



## 1.9 低線量影響研究最近の話題

山田武<sup>1</sup>、大山ハルミ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>東邦大学医学部、現 電力中央研究所生物科学部狛江分室

<sup>2</sup>放医研障害基盤研究部

### 1. はじめに

放射線防護基準は、1925年最初に論議された当時、耐容線量tolerance doseという考えを元に設定された。耐容線量とはそれを超える被曝がなければ目に見える障害は発生しない、つまり、しきい値線量があるという概念であった。ところが、第二次世界大戦後、大気圏内核実験の多発によるヒトの遺伝的影響への危惧から、許容線量permissible doseという考えに基づく防護基準へと変化した。このしきい値を認めない概念は、1927年のMullerによるショウジョウバエを用いたエックス線人工突然変異実験により、科学的根拠を得て、現在放射線防護の規範として広く受け入れられている。すなわち、実際のデータのない低線量域の障害を、高線量域での線量効果関係を直線でしきい値なしとして外挿して推測する、直線しきい値なし仮説Linear Non-Threshold Hypothesis---LNT仮説が放射線防護の規範となっている。

しかし、最近このLNT仮説の普遍妥当性に対して疑問が出始めている。いわゆる放射線ホルミシスの実験データが広く見られるようになったからである。本稿ではこのようなデータを中心に最近の低線量影響研究の話題を紹介する。

### 2. ホルミシスとは

生物系では、通常、用量-反応関係が直線でないのは例外と言うより、普通に見られる。高用量域の反応からは予期できない逆の反応も見られることもある。ホルミシス現象と呼ばれる。放射線は高線量域では確かに生物に障害を与える。直線仮説によればどんな低線量でも、それなりの障害を生物に与えることになるが、この予測に反し、しばしば免疫系を刺激したり細胞増殖を促進したりすることがある。つまり、生物に「益になる」作用をもたらす場合がある。狭い意味でこれを放射線ホルミシスと呼んでいた。

現在、放射線ホルミシス研究は、

1. 適応応答
2. 低線量放射線による生物活性刺激効果
3. 直線仮説からは予測できない低線量での効果
4. LNT(Linear Non-Threshold)仮説の否定？

の4つの観点から研究されている。

2は本来のホルミシスという語の意味する現象であり、Luckeyの2つの著書以来多数紹介されている。3とも関連することだが、数cGyというこれまでほとんど生物影響の研究のなされていなかった低線量域で、高線量域の結果の直線外挿からは、全く予測もできなかった、きわめて興味ある生物作用が発見されつつある。

これらは、個々の現象の面白さもさることながら、生物が放射線をどのように受け止めているかという生物の持つ基本的応答の面からも興味深い知見も多い。いまやこれらの知見は、直線(LNT)仮説がその前提としている、DNA分子を直接標的とするヒット理論のみでは説明できず、機能的統一体としての細胞さらには個体が示す応答制御の機構やゲノム安定性の維持機構など複雑な生体制御の問題として捉えなければならないことを示唆している。

しかし、LNT仮説が、ヒット理論を基礎としてその基盤となる機構もっていることに対

して、現在、4の立場の最大の弱点はホルミシス現象を説明できる機構についての確固たる考えがないことである。ただ、個々の一例報告的事例の羅列だけでは、何の説得力もない。筆者は、細胞あるいは動物個体の低線量放射線への反応が、単にDNAの損傷の機械的帰結ではなく、低線量を細胞全体、あるいは個体全体は細胞全体・動物個体全体として捉え、そこから、複雑な制御を経てある種の応答を示すのではないかと考えている。このような、仮説を証明し、単純なLNT仮説に基づかない現象を見いだしていくことが、これからのホルミシス研究の課題と考えている。

