

下記は 2007 年に出された論文の一部です。なお翻訳ソフトを使用して編集しましたが、
専門用語は専門家の方の和訳をしていただく必要があります。山根和代

ニュージーランド核実験被爆者調査

- 細胞遺伝学的解析

R E (Al) Rowland

ジョン・V・ポッド

モハメッド・アブドゥル・ワハブ

エリザベス・M・ニッケレス

クロード・パルマンティエ

ラディア・ムカチャー

分子生物科学研究所

心理学研究科

マッセー大学

パーマストンノース

ニュージーランド

UPRES EA 27-10

ギュスターヴ・ルシー研究所

フランス

ニュージーランド核実験退役軍人協会に提出された報告書

ニュージーランド核実験退役軍人会

2007

Vi ページ

概要

この報告書は、1957-58年の「グラップル作戦」に参加したニュージーランド軍人の遺伝的状态を評価するために実施した3つの試験結果をまとめたものである。このうち、G2分析と小核(MN)の分析の2つの分析では、退役軍人とマッチさせた対照者との間に差が見られなかった。このことは、退役軍人のDNA修復機構に欠陥がないことを示唆している。

しかし、今回報告した mFISH 分析法の結果は、一連の核実験「グラップル作戦」から50年後のニュージーランドの核実験帰還兵の末梢血リンパ球における転座頻度が高いことを示している。

この退役軍人とマッチさせた対照者の間の差は、この特殊な分析法で非常に有意であった。総転座頻度は、この年齢層の男性にとって正常なバックグラウンド頻度を示した対照群に比べ、退役軍人の方が3倍も高いのである。この結果は、退役軍人がグラップル作戦に関連する任務を遂行した結果、長期にわたる遺伝的損傷を受けたことを示すものである。

交絡因子の可能性について退役軍人と対照群を注意深く比較し、関連する研究の科学文献を詳細に分析した結果、観察された染色体異常の決定的な原因が推定された。電離放射線は、染色体転座の強力な誘発因子であることが知られている。

この結果は、退役軍人がグラップル作戦に関連する任務を遂行した結果、長期にわたる遺伝的損傷を受けたことを示すものです。

私たちは 退役軍人において観察された転座頻度の上昇は、放射線被曝に起因する可能性が最も高いという見解を提出します。

1 ページ

はじめに

1957年から58年にかけて、英国政府は中太平洋に浮かぶクリスマス島とモルデン島で一連の核実験を行った。この一連の爆発実験には「グラップル作戦」というコードネームが与えられた。これらの島は、以前はライン諸島に属していたが、現在はキリバスという国の一部になっている。グラップル作戦は、1957年5月から1958年9月までの間に9回の

核爆発が行われた。一連の3つの原子爆弾（核分裂）は、マルデン島近くの海上で起爆された。さらに4回の原子爆弾の爆発がクリスマス島の海上で起こり、2回の小型熱核爆発が陸上で起こされた。

この「グラップル」シリーズには、英国とニュージーランドの海軍艦艇が参加した。ニュージーランドのフリゲート艦2隻（HMNZS Pukaki と HMNZS Rotoiti）がこの一連の爆発実験に参加した。この実験には、合計551人のニュージーランド海軍の兵士が参加した。彼らの任務は、核爆弾の爆発に立ち会い、気象データを収集することであった。

グラップル実験では、ニュージーランド艦船は、爆心地から風上20～150海里の距離に配置された（クロフォード、1989年）。プカキ号は9回の実験すべてに参加し、ロトイチ号は最初の4回に参加しただけである。表1（2ページ）は、これら各艦の起爆と距離の情報である。

この実験では、被爆者が身につけていたフィルムバッジのデータがないため、被爆の有無、被爆した場合の線量を確定することは困難である。しかし、この実験以来、退役軍人たちは、グラップル作戦に参加したことが生活の質に影響を与えたと、良かれ悪しかれ主張している。

（次ページへ）

Table 1. The location and yields of each Operation Grapple test, and the position of each ship at the time of each detonation (Crawford, 1989).

