

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関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).