

## 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><b>I 研究背景</b></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<sup>1,2)</sup>。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><b>II 目的</b></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<sup>3,4)</sup>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<sup>5,6)</sup>、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><b>III 研究方法</b></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  $\mu$ 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<sup>4,7)</sup>。

#### IV 研究結果、考察及び今後の研究方針

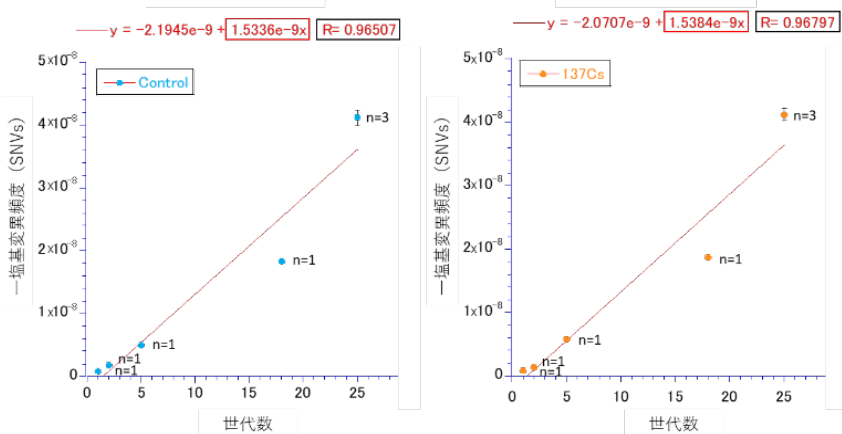
表 1 25 世代目における全ゲノム解析による一塩基変異頻度

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)	( $\pm 1.1$ )	( $\pm 1.23 \times 10^{-8}$ )	( $\pm 1.3$ )	( $\pm 0.13 \times 10^{-8}$ )	( $\pm 2.4$ )	( $\pm 0.17 \times 10^{-8}$ )	( $\pm 2.85$ )	( $\pm 0.11 \times 10^{-8}$ )
		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)	(-)	(-)	( $\pm 1.7$ )	( $\pm 0.15 \times 10^{-8}$ )	( $\pm 1.1$ )	( $\pm 0.08 \times 10^{-8}$ )	( $\pm 2.36$ )	( $\pm 0.09 \times 10^{-8}$ )
		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)	( $\pm 16.1$ )	( $\pm 0.19 \times 10^{-6}$ )	( $\pm 139.8$ )	( $\pm 0.01 \times 10^{-5}$ )	( $\pm 238.5$ )	( $\pm 0.17 \times 10^{-6}$ )	( $\pm 376.8$ )	( $\pm 0.15 \times 10^{-6}$ )
		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)	( $\pm 15.2$ )	( $\pm 0.18 \times 10^{-6}$ )	( $\pm 124.1$ )	( $\pm 0.01 \times 10^{-5}$ )	( $\pm 56.0$ )	( $\pm 0.04 \times 10^{-6}$ )	( $\pm 148.3$ )	( $\pm 0.06 \times 10^{-6}$ )
		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<sup>137</sup>Cs 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<sup>8)</sup>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>