

THE INFLUENCE OF A SINGLE EXPOSURE TO RADIATION
ON ACCUMULATION OF LIPOFUSCIN (AGE PIGMENT) IN
CARDIAC TISSUE IN ATOMIC BOMB SURVIVORS

単一放射線照射の日本人心臓組織内リポフスチン(老化色素)
蓄積に及ぼす影響

BERNARD L. STREHLER, Ph.D.
EDWIN T. NISHIMURA, M.D.
MALCOLM V. GEE, B.S.
NATHAN W. SHOCK, Ph.D.



ATOMIC BOMB CASUALTY COMMISSION

国立予防衛生研究所—原爆傷害調査委員会

JAPANESE NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH OF THE MINISTRY OF HEALTH AND WELFARE

TECHNICAL REPORT SERIES

業 績 報 告 書 集

The ABCC Technical Reports provide the official bilingual statements required to meet the needs of Japanese and American staff members, consultants, advisory councils, and affiliated government and private organizations. The Technical Report Series is in no way intended to supplant regular journal publication.

ABCC業績報告書は、ABCCの日本人および米人専門職員、顧問、評議会、政府ならびに民間の関係諸団体の要求に応じるための日英両語による記録である。業績報告書集は決して通例の誌上発表に代るものではない。

THE INFLUENCE OF A SINGLE EXPOSURE TO RADIATION
ON ACCUMULATION OF LIPOFUSCIN (AGE PIGMENT) IN
CARDIAC TISSUE IN ATOMIC BOMB SURVIVORS

単一放射線照射の日本人心臓組織内リポフスチン(老化色素)
蓄積に及ぼす影響

BERNARD L. STREHLER, Ph.D.¹

EDWIN T. NISHIMURA, M.D.²

MALCOLM V. GEE, B.S.¹

NATHAN W. SHOCK, Ph.D.¹

Approved 承認 27 April 1967



ATOMIC BOMB CASUALTY COMMISSION
HIROSHIMA AND NAGASAKI, JAPAN

A Cooperative Research Agency of
U.S.A. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES - NATIONAL RESEARCH COUNCIL
and
JAPANESE NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH OF THE MINISTRY OF HEALTH AND WELFARE
with funds provided by
U.S.A. ATOMIC ENERGY COMMISSION
JAPANESE NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH
U.S.A. PUBLIC HEALTH SERVICE

原 爆 傷 害 調 査 委 員 会

広島および長崎

米 国 学 士 院 - 学 術 会 議 と 厚 生 省 国 立 予 防 衛 生 研 究 所
と の 日 米 共 同 調 査 研 究 機 関

米 国 原 子 力 委 員 会, 厚 生 省 国 立 予 防 衛 生 研 究 所 お よ び 米 国 公 衆 衛 生 局 の 研 究 費 に よ る

Gerontology Branch, National Heart Institute, National Institutes of Health, U.S. Public Health Service, Department of Health, Education and Welfare, Bethesda; and the Baltimore City Hospitals, Baltimore, Maryland¹; and the ABCC Department of Pathology²

米 国 Maryland 州 Bethesda 市 米 国 保 健 教 育 厚 生 省 米 国 公 衆 衛 生 局 米 国 心 臓 学 研 究 所 老 人 学 部 門 お よ び Baltimore 市 立 病 院¹;
な ら び に ABCC 病 理 部²

CONTENTS

目次

| | | |
|--------------|------------|---|
| Introduction | 緒言 | 1 |
| Results | 結果 | 1 |
| Discussion | 考察 | 5 |
| Summary | 要約 | 5 |
| References | 参考文献 | 6 |

| | | |
|--|--|---|
| Table 1. Anatomical abnormalities at autopsy | | |
| 表 解剖学的異常の数 | | 2 |

| | | |
|--------------------------------------|--|---|
| 2. Comparison of exposed and control | | |
| 被爆者群と対照者群の比較 | | 2 |

| | | |
|--|--|---|
| 3. Relation of distance to average pigment ratio | | |
| 距離と平均色素比との関係 | | 4 |

| | | |
|---|--|---|
| 4. Comparison of mean myocardial volume percent | | |
| 平均心筋体積百分率の比較 | | 4 |

| | | |
|--------------------------------|--|---|
| Figure 1. Total pigment vs age | | |
| 図 色素総量と年齢 | | 3 |

| | | |
|--|--|---|
| 2. Percent myocardium by volume vs age | | |
| 体積別心筋百分率と年齢 | | 3 |

| | | |
|-------------------------------------|--|---|
| 3. Percent pigment by volume vs age | | |
| 体積別色素百分率と年齢 | | 4 |

