放射線障害の生物学

多細胞系の障害の進行と回復

江 上 信 雄

放射線医学総合研究所
生物研究部

1. 放射線と生物とのいろいろなつながり

現在の時点で放射線と生物との関係を考えてみると、両者はいろいろの面で接点を持ち、研究すべき問題は多方面にわたる。何よりもまず頭に浮かぶことは、「生物が放射線を受けてどんな反応をするか」ということ、つまり放射線が生物に与える影響の問題である。この面を研究するには人為的な強い放射線を生物に照射する実験が普通に行なわれ、一般に線量が高いほど、「死」とか「自己増殖能の停止」とか「病変」とかが高率におこることが知られてきた。そこで、放射線は生物にとって有害な要因とみなし、放射線による障害の研究や放射線の防護についての検討がなされている。この致死効果はいろいろの生物に対してみられるので、これを逆利用して有害生物の駆除や殺菌が行なわれ、また癌組織を局所的に破壊し治療することが実用の域に達していることも、周知のとおりである。致死効果と密接に関連した放射線の突然変異誘発作用は、純生物学的に興味ある問題であるばかりでなく、有用生物の品種改良などに大切な役割を果たしていることはいうまでもない。放射線の生物学的作用の中には、このほかに長時間の後に現われるものもあるし、現在の研究方法では、まだ検出されていないようなものもあるであろう。

人為的な放射線だけでなく、自然放射能が長い時間のうちに生物に与えてきた影響についても、知りたいことが山のようにある。生物にあたる放射線をできるだけ減らす試みをしても見べき障害がおこらないから、現在の生物にとって放射線が不可欠な要素とは考えにくい。けれども、もし地球形成から生命誕生を経て現生の生物が現われてくるまでの間に、放射線が無かったり、異なった条件で地上に与えられていたと仮定したら、進化の道筋はすっかり別なものになっていたであろう。この意味でいえば、生物が生存できるのは放射線のおかげを蒙っているし、生物が放射線に対して示す反応は、このような歴史的背景を背負った必然の結果であることを忘れることができない。この面でも魅力ある疑問が数多い。

また生命現象を理解する上で、放射性同位元素の利用を含めて、放射線を研究手段として利用することが、いかに有効であったかは例示するまでもないであろう。この面からも研究を進めるべき事柄が少なくない。

このようなことを冒頭に書いたのは、(1) 自然下にある生物にとって放射線という因子が、けっして突拍子もない異物ではないこと、(2) 線量を空間的・時間的に変えて生物に与えることは、生物学研究の手段として当然、多くの人が手を出すであろう課題であると思われること、そして(3) 自分自身としてもやってみたいこと、知りたいことが無茶苦茶に沢山頭に浮かんでくることが、を言いたかったからにほかならない。

このように多くの解いてみたい宝の山を目の前にして、好奇心をゆさぶり、調べる価値のありそうなことのうちで、何から実際に手を出してみようか。思案しても始まらない。まず以前から手がけてきたメダカに、いろいろの線量を照射してみて、どのように動物が死ぬかを自ら観察し、この致死作用の発現機作をできるだけ細胞（またはそれ以下の）レベルの現象として捉え、放射線の生物作用について一皮むいてみると同時に、生物個体の細胞間にある相互関係、調節機構について何がしかの知見を加えることができれば上出来と思って仕事を始めてみた。以下、その手はじめに行なった結果の一部を述べてみる。

2. 放射線の脊椎動物（例：メダカ）に対する致死効果

脊椎動物の全身にX線や γ 線などの急照射をすると、与えた線量範囲により致死効果が質的に異なることが知られている。メダカについて行なった実験結果も同様で⁽¹⁾、100 kR 以上を急照射すると動物は痙攣して即死する。これは個体の生命維持の神経中枢の機能が失われておこるショック死的なもので、交通事故の即死などにも似たものと見なしてよいであろう。

