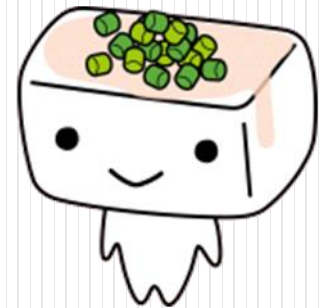


未成熟(早期)染色体凝縮法とFISH法を併用した二動原体染色体線量推定法の検討

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科
放射線医療科学専攻

氏家 里紗



放射線被ばくと線量推定



放射線被ばく事故



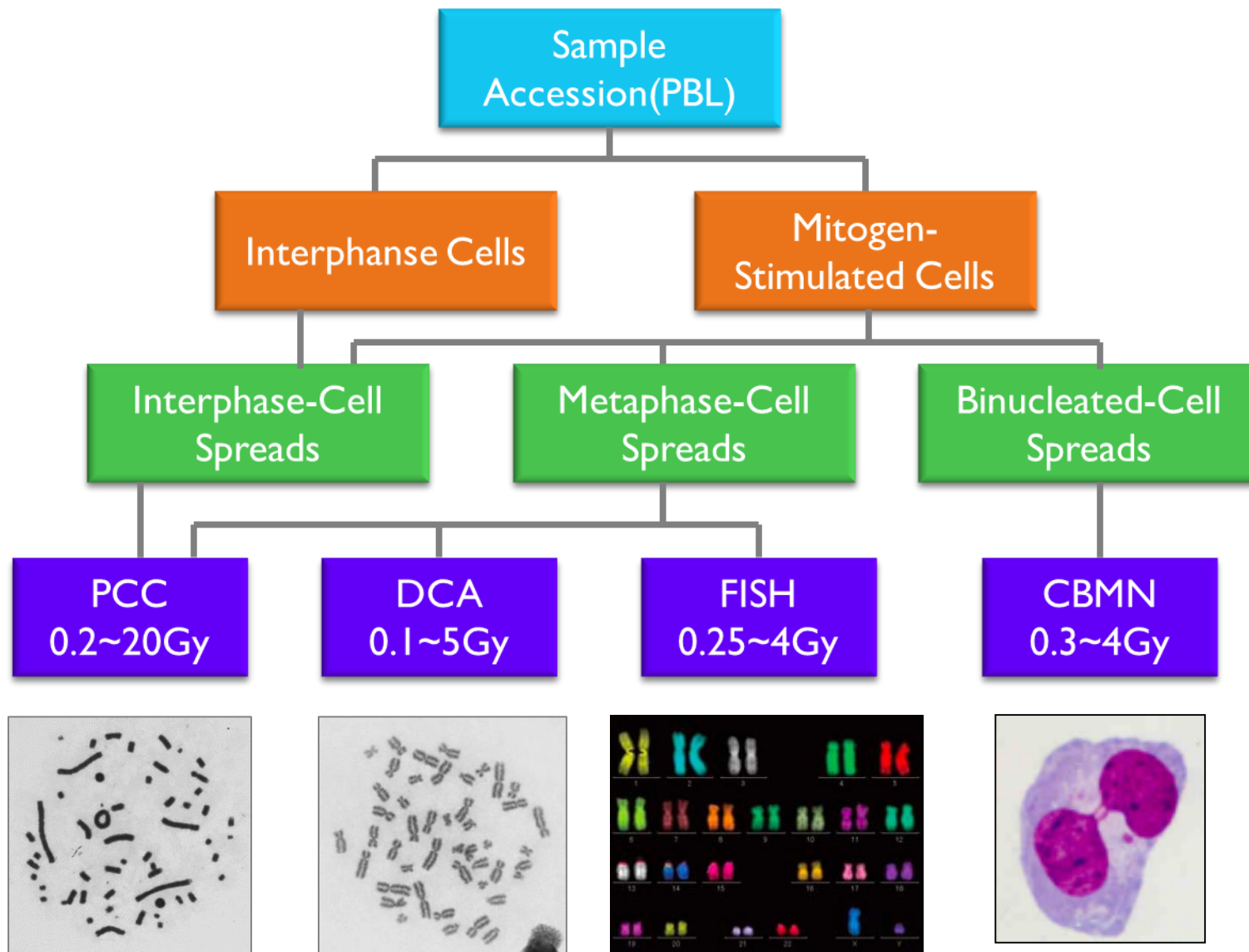
0.5Gy以上の被ばく
急性症状の可能性

被ばく者の医療方針を作成するため正確な線量評価が必要

- ・物理学的線量評価
- ・生物学的線量評価

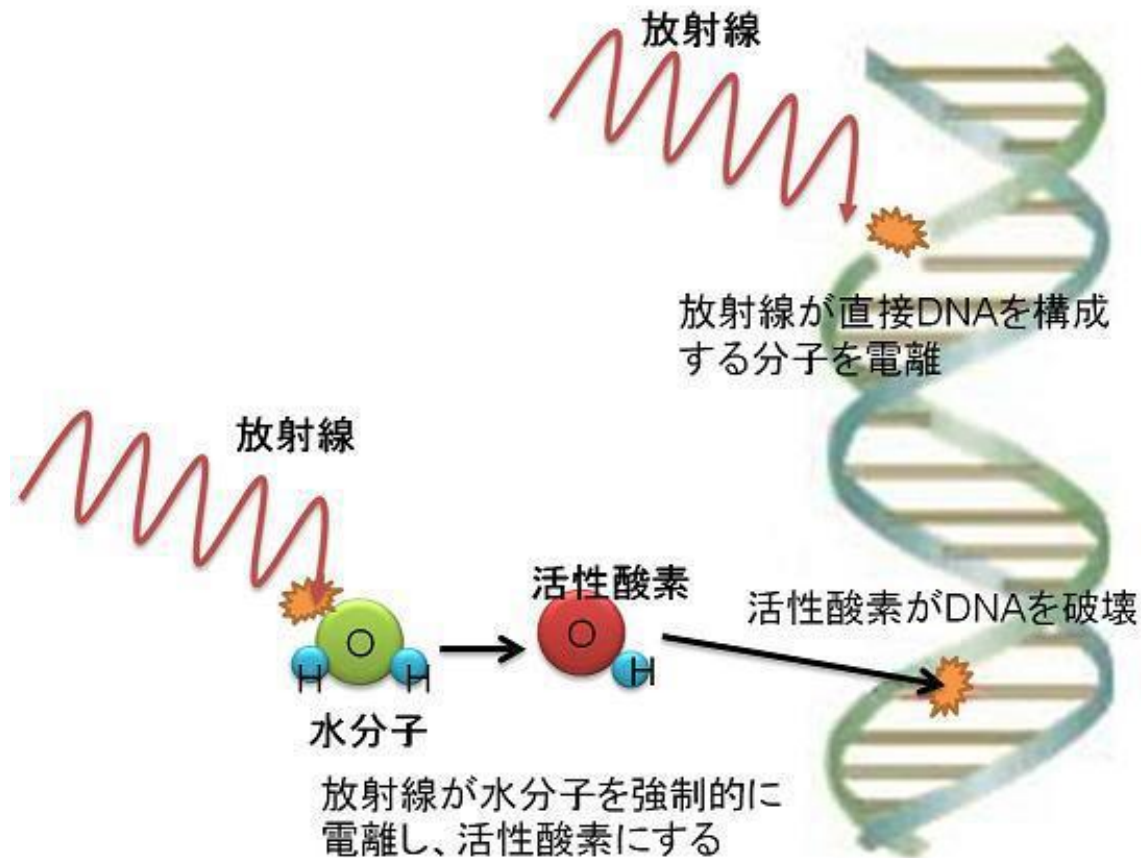