THE INFLUENCE OF A SINGLE EXPOSURE TO RADIATION ON ACCUMULATION OF LIPOFUSCIN (AGE PIGMENT) IN CARDIAC TISSUE IN ATOMIC BOMB SURVIVORS

単一放射線照射の日本人心臓組織内リポフスチン(老化色素)蓄積に及ぼす影響

INTRODUCTION

It has been suggested that exposure to ionizing radiation produces changes in experimental animals paralleling the normal aging process.¹⁻⁴ This hypothesis is based on a decreased life expectancy and an increased incidence of some diseases (e.g., leukemia and cancer) in exposed animals.

In order to evaluate properly the postulated acceleration of aging in humans exposed to ionizing radiation, a suitable index of aging is necessary. Such an index should be a measure of anatomical and/or physiological changes normally due solely to time and not extrinsic forces or agents. Reports from this laboratory⁵ have recently shown that the accumulation of lipofuscin age pigments in the human myocardium increases linearly with age and that its rate of accumulation is independent of any measured factor except time. If radiation exposure results in an acceleration of the rate of pigment accumulation as a result of the hypothetical speeding up of the general aging process, tissues from survivors of the atomic bomb might be suitable material to test the hypothesis.

Heart autopsy specimens of 32 subjects, aged 16-83 years at time of death and who were in Nagasaki at the time of the atomic bomb (ATB) were examined histologically for the amount of lipofuscin age pigment. Control observations were made in 17 subjects ranging in age from 5-81 years and who were not in the city ATB. The "exposed" group who survived 12-14 years after the bomb were 1800-9500m from the hypocenter, and exhibited various anatomical aberrations at autopsy (Table 1). The method described earlier⁵ was used to measure the percent of myocardial volume occupied by the lipofuscin and the percent of heart volume occupied by myocardium.

RESULTS

Figure 1 shows the total amount of pigment (heart weight \times % pigment) and the control and exposed groups did not differ significantly at any age (Table 2).

緒言

動物実験では、電離放射線被曝によって普通の加齢過程と同様の変化が生ずると示唆されている。¹⁻⁴ この仮定は、被曝動物にみられる寿命の短縮とある種の疾病(白血球病や癌等)の発生率増大に基づいている。

電離放射線を受けた人間において加齢が促進されるという仮定を正しく評価するためには、加齢の適切な指標が必要である。この種の指標は、普通は、外因性の作用や薬物に左右されることなく、時間の経過のみに従って起こるような解剖学的または生理学的変化でなければならない。本研究室の最近の報告⁵では、人間の心筋におけるリポフスチン老化色素の蓄積は、年齢とともに直線的に増加し、その蓄積の率は、時間以外のいずれの要因にも無関係であることを明らかにした。もし、放射線被曝により起こると想定されるような加齢過程全般の促進のために色素蓄積の率が増加するならば、原爆被爆者の組織は、この仮定を調べるのに適切な材料であるかもしれない。

死亡時年齢が16-83歳で、原爆時に長崎にいた32名の心臓剖検材料を組織学的に検査してリポフスチン老化色素の量を調べた。対照者として原爆時に市内にいなかった年齢5-81歳の17例について検査を行なった。原爆後12-14年間生存した「被爆者」群は、爆心地から1800-9500mで被爆し、剖検で種々の解剖学的異常を認めた(表1)。さきに報告した方法⁵を用いて、心筋体積の中でリポフスチンの占める百分率および心臓体積の中で心筋が占める百分率を計算した。