ところが、照射する線量が数十 kR から数 kR（メダカでは 64 kR～3 kR）の範囲では、被曝直後の魚は外見

上何の変化も示さないのに、一定の潜伏期間（メダカでは 36°C で 4 日、23°C で 10 日、5°C で約 200 日、マウスでは 3.5 日）を経て、体はやせて食物をとらず、下痢をし脱水症状を示して死亡する（この死にかたはこの線量の範囲内である限り線量の大小には関係しない）。これらの動物では消化管障害が直接の死因であることの見当がつくが、実際に組織学的に観察すると、腸粘膜の細胞数が照射後順次減少し、この数がある限度を割ると、ついに死ぬことがわかる。死ぬまでに要する時間は、この細胞数が致命的な限界まで減少する時間とみてよい⁽²⁾。

線量がもう一段低いと、腸上皮の細胞は致死限界まで減少しないうちに分裂を再開し、消化管障害は回復する。しかしその後、今度は造血組織での血球細胞生産力の低下が原因となって死は避けられないものとなる。この造血器官の壊滅による死は、実験的に動物の死を取扱う LD₅₀ 近くの線量域で見られるものである。また、ヒトが原子炉事故などに際して急性障害としておこる可能性もあり、しかも処置の如何によって予後が大幅に異なるので、この死のおこる条件に関しては非常に多くの人々によって研究されている。元来、血球細胞はたえず造血組織で細胞分裂によって新生され、造られた血球は造血組織を離れて血管に入り、血液成分として全身をめぐるが、そのうちに老化し一定の期間をすぎると使命を終えてこわされる。このように血球細胞自身が定まった寿命を持ち、絶えず一部分ずつ若い細胞とおき代わっている。したがって、もし新しい血球ができなくなると、古いものが順次死滅する結果、貧血をおこす。成熟した血球細胞はかなりの線量を受けない限り障害をおこさないが、造血組織は放射線感受性が高く、比較的低い線量によって増殖力を失う細胞が生ずる。この結果、被曝後血球の新生が損なわれ、時間が経過すると生命維持に必要とするだけの血球は不足をつけて死の転機をたどる。このような線量を受けても、造血組織の部分だけを放射線から遮蔽しておくか、または他の個体から健全な造血細胞を移植して補給してやると、これらが宿主体内で血球の新生を再開し、死を免れることが可能である。この事実、上述のような死の機構に関する考えが、大筋において誤りでないことを示している。

典型的な造血器官障害死をおこすに必要な線量以下の照射を受けた動物は、短期間のうちには死ぬことはない。しかし、長期間観察すれば発癌率の上昇などがみられ、統計的にみて有害な影響が認められる。これらの低線量域での研究も目下、多数のメダカを用いて遂行中である。しかし、まだ充分な資料が得られていないので、本稿で

はふれないことにする。

3. 放射線死の原因

——致死効果における決定構造

放射線が動物の全身にあたった場合でも、個体の死をひきおこす上で決定的な役割を果たす部分が限られていることは、前節で述べた。たとえば中枢神経系死をおこす線量は、たとえ頭部だけに照射されても全身照射のときと同様な即死がおこるし、腸障害死は腹部だけにX線を受けてもほぼ全身被曝と同様におこる。そこで、このような問題になる器官を決定器官 (critical organ) と呼ぶ。

それでは、なぜ線量に応じて特定の決定器官が存在するのであろうか。とくに、腸と造血器官を例として述べよう。これらの器官が他の諸器官と異なる特徴は、成体においてもたえず一定の部域（増殖部位）において細胞が分裂し、つくられた新細胞はそこを出て（機能部位で）、生理機能を発揮しながら一定期間生存してから死ぬような系を持つことである。このような細胞再生系 (cell renewal system) と呼ばれる細胞集団が照射されると、細胞分裂のおくれ、または停止がおこり、新生されるはずの細胞の補給が途絶え、正常の細胞のおきかわりが乱れて細胞数が減少する。もしその系が生存に不可欠な系であると、個体の死に導びかれることとなる。このような一連のできごとによって、個体が死ぬまでに要する時間は、細胞の寿命の長さ、おきかわりの速さ、全細胞集団のうち生命維持に不可欠最低の細胞数がどれだけであるか、などによって自動的に決まってくる。変温動物である魚を用いた筆者らの実験では、照射後の水温を変えることによって、細胞の寿命と細胞のおきかわりの速さを大幅に変更することが可能で、個体としての生存時間をそれ相応にうごかすことができた^(3,4)。この実験は、上述のように、個体の死を細胞集団動力学的に説明することの妥当性を示したものである。

