

CHROMOSOME ABERRATIONS AND MALIGNANT DISEASE
AMONG ATOMIC BOMB SURVIVORS, HIROSHIMA – NAGASAKI

原爆被爆生存者における
染色体異常および悪性疾患，広島・長崎

ARTHUR D. BLOOM, M.D.
YASUO NAKAGOME, M.D.
AKIO A. AWA, Sc.D. 阿波章夫
SHOTARO NERIISHI, M.D. 鍊石昇太郎



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業績報告書集は、ABCCの日本人および日本人専門職員、顧問、評議会、政府や民間の関係諸団体の要求に答え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常の誌上発表に代るものではない。

CHROMOSOME ABERRATIONS AND MALIGNANT DISEASE
AMONG ATOMIC BOMB SURVIVORS, HIROSHIMA – NAGASAKI

原爆被爆生存者における
染色体異常および悪性疾患，広島・長崎

ARTHUR D. BLOOM, M.D.
YASUO NAKAGOME, M.D.
AKIO A. AWA, Sc.D. 阿波章夫
SHOTARO NERIISHI, M.D. 鍊石昇太郎



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

CONTENTS

目次

Summary	要約	1
Introduction	緒言	1
Methods and Results	方法および結果	2
Discussion	考察	4
References	参考文献	5

A paper based on this report was presented at the American Public Health Association Meeting, Symposium on Radiation Induced Disease, Philadelphia, 12 November 1969

この報告に基づく発表は、1969年11月12日、Philadelphia市で開催の米国公衆衛生学会の放射線誘発性疾患に関するシンポジウムにおいて行なわれた。

Approved 承認 26 March 1970

CHROMOSOME ABERRATIONS AND MALIGNANT DISEASE AMONG ATOMIC BOMB SURVIVORS, HIROSHIMA — NAGASAKI

原爆被爆生存者における
染色体異常および悪性疾患，広島・長崎

ARTHUR D. BLOOM, M.D.^{1†}; YASUO NAKAGOME, M.D.¹; AKIO A. AWA, Sc.D. (阿波章夫)²
SHOTARO NERIISHI, M.D. (鍊石昇太郎)²

Department of Human Genetics, University of Michigan Medical School,¹ and ABCC Department of Clinical Laboratories²
Michigan 大学医学部人類遺伝学教室¹ および ABCC 臨床検査部²

SUMMARY: Evidence is presented that (1) A-bomb survivors have many residual chromosome aberrations from their exposure, (2) about 50% of all persons exposed to over 100 rad may be expected to harbor these aberrations, (3) they are capable of producing distinct subpopulations of cytogenetically aberrant cells in vivo, and (4) the proportion of aberrant cells is dose and age dependent. While these aberrations per se are not indicative of any "radiation induced disease," their potential relationship to neoplasia is important. The long-term, continued medical and cytogenetic surveillance of the A-bomb survivors will hopefully tell whether or not induced aberrations, whether viral, drug, or radiation produced, are of biological importance to man.

要約 本報告では次の所見を報告した：1) 原爆被爆生存者には、放射線被曝による多くの残留染色体異常が認められる；2) 100 rad 以上の放射線を受けた者の約50%には、これらの異常があると予想される；3) これらの異常細胞は、生体内に細胞遺伝学的異常を示す明確な細胞集団を形成する能力をもっている；4) 異常細胞の割合は、線量および年齢に依存する。これらの異常自体は「放射線誘発性疾患」の存在を示すものではないが、これらの異常と新生物形成との潜在的関係は重要である。長期にわたり、原爆被爆生存者に関する医学的および細胞遺伝学的調査を継続することによって、誘発性異常の原因がウイルス、薬品あるいは放射線のいずれであれ、その異常が人体にとって生物学的に重要であるか否かが明らかになることが期待される。

INTRODUCTION

While the precise nature of the relationship between neoplasia and chromosomal abnormalities is not known, it has long been hypothesized that a relationship does exist. In 1914, Boveri first suggested that there is a chromosomal basis for the transformation of a cell from normal to malignant.¹ In 1928, the somatic mutation theory of the origin of tumors was described by Bauer.² This theory included both gene and chromosomal mutations in

緒言

新生物形成と染色体異常との間の関係についての特質は精密にはわかっていないが、かなり以前から両者の間には関係があると考えられていた。1914年、Boveriは正常細胞の悪性細胞への転換には染色体が基盤となることを初めて示唆した。¹ 1928年には、腫瘍発生の体細胞突然変異説が Bauer によって発表された。² この学説には、新生物の発生機序として遺伝子と染色体との両者の突然

