

A SEARCH FOR MUTATIONS AFFECTING PROTEIN STRUCTURE IN
CHILDREN OF PROXIMALLY AND DISTALLY EXPOSED ATOMIC
BOMB SURVIVORS: PRELIMINARY REPORT

近距離並びに遠距離原爆被爆者の子供の蛋白質構造に
影響を与える突然変異の調査
予報

JAMES V. NEEL, Ph.D., M.D., Sc.D.
CHIYOKO SATOH, Ph.D. 佐藤千代子
HOWARD B. HAMILTON, M.D.
MASANORI OTAKE, Ph.D. 大竹正徳
KAZUAKI GORIKI, M.D. 郷力和明
TAKESHI KAGEOKA, M.D. 影岡武士
MIKIO FUJITA, M.D. 藤田幹雄
SHOTARO NERIISHI, M.D. 鎌石昇太郎
JUN-ICHI ASAKAWA, M.Sc. 浅川順一



RADIATION EFFECTS RESEARCH FOUNDATION
財団法人 放射線影響研究所
A cooperative Japan - United States Research Organization
日米共同研究機関

RERF TECHNICAL REPORT SERIES

放影研業績報告書集

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

放影研業績報告書は、日米専門職員、顧問、諮問機関の要求に応えるための日英両語による公式報告記録である。業績報告書は決して通例の誌上発表論文に代わるものではない。

The Radiation Effects Research Foundation (formerly ABCC) was established in April 1975 as a private nonprofit Japanese Foundation, supported equally by the Government of Japan through the Ministry of Health and Welfare, and the Government of the United States through the National Academy of Sciences under contract with the Department of Energy.

放射線影響研究所(元ABCC)は、昭和50年4月1日に公益法人として発足した。その経費は日米両政府の平等分担とし、日本は厚生省の補助金、米国はエネルギー省との契約に基づく米国学士院の補助金とをもって充てる。



**A SEARCH FOR MUTATIONS AFFECTING PROTEIN STRUCTURE IN CHILDREN
OF PROXIMALLY AND DISTALLY EXPOSED ATOMIC BOMB SURVIVORS
PRELIMINARY REPORT**

近距離並びに遠距離原爆被爆者の子供の蛋白質構造に
影響を与える突然変異の調査
予報

JAMES V. NEEL, Ph.D., M.D., Sc.D.¹; CHIYOKO SATOH, Ph.D. (佐藤千代子)²;
HOWARD B. HAMILTON, M.D.²; MASANORI OTAKE, Ph.D. (大竹正徳)³;
KAZUAKI GORIKI, M.D. (郷力和明)²; TAKESHI KAGEOKA, M.D. (影岡武士)²;
MIKIO FUJITA, M.D. (藤田幹雄)²; SHOTARO NERIISHI, M.D. (鎌石昇太郎)⁴;
JUN-ICHI ASAKAWA, M.Sc. (浅川順一)²

*Department of Human Genetics, University of Michigan¹; RERF Departments of
Clinical Laboratories², Epidemiology & Statistics³, and Medicine⁴*

Michigan 大学人類遺伝学部¹, 放射線臨床検査部², 疫学統計部³ 及び臨床部⁴

SUMMARY

A total of 289,868 locus tests based on 28 different protein phenotypes, employing one-dimensional electrophoresis to detect variant proteins, has yielded one probable mutation in the offspring of 'proximally exposed' parents, who received an estimated average gonadal exposure dose of between 31 and 39 rem from the atomic bombs in Hiroshima and Nagasaki. There were no mutations in 208,196 locus tests involving children of 'distally exposed' parents, who had essentially no radiation exposure.

INTRODUCTION

Studies of the potential genetic effects of the atomic bombs have been in progress in Hiroshima and Nagasaki since 1946.¹⁻⁵ The first generation of studies was essentially morphological in nature. More recently, profiting from technological developments, studies have been undertaken at the cytogenetic,^{6,7} and biochemical⁸ levels. Presented here is an initial progress report on the results of the biochemical approach at the approximate midpoint of the study. The results show no statistically significant difference between the children of exposed and controls

要約

変異型蛋白質の検出を目的として、一次元電気泳動法を用いて28種類の蛋白質の表現型が検査された。広島と長崎における原爆によって、生殖腺に平均31-39remの被曝をしていると推定されている“近距離被爆者”から生まれた子供について合計289,868遺伝子座位のテストが行われ、その結果、おそらくは突然変異と考えられるものが1例発見された。実質的には放射線に被曝していない“遠距離被爆者”の子供については、208,196座位のテストが行われたが、突然変異は検出されなかった。

緒言

1946年から原子爆弾の遺伝学的影響の調査が広島と長崎で行われてきた。¹⁻⁵ この調査の第一段階は本質的には形態学的なものであった。その後、開発された技術を利用して細胞遺伝学^{6,7} 及び生化学⁸ レベルでの遺伝調査が行われるようになった。本報はほぼ中央点に至ったこの生化学的調査で得られた結果についての経過報告の第1報である。現時点では被爆者の子供と対照者の間に統計的有意差は

at this time, nor was it expected at this juncture in the study.⁹ In addition to the timeliness of a progress report, however, the present paper is dictated by three other considerations: 1) The current intense interest in the genetic effects of low-level ionizing radiation has prompted a complete reevaluation of 30 years of genetic studies on the effects of the A-bombs; the present data can be integrated into that treatment (report by Schull et al in preparation). 2) The control aspects of the data of this study can be combined with similar data from other studies, to yield a first direct estimate of the rate with which spontaneous mutation results in electrophoretic variants of proteins; this should be useful in planning the feasibility and magnitude of any other genetic studies of this type. 3) A wealth of data on biochemical variants in Japanese has accumulated during the past 7 years; this description should clear the way for the presentation of this information.

MATERIALS AND METHODS

The Populations

The subjects for this investigation were initially being drawn from the RERF F₁ Mortality Study, which is devoted to the mortality structure of a cohort of children born alive to 'proximally exposed' parents and two suitably matched control cohorts.^{4,5} As originally constituted, the former cohort is comprised of all children born between 1 May 1946 and 31 December 1958, one or both of whose parents were within 2,000 m from the hypocenter at the time of the A-bombs (ATB). One control cohort consists of children born during this same period to 'distally exposed' parents, one or both of whom were within either city ATB but beyond 2,500 m from the hypocenter (receiving essentially no radiation). The second control cohort consists of children born in the two cities during this same period, neither of whose parents were there ATB. The three cohorts number 18,946 children, 16,516 children, and 17,263 children, respectively. The departures from the numbers published earlier⁴ are due to a later reevaluation of the radiation exposure of some parents. The first cohort represents all the children answering to this description within that time frame but because of physical facts concerning the A-bomb, there was an excess of children from whom matching cohorts 2 and 3 could be selected. Only the first two of these three cohorts were drawn upon in the present study.

