

## 放射線の健康影響に係る研究調査事業 令和6年度年度報告書

研究課題名	FISH 解析法による低線量被ばく評価に向けた基盤構築
令和6年度研究期間	令和6年4月1日～令和7年2月28日
研究期間	令和4年度～令和6年度（3年目）

	氏名	所属機関・職名
主任研究者	数藤由美子	量子科学技術研究開発機構・グループリーダー
分担研究者		
若手研究者		

キーワード	低線量被ばく、FISH 法、人工知能、画像解析、染色体異常、ベースライン
-------	--------------------------------------

本年度研究成果
<p><b>I 研究背景</b></p> <p>交換型染色体異常は放射線被ばく後の線量評価や長期フォローアップ調査研究に利用可能である。低線量被ばく影響研究のためには課題が2つある。1) 健常人バックグラウンドデータは不十分である。従来調査は観察数・基準がまちまちで、また、検査者の熟練度により画像判定基準が変動する（再現性の問題）。2) FISH 画像による染色体異常判定は未だ自動化されていない。低線量被ばく調査に必要な観察細胞数は1検体当たり目視観察で1000ゲノム以上<sup>1)</sup>であり、時間と労力を要する。人工知能（AI）技術による支援が有望である。</p> <p><b>II 目的</b></p> <p>本研究では、ヒト1、2、4番染色体ペインティングプローブによるFISH解析法を用い、低線量被ばく評価に向けた基盤構築を行う。より具体的には、健常人の染色体異常頻度バックグラウンド値の高精度レファレンス・データを作成する。また、深層学習法を用いて交換型染色体異常のFISH画像自動判定技術を開発し、判定の標準化・迅速化を達成する。</p> <p><b>III 研究方法</b></p> <p>血液試料はインフォームドコンセントが得られた被検者から採取されたもので、プロトコールに従って利用した（研究倫理プロトコール番号08-016、17-018、18-023：量子科学技術研究開発機構）。</p> <p><b>【調査研究1】 染色体異常バックグラウンドレファレンスデータ作成</b></p> <p>■令和6年度は対象を若年層に絞り、健常人ボランティア6名（非喫煙、19～20歳）の末梢血試料を得た。リンパ球48時間培養を行って染色体標本作製し、ヒト1、2、4番染色体ペインティングプローブ（Zeiss/Metasystems社）を用いた3色FISH<sup>1),2)</sup>を行った。細胞分裂回数確認のため、プロモデオキシウリジン添加によるFPG法を応用した<sup>2)</sup>。熟練観察者による目視観察を行い、原則として1検体につき2500メタフェーズ以上<sup>1)</sup>（最大25595個）の染色体異常解析を行った。一部の末梢血につ</p>

き、 $^{60}\text{Co}$ -ガンマ線照射（線量率 0.4 Gy/min, 1.0 Gy, 2.0 Gy）を行い<sup>2)</sup>、被ばくによる細胞周期遅延の有無を確認した。長期内部被ばく症例 4 名（二酸化トリウムインジェクション約 35 年後に検体採取、約 50 年凍結保存標本）で M-FISH 解析と 3 色 FISH 解析のデータ比較を行った。

■研究期間 3 か年で得た染色体異常および細胞分裂回数から、職業的被ばくの無い健常人における加齢・喫煙効果、職業被ばくとの比較、医療被ばくの線量推定を試みた。

### 【調査研究 2】 人工知能技術による染色体画像自動判別技術開発

健常人ボランティア 1 名の末梢血試料由来の  $^{60}\text{Co}$ -ガンマ線 2.0 Gy 照射標本（線量率 0.5 Gy/min）を用いた 3 色 FISH<sup>1,2)</sup> により取得した画像データを用い、人工知能技術（深層学習法等）を適用し、原子力規制庁令和 3 年度放射線安全規制研究戦略的推進事業費「染色体線量評価のための AI 自動画像判定アルゴリズム（基本モデル）の開発」<sup>3)</sup> において開発した QST モデルをもとに、自動染色体画像判別モデルのプロトタイプ<sup>4)</sup>を作成した。令和 6 年度は実験的照射血ではなく、実際の被ばく症例の検体（調査研究 1 参照）で性能テストを行った。

