

放射線生涯連続被曝による発癌リスクの実験的研究

Experimental study on cancer risk of continuous lifetime exposure to radiation

- 代表研究者 国立がんセンター研究所放射線研究部長 田ノ岡 宏
Chief, Radiobiology Div., National Cancer Center Res. Inst.
Hiroshi TANOOKA
- 協同研究者 放射線医学総合研究所生理病理研究部長 佐渡 敏彦
Chief, Physiology and Pathology Div., National Inst.
of Radiological Sci.
Toshihiko SADO
- 国立がんセンター研究所放射線研究部研究員 大津山 彰
Res. Assoc., Radiobiology Div., National Cancer Center Res. Inst.
Akira OOTSUYAMA

A unique dose-response for tumor induction was found following repeated beta-ray exposure of the mouse skin. The backs of mice were irradiated with ^{90}Sr - ^{90}Y beta rays three times weekly until appearance of tumors or death of mice. Tumor yield was 100% (tumors: squamous cell carcinomas, basal cell carcinomas, fibrosarcomas, and osteo-sarcomas) in response to doses of 2.5 ~11.8 Gy per exposure. This phenomenon was considered to represent dose saturation effect. In the course of reducing doses to 1.5, 0.75, and 0.5 Gy per exposure, a sudden delay of tumor emergence was observed. The length of time required for 50% tumor induction increased sharply for 1.5 Gy per exposure. With 0.75 Gy per exposure, no tumor was found until the end of the life span of mice, and with 0.5 Gy per exposure no tumor was found throughout the life span of mice. This threshold-like response for tumor induction provides clues for estimation of risk of continuous or repeated exposure of humans to ionizing radiation.

研究目的

放射線を連続して被曝したときの発癌リスクについての基礎資料は極めて少ない。特に連続被曝における発癌の線量効果については現在においても未知の部分が多い。ヒトの日常生活における放射線の発癌リスクは、このような連続被曝の基礎データをもとにして得られるべきものである。しかるに現在、用いられている放射線発癌リスクの評価は、1回被曝のデータをもとにして得られたものである。このような状況をふまえて、我々は実験動物の系で連続放射線被曝における線量・効果関係を求めることを第一の目的とした。この研究とは独立に、ドイツでも化学発癌剤による長期

連続投与による用量・効果関係に調べられ、発がん促進物質の用量・効果関係に閾値が存在することが Hecker らによって最近明らかにされはじめた。このことは、我々が取組んできたベータ線の発癌実験の結果と全く同じ様相を示すものであり、放射線のみならず化学物質を含めて連続被曝の場合に、生体は独特の反応を示すことを示唆している。このことを中心にした国際シンポジウムがこの10月にハイデルベルクで企画されている。本研究の目的の方向とまさに一致するものである。

研究経過

我々は、マウスの背中の皮膚を ^{90}Sr - ^{90}Y のベ-

タ線で照射し、その後で起こる発癌効果について実験を行ってきた。本年度以前に得られてきた結果を総括すると以下ようになる。

1) マウス（雌, ICR）1回照射では発癌しない。このとき線量を0~170 Gyの間くまなく埋めてテストしてきた。この点、ベータ線1回照射で皮膚発癌を起こすラットの場合と異なる。さらにヒトの皮膚癌は反復照射によってよく誘発されると言われるが、1回照射で誘発した例もあり、この問題はまだ決着がつかない。

2) ベータ線1回照射後、マウス皮膚組織細胞におけるDNA修復度をみるため、放射性チミジンを取込みDNA不定期合成を測定したところ、線量とともに増加する関係が得られた。すなわちベータ線を照射したマウス皮膚にDNA除去修復が起こっていることがわかった。さらにこの修復能は表皮細胞においてより強く働くことが示された。

3) マウスでは1回だけのベータ線照射(30 Gy)では発癌しないがその効果は長時間潜在し、化学発癌剤4NQOを微量(それだけでは発癌しない量)加えることによって発癌させうることを示した。このときのベータ線と4NQOの処理間隔は11日から408日にわたってとってある。ちなみにマウスの50%生存期間は我々の条件で700日であるので、上記の潜在効果は生涯の半分以上経っても持続されていることがわかる。

4) 1回照射で発癌しないマウスの皮膚に対して、反復してベータ線照射を続けた。週3回の頻度で1回2.5~11.8 Gyの線量を与え続けると、初めの180日は全く発癌がみられないが、そこを過ぎるころから急激に発癌し始め、500日ころまでに100%の発癌率に達した。このとき次のことが明らかにされた。