認められず、また、この調査のこの時点において有意差があるとは予測されていなかった。⁹ しかしながら、この経過報告は時宜を得たもので、次の3点を考慮して作成されたものである。すなわち、1) 低線量の電離放射線による遺伝学的影響に現在強い関心が寄せられており、これが30年にわたる原爆の遺伝学的影響の調査の総括的な再評価を促した。本報の資料を総括的な再評価に活用できる (Schullらの報告、作成中)。2) 本報の資料のうち対照者に関するものを他の調査から得られる同様の資料と統合して、電気泳動上の蛋白質変異体として現れる自然突然変異の出現率の最初の直接推定値を得ることができる。この推定値はこの種の遺伝学的調査の可能性や規模を評価する上で役立つものである。3) 日本人における生化学的変異体に関する多くの資料が過去7年間に蓄積されている。この記述は、その情報の提示に役立つものである。

材料及び方法

集団

本調査の対象者は最初、「近距離被爆者」から生産された子供と、適切に一致させた二つの対照者群^{4,5}から構成された放影研のF₁死亡率調査群から抽出された。設定基準によれば、被爆群は原爆時に爆心地から2,000 m以内の距離にいた者を両親若しくは片親にもち、1946年5月1日から1958年12月31日までに生まれたすべての子供から構成される。第一の対照者集団は両親若しくは片親が原爆時に広島若しくは長崎の市内にいたが爆心地から2,500 m以遠で被爆した(実質的には放射線に被曝していない)「遠距離被爆者」であって、被爆者群と同じ期間に生まれた子供で構成されている。第二の対照者集団は同期間に広島若しくは長崎市で生まれ、両親とも原爆時に市内にいなかった者から構成されている。これら三つの集団の人数はそれぞれ18,946人、16,516人、17,263人である。先に発表した人数⁴との相違は親の被曝線量をその後再評価したためである。第一の被爆集団は前述の期間に該当する子供全員であるが、原爆の物理的特性のため、第一群に対応する第二及び第三の対照集団の抽出に当たって過剰があった。これら3群のうち、最初の2群のみをこの調査の対象にした。

When this investigation was being planned, it quickly became apparent that given these numbers and the gonadal exposure to radiation of the proximally exposed, it was highly desirable to extend the first cohort to the fullest extent possible, together with a corresponding extension in the second (control) cohort. Accordingly, in April 1976, an extension of the cohorts born to proximally and distally exposed parents was initiated. This is being accomplished by establishing a roster of children born after 1958 to parents included in the Life Span Study (LSS) extended sample which embraces all individuals within Hiroshima and Nagasaki cities ATB, who were alive and resident on 1 October 1950 with honseki in the city or defined surrounding areas. The vital statistics of the members of this study, including births, are being updated for the LSS extended sample on a 5-year cycle by reference to the official Japanese family records (koseki). From the progress to date, it is estimated that some 8,000 additional children born to proximally exposed parents will be identified; an age-matched cohort of equal size selected from the children born to distally exposed parents is being assembled simultaneously. The total number of children identified as born to proximally exposed parents will thus be approximately 27,000, with a similar number available born to distally exposed. The children on whom the present findings are based are drawn from both the original sample and its extension.

The Test Systems

The protocol calls for obtaining a blood sample from as many children in each of these two cohorts as possible and examining by starch gel electrophoresis a series of proteins of the erythrocytes and plasma with respect to genetic variants, particularly uncommon variants (allele frequency < 0.01). The well known genetic polymorphisms encountered for some of these proteins are by definition not the type of variant under consideration. The rationale for concentrating on the uncommon variants is that individual uncommon variants are, relatively speaking, much more apt to have a recent (mutational) origin than variants whose phenotype occurs in polymorphic proportions. The initial number of proteins being surveyed was 22; at present this has increased to 28. The proteins are as follows:

本調査の企画段階において、これらの対象者の数及び近距離被爆者の生殖腺線量から考えて、第一群を可能な限り拡大して第二群(対照者)もそれに対応して拡大することが非常に望ましいことが間もなく明らかになった。そこで、1976年4月に近距離及び遠距離被爆者から生まれた子供の集団の拡大が開始された。この集団拡大作業ではまず、原爆時に広島・長崎両市にあり、1950年10月1日現在生存している、市内若しくは周辺限定区域内に本籍を有している者全員を包含する寿命調査拡大集団の構成者から、1958年以降に生まれた子供の名簿を作成した。寿命調査拡大集団に関する出生などの動態は、5年周期で行う戸籍照合で判明している。今日までの経過では、近距離被爆者から生まれた子供が更に約8,000人確認されると推定される。遠距離被爆者から生まれた子供から抽出した同規模の年齢が一致した集団も同時に抽出されている。近距離被爆者から生まれたことが確認された子供の総数は約27,000人になり、遠距離被爆者から生まれた子供も同数になる。ここに提示する所見は最初定められた集団及び拡大集団の双方から得られたものである。

検査項目

研究計画書によれば、これら二つの集団に属する子供のできるだけ多くから血液標本を入手し、赤血球及び血漿の蛋白質について澱粉ゲル電気泳動法で検査し、遺伝学的変異体、特にまれな変異体(対立遺伝子頻度 < 0.01)の検出に努める。これら検査蛋白質の幾つかに見られるよく知られている遺伝的多型を示す変異体は、定義上本調査で考慮する変異体ではない。まれな変異体に重点を置いたのは、個々のまれな変異体は、相対的に言って多型現象の頻度で現われるような変異体よりも最近の突然変異によって生じた可能性が強いからである。対象とした蛋白質の数は当初22であったが、現在は28に増加している。蛋白質は次のようなものである。

Plasma proteins — Albumin (ALB), transferrin (TF), haptoglobin (HP) and ceruloplasmin (CRPL). Types were determined by starch gel electrophoresis, according to previously referenced techniques,¹⁰ supplemented by acrylamide gel techniques where deemed necessary.

Erythrocyte proteins — The following erythrocyte proteins were examined for variants: Hemoglobin A₁ (HBA₁), hemoglobin A₂ (HBA₂), acid phosphatase₁ (ACP₁), adenosine deaminase (ADA), adenylate kinase₁ (AK₁), carbonic anhydrase₁ (CA₁), carbonic anhydrase₂ (CA₂), esterase A, B, and D (ESA, ESB, ESD), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD), isocitrate dehydrogenase (ICD), lactate dehydrogenase (LDH), malate dehydrogenase (MDH), nucleoside phosphorylase (NP), peptidase A and B, (PEPA, PEPB), 6 phosphogluconate dehydrogenase (6PGD), phosphoglucomutase I and II (PGM₁ and PGM₂), glucose phosphate isomerase (GPI), triosephosphate isomerase (TPI), glutamic-pyruvic transaminase (GPT), and glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT). The basic technique was again starch gel electrophoresis.

For 18 of the proteins references to our techniques are given elsewhere.¹¹⁻¹³ However, data on six of these enzymes (ESA, ESB, ESD, G6PD, GOT, GPT) are being reported from this laboratory for the first time. These have been studied by the techniques described by others.¹⁴ Although polyacrylamide gel is rapidly replacing starch gel as the gel of choice for electrophoresis, it has seemed important to maintain constancy of technique throughout the study, and no change is contemplated. The laboratory technicians were unaware of the radiation history of the parents at the time of the laboratory studies.

Family Studies

Since electromorphs encountered in the population in the frequencies of genetic polymorphisms (allele frequency ≥ 0.01) are individually poor candidates for mutation, family studies of these were not routinely undertaken. It is realized that with this convention some rare variants that happen to have the same electrophoretic mobility as a well-known genetic

血漿蛋白質 — Albumin (ALB), transferrin (TF), haptoglobin (HP), ceruloplasmin (CRPL). 蛋白質の型は既報の技法¹⁰により澱粉ゲル電気泳動法を用いて決定し、必要な場合はアクリルアミド・ゲル法を用いて補完した。

赤血球蛋白質一次の赤血球蛋白質について変異体を調べた。Hemoglobin A₁ (HBA₁), hemoglobin A₂ (HBA₂), acid phosphatase₁ (ACP₁), adenosine deaminase (ADA), adenylate kinase₁ (AK₁), carbonic anhydrase₁ (CA₁), carbonic anhydrase₂ (CA₂), esterase A, B 及び D (ESA, ESB, ESD), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD), isocitrate dehydrogenase (ICD), lactate dehydrogenase (LDH), malate dehydrogenase (MDH), nucleoside phosphorylase (NP), peptidase A 及び B (PEPA, PEPB), 6 phosphogluconate dehydrogenase (6PGD), phosphoglucomutase I 及び II (PGM₁ 及び PGM₂), glucose phosphate isomerase (GPI), triosephosphate isomerase (TPI), glutamic-pyruvic transaminase (GPT), glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT). ここでも基本的技法は澱粉ゲル電気泳動法であった。