→ **末梢血リンパ球の染色体異常頻度**

IAEAが推奨する細胞遺伝学的（染色体）線量評価法

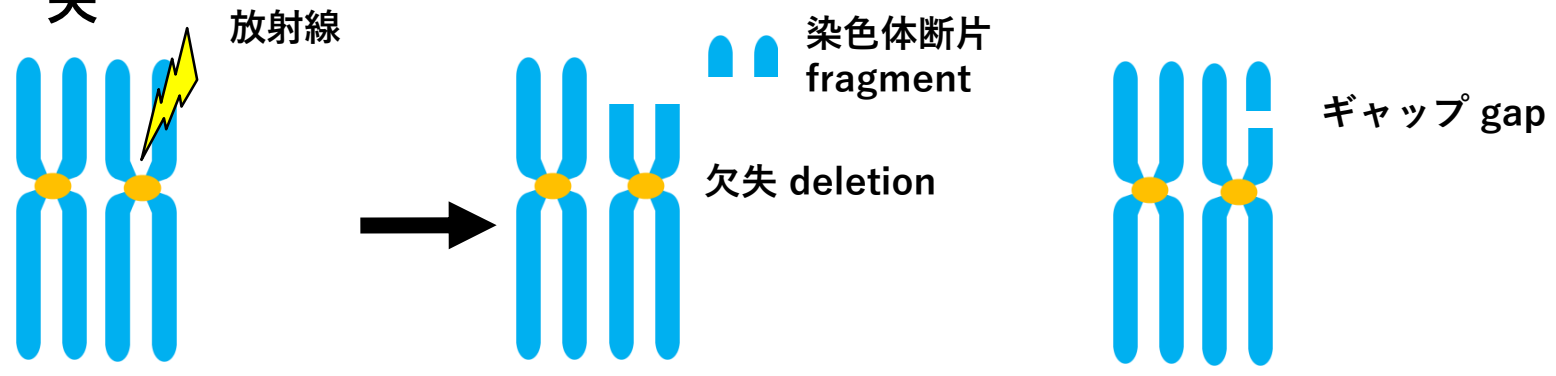


放射線によって生じる染色体異常

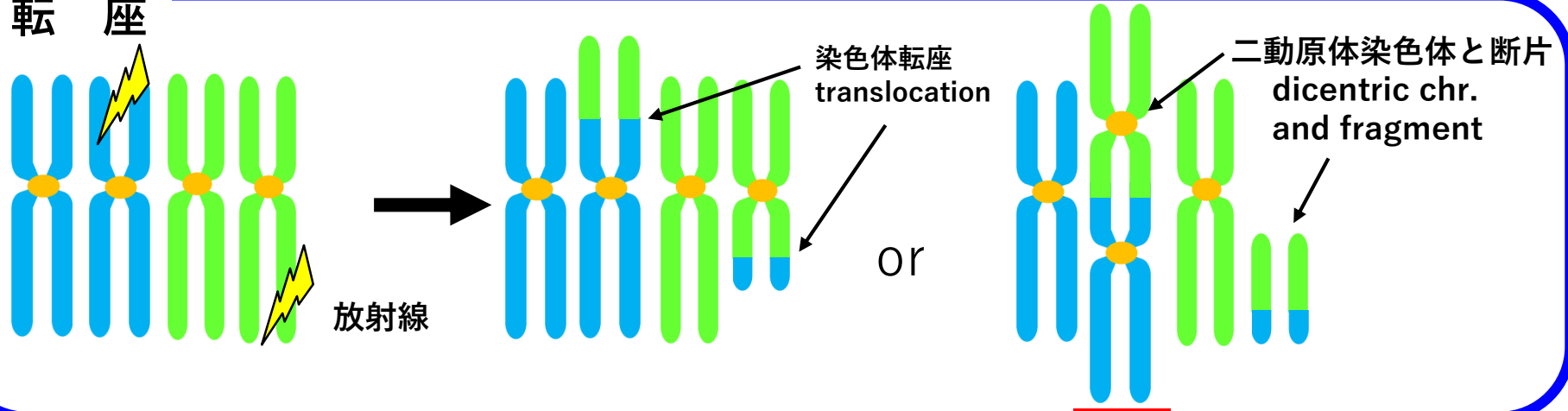
放射線によるDNA切断と染色体異常



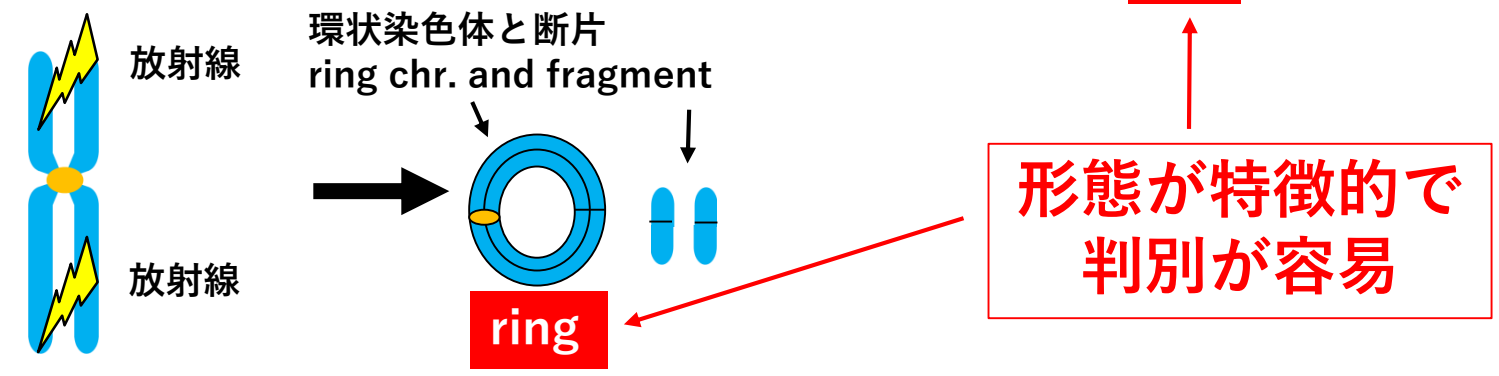
欠失



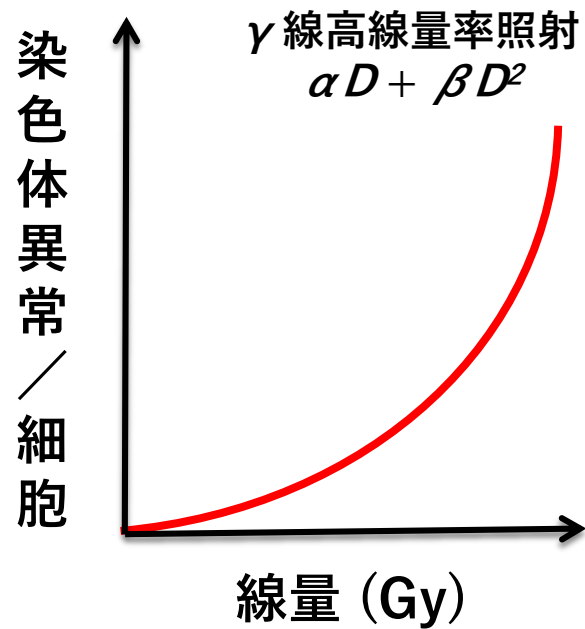
転座



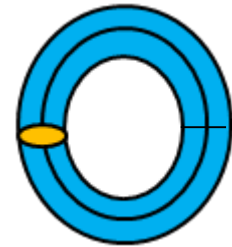
