

成体期の生活習慣等の低線量放射線発がんリスクにおよぼす影響と メカニズム解明

成体期肥満による放射線発がん影響解析

柿沼志津子（国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構

量子医学・医療部門放射線医学総合研究所放射線影響研究部）

研究要旨

本研究計画は、成体期の生活習慣等変化が、小児期の低線量放射線被ばくによる発がんリスクにおよぼす影響とそのメカニズムの解明を目的としたものである。具体的には、『カロリー摂取バランス変調による肥満が局所の炎症を惹起し、炎症にともなう細胞死が組織微小環境を攪乱することにより小児期被ばくによる放射線発がんのリスクを修飾する』との仮説を提唱し、これを、動物発がんモデルと成体期の高脂肪食による肥満（Diet-induced obesity; DIO）モデルを組み合わせた実験系により証明することを目指した。低線量（100 mGy）の放射線被ばくを含む小児期（8 日齢）での放射線被ばくによる発がんを、被ばく動物の経時的解析と終生飼育により追跡し、同時に、発がんのプロセスを、組織における DNA 障害、細胞死、細胞老化、炎症、を含む組織微小環境の変化から解析し、放射線照射直後から微小がんあるいはがん成立までの各プロセスでの DIO の影響を統合的に解析した。対象とするがんは、動物発がんモデルにおいて小児期被ばくにより発がんリスクの上昇する胸腺・脾臓リンパ腫、肝がん、および肺がんである。

本研究は、長崎大学および放射線医学総合研究所（放医研）の 2 機関による計画で、長崎大学では、組織微小環境の変化の解析を担当し、放医研では、DIO 動物の長期飼育、放射線照射（100 mGy および 4 Gy）、経時的標本採取、および発がん解析を担当した。令和 2 年度は初年度から実施した生涯飼育実験群の飼育、観察を完了した。また、前年度から実施している組織微小環境への影響を調べるための経時観察実験を継続し、300、400、500 日齢で予定した解剖、およびサンプル採取を完了し、全サンプルの病理標本の作製、および長崎大学への供与を終了した。また、採取した血漿サンプルを用いたバイオマーカーの発現量解析を行った。

キーワード：低線量、100 mGy、高カロリー食、肥満、成体期肥満

I. 研究目的

東日本大震災にともなう東京電力福島第一原子力発電所の事故（以降は福島原発事故）を受けて、事故の被災者を始め、多くの国民が放射線被ばくによる健康影響に不安を抱くことになった。事故から 10 年がたち、福島県内における県民健康調査において被ばく線量が把握されるにすぎない、専門家会議の中間取りまとめでも、福島県および福島近隣県において、がん罹患率に統計的

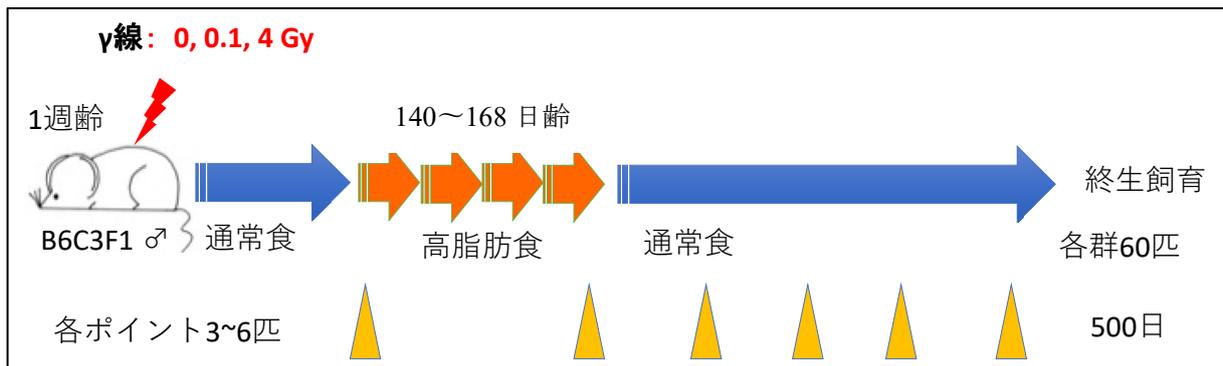
に有意な変化が検出される可能性は低いとされている。しかしながら、原発事故後の被災住民の生活環境を鑑みると、とりわけ、事故当時に小児期を過ごした子供たちの生活習慣等の変化が、放射線発がんリスクを修飾する可能性が懸念される。中でも、学校生活環境の変化、戸外活動の制限、運動不足等に起因するカロリー摂取バランス変調に基づく肥満は、放射線の発がんリスクを修飾する要因として注視する必要があるとあり、健康リスクの低減という観点からもその影響を明確にすることが望まれる。そこで、平成 27 年度～29 年度にかけて、小児期の肥満の影響を調査する研究に着手し、現時点までの結果から、小児期の肥満が、放射線発がんリスクに影響をおよぼす可能性について解析が進んでいる。今後、当時小児期にあった子どもたちは成長し、やがて青年～成人になっていくことを鑑みると、これまでの研究を補完する研究としても、小児期の被ばくの発がんリスクが、成体期の生活習慣等の変化で修飾されるか否かを明らかにする研究を実施する必要があると考えた。福島県民、とりわけ、小児期に事故を経験した子供たちの安心・安全のための健康管理に資する研究として、子供たちの今後の生活習慣等が、小児期の低線量放射線被ばくによる健康影響におよぼす影響を対象とした研究は、極めて重要である。

