

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  
身体面・心理面の健康に関する研究

- 2-1 福島県内外での疾病動向の把握に関する調査研究  
主任研究者：祖父江 友孝（大阪大学） ..... 1  
分担研究者：今野 弘規（近畿大学）  
分担研究者：松田 智大（国立がん研究センター）  
分担研究者：大野 ゆう子（大阪大学）  
  
若手研究項目「福島県内外での疾病動向の把握に関する調査研究の総括」  
若手研究者：査 凌（大阪大学） ..... 9
- 2-2 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  
主任研究者：権藤 洋一（東海大学） ..... 16  
分担研究者：松本 義久（東京工業大学）  
分担研究者：角山 雄一（京都大学）
- 2-3 ゲノム変異シグネチャー解析で紐解く低線量放射線の発がん寄与割合とメカニズム  
主任研究者：鈴木 啓司（長崎大学） ..... 23  
  
若手研究項目「メチル化シグネチャー解析による放射線の発がん寄与割合評価」  
若手研究者：河村 香寿美（長崎大学） ..... 29
- 2-4 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  
主任研究者：臺野 和広（量子科学技術研究開発機構） ..... 35  
  
若手研究項目「被ばくの分子指標としての有用性の評価」  
若手研究者：鈴木 健之（量子科学技術研究開発機構） ..... 40

2-5 放射線による“ゲノム不安定性・がん”のリスク上昇メカニズムと、リスク診断法・制御法の研究

主任研究者：吉岡 研一（国立がん研究センター） ..... 44

分担研究者：益谷 美都子（長崎大学）

# 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	福島県内外での疾病動向の把握に関する調査研究
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	祖父江 友孝	大阪大学大学院医学系研究科・教授
分担研究者	今野 弘規	近畿大学医学部・主任教授
分担研究者	松田 智大	国立がん研究センターがん対策研究所国際政策研究部・部長
分担研究者	大野 ゆう子	大阪大学大学院基礎工学研究科・特任教授
若手研究者	査 凌	大阪大学大学院医学系研究科・特任助教

## 1. 研究の概要

本研究班では、東日本大震災による東京電力福島第一原子力発電所事故が疾病動向に与える影響を検討するため既存の統計情報（人口動態統計、レセプト情報、地域／全国がん登録、福島県民健康調査など）を用いて、主要死因別死亡率、がん罹患率などの動向を福島県内外で比較した。さらに、NDBデータ等を用いて循環器疾患のリスク要因の動向分析を行った。

### 1. 循環器について

福島県及び近隣9県、全国、福島県内4地域のいずれも全期間を通じて有意に減少し、震災後の循環器疾患死亡率の変化は認められなかった。循環器疾患のリスク要因（BMI・腹囲・HbA1c等）や生活習慣（喫煙・運動）については、避難地域において震災後に悪化する傾向を示した。

### 2. がんについて

2008～2019年のがん罹患率について、福島県では、男性は全部位、大腸、前立腺、女性は全部位、大腸、肺、乳房、甲状腺、白血病で罹患率の増加が見られたが、震災前からの傾向であり、他都道府県でも同様に増加していた。近隣7県とその他37県では、2010～2011年頃に多くの部位で変曲点が観測され、増加傾向が穏やかになるか減少に転じた。これは登録精度の向上傾向が落ち着いたことによると考えられた。

### 3. 周産期・高齢者について

被災3県における低体重児の出生傾向は全国的な推移と同等であった。福島県内の流産・死産は、震災後一時的に増加したが、周期性の増加のためと考えられた。高齢者の死亡動向では、2011年の福島県で、心疾患、脳卒中、肺炎について短期的増加が示唆されたが、有意ではなく、長期的影響はなかった。

これらの結果から、震災が福島県及び周辺地域の住民の健康に与えた影響は、循環器疾患、がん、周産期・高齢者のいずれにおいても限定的であったと考えられる。ただし、循環器のリスク要因については、避難地域において悪化傾向があり、継続的なモニタリングと対策の実施が求められる。

## 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	1. 循環器について
令和3年度	<p>人口動態統計死亡票データ（1995～2018年）を用いた40歳以上男女別の病型別循環器疾患の年齢調整死亡率ならびにNDBの特定健診特別抽出データ（2008～2018年度）を用いた循環器疾患発症に関連する生活習慣（喫煙、飲酒、多量飲酒、運動習慣なし、睡眠不足）の男女別年齢調整保有割合を算出し、Joinpoint回帰分析を用いた動向分析を行った。死亡動向では、福島県と近隣9県、全国（福島県と近隣9県を除く37都道府県）の間の県間比較と、福島県内4地域（避難地域、浜通り、中通り、会津）間の県内比較を行った。リスク要因の動向では県間比較を実施するとともに、年齢層別（40～59歳、60～74歳）の分析も行った。</p> <p>2. がんについて</p> <p>原発事故発生時の2011年の前3年後7年間分（2008～2018年）の地域がん登録・全国がん登録及び人口動態統計を用いて県単位でのがんの部位別、性別、年齢階級別罹患・死亡率を算出し、罹患・死亡の動向を検討した。統計モデルを用いて甲状腺スクリーニングによる過剰診断に相当する罹患部分を切り離した分析を実施し、諸外国での定義に基づいた「過剰診断」の日本全体での影響を推計した。国内外における学会発表や公開セミナーを行った。</p> <p>3. 周産期・高齢者について</p> <p>周産期分野では、死産票を利用し自然死産、人工死産の動向を検討したが、妊娠12週未満の流産数は把握できず、全体像の把握には至らなかった。胎児成長については、出生票を利用し在胎不当過少児を評価指標とし、震災前出生を基準に、母親年齢、出産歴、単多胎、児性別を共変量とした統計解析を行った。妊婦移動については、居住地住所と届出地住所から妊婦移動率を算出し、震災前3年間を基準に、母親年齢、出産歴を共変量とした解析を行った。各研究結果は日本疫学会、日本公衆衛生学会にて発表した。高齢者分野では、1995～2018年の後期高齢者における肺炎、誤嚥性肺炎、老衰の年齢調整死亡率についてJoinpoint回帰分析にて解析を行い、長期的影響を検討した。</p> <p>また、研究成果の社会への還元と情報発信の一環として、2022年3月10日に福島県立医科大学とオンラインのハイブリッド形式でシンポジウム「福島県内外のがん・循環器疾患等の疾病動向について — 研究班からの報告 —」を開催した。本シンポジウムでは、これまでの研究で得られた知見を報告し、福島県医療従事者への情報提供を図った。</p>
2年目	1. 循環器について
令和4年度	<p>人口動態統計死亡票データ（1995～2019年）を用いた病型別循環器疾患の年齢調整死亡率の県間比較を行う際、基準人口に従来の昭和60年モデル人口と平成27年モデル人口を使用した場合の結果の違いを確認した。循環器疾患リスク要因の動向分析として、NDBの特定健診特別抽出データ（2008～2018年度）を用いてBMI（Body mass index）、腹囲、収縮期血圧値、拡張期血圧値、中性脂肪、HDLコレステロール値、LDLコレステロール値、空腹時血糖値、HbA1cの年齢調整平均</p>

	<p>値の県間比較を行った。また、循環器疾患発症に関連する生活習慣の動向分析として県内比較を行った。</p> <p>2. がんについて</p> <p>2008～2019年における福島県及び近隣県のがん罹患・死亡率を地域がん登録・全国がん登録データを用いて分析し、地域差と年次推移を検討した。福島県内を避難地域、浜通り、中通り、会津の4地域に分割し、周辺地域についても市町村単位で死亡率を分析するとともに、地図上にマッピングした。全国がん登録情報に付与された受療動向や、協会けんぽの健診データなどを参照し、患者動態について考察した。原発事故当時の福島県在住者ががん診断をされた際に、避難先の住所に基づいて集計される場合の福島県のがん罹患の過小評価の可能性に注目し、補正方法を提案した。</p> <p>3. 周産期・高齢者について</p> <p>周産期分野では、妊娠12週未満の流産数の把握方法について、福島県立医科大学の調査データを利用し、流産・死産数を可能な限り把握した。さらに、我が国における妊娠出産イベントは季節性変動を有することが報告されていることから<sup>2)</sup>、周期性を加味した震災の影響を検討した。自然・人工流産結果、妊婦移動結果については論文化を進め、それぞれ JOGR, PLoS ONE に掲載された。高齢者分野では、高齢者の主要5死因（心疾患、脳卒中、肺炎、老衰、悪性新生物）について、2010～2013年の各年の死亡リスクを被災3県とその他44県とで比較した。論文は、IJERPH に掲載された。また、前年に引き続き Joinpoint 回帰分析による解析を1995～2019年に対象期間を延長して検討を行った。さらに、介護データベースの利用申請を開始した。</p>
3年目	<p>1. 循環器について</p>
令和5年度	<p>循環器疾患死亡については、これまで1995年以降の約25年間の人口動態統計死亡票データを用いていたが、令和5年度では2006～2020年までの約15年間のデータを用いた動向分析を行った。また、当該分析には基準人口として平成27年モデル人口を用いるとともに、住民基本台帳を基に按分法により95歳以上一括とした5歳階級別人口データを用いて年齢調整死亡率を算出した。分析手法は、これまでと同様に Joinpoint 回帰分析を用いた。循環器疾患発症に関連する生活習慣の動向分析として、NDBの特定健診特別抽出データ(2008～2018年度)を用いて、線形混合効果モデルにより福島県内の非避難地域を基準とした避難地域の原発事故後の推移の差分の算出を行った。</p> <p>2. がんについて</p> <p>2008～2019年における福島県及び近隣県のがん罹患率については、地域がん登録・全国がん登録データを用いて分析した。また、2008～2020年における同地域のがん死亡率については、人口動態統計を用い、地域差と年次推移を分析した。がん登録精度の影響を受けやすい罹患率の推移に関して、がん登録推進法施行以前の、届出数増加に基づく精度向上、法施行時の過剰計上などを考慮した考察を行った。近隣7県やその他37都道府県では2010年（男性それぞれ5部位及び17部位、女性それぞれ8部位及び18部位）に変曲点が確認でき、また、2011年、</p>

	<p>2016 年にも多くの変曲点が観察された。2010～11 年は国のがん登録標準化及び精度向上事業の完成期、2016 年はがん登録推進法施行にそれぞれ該当した。</p> <p>3. 高齢者について</p> <p>高齢者分野では、1 年目より継続している Joinpoint 回帰分析による解析を 2006～2020 年まで期間を延長し、後期高齢者の肺炎、誤嚥性肺炎、老衰による死亡への長期的な影響の検討を継続した。令和 4 年度から進めてきた介護 DB の利用申請について、12 月にデータを受領した。データ受領後は、データの精緻化、俯瞰を行い、福島県内に限定した記述的報告を行った。今後は福島県以外の都道府県のがん登録状況の事態を明らかにし、震災の影響を検討する予定である。</p> <p>また、環境省令和 5 年度「がん不安対策・サポート広報事業」の一環として、全循環器疾患死亡及び全がん罹患・死亡動向に関する成果をショート動画の形式での広報コンテンツ制作及び監修に協力した。</p>
--	--

### 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

	<p>1. 循環器について</p> <p>福島県及び近隣 9 県、全国、福島県内 4 地域のいずれも全期間を通じて有意に減少し、震災後の循環器疾患死亡率の変化は認められなかった。循環器疾患のリスク要因については、福島県の BMI や腹囲の平均値は震災前後ともに他の地域よりも高い値で推移し、HbA1c 等の血糖値震災以降に上昇を示した。生活習慣については、睡眠不足ならびに 60 歳未満男女における喫煙、60 歳未満男性の運動習慣なしは、避難地域は非避難地域よりも震災後に有意な上昇を示した。これらの結果から、放射線による直接影響ではなくても、避難による影響が見られることから、避難地域におけるメタボリックシンドローム対策やメンタルヘルスケアの必要性が示唆された。</p> <p>2. がんについて</p> <p>2008～2019 年の福島県及び隣接県のがん罹患率と死亡率を、地域がん登録と全国がん登録データを利用して分析した。福島県では、男性は全部位、大腸、前立腺、女性は全部位、大腸、肺、乳房、甲状腺、白血病で罹患率の増加が見られたが、震災前からの傾向であり、他都道府県でも同様の増加が確認された。近隣 7 件とその他 37 県では、2010～2011 年頃に多くの部位で変曲点が観測され、増加傾向が穏やかになるか減少に転じた。これは地域がん登録の精度向上が落ち着いたことによると考えられる。このように、網羅的な住民ベースがん統計を利用し、甲状腺スクリーニングによる過剰診断の影響を考慮し、がん登録の精度向上と避難による罹患率の過小評価の調整を目指した。研究結果公表のために学術発表や公開セミナーを行った。</p> <p>3. 周産期・高齢者について</p> <p>震災が妊婦や胎児に与える影響については、被災 3 県における低体重児の出生傾向は全国的な推移と同等であり、明らかな影響は認められなかった。妊婦移動への影響については、福島県に居住していた妊婦は震災年に有意な流出を認め、震災 3 年後まで増加傾向が続いた。一方、被災県以外からの流入は震災 2 年後まで有意に減少した。福島県内の自然・人工流産死産については、震災後一時的に流産・死産の増加が認められたが、周期性の時期と一致しており、震災の影響とは言い難いと判断された。高齢者の死亡動向では、2011 年の福島県で、心疾患、脳卒中、肺炎の死亡リスクについて短期的増加が示唆されたが、有意ではなく、明らかな長期的影響は認められなかった。</p>
--	---

本研究では、既存の統計データを活用し、震災後の健康影響を多面的に評価した。これまでの結果から、震災が福島県及び周辺地域の住民の健康に与えた影響は、循環器疾患、がん、周産期・高齢者のいずれにおいても限定的であったと考えられる。ただし、福島県内地域別に検討した場合、循環器のリスク要因である喫煙や睡眠不足の割合は、避難地域において増加傾向が観察されており、今後継続的なモニタリングと対策の実施が求められる。

学術論文：

- ① Inoue, Y., Ohashi, K., Ohno, Y., Fujimaki, T., Tsutsui, A., Zha, L., Sobue, T. (2022). Pregnant women's migration patterns before childbirth after large-scale earthquakes and the added impact of concerns regarding radiation exposure in Fukushima and five prefectures. *PloS One*, 17(8), e0272285.
- ② Inoue, Y., Ohno, Y., Sobue, T., Fujimaki, T., Zha, L., Nomura, Y., Kyojuka, H., Yasuda, S., Yamaguchi, A., Kurasawa, K., Fujimori, K. (2023). Impact of the Great East Japan Earthquake on spontaneous abortion and induced abortion: A population-based cross-sectional and longitudinal study in the Fukushima Prefecture based on the census survey of the Fukushima maternity care facility and vital statistics. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 49(3), 812-827.
- ③ Fujimaki T., Ohno Y., Tsutsui A., Inoue Y., Zha L., Fujii M., Tajima T., Hattori S., Sobue T. (2023). Major causes of death among older adults after the Great East Japan Earthquake: a retrospective study. *International journal of environmental research and public health*, 20(6), 5058.
- ④ 絹田皆子、今野弘規、董加毅、田中麻理、坂庭嶺人、岸田里恵、磯博康、祖父江友孝。「人口動態調査の二次利用提供データを用いた ICD-10 小分類相当別の心疾患死亡率 に関する長期的動向の県間比較における課題点について」厚生指針= *Journal of health and welfare statistics/厚生労働統計協会 編*, 70(7), 31-37.

