

テーマ（2）事故に係る心身への健康影響及びそのメカニズムに関する研究

- 2-1 原子力発電所事故後の避難住民・帰還住民における健康寿命に関わる震災
関連要因とそのメカニズムについての疫学研究
主任研究者：大平 哲也（福島県立医科大学）1
- 2-2 原発事故後10年間における地域住民の二次的健康影響の総括、および
今後の医療・介護ニーズの推定に関する研究
主任研究者：坪倉 正治（福島県立医科大学）5
- 2-3 ロングリード解析を用いた放射線刻印の同定と福島小児甲状腺癌への応用
主任研究者：光武 範吏（長崎大学）9
- 2-4 福島県内外での疾病動向の把握に関する調査研究
主任研究者：祖父江 友孝（大阪大学） 11
分担研究者：今野 弘規（近畿大学）
分担研究者：松田 智大（国立がん研究センター）
分担研究者：大野 ゆう子（大阪大学）
- 若手研究項目「福島県内外での疾病動向の把握に関する調査研究の総括」
若手研究者：査 凌（大阪大学） 20
- 2-5 低線量長期被ばくマウスおよび細胞の超高感度変異検出に基づく放射線
影響と変異誘発機構の解析
主任研究者：権藤 洋一（東海大学） 23
分担研究者：松本 義久（東京工業大学）
分担研究者：角山 雄一（京都大学）

2-6	ゲノム変異シグネチャー解析で紐解く低線量放射線の発がん寄与割合とメカニズム	
	主任研究者：鈴木 啓司（長崎大学）	27
	若手研究項目「メチル化シグネチャー解析による放射線の発がん寄与割合評価」	
	若手研究者：河村 香寿美（長崎大学）	31
2-7	被ばくの分子指標を用いた低線量・低線量率放射線によるがんリスクの直接評価	
	主任研究者：臺野 和広（量子科学技術研究開発機構）	34
	若手研究項目「被ばくの分子指標としての有用性の評価」	
	若手研究者：鈴木 健之（量子科学技術研究開発機構）	38
2-8	放射線による“ゲノム不安定性・がん”のリスク上昇メカニズムと、リスク診断法・制御法の研究	
	主任研究者：吉岡 研一（国立がん研究センター）	42
	分担研究者：益谷 美都子（長崎大学）	
2-9	低線量率放射線発がんリスクの予測モデル構築及び遺伝的素因に関する基礎的研究	
	主任研究者：今岡 達彦（量子科学技術研究開発機構）	46
	若手研究項目「Brca1 遺伝子欠損個体の低線量率放射線影響の機序解明」	
	若手研究者：永田 健斗（量子科学技術研究開発機構）	49
2-10	低線量被ばくによる発がん高感受性臓器のがんに至る細胞動態解明	
	主任研究者：飯塚 大輔（量子科学技術研究開発機構）	53
2-11	セシウム 137 による慢性的低線量内部被ばくマウスの体細胞・生殖細胞における DNA 塩基配列への影響—全ゲノム解析による継世代影響の統計解析—	
	主任研究者：中島 裕夫（大阪大学）	57

- 2-1 2 放射線によるゲノム変異（放射線の爪あと）とそれに起因する発がんを
高感度に検出できるマウスを用いた、低線量・低線量率放射線発がん
リスク評価研究とそのメカニズム解明
主任研究者：笹谷 めぐみ（広島大学） 61
分担研究者：金井 昭教（東京大学）
- 2-1 3 福島県内における東日本大震災前後の停留精巣患者数の実態調査
主任研究者：小島 祥敬（福島県立医科大学） 65

放射線の健康影響に係る研究調査事業 令和4年度研究報告書

研究課題名	原子力発電所事故後の避難住民・帰還住民における健康寿命に関わる震災関連要因とそのメカニズムについての疫学研究
令和4年度研究期間	令和4年4月1日～令和5年2月28日
研究期間	令和2年度 ～ 令和4年度（3年目）

	氏名	所属機関・職名
主任研究者	大平 哲也	福島県立医科大学医学部疫学講座・主任教授
分担研究者		
若手研究者		

キーワード	要介護、脳卒中、循環器疾患、避難、放射線被ばく、ストレス
-------	------------------------------

本年度研究成果
<p>I 研究背景</p> <p>これまで、東日本大震災後の福島の避難住民においては、避難生活に伴う環境の変化、社会心理的ストレスの増大、生活習慣の変化により肥満、高血圧、糖尿病、脂質異常等の生活習慣病が増加したことが明らかになっている¹⁾。したがって、避難住民では、避難による肥満、高血圧等の循環器疾患危険因子の増加、身体活動量の低下など生活習慣の変化、及び放射線への不安など心理的ストレスの増加を介して脳卒中等の循環器疾患の発症リスクが高い状態が続いている可能性がある。また、今後、脳卒中、認知症、身体機能低下に関連した要介護者が増加し、健康寿命がさらに短くなる可能性が考えられる。一方、避難区域住民における脳卒中等の増加が報告されると、たとえ避難による心身のストレス等が脳卒中発症に影響していたとしても、その検討がされないまま避難区域住民における脳卒中増加のみが報告されることによって、放射線被ばくの影響と類推される可能性があり、放射線被ばくの影響の過大評価に繋がる恐れがある。</p> <p>II 目的</p> <p>福島県内における避難区域住民の循環器疾患罹患率及びその危険因子の有病率の震災前後の推移を避難区域とそれ以外の地域で比較することにより、避難の影響を確認するとともに、病院採録における脳卒中登録情報と県民健康調査のデータを紐づけすることにより、新規の脳卒中発症に対して放射線被ばく、健診データによる生活習慣病等、及びこころの健康度のそれぞれに因子がどのように関連しているのかを明らかにすることを目的とした。</p> <p>III 研究方法</p> <p>①要介護の主要原因である循環器疾患の発症の推移</p> <p>National Database (NDB)の2010年～2017年における福島県のレセプトデータから、脳卒中、心筋梗</p>

塞について病名を抽出した上で、治療コードを組み合わせることで、脳卒中とその下位分類（脳梗塞、脳出血、クモ膜下出血）及び心筋梗塞の病名を1年毎に抽出した。次に、福島県を避難区域（12市町村）、浜通り（避難区域以外）、中通り、会津地方の4群に分けて、地域別に各疾患の年齢調整発症率の推移をみた。またポアソン分析により地域差の検討を行った。

② 避難区域住民における脳卒中発症の推移、地域差の検討

昨年度に引き続き福島県内医療機関における病院採録により2018年の1年間における脳卒中発症状況の登録を行った。その後、既に登録が終了している2013年と2018年のデータに基づき（？）避難区域を含む浜通り、中通り、会津地方の3つの地域に分けて、脳卒中年齢調整発症率の推移を検討した。

③ 脳卒中登録情報と県民健康調査データの紐づけによる症例対照研究

2013年に脳卒中登録が終了したデータを用いて、県民健康調査の基本調査（外部被ばく線量）、健診（高血圧、糖尿病等の身体的因子）、こころの健康度・生活習慣に関する調査（精神的苦痛、トラウマ反応）のデータと紐づけを行い、脳卒中発症者と非発症者との間で、各因子をロジスティック分析によって比較検討した。

本研究は福島県立医科大学倫理審査委員会の承認を得て実施した。

IV 研究結果、考察及び今後の研究方針

① 要介護の主要原因である循環器疾患の発症の推移

NDBの2010年～2017年における福島県のレセプトデータを分析した結果、福島県内の年齢調整脳卒中発症率は震災後2014年までは低下傾向であり、地域差は特にみられなかったが、避難区域では2015年以降に増加傾向がみられ、対照地域である会津地方との間で有意差がみられた。脳卒中の病型別では、特に脳出血、クモ膜下出血においてその傾向が顕著であった。一方、心筋梗塞の推移については特に一定した傾向はみられなかった。

② 避難区域住民における脳卒中発症の推移、地域差の検討

福島県内医療機関における病院採録により、2013年（震災2年後）と2018年（震災7年後）の脳卒中発症率を、浜通り、中通り、会津地方の3地域に分けて比較した結果、福島県内の年齢調整脳卒中発症率は2013年と比べて2018年において全体、中通り、会津地方では低下していたが、避難区域を含む浜通りでは脳卒中の年齢調整発症率が高い傾向がみられた。脳卒中の病型別では、浜通りでは脳出血及びクモ膜下出血の増加が特に強くみられ、2018年の年齢調整発症率は対照地域である会津地方に比べて、浜通りにおける全脳卒中、脳出血、クモ膜下出血が有意に高かった。

③ 脳卒中登録情報と県民健康調査データの紐づけによる症例対照研究

2013年の脳卒中発症調査において登録された5,455件の脳卒中発症者の情報と福島県県民健康調査結果を紐づけした結果、避難区域住民の脳卒中発症者の内279人のデータ（避難区域発症者の約50%）が県民健康調査の結果と紐づけられた。非発症者と発症者との間で放射線災害後の外部被ばく線量及び健診データ・こころの健康度との関連を検討した結果、外部被ばく線量と脳卒中発症との関連はみられなかったが、高血圧、糖尿病は脳卒中発症を高める方向に有意に関連し、男性の精神的苦痛も脳卒中発症を高める方向に有意に関連していた。脳卒中発症における高血圧、糖尿病を有する男女の性・年齢調整オッズ比（95%信頼区間）は、それぞれ1.78（1.27- 2.50）、2.39（1.56- 3.65）であった。また、精神的苦痛を有する男性の有しない男性に対するオッズ比は1.75（1.09- 2.83）であった。

以上より、避難区域住民では震災後数年を経て脳卒中発症が増加しており、その原因として放射線

被ばくの可能性は低いものの、震災後の生活習慣病の増加及び心理的ストレスが影響している可能性がある。福島県では健康寿命を規定する要介護の原因として、脳卒中が最も重要な要因であることが報告されている。したがって、避難区域住民の健康寿命を延ばすためには、震災後継続する高血圧、糖尿病等の生活習慣病及び心理的ストレスを管理し、脳卒中を予防することが重要と考えられる。今後、さらに追跡調査を行い、震災後の要介護・健康寿命に関わる要因を検討していく必要がある。

V 結論

放射線事故後の避難区域住民では、避難における生活習慣の変化及び心理的ストレス等により、震災前と比べて肥満、高血圧、糖尿病、脂質異常の増加が顕著であり²⁻⁴⁾、かつその状態が継続している。そのため、今後さらに脳卒中発症が増加していく可能性があり、その要因として、高血圧、糖尿病及び精神的苦痛の増加等が影響する可能性が考えられるため、避難区域における継続的な生活習慣病対策及び心理的ストレスへの対策が重要と考える。

引用文献

1. Ohira T, Nakano H, Okazaki K, et al. Trends in Lifestyle-related Diseases and their Risk Factors after the Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant Accident: Results of the Comprehensive Health Check in the Fukushima Health Management Survey. *J Epidemiol*. 32(Suppl 12):S36-S46, 2022.
2. Sato H, Eguchi E, Funakubo N, et al. Association between changes in alcohol consumption before and after the Great East Japan Earthquake and risk of hypertension: A study using the Ministry of Health, Labour and Welfare National Database. *J Epidemiol*, in press, 2023.
3. Nakajima S, Eguchi E, Funakubo N, et al. Trends and Regional Differences in the Prevalence of Dyslipidemia before and after the Great East Japan Earthquake: A Population-Based 10-Year Study Using the National Database in Japan. *Int J Environ Res Public Health*. 20(1):560, 2022. doi: 10.3390/ijerph20010560.
4. Eguchi E, Funakubo N, Nakano H, et al. Impact of evacuation on the long-term trend of metabolic syndrome after the Great East Japan Earthquake. *Int J Environ Res Public Health*. 19(15):9492, 2022. doi: 10.3390/ijerph19159492.

放射線の健康影響に係る研究調査事業 令和4年度研究報告書

研究課題名	原発事故後 10 年間に於ける地域住民の二次的健康影響の総括、および今後の医療・介護ニーズの推定に関する研究
令和4年度研究期間	令和4年4月1日～令和5年2月28日
研究期間	令和2年度 ～ 令和4年度（3年目）

	氏名	所属機関・職名
主任研究者	坪倉 正治	福島県立医科大学医学部放射線健康管理学講座・主任教授
分担研究者		
若手研究者		

キーワード	福島第一原発事故、二次的健康影響、損失余命、がん検診、モバイル人口推計
-------	-------------------------------------

本年度研究成果
<p>I 研究背景</p> <p>原発事故は放射線被ばくのみならず、多面的な健康影響、経済・社会的影響を長期的に持つ¹⁾。原発事故後における、そのような「二次的健康影響」（＝放射線の直接的な被ばく以外の健康課題）を明らかにすることは、今後の復興に必要な公衆衛生活動を明らかにすることに加え、地域の復興および放射線に伴う無用な偏見や差別を払拭するためにも重要である。</p> <p>II 目的</p> <p>本研究の目的は以下の3点であった。</p> <ul style="list-style-type: none"> ●福島原発事故に伴う健康影響の実態を明らかにすることで、福島県への放射線に伴う無用な偏見や差別を払拭する助けとすること。 ●帰還の徐々に進む旧避難区域での医療や介護の方向性を検討するため必要な情報を提供すること。 ●今後自治体や医療者が、浜通り地域の少ないリソースをどの健康課題に対して集中的に注力するかを知るために必要な情報を提供すること。 <p>III 研究方法</p> <p>東日本大震災および福島原発事故後における（1）放射線被ばく以外の事故後 10 年間の二次的健康影響の総括（2）地域の健康課題を明らかにすること（3）今後予想されるニーズと必要リソースのシミュレーションを行った。特に① 生活習慣病をはじめとする疾患調査、② 医療ニーズ（病院への入院や救急搬送）の分析の3点において重点的に調査・研究を行った。</p> <p>今年度は生活習慣病をはじめとする疾患調査では、がん検診の受診動向のクラスタリングと、参加に関わる因子についてインタビュー調査を行った。医療ニーズの分析においては、帰還後の保健課題に</p>

関する聞き取り調査に加えて、携帯電話の位置情報を活用した人口推計を用いて被災地の関係人口を推計し、医療需要の中でも優先される救急搬送に焦点を当てて分析した。救急搬送件数を増加させる因子を救急搬送患者の属性および地域の人口構成、人口動態の中から特定した。

(倫理面への配慮)

本研究は複数の研究を内包しているが、倫理審査委員会等の承認が必要な場合は、福島県立医科大学または南相馬市立総合病院の倫理審査委員会にて承認を得て研究を行った。

IV 研究結果、考察及び今後の研究方針

① 生活習慣病をはじめとする疾患調査

令和3年度までは、南相馬市における大腸がんおよび乳がん検診の受診率の変化を明らかにしてきた²⁾。震災後にがん検診の受診率は一次的に低下し、その後回復傾向にあることが知られている。令和4年度は、がん検診の参加動向を震災前後の参加状況からグループ化した。震災後の大腸がん検診の受診状況は、震災前後も検診を受け続けていたグループ、震災後に検診を受けなくなってしまったグループ、震災後から検診を受けるようになったグループ、震災後も引き続き検診を受けていないグループの4群に分かれた。今後、これらのグループの差の要因について、インタビュー調査を用いて分析することが必要であると考えられる。

震災後浜通り地方の医療機関を受診し、乳がんと診断された女性30人を対象に電話インタビューを行った。診療プロセスに震災が影響を及ぼしたと考えている乳がん患者は少数であった。しかし、「震災後自身の健康の優先順位が低下した。」「乳がん検診などはしばらく受ける気持ちにならなかった」という声が聞かれた。「震災後のストレスや被ばくが乳がん発症につながった可能性がある」と考える方もいる一方、「震災後はみな大変な状況で、自分だけ弱音を吐くことができない」といった声も聞かれた。今後、これら患者を積極的にサポートする体制が必要であることが明らかになった。

② 医療ニーズ（病院への入院や救急搬送）

旧避難区域（浪江町）におけるコロナワクチン接種における課題を聞き取り、帰還後の地域の保健課題を明らかにした³⁾。医療機関や医療従事者が慢性的に不足な地域が、避難指示解除後はさらに減少し、帰還住民の急激な高齢化、医療体制確保や人的確保が課題であること。全国に点在する町外住民は避難先で接種を行い、避難住民は後回しになる等、不利益を被っている現状もあった。ワクチン接種に限らず、保健サービス全般において、自治体単位での住民支援を今後も継続することが困難な状況が明らかとなった。今後、コロナなどの他の健康課題をきっかけに、原発事故後の被災地の復興に必要な課題を収集していくことが重要であると考えられる。

救急搬送件数を増加させる因子を救急搬送患者の属性および地域の人口構成、人口動態の中から特定した。双葉郡8市町村は昼夜の人口比で分けると、1倍程度（平日1.1-1.4、休日0.9-1.1）のエリア、昼間の人口が平日2倍程度（平日2.0-2.4、休日1.3-1.4）のエリア、平日6倍以上（平日6.9-11.9、休日3.1-5.4）の3つエリアに分かれた。救急搬送需要は、昼間の人口流入が少なく、高齢者の割合が大きい地域で大きくなった。災害後の人口変化が大きい被災地で時間帯別の人口とその年齢構成、男女比を把握することは将来の救急搬送需要に効率的に備えるために有効であると考えられた。

携帯電話会社が運用する位置情報サービスのデータを利用し、自治体保有の人口データを拡大推計することにより、福島県浜通り地域の旧避難区域及びその周辺における、刻々と変化する人口分布、人口推移、人口構成を把握した。2019~2022年間の4年間を対象として調査を行ったところ、年度に

かかわらず当該地域は大きく5つの人流パターンが存在していた。すなわち、①休日の日中に増加する ②平日の日中に増加する ③1週間を通して変化しない ④1週間を通して夜間に増加する ⑤平日の夜間に増加する の全5パターンである。これらは年による大きな変動はないため異なる年度間での比較も十分可能であると考えられた。今後、年度間比較を行うことで当該地域の人流変化を捉えることが医療ニーズを考える上で重要である。また観測された各市町村の人口は、市町村が発表する国勢調査を用いた統計データにおおよそ一致しており、収集データの精度は非常に高いものであると考えられる。これらの人口データをさらに詳細の属性に分類することにより国勢調査のみでは得られない地域の人口の特性を捉えることができるものと考えられる。

V 結論

二次的な健康影響は多岐に長期にわたり、それらの精緻なデータの提示は、長期的には県外でのデマ情報の抑止やリスクコミュニケーションにとって有益な情報となると考えられる。本研究は今後自治体や医療者が、浜通り地域の少ないリソースをどの健康課題に対して集中的に注力するかを知るために必要な情報を提供した。また本研究は、被災地域での長期的な復興を考える際の人口把握について、新しい方法を提案した。今後の復興の状況を示すためのパイロットデータとなると考えられる。

