

放射線の健康影響に係る研究調査事業 令和3年度～令和5年度実施総括報告書

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 若手研究項目名：被ばくの分子指標としての有用性の評価
研究期間	令和3年度 ～ 令和5年度（3年間）

	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放射線医学研究所・ 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放射線医学研究所・ 研究員

1. 研究の概要

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、がんの発生であるが、低線量や低線量率の被ばくにおいては、がんの発生率が低いため正確な発がんのリスクは解明されていない。そこで本研究は、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¹⁾のうち、放射線発がん感受性の高い臓器のがんの一つである肺がんについて、病理診断によるがん発生率の解析及び、次世代シーケンシングによる全ゲノムの解析を行い、被ばくによる発がんリスク及び、発がんリスク評価に有用な被ばくの分子指標を明らかにすることを目的とした。 肺病変の病理解析の結果、放射線被ばくによる肺がん発生に線量率効果が見られることが分かった。さらに、全ゲノム解析の結果、被ばくに起因する肺がんの特徴的なゲノム異常に関する知見を得た。このうち、染色体構造異常の解析から、照射群の肺がんにおいて、逆位の線量依存的な増加傾向が認められた。肺がんの原因となる遺伝子変異の検出からは、ヒト肺がんと共通する遺伝子変異を同定することにより発がんメカニズムの類似性を示すことができた。本事業によって得られたこれらのデータは、今後、低線量・低線量率の被ばくによるがんリスクの直接的評価や、動物実験データのヒトリスク評価への外挿における信頼性の向上に繋がると考えられる。

2. 研究期間内に実施した内容

年目／実施年度	実施した内容
1年目	主任研究者の所属研究部において放射線誘発がんのアーカイブとして整理、保存してきた動物腫瘍のうち肺病変の病理解析を行い、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（30 Gy/時）放射線照射群（総線量 200 mGy から 4 Gy のガンマ線照射群）に発生した悪性腫瘍の病理診断を行った。その後、肺がんの発生率を算出するとともに、生存解析及び、ハザード解析によりリスク
令和3年度	

	解析を開始した。 また、肺病変の病理組織像などの情報をもとに、次世代シーケンシングによる全ゲノム解析に使用する肺がん検体の選出を行った。
2 年目	前年度に引き続き、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）由来肺病変について、病理学専門家の協力を得ながら病理診断を継続し、肺がんの発生率を算出するとともに、生存解析及び、ハザード解析によりリスク解析を行った。 また、分子指標としての有用性の評価に用いる病変を選出するため、異型成や腺腫といった前がん段階にある病変の抽出を行った。さらに、肺病変の周辺部における老化細胞の存在や炎症状態を確認するため、免疫組織化学染色法に用いる各種抗体（抗 p16 タンパク質抗体、抗 F4/80 タンパク質抗体等）の染色条件の確立を行った。 肺がん検体からゲノム 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。本体研究で実施する放射線発がん実験アーカイブ腫瘍（肺がん、乳がん、消化管がん）の次世代シーケンシングによる全ゲノム解析に参画し、主に、肺がんのデータ解析を行った。非照射群に発生した自然発症腫瘍のデータと比較し、被ばくに起因する腫瘍に特徴的なゲノム異常（染色体欠失等のゲノム構造異常、原因遺伝子変異、突然変異パターンなど）の検出を開始した。また、ヒトがんのゲノムアトラス等の公共データベースに登録されたゲノム異常の情報をもとに、マウス肺がんに見られる変異遺伝子等との類似性の評価を行った。
3 年目	前年度に引き続き、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）由来肺病変について、病理学専門家の協力を得ながら確定診断を行った。その後、肺がんの発生率を算出すると共に、生存解析及び、ハザード解析によりリスク解析を行った。また、抗 p16 タンパク質抗体、抗 F4/80 タンパク質抗体に加え、新たに染色条件を確立した抗 p21 タンパク質抗体、抗 Iba1 タンパク質抗体、抗 IL-6 タンパク質抗体を用いて、免疫組織化学染色により、肺病変の周辺組織における老化細胞や炎症状態の検出を行った。 肺がんからゲノム 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。本体研究で実施する放射線発がん実験アーカイブ腫瘍（肺がん、乳がん、消化管がん）の全ゲノム解析に参画し、肺がんを中心にデータの解析を行った。体細胞変異のパターンを非照射群に発生した自然発症腫瘍のデータと比較し、被ばくに起因する腫瘍に特徴的なゲノム異常（染色体欠失等のゲノム構造異常、原因遺伝子変異、突然変異パターンなど）の検出を行った。また、ヒトがんのゲノムアトラス等の公共データベースに登録されたゲノム異常の情報をもとに、マウス肺がんに見られる変異遺伝子等との類似性を評価した。
令和 4 年度	
令和 5 年度	

