[12,13]の母親マウスにHTOを接種して、胎仔期に0.036, 0.071, 0.213 Gyを被ばくさせ、生まれた仔マウスの反射神経等を調べた[14]。仔マウスの体重、脳の重量、開眼などの発生の状況、種々の反射作用の獲得時期、熱感知などの感覚機能、行動、協調機能、学習、記憶および海馬の紡錘神経細胞の密度が調べられている。0.213 Gy以上で脳重量の重篤な減少を示し、また海馬のCA1とCA3領域においては0.071 Gyで紡錘神経細胞の密度低下が見られ、学習と記憶に障害が生じた。Wangらは胎仔期にトリチウム β 線で0, 0.05, 0.1, 0.3 Gyを被ばくして生まれたマウスを使って、危険回避、記憶力、運動神経等を測定してトリチウムの影響を調べた結果、HTO β 線の0.1 Gyの慢性的な被ばくによりその仔マウスには異常が現れ、また同線量のX線や γ 線の急性被ばくよりも影響が大きいと結論付けている[13]。

2.2.4 発がんによる寿命の短縮

マウスに種々の濃度のHTOを生生涯にわたり飲料水として与え、トリチウム β 線の影響を調べたYamamotoらの研究がある[15-17]。マウスはHTOを飲み始めて7日で体内のトリチウム濃度は平衡に達した。図4に示すように、 1.85×10^{10} Bq/dm³から 1.48×10^{11} Bq/dm³の濃度のHTOを与えた時の平均生存日数は、約45日から2週間であった。このときの総吸収線量は11 Gyから18 Gyであり、HTOが体内で平衡に達した状態の線量率は1.92 Gy/日から0.48 Gy/日であった。さらに 5.92×10^{11} Bq/dm³にまで濃度を上げたが、生存日数は2週間のままであった。この平均生存日数が45日より短いときのマウスの死因は骨髄死

表1 HTOによる組織吸収線量(Gy/18.5 MBq)(文献[9]より改変)。

日	脾臓	腎臓	肝臓	胸腺	卵巣	筋肉	血液	大腿骨	頸骨
1	0.062	0.058	0.051	0.057	0.037	0.044	0.062	0.096	0.077
2	0.108	0.101	0.089	0.099	0.064	0.076	0.109	0.169	0.134
4	0.166	0.157	0.138	0.152	0.102	0.119	0.169	0.266	0.205
7	0.208	0.198	0.174	0.191	0.132	0.152	0.212	0.341	0.257
12	0.230	0.221	0.194	0.211	0.150	0.170	0.236	0.386	0.285
18	0.236	0.226	0.199	0.217	0.156	0.176	0.242	0.397	0.293
23	0.237	0.228	0.200	0.218	0.158	0.177	0.244	0.400	0.295
30	0.237	0.228	0.200	0.218	0.159	0.178	0.245	0.402	0.297
37	0.238	0.229	0.201	0.219	0.159	0.178	0.246	0.403	0.298
∞	0.239	0.231	0.201	0.219	0.160	0.184	0.232	0.395	0.303

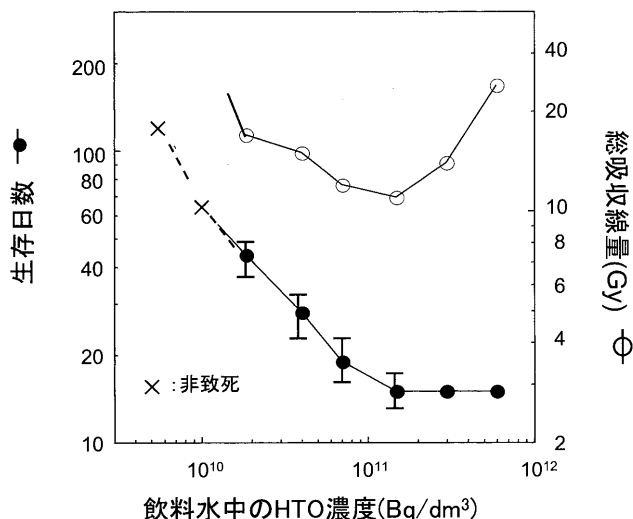


図4 飲料水中のHTOの濃度および吸収線量と生存日(文献17より改変).