このうち18種類の蛋白質については電気泳動技法に関して別の報告があるが、¹¹⁻¹³ 残る6種 (ESA, ESB, ESD, G6PD, GOT, GPT) に関する資料は本研究室から初めて報告されるものである。これらは別に記述されている技法¹⁴を用いて行われた。一般的には電気泳動法に用いるゲルとしては澱粉ゲルからポリアクリルアミドゲルに急速に代替されているが、本調査においては、終始一貫した技法を採ることが重要だと思われるので、技法の変更は考えていない。検査技師には検査時に両親の被曝歴を知らせなかった。

家族調査

遺伝的多型現象の頻度 (対立遺伝子頻度 ≥ 0.01) で集団中に現れる電気泳動上の変異型 (electromorph) は、個々では突然変異を示す好対象ではないのでこれらの型に関しての家族調査は通常は行わなかった。そのため、よく知られた遺伝的多型現象の変異体と同じ電気泳動上の移動度をもつまれな変異体が

polymorphism are being overlooked. Whenever a rare electromorph was encountered, the possibility of a mutational origin in the preceding generation was investigated. Its occurrence was verified in a new sample and studies of both parents and available siblings were undertaken. When neither parent exhibited the variant, the appropriate serological studies were undertaken with respect to possible discrepancies between stated and biological parentage. The systems available for this purpose are: ABO, MN, Rh (C, D, E, c, e), Kell, and Duffy. In addition, the following polymorphisms encountered in the 28 above-enumerated test systems are useful for this purpose: HP types 1 and 2, ACP₁ types A and B, 6PGD types A and C, PGM₁ types 1, 2, and 7, ADA types 1 and 2, ESD types 1 and 2, and GPT types 1 and 2.

Magnitude of Study

From a previous study on the cytogenetic effects of the A-bombs,⁶ it was estimated in 1972 that attrition in the two cohorts under study, from death, permanent or temporary absence from the two cities, and refusal to participate in the study would amount to some 40%. It was further estimated that for an additional 20% of the children, one or both parents would be deceased or absent from the city, thus preventing the study of both parents necessary to a rigorous treatment of mutation rates. Finally, it could be anticipated that in a relatively few cases, one or both potentially available parents of a child found to have a variant would elect not to participate in the study, thus also usually vitiating the usefulness of the variant as a test of mutation. Total attrition was accordingly estimated at approximately 60%. In the final report on this study a detailed analysis of the attrition, with particular reference to possible sources of bias will be presented. At this time it is noted only that attrition will be at least as high as anticipated. Thus, if the study is continued until all the children born to proximally exposed parents and the matched group born to distally exposed have been examined, and assuming an average of 25 proteins examined per participant in the study, each of the two panels of children on completion of the study should yield approximately 500,000 locus tests (each of the proteins studied reflects the composition of either two or four cistrons, except for sex-linked traits).

もしあれば、それは見落されることになる。まれな電気泳動上の変異型 (electromorph) を検出したときは、必ず前の世代の突然変異起源の可能性を調べた。その変異型を新しい標本を用いて確認し、両親と調査可能な兄弟姉妹についても検査を行った。両親とも変異体を示さないときは、戸籍上の両親と生物学上の両親に違いがないか否かを適当な血清学的検査で調べた。この目的で使用されるものは ABO, MN, Rh (C, D, E, c, e), Kell 及び Duffy 血液型である。更に、先に挙げた28種の蛋白質のうち、多型性を示す次の蛋白質がこの目的に有効である。すなわち、HP 1型及び2型、ACP₁A型及びB型、6PGD A型及びC型、PGM₁ 1型、2型及び7型、ADA 1型及び2型、ESD 1型及び2型、GPT 1型及び2型。

調査の規模

原爆の細胞遺伝学的影響に関する先の調査⁶から、調査対象である2集団における死亡、両市からの永続的あるいは一時的不在、及び調査への参加拒否による脱落は、約40%にのぼると1972年に推定された。更に、子供の20%については、その両親若しくは片親が死亡したり、市から転出しており、突然変異率を厳密に調べるために必要な両親の調査ができないであろうと推定された。最後に、比較的少数の例においては、変異体を有していることが認められた子供の両親若しくは片親が調査に参加しないことも予測され、突然変異の判定に用いられる変異体の有効性が損なわれることが考えられた。したがって、総脱落率は約60%と推定された。本調査の最終報告で、対象者の脱落、特に偏りの原因について詳細な解析を行う。現時点では、少なくとも予測された程度の脱落はあるであろうとだけ述べておく。したがって、近距離被爆者の子供とそれに一致した遠距離被爆者の子供全員を調べるまで調査を続け、参加者1名につき平均25種の蛋白質を調べるとした場合、調査が完了するときには二つの群の子供はそれぞれ約500,000座位のテストを受けることになる(検査する蛋白質は、伴性形質を除いて、2若しくは4のシストロン組成を反映する)。

Dosimetry

Based on meticulous histories of survivors' locations ATB and the physical facts concerning the A-bombs, an effort has been made to assign a body surface dose to each survivor.^{15,16} The error attached to these individual estimates is considerable because of the understandable uncertainty of many subjects as to their exact position and posture ATB. In both cities the radiation received consisted of a mixture of neutrons and gamma rays, but the neutron component was relatively much greater in Hiroshima. Since only one parent needed to be proximally exposed for the child to be included in the cohort born to the proximally exposed, there are among the parents contributing to this cohort some with no radiation exposure. There are also a few parents within 2,000 m from the hypocenter for whom for technical reasons a dose cannot be calculated; they have been assigned the average dose ascribed to those persons within 2,000 m for whom doses can be calculated. The average body surface dose in rad (gamma and neutron) to all the parents whose children are in the cohort born to the proximally exposed and who have been studied thus far is: Hiroshima fathers—31.0 γ and 10.6 n; Hiroshima mothers—40.2 γ and 13.3 n; Nagasaki fathers—46.5 γ and 0.8 n; Nagasaki mothers—60.0 γ and 0.8 n. The distance-dose curves for the A-bombs indicate a surface dose of less than 1 rad of gamma radiation for distally exposed parents.

From the genetic standpoint, our concern is with the effective gonadal dose. Two questions arise in estimating the latter: 1) what relative biological effectiveness (RBE) should be assigned to the neutron component? and 2) what was the average attenuation of the neutron and gamma surface exposure en route to the gonad? With respect to the first question, on the basis of the genetic effects in a "specific locus" test system of acute neutron doses of the order of 50-100 rad on mouse spermatogonia and mature oocytes,¹⁷ we earlier adopted an RBE of 5 for the neutron component of the A-bombs.⁵ There is now increasing evidence that at low acute neutron exposures, the RBE for genetic endpoints is substantially greater than 5. Although there are no data at very low neutron doses from the mouse "specific locus" test system, other genetic endpoints in the mouse suggest that at acute neutron doses below 5 rad, the RBE is as high as 20.¹⁸ Under certain assumptions, similar or