† Consultant to ABCC
ABCC 顧問

the genesis of neoplasia. More recently, Fialkow has suggested that malignant transformation produced by oncogenic viruses, ionizing radiations, and tumor-producing chemicals may be mediated by chromosomal aberrations; or, alternatively, that if the chromosomal changes per se are not oncogenic, they may in some as yet unknown fashion potentiate malignant transformation by other agents such as viruses or radiations.³

The kinds of chromosomal aberrations that have been described in tumors of man include those of both number and structure. In an individual tumor, there may be a wide range in chromosome number, though one or two major cell lines usually predominate. Similarly, many different types of structural alterations of the chromosomes may also be seen, though the presence of a specific marker chromosome in a tumor cell line is suggestive evidence for the clonal origin of some tumors. The presence of a long arm deletion of a G-group chromosome in chronic myelogenous leukemia cells (the Philadelphia 1 chromosome) is perhaps the best example of a marker chromosome in a malignant disease of man.⁴ Other evidence of the clonal nature of some neoplasia comes from consistent glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) differences between tumor cells and normal cells of the same tissue.

We have, then, considerable evidence in man for the presence of chromosomal abnormalities in tumor cells. The question may be asked: do chromosomal aberrations, of number or structure, result from the malignant process; or do they antedate the development of a malignant cell line? We now know that, as in experimentally irradiated mammals, human populations exposed to high doses of ionizing radiation have an increased incidence of tumors of several tissues. In particular, among the Hiroshima and Nagasaki A-bomb survivors, the incidence of tumors of the thyroid has now been shown to be increased, as the incidence of leukemia was earlier. We also know that in man, as in other species, ionizing radiations induce somatic mutations, which are sometimes detectable in the form of chromosome breaks and rearrangements.

METHODS AND RESULTS

It seemed to us that the populations of Hiroshima and Nagasaki might provide a model by which the types and frequencies of detectable somatic mutations might be correlated in a prospective manner with the development of clinical disease. To that end, we have in recent years begun to screen cytogenetically all available heavily exposed persons in those cities, using the peripheral blood culture technique. By obtaining data on the frequencies of aberrations found in the circulating lympho-

変異が含まれていた。さらに最近になって、造腫瘍性ウイルス、電離放射線、または造腫瘍性化学薬品で誘発される悪性変換が染色体異常の仲介によるものかもしれない；あるいは、染色体異常は、それ自体では、造腫瘍性でないとしても、なんらかの未知の機序を通じて、ウイルスや放射線などのような他の因子による悪性変換を可能にするのかもしれないのではないかと Fialkow は示唆している。³

ヒトの腫瘍に認められている染色体異常の種類には、数的異常と構造的異常との両者がある。個々の腫瘍においては、染色体数に広い幅のみられる場合もあるが、一つまたは二つの主細胞系統が主体であることが多い。同様にして、染色体に種々の構造異常もみられることもあるが、ある種の腫瘍では、腫瘍細胞系に特異的な標識染色体が存在することは、ある種の腫瘍が clone より発生するということの証拠を示唆するものである。慢性骨髄性白血病細胞にみられる G 染色体の長腕欠失 (Philadelphia 1 染色体) は、ヒトにおける悪性疾患に対する標識染色体の最もよい例であろう。⁴ ある種の新生物に clone 性の存在することの他の証拠としては、同一組織中の腫瘍細胞と正常細胞との間に 6 磷酸ブドウ糖脱水素酵素 (G 6 PD) の差が一貫して認められることが挙げられる。

このように、腫瘍細胞に染色体異常が存在することを示す証拠をヒトにおいてかなり認めることができる。そこで、次のような疑問が生ずる：染色体の数的および構造的異常は悪性疾患過程の結果であるか；または、悪性細胞系統の発生に先行するものであるか。現在のところ多量の電離放射線照射を受けたヒトの集団では、実験的放射線照射を受けた哺乳動物の場合と同様に、いくつかの組織に腫瘍の発生率の増加することがわかっている。特に、広島・長崎の原爆被爆者には、さきに白血病発生率の増加がみられ、現在では甲状腺の腫瘍発生率も増加していることが認められている。なお、ヒトでは、他の動物におけると同様に電離放射線照射によって体細胞に突然変異の生ずることがわかっているが、これは染色体切断や染色体再配列として検知できることがある。

方法および結果

広島・長崎における人口集団について観察すれば、検出可能な体細胞突然変異の種類や頻度と、今後発生する臨床的な疾患との間の関係が求め得られるようなモデルを得ることができるのではないかと考えられる。この目的で、両市における強度被曝者についての末梢血液培養法による細胞遺伝学的スクリーニング調査を最近開始した。血流中のリンパ球における染色体異常の頻度についての資料を求めることにより、この両市の人口集団における

cytes, we might expect to have a measure of the load of aberrations to which these populations are subject, our assumption being that if lymphocyte aberrations are present, chromosomal aberrations are also likely to be present in the cells of many other tissues.