4-1) PGKモザイク体細胞マウスを用いて同様の照射で癌を発生させそのクローン性を調べる

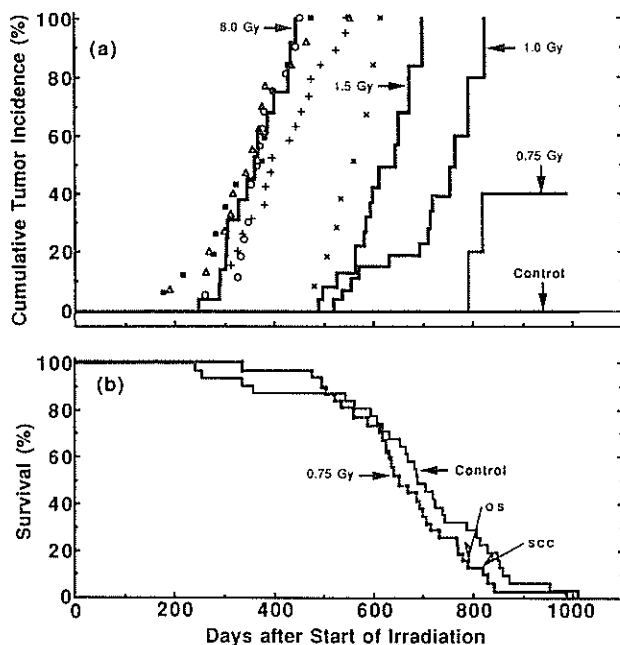


Fig. 1. (a) Time courses of cumulative incidences of tumors arising as a result of exposure three times weekly to β rays from ^{90}Sr - ^{90}Y over the lifetime analyzed the Kaplan-Meier method. Data obtained in the present experiment are shown by bold lines and data obtained in a previous experiment (18) are shown by symbols: (×) 1.5 Gy; (+) 2.5 Gy; (○) 3.5 Gy; (△) 4.7 Gy; and (■) 11.8 Gy per exposure. (b) Survival of untreated mice and mice treated with 0.75 Gy per exposure. SCC and OS indicate sacrifice of mice with a squamous cell carcinoma and osteosarcoma, respectively, at the time indicated.

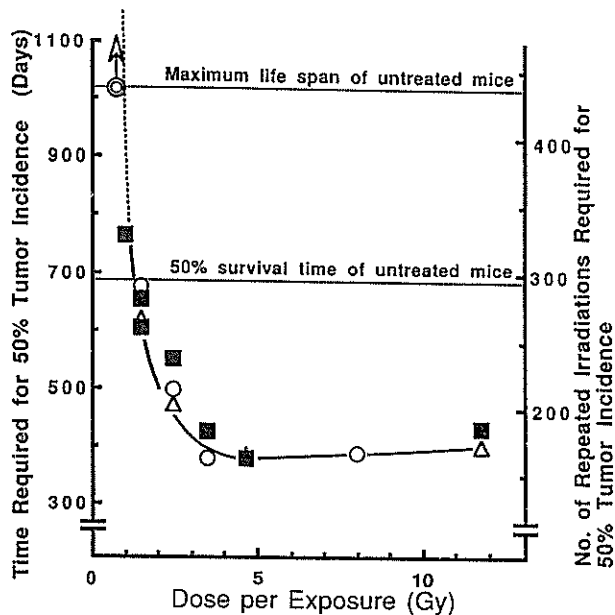


Fig. 2. Period and total number of repeated irradiations required for 50% tumor incidence plotted against the radiation dose per exposure. (■) Squamous cell carcinomas and basal cell carcinomas; (△) fibrosarcomas; (○) osteosarcomas; (◎) 50% incidence of skin and bone tumors induced by irradiation with 0.75 Gy per exposure was not reached within the maximum life span.

と、反復照射を受けて多くの組織細胞が発生要因に関わっているとみられるのかかわらず、発生した癌は単一細胞起源のクローンであった。

4-2) 発生した癌には扁平上皮癌、基底細胞癌、線維肉腫、骨肉腫が含まれていた。単一細胞起源は、この各々についてみられた。特に外部照射によって発生させた骨肉腫についての線量依存関係のデータは今までになかったものである。

4-3) 連続反復照射において1回あたりの線量を1.5 Gyに下げたときに、発癌開始時期が急激に200日もおくれた。しかしその後照射を続けるとともに発癌率は上昇し最終的には照射開始後約700日に100%に達した。このことから、2.5~11.8 Gyの間では飽和値に達していた発癌線量が1.5 Gyでは急激にその発癌効率が下がり、1回照射による発癌実験ではみられなかった新しい線量・効果関係が示唆された。さらに以上のことから1回1.5 Gyよりやや低いところに連続照射における発癌線量の閾値が存在することが示唆された。これらのことをもとにしてさらに低い線量を

用いて連続照射発癌実験を行うことが計画され実行された。

研究成果

ICR雌マウス(1群約30匹)を用意し生後約10週目から ^{90}Sr - ^{90}Y ベータ線によって照射を開始した。選んだ1回当たりの線量は0.5 Gy, 0.75 Gyであり、これに対してポジティブコントロールとして3 Gy群をおき、さらに非照射対照群をおいた。照射は週3回、一匹ずつのマウスを固定して行った。