学会発表：

- ① 査凌、雑賀公美子、松田智大、佐々木栄作、祖父江友孝。「協会けんぽ加入者における甲状腺超音波検査の実施と甲状腺がん罹患の推移 (2009~2016 年)」(第 30 回日本がん登録協議会学術集会、2021 年 6 月、オンライン、口演)
- ② 井上勇太、大橋一友、大野ゆう子、藤牧貴子、査凌、祖父江友孝。「大規模地震時の出産前後の妊婦居住地の変化」(第 80 回日本公衆衛生学会総会、2021 年 12 月、東京・オンライン、口演)
- ③ 井上勇太、大橋一友、大野ゆう子、藤牧貴子、筒井杏奈、査凌、祖父江友孝。「東日本大震災前後の福島県とその周辺県における在胎不当過小児の動向」(第 32 回日本疫学会学会総会、2022 年 1 月、オンライン、口演)
- ④ 藤牧貴子、大野ゆう子、筒井杏奈、井上勇太、査凌、藤井誠、田嶋哲也、祖父江友孝。「高齢者の五大死因における死亡動向からみた東日本大震災の影響」(第 81 回公衆衛生学学術集会、2022 年 10 月、甲府、ポスター)
- ⑤ 査凌、松田智大、雑賀公美子、シャルヴァ アドリアン、長尾匡則、祖父江友孝。「福島原子力発電所事故前後における県内地域別のがん罹患及び死亡のモニタリング」(がん予防学術大会 2023 金沢、2023 年 9 月、金沢、口演)
- ⑥ Zha L., Matsuda T., Saika K., Charvat H., Nagao M., Sobue T. "Monitoring regional cancer incidence and mortality preceding and following Fukushima Daiichi Nuclear Plant Accident". (ENCR 2023 IACR Scientific Conference. November 2023. Granada, Spain)

⑦ Matsuda T., Saika K., Nagao M., Zha L., Sobue T. “Summary 10 years after the nuclear power plant accident: Long-term trends in cancer in Fukushima”. (ENCR 2023 IACR Scientific Conference. November 2023. Granada, Spain)

⑧ 田中麻理、今野弘規、査凌、服部聡、大野ゆう子、祖父江友孝。「福島第一原子力発電所事故後の避難生活における生活習慣の変化」(第34回日本疫学会学術総会、2024年2月、大津、口演)

#### 【謝辞】

この報告書の作成にあたり、以下の研究参加者の先生方に多大なるご協力とご支援をいただいた。謹んで謝意を表す。

田中 麻理 (近畿大学医学部・助教)

雑賀 公美子 (佐久医療センター総合医療情報センター医療情報分析室・室長)

シャルヴァ アドリアン (順天堂大学国際教養学部・講師)

井上 勇太 (徳島大学大学院医歯薬学研究部・助教)

藤牧 貴子 (奈良先端科学技術大学院大学・研究員)

筒井 杏奈 (東邦大学医学部・助教)

#### ② 計画・目標通り実施できなかった事項とその理由

##### 1. 循環器について

研究班で新たに厚生労働省に申請した NDB のレセプト情報特別抽出データ (2009~2020 年度) 及び特定健診特別抽出データ (2008~2019 年度) が本研究期間内に届かなかったため、これらの最新データを用いた動向分析は実施できなかった。また、循環器疾患の動向分析を担う分担研究者が令和 4 年度に移動 (所属機関の変更) したことに伴い、研究の移管に関する事務手続きが発生し、研究費支出の執行手続きに時間を要したことから、データ量が多いレセプトデータの加工処理に必要なソフトウェアの計画的な購入ができず、循環器疾患の医療機関への受療状況の動向分析は実施できなかった。

##### 2. がんについて

全国がん登録システムの不備で、がん 2020 年診断症例のデータの入手はできなかったため 1 年分短い観察期間となった。また、県内や近隣県での市区町村単位での分析に着手したものの、研究協力者の交代もあり、完了することができなかった。

##### 3. 周産期・高齢者について

周産期分野については、概ね計画通りに実施することができた。高齢者分野については、虚弱に着目した研究をする上で、介護 DB 利用申請を令和 4 年度から実施していたが、データの受領が令和 5 年 12 月であったため、福島県内の記述報告はできたが、福島県以外の都道府県に関する十分な報告や、統計学的検討ができなかった。今後は、福島県だけではなく周辺県や全国値との要介護認定者率の横断的比較、要介護者個人に焦点を当てた縦断的な検討を進めていく予定である。

#### ③ 当初の計画で予定した成果以外 (以上) に得られた事項

##### 1. 循環器について

研究計画の当初は Joinpoint 回帰分析を用いた動向分析を進める予定であったが、線形混合効果モデ

ルを用いて循環器疾患発症に関連する生活習慣の動向の県内比較を行ったところ、Joinpoint 回帰分析では評価が難しかった震災後の避難地域と非避難地域の推移の差が明らかとなり、睡眠不足ならびに 60 歳未満男女における喫煙、60 歳未満男性の運動習慣なしは、事故後の避難生活に関連して上昇した可能性が示された。

## 2. がんについて

特になし。

## 3. 周産期・高齢者について

周産期分野について、人口動態統計死産票だけでは把握できなかった妊娠 12 週未満の流産数に関して、福島県立医科大学の調査データを利用することで、可能な限り流産・死産数を把握することができた。その結果、福島県内における震災後の流産・死産の実態を明らかにすることができ、震災の影響について検討することができた。

## 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

### 1. 循環器について

本研究の研究結果から福島県の原因事故による循環器疾患死亡への明らかな影響は認められなかったが、循環器疾患の危険因子については、福島県の HbA1c 等の血糖値の平均値が他県よりも原因事故後に上昇したことや、原因事故後の避難生活に関連して睡眠不足や喫煙、運動習慣なしの割合が非避難地域よりも上昇した可能性が示されたことから、今後、これらのリスク要因の地域差が循環器疾患の発症や死亡にも影響を与え、同様の地域差が認められる可能性が考えられる。従って、今後も継続的に長期にわたって循環器疾患の発症（受療）ならびに死亡、生活習慣関連因子を含むリスク要因の観察を継続する必要があると考えられる。また、一つの統計手法のみならず、複数の統計手法を用いて多角的に評価することにより潜在的な原因事故の健康影響をより網羅的に評価することが可能となり、今後、福島県に必要な保健事業計画の立案に寄与することが期待される。

### 2. がんについて

罹患・死亡率は今後も新規データを追加し、震災後の増減を長期的に確認することで、原因事故とがん罹患、死亡との関連をより明確に評価することができる。また、がん登録データの精度向上がもたらす見かけ上の罹患率増加の影響や、原因事故後の福島県在住者の住所異動の影響を適切に扱うことによって、観察されている変化を科学的に解釈することができる。観察期間の終了を特に設定していないが、長期間のモニタリングデータの公開が、国民の不安解消に役立つと考える。

### 3. 周産期・高齢者について

介護 DB を利用して要介護認定者率や要介護者の追跡による介護度変化をアウトカム指標とし、被災県と非被災県との比較から震災の影響について検討を行う。また、保険者変更がもたらす高齢者への影響について検討を進める。さらに、科学的情報システム (LIFE) から得られる情報を用いて、介護 DB の情報では十分に収集できなかった医療的背景を把握することができると考えられる。これらの情報を活用することができれば、震災後の虚弱に至るリスクが高い高齢者を同定しやすくなり、効果的な介入に対する基礎的資料となることが考えられる。加えて、介護データベースを利用した検討だけでなく、高齢者の死亡動向についても福島県内の地域間比較から、震災の影響について詳細な検討を行うことを予定する。

## 引用文献

1. 内閣府, 防災情報のページ, <https://www.bousai.go.jp/taisaku/hisaisyagyousei/youengosya/> (access: 2024,3)
2. Matsuda S, Kahyo H. Geographical differences and time trends in the seasonality of birth in Japan. *Int J Epidemiol.* 1994;23:107–18.

# 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	福島県内外での疾病動向の把握に関する調査研究 若手研究項目名：福島県内外での疾病動向の把握に関する調査研究の総括
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	祖父江 友孝	大阪大学大学院医学系研究科・教授
分担研究者		
若手研究者	査 凌	大阪大学大学院医学系研究科・特任助教

## 1. 研究の概要

本研究は、東日本大震災後の福島県及び周辺地域における疾病動向を経時的に分析し、福島第一原子力発電所事故の影響を検討することを目的としている。研究班本体では、人口動態統計、レセプト情報（NDB、介護DB）、地域／全国がん登録、全国健康保険協会、福島県民健康調査、患者調査などのデータを用いて、福島県内外の主要死因別死亡率、がん罹患率、疾患別受療率などの推移を比較分析した。

令和3～5年度において、研究班本体は若手研究者を活用することにより、既存統計データの利用申請をはじめ、研究全体の進捗管理、班会議の運営、班員間の連絡調整や情報共有に関する事務作業を効率的かつ円滑に進めていった。また、若手研究者が独自の研究課題を計画し、主体的に三つの研究を実施した。

- ① 住所問題：福島県の避難地域では、震災後の避難により実際の居住地（避難先住所）と住民票住所が異なるケースがあり、この住所問題ががん罹患率の過小評価につながっていることが明らかになった。
- ② がんの受療率：患者調査データを用いて、震災前後の地域住民のがん受療動向を検討した。
- ③ 福島県内外における震災前後の主要死因の動向：線形混合モデルを用いて、震災が死亡動向への短期的な影響を評価した。震災発生直後の死亡リスクの一時的な増加が観察された。

本研究の成果は、福島県民の健康状況の把握と不安軽減に寄与するとともに、国内外の災害対応や健康管理施策に活用されることが期待される。

## 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	独自の研究テーマの実施に加え、コーディネーターとしての役割も担い、両方の活動を行って研究を展開していた。
令和3年度	独自の研究テーマとして、県内地域別罹患率に対する県外登録例の影響について、2008～2015年の福島県地域がん登録と2016～2017年の全国がん登録データを用いて検討した。2016年にがん登録制度の変更に伴い、県外診断例の届出が系

	<p>統的に行われるようになったことで、罹患率の見かけ上の一時増加が観察された。特に、避難地域や浜通りのように従来から県外診断例が多かった地域では、その傾向が顕著であった。一方で、避難地域においては罹患率が2012年以降に減少しているが、他の3地域（浜通り、中通り、会津）においては増加していることが確認された。避難地域における罹患率の減少原因の解明には、さらなる詳細な研究が必要である。この課題に対処するため、次年度の研究計画を策定した。</p> <p>コーディネーターとして、主任研究者を補佐し、研究班全体の進捗管理を行った。具体的には、統計資料を迅速かつ適切に入手するため、人口動態統計、全国がん登録データ、NDB、介護DBの利用申請を一括して担当し、分担研究者の統計解析を支援した。研究内容や体制の変更に応じて、倫理審査の変更手続きも適時行った。また、各分担研究チームとは1～2ヶ月ごとに定例会議を実施し、進捗管理を行うとともに、助言や情報提供を行った。研究班内での作業分担と統括を通じて、班会議や定例会議以外でも班員間の議論と情報共有を促進し、研究目的を達成するための体制を整えた。さらに、研究成果を社会に広く理解してもらうため、研究班ホームページを運営し、情報発信に努めた。2022年3月10日に福島県立医科大学とオンラインハイブリッド形式でシンポジウム「福島県内外でのがん・循環器疾患等の疾病動向について — 研究班からの報告 —」を開催した。</p>
2年目	<p>前年度と同様に、独自の研究テーマの実施に加え、コーディネーターとしての役割も担い、両方の活動を行って研究を展開していた。</p>
令和4年度	<p>独自の研究テーマの一つとして、前年度に観察された避難地域における2012年以降のがん罹患率の減少について、その原因を解明するため、福島県地域別罹患率動向を観察する際の複数患者住所の扱い方に関する研究（以下、住所問題）を計画した。福島県の避難地域住民が住民票住所と避難先住所と2つの住所を持つため、分母を住民票人口とした場合、分子として避難先で登録された人が計上されないために、過小評価されたことが原因の一つと考えられた。そこで、がん登録住所と住民票住所の両方が判明しているがん症例を確保した上で、避難地域のがん症例のどの程度が過小評価されているかを推定し、罹患率を補正するための係数を求めることが考えられた。福島県民健康調査の甲状腺検査データを用いて本研究テーマを進めるため、県民健康調査データ利用手続きを行い、2023年1月末に若手研究者のデータ利用が可能となった。</p> <p>もう一つの研究テーマとして、NDBを利用したがん受療率の検討を計画していたが、NDBが入手できなかったため、解析を次年度に延期した。NDB（全数調査）で受療率を算出する際、既存の保健衛生データである患者調査（サンプル）との比較が考察に必要であるため、代替案として患者調査を用いて原発事故前後の地域住民のがん受療動向を検討した。2008～2020年の福島県、近隣9県（岩手県、宮城県、山形県、茨城県、栃木県、群馬県、新潟県、埼玉県、千葉県）、その他37都道府県における主要部位別がん（全部位、胃、肺、大腸、乳房、前立腺）の推定患者数を基に、部位別のがんの年齢調整受療率を算出し、男女別に動向を検討した。</p> <p>コーディネーターとして、主任研究者を補佐し、研究班全体の進捗管理を行っ</p>