Several interesting findings have now emerged from these cytogenetic studies. First, there are clear age differences in the frequencies and types of observed aberrations. Among 94 younger survivors exposed to more than 100 rad, the frequency of cells with dicentrics, rings, and fragments, was 0.5%, almost precisely the same as it was among 77 older exposed persons. And yet, the proportion of cells with balanced translocations or pericentric inversions was only 0.1% in the younger subjects, aged 20 to 49, and 1.1% among those between 50 and 88 years of age.^{5,6} Furthermore, a recent review of 248 additional exposed persons shows a steady increase in the frequency of cells with dicentrics, rings, and acentric fragments with an increase in dose in subjects estimated to have been exposed to doses ranging from 100 to over 700 rad.⁷

In considering the implications of these findings, one must remember that the lymphocyte population under study is extremely heterogenous, and that the observed frequency of aberrations will be very much dependent on the ability of aberration-bearing lymphocytes to respond to antigenic stimulation *in vitro*. On the other hand, it appears that repeated antigenic stimulation *in vivo* has resulted in the *in vivo* proliferation in older persons of cells with translocations and inversions, increasing the proportion of such cells by a factor of 10 in the older subjects.

Evidence in support of this idea comes from the finding of *in vivo* clone formation in 12 survivors exposed to an estimated 104 to 717 rad. These persons had multiple blood cells with the same chromosomal rearrangements, indicating that at the time of irradiation a precursor cell was damaged cytogenetically, and that it nonetheless went on to produce a distinct subpopulation of cells, each of which had the same abnormality. This is not to say that these subpopulations, or clones, are in any way "malignant." It simply indicates that cytogenetically aberrant cells do sometimes have the capacity to proliferate *in vivo*. We are now attempting to develop an *in vitro* system which will enable us to mimic this phenomenon experimentally, by cloning of single, isolated lymphocytes.⁸

To return to the matter of the dose-cytogenetic response curve. Bender was one of the first investigators to propose use of the frequency of observed aberrations in human cells as a biological dosimeter after acute radiation exposure.⁹ This suggestion was found by Buckton et al

染色体異常の負荷量の測定が可能であると考え、すなわち、リンパ球に異常があれば、その他の多くの組織にも染色体異常が存在する可能性があるかと仮定できる。

この細胞遺伝学的調査では、すでにくつつかの興味ある所見が求められた。まず、染色体異常の頻度や種類に明白な年齢差がある。100 rad 以上の線量を受けた若年齢被爆者94例の調査で、二動原体染色体、環状染色体および染色体断片の頻度は0.5%で、高齢被爆者77例における頻度とほとんど同一であった。しかしながら、平衡型転座あるいは逆位を示す細胞の割合は、20歳から49歳の若年齢群で0.1%にすぎないのに対して、50歳から88歳の者では1.1%であった。^{5,6} また、さらに248例の被爆者についての最近の検討では、推定線量が100 rad から700 rad 以上の範囲の被爆者に二動原体染色体、環状染色体および染色体断片を有する細胞の頻度が線量とともに増加することが認められている。⁷

これらの所見の意義について考察を加えるにあたっては、検査の対象となるリンパ球集団が非常に非均質的であることと、観察される異常の頻度も、染色体異常を有するリンパ球が試験管内で抗原刺激に対して反応する能力に非常に左右されることを忘れてはならない。他方、生体内における反復的な抗原刺激の結果、高齢者では転座や逆位を有する細胞の生体内増殖が生じて、この種の細胞の割合が10倍になったように思われる。

このような概念を支持する所見としては、推定線量が104 rad から717 rad の被爆者12例において生体内 clone 形成が認められている。これらの例では、多くの血球に同一の染色体再配列があり、このことは、幹細胞が、放射線照射により細胞遺伝学的傷害を受けたが、そのまま増殖を続け、同一の異常を有する細胞群を形成したことを示すと思われる。この細胞群、すなわち、clone が「悪性」であるということでは決してない。細胞遺伝学的異常を有する細胞も生体内で増殖する能力をもつことがあることを示しているにすぎない。この現象を試験管内で実験的に再現するため、単一のリンパ球を分離培養して clone を形成する技法の開発に現在努力している。⁸