線量測定

原爆時の被爆者の位置についての詳細な情報と原爆に関する物理的特性に基づいて、各被爆者の体表線量の測定に努力が傾注された。^{15,16} 多くの被爆者の原爆時の正確な位置及び状態は不正確であると考えられるので、これらの推定個人線量の誤差はかなり大きいものである。両市とも、受けた放射線は中性子線とガンマ線の混合であったが、中性子線の割合は広島の方がかなり多かった。片親のみが近距離で被爆しておればその子供は近距離被爆者から生まれた子供の群に含まれるので、この群の子供の親の中には放射線を受けていない者もある。また、爆心地から2,000 m以内で被爆しながら、技術上の理由で線量が算出できない親も少数いる。これらについては、線量が算出できた2,000 m以内被爆者の平均線量を当てた。近距離被爆者の子供で現在までに調査を行った者の親全員の平均体表線量(rad) (ガンマ線及び中性子線)は次のようである。すなわち、広島の子親—ガンマ線31.0、中性子線10.6、広島の母親—ガンマ線40.2、中性子線13.3、長崎の子親—ガンマ線46.5、中性子線0.8、長崎の母親—ガンマ線60.0、中性子線0.8。原爆の距離—線量曲線によると、遠距離被爆者である親のガンマ線の体表線量は1 rad未満であることを示している。

遺伝学的見地からいえば、有効生殖腺線量が我々の関心事である。生殖腺線量を推定する上で二つの疑問が起こってくる。すなわち、1) 中性子線の相対的生物学的効果比(RBE)の値をどのくらいとするか、2) 中性子線及びガンマ線の体表線量が生殖腺に到達するまでにどのくらい減衰するか。第一の疑問に関しては、マウスの精原細胞及び成熟した卵母細胞に対する50-100 radの急性中性子線量の「特定座位」テストにおける遺伝学的影響¹⁷を基に、以前に原爆の中性子線成分のRBEを5とした。⁵ 低線量の急性中性子線被曝においては、最終的な遺伝学的影響を考えると、RBEは実質的には5より高いことを示す証拠が増加してきている。マウスの「特定座位」テストからは、非常に低い中性子線についての資料は得られていないが、マウスのほかの最終的な遺伝学的影響を考慮すると5 rad未満の急性中性子線量のRBEは20にも達することが示唆されている。¹⁸ ある仮定の

even higher RBE at low neutron dosages can be invoked from the Japanese experience for several somatic cell endpoints which may be viewed as manifestations of somatic cell mutations, such as acute leukemia¹⁹ and chromosome aberrations in leukocytes.²⁰ In Hiroshima and Nagasaki, the distribution with reference to neutron dose of the proximally exposed parents whose children have been included in this study thus far is: 1-4 rad, 12,474 persons; 5-9 rad, 4,163 persons; 10-19 rad, 2,216 persons; 20-49 rad, 1,822 persons; 50-99 rad, 767 persons; 100+ rad, 595 persons. With this preponderance of low neutron doses, it seems appropriate to analyze the data not only on the assumption of an RBE of 5 but also of 10.

With respect to the question of attenuation, the dose of radiation received by the gonads is very significantly less than the surface dose because of absorption in the intervening tissues. This average attenuation, as determined from studies on models of the human body, is different for gamma and neutron radiation and for females and males. On the basis of attenuation tables prepared by Kerr,²¹ the mean gonadal doses are estimated as follows: Hiroshima fathers - 20.7 γ and 4.2 n; Hiroshima mothers - 17.1 γ and 1.6 n; Nagasaki fathers - 30.3 γ and 0.3 n; Nagasaki mothers - 24.1 γ and 0.1 n. If an RBE of 5 is applied to the neutron component and the average weighted according to the relative contributions of Hiroshima and Nagasaki to the total sample, the per locus dose represented in the children of these parents (average of the parents) is 30.8 rem. At an RBE of 10, the dose is 38.6 rem. Kerr's tables apply to adults; since many parents of the children in this study were themselves children ATB, attenuation is undoubtedly overestimated and these are conservative dose estimates.

This mean gonadal exposure is without question by a significant margin the largest average dose received by any contemporary group of this size in the world. Furthermore, since the exposure was instantaneous in nature rather than chronic, it was the type of greatest genetic significance. On the other hand, by the standards of experimental radiation genetics, this is a rather modest exposure. For instance, in the extensive work on mice, the most frequently employed surface dose has been 300 rem of gamma

もとは、日本の被爆例から考えると急性白血病¹⁹及び白血球の染色体異常²⁰などの体細胞突然変異の現れと見られる若干の体細胞に対する最終的な影響についても、同様の若しくはそれ以上のRBEの値が算出できる。広島・長崎で子供が現在のところ本調査の対象者になっている近距離被爆者の中性子線量に関する分布は1-4 rad 12,474人、5-9 rad 4,163人、10-19 rad 2,216人、20-49 rad 1,822人、50-99 rad 767人、100+ rad 595人である。このように中性子線量が低い者が多いので、RBEの値を5と仮定するだけでなく10と仮定して資料を解析するのが適当と思われる。

減衰に関しては、生殖腺が受ける放射線量は、中間組織に吸収されるために体表線量より極めて有意に低い。この平均減衰は人体モデルによる調査で測定されたように、ガンマ線と中性子線、女性と男性とで異なっている。Kerrの作成した減衰表²¹から、平均生殖腺線量は次のように推定される。すなわち、広島の父親-ガンマ線20.7、中性子線4.2、広島の母親-ガンマ線17.1、中性子線1.6、長崎の父親-ガンマ線30.3、中性子線0.3、長崎の母親-ガンマ線24.1、中性子線0.1。中性子線成分のRBEの値を5とし、総標本に対して広島・長崎の標本が占める相対的寄与に従って平均を加重すると、これらの親(親の平均)の線量は、検査された子供の1座位当たりについて30.8remである。RBE値を10とすると、線量は38.6remとなる。Kerrの表は成人に適用されるものである。本調査の対象者となっている子供の親は原爆時には子供であったため、減衰は明らかに過大に推定されており、したがって、推定された線量は実際よりも低く算定されている。

この平均生殖腺線量は現在ある世界中の同様の規模の集団の中で群を抜いて最も高い平均線量であることは疑いない。更に、被曝は慢性的ではなく瞬間的であったので、遺伝学的意義が非常に大きなものである。一方実験放射線遺伝学の標準からすると、この被曝の程度はかなり低いものである。例えば、マウスを用いて行われた広範な実験において、最もよく用いられた体表線量はガンマ線で300remであり、

radiation, virtually all of which presumably reached the gonads. By contrast, 49% of the parents in the proximally exposed group received amounts of body surface radiation estimated at less than 10 rem (i.e., in the range commonly referred to as low-level). It should, then, at this juncture be emphasized that the order of magnitude of this dose, and, by extrapolation from experimental mammalian radiation genetics,²² the low probability that this study would yield statistically significant findings, was recognized from the outset. Given the urgent need for human data, however, there was never any real doubt of the wisdom of pursuing this rather ambitious project, especially since, as noted in the introduction, these data can be combined with the findings of other studies on this population to develop a "best estimate" of the genetic significance of this experience.

Chronology

This study was first proposed to the various committees responsible for the follow-up studies at ABCC in Hiroshima and Nagasaki in 1970. In 1972 authorization was given for a Pilot Study, to be limited to blood samples already reaching laboratories at ABCC through other approved protocols. These were for the most part samples from exposed survivors, which of course would not bear on the question of the genetic effects of the A-bombs, but there were some samples from children of proximally and distally exposed parents being examined in a search for chromosomal abnormalities. Those children were being drawn from the roster of the F₁ Mortality Study which formed the original basis for the present study. This Pilot Study extended from 1972 to 1975. The findings in the exposed survivors have already been presented.¹⁰⁻¹³ During 1972-75, 1,818 samples from children were processed. Beginning in 1975, following the reorganization of ABCC to RERF,²³ the biochemical study was gradually expanded, to the point where currently each year some 3,200 samples drawn from members of the two cohorts of children are being processed, plus the necessary repeat samples and samples for the family studies. This report encompasses all the electrophoretic data collected from the beginning of the study in 1972 until September 1979. It is emphasized that the investigation from start to finish is a prospective study, in that cohorts were established from birth records, as was true of the earlier genetic studies; ultimately we will account for each child in the cohort.

