放射線の健康影響に係る研究調査事業
令和５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５年度研究期間	令和５年４月３日～令和６年２月 29 日
研究期間	令和４年度　～　令和６年度（２年目）

	氏名	所属機関・職名
主任研究者	中島　裕夫	国立大学法人大阪大学放射線科学基盤機構・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

I　研究背景

東日本大震災に伴って発生した福島第一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と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）、チョルノービリ原発事故除染作業者の子供への影響は、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。

II　目的

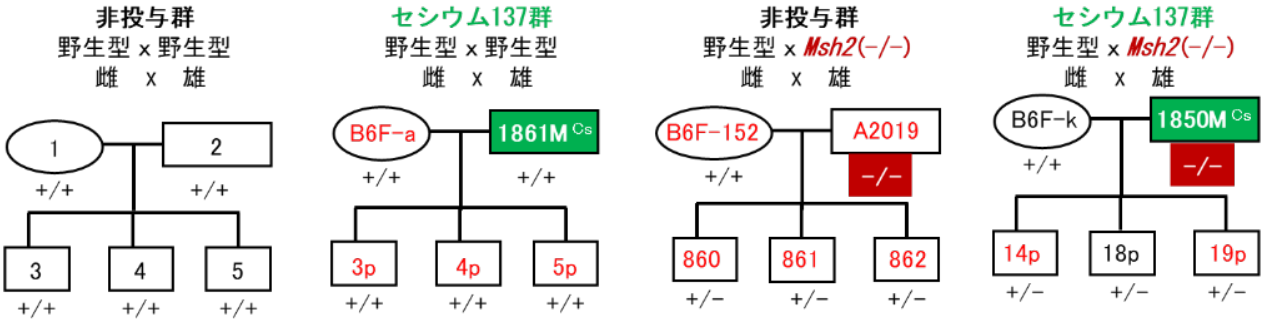
セシウム 137 水（100,000 Bq / ℓ）を飲料水として飲ませ続け、慢性的に低線量・低線量率内部被ばく（１世代平均 37mGy）させ続けた DNA 修復系が正常である A/J 系統マウスの解析では、最低限の統計学的解析を行える各群３匹（n＝3）の全ゲノム解析の結果、38 世代目の子孫でも DNA レベルの遺伝性影響は認められていない [3, 4]。そこで、本年度は DNA 修復系を欠損した放射線高感受性の *Msh2* 遺伝子改変マウス系統を用いて同様の実験を行い、子孫の全 DNA 塩基配列への影響の検出を試みた。

III　研究方法

酸化ストレス誘発による消化管がんを高感度に発症し、放射線や発がん物質にも高感受性で野生型より 20 倍高い突然変異率を示すミスマッチ修復欠損マウス *Msh2*（-/-）と野生型マウス *Msh2*（+/+）のそれぞれに、セシウム 137 水（2500Bq/ml）を４週間飲料水として自由摂取させた（総被ばく線量は、体細胞突然変異が対照群に対して有意に増加する 76.7mGy[5]である）。その後、セシウム 137 水を

飲ませていない雌マウスと交配させて得られた仔マウスを凍結保存した（図１）。この仔マウスのそれぞれの群で３匹ずつと両親マウスの DNA を肝臓より抽出して全ゲノム解析を行い、１世代あたりの DNA 塩基の変異した数を一塩基変異（SNV）と欠失挿入変異（InDel）を指標にして調べた。また、

図１　全DNA塩基配列解析を行った各群の家系図



同時に塩基配列の変異スペクトルを調べ、被ばく群特有のパターンが認められるかについても調べた。なお、本研究は、大阪大学に設置されている倫理審査委員会の承認を得て行った（承認番号：第動医 02-005-000 号、有効期限：2025/03/31）。