照射を開始して200日目ころから3 Gy対照群は発癌し始め、先の実験結果を再現する発癌増加曲線を示し100%の発癌率に達した。0.5 Gy群、0.75 Gy群ではマウス50%生存期間700日を過ぎても発癌せず、マウス生存期間の最後、800日目ころになってやっと0.75 Gy群に2ヶの発癌(扁平上皮癌、骨肉腫)をみた。0.5 Gy群ではマウスの最後の1匹が自然死するまで発癌がみられなかった。

以上、反復照射による蓄積発癌率が時間とともに

に増加していく経過を Fig. 1 に示した。またマウスの生存率と時間の関係と同じ図に示した。ちなみに、背中にベータ線照射を受け続けたマウス個体の免疫能をリンパ球の Mitogen Response (PHA, conA, LPS), 混合リンパ球反応, キラー T 細胞誘導, Natural Killer 活性で測定してみると非照射マウスに比べて変化はなかった。すなわち連続照射によるマウス免疫能の低下は全くみられず, このことは 0.75 Gy 連続照射によるマウス生存率が非照射群の生存率と差がないこと (Fig. 1) を裏づけている。

以上の結果を総括するために与えた線量 (1 回当たり) と 50% 発癌までに要した日数との関係を Fig. 2 に示した。この図は 2.5~11.8 Gy の間では発癌率が飽和していること, 2.5 Gy 以下では発癌時期が急激に長くなり閾値様の反応を示すことを良く表している。

今後の課題と発展

今後に残された課題は多く, 重要な問題を多く含んでいる。

まず, このような連続照射における発癌線量の閾値はほかの癌や違った照射方式の場合にも存在するのであろうか。特に全身照射の場合は個体全体が放射線の影響を受けるので感受性が高いと考えられる。このとき最も注目されるのは白血病誘発である。もし全身連続照射における白血病の誘発線量に閾値の存在が認められれば, 直ちにヒトの場合についてそのような例の調査が行われ, 放射線による発癌リスクの推定法に大きな影響を与えるであろう。

放射線のみならず発癌化学物質プロモータにも発癌用量閾値の存在することがドイツの研究者 (Hecker ら) によって認められ始めているので, 放射線を含めて発癌物質がヒトの日常生活において少量ずつ連続して作用する場合のリスクの評価についての考え方は将来大きく変わることが予想される。

さらに, 今回の実験のように, 閾値をこえた線量で反復照射して発生した癌は遺伝子レベルでみて特長のある変化を起こしているであろうか。現在までに, アリゾナ大学 (Bowden ら) との共同

研究で, 連続照射によってつくった癌では mal および transin 遺伝子の異常増幅があることが認められている。腫瘍遺伝子群や, 抑制遺伝子についても連続照射に固有な変化がみられるかどうか, 現在追跡が続けられている。

本研究で, マウスの身体の一部に照射を繰り返したときに, 1 回照射ではみられなかった独特の反応をマウス個体が示し, それが発癌率に閾値様反応として表現されたことを最後にもう一度強調したい。

発表論文

- 1) A. Ootsuyama and H. Tanooka, One hundred percent tumor induction in mouse skin after repeated β irradiation in a limited dose range, *Radiat. Res.*, 115, 488~494, 1988.
- 2) H. Tanooka, Monoclonal growth of cancer cells: Experimental evidence, *Jpn. J. Cancer Res.*, 79, 657~665, 1988.
- 3) A. Ootsuyama and H. Tanooka, Induction of osteosarcomas in mouse lumbar vertebrae by repeated external beta-irradiation, *Cancer Res.*, 49, 1562~1564, 1989.
- 4) A. Ootsuyama and H. Tanooka, Threshold-like dose of local β -irradiation repeated throughout the life span of mice for induction of skin and bone tumors, *Radiat. Res.*, 125, 98~101, 1991.
- 5) H. Tanooka and A. Ootsuyama, Radiation carcinogenesis in the mouse skin and its threshold-like response, Intern. Symposium on "Radiation Carcinogenesis in the Whole Body System" (Tokyo, December, 1990), *J. Radiat. Res.*, in press.
- 6) H. Tanooka and A. Ootsuyama, Threshold-like response of mouse skin cancer induction by repeated beta irradiation in relevance to radiation-induced human skin cancer, Intern. Symposium on "Skin Carcinogenesis in Man and in Experimental Models" (Heidelberg, October, 1991), *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, in press.
- 7) M. Muto, T. Sado *et al.*, Phenotypic characterization of thymic prelymphoma cells of B10 mice treated with split-dose irradiation. *J. Immunol.*, 144, 849~853, 1990.
- 8) H. Koseki, T. Sado *et al.*, Homogeneous junctional sequence of the V14⁺ T-cell antigen receptor α chain expanded in unprimed mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 87, 5248~5252, 1990.

- 9) S. Aizawa and T. Sado, Manifestation of allo H-2-restriction specificity by self H-2-restricted T cells. *Cell. Immunol.*, **130**, 1~10, 1990.
- 10) 田ノ岡 宏, “低線量放射線による発癌, 代謝, 27, 癌'90”, 中山書店, 1990, pp. 23~32.