3. 研究終了時に得られた結果・結論

① 研究結果・結論（総括）・成果など

病理診断の結果をもとに、肺がんの発生率の算出、リスク解析を行った結果、低線量率の放射線被ばくでは、高線量率の被ばくに比べ、がんリスクが小さくなる線量率効果が見られることが分かった。また、免疫組織化学染色法を用いて、肺病変の周辺組織における老化細胞や炎症状態を検出することができた。

ゲノム解析により被ばく群に由来する腫瘍に特徴的なゲノム異常の探索を行った結果、非照射群と照射群のがんにおいて、塩基置換や挿入、欠失といった変異の数に違いは観察されなかった一方で、変異パターンの解析から、照射群の肺がんでは、非相同末端結合（Non-homologous end joining、NHEJ）による DNA 二重鎖切断修復の痕跡を示す変異パターン（ID8）が認められることが分かった。また、逆位と呼ばれる染色体構造異常の線量依存的な増加傾向が観察された。さらに、体細胞変異が検出された遺伝子には、ヒト肺がんの原因遺伝子が含まれていることが分かった。

② 計画・目標通り実施できなかった事項とその理由

令和5年度の夏頃から断続的に腫瘍の病理画像をアーカイブしているシステムに不具合が生じたため、肺病変の病理診断の一部が課題として残された。なお、病理診断は全 666 検体中 605 検体（約 91%）の確定診断を終えているため、予備診断の情報を合わせて線量率効果の推定は可能である。現在、病理標本の直接の診断に切り替えて確定診断を進めており、今後達成が可能である。

③ 当初の計画で予定した成果以外（以上）に得られた事項

本研究を進める過程で、委員から放射線被ばくによって生じた肺病変の周辺部における老化細胞の存在や炎症状態とがんの発生との関係について確認することが重要とのコメントがあり、免疫組織化学染色法を用いた老化細胞と炎症の検出条件を確立した。放射線被ばくにより老化細胞や炎症が誘導されることが明らかにされつつあり、今後、被ばくによる肺がん発生との関係の有無が明らかに出来ると考えられる。

4. 研究成果の活用方策の提案

本研究をさらに発展させる新たな研究や事業化の提案

今後、本研究で観察されたゲノム異常を被ばくの分子指標として利用し、放射線被ばく後、いつ、どの細胞において、遺伝子変異を持った変異細胞が生じるのかを明らかにすることで、発がんの数理モデル構築に有用なパラメーターの抽出が可能になるとともに、ヒトの細胞や検体の解析を行うことで、ヒトとマウスの双方に共通する発がんメカニズムが明らかになり、動物実験により得られたデータのヒトへの外挿が可能になると考えられる。また、肺病変の周辺組織における老化細胞や炎症状態の定量的なデータを収集することで、これまで不明であった放射線被ばくによって誘導される細胞老化や炎症といった現象とゲノム異常を持った細胞の動態との関係性を明らかにすることができると考えられる。

引用文献

1. 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).