引用文献

1. Tsubokura M. Secondary health issues associated with the Fukushima Daiichi nuclear accident, based on the experiences of Soma and Minamisoma Cities. *Journal of the National Institute of Public Health* 2018;67(1):71-83. doi: 10.20683/jniph.67.1_71
2. Saito H, Ozaki A, Murakami M, et al. The long term participation trend for the colorectal cancer screening after the 2011 triple disaster in Minamisoma City, Fukushima, Japan. *Scientific Reports* 2021;11(1):23851. doi: 10.1038/s41598-021-03225-8
3. Ito N, Yoshida S, Sato M, et al. COVID-19 Vaccination in a Former Fukushima Nuclear Accident Evacuation Area: COVID-19 Vaccination for Former Evacuees. *Disaster Medicine and Public Health Preparedness* 2023;17:e321. doi: 10.1017/dmp.2022.291 [published Online First: 2022/12/12]

放射線の健康影響に係る研究調査事業 令和4年度研究報告書

研究課題名	ロングリード解析を用いた放射線刻印の同定と福島小児甲状腺癌への応用
令和4年度研究期間	令和4年4月1日～令和5年2月28日
研究期間	令和2年度～令和4年度（3年間）

	氏名	所属機関・職名
主任研究者	光武 範吏	長崎大学・教授
分担研究者		
若手研究者		

キーワード	放射線、次世代ゲノム解析、ロングリード、変異、欠失、甲状腺癌
-------	--------------------------------

本年度研究成果
<p>I 研究背景</p> <p>人体への放射線被ばくの晩発影響として最も重要なものは発癌である。しかし、癌は一般集団によく見られる疾患であり、あるひとつの癌が放射線によって引き起こされたものか、その他の原因で起きたものかを区別する方法は今のところない。放射線による発癌は、放射線によって引き起こされたゲノム DNA 上の変異が主たる原因とされるが、放射線によって生じる変異に関して、どのようなものが放射線に特徴的か、不明な点が多い。</p>
<p>II 目的</p> <p>本研究の目的は、最新のゲノム解析技術を用い、放射線に特徴的な DNA 変異、いわゆる放射線ゲノム刻印の存在を明らかにすることである。また、同様の技術を用いて福島県小児・若年者甲状腺癌のゲノム解析を行い、これらの刻印が存在するかも検証する。また本研究の目的には、これらの結果により、福島住民の健康管理の推進に貢献することも含まれる。</p>
<p>III 研究方法</p> <p>BJ1-hTERT 細胞を用い、放射線誘発 <i>HPRT</i> 変異クローンを樹立し、ショートリードとロングリード次世代シーケンシングによって全ゲノム解析を行った。また、福島原発事故後小児・若年者甲状腺癌に関しては、発症時期とドライバー変異の違いによって3グループ（事故後早期・<i>BRAF</i> 変異、事故後早期・<i>RET/PTC</i>、事故後4～5年経過後・<i>RET/PTC</i>）を設定し、同様にショートリードとロングリード次世代シーケンシングによる全ゲノム解析を行った。</p> <p>本研究は、福島医大、長崎大学ともにヒトゲノム遺伝子解析研究の倫理審査会で承認を受け行われた（長崎大学許可番号 20131010-10）。患者、もしくは代諾者よりインフォームドコンセントを取得している。</p>

IV 研究結果、考察及び今後の研究方針

本年度は、放射線誘発 *HPRT* 変異クローンのショートリードゲノムデータについて、正確にコールできていると考えられる領域のバリエーションを抽出する手法を導入した。BJ1-hTERT 細胞は、通常の培養下においてもかなりの数のバリエーションが生じ、放射線照射時に既にヘテロな集団であり、それぞれの細胞が多く異なるバリエーションを持った状態であることが分かった。そのため、各クローンのバリエーションデータを用い、細胞系譜の作成を行った。細胞系譜によって、バリエーション総数の比較や、完全ではないものの、自然発生と放射線誘発性バリエーションの区別が可能となった。また、ロングリードとショートリードデータの比較検討により、ショートリードでもかなり正確な欠失を選択することができる指標を得た。以上より、放射線被ばくによるゲノム変異として、以下の特徴が明らかになった。

1. 数ベースからキロベース以上まで、様々な長さの欠失が線量依存性に増加した。
2. 被ばくでは、非常に長大な欠失（数十万～メガベース以上）が生じた。
3. 被ばく後の欠失には、両断端にホモロジー配列がないものが多かった。また、高線量では断端結合部に別の配列を含むものが多かった。
4. 被ばくでは一塩基置換も増加したが、線量依存性はなかった。
5. 被ばく後の一塩基置換には、酸化損傷を示唆する変異シグネチャーが含まれていた。

さらに低線量における研究を進めるには、コストはかかるが解析数を増やすことで対応可能となる部分もあり、細胞のクローニングと系譜の作成を十分に考慮された実験系で行うことで、新たな知見が得られる可能性が高いと思われた。

福島小児・若年者甲状腺癌組織から抽出した DNA に対して、同様のショートリード、ロングリードによる次世代シーケンシングを施行した。一部の組織に関して、提供された量が少なく、RNA と DNA を同時に抽出する手法を用いたことが原因と考えられるが、特にショートリードシーケンシングのデータ品質が悪く、サンプル間で変異数の計測などが正確にできないことが予想され、本研究ではロングリードシーケンシングの結果を用い、限定的な解析となった。今回の研究では、事故後早期に発症した症例（事故前より発症していたことが推測される）のうち *BRAF* 変異もつ症例、*RET/PTC* 等の融合遺伝子を持つ症例、さらに事故後 4~5 年経過後に発症した症例のうち *RET/PTC* 等の融合遺伝子を持つ症例（チオルノービリ原発事故後に増加した甲状腺癌のタイプ）の計 3 群にて、放射線誘発 *HPRT* 変異クローンで最も特徴的であった欠失の数を比較したが、有意な差は観察されなかった。しかし、癌はそれ自体がゲノム不安定性を持つため、個々の癌を調べる場合、どうしても放射線被ばくに特異的な変異の同定が必要と感じられた。これは、DNA 配列のみの解析では難しい可能性が高く、次の段階としては、エピゲノム解析を組み合わせる必要が考えられた。

V 結論

ショートリードとロングリードによる次世代シーケンシングによって、数 Gy 程度の線量の放射線被ばく後のヒト正常細胞クローンにおける特徴的なゲノム異常を検出することが出来た。しかし、放射線に完全に特異的な変異の同定にまでは至らず、個々の甲状腺癌組織における放射線被ばく痕跡を判断するには、さらなる研究が必要である。また、本研究期間に確立した手法は、今後の放射線影響研究に活かせると考えられた。

放射線の健康影響に係る研究調査事業 令和4年度研究報告書

研究課題名	福島県内外での疾病動向の把握に関する調査研究
令和4年度研究期間	令和4年4月1日～令和5年2月28日
研究期間	令和3年度～令和5年度（2年目）

	氏名	所属機関・職名
主任研究者	祖父江 友孝	大阪大学大学院医学系研究科・教授
分担研究者	今野 弘規	近畿大学医学部・主任教授
	松田 智大	国立がん研究センターがん対策研究所国際政策研究部・部長
	大野 ゆう子	大阪大学大学院基礎工学研究科・特任教授
若手研究者	査 凌	大阪大学大学院医学系研究科・特任助教

キーワード	福島県の疾病動向、循環器疾患、がん、高齢者、死亡率、罹患率
-------	-------------------------------

本年度研究成果
<p>I 研究背景</p> <p>福島県において東京電力福島第一原子力発電所事故に関連する健康影響の指標として、各種疾患の動向は一般国民の大きな関心事である。また、被災地域での疾病の予防・管理対策を進めるためにも、散在する既存情報を集約して、種々の疾病動向を把握し、専門的見地から適切な分析を行った後、迅速に結果を公表する仕組みが必要である。</p> <p>2015-2017年度、2018-2020年度に本研究調査事業による「福島県内外での疾病動向の把握に関する調査研究」班を担当し、福島県の原発事故に関連する健康影響として、循環器疾患死亡・受療、がん死亡・罹患、周産期死亡、高齢者死亡、外因死等について、福島県内外の動向分析を行った。結果として、一貫した傾向や長期的な影響は認められず、震災の影響は限定的であった。これらの結果を公開し、最新データを更新し続ける予定である。</p> <p>本研究の継続により、原発事故の疾病動向を正確に把握し、予防・管理対策に役立てることができる。既存情報を集約し、迅速に公表することで、住民や自治体と情報共有が可能となり、さらなる研究の基礎資料として利用できる。</p> <p>II 目的</p> <p>福島県の原発事故に関連する健康影響を調査するため、循環器疾患、がんなどの疾患について、福島県内外の罹患・死亡動向を既存統計を用いて分析する。主要死因別死亡率、がん罹患率、循環器疾患主受療率などを統計指標とし、福島県内外で比較する。リスク要因についてもNDBの特定健診データを基に分析する。福島県内外の比較は、全国、隣接県、県内区域別に行い、。原発事故前後の期間別推移とともに、事故発生前、事故発生年、事故発生後の3期間に分けて検討する。これらの統計指</p>

標の動向を比較検討し、福島県内外の疾病動向を把握することを目的とする。

III 研究方法

本研究では、福島県内外の疾病動向を比較し、一般に理解しやすい形で報告するために、人口動態統計（死亡票）、NDB 特定健診、全国がん登録、地域がん登録、患者調査などの既存統計を用いる。地域の区分は、福島県、近隣 9 県岩手県、宮城県、山形県、茨城県、新潟県、栃木県、群馬県、埼玉県、千葉県）、その他 37 都道府県とし、福島県内は避難地域、浜通り、中通り、会津を基本とした。統計解析には、解析ソフト Joinpoint regression program により変曲点及び年変化率（APC: Annual Percent Change）や平均年変化率（AAPC: Average Annual Percent Change）及び、それらの 95%信頼区間を算出した。

1. 循環器疾患について

循環器疾患危険因子の動向把握を目的として、NDB の特定健診特別抽出データを用いて、2008-2018 年度特定健診を受診した 40-74 歳の男女を対象に、BMI（Body mass index）、腹囲、収縮期血圧、拡張期血圧、中性脂肪、HDL コレステロール、LDL コレステロール、空腹時血糖、HbA1c の年齢調整平均値の推移を Joinpoint 解析により分析した。また、循環器疾患の発症を惹起させる可能性がある生活習慣の保有割合の動向把握を目的として、上記と同様の解析を用いて、福島県内 4 地域における喫煙者、飲酒者、1 日 3 合以上の多量飲酒者、運動習慣がない者、睡眠不足の者の年齢調整割合の推移を分析した。

なお、循環器疾患死亡の動向把握として、1995-2019 年までの人口動態統計死亡票データを用いて、循環器疾患の疾病分類別（全循環器疾患、心疾患、脳血管疾患、脳梗塞、脳内出血、くも膜下出血）の男女別年齢調整死亡率に関する動向についても Joinpoint 解析により分析した。基準人口に 1985 年モデル人口を使用した場合と 2015 年モデル人口を使用した場合の違いを確認することを目的として、それぞれの基準人口を用いた時の年齢調整死亡率を算出した。

2. がんについて

2019 年度まで、男女別の 80 歳未満の年齢調整罹患率及び死亡率を、震災前の 2008-2011 年と震災後の 2011-2015 年に分け、それぞれの期間の年平均変化率（相乗平均）を算出してきた。震災前後の増減傾向が統計的に有意であったかどうかについては、年平均変化率（前年度の年齢調整率に対する当該年度の年齢調整率の相乗平均）の 95%信頼区間に 1 を含むかで決定した（1 を含む場合は統計的に有意な増加及び減少傾向があったとはいえない）。震災前後の年平均変化率に変化があったかどうかについては、前後の年平均変化率の平均値の差の検定（t 検定）を行った。これまで、観測点が少なかったことから、このような 2 段階の方法で、震災の罹患・死亡率に対する影響を検証していた。しかしながら、2008-2019 年の 12 点の観測ができるようになり、2021 年度より、Joinpoint 解析を用いて検証を行った。

本研究では、1) 観察期間中に、統計的に一様かつ有意な増減傾向があったか、2) 観察期間中に、Joinpoint 解析による変曲点（増減傾向が変化する観測点）があったか、あった場合のその前後の有意な増減傾向について検証した。

3. 後期高齢者分野について

1995年から2019年に登録された人口動態統計死亡票（以後、死亡票）のうち、75歳以上の日本国籍高齢者を対象とし、登録情報の欠測及び死亡年と登録年が不一致である事例を除外した18,646,894件を解析対象とした。全死亡の動向に加えて、死亡票で報告されている死因について、ICD-10コードを用いて肺炎、誤嚥性肺炎、老衰の各死亡数を抽出し、死因別、地域別、男女別に年齢調整死亡率（人口10万人対、以下ASR）を算出した。なお地域区分については、岩手県、宮城県、山形県、福島県、茨城県、栃木県、群馬県、埼玉県、千葉県、新潟県の10県とそれ以外の37都道府県に区分を設けた。また本研究は後期高齢者に焦点を当てた研究であるため、後期高齢者の死亡動向が反映されやすいように95-99歳までは5歳階級別、100歳以上を一括年齢とした年齢区分を設けた。さらにASR算出に使用する人口情報は、避難住民による影響を受けない住民基本台帳を利用した。2014年までの住民基本台帳は80歳以上が一括年齢として報告されており、本研究で指定した年齢区分による人口が収集できないため、国立がんセンターが報告している1歳階級別人口から80歳以上人口から年齢区分に合わせて按分比率を算出し、住民基本台帳人口へ乗じた按分人口を使用した。基準人口については、2000年国勢調査人口に基づく人口データを利用した。算出したASRについてJoinpoint解析を行い、年平均変化率が統計的に有意に上昇もしくは低下した点を変曲点と定義し、長期的な死亡動向の把握及び、2011年以降における変曲点の有無から東日本大震災による後期高齢者への長期的な影響を検討した。

（倫理面への配慮）

本研究においては人体から採取された資料は用いない。本研究で収集する各種データは、既存の統計資料から集計値または「すでに連結不可能匿名化されたデータ」のみを用いるため、原則として「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」の運用とはならない。個人情報除かれた集計情報については、個人情報保護に関して問題は生じない。ほか、必要に応じて大阪大学医学部附属病院、近畿大学医学部の倫理審査委員会で倫理審査を受け、その承認のもとに調査解析を実施した。

IV 研究結果、考察及び今後の研究方針

1 循環器疾患について

1.1 循環器疾患危険因子の動向分析

NDBの特定健診の検査項目を用いた循環器疾患危険因子の動向分析の結果から、福島県において震災による明らかな動向の変化は認められなかった。しかし、BMI及び腹囲については、福島県では男女ともに、近隣県やその他37都道府県に比べて震災前後ともに高い値で推移しており、男性では有意なやや増加が認められた。また、血清脂質については、福島県のHDLコレステロール値は男女ともに他の県よりも低値で推移しているが、有意なやや増加を示し、LDLコレステロール値では、福島県以外の地域の多くは横ばいで推移していたが、福島県男性では有意なやや増加が認められた。血糖値においても同様に、福島県以外の地域の多くは横ばいで推移していたが、福島県では男女ともに空腹時血糖が有意なやや増加を示し、HbA1cについては、推移の変曲点を認めなかったものの、男女ともに震災前は他の地域よりも大幅に低値であったのに対し、震災以降は徐々に上昇し、近年では他の地域との差が縮まった。

1.2 循環器疾患リスク因子保有割合の動向分析

NDBの特定健診の生活習慣に関する問診項目を用いて福島県内4地域（避難地域、浜通り、中通り、会津）における生活習慣のリスク因子保有割合の動向分析の結果から、避難地域の男性の喫煙率

は震災前後ともに他の3地域よりも高い割合で推移した。女性では、震災前に避難地域の喫煙率が最も低値を示していたが、震災以降は上昇し、近年では県全体よりも上回り、上位を占めるようになった。飲酒率については、男性は全地域で有意にやや減少したのに対して、女性では有意に増加した。飲酒者の中でも多量飲酒者の割合については、男性では、震災前は避難地域が4地域の中では低値で推移していたのに対して、震災年の2011年から2012年に急上昇し、それ以降は上位で推移した。女性では、震災前後しばらくは避難地域が4地域の中で最も低値で推移していたが、震災以降に上昇し、近年では上位を占めるようになった。運動習慣なしの割合については、男女ともにいずれの地域も変曲点を認めなかったが、避難地域と浜通りにおいて震災年に一時的な上昇を認めた。睡眠不足の者の割合については、男女ともに震災前の2010年から震災年の2011年にかけて急上昇し、その後は他の地域よりも大幅に高い値で推移した。

1.3 循環器疾患死亡の動向分析

人口動態統計の死亡票データを用いて循環器疾患の疾病分類別年齢調整死亡率を算出するとともに、基準人口に昭和60年モデル人口を用いた場合と平成27年モデル人口を用いた場合で比較した結果を次に述べる。昭和60年モデル人口に比べて平成27年モデル人口は高齢者層の割合が高いことから、男女及び疾病分類の違いに関わらず、年齢調整死亡率は昭和60年モデル人口使用時の値よりも平成27年モデル人口使用時の値の方が高値を示した。また、昭和60年モデル人口の場合よりも平成27年モデル人口の場合において変曲点の数が増え、推移の変化がより明確となった。しかし、福島県及び近隣県、全国における循環器疾患死亡の動向に大きな違いは認められず、過去の研究報告書で示した通り、福島県において震災による明らかな推移の変化は認められず、いずれの疾患も有意な減少を示した。

1.4 考察

本研究では、福島県における循環器疾患の危険因子の保有割合及び循環器疾患死亡率の推移に震災による統計学的に明らかな変化は認められなかった。しかし、BMI及び腹囲の平均値が他の地域よりも高い値で推移しており、なおかつ、HbA1c等の血糖値が震災以降に上昇傾向にあることから、メタボリックシンドロームの予防対策を強化する必要があると考えられる。また、福島県内4地域における生活習慣のリスク因子保有割合の比較結果から、避難地域では喫煙及び多量飲酒者、睡眠不足の割合が震災以降に他の地域よりも高値を示していることから、これらの生活習慣による将来の循環器疾患発症リスクを減らすためにハイリスク者の同定と保健指導介入の強化が必要であると考えられる。

1.5 今後の方針について

これまで本研究では、Joinpoint解析を用いて震災前後による推移の変化を確認してきたが、次年度は線形混合モデルを用いて震災年の2011年を基準として震災前と震災後の傾向の違いを調べ、傾向の違いの有無が福島県及び近隣県、その他37都道府県の県間及び福島県内4地域における県内の間で異なるかどうかを分析する予定である。

2 がんについて

2.1 がん罹患の県間比較

福島県において、男性では、全部位、口腔・咽頭、大腸、前立腺、腎、脳、甲状腺、悪性リンパ腫、多発性骨髄腫が単調増加、胃、肝、喉頭で単調減少しており、女性では、全部位、口腔・咽頭、大腸、膵臓、肺、乳房、子宮体部、卵巣、腎、甲状腺、悪性リンパ腫及び白血病で単調増加、胃、肝臓、胆