	<p>た。令和4年度は例年通り、データの利用申請と管理、倫理審査の更新、定例会議と班会議の運営、研究班ホームページを通じた情報発信を実施した。さらに、2022年3月に開催されたシンポジウムをYouTubeで限定公開し、福島県民がアクセスしやすいように福島県立医科大学公衆衛生教室のホームページに本研究班のリンクを掲載した。</p>
3年目	<p>前年度と同様に、独自の研究テーマの実施に加え、コーディネーターとしての役割も担い、両方の活動を行って研究を展開していた。</p>
令和5年度	<p>独自の研究テーマの一つとして、前年度の引き続き住所問題を解析に進めた。2011～2018年の福島県民健康調査甲状腺検査データとがん登録データを突合し、全部位がん患者を抽出した。抽出したがん患者を対象に、県民健康調査で把握されている震災時住民票住所に基づく区分（避難地域、浜通り、中通り、会津、及び福島県外）と、がん登録で把握されている診断時住所に基づく区分でのクロス集計を行った。このクロス集計を通じて、福島県内4地域におけるがん登録症例のうち、住民票住所で登録される割合を求め、これを基に補正係数を導出した。</p> <p>もう一つの研究テーマについて、NDBの提供遅延により、人口動態統計死亡票情報を利用して福島県内外における震災前後の主要死因の動向を代替案として検討した。全死因、全循環器疾患、心疾患、脳卒中、全がん、呼吸器疾患、消化器疾患、尿路性器系の疾患を対象とし、死亡年（2008～2019年）・性・5歳年齢階級・地域（福島県、岩手県、宮城県、近隣7県、その他37都道府県）別に死亡率を算出した。震災が死亡動向に与えた短期的な影響を明らかにするため、地域と特定の単一死亡年（2010年、2011年、2012年、2013年）との交互作用項を入れた線形混合モデルを適用し検討した。</p> <p>コーディネーターとして、主任研究者を補佐し、研究班全体の進捗管理を行った。令和5年度は例年通り、データの利用申請と管理、倫理審査の更新、定例会議と班会議の運営、研究班ホームページを通じた情報発信を実施した。さらに、環境省「がん不安対策・サポート広報事業」の一環として、全循環器疾患死亡及び全がん罹患・死亡動向に関する成果をショート動画の形式での広報コンテンツ制作に協力した。</p>

### 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

<p>本研究では、福島県内外におけるがんと循環器疾患等の疾病動向について、様々なデータソースを用いて多角的に分析を行った。</p> <p>福島県におけるがん罹患動向を県内地域別に検討した結果、避難地域では2012年以降に罹患率の減少が観察されたが、他の3地域では増加傾向にあった。この減少は、避難地域住民が住民票住所と避難先住所と2つの住所を持つため、分母を住民票人口とした場合、分子として避難先で登録された人が計上されないために、過小評価されたことが原因の一つと考えられた。震災後福島県内地域別の罹患動向をより正しく把握するため、罹患率を補正するための係数を求めることが考えられた。その結果、2011～2018年の避難地域における補正係数が全て100%を超えていることが確認された。これは現在観察された罹患率が過小評価されていることを示唆している。今後、地域別の罹患数に補正係</p>
---

数を乗じた補正後罹患率を用いて動向分析を行う予定である。本研究から、震災後避難による住民票住所と避難先住所の混在問題に対応し、より正確な罹患動向の把握のために補正係数の導入が必要であることが明らかになった。補正後の罹患率に基づく福島県内地域別がん罹患率の動向分析を行うことにより、原発事故のがん罹患率への影響評価に資する重要な基礎資料を提供できることが期待される。

がん受療動向について、患者調査データを用いて検討した結果、全国の全部位がん受療率は男性で減少し、女性でやや減少したが、県別には安定した傾向が観察できなかった。NDB データを用いた更なる検討が望まれる。

震災が死亡動向に与えた短期的な影響について、人口動態統計死亡票情報を用いて検討した結果、2011 年の東日本大震災発生時に、福島県、岩手県、宮城県において全死因による死亡リスクが増加したことが明らかになった。特に宮城県においては、全循環器疾患と脳卒中による死亡リスクの増加が観察されたことから、震災による急性ストレスがこれらの疾患による死亡率の増加に寄与した可能性が高いと考えられる。しかし、2012 年以降のデータからは震災 3 県における死亡リスクの増加は確認されておらず、震災による死亡率への影響は一時的なものであった可能性が示唆される。一方で、震災による避難生活など長期的または間接的な影響の解明に向けて、長期的な追跡が必要である。

コーディネーターとしての活動を通じて、研究班内の連携を強化し、効率的な研究の実施と成果の社会への発信に貢献できたと考える。

本研究では、複数のデータソースを用いて疾病動向を多角的に分析することで、震災による健康影響をより詳細に把握することができた。今後も継続的なモニタリングと更なる研究が必要である。また、研究成果を広く社会に発信し、福島県民の健康不安の軽減に寄与することが重要である。

#### 学術論文：

- ① Inoue, Y., Ohashi, K., Ohno, Y., Fujimaki, T., Tsutsui, A., Zha, L., Sobue, T. (2022). Pregnant women's migration patterns before childbirth after large-scale earthquakes and the added impact of concerns regarding radiation exposure in Fukushima and five prefectures. *PloS One*, 17(8), e0272285.
- ② Inoue, Y., Ohno, Y., Sobue, T., Fujimaki, T., Zha, L., Nomura, Y., Kyojuka, H., Yasuda, S., Yamaguchi, A., Kurasawa, K., Fujimori, K. (2023). Impact of the Great East Japan Earthquake on spontaneous abortion and induced abortion: A population-based cross-sectional and longitudinal study in the Fukushima Prefecture based on the census survey of the Fukushima maternity care facility and vital statistics. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 49(3), 812-827.
- ③ Fujimaki T., Ohno Y., Tsutsui A., Inoue Y., Zha L., Fujii M., Tajima T., Hattori S., Sobue T. (2023). Major causes of death among older adults after the Great East Japan Earthquake: a retrospective study. *International journal of environmental research and public health*, 20(6), 5058.

#### 学会発表：

- ① 査凌、雑賀公美子、松田智大、佐々木栄作、祖父江友孝。「協会けんぽ加入者における甲状腺超音波検査の実施と甲状腺がん罹患の推移（2009～2016 年）」（第 30 回日本がん登録協議会学術集会、2021 年 6 月、オンライン、口演）
- ② 井上勇太、大橋一友、大野ゆう子、藤牧貴子、査凌、祖父江友孝。「大規模地震時の出産前後の妊婦居住地の変化」（第 80 回日本公衆衛生学会総会、2021 年 12 月、東京・オンライン、口演）
- ③ 井上勇太、大橋一友、大野ゆう子、藤牧貴子、筒井杏奈、査凌、祖父江友孝。「東日本大震災前後

の福島県とその周辺県における在胎不当過小児の動向」(第 32 回日本疫学会学会総会、2022 年 1 月、オンライン、口演)

- ④ 藤牧貴子、大野ゆう子、筒井杏奈、井上勇太、査凌、藤井誠、田嶋哲也、祖父江友孝。「高齢者の五大死因における死亡動向からみた東日本大震災の影響」(第 81 回公衆衛生学学術集会、2022 年 10 月、甲府、ポスター)
- ⑤ 査凌、松田智大、雑賀公美子、シャルヴァ アドリアン、長尾匡則、祖父江友孝。「福島原子力発電所事故前後における県内地域別のがん罹患及び死亡のモニタリング」(がん予防学術大会 2023 金沢、2023 年 9 月、金沢、口演)
- ⑥ Zha L., Matsuda T., Saika K., Charvat H., Nagao M., Sobue T. “Monitoring regional cancer incidence and mortality preceding and following Fukushima Daiichi Nuclear Plant Accident”. (ENCR 2023 IACR Scientific Conference. November 2023. Granada, Spain)
- ⑦ Matsuda T., Saika K., Nagao M., Zha L., Sobue T. “Summary 10 years after the nuclear power plant accident: Long-term trends in cancer in Fukushima”. (ENCR 2023 IACR Scientific Conference. November 2023. Granada, Spain)
- ⑧ 田中麻理、今野弘規、査凌、服部聡、大野ゆう子、祖父江友孝。「福島第一原子力発電所事故後の避難生活における生活習慣の変化」(第 34 回日本疫学会学術総会、2024 年 2 月、大津、口演)

#### 【謝辞】

住所問題に関する研究の進捗にあたり、以下の研究協力者の先生方に多大なるご協力とご支援をいただいた。謹んで謝意を表す。

安村誠司 (福島県立医科大学・教授)

長尾匡則 (福島県立医科大学・助教)

#### ② 計画・目標通り実施できなかった事項とその理由

当初の研究計画では、NDB を利用してがん受療率の検討を行う予定であったが、NDB の提供が遅延したため、この解析を予定通りに実施することができなかった。NDB は全数調査であり、がん受療率を算出する上で重要なデータソースであるが、提供時期の目処が立たない状況が続いたため、やむを得ず代替案として患者調査データを用いた分析を行った。患者調査はサンプル調査であるため、県別の安定した傾向を観察することが難しく、NDB を用いた詳細な分析が必要である。今後、NDB の提供状況を注視しつつ、がん受療率の動向について更なる検討を行っていききたい。

#### ③ 当初の計画で予定した成果以外 (以上) に得られた事項

当初の計画で予定した成果以外に得られた事項として、以下の 2 点が挙げられる。

震災後避難による住民票住所と避難先住所の混在問題は、がん罹患率の算出だけでなく、NDB や介護 DB を用いる研究にも影響を与えている可能性がある。本研究では、福島県民健康調査データとがん登録データを突合し、避難地域におけるがん登録症例の補正係数を導出することで、住所問題によるがん罹患率の過小評価を明らかにした。この知見は、震災後の福島県民を対象とした他の疫学研究においても重要な示唆を与えるものである。NDB や介護 DB を用いる場合、医療機関や介護施設の所

在地に基づく住所が記録されるため、避難先での受療・介護利用が適切に反映されない可能性がある。今後、これらのデータベースを用いた研究を行う際は、住所問題の影響を考慮し、必要に応じて補正を行うことが求められる。

本研究では、線形混合モデルを用いて、震災が死亡動向に与えた短期的な影響を評価することができた。解析の結果、2011年の東日本大震災発生時に、福島県、岩手県、宮城県において全死因による死亡リスクの増加、特に宮城県において全循環器疾患と脳卒中による死亡リスクの増加が観察された。ただし、2012年以降は震災3県における死亡リスクの増加は確認されておらず、震災による死亡率への影響は一時的なものであった可能性が示唆された。これらの知見は、大規模災害が地域住民の健康に与える短期的な影響を理解する上で重要であり、今後の災害対策や健康管理施策の立案に活用できる。震災から10年以上が経過した現在、長期的な健康影響についても引き続き注視していく必要がある。

#### 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

##### ① 福島県における長期的な健康影響のモニタリング

本研究では、震災後の福島県民の健康状況について、がんと循環器疾患を中心に分析を行った。今後は、放射線被ばくによる発がんリスクの評価や、避難生活に伴う間接的な健康影響の解明を進めるため、長期間にわたって蓄積されたデータを用いたトレンド解析が必要である。また、本研究で明らかになった住所問題の影響を考慮しつつ、NDB や介護 DB などの大規模データベースを活用することで、がんや循環器疾患に加え、メンタルヘルスや他の生活習慣病など、幅広い健康影響について長期的な視点で解明を進めることが可能となる。これらの研究成果を基に、福島県民の健康管理体制の強化や、個人に寄り添った支援策の提供につなげていくことが重要である。

##### ② 災害医療・公衆衛生分野での人材育成と研究基盤の整備

本研究では、大規模災害が地域住民の健康に与える影響を評価する上で、疫学研究的の重要性が改めて示された。今後、国内外で発生が懸念される自然災害や感染症のパンデミックに備え、災害医療・公衆衛生分野の人材育成と研究基盤の整備を進める必要がある。大学や研究機関における関連分野の教育プログラムの拡充、災害時の健康データ収集・解析体制の強化、国内外の研究者ネットワークの構築などを通じて、エビデンスに基づく災害対応策の立案と実施につなげると考えられる。

## 引用文献

なし

# 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	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
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	権藤 洋一	東海大学医学部・客員教授
分担研究者	松本 義久	東京工業大学科学技術創成研究院・教授
分担研究者	角山 雄一	京都大学環境安全保健機構・准教授
若手研究者		

## 1. 研究の概要

低線量放射線リスクを科学的に検証できないことを踏まえ1950年提唱の「LNTモデルを採用しリスクが明らかになるまで可能な限り被ばくしない」という基本方針が、70年以上変わらず、最新のICRPの放射線防護主勧告<sup>1)</sup>でも明記されている。本研究では遺伝学、ゲノム学、情報学など分野融合研究班を組織し、低線量および低線量率放射線がもたらす超高速高精度リスク評価系を開発した。権藤班では明確な被ばく条件に基づくマウスモデル系を確立した。4000を超える一塩基置換(SNV)を検出し、20mGy/日ガンマ線×300日が次世代にSNV誘発することを世界で初めて実証した。松本班はヒトへの橋渡しのためヒト培養細胞系と二段階クローン集団作製法を用いるリスク評価基盤を独自に確立した。角山班では「生じた変異が減少する項」を含む独自のWAM数理モデル<sup>2)</sup>が、既報告の高線量被ばくデータから、権藤班が得た低線量/低線量率被ばくデータまで統一的に説明できることを初めて示した。すでにICRPはじめ国際会議の招待講演依頼を受け、国際放射線防護基準の次回再検討に向け、とくに低線量および低線量率放射線がもたらすリスク評価に、初めて科学的データとエビデンスを与える解析系として着目されている。本研究で得られた結果の再現性を必要に応じて検証できる様、データや試料も保存アーカイブ化し、科学的議論や信頼性を担保できる基盤も整備した。この革新的なリスク評価系確立は最先端「全ゲノム解読WGS」が鍵となった。ゲノム解析技術は1分子/1細胞解析など精度と費用対効果が急速に高まりつつあり、新技術が利用可能となり次第、保存アーカイブしたデータや試料を用いることで、数年の時間を要する交配や実験をすることなく新たなデータを得ることができる。そのため、本研究では結果だけでなく、生データから試料まですべてオープンに公開することを提案している。