## IV 研究結果、考察及び今後の研究方針

### 【調査研究 1】 染色体異常バックグラウンドレファレンスデータ作成

1) 非喫煙・健常人（19～71 歳、15 名）バックグラウンドデータ（図 1）： 当初計画（4 名）を大幅に上回るデータ取得を果たし、今年度統合し分析した。染色体転座に関し、従来の報告<sup>1),4)</sup> [年齢補正式  $\text{Translocation Rate}(\text{age}) = 100 \times (\exp(-7.925) + \exp(-9.284) \times (\text{age} \times \exp(0.01062 \times \text{age})))$ ]（参考図）と異なり、明瞭な加齢効果が見出されなかった。適切的な線量評価や長期フォローアップ調査を行うにあたり、現状では年齢補正をするよりむしろ個体差の最大幅を考慮して安全管理を行うことが現実的であると思われる。今後、より大規模な健常人および計画的職業被ばく者調査についてデータ蓄積が必要である。

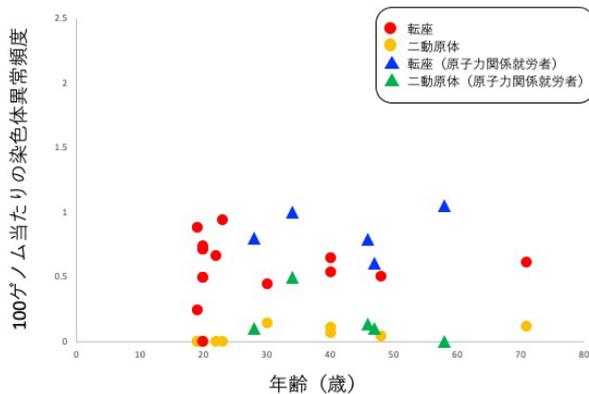
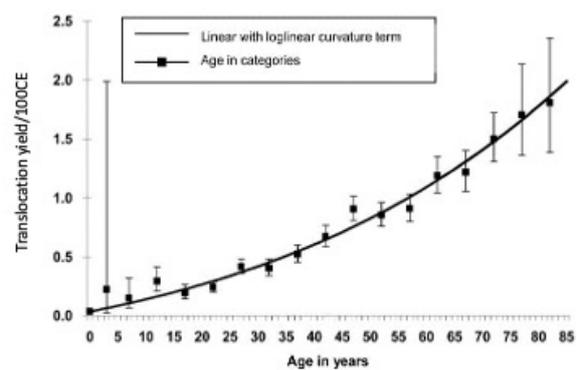


図1. 非喫煙者の年齢と染色体異常頻度の関係



(参考図) 年齢と転座頻度の関係<sup>4)</sup>

2) 細胞周期： 4 検体の分析により、放射線傷害が少ない 2.0 Gy 以下の被ばく線量では細胞周期の遅延が観察されないことが確認できた。本研究 19～23 歳（10 名）の分析で、若年層では 2 回目分裂以上の細胞が比較的高頻度で観察される個体の存在が明らかになった（図 2）。頻度 10%以下であれば 2.0 Gy 以上の被ばく事故における線量の過小評価（患者の見逃し）は理論上起きないため、これまで FPG 法による細胞分裂回数確認を省略するラボも多かった。従来の研究報告では検体取得にバイアスがかかっていた可能性が考えられる（血液提供者の年齢層＝ラボの大学院生～中堅研究者への偏り）（図 2、25 歳以上を参照）。リンパ球の寿命、培養試薬への反応性の個体差、採血当日の感染症等、

原因は不明で今後の解明が俟たれるが、実践的には、1 回目分裂細胞のみとらえるより簡便な培養法の開発を行う。

3) 長期内部被ばく患者：100 ゲノム当たりの染色体異常数は二動原体約 5 倍、転座約 15~35 倍。検量線<sup>2)</sup>から累積線量は 2 Gy 程度と推定されるが、加齢効果補正が未確定のため、今

後のいっそうの調査が必要である。

4) 3 色 FISH の染色体異常検出力：M-FISH データとの比較により、ほぼ理論通り(40%) であることが確認できた。全染色体の識別可能でもプローブ代が高額で解析に時間を要する M-FISH 法の代替として、3 色 FISH 法を染色体異常の高速スクリーニングに用いて良いと言える。