(骨髄が放射線照射により障害され造血作用を失い死に至るもの)であった。一方、 9.25×10^9 Bq/dm³以下の濃度ではマウスは骨髄死では死ななくなった。さらに低濃度側の 9.25×10^9 Bq/dm³ (240 mGy/日) から 3.70×10^8 Bq/dm³ (10 mGy/日) で腫瘍の発生を詳細に調べている。この濃度範囲では骨髄死ではなく、主な死因は胸腺リンパ腫であった(表2)。以上の結果から骨髄死にはしきい値が存在することが示唆された[16]。しかし、 9.25×10^8 Bq/dm³ (24 mGy/日) になると胸腺リンパ腫は明らかに少なくなると、他の腫瘍の増加が見られるようになった。さらに低線量率になると腫瘍の発生自体が減少し、3.6 mGy/日では平均生存日数は非照射群のそれと同じになった。

表2 HTOβ線の線量率と癌の発生状況(文献15より改変)

ここでの線量率とは、マウス体内で平衡に達したトリチウム水のβ線から各臓器が受ける1日あたりの被ばく量の平均値。

線量率, mGy/日	240	96	48	24	10	0
マウス数	45	38	60	60	53	67
平均生存日数	165 ± 36	259 ± 52	414 ± 66	481 ± 112	622 ± 121	811 ± 134
胸腺リンパ腫	29(64) [162 ± 28]	22(58) [273 ± 51]	15(25) [415 ± 53]	4(7) [508 ± 202]	3(6) [589 ± 32]	0(0)
非胸腺リンパ腫	5(11) [146 ± 27]	4(11) [229 ± 24]	12(20) [433 ± 82]	9(15) [504 ± 120]	11(21) [609 ± 70]	12(18) [787 ± 129]
網状細胞腫	2(5) [179 ± 15]	5(8) [390 ± 67]	12(20) [485 ± 144]	10(19) [570 ± 150]	4(6) [760 ± 161]	
卵巣癌	2(5) [201 ± 18]	4(7) [431 ± 60]	8(13) [511 ± 98]	11(21) [641 ± 114]	4(6) [868 ± 149]	
血管肉腫		2(5) [331 ± 21]				
腺維肉腫			2(3) [431 ± 58]	4(7) [467 ± 97]	6(11) [607 ± 90]	4(6) [871 ± 179]
ハーダー腺腫			2(3) [423 ± 81]	2(3) [537 ± 75]		
肺癌			1(2) [464]	3(5) [460 ± 30]	8(15) [736 ± 84]	4(6) [812 ± 24]
皮膚癌			1(2) [401]			
膀胱腫瘍				1(2) [580]		
横紋筋肉腫				1(2) [298]		
乳癌					2(4) [582 ± 58]	
肝癌					2(4) [685 ± 23]	3(4) [696 ± 41]
副腎癌					1(2) [623]	
脾腫						2(3) [827 ± 19]
胃癌						1(2) [912]
2種類の癌	0(0)	0(0)	0(0)	2(3)	10(19)	5(8)
癌が発生したマウス	34(76)	32(84)	42(70)	42(70)	4(83)	41(54)

() ; % [] ; 平均生存日数 ± SD

2.2.5 トリチウムのRBE

マウスを使って得られたトリチウムのRBE (Relative biological effectiveness: 生物学的効果比のこと。同じ生物影響を示す吸収線量の比で、これが大きいほど被ばくによる危険度が高いことになる)を表3に示す。評価の方法および比較放射線(X線, γ線)が異なるため、RBE値に幅がある。したがって、ここに示したRBEをそのまま比較することはできないが、低線量あるいは低線量率でのトリチウムβ線のRBEは高線量のそれよりも大きい傾向がある。トリチウムβ線のRBEを求めるときに比較放射線がX線かγ線かで2倍の差が出るとの指摘もある[18]。しかし概観すると、トリチウムのRBEは1から2となるようである。マウスを用いてトリチウムの生体影響を調べるとき、その被ばくの形態は急性ではなく慢性被ばくである。そしてRBEを求める場合、これまでの研究ではそのほとんどが高線量率で比較放射線が使用されている。すなわち高線量率におけるX線あるいはγ線の生物効果と、低線量率におけるトリチウムβ線の生物効果が比較されているわけである。これではトリチウムのRBEを低く見積もってしまう危険性がある。よって、低線量率におけるトリチウムβ線の

表3 マウスを使った研究から得られたトリチウムβ線のRBE.