実質的にはそのすべてが生殖腺に到達すると考えられる。対照的に近距離被爆群の親の49%が、10rem未満(すなわち通常低線量域とされる線量)と推定される体表線量を受けていた。よって、この線量の規模と、他の哺乳動物の実験放射線遺伝学からの所見²²から判断すれば、本調査で統計学的に有意な所見が得られる可能性が少ないことは当初から認められていたことを強調しておかねばならない。しかし、人間に関する資料が早急に必要とされており、特に緒言で述べたように、これらの資料はこの集団の他の所見と統合して、原爆の遺伝学的意義の「最も良い推定」を得ることができるので、このやや野心的な調査を行うことの是非に関して疑いは全くなかった。

調査の歴史的背景

本調査は最初、広島・長崎のABCCにおける追跡調査に関する色々な委員会に対して1970年に提案された。1972年に、試験調査が承認され、他の承認された研究計画に基づいてABCCの検査室に既に入手されていた血液標本に限って行うことが認められた。これらの血液標本のほとんどは被爆者から得られたもので、当然原爆の遺伝学的影響についての問題を解決するものではなかった。しかし、染色体異常の有無を検査するために近距離及び遠距離被爆者の子供から採取した標本が若干あった。これらの子供はF₁死亡率調査の名簿から抽出されたもので、本調査の最初の基本集団を構成した。この試験調査は1972年から1975年まで実施された。被爆者の所見については既に発表されている。¹⁰⁻¹³ 1972年から1975年までの期間に1,818人の子供から採取した血液標本が検査された。ABCCから放影研への改組に従い、²³ 1975年から生化学調査が徐々に拡大され、現在では二つの子供の集団から1年間に3,200例の検査を行うまでになり、更に再検査の必要な標本、家族調査の標本も検査されている。本報は調査開始時の1972年から1979年9月までに採取された血液標本の電気泳動検査による資料すべてを対象にしている。この調査は開始から終了まで、集団が初期の遺伝学調査と同様に出生記録を基に作られた点で、前向き調査である。最終的には集団内の子供について検査することになる。

RESULTS

The data are presented in Table 1, where the number of different electromorphs of each protein which have been encountered in the study and the total number of all such variants is given. The findings with respect to the well-known genetic polymorphisms of HP, ACP₁, 6PGD, PGM₁, ADA, GOT, ESD, and GPT will not be presented here. Detailed description of these variants will be forthcoming in due time. A variant with the mobility of TF D_{Chi} occurs in this population as a "rare variant" ($P=0.0059$). Since TF D_{Chi} is a widespread polymorphism in Mongoloid peoples, the variant was not considered an appropriate candidate for studies of mutation and is not included in Table 1. A previously unrecognized variant of CRPL, termed CRPL C_{NGS1}, found in the course of this study to occur in polymorphic proportions ($P=0.0128$), is also not included in the variant count. The data are suitable for a rigorous treatment of mutation rates only when both parents of a child with a variant have been examined. Table 1 lists the frequency of such family studies, by system. For each system, an estimate of the number of proteins which have been effectively screened for mutation is obtained by multiplying the fraction of variants for which family studies are complete by the total number of determinations. By this convention, all the determinations of a protein for which no variants have been encountered are credited as contributing to locus tests. Bearing in mind that several of the proteins tested are comprised of two genetically independent polypeptides and one exhibits sex-linked inheritance, it may be considered that thus far there have been 289,868 locus tests for mutation in the children of proximally exposed and 208,196 in the children of distally exposed. This is a conservative figure, since we have treated the poorly-understood esterase A bands as reflections of a single polypeptide.

The term 'exceptional child' (Table 1) is applied to a child neither of whose parents presents a variant observed in the child. It must be emphasized that in this study we are concerned with the acquisition of a new attribute; apparent losses of attributes, such as could be attributed to parental heterozygosity for a null variant, are not accepted as defining an exceptional child. Once clerical or laboratory error is excluded, by a repeat sample, there are two possible explanations of such children, namely, either mutation

結果

資料を表1に示し、調査で検出された各蛋白質の種類異なる電気泳動上の変異型 (electromorph) の数とそのような変異型の総数をあげた。HP, ACP₁, 6PGD, PGM₁, ADA, GOT, ESD及びGPTのようによく知られた遺伝学的多型現象に関する所見は本報では提示しなかった。これらの変異体についてはいずれ別に詳述する。TF D_{Chi}と同一の移動度を示す変異型はこの集団では「まれな変異型」の頻度 ($P=0.0059$) で現れた。TF D_{Chi}は東洋人種では広く多型現象として見られるので、この変異体は突然変異を調査するには適当とは思われなかった。よって表1には入れていない。CRPL C_{NGS1}と呼称され、以前には認められなかったCRPLの変異体が、本調査実施中に多型現象の頻度 ($P=0.0128$) で発見されたが、これも変異体として含めなかった。変異体を有する子供の両親とも検査した場合にのみ、突然変異率を厳密に検討するのに適した資料として扱うことにする。表1にそのような家族調査の頻度を、蛋白質の種類別に列挙した。各蛋白質について、突然変異を探知するために有効にスクリーニングされた蛋白質の推定数は、家族調査の完了した変異体の割合と総検査数を掛けたものである。この方法によって、変異体は見られない蛋白質の測定結果はすべて座位テストに寄与したものと計算した。検査を行った蛋白質の中には二つの遺伝的に独立のポリペプチドから成るものが幾つかあり、伴性遺伝を示すものも一つあることを考慮すると、現在までに近距離被爆者の子供の289,868座位、遠距離被爆者の子供の208,196座位の突然変異テストを行ったことになる。遺伝的背景がよく理解されていない esterase Aバンドは一つのポリペプチドを反映したものと取り扱ったので、この数は控え目の推定値である。

「例外児」という言葉(表1)は、その子供に見られた変異型を両親のどちらもが有していない場合に用いる。本調査では新しい特性の取得(移動度が正常型とは違う新しいバンドとして認められる変異型)を対象にしていることを強調しておかねばならない。したがって、両親がnull変異型に対して異型接合性であることが原因と考えられるバンドの欠失は例外児を決定する上での対象とはしない。事務上若しくは検査上の誤りを再検査によって除外すると、その

TABLE 1 A SUMMARY OF THE DATA ON THE SEARCH FOR MUTATIONS AFFECTING THE STRUCTURE OF 30 POLYPEPTIDES, IN THE CHILDREN OF PROXIMALLY AND DISTALLY EXPOSED PARENTS