環状体染色体



染色体異常と線量依存性



二動原体染色体
Dic



環状染色体
ring

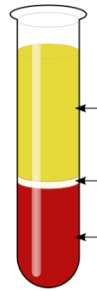
染色体異常頻度は線量依存的に増加する

染色体異常頻度を用いた被ばく線量評価

被験者から採血



リンパ球分離

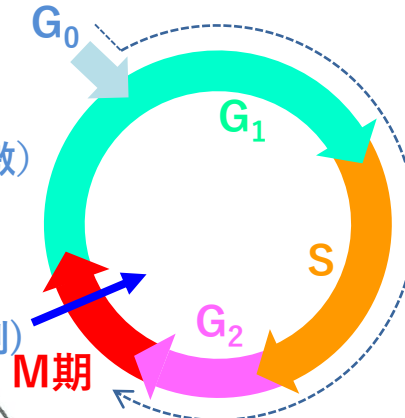
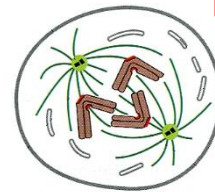


単核球画分



+PHA
(増殖刺激)

コルセミド
(分裂停止剤)



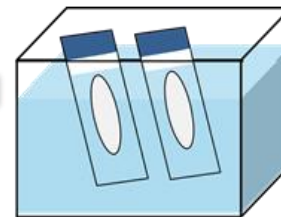
培養(48h)