囊で単調減少していた。観察期間中に変曲点はなかった。

他の地域では、岩手県や宮城県で同じような単調増加、減少の傾向が見られた。岩手県では、男性の前立腺に 2014 年に増加から横ばいに転じる変曲点が観察された。宮城県では、男性の食道と胃に 2012 年に増加から減少傾向に転じる変曲点、甲状腺に 2013 年に増加から横ばいに転じる変曲点が観察された。女性の卵巣で、2011 年に横ばいから増加に転じる変曲点、2013 年に増加から減少に転じる変曲点が観察された。

近隣 7 県やその他 37 都道府県では 2010 年（男性それぞれ 5 部位及び 17 部位、女性それぞれ 8 部位及び 18 部位）に変曲点が確認でき、また、2011 年、2016 年にも多くの変曲点が観察された。

昨年度の 2018 年までの解析では、2014 年を変曲点とする部位があり、多くの部位で 2010-2011 年に変曲点があったが、今回、観察期間が延長されたことで、より明確に、2010 年（がん登録完全性の向上がいったん落ち着き精度指標が世界水準となった）及び 2016 年（がん登録の法制化により、数値が過大評価された）の合理的な説明の付く 2 点が浮き彫りとなった。多く見られた変曲点も精度向上による増加トレンドが落ち着く方向のもので、震災後にごん罹患リスクが増加することを示すものではない。

2.2 甲状腺がん罹患の県間比較

甲状腺がんの罹患を年齢階級別（20-39 歳、40-59 歳、60-79 歳、80 歳以上）年齢調整罹患率を用いて観察した。福島県の男性では、20-39 歳及び 40-59 歳で単調増加が見られ、女性では、全年齢階級で単調増加がみられた。岩手県では男性で 40-59 歳、女性では 40-59 歳及び 60-79 歳で単調増加していた。宮城県では、男性の 80 歳以上で、女性では 30-39 歳で単調増加し、40-59 歳では 2014 年で増加傾向が減少傾向に転じ、60-79 歳では 2012 年からの減少が観察された。

近隣 7 県やその他 37 都道府県では、多くの年齢階級において単調増加や変曲点を伴う増加が観察された。

いずれの地域、いずれの年齢階級においても、震災前から増加をしており、また震災後に変曲点を伴い、増加の鈍化や減少が見られている。甲状腺がんの増加、という事象は観察されているものの、震災を機に甲状腺がん罹患リスクが増加したことを示す結果ではない。

2.3 福島県の年齢階級別がん罹患

主要部位において、福島県でのがんの罹患を年齢階級別（20-39 歳、40-59 歳、60-79 歳、80 歳以上）年齢調整罹患率を用いて観察した。全体の傾向は県間比較で観察した通りだが（全年齢）、男性では、全部位、大腸、前立腺の単調増加は、主に中高年から高齢において観察されていて、甲状腺の単調増加は、20-39 歳、40-59 歳で観察されていた。胃と肝の単調減少も、主に中高年から高齢において観察された。肺及び白血病は、年齢階級別に見ると変曲点が観察され、肺では 80 歳以上で 2018 年に増加から減少に転じ、白血病では、2011 年に減少に転じた。女性では、全部位の単調増加は、全年齢階級で有意な増加傾向があり、大腸、肺、乳房、甲状腺においても 0-19 歳を除く広範囲な年齢階級での増加が見られた。胃と肝の減少傾向は、男性と同様に中高年から高齢において観察された。白血病の増加は、60-79 歳の年齢階級にのみ見られた。

胃及び肝の中高年から高齢における減少は、リスク要因であるピロリ菌や肝炎ウイルスの持続感染をしている世代効果ということで説明が可能である。男性の 20-39 歳、40-59 歳の甲状腺がんの増加、女性の乳がん、甲状腺がんの 20 歳以上の全年齢での増加については、全年齢に対してのリスク要因の増加というより、スクリーニング等による見つけ出しの影響である可能性がある。

2.4 がん死亡の県間比較

福島県において、男性では、全部位、食道、胃、肝、肺で単調減少していた。膵臓の2015年に変曲点が観察されたが、前後の線分の傾きは有意ではなかった。女性では、子宮頸部及び子宮体部で単調増加が観察され、胃、肝、胆嚢が単調減少していた。乳房で、2013年及び2016年に変曲点が観察されたが、前後の線分の傾きは有意ではなかった。岩手県では、男性で、全部位、食道、胃、肝、喉頭、肺、前立腺で単調減少がみられ、女性で、胃、肝、胆嚢で単調減少、悪性リンパ腫で2014年の変曲点以降有意な増加が見られた。宮城県では、男性で全部位、食道、胃、肝、胆嚢、肺、前立腺で減少が見られた。女性では、全部位、胃、大腸、肝、胆嚢、多発性骨髄腫で単調減少が見られ、子宮頸部で単調増加が見られた。

近隣7県やその他37都道府県では多くの部位が福島県、岩手県、宮城県と同様の部位で減少傾向にあり、女性では、乳房や子宮体部で増加傾向が観察された。

がん罹患と異なり、統計精度の向上や法制化による変更などがないため、統計値は安定しており、いくつかの部位において確認された変曲点も、特定の年に固まるようなことはなかった。

2.5 がん登録データの精度

震災前からの増加は、がん罹患リスクの上昇と同時に、2000年代前半からの、第3次対がん総合戦略事業中の、がん登録の精度向上に寄る部分が大いと考えられる。がん登録データの精度指標の一つであるDCO（Death Certificate Only, 死亡診断書の情報でのみ把握されている症例）の割合は、2010年まで全国で20%程度であったのが、2011年には11.8%、2013年には10%を切り、法制化された2016年には5%を切っている。このことから、こうしたタイミングで、Joinpoint解析で変曲点が抽出されていると考えるのが妥当であろう。

福島県において、変曲点が観察されなかった理由として、がん登録立ち上げの時点から、積極的に過去症例の届出を依頼することで、立ち上げ時に多く観察される過大評価がなく、また、第3次がん対策総合戦略事業における精度向上の影響も受けなかったことがある。

宮城県では、2000年代当初から高精度のがん登録が実施されていたが、2012-2013年に、独自システムから標準DBSへの移行作業があり、データ精度が大幅に落ちている。

2.6 今後の方針について

罹患・死亡率については、2020年のデータを追加し、震災後の増減を確認する。福島県内の地域別比較を継続し、個別の罹患情報及び死亡情報を用いて、福島県内及び汚染状況重点調査地域、隣接地域の詳細住所での地理的分析を2020年まで延長して実施する。がん登録データの精度向上との関連、また被災者の移動にも着目し、観察されている変化を、可能な限り客観的に説明する。

福島県内のがん罹患を確認すると、分母人口の実際の減少に基づいて、分母と分子の対象者が一致せず、がん罹患率が、期待しているようながん罹患リスクを反映した値になっていない可能性が高いことが分かった。福島県内の比較においては、分母である住基人口が、実際にその地域に居住している人の数を示していない可能性があり、その修正方法について検討を重ねる。

3 後期高齢者分野について

3.1 全死因の死亡動向

全死因のASRの推移はすべての地域で低下傾向であった。被災3県（岩手県、宮城県、福島県）では、2011年にASRが高値を示したが震災死による単年の変化であったため、外れ値として解釈され変曲点にはならなかった。

3.2 肺炎の死亡動向

肺炎の ASR の推移はすべての地域で低下傾向であった。被災 3 県では男女ともに 2011 年と 2012 年、それ以外の地域では 2011-2015 年に変曲点を認め、変曲点以降は低下傾向が加速していた。背景として、2014 年から高齢者への肺炎球菌ワクチンの定期摂取が開始となったことが一因として挙げられる。さらに 2017 年には ICD-10 の 2013 年度版が適応され、原死因選択ルールの明確化の影響は指摘されており、肺炎や誤嚥性肺炎による死亡数が減少する一方で、認知症やパーキンソン病等の神経系の疾患、慢性閉塞性肺疾患等の死亡数が増加することとなった。このように社会的背景が考えられること、すべての対象地域に同様の傾向を認めことから、被災による特異的な変化とは言いがたい。

3.3 誤嚥性肺炎の死亡動向

誤嚥性肺炎の ASR の推移は、岩手県の男女のみ変曲点を認めず長期的な上昇傾向を示した。一方で、多くの地域では 1995 年以降 ASR が上昇傾向であったが、2011-2016 年に変曲点を認め、以降は低下の推移に転じていた。肺炎と同様に ICD-10 の 2013 年度版が適応されたことによる影響が考えられる。

3.4 老衰の死亡動向

老衰の ASR は被災 3 県を含む多くの地域において、2000-2010 年を底とする V 字もしくは U 字の推移を示した。ASR が低値となっている年代については、死亡診断書へ安易に老衰と記載しないという風潮があったと報告されている²⁾。また、ASR をもとに死亡場所別の内訳推移を確認すると、1995-2005 年は自宅死亡が最も多く、2005 年以降の ASR が上昇する年代では老人ホーム、介護保健施設、病院での死亡が多く、死亡場所の変遷が影響している可能性がある。2011 年以降変曲点を認める地域もあったが、いずれも上昇の傾きが小さくなる変化であり、震災の負の影響とは考えにくい。

3.5 今後の方針について

死亡票を利用した検討では、高齢者個人の身体機能や精神機能に関する情報が乏しく、詳細な検討が不可能であった。さらに死亡をエンドポイントとしており、死亡には至らなかった高齢者への影響については検討することができない。今後は介護データベースを利用し、死亡に至らなかった高齢者の身体的影響や精神的影響、虚弱に焦点を当てた検討をする予定である。

V 結論

福島県における循環器疾患の危険因子の保有割合及び循環器疾患死亡率の推移に震災による統計学的に明らかな変化は認められなかった。しかし、BMI 及び腹囲の平均値が他の地域よりも高い値で推移しており、なおかつ、HbA1c 等の血糖値が震災以降に上昇傾向にあった。

東日本大震災の前後において、福島県及び他の地域別年齢調整罹患・死亡率の、震災に帰因すると考えられる合理的な増加傾向は観察されていない。解析の結果見つかった変曲点は、がん登録の精度向上に基づく 2012-13 年の震災後の甲状腺がん罹患率の増加は、協会けんぽ加入者の超音波検査実施率と罹患率との関連分析からも、自主的なスクリーニング受診によるものと考えられる。

後期高齢者の死亡動向において、東日本大震災の長期的な影響と思われる変化は見られなかった。

【謝辞】

この報告書の作成にあたり、以下の研究参加者の先生方に多大なるご協力とご支援をいただいた。謹んで謝意を表す。

田中 麻理 (近畿大学医学部・助教)

雑賀 公美子（佐久医療センター総合医療情報センター医療情報分析室・室長）

シャルヴァ アドリアン（順天堂大学国際教養学部・講師）

井上 勇太（徳島大学大学院医歯薬学研究部・助教）

藤牧 貴子（奈良先端科学技術大学院大学・研究員）

筒井 杏奈（大阪大学医学部附属病院・特任研究員）

引用文献

1. 厚生労働省. “「疾病及び関連保健問題の国際統計分類」第10回改訂分類（ICD-10）の一部改正の適応による死因統計への影響について” 統計情報・白書 . https://www.mhlw.go.jp/toukei/list/dl/icd_2013_eikyo.pdf, (参照2023-04-11)
2. 今永光彦, 丸井英二. 老衰しはどのように変化して生きているのか - 人口動態統計を利用した記述疫学的検討. 厚生指標. 2011;58(4):1-5

放射線の健康影響に係る研究調査事業 令和4年度研究報告書

研究課題名	福島県内外での疾病動向の把握に関する調査研究 若手研究項目「福島県内外での疾病動向の把握に関する調査研究の総括」
令和4年度研究期間	令和4年4月1日～令和5年2月28日
研究期間	令和3年度 ～ 令和5年度（2年目）

	氏名	所属機関・職名
主任研究者	祖父江 友孝	大阪大学大学院医学系研究科・教授
分担研究者		
若手研究者	査 凌	大阪大学大学院医学系研究科・特任助教

キーワード	福島県地域別、がん罹患率、がん受療率、患者調査、NDB
-------	-----------------------------

本年度研究成果
<p>I 研究背景</p> <p>本研究班では、既存の統計データを用いて、福島県及び周辺地域の疾病動向を経時的に分析し、福島第一原子力発電所事故の疾病動向への影響を検討する。データソースとして人口動態統計、レセプト情報（NDB、介護DB）、地域／全国がん登録、全国健康保険協会、福島県民健康調査、患者調査などを用いて福島県内外の主要死因別死亡率、がん罹患率、疾患別受療率などの推移を比較分析する。</p> <p>研究班の円滑な進行のためには、事務局におけるデータの一括利用申請と管理が必要であり、申請の際には、疫学・公衆衛生の専門性が求められる。また、分担研究者間で共有すべき研究手法や統計学的調整も必要である。研究遂行上、疫学・統計学の知識、データハンドリング能力、プログラミング技能、文献収集・読解、及び英語論文執筆能力を持つ若手研究者のサポートが不可欠である。</p> <p>令和3-5年度において、若手研究者は事務局におけるコーディネーターとしての役割に加えて、独自の研究課題を担当し、研究計画の立案から論文執筆まで主体的に研究を行う。令和4年度には、【課題A】福島県の地域別罹患率動向を観察する際の患者住所についての検討、及び【課題B】がん受療率に関する検討を進めた。</p> <p>II 目的</p> <p>【課題A】福島県の避難地域住民において、住民票住所と避難先住所と2つの住所を持つため、がん登録データにある診断時住所には住民票住所と避難先住所が混在していることが想定され、福島県内地域別（避難地域、浜通り、中通り、会津）がん罹患率の計算に影響が出る可能性がある。そこで、福島4地域におけるがん登録症例のうち、住民票住所で登録される割合を求め、これを基に補正係数を導出し、罹患率を補正することを目的とした。</p> <p>【課題B】当初、今年度はNDBを用いたがん受療率に関する検討を計画していたが、NDBの入手時期の目処が立たず、解析は来年度に変更した。NDB（全数調査）で受療率を算出する際、既存統計</p>

である患者調査（サンプル調査）と比較できるため、今年度は原発事故前後の地域住民のがんの受療率の動向について、患者調査を用いて、福島県、近隣9県、全国の間で比較検討することを目的とした。

III 研究方法

【課題 A】福島県立医科大学の研究協力を得て、福島県民健康調査の甲状腺検査データ（震災時福島県にいた18歳以下の住民を対象にした約30万人）を用いて研究課題を進めた。福島県民健康調査では、対象者を設定する際の震災時住所を住民票住所として把握しており、その後2017年と2021年に、市町村から住民票住所情報の提供を受けている。解析では、甲状腺検査データとがん登録データ（2011-2015年は福島県地域がん登録、2016-2018年は全国がん登録）を突合し、全部位がん患者を抽出する。抽出したがん患者について、福島県民健康調査で把握されている最新住民票住所（診断年2011-2016年は震災時住民票住所、診断年2017-2018年は2017年住民票住所）と、がん登録における診断時住所とを用いて、地域別（避難区域、浜通り、中通り、会津、福島県外）にクロス表を作成し、全国がん登録由来の診断時住所を用いた場合の地域別患者数を、住民票住所を用いた場合の地域別患者数に変換する補正係数を計算する。この補正係数を用いて、福島県内の地域別罹患率（補正前）と地域別罹患率（補正後）を計算して、罹患率の年次推移を検討する。

【課題 B】2008-2020年福島県、近隣9県、その他37都道府県における主要部位別がん推定患者数（全部位、胃、肺、大腸、乳房、前立腺）を基に、部位別のがんの年齢調整受療率を算出し、男女別の動向を検討した。年齢調整受療率の算出には、当該年の受療数を当該年の人口で除した年齢階級別受療率及び基準人口（2015年の国勢調査人口を基に補正した人口）を用いた。

IV 研究結果、考察及び今後の研究方針

【課題 A】福島県民健康調査データを利用するための手続きを行い、1月末に若手研究者がデータを利用可能になった。現在、がん登録との突合の結果把握された対象者中のがん患者について、福島県民健康調査で把握されている最新住民票住所と、がん登録における診断時住所とを用いて照会作業を進めている。

令和5年度は、研究を継続し、福島県内地域別における補正後のがん罹患率を用いた動向分析を行う。この研究結果は、原発事故ががん罹患率に与える影響を評価するための重要な基礎資料を提供できる。

【課題 B】全国の全部位がん受療率について、全期間を通じて男性は減少し、女性はやや減少した。しかし、患者数が不十分であるため、県別には安定した傾向が観察できなかった。

令和5年度、NDB入手後に、医科・DPC・調剤レセプトをもとに、傷病名、薬効分類を組み合わせ全部位がん、胃がん、大腸がん、肺がん、肝及び肝内胆管がん、乳がん、子宮頸がん、前立腺がん、甲状腺がん、及び白血病の疾病分類別の患者単位数及びレセプト件数を、男女別、年齢5歳階級別、医療機関所在地（都道府県）別、入院・外来別に示し、受療率（患者単位数／0歳上の総人口）及び全レセプト件数の割合（レセプト件数／0歳以上の総人口）を算出する。全数調査であるNDBを用いた受療率と既存のサンプル調査である患者調査を用いた受療率と比較する。この研究結果をもとに、以下の点を考察する。

- ① 地域や性別によるがん受療率の違いや傾向を詳細に分析し、原因を探る。
- ② 震災の影響を受けた地域でのがん受療率の変動について、避難や医療アクセスの変化との関

連を調査する。

- ③ NDB（全数調査）を用いて受療率と罹患率の関連性を検証し、再発情報を評価する。
- ④ NDB に含まれる入院日数等のデータを用いて、受療率の減少原因を特定し、対策を提案する。

これらの考察を通じて、がん受療の現状と問題点を明らかにし、適切な対策や予防策の改善につながることが期待される。

また、【コーディネーター】として、以下の研究サポート活動を行った。

- ① 研究班で使う統計資料を迅速かつ適切に入手するため、人口動態統計、全国がん登録データ、NDB、介護DBの利用申請を一括して担当し、分担研究者の統計解析を支援した。研究内容や体制の変更に伴い、倫理審査の変更手続きを行った。
- ② 各分担研究チームと1-2ヶ月ごとに定例会議を実施し、進捗の管理と、必要に応じて助言や情報提供を行った。班内での作業分担と統括を行い、班会議及び定例会議以外でも班員間での議論と情報共有を支援し、班の研究目的に沿った研究が遂行されるよう取り計らった。
- ③ 研究班の成果を一般向けに公開するため、研究報告書や研究活動（2022年3月に開催した福島県保健医療関係者への情報還元のためのシンポジウム）等を掲載するウェブサイトを運営した。

V 結論

【課題 A】福島県内地域別におけるがん罹患率の評価を目的とした本研究では、住民票住所と避難先住所の混在問題に対処するため、補正係数を計測し、罹患率を補正することが必要である。補正後の罹患率を用いた福島県内地域別がん罹患率の動向分析を行うことにより、原発事故ががん罹患率に与える影響を評価するための重要な基礎資料を提供できる。