これに反して、分裂を行っていない細胞は、一般に高線量を受けない限り、機能が停止するほど劇的で不可逆的な障害を生じない。そのため、分裂をあまりしない細胞から成る器官は決定器官とはなりにくい。

細かい点では種々の問題があるけれども、第一義的にみて細胞分裂を行なう器官が決定器官であるとするれば、つぎの問題は、なぜ細胞分裂が影響を受けやすいかということになる。細胞死または増殖能力抑制に対する放射線効果を調べるには、腸上皮や造血組織の細胞のように、*in vivo* 条件の細胞よりも、ガラス器内で培養し簡単な

条件で増殖するような細胞を材料にしたほうが、解析は容易である。培養細胞については筆者らの研究はないので、すでに多くの方々によって報告されている敬服すべき基礎的成果の結論を借用しよう。

細胞の死を目標にした場合にも、放射線は細胞内の微細な構造のすべてに対して、一様に同じ価値をもって死の原因となる障害を与えるわけではない。つまり、個体でみた場合と同様に、今度は細胞のレベルで細胞死につながる決定構造もしくは標的 (target) というべき部位があることにぶつかる。比較的低い線量範囲では問題となる構造は細胞核であり、その中の染色体、さらには遺伝物質としての DNA 分子であると考えることが、今日の知識に照して最も妥当性がある。もっとも、DNA が標的といっても、ここに障害がおこるまでの過程として、DNA 合成系やこれを修飾する分子や、いったん DNA に生じた損傷が修復されるときに作用する酵素系など、多くの生化学的・化学的道筋があって、多くの分子が関与するが、それらについてはふれないことにする。DNA が受ける損傷の実体として、紫外線の場合にはチミンダイマーが形成されることが、電離放射線では主鎖の切断が大きな部分を占めることが推定されてきた。いずれにしても、これが原因となって細胞分裂のおくれ、異常、停止が導かれ、この障害は線量と一定の関係を持ち、個体の死に結びついてくる。それ故、生体に吸収される放射線エネルギーがたとえ少量であっても、細胞の増殖機構にとって最も決定的で主要な部位 (DNA) に対する小さな損傷が、ひきつづく連鎖過程に障害をおこさせ、必要な細胞数の不足を招き、個体の死にもつながる変化へと拡大してゆく可能性も理解できる。

4. 致死効果と照射の時間的要因 ——分割効果と線量率効果

以上、縷縷として述べたところは、動物が高い線量率で一度に照射された場合の様相についてであった。ところが、一般に受けた総線量は同じであっても、少量あて何回にも分割して与えられたり、低い線量率で長時間かかって照射された場合には、致死効果は少なくなる傾向があることが知られている。筆者らがメダカについて得た結果を例として述べよう^(5,6)。

4 kR の X 線を一度に 10 分ぐらいの間に与えた魚を 23℃ で飼育すると、どの個体も例外なく腸障害をおこし、約 10 日のうちに死亡する (図 1 A)。しかし、この半分の 2 kR の 1 回照射では、造血器障害をおこすが、30 日以内に死ぬ個体は 40% 程度にすぎない (図 1 E)。ここ

図 1 メダカの 30 日生残率に対する X 線分割照射の影響

1 回照射 (A, 4 kR ; E, 2 kR). 分割照射 (B~D).
説明は本文.