評価の方法	RBE	吸収線量 (Gy)	研究者
LD _{50/30}	1.7	4~8	J.E. Furchner (1957)
脾臓と胸腺の萎縮	1.3-1.5	1~10	J.B. Storer <i>et al.</i> (1957)
造血細胞の染色体異常	1.0-2.0	0.6	R. Kozkowski <i>et al.</i> (2001)
小腸クワト細胞のアポトーシス	1.4-2.1	0.13~0.28	K. Ijiri (1989)
卵母細胞の生存率	1.6-3.0	0.055	R.L. Dobson <i>et al.</i> (1976)

RBEは低線量率における γ 線あるいはX線との比較から求められるべきである。そうなればトリチウム β 線のRBEは相対的に大きくなるものと考えられる。

2.3 個体レベルのトリチウム生物影響研究の動向

2.3.1 これまでのトリチウム生物影響研究の現状と問題点

核融合研究に伴うトリチウムに関する安全性研究、特に生体影響研究は不可欠である。トリチウムの人体影響を科学的に評価するには、被ばく線量の正確な測定とそれに伴う生物学的影響の把握が必要である。しかし、環境中におけるトリチウムのほとんどは、トリチウム水の形態をとり、肺や皮膚あるいは経口で体内に取り込まれるため、その被ばく線量を推定することは不可能である。そのため、被ばく者個人の生体材料を用いた生物学的線量推定が重要な課題となる。しかしながら、トリチウム β 線の人体影響に関しては、リスク算定に利用可能な実験データがほとんどないのが現状である。その代替手段として、マウスなどの動物個体を用いたトリチウム β 線の生物影響評価が行われてきたが、前述したようにそのほとんどが、高線量・高線量率被ばくによる研究であった。核融合研究に伴うトリチウムに関する生体影響研究で問題にされるのは、低線量・低線量率被ばくによる研究である。これらの現状から、低線量・低線量率被ばくによるトリチウム β 線の生物影響をできるだけ直接に測定・評価できることが現在の重要な課題である。特に、しきい値がないと考えられている遺伝子の突然変異や発がんといった確率的影響に関する生物影響を評価する必要がある。

分子生物学の進歩により、がん化に至る遺伝子変異の詳細が解析できるようになってきた。そのため、日本のトリチウム生物影響研究者を中心に新しい原理により被ばく線量を高感度で測定できる生物学的線量計の開発および導入が行われている。そこで、放射線高感度検出系マウスを用いたトリチウム生物影響評価の最近の動向と新たな高感受性マウスの開発について紹介する。

2.3.2 高感度検出系マウスを用いたトリチウム生物影響評価

(1) gpt・delta マウスを用いた生物影響評価

近年、大腸菌やファージの遺伝子をレポーター遺伝子として組み込んだ突然変異検出系マウスが開発され、遺伝子突然変異頻度だけでなく、変異パターンを分子レベルで解析することが可能になった。これらのマウスはすべての体細胞にレポーター遺伝子を持っているため、個体の全組織を対象に突然変異を検出することができるという特徴をもつ。

これまでに、lacZ トランスジェニックマウス、MutaTM マウスといった突然変異検出系マウスが開発されているが、点突然変異を検出することに主眼がおかれ、放射線照射によって誘発される欠失突然変異を検出するには不向きであった。gpt・delta マウスは、 λ ファージDNAがマウスゲノムに挿入された突然変異検出系マウスで、点突然変異だけでなく、欠失突然変異も検出することができるという特徴をもつ[19] (図5)。そのため、gpt・delta マウスはこ

れまでに開発された突然変異検出系マウスよりも、高感度に放射線が誘発する突然変異を検出できる系といえる[20, 21]。

gpt・delta マウスを用いることで、2 Gy以上の放射線によって誘発される突然変異を有意に検出できることが明らかにされている[22]。また、20 mGy/日といった低線量率放射線照射を行った実験からも、総線量が8 Gyくらいに達すれば有意な変異頻度の増加が検出されることが報告されている[22]。

さらにこのマウスを用いて、トリチウム水の腹腔内投与を行い突然変異頻度を解析した結果、3 Gy以上の線量で突然変異の検出が可能であることが明らかにされた[23]。このようにgpt・delta マウスは、低線量・低線量率被ばくにおけるトリチウムの生物影響評価に有用といえる。