本研究では、動物発がんモデルを用いた高脂肪食による肥満の実験系を用い、小児期被ばくによる発がんリスクが変化するかどうかを明らかにする。その結果、肥満などの生活習慣等による自然発がん要因が低線量放射線被ばくの健康影響にどのような影響をおよぼすか評価する際に不可欠な科学的知見が得られる。これにより、生活習慣等の変化により懸念される放射線発がんリスクの低減に向け、機構論に基づいた対策を可能にする科学的基盤が提供できる。

年次計画としては、令和 2 年度は、初年度から開始した生涯飼育実験群の飼育、観察を継続する。また、組織微小環境への影響を調べるための経時観察実験を継続し、前年度に続けて 300、400、500 日齢に各群 3～6 匹を解剖し、病理標本を作製して、長崎大学へ送付する計画である。同時に血清と凍結組織を採取し、バイオマーカーの発現量解析を継続した。

II. 研究方法

本研究では、福島原発事故を経験した子どもたちの生活習慣等の変化を念頭に、小児期に放射線照射を行ったマウスに、成体期に相当する期間から高脂肪食を給餌し、その後、終生飼育をすることによってがんの発生を解析する実験プロトコルを採用した。具体的には、放医研において、B6C3F1 雄マウスに、8 日齢で放射線（ γ 線（0.5 Gy/分）、100 mGy および 4 Gy）を照射し、その後、140 日齢（20 週例）から 168 日齢（24 週例）まで高脂肪餌を与えて DIO を誘導し、その後通常餌に戻してから長期飼育を行った。放射線照射後は一定期間毎に組織標本を採取して、組織微小環境変化の経時観察を実施した。放射線発がんの対象とするがん種は、小児期被ばくにより発がんリスクが上昇するリンパ腫、肝がん、および肺がんである。また、採取した組織は、長崎大学に送付し、DNA 障害、細胞死、炎症反応や組織微小環境の解析を行った。



放射線医学総合研究所は SPF レベルでのマウスの長期飼育およびガンマ線照射が可能な施設を有しており、本研究ではこの施設を使用した。分担者のグループでは、これまで長期飼育実験の実績が十分ある。また、マウスの発がん実験設定から終生飼育の終了までに 3 年半を要するが、これまでの経験から発がんに対する影響は約 2 年半で明らかになると予測できることから、中間段階での発がんリスク解析を取りまとめた。なお、研究期間終了後も終生飼育を継続し、本発がん実験の最終的なリスク解析としてまとめる計画である。

1. DIO による放射線発がん影響解析

前年度に設定した実験群の飼育観察を継続し、がんの発生等に伴う全身状態の悪化が認められるマウスについて解剖し、病理サンプルの保存および解析を行った。

2. DIO による組織微小環境への影響

① 実験群の設定

1 週齢 B6C3F1 マウスの作製は妊娠後期マウスを購入し、実験を行う SPF 環境下で出産させ、母マウスあたり子マウス 6 匹での飼育を行い体重のばらつきを最小限にした。妊娠後期マウスは平均 8 匹の F1 マウスを出産し、その半数が雄であることより 25 匹の妊娠後期マウスの購入で雄 100 匹の作製可能である。出産異常が一定の確率で生じるため、雄 F1 マウス 180 匹の作製に、妊娠後期マウス 55 匹を購入した。