ろで、4 kR を 2 回に分割し、最初 2 kR をかけてからある時間をおいて再び 2 kR をかけると、この間隔が 1 日程度なら 1 回に 4 kR をあてた場合と大差ないが (B)、間隔を 3 日とると致死効果は減少し、30 日後にもなお多数の個体が生き残る (C)。ただし、この照射と照射との間隔の間、魚を 4℃ の低温におき、2 回目の照射後 23℃ に戻して 30 日の死亡率をみると、たとえ 3 日の間隔をおいても一度に 4 kR かけたときと同様に、照射後 10 日で魚は全滅する (D)。つまり、分割の効果が現われるには、照射間隔の時間が 3 日以上あって、しかもその間、水温が高いことが必要である。

これに似た結果は、⁶⁰Co γ 線によるつぎのような実験からも得られた⁽⁷⁾ (図 2)。一時に 4.8 kR を受けたメダカは、約 10 日後を中心にしてすべて死亡する (図 2 A)。しかし、この線量を 5 回に分け、毎朝約 0.96 kR ずつ照射し、この 5 日間 魚を 23℃ に保っておくと、合計 4.8 kR 受けているのに、30 日間に魚はほとんど死なな

図 2 メダカの 30 日生存率に対する ^{60}Co γ 線分割照射の影響

A, 1 回照射 ; B, C, 5 回分割照射.
説明は本文.

い (B). ただし, この 5 日間低温に魚をおけば分割の効果はない (C). つぎには, 4.8 kR をいろいろの低い線量率で与えてみた (図 3). この線量が 8 時間以内に与えられれば, 急照射と同様, 30 日以内にすべての魚が死ぬ (図 3 A, B). けれども, 96 時間かかってこの線量が与えられるようにすると, 30 日後に死ぬ個体はわずかにすぎない (D). 当然予想されるところであったが, この低線量率での照射を低温で行なった群では, 急照射のときと同様に 30 日後の生存率は 0 であった (E). つまり, 低温では時間をかけて照射しても, 与えた線量がいつも加算的に働いているといえる.

そこで, このように照射に時間をかけた場合, 致死効果が減少する原因について考えてみよう.

5. 分割・低線量率効果から考えられる

「回復」の概念

前節に述べた結果はいろいろに説明することができよう. たとえば, 生体が放射線に対して「慣れ」なり「抵抗性」を生ずると考えることもできる. しかし現在, この現象は時間とともに放射線障害からの「回復」(recovery) がおこるとして理解するのが適当と考えているので, 誌面の関係でこの結論に関して端的にふれておこう.

放射線の生物学的効果には「回復可能な部分」があることは, いろいろの実験から多くの先人によって指摘されてきた. 被曝後時間を経るとともに生体内では障害が

図 3 メダカの 30 日生存率に対する ^{60}Co γ 線の線量率の影響

A, 1 回急照射 ; B, C, D, 線量率を順次に下げた場合 ;
E, 低温下での低線量率照射の場合. 説明は本文.

進行してゆく一方, 回復現象がおこる. ここでいう回復とは, 反応の実体の点でも時間的経過からみても, 種々の異質のものを含んでいる.

たとえば, 細胞内でおこった放射化学的反応の逆反応や, 遊離基の消滅などの過程や, 生体に重要な巨大分子の損傷の修復現象 (repair) などが知られている. とくに DNA 分子の放射線による変化は, 特異な酵素系によって修理されるという巧妙なしくみの存在がわかってきた (このようなしくみを生物が保有すること自体, はじめに述べたように, 生物が放射線の存在の下で進化してきたことの産物であるようにも思われて興味がある). さらに, 核内にある染色体に放射線があたって切断がおこっても, それがそのまま染色体異常として発現するわけではなく, 高率で再癒合 (reunion) がおこるが, これが細胞に対する放射線障害の回復と関係のある重要な事象であることは疑いない. 染色体の行動は細胞分裂の周期 (cell cycle) に伴っていて, DNA 合成は周期のうち