表1 近距離被爆者及び遠距離被爆者の子供における30のポリペプチド構造に影響を与える突然変異に関する調査の資料の総括

System	Symbols	E.C. No.	Cohort born to proximally exposed parents						Cohort born to distally exposed parents					
			Total deter- minations	Variants		Variants both P ₁ studied	Equivalent locus tests	Excep- tional children	Total deter- minations	Variants		Variants both P ₁ studied	Equivalent locus tests	Excep- tional children
				No. of types	Total					No. of types	Total			
Haptoglobin	HP		12830	3	5	3	7698	0	9530	1	1	1	9530	0
Transferrin	TF		13034	11	57	39	8918	0	9686	10	49	28	5535	0
Ceruloplasmin	CRPL		13008	3	9	9	13008	0	9672	1	4	2	4836	0
Albumin	ALB		13040	3	21	15	9314	0	9688	3	14	11	7612	1
Hemoglobin A ₁ *	HBA ₁		26076	2	4	4	26076	0	19388	1	1	0	9694	0
Hemoglobin A ₂	HBA ₂		13036	0	0	0	13036	0	9682	0	0	0	9682	0
Adenosine deminase	ADA	3.5.4.4.	13040	1	1	0	0	0	9682	0	0	0	9682	0
6-phosphoglucona- te dehydrogenase	6PGD	1.1.1.44	13004	2	6	5	10837	0	9682	2	6	2	3227	0
Adenylate kinase ₁	AK ₁	2.7.4.3.	12100	0	0	0	12100	0	9534	0	0	0	9534	0
Phosphoglucomutase ₁	PGM ₁	2.7.5.1.	12004	4	37	28	9084	0	9628	6	25	17	6547	0
Phosphoglucomutase ₂	PGM ₂	2.7.5.1.	13036	1	1	1	13036	0	9688	2	5	3	5813	0
Acid phosphatase ₁	ACP ₁	3.1.3.2.	12040	1	1	1	12040	0	8862	0	0	0	8862	0
Triosephosphate isomerase	TPI	5.3.1.1.	11366	2	2	2	11366	0	9124	2	2	2	9124	0
Nucleoside phosphorylase	NP	2.4.2.1.	11362	2	10	6	6817	0	9120	1	5	4	7296	0
Esterase B	ESB	3.1.1.1.	10522	0	0	0	10522	0	8288	0	0	0	8288	0
Esterase D	ESD	3.1.1.1.	11094	0	0	0	11094	0	8830	0	0	0	8830	0
Esterase A	ESA	3.1.1.1.	10768	1	3	3	10768	0	8550	2	3	3	8550	0
Peptidase A	PEPA	3.4.11.-	13032	1	6	3	6516	0	9678	1	5	3	5807	0
Peptidase B	PEPB	3.4.11.-	13042	2	10	9	11738	0	9694	1	6	3	4847	0
Glucose phos- phate isomerase	GPI	5.3.1.9.	13038	6	53	41	10086	1	9694	5	37	30	7860	0
Isocitrate dehydrogenase	ICD	1.1.1.42	13038	2	18	15	10865	0	9690	2	4	3	7268	0

TABLE 1 表 1 (Continued 続き)

System	Symbols	E.C. No.	Total deter- minations	Cohort born to proximally exposed parents					Cohort born to distally exposed parents					
				Variants		Variants both P ₁ studied	Equivalent locus tests	Excep- tional children	Total deter- minations	Variants		Variants both P ₁ studied	Equivalent locus tests	Excep- tional children
				No. of types	Total					No. of types	Total			
Lactate dehydrogenase	LDH	1.1.1.42	26028	3	3	2	17352	0	19340	0	0	0	19340	0
Malate dehydrogenase	MDH	1.1.1.37	13038	2	3	3	13038	0	9690	0	0	0	9690	0
Carbonic anhydrase ₁	CA ₁	4.2.1.1.	13008	3	10	9	11707	0	9646	1	1	1	9646	0
Carbonic anhydrase ₂	CA ₂	4.2.1.1.	13018	0	0	0	13018	0	9656	1	2	0	0	0
Glucose-6-phosphate dehydrogenase	G6PD	1.1.49	6853	2	11	3	1869	0	5438	2	10	8	4350	0
Glutamic oxaloacetic transaminase	GOT	2.6.1.1.	4536	1	10	9	4082	0	4588	1	14	11	3605	0
Glutamic pyruvic transaminase	GPT	2.6.1.2.	4530	3	14	12	3883	1	4568	3	16	11	3141	0
Total			354,521				289,868		270,316				208,196	

*Hemoglobin A₁ and A₂ are tetramers of two polypeptides, one of which is common to both proteins. Accordingly, for locus tests the α -polypeptide has been counted only in conjunction with hemoglobin A₁. The fact that the single variant of A₁ in the distal exposed is not seen in A₂ localizes this variant to the β -polypeptide and thus permits inclusion of the α -chain determinations for this segment of the data in the total.

Hemoglobin A₁ 及び A₂ は二つのポリペプチドの四量体であり、そのうち一つは双方の蛋白質に共通している。したがって座位テストでは hemoglobin A₁ のみに関連して α -ポリペプチドを計算した。遠距離被爆者に見られる A₁ の一つの変異体が A₂ では見られないということは、この変異体が β -ポリペプチドに帰属するものであることを示し、よって遠距離被爆者の HBA₁ のうち α -鎖をコードする遺伝子の部分は全遺伝子数の中に数えることができる。

or a discrepancy between parentage as known to the study and the true biological parentage. The steps to deal with the latter possibility were mentioned earlier. There were two exceptional children among the sample born to proximally exposed parents, and one among the sample born to the distally exposed. However, by virtue of the genetic typings, parental statements, and/or recourse to the official family records, either unrevealed adoption or other discrepancies between legal and biological parentage could be established for two of these exceptional children. Thus one apparent mutation remained. This involves a slowly migrating variant of GPT in a child of an exposed mother, unexposed father. There was no paternity exclusion by history or from typings for the 12 polymorphic genetic systems mentioned earlier. Based on the number of locus tests calculated above for this study, these findings correspond to mutation rates of 0.345×10^{-5} /locus/generation in the proximally exposed parents and zero in the distally exposed.

DISCUSSION

This study is directed at the detection of "point" as opposed to "chromosomal" mutation. The result of spontaneous point mutation may range from an amino acid substitution in a protein, with retention of normal or reduced function, to apparent complete absence of the protein, resulting in what is termed a null mutation. The basis for the latter can in turn range from amino acid substitutions incompatible with enzyme activity to actual physical loss from the genome of the locus encoding for the protein (i.e., a small deletion), or, theoretically, to mutation of a control element. Of the amino acid substitutions, roughly two-thirds will not alter the electrophoretic behavior of the protein, at least under the screening conditions employed in this study. The only extensive data currently available on the relative frequency with which spontaneous mutation in germinal tissue results in electrophoretic variants as opposed to nulls for enzymes is based on studies on *Drosophila melanogaster*,²⁴ where in a total of 1,658,308 locus tests equally distributed over 5 enzymes, 3 electromorphic and 17 null mutations were encountered. Thus, neglecting mutation resulting in synonymous changes in the code, for every electrophoretic variant identified as arising from spontaneous mutation there may be seven or eight other undetected mutations. With respect to radiation-induced mutations, the detailed studies on mutations at the *d* and *s* loci in the mouse

ような例外児に関しては二つの説明が可能である。すなわち、突然変異によるものか、調査した親と真の生物学上の親が異なっているためかである。後者の場合の取り扱い方については先に述べた。近距離被爆者の子供の中に2名、遠距離被爆者の子供の中に1名の例外児を認めた。しかしながら、遺伝学的型判定、親の陳述、ないしは戸籍簿の閲覧によって、これら例外児のうち2名について、1例は公表されてはいないが、養子であったこと、他の1例では戸籍上の親は生物学上の親ではなかったことが確認された。よって、1例が突然変異によるものと考えられた。これは被爆者の母と非被爆者の父から生まれた子供で、GPTの移動度の選い変異体であった。家族歴若しくは前述した12の遺伝的に多型な蛋白質についての型判定から父親が生物学的な父親ではないという所見はなかった。本調査のために算出した座位検査数からすると、これらの所見から突然変異率は近距離被爆者では 0.345×10^{-5} /座位/世代、遠距離被爆者では0となる。