固定



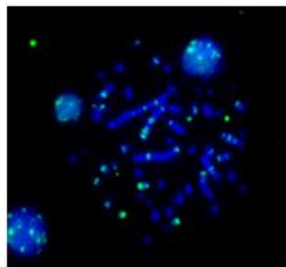
標本作成



染色

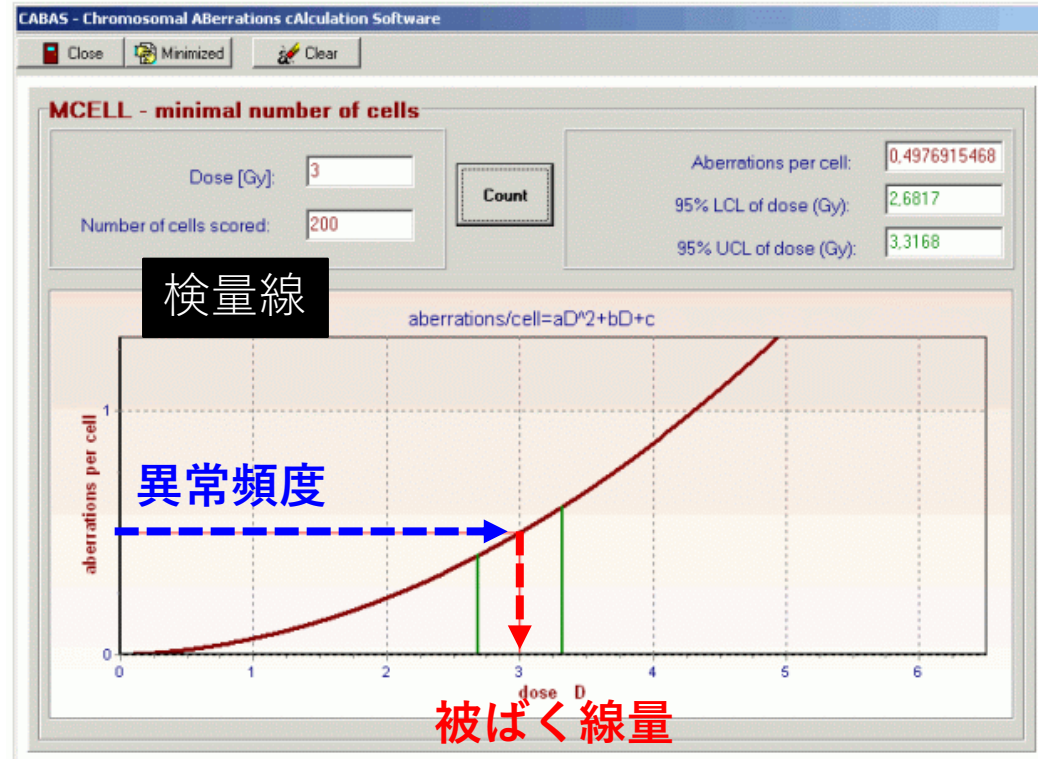
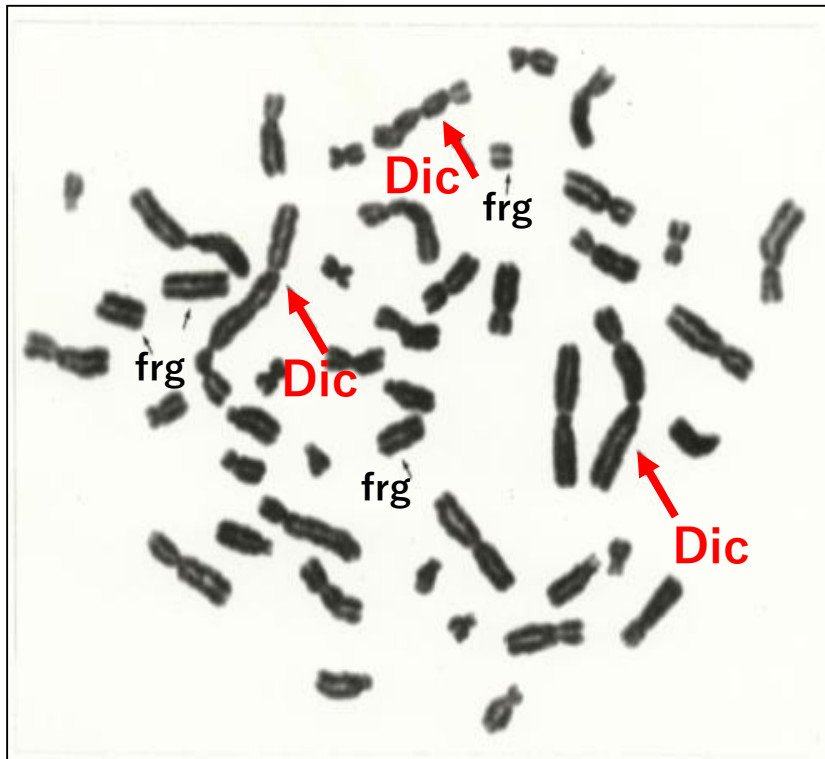