Round	Date	Island	Height (m)	Yield	Distance From Ground Zero (Nautical Miles)	
					Pukaki	Rotoiti
Grapple 1	15/05/1957	Malden	2400 m	Megaton	50	150
2	31/05/1957	Malden	2300 m	Megaton	50	150
3	19/06/1957	Malden	2300 m	Megaton	150	50
X	08/11/1957	Christmas	2250 m	Megaton	132	60
Y	28/04/1958	Christmas	2350 m	Megaton	80	-
Z1	22/08/1958	Christmas	450 m	Kiloton	28	-
Z2	02/09/1958	Christmas	2850 m	Megaton	35	-
Z3	11/09/1958	Christmas	2650 m	Megaton	35	-
Z4	23/09/1958	Christmas	450 m	Kiloton	20	-

また、退役軍人たちは、彼らや彼らの子孫の間で遺伝性疾患の有病率が増加していると主張している。このような検査を受けた英国の退役軍人のうち、数千人分の医療記録を分析したところ、多発性骨髄腫の頻度が高いという報告がある (Rabbitt Roff, 1999)。退役軍人の多くは、白内障 (Phelps-Brown ら、1997 年) や関節炎などの病気を患っていたり、胃腸障害や呼吸器障害、ある種の癌など放射線被曝に起因すると考えられる病気で死亡している (Rabbitt Roff、1997 年)。英国、米国、オーストラリア、ニュージーランドの核兵器退役軍人の健康に関する疫学調査がいくつか実施されているが、いずれも結論は出ていないか有意ではない (Pearce ら、1990a、b ; Rabbitt Roff、1999 ; Dalager ら、2000 ; Muirhead ら、2003)。また、子孫の健康に関する研究も同様である。(Reeves ら、1999 ; McLeod ら、2001a、b)。

ニュージーランドの調査対象者数が 551 人と少ないことは、疫学調査を常に困難なものにしてきた。しかしながら、いくつかの調査では、白血病などの血液学的癌の発生率が、グラップル実験による放射線被曝のためか、ニュージーランド退役軍人において中程度に有意に増加していることが示されている (Pearce, 1990a)。しかし、対照群の罹患率を国の癌統計と比較したところ、この群の癌罹患率が異常に低く、これが結果を歪めている可能性があ

ることが分かった (McEwan, 1988)。これまでニュージーランドの核実験帰還兵が主張してきたことは、いずれも疫学的証拠や逸話的証拠に基づくもので、実験的な裏付けはまだないのである。

このため、一連のグラップル作戦に立ち会ったニュージーランド海軍兵士が遺伝的なダメージを受けたかどうかを調べるため、対照遺伝学的研究が行われた。この報告書は、当研究所が退役軍人 50 名と対照者 50 名を対象に姉妹染色分体交換法 (SCE) を用いて行った並行研究 (Rowland et al., 2005) と、Chad Johnson (2004) が同じサンプル群を対象に COMET 法を用いて行った修士論文に続くものである。SCE の研究では、ニュージーランドの元軍人から成るマッチさせた対照群と比較して、核実験帰還兵の姉妹染色分体交換の頻度がわずかではあるが有意に高いことが検出された。今回報告された研究では、さらに 3 つの分析が実施された。G2 分析、小核 (MN) 分析、および mFISH (多色蛍光 in situ ハイブリダイゼーション) である。

G2 分析

染色体の不安定性や消失・増加は、多くの腫瘍細胞やヒトの障害に特徴的な変化である (Griffin, 2002)。いくつかの研究により がんになりやすい体質と放射線感受性の間に関連があること、そして 放射線感受性の間にあり、DNA 修復能の障害が遺伝的不安定性と癌の発生に重要な役割を果たすようである (Sanford ら、1989 ; Terzoudi ら、2000 ; Smart ら、2003)。DNA 修復能の欠損は、G2 染色体感受性の上昇によって測定することができる (Sanford and Parshad 1999; Bryant et al., 2002)。これは、収穫の約 1.5 時間前に細胞に放射線を照射し、c-メタフェースの染色体を調べて染色体および染色分体の切断を確認することで達成される。このような細胞は、放射線照射時に G2 期であったはずである。今回の研究では、ニュージーランドの核実験帰還兵の放射線感受性のレベルを確認するために、G2 分析を実施した。

小核の分析

細胞質分裂阻止小核法は、電離放射線に対する染色体の感受性を測定するための高感度バイオマーカーとして国際的に認知されている。ヒトの研究では、末梢血リンパ球における in vivo および/または in vitro の放射線誘発性染色体損傷を評価するための日常的で信頼できる方法となっている (Fenech and Morley, 1985; Prosser et al, 1988; Mueller et al, 1996; Thierens et al, 2000; Fenech 1993, 2000; Gutierrez and Hall, 2003; Lorge et al, 2006; Clare et al, 2006)。電離放射線被曝の結果としての感受性の増加は、このようによく立証されており、多くの遺伝性の癌傾向のある状態と相関している (Scott ら、1998 年)。放射線感受