考 察

本調査では染色体突然変異ではなく、点突然変異の検出を目的としている。自然点突然変異の結果は、正常機能を保持しているか若しくは減退しているが、機能を伴っている蛋白質内のアミノ酸置換から、null突然変異と呼ばれるような蛋白質の明らかな完全欠失までである。後者の基になるものとしては、アミノ酸置換の結果、酵素活性が消失するものから、蛋白質をコードしている座位がゲノムから物理的に欠失するもの(すなわち、小規模な欠失)、あるいは、理論的には調節要素の突然変異までである。少なくとも本調査におけるスクリーニング条件下においては、アミノ酸置換のおよそ3分の2は蛋白質の電気泳動上の移動度に変化を与えない。生殖組織における自然突然変異において、酵素のnull型の変異と電気泳動上の変異との間の相対的頻度に関して得ることのできる唯一の広範な資料はキイロショウジョウバエの調査²⁴に基づいたものである。その調査では五つの酵素について均等に分布した総数1,658,308座位のテストが行われ、電気泳動で検出される突然変異3例、null突然変異17例が検出された。したがって、暗号の同義変化となって現れる(すなわち同一アミノ酸をコードする)突然変異を無視しても、自然突然変異から起こったと確認された電気泳動的変異体の各々について、7-8個の他の探知されない突然変異があるものと思われる。放射線誘発性突然変異については、マウスの*d*及び*s*座位の突然変異に

suggest that the contribution of nulls, especially those due to small deletions, to the total spectrum of mutation may be even higher than the 5:1 cited above.²⁵⁻²⁷ The present approach might therefore be expected to detect only some 10%-15% of point mutations, yet clearly represents substantial progress in terms of precise and objective endpoints over previous morphological approaches.

Studies on experimental organisms have revealed significant differences in the frequency with which mutation is recovered in relation to such factors as stage of germ cell at time of irradiation and interval between exposure and reproduction. It accordingly seems necessary to acknowledge in specific fashion how heterogeneous these data are in the context of experimental radiation genetics. However, such heterogeneity will in the nature of things characterize exposed human populations so that, with the probable exception of the preponderance of women among the exposed, the heterogeneities in the Japanese situation will be duplicated in most human population exposures.

At this stage the data scarcely lend themselves to statistical manipulation. On the other hand, given the current interest in the topic, some 'face value' implications are inevitable. Two other efforts by ourselves²⁸ and one by Harris et al²⁹ have also failed to identify a single instance of spontaneous mutation resulting in an electromorph, the total number of locus tests in the four available series, including the controls of this study, totaling 546,557. On the other hand, five estimates of such mutation frequencies in tribal populations living under primitive conditions, based on an indirect approach, have ranged from 0.1×10^{-6} to 32×10^{-6} /locus/generation.³⁰ The lower estimate is clearly an outlier, based on a small sample from a large population which may be presumed to have expanded markedly in recent years. If that estimate is eliminated, the average of the remaining four estimates is 1.8×10^{-5} .

A discrepancy between the results of the direct and indirect approaches to estimating rates of mutation resulting in electrophoretic variants is emerging. Since the indirect approach has been largely based on tropical tribal populations and the direct on civilized populations in temperate zones, we must consider in addition to the

関する詳細な研究から、null,特に小規模の欠失によるものの突然変異全体に対する比率は前述した5:1よりも高いかもしれないことが示唆される。²⁵⁻²⁷したがって本調査の技法では、点突然変異のわずかに約10%-15%が探知されるにすぎないと予測されるが、以前の形態学的技法に比べ、正確で客観的な終点については明らかに実質的な進歩があった。

実験動物を用いた研究から、放射線照射時の生殖細胞の段階や、照射から生殖までの間隔によって突然変異の発現率に有意な差があることが明らかになっている。したがって、実験放射線遺伝学の見地からみると、我々の得た資料がいかにも異質なデータの混合したものであるかということ特定の方法で認めることが必要と思われる。しかし、そういった異質性は物の性質上、放射線に被曝した人間の集団を特徴づけるもので、おそらく被曝者に女性が多いということを除いては、日本の場合の異質性はほとんどの人間の集団被曝において同様に現れるであろう。

現段階では資料はほとんど統計的処理に供されないが、この問題に対する現在の関心にかんがみ、「表面上の価値」の意義について述べざるを得ない。著者らの二つの調査²⁸とHarrisらの調査,²⁹及び本調査の対照者を含む4集団の座位テストの総数は546,557にのぼるが、電気泳動上の変異型として現れるような自然突然変異は1例も認められなかった。一方、原始的生活をしている種族集団の突然変異の頻度を間接法によって推定した値が五つ報告されており、その値は 0.1×10^{-6} /座位/世代から 32×10^{-6} /座位/世代の間であった。³⁰低い方の推定値は、最近著しく拡大したと思われる大規模集団から抽出した少数の標本に基づいており、明らかに例外的である。この推定値を除外すると、残り四つの推定値の平均は 1.8×10^{-5} である。

電気泳動上の変異体となって現れるような突然変異の頻度を推定する場合に、直接法と間接法で結果に差が現れている。間接法では熱帯地方の種族集団、直接法は温帯地方の文明の進んだ集団を主として基盤としているので、間接法においては誤ったパラ

possibility that incorrect parameters have been used in the indirect estimates, the further possibility of real differences between the two types of populations. Clearly, however, the true rate of such mutation in civilized populations cannot be the zero presently issuing from the direct approach. The facts for now — giving greater weight to the results of the direct approach — are consistent with a spontaneous rate in the neighborhood of $0.3 - 0.5 \times 10^{-5}$ /locus/generation. Thus, the single probable mutation observed in the children born to the proximally exposed parents has a high probability of being unrelated to the radiation experience. Otherwise stated, there is no suggestion that the locus-rem exposure of between 8,956,921 (neutron RBE of 5) and 11,275,865 (neutron RBE of 10) estimated to obtain for the 'parental exposure' subset of the sample thus far examined has increased the mutation rate in these survivors but neither of course do the data exclude a doubling or even tripling of the expected rate. In this context we emphasize that we do not consider this study, or any of the other genetic studies on the children born to A-bomb survivors, as a test of the hypothesis that mutations were produced but rather as an effort to provide a responsible estimate of the magnitude of the genetic effects which must be presumed to have occurred.

The projected extensions of the study will considerably refine the inferences which can be drawn, but the very low control rates being encountered underline our initial concern⁹ that this study by itself would not yield significant differences between the two groups. On the other hand, even now the present data can be integrated into a cumulative treatment of all the genetic studies in Hiroshima and Nagasaki (report by Schull et al in preparation) and also indicate the magnitude of the effort required to evaluate the genetic impact of lesser exposures to radiation and the various chemical mutagens to which the human species is exposed.

