

## 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	線量率応答性数理モデルによる予測に基づく長期連続照射実験及び最新技術を用いての WGS データ解析によるゲノムへの低線量率放射線照射影響の解析
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6年度～令和8年度（1年目）

	氏名	所属機関・職名
主任研究者	角山 雄一	京都大学・准教授
分担研究者	松本 義久	東京科学大学・教授
分担研究者	小村 潤一郎	(公財) 環境科学技術研究所・主任研究員
若手研究者		

キーワード	線量率応答、数理モデル、長期照射、全ゲノム解析、変異、低線量率
-------	---------------------------------

本年度研究成果
<p>I 研究背景</p> <p>動物への放射線照射実験から、低線量率と中～高線量率とでは明らかに影響の度合いが異なることが判明している。例えば、大量のマウスを用いた WL. Russell らによるメガマウス実験<sup>1)</sup>では、総照射線量が同じでも、急照射よりも緩照射の方が遺伝性影響の発生頻度が低かった。また、環境科学技術研究所のマウスへの長期照射<sup>2)</sup>による寿命に対する影響調査では、低線量率であれば影響が見られないとの結果であった。これらの事実は、照射した総線量が同じであっても、線量率が低いほど影響が低下すること、すなわち「線量率効果」の存在を示唆している。よって、これらのような低線量率の放射線照射環境下での影響の推定や評価を行う際には線量率効果を正確に考慮する必要がある。我々は既に線量率応答性数理モデル「WAM モデル」<sup>3-5)</sup>を構築しており、Russell らの表現型レベルでの遺伝性影響の発生頻度を精度良く再現することに成功している。また、前事業（R3～5年度「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」研究代表者：権藤洋一、分担研究者：松本義久、角山雄一）において、DNA 塩基配列上の一塩基置換（SNVs）にもこの WAM モデルを適用可能である潜在性を見出している。</p> <p>II 目的</p> <p>WAM では、1mGy/d 未満の低線量率域では、何世代継続して照射を行ったとしてもゲノム変異の増加が生じ得ないことが予測された。一方、体細胞への照射については未知である。そこで、権藤らの事業よりもさらに長期に継世代照射を行ったマウス個体や、ヒト培養細胞（体細胞）への長期照射実験を実施し、全ゲノム解析によるデータとモデル予測値との比較から WAM モデルの妥当性を検証する。データと予測値とが一致しない場合は、モデルによる予測精度を高めるよう、パラメータ調整やモデルの改良等を行う。これらの過程を経て、理論と実験の両面から、「DNA 変異の増加がみられな</p>

い線量率域 (バックグラウンド線量率域)」の上限値を探る。また、疫学調査の知見を引用するなどにより、モデルのヒトへの適用可能性についても模索する。最終的には、環境保健行政に貢献し得る確かなエビデンスを提示したい。

### III 研究方法

・マウス個体への継世代照射実験 (角山班・小村班)：権藤らによる前事業では、連続照射期間が4世代 (F4) まで完了していた。全ゲノム解析の結果、1世代あたりの SNVs の発生頻度は、照射線量率が 1.0mGy/d までは F4 でも非照射群と変わらなかった。本事業では、この継世代照射実験並びに全ゲノム解析による変異解析を継続実施した。また、SNVs 以外の変異についても解析調査を開始した。尚、大規模な変異 (構造変異) の解析については、解析対象が多数の場合、現行の技術では解析が極めて困難である。そこで、人工知能 (AI) と GPU コンピューティングを駆使した新たな解析系 (構造変異解析パイプライン) を開発することとした。尚、継世代照射実験及びマウス個体からの臓器採取は小村班が担当し、それ以外は角山班が実施した。

・マウスからヒトへ (角山班)：線量率応答性数理モデルの適用範囲を動物実験からヒトへと拡張するため、疫学調査の知見を収集し精査した。

・培養細胞照射実験 (松本班)：生殖細胞と体細胞との違いの有無や生物種による違いを検証するため、既に確立済みの2段階細胞クローン集団作製法と全ゲノム解析とを組み合わせた手法により、培養細胞での変異に関して線量率等の影響の有無を調査することにした。尚、今年度はヒトリンパ球 TK6 細胞を用いて、低線量率照射細胞の変異解析に加え、いくつかの変異源 (急照射、ENU など) での照射又は曝露実験を実施し、本手法の確からしさについての検証を開始した。