性の増加は、放射線によって誘発された DNA 損傷の処理における欠陥に起因すると考えられ、このような遺伝的疾患における癌素因の一因となり得る。

このように、本研究で適用した小核測定法は、過去に広く用いられており、クラストジェニックあるいはジェノトキシックな物質に曝されたヒトの集団の染色体損傷の程度を評価するために用いられてきた。この手法は、その設計が単純である。細胞は細胞周期の G1 で照射され、その後、紡錘体から分離した壊れた染色体または剥離した染色体を形成する。この照射された細胞が有糸分裂を行った後、ゲノムに再挿入されなかった断片が細胞質内に捕捉され、紡錘体から分離した染色体を形成する。小核を形成する。このとき、すべての断片と 2 個の娘核を 1 つの親細胞に保持するために、サイトカラシン B という細胞質分裂阻害剤を塗布する。これにより、ゲノムに「治癒」されなかった断片の数を数えることができ、研究者は DNA 修復効率の指標を得ることができる。

mFISH

電離放射線は染色体異常の誘発因子としてよく知られている (Lazutka, 1996; Slozina et al. 1997; Bauchinger et al. 1993, 1997; Cologne et al. 1998; Edwards, 2002; Hsieh et al. 2002; Maffei et al. 2004; Hei et al. 2005; Soyfer, 2002)。比較的最近になって、多色蛍光顕微鏡法という細胞分子技術が開発されたことにより 染色体ペインティング(Chromosome Painting)と呼ばれる細胞分子生物学的手法により、安定型転座や不安定型二動原体染色体を含む様々な異常が観察できるようになった。この方法では、ヒトゲノムの相同染色体をそれぞれ異なる色で染色することにより、染色体間の交換や他の多くの異常事象を検出することができる。転座の研究では、多くの場合、3 本の染色体のみを染色し、残りのゲノムは反対染色を行う。この方法の効率は約 30% である (Whitehouse et al., 2005)。

私たちの研究では、ゲノムのすべての染色体を別々の色で塗る多色蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (mFISH) 法を採用した。これにより、転座の総数や種類を予測ではなく、効率的に記録することができるようになった。なぜなら、ニュージーランド人は過去にフランス領ポリネシアで行われた数回の大気圏内原爆実験によって危険にさらされた可能性があるからである。実際、ニュージーランドは 1978 年にこの問題でハーグの国際司法裁判所にフランスを提訴している。

DNA へのいかなる損傷も健康に害を及ぼし、場合によっては世代間に影響を及ぼすというのが、一般的な考え方である。遺伝毒性物質に暴露された人の追跡調査では、高い染色体損傷がその後の健康リスクを予測することが明らかにされている (Hagmar ら、1994, 1998a,b, 2001)。しかし、本研究は退役軍人の健康状態について何ら主張するものではない。

いことを強調したい。本研究は、実験群（退役軍人）の遺伝的状态に焦点を合わせている。

この研究に着手するにあたり、研究者が抱いた不安の一つは、これほど昔の出来事に起因する遺伝的損傷の証拠を発見できるかどうかということであった。50年以上というのは長い時間であり、このような研究はほとんど行われていない。それでも、何人かの著者が行った研究は、この研究が価値ある試みであったという我々の見解を裏付けるものである。ニューヨークのコロンビア大学にある David Brenner の研究室に所属する Hande

（2003）は、過去に高密度の電離放射線に被曝すると、ゲノムに独特の永久標識を残すことができることを説得力を持って示した。彼らの研究は、放射線生成物が何十年にもわたって体内に残り、長期的な遺伝的影響をもたらす可能性があることを確認した。彼らは、旧ソビエト連邦で1949年以降に職業的に被曝した健康な元核兵器作業員を対象に調査を行った。被曝者はプルトニウムの製造・加工施設か原子炉施設に勤務していた。高線量被曝者と原子炉の両方で、高い収率の染色体異常が見られた。重要なことは、プルトニウム摂取量の何割かが長期にわたって保持されていることを実証したことである。剖検データはプルトニウムの肺クリアランスを計算するために使われた。Brenner のグループが調査したプルトニウム労働者の場合、平均50%の骨髄プルトニウム線量が1983年以降、25%が1993年以降、8%が1998年以降にこの組織に沈着していることが分かった。これは、1949年に被曝した一部の労働者について、プルトニウムが別の肺外臓器に沈着するまでに50年近くかかっていることを意味する。