## 2.1. 適応応答

生物はある環境(刺激)因子に暴露される以前に同じあるいは同類の刺激に少し曝されるとその因子に対する抵抗性が生じる。これを適応応答adaptive responseといい、放射線を含め広く認められている。1980年代、アメリカのWolffが細胞の放射線障害の一つである姉妹染色分体交換の頻度が、数cGyという低線量の前照射により有意に減少することを報告したのが最初で、その他の細胞障害のみならず、マウス個体の骨髄死を指標した場合にも明確に認められる。すなわち、cGyオーダーの低線量の前照射により、6-7 Gyという骨髄死を引き起こす放射線に対する抵抗性が誘導される。その一部は骨髄幹細胞の低線量放射線による刺激として説明されているが、その機構の多くは不明である。現在は数多くの追試実験によっても確認され、国連科学委員会の報告書でも放射線適応応答は確かな現象として引用されている。

### 2.1.1. 動物個体レベルの適応応答

放射線に限らずDNAを傷つける物理的あるいは化学的因子に曝されると、哺乳類細胞は一般に“ストレス応答”と総称される、一連の一過性の反応を示す。同種の因子による致死作用に対する抵抗性の誘導、DNA複製の上昇、細胞の成長や増殖に関係する遺伝子の発現の上昇、また、細胞内シグナル伝達系関連のタンパク質の合成上昇などがその典型である。このうち、最初に挙げた例が放射線では特によく知られており、“低線量放射線の適応応答”と通称されている。したがって、放射線ホルミシスはストレス応答のひとつである、といえる。

動物個体レベルでの適応応答は、低線量前照射より、引き続き致死線量照射に対する抵抗性の誘導現象として活発に研究されている。マウスの場合conditioning doseと称される低線量前照射の線量は通常5-50cGyが用いられる。この線量に応じて適切な間隔においてchallenging doseと呼ばれる致死線量を照射すると、低線量前照射を受けた実験動物群は、受けなかった対照群に比較して明瞭に生存率が高いことが観察される。すなわち、低線量の前照射により致死線量放射線に対する抵抗性が誘導されるのである。

この実験で大変興味あることは、前照射の線量に依存して、抵抗性の誘導される時期が全く異なることである。前照射線量が5-15 cGyの時には、その2ヶ月後に行われた致死線量照射に対してのみ抵抗性が誘導される。これに対し、30-50 cGyというより高線量の前照射の場合には、その2週間後の致死線量照射に対してのみ有効である。すなわち、前照射の線量が比較的低い場合と、高いときとでは、明らかに放射線抵抗性誘導の機構が異なると推定される。

より高線量域前照射(50 cGy)の場合、骨髄における造血幹細胞の増殖が前照射により刺激促進され、2週間後の骨髄死誘発線量に対する抵抗性が誘導される。しかしながら、低線量(5-15 cGy)前照射の場合の抵抗性誘導機構は全く不明である。大阪府立大学先端研の米沢先生たちは、この場合、前照射として全身照射が必須で、頭部のみ照射でも胴部のみ照射でも有効でないというデータを示している。すなわち、単に造血系への照射効果だ

けではなく、中枢神経系あるいは何らかの全身機能の関与が、この抵抗性誘導には必要らしい。なにしろ、2ヶ月後にやっと抵抗性が誘導されるのであるから、単に免疫系のみの関与とは考えられず、より複雑で、いくつもの系を介する結果であるに違いない。

このような実験事実は、これまでの放射線生物学の範囲では、なかなか発見できなかった。低線量の特異的効果を求めて行われた実験の一つの成果である。

### 2.1.2. 細胞レベルの放射線適応応答

京大放射線生物センターの佐々木らは、マウスm5S細胞を用い、低線量放射線に対する反応を検討するために、先ず細胞に2cGyのX線を照射し、続いて3GyのX線を照射した。そして3Gy照射によるX線の影響が2cGyの前照射によってどのように修飾されるかということで反応特性を解析した。2cGyの前照射は後照射による染色体異常を出来に難しくする。すなわち細胞は適応応答を示す。2cGyの前照射と3Gyの後照射の間の時間間隔を変えた実験から適応応答はすでに照射後1時間で有意に認められた。

2cGyのX線前照射をしたのち5時間後にいろいろな線量で照射し、照射した細胞を再び培養することによって染色体異常、細胞の生存率、6-thioguanine耐性突然変異、フォーカスアッセイによるトランスフォーメーションを調べた。低線量前照射によって細胞は染色体異常の誘発、致死効果、突然変異の誘発に対して耐性となるがトランスフォーメーションに対してはむしろ感受性となる。