結果

図1は色素の総量(心臓の重さ \times 色素の百分率)を示した。いずれの年齢においても、対照者群と被爆者群との間に有意な差は認められなかった(表2)。

TABLE 1 ANATOMICAL ABNORMALITIES AT AUTOPSY FOR VARIOUS AGE GROUPS

表1 剖検例で各年齢群別にみられた解剖学的異常の数

| Age 年齢 | Group 群 | Subjects 例数 | Organ System 検索臓器系統 | | | | | Neoplastic Diseases 新生物性疾患 |
|-----------|-------------|----------------|------------------------|--------------------|---------------|------------------------|------------------------|-------------------------------|
| | | | Cardiovascular 心臓血管 | Respiratory 呼吸器 | Nervous 神経 | Gastrointestinal 胃腸 | Urinary-genital 性尿器 | |
| 0-10 | Control 対照者 | 3 | - | 3 | 2 | - | - | - |
| | Exposed 被爆者 | 0 | - | - | - | - | - | - |
| 11-20 | C 対照者 | 0 | - | - | - | - | - | - |
| | E 被爆者 | 1 | 1 | 1 | 1 | - | - | - |
| 21-30 | C 対照者 | 4 | 1 | 4 | 1 | - | - | - |
| | E 被爆者 | 1 | 1 | 1 | - | - | - | - |
| 31-40 | C 対照者 | 4 | 4 | 2 | - | - | - | 2 |
| | E 被爆者 | 2 | 1 | 1 | - | - | - | 2 |
| 41-50 | C 対照者 | 1 | 1 | - | - | - | - | 1 |
| | E 被爆者 | 3 | 2 | - | - | - | - | 2 |
| 51-60 | C 対照者 | 2 | 1 | - | - | - | - | 2 |
| | E 被爆者 | 7 | 6 | - | 1 | 3 | - | 4 |
| 61-70 | C 対照者 | 4 | 4 | 3 | - | 2 | 1 | 2 |
| | E 被爆者 | 7 | 6 | 2 | 1 | 1 | - | 2 |
| 71-80 | C 対照者 | 2 | - | - | 1 | - | - | - |
| | E 被爆者 | 8 | 6 | 2 | 1 | 1 | - | 3 |
| 81-90 | C 対照者 | 1 | 2 | 1 | - | - | - | 1 |
| | E 被爆者 | 1 | 1 | 1 | - | - | - | - |

When more than one system was affected in any one case, each system was listed.

1例に2つ以上の臓器系統に異常があった場合、それぞれの臓器系統を記録した。

TABLE 2 COMPARISON OF EXPOSED AND CONTROL GROUPS

表2 被爆者群と対照者群の比較

| Group 群 | Number 例数 | Average Pigment Ratio* 平均色素比* | Standard Deviation 標準偏差 | Standard Error of Mean 平均値の標準偏差 |
|-------------|--------------|-------------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|
| Exposed 被爆者 | 32 | 1.06 | 0.573 | 0.1029 |
| Control 対照者 | 14 | 0.887 | 0.462 | 0.1281 |

* Observed pigment concentration divided by the age mean pigment concentration for the subject's age (obtained from Figure 1).

観察色素濃度を図1に示した直線関数から求めたその症例の年齢に対する年齢平均色素濃度で割ったもの。

Radiation induced changes should be more apparent in individuals closer to the hypocenter. Accordingly, the distance was compared with the average pigment ratio (% pigment/age average), however, no relationship was found (Table 3).

放射線誘発性変化は、爆心地に近い者ほど顕著になるはずである。したがって、距離と平均色素比(色素百分率/平均年齢)とを比較した。しかし、関係は認められなかった(表3)。

In order to test the possibility that the radiation received produced the death of myocardial fibers and their replacement by connective tissue elements (which could mask any real effect of the radiation on pigment content/surviving myocardial cell), a plot of the percent of total heart volume occupied by myocardium as compared to interstitial and connective tissue was made for the exposed

放射線を受けたために心筋線維が死滅し、結合組織で置き換えられた可能性がある(そのために色素含有量と生存心筋細胞との比率に対する放射線の影響が隠されているかもしれない)。この点を検査するため、被爆者群と対照者群について心臓の総体積の中で心筋の占める百分率と

FIGURE 1 TOTAL PIGMENT (% PIGMENT BY VOLUME × HEART WEIGHT in grams $\times 10^{-2}$) vs AGE
 図1 色素総量(体積別色素百分率×心臓の重さ(g) $\times 10^{-2}$)と年齢