細胞遺伝学的影響の線量反応曲線の問題に再び触れてみたい。Bender は、「急性」放射線被曝後の生物学的な線量指標としてヒトの細胞にみられる染色体異常の頻度を利用することを初めて提案した研究者のひとりである。⁹ Buckton らは、急性放射線全身照射後の二動原体染色体

to be applicable for dicentric frequencies after acute whole-body irradiation.¹⁰ Our data, and that of Sasaki and Miyata,¹¹ indicate that even long after an acute exposure, the residual frequency of observed aberrations varies with the dose. That is, it may ultimately be possible to estimate an individual's exposure dose by the observed frequency of aberrant cells. This is a preliminary impression, and far more data will be required to make this a reasonably precise approach.

Thus, we have now documented, and are continuing to document, the cytogenetic effects of the A-bombs on the survivors. In general, we may say, on the basis of past experience, that from 35% to 62% of all subjects estimated to have been exposed to more than 100 rad will have, of 100 cells examined, at least one or two cells with complex chromosomal breaks or rearrangements. The proportion of cytogenetically abnormal cells in a given individual will vary with age at the time of exposure, and with the exposure dose.

In the future, individuals with neoplasia will doubtless be found in both the exposed and nonexposed groups. Having characterized both groups cytogenetically, we may be able to determine whether or not there is a significant increase in neoplasia among those with aberrations. This prospective approach may well eventually tell us whether or not the few observed, cytogenetically aberrant lymphocytes do reflect a real increase in the body burden of somatic mutations, mutations which may be in the direction of neoplastic transformation.

DISCUSSION

The phenomenon of *in vitro*, viral-induced transformation is of pertinence.¹² By transformation of fibroblasts is meant: (1) morphologic change of fibroblasts and their colonies, for example, to epithelial cells; (2) loss of contact inhibition in fibroblast cultures; (3) the Warburg phenomenon, or accumulation of pyruvate and other evidence of anaerobiasis; and (4) the capacity, at times, of transformed cells to produce tumors in experimental animals. Using human fibroblasts of skin origin, Todaro and Green have shown that spontaneous transformation is rare.¹³ However, when fibroblasts from Down's syndrome patients who have a high risk of leukemia, are cultured, transformation is increased at least ten-fold. Further, the preliminary evidence is that individuals with an increase of both chromosome breakage and malignancy, as in Fanconi's anemia, have a similar increased tendency towards fibroblastic transformation when their cultivated cells are exposed to Simian virus 40.

の頻度にこれが適用できることを認めた。¹⁰ われわれの資料ならびに佐々木および宮田¹¹の資料では、急性照射から長時間経過後においても観察される残留染色体異常の頻度が線量によって異なることが認められた。すなわち、異常細胞の観察頻度に基づいて個人の被曝線量を推定することがいずれは可能になるかもしれない。これは予備的な検討から得た印象であり、これが合理的正確な方法となるためにはさらに多量の資料を必要とする。

このようにして、被爆者に対する原爆の細胞遺伝学的影響を記録してきたし、また、現在も引き続き記録しつつある。今までの経験によれば、全般的には、推定線量が100 rad以上の者の35%ないし62%は、100個の細胞の検査で複雑な染色体切断または再配列を有する細胞が少なくとも1, 2個は認められるといえるであろう。各例における細胞遺伝学的異常細胞の割合は、被爆時の年齢および被曝線量によって異なる。

今後、被爆者と非被爆者とのいずれの群においても新生物が発見されるであろう。すでに、これら両群の細胞遺伝学的特徴は決定されているので、染色体異常を有する者に新生物が有意に増加するか否かの解明ができるかもしれない。このような将来に向かって行なう調査によって、細胞遺伝学的異常を有する白血球が少数認められていることが、体細胞突然変異の人体における負荷量の増加を実際に反映するものであるか否かがいずれ判明すると思われる。また、これらの突然変異は、新生物性転換の方向に作用するものかもしれない。