## 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	<b>権藤班:</b> 環境科学技術研究所にて、非照射、0.05、1.0、20mGy/日低線量率の生涯長期被ばく4家系からG2世代マウス群が得られた（IES実験）。東海大学で先立
令和3年度	

	<p>って進めていた非照射と 0.15mGy/日被ばく群からは、延べ 400 日ほど生涯被ばくした家系から G4 世代マウス群が得られ、全ゲノム解読(WGS)を完了した (TOKAI 実験)。国内<sup>3)</sup> および国際会議<sup>4)</sup>にて、低線量率長期放射線被ばくリスク評価を可能にする「拡張トリオ法」を招待講演にて提唱した。<b>松本班:</b>培養細胞実験を通して、ヒトへの橋渡しを行うために、ヒト正常線維芽細胞株 NB1RGB の低線量放射線誘発変異解析を開始した。独自に着想した二段階クローン集団作製法を行い、第 1 段階クローン細胞群のゲノム DNA を抽出し WGS を完了した。<b>角山班:</b>長らく ICRP 防護基準の礎である「誘発変異は蓄積される一方とする閾値なし LNT/LQ モデル」に対し、「時間や世代とともに変異が減少する項を加えた WAM 数理モデル」を提唱し、放射線影響の包括的理解を進めてきた。新たにかんの放射線治療データに WAM モデルがよくあてはまることを示し<sup>5)</sup>、宇宙飛行士における染色体異常の実データにも応用を試み<sup>6)</sup>、ICRP 国際会議で招待講演した<sup>7)</sup>。LNT モデルと ALARA 原則に基づいて科学的エビデンスが欠落したまま 70 年以上提唱されている ICRP による国際放射線防護基準勧告の見直しに向け、新しいモデルとして期待が寄せられた。以上より、WAM 理論を、次年度以降に得られる権藤班、松本班の実験データに応用することで、これまでリスク検証方法や実データがなく、理論モデルの検証さえも不可能だった低線量率長期放射線被ばくによるリスク評価について、権藤班/松本班/角山班、異分野連携による 3 班共同で実データと科学的エビデンスを提供できる目処が立った。</p>
2 年目	<p><b>権藤班:</b>低線量率放射線リスク評価を可能とする拡張トリオ法を論文発表した<sup>8)</sup>。</p>
令和 4 年度	<p>TOKAI 実験では、0.15mGy/日で生涯被ばくと非被ばくの G4 マウスからそれぞれ平均 95.2(±6.2SE)個と 100.4(±14.8SE)個の一塩基置換変異(SNV)を検出し提唱法の有効性を実証した。その結果、この低線量率長期被ばくでは有意な影響は検出されなかった。IES 実験では、非照射、0.05mGy/日、1mGy/日から G4 世代マウス(IES1)を、また、非照射、20mGy/日からは G3 世代マウス(IES2)の WGS を完了した。<b>松本班:</b>個体 vs 細胞、マウス vs ヒトの橋渡しのため、ヒトとマウスの細胞を用いて、WGS による変異解析を行った。まず、前年度非照射、1mGy/日、20mGy/日で 3 週間培養したヒト線維芽細胞の 1 細胞由来クローンのデータの変異抽出解析を行った。その結果、1 クローンあたり 750-1200 個の SNV、約 2500 個の小さな欠失挿入変異(small INDEL)を検出した。照射と非照射間での有意差は検出されなかった。また、権藤班の WGS 完了マウスから胎仔線維芽細胞を樹立し、非照射、1mGy/日、20mGy/日で 2 週間培養後、WGS を実施した。<b>角山班:</b>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」を基盤とし、種の違いや生殖細胞と体細胞の別をも説明し得る包括的モデルの構築を検討した。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着目し、WAM モデルの拡張を試みた。結果、このデータ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。</p>

3年目	<b>権藤班:</b> WGS 解読した個体の性差の影響がなく直接比較可能な常染色体 SNV に
令和5年度	<p>焦点をあて、初代 G0 ペアと末代 42 マウスから検出した総数 3,927 個の SNV の詳細な解析結果を国際会議にて招待講演として発表した<sup>9,10</sup>。1mGy/日の線量率までは全く統計的有意差は検出されなかった。一方、20mGy/日被ばくではコントロールと比較して顕著な有意差(<math>p&lt;0.005</math>)が検出され、世界で初めて低線量率長期被ばくによる誘発 SNV の発見となった。WGS 解析を行ったゲノム DNA サンプルとともに生涯長期交配被ばくによって得られたマウスもバイオリソースとして凍結保存アーカイブ化した。<b>松本班:</b>ヒト線維芽細胞株とヒトリンパ球細胞株を用いて二段階クローン集団作製法による放射線誘発変異検出系を確立し国際会議にて発表した<sup>11-14</sup>。マウス個体では有意差が得られた 20mGy/日でも培養細胞系では有意な放射線影響は検出されず、被ばく期間が短いことがその理由として示唆された。また、精子や卵形成時の変異率/細胞分裂に比べ、両細胞株では変異率が 10 倍ほど高く、生殖細胞と体細胞では大きく異なることが示唆された。<b>角山班:</b>様々な生物種、放射線がん治療、宇宙飛行士における被ばく影響を WAM モデルを用いて解析を進めるとともに、権藤班が WGS で検出した変異データを数理モデル化することに成功し国際誌<sup>15,16</sup>および国際会議<sup>17-21</sup>で発表した。1980 年までに得られていたメガマウスプロジェクトのデータと権藤班 WGS データを統一的にモデル化できた上、WAM 数理モデルから、1mGy/日以下に閾値があることを示唆するデータが得られ、LNT モデルが 1mGy/日以下の低線量率では当てはまらないことを示唆した。また、国際会議を開催し、3年間で得られた結果を広く公開するとともに海外からの参加者も含め実データに基づく科学的議論を深めた。</p> <p>なお、全研究機関を通して、動物実験を実施した東海大学および環境科学技術研究所では、それぞれ、実施にあたってそれぞれの研究機関において、動物実験従事者登録及び動物実験課題承認を得て行なった。</p>

### 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

独自に提唱した拡張トリオ法を用いることで、これまで全く解析法もデータもなかった低線量率放射線長期被ばく影響を実験実証できる超高速高精度な放射線リスク評価法を確立した。Russell らの SLT 法では 30 年で 531,500 匹のマウスの観察から 28 個のコントロール変異検出をバックグランド値として初めて大規模に次世代へのリスク評価を示した<sup>22</sup>)のに対し、権藤班の拡張トリオ解析では 3 年と 19 匹のマウスから 1,781 個のバックグランド変異をリスク評価の基準として検出した。単純計算で、SLT 法と比較して、WGS 法では 1780 万倍(= 30 年/3 年×531,500 匹/19 匹×1781 変異/28 変異)の高効率を達成した。この計算には、要した人手、解析費用、解析施設設備などは加味されていないので費用対効果を含めると少なくともさらに 100 倍は効率が高まる。また、計画段階で、バックグランド変異検出数はそれまでの実績から個体当たり世代あたり 14.2 個と想定し、その実験誤差(SE)を最小限にすることがわずかな誘発変異を検出する鍵となることを明記していた。本研究では非照射 19 匹の WGS データから世代あたり個体あたり平均 25.43(±0.65SE)の SNV 変異を検出し、当初計画の 1.79 倍の SNV 変異を検出した上に、異なる研究機関で独立に実施しても極めて再現性の高い超高精度なリスク評価系であることを明らかにした。この結果、1mGy/日×400 日の被ばくでは全く有意な誘発

変異が検出されない一方で、20mGy/日×300日において世界で初めて低線量率長期被ばくによる有意な SNV 検出につながった。ヒトへの橋渡しとなるヒト培養細胞系においても松本班が独自の二段階クローン集団作製法を確立し、既報のヒトやマウスのバックグランド体細胞変異と同等の結果を得るとともに有意な放射線影響は検出されなかった。角山班では、生じた変異が減少する項を含む独自に開発した数理 WAM モデルを用いると、権藤班によって低線量/低線量率変異実測データと、高線量域における Russell らの SLT 実測データを統一的に説明できることを示し、LNT モデルの棄却と閾値の存在を示唆した。生データや試料までアーカイブ化公開し、実験結果の再検証はもとより、新解析技術が利用可能となり次第、即座に実験データを得ることができるゲノム解析基盤も整備した。総合的に、今回の研究から一塩基置換を指標とした研究がリスク評価に有用であることが明らかとなった。

## ② 計画・目標通り実施できなかった事項とその理由

マウスや培養細胞を用いた実験研究のため、マウスが生まれず、また、細胞が予定通りに分裂しないなどのトラブルに初年度から対応を迫られた。予め、必要な予備実験やバックアップを用意し計画立案したものの、人手、スペース、予算の制限を超えた準備は難しかった。また、マウスを必要以上に増やすことは、動物実験の「使用数の削減 reduction」の原則にも相反する。幸い、申請以前に、低線量放射線被ばくでは、高線量急照射被ばくでみられる「一時的不妊」現象がなく、生涯被ばくさせても交配出産できることを示し、計画の根幹をなす多世代に渡って長期常時被ばくさせ得る証明するための予備実験を別途事前に進めていたため、その予備実験マウスから得られたマウス群を用いて初年度の WGS が可能となり、問題を回避できた。また、2年目に入り、20mGy/日被ばくで生まれた G2 メスが全て不妊となり G3 マウスが得られないことが判明した。幸い G2 オスには問題なく、非照射家系の G2 メスと変則的に交配することでこの問題を回避し、IES2 マウスが得られた。さらには、サンプルの取り違えといった単純なトラブルから、松本班でもマウス初代培養細胞株が予定通りに分裂しない問題や、角山班でも他のデータセットでは WAM モデルの調整が必要なデータがあるなど、当初計画のタイムテーブルの変更を度々迫られた。また、産出した全てのマウスを凍結保存アーカイブする予定であったが、超低温フリーザーのスペースが不足し処分せざるを得ないマウスが生じた点も計画通りに進まなかった。こういった問題も、これから低線量率長期放射線被ばく影響を多くの研究機関や研究室で広く大規模に進めていくうえでは貴重かつ有用なトラブルシューティングとなる。データや試料の公開に加え、3班が3年間の研究期間に遭遇したトラブルとその解決過程も広く公開する。

## ③ 当初の計画で予定した成果以外（以上）に得られた事項

バックグランド変異を極めて再現性よく検出したため、顕著な統計的有意差まで得た。要因は、1) ゲノムの 40%強から SNV 検出する情報解析法を当初計画していたが、内村研究協力員独自のインフォーマティクスパイプライン<sup>23)</sup>導入により、同じ WGS データから平均 80%の SNV 検出が可能となり検出 SNV 数がほぼ倍増した。2) 従来の変異解析ではサンプルごとの実験誤差が大きいためなかなか統計的有意差が検出されなかったが、本研究では TOKAI と IES の全く異なる実験施設で独立に実施した解析にも関わらず、各施設内でも両施設間でも非照射群の実験誤差が極めて小さいことがわかり、統計的に超高感度な放射線リスク検出系を確立できた。この2点が当初計画を大きく上回る成果につながった。また、TOKAI および IES のバックグランド変異率は、内村が 2015 年に発表した自然

変異率<sup>23)</sup>とも合致し、統計解析の精度の高さに加え、確立した方法の再現性の高さも実証した。この大規模高精度な実験データを角山班の WAM 数理モデルに応用したところ、Russell らの高線量データから、従来の LNT モデルでは説明不可能だった低線量/低線量率データまで広く統一的に説明できることも当初計画を越えて示した。マウス実験データセットから 1mGy/日×400 日長期生涯被ばく交配を続けても顕著な誘発変異は検出されず、20mG/日×300 日長期生涯被ばく交配において顕著な有意差( $p<0.005$ )が得られた結果に、WAM 数理モデルを応用したことで、LNT モデルは低線量/低線量率域では当てはまらず、閾値が存在する可能性まで当初計画を越えて示唆することができた。さらに、本研究成果を基盤として、若手である角山分担班代表を主任研究者として 2024 年度から本研究を発展させる新規課題が採択され今後継続的に進めていく体制と研究資金も当初計画を越えて得られた。

#### 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

確立した超高速高感度な放射線リスク評価法を用いて、閾値が存在するか、データポイントと精度を上げて精査し、科学的裏付けなしに長く放射線防護の基盤とされてきた「LNT モデルと ALARA の原則」の実験検証を提案する。とくに、低線量/低線量率域で実測データがなく LNT モデルを外挿して推定されてきた線量・線量率効果係数(DDREF)や生物学的効果比(RBE)も、LNT モデルを用いることなく実測可能となった。WGS 法では、バックグラウンド変異率が高い再現性で得られたことから、その値を倍増させる倍加線量率 doubling dose (DD)の高精度な推定も可能となり、異なる放射線被ばく条件の比較に留まらず、様々な化学変異原についても、LNT モデルを仮定することなく直接 DD 値を実測して比較することが可能となった。放射線を含め様々な環境変異原について「正しく恐れる」ための実測データに基づく科学的議論が可能となる。また、本研究では、SNV を指標として放射線影響を検証したが、データや試料は保存アーカイブ化しており、高線量放射線で誘発されるとされる欠失、転座、逆位などの大きな構造変異を含め、最先端ゲノム解析系で検出可能となり次第、すぐに着手できる基盤が整えており、公的資金に基づく生データから研究資料までバイオバンク化と公開を提案する。本邦において得られた成果を基盤として放射線被ばくリスク評価の国際標準プロトコルを確立し、UNSCEAR の科学的検証や ICRP 次回勧告における放射線防護基準の見直しに向け国際貢献できる。それぞれの解析機関や研究室において、国際標準プロトコルが着実に実現されているか評価するための標準サンプル試料も、再現性と信頼性の高いデータ取得には必須であり、アーカイブ化したサンプルの保存と公開はこの点でも国際的に大きく貢献する。ヒトを含む種間比較や野生生物への影響解明も提案したい。