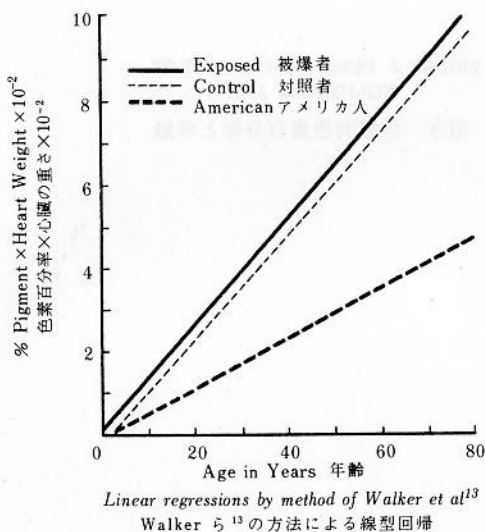
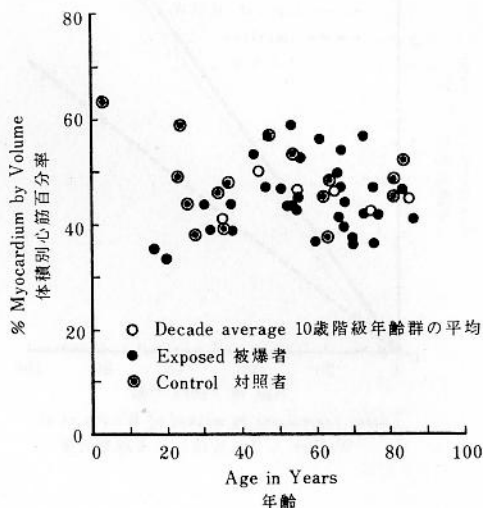


FIGURE 2 PERCENT MYOCARDIUM BY VOLUME vs AGE
 図2 体積別心筋百分率と年齢



and control groups (Figure 2). Mean myocardial volume percent for both groups was between 40% and 50% with a t value for the difference between them of 2.05 ($0.050 > P > 0.025$) (Table 4). Values correspond closely with those obtained in the previous study⁵ where the mean was 50.3%.

Although no systematic differences in the microscopic appearance of unstained sections of the hearts of the exposed and control groups were noted, an apparent difference between the (total) Japanese and American groups is a higher rate of pigment accumulation in the former. The Japanese groups accumulated pigment at nearly twice the rate of the American autopsy sample reported earlier⁵ (Figure 3). Thus the rate was 0.046%/year for the total Japanese sample and 0.028%/year for the corresponding American sample. However, that t value for the difference between the two groups ($t=2.33$) is only of problematical significance ($0.05 > P > 0.025$) whereas the t value for the difference in rates of total pigment accumulation was even less ($t=1.64$) ($0.100 > P > 0.050$).

Whether these borderline significances represent real differences could best be settled by a more extensive Japanese sample, both irradiated and control. The low t values arise from the not inconsiderable scatter of individual pigment values characteristic of these studies.

間質および結合組織が占める割合を図示した(図2). 平均心筋体積は、いずれの群においても、40%ないし50%で、両群の間の差の t 値は2.05 ($0.050 > P > 0.025$) であった(表4). これらの値は、平均が50.3%であったさきの調査で得られた値と近似している.⁵

心臓の無染色切片の顕微鏡検査では、被爆者群と対照者群との間に系統的な差異は認められなかったが、日本人(全体)とアメリカ人との間にみられる顕著な相違は、前者において色素蓄積の率が高かったことである。日本人では、さきに報告したアメリカ人の剖検材料についてみられたよりも約2倍の率で色素蓄積が進行していた(図3).⁵ すなわち、その率は、日本人全体では年間0.046%であり、アメリカ人では年間0.028%であった。しかしながら、両群間の差の t 値 ($t=2.33$) の有意性は疑わしく ($0.05 > P > 0.025$)、全色素蓄積率における差の t 値はいっそう小さい ($t=1.64$) ($0.100 > P > 0.050$)。

このようにきわめて低い有意性をもつ差が真の差を示すものか否かは、被爆者と対照者を含むより多数の日本人標本により決定するのが最もよい。 t 値が低いのは、個々の色素値がかなり分散しているためであるが、この分散はこれらの検査の特徴でもある。