今後、gpt・delta マウスを用いたトリチウム生物影響研究を進めていくことにより、トリチウム β 線によってどのような突然変異が誘発されるのか、またX線などの放射線によって誘発される突然変異との違いがあるのかを明らかにすることができると考えられる。また、gpt・delta マウスは、各臓器における突然変異頻度を測定することができるため、トリチウムによって誘発される突然変異頻度に臓器特異性があるかどうかを明らかにすることができると考えられる。

(2) p53ノックアウトマウスを用いた生物影響評価

p53遺伝子とは、がん抑制遺伝子の1つである[24]。多くのがんでp53遺伝子の変異が検出されており、がんの半数以上においてp53遺伝子に何らかの変異や欠失が認められている。

これまでの研究から、細胞がストレスを受けた場合やDNA損傷を受けた場合にp53は活性化され、細胞周期の制御に関与することが知られている(図6)。さらにp53は、DNA損傷を修復するための機構を制御する機能を有することから、細胞の恒常性の維持に重要であると考えられている。また、p53は、細胞がDNA損傷を修復できない場合には、損傷をもつ細胞自身を殺す(自殺させる)機構として知られているアポトーシスを誘導する重要な役割を担う。これまでに明らかにされてきたp53の重要な機能から、p53はゲノムの守護神と表現されるほどである。実際にp53を欠失させたp53ノックアウトマウスでは、DNA損傷により誘発されるアポトーシスが抑制されることや、高発がん性であることが報告されている[25]。

Umataらはp53ノックアウトマウスを用いて、トリチウ

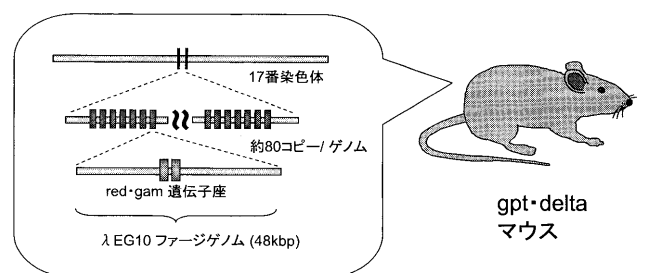


図5 gpt・delta マウス。

ム水投与における生体内突然変異頻度を測定することによりトリチウムの生物影響評価を行った[26, 27]. 突然変異測定法としては、脾臓に存在するCD4 T細胞における突然変異体頻度を検出する系 (T細胞受容体突然変異検出系) を用いている (図7). CD4 T細胞は、リンパ球の一種であり、CD3, TCR- α , TCR- β の複合体が細胞表面に発現している。しかし、TCR- α または TCR- β のどちらか一方でもタンパク質が不完全であれば複合体は形成されず、CD3 は T細胞表面に発現されない。すなわち、正常な CD4 T細胞は CD3 陽性を示すが、TCR- α または TCR- β いずれかをコードしている遺伝子に変異が生じると CD3 は陰性を示す。このことを利用して、TCR- α , TCR- β に生じた変異を表面

マーカーである CD3 に対する抗体で染色することにより変異が生じた細胞を検出することができる。

この系を用いて実験を行った結果、p53が正常な野生型マウスでは、トリチウム水投与により突然変異頻度は増加したが、 γ 線によるシミュレーション照射では突然変異頻度の増加は検出されなかった[26, 27]. 一方、p53ノックアウトマウスでは、トリチウム β 線、 γ 線ともに誘発率の増加がみられ、トリチウム β 線の生物学的効果比が約1.7と見積もられた。この結果から、p53ノックアウトマウスを用いることで、p53野生型マウスでは得られない低線量域でのトリチウム生物影響評価が可能になった。

2.3.3 新たな高感度検出系マウスの開発の試み

(1) 背景

変異原物質を検定する方法として、サルモネラ菌を用いたエイムス試験が広く知られている。エイムス試験は、「誤りがちな DNA 修復」に関与する umuC 遺伝子などの「損傷乗り越え DNA 合成」の機能を亢進することにより、より高感度に突然変異を検出することができる突然変異検出系である。著者らは、この「損傷乗り越え DNA 合成」の機能亢進したマウスを作成することにより、マウス個体レベルでのエイムス試験を実現できないかと考えた。さらに、この高感度検出系モデルマウスは、発がん高感受性マウスとなりうる可能性がある。そこで、「損傷乗り越え DNA 合成」の機能亢進をしたマウスの開発に取り組むことにした。