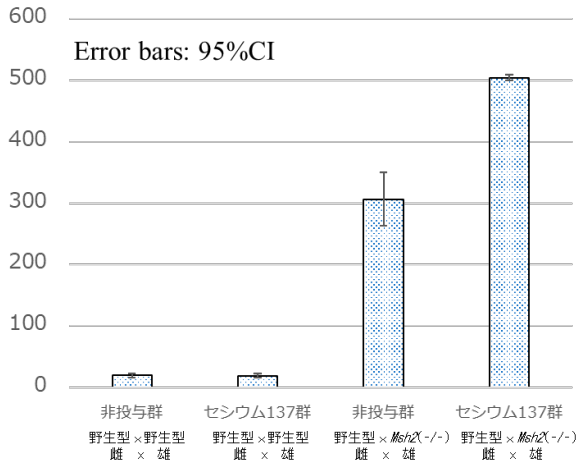


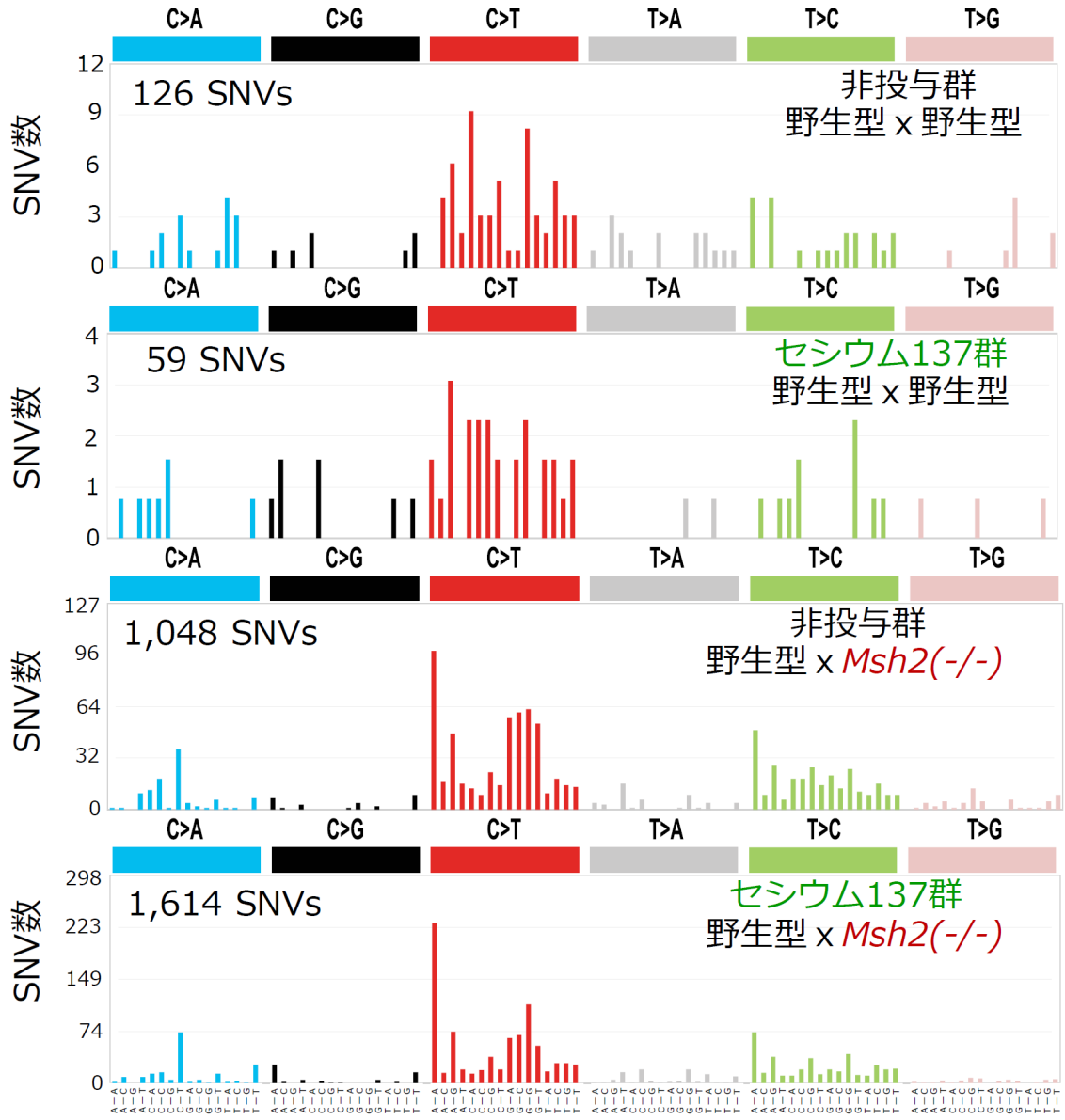
図２　一塩基変異数(SNV) / 世代

図３　塩基挿入欠失数(InDel) / 世代

IV　研究結果、考察及び今後の研究方針

図１に示す家系図の親子組み合わせのそれぞれの全ゲノム解析をした結果、*Msh2(-/-)* 群の仔マウスにおいて、野生型同士の交配群に比べて親に無い SNV 数（図２右２つのカラム）と InDel 数（図３右２つのカラム）が有意に増加していた。そして、セシウム 137 群と非投与群との比較では、セシウム 137 群の SNV と InDel の数が有意に増加していた。