撮影



解析

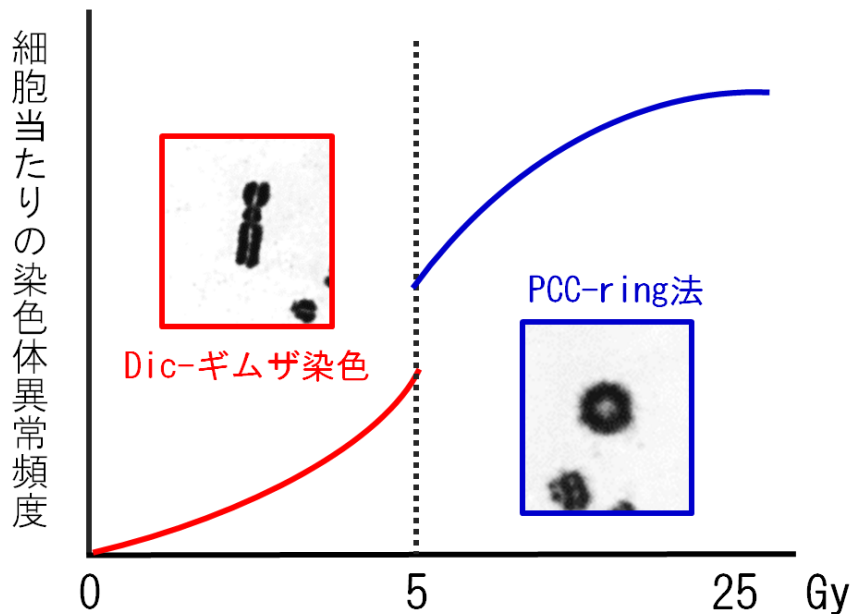
染色体異常頻度を用いた被ばく線量評価



1細胞あたりの異常頻度から被ばく線量を求めることができる

研究の目的と背景

従来の線量評価法



< 染色体線量評価法の課題 >

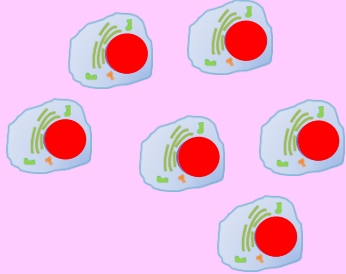
- ・ ギムザ染色によるDicの解析は5 Gyが上限。
- ・ Dicの解析は時間と熟練の経験が必要。
- ・ ringは低線量での出現頻度が低く、高線量被ばくの推定でしか使用できない。
- ・ 2つの手法はサンプルの培養方法が異なるため、被ばく線量が未知数の場合、両方培養が必要。
- ・ 1度に大量のサンプル解析は困難。



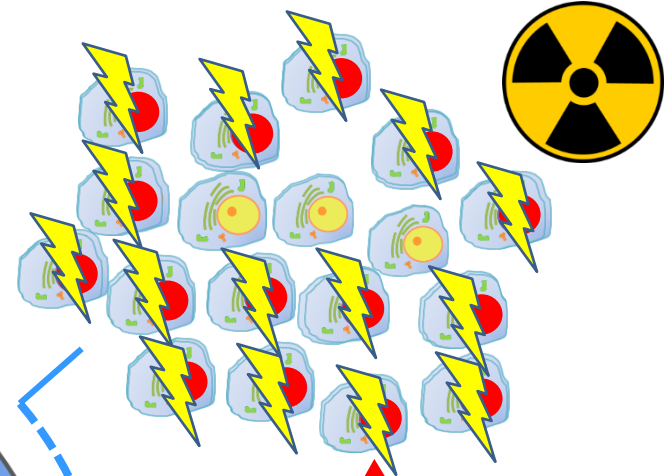
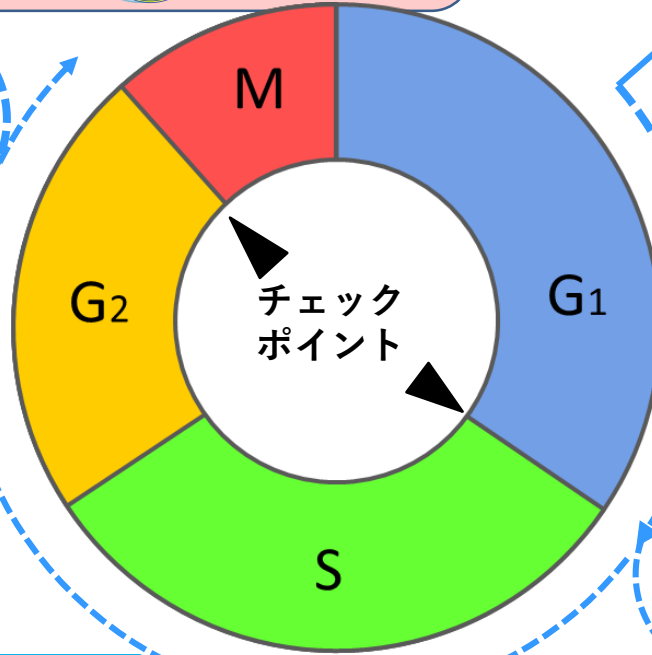
1つの培養方法で低線量から高線量まで幅広い線量推定が可能な手法が必要。