の一定の時期（S期）に順序正しくおこり、しかもこれらが放射線作用の決定構造であるということから予想されるように、細胞の放射線感受性は分裂周期の段階に応じて変動することが知られている。細胞や細胞集団に対する致死効果も、分割照射によって軽減することがあるが、この機構を定量的に調べてゆくと、分割の間隔と致死作用の軽減との関係は複雑であること、これも最初の照射によって生じた損傷の回復という概念で理解することができることが知られた。この解析から、細胞集団に対する分割照射の影響にはいくつかの要因が働いていることがわかってきた。1つは、細胞の分裂周期の時期の如何を問わずに見られる細胞内での回復であり、これは短時間のうちにおこり時間とともにその量も増す過程である。他の1つは、第1回目の照射によって分裂の遅延がおこった後に細胞の分裂が再開する際、集団内の各細胞が一斉に挙動をおこすために、ある程度細胞分裂の同調（synchronization）がおこるが、第2回目の照射が分裂周期のうちで感受性の低い時期に与えられれば致死効果は減少する現象である。この場合は、照射間隔を延長するにつれて、致死効果は一方向的に減少するのではなく、周期的に変動し、この変動の波は細胞分裂周期に伴う感受性変化の波と平行したものとなる。

この現象は培養細胞でみられるだけでなく、個体を用いた実験でも現われてくる^(8,9)。メダカに対する分割照射の実験をこまめに行なって、第1回目にX線を与えてから1時間、2時間、3時間、……と1時間きざみに異なる間隔をおいてから、第2回目の照射を行ない、各時

図4 メダカの30日生存率でみた分割照射法による障害の回復曲線模式図

障害は波をえがきながら時間とともに回復する。
この波は細胞分裂周期に伴うものと推定される。

間間隔をおいた場合の致死効果を比べると、一定の波をえがいて死亡率が上昇したり、下降したりしながら、全体として間隔がのびると下降してゆく（図4）。この振動のおこる時間単位（周期）と、 ^3H -チミジンを用いたオートラジオグラフによって推定した腸上皮細胞の細胞分裂周期とがほぼ一致することからみて、分割照射によって示される個体としての感受性変動がおこる主原因が、決定器官を細胞集団としてみて、この集団における細胞分裂周期にむすびついたものであることが予想される。この推定を裏づける根拠の1例は、24°Cと15°Cとで腸上皮細胞の分裂周期の長さを比べると、ほぼ1:2となるが、一方、両温度で分割照射の影響の波をえがくと、そのピッチも1:2となつてよく一致することにもみられる。つまり、第1回目の全身照射によって、腸上皮細胞集団のうちDNA合成の終了した時期（G₂期）の細胞の割合が増し、その後、ある程度同調的に分裂期（M期）に入る。第2回目の照射がその同調した分裂周期のうちのどこで行なわれるかによって、細胞に与える効果が変動し、したがって、個体に対する致死効果が時間とともに波状に変動すると考えれば、現象がよく説明される。つまり、個体の生死を目標にして得られた実験結果は、細胞の現象として理解してよさそうである。

メダカによる分割照射の実験において、分割の間隔をもっと長くし、1日、2日、3日、……と日の単位で延

図5 細胞に対する致死効果からみた線量-効果曲線の1例

ばしてゆくと、分裂サイクルに伴う変動よりも大きな致死効果の減少がみられる。これも第1回目の障害が回復するためと考えられる。この場合は、初回の被曝によって分裂能力を失った細胞に代わって、照射間隔の間に新しい細胞が分裂によって補給されるとみなせば、数量的によく説明される。一般に、照射された線量とそれによって殺される細胞の数との関係は図5のように示されるが、分割して照射された場合、その間に数日の間隔があれば生き残った細胞は分裂して細胞集団の中の細胞数は再び増加しているので、集団中の細胞の数を最終的に一定以下に減らすのに必要な総線量は増加することとなる。実際、キンギョについて線量と決定器官中の細胞数・細胞分裂の割合などを時間を追ってかぞえ、いわゆる細胞集団動態 (cell population kinetics) をみると、この考えの妥当性がわかる。つまり、この場合に見られる回復の現象の本態は、組織の再生による細胞数の回復 (renewal, repopulation) であって、短時間のうちに見られる細胞内 (intra-cellular) の回復に対して、細胞間 (inter-cellular) の回復とも名づけるべきものである。