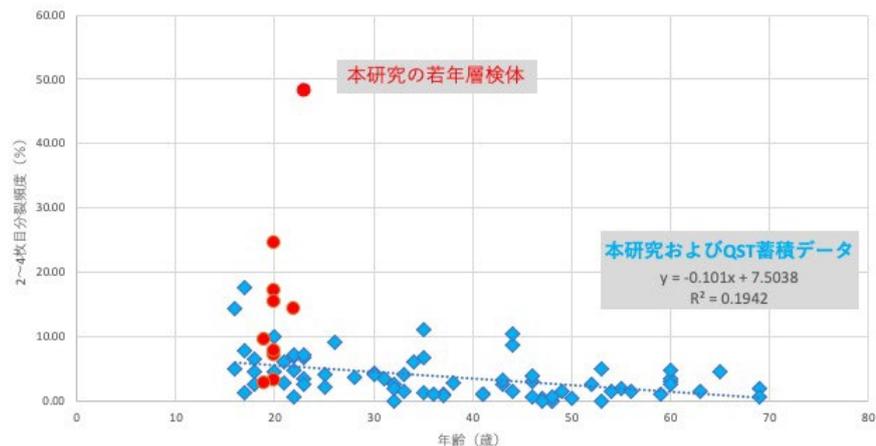


図 2. 2~4 回目分裂細胞の頻度と年齢の関係 [unpublished data]

### 【調査研究 2】 人工知能技術による染色体画像自動判別技術開発

患者画像解析試験： 本研究で深層学習法を導入して開発したモデルを用いて前述の長期内部被ばく患者標本の 3 色 FISH 画像解析を行った。正常染色体の検出率は健常人検体と同様に 97.2~99.1% と好成績が得られた。放射線被ばく検体の染色体異常の特徴として、低頻度であることが目視観察者の重労働につながっている。本モデルは現状、染色体の検出率はほぼ 100%と正確で、染色体異常の分類は正常細胞画像のスクリーニング(除外)に有効であると言える。現状のモデルでは学習材料に偏りが生じる(2 Gy 以下の線量では異常が低頻度なため)。染色体異常の誤判定を改善するには、今後、さらなる追加学習を行うか、分類に関して直近で報告があった新たなモデルを導入するなど、試していく予定である。

## V 結論

### 【調査研究 1】 染色体異常バックグラウンドレファレンスデータ作成

高精度 FISH 法により、非喫煙・健常人(19~71 歳、15 名)のバックグラウンドデータを得ることができた。このデータコレクションを基盤として、今後、計画的職業被ばくや医療被ばくのデータ解析、加齢・喫煙他染色体異常生成に影響を与える因子の解明に利用できる。

### 【調査研究 2】 人工知能技術による染色体画像自動判別技術開発

本研究の現モデルでは、染色体の検出率はほぼ 100%で、正常細胞のスクリーニング成績は患者検体を含め良好である。今後いっそう放射線被ばくによる染色体異常の分類性能をあげるために、学習データの偏りをなくす、新たな分類に適したモデルを別途導入するなど、引き続き改良を続け、近い将来には ISO の標準プロトコールへの採用や特許取得を目指す<sup>5)</sup>。

## 引用文献

- 1) 国際標準化機構. ISO 20046, Radiological protection – Performance criteria for laboratories using Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) translocation assay for assessment of exposure to ionizing radiation, 2019.
- 2) Suto Y, Akiyama M, et al., Construction of a cytogenetic dose-response curve for low-dose range gamma-irradiation in human peripheral blood lymphocytes using three-color FISH, *Mutat Res - Genet Toxicol Environ Mutagen* 794: 32-38, 2015
- 3) 原子力規制庁令和3年度放射線安全規制研究戦略的推進事業費「染色体線量評価のためのAI自動画像判定アルゴリズム（基本モデル）の開発」（研究代表者 数藤由美子），年度末報告書, 2022.
- 4) Sigurdson AJ, et al., International study of factors affecting human chromosome translocations, *Mutat Res.* 652(2):112-121, 2008.
- 5) Wilkins R et al. (Suto Y 含む), Activities of ISO Working Group 18: Biological and Physical Retrospective Dosimetry, *Disaster Medicine and Public Health Preparedness*, 2025, in press.