実験群	線量 (Gy)	餌 (脂肪由来 カロリー)	匹数
1	0	10%	20
2	0	60%	20
3	0.1	10%	20
4	0.1	60%	20
5	4	10%	50
6	4	60%	50

表 II-1. 組織微小環境実験条件とマウスの匹数 (計 180)

②放射線照射

B6C3F1 雄マウスの 8 日齢時に 0、0.1、または 4 Gy の γ 線を全身照射した (線源 ¹³⁷Cs、線量率 0.5 Gy/min)。

③DIO 誘導

離乳後マウス群飼育し (5 匹/ケージ)、通常の実験マウス用餌で飼育した。成体期 B6C3F1 雄マウス (140~168 日齢) に標準餌 (摂取カロリーの 10%が脂肪由来) または高脂肪餌 (摂取カロリ

一の 60%が脂肪由来) を 28 日間摂取させて DIO を誘導した。28 日間後通常餌に戻し、定期的に体重を測定し (14 日間毎、140~168 日齢 7 日間毎)、毎日観察を継続し、がんの発生等に伴う全身状態の悪化が認められるマウスについて解剖し、病理サンプルの保存および解析を行った。組織微小環境への影響を調べるために、140、168、200、300、400、500 日齢に各群 3~6 匹を解剖し、病理標本と血漿、凍結組織サンプルを採取した。

(倫理面への配慮)

本研究計画では、動物実験は、放医研において実施する。放医研においては、動物実験を行うにあたり、動物実験委員会等の承認を受けた (動物実験計画書 18-1003、平成 30 年 6 月 26 日承認)。動物愛護法ならびに放射線医学総合研究所「動物実験等実施に関する規程」「実験動物取扱者の健康管理等に関する基準」および「実験動物の衛生管理等に関する基準」を遵守して実験を行っている。

III. 研究結果

1. DIO による放射線発がん影響解析

1-1. DIO 誘導による体重変化

図 III-1 に、体重変化についてのグラフを示した。

小児期 (8 日齢) 高線量放射線被ばく (γ 線 4 Gy 全身照射) によって有意な体重低下が認められた。成体期 (140 日齢から 168 日齢) の高脂肪餌摂取は、明らかな体重増加を示したが、通常餌に戻すことにより高脂肪餌の影響は改善される傾向が見られた。長期飼育で 4 Gy 照射によって体重の低下が高脂肪餌群と標準餌群両方に確認された。860 日齢以上まで観察しても、高脂肪餌の影響は認められず、また、低線量照射群の体重は非照射群との差が見られなかった。