## 引用文献

1. ICRP. The 2007 recommendation of the International Commission on Radiation Protection. *Annals of the ICRP*, ICRP Publication 103, 2007; Vol. 37
2. Tsunoyama Y, Suzuki K, Masugi-Tokita M, et al. Verification of a dose rate-response dynamic equilibrium model on radiation-induced mutation frequencies in mice, *Int. J. Radiat. Biol.*, 2019; 95, 1414-1420
3. 権藤洋一. 特定座位テストから見える変異、WGS から見える変異、未だ見えない変異. 日本遺伝学会第 93 回大会ワークショップ WS5, 9 Sept 2021; Online invited presentation.
4. Gondo Y. Detection of transgenerational genetic effects based on whole genome sequencing in the mouse model. *International Symposium on Environmental Dynamics of Radionuclides and Biological Effects of Low Dose-Rate Radiation*, 28 Sept. 2021; Aomori, Japan
5. Bando M, Tsunoyama Y, Suzuki K, et al. WAM to SeeSaw model for cancer therapy – overcoming LQM difficulties, *Int. J. Radiat. Biol.*, 2021; 97, 228-239
6. 角山雄一, 土岐博, 坂東昌子. 宇宙飛行士の染色体異常と WAM モデル, 第 3 回日本放射線安全管理学会・日本保健物理学会合同大会, 2 Dec. 2021; オンライン口頭発表
7. Tsunoyama Y, Toki H, Bando M. A proposal for the application of mathematical models that accurately approximate measured data to radiation protection, *ICRP Digital Workshop: the Future of Radiological Protection*, 9 Dec. 2021; online invited oral presentation
8. Gondo Y. Detection of transgenerational genetic effects based on whole genome sequencing in the mouse model, *Radiat. Protec. Dos.*, 2022; 198, 1137-1142
9. Gondo Y, Arikuni U, Yoneya M, et al. A multidisciplinary challenge to assess the next-generation risks of low-dose-rate long-term gamma-ray exposure by whole-genome sequencing in the mouse model, *ICRP2023*, 8 Nov. 2023; Tokyo, Japan
10. Gondo Y, Uchimura A, Yoneya M, et al. Toward a new risk assessment system for low-dose/low-dose-rate long exposure to radiation, *BEAR2024: Biological Effects & Application of Radiation*, 15 March 2024; Tokyo, Japan
11. Milai E, Tsumbuukhuu D, Sugihara T, et al. Whole genome sequencing-based analysis of low dose rate radiation-induced mutations in normal human fibroblast NB1RGB in culture, *ICRP2023: 7<sup>th</sup> International Symposium on the System of Radiological Protection*, 6 – 9 Nov 2023; Tokyo, Japan
12. Matsumoto Y, Enkhbaatar M, Tsumbuukhuu D, et al. Mutation analysis of human cells in culture through whole genome sequencing, *BEAR2024: Biological Effects & Application of Radiation*, 15 March 2024; Tokyo, Japan.
13. Milai E, Tsumbuukhuu D, Matsuda T, et al. Whole genome sequencing analysis of X-ray and nuclear reactor irradiation-induced mutations in human lymphocyte TK6 in culture, *BEAR2024: Biological Effects & Application of Radiation*, 15 - 17 March 2024; Tokyo, Japan.
14. Milai E, Tsumbuukhuu D, Sugihara T, et al. Whole genome sequencing analysis of spontaneous and low dose rate radiation-induced mutations in human fibroblast NB1RGB in culture, *BEAR2024: Biological Effects & Application of Radiation*, 15 - 17 March 2024; Tokyo, Japan
15. Bando M, Onoue Y, Tsunoyama Y, et al. Example of the misleading results caused by LQ model in calculating the fractionation effect in radiation therapy, *Ann. ICRP*, 2023; 52(1-2), Annex, 17-21.

16. Bando M, Tsunoyama Y, Suzuki K, et al. Proposal of See-Saw model - overcoming LQM difficulty, *Ann. ICRP*, 2023; 52(1-2) Annex, 276-282.
17. Bando M, Tsunoyama Y, Yonekura Y, et al. MRG data that revolutionizes the fundamentals of radiation protection over 100 years and the theoretical reproduction and interpretation by the WAM model, *ICRP2023: 7<sup>th</sup> International Symposium on the System of Radiological Protection*, 6 – 9 Nov 2023; Tokyo, Japan
18. Toki H, Gondo Y, Uchimura A, et al. Statistical analysis of low dose mouse experiments with WGS technology and quantitative reproduction of mutation frequency using Whack-a-Mole model, *ICRP2023: 7<sup>th</sup> International Symposium on the System of Radiological Protection*, 6 – 9 Nov 2023; Tokyo, Japan
19. Tsunoyama Y, Bando M, Gondo Y, et al. Exploring the range of “background radiation dose-rates” based on the WAM model estimation and the results of the base substitution analysis in long-term irradiation experiments on mice, *BEAR2024: Biological Effects & Application of Radiation*, 15 March 2024; Tokyo, Japan.
20. Tsunoyama Y, Bando M, Gondo Y, et al. Fit values by the WAM model to SNV analysis results in low-dose - rate irradiated mice, *BEAR2024: Biological Effects & Application of Radiation*, 15 - 17 March 2024; Tokyo, Japan
21. Bando M, Tsunoyama Y, Gondo Y, et al. Suggestions of the latest data on genomic mutations induced by low-dose radiation – the steady state, *BEAR2024: Biological Effects & Application of Radiation*, 15 - 17 March 2024; Tokyo, Japan
22. Russell WB, Kelly M. Specific-locus mutation frequencies in mouse stem-cell spermatogonia at very low radiation dose rates, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1982; 79, 539-541
23. Uchimura A, Higuchi M, Minakuchi Y, et al. Germline mutation rates and the long-term phenotypic effects of mutation accumulation in wild-type laboratory mice and mutator mice. *Genome Res.* 2015; 25, 1125-1134

# 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	ゲノム変異シグネチャー解析で紐解く低線量放射線の発がん寄与割合とメカニズム
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	鈴木 啓司	長崎大学原爆後障害医療研究所・准教授
分担研究者		
若手研究者	河村 香寿美	長崎大学原爆後障害医療研究所・特任研究員

## 1. 研究の概要

<p>小児期の低線量放射線被ばくによる健康影響、とりわけがん発症に係る生物学的研究として、『ゲノム変異シグネチャーにより紐解く<b>放射線の寄与割合</b>』という新たな切り口を確立し、低線量放射線被ばくが健康影響にどの程度寄与しているかを提示することにより、漠然とした健康不安への科学的理解の深化を一層推し進め、あわせて放射線発がんメカニズムの解明に繋げることを本研究課題の目的とした。</p> <p>環境省『放射線の健康影響に係る研究調査事業』において整備してきた動物実験発がんアーカイブの活用を基盤にして、小児期で放射線（<math>\gamma</math>線、0.1 Gy、1 Gy および 4 Gy：線量率 0.5 Gy/分）を照射した B6C3F1 マウス（雄）を終生飼育し、正常組織および誘発されたがん（B6C3F1 系統では放射線照射後 100～200 日齢で胸腺リンパ腫が、300 日齢以降で肝腫瘍が主に発生するため肝腫瘍を対象とした）の凍結組織標本からゲノム DNA を抽出して、次世代シーケンサーによる全エクソームシーケンスを実施することによりゲノム変異情報を収集した。さらに、変異情報を COSMIC（Catalogue of Somatic Mutations in Cancer）シグネチャーを参照にして変異シグネチャーを同定し、発がん変異における放射線被ばくに起因する変異シグネチャーの寄与割合を、放射線シグネチャー（ID8）、および、老化シグネチャー（SBS1&amp;5 など）に区別して算出した。</p> <p>がん組織から採取したゲノム DNA を用いた変異シグネチャー解析から寄与割合を算出する際には、がん組織に混在する正常が結果に大きな影響を及ぼすため、標本採取の際には、同時に固定組織標本を調整し、組織薄切切片を作成した後、多重蛍光免疫染色法により、がん細胞とがん関連微小環境を構成するがん細胞以外の細胞を区別して、がん組織におけるがん細胞の<b>組織占有率</b>も算出した。</p> <p>以上の結果から、放射線照射により発症したがんにおける<b>放射線の寄与割合</b>を推定し、また同時に、変異シグネチャー解析から、がんの成立に係る病因を特定し、放射線によるがん発症の分子メカニズムを紐解いた。</p>	
--	--

## 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	肝腫瘍凍結標本アーカイブから、肝細胞がんを含む組織標本を選び、同一個体の肝臓の別葉で、腫瘍を含まないものを非腫瘍部として用い、それぞれから、QIAmp Fast DNA Tissue KitによりゲノムDNAを抽出し、Qubitフルオロメーターに
令和3年度	

	<p>より濃度を測定した結果、各標本全てにおいて、トータル収量で5<math>\mu</math>g程度の高分子DNAを採取した。そこで、このうち、200 ng程度を用いて、NEBNext Ultra DNA Library Prep Kitによりゲノムライブラリーを調製した。その後、Illumina社製NovaSeq 6000により全ゲノムシーケンスを実施した（若手担当部分）。</p> <p>シーケンス産物をFastQCによりクオリティチェックを行った結果、クオリティスコアは少なくとも35以上であることがわかり、高クオリティである事を確認した。次に、Trimmomaticを用いて、アダプター配列、リード先頭あるいは後尾のクオリティスコアが20未満の塩基等を除去、また、結果としてリードが36bp未満になったリードの除去を行い、その結果、97%以上のマッピング率の高クオリティリードを得た。</p> <p>トリミング後のシーケンスリードを、BWAを用いてリファレンスゲノムへのマッピングを行った。リファレンスゲノムにはC57BL/6Jのゲノムを基盤としたGRCm38を用いた。マッピング後に、Picardを用いて重複リードの除去を行った。その結果、重複率は、12~16%で、重複リード除去後のシーケンスリード数は、500M~630M readsを確保した。重複リード除去後のbamファイルに対して、samtoolsを用いて、一塩基置換（SNV）および挿入/欠失（INDEL）を抽出した。検出された変異の信頼性について、誤りの確率が1%以上であるものをフィルタリングした結果、700万近くのSNV/INDELを同定し、このうち半数は、遺伝子領域外の変異であった。遺伝子内でもイントロン領域に同定された変異は変異全体の35%程度で、遺伝子領域の上流および下流の遺伝子発現調節領域の変異は全体の数%に認められた。サイレント変異は2万5千個程度、ミスセンス変異は1万5千個程度同定された。遺伝子融合変異も2種検出された。変異の中で最も多かったのがチミンへの変異で、そのうちシトシンからの変異、C&gt;T変異が、全体の65%近くを占めていた（若手担当部分）。</p>
2年目	<p>採取した肝腫瘍凍結標本（合計4ケース）を用いて、腫瘍部位と、同一組織で別葉の非腫瘍部からゲノムDNAを抽出し、SNVおよびInDelシグネチャーを抽出した。SNV変異の中で最も多かったのがC&gt;T変異で、全体の65%近くを占めており、腫瘍部でも非腫瘍部でも差は認められなかった。腫瘍部での変異シグネチャー解析の結果、老化に関連するSBS5（98%程度）およびSBS1（2%程度）がほぼ100%を占めていた一方、放射線シグネチャーであるID8は全く抽出されなかった（若手担当部分）。これらの結果から、放射線誘発腫瘍であるにもかかわらず、放射線の発がん変異における寄与割合はほぼ0%で、誘発腫瘍は、自然誘発がんの増大による顕在化である可能性が示唆された。</p>
令和4年度	<p>肝腫瘍組織から採取したゲノムDNAにおけるゲノム変異シグネチャー解析から寄与割合を算出する際には、腫瘍組織中の正常細胞の混在比が結果に大きな影響を及ぼす。このため、標本採取の際に同時に作成した固定組織標本から組織薄切切片を作成し、多重蛍光免疫染色法により、がん細胞とがん関連組織微小環境を構成するがん細胞以外の細胞を区別する手法の確立を行った。</p> <p>具体的には、放射線照射により誘発された肝腫瘍を含む組織標本をホルマリン中で固定した後にパラフィン中に包埋し、薄切標本（厚さ4<math>\mu</math>m）を作成して解析</p>

	<p>に供した。腫瘍細胞の占有率を算出するための抗体としては、Cytokeratin-18 および、E-cadherin が有効である事がわかったため、画像解析ソフトである Image-J を用いて、DAPI に由来する楕円の青色蛍光シグナルを細胞核と指定し、その数を総細胞数として計測し、抗 E-cadherin 抗体により染色される細胞数を全細胞数で除して占有率を算出した。その結果、4 例とも腫瘍占有率は 95% 程度であることが明らかになり、本研究で抽出した変異シグネチャーは 95% 程度が腫瘍細胞由来のものであると結論できた。</p>
3 年目	<p>採取した肝腫瘍凍結標本（合計 7 症例）を用いて、腫瘍部位と、同一組織で別葉の非腫瘍部からゲノム DNA を抽出し、SNV および InDel シグネチャーを抽出した（若手担当部分）。対象とした肝腫瘍は肝細胞がんで、腫瘍組織のがん細胞占有率は 95% 以上であることを確認した。採取された腫瘍組織よりゲノム DNA を精製し、次世代シーケンサー（NGS）による解析を実施した。その結果、発がん関連遺伝子において、腫瘍組織特異的な単一塩基変異（SNV）を多数同定したが、これらは、C&gt;T および T&gt;C 変異が変異全体の 60% 以上を占める変異シグネチャーであった。次に、ゲノム全体を対象にした変異シグネチャー解析を実施したが、同様に、C&gt;T および T&gt;C 変異が大半を占める変異シグネチャーが抽出され、COSMIC 変異シグネチャーの SigProfiler により、SBS5 や SBS1 などが優先的に抽出された、これらの SBS シグネチャーは、クロック様シグネチャーとして知られる、老化関連シグネチャーである。さらに、ゲノムの欠失/挿入（ID）シグネチャーについても抽出を試みたが、放射線誘発 DNA 二重鎖切断に起因する放射線シグネチャーである ID8 は抽出されなかった。</p> <p>放射線により誘発された肝腫瘍において、放射線特異的な変異シグネチャーではなく、老化関連シグネチャーが抽出されたことから、誘発されたがんは、放射線照射により肝臓の組織老化が早期化し、自然発症のがんが早期に顕在化した結果と考えられ、放射線照射群に発生した腫瘍ではあるが、発がん変異において放射線の寄与率は 0% であると推察した。</p>
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