このことから、DNA 修復欠損による特別な遺伝子改変マウス系統 Msh2(-/-) では、野生型では検出できなかったセシウム 137 の低線量内部被ばくによる DNA 塩基配列への影響を高感度に検出できることがわかった。また、図４の SNV のスペクトル、図５の InDel のスペクトルを野性型群と Msh2(-/-) 群、さらにセシウム 137 群と非投与群で比較したが、それぞれの群におけるスペクトルは、ほぼ同じパターンを示しており、系統差やセシウム 137 の低線量内部被ばくによる DNA 塩基配列変異の特異的なパターンは認められなかった。



（例C＞A：CからAへ変異、GからTも含む）

図４　一塩基変異（SNV）のスペクトル

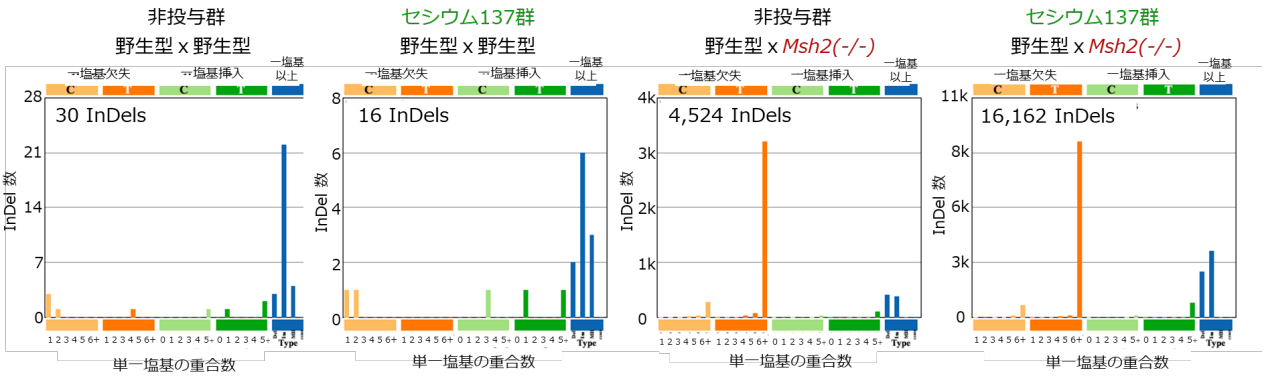


図５　各塩基の挿入欠失（InDel）スペクトル

V　結論

本実験において、DNA 修復欠損のある特殊なマウス系統（*Msh2 -/-*）を使った検出系では、親のセシウム 137 の低線量内部被ばくによる次世代影響として DNA 塩基配列変異を有意に検出することができた。このことから、本実験系は、低線量内部被ばくによる次世代影響の良い検出系であることが示された。しかし、DNA 修復系が正常である野生型マウスのセシウム 137 群の次世代では、対照群と比較して DNA 塩基配列変異の有意な差は認められなかった。従って、通常のマウスでは、DNA 塩基配列への影響を検出できない線量レベルが有ることを本実験で示せたことになる。

次世代自然突然変異率がヒトとほぼ同じマウス[6)]でも仔への影響を統計学的に検出できない線量があることから、それ以下の線量においては DNA 修復系が健常であるヒトでは憂慮に値しない線量範囲であると言える可能性が高い。現在、さらに変異率等の詳細な解析を進めている。

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、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－、環境省　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、2023
4. Nakajima H, Ohno M, Uno K, *et al*. Effects in descendant mice after generational low dose-rate ^{137}Cs internal exposure. In progress, 2024. Preprint: https://www.researchsquare.com/article/rs-3692094/v1, https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3692094/v1
5. 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
6. 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