### IV 研究結果、考察及び今後の研究方針

- ① WAM モデルを、1世代あたりの SNVs 数の変動について予測できるよう補正し、その上で長期継世代照射実験の結果予測を行ったところ、1mGy/d 付近までは大きな変動が生じないことが予測された。この予測結果は、前事業における F4 のデータと極めてよく一致することをあらためて確認した。次年度以降は、WAM モデルを SNVs 以外の小さな変異 (small indels) に対しても適用可能か否かについても検証する。
- ② マウスへの継世代照射実験を、非照射、0.05mGy/d については F8 まで、1.0mGy/d については F5 まで完了した。今年度は非照射、0.05, 1.0 mGy/d の F5 について臓器を採取し、全ゲノム解読によりゲノム情報を入手するところまで実施した。変異の詳細解析については次年度に実施する。尚、前事業では 0.15mGy/d での照射実験も行っていた。この照射条件については次年度以降に角山班が継世代照射飼育環境を新たに整備し、検証のための再実験を開始する予定である。
- ③ AI を駆使した大規模変異の検出パイプラインについては、内村 (研究協力者) の既得データを教科書データとして用いることでプロトタイプの創出に成功した。学習データ数に限りがあるため、以降はこれから集積する全ゲノム解析データを活用し、さらなる学習による解析精度の向上を目指す。
- ④ ヒトに関する文献調査については、カルナガパリとテチャのケースについて文献調査を実施し、ヒトのがんリスクについても線量率効果が見られる可能性が示唆された。
- ⑤ 細胞での変異検出系 (二段階クローニング+WGS 解析) の確からしさを検証するため、緩照射条件 (1 mGy/d, 20 mGy/d) に加え、1~4 Gy 急照射 (0.5~1.5 Gy/min)、ENU (N-ethyl-N-nitrosourea, 30~100  $\mu$ M)、1Gy X-ray (~1Gy/min)、1Gy in nuclear reactor (0.2Gy/h n +  $\gamma$ -ray)でも実験を実施し、

ゲノム DNA を抽出、ゲノム情報の入手まで行った。これらの変異解析及び、実験系の検証は次年度にかけて実施する。尚、マウスについては、3T3 などの株化された細胞を用いての実験を行う計画である。

## V 結論

当初の計画通り、概ね順調かつ着実に進捗している。中でも、大規模変異（構造変異）解析パイプラインの開発については、予想以上の精度のプロトタイプ構築に成功しており、さらなる研究の進展を目指したい。培養細胞照射実験についても、さまざまな条件のデータが確実に蓄積しつつあり、マウス個体照射実験のデータとの比較を行うための素地が固まりつつある。

## 引用文献

- 1) Russell WL, Kelly EM. Mutation frequencies in male mice and the estimation of genetic hazards of radiation in men, Proc. Natl. Acad. USA, 1982; 79, 542-544.
- 2) Tanaka, I. B., R. Nakahira, J. Komura, ~. Life Span, Cause of Death and Neoplasia in B6C3F1 Mice Exposed In Utero to Low- and Medium-Dose-Rate Gamma Rays. Radiat. Res. 2022; 198, 553-572.
- 3) Tsunoyama Y, ~, Toki H, Bando M. Application and Development of the Genetic Effects Dose Rate Response Model “WAM Model”. Radiation Biology Research Communications. 2023; 58(1): 1-17.
- 4) Tsunoyama Y, Suzuki K, ~, Bando M. Verification of a dose rate-responsive dynamic equilibrium model on radiation-induced mutation frequencies in mice. Int J Radiat Biol 2019; 95, 1414-1420.
- 5) Bando M, ~, Tsunoyama Y, ~, Toki H. Study of Mutation from DNA to Biological Evolution. Int J Radiat Biol 2019; 95, 1390-1403.