考 察

この問題の考察にあたっては、試験管内のウイルス誘発性転換も無関係ではない。¹² 線維芽細胞の転換とは、次のとおりである: (1) 線維芽細胞およびその集団の、たとえば、上皮性細胞への転換; (2) 線維芽細胞培養における接触抑制の消失; (3) Warburg 現象, すなわち、焦性ブドウ酸塩蓄積や嫌気性を示す所見; および (4) 実験動物において転換細胞に時として腫瘍を発生する能力があることである。Todaro および Green は、人体の皮膚線維芽細胞を用いた研究で自然転換はまれであることを認めている。¹³ しかし、白血病発生率が高いといわれる Down 症候群患者の線維芽細胞培養では、転換の頻度が少なくとも10倍に増加している。なお、Fanconi 貧血などのように、染色体異常と悪性疾患がともに増加している例の予備的な所見によれば、培養細胞を Simian ウィルス40にさらすと線維芽細胞転換の傾向が増大することが認められている。

It is not at all clear that this technique will prove to be applicable to large scale screening of humans for the detection of a premalignant state. It seems to us likely that the sensitivity of host cells to virogeny may depend on many factors completely unrelated to either the presence of a consistent karyotypic abnormality in all cells or to the presence in lymphocytes or fibroblasts of isolated, structural aberrations. Certainly, the presence of these lymphocyte aberrations in exposed survivors of Hiroshima and Nagasaki cannot be expected to effect the capacity of their skin fibroblasts to transform.

悪性疾患の前駆状態の検出のためにこの技法を大規模な集団スクリーニングに適用できるか否かは不明である。宿主細胞のウイルスに対する感受性は、すべての細胞における一貫した核型異常の存在、または、リンパ球や線維芽細胞における散発的な構造異常の存在とは全く無関係の多くの因子に左右される可能性があると思われる。広島・長崎の被爆者のリンパ球に染色体異常があるために皮膚線維芽細胞の転換能に影響があるとは考えられない。

REFERENCES

参考文献

1. BOVERI T: Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren. Jena, G. Fisher, 1914 (English translation, BOVERI M: The Origin of Malignant Tumors. Baltimore, Williams and Wilkins, 1929) (悪性腫瘍の起源)
2. BAUER KH: Mutationstheorie der Geschwulst-Entstehung; Übergang von Körperzellen in Geschwulstzellen durch Gen-Änderung. Berlin, Springer Verlag, 1928 (腫瘍発生の突然変異説)
3. FIALKOW PJ: Immunologic oncogenesis. Blood 30:388, 1967 (免疫学的腫瘍発生)
4. NOWELL PC, HUNGERFORD DA: A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. Science 132:1497, 1960 (人間の慢性骨髄性白血病における微小染色体)
5. BLOOM AD, NERIISHI S, et al: Cytogenetic investigation of survivors of the atomic bombs, Hiroshima and Nagasaki. Lancet 2:672, 1966 (広島および長崎の原爆被爆者における細胞遺伝学的研究)
6. BLOOM AD, AWA AA, et al: Chromosome aberrations in leucocytes of older survivors of the atomic bombs, Hiroshima and Nagasaki. Lancet 2:802, 1967 (高齢原爆被爆者の白血球にみられる染色体異常, 広島・長崎)
7. AWA AA: Manuscript in preparation (準備中)
8. CHOI KW, BLOOM AD: Cloning human lymphocytes: A new technique. Manuscript in preparation (ヒトのリンパ球の clone 形成; 新しい技法, 準備中)
9. BENDER MA, GOOCH PC: Types and rates of X-ray-induced chromosome aberrations in human blood. Proc Nat Acad Sci USA 48:522, 1962 (ヒトの血液における放射線誘発性染色体異常の種類と頻度)
10. BUCKTON KE, LANGLANDS AO, et al: Chromosome aberrations following partial- and whole-body X-irradiation in man. Dose response relationships. In *Human Radiation Cytogenetics*, ed by EVANS HJ, COURT BROWN WM, McLEAN AS, Amsterdam, North Holland, 1967. p 122 (ヒトにおける部分および全身X線照射後の染色体異常, 線量反応との関係)
11. SASAKI MS, MIYATA H: Biological dosimetry in atomic bomb survivors. Nature 220:1189, 1968 (原爆被爆者における生物学的線量測定)
12. BLACK PH: The oncogenic DNA viruses: A review of in vitro transformation studies. Ann Rev Microbiol 22:391, 1968 (造腫瘍性DNAウイルス: 試験管内転換に関する研究の検討)
13. TODARO GJ, MARTIN GM: Increased susceptibility of Down's syndrome fibroblasts to transformation by SV40. Proc Soc Exp Biol Med 124:1232, 1967 (SV40による転換に対するDown症候群患者の線維芽細胞感受性の増大)