なぜ従来のDic検出では
5Gy以上の線量推定が難しいのか？

G₂ checkpointで脱落



解析できる細胞
M期に到達し染色体形成

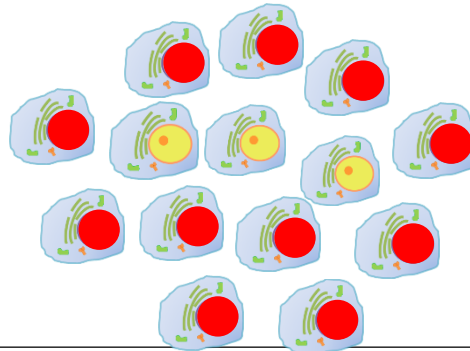


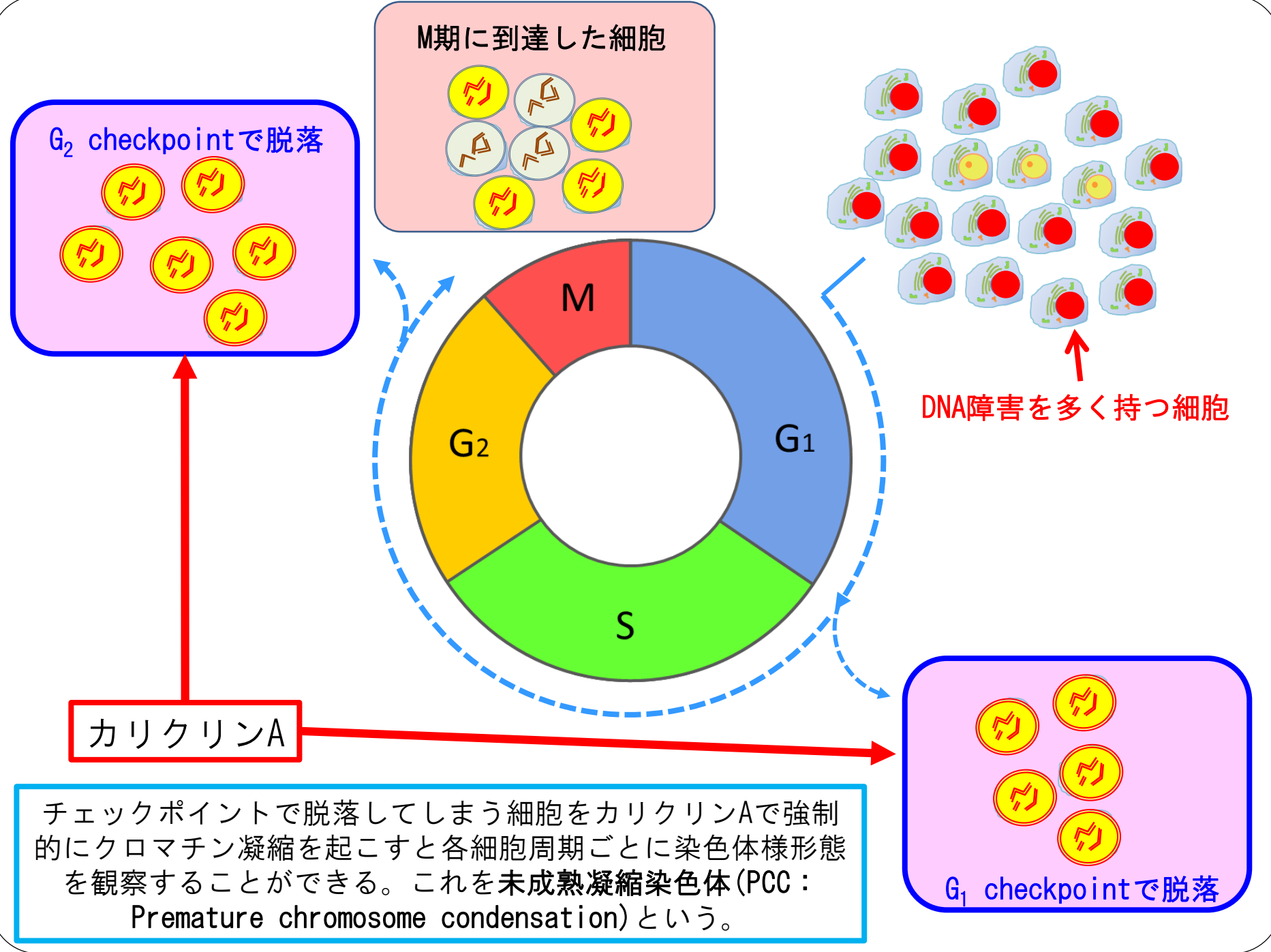
DNA障害を多く持つ細胞

・放射線によってDNA障害を持つ細胞はチェックポイント機構によってアポトーシスが誘導され、染色体として解析できるM期に到達できない細胞が増加。

→高線量ではDicの解析が困難

G₁ checkpointで脱落

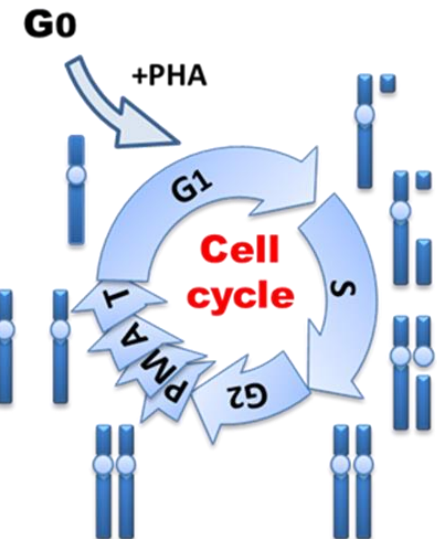
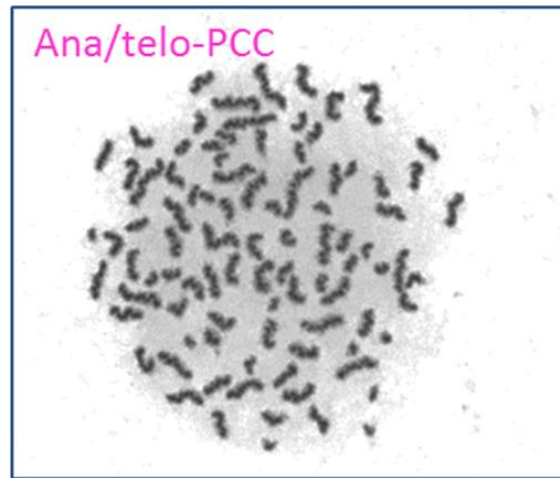