メーターが用いられたかもしれないという可能性のほかに、この二つの集団の間に真の差異があるかもしれないという可能性も考慮しなくてはならない。しかし、文明の進んだ集団における実際の突然変異率は現在直接法で得られているような0ではあり得ないことは明らかである。直接法の結果を重視すると、現在のところ、実態は自然突然変異率約 $0.3 - 0.5 \times 10^{-5}$ /座位/世代に一致している。したがって、近距離被爆者の子供に見られた突然変異と思われる1例は放射線被曝と無関係である可能性が高い。換言すると、現在までに検査した被爆者の子供の群に推定された8,956,921rem(中性子線のRBEは5)と11,275,865rem(中性子線のRBEは10)の間の座位線量が、被爆者の突然変異率を増加させたという示唆はないが、むしろ資料は、期待率の2倍加、3倍加を除外するものではない。こういったことから、本調査や原爆被爆者から生まれた子供に関する他の遺伝学的調査は、突然変異が誘発されたという仮説の検定としてではなく、発現したと考えられる遺伝学的影響の規模について責任ある推定値を算出するための調査と考えられることを強調しておく。

調査を計画どおりに拡大すると、得られる推論がかなり精度の高いものになるであろうが、対照者における発現率が極めて低いことから、本調査はそれ自体では二つの集団の間の有意差を認めることはできないであろうという当初の懸念⁹が強調される。一方、現在でも本資料は広島・長崎のすべての遺伝学的調査(Schullらの報告、作成中)の総括作業に統合させることが可能であり、低線量の放射線被曝の遺伝学的影響や、人間が被曝している種々の化学的突然変異原の評価に必要とされる調査の規模を示している。

REFERENCES

参考文献

1. NEEL, JV, SCHULL WJ: The Effect of Exposure to the Atomic Bombs on Pregnancy Termination in Hiroshima and Nagasaki. NAS-NRC Publication 461. Washington, D.C., NAS-NRC, 1956. p241
2. SCHULL WJ, NEEL JV: Radiation and the sex ratio in man; sex ratio among children of atomic bombings suggests induced sex-linked lethal mutations. *Science* 128:343-8, 1958 (ABCC TR 21-59)
3. SCHULL WJ, NEEL JV, HASHIZUME A: Some further observation on the sex ratio among infants born to atomic bomb survivors. *Am J Hum Genet* 18:328-38, 1966 (ABCC TR 13-65)
4. KATO H, SCHULL WJ, NEEL JV: Survival in children of parents exposed to atomic bomb: A cohort type study. *Am J Hum Genet* 18:339-73, 1966 (ABCC TR 4-65)
5. NEEL JV, KATO H, SCHULL WJ: Mortality in the children of atomic bomb survivors and controls. *Genetics* 76:311-26, 1974 (ABCC TR 9-73)
6. AWA AA: Review of thirty years study of Hiroshima and Nagasaki atomic bomb survivors. II. Biological effects. B. Genetic Effects. 2. Cytogenetic Study. *J Radiat Res (Tokyo)* 16(Suppl): 75-81, 1975
7. AWA AA, HONDA T, OHTAKI K, NAKANO M, OTAKE M, HAMILTON HB: Cytogenetic study of the children of A-bomb survivors – a further report. *Jpn J Hum Genet* 23:290, 1978 (abstract)
8. NEEL JV, MOHRENWEISER H, SATOH C, HAMILTON HB: A consideration of two biochemical approaches to monitoring human populations for a change in germ cell mutation rates. In *Genetic Damage in Man Caused By Environmental Agents*, ed by Berg K. New York, Academic Press, 1979. pp 29-47 (RERF TR 4-77)
9. RERF: Research plan for RERF studies of the potential genetic effects of atomic radiation, Hiroshima and Nagasaki. RERF Research Protocol 4-75. pp 1-29
10. FERRELL RE, UEDA N, SATOH C, TANIS RJ, NEEL JV, HAMILTON HB, INAMIZU T, BABA K: The frequency in Japanese of genetic variants of 22 proteins. I. Albumin, ceruloplasmin, haptoglobin, and transferrin. *Ann Hum Genet* 40:407-18, 1977 (RERF TR 3-76)
11. UEDA N, SATOH C, TANIS RJ, FERRELL RE, KISHIMOTO S, NEEL, JV, HAMILTON HB, BABA K: op cit II. Carbonic anhydrase I, carbonic anhydrase II, lactate dehydrogenase, malate dehydrogenase, nucleoside phosphorylase, triose phosphate isomerase, hemoglobin A, and hemoglobin A₂. *Ann Hum Genet* 41:43-52, 1977 (RERF TR 4-76)
12. SATOH C, FERRELL RE, TANIS RJ, UEDA N, KISHIMOTO S, NEEL JV, HAMILTON HB, BABA K: op cit III. Phosphoglucomutase-1, phosphoglucomutase-2, 6-phosphogluconate dehydrogenase, adenylate kinase, and adenosine deaminase. *Ann Hum Genet* 41:169-83, 1977 (RERF TR 5-76)
13. TANIS RJ, UEDA N, SATOH C, FERRELL RE, KISHIMOTO S, NEEL JV, HAMILTON HB, OHNO N: op cit IV. Acid phosphatase, NADP-Isocitrate dehydrogenase, peptidase A, peptidase B, and phosphohexose isomerase. *Ann Hum Genet* 41:419-28, 1977 (RERF TR 6-76)
14. HARRIS H, HOPKINSON DA: Handbook of Enzyme Electrophoresis in Human Genetics. Amsterdam, North-Holland Publishing Co, 1976
15. HASHIZUME T, MARUYAMA T: Review of thirty years study of Hiroshima and Nagasaki atomic bomb survivors. I. Dosimetry. B. Physical dose estimates for A-bomb survivors – Studies at Chiba, Japan. *J Radiat Res (Tokyo)* 16(Suppl): 12-23, 1975
16. AUXIER JA: op cit I. Dosimetry. A. Physical dose estimates for A-bomb survivors – Studies at Oak Ridge. *J Radiat Res (Tokyo)* 16(Suppl):1-11, 1975

17. INTERNATIONAL COMMISSION ON RADIOLOGICAL PROTECTION: The RBE for High-LET Radiations with Respect to Mutagenesis. ICRP Report 18. Oxford, Pergamon Press, 1972. pp45
18. GRAHN D, FRYSTAK BH, LEE CHR: Genetic effects of low dose neutron irradiation. Environ Mutagen 1:159, 1979 (abstract)
19. ISHIMARU T, OTAKE M, ICHIMARU M: Dose-response relationship of neutrons and γ rays to leukemia incidence among atomic bomb survivors in Hiroshima and Nagasaki, by type of leukemia, 1950-71. Radiat Res 77:377-94, 1979 (RERF TR 14-77)
20. OTAKE M: Dose-response relationship of neutron and gamma rays to chromosomally aberrant cells among atomic bomb survivors in Hiroshima and Nagasaki. J Radiat Res 20:307-21, 1979 (RERF TR 19-78)
21. KERR GD: Organ dose estimates for the Japanese atomic bomb survivors. Health Phys 37:487-508, 1979
22. UNITED NATIONS SCIENTIFIC COMMITTEE ON THE EFFECTS OF ATOMIC RADIATION: Sources and Effects of Ionizing Radiation. New York, United Nations, 1977. p725
23. BEEBE GW: Reflections on the work of the Atomic Bomb Casualty Commission in Japan. Epidemiol Rev 1:184-210, 1979
24. MUKAI T, COCKERHAM CC: Spontaneous mutation rates at enzyme loci in *Drosophila melanogaster*. Proc Natl Acad Sci USA 74:2514-7, 1977
25. RUSSELL WL, RUSSELL LB: The genetic and phenotypic characteristics of radiation-induced mutations in mice. Radiat Res 1 (Suppl): 296-305, 1959
26. RUSSELL LB: Definition of functional units in a small chromosomal segment of the mouse and its use in interpreting the nature of radiation-induced mutations. Mutat Res 11:107-23, 1971
27. RUSSELL LB, RUSSELL WL, KELLY EM: Analysis of the albinolocus region of the mouse. I. Origin and viability. Genetics 91:127-39, 1979
28. NEEL JV, MOHRENWEISER H, MEISLER M: Data on the rate of spontaneous mutation at human loci encoding protein structure. Proc Natl Acad Sci USA, in press
29. HARRIS H, HOPKINSON DA, ROBSON EB: The incidence of rare alleles determining electrophoretic variants; Data on 43 enzyme loci in man. Ann Hum Genet 37:237-53, 1974
30. BHATIA KK, BLAKE NM, KIRK RL: The frequency of private electrophoretic variants in Australian aborigines and indirect estimates of mutation rate. Am J Hum Genet 31:731-40, 1979