(2) 損傷乗り越え DNA 合成

トリチウム β 線や電離放射線の DNA 損傷の特徴は、塩基損傷や二重鎖切断であるが、最近この塩基損傷や二重鎖切断の修復に関与する遺伝子が相次いで単離され、そのコードする蛋白質群がどのように切断部位に結合し修復に関与するかが明らかになってきた。塩基損傷を修復する機構の1つに「損傷乗り越え DNA 合成」機構が知られている。「損傷乗り越え DNA 合成」は、損傷部位を乗り越えて DNA 合成を進めることができるため、損傷による DNA 複製の停止を回避することができる[28]. しかし、損傷を乗り越える際に、「誤りがちな DNA 合成」を行うために突然変異を誘発することが明らかとなった。「損傷乗り越え DNA 合成」を担う遺伝子群を Yファミリーポリメラーゼといい、大腸菌から哺乳類まで広く保存されていることから細胞内で重要な機能をもつと考えられる。また、Yファミリーポリメラーゼの一つは高発がん性の色素性乾皮症バリエーション (XPV) の原因遺伝子であることが示され、この遺伝子群は、がんの発生にも深く関与することが報告されている[29].

Masudaらは、Yファミリーポリメラーゼの一つ Rev 1 のヒトホモログ (ヒト REV1) タンパクを世界で初めて同定することに成功し、その生化学的解析を行った[30]. その結果、ヒト REV1 タンパクは、鋳型塩基に対してシトシンを取り込むデオキシシチジルトランスフェラーゼ活性を持つことを明らかにした[31] (図8). さらに、ヒト REV1 タンパクは、酸化損傷塩基部位やアルキル化損傷塩基部位も効率よく乗り越え、その際にシトシンを挿入することを

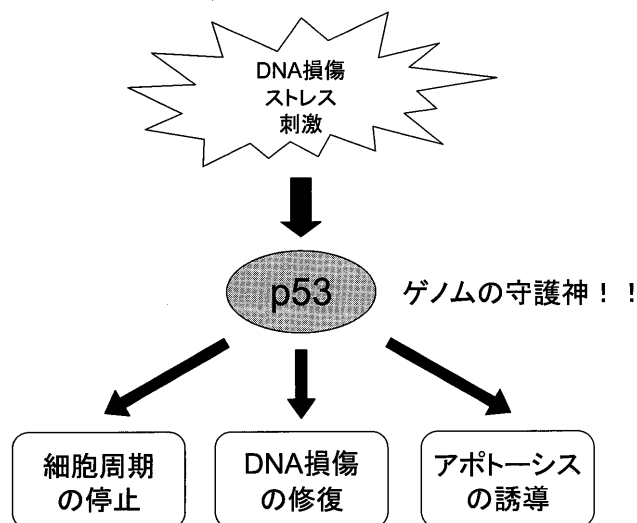


図6 p53の機能.

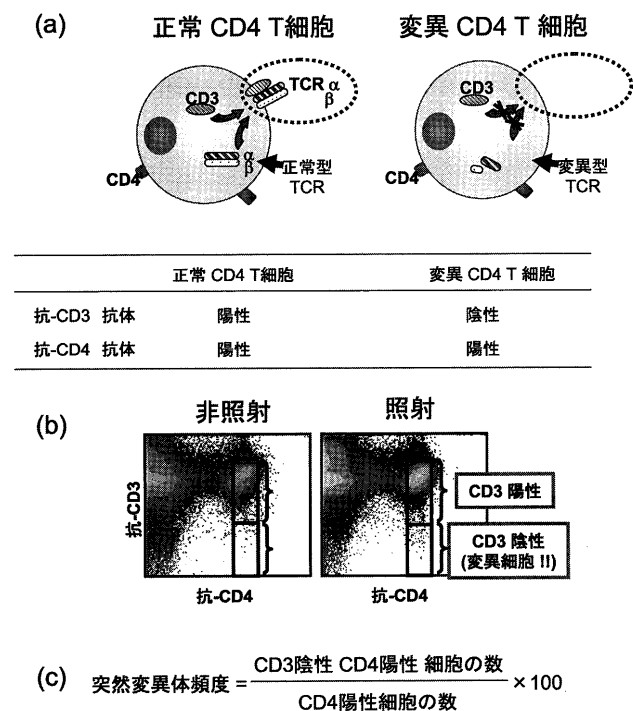


図7 T細胞受容体突然変異検出系.