<p>終生飼育を実施している 4 Gy 照射マウス群において、複数の肝腫瘍の発生を確認し、肝細胞がんと認めた標本のうち、腫瘍占有率が 95% 以上であることを確認したケースで、腫瘍組織および対になる正常組織よりゲノム DNA を精製し、次世代シーケンサーによる解析の結果、発がん関連遺伝子において、腫瘍組織特異的な SNV を多数同定し、C&gt;T および T&gt;C 変異を、変異全体の 60% 以上を占める特徴的な変異シグネチャーとして抽出した。また、COSMIC 変異シグネチャー解析では、SBS5 が優先的に抽出された一方で、放射線シグネチャーである ID8 は抽出されなかった。以上の結果から、解析に供した肝腫瘍の発生における放射線の寄与率は 0% であると結論した。</p> <p>SBS5 は、クロック様シグネチャーとして知られる老化関連シグネチャーであることから、放射線照射個体に発症したがんではあるが、放射線誘発がんではなく、放射線照射により肝臓の組織老化が早期化し、自然発症のがんが早期に顕在化した結果であると推察した。本研究で対象にしたのは肝腫瘍であるが、放射線被ばくによりリスクの増加が認められるがんは、全て、加齢により発症頻度が上</p>
--

昇することが明らかである。このため、本研究で得られた結論『放射線が組織老化を早期化する』は、全ての組織に適用できる一般的な知見であると思われ、今後、その検証が必要である。また、老化の早期化は、放射線被ばくによる細胞死、つまり組織反応、に起因する現象であることから、必然的に、放射線発がんは確率的影響ではないと分類することが妥当となり、その線量依存性も、しきい値を有する非直線的なものである可能性が考えられる。

本研究成果はマウスを対象にして得られたものであるが、ヒトとマウスの変異シグネチャーには高い類似性が認められ、本研究で得られた知見はヒトにも適用することが可能である。放射線照射が組織老化を早期化し、その結果、自然発生の肝腫瘍が早期に顕在化した可能性は、本研究（若手担当）で用いたメチル化特異的シーケンス技術を応用する事により、老化クロックであるメチル化クロックの評価が可能になるため、今後、老化クロックを用いて放射線照射個体由来の肝臓組織で老化が早期化している事を証明し、放射線被ばくによる組織老化の早期化が、放射線発がんの本質である事を証明する。

## ② 計画・目標通り実施できなかった事項とその理由

なし。

## ③ 当初の計画で予定した成果以外（以上）に得られた事項

変異シグネチャーの解析から、放射線照射個体に認められた肝腫瘍の発生に、放射線が全く寄与していないという新発見があった。本研究計画を立案した当初から、放射線発がんが確率的影響ではない可能性を提唱してきたが、その仮説を証明する具体的な科学的成果として、極めて重要な知見である。組織老化の早期化は、放射線照射による細胞死に起因した現象であるため、いわゆる組織反応が放射線発がんに関与するということができる。この仮説が完全に証明されれば、放射線発がんの線量依存性は、従来の直線的なものではなく、非直線性（しきい値が存在する）の線量依存性になる事になり、現在の放射線防護の概念を根底から覆す極めて重要な発見として、今後、その証明を老化クロックの解析を通じて実施したい。

## 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

本研究成果を発展させる研究課題として、放射線照射マウスにおける組織老化早期化の検証研究があげられる。具体的には、近年利用されるようになってきた、老化クロックを用いる。ゲノム内の CpG 部位のメチル化は、加齢にともない増加する遺伝子領域と減少する遺伝子領域とがある。そこで、これら領域のメチル化率を複数の遺伝子領域についてモデル化したものが老化クロックである。これまでに、Hovarth クロックに代表されるように、ヒトに適用できる老化クロックはいくつか開発されているが、マウスに応用できる老化クロックはまだ不足している。我々は、本事業で得られたメチル化のデータを駆使して、新たな老化クロックを樹立しているため、同クロックを用いて、放射線照射による老化の早期化を検証する。また、本研究では、肝臓が対象であったが、老化クロックの検証は、肝臓に留まらず、肺、乳腺、甲状腺など、放射線被ばくによるリスクが増加する組織・臓器にも適応可能で、放射線影響の組織依存性のメカニズム解明にも大いに貢献すると期待される。これら解析の

結果をもって、放射線発がんが確率的影響ではないことを証明し、現在の放射線防護体系に一石を投じるのが今後の予定である。

## 引用文献

なし

## 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	ゲノム変異シグネチャー解析で紐解く低線量放射線の発がん寄与割合とメカニズム 若手研究項目名：メチル化シグネチャー解析による放射線の発がん寄与割合評価
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	鈴木 啓司	長崎大学原爆後障害医療研究所・准教授
分担研究者		
若手研究者	河村 香寿美	長崎大学原爆後障害医療研究所・特任研究員

### 1. 研究の概要

<p>小児期の低線量放射線被ばくによる健康影響、とりわけがん発症に係る生物学的研究として、発がんにおける放射線の寄与割合を紐解き、放射線による健康影響の理解を促進し、放射線発がんメカニズムを解明するため、主任研究者による発がん関連遺伝子におけるゲノム変異シグネチャー解析と協働しながら『メチル化シグネチャー解析による放射線の発がん寄与割合評価』という切り口を新たに確立することを本研究課題（若手加速化研究）の目的とした。</p> <p>主任研究者の研究計画と連携して、環境省『放射線の健康影響に係る研究調査事業』において整備してきた動物実験発がんアーカイブの活用を基盤にして、小児期で放射線（<math>\gamma</math>線、0.1 Gy、1 Gy および 4 Gy：線量率 0.5 Gy/分）を照射した後、終生飼育した B6C3F1 マウス（雄）より採取した、正常肝臓組織および誘発された肝腫瘍の凍結組織標本からゲノム DNA を抽出し、肝がん関連遺伝子および DNMT に関連した Gene body を標的にした Whole genome Bisulfite Sequencing による解析を実施し、放射線発がんに関連するメチル化シグネチャーの有無を特定した。その結果から、発がん変異における放射線被ばくに起因するメチル化シグネチャーの寄与割合を算出する事により、放射線照射により発症したがんにおける放射線の寄与割合を推定した。</p> <p>主任研究者の3年間の研究計画計画に合わせて、肝腫瘍凍結標本から採取したゲノム DNA を用いて、放射線特異的なメチル化シグネチャーの抽出と放射線特異的メチル化シグネチャーによる発がんへの放射線寄与割合の評価を実施し、放射線照射個体に発生した肝腫瘍に、放射線特異的シグネチャーが認められないことを明らかにした。これにより、主任研究者が推進する、ゲノム変異シグネチャー解析による放射線の発がん寄与割合の評価研究とは異なる独立した視点で研究を加速した。</p>	
---	--

### 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	肝腫瘍凍結標本アーカイブから、肝細胞がんを含む組織標本を選び、同一個体

令和3年度	<p>の肝臓の別葉で、腫瘍を含まないものを非腫瘍部として用い、それぞれから QIAmp Fast DNA Tissue Kit によりゲノム DNA を抽出し、Qubit フルオロメーターにより濃度を測定した結果、各標本全てにおいて、トータル収量で 5µg 程度の高分子 DNA を採取した。そこで、このうち、200 ng 程度を用いて、Zymo Research EZ DNA Methylation Gold Kit を用いて、バイサルファイト処理を行い、非メチル化シトシンをウラシルに変換し、Swift Bioscience Accel NGS Methyl-seq DNA Library Kit によりゲノムライブラリーを調製した。ゲノムライブラリーでは、ウラシルはアデニンと塩基対を形成してチミンに変換される事から、バイサルファイト処理により、シトシンからチミンへの変換が観察されなかったシトシンがメチル化シトシンとして特定される。そこで、調整されたライブラリーを Illumina 社製 NovaSeq 6000 によりシーケンスしメチル化部位の同定を行った。</p> <p>まず、シーケンス産物を FastQC によりクオリティチェックを行った結果、クオリティスコアは少なくとも 35 以上であることがわかった。クオリティスコア 30 が、1,000 回のシーケンスで 1 回のエラーが発生するレベルである事から、行ったシーケンスが高クオリティである事を確認した。次に、Trim galore を用いて、アダプター配列、リード先頭あるいは後尾のクオリティスコアが 20 未満の塩基等を除去、また、結果としてリードが 36bp 未満になったリードの除去を行い、その結果、60%程度のマッピング率のリードを得た。トリミング後のシーケンスリードを、methylypy を用いてリファレンスゲノムへのマッピングを行った。リファレンスゲノムには C57BL/6J のゲノムを基盤とした GRCm38 を用いた。その結果、シーケンスリード数として、500M~630M reads が確保できた。</p> <p>次に、MethylKit を用いて、メチル化シトシンの抽出および特異的メチル化領域の抽出を行い、その結果、大半のメチル化 CpG は、CpG island (200 塩基以上の領域で G : C 塩基対の含有率が 50%以上であるゲノム領域) 間のゲノム領域に存在する事が明らかになった。また、同一標本から採取した腫瘍部と非腫瘍部のメチル化率の比較を領域毎に分けて比較したところ、腫瘍部と非腫瘍部のメチル化の領域が明確に区別できる事が明らかになった。さらに、メチル化率による主成分分析を実施したところ、非腫瘍部はいずれも近傍にプロットされるのに対し、腫瘍部は、標本毎に、別々の位置にプロットされ、肝腫瘍の多様性が反映される結果となった。</p>
2年目	採取した肝腫瘍凍結標本(合計4ケース)を用いて、腫瘍部位と、同一組織で別葉の非腫瘍部からゲノム DNA を抽出し、WGBS を実施した後、得られたシーケンス情報を methylkit を用いて解析し、CpG アイランドを対象にして、25%を超えるメチル化率の変動があったシトシンを抽出し、各シトシンに遺伝子領域情報をアノテーションした。
令和4年度	<p>その結果、まず、ゲノム全体でメチル化率の亢進がみられたシトシンは全体の 40%程度、一方、メチル化率の減少がみられたシトシンは全体の 60%程度であることが明らかになった、遺伝子領域としてアノテーションされた情報を、ゲノムブラウザーである Igv により表示させると、アメリカ国立生物工学情報センター (NCBI) にがん関連遺伝子として登録されている遺伝子領域に、がん組織でメチ</p>

	<p>ル化が亢進した領域が一致するものが複数同定された。メチル化の亢進があった領域は、エキソン内、イントロン内、あるいは遺伝子上流領域と多様であり、染色体1番、7番、14番、15番に散在していた。これら遺伝子について、Metascapeによりパスウェイおよびプロセスエンリッチメント解析を実施したところ、姉妹染色体動態や細胞増殖に関連する経路が抽出され、当該領域のメチル化率の亢進が、発がんのプロセスに関わることが示唆された。</p> <p>次に、メチル化率の亢進があったシトシンを中心に、周辺の7塩基配列を抽出し、シグネチャー分類を実施した。その結果、(A/G/T) (A/C/T) (A/G/C) CG (G/T/C) (A/G/T) 配列が高頻度に出現する塩基配列として抽出された。同配列を、DNA損傷修復に関連するDNAメチル化酵素である、DNMTのメチル化シグネチャーと比較すると、いずれも、TCCGTA、T*CGCCA、およびTACGGCという、DNMT1およびDNMT3A/Bに特徴的なメチル化配列とは特異的な相同性を有しないことが明らかになった。</p>
3年目	<p>採取した肝腫瘍凍結標本（合計7症例、ただし非照射群に発症した肝腫瘍を含む）を用いて、腫瘍部位と、同一組織で別葉の非腫瘍部からゲノムDNAを抽出し、WGBSを実施した後、得られたシーケンス情報をmethylkitを用いて解析し、CpGアイランドを対象にして、25%を超えるメチル化率の変動があったシトシン（変動メチル化シトシン）を抽出し、各シトシンに遺伝子領域情報をアノテーションした。その結果、メチル化率の変動は、照射群・非照射群ともに、intergenic領域で最も多く見られ、次いでintron領域で多く見られる結果となった。遺伝子発現に直接的に関与するexon領域およびpromoter領域は、照射群・非照射群ともにゲノム全体の5%前後となり、メチル化率の変化の割合は、照射による有意な変化は見られなかった。さらに、promoter・exon・intron領域における変動メチル化シトシンについてclusterProfilerによってエンリッチメント解析を行ったところ、多様な遺伝子オントロジーが抽出された。加えて、照射群では非照射群よりも非常に多くのメチル化変動シトシンが見られ、放射線によってメチル化および脱メチル化が著しく促進されていることが示唆された。</p>
令和5年度	<p>次に、変動メチル化シトシンを中心に、周辺の7塩基配列を抽出し、シグネチャー分類を実施した。その結果、メチル化が亢進された領域において、照射群ではメチル化シトシン周辺の塩基頻度に差は見られなかった。非照射群では、(A/G/C) (A/G/T) (G/A) CG (T/G/A/C) (A/G/C) 配列が高頻度に出現する塩基配列として抽出された。また、メチル化が低下した領域においては、メチル化シトシン周辺の塩基頻度にほとんど差は見られなかった。これらの配列を、DNA損傷修復に関連するDNAメチル化酵素である、DNMTのメチル化シグネチャーと比較すると、いずれも、前年度と同様に、DNMT1およびDNMT3A/Bに特徴的なメチル化配列とは相同性を有しないことが明らかになり、放射線照射マウスに発症した肝腫瘍に、放射線照射に関連するメチル化シグネチャーは存在しない事を確認した。以上の結果から、これら肝腫瘍発生への放射線の寄与率は0%であると推察した。</p>