ここで面白いことはこの適応応答を誘発する線量は、2-10cGy付近の特定の線量域であることである。佐々木らは、cGyオーダーで適応応答を起こすことは、 $\gamma$ 線が細胞に与える線量(荷電粒子1個が細胞を通過した場合に細胞に与えるエネルギー)が0.2cGyであることから考えて、DNA損傷が引き金になっているとは考えがにくいとしている。細胞全体あるいは細胞膜が標的となっている可能性がきわめて高いと考えている。

また、細胞内シグナル伝達系の中心であるPKC(プロテインキナーゼC)の阻害剤を用いるとこの適応応答が見られなくなることから、この放射線適応応答の発現に細胞内シグナル伝達系が必須であることを示している。これらの結果は、低線量域の放射線に対して細胞が、全体として、決してDNAを標的としてではなく、細胞全体が統一した系として応答することを明らかに示している。

### 2.2. 生物活性の低線量放射線による刺激

古典的なホルミシスの定義を生んだ現象である。1970年代フランスのPlanelが鉛シールド箱の中でゾウリムシを培養し、自然放射線がない条件ではゾウリムシの成長が抑制されることから、自然放射線がこの生物の成長に必須であることを主張したのが最初である。アメリカのLuckeyはこのような無脊椎動物や植物における低線量放射線の活性刺激の例を膨大な数を集め上記の「放射線ホルミシス」として1980年代の初頭刊行した。

### 2.3. 直線仮説からは予測できない低線量での効果

低線量放射線の実験のさなかに偶然見つかった面白い現象がここに紹介する中枢神経系への作用である。雄マウスを同一ケージに長期間飼育しているときに、しばしば問題となるのは、マウス同士の喧嘩である。多くは尻尾の付け根の尻部分を噛み付かれ出血する。ひどい場合には死に至る。低線量照射したマウスでは、この傷が少ないことに偶然気付いた。私たちのグループの宮地さんは、そこで、大変独創的な実験を計画し、低線量放射線の特異的抗ストレス作用を発見した。

雄マウスを一匹飼育状態で長くおくと(resident)、いわゆるストレス状態となり、攻撃性が増大する。ここに、別なマウスを侵入させると(intruder)、侵入マウスに対して激しい攻

撃をおこす。これを、resident-intruder testといい、社会的隔離によるストレスのモデル動物実験系として用いられている。宮地さんはこの系を用いてマウスのストレス誘発攻撃性に対する低線量照射の影響を定量的に測定した。すなわち、侵入マウスを入れてから直ちにマウスの反応をビデオカメラに一定時間記録し、噛み付く回数と最初の攻撃までの経過時間を測定して攻撃性を定量化して解析したのである。その結果、このマウスの攻撃性が、5-15 cGyという低線量放射線によって7-10日後明瞭に抑制されることがわかった。この攻撃性の抑制は、隔離ストレスによって誘導された攻撃性のみ発揮される。一匹飼いでなくグループ飼いの雄マウスでは、この効果が見られないからである。つまり、低線量放射線はストレスによってマウスに見られる効果を軽減する作用があるということになる。

さらに、興味あることは、この放射線効果が、25-35 cGyに線量を上げたときには、見られないことである。すなわち、より低線量域の5-15 cGyの線量域にのみに特異的にみられるのである。直線仮説に従えば、放射線の生物作用の線量-効果関係は、単純な比例関係とみなされており、線量が低いほど、その効果は小さくするとされている。ところが、この場合、高線量域の方が効果がないのである。逆にいえば高線量域の作用からは全く推定できない効果が、より低線量域で見られるのである。

放射線ホルミシス論者の一人のSaganは、高線量の作用からは予測できない低線量域独特放射線作用を、放射線ホルミシスの定義の一つに上げているが、この定義に従うとすれば、上記の低線量の作用は放射線ホルミシスの一つといえる。