【課題 B】患者調査を用いて全国、福島県及び近隣9県のがん受療率の動向を比較検討した。結果として、全国の男性は全期間を通じてがん受療率が減少し、女性はやや減少する傾向が見られたが、県別の安定した傾向は観察できなかった。今後、NDB入手後に、より詳細な分析を行い、地域や性別による違いや傾向、震災の影響による受療率の変動、受療率と罹患率の関連性、及び受療率の減少原因を明らかにすることを予定している。これにより、がん受療の現状と問題点を理解し、対策の改善につながることが期待される。

放射線の健康影響に係る研究調査事業 令和4年度研究報告書

研究課題名	低線量長期被ばくマウスおよび細胞の超高感度変異検出に基づく放射線影響と変異誘発機構の解析
令和4年度研究期間	令和4年4月1日～令和5年2月28日
研究期間	令和3年度 ～ 令和5年度 (2年目)

	氏名	所属機関・職名
主任研究者	権藤 洋一	東海大学医学部・客員教授
分担研究者	松本 義久 角山 雄一	東京工業大学科学技術創成研究院・教授 京都大学環境安全保健機構・准教授
若手研究者		

キーワード	低線量率被ばく、遺伝的影響、次世代リスク評価、ゲノム解析、モデル構築
-------	------------------------------------

本年度研究成果
<p>I 研究背景</p> <p>高線量放射線被ばくは、変異を誘発し白血病など健康被害が生じる。一方、低線量率長期被ばくがもたらすリスク評価はほとんど無く、安全性や防護などの基準設定は、短時間高線量被ばくのデータを、低線量域に外挿して間接的に行なわれている。100mSv 程度では発がんリスクは検出されないが、閾値なし線形(Linear Non-Threshold: LNT)モデルが提唱されている。しかし、自然放射線被ばくなども考慮して現実的には ALARA (As Low As Reasonably Achievable: 合理的に達成可能な限り低く)の原則に基づいて、放射線防護基準が国際的にも勧告されているのが現状である¹⁾。</p>
<p>II 目的</p> <p>低線量率長期被ばくの防護や安全性の議論を科学的データに基づいて行うため、マウス個体(権藤班)と培養細胞(松本班)を用いて、誘発変異を指標とする「再現性の高い大規模高精度なリスク評価法」を確立する。培養細胞では、ヒトとマウス両方用いることで生物種間における違いの有無も検証する。さらに、本研究および公開されているデータを包括的に捉えうる数理モデルを構築し(角山班)、最終的に、低線量率長期被ばくがヒトにもたらす生体影響理解への橋渡しを3班全体で試みる。具体的には、R3 年度末に全ゲノム解読したデータから、R4 年度には、被ばく群と非照射群から変異を検出する。また、被ばく線量を多点解析するため、R4 年度には異なる線量率と被ばく期間で得られたマウスおよび培養細胞のさらなる全ゲノム解読を実施する。R4 年度から実際に変異が検出され始めるため数理モデル化の検討に加え公開 WEB サーバの構築にも取りかかる。</p>
<p>III 研究方法</p> <p>マウス個体(権藤班)と培養細胞(松本班)共通に、被ばく群と非照射群からゲノム DNA を抽出し、超</p>

高速シーケンサーにて全ゲノム解読する。このビッグデータから、バイオインフォマティクスを駆使して被ばく開始時から蓄積した変異を抽出し、非照射群と比較し、放射線被ばく影響を「量的」に解析する。また、ゲノム配列レベルの変化「変異スペクトル」を同様に被ばく群と非照射群で比較し「質的な影響」も解析する。統合理解するため、角山班においてヒトも含めすでに汎用性を示してきた WAM 数理モデルを、権藤/松本班のデータに拡張する。これによって、生殖細胞変異と体細胞変異、また、マウス細胞とヒト細胞の実験データを包括的に理解できる数理モデルの導出を試みる。

IV 研究結果、考察及び今後の研究方針

権藤班では、R3 年度末に全ゲノム解読したビッグデータから、R4 年度に 0.15mGy/日×400 日被ばくした第 4 世代(G4)マウス 9 仔から 95.2(±6.2)変異を、非照射群 9 仔から 100.4(±14.8)変異を 1 仔平均検出することに成功した。従来の SLT 法における「30 年で非照射 50 万匹のマウスから 28 個検出」という解析限界と比較し、最先端全ゲノム解読技術を用いると 8 匹程度で非照射群から総数 100 個の変異を 2 年以内に検出可能という R3 年度の理論計算上の提唱^{2,3)}を、G4 まで蓄積すれば 1 匹で 100 変異検出できることを実証した。R3 年度に生涯継世代被ばく開始したマウスから、R4 年度に 0.05mGy/日×400 日、1mGy/日×400 日および非照射系統の新たな G4 世代が得られた。20mGy/日では G2 メスが不妊となり、変則的に非照射 G2 メスと交配し、20mGy/日×300 日被ばくした G3 世代が得られた。総被ばく線量は 6Gy (= 20mGy/日×300)であり、当初、目的とした急照射 4Gy の論文⁴⁾と比較可能なマウスがすでに得られた。R4 年度計画のマウス全ゲノム解読も R4 年度末に完了した。

松本班では、個体と細胞の間、マウスとヒトの間の橋渡しを行うため、ヒト、マウスの培養細胞を用いて、全ゲノム解読による変異解析を行った。まずヒト線維芽細胞を用いて、非照射、1mGy/日、20mGy/日で 3 週間培養した 1 細胞由来クローンの全ゲノム解読データの変異抽出解析を R4 年度行った。その結果、1 クローンあたり 750-1200 個の一塩基置換変異、約 2500 個の小規模欠失挿入変異を検出した。なお、照射条件による変異数の違いは見られなかった。マウス培養細胞株は、権藤班で全ゲノム解読したマウスの産仔から材料となる線維芽初代培養細胞をまず樹立し、非照射、1mGy/日、20mGy/日で 2 週間培養した後、ゲノム DNA を抽出し、全ゲノム解読を R4 年度に実施した。

角山班では、動植物への放射線照射実験における遺伝性影響に関する線量率応答数理モデル「WAM モデル」⁵⁾を検討し、種の違い、生殖細胞と体細胞の違いを説明し得るモデル構築を行なった。この過程において、線量率を変えて照射したマウスにおける脾臓中のリンパ球の染色体異常発生頻度に関する実験データに注目し、WAM モデルの拡張を試みた。結果、この事象に関しては単なるパラメータ調整のみでは適用不可能であり、新たなモデル構築が必要であることが判明した。新たな数理モデルの候補として、一定数の臓器細胞を異常細胞と正常細胞とが奪い合うモデルを提案した^{6,7)}。

以上より、本研究において当初計画した材料は R4 年度内に達成した。今後、さらに解析点を増やし相関解析と数理モデル化を進め、3 班全体でデータや結果を共有し議論を深める。線量率・総被ばく線量のもとでの変異率曲線から量的比較を行うとともに、配列変化の違いによる質的比較など、成果としてまとめ発表公開する。

V 結論

当初計画に沿って順調に進んでいるので、原著論文はじめ成果の公開を優先課題とする。また、この結果を生データから試料も含め、国内外で共有できるようなインフラ整備を積極的に進めていくための必要条件は達成した。まずは、WEB サイトでの公開を、角山班が構築した WEB サーバで進め

る。R5年度にはICRPの国際会議が東京で開催されるので発表を予定している。最終的に、国内外の放射線防護基準や環境行政に活用できる方向で公開しながら、社会全体で、放射線の危険性・安全性について科学的エビデンスを確認しながら前向きにオープンな議論を重ね、安全・安心について理解を深めていく基盤を形成するという目標達成の目処がついた。

引用文献

1. ICRP publication 103. The 2007 recommendations of the International Commission on Radiation Protection, ICRP Annals of the ICRP 2007; 37 nos 2 - 4. (https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/ANIB_37_2-4)
2. Gondo Y, Yoneya M, Tanaka S, et al. Development of the expanded complete outbreeding method for the risk assessment of low-dose-rate long-exposure to gamma-ray in the mouse model, 放射線影響学会第 65 回大会シンポジウム招待講演(英語セッション), 2022, 大阪
3. Gondo Y. Detection of transgenerational genetic effects based on whole-genome sequencing in the mouse model, Radiation Protection Dosimetry, 2022; 198: 1137-1142.
4. Satoh Y, Asakara JI, Nishimura M, et al. Characterization of induced mutations in offspring derived from irradiated mouse spermatogonia and mature oocytes, Scientific Reports 2020; 10: 37.
5. Bando M, Kinigawa T, Manabe Y, et al. Study of mutation from DNA to biological evolution, International Journal of Radiation Biology, 2019; 95: 1390-1403.
6. 角山雄一, 坂東昌子, 土岐博, 宇宙飛行を想定した長期放射線被ばく影響の数理モデルの検討, 第 4 回日本保健物理学会・日本放射線安全管理学会合同大会, 2022, 福岡
7. Tsunoyama Y, Suziki K, Toki H, Bando M. Proposal of New Mathematical Models with Potential to Contribute to Rational Radiation Protection, 6th International Symposium on the System of Radiological Protection (ICRP2021+1), ICRP, 2022, Vancouver.

放射線の健康影響に係る研究調査事業 令和4年度研究報告書

研究課題名	ゲノム変異シグネチャー解析で紐解く低線量放射線の発がん寄与割合とメカニズム
令和4年度研究期間	令和4年4月1日～令和5年2月28日
研究期間	令和3年度 ～ 令和5年度（2年目）

	氏名	所属機関・職名
主任研究者	鈴木 啓司	長崎大学原爆後障害医療研究所・准教授
分担研究者		
若手研究者	河村 香寿美	長崎大学原爆後障害医療研究所・特任研究員

キーワード	放射線、発がん、ゲノム、変異シグネチャー、メチル化
-------	---------------------------

本年度研究成果
<p>I 研究背景</p> <p>放射線の健康影響は、多様な生活要因の関与を考慮した上で議論しなければならない。これまでも、放射線被ばくの寄与割合についての議論はあるが、あくまでも、発がんリスクに基づく算術上の議論であって、生物学的知見を根拠にしたものではなかった。このため、とりわけ低線量放射線被ばくによる発がんでは、発症したがんの放射線起因の可能性を払拭する事は不可能であり、『明らかな発がんリスク増加は認められない』、あるいは、『発がんリスク増加の検出は困難』、等の説明をせざるを得なかった。さらに、低線量放射線被ばく集団に発症したがんは、どんな低線量放射線であっても、それが放射線に起因したがんであると懸念されがちである。しかしながら、低線量であればあるほど、放射線の寄与リスクは低下し、必然的に、自然に起こった散発性がんである可能性がより高くなるが、これを証明する術を我々は持たない。これらの諸問題を解決するためには、発がんにおける放射線の寄与割合を、生物学的根拠に基づいて記述する事が極めて重要であると確信し、本研究計画を提案するに至った。</p> <p>II 目的</p> <p>小児期の低線量放射線被ばくによる発がんに係る生物学的研究として、『ゲノム変異シグネチャーにより紐解く放射線の寄与割合』という新たな切り口を確立し、放射線被ばくによる健康影響の理解と放射線発がんメカニズムの解明に繋げるのが本研究課題の目的である。</p> <p>III 研究方法</p> <p>研究項目1:本研究で採取された肝腫瘍凍結標本から QIAmp Fast DNA Tissue Kit によりゲノム DNA を抽出し、NEB Next Ultra DNA Library Prep Kit によりゲノムライブラリーを調製した後、Illumina 社製 NovaSeq 6000 によりシーケンスを実施した。メチル化シグネチャー解析では、バイサルファイト</p>

処理後の DNA を用いた。シーケンス情報取得の基準として、平均リード数を 600M reads、平均データ量を 90 Gb とした。レファレンスゲノムに GRCm38 を用い、一塩基置換 (SNV) および挿入/欠失 (InDel) 情報は、発がん関連遺伝子に関連するものを抽出した。また、COSMIC が公開している変異シグネチャーデータベース¹⁾を参照にしてシグネチャータイプを抽出し、各肝腫瘍について個別にカタログ化し、同定された変異シグネチャー (SBS シグネチャー+ID シグネチャー) に対し、放射線被ばくに特有のゲノム変異シグネチャー (ID8) が検出される割合を算出し、これを放射線被ばく寄与割合とした。メチル化シグネチャーでは、Methylkit によりメチル化パターンの抽出を行った。研究項目 2 : 組織シグネチャー解析では、標本採取の際に固定組織標本を同時に作成し、多重蛍光免疫染色法により、がん細胞とそれ以外の細胞とを区別してがん細胞の占有率を算出した。研究項目 3 : 放射線発がん実験では、B6C3F1 雄マウスの小児期 (1 週齢) に放射線照射 (¹³⁷Csγ 線、0.1 Gy、1 Gy および 4 Gy、線量率は 0.5Gy/min) を行い終生飼育を継続した。確認された肝腫瘍を含む肝臓組織は、凍結標本および固定標本作成に供した (本研究は長崎大学動物実験委員会等の承認を得て実施した)。

IV 研究結果、考察及び今後の研究方針

採取した肝腫瘍凍結標本 (合計 4 ケース) を用いて、腫瘍部位と、同一組織で別葉の非腫瘍部からゲノム DNA を抽出し、SNV および InDel シグネチャーを抽出した。SNV 変異の中で最も多かったのが C>T 変異で、全体の 65% 近くを占めており、腫瘍部でも非腫瘍部でも差は認められなかった。腫瘍部での変異シグネチャー解析の結果、老化に関連する SBS5 (98% 程度) および SBS1 (2% 程度) がほぼ 100% を占めていた一方、放射線シグネチャーである ID8 は全く抽出されなかった。メチル化シグネチャー解析でも、メチル化パターンに放射線照射の特徴は認められず、これらの結果から、放射線誘発腫瘍であるにもかかわらず、放射線の発がん変異における寄与割合はほぼ 0% で、誘発腫瘍は、自然誘発がんの増大による顕在化である可能性が示唆された。今後、自然誘発の肝腫瘍も含め、採取した標本での解析を継続して、放射線誘発腫瘍における放射線の寄与割合の解析を進める。

変異シグネチャー解析から寄与割合を算出する際には、腫瘍組織中の正常細胞の混在比が結果に大きな影響を及ぼすため、肝臓標本中の腫瘍部位を特異的に描画する CK8 抗体を用いて腫瘍占有率を算出したところ、4 例とも腫瘍占有率は 95% 程度であることが明らかになり、本研究で抽出した変異シグネチャーは 95% 程度が腫瘍細胞由来のものであると結論できた。今後、変異シグネチャー解析に供する標本について、腫瘍組織占有率の解析を重点的に実施する。

1 週齢において照射した実験群は、令和 5 年 2 月末現在で照射後 600 日を超え、これまでに、29 例の肝腫瘍 (アデノーマや肝細胞がんなどを含む) サンプルの採取を終えた。いずれも 4 Gy 照射群からの標本であるが、令和 5 年度前半には、低線量照射群および非照射群からの肝腫瘍の誘発が期待される。これら実験群での腫瘍形成が確認され次第、変異および組織シグネチャーの解析に供する。

V 結論

終生飼育を継続している放射線照射マウス群 (4 Gy 照射群) において、複数の肝腫瘍の発生を確認し、腫瘍病理学的解析から肝細胞がんと認めた標本では、腫瘍特異的抗体により、腫瘍占有率が 95% 以上であることを確認した。採取された腫瘍組織および対になる正常組織よりゲノム DNA を精製し、次世代シーケンサーによる解析の結果、発がん関連遺伝子において、腫瘍組織特異的な SNV を多数同定し、C>T および T>C 変異を、変異全体の 60% 以上を占める特徴的な変異シグネチャーとして抽出した。COSMIC 変異シグネチャー解析では、SBS5 が優先的に抽出された一方で、放射線シグネチ

ヤーである ID8 は抽出されなかった。メチル化シグネチャー解析でも、放射線特異的シグネチャーは認められなかった。SBS5 は、クロック様シグネチャーとして知られる老化関連シグネチャーであることから、放射線誘発腫瘍は、放射線照射により肝臓の組織老化が早期化し、自然発症のがんが早期に顕在化した結果ではないかと推察され、この可能性は、令和5年度に発症が期待される非照射マウス群の肝腫瘍の解析を通じて検証する予定である。

引用文献

1. Alexandrov LB, Kim J, Haradhvala NJ, et al. The repertoire of mutational signatures in human cancer. *Nature*, 2020; 578: 94-101.

