

博士論文（要約）

水晶体上皮細胞の放射線応答と 水晶体の放射線防護に関する研究

(Study on the radiation response of lens epithelial cells
and its application to the radiation protection of eye lens)

藤通有希

眼の水晶体は、生涯成長を続ける透明な組織で、カメラでいうレンズの役割を果たす。水晶体は、前面一層の水晶体上皮細胞と、それが分化して透明になった水晶体線維細胞が水晶体嚢に包まれた単純な構造であり、そのため、全ての細胞が水晶体内に残り続ける。白内障は、主に加齢によって眼の水晶体が混濁することをいい、その発症部位によって、後嚢下白内障、皮質白内障、核白内障に分類される。放射線によっても白内障が発症すると1世紀以上前から報告されており[1, 2]、後嚢下白内障が多いことも報告されているが、その発症機構は現在でも不明である。

国際放射線防護委員会（ICRP）は、全ての放射線影響を、しきい値型の線量応答を示す組織反応（確定的影響）と、それ以外の確率的影響のどちらかに分類したうえで、防護体系を勧告している[3]。放射線白内障は代表的な組織反応（確定的影響）であり、遷延・多分割被ばくにおける視覚障害性白内障のしきい値 >8 Gyにもとづいて、放射線作業従事者への水晶体等価線量限度150 mSv/年が勧告されてきた[4]。

ところが、ICRPは2011年のソウル声明により、視覚障害性白内障のしきい値を全ての被ばく状況において0.5 Gyに下げた[5]。これは、疫学的知見のみにもとづいており、白内障は組織反応（確定的影響）であること、しきい値は小さくともあること、全ての小さな混濁が視覚障害性白内障へ進行すること、急性被ばくと慢性被ばくによる影響が同じであることなどの多くの仮定が用いられている[5, 6]。ICRPは、白内障が確率的影響か確定的影響かという判断は、該当疾患に至る生物学的機構の知見がないと正当化されないとしている[7]が、放射線白内障の発症機構は未だに不明であり、水晶体上皮細胞の基礎的な放射線応答さえも十分に明らかになっていない。

そこで、ここでは、これまでの疫学的知見を整理・分析し、発症機構の仮説を立て、生物学的実験による説明が可能かどうかを検討することとした。

まず、ヒト放射線白内障に関関する疫学的知見を得るため、ICRPが引用した全文献を含む約100編の文献を整理し、ICRPがしきい値の根拠とした文献とその被ばく集団への影響の経年変化を追うことができる文献をさらに絞って分析した。疫学的知見の分析の結果から、後嚢下白内障は被ばく後早期と晩期のいずれでも観察され、皮質白内障は被ばく後晩期になってから報告されていることが本研究によりわかった[8]。また、後嚢下白内障のしきい値は、比較的高線量の急性被ばく後早期では報告されるが、晩期ではしきい値が有意でなくなる傾向を見出した[8]。そこで、放射線白内障は、急性被ばくによりしきい値型の線量応答を示す「早発性後嚢下白内障」、被ばく様式（急性、遷延・分割、慢性被ばく）によらず非しきい値型の線量応答を示す「遅発性後嚢下白内障」と「遅発性皮質白内障」に分類できることを新たに提案した[8]。

次に、提案した放射線白内障それぞれの発症機構について考察するため、水晶体のなかで唯一増殖能があり、放射線の影響を受けやすいと考えられるヒト正常水晶体上皮細胞（HLEC1）の放射線応答を調べた。このとき、比較対象として一般的な放射線応答を示すヒト初代正常肺線維芽細胞（WI-38）を用いた。これらの細胞の基礎的な特性を調べるために、染色体標本と、繰り返し継代による累積集団倍加数を評価した。その結果、HLEC1とWI-38の両細胞ともに、二倍体の正常な細胞であること、HLEC1の累積集団倍加数はWI-38よりも短かったが、若い細胞を用いると実験可能であることがわかった。照射実験は、X線発生装置（MBR-1505R2）を用いて実施した。放