哺乳類の性行動の中樞は攻撃行動の中樞と同じ部位にあるとされている。そこで、上記実験のintruderに発情雌マウスを用いることによって、性行動に対する低線量放射線照射の効果を解析できる。結果は予測した通り、攻撃行動に対する上記の効果と全く同じであった。すなわち、低線量域にのみ性行動の抑制がみられ、より高線量域では、この効果は見られなかった。

さて、このような動物の行動に対する低線量放射線の効果はこれまで全く報告されておらず、新しい発見である。放射線生物学の面からも、動物行動学の面からも大変面白い発見であるが、当然次に問題になるのは、その機構である。放射線がどこに効いているのだろうか？

これまでは、全身照射であったから、放射線生物学の解析の常道として部分照射によって関与する器官組織を調べた。予想の通り、頭部照射のみで全く同様な効果があることがわかり、中枢神経系の関与が明確となった。そこで、中枢神経系への効果をより明確にするために、マウス頭部に電極を埋め込み、脳波を直接調べることにした。睡眠波を示している睡眠中のマウスに、4 cGyという低線量X線を照射すると、直後に覚醒を意味する波形に変化することがわかった。マウスはなんと4 cGyという低線量放射線を“感ずる”ことができるのである！

この4 cGy照射を繰り返し行くと、しだいに覚醒波を示すマウスの数が減少してくることもわかった。すなわち、マウスは4 cGyを感ずることができるだけでなく、一般の刺激に対してと同様、反復されると次第に感じなくなるのである。言い換えれば、適応反応をも示すのである。

さらに、同じ実験を、嗅球を手術で除去したマウスに行うと、上記の脳波の変化は全くなくなることがわかった。嗅球がないと、マウスはX線を感じないのである。このことから、中枢神経系のなかでも、嗅球系がX線の“感知”に働いていると考えた。嗅球に働く神経伝達物質である一酸化窒素(NO)の阻害剤を注射すると、反復照射に対する適応が消失することがわかった。これも嗅覚系の関与を示す一つの証拠である。

部分照射の実験をさらに細かくして、頭部を嗅球を含む前部と、含まない後部を別々に照射する実験を行うと、攻撃行動も性行動も嗅球を含む前頭部に照射したときのみ、抑制

がみられることがわかった。いよいよ嗅覚系の関与は確かである。

これまで、放射線抵抗性であるとして、ほとんど省みられなかった神経系が、以上のような新しい視点にたつと、きわめて放射線感受性であることが明らかになってきた。これらの実験は、単に放射線ホルミシスの分野に止まらず、神経生理学と放射線生物学を結ぶ全く新しい分野を開拓するものであると、私たちは確信している。

#### 2.4. LNT(Linear Non-Threshold)仮説の否定？

広島・長崎の原爆被爆生存者における発がんのデータがLNT仮説を裏付けるヒトのデータとしてしばしば引用されている。しかしながらこのデータでも実際に問題となる低線量域でのデータはなく0点に向かって外挿した直線を用いているのが現状である。さらに、大きな問題は原爆被爆という瞬間大線量被曝のデータであるという事である。すなわち、線量率が極めて大きな被曝のデータであり、私たちが日常実際に問題になるのはこれとは異なり、低線量率、低線量被曝である。一般にとくに低LET放射線では、低線量率被曝では大線量率被曝の場合に比較して、生物影響が大きく低減する。

最近、マウスを用いた実験で線量率を低下させていくと、ある線量率以下では発がんがみられなくなるデータが得られ始めている。すなわち、マウスの放射線発がんでは線量率にしきい値が存在する場合が実際にあるのである。がんセンターの田の岡先生らは、 $\beta$ 線によるマウスの皮膚がん(図1)、広島の本山先生らはトリチウムによる胸腺腫(図2)この事実を見事に示した。

### 3. おわりに

1997年11月17日より21日まで、南スペインのセビリヤでIAEAの主催により、“Low doses of ionizing radiation: biological effects and regulatory control”と題するシンポジウムが開催された。これは、上記のような放射線ホルミシスのデータが報告されるにつけ、ICRPなどいわばLNT派と放射線ホルミシス研究者が一堂に集まって会議をしよう、ということであったので、筆者も参加させて頂いた。ところが実際はホルミシス研究のデータはほとんどポスター発表であるのに対し、LNT仮説を支持する話はlectureして、十分な時間が与えられており、全体としての印象は、ホルミシスの動物実験のデータはいくらあったとしても、ヒト(広島・長崎の原爆被爆生存者)のデータは、このとおりLNT仮説を支持しており、現在のICRPの立場は揺るぎもしない！ということ強調する会議といってもいいものであった。