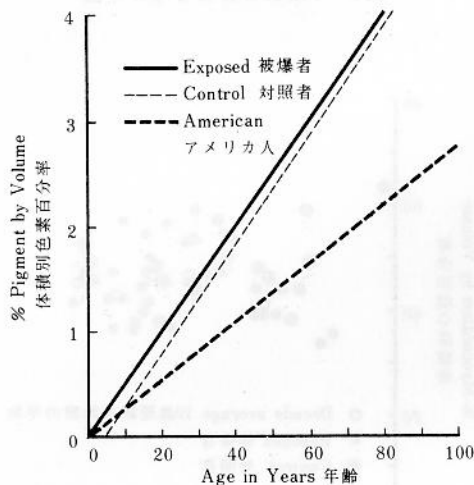


FIGURE 3 PERCENT PIGMENT BY VOLUME vs AGE

図3 体積別色素百分率と年齢

TABLE 3 RELATION OF DISTANCE FROM HYPOCENTER TO AVERAGE PIGMENT RATIO

表3 爆心地からの距離と平均色素比との関係

| Distance 距離 m | Number 例数 | Average Pigment Ratio* 平均色素比* | Standard Deviation 標準偏差 | Standard Error of Mean 平均値の標準偏差 |
|------------------|--------------|-------------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|
| 1000-3900 | 11 | 1.03 | 0.58 | 0.18 |
| 4000-6000 | 8 | 0.94 | 0.47 | 0.17 |
| >7000 | 6 | 1.06 | 0.38 | 0.17 |

* Defined in Table 2.
定義は表2に示した。

TABLE 4 COMPARISON OF MEAN MYOCARDIAL VOLUME PERCENT FOR EXPOSED AND CONTROL GROUPS

表4 被爆群と対照群の平均心筋体積百分率の比較

| Group 群 | Number 例数 | Average Percent Myocardium* 平均心筋百分率* | Standard Deviation 標準偏差 | Standard Error of the Mean 平均値の標準偏差 |
|-------------------------|--------------|--|-------------------------------|---|
| Japanese Exposed 日本人被爆者 | 32 | 43.7 | 6.7 | 1.2 |
| Control 日本人対照者 | 16 | 48.4 | 7.56 | 1.95 |
| Total 日本人総数 | 48 | 46.1 | 6.84 | 0.99 |
| American アメリカ人 | 151 | 50.3 | 10.7 | 0.87 |

* Percent heart volume occupied by myocardial tissue as opposed to connective or interstitial tissues.⁵
平均心筋百分率は、結合組織または間質組織に対し、心臓体積の中で心筋組織が占める割合である。⁵

DISCUSSION

Although these results provide no evidence in support of a radiation-aging hypothesis, the lack of correlation between radiation exposure and "age pigment" indices does not, by itself, negate the hypothesis. Several alternatives are possible. Firstly, it may be that only some of the time-induced changes of normal aging are mimicked by radiation. Secondly, it might be that the quality as well as the volume of pigment must be taken into account. Finally, of course, it may be that "age pigments" are themselves only fortuitously associated with aging and not a "true" part of the process, as is suggested by the fact that tocopherol deficiency as well as several other environmental manipulations may increase the apparent pigment accumulation as measured by tinctorial tests.⁶ However, an intrinsic process might well be accelerated by environmental factors even though it could not be completely arrested by the most ideal environment. Taken together with the lack of radiation life-shortening in species, such as *Campanularia flexuosa*⁷ and *Drosophila melanogaster*,⁸ consisting essentially of fixed postmitotic cells and more general arguments presented elsewhere,⁹ the present results thus appear to be inconsistent with the general hypothesis of radiation-accelerated aging.

The differences between Oriental and American subjects is possibly due to dietary contrasts between the two groups, particularly in their respective intakes of lipids containing unsaturated fatty acids, (whose auto-oxidation products appear to be a major component of the age pigment lipids)¹⁰ and possibly to tocopherol deficiency in the Japanese subjects. The antioxidant properties of α -tocopherol both in vivo and in vitro seem likely to afford some protection against intracellular rancidification.^{11,12}

SUMMARY

No significant differences were observed in the total amount of myocardial age pigment of a group of survivors of the Nagasaki atomic bomb and a control group. Average pigment ratios did not vary significantly as a function of distance from the hypocenter. There was no significant change in the percent of heart volume occupied by myocardium in the survivors.

The rate of accumulation of age pigment in both survivors and control subjects was nearly double that of the American sample tested earlier: 0.046%/year vs 0.028%/year ($0.05 > P > 0.025$; $t = 2.33$).