放射線生物影響の評価で最も基本であるが、生物種によらず、初代水晶体上皮細胞では報告がないコロニー形成法により、HLEC1とWI-38の生存率（放射線致死感受性）を調べた。その結果、統計学的な有意な差はなく、放射線感受性は同程度であることがここで初めてわかった[9]。しかし、コロニーの形態をよくみると、WI-38は、線量が増加するほどコロニーの大きさが小さくなるという定説通りの応答を示したが、HLEC1では、照射線量が高いと大きなコロニーが出現するという現象がここで見いだされた。そこで、サイズやコロニー構成細胞数を定量化したところ、コロニー平均面積は、0 Gyでは両細胞でほぼ同じ（ p 値：0.24）であるが、2 Gy以上で有意にHLEC1のサイズやコロニー構成細胞数が増加していた[9]。細胞死の一種である老化様増殖停止（早期老化）の線量応答を調べたところ、同じ照射線量でも水晶体上皮細胞の方が早期老化しやすいことがわかった。水晶体上皮細胞について、早期老化以外の細胞死の指標となるトリパンプブルー色素排除能を調べたところ、照射後1週間で変化はなかった[8]。以上から、放射線を照射すると、早期老化するか過増殖することを新たに見出した。

本研究で見いだした「過増殖」、水晶体上皮の増殖帯部分が放射線白内障形成に関わっているという報告[10, 11]、水晶体上皮細胞の増殖を亢進させたマウスでは、放射線白内障と同じ部位に白内障が生じるという報告[12]、放射線照射により分裂期の細胞割合が増えるという報告[13]をあわせて考えると、放射線誘発過増殖が後囊下白内障を説明しうる。これは、興味深いことに、ICRPが2011年のソウル声明以前に勧告してきた急性被ばくによるしきい線量（2-10 Sv）[3]と一致する。また、過増殖は急性反応として生じることから早発性の後囊下白内障に関わると考えられる。以上から、早発性後囊下白内障は放射線照射後に起こる水晶体上皮細胞の過増殖によって生じ、しきい値型の線量応答を示すと考えられる[8]（図1、表1）。

また、照射後に過増殖を示さない細胞は、早期老化していた。水晶体では全ての細胞が水晶体内にとどまることをあわせて考えると、早期老化が白内障形成に寄与する可能性が示唆される。死細胞はゆっくりと後囊へ移行するため遅発性の後囊下白内障に関わると考えられる。従って、遅発性後囊下白内障は死細胞や分化異常細胞が関わっていることが考えられる[8]（図1、表1）。

皮質白内障は加齢白内障の代表であること、加齢性白内障でみられる応答が、放射線によっても誘導されることから[8]、放射線は加齢を加速し、その結果、皮質白内障を生じさせることが考えられる（図1、表1）。このため、皮質白内障は晩発性であり、しきい値がない線量応答を示すと考えられる[8]。

現在の放射線防護体系では、確率的影響か組織反応（確定的影響）かという分類が取られ、個人の線量限度を定める際の重要な因子である。ここでの研究では、放射線白内障は組織反応（確定的影響）と確率的影響の双方の特徴を示しており、組織反応（確定的影響）か確率的影響かというこれまでの影響区分の枠組みでは扱いきれない。そのため、放射線防護を考察する際には、新たな知見を組み込んだ表現が求められることとなる。

