Radiation Research [§] 掲載論文

「電離放射線のラット未熟卵細胞に及ぼす突然変異影響」

浅川順一、上口勇次郎、神谷研二、中村　典

"Mutagenic Effects of Ionizing Radiation on Immature Rat Oocytes"

Radiat Res 2014 (October) 182 (4): 430-4
（doi: 10.1667/RR13776.1）

今回の調査で明らかになったこと

放射線の遺伝的影響評価の指標となる欠失型突然変異[※]についてラットを用いて調査した。非照射あるいは 2.5 Gy 照射された未熟卵細胞に由来する次世代（F1）の DNA 断片（各々100 万個以上）を検索したが、照射されたメスに由来すると断定できた欠失型突然変異はなかった。この結果は、未熟卵細胞では成熟卵細胞よりも突然変異が生じにくいことを示唆している。

【注】欠失型突然変異：染色体の一部が失われることで起こる突然変異。放射線により引き起こされる主な突然変異と考えられている。

解　説

放射線がヒトの遺伝に及ぼすリスク推定は、その多くをマウス実験の研究成果に依存している。オスマウスの場合は標的となるのは精原細胞であり、多くの情報が集積されている。メスマウスの場合は、標的となる未熟卵細胞が放射線に感受性が高くアポトーシス（細胞死）により死ぬと同時に、生き残った卵細胞から生まれた F1 には突然変異を生じていないという特徴がある。他方ヒト女性の場合は、未熟卵細胞の放射線によるアポトーシス感受性は低い。もしもマウスでは傷ついた卵細胞をアポトーシスにより排除しているために突然変異を生じないのであれば、そのような排除機構が作用しない場合（例えばヒト）は突然変異を高い頻度で生じる可能性がある。放射線影響研究所における原爆被爆者と被爆二世（F1）における遺伝調査結果を説明する上では、メス動物の実験データが不可欠なので、ヒト女性被ばくのモデルとなる動物を模索してきた。調査の結果、ラットの未熟卵細胞はマウスほどアポトーシス感受性が高くなくモデルになることが分かったので、放射線を照射したメスラット及び非照射メスラットの未熟卵細胞に由来する F1 について DNA 二次元電気泳動法[※]を用いた遺伝的影響調査を行った。

【注】DNA 二次元電気泳動法：遺伝子（DNA）を制限酵素で切断して大きさ別に分けるもので、1 回目の電気泳動で分けたものを更に別の酵素で切り、もう一度大きさ別に分ける方法。制限酵素は、DNA 中の 4－8 塩基の特定の配列部位を切断する酵素。

1. 調査の目的

2.5 Gy の放射線を照射したラット未熟卵細胞における放射線の突然変異誘発率を明

らかにし、生じた突然変異の特徴づけを行う。

2. 調査の方法

（1）材　料：メス SD ラット※に 2.5 Gy のガンマ線を照射した。照射時にすでに成熟していた、あるいは成熟途上にあった卵細胞に由来する F1 を除くため、80 日以上経過したところで非照射オス BN ラット※と交配した。こうして生まれた F1 ラットを照射群とした。オス、メス両方非照射の親より生まれた F1 を対照群とした。3 週齢で脾臓、腎臓、肝臓を摘出し、液体窒素で急速冷凍した後－80℃に保存した。

【注】SD ラットは、樹立された時期が古いために多くの実験で用いられ、データの蓄積が豊富なので使いやすい系統のひとつである。他方の BN ラットは、近年のゲノム解析に使われた純系ラットである。SD ラットと BN ラットのゲノムの間には異なる部分が沢山あり、それらが F1 に生じた突然変異の親の由来を判別する上で役に立つ。

（2）二次元電気泳動： F1 ラットの脾臓 DNA を 2 種類の制限酵素 *Not*I と *Eco*RV で切断し、その切断点をアイソトープ標識した。*Not*I-*Eco*RV 断片の大きさが 1－4 kb と 4－10 kb の 2 種類のゲルを作製した。二次元電気泳動後にゲルを乾燥し、オートラジオグラフィーで DNA 断片を X 線フィルム上に可視化した。得られた電気泳動像についてコンピュータ画像解析を行った。

3. 調査の結果

（1）どの DNA 断片を検査対象にするか：上に述べた 2 種類のオートラジオグラムで、合計約 3,000 個の DNA 断片を検出できる。このうちメス親 SD ラット由来の断片 162 個、オス親 BN ラット由来の断片 179 個、両者に共通の断片 1,387 個が突然変異の検索に適していた（SD は 1,549 個、BN は 1,566 個の遺伝子座テストに相当する）。2.5 Gy のガンマ線を照射したメス親ラットから生まれた照射群 F1 と対照群 F1 各々 750 匹から作成した画像合計 3,000 枚についてコンピュータ画像解析で DNA 断片を検索した。DNA 断片に含まれるアイソトープから生じた放射線がフィルムの銀粒子を黒くするが、その度合いが半減したもの、ならびに SD あるいは BN に固有の DNA 断片が消失したものを突然変異候補とした。

（2）検出された突然変異：照射群と対照群それぞれについて約 1,130,000 個の DNA 断片を検索した。その結果、照射群で 18 個、対照群で 32 個、合計 50 個の生殖細胞突然変異を検出した。50 個の突然変異のほとんどはマイクロサテライトと呼ばれる遺伝的に不安定な遺伝子座を構成する 2～8 塩基対の短い単純反復配列の繰り返し配列数が変化した突然変異で、これまでの研究から放射線の影響とは考えられていない。対照群の 2 個、照射群の 1 個、合計 3 個は制限酵素認識部位に生じた塩基置換型突然変異※であった。これらも放射線によっては生じにくいタイプであるため、被ばくの影響とは考えられない。

【注】塩基置換型突然変異：DNA 塩基が別の塩基に換わることで起こる突然変異。

放射線の遺伝的影響評価の指標となる欠失型突然変異は対照群に 1 個、2.5 Gy 照射群に 3 個検出されたが、照射されたメス由来と判定できたものはなかった（照射群に生じた 3 個の内 2 個はオス由来、1 個は親の由来を決定できず）。以上の結果は、マウスの未熟卵子において突然変異を生じにくいのは放射線で傷ついた細胞をアポトーシスにより排除しているためではなく、もともと未熟卵子は突然変異誘発に抵抗性の性質を持っている可能性を示唆している。ただし得られた突然変異数が少ないので、今後はゲノムのもっと多くの部位について検索が可能な方法を用いて研究を行う予定である。

放射線影響研究所は、広島・長崎の原爆被爆者および被爆二世を 60 年以上にわたり調査してきた。その研究成果は、国連原子放射線影響科学委員会（UNSCEAR）の放射線リスク評価や国際放射線防護委員会（ICRP）の放射線防護基準に関する勧告の主要な科学的根拠とされている。被爆者および被爆二世の調査協力に深甚なる謝意を表明する。

§***Radiation Research***誌は、放射線影響学会（Radiation Research Society）の公式月刊査読学術誌であり、物理学、化学、生物学、医学の領域における放射線影響および関連する課題の原著と総説を掲載している。（2013年のインパクト・ファクター：2.445）