考 察

これらの結果は、放射線性加齢の仮定を支持する何らの証拠も提供しないが、放射線被曝と「老化色素」指標との間に相関関係がないこと自体は、その仮定を否定するものではない。他にいくつかのことが考えられる。第1に、時の経過による通常加齢現象の中のある種のものみに類似した変化が放射線によって生ずるかもしれない。第2に、色素の量のみでなく、質も考慮しなければならないかもしれない。最後に、「老化色素」と加齢との関係は偶然にすぎず、真に加齢現象の一部ではないかもしれないことももちろん考えられ、このことを示すものとして、染色試験における色素蓄積量測定値が、トコフェロール欠乏やその他数種の環境的要因によって増大するかもしれないと認められることがあげられる。⁶ しかしながら、ある内因性の過程があって、それがたとえ最も理想的な環境下において完全に阻止できないものであっても、種々の環境的要因によって促進されることがあるかもしれない。*Campanularia flexuosa*⁷あるいはキイロショウジョウバエ⁸などの種族について主として細胞分裂後の細胞を固定して研究した結果やその他のもっと全般的な議論を展開した報告⁹で、放射線による寿命短縮が認められていないこととあわせて、今回の結果は、放射線による加齢現象についての一般的な仮説と一致しないようである。

東洋人とアメリカ人との間の相違は、両者の間の食事の差、特に、不飽和脂肪酸を含む脂質の摂取量の差(不飽和脂肪酸の自働酸化物は老化色素脂質の主要成分と思われる)¹⁰ならびにおそらく日本人におけるトコフェロール欠乏によるものと思われる。生体内および試験管内で α -トコフェロールの示す抗酸化性質は、細胞内における酸敗をある程度防いでいると思われる。^{11,12}

要 約

長崎の原爆被爆者と対照群を検査した結果、心筋老化色素総量に有意な差は認められなかった。平均色素比には、爆心地からの距離による有意な変化は認められなかった。被爆者においては、心臓体積の中で心筋が占める割合に有意な変化は認められなかった。

老化色素の蓄積率は、被爆者と対照者のいずれにおいても、さきに調査したアメリカ人と比べると約2倍であった：年間0.046%に対して年間0.028% ($0.05 > P > 0.025$; $t = 2.33$)。

REFERENCES

参考文献

1. SACHER G: A comparative analysis of radiation lethality in mammals exposed at constant average intensity for the duration of life. J Nat Cancer Inst 15:1125-44, 1955
(生存中に一定の平均強度の放射線を受けた哺乳動物における放射線致死率の比較解析)
2. FURTH J, UPTON AC, et al: Some late effects in mice of ionizing radiation from an experimental nuclear detonation. Radiology 63: 562-9, 1954
(核爆発実験による電離放射線の照射を受けたマウスに現われた遅発性影響)
3. FILLA G: The aging process and carcinogenesis. Proc NY Acad Sci 71:1124-40, 1958
(加齢過程と癌発生)
4. HENSAW P, STAPLETON G, RILEY ER: The biologic effects of pile radiations. Radiology 49:349-59, 1947
(原子炉放射線の生物学的影響)
5. STREHLER BL, MARK DD, et al: Rate and magnitude of age pigment accumulation in the human myocardium. J Geront 14:430-9, 1959
(ヒト心筋における老化色素蓄積の速度と量)
6. SULKIN NM, SRIVANIJ P: Experimental production of senile pigments in the nerve cells of young rats. J Geront 15:2-9, 1960
(若いラットの神経細胞における老化色素の実験的誘発)
7. STREHLER BL, CROWELL S: Studies on comparative physiology of aging. 1. Function vs age of *Campanularia flexuosa*. Gerontologia 5:1-8, 1961
(加齢の比較生理学的調査. 1. *Campanularia flexuosa* の年齢と機能)
8. STREHLER BL: Studies on comparative physiology of aging. 2. On the mechanism of temperature life-shortening in *Drosophila melanogaster*. J Geront 16:2-12, 1961
(加齢の比較生理学的調査. 2. キイロショウジョウバエにおける温度による寿命短縮の機序)
9. STREHLER BL: Origin and comparisons of the effects of time and high-energy radiation on living systems. Quart Rev Biol 34:117-42, 1959
(時間および高エネルギー放射線照射の生体組織における影響の起源および比較)
10. MILDVAN AS, STREHLER BL: Fluorescent lipids from heart age pigment. Fed Proc 19:231, 1960
(心臓老化色素の蛍光的脂質)
11. TAPPEL AL: Inhibition of lipids peroxidation in mitochondria by vitamin E. Arch Biochem Biophys 80:333, 1959
(ビタミン E による糸粒体の脂質過剰酸化の阻止)
12. BARBER AA, WILBUR KM: The effect of X-irradiation on the antioxidant activity of mammalian tissues. Radiat Res 10:167-75, 1959
(X線照射が哺乳動物組織の抗酸化活動に及ぼす影響)
13. WALKER HM, LEV J: Statistical Inference. New York, Henry Holt, 1953. p 390
(統計学的推論)