- (a) T細胞受容体突然変異検出系の概念図
- (b) フローサイトメータを用いた実際の実験データ
- (c) 突然変異体頻度の求め方

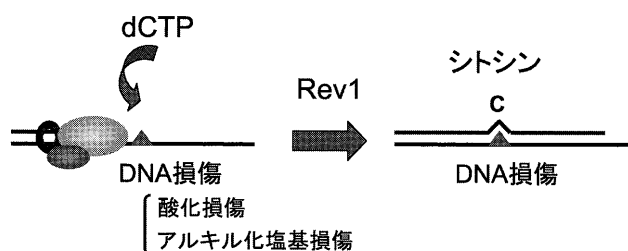


図8 損傷乗り越え DNA 合成機構.

明らかにした。このことは、損傷塩基部位において、ヒト REV1 タンパクが、「誤りがちな DNA 合成」を行い、点突然変異を誘発することを示唆している。また、ヒト REV1 タンパクは他の Yファミリーポリメラーゼと結合することにより、「損傷乗り越え DNA 合成」機構において中心的な役割を担うと考えられている [32, 33].

(3) Rev1 マウスの開発

Toyoshima らは、Rev1 が「損傷乗り越え DNA 合成」機構において中心的な役割を果たしていることから、「損傷乗り越え DNA 合成」の機能亢進をしたマウスを作成するために、Rev1 遺伝子を導入したトランスジェニックマウス (Rev1 マウス) を作製した [34]。各臓器における Rev1 の発現量を調べた結果、Rev1 マウスは、野生型マウスと比較して、ほぼすべての臓器で Rev1 の発現量が有意に増加していた。Rev1 の機能亢進と発がんとの関係を解明するため、まずアルキル化剤投与による Rev1 マウスの発がん感受性を検討した。その結果、この Rev1 マウスは、野生型マウスと比較して、アルキル化剤処理後、早期かつ高頻度でがんが発症するという結果を得た。このことから、Rev1 マウスは、高感度な発がんモデルマウスになると考えられる。さらに、Rev1 マウスの生物学的特性を解析した結果、Rev1 マウスでは、アルキル化剤によって誘発される突然変異頻度を野生型マウスよりも有意に増加させることを明らかにした (未発表データ)。Rev1 マウスでは突然変異を誘発しやすい特性を有することにより、発がん高感受性を示すと考えられる。

以上のことから、Rev1 マウスはトリチウムの生物学的影響を高感度に評価できるモデルとなる可能性がある。今後は、Rev1 マウスの生物学的特性を解明しつつ、Rev1 マウスを用いて、低線量・低線量率被ばくにおけるトリチウム β 線の生物影響評価を行っていく予定である。

2.4 おわりに

核融合研究は、環境負荷が最も少ない究極のエネルギー源として大きな注目が集まっており、大いに推進すべき研究課題である。核融合研究が、社会に広く受容され、その支持を得るためには、その安全性研究も同時に実施されなくてはならない。この様な観点から核融合研究に伴うトリチウムに関する安全性研究、特に生体影響研究は不可欠な研究である。核融合研究で想定されるトリチウム被ばくは低線量・低線量率被ばくと考えられるため、低線量・低線量率被ばくにおける個体レベルのトリチウム影響評価をおこなう必要がある。しかしながら、これまでの個体レベル

のトリチウム生物影響研究は高線量・高線量率被ばくにおける研究が主であった。この問題点を打破するために、近年では、高感度検出系マウスを用いることにより、低線量・低線量率におけるトリチウムの生物影響評価が可能であることを示唆する結果が得られつつある。さらに、新規高感度検出系マウスの開発も行われており、より簡便に低線量・低線量率被ばくにおけるトリチウム影響評価を行うことが可能になると期待される。

今後これらの高感度検出系マウスを用いて、トリチウムの生物影響データを蓄積していくことにより、客観的データを元に、科学的根拠に基づいたトリチウムの影響評価ができるようになると思われる。