さらに、リンパ球の中には20年を超える非常に長寿のものがあることは以前から知られており、被曝時に末梢リンパ球として存在していた細胞にも放射線誘発の異常が依然として観察されることがある（Awaら、1978；Bucktonら、1983）。

本研究に関連する文献を検索したところ、数年前に放射線に被曝した人でも、依然として遺伝的障害の所見を示していることが分かった。これらの研究には、11年前に誤ってトリチウム水を取り込んだ単発のケース（Lloyd et al, 1997）、被曝後8年まで調査したチェルノブイリ作業員（Lazutka and Dedonyte, 1995; Salissidis et al, 1994, 1995; Snigiryova et al, 1997）、被曝後約50年経過した原爆生存者の測定（Lucas et al, 1992, 1996; Nakamura et al, 1998）が含まれている。

以上の調査結果は、グラップル作戦に参加したニュージーランド軍人が長期にわたる遺伝的障害を受けたかどうかの調査に着手するよう私たちを促した。

しかし、1987年9月にブラジルで発生したゴイアニア事故の高線量被曝者についての研究

(Straume et al.) によって、私たちの見方は強化された。(Straume et al., 1991; Natarajan et al., 1998) あるパラメータ (リンパ球の二動原体頻度は時間とともに減少する) を観察すると、時間の経過とともに損傷が減少していることが分かるが、他の損傷パラメータ (転座、欠失、異数性、ヒポキサンチン・グアニン-ホスホリボシル転移酵素欠損 (HPRT) 突然変異体の頻度) は高いままであった。

研究者たちは、今回のような調査は非常に議論を呼ぶ可能性があることも意識していた。したがって、グラップル作戦への参加という関心のある変数を可能な限り分離するために、研究のデザインにかなりの注意を払うことが重要であった。そのため、今回の調査では、人体実験の経験が豊富な心理学の研究者が重要な役割を担った。彼らの専門知識は、退役軍人グループと対照グループの両方の選択プロセスを構築する上で貴重なものとなった。

この2つのグループがどのように選択されたかは、「材料と方法」のセクションで詳しく説明されている。研究参加者の選定には厳格な基準が適用され、また、結果に影響を及ぼす可能性のある交絡因子をできるだけ多く考慮するため、生活歴、職歴、病歴に関する広範な個人情報の収集が行われた。何らかの理由で地域が結果に影響を与える要因となる場合に備えて、退役軍人と対照者の地理的位置が同じになるように、ニュージーランドの北島で層別化し、選択した。

資料と研究方法など (省略します。)

まとめ

1957-58年に Grapple 作戦に参加したニュージーランド軍人の遺伝的状态を確認するため、大規模調査の一環として3種類の検定が実施された。このうち、G2分析と小核 (MN) 分析の結果から、退役軍人はDNA修復機構に何ら欠陥がないことが示された。

3番目の分析である mFISH では、退役軍人の染色体における総転座の頻度が、マッチさせた対照群と比較して非常に高いことが分かった。この結果は非常に重要であり、私たちは、退役軍人の間でこれほど高い転座頻度を生んだ統一的な要因は何かという疑問に答える必要に迫られている。慎重に計画されたケースコントロール研究によって、私たちは、これが「グラップル作戦」への参加に起因するものであるという見解に至った。

このことから、2つ目の疑問が生まれる。では、作戦参加からこれほど長い時間が経過した後で、転座頻度が高くなる原因は何なのであろうか？

さまざまな環境因子が染色体切断を引き起こす可能性があるが、対照群では10個であったのに対し、退役軍人では1000細胞あたり29個の転座が観察され、特に高いスコアとなっている。

交絡因子の可能性を排除するため、退役軍人および対照者の選択プロセスにおいて、非常に厳格な除外／包含基準が適用された。また、高い染色体転座頻度を伴う関連研究についての科学文献の詳細な分析も行われた。

我々は、退役軍人の転座頻度上昇の原因は放射線被曝である可能性が高いという見解を提出する。この見解は、退役軍人において放射線被曝の特徴である二動原体染色体スコアが比較的高いという観察結果からも支持される。

The 2007 Massey Study found DNA Damage -

<https://www.labrats.international/post/the-massey-study-unravelling-the-issues>