分割照射の際だけでなく、低線量率で照射が続けられると、一方では障害が進行しながらも、他方では細胞内・細胞間回復がおこるので、照射の影響が単純に加算された総線量の効果より少ない。しかし、この回復現象のうち、少なくとも損傷した細胞の代わりに新細胞が再生する過程は4℃ぐらいの低温ではおこらない。したがって、低温下に魚をおいた場合、分割や低線量率照射の致死効果は高線量率での1回照射と同様になるのであろう。

上述のように、幾段階かの回復の原因を明らかにすることによって、現象の解析はほぼ可能となった。

6. 今後の問題点

魚類に放射線を照射し、いろいろの温度の下で致死効果を比較する実験と並行して行なわれている決定器官の細胞集団動態のオートラジオグラフによる観察から、致死作用の主要点はつぎのように示される。

放射線→細胞内決定構造 (DNA) の損傷→決定器官 (造血組織・腸上皮) の細胞分裂の遅延・異常・停止→決定器官系の機能細胞数の不足→個体の死。
そしてこの各段階において、それぞれ異なる機構によって障害の回復が可能である。

しかし、これはあくまでも生体内での連鎖反応主要点を単純化した第1次近似モデルにすぎず、各段階ごとに反応様式・速度を支配する第2次・第3次的要因がある。これらのうち、筆者らは細胞レベルの現象と個体レベル

の現象との接点にある多くの問題をまず解きたいと考えている。たとえば、個体の中では造血細胞は独自に増殖するわけではなく、他の細胞との生物学的・化学的・機械的な関係——ホルモン要因など——の支配を受け、個体全体としての統一の下で細胞分裂を行ない、分化・老化をとげている。したがって、放射線を受けた場合、個体としてのホメオスタシスの機構がどのように働いて、さきに述べた第1次モデルを2次的に変更しているかということとはきわめて興味深いし、また現にその手がかりとなるようないくつかの現象を認めている。同様なことは、典型的な細胞交代系である精巣が照射され、永久または一時的に不妊におちいるときの精子形成細胞の動態とホルモンとの関係をモデルとして研究することもできるので、現在、実験遂行中である^(10,11)。正常な状態で定常条件にある生物体内の細胞集団動態をより一層明らかにし、その動態が保たれている機構に放射線というメスを入れてゆきたいと考えている。

一方、細胞下レベル、分子レベルでの放射線影響の本質の研究が、基本的に重要であることは、言をまたないところであり、これらの問題のいくつかは簡単に述べておいた。そのうえ、これらの点は本誌においてもすでに取り上げられたし、また他の方によって将来詳述されたほうがよいと思われるので、ここでは改めて述べることはさけることとした。

最初に述べた放射線と生物とのいろいろの関係について理解しつくすことは、まだまだ先の長い問題であるが、少しずつでも手近かなところから始めて、いつの日にか大きな疑問の解決になんらかの貢献ができるようでありたいものと願っている。

(Nobuo EGAMI)

文 献

- 1) N. Egami and H. Etoh : *Annot. Zool. Japon.*, 35, 188 (1962).
- 2) Y. Hyodo : *ibid.*, 37, 104 (1964).
- 3) Y. Hyodo : *Radiation Res.*, 24, 133 (1965).
- 4) Y. Hyodo : *ibid.*, 26, 383 (1965).
- 5) H. Etoh and N. Egami : *Annot. Zool. Japon.*, 38, 114 (1965).
- 6) N. Egami and H. Etoh : *Radiation Res.*, 27, 630 (1966).
- 7) N. Egami, Y. Hyodo-Taguchi and H. Etoh : *Proc. Int. Conf. Radiation Biol. Cancer*, 117 (1967).
- 8) N. Egami : in preparation.
- 9) H. Etoh and N. Egami : *Radiation Res.*, 32 (in press).
- 10) N. Egami and Y. Hyodo-Taguchi : *Exptl. Cell Res.*, 47, 665 (1967).
- 11) N. Egami, Y. Hyodo-Taguchi and K. Konno : *Gunma Symp. Endocrinol.*, 4, 147 (1967).