確かに、現在のホルミシス研究は、未だ未熟であり、実証データとそれを説明する理論のない、単なる主張は、宗教であると非難されてもしかたがない。このような主張のみの発表がなかったとは言えないことは残念である。

繰り返しとなるが、いまや上記のホルミシス研究の知見は、直線仮説がその前提としている、DNA分子を直接標的とするヒット理論のみでは説明できず、機能的統一体としての細胞さらには個体が示す応答制御の機構やゲノム安定性の維持機構など複雑な生体制御の問題として捉えなければならないことを示唆している。

私たちは、このような新しい観点にたつて、すべての放射線の生物影響研究を見直したいと考えている。もちろんまだ、未熟な分野であり、これからは山積しているが、いつの日か放射線防護の基準にこれらの研究成果が反映できる日がくることを夢見ている。

文献

放射線ホルミシス一般

- 1) 山田武：Isotope News 1991年3月号. 2-5. 1991.
- 2) 石田健二：日経サイエンス. 1991年4月号. 82-90. 1991.
- 3) Luckey TD著、松平寛通監訳：放射線ホルミシス. ソフトサイエンス社. 東京. 1990.
- 4) Luckey TD著、松平寛通監訳：放射線ホルミシスII. ソフトサイエンス社. 東京. 1993.
- 5) エネルギーレビュー1994年4月号、特集「低レベル放射線の生体への刺激効果」
- 6) 大山ハルミ、山田武：低線量放射線の健康影響-放射線ホルミシス. RADIO ISOTOPES.vol. 46, 360-370 (1997)

米沢先生と佐々木先生その他らの放射線適応応答の関係論文は下記のMutation Research集号にまとめられている。

- 7) Mutation Research, Special Issue: The adaptive response to very low doses of ionizing radiation. Vol. 358. No.2. (1996)

低線量の神経系への影響に関する論文

- 8) Miyachi Y., Ogawa N. and Mori A. : Rapid decrease in brain enkephalin content after low-dose X-irradiation of the rat. Journal of Radiation Research, 33: 11-15, 1992
- 9) Miyachi Y., Kasai H., Ohyama H. and Yamada T. : Depression of mouse aggressive behavior by very low-dose X-irradiation and its unusual dose-effect relationship. In "Low-dose Irradiation and Biological Defense Mechanisms" (Eds. Sugahara T. et al) Elsevier Sci. Pub. Amsterdam, 171-174, 1992
- 10) Miyachi Y., Kasai H., Ohyama H. and Yamada T. : Changes of aggressive behavior and brain serotonin turnover after very low-dose X-irradiation in mice. Neuroscience Letters, 175: 92-94, 1994
- 11) Miyachi Y., Koizumi T. and Yamada T.: Immediate arousal response and adaptation to low-dose X-rays in mouse and its disappearance by bulbectomy and nitric oxide inhibitor. Neuroscience Letters, 177: 32-34, 1994
- 12) Miyachi Y. and Yamada T.: Low-dose X-ray-induced depression of sexual behavior in mice. Behavioural Brain Research, 65: 113-115, 1994
- 13) Miyachi Y.: Head-up behavior induced by low-dose X-rays and its disappearance by zinc sulfate perfusion in the nasal passage. Behavioural Processes, 36: 297-301, 1996
- 14) Miyachi Y.: Marked decreased radiation-induced emesis by olfactory bulbectomy or pre-exposure using low-doses. Experientia, 52: 230-233, 1996
- 15) Miyachi Y. and Yamada T.: Head-portion exposure to low-level X-rays reduces isolated-induced aggression of mouse, and involvement of the olfactory carnosine in modulation of the radiation effects. Behavioural Brain Research, in press