放射線の健康影響に係る研究調査事業 令和4年度研究報告書

研究課題名	ゲノム変異シグネチャー解析で紐解く低線量放射線の発がん寄与割合とメカニズム 若手研究項目「メチル化シグネチャー解析による放射線の発がん寄与割合評価」
令和4年度研究期間	令和4年4月1日～令和5年2月28日
研究期間	令和3年度～令和5年度（2年目）

	氏名	所属機関・職名
主任研究者	鈴木 啓司	長崎大学原爆後障害医療研究所・准教授
分担研究者		
若手研究者	河村 香寿美	長崎大学原爆後障害医療研究所・特任研究員

キーワード	放射線、発がん、ゲノム、変異シグネチャー、メチル化
-------	---------------------------

本年度研究成果
<p>I 研究背景</p> <p>放射線の健康影響は、多様な生活要因の関与を考慮した上で議論しなければならない。これまでも、放射線被ばくの寄与割合についての議論はあるが、あくまでも、発がんリスクに基づく算術上の議論であって、生物学的知見を根拠にしたものではなかった。このため、とりわけ低線量放射線被ばくによる発がんでは、発症したがんの放射線起因性の可能性を払拭する事は不可能であり、『明らかな発がんリスク増加は認められない』、あるいは、『発がんリスク増加の検出は困難』、等の説明をせざるを得なかった。さらに、低線量放射線被ばく集団に発症したがんは、どんな低線量放射線であっても、それが放射線に起因したがんであると懸念されがちである。しかしながら、低線量であればあるほど、放射線の寄与リスクは低下し、必然的に、自然に起こった散発性がんである可能性がより高くなるが、これを<u>証明する術を我々は持たない</u>。これらの諸問題を解決するためには、発がんにおける放射線の寄与割合を、生物学的根拠に基づいて記述する事が極めて重要であると確信し、本研究計画を提案するに至った。</p> <p>II 目的</p> <p>小児期の低線量放射線被ばくによる発がんに係る生物学的研究として、主任研究者による発がん関連遺伝子におけるゲノム変異シグネチャー解析と協働しながら『メチル化シグネチャー解析による放射線の発がん寄与割合評価』という切り口を新たに確立し、放射線被ばくによる健康影響の理解と放射線発がんメカニズムの解明に繋げるのが本研究課題（若手加速化研究）の目的である。</p> <p>III 研究方法</p>

本研究で採取された肝腫瘍凍結標本から採取したゲノム DNA を用いて、Whole genome Bisulfite Sequencing (WGBS) を実施し、発がん関連遺伝子および Gene body に残された DNA methyltransferase (DNMT) に関連するメチル化シグネチャーの解析を行った。組織からのゲノム DNA の抽出は、QIAmp Fast DNA Tissue Kit により行い、抽出した DNA は、Qubit フルオロメーターにより濃度を測定して解析に適切なゲノム標本に希釈した。メチル化の解析は、ゲノム DNA のバイサルファイト化を Zymo Research EZ DNA methylation Gold Kit により行い、WGBS を実施した。ライブラリーの調製は Swift Biosciences Accel-NGS Methyl-Seq DNA Library Kit により行い、シーケンスは、Illumina 社製の NovaSeq 6000 により、取得リード数をサンプルあたり 600 M リード、また取得データ数をサンプルあたり 90Gb として実施した。本研究は長崎大学動物実験委員会等の承認を得て実施した。

同一標本から別に採取した正常肝臓組織も同様にして解析を行い、レファレンスゲノムに GRCm38 をおいて放射線照射に関連するメチル化シグネチャーを抽出した。メチル化シグネチャー解析のターゲット遺伝子としては、マウス肝腫瘍に関わる細胞周期関連遺伝子、MAPK 経路関連遺伝子、受容体型チロシンキナーゼ経路関連遺伝子、WNT 経路関連遺伝子、クロマチン修飾因子関連遺伝子および SWI/SNF 複合体関連遺伝子と、Gene body を中心に、全ゲノム領域をカバーして解析を進めた。

IV 研究結果、考察及び今後の研究方針

採取した肝腫瘍凍結標本（合計 4 ケース）を用いて、腫瘍部位と、同一組織で別葉の非腫瘍部からゲノム DNA を抽出し、WGBS を実施した後、得られたシーケンス情報を methylkit を用いて解析し、CpG アイランドを対象にして、25%を超えるメチル化率の変動があったシトシンを抽出し、各シトシンに遺伝子領域情報をアノテーションした。

その結果、まず、ゲノム全体でメチル化率の亢進がみられたシトシンは全体の 40%程度、一方、メチル化率の減少がみられたシトシンは全体の 60%程度であることが明らかになった、遺伝子領域としてアノテーションされた情報を、ゲノムブラウザーである Igv により表示させると、アメリカ国立生物学情報センター (NCBI) にがん関連遺伝子として登録されている遺伝子領域に、がん組織でメチル化が亢進した領域が一致するものが複数同定された。メチル化の亢進があった領域は、エキソン内、イントロン内、あるいは遺伝子上流領域と多様であり、染色体 1 番、7 番、14 番、15 番に散在していた。これら遺伝子について、Metascape によりパスウェイおよびプロセスエンリッチメント解析を実施したところ、姉妹染色体動態や細胞増殖に関連する経路が抽出され、当該領域のメチル化率の亢進が、発がんのプロセスに関わることが示唆された。

次に、メチル化率の亢進があったシトシンを中心に、周辺の 7 塩基配列を抽出し、シグネチャー分類を実施した。その結果、(A/G/T) (A/C/T) (A/G/C) CG (G/T/C) (A/G/T) 配列が高頻度に出現する塩基配列として抽出された。同配列を、DNA 損傷修復に関連する DNA メチル化酵素である、DNMT のメチル化シグネチャーと比較すると、いずれも、TCCGTA、T*CGCCA、および TACGGC という、DNMT1 および DNMT3A/B に特徴的なメチル化配列とは特異的な相同性を有しないことが明らかになった。

1 週齢照射実験群は、令和 5 年 2 月末現在で照射後 600 日を超え、これまでに、29 例の肝腫瘍（アデノーマや肝細胞がんなどを含む）サンプルの採取を終えている。いずれも 4 Gy 照射群からの標本であるが、令和 5 年度前半には、低線量照射群および非照射群からの肝腫瘍の誘発が期待され、これら実験群での腫瘍形成が確認され次第、メチル化シグネチャーの解析に供する予定である。

V 結論

終生飼育を継続している放射線照射マウス群 (4 Gy 照射群) において同定された複数の肝腫瘍から採取されたゲノム DNA を、対になる正常組織より採取されたゲノム DNA とともに精製し、次世代シーケンサーによる WGBS 解析を行った結果、複数の発がん関連遺伝子におけるメチル可変同領域の同定に成功した。メチル化シグネチャー解析の結果、放射線特異的シグネチャーは認められず、放射線誘発腫瘍には、放射線照射による痕跡が残されていないことが明らかになった。この結論は、令和 5 年度に発症が期待される非照射マウス群の肝腫瘍の解析を通じてさらに検証する予定である。

放射線の健康影響に係る研究調査事業 令和4年度研究報告書

研究課題名	被ばくの分子指標を用いた低線量・低線量率放射線によるがんリスクの直接評価
令和4年度研究期間	令和4年4月1日～令和5年2月28日
研究期間	令和3年度 ～ 令和5年度（2年目）

	氏名	所属機関・職名
主任研究者	臺野 和広	量子科学技術研究開発機構・上席研究員
分担研究者		
若手研究者	鈴木 健之	量子科学技術研究開発機構・研究員

キーワード	低線量、低線量率、がん、ゲノム、分子指標
-------	----------------------

本年度研究成果
<p>I 研究背景</p> <p>東京電力福島第一原子力発電所事故後、周辺住民が抱える放射線による健康不安はがんの発生であり、福島県が実施している県民健康調査では、次世代影響やがんなどの晩発影響を心配する人ほど精神健康度が悪いことも報告されている。しかしながら、低線量放射線被ばくによる発がんリスクは、喫煙等の生活習慣要因によるリスクと比べて圧倒的に小さいため、バイアスが問題となりやすい疫学的手法によって正確に評価することは困難である。低線量・低線量率被ばくのがんリスクを評価するには、生物学と疫学の統合が不可欠であり、そのためには、がん関連遺伝子の突然変異といった発がんのメカニズムに關与する分子指標を用いたがんリスクの検出が必要であるとされている¹⁾。</p>
<p>II 目的</p> <p>本研究は、主任研究者らがこれまでに実施してきた放射線発がん実験によって収集された動物腫瘍²⁾のうち、放射線発がん感受性の高い臓器のがん（肺がん、乳がん、消化管がん）について次世代シーケンシングによるゲノム解析を行い、被ばくに起因するがんを識別出来るような分子指標を探索する。また、ヒト腫瘍で認められる遺伝子異常との比較を行い、発がんメカニズムの類似性を明らかにする。さらに、若手研究者の協力により、同定した分子指標の有用性を評価し、これを利用して、低線量・低線量率被ばくによるリスクの直接評価を目指す。</p>
<p>III 研究方法</p> <p>肺腫瘍については、放射線発がん実験アーカイブ腫瘍のうち、非照射群及び、低線量率（毎時 1.6 mGy または 6.3 mGy）、高線量率（毎時 30 Gy）放射線照射群（総線量 200 mGy から 4 Gy のガンマ線照射群、各群 50～100 匹）に発生したマウス（B6C3F1 系統）由来肺病変の病理診断を行った。また、肺病変の周辺組織における炎症状態や老化細胞の存在を確認するため、免疫組織化学染色法に用</p>

いる各種抗体の染色条件の確立を行った。さらに、肺腫瘍からゲノム DNA を抽出し、DNA の品質確認及び サンプル調製を行った。その後、次世代シーケンシングにより全ゲノム配列データを取得し、データ解析を行った。消化管腫瘍については、非照射群及び、低線量率（毎時 6 mGy）、高線量率（毎時 30 Gy）のガンマ線照射群（総線量 2 Gy）に発生したマウス消化管腫瘍について、発生数を調べるとともに、ゲノム DNA の抽出を行った。本研究で用いた消化管腫瘍のマウスモデル（C3B6F1 *Apc^{Min/+}* 系統）では、放射線被ばくにより腫瘍の原因となる遺伝子 *Apc* を含む 18 番染色体上の領域が欠失することから、ヘテロ接合性消失の解析を行い、同領域の欠失が観察される腫瘍と欠失が観察されない腫瘍に分類した。その後、DNA の品質確認及び、サンプル調製を行い、次世代シーケンシングにより全ゲノム配列データを取得した。乳がんについては、令和 3 年度に取得したラット (SD 系統) 由来乳がんの全ゲノム配列データの解析を行った。本研究は、人を対象とする研究には該当しない。また、実験動物を用いた発がん実験は、量子科学技術研究開発機構の動物実験委員会の承認の下に行った（承認番号: 07-1017 及び 12-1030、21-1007）。

IV 研究結果、考察及び今後の研究方針

肺腫瘍については、肺病変の病理診断を進め、肺がん発生率の算出及び、リスク解析を行った結果、予備的データではあるが線量率効果が見られることを確認した。また、肺病変周辺組織における炎症状態や老化細胞の存在を確認するため、免疫組織化学染色法 に用いる抗体（抗 F4/80 タンパク質抗体、抗 p16 タンパク質抗体等）の染色条件を確立した。また、次世代シーケンスにより取得した全ゲノム配列データの解析を行い、体細胞変異（塩基置換、挿入、欠失、コピー数異常、染色体構造異常）を抽出した。また、ヒト肺がんで知られる原因遺伝子に体細胞変異が認められ、その類似性が示された。

消化管腫瘍については、非照射群と比較して、照射群では消化管腫瘍数の有意な増加が認められることが分かった。一方、腫瘍の発生数に線量率効果は観察されなかった。また、次世代シーケンスによる腫瘍の全ゲノム配列データの取得に成功した。

乳がんについては、取得した全ゲノム配列データの解析を行った結果、非照射と照射群に由来する乳がんでは体細胞変異の数や塩基置換のパターンに違いはないことが分かった。一方、塩基の挿入や欠失の数を解析した結果、挿入に対する欠失数の比が、非照射と比べ、高線量率及び、毎時 60mGy 照射群に由来するがんで高くなっていることが分かった。さらに、挿入・欠失の長さや塩基配列の変異のパターンを分類し、ヒトがんに見られるパターンとの類似度を評価した結果、高線量率照射群に由来する乳がんでは、非相同末端結合と呼ばれる DNA 二重鎖切断修復の痕跡を示す変異パターンが観察されることが分かった。また、ヒト乳がんで知られる原因遺伝子に体細胞変異が認められ、その類似性が示された。

今後は、次世代シーケンシングにより取得した腫瘍のゲノムデータの解析を継続し、被ばくの分子指標の抽出を行うと共に、被ばくによる発がん機構を推定する。また、ゲノム解析により同定された分子指標について、線量依存性等の解析を行い、被ばくの分子指標としての有用性の評価を行う。さらに、消化管腫瘍については、その発生数に線量効果が観察されなかったことから、腫瘍のサイズ等に違いが見られないかについて解析する。また、肺病変については、免疫組織化学染色法を用いて病変の周辺組織における炎症像や老化細胞様の所見を観察し、放射線被ばくによる炎症や細胞老化への影響の評価を行う。

V 結論

本研究により、放射線被ばくによる肺がんの発生には線量率効果が見られることが示唆された。また乳がんにおいて、被ばくに起因するゲノム異常が見られることが示唆された。ヒトがんで知られる原因遺伝子に体細胞変異が認められ、発がんメカニズムに類似性があることが分かった。

引用文献

1. NCRP; Health Effects of Low Doses of Radiation: Perspectives on Integrating Radiation Biology and Epidemiology, NCRP Commentary No. 24 (2015), National Council on Radiation Protection and Measurements, Bethesda.
2. Morioka T, Blyth JB, Imaoka T., *et al.* Establishing the Japan-Store house of animal radiobiology experiments (J-SHARE), a large-scale necropsy and histopathology archive providing international access to important radiobiology data. *Int J Radiat Biol.*, 95(10):1372-1377 (2019).

放射線の健康影響に係る研究調査事業 令和4年度研究報告書

研究課題名	被ばくの分子指標を用いた低線量・低線量率放射線によるがんリスクの直接評価 若手研究項目「被ばくの分子指標としての有用性の評価」
令和4年度研究期間	令和4年4月1日～令和5年2月28日
研究期間	令和3年度 ～ 令和5年度（2年目）

	氏名	所属機関・職名
主任研究者	臺野 和広	量子科学技術研究開発機構・上席研究員
分担研究者		
若手研究者	鈴木 健之	量子科学技術研究開発機構・研究員

キーワード	低線量、低線量率、肺がん、ゲノム、分子指標
-------	-----------------------

本年度研究成果
<p>I 研究背景</p> <p>東京電力福島第一原子力発電所事故後、特に低線量放射線被ばくによるがんリスクが懸念されているが、そのリスクは喫煙等の生活習慣要因によるリスクと比べて圧倒的に小さいため、バイアスが問題となりやすい疫学的手法によって正確に評価することは困難である。自然発症と放射線被ばくによるがんを区別することが出来れば、正確ながんリスクの評価が可能となる。</p>
<p>II 目的</p> <p>本研究では、主任研究者の所属研究部で収集してきた放射線発がんアーカイブ腫瘍のゲノム解析を行い、自然発症と放射線被ばくによるがんを区別できる分子指標（変異遺伝子など）を明らかにする。また、病変の周辺組織における炎症や老化細胞の解析を行い、放射線被ばくによる炎症や細胞老化への影響の評価を行う。</p>
<p>III 研究方法</p> <p>1. 放射線発がん実験アーカイブ腫瘍の病理組織学的解析</p> <p>前年度に引き続き、アーカイブ腫瘍¹⁾のうち非照射群及び、低線量率（毎時 1.6 mGy または 6.3 mGy）、高線量率（毎時 30 Gy）放射線照射群（総線量 200 mGy から 4 Gy のガンマ線照射群、各群 50～100 匹）に発生したマウス（B6C3F1 系統）由来肺病変について、病理専門家の助言を得ながら確定診断を行う。また、分子指標としての有用性の評価に用いる病変を選出するため、異型成や腺腫といった前がん段階にある病変の抽出を行う。また、肺病変における老化細胞の存在や炎症状態を確認するため、免疫組織化学染色法に用いる各種抗体（抗 p16 タンパク質抗体、F4/80 タンパク質抗体等）の染色条件の確立を行う。</p>

2. 放射線誘発腫瘍のゲノムデータ解析及び、ヒトがんデータとの比較

肺腫瘍からゲノム DNA を抽出、DNA の品質確認及び サンプル調製を行い、次世代シーケンシングにより全ゲノム配列データを取得する。本研究で実施する放射線発がん実験アーカイブ腫瘍（肺がん、乳がん、消化管がん）の次世代シーケンシングによる全ゲノム解析に参画し、主に、肺がんのデータ解析を行う。非照射群に発生した自然発症腫瘍のデータと比較し、被ばくに起因する腫瘍に特徴的なゲノム異常（染色体欠失等のゲノム構造異常、原因遺伝子変異、突然変異パターンなど）を明らかにする。また、ヒトがんのゲノムアトラス等の公共データベースに登録されたゲノム異常の情報をもとに、マウス肺がんに見られる変異遺伝子等との類似性を評価する。

本研究は、人を対象とする研究には該当しない。また、実験動物を用いた発がん実験は、量子科学技術研究開発機構の動物実験委員会の承認の下に行った（承認番号: 07-1017 及び 12-1030）。

IV 研究結果、考察及び今後の研究方針

結果 1. 肺腫瘍の病理組織学的解析放射線発がん実験アーカイブ腫瘍のうち、非照射群及び、低線量率（毎時 1.6 mGy または 6.3 mGy）、高線量率（30 Gy/時）放射線照射群に発生したマウス肺病変の病理診断を行い、病理学者による確定診断を得て、肺 癌がんの発生率の算出、リスク解析を行った結果、低線量率の放射線被ばくでは、高線量率の被ばくに比べ、がんリスクが小さくなる線量率効果の存在が明らかとなった。また、肺病変の周辺組織における老化細胞の存在や炎症状態を確認するため、免疫組織化学染色法に用いる各種抗体（抗 p16 タンパク質抗体、F4/80 タンパク質抗体等）の濃度や反応温度、時間などの染色条件を確立した。

結果 2. 放射線誘発腫瘍のゲノムデータ解析及び、ヒトがんデータとの比較

肺腺 癌がんより抽出したゲノム DNA を材料に、次世代シーケンシングによる全ゲノム配列データを取得し、一塩基置換、挿入、欠失、コピー数異常、染色体構造異常等を抽出し、被ばく群に由来する腫瘍に特徴的なゲノム異常の探索を開始した。また、体細胞変異が検出された遺伝子には、ヒト肺がんの原因遺伝子が含まれていることが分かった。

考察及び今後の研究方針

マウスに発生した肺 癌がんのリスク解析により線量率効果の存在が明らかとなり、肺がんによる死亡リスクは低線量率照射と比べて高線量率照射で高くなることが示唆された。また、ゲノム解析では、ヒト肺がんで知られる原因遺伝子に体細胞変異が観察され、その類似性が示された。

今後は、被ばく群に由来する腫瘍に特徴的なゲノム異常の探索を継続し、分子指標の候補を抽出する。次いで、被ばくの分子指標としての有用性を評価するため、アーカイブ腫瘍のうち、非照射群と被ばく線量の異なる実験群から発生した肺病変を解析し、分子指標の線量依存性を明らかにする。将来的には、本研究で得られたデータを活用して、発がんの数理モデル構築に有用な遺伝子変異等のパラメーターの抽出や、ヒトとマウスの双方に共通する発がんメカニズム、対応するがんの亜型などの解明を通して、動物実験により得られたデータのヒトへの外挿を目指す。

V 結論

肺がんにおいて、低線量率の放射線被ばくでは、高線量率の被ばくに比べ、がんリスクが小さくな

る線量率効果が見られることが示唆された。また、体細胞変異が検出された遺伝子には、ヒト肺がんの原因遺伝子が含まれていたことから、本研究で用いたマウスモデルとヒトがんにおける発がん機構の類似性が示唆された。

引用文献

1. Morioka T, Blyth JB, Imaoka T., *et al.* Establishing the Japan-Store house of animal radiobiology experiments (J-SHARE), a large-scale necropsy and histopathology archive providing international access to important radiobiology data. *Int J Radiat Biol.*, 95(10):1372-1377, 2019.