参考文献

- [1] 大西武雄監修, 放射線医学-生体と放射線・電磁波・超音波- (学会出版センター, 2007).
- [2] D.L. Preston *et al.*, *Radiat. Res.* **168**, 1 (2007).
- [3] M.S. Sasaki *et al.*, *Nature* **220**, 1189 (1968).
- [4] W.L. Russell *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **79**, 542 (1982).
- [5] M. Kodaira *et al.*, *Radiat. Res.* **162**, 350 (2004).
- [6] 丹羽太貫 他: 「放射性物質による内部被ばくについて」, *Isotope News*, **690**, 33 (2011) (<http://www.jrias.or.jp/index.cfm/1,14676,3.html>).
- [7] M. Saito *et al.*, *Radiat. Res.* **95**, 273 (1983).
- [8] N. Kunugita *et al.*, *J. Radiat. Res.* **31**, 361 (1990).
- [9] T. Tsuchiya *et al.*, *J. UOEH* **10**, 403 (1988).
- [10] R.L. Dobson *et al.*, *Radiat. Res.* **58**, 91 (1974).
- [11] M. Saito *et al.*, *Health Phys.* **80**, 571 (2001).
- [12] X. Sun *et al.*, *Int. J. Radiat. Biol.* **71**, 309 (1997).
- [13] B. Wang *et al.*, *J. Radiat. Res.* **36**, 103 (1995).
- [14] W. Gao *et al.*, *Radiat. Res.* **152**, 265 (1999).
- [15] O. Yamamoto *et al.*, *Int. J. Radiat. Biol.* **68**, 47 (1995).
- [16] O. Yamamoto *et al.*, *Int. J. Radiat. Biol.* **73**, 535 (1998).
- [17] O. Yamamoto *et al.*, *Int. J. Radiat. Biol.* **57**, 543 (1990).
- [18] NCRP. No.63, Appendix III. 56 (1979).
- [19] H. Tauchi *et al.*, *Fusion Sci. Technol.* **60**, 1173 (2010).
- [20] N. Okudaira *et al.*, *Radiat. Res.* **173**, 138 (2010).
- [21] S. Nakamura *et al.*, *Int. J. Radiat. Biol.* **76**, 431 (2000).
- [22] T. Ono *et al.*, *Radiat. Res.* **148**, 123 (1997).
- [23] T. Ono *et al.*, *Fusion Sci. Technol.* **60**, 1183 (2010).
- [24] A. Erol, *Cell Signal.* **23**, 1076 (2011).
- [25] T. Tsukada *et al.*, *Oncogene* **8**, 3313 (1993).
- [26] T. Umata *et al.*, *Fusion Sci. Technol.* **60**, 1193 (2010).
- [27] T. Umata *et al.*, *Int. J. Radiat. Biol.* **85**, 1082 (2009).
- [28] C. W. Lawrence *et al.*, *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology* **65**, 61 (2000).
- [29] C. Masutani *et al.*, *Nature* **399**, 700 (1999).
- [30] Y. Masuda *et al.*, *J. Biol. Chem.* **276**, 15051 (2001).
- [31] Y. Masuda *et al.*, *FEBS Lett.* **520**, 88 (2002).
- [32] Y. Masuda *et al.*, *J. Biol. Chem.* **278**, 12356 (2003).
- [33] C. Guo *et al.*, *EMBO J.* **22**, 6621 (2003).
- [34] M. Toyoshima *et al.*, *Fusion Sci. Technol.* **60**, 1204 (2010).



うま た とし ゆき
馬田敏幸

産業医科大学アイソトープ研究センター、准教授、トリチウムおよび低線量放射線の生体影響、これまで携わった細胞生物学の領域での研究と低線量放射線の影響がどこかでつながることを夢見つつ、研究を行っている。家族は妻と娘2人息子1人ロングコートチワワ1人、趣味と果たして言えるか？キャンプ、バイク、星空観望、メタボ解消に四苦八苦している。



ささ たに
笹谷めぐみ

広島大学原爆放射線医科学研究所 助教。
主な研究分野：放射線発がん。1歳になる娘と毎日奮闘中。



たち はな あきら
立花章

茨城大学理学部、教授。専門は放射線生物学、特に放射線による突然変異生成機構を研究している。最近、低線量放射線による放射線適応応答の研究にも従事している。山を歩いて昆虫や花の写真を撮影するのが趣味ですが、近頃は山を歩く体力（と気力）がないのが悩みです。