### 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

本研究の実施により、放射線誘発肝腫瘍において、メチル化が亢進しているゲノム領域を複数同定し、その内、いくつかの遺伝子領域は、がん関連遺伝子を含む領域であることが判明した。変動メチル化シトシンのシグネチャー分類から、放射線誘発 DNA 二重鎖切断に関連する DNMT1 および DNMT3A/B のメチル化シグネチャーとは全く異なるシグネチャーが抽出されたことから、これらは放射線特異的なメチル化シグネチャーではないと結論した。したがって、放射線照射によってメチル化変動は促進されるものの、放射線照射の特異的な痕跡はないことから、エピジェネティクス変動への放射線の寄与率は 0%、つまり、発生した肝腫瘍における放射線の寄与率は 0%であると推察した。本研究のマウスは終生飼育であるため、研究期間内で採取された非照射群の標本のうち解析対象は 1 個体に留まったが、現在までにさらに多くの肝腫瘍が非照射群から採取されており、現在得られている結果をより盤石なものとするために、非照射群の解析数を増やす事が肝要である。

本研究成果はマウスを対象にして得られたものであるが、ヒトとマウスのメチル化ゲノムには高い類似性が認められることから、本研究で得られた知見はヒトにも適用することが可能である。放射線照射個体に発症した肝腫瘍における放射線の寄与率は 0%であることから、放射線照射が組織老化を早期化し、その結果、自然発生の肝腫瘍が早期に顕在化したと考える事ができる。本研究で用いたメチル化特異的シーケンス技術を応用する事により、特定遺伝子領域のメチル化率を算出する事が可能で、老化クロックであるメチル化クロックの評価が可能になるため、今後、老化クロックを用いて放射線照射個体由来の肝臓組織で老化が早期化している事を証明し、放射線被ばくによる組織老化の早期化が、放射線発がんの本質である事を証明する。

#### ② 計画・目標通り実施できなかった事項とその理由

なし。

#### ③ 当初の計画で予定した成果以外（以上）に得られた事項

メチル化シグネチャーの解析から、放射線照射個体に認められた肝腫瘍の発生に、放射線が全く寄与していないという新発見があった。本研究計画を立案した当初から、放射線発がんが確率的影響ではない可能性を提唱してきたが、その仮説を証明する具体的な科学的成果として、極めて重要な知見である。組織老化の早期化は、放射線照射による細胞死に起因した現象であるため、いわゆる組織反応が放射線発がんに関与するという事ができる。この仮説が完全に証明されれば、放射線発がんの線量依存性は、従来の直線的なものではなく、非直線性（しきい値が存在する）の線量依存性になる事になり、現在の放射線防護の概念を根底から覆す極めて重要な発見として、今後、その証明が期待される。

### 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

本研究成果を発展させる研究課題として、放射線照射マウスにおける組織老化早期化の検証研究があげられる。具体的には、近年利用されるようになってきた、老化クロックを用いる。ゲノム内の CpG

部位のメチル化は、加齢にともない増加する遺伝子領域と減少する遺伝子領域とがある。そこで、これら領域のメチル化率を複数の遺伝子領域についてモデル化したものが老化クロックである。これまでに、Hovarth クロックに代表されるように、ヒトに適用できる老化クロックはいくつか開発されているが、マウスに適用できる老化クロックはまだまだ乏しい。我々は、本事業で得られたメチル化のデータを駆使して、新たな老化クロックを樹立しているため、同クロックを用いて、放射線照射による老化の早期化を検証する。その結果をもって、放射線発がんが確率的影響ではないことを証明し、現在の放射線防護体系に一石を投じる。

## 引用文献

なし

# 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
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

	<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に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<sup>1)</sup>のうち、放射線発がん感受性の高い臓器のがんである肺がん、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全ゲノムの解析を行い、被ばくによる発がん機構と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。</p> <p>研究の結果、肺がんのリスク解析では、線量率効果が見られることを確認した。さらに、変異パターンの解析から、照射群のがんでは、非相同末端結合（Non-homologous end joining、NHEJ）と呼ばれる修復によるDNA二重鎖切断修復の痕跡を示す変異パターンが認められることが分かった。また、照射群の乳がんでは、マイクロホモロジーと呼ばれる相同配列を利用した末端結合（Microhomology-mediated end joining、MMEJ）修復の関与や、挿入を伴う結合も観察されることが分かった。照射群のがんでは、非照射群に比べ、染色体構造異常の数が増加し、特に、逆位が特徴的に見られることが分かった。染色体欠失のサイズについて調べた結果、照射群のがんでは、欠失サイズの増大が観察されることが分かった。動物データのヒトへの外挿に関して、ヒトがんと共通する主要な遺伝子変異を同定するとともに、発がんに関連するシグナル経路の異常を明らかにした。</p> <p>本研究により得られた成果は、これまでただ「わからない」とされることが多かった低線量・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期待される。</p>
--	--

## 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

令和3年度	<p>存してきたアーカイブ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（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）に発生したマウス（B6C3F1 系統）悪性腫瘍の病理診断を行った（肺腫瘍の解析は、若手研究者が中心になって実施した）。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、病理組織像などの情報をもとに、ゲノム解析に使用する肺がん検体の選出を行った。</p> <p>非照射群及び、低線量率（毎時3 mGy～60 mGy）、高線量率（毎時30 Gy）放射線照射群（総線量4 Gyのガンマ線照射群）に発生したラット（Sprague-Dawley系統）乳がん及び、同一個体の非がん部正常乳腺組織からゲノムDNAを抽出し、分解のないことや2本鎖DNAの純度が十分であることを確認した。次いで、PCR-free法によりDNAライブラリーを作製、次世代シーケンシングを行い、全ゲノム配列のデータを取得した。その後、配列データの情報解析を行い、塩基置換や短い塩基の欠失、挿入、DNAコピー数異常、染色体欠失等のゲノム構造異常の検出を開始した。</p> <p>雄 C57BL/6J <i>Apc</i><sup>Min/+</sup>マウスと雌 C3H マウスを交配させることにより、消化管腫瘍のモデルマウス C3B6F1 <i>Apc</i><sup>Min/+</sup>を作出し、非照射群及び、低線量率（毎時 6 mGy）、高線量（毎時 30 Gy）放射線照射実験群（総線量 2 Gy のガンマ線照射群、各群 10 匹）を設定した。30 週齢時にマウスの解剖を行い、各群に生じた腫瘍（小腸腫瘍及び、大腸腫瘍）のサンプルを収集し、病理組織解析及び、ゲノム DNA の抽出を開始した。</p>
2年目	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
令和4年度	<p>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引き続き実施した。また、肺病変の周辺組織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。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、データの解析を行った。</p> <p>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 <i>Apc</i><sup>Min/+</sup>系統）では、放射線被ばくにより腫瘍の原因となる遺伝子 <i>Apc</i> 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。</p> <p>前年度に取得したラット（Sprague-Dawley 系統）由来乳がんの全ゲノム配列データの情報解析を引き続き行った。</p>

3年目	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、
令和5年度	<p>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）に由来する肺病変の病理診断を引き続き実施した。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、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の検出を行った。</p> <p>腫瘍のゲノム解析については、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）に発生したマウス肺がん、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、低線量率（毎時 3 mGy～60 mGy）、高線量率（毎時 30 Gy）放射線照射群（総線量 4 Gy のガンマ線照射群）に発生したラット乳がんから取得した全ゲノム配列のデータを用いて、塩基置換、挿入、欠失変異、原因遺伝子変異、染色体欠失等のゲノム構造異常の検出を行うとともに、変異のパターンや DNA 切断部位周辺の配列の解析を行った。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、動物腫瘍で検出されたがんの原因遺伝子変異との類似性を評価した。</p>

### 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

本研究では、我々がこれまでに実施してきた放射線発がん実験で収集してきた動物腫瘍試料のうち肺病変の病理診断を行い、その結果をもとに肺がんの発生率の算出及び、リスク解析を行った。その結果、低線量率の放射線被ばくでは、高線量率被ばくに比べ、がんリスクが小さくなる線量率効果が観察されることが分かった。

また、次世代シーケンシングにより腫瘍のゲノム DNA に見られる異常を解析した結果、非照射と照射群に由来するがんでは、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、非照射群に比べ、照射群の肺がん及び、乳がんでは、非同末端結合（NHEJ）と呼ばれる修復機構による DNA 二重鎖切断修復の痕跡を示す変異パターンが認められることが分かった。また、照射群の乳がんでは、マイクロホモロジーと呼ばれる短い相同配列を利用した末端結合（MMEJ）修復の関与や、挿入を伴う結合も観察されることが分かった。さらに、照射群の肺がん及び、乳がんでは、非照射群に比べ、染色体構造異常の数が増加すること、特に、逆位と呼ばれる染色体構造異常が特徴的に見られることが分かった。また、染色体欠失のサイズについて解析した結果、照射群の乳がんでは、染色体欠失のサイズの線量率依存的な増加が観察されることが分かった。加えて、照射群の乳がんでは、染色体において数十～数千箇所にも及ぶ崩壊と再編成が起こるクロモソリプシスと呼ばれる異常に類似した染色体の構造異常が観察されることが分かった。また、動物データのヒトへの外挿に関して、肺がん及び、乳がんにおいてヒトがんと共通する主要ながんの原因遺伝子変異を同定するとともに、発がんに関連するシグナル経路の異常を明らかにした。

放射線被ばくによる肺がん発生において線量率効果が見られた結果は、「統一的な基礎資料」の充実に繋がると共に、低線量・低線量率放射線被ばくによる健康影響の評価において重要な科学的知見

となる。また、本研究により得られた被ばく起因するがんの特徴的なゲノム異常や、ヒトがんと共通するがんの原因遺伝子変異に関する知見は、これまでただ「わからない」とされることが多かった低線量・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期待される。

## ② 計画・目標通り実施できなかった事項とその理由

マウス肺病変の病理診断の達成率は91%（全666検体中605検体の確定診断が終了）であり、予備診断の情報と合わせてがんのリスク評価（線量率効果の推定）には十分であるものの、確定診断の一部が課題として残された。これは、計画の途中で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である。現在、病理標本を直接診断することにより計画を進めており、今後達成が可能である。

次世代シーケンシングによる肺がん及び、乳がんのゲノム解析は当初の計画通り達成できた。一方、全ゲノムから得られた大規模なDNA配列データの解析と検出されたゲノム異常のデータ確認に想定以上の時間がかかったことから、消化管がんに見られるゲノム解析の一部（変異パターンと染色体構造異常の解析）が課題として残された。肺がん、乳がんにおいてゲノム異常の解析手法は確立しているため、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

本研究において、免疫組織化学染色法を用いたマウス肺組織における老化細胞と炎症の検出条件を確立することができた。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、がん細胞周辺の環境を変えることによる発がんへの寄与が示唆されている。今後、病変部における老化細胞や炎症の誘導を定量的に評価することで、低線量・低線量率放射線被ばくによる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。

また、次世代シーケンシングによる腫瘍の全ゲノム解析により、照射群の乳がん検体では、染色体において数十～数千箇所にも及ぶ崩壊と再編成が起こるクロモソリプシスと呼ばれる異常に類似した染色体構造の異常が観察されることが分かった。クロモソリプシスは、新しい発がんの機構として近年注目されており、放射線による発がんメカニズムの一つである可能性が示唆された。

## 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の特異性について十分な検証を行い、放射線被ばくの分子指標として発がんメカニズム研究に利用することで、被ばくによる発がん経路の全容解明が期待される。そして、被ばくの分子指標や発がんに至るイベントのヒト細胞や検体における検証を通じて、動物とヒトにおける知見を統合し、生物学的データに基づいた線量反応の数理モデルを開発することで低線量・低線量率の被ばくによるがんリスクの推定が可能になると考えられる。

## 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).

# 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

<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<sup>1)</sup>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。</p> <p>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。</p>	
---	--

## 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	

	<p>解析を開始した。</p> <p>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。</p>
2年目	<p>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。</p> <p>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。</p> <p>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。</p>
令和4年度	
3年目	<p>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。</p> <p>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。</p>
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).

## 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	放射線による“ゲノム不安定性・がん”のリスク上昇メカニズムと、リスク診断法・制御法の研究
研究期間	令和3年度 ～ 令和5年度（3年目）

	氏名	所属機関・職名
主任研究者	吉岡 研一	国立がん研究センター研究所 ゲノム安定性制御研究ユニット・ユニット長
分担研究者	益谷 美都子	長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 分子標的医学分野（分子標的医学研究センター）・教授（センター長）
若手研究者		

### 1. 研究の概要

放射線ばく露は、がん・ゲノム不安定性のリスク要因である。しかし、放射線で生じる様々なタイプの DNA 損傷の中で、『どの損傷が、どの様にリスクに関わるのか?』など、メカニズムには不明な点が多く、これが、人々の“放射線に対する不安要因”となってきた。最近我々は、『放射線ばく露後、複製ストレスに伴う DNA 二重鎖切断 (DSB) が蓄積し、これがゲノム不安定性のリスク要因となっている』ことを見出した。また、ゲノム安定性を促進する成分を解析し、ゲノムスタビライザーを構築した。本研究では、放射線が“DSB 修復能”に与える影響の解明と、ゲノムスタビライザーによる“放射線発がんの抑制効果”の検証を目指した。その結果、『リスクが、クロマチン状態変化（これを伴うヒストン修飾）に伴って上昇している（その修飾を介在する因子の特定を含む）』ことが示された。放射線ばく露後は、まず、『活性クロマチン状態が亢進するため、この背景で、複製ストレスに伴う DSB（相同組み換え HR の標的）が誘導される』ことが示された。さらに、この HR 中間体が蓄積した背景では、『DSB 修復能が低いクロマチン状態（不活性なクロマチン状態）が誘導され、結果的に、ゲノム不安定性（修復エラーの起こりやすい状態）に陥っている』ことが示された。一方、ゲノムスタビライザーは“不活性クロマチンの動態変化”を誘導し、この背景で DSB が修復されることが示された。また、マウスモデル解析からは、放射線リスクの影響と、そのリスクに対するゲノムスタビライザーによる抑制効果（体重、血液成分、運動能力、寿命延伸、肝臓腫瘍に対して）の傾向が示された（そのうち幾つかは有意な効果）。以上の本研究の知見からは、放射線ばく露により、クロマチン状態変化に伴ってゲノム不安定性リスクが上昇していること、このリスクはゲノムスタビライザーなどによって抑制可能なことが示された。