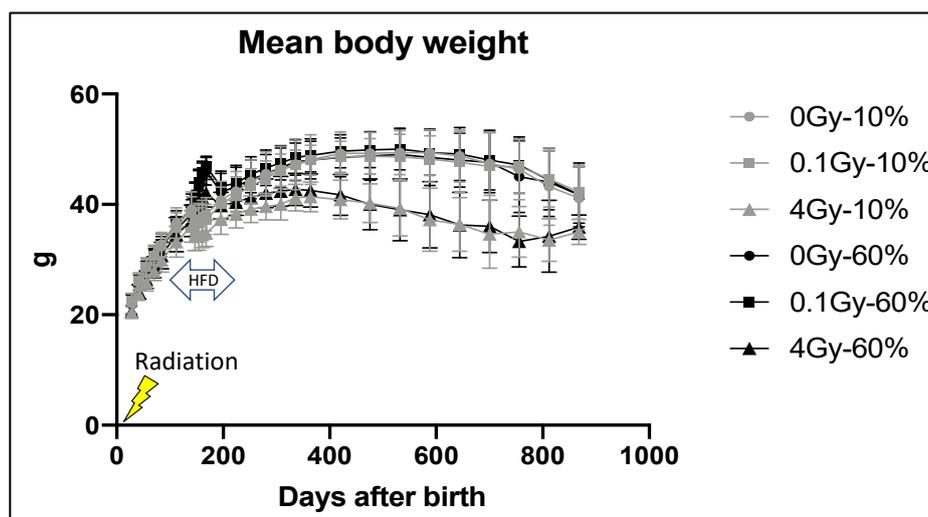


図 III-1 小児期放射線被ばくおよび成体期 DIO 誘導による体重変化

1-2.腫瘍の発生

小児期（8 日齢）高線量被ばく（ γ 線 4 Gy 全身照射）によって早期に胸腺リンパ腫が発症した。また、寿命 960 日まで観察した結果では、高脂肪餌群と標準餌群共に、400 日齢以後に肝腫瘍の発症が見られた。非照射群と低線量（0.1 Gy）照射群より顕著な寿命短縮が認められた。非照射群と低線量照射群では、500 日齢以後から肝腫瘍が主な原因と思われる死亡が観察され始めたが、低線量放射線照射や高脂肪餌による寿命への影響は見られなかった。

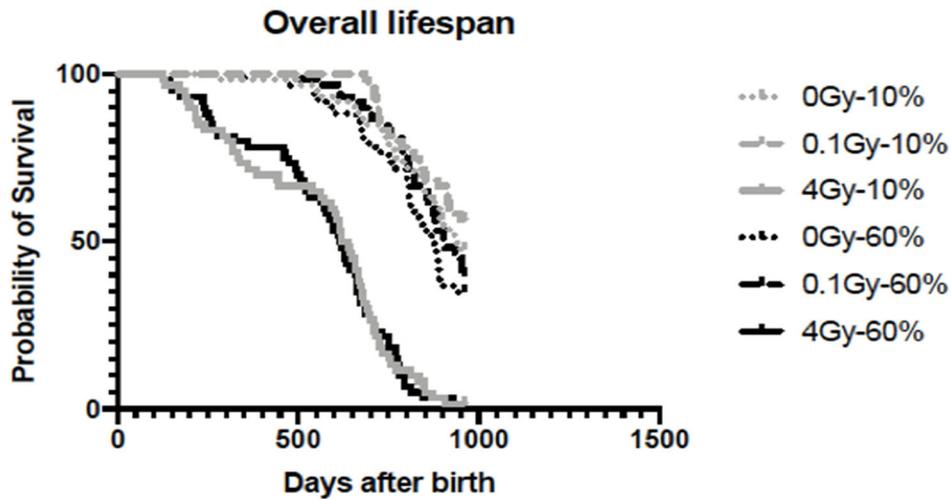


図 III-2 小児期放射線被ばくおよび成体期 DIO 誘導による寿命変化

2. DIO による放射線被ばく後の組織微小環境への影響研究

本年度に計画していた全ポイントのサンプル採取、病理標本の作製および長崎大学への供与を完了させた（解析結果については主任研究者の報告書を参照）。また、同時に採取した血清サンプルを用いた解析では、DIO 誘導直後に血中総コレステロール（T-CHO）の一時的上昇が見られたが、高脂肪餌摂取終了後に回復した。後期に 4 Gy 照射群の肝機能異常（AST、ALT 上昇）に伴う血中総コレステロールの上昇も確認された。

