

# 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><b>I 研究背景</b></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<sup>1-5)</sup>。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><b>II 目的</b></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><b>III 研究方法</b></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、 $\alpha$ -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<sup>6)</sup>。

## 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<sup>Min/+</sup>* mice: possible mechanisms of radiation tumorigenesis, *Carcinogenesis*, *in press*