### 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	令和3年度は、まず、高リスク状態の特定のため、“高解像共焦点レーザー顕微

令和3年度	<p>鏡解析”と“CTCF（クロマチン構造の結節点に結合する因子）を標的とした ChIP-seq 解析”を実施した。その結果、放射線ばく露で現れるゲノム不安定性リスクが高い状態では、ヘテロクロマチンのフォーカス形成が亢進することを認めた。これに対し、CTCF の結合部位では、基本的に放射線ばく露では殆ど影響がない（僅かな差異のみ）。これらの結果は、『放射線ばく露による“ゲノム不安定性の高リスク状態”はヘテロクロマチン形成の亢進に伴って誘導され、これには CTCF 結合の部位の変化を伴う大規模なクロマチン構造変化は伴わない（或いは、限られる）』ことを示唆している。また、ゲノムスタビライザーの作用機序を解析するため、ゲノムスタビライザーの主成分を赤色蛍光色素（TAMRA）で標識し、細胞内の局在を解析した。その結果、主成分 X の“ヘテロクロマチン領域”への優先的な局在が示された。このことから、『ゲノムスタビライザーの主成分が直接にヘテロクロマチンに作用している』との可能性が考えられる。これは、ゲノムスタビライザーの、リスク抑制に対する作用機序を明確にする上で、重要な手掛かりと考えられる。</p> <p>一方で、マウスモデルを用い、放射線発がんリスクに対し、“ゲノムスタビライザー”によるリスク抑制効果の検証の準備を進め、実験が開始した。これは、1年目としては予定通りである。</p>
2年目	前年度の予備的解析を基盤とし、主に ChIP-seq 解析によって、放射線ばく露に
令和4年度	<p>起因して形成されるヘテロクロマチン領域を明確にし、それに対するゲノムスタビライザーの効果を解析した。特に、ヘテロクロマチン形成に関わるヒストンのメチル化修飾（クロマチン不活性化に関わる）と、これと拮抗するヒストンのアセチル化修飾（クロマチン活性化に関わる）を指標として解析した。その結果、放射線ばく露によってヒストン・メチル化の修飾部位が局所で変化し、実際にメチル化が亢進している領域が明確になった。また、そのメチル化修飾の亢進はゲノムスタビライザーの投与によって抑制されることも示された。一般に、今回解析したメチル化とアセチル化の修飾は、各々、クロマチンの不活性化と活性化に関わる拮抗する影響であるが、予想外なことに、本研究で、ゲノム不安定性リスクの高い背景では、その両方が亢進している領域が現れていることが示された。この両者が亢進した領域の影響もゲノムスタビライザーによって抑制された。一方、ゲノムスタビライザーの作用機序の解析では、ゲノムスタビライザーの投与によって“ヘテロクロマチン領域の動態変化”に伴って DSB 修復が誘導されることが示された。</p> <p>マウスモデルを用いた“放射線発がんリスクに対するゲノムスタビライザーの効果の検証”の実験が進行している。4 Gy 照射と 7 Gy 照射で解析したところ、7 Gy では、ゲノムスタビライザーの効果は認められなかった。近年、この線量では炎症の影響（一部の腸内細菌が介在する影響）が現れることが示されており、本解析知見からは、ゲノムスタビライザーはこのタイプの炎症には、効果を示さないと考えられる。4 Gy 照射の解析は進行中である。</p>
3年目	前年度から進めていたメカニズム解析から、クロマチンの不活性化と活性化を

令和5年度	<p>介在する責任因子（メチル基転移酵素と脱アセチル化酵素）が明確になった。また、ヒストン・アセチル化の亢進は DNA 複製ストレス誘導に関係するのに対し、ヒストン・メチル化の亢進は DSB の蓄積（修復能の低下）に関係していることも示された。ゲノムスタビライザーは、『ヒストン・メチル化（これに伴うヘテロクロマチン形成）の亢進に対し、その動態に作用して、DSB 修復を可能にしている』ことが示唆されたが、ヒストン・アセチル化亢進（これに伴う DNA 複製ストレス誘導）に対しては効果を示さなかった。一方で、今年度の解析で、ヒストン・アセチル化亢進に対し、抑制効果を示す成分 x が見出された。実際、ゲノムスタビライザーのみでのリスク抑制効果は限定的であるが、成分 x との併用では相乗効果が認められた。これまでの解析では、主に、マウス胎仔線維芽細胞を用いて実施されたが、令和5年度の解析で、ヒト上皮細胞でも同様の影響が現れることが確認された。さらに、全ゲノム解析で、ROS（活性酸素種）に伴う SBS シグネチャーを伴う SNV（一塩基置換変異）が SV（染色体構造変異）とは無関係に誘導されていることが示された（一部、ヒト放射線発がん細胞でも認められた）<sup>5)</sup>。</p> <p>マウスモデルを用いた“放射線発がんリスクに対するゲノムスタビライザーの効果の検証”の実験（4Gy 照射）では、ゲノムスタビライザーの効果が明確になってきた。特に、放射線ばく露により、体重、血液成分、運動能力、寿命延伸、肝臓腫瘍に対して影響が現れたが、ゲノムスタビライザーの投与により、リスク抑制の傾向が認められた。重要なことに、現段階では限定的ではあるものの、幾つかの指標では有意な効果が示された。</p>
-------	--

### 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

<p>まず、ゲノム不安定性の高リスク状態（DSB 修復され難い状態）の誘導と、そのメカニズム解析を行い、不活性化クロマチン形成に関わるヒストン修飾の亢進とその介在因子が示された。特に、この修飾が、DSB 修復の中間体に起因して誘導されていることが示された。また、この DSB は、ゲノムスタビライザー添加で誘導される“クロマチン動態変化”に伴って修復され、クロマチン状態が“低リスク状態に近い状態”に戻る様子が示された。（以上、主任研究者吉岡が実施）</p> <p>NGS 解析により、高リスク状態では、不活性化クロマチンのヒストン修飾と活性化クロマチンのヒストン修飾の両方の亢進が示された。メカニズム解析からは、活性化クロマチンのヒストン修飾の介在因子も特定され、その阻害物質 x も明確になった。これらの結果は、クロマチンの活性化状態と不活性化状態が混在した背景で高リスク状態に陥ることを示唆している。リスク抑制効果の解析では、ゲノムスタビライザーと阻害物質 x との併用では相乗効果が示された。また、全ゲノム解析で、SV（染色体構造異常）と SNV（一塩基置換変異）の相関<sup>2,3)</sup>、SBS17 シグネチャー（ROS との関係が指摘されている）の亢進<sup>6)</sup>などが見出され、同様の結果はヒトがん細胞ゲノムでも示された<sup>5,6)</sup>。これらは、MEF をモデルとして認めたリスク影響が、ヒト発がん過程でも現れることを示している。（以上、主任研究者吉岡が実施）</p> <p>放射線リスクのマウスモデル解析では、体重、血液成分、運動能力、寿命延伸、肝臓腫瘍（病理学的解析）に対するリスク影響と、そのリスクに対するゲノムスタビライザーの効果を検証した。その結果、放射線ばく露によるリスク促進と、ゲノムスタビライザーによるリスク抑制の傾向は殆どの指</p>
--

標で示された（そのうちの幾つかは有意な効果）。さらに、これらの効果は、マウスモデルの肝臓細胞の ChIP-seq 解析でも確認された。（以上、分担研究者益谷が実施）

現段階で、ゲノムスタビライザーのリスク抑制効果は限定的である。しかし、本研究で、“活性クロマチン誘導の阻害物質 x”もリスク抑制効果を示すことが明確になった。今後、阻害物質 x との併用による“がん・ゲノム不安定性のリスク抑制”への相乗効果を検証し、放射線発がんのリスク影響とそのリスクの抑制法を明確にし、それらの成果の論文発表を目指す。最終的に、一般概念を構築することにより、環境保健行政への貢献を目指す。

## ② 計画・目標通り実施できなかった事項とその理由

本研究目標を、意気込みを含め、**放射線発がん（ゲノム不安定性のリスク）要因の“メカニズム解明”**としていたが、これは達成されていない。一方、実施予定であった全ての解析を成功裏に終えることが出来た。全ての解析を成功裏に終えたにも関わらず、メカニズム解明に至らなかった主な理由は、放射線ばく露による“ゲノム不安定性のリスク誘導”の作用点に、当初考えられた作用点（ヒストン・メチル化亢進に伴う DSB の蓄積）の他に、『**もう一つの作用点（ヒストン・アセチル化亢進に伴う DNA 複製ストレス誘導）が含まれていた**』ためである。

本研究では、『メカニズムが正しく解明された場合、その作用点の抑制で予防が可能』と考えて、予防効果を明確にすることまでを到達目標としてきた。現段階で、ゲノムスタビライザー（ヒストン・メチル化亢進に伴って蓄積した DSB を標的とした予防）による予防効果は様々な指標で示されつつあるが、その効果は限定的である。本研究からは、もう一つ独立の作用点の“ヒストン・アセチル化亢進に伴う過剰な DNA 複製ストレス”が明確になり、そのアセチル化を抑制する成分 x も明確になった。実際、現段階までの *in vitro* 解析から、成分 x との併用によってリスク抑制に対する相乗効果も認められている。このことは、当初考えていた作用点の他に、『もう一つ独立の作用点の“ヒストン・アセチル化亢進に伴う過剰な DNA 複製ストレス”が含まれる』との、メカニズム解析から見出された知見からも矛盾がない。このため、この知見は“**メカニズム解明**”に向けた重要な手掛かりであると考えられる。

本研究は、『研究協力者の広島大学田代聡教授の協力で示された広い線量率（1Gy/min～1Gy/12hr）で同様の影響が現れる<sup>3)</sup>』との知見を基盤とし、その範囲で実施した。実際は、必要に応じて線量率影響の解析を実施予定であったが、本研究期間内では実現されなかった。今後の実施を検討している。

## ③ 当初の計画で予定した成果以外（以上）に得られた事項

当初、『放射線ばく露後、ヒストン・メチル化の亢進に伴って“**DSB が修復され難い状態で蓄積**”するため、ゲノム不安定性のリスクが上昇している』ことが示され、そのメチル化亢進のメカニズムの解明を目指し、さらに、それを作用点としたリスク抑制法の創出を目指してきた。実際、本研究により、そのメカニズムは明確になり、ゲノムスタビライザーの作用機序とそのリスク抑制効果も示された。しかし、このヒストン・メチル化亢進に伴うリスク上昇に加え、複製ストレスが生じ易い背景（これに伴う DSB が誘導され易い要因）の形成に関わる“ヒストン・アセチル化亢進”に伴うリスクも明確になった。これは当初は全く予想していなかったことであり、この発見は“**当初の計画で予定した成果以上**”の成果である。この発見に加え、本研究の実施により、このアセチル化亢進を介在する因子も明確になり、メチル化亢進の因果関係も示唆された。これらも、“**当初の計画で予定した成果以上**”の

成果である。

また、このアセチル化亢進の抑制法では、既に、アセチル化抑制に資する成分 x も明確になった。さらに、*in vitro* ではゲノムスタビライザーと成分 x との併用で、リスク抑制の相乗効果も認められており、この点も“当初の計画で予定した成果以上”の成果である。現段階で、ゲノムスタビライザーと成分 x の併用による放射線発がんに対する予防効果の解析準備が整っている。この点でも、“当初の計画には無いレベルの進捗である。

本研究では詳細なメカニズムが明確になってきたが、これにはゲノム解析の成果が大きく貢献している。これは、研究協力者の国立がん研究センター研究所の間野博行研究所長の協力・アドバイスで実施された成果である。

#### 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

従来、放射線発がんのリスクについては、『放射線で生じる“様々な DNA 損傷”の中で、どの損傷が、どの様にリスクに関わるのか?』など、メカニズムには不明な点が多かった。これが人々の“放射線に対する不安要因”となってきたと考えられる。本研究では、特に、『メカニズムが正しく解明された場合、その作用点の抑制によって予防が可能か?』と考え、予防効果の検証までを到達目標としてきた。この点は、本研究で非常に近づいたと考えられる。これを基盤とし、さらに発展させることで、ゲノムスタビライザーと成分 x の併用で、目標に到達する可能性が高いと考えられる。このため、本研究の発展からは、人々の“放射線に対する不安要因の解消（リスク要因・リスクの抑制法が明確になるため）”への貢献が期待される。

我々の解析からは、『放射線発がんは、基本的に“老化がリスク要因に含まれる一般的ながん（大腸がん、卵巣がん、膵臓がんなど）”と同様、複製ストレスで生じるゲノム不安定性リスクに起因している』こと、『放射線ばく露はその促進要因である』と考えられる<sup>2,3,6)</sup>。このため、ゲノム不安定性リスクの抑制を作用点とした“ゲノムスタビライザーと成分 x”では、放射線発がん以外のがんに対しても予防効果が期待される（大腸がん、膵臓がん、乳がん、卵巣がんなど）。このため、“ゲノムスタビライザーと成分 x”の研究をさらに発展させることで、これらのがんの予防の可能性が期待され、さらに、がん予防薬・サプリメントの開発に向けた事業化も期待される。

## 引用文献

1. Yoshioka, K. and Matsuno, Y. Genomic Destabilization and its Associated Mutagenesis Increase with Senescence-Associated Phenotype Expression. *Cancer Science*, 2021; 112: 515–522.
2. Matsuno, Y., Atsumi, Y., Shimizu, A., Replication stress triggers microsatellite destabilization and hypermutation leading to clonal expansion in vitro. *Nature Com.*, 2019; 10: 3925.
3. Matsuno, Y., Hyodo, M., Suzuki, M., Replication Stress-Associated DSBs Arisen by Ionizing Radiation Risk Genomic Destabilization and the Associated Clonal Evolution. *iScience*, 2021; 24: 102313.
4. Matsuno, Y., Atsumi, Y., Alauddin, M., Resveratrol and its Related Polyphenols Contribute to the Maintenance of Genome Stability. *Scientific Rep.*, 2020; **10**: 5388.
5. Manaka, Y., Kusumoto-Matsuo, R., Matsuno, Y., Single Base Substitution Signatures 17a, 17b, and 40 Are Induced by  $\gamma$ -Ray Irradiation in Association with Increased ROS Levels. *Heliyon*, 2024; 9: e28044.
6. Matsuno, Y., Kusumoto-Matsuo, R., Asai, H., Echoed Induction of Nucleotide Variants and Chromosomal Structural Variants in Cancer Cells. *Scientific Rep.*, 2022; 12: 20964.