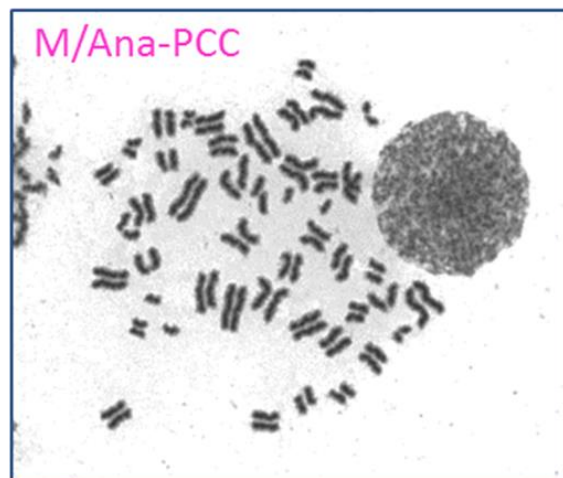
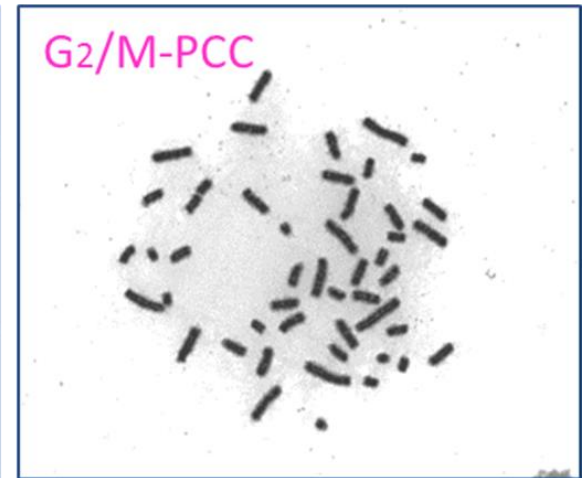
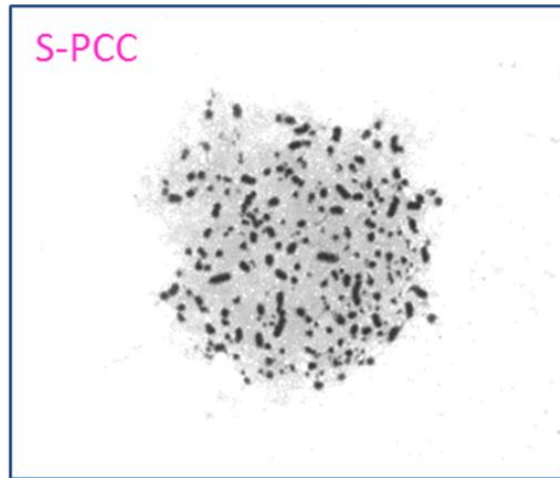
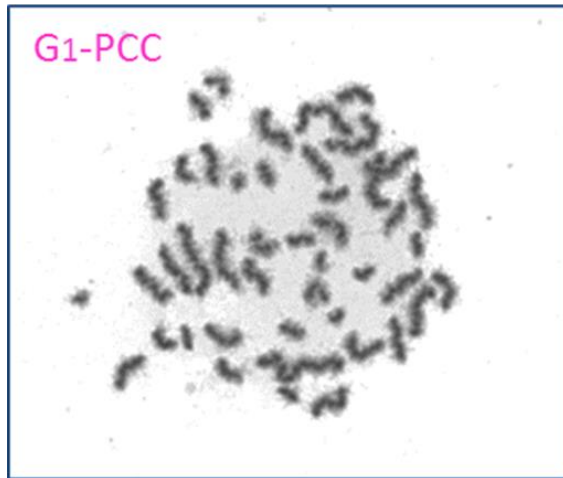




チェックポイントで脱落してしまう細胞をカリクリンAで強制的にクロマチン凝縮を起こすと各細胞周期ごとに染色体様形態を観察することができる。これを未成熟凝縮染色体 (PCC: Premature chromosome condensation) という。

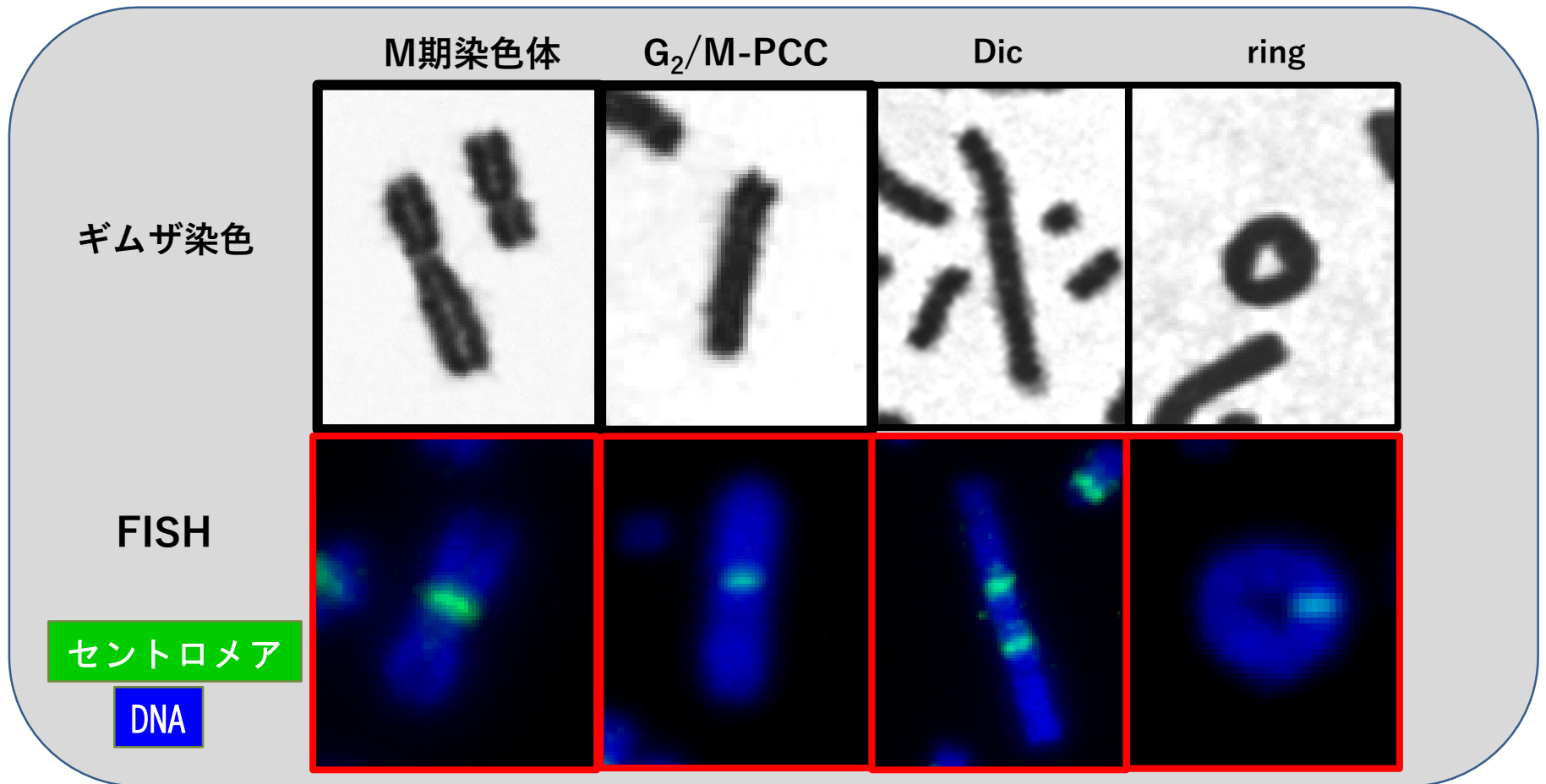
Premature Condensation Chromosome(PCC)