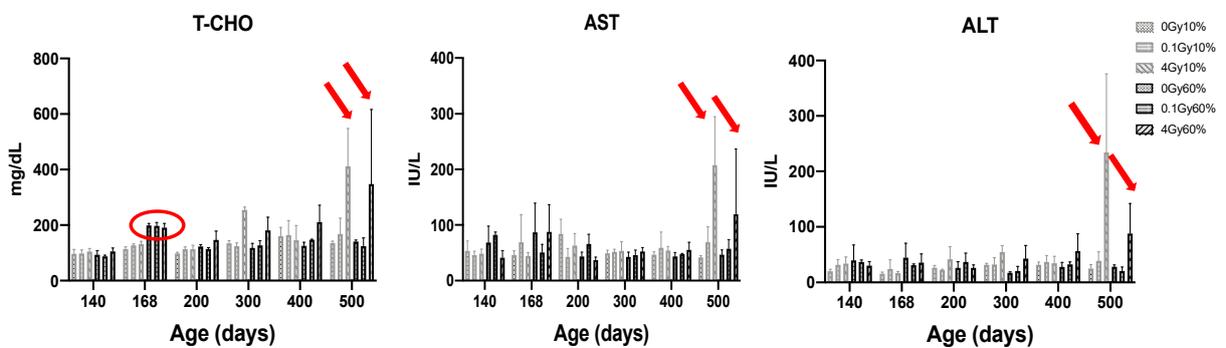


図 III-3 小児期放射線被ばくおよび成体期 DIO 誘導による脂質代謝および肝機能の変化

IV. 考察

成体期の高脂肪食摂取による肥満の実験系を用い、小児期被ばくによる発がんリスクへの成体期肥満の影響を検証するための発がん実験を継続して行った。まず、短期間の高脂肪食摂取による体重増加と通常餌に戻した後の体重回復傾向が観察されたが、長期的にも体重への影響は認められなかった。また、小児期高線量被ばくによる早期発症腫瘍である胸腺リンパ腫や、400 日齢以後に観察される肝腫瘍の発症には、成体期肥満の影響は認められなかった。さらに、960 日齢までの観察でも、高脂肪食摂取による寿命および腫瘍発生に対する影響が見られず、一時的な肥満は、発がんリスクに影響をおよぼさないと考えられる。また、低線量照射における寿命への影響も認められなかった。

V. 結論

前述のように、長期発がん実験および微小環境への影響研究の実験群の設定を実験計画とおりに実施し、成体期高脂肪食摂取による肥満の誘発に成功した。また、通常餌に戻した後の肥満解消も、先行した小児期の高脂肪食摂取実験系と類似した傾向が見られた。長期飼育に高線量被ばくに起因する体重低下も確認された。胸腺リンパ腫が早期発症腫瘍であり、被ばくの影響が大きく、DIO 実施する前に既に発症したため、摂取カロリーによる影響は受けていないと考えられる。後期に発生する肝腫瘍等に関して観察を継続している。また、組織微小環境への影響研究はすべてのサンプル採取が完了し、病理標本を主任研究者へ供与して解析を進めた。

VI. 今後の展望

終生飼育中の実験群は、研究期間終了後も飼育観察を継続し、瀕死マウスの解剖を進め臓器サンプルの保存と病理解析を行う。最終的には終生飼育を完了させて、被ばくおよび成体期 DIO によって寿命と腫瘍発生への影響を解析して、研究成果をまとめる。

VII. この研究に関する現在までの研究状況、業績

該当なし

VIII. 引用文献

該当なし

Uncovering the interaction of adulthood-lifestyle factors in children with low dose radiation-induced cancer risk and carcinogenic mechanisms

Shizuko Kakinuma

Department of Radiation Effects Research

National Institute of Radiological Sciences

National Institutes for Quantum and Radiological Science and Technology

Keywords: Low dose, 100 mGy, high calorie diet, obesity, diet-induced obesity model

Abstract

The aim of this research is to identify the impact that lifestyle changes in adult have on the risk associated with childhood exposure to low dose radiation and the mechanisms underlying radiation-induced cancer. Specifically, the high calorie diet-induced obesity (DIO) mouse model will be used to test the hypothesis that ‘systemic inflammation associated with high calorie intake in adult will alter their risk of radiation-induced cancer.’ Following a low dose radiation exposure (100 mGy), the interaction of a high calorie diet on (1) DNA damage and repair; (2) initial tissue reactions including cell death; (3) subsequent tissue recovery; (4) the microenvironment for early cancer development; and, (5) the development of established tumors, will be examined by investigations at the molecular, cellular and tissue levels. The cancers of interest for induction by irradiation of young animals in this model will be thymic and splenic lymphomas, as well as lung and liver cancers.

As a part of this co-operative research, B6C3F1 mice are to be irradiated as infants (100 mGy or 4 Gy) before initiating diet-induced obesity (DIO) by rearing on a high-fat diet. In the annual plan for fiscal year 2020, the rearing of the DIO experimental animals was ongoing, with subsequent observation of body weight change and cancer induction. We confirmed the body weight gain in the mice reared on the adult high-fat diet, while the body weight gain was reversed to normal level soon after changing the normal diet. Thymic lymphoma was induced by 4Gy irradiation in the first 300 days. After 400 days of age, liver tumor was mainly detected. The influence of DIO on lifespan shortening and tumor development was not obvious.