放射線の健康影響に係る研究調査事業 令和4年度研究報告書

研究課題名	放射線による“ゲノム不安定性・がん”のリスク上昇メカニズムと、リスク診断法・制御法の研究
令和4年度研究期間	令和4年4月1日～令和5年2月28日
研究期間	令和3年度 ～ 令和5年度（2年目）

	氏名	所属機関・職名
主任研究者	吉岡 研一	国立がん研究センター（研究所 ゲノム安定性制御研究ユニット）・ユニット長
分担研究者	益谷 美都子	長崎大学大学院（医歯薬学総合研究科分子標的医学分野/分子標的医学研究センター）・教授/センター長
若手研究者		

キーワード	ゲノム不安定性、DNA 複製ストレス、クロマチン修飾
-------	----------------------------

本年度研究成果

I 研究背景

放射線ばく露は、がんのリスク要因である。近年の我々の研究で、『そのリスクには、“複製ストレスに伴う DNA 損傷（放射線ばく露後の細胞周期 S 期に現れる）”に起因したゲノム不安定性リスクが含まれる^{1,2)}』ことが示された。しかし、『この時、どうしてゲノム不安定性（大規模な修復エラー）に陥るのか？』、背景のメカニズムには不明な点が多い。これは、放射線発がんのリスクに関わる点に鑑み、放射線健康管理・健康不安対策には極めて重要な問題である。実際、ここで認められるゲノム不安定性の特徴は、ヒトのがん細胞でも広く認められる³⁾。そこで我々は、放射線ばく露で誘導される高リスク状態の特定、その誘導機構を解析している。一方で最近の研究で、そのリスクを抑制する成分の存在が示唆されたことから⁴⁾、その効果を示す成分のスクリーニングを実施し、さらにゲノムスタビライザーを構築した。現在、その作用機序の解析、その効果の検証を進めている。

II 目的

本研究では、『放射線ばく露で誘導される“ゲノム不安定性高リスク状態”の特定、その誘導機構の解明、さらに、そのリスクを抑制する成分（ゲノムスタビライザー）の作用機序の解明、その効果の検証』を目的としている。昨年度までの研究により、放射線ばく露による“ヘテロクロマチン形成の亢進”に伴うリスク上昇と、ゲノムスタビライザーの投与に伴うリスク抑制が示された。そこで今年度は、主任研究者の研究では、『ChIP-seq 解析（次世代シーケンサーによるゲノム解析）等により、詳細な高リスク状態を明確にし、その高リスク状態に対するゲノムスタビライザーの効果を明確にする』ことを目的とした。また、分担研究者の研究では、マウスモデルを用いたゲノムスタビライザーの効果の検証を目的とした。

III 研究方法

<主任研究者の担当> マウス胎仔線維芽細胞に対し、ゲノム不安定性の高リスク状態は放射線（照射 1 Gy）で誘導し、ばく露後 24 時間に現れる高リスク状態を解析した。解析は、共焦点レーザー顕微鏡を用いた蛍光免疫染色による解析と、次世代シーケンサーを用いた ChIP（クロマチン免疫沈降）-seq 解析によって実施した。両解析では、ヘテロクロマチン形成に関わるヒストン修飾の“H3K9-3me（トリメチル）”とこれと拮抗する“H3K9-Ac（アセチル）”を指標として実施し、顕微鏡解析では γ H2AX および HP1 α も併せて解析した。

<分担研究者の担当> 6-10 週齢のマウスに対して放射線照射（1Gy X 4 回、及び、1.75Gy X 4 回）した後の経過を観察した（体重変化、ローターロッドを用いた運動能力テスト、カプランマイヤーによる生存解析）。一方で、生存影響に差異が認められない場合、生き残っている個体に対しての“各臓器レベルでの影響の病理解析”に変更することも含めて検討することとした。動物実験に関しては、倫理委員会の承認を受け（承認番号 2107261735-4）、「動物の愛護及び管理に関する法律」、「3R の原則」、「長崎大学 動物実験規則」を遵守し実施した。

IV 研究結果、考察及び今後の研究方針

<主任研究者の担当> 『ヒストン H3K9-3me に対する ChIP-seq 解析で、その修飾レベルが局所で変化している』ことが示された。各々の細胞状態によって異なる領域にシグナルが現れるが、この中で、『放射線で誘導されたシグナルについては、ゲノムスタビライザーによって抑制される』ことが見出された。これに対し、『ヒストン H3K9-Ac のレベルは、全体に修飾レベルが大きく亢進している』ことが示された。『この H3K9-Ac レベルの亢進も、ゲノムスタビライザーによって抑制される』ことが示された。重要なことに、『これらの変化領域は、SV（ゲノム再編）の多い領域との相関が認められる』ことが示された。以上の結果は、『これらのヒストン修飾の変化がゲノム不安定性のリスクに関与する』こと、『このリスクを伴う修飾異常はゲノムスタビライザーによって抑制される』ことを示唆している。

また、蛍光免疫染色による解析では、放射線ばく露によって“H3K9-3me のフォーカス”の蓄積を認めたが、H3K9-Ac のシグナル増強では“フォーカスの形成を伴わない”ことが示された。一方で、ゲノム不安定性リスクは、DNA 複製ストレスに DSB の蓄積に起因すると考えられるが、この DSB 自体は全ての S 期の細胞で現れるため、この背景がリスク状態の判定を難しくしていると考えられる。実際、今年度の解析で、この弊害が認められた。そこで現在、S-G2 期の細胞集団を対象を絞って“高リスク状態の解析”を進めており、『どの様な S-G2 期の細胞集団が、放射線ばく露に伴うゲノム不安定性のリスク上昇に関係しているのか』の解析を進めている。さらに、『その集団が、ゲノムスタビライザーの投与によって、どの程度抑制されているのか』、『この時、ゲノムスタビライザーが、どの様に作用しているのか』の解析を進めている。

メカニズム解析では、現在までに、複数の“高リスク状態誘導に関わる因子”の特定に至っている。今後、ゲノム不安定性の高リスク状態の誘導・制御機構の解明を目指す。さらに、これまでの解析では、主に MEF（マウス胎仔線維芽細胞）をモデルとして実施してきたが、今後、『ヒト細胞でも同様の効果が現れるかどうか』を明確にするための解析を予定している。

<分担研究者の担当> 現在、マウスモデルを用い、放射線発がんリスクに対する“ゲノムスタビライザーの効果”の検証を進めている。放射線影響の経過観察では、放射線ばく露に伴う体重の抑制と、運動能力（ローターロッド解析）の低下を認めた。これに対し、一部のゲノムスタビライザーの投与

条件では、それらの“放射線で誘導される影響”に対する有意な抑制効果を認めた。しかし、 Kaplan-Meier解析では、一部の条件でゲノムスタビライザーの投与に伴う生存曲線が回復する傾向が示されたが、有意な差異を認めるには至らなかった。そこで、生存している全てのマウス個体につき、全臓器の病理解析を実施し、腫瘍形成への影響を解析することとし、現在、この病理解析を進めている。また、今後、各臓器のゲノムを解析し、ゲノム不安定性のリスク状態との関係の解析を予定している。

V 結論

今年度、『ゲノム不安定性の高リスク状態では、特定のクロマチン修飾の状態に変化が現れる』こと、『この状態が、放射線ばく露によって誘導される』ことが示された。重要なことに、『この高リスク状態は、特定の化学物質によって抑制が可能』なことが示唆された。今後、ゲノムスタビライザーによる作用機序解析、マウスの放射線発がんに対する影響解析を進める予定である。

引用文献

1. 1, Matsuno, Y., Atsumi, Y., Shimizu, A., Katayama, K., Fujimori, H., Hyodo, M., Nakatsu, Y., Kaneko, S., Hamamoto, R., Shimamura, T., Miyano, S., Tsuzuki, T., Hanaoka, F., and Yoshioka, K. Replication stress triggers microsatellite destabilization and hypermutation leading to clonal expansion in vitro. *Nature Communications*, **10** (2019) 3925. doi:10.1038/s41467-019-11760-2.
2. 2, Matsuno, Y., Hyodo, M., Suzuki, M., Tanaka, Y., Horikoshi, Y., Murakami, Y., Torigoe, H., Mano, H., Tashiro, S., and Yoshioka, K. Replication Stress-Associated DSBs Arisen by Ionizing Radiation Risk Genomic Destabilization and the Associated Clonal Evolution. *iScience*, **24** (2021) 102313. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.102313>.
3. 3, Matsuno, Y., Kusumoto-Matsuo, R., Asai, H., Manaka, Y., and Yoshioka, K. Echoed Induction of Nucleotide Variants and Chromosomal Structural Variants in Cancer Cells. *Scientific Reports*, **12** (2022) 20964. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-25479-6>.
4. 4, Matsuno, Y., Atsumi, Y., Alauddin, M., Rana, M.M., Fujimori, H., Hyodo, M., Shimizu, A., Ikuta, T., Tani, H., Torigoe, H., Nakatsu, Y., Tsuzuki, T., Komai, M., Shirakawa, H., and Yoshioka, K. Resveratrol and its Related Polyphenols Contribute to the Maintenance of Genome Stability. *Scientific Reports*, **10** (2020) 5388. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62292-5>.

放射線の健康影響に係る研究調査事業 令和4年度研究報告書

研究課題名	低線量率放射線発がんリスクの予測モデル構築及び遺伝的素因に関する基礎的研究
令和4年度研究期間	令和4年4月1日～令和5年2月28日
研究期間	令和4年度 ～ 令和6年度（1年目）

	氏名	所属機関・職名
主任研究者	今岡 達彦	量子科学技術研究開発機構・グループリーダー
分担研究者		
若手研究者	永田 健斗	量子科学技術研究開発機構・研究員

キーワード	低線量率放射線、がんリスク、モデル、乳がん、遺伝的素因
-------	-----------------------------

本年度研究成果
<p>I 研究背景</p> <p>放射線の健康への影響の科学的解明とその国民による理解は、福島原発事故の影響を受けた住民の健康管理及び放射線への不安がもたらす社会問題への対処等における重要な基盤である。DNA 二重鎖切断は放射線が人間の体に直接起こす深刻な作用であり、がんの原因となる。1%以上の人々が DNA 二重鎖切断修復関連遺伝子の変異を持つことが近年わかっており¹⁾、とりわけ <i>BRCA1</i> 遺伝子変異は乳がんを初めとする様々ながんのリスクを大きく高める²⁾。一方、放射線の健康影響に関する一般的情報は「多くの人の平均値」であって、高感受性個人の健康管理やそれに関連する不安への対処には十分でない。この課題に対しては、遺伝的素因による放射線影響の修飾の科学的知見が必要である。</p> <p>II 目的</p> <p>本事業では、令和1～3年度に構築したラット放射線関連乳がんリスク予測モデルをヒトに適用可能なものに拡張すること、及び、低線量率放射線の影響に対する遺伝的素因の効果を評価するための基礎的知見を得ることを目的とする。本年度は、①ヒト乳腺の放射線照射後の応答や発がんのデータを文献から収集して数理モデルのパラメータ値決定の方針を決め、②<i>Brcal</i> 遺伝子変異を有するラット及び野生型ラットへ放射線を照射して、乳がん発生の途中経過をまとめる。</p> <p>III 研究方法</p> <p>文献検索は PubMed データベースを用いて実施した。細胞の DNA 二重鎖切断修復動態、放射線照射後のコロニー生存率、平常時の乳腺組織の細胞動態、閉経及び発がん過程のモデル化を行い、文献等から入手したデータを利用してパラメータを試算した。また、ラット (Jcl:SD 系統 <i>Brcal</i>^{+/+}及び <i>Brcal</i>^{L63X/+}) を自然交配によって作出し、γ セル照射装置による高線量率照射 (3週齢)、あるいは母体と共に連続 γ 線照射装置による低線量率照射 (2週齢から開始し、2週間) を行った。週に1回の</p>

触診を行い、腫瘍径が約 2 cm を超えた時点で組織の一部を採取して標本上で病理診断を行った。動物実験は所属機関の安全・倫理に関する審査で承認を得た計画書に従って行った。

IV 研究結果、考察及び今後の研究方針

① 数理モデルのヒト乳腺への拡張

DNA 二重鎖切断修復速度については、ヒト正常乳腺初代細胞を使用した実験³⁾による推定値を得た。コロニー生存率についても、ヒト正常乳腺初代細胞を用いた実験データ⁴⁾を入手し、標的論に基づく数理モデルへのフィッティングによって、内腔前駆細胞の放射線感受性を表すパラメータを試算できた。乳腺組織中の細胞動態については、内腔前駆細胞及び内腔成熟細胞の増殖、分化、死を表現した数理モデルを作製し、ヒト正常乳腺組織を分析した 6 つの論文⁵⁻¹⁰⁾から得たデータを用いてパラメータを試算できた。発がん過程のモデル化については、乳がんの罹患率が一般に閉経前後で変動を示すことから閉経を考慮することとした。閉経年齢は卵巣の放射線被ばくの影響を受けるため¹¹⁾、まず閉経年齢とそれに対する放射線の影響のモデル化を行った。具体的には、論文¹¹⁾中の原爆被爆者データへのフィッティングによって、被ばく線量と閉経年齢分布の関係を表す数式を推定した。また、乳がんの発生に必要なドライバー変異数を、ヒト乳がんゲノムデータ^{12,13)}の解析によって 3 個と推定した。次に原爆被爆者集団の非被ばく群の乳がん罹患率¹⁴⁾を解析して、段階数 3 の多段階発がんモデルを元に、閉経前の変異細胞のクローン拡大と閉経によるいくつかの変化を加えた数理モデルを設計した。これを、被ばく群を含めた原爆被爆者集団のデータへフィッティングすることで、クローン拡大速度、閉経前後の変異率の違い、放射線による変異率の変化等を表す 6 つのパラメータを推定できた。次年度はこれらの試算値を使用する、もしくは今回入手したデータに新たなフィッティングを行うことで、パラメータ値を決定するのがよいと考えられた。

② *Brcal* 遺伝子欠損個体の影響評価

約 400 匹を作出し、照射もしくは偽照射処理を実施した。本年度の研究期間最終日現在では 30 週齢までの生体組織採取を完了し、残る研究期間で全個体を終生観察できると考えられた。研究 1 年目のマイルストーンとした 24 週齢時点における乳がん罹患割合は表 1 の通り。

以上のように本年度計画が順調に進捗したため、次年度以降も計画通りに実施する方針である。

表 1. 生体組織検査による乳がん罹患割合の途中経過 (24 週齢)

線量率	線量	乳がん罹患個体数/総個体数 (割合)			
		<i>Brcal</i> ^{L63X+}	(%)	<i>Brcal</i> ^{+/+}	(%)
非照射	0 Gy	1/72	(1.4)	0/68	(0.0)
低線量率 (0.1~0.2 mGy/分)	2 Gy	1/36	(2.8)	0/34	(0.0)
	4 Gy	0/25	(0.0)	0/28	(0.0)
高線量率 (0.4 Gy/分)	1 Gy	0/39	(0.0)	0/28	(0.0)
	2 Gy	0/30	(0.0)	1/36	(2.8)

V 結論

放射線被ばく後の初期 (DNA 修復と細胞死)、中期 (細胞動態)、後期 (発がん) の事象の数理モデル化の基礎を整え、令和 1~3 年度に構築した数理モデルのヒト乳腺への拡張に向けたパラメータ決定方針を定めた。*Brcal* 遺伝子欠損個体の影響評価のための 3 年にわたる長期実験を開始し、24 週齢までの乳がん罹患状況をまとめ、研究期間内に終生飼育が完了する見通しを得た。

引用文献

1. Hu C, Hart SN, Gnanaolivu R et al. A population-based study of genes previously implicated in breast cancer, *N. Engl. J. Med.*, 2021; 384: 440–451.
2. Momozawa Y, Sasai R, Usui Y et al. Expansion of cancer risk profile for BRCA1 and BRCA2 pathogenic variants, *JAMA Oncol.*, 2022; 8: 871–878.
3. Anglada T, Repullés J, Espinal A et al. Delayed γ H2AX foci disappearance in mammary epithelial cells from aged women reveals an age-associated DNA repair defect, *Aging*, 2019; 11: 1510–1523.
4. Kannan N, Nguyen LV, Makarem M et al. Glutathione-dependent and -independent oxidative stress-control mechanisms distinguish normal human mammary epithelial cell subsets, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2014; 111: 7789–7794.
5. Keller PJ, Lin AF, Arendt LM et al. Mapping the cellular and molecular heterogeneity of normal and malignant breast tissues and cultured cell lines, *Breast Cancer Res.*, 2010; 12: R87.
6. Prat A, Karginova O, Parker JS et al. Characterization of cell lines derived from breast cancers and normal mammary tissues for the study of the intrinsic molecular subtypes, *Breast Cancer Res. Treat.*, 2013; 142: 237–255.
7. Kim J, Villadsen R. Expression of luminal progenitor marker CD117 in the human breast gland, *J. Histochem. Cytochem.*, 2018; 66: 879–888.
8. Knapp DJHF, Kannan N, Pellacani D et al. Mass cytometric analysis reveals viable activated caspase-3⁺ luminal progenitors in the normal adult human mammary gland, *Cell Rep.*, 2017;21: 1116–1126.
9. Russo J, Calaf G, Roi L et al. Influence of age and gland topography on cell kinetics of normal human breast tissue, *J. Natl. Cancer Inst.*, 1987; 78: 413–418.
10. Christov K, Chew KL, Ljung BM et al. Proliferation of normal breast epithelial cells as shown by in vivo labeling with bromodeoxyuridine, *Am. J. Pathol.*, 1991; 138: 1371–1377.
11. Sakata R, Shimizu Y, Soda M et al. Effect of radiation on age at menopause among atomic bomb survivors, *Radiat. Res.*, 2011; 176: 787–795.
12. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE et al. Cancer genome landscapes, *Science*, 2013; 339: 1546–1558.
13. Nik-Zainal S, Davies H, Staaf J et al. Landscape of somatic mutations in 560 breast cancer whole-genome sequences, *Nature*, 2016; 534: 47–54.
14. Preston DL, Ron E, Tokuoka S et al. Solid cancer incidence in atomic bomb survivors: 1958-1998, *Radiat. Res.*, 2007; 168: 1–64.