- 細胞周期を5段階に分類し、G₂/M-PCCを解析対象とした。



染色体異常の鑑別

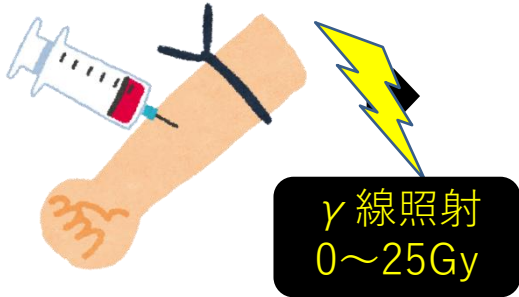
- PCCの欠点として、**動原体の凝縮が不十分**なため、ギムザ染色で動原体の判別が困難。
→**セントロメアFISH**を併用することで動原体を可視化し、Dicの判別を行う。



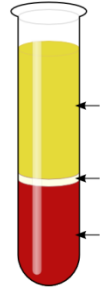
実験方法

被験者から採血

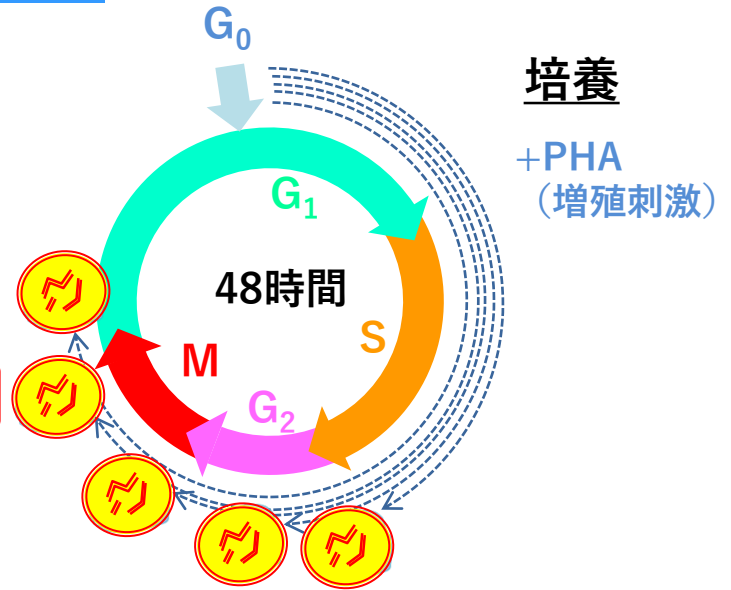
リンパ球分離



単核球画分



+ Caliculin A

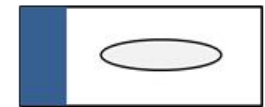


1線量あたりの解析細胞数

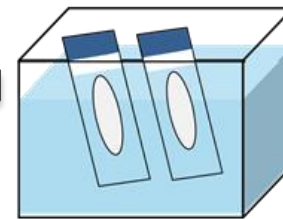
100個のDicを検出するまで
または5000細胞に達するまで

→1細胞あたりの異常染色体数を算出

固定



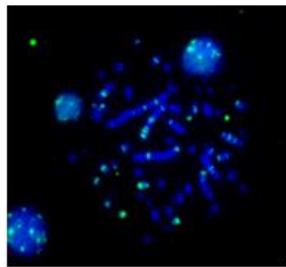
標本作成



染色



撮影



解析

結 果
(論文準備中)

考 察

- FISHを用いたPCC-Dic法は、従来のDic-ギムザ染色を用いた線量評価法よりも適用範囲が広く、PCC-ring法よりも個人差の少ない結果が得られた。

結 語

PCC-Dic法は、被ばく線量の不明な放射線災害時における線量評価法として優れていると考えられた。

ご清聴ありがとうございました。