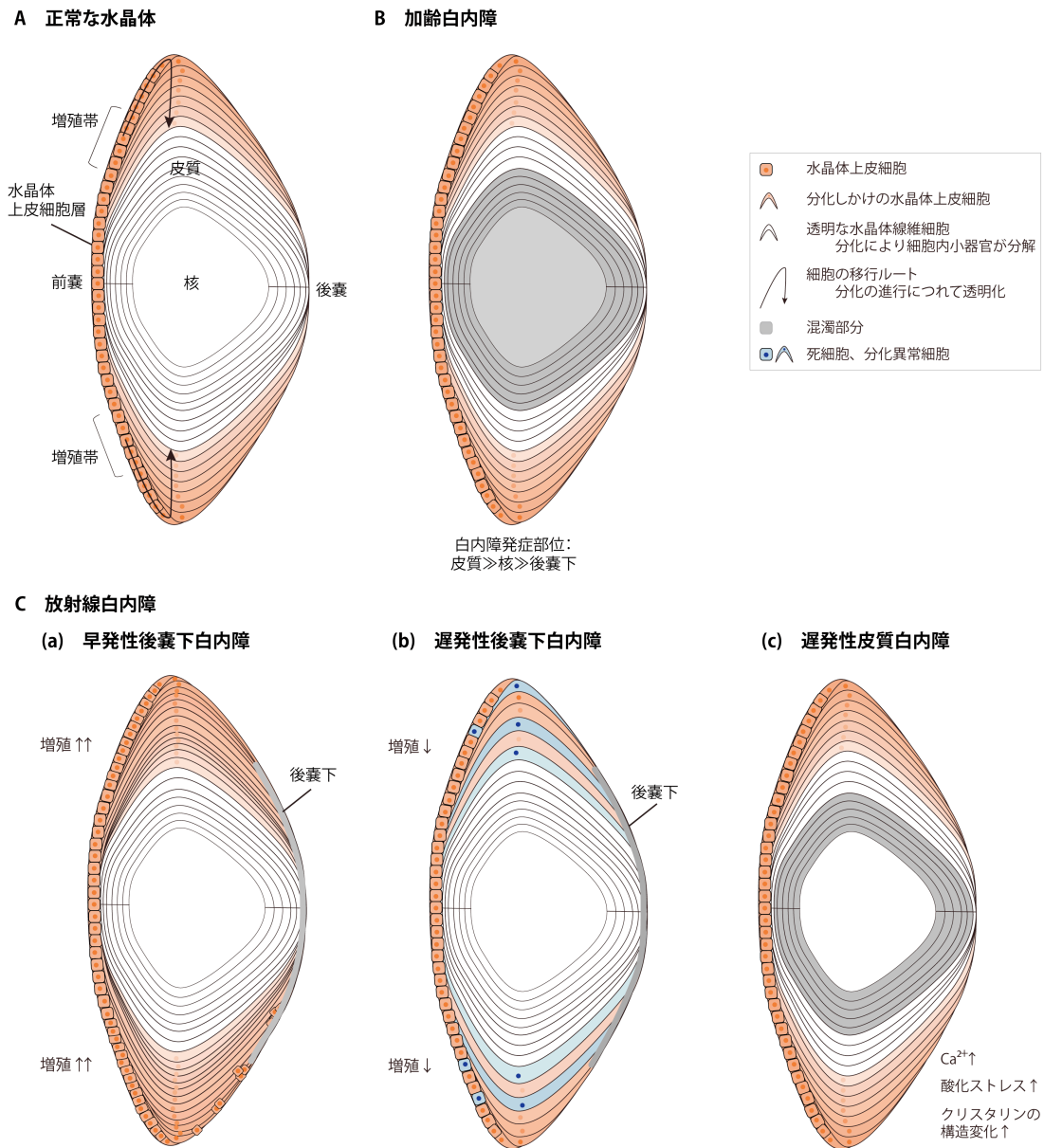


図1 提案した放射線白内障発症機構の仮説
藤通ら, 2014 より転載[8]

本論文では、疫学的アプローチにより放射線白内障の3つの分類を見だし、生物学的アプローチにより水晶体上皮細胞の放射線致死感受性を初めて評価するとともに、2 Gy 以上で過増殖が生じることを新たに見だし、これらをあわせて、放射線発症機構を新たに提案した。さらに、放射線防護における意義を考察した。今後は、発症機構を細胞レベル・分子レベルの観点やシミュレーションによるモデル化研究から研究を進める必要がある。

表 1 放射線白内障の新たな分類

	線量応答	被ばく状況	要因
早発性後嚢下白内障	しきい値型	急性被ばく	過増殖
遅発性後嚢下白内障	非しきい値型	全て	死細胞、分化異常細胞
遅発性皮質白内障	非しきい値型	全て	加齢の加速

引用文献

1. Chalupecky H. Zentralbl Augenheilkd 1897, 21:234-239.
2. Rollins W. The Boston Medical and Surgical Journal 1903, 148(14):364-365.
3. ICRP. ICRP Publication 103. Ann ICRP 2007, 37(2-4):1-332.
4. Hamada N, Fujimichi Y. J Radiat Res 2014, 55(4):629-640.
5. ICRP. ICRP Publication 118. Ann ICRP 2012, 41(1-2):1-322.
6. 藤通有希, 小佐古敏荘, 吉田和生, 浜田信行. 保健物理 2013, 48(2):97-103.
7. ICRP. ICRP Publication 60. Ann ICRP 1991, 21(1-3):1-201.
8. 藤通有希, 小佐古敏荘, 浜田信行. 保健物理 2014, 49(3):131-138.
9. Fujimichi Y, Hamada N. PLOS ONE 2014, 9(5):e98154.
10. Alter AJ, Leinfelder PJ. AMA Arch Ophthalmol 1953, 49(3):257-260.
11. Hayden JH, Rothstein H, Worgul BV, Merriam GR, Jr.. Experientia 1980, 36(1):116-118.
12. Wiley LA, Rajagopal R, Dattilo LK, Beebe DC. Dis Model Mech 2011, 4(4):484-495.
13. Von Sallmann L, Tobias CA, Anger HO, Welch C, Kimura SF, Munoz CM, Drungis A. AMA Arch Ophthalmol 1955, 54(4):489-514.