

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.