放射線の健康影響に係る研究調査事業 令和4年度研究報告書

研究課題名	低線量率放射線発がんリスクの予測モデル構築及び遺伝的素因に関する基礎的研究 若手研究項目「Brcal 遺伝子欠損個体の低線量率放射線影響の機序解明」
令和4年度研究期間	令和4年4月1日～令和5年2月28日
研究期間	令和4年度 ～ 令和6年度（1年目）

氏名	所属機関・職名
主任研究者 今岡 達彦	量子科学技術研究開発機構・グループリーダー
若手研究者 永田 健斗	量子科学技術研究開発機構・研究員

キーワード	低線量率放射線、DNA 損傷、Brcal 遺伝子、線量率効果、乳腺
-------	-----------------------------------

本年度研究成果
<p>I 研究背景</p> <p>東京電力福島第一原子力発電所事故以降、福島第一原発周辺地域では放射性物質による居住地の汚染により一部の住民は避難を余儀なくされており、住民への健康不安対策の充実や、放射線被ばく影響に関する正しい情報を提供することは重要な課題である。日本における原爆被爆者の疫学的研究により高線量率放射線による健康影響のリスクが明らかとされてきた。一方で、低線量率の連続的な被ばくによるヒトの健康影響やそのメカニズムに関する知見は少なく、細胞レベルでのメカニズム研究においては報告例がある。</p> <p>放射線などにより生じた DNA 損傷は、細胞に存在する修復関連タンパクによって修復される。DNA 損傷が修復されずに残存すると、不正確な機構で修復されて変異が生じ、発がんの機会を作ると考えられる。DNA 損傷修復関連タンパクの一つである BRCA1 をコードする遺伝子 BRCA1 と DNA 損傷部位に集積する 53BP1 は拮抗的に作用し、非相同末端結合による損傷修復、相同組換え修復の機構を選択して修復を行う¹⁾。BRCA1 遺伝子は日本人を含む人類で数百人に1人がその変異を持ち、この変異を1コピー持つと乳がん、卵巣がん、膵臓がん、前立腺がん等のリスクが高まる。大規模な動物実験において、高線量率の放射線に被ばくした Brcal 遺伝子ヘテロ接合性変異を持つ個体では、野生型に比べて乳がん発生率が高くなる²⁾。しかし、放射線被ばく直後の DNA 損傷応答やその線量率依存性、さらには BRCA1 の変異の有無による影響の差異についてはよくわかっていない。</p> <p>II 目的</p> <p>Brcal 遺伝子欠損個体において、低線量率放射線被ばく後の過程の DNA 損傷修復動態や、Brcal 下流遺伝子の遺伝子発現を解明する。</p>

III 研究方法

1. 放射線照射

雌ラット (Jcl:SD 系統、野生型 *Brcal*^{+/+} 及びヘテロ接合性変異体 *Brcal*^{L63X/+})² を自然交配によって作出し、 γ セル照射装置 (Nordion 社、線量率 30 Gy/時、線量 1 Gy) による高線量率照射 (3 週齢)、あるいは母体と共に連続 γ 線照射装置 (ポニー工業株式会社、線量率 3 mGy/時、合計線量 1 Gy) による低線量率照射 (2 週齢から開始し、2 週間) を行った。高線量率 (1 Gy, 0.4 Gy/分) 照射 1, 3, 6, 12, 24 時間後、および 2~7 日後の乳腺、ならびに低線量率 (1 Gy, 0.05 mGy/分) 照射 1, 24 時間後の乳腺を収集し、ホルマリン固定した。

2. 組織標本作製

パラフィン包埋を行った乳腺組織を 3 μ m 厚に連続的に薄切した。切片の一部をヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を施し、解析対象となる末梢芽状突起 (TEB) が含まれることを確認した。その後、連続薄切した切片を、パラフィン除去後に 0.01 M クエン酸緩衝液 (pH 6.0) 中 121°C 15 分で抗原賦活化処理を行い、10% ブロッキング液 (Dako 社) を含む 0.05% Tween-20 含有トリス緩衝生理食塩水 (TBS-T) に希釈した一次抗体 (抗 53BP1 抗体、抗 *Brcal* 抗体、抗 Ki-67 抗体、抗サイトケラチン 14 抗体、抗サイトケラチン 8/18 抗体を使用) と 4°C で一晩反応させ、TBS-T で洗浄後、同様に希釈した蛍光標識二次抗体を室温で 1 時間反応させ、TBS-T で洗浄した。その後、4',6'-ジアミジノ-2-フェニリンドール (DAPI) を含む封入剤 (Vector 社) で封入した。

3. 画像データ取得及び解析

HE 染色した標本の画像取得には、スライドスキャナ (NanoZoomer、浜松ホトニクス株式会社) を、蛍光染色した標本の画像取得にはディスク走査型共焦点顕微鏡システム (DSU-IX81、オリンパス株式会社) を、画像解析ソフトウェアとして ImageJ (米国国立衛生研究所) をそれぞれ使用した。

(倫理面への配慮)

動物実験及び遺伝子組換え実験については、量子科学技術研究開発機構の動物実験委員会 (承認番号 22-1016) 及び遺伝子組換え実験委員会 (承認番号 H26-2) の承認の下に行った。人を対象とする研究には該当しない。

IV 研究結果、考察及び今後の研究方針

放射線照射実験を実施し、乳腺組織サンプルの収集を予定通り終えた。HE 染色をした乳腺の観察により、約 200 μ m の長さの TEB が第 4 乳頭を起点とした 2cm 以内の領域に多く存在することが分かり、同領域を細胞動態の解析対象範囲とした。多重蛍光免疫染色により乳腺上皮細胞 (基底細胞、内腔細胞) および DNA 損傷動態 (53BP1) を確認するため、抗原の賦活化条件 (温度、使用する緩衝液等)、抗体条件 (希釈価、温度、反応時間等) を決定し、マイルストーンを達成した。

さらに、高線量率放射線により誘導された 53BP1 フォーカスは、*Brcal*^{+/+} と *Brcal*^{L63X/+} の乳腺で照射 1 時間後の時点で、組織切片において細胞の断面あたり、基底細胞では約 1.2 個、内腔細胞では約 1.7 個誘導されるが、照射後 12 時間までには 2~3% 程度まで減少することを、予備的に各 1 検体で確認した。次年度は、1) 収集した全サンプルの DNA 損傷動態を解析し、*Brcal* 遺伝子の有無による DNA 損傷修復の差異を定量的に評価する他、2) RNA シーケンス等による遺伝子発現解析により *Brcal* 下流遺伝子の発現制御メカニズムを明らかにする実験に着手する。

V 結論

本年度計画していた放射線照射実験をすべて終了し、乳腺組織サンプルを収集した。乳腺上皮細胞および DNA 損傷動態を検出するための多重蛍光免疫染色の実験条件を決定し、次年度実施予定の DNA 損傷の定量解析の準備が整った。

引用文献

1. Shibata A and Penny A Jeggo. Roles for the DNA-PK complex and 53BP1 in protecting ends from resection during DNA double-strand break repair, *Journal of Radiation Research* 2020; 61 (5) , 718–726.
2. Nakamura Y, Kubota J, Nishimura Y et al. *Brca1*^{L63X/+} rat is a novel model of human BRCA1 deficiency displaying susceptibility to radiation-induced mammary cancer, *Cancer Sci* 2022; 113: 3362–3375.

放射線の健康影響に係る研究調査事業 令和4年度研究報告書

研究課題名	低線量被ばくによる発がん高感受性臓器のがんに至る細胞動態解明
令和4年度研究期間	令和4年4月1日～令和5年2月28日
研究期間	令和4年度 ～ 令和6年度（1年目）

	氏名	所属機関・職名
主任研究者	飯塚 大輔	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構 量子生命・医学部門 放射線医学研究所 放射線影響研究部 発がん動態研究グループ・ 研究統括
分担研究者		
若手研究者		

キーワード	組織幹細胞、細胞系譜追跡、細胞動態、放射線発がんメカニズム、低線量被ばく、発がん高感受性臓器
-------	--

本年度研究成果
<p>I 研究背景</p> <p>福島原発事故以来、特に子どもの被ばくによる将来的な健康影響（殊にがんリスクの上昇）が特に近隣住民に大きな不安材料として残されている。環境省「放射線による健康影響等に関する統一的な基礎資料」でも100 mSv (mGy) 未満では発がんリスクを検出することが難しいと書かれており、このことはこれまでの研究成果では不十分で、100 mGy 以下の被ばくによる発がんリスクについてのさらなる研究が求められているといえる。低線量被ばく影響の全貌ははまだ明らかとなっていないが、疫学だけでは低線量リスクを完全に明らかにするには困難であることから、生物学の成果との統合が必要であると考えられている。発がんメカニズムに基づく低線量被ばくリスクの解明が求められている¹⁾。放射線発がんのメカニズム解明は、主に放射線発がんの「痕跡」（放射線被ばく特異的ゲノム変異）を探るアプローチで行われている。しかしながら、チョルノービリ（チェルノブイリ）原発事故後に見られたヒト小児甲状腺がんでも明確な痕跡にたどり着いてはいない²⁾。また、これらのことは、ゲノム変異以外のアプローチ、すなわち細胞の増殖速度や自己複製能などがんを構成する個々の細胞の特徴や細胞同士の相互作用（細胞競合）の解析が放射線発がんメカニズムの解明に重要であることを示唆している。</p> <p>主任研究者はこれまでに、放射線発がんリスクの高い乳腺において、放射線被ばくからがんに至る細胞動態（細胞増殖、細胞分化、細胞競合など）を捉えることが可能な細胞系譜追跡実験を用いることで、時間と共に拡大するクローンが100 mGyの被ばくで縮小すること、細胞が分化異常を起こすことを見出した。</p>

II 目的

本研究では、放射線発がん感受性の高い乳腺と肺に注目し、細胞系譜追跡により 100 mGy やそれ以下の低線量被ばく後のがんに至る細胞動態を明らかにすることを目的としている。

III 研究方法

本研究は国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構千葉地区遺伝子組換え実験安全委員会（番号：H29-03-6）および動物実験委員会（番号：20-1014-2）の承認を得て実施した。

実施項目 1. 乳腺の低線量被ばくによる細胞動態解析

細胞系譜追跡実験では乳管を形成する 2 種類の内腔ならびに基底細胞の幹細胞の動態を、ケラチン 8 (K8) もしくはケラチン 14 (K14) の遺伝子プロモーターを用いて追跡する。

(1) 発がん感受性系統における放射線誘発クローン拡大変化の解析

先行研究では乳がんになりにくい C57BL/6 等のマウス系統を用いた。そのため、乳がんになりやすい BALB/c 系統への戻し交配を 10 回行う。BALB/c 系統へ 5 回の戻し交配を行ったマウスを用いた照射後 12 週までの検討を行い、クローン拡大が被ばくにより縮小する既存の結果との比較検討を行うことで、BALB/c 系統で特徴的な細胞動態の有無を明らかにする。

実施項目 2. 放射線発がん感受性の高い臓器肺の低線量被ばくによる細胞動態解析

(1)細胞標識の条件検討

Rosa26 遺伝子座はすべての細胞で発現する遺伝子座として知られるため、この遺伝子プロモーターの下流で CreERT2 が発現するマウスを用いる。肺における標識効率の至適な条件を見出すために、BALB/c 系統に 5 回の戻し交配をおこなったマウスのタモキシフェン濃度、投与時期、投与回数等の条件検討を行う。

IV 研究結果、考察及び今後の研究方針

実施項目 1 では、本研究で用いるマウス系統 5 系統について BALB/c 系統への 10 回の戻し交配を完了させた。BALB/c 系統への 5 回の戻し交配を行ったマウスを用い、被ばく後 12 週までのクローン増殖を観察したところ、12 週後の非被ばく群では元のマウス系統と同様にクローンが拡大していた。2 Gy 照射は、元のマウス系統を用いた結果と同様にクローンが抑制される傾向が見られたが、一部のクローンは被ばくしても拡大する傾向にあった。

実施項目 2 では、実験条件の検討を行った。その結果、BALB/c 系統への 5 回の戻し交配を行ったマウスに対し、タモキシフェンを複数の濃度、回数で投与したところ、いくつかの条件で乳腺同様に時間とともに拡大するクローンが観察された。

次年度は、クローン増殖変化と前がん病変の関連の証明のための実験、クローン拡大の抑制メカニズム解析、系統差を利用した発がん関連メカニズムの絞り込みの解析を行うとともに、肺組織での被ばくによる細胞動態解析を行う予定である。

V 結論

放射線発がん感受性の高い乳腺と肺に注目し、細胞系譜追跡により低線量被ばく後のがんに至る細胞動態を解析した。これらの成果は最終的に、環境省統一資料のさらなる充実や、低線量被ばくのがんリスクを理解するために近年注目されている「有害性発現経路」のアプローチ³⁾におけるバイオマーカーになることを通した放射線防護のさらなる精緻化、福島原発事故の近隣住民などの不安解消と

健康増進に役立つことが期待される。また、本研究えられた基礎的データは、ホームページや所属機関の一般公開などで随時、発信していきたい。

引用文献

1. NCRP 2015. Health Effects of Low Doses of Radiation: Perspectives on Integrating Radiation Biology and Epidemiology. *NCRP Commentary No. 24*, 2015.
2. Morton LM, Karyadi DM, Stewart C, et al. Radiation-related genomic profile of papillary thyroid carcinoma after the Chernobyl accident. *Science*, 2021; 372: eabg2538.
3. Stainforth R, Schuemann J, McNamara AL, et al., Challenges in the quantification approach to a radiation relevant adverse outcome pathway for lung cancer. *Int. J. Radiat. Biol.*, 2021; 97: 85-101.

放射線の健康影響に係る研究調査事業 令和4年度研究報告書

研究課題名	セシウム 137 による慢性的低線量内部被ばくマウスの体細胞・生殖細胞における DNA 塩基配列への影響－全ゲノム解析による継世代影響の統計解析－
令和4年度研究期間	令和4年4月1日～令和5年2月28日
研究期間	令和4年度 ～ 令和6年度（1年目）

	氏名	所属機関・職名
主任研究者	中島 裕夫	大阪大学・准教授
分担研究者		
若手研究者		

キーワード	低線量放射線、セシウム-137、内部被ばく、遺伝性影響、福島第一原発事故
-------	--------------------------------------

本年度研究成果
<p>I 研究背景</p> <p>東日本大震災に伴って発生した福島原発事故直後よりクローズアップされ社会問題となった低線量放射線内部被ばくの懸念は究極的には被ばく世代における発がんや次世代への遺伝性影響の存否に集約される。その中で遺伝性影響については、これまでの膨大な調査研究で原爆被爆2世（LSS、AHS）、チェルノブイリ（チェルノブイリ）原発事故除染作業員の子供への影響は、表現型の影響はもとより DNA レベルの影響においても認められていない^{1,2)}。しかし、それにもかかわらず、被爆2世や福島原発事故による住民への遺伝性影響が憂慮され続けており、社会通念的に遺伝性影響の懸念が認められてしまうことは、遺伝差別への大きな流れにもなりかねず憂慮される事態である。このような憂慮をできる限り小さくすることが喫緊の課題と考えられる。</p> <p>II 目的</p> <p>これまでの、放射線健康管理・健康不安対策事業研究で報告してきた結果^{3,4)}は、当時、解析費用が高額であったため、異なる4つの任意世代のそれぞれ雄1匹の全ゲノム解析データを各世代で比較して、セシウム137投与群と対照群間で差がないことを示したものであるが、各世代での統計学的な脆弱性は否めない。本研究の目的は、マウスサンプルを解析することにより、セシウム137の内部被ばくによる1世代あたりの無作用量の範囲を統計学的に耐え得る数値として示すことである。なお、実験対象はマウスであるが、次世代の自然突然変異率がヒトとほぼ同じであることから^{5,6)}、ヒトでは数百年かかることを短期に予測し、今後の遺伝性影響の不安払拭対策にも資せるようにしたい。</p> <p>III 研究方法</p> <p>セシウム137水（100q/ml）を給水しながら世代交代をさせた A/J マウス系統の凍結サンプルから DNA を抽出し、全ゲノム解析を行った。第25世代目(F20→F45)のセシウム137群と対照群各3匹ずつ</p>

つ計 6 サンプルを理研ジェネシスへ送付し、イルミナ社の NovaSeq6000 にて、Read length: 150、Paired-end、Multiplex 法で全ゲノム解析を行い、これまでのサンプル数 n=1 の 1、2、5、18 世代に加えて、25 世代の n=3 の結果に統計学的処理を行って比較検討した。なお、精巢の平均被ばく線量は、各臓器のセシウム 137 量 (Bq/g) をもとに、マウスボクセルファントムを用いた PHITS コードにて 301 μ Gy/日、一世代平均 108 日で 32.5 mGy、25 世代で 812.5 mGy の集積線量と算定されている^{4,7)}。

IV 研究結果、考察及び今後の研究方針

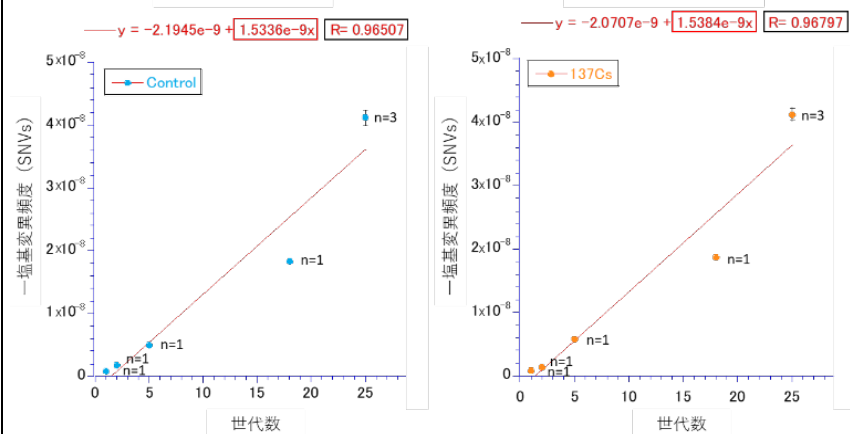
表 1 25 世代目における全ゲノム解析による一塩基変異頻度

Analyzeds domain			Exon		Intron		Intergenic		Total genome	
Number of base pairs analyzed in Analysis			85752753		994683029		1402733701		2483169483	
Generations	Generation interval	Treatment	SNVs	Frequency	SNVs	Frequency	SNVs	Frequency	SNVs	Frequency
25	F20-F45)	Control average	6.0	7.00E-08	41.7	4.19E-08	54.7	3.90E-08	102.3	4.12E-08
		95%CI (n=3)	(± 1.1)	($\pm 1.23 \times 10^{-8}$)	(± 1.3)	($\pm 0.13 \times 10^{-8}$)	(± 2.4)	($\pm 0.17 \times 10^{-8}$)	(± 2.85)	($\pm 0.11 \times 10^{-8}$)
		Mouse A	7	8.16E-08	41	4.12E-08	54	3.85E-08	102	4.11E-08
		Mouse B	5	5.83E-08	43	4.32E-08	57	4.06E-08	105	4.23E-08
		Mouse C	6	7.00E-08	41	4.12E-08	53	3.78E-08	100	4.03E-08
		137Cs average	2.0	2.33E-08	49.3	4.96E-08	51.0	3.64E-08	102.3	4.12E-08
		95%CI (n=3)	(-)	(-)	(± 1.7)	($\pm 0.15 \times 10^{-8}$)	(± 1.1)	($\pm 0.08 \times 10^{-8}$)	(± 2.36)	($\pm 0.09 \times 10^{-8}$)
		Mouse D	2	2.33E-08	51	5.13E-08	51	3.64E-08	104	4.19E-08
		Mouse E	2	2.33E-08	49	4.93E-08	52	3.71E-08	103	4.15E-08
		Mouse F	2	2.33E-08	48	4.83E-08	50	3.56E-08	100	4.03E-08

表 2 25 世代目における全ゲノム解析による挿入欠失頻度

Analyzeds domain			Exon		Intron		Intergenic		Total genome	
Number of base pairs analyzed in Analysis			85752753		994683029		1402733701		2483169483	
Generations	Generation interval	Treatment	InDel	Frequency	InDel	Frequency	InDel	Frequency	InDel	Frequency
25	F20-F45)	Control average	517.7	6.04E-06	11162.7	1.12E-05	11219.0	8.00E-06	22899.3	9.22182E-06
		95%CI (n=3)	(± 16.1)	($\pm 0.19 \times 10^{-6}$)	(± 139.8)	($\pm 0.01 \times 10^{-5}$)	(± 238.5)	($\pm 0.17 \times 10^{-6}$)	(± 376.8)	($\pm 0.15 \times 10^{-6}$)
		Mouse A	534	6.23E-06	11298	1.14E-05	11369	8.10E-06	23201	9.34E-06
		Mouse B	511	5.96E-06	11134	1.12E-05	11310	8.06E-06	22955	9.24E-06
		Mouse C	508	5.92E-06	11056	1.11E-05	10978	7.83E-06	22542	9.08E-06
		137Cs average	495.3	5.78E-06	11075.3	1.11E-05	11169.0	7.96E-06	22739.7	9.15752E-06
		95%CI (n=3)	(± 15.2)	($\pm 0.18 \times 10^{-6}$)	(± 124.1)	($\pm 0.01 \times 10^{-5}$)	(± 56.0)	($\pm 0.04 \times 10^{-6}$)	(± 148.3)	($\pm 0.06 \times 10^{-6}$)
		Mouse D	480	5.60E-06	11131	1.12E-05	11124	7.93E-06	22735	9.16E-06
		Mouse E	501	5.84E-06	10949	1.10E-05	11161	7.96E-06	22611	9.11E-06
		Mouse F	505	5.89E-06	11146	1.12E-05	11222	8.00E-06	22873	9.21E-06

図 1 A/J マウス系統の高純系 1, 2, 5, 18, 25 世代目における対照群と¹³⁷Cs 群の 2,483,169,483 塩基対当たりの一塩基変異率とその相関性



の解析を行うとともに、これまでは雄のみで行っているため、A/J と C57BL/6 の両系統でそれぞれ親の雌雄と仔によるトリオ解析を試みる。

V 結論

これまでにヒトでは検出されず、マウスでは検出されている放射線による遺伝性影響ではあるが、本研究では、そのマウスですら、現在のヒトでのセシウム 137 における食品中の規制値 (100Bq/kg)

放射線による主たる影響と考えられる欠失変異や低線量放射線による酸化ストレスによるとされる一塩基変異⁸⁾において、対照群とセシウム 137 群間で 18 世代までには、有意な差は認められなかった。また、表 1、2 に示すように 25 世代目における各群 n=3 で解析した Exon、Intron、Intergenic 領域を含めた全ゲノム数 (2,483,169,483 塩基対当たり) に対する一塩基変異率と挿入欠失変異率においては両群間で有意な差が認められなかった。また、両群の一塩基変異率の相関性を調べた結果、対照群、セシウム 137 群それぞれの傾きが、1.53、1.54、相関係数が 0.965、0.968 で、世代を重ねても両群間での DNA 一塩基変異の頻度は殆ど同じであった (エラーバーは 95%信頼限界) (図 1)。今後は、25 世代以上の世代でもう 1 点の n=3

を 1000 倍も上回る 100000Bq/kg の水を 25 世代慢性的に摂取し続けても DNA レベルでの影響に対照群との間で統計学的な有意差が認められなかった。マウスは、ヒトと同じ生物であるがゆえにマウスで認められる遺伝性影響は、ヒトでも同様であることを否定できないとされることがあるが、マウスによる本研究の結果から、そのマウスですら遺伝性影響を示さない線量域が存在する可能性が示唆された。今後は、この可能性の信頼度をさらに上げるべく研究計画に沿って引き続き解析を続ける。

引用文献

1. Horai M, Mishima H, Hayashida C, *et al.* Detection of de novo single nucleotide variants in offspring of atomic-bomb survivors close to the hypocenter by whole-genome sequencing. *J Hum Genet*, 2018; 63: 357-363. <https://doi.org:10.1038/s10038-017-0392-9>
2. Yeager M, Machiela MJ, Kothiyal P, *et al.* Lack of transgenerational effects of ionizing radiation exposure from the Chernobyl accident. *Science*. 2021; 372: 725-729. <https://doi.org:10.1126/science.abg2365>
3. 中島裕夫、大野みずき、石原弘、環境省マウスを用いたセシウム137の慢性的低線量内部被ばくによる成体と子孫への影響の定量的実験検証（Quantitative assessment for the effects of chronic low-dose internal Cesium-137 radiation exposure on genomic, carcinogenic and hereditary effects in mice.）環境省 平成30年度原子力災害影響調査等事業（放射線の健康影響に係る研究調査事業）放射線による健康影響の解明及び放射線以外の要因による健康リスクの低減を含めた総合的な健康リスクに関する研究報告書、2018
4. 中島裕夫、大野みずき、石原弘、動物実験を用いた慢性的低線量内部被ばくによる突然変異と発がんの非相関性のメカニズム解明（Mutation and carcinogenesis do not correlate under chronic low-dose internal radiation exposure: an experimental demonstration）、環境省、令和3年度放射線健康管理・健康不安対策事業（放射線の健康影響に係る研究調査事業）報告書（テーマ（2）事故に係る身体面・心理面の健康影響及びそのメカニズムに関する研究）、2023
5. Drost JB & Lee WR. Biological basis of germline mutation: comparisons of spontaneous germline mutation rates among drosophila, mouse, and human. *Environ Mol Mutagen* 25 Suppl. 1995; 26: 48-64. <https://doi.org:10.1002/em.2850250609>
6. Uchimura A, Higuchi M, Minakuchi Y, *et al.* Germline mutation rates and the long-term phenotypic effects of mutation accumulation in wild-type laboratory mice and mutator mice. *Genome Res*. 2015; 25: 1125-1134. <https://doi.org:10.1101/gr.186148.114>
7. Endo, S., Matsutani, Y., Kajimoto, T., Tanaka, K. & Suzuki, M. Internal exposure rate conversion coefficients and absorbed fractions of mouse for 137Cs, 134Cs and 90Sr contamination in body. *J Radiat Res* 61, 535-545 (2020). <https://doi.org:10.1093/jrr/rraa030>
8. Meng QM, Zaharieva EK, Sasatani M, *et al.* Possible relationship between mitochondrial changes and oxidative stress under low dose-rate irradiation. *Redox Rep*. 2021; 26: 160-169. <https://doi.org:10.1080/13510002.2021.1971363>

放射線の健康影響に係る研究調査事業 令和4年度研究報告書

研究課題名	放射線によるゲノム変異（放射線の爪あと）とそれに起因する発がんを高感度に検出できるマウスを用いた、低線量・低線量率放射線発がんリスク評価研究とそのメカニズム解明
令和4年度研究期間	令和4年4月1日～令和5年2月28日
研究期間	令和4年度 ～ 令和6年度（1年目）

	氏名	所属機関・職名
主任研究者	笹谷 めぐみ	広島大学・准教授
分担研究者	金井 昭教	東京大学・特任准教授
若手研究者		

キーワード	放射線発がん、低線量・低線量率、線量率効果、ゲノムの爪痕、がんの微小環境
-------	--------------------------------------

本年度研究成果
<p>I 研究背景</p> <p>福島原発事故以降、低線量・低線量率放射線の健康影響に対する科学的な知見不足が社会不安を生じさせた。現在、ヒト疫学調査からは、低線量域のリスクや線量率効果に関する知見は十分といえず、疫学調査のみによるリスク解明には限界がある¹⁻⁵⁾。そのため、動物実験で得られた低線量・低線量率発がんについての詳細な知見とゲノムレベルでのメカニズム解明は、大規模疫学調査結果を補完することを可能にし、リスク評価が格段に進歩すると期待される。しかしながら、現時点では、動物モデルを用いた低線量・低線量率放射線発がんリスクとそれを裏付けるメカニズム解明に関する知見は十分でない。</p> <p>我々は長年に亘り、放射線発がんリスク評価とそのメカニズム解明を目指した研究を続けており、①低線量域の発がん放射線の爪痕を高感度に検出できる、②線量率効果の分子機構が解明できる、③放射線発がん感受性の年齢依存性が解明できる、という利点を有するマウスの作成に成功した。</p> <p>II 目的</p> <p>上述した、放射線被ばくに高発がん性を示すモデルマウスを用いて、低線量・低線量率被ばくによる発がんリスク及び、子ども期と大人期における線量率効果に関する科学的知見を得ることである。</p> <p>III 研究方法</p> <p><u>III-1:100 mGy 以下の低線量放射線被ばくによる発がん感受性</u></p> <p>上記に記載した放射線発がん高感受性マウスを用いて、様々な線量を用いた放射線発がん実験を行った。生後約30週齢の時点でマウスを屠殺し、小腸、大腸を採取し、顕微鏡下で腫瘍数、腫瘍サイズの計測を行った。また、得られた腫瘍を採取し DNA 抽出を行い、ヘテロ接合性の消失(Loss of</p>

heterozygosity: LOH)解析から変異を同定し、放射線の爪あと解析を行った。また、次世代シーケンサーを用いて、放射線による発がんプロモーション作用に関与する遺伝子の探索を開始した(研究分担: 東大金井)。更に、放射線被ばくが幹細胞のみならずその周辺細胞へ及ぼす影響を解明するため、「がん関連繊維芽細胞」の誘発に着目した解析を開始した。

III-2. 低線量率放射線発がんリスク評価研究と、子どもから大人における放射線発がんの線量率効果とそのメカニズム解明

III-1.で用いた世代の異なるマウス(子ども期マウスから大人期マウス)を準備し、異なる線量率の放射線発がん実験を行った。マウスを屠殺後、小腸、大腸を採取し、顕微鏡下で腫瘍数、腫瘍サイズの計測を行った。得られた腫瘍を採取し、放射線の爪あと解析を開始した。我々は、前回の環境省委託事業において、マウス ES 細胞を用いた染色体組み換え検出系を立ち上げ、染色体組み換えの有無が線量率効果を生じさせる要因である可能性を見出した。そこで得られた染色体組み換えをおこなっているサンプルを用いて、次世代シーケンサーを用いたゲノムの解析を行うことにより、線量率効果を規定する染色体組み換えの分子機構解明を行った(研究分担: 東大金井)。

IV 研究結果、考察及び今後の研究方針

IV-1. 100mGy 以下の低線量・低線量率被ばくによる発がんリスク評価

放射線被ばくに高発がん性を示すモデルマウスを準備し、生後2週齢で様々な線量(0、10、20、50、100、500、1000、2,000 mGy)を照射した。約30週齢で屠殺し、小腸、大腸における腫瘍数、腫瘍サイズの計測を継続している。腫瘍サイズが1.5mm以上の場合には、組織標本を作成し病理学的解析による悪性度の診断を開始した。得られた腫瘍組織からDNA抽出を行い、ゲノムの爪あと解析を開始した。また分担研究として、放射線による発がんプロモーションに関与する遺伝子の探索を行うための放射線発がん実験を開始した。遺伝子探索を行うための次世代シーケンサーの機器選定を行い、ショートリードシーケンサーにより、塩基置換、欠失、染色体組み換えが検出できることを明らかにした(研究分担: 東大金井)。がんの微小環境の解析では、粘膜下組織の肥厚や、 α -SMA染色、Collagen-I染色等を用いた、がん関連繊維芽細胞を検出するための実験系を確立した。

IV-2. 低線量率放射線発がんリスク評価研究と、子どもから大人における放射線発がんの線量率効果とそのメカニズム解明

子ども期から大人期における放射線発がんの線量率効果を解析するために、上記と同様のマウスを準備した。子ども期は生後2週齢で総線量2 Gy、大人期は生後10週齢で総線量5 Gyの線量率の異なる放射線発がん実験(子ども期: 706 Gy/day、1 Gy/day、0.1 Gy/day、0.01 Gy/day、大人期: 706 Gy/day、1 Gy/day、0.1 Gy/day、0.025 Gy/day)を開始した。現在通常飼育を行っており、30週齢に達した時点でマウスを屠殺し、小腸、大腸を採取し、腫瘍数、腫瘍サイズの計測を行っている。低線量率被ばくにおいて発がん率が増加しない場合においても、得られた腫瘍組織を用いた病理診断、ゲノム変異解析を行う予定である。次に、放射線誘発染色体組み換えを誘発したサンプルを用いて、全ゲノムシーケンスを行った。全ゲノムシーケンス解析においても染色体組み換えを検出することに成功し、現在染色体組み換え箇所のゲノム配列を解析しているところである(研究分担: 東大金井)。

今後、得られた科学的知見は、所属機関や所属学会を通して、イラストやスライドを用いて分かりやすく発信し、福島原発事故による放射線の健康影響に対する不安軽減にむけた活動を行う。

また本研究は、「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」等に従い、広島大学に実験計画を申請し、承認を得て一部研究を実施した。また、本申請研究には放射性同位元素を使用する実験が含まれているため「放射性同位元素等による放射線障害の防止に関する法律」に基づき広島

大学原爆放射線医科学研究所放射線障害予防規程にしたがって承認を得て行った。

V 結論

当初の予定通り、低線量・低線量率放射線発がん実験を開始した。現在、腫瘍数の計測、ゲノムの爪あと解析を行っている。来年度以降、本発がん実験で得られる組織サンプルを用いて、発がんプロモーションに関与する遺伝子の探索や放射線発がんにおけるがん関連繊維芽細胞の役割を解明していく予定である。また今年度は、本研究の一部と、前回の本委託事業で行った研究成果をまとめて、国際雑誌に投稿し、採択された⁶⁾。

引用文献

1. Preston D L, Ron E, Tokuoka S et al. Solid cancer incidence in atomic bomb survivors: 1958-1998, *Radiat Res*, 2007; 168(1): 1-64.
2. Brenner A V, Preston D L, Sakata R et al. Comparison of All Solid Cancer Mortality and Incidence Dose-Response in the Life Span Study of Atomic Bomb Survivors, 1958-2009, *Radiat Res*, 2022;197(5):491-508
3. Pearce MS, Salotti JA, Little MP et al. Radiation exposure from CT scans in childhood and subsequent risk of leukaemia and brain tumours: a retrospective cohort study, *Lancet*, 2012; 380(9840):499-505.
4. Journy N, Rehel J-L, Pointe HDL et al. Are the studies on cancer risk from CT scans biased by indication? Elements of answer from a large-scale cohort study in France, *Br J Cancer*, 2015;112(1):185-93.
5. Nair RRR, Rajan B, Akiba S et al. Background radiation and cancer incidence in Kerala, India-Karanagappally cohort study, *Health Phys*, 2009;96(1):55-66.
6. Sasatani M, Shimura T, Doi K et al. Morphology dynamics in intestinal crypt during postnatal development affect age-dependent susceptibility to radiation-induced intestinal tumorigenesis in *Apc^{Min/+}* mice: possible mechanisms of radiation tumorigenesis, *Carcinogenesis*, *in press*

放射線の健康影響に係る研究調査事業 令和4年度研究報告書

研究課題名	福島県内における東日本大震災前後の停留精巣患者数の実態調査
令和4年度研究期間	令和4年4月1日～令和5年2月28日
研究期間	令和4年度 ～ 令和6年度（1年目）

	氏名	所属機関・職名
主任研究者	小島 祥敬	福島県立医科大学医学部泌尿器科学講座・教授
分担研究者		
若手研究者		

キーワード	停留精巣、福島第一原発事故、手術件数、東日本大震災、福島県
-------	-------------------------------

本年度研究成果
<p>I 研究背景</p> <p>東京都民の約40%が、「福島第一原発事故（以下原発事故）に伴う放射線被ばくで、次世代以降の人への健康影響が福島県民に起こる可能性が高い」と考えている。また、2018年には、「原発事故以降、日本全国で幼児の停留精巣の手術（Orchiopexy）件数が増加したことから停留精巣（Cryptorchidism）患者の出生数が増加しており、その原因として原発事故による拡散された放射性物質が考えられる」という報告がなされた¹⁾。この論文を含め、原発事故による健康影響に関する論文は決して少なくなく、これらの論文が、福島県に対する風評を助長していると言っても過言ではない。</p> <p>原発事故と健康影響との因果関係を示すには、県内における疾患の発症数に関する実態調査が必要になる。2018年に報告された上記先行論文では、研究デザインや結果、結論に様々な問題点がある。さらに、福島県民の放射線被ばく量が、停留精巣を引き起こす原因となるということは、理論的には考えられない。しかし、実際の停留精巣の手術件数データを取りまとめた研究が過去に実施されていないことから、東日本大震災前後の福島県内全病院における停留精巣の手術件数の推移を実測値として明らかにする必要があると考えた。</p> <p>II 目的</p> <p>本研究の目的は、東日本大震災に伴う原発事故前後の福島県内の停留精巣の手術件数の実態調査を行うことにより、より正確な停留精巣の手術の年次推移を明らかにし、停留精巣患者数の年次推移を予測することである。本研究によって、原発事故に伴う健康影響（遺伝性影響）がないことを明らかにしたうえで、その正しい情報を国民や福島県民に発信することができる。また、得られた成果によっては、福島県の風評被害への対策の一助となり、本事業の目的である環境保健行政への貢献が期待できる。そして、福島県で働く一人の医療従事者として、福島県民が安心して、かつ安全に故郷に暮らすことができることを実現したい。</p>

III 研究方法

本研究は本学倫理委員会において承認済みである。

対象：2008年度～2020年度に行われた、病名が停留精巣で、停留精巣固定術（K836）、腹腔鏡下腹腔内停留精巣陰嚢内固定術（K836-2）の手術件数

【調査項目】

1. 概況調査

<方法>

福島県内の入院施設を有する93病院（医事課等病院事務）へのアンケート調査による概況調査
また、対照群として、県外（山梨県内）における43病院の実態調査を同様にを行う。

<調査内容>

- 1) 2008年度～2020年度における各年度の停留精巣の患者数
- 2) 1)のうち、停留精巣固定術（K836）、腹腔鏡下腹腔内停留精巣陰嚢内固定術（K836-2）を実施した対象患者数
- 3) 2)における手術実施診療科（泌尿器科、小児外科、外科、その他）
- 4) 2011年度以降、対象患者数の増加・減少の傾向および考えられるその理由

IV 研究結果、考察及び今後の研究方針

3月30日に全病院にアンケートを郵送し50施設の解答を得た。その後、アンケート郵送および電話連絡により回収を呼びかけ、最終的に現在病院を閉鎖した1病院を除いた87病院から返答を得た。そのうち、調査期間内に実際に停留精巣固定術、腹腔鏡下腹腔内停留精巣陰嚢内固定術を実施した病院は17施設であった。概況調査の結果、2011年から2012年にかけて、停留精巣の手術件数は実数値では増えていなかった。手術件数のみでは出生数の増減は明らかでなく、また遊走精巣を精巣固定術の手術適応とするなど、手術適応の方針の違いによる増減の影響が推察され、来年度以降の詳細調査が望まれた。また、対照群として、県外（山梨県内）における43病院の概況調査を同様にっており、アンケート調査が進行中である。

V 結論

原発事故後2011年から2012年にかけて、停留精巣の手術件数は実数値では増えていなかった。

引用文献

1. Murase K, Murase J, Machidori K, et al. Nationwide Increase in Cryptorchidism After the Fukushima Nuclear Accident. *Urology